



Das Lebensmittelministerium



Vermehrung von Hybridstreifenbarschen

Schriftenreihe des Landesamtes für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie

Heft 11/2009

Freistaat  Sachsen

Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie

**Überprüfung der Möglichkeiten der Vermehrung von Hybridstreifenbarschen
in Teichen und Warmwasseranlagen**

Matthias Pfeifer, Andreas von Bresinsky, Jan Aurich,
Thomas Plathe, Dr. Klaus Kohlmann, Dr. Gert Füllner

Supported from Structural
Funds FIG in accordance
with Council Regulation (EC)
No 2792/1999



Gefördert aus Mitteln des
Strukturfonds FIAF gemäß
Verordnung (EG)
2792/1999

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielstellung	1
2	Versuchsdurchführung	3
3	Vermehrung	3
3.1	Künstliche Vermehrung in Warmwasseranlagen.....	3
3.2	Natürliche Vermehrung in Teichen	10
4	Jungfischaufzucht	13
4.1	Anfütterung.....	13
4.2	Aufzucht in Becken.....	21
4.3	Aufzucht in Teichen.....	24
5	Genetik	26
5.1	Material und Methoden.....	26
5.2	Ergebnisse	28
5.2.1	Eignung der getesteten Mikrosatelliten.....	28
5.2.2	Genotypisierung der F2-Nachkommen.....	28
6	Diskussion und Schlussfolgerungen	31
7	Zusammenfassung	33
8	Literaturverzeichnis	34
9	Anhang	36

1 Einleitung und Zielstellung

Streifenbarschhybriden erlangen international in der Aquakultur zunehmend das Interesse der Fischproduzenten. Haupterzeugerländer sind die USA, Taiwan, Mexiko, Israel und Italien mit einer Produktion von etwa 15 000 Tonnen (CARLBERG, J. M., MASSINGILL, M. J. & VAN OLST J. C. 2007). 1965 wurden von R. E. Stevens in South Carolina erstmals Streifenbarsche erfolgreich hybridisiert (BISHOP 1968 in KERBY & HARELL 1992). Die Fische zeigten gegenüber den Ausgangsarten bedeutende Heterosiseffekte, die sie deshalb zu bevorzugten Objekten der Aquakultur und zu gefragten Besatzfischen für die Angelfischerei werden ließen.

Obwohl es in den USA Versuche gab und gibt, auch aus den fruchtbaren Hybriden direkt Nachkommen zu erzeugen, werden für die praktische Fischerei bislang Fische immer wieder neu aus den Ausgangsarten Streifenbarsch (*Morone saxatilis*) und Weißbarsch (*M. chrysops*) gekreuzt (HODSON et al. 1999). Das natürliche Verbreitungsgebiet des Streifenbarschs erstreckt sich vom St. Lorenz-Strom in Kanada bis Nordflorida und entlang der Golfküste von Westflorida bis Louisiana (WOODS, L. C. 2005). In ihrer amerikanischen Heimat gelten Streifenbarsche *Morone saxatilis* als anadrome Fische, die vom Salzwasser ins Süßwasser aufsteigen, wobei in jüngerer Zeit auch stationäre Formen etabliert wurden, während Weißbarsche *Morone chrysops* zu den Süßwasserfischen gerechnet werden. Alle Moronearten sind anadrom bzw. potadrom und steigen zum Laichen im Frühjahr in die Oberläufe der Flüsse. Streifenbarsche laichen dort bei Wassertemperaturen ab 13 °C, hauptsächlich bei Temperaturen von 15,5 bis 19,5 °C, Weißbarsche bei 14,5 – 18 °C.

Für die Kreuzung (*M. saxatilis* ♀ x *M. chrysops* ♂) wurde der Name „Palmettobarsch“ eingeführt. Der reziproke Hybrid (*M. chrysops* ♀ x *M. saxatilis* ♂) trägt die englische Bezeichnung „Sunshine bass“. Im Gegensatz zu anderen Kreuzungen bei Fischen werden Morone-Hybriden zumindest grundsätzlich als fertil beschrieben (HODSON 1989, KERBY & HARELL 1992, HODSON et al. 1999). Im gemäßigten Klima der USA vermehren sich Streifenbarschhybriden jedoch offenbar weder in Teichen noch in Seen, weil dort die entsprechenden steinig bis grobkiesigen und gut durchströmten Laichplätze fehlen. Diese „Sterilität“ wird als Grund angeführt, Hybridstreifenbarsche (HSB) als gut kontrollierbaren Besatz für abgeschlossene Standgewässer als attraktives Angelobjekt, aber auch zu Zwecken der Biomanipulation zu nutzen. Hybridstreifenbarsche werden für die Biomanipulation vor allem deshalb als besonders geeignet angesehen, weil einerseits die Bestandsdichte wegen der ausbleibenden Vermehrung vollständig kontrollierbar bleibt. Andererseits ernähren sich adulte Exemplare, ähnlich wie Zander, ausschließlich von kleinen Beutefischen und der Eingriff in die natürliche Fischpopulation erfolgt deshalb sehr schonend (NEAL et al. 1999).

Nach den amerikanischen Erfahrungen war davon auszugehen, dass sich Hybridstreifenbarsche auch unter den natürlichen Umweltbedingungen Deutschlands nicht vermehren. Allerdings weisen die Ergebnisse von MÜLLER-BELECKE & ZIENERT (2006) darauf hin, dass es unter bestimmten Bedingungen auch unter unseren klimatischen Bedingungen nicht ausgeschlossen werden kann, dass HSB erfolgreich ablaichen.

Hybridstreifenbarsche sind potenziell auch für die deutsche Aquakultur eine interessante Fischart. Als Speisefisch entsprechen sie mit ihrem barschähnlichen, weißen und praktisch grätenfreiem Fleisch weitgehend den Verbraucherwünschen.

Die gegenwärtig in einzelnen sächsischen Aquakulturbetrieben gehaltenen HSB wurden bisher meist kostenintensiv und unter hohem bürokratischem Aufwand nach Deutschland importiert. Diese Importe könnten bei strenger Umsetzung der Verordnung (EG) Nr. 708/2007 des Rates vom 11. Juni 2007 über die Verwendung nicht heimischer und gebietsfremder Arten in der Aquakultur weiter erschwert werden. Darüber hinaus ist eine Fischproduktion auf Basis einer monopolartigen Satzfishversorgung aus dem Ausland kaum planbar und damit betriebswirtschaftlich nicht sinnvoll.

Eine Nutzung von HSB in der deutschen Aquakultur ist deshalb nur möglich, wenn auch die Brut- und Satzfisherzeugung vollständig im Binnenmarkt erfolgen kann. Für eine eigene Bruterzeugung bieten sich grundsätzlich zwei Wege an:

- Haltung der Ausgangsarten, Vermehrung in spezialisierten Zuchtbetrieben und Abgabe von F1-Gebrauchshybriden an Aquakulturbetriebe.

Über die Haltung der Elternfische der Ausgangsarten gibt es in Europa keinerlei Erfahrungen. Die Kultivierung und Haltung der reinen Ausgangsarten ist in Europa bislang noch nicht erfolgt und mittelfristig nicht zu erwarten. Insbesondere die Laichfischhaltung des großwüchsigen Streifenbarschs unter Brack- bzw. Salzwasserbedingungen dürfte im Binnenland ein erhebliches Problem darstellen. Aber selbst in den USA scheinen entsprechend domestizierte Zuchtbestände sowohl des Weißbarsches als auch des Streifenbarsches nicht zur Verfügung zu stehen. Deshalb verwenden die meisten kommerziellen amerikanischen Vermehrungsbetriebe nach wie vor Wildfänge zur Erzeugung von HSB-Brut (HODSON et al. 1999, YEAGER, VAN TASSEL & WOOLEY 1992).

