

FISCH UND UMWELT

Experimente über die Wirkung von UV-B auf pelagische Fischembryonen in einem Sonnenscheinsimulator

Volkert Dethlefsen, Institut für Fischereiökologie, Außenstelle Cuxhaven
 Helmut Tüg, Alfred Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung, Bremerhaven
 Marcus Baumann, Institut für Biologie und Chemie des Meeres, Universität Oldenburg
 Hein von Westernhagen, Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg
 Armin Herbert, Technische Universität, Berlin

Eine der vermuteten Wirkungen des zu beobachtenden Ozonabbaus ist die Intensivierung der Einstrahlung von UV-B auf die Meeresoberfläche (Calkins und Thordardottir 1980). Das hätte wahrscheinlich eine Beeinträchtigung mariner Ökosysteme zur Folge (Worrest und Häder 1989). Diese Bedrohung wird von Hardy und Gucinski (1989) wegen der mannigfaltigen Einflüsse des UV-B-Anteils der Sonnenstrahlung auf marine Organismen als sehr real angesehen. An der Meeresoberfläche treibende Entwicklungsstadien von Fischen sind empfindlich gegenüber solcher Strahlung (Hunter *et al.* 1981). Eine Erhöhung der Strahlungsintensität um 25 % würde z. B. die jährliche Verlustrate von Larven von *Engraulis mordax* von 13 % auf 18 % erhöhen (Hunter *et al.* 1981).

Bisher scheiterte die exakte Simulation veränderter UV-B-Strahlungen an den fehlenden technischen Möglichkeiten. Nach der Entwicklung flexibel einstellbarer, frei programmierbarer Simulatoren im Alfred Wegener-Institut für Polar und Meeresforschung (AWI) waren jetzt erstmalig Experimente mit genau definierbaren und realistischen Strahlungsmengen und -qualitäten möglich.

Material und Methoden

Im März 1995 und Februar 1996 wurden während der 157. und 169. Reise mit FFS „Walther Herwig III“ Expositionsexperimente durchgeführt, bei denen Embryonen der Kliesche (*Limanda limanda*) und der Scholle (*Pleuronectes platessa*) in Sonnenscheinsimulationsanlagen verschiedenen Strahlungsintensitäten ausgesetzt wurden. Die 1995 durchgeführten Experimente dienten der Erarbeitung der wirksamen Strahlungsdosis, die zu diesem Zweck auch höher als in der Umwelt zu erwarten ist, eingestellt wurde. Hieraus abgeleitet konnten 1996 niedrigere realistische Dosen eingestellt werden. Die 1996 eingesetzten Sonnenscheinsimulatoren unterschieden sich von der 1995 eingesetzten Anlage durch die Möglichkeit einer wirklichkeitsgetreuen Ein-

Exposure of Pelagic Fish Embryos to UV-B in a Sunshine Simulator

One of the supposed effects of the observed ozone depletion is the increase of solar UV-B irradiation at the seasurface. This will cause an impact on certain compartments of marine ecosystems. Especially, sensitive developmental stages of pelagic fish embryos might be affected. Embryos of dab (*Limanda limanda*) and plaice (*Pleuronectes platessa*) were experimentally exposed to different amounts of UV-B irradiation in a sunshine simulator. This programmable device allows the dosage of realistic solar irradiation in quality and quantity. Experiments were carried out in March 1995 and February 1996. Either artificially inseminated and reared embryos of dab and plaice or embryos caught in the German Bight were exposed to simulated solar irradiation. The 1995 experiments served to identify the effective irradiation dosages. For the 1996 experiments irradiation applied was much lower, being close to realistic values expected over the North Sea as a consequence of ozone depletion. The following end points were studied: 1. Mortality, 2. sublethal morphological effects (malformations), 3. DNA damage, 4. changes in buoyancy of embryos measured as changes in osmolarity of the perivitelline fluid. Conditions for the simulation of daylight were a cloudless sky with a solar zenith distance of 34° (air mass 1.2). The adopted ozone depletion was 40% corresponding to 180 DU (Dobson Units) instead of 300 DU. In the 1995 experiments time and dosage dependent influences on mortality and buoyancy of embryos of dab and plaice were found. Even in those embryos which were protected from the UV-B spectral range a loss of buoyancy was registered after 12 hours in the simulator. No differences in DNA integrity as determined by DNA unwinding of exposed and control embryos were found. Also with lower amounts of irradiation in the 1996 experiments dosage dependent acute mortality, malformations, and impact on the buoyancy of the embryos was registered. Sublethal effects occurred as well in embryos protected against UV-B in the exposure chambers, but were not found in the dark controls. The impact of low dosages of UV-B on the buoyancy of pelagic fish embryos might indicate an important ecological threat and deserves further studies.