- Vermehrung der fertilen Hybriden im Bruthaus

Grundsätzlich erscheint es auch möglich, die fertilen F1-Hybriden für die Erzeugung von Brut einzusetzen. Da sich der Heterosiseffekt mit jeder Generation halbiert, könnte allerdings infolgedessen die Vitalität der Nachfolgenerationen sinken. Außerdem ist mit einer Aufspaltung der genotypischen und phänotypischen Merkmale zu rechnen, sodass die erzeugte Brut weniger uniform ist. Der Aufbau einer HSB-F2-Generation in Louisiana scheiterte. Israelische Fischzüchter waren bei der Aufzucht von F2-Hybriden ebenfalls erfolglos (HALLERMANN, in Lit. 2009).

Andererseits belegen Erfahrungen bei der Erzeugung von F2-Hybriden von Bestern (*Huso huso* x *Acipenser sterlet*), dass bei Fischen derartige Leistungsdepressionen auch ausbleiben können (STEFFENS et al. 1990).

Letztlich ist der zweite Weg die einzig realistische Chance, für die sächsische Binnenfischerei künftig ausreichend HSB-Brut zur Verfügung zu stellen.

Durch die seit mehreren Jahren laufenden Versuche mit Hybridstreifenbarschen standen in Sachsen mittlerweile Fische mit geeigneten Stückmassen und einem größeren Gonadenansatz zur Verfügung.

In unseren Untersuchungen soll geklärt werden, inwieweit die F1-Hybriden im Bruthaus vermehrungsfähig sind und ob sich aus den befruchteten Eiern zur Satzfisherzeugung brauchbare Jungfische entwickeln lassen. Dabei wurde an die in Potsdam von MÜLLER-BELECKE & ZIENERT (2006) gewonnenen Erfahrungen angeknüpft.

Folgende Problemstellungen sollten mit den Versuchen bearbeitet werden:

- Bestimmung und Dokumentation der Gonadenreifung sowie der Gewinnung der Geschlechtsprodukte bei F1-Hybriden im Bruthaus
- Testung der prinzipiellen Möglichkeit der künstlichen Erbrütung von befruchteten HSB-Eiern im Bruthaus
- Untersuchung zur Überlebensrate und zur Aufzucht bis zum Vorgestreckten unter kontrollierten Bedingungen in einer Warmwasserfischzuchtanlage
- Untersuchung der Eignung der vorgestreckten HSB in einer nachfolgenden Warmwasserzucht
- Untersuchungen zu phänotypischen und genotypischen Aufspaltung der F2-Hybriden
- Aussagen zur Vermehrungsfähigkeit unter natürlichen Bedingungen in Teichen

2 Versuchsdurchführung

Die Versuche zur gezielten Vermehrung fanden in der Warmwasseranlage Thierbach der Fisch + Wasser Oelzschau GmbH statt und wurden in Kooperation mit der Teichwirtschaft Wermsdorf-Torgau betreut.

Die Untersuchungen zur Möglichkeit des natürlichen Abblaus in Teichen wurden in der Lehr- und Versuchsteichanlage Königswartha durchgeführt.

Die Elternschaftsanalyse erfolgte anhand geeigneter Mikrosatelliten durch Untersuchungen im Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei e.V. im Forschungsverbund Berlin e.V.

3 Vermehrung

3.1 Künstliche Vermehrung in Warmwasseranlagen

Da die 2007 durchgeführten Versuche zur künstlichen Reproduktion keine Nachkommen erbrachten, soll für das erste Versuchsjahr auf den Zwischenbericht verwiesen werden. Es wurde vermutet, dass eine der Hauptursachen im außergewöhnlichen Verlauf der Temperaturerwärmung im Frühjahr 2007 zu suchen ist und dass zum Zeitpunkt der Anlieferung der Fische – 15.05.2007 – bereits

eine Rückbildung der Gonaden eingetreten war. Für das Jahr 2008 wurde deshalb generell eine zeitigere Zuführung der Laichfische in die Vorreifebecken der Warmwasserhaltung geplant.

Die im Jahr 2007 angelieferten HSB-Laicher aus der Lehr- und Versuchsteichanlage Königswartha wurden nach den abgebrochenen Versuchen in der Hälteranlage Torgau überwintert. Aus dem Bestand der Teichwirtschaft Wermisdorf/Torgau wurden am 03.04.2008 vier weibliche und drei männliche Tiere in getrennten Becken in Tierbach eingesetzt. Die mittlere Stückmasse der Fische betrug 1 600 Gramm. Die Wassertemperatur betrug nach Anpassung 24 °C. Aus Königswartha wurden am 16.04.2008 20 Laicher mit 45,2 kg Gesamtgewicht angeliefert, deren mittlere Stückmasse 2 260 Gramm betrug. Den aus Torgau angelieferten Fischen wurden am 22.04.2008 erstmalig Eier entnommen und der Reifegrad bestimmt, siehe dazu Verlaufsprotokoll der Versuche 2007 im Anhang. Der Eidurchmesser betrug 0,3 mm.

Ab dem 08.05.08 wurden die Fische aus beiden Beständen massiv mit dem Hautparasiten *Ichthyophthirius multifiliis* befallen.



Abbildung 1: Laicher aus dem Bestand der Teichwirtschaften Wermisdorf-Torgau

Infolge des Befalls mit diesem gefährlichen Hautparasiten, der kaum therapierbar ist, kam es zu einem Totalverlust der ausgewählten Laichfische. Aus noch vorhandenen HSB-Beständen in der Teichwirtschaft Wermisdorf-Torgau konnten Ersatzfische rekrutiert und in die Anlage Thierbach umgesetzt werden.

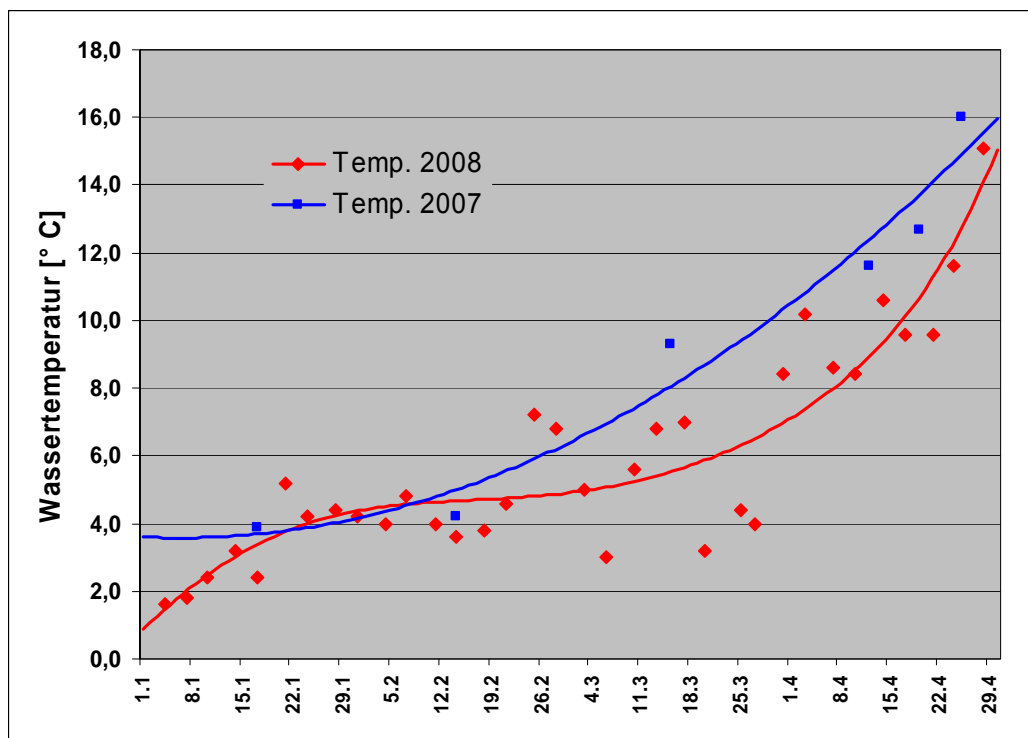


Abbildung 2: Temperaturverlauf in den Überwinterungsteichen der HSB-Laicher bis Ende April

Im Gegensatz zum Vorjahr entwickelten sich die Wassertemperaturen im Frühjahr 2008 in den Winterteichen trotz eines milden Winters nicht so rasant nach oben. Die Temperatursumme bis zum 30. April betrug im Jahr 2008 712 Tagesgrade (°T) und lag damit deutlich unter der des Vorjahrs (917 °T). Leider ist in der Literatur keine Angabe dieses sonst üblicherweise für die Laicherreife vergleichend herangezogenen Wärmebedarfs zu finden. Die Weitervermehrung der F1-Hybriden ist in den USA bislang eher zufällig unter natürlichen Bedingungen beobachtet worden bzw. nicht im kommerziellen Umfang über das Versuchsstadium hinaus betrieben wurden. Nach HODSON (1989) erfolgt die Produktion der Geschlechtsprodukte bei Hybridstreifenbarschen im Frühjahr zwischen 13 und 21 °C, die Reifung der Eier bei Temperaturen zwischen 15 und 20 °C. Das Laichen gibt er von Mitte März bis durch den Mai bei Temperaturen zwischen 18 und 20 °C an, abhängig von den örtlichen Verhältnissen. MÜLLER-BELECKE & ZIENERT (2006) konnten Mitte Juni 2006 in Freilandversuchen bei Hybridstreifenbarschen ohne den Einsatz ovulationsauslösender Präparate ein erfolgreiches Ablachen dokumentieren. Dies erfolgte bei Wassertemperaturen von 20 °C. Verglichen mit diesen Angaben müssen deshalb auch die ermittelten Temperaturwerte des Jahres 2008 zu Beginn der Vermehrungsversuche schon als weit fortgeschritten beurteilt werden.

Charge I

Am 18.05.2008 wurden zwei Rogner mit 5 mg Karpfenhypophyse/kg Lebendgewicht hypophysiert. Die Wassertemperatur betrug 23 °C. Der Abstrich erfolgte am 19.05.2008. Es wurden aus beiden

Tieren etwa 300 Gramm Eier entnommen. Etwa 60 % der Eier wurden als unreif eingeschätzt. Wie auch schon im Jahr 2007 beobachtet, haften die Eier ballenartig zusammen. Zur Befruchtung der Eier wurde das Sperma direkt aus den betäubten Milchneuren auf die Eier gegeben.

Die befruchteten Eier wurden danach mit einer Tonsuspension bei zwanzigminütigem Rühren entklebt und in zwei Zugergläser bei einer Wassertemperatur von 24 °C und einem nahezu neutralen pH-Wert von 7,4 eingesetzt. Der Schlupf der Larven erfolgte nach ca. 24 Stunden.



Abbildung 3: Frisch befruchtete Eier



Abbildung 4: Frisch aufgelegte Eier im Zugerglas



Abbildung 5: Starke Verpilzung der Eier am zweiten Tag der Erbrütung

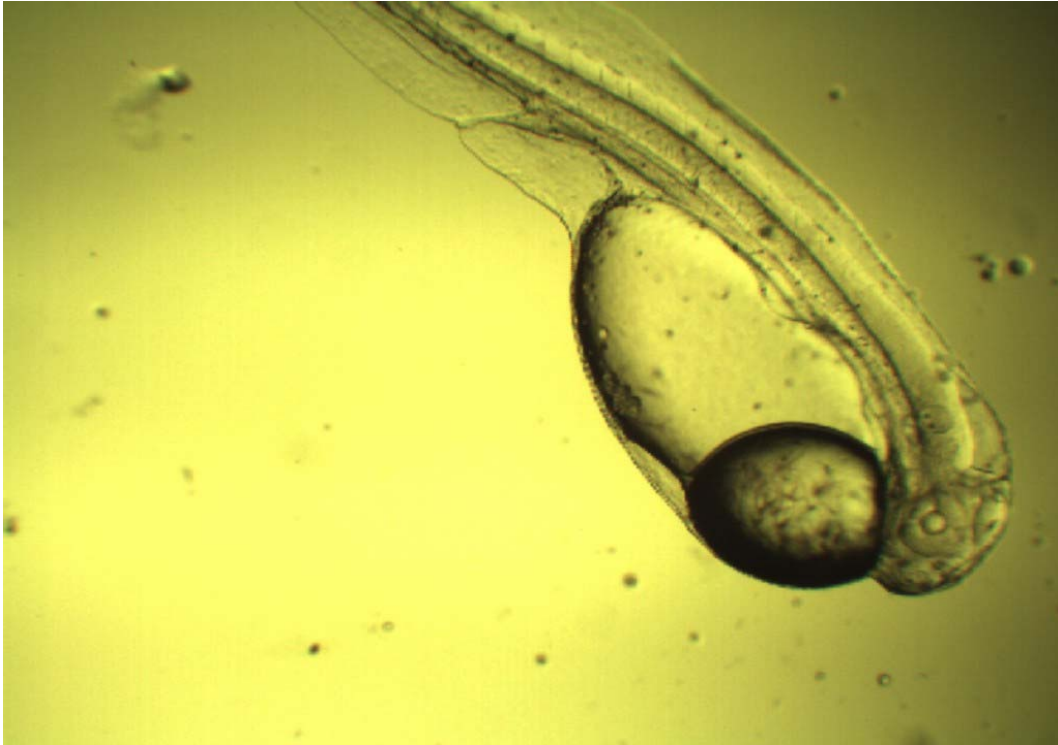


Abbildung 6: Larve am 1. Tag nach dem Schlupf

Durch die sehr geringe Größe und die völlige Durchsichtigkeit der Larven wurden sie einfach nicht in dem Ballen der abgestorbenen Eier gesehen. Die geschlüpften Larven der Hybridstreifenbarsche wurden in Becken mit Einhängenetzen aus feiner Gaze übergeleitet (Abbildung 7). Die Wassertemperatur betrug 24°C. Der pH-Wert betrug 7,4. Werte für Ammonium-Stickstoff schwankten zwischen 0,01...0,1 mg/l. Nitrit- und Nitrat-Stickstoff wurden nur in geringen Konzentrationen gemessen, siehe Anhang, Teil 2.

Einige wenige der geschlüpften Larven konnten ihre Eihülle nicht abstreifen. Sie wurden entfernt (Abbildung 8).



Abbildung 7: Aufzuchteinrichtung mit Gazekäfig

Charge II

Am 30.05.2008 wurden die noch aus der Anlage Torgau vorhandenen Laicher, zwei Rogner und ein Milchner hypophysiert, am 31.05.2008 abgestrichen und die Eier in Zugerläser eingesetzt. Am 01.06.2008 erfolgte der Schlupf von ca. 30 000 HSB. Die Fütterung erfolgte wie bei den Larven der Charge I. Die Umsetzung in die Glasanlage (sechs Becken) fand am 01.07.2008 statt.