stellung der über der Nordsee zu erwartenden Lichtverhältnisse.

Folgende Endpunkte wurden für die Beurteilung einer Wirkung von UV-B untersucht:

1. Mortalität, 2. subletale morphologische Effekte (Mißbildungen), 3. DNS-Schäden, gemessen als Frequenz der alkali-empfindlichen Stellen der DNS (DNS-Aufwindungstest), 4. Veränderungen der Schwebefähigkeit der Embryonen, gemessen als Veränderung der Osmolarität der perivitellinen Flüssigkeit.

Eier

Das verwendete Eimaterial bestand aus an Bord abgestreiften, besamten und künstlich erbrüteten Kliescheneiern (bzw. -embryonen) und Schollenembryonen verschiedener Entwicklungsstadien aus Freilandfängen mit einem 1-m-Ringtrawl (500 µm Maschenweite). 100 (Kliesche) und 50 (Scholle) Eier wurden in den Inkubationsversuchen verwendet. Sie wurden in 100 ml zylindrischen Schott-Kristallierschalen erbrütet. Je eine Referenzgruppe wurde im Dunkeln (Kühlschrank, Dunkelkontrollen) und in der Bestrahlungskammer (zwecks Ausschluß von UV-Licht mit Glas abgedeckt) erbrütet (Kontrollen). Als Erbrütungsmedium diente Nordseewasser von 32,2 S. Die Erbrütungstemperatur betrug 4-5 °C.

DNS-Aufwindungstest

Das Rohhomogenat von 50 Embryonen wurde durch Zugabe einer gepufferten Natronlauge kontrollierten alkalischen Bedingungen ausgesetzt und die Geschwindigkeit des Aufwindens der DNS-Doppelhelix bestimmt, wobei die Geschwindigkeit mit zunehmender Zahl der DNS-Schäden steigt. Die Messung erfolgte nach 30 Minuten. Danach wurde das Aufwinden durch Neutralisieren mit Salzsäure gestoppt, und die aufgewundene einzelsträngige DNS wurde durch eine Hydroxylapatit-Batch-Elution von der verbliebenen doppelsträngigen getrennt. Beide Fraktionen wurden fluorimetrisch bestimmt und das Maß der Aufwindungsgeschwindigkeit ermittelt (Kanter und Schwartz 1997; Daniel *et al.* 1985; Herbert und Zahn 1989).

Osmotische Messungen

Die Messung der osmotischen Eigenschaften der perivitellinen Flüssigkeit der behandelten Eier erfolgte mittels eines Nanoliter-Osmometers (Clifton Technical Physics, USA) ohne und nach Bestrahlung. Das Gerät wurde im Bereich 0 (aqua bi-dist) und 1000 milli-osmol (32,2 g NaCl/l) kalibriert. Die zu untersuchende Flüssigkeit

wurde den Eiern mittels einer 0,1-0,2 mm dicken (Außendurchmesser) Glaskapillare, die durch das Chorion gestoßen wurde, entnommen.

Sonnenscheinsimulation

Die Sonnenscheinsimulation erfolgte über eine frei programmierbare Beleuchtungsanlage unter Simulation eines blauen, wolkenlosen Himmels, Zenitdistanz der Sonne von 34° (ca. Luftmasse 1,2), Annahme eines Ozonabbaus von 40%, entsprechend 180 DU (Dobson Einheit) anstatt normal 300 DU. Die aus den 1995 eingesetzten Bestrahlungsbedingungen resultierende Bestrahlungsstärke für UV-B ergibt sich wie folgt:

295 nm	$2,4 \times 10^{-7} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
300 nm	$1,2 \times 10^{-6} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
305 nm	$2,4 \times 10^{-6} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
310 nm	$3,3 \times 10^{-6} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
315 nm	$1,0 \times 10^{-5} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
320 nm	$1,1 \times 10^{-5} \text{ W/cm}^2\text{nm}$

Der UV-B-Anteil war insbesondere am kurzwelligeren Ende höher als bei den 1996 verwendeten Einstellungen. Hinzu kommt ein nicht bekannter Streulichtanteil, weil bei dem 95er Gerät das Probengefäß nicht ausreichend gegenüber dem Streulicht der Lampe geschützt war. 1996 wurden drei unterschiedliche Einstellungen verwendet:

1. SONSI 1: Simulation eines blauen, wolkenlosen Himmels mit 20 % neutraler Abschwächung durch Dunst, Zenitdistanz der Sonne von 34° (ca. Luftmasse 1,2), Annahme eines Ozonabbaus von 40 %, entsprechend 180 DU (Dobson Einheit). Unter den realen Expositionsbedingungen beträgt die minimale Zenitdistanz der Sonne zu dieser Jahreszeit 60° bis 63°, entsprechend 2,0-2,2 Luftmassen (300 DU). Es wurde eine optimale Anpassung an ein Gesamtspektrum von 280-700 nm gewählt. Diese Einstellung hat zur Folge, daß bei der Lampe UV-B (280-320 nm) um etwa 30 % bis 50 % niedriger als bei der Sonne liegt. UV-A (320-400 nm) liegt dagegen etwa 20 % höher als bei der Sonne, während die PAR (photosynthetically available radiation, 400-700 nm) mit der der Sonne übereinstimmt.
2. SONSI 2: Einstellung wie bei 1., nur wurde die Strahlungsintensität (Bestrahlungsstärke) über den gesamten Spektralbereich um den Faktor 2 erhöht.
3. SONSI 3: Grundeinstellung wie unter 1., d. h. wolkenfreier Himmel, 20 % Dunstabschwächung, 34° Zenitdistanz, 180 DU. Im Gegensatz zu 1. aber

optimale Anpassung an UV-B ohne Rücksicht auf UV-A und PAR. Die daraus resultierende Bestrahlungsstärke für UV-B ergibt sich wie folgt:

295 nm	$1,5 \times 10^{-7} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
300 nm	$5,6 \times 10^{-7} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
305 nm	$2,0 \times 10^{-6} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
310 nm	$3,8 \times 10^{-6} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
315 nm	$7,4 \times 10^{-6} \text{ W/cm}^2\text{nm}$
320 nm	$1,1 \times 10^{-5} \text{ W/cm}^2\text{nm}$

Dadurch wird der UV-A-Anteil dreimal so hoch wie in der Sonne, während PAR ca. 10 % niedriger liegt. In Tabelle 1 und 2 sind die unterschiedlichen Expositionsmodi der 1995 und 1996 Experimente dargestellt.

Tab. 1: Expositionsmodi pelagischer Fischembryonen im Sonnenscheinsimulator 1995. K=Kontrolle, DNS=DNS-Aufwindungsrate bestimmt +

Exposure of pelagic fish embryos in a sunshine simulator. C = control 1996. Experiment species time code developmental stages osmolarity.

Versuch	Art	Dauer (h)	DNS
1	L. limanda	4,K	+
2	L. limanda	6,K	+
3	L. limanda	8,K	+
4	L. limanda	8,K	+
5	L. limanda	8,K	+
8	P. platessa	4,6,8,10,K	+
9	L. limanda	4,6,8,10,K	+
10	L. limanda	4,6,8,10,K	+
11	L. limanda	6,12,K	+

Tab. 2: Expositionsmodi pelagischer Fischembryonen im Sonnenscheinsimulator 1996. K=Kontrolle

Loss of buoyancy and acute mortality of embryos of dab (*Limanda limanda*) and plaice (*Pleuronectes platessa*) after exposure in a sunshine simulator (Orlando spectrum) with normal and 50 % reduced ozone layer, 1995.