Abbildung 8: HSB-Larve, die sich nicht aus der Eihülle befreien kann

3.2 Natürliche Vermehrung in Teichen

Um die Laichbereitschaft unter den hiesigen klimatischen Bedingungen zu testen, wurden im Versuchsjahr 2007 jeweils zwei Versuchsteiche der Lehr- und Versuchsteichanlage in Königswartha (Fläche pro Teich: 2 500 m²) in unterschiedlichen Besatzmengen am 26.03.07 relativ schwach besetzt.

Am 15.05. erfolgte aus VT 4 die Entnahme von insgesamt 70 Fischen, wovon 50 Fische nach Thierbach geliefert wurden und 20 Stück für den Aussatz in einer Dubischeichanlage bereitgestellt wurden. Diese Fische wurden am 21.05. nach Kauppa geliefert und in einem Laichteich ausgesetzt. Allerdings sind die Fische entgegen der Vermutung durch die Rohrleitungen der Frischwasserversorgung geschwommen und haben sich in den Karpfenlaichteichen verteilt. Aus Gründen der Sicherheit der Karpfenerbrütung musste der Versuch sofort abgebrochen werden. Am 23.05.07 wurden deshalb die HSB-Laicher wieder in die Lehr- und Versuchsteichanlage in Königswartha zurückgeholt und in VT 7 Rinne rechts gesetzt. Zwei Rogner wurden zur Kontrolle der Laichreife geschlachtet. Gleichfalls wurden aus VT 3 sieben Rogner und sieben Milchner in Rinne links gesetzt. Für ein mögliches Ablachen wurden Substratmatten in die Rinnen gebracht.

Tabelle 1: Besatzzahlen Variante schwacher Besatz 2007

Besatz	VT 17			VT 21			Variante absolut			pro ha	
	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg
26.03.											
HSB ₄	50	90,4	1808	50	90,3	1806	100	180,7	1807	200	361,4
Gr ₄	3	9,1	3033	3	7,0	2333	6	16,1	2683	12	32,2
gesamt		99,5			97,3			196,8			393,6

Tabelle 2: Besatzzahlen Variante mäßiger Besatz 2007

Besatz	VT 3			VT 4			Variante absolut			pro ha	
	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg
26.03.											
HSB ₄	143	242,9	1699	145	249,6	1721	288	492,5	1710	576	985,0
Gr ₄	4	8,3	2075	4	10,5	2625	8	18,8	2350	16	37,6
gesamt		251,2			260,1			511,3			1022,6

Tabelle 3: Kontrolle der Gonadenreife

Datum	Stückmasse [g]	Länge [cm]	Gonaden [g]	Gonaden [%]
23.5.2007	2201	52,0	340	15,4%
23.5.2007	1812	51,0	244	13,5%

Der Gonadenansatz der Teichfische war gegenüber den in der Anlage gehaltenen Fischen deutlich geringer, wenn auch die Stichprobe wegen des geringen Stichprobenumfangs statistisch nicht gesichert ist (siehe Tab. 3).

Leider ist es durch Gewittereinwirkungen zum Ausfall der Netzspannung einschließlich der Havariesicherung und damit der Belüftung sowie der Wasserumwälzung gekommen, so dass alle Fische in der Rinne verendeten. Der Versuch wurde daraufhin abgebrochen. Eine nochmalige Überprüfung der Gonadenentwicklung am 05.06.07 erbrachte bei einem Rogner mit 1 706 g Stückmasse aus dem VT 3 nur noch 30 g Gonaden, was einem Anteil von 1,8 % bezogen auf die Stückmasse entspricht. Damit war auch beim Teichversuch deutlich geworden, dass die Reife überschritten worden ist und weitere Vermehrungsversuche im Jahr 2007 erfolglos bleiben müssen. Die Summe der Tagesgrade bis zum 15.05.07 betrug vom 1. Januar an ca. 1 550.

Im Jahr 2008 wurden nur noch zwei Versuchsteiche mit HSB besetzt. Es wurde ein schwacher Besatz gewählt. Als Nebenfische wurden einsömmrige Karpfen gesetzt. Der Besatz erfolgte frühzeitig im März. Auch im Jahr 2008 wurden bei den Fischen keine Laichaktivitäten festgestellt, ob-

wohl es sich bei den besetzten Fischen mit einer mittleren Stückmasse von über 2 000 Gramm um voll ausgebildete Laichfische handelte.

Tabelle 4: Besatzzahlen Variante schwacher Besatz 2008

Besatz 19.03.	VT 3			VT 4			Variante absolut			pro ha	
	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg	Stück- masse [g]	Stück	kg
HSB ₅	35	71,5	2043	40	86,0	2150	75	157,5	2100	150	315,0
K ₁	100	13,6	136	100	14,5	145	200	28,1	141	400	56,2
gesamt		85,1			100,5			185,6			371,2

Für das nicht erfolgte Ablaiichen der HSB in Teichen werden folgende zwei Gründe ursächlich vermutet:

Die Temperaturentwicklung in Teichen weicht zu stark von den Bedingungen in den natürlicherweise bevorzugten Laicharealen in Fließgewässern ab. Das betrifft zum einen die wesentlich größeren Temperaturamplituden in stehenden Flachgewässern und zum anderen die dort insgesamt größeren Maximaltemperaturen. Während der Laichperiode sollten die Wassertemperaturen möglichst nicht wesentlich über 20 °C steigen. Das Laichgeschäft in den nordamerikanischen Herkunftsgebieten findet gerade in diesem Temperaturbereich statt (siehe Abschnitt 2.1).

Streifenbarsche unternehmen Laichwanderungen in die Oberläufe der Flüsse. Es darf vermutet werden, dass die Wasserströmung sowie der steinige Untergrund essentiell notwendig zum Ablaiichen und zur nachfolgenden Entwicklung der Gelege sind. Stehendes Wasser bzw. fehlender Strömungsreiz führen deshalb mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Hemmung der Laichreifung und somit zur Blockierung des natürlichen Laichvorgangs. In amerikanischen Besatzeempfehlungen werden Hybridstreifenbarsche auch deshalb besonders für Teiche empfohlen, weil sie sich in diesen definitiv nicht vermehren (ANONYMUS 2004). HODSON (1989) berichtet, dass sich die Laichperiode an einem Ort über vier bis fünf Wochen erstreckt und dass Hybriden beim Laichen auf Flächen mit klaren felsigen Untergründen von ein bis drei Fuß Tiefe beobachtet wurden. Für die Ausgangsarten wird das Laichen generell in turbulenten Strömungsverhältnissen beschrieben (HODSON & HAYES 1989 a).

Für die Zucht von Streifenbarschen in Teichen bedeutet dies, dass nicht mit der Vermehrung und einem nachfolgenden unkontrollierten Entweichen von Brut in die Vorflut gerechnet werden muss.

4 Jungfischaufzucht

4.1 Anfütterung

Die Brut der Hybridstreifenbarsche ist nach dem Schlupf mikroskopisch klein und dürfte unter den in Deutschland gezüchteten Fischarten über die geringste Körperlänge verfügen, noch unter der von Quappen und Schleien. Die aus den Ausgangsarten erzeugte Brut der F1-Generation (Palmettobarsch) misst im Alter von fünf Tagen 6 - 9 mm, für die Brut des Weißbarschs (*M. chrysops*) werden nur 3 - 5 mm angegeben (LUDWIG 2004). MÜLLER-BELECKE & ZIENERT (2006) geben die Länge geschlüpfter Larven mit 3 mm an. Gerade die besonders kleinen Larven der reziproken Kreuzung (Sunshinebass) benötigen hauptsächlich Rotatorien, weswegen ihre Anfütterung bislang kaum in technischen Anlagen, sondern in Teichen erfolgt (HODSON & HAYES 1989b). Neben diesen nicht unerheblichen Schwierigkeiten ist nach LUDWIG (2004) unbedingt noch zu bedenken, dass die Larven in ihrem Dottersack nur geringe Nahrungsreserven besitzen und deshalb nach der Erbrütung unbedingt geeignete Lebendnahrung zur Verfügung haben müssen.