Versuch	Art	Dauer (h)	Code	Entw. Stadium	Osmometermessung
1	L. limanda	4,6,8,10,12,K	SONSI 1	Ia	-
2	P. platessa	9,12,18,K	SONSI 1	II-III	+
3	P. platessa	12,K	SONSI 3	I-IV	+
4	P. platessa	8,14,24,K	SONSI 2	III-IV	+
5	P. platessa	12,24,36,K	SONSI 3	II-IV	+

Ergebnisse und Diskussion

Mortalität und Schwebefähigkeit

1995

Die Ergebnisse der 1995 durchgeführten orientierenden Versuche finden sich in Tabelle 3. Es ergaben sich zeit- und dosisabhängige Einflüsse auf die Sterblichkeit und die Schwebefähigkeit der Embryonen von Scholle und Kliesche. Auch bei Versuchen mit Ausschluß des UV-Anteils des Lichtes trat nach 12 Stunden im Simulator ein völliger Verlust der Schwebefähigkeit bei Embryonen der Kliesche auf. Schollen-eier später Entwicklungsstadien, also mit ausgeprägten Augenpigmenten, zeigten schon nach 6 Stunden Expositionszeit bei 40 % Ozonreduktion erhöhte Mortalität.

1996

Bei einer Strahlungsintensität von 180 Dobson Einheiten (DU) (Annahme eines 40 %igen Ozonabbaus in der Atmosphäre) waren weder bei jungen Klieschenembryonen (Stadium Ia, Blastodisk) noch bei Schollenembryonen der Entwicklungsstadien II-III (siehe von Westernhagen, 1970) nach 4 bis 18 Stunden Bestrahlung morphologische Aberrationen zu erkennen. Die akute Mortalität war bei bestrahlten und nicht bestrahlten Embryonen gleich hoch. Bestrahlte Embryonen (inklusive der gegen UV-Strahlung abgeschirmten Individuen) zeigten jedoch eine Abnahme ihres Schwebvermögens als Funktion der Bestrahlungsdauer, so daß bis zu 69 % aller Embryonen bei bestimmten Versuchsbedingungen nach der Bestrahlung zu Boden gesunken waren (Tab. 4). Bei im Dunkeln inkubierten Embryonen war dies nicht der Fall. Alle Embryonen schwebten nach Ablauf der Versuchszeit dicht unter der Wasseroberfläche. Die gleichen Ergebnisse wurden auch bei einer Bestrahlung unter den Bedingungen im Versuch 3 (verstärkte Bestrahlungsintensität) erzielt. Auch in dieser Versuchsanordnung waren nach 12 Stunden Bestrahlung 34 % und nach 36 Stunden in der Kontrolle 63 % der im Hell-Versuch bestrahlten Embryonen abgesunken (vergl. Tab. 3).

Nach 24 Stunden Bestrahlung zeigten sich bei den Strahlungsbedingungen (SONSI 2) im Versuch 4 bis zu 48 % Mortalität und Verlust der Schwebefähigkeit bei 69 % der Eier (Tab. 4). Bei Strahlungsbedingungen unter SONSII 3 traten die ersten akuten Mortalitäten ebenfalls nach 24 Stunden auf (4 %), begleitet von einem Verlust der Schwebefähigkeit bei 76 % aller Embryonen. Nach 26 Stunden waren alle Embryonen im Hell-

Tab. 3: Verlust der Schwebefähigkeit und akute Mortalität bei Klieschen- (*Limanda limanda*) und Schollen- (*Pleuronectes platessa*) Embryonen nach Bestrahlung im Sonnenscheinsimulator bei normaler und 40 % reduzierter Ozonschicht (1995)

Loss of buoyancy and acute mortality of embryos of plaice (*Pleuronectes platessa*) after exposure in a sunshine simulator - non experiment (24 hours after exposure and subsequent transfer to the dark), 1996.

Art	Dauer (h)	Reduktion Ozon	Schwebeverlust (%)		Mortalität (%)	
			Versuch 1	Versuch 2	Versuch 1	Vers. 2
L. limanda	4	0	0		0	
	6	0	0	52	0	10
	8	0	0	45	0	0
	12	0	100		14	
100n	18	0	100		65	
	4	40	22		0	
	6	40	55		0	
	8	40	55	47	0	50
	10	40	94		83	
	13	40	100		47	
	18	40	100		90	
	24	40	100		100	
	K(hell)	40	50	42	0	0
P. platessa	4	40	0		0	
	6	40	90		5*	
50n	8	40	100		10	
	10	40	100		21	
	K(hell)	40	43		10	

* Die in diesem Versuch abgestorbenen Schollenembryonen waren alle im Stadium IV mit starkem Augenpigment

Versuch ohne UV-Schutz abgestorben. Auch bei den Embryonen, die nach 24 Stunden nur eine Mortalität von 4 % verzeichneten, war diese nach 36 Stunden (nach Hälterung im Dunkeln) auf 18 % angestiegen, und bei mehr als 50 % der abgesunkenen Eier zeigten sich in den Embryonen Entwicklungsanomalien, wie kavernige Vakuolen im Bereich des Herzens und stark wucherndes blasiges Gewebe am Rumpf; Mißbildungen, die im Verlauf der weiteren Embryonalentwicklung üblicherweise zum Absterben der Embryonen führen (von Westernhagen *et al.* 1988).

Mit UV-Schutz betrug die Mortalität 0 %, der Verlust der Schwebefähigkeit belief sich aber bereits auf 63 % (Tab. 4). In den dunkel inkubierten Kontrollen waren dagegen keine Mortalitäten oder anderen Effekte zu beobachten.

Osmolarität der perivitellinen Flüssigkeit von Schollenembryonen

Das Schwebevermögen pelagischer Fischeier wird durch das Absenken des spezifischen Eigewichtes unter das spezifische Gewicht des umgebenden Seewassers gewährleistet. Dieses wird sowohl durch die Einlagerung von Lipiden oder Ölbläschen mit geringem spezifischen Gewicht in den Dotter, als auch durch die semipermeable Eigenschaft des Eichenions ermöglicht, so daß die perivitelline Flüssigkeit eines gesunden pelagischen Eies im Vergleich zu dem umgebenden Medium hypoosmotisch ist (Holliday und Jones 1967). Durch die Bestrahlung wurde das Gleichgewicht zwischen spezifisch schwereren und leichteren Anteilen des Eies gestört, und die Semipermeabilität des Chorions ging ganz oder teilweise verloren, wie die Messungen der Osmolarität der perivitellinen Flüssigkeit zeigen (Abb. 1). Während der Mittelwert der Osmolarität ei-

Tab. 4. Verlust der Schwebefähigkeit und akute Mortalität bei Schollenembryonen nach Bestrahlung im Sonnenschein-simulator SONSI. -: kein Versuch, (18): Wert 24 Stunden nach Abschluß des Versuchs und Hälterung im Dunkeln (1996). Sch. verl. = Verlust der Schwebefähigkeit

Loss of buoyancy and acute mortality of embryos of plaice after exposure in a sunshine simulator SONSI. -: no experiment, (18): value 24h after exposure in the dark (1996). lob: loss of buoyancy.

Dauer (h)	Mortalität(%)	Sch.verl.(%)	Mortalität (%)	Sch.verl.(%)	Mortalität(%)	Sch.verl.(%)
	SONSI 1	SONSI 1	SONSI 2	SONSI 2	SONSI 3	SONSI 3
8	0;0	12;24	0	20	-	-
10	0;0	20;-	-	-	-	-
12	0;0	60;20	-	-	0	34
14	-;	-;	0	16	-	-
18	-;	-;44	-	-	-	-
24	-;	-;	48	69	4(18)	76
36	-;	-;	-	-	100	100
K* (hell)	0	16;69	0	44	0	63
J (dunkel)	0	0;0	0	0	0	0

nes gesunden, unbehandelten Eies (Dunkelkontrolle) bei 350 (sd 42) mOsmol, derjenige der Expositionskontrolle bei 388 (sd 144) mOsmol lag (Unterschied nicht signifikant: $p = 0,4335$, Vergleich zweier Mittelwerte), stieg die Osmolarität der perivitellinen Flüssigkeit bei frei in der Wassersäule schwebenden Eiern bis auf 635 (sd 165) mOsmol an (Unterschied zu beiden