Bei der Vorbereitung der Versuche sind die Durchführenden noch davon ausgegangen, dass mit besonders kleinen Artemianauplien die Anfütterung der F2-Hybriden gewährleistet werden kann. Dies erwies sich jedoch schnell als Fehleinschätzung wie die Abbildungen 9 bis 12 beweisen. Die Larvengröße der geschlüpften F2-Generation der HSB wurde unter dem Mikroskop bei 100-facher Vergrößerung mit nur 1,3 bis 1,6 mm ermittelt! Die mehrfach wiederholten Messungen müssen auch wegen durchgeführter Vergleichsmessungen als realistisch angesehen werden. Die Maulöffnung der geschlüpften HSB-Larven ist selbst für die kleinsten Nauplienstadien noch viel zu eng. In dieser Hinsicht ist die erzeugte F2-Brut wesentlich anders zu beurteilen als die Brut des Palmettobarsches, die gröberes Zooplankton benötigt (LUDWIG 2004).



Abbildung 9: Larve am 2. Lebenstag

Nach dem Schlupf der Larven wurde der Dottersack sukzessive verbraucht und das Maul begann sich zu öffnen. Am dritten Tag war deutlich die Maulspalte erkennbar (Abb. 10).



Abbildung 10: Deutliche Differenzierung der Maulspalte am 3. Tag nach dem Schlupf

Ab dem vierten Tag nach Schlupf wurde sowohl sehr feines Trockenfutter (Scretting Gemma 150) als auch kleine Artemiennauplien als Futter angeboten. Die unter dem Mikroskop gemachten Aufnahmen zeigen jedoch, dass sowohl Nauplien als auch Trockenfutterpartikel nicht in geeigneter Relation zur Größe der Maulöffnung stehen. Es bestand die akute Gefahr, dass die Larven an Nahrungsmangel verenden. Deshalb wurde vom vierten bis zum achten Tag nach dem Schlupf mit Biomasse gefüttert, die aus der Nebenanlage mit Tilapienbesatz entnommen bzw. angezchtet wurde. Bei der Biomasse handelt sich um eine Suspension aus aerob arbeitenden Mikroorganismen spezieller Bakterienstämme, Algen (*Chlorella vulgaris*) und Protozoen, die in einem offenen System bei ständigem Vorhandensein von Stickstoff, Phosphor, Kohlenstoff und Sauerstoff vermehrt werden. Die Biomasse wurde stündlich in einer Menge von zehn Litern in die Aufzuchteinrichtung (Gazekäfig) gegeben. Teile der nicht verbrauchten Suspension sammelten sich am Netzboden. Sie wurden mehrmals am Tag abgesaugt. Mikroskopische Aufnahmen der Biomasse zeigen, dass ausreichend Einzeller wie die besonders geeigneten Rotatorien vorhanden sind (Abb. 13).

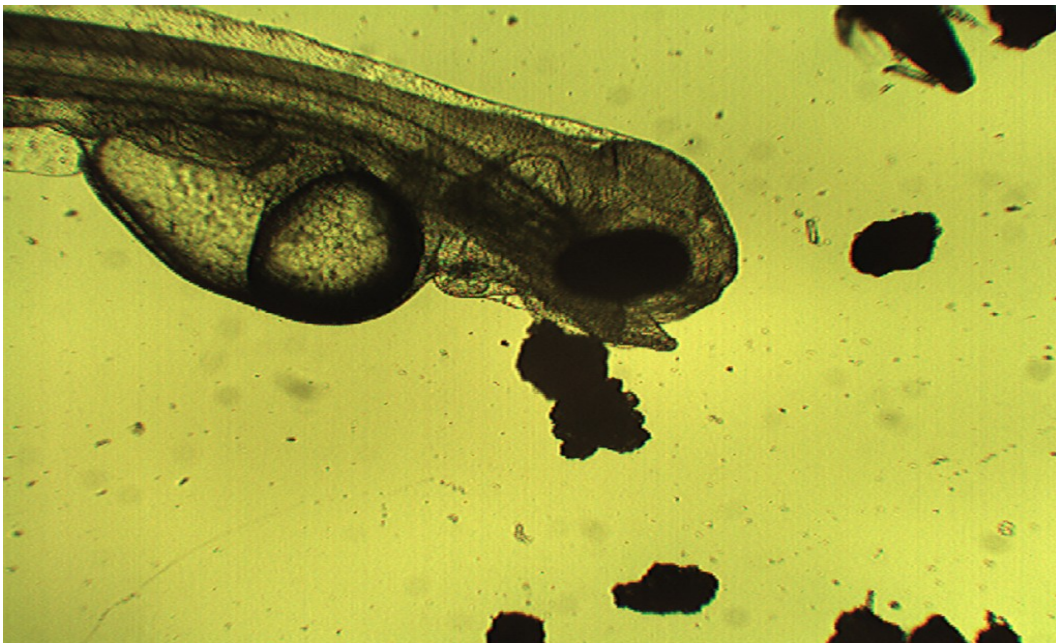


Abbildung 11: Larve mit Trockenfutter Scretting Gemma 150. Futteraufnahme ist noch nicht möglich.

Die Analyse der Biomasse erfolgte durch das Umweltlaboratorium Eurofins Agrar- und Umweltanalytik GmbH Jena. Laut Prüfbericht Nr. 2 vom 24.10.2008 (siehe Anhang) besitzt die Biomasse einen hohen Proteinanteil und ist reich an Phosphor. Größere Unterschiede zwischen den Proben treten im Mineralstoffgehalt auf (Calcium, Phosphor, Kalium). Der Fettgehalt schwankt zwischen drei und fünf Prozent. Der Anteil von Aminosäuren und ungesättigten Fettsäuren ist beachtlich.

Die Biomasse wurde stündlich in einer Menge von ca. zehn Litern in das Becken gegeben. Der Trockensubstanzgehalt in der Biomasse betrug etwa ein Prozent. Teile der nicht verbrauchten Suspension sammelten sich am Netzboden. Sie wurden mehrmals am Tag abgesaugt. Die Entwicklung der Larven vom fünften bis zum achten Tag ist in den Abbildungen 14 - 17 dokumentiert.