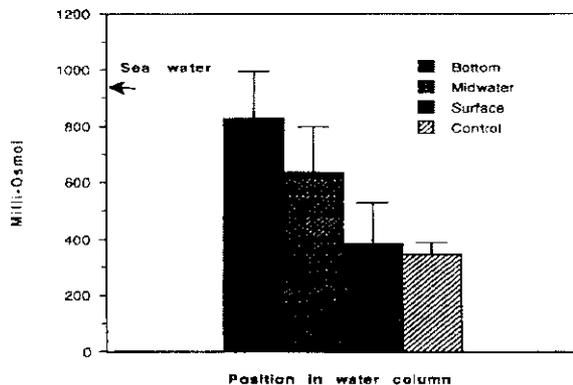


Abb. 1: Osmolarität der perivitellinen Flüssigkeit von Embryonen der Scholle (*Pleuronectes platessa*) nach unterschiedlicher Exposition gegen UV-B-Strahlung. Boden = auf den Boden der Versuchsgefäße gesunkene Embryonen; Freiwasser = in der Wassersäule der Versuchsgefäße schwebend; Seewasser = Osmolarität des Seewassers.

Osmolarity of the perivitelline fluid of embryos of plaice (*Pleuronectes platessa*) after exposure to different levels of UV-B irradiation.

Kontrollen signifikant, $p < 0,000$), um bei den am Boden liegenden Eiern in einigen Fällen den Wert des sie umgebenden Seewassers zu erreichen (Mittelwert Eier: 825 sd 168; Seewasser: 930, Unterschied signifikant, $p = 0,0265$). Aus diesem Grunde waren diese Eier auch auf den Boden der Erbrütungsgefäße abgesunken. Bei diesen Embryonen war in der Regel im mikroskopischen Bild der Embryomorphologie kein Unterschied zu normalen Embryonen zu erkennen. Der osmotische Wert ihrer perivitellinen Flüssigkeit war jedoch gleich dem von abgestorbenen Eiern.

Die DNS-Aufwindungsraten bei den in den Experimenten untersuchten Embryonen schwankten zwischen 0,2 und 0,6 -logF (neg dek. Log. der Fraktion der verbleibenden doppelsträngigen DNS). Diese Schwankungsbreite entsprach derjenigen, die bei Embryonen der Klieschen bei Freilanduntersuchungen anzutreffen waren. Auch im Einzelfall waren die DNS-Werte der exponierten Tiere so hoch wie diejenigen, die unmittelbar nach dem Fang in Embryonen an den jeweiligen Stationen gemessen wurden. Bei keinem der Versuche unterschieden sich die DNS-Aufwindungsraten der exponierten Embryonen von denen der Kontrollen (Tab. 5) (ANOVA, Duncans multiple range test, Unterschied zwischen belichteten und Kontrollembryonen nicht signifikant, critical range 0,0869).

Es gibt bisher nur wenige Arbeiten, die sich mit dem Einfluß der UV-Strahlung auf Fischembryonen beschäftigen. So fanden Hunter et al. (1981) Hirn- und Augenschäden sowie ein reduziertes Größenwachstum bei 4 Tage alten Embryonen und Larven von *Engraulis*

Tab. 5: DNS-Aufwindungstest nach UV-B-Exposition. Abk.: K - Kontrolle ohne Lichtexposition, L - Licht exponiert, MW - Mittelwert, R - Spannweite (Range), $-\log F(1)$, $-\log F(2)$ Wiederholungsmessungen der DNS-Aufwindungsrate, neg. dek. Log

DNA-unwinding after UV-B-exposure. : C = Controls, L = exposed, aver = average, r = range, $-\log F(1)$, $-\log F(2)$ repeated measurement of DNS-unwinding, neg. dec. log.