Abbildung 12: Larve mit Artemiennauplie, die für die Nahrungsaufnahme noch zu groß ist

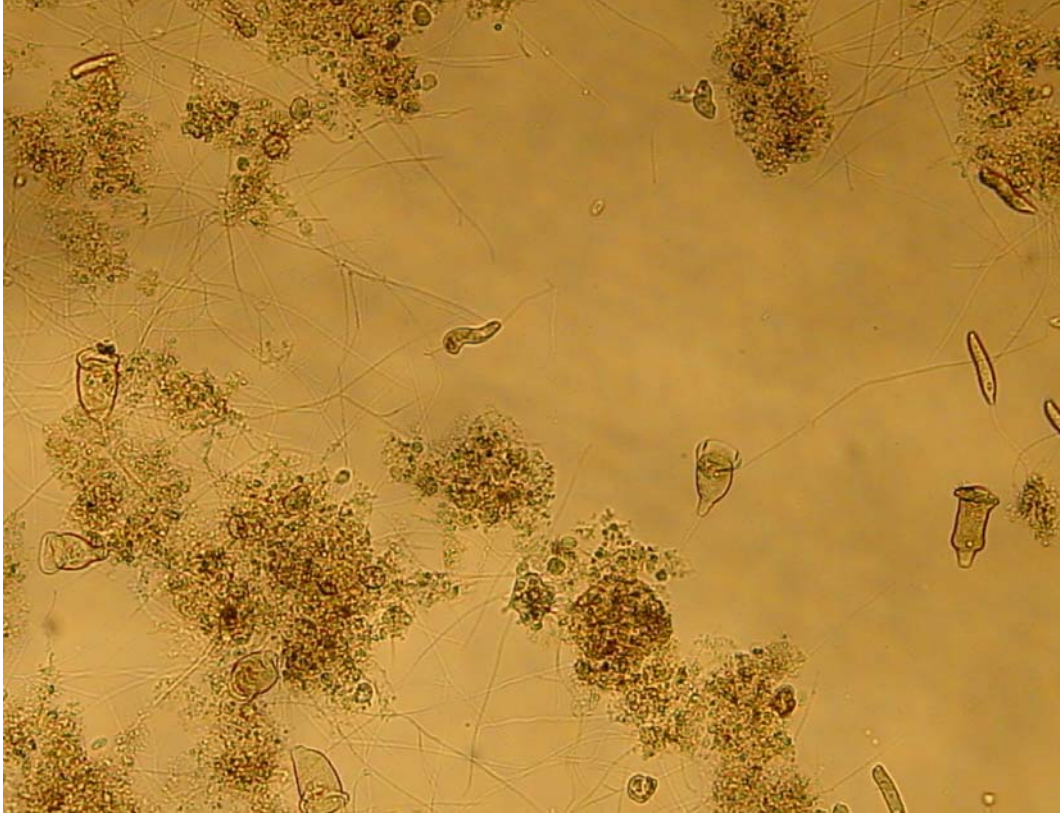


Abbildung 13: Übersicht Biomasse als Erstfutter für F2-Streifenbarschlarven, Vergrößerung 1 : 400



Abbildung 14: HSB-Larve am 5. Tag: geöffnetes Maul, Aufnahme von Biomasse



Abbildung 15: HSB-Larve am 6. Tag bei der Nahrungsaufnahme



Abbildung 16: HSB-Larve am 7. und 8. Tag: immer noch alleinige Aufnahme von Biomasse



Abbildung 17: HSB-Larve am 9. Tag: Neben der Aufnahme von Biomasse erfolgte die erste Aufnahme von Artemia-Nauplien.

Am neunten Tag nach dem Schlupf, dem 30.05.2008, wurde auf Fütterung mit Artemia-Nauplien umgestellt. Gleichzeitig wurde versucht, wieder mit Trockenfutter Scretting Gemma 150 zu füttern. Die Artemiaverfütterung erwies sich als gelungen. Das Trockenfutter wurde dagegen nur im geringen Umfang angenommen. Die Brut wurde noch weitere 14 Tage bis zum 15.06.2008 im Netzgehege gehalten (Abbildungen 18 bis 20).

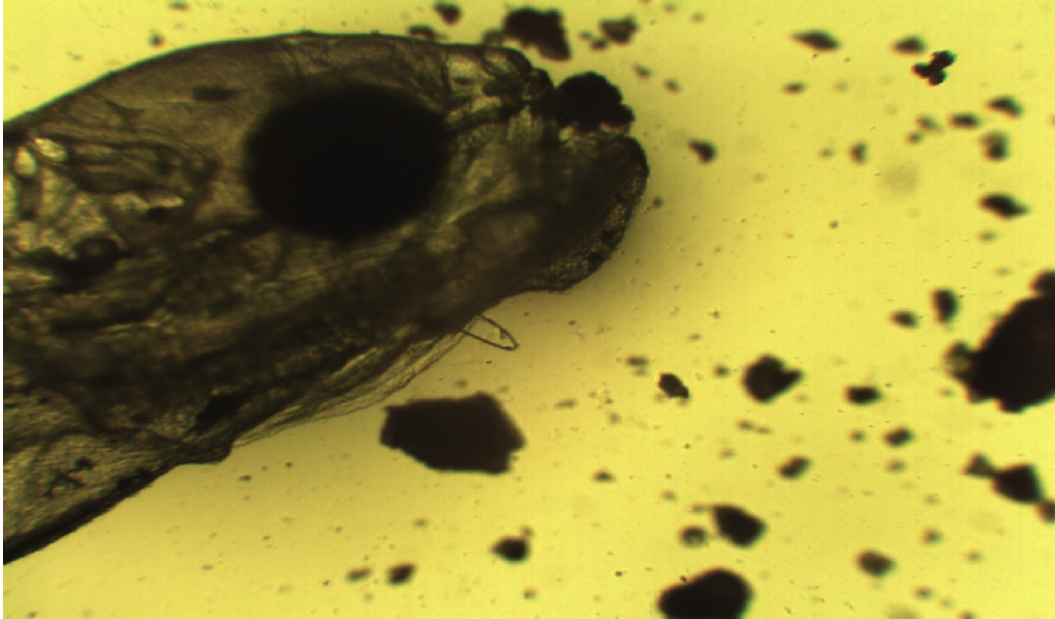


Abbildung 18: HSB-Larve am 12. Tag: erste Aufnahme von Trockenfutter (Scretting Gemma 150)



Abbildung 19: Hauptnahrung Artemia, nur in geringem Umfang Trockenfutter

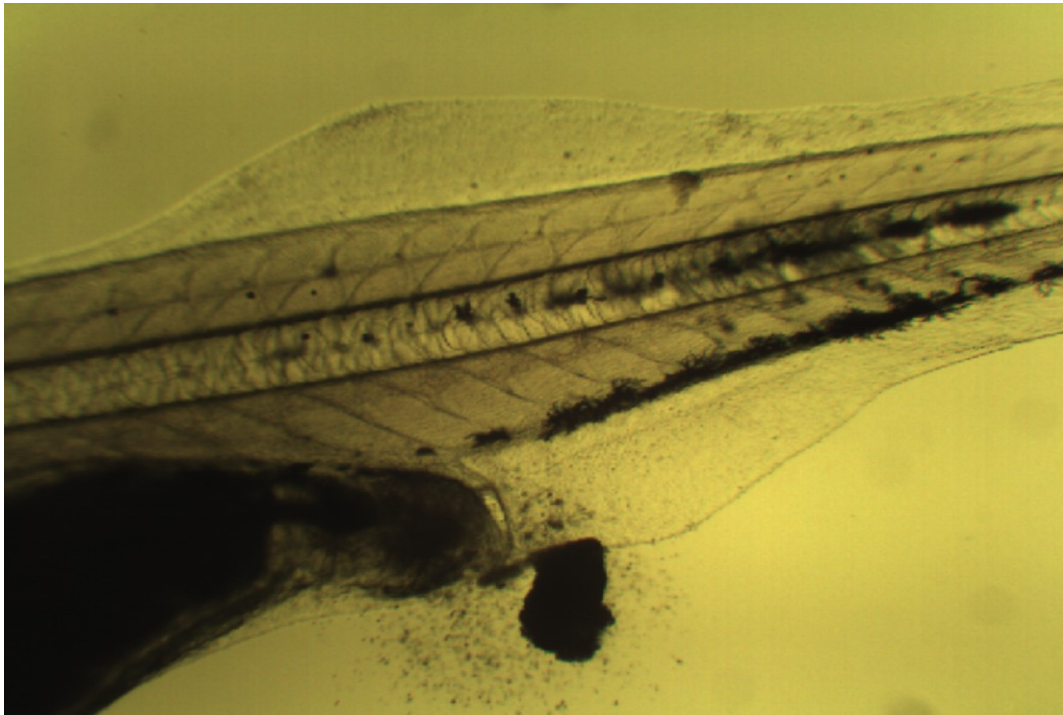


Abbildung 20: HSB-Larve am 12. Tag: deutliches Absetzen von Kot sichtbar

4.2 Aufzucht in Becken

Charge I:

Am 16.06.2008 erfolgte die Umsetzung des Gesamtbestandes in drei Becken der Glasanlage. Die Aufteilung der Fische erfolgte zu gleichen Teilen. Die Wassertemperatur betrug 25 °C und der pH-Wert 7,5. Insgesamt lagen optimale Wasserwerte vor. Schädliche oder toxische Verbindungen konnten nicht nachgewiesen werden.