Versuch	Art	Zeit	Art Expos.	$-\log F(1)$	$-\log F(2)$	$-\log F$ (MW)	$-\log F$ (R)
1	L. limanda	4h	K	0,252	0,213	0,23	0,04
1	L. limanda	4h	L	0,210	0,223	0,22	0,01
2	L. limanda	6h	K	0,177	0,178	0,18	0,00
2	L. limanda	6h	L	0,206	0,261	0,23	0,06
3	L. limanda	8h	K	0,407	0,389	0,40	0,02
3	L. limanda	8h	L	0,342	0,364	0,35	0,02
4	L. limanda	8h	K	0,437	0,383	0,41	0,05
4	L. limanda	8h	L	0,374	0,394	0,38	0,02
5	L. limanda	8h	K	0,188	0,125	0,16	0,06
5	L. limanda	8h	L	0,213	0,329	0,27	0,12
6	L. limanda	8h	K	0,420	0,472	0,45	0,05
6	L. limanda	8h	L	0,460	0,465	0,46	0,01
8	P. platessa	0h	K	0,323	0,393	0,36	0,07
8	P. platessa	4h	L	0,410	0,493	0,45	0,08
8	P. platessa	6h	L	0,539	0,494	0,52	0,05
8	P. platessa	8h	L	0,467	0,393	0,43	0,07
8	P. platessa	10h	L	0,533	0,548	0,54	0,02
8	P. platessa	10h	K	0,545	0,593	0,57	0,05
9	L. limanda	0h	K	0,504	0,476	0,49	0,03
9	L. limanda	4h	L	0,452	0,459	0,46	0,01
9	L. limanda	6h	L	0,470	0,396	0,43	0,07
9	L. limanda	8h	L	0,456	0,493	0,47	0,04
9	L. limanda	10h	L	0,285	0,228	0,26	0,06
9	L. limanda	10h	K	0,507	0,470	0,49	0,04
10	L. limanda	0h	K	0,496	0,446	0,47	0,05
10	L. limanda	4h	L	0,409	0,385	0,40	0,02
10	L. limanda	6h	L	0,434	0,402	0,42	0,03
10	L. limanda	8h	L	0,483	0,501	0,49	0,02
10	L. limanda	10h	L	0,554	0,448	0,50	0,11
10	L. limanda	10h	K	0,402	0,395	0,40	0,01
11	L. limanda	0h	K	0,405	0,370	0,39	0,04
11	L. limanda	6h	L	0,352	0,287	0,32	0,07
11	L. limanda	2x 6h	L	0,516	0,470	0,49	0,05

mordax, wenn der Ozongehalt experimentell simuliert um 25 % reduziert wurde. Pommeranz (1972) fand durch Verwendung von Glasfiltern bei Experimenten mit Eiern der Scholle eine erhöhte Sensitivität gegenüber UV-Licht. Strähle und Jesuthasan (1993) zeigten, daß die Epibolie von Zebrafischembryonen durch UV-Strahlung beeinträchtigt wird.

Aufgrund des geringen Probenumfangs lassen sich zum jetzigen Zeitpunkt nur einige vorläufige Schlüsse aus den bisherigen Experimenten ziehen. Bei Vorver-

suchen mit unrealistisch hohen UV-Dosen waren Mortalitäten um 100% aufgetreten. Bei UV-B-Dosen, die die tatsächlich auftretenden nur geringfügig überschreiten, traten über dosisabhängige Sterblichkeiten hinaus Beeinträchtigungen der Schwefefähigkeit der Embryonen auf, die durch Messungen des osmotischen Wertes der perivitellinen Flüssigkeit bestätigt werden konnten. Dieser Effekt trat bei den Kontrollen in den Sonnenscheinsimulatoren ebenfalls auf, fehlte aber bei den Dunkelkontrollen völlig. Das läßt darauf schließen, daß außer der UV-B-Strahlungsintensität auch andere Fak-

toren der Belichtung einen Einfluß hatten. Das Absinken pelagischer Fischembryonen aus der Wassersäule bedeutet den alsbaldigen Tod dieser Entwicklungsstadien. Da relativ geringe Überdosierungen von UV-B bereits bewirkten, daß hohe Anteile der exponierten Embryonen ihre Schwebefähigkeit verloren, könnte ein solcher UV-B-Effekt eine herausragende ökologische Bedeutung haben. Überraschend war das Fehlen von Einflüssen auf die Häufigkeit von DNS-Schäden - wie sie mit dem gewählten Summenparameter bestimmbar sind -, geht man in der Literatur doch davon aus, daß eine der zu erwartenden Wirkungen erhöhter UV-B-Strahlung DNS-Schädigungen sein würden (Burra *et al.* 1995; Behrenfeld *et al.* 1995).