Das Handling mit den Fischen gestaltete sich vor allem in den ersten Wochen äußerst kompliziert. Sie reagierten sehr empfindlich auf den mit der Umsetzung verbundenen Stress, zudem sind sie lichtempfindlich: Das plötzliche Schalten der Beleuchtung von dunkel auf hell sollte vermieden werden. Auffällig war die extreme Anfälligkeit gegenüber Stress. So konnte beispielsweise die angefütterte Brut nicht gekeschert werden, da sie bereits diese Manipulation nicht überlebte. Das erschwerte Zähl- und Wiegevorgänge, sodass die Dokumentation der Bestandsentwicklung vor allem in der Anfütterungs- und Vorstreckphase wegen der geringen Widerstandsfähigkeit der Jungfische nicht in der erwünschten Qualität erfolgen konnte.

Mit der Umsetzung erfolgte gleichzeitig die schrittweise Futterumstellung von Artemianauplien auf Futter Milkivit Perla larva in einer Körnung von 0,5 mm sowie als Zusatz rote Mückenlarven. Die Futterumstellung verlief reibungslos. Nach einer Woche wurden die Mückenlarven abgesetzt und auf Bandfütterung umgestellt.

Ab 25.06.2008 wurde auf Milkivit Perla plus 2 mm und Aqua valent 2 mm (Futtermittelwerk Beeskow) umgestellt. Nach der Umstellung auf Trockenfutter wurde teilweise stark aufkommender Kannibalismus festgestellt, welcher ab einer bestimmten Größe auch wieder sehr nachgelassen hat. Eine erste Sortierung der Fische erfolgte am 06.08.2008. Die Fraktionen wurden auf sechs Becken verteilt. Die Verwiegung ergab ein Gesamtgewicht von 11 860 Gramm und eine Stückzahl von 776 Tieren. Demnach betrug das Durchschnittsgewicht 15,3 Gramm. Die Fische waren stark auseinander gewachsen: Die gemessenen Einzelwerte streuten zwischen 23,0 und 11,7 Gramm. Die Gesamtverluste für die Aufzucht-dauer von 76 Tagen betragen 24 Stück oder 3 % des Bestandes.

Charge II:

Am 01.07.2008 wurden die Jungfische in die Glasanlage umgesetzt. Die Stückmasse der HSB wurde an diesem Tag im Durchschnitt mit ca. einem Gramm geschätzt. Ab 22.07.2008 wurde die Fütterung auf Bandfütterer umgestellt. Nennenswerte Verluste traten bis Ende August nicht auf. In der Glasanlage wurden nur noch zwei Becken mit je 50 HSB besetzt. Der gesamte Bestand wurde in das Langstrombecken 6 umgesetzt. Der Anfangsbestand betrug 6 kg/m³ Beckenwasser. Am 21.10.2008 ergab eine Probewiegung der Fische im Langstrombecken Durchschnittsstückmassen von 35 Gramm und einer Gesamtmasse von 114 kg. Ein Teil der Fische hatte Bisswunden (Abb. 21).

Auf Grund der hohen Bestandsdichte in den Glasanlagen (gegenseitiger Verbiss bzw. Springen aus dem Becken) wurde der Bestand durch Absortierung von 560 kleinen Fischen um ca. 16 kg dezimiert. Die Fische wurden auf vier Becken der Glasanlage verteilt.

In der Nacht zum 09.11.2008 kam es am Langstrombecken 6 zum Bruch eines KG-Bogens. Das gesamte Becken entwässerte und fiel nahezu trocken. 260 Fische konnten in die Glasanlage eingesetzt werden. Von diesen HSB waren per 17.11.2008 noch 110 Stück am Leben. 2 180 Fische sind bei dieser Havarie verendet.



Abbildung 21: Bisswunden an HSB-Jungfischen aus der Glasanlage

Wachstum:

Für Wachstumsberechnungen benötigt man repräsentativ erfasste Durchschnittswerte der Stückmasse. Diese Ermittlung war über den größten Zeitraum der Jungfischzucht nur mit Abstrichen möglich, da die Fische diesen Stress nicht folgenlos überstanden und mit Verlusten reagierten. Die Stückmassen konnten deshalb nicht immer mit dem nötigen Stichprobenumfang ermittelt werden und sind besonders in der Anfangsphase auch geschätzt worden. Verlässliche Ergebnisse können erst bei Fischen mit Stückmassen ab zehn Gramm erhoben werden. Für die Berechnung des Wachstums ist ebenso die Stückmasse der Brut erforderlich. Da keine entsprechenden Werte vorliegen, wurde wegen der extremen Kleinheit der Brut die Anfangsstückmasse auf ein Fünftel derjenigen von Karpfenbrut (1 mg) geschätzt und mit dem Wert von 0,2 mg angesetzt.

Tabelle 5: Wachstum der F2-Hybridstreifenbarsche aus Charge I

Datum	21.05.	06.08.	01.09.	21.09.	17.11.
Stückzahl		776	85	691	690
Gesamtmasse [g]		11860	1703	19200	43700
Stückmasse [g]	0,0002	15,3	20,0	27,8	63,3
Wachstumsrate p/d [%]		13,79	1,04	1,64	1,45
Wachstumsrate p/d [%] Mittel für 180 d					7,04

Tabelle 6: Wachstum der F2-Hybridstreifenbarsche aus Charge II

Datum	01.06.	01.07.	01.09.	25.09.	21.10.
Stückzahl			79	3010	
Gesamtmasse [g]			935	63210	114000
Stückmasse [g]	0,0002	1,0	11,8	21,0	35,0
Wachstumsrate p/d [%]		28,39	3,99	2,39	1,96
Wachstumsrate p/d [%] Mittel für 142 d					8,50