Die Arbeiten sollen fortgesetzt werden, um abschätzen zu können, in welchem Umfang Schäden an Fischembryonen im Freiland zu erwarten sind und welche Bedeutung eventuelle Beeinträchtigungen für das Aufkommen der Brut der untersuchten Arten haben werden. Dabei müßte unter anderem auch der zusätzliche Einfluß von Schadstoffen, die Bedeutung der Mikroschicht für die Veränderung der Strahlungsintensität sowie die Aufenthaltsdauer der Eier in verschiedenen Tiefenhorizonten und deren Abhängigkeit von der Turbulenz in der Wassersäule in die Untersuchungen mit einbezogen werden. Bei künftigen Arbeiten sollen auch UV-typische DNS-Schäden (Thymin-Dimere) spezifisch sowie das entsprechende Reparaturpotential untersucht werden.

Literatur

- Behrenfeld, M.J.; Lean, D.R.S.; Lee II, H.: Ultraviolet-B radiation effects on inorganic nitrogen uptake by natural assemblages of oceanic plankton. *J. Phycol.* 31, 25-36, 1995.
- Burra, A.G.J.; Hannen, von, E.J.; Veldhuis, M.J.W.; Gieskes, W.W.C.: Monitoring ultraviolet-b-induced DNA damage in individual diatom cells by immunofluorescent thymine dimer formation. *J. Phycol.* 31, 314-321, 1995.
- Calkins, J.; Thordardottir, T.: The ecological significance of solar UV radiation on aquatic organisms. *Nature* 283, 563-566, 1980.
- Daniel, F.B.; Haas, D.L.; Pyle, S.M.: Quantitation of chemically induced DNA strand breaks in human cells via an alkaline unwinding assay. *Anal. Biochem.* 144, 390-402, 1985.
- Hardy, J.; Gucinski, H.: Stratospheric Ozone Depletion: Implications for Marine Ecosystems. *Oceanography*, November 1989, 18 21, 1989.
- Herbert, A.; Zahn, R.K.: Monitoring DNA damage in *Mytilus galloprovincialis* and other aquatic animals: I. Basic studies with a DNA unwinding technique. *Angew. Zool.* 76, 143-167, 1989.
- Holliday, F.G.T.; Jones, M.P.: Some effects of salinity on the developing eggs and larvae of the plaice (*Pleuronectes platessa*). *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 47, 39-48, 1967.
- Hunter, J.R.; Kaupp, S.E.; Taylor, J.H.: Effects of solar and artificial ultraviolet-B radiation on larval northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Photochem. Photobiol.* 34, 477-486, 1981.
- Kanter, P.M.; Schwartz, H.S.: A hydroxylapatite batch assay for quantitation of cellular DNA damage. *Anal. Biochem.* 97, 77-84, 1979.
- Karentz, D.: Ultraviolet tolerance mechanisms in antarctic marine organisms. *Antarctic Res. Ser.* 62, 93-110, 1994.
- Pommeranz, T.: Der Einfluß von Wellenschlag und Licht auf die Eier der Scholle (*Pleuronectes platessa* L.). Dissertation, Universität Kiel, 152 pp., 1972.
- Strähle, U.; Jesuthasan, S.: Ultraviolet irradiation impairs epiboly in zebrafish embryos: evidence for a microtubule-dependent mechanism of epiboly. *Development* 119, 909-919, 1993.
- Westernhagen, von, H.: Erbrütung der Eier von Dorsch (*Gadus morhua* L.), Flunder (*Platichthys flesus* L.) und Scholle (*Pleuronectes platessa* L.) unter kombinierten Temperatur und Salzgehaltsbedingungen. *Helgol. wiss. Meeresunters.* 21, 21-102, 1970.
- Westernhagen, von, H.; Dethlefsen, V.; Cameron, P.; Berg, J.; Fürstenberg, G.: Developmental defects in pelagic fish embryos from the western Baltic. *Helgol. Meeresunters.* 42, 13-36, 1988.
- Worrest, R.C.; Häder, D.-P.: Effects of Stratospheric Ozone Depletion on Marine Organisms. *Environ. Conserv.* 16(3), 261-263, 1989.