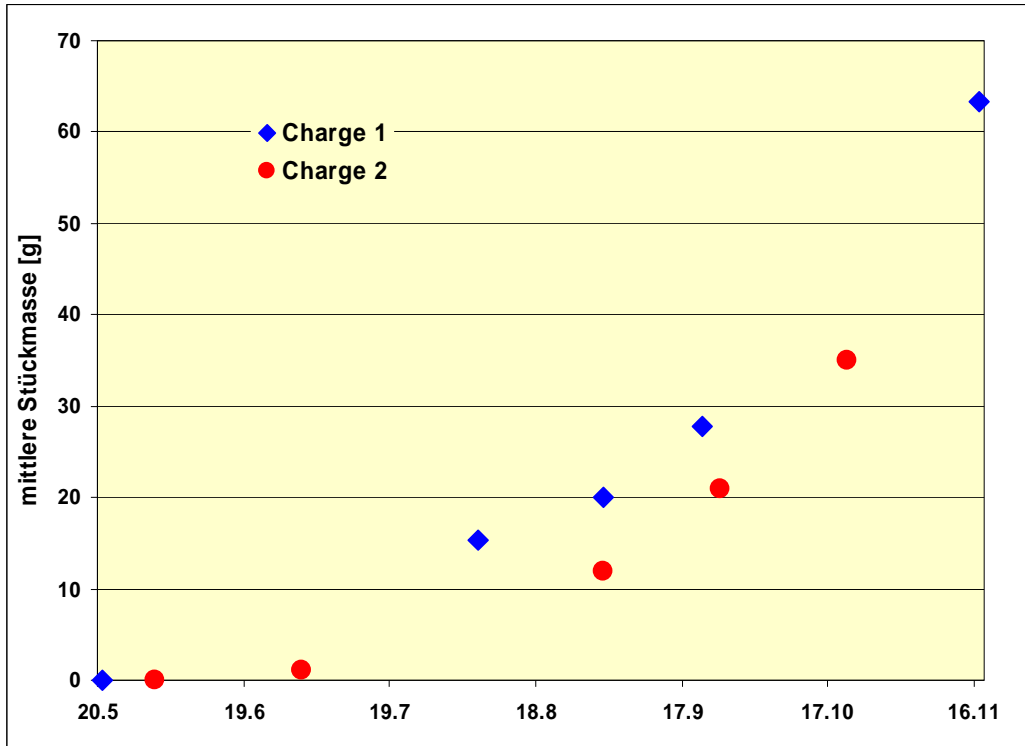


Abbildung 22: Wachstumsverlauf bei F2-Hybriden von HSB bei der Aufzucht in der Anlage Thierbach

In den Tabellen 5 und 6 sind die Stückmassenentwicklungen festgehalten, die grafische Darstellung erfolgt in Abbildung 22. Insgesamt wurden in diesem erstmals gelungenen Aufzuchtversuch durchaus zufrieden stellende Zuwachsraten erzielt.

4.3 Aufzucht in Teichen

Von der Brut der Charge II wurden am 20.06.08 vier Karpfen-Brutteiche von je 0,25 ha Fläche besetzt. Diese wurden nach ordnungsgemäßer Vorbereitung mit Bodenbearbeitung und Grünansaat am 19.05.08 mit je 8 250 Stück K_0 (33 000 St./ha) besetzt. Zusätzlich erfolgte der Besatz eines 1 ha großen Teiches, der gesondert mit Bodenbearbeitung und Grünansaat speziell für die HSB-Brut vorbereitet wurde.

Die Bereitstellung der Brut aus Charge II erfolgte ungezählt aus dem Gazekäfig der Aufzuchteinrichtung in Thierbach, da ein Keschern zum Tod der Fische führte. Die Brut konnte deshalb nur ungezählt abgeschöpft werden. Der Transport nach Königswartha erfolgte im Plastikbeutel unter Sauerstoffatmosphäre. Beim Besatz wurde die Fischbrut nur nach Augenmaß ausgeschöpft und verteilt.

Die K₀-Teiche wurden mit Bandfütterern zur Futtermittellieferung der Karpfen versehen. Bei Probe- wiegungen konnten teilweise einzelne HSB Fische gefangen bzw. beobachtet werden (Abb. 23).



Abbildung 23: F2-HSB aus Teichaufzucht, aufgenommen am 06.08.08. Länge etwa 8 cm

Bei der Abfischung der vier K₀-Teiche im Oktober konnten bis auf sehr wenige Einzelexemplare keine Hybridstreifenbarsche gefangen werden. Dagegen konnten aus dem Teich mit alleinigem HSB-Besatz am 23.09.08 1 342 Fische mit einer Gesamtmasse von 16 kg abgefischt werden. Die mittlere Stückmasse betrug etwa 13 Gramm. Obwohl Fütterungsautomaten aufgestellt waren, gingen die Fische nicht ans Futter, sondern ernährten sich von Naturnahrung. Über die Aufzuchtverluste in diesem Teich lassen sich keine Angaben machen, da der Brutbesatz ungezählt in den Teich kam und die Stückzahl auch nicht geschätzt werden konnte. Gegenüber der Aufzucht in der Warmwasseranlage Thierbach war das Wachstum der im Teich aufgezogenen HSB jedoch deutlich geringer. Die Fische der Charge II waren in der Anlage am 25.09., also nur zwei Tage später, mit einer mittleren Stückmasse von 21 Gramm etwas über die Hälfte schwerer als die im Teich aufge-

zogenen Fische. Eine Ursache für das Zurückbleiben könnte in den im Vergleich der letzten zehn Jahre deutlich kühleren Wassertemperaturen zu suchen sein. Die mittleren Teichwassertemperaturen 2008 erreichten in der Rangliste der letzten zehn Jahre nur die vorletzte Stelle. Möglicherweise war aber auch die Besatzdichte im Teich zu gering, so dass die für optimales Wachstum erforderliche Zooplankton-Anschlussnahrung mit Beutefischen oder Trockenfutter fehlte.



Abbildung 24: F2-Hybriden in der Glasanlage, aufgenommen am 31.07.2008

5 Genetik

Eine wichtige Fragestellung war die Charakteristik der Aufspaltung sowie die Zuordnung der F2-Nachkommen zu den Phänotypen der Ausgangsarten bzw. Elternfische in Verbindung mit einer molekulargenetischen Untersuchung.

Die genetische Untersuchung der Hybridstreifenbarsche erfolgte durch das Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei in Berlin, Abteilung Aquakultur und Ökophysiologie.

5.1 Material und Methoden

Im Ergebnis einer umfassenden Literaturrecherche konnte eine Arbeit von ROSS et al. (2004) ermittelt werden, die die Entwicklung von insgesamt neun polymorphen Mikrosatelliten-Markern für die Elternschaftsanalyse bei Streifenbarsch-Hybriden beschreibt. Sechs dieser vorgestellten Mikrosa-

telliten wiesen Weißbarsch- bzw. Streifenbarsch-spezifische, sich nicht überlappende Allelgrößen auf (Tabelle 8).

In der Originalarbeit wurden jedoch nur zehn Individuen der jeweiligen Fischart untersucht. Deshalb wurde zunächst an vier F1-Hybridelterntieren überprüft, ob sich diese Mikrosatelliten tatsächlich zur Artidentifizierung eignen. Dazu wurden die genomische DNA aus Muskelproben unter Verwendung des peqGOLD Tissue DNA Mini Kits (Peqlab Biotechnologie) isoliert und die sechs Loci mittels PCR amplifiziert. Die Reaktionsansätze (15 µl) setzten sich zusammen aus: 1,5 µl eines 10 x PCRPuffers mit (NH₄)₂SO₄ (MBI-Fermentas), 1,2 µl von 25 mM MgCl₂, 1,2 µl von 1,25 mM dNTPs, 0,3 µl von jedem Primer (10 pmol/µl), 3 µl genomischer DNA, 0,1 µl der Taq DNAPolymerase (5 Einheiten/µl; MBI-Fermentas) und sterilem Wasser. Das PCR-Programm bestand aus einer anfänglichen Denaturierung bei 94 °C für 3 min, gefolgt von 35 Zyklen mit Denaturierung bei 94 °C für 30 sec, Annealing bei 47, 50, 52 oder 57 °C für 30 sec, Extension bei 72 °C für 1 min sowie einer abschliessenden Extension bei 72 °C und 10 min Dauer (siehe auch Originalprotokolle in ROSS et al. 2004). Die Bestimmung der Allelgrößen erfolgte mittels Kapillarelektrophorese auf einem CEQ 8000 (Beckman Coulter) unter Verwendung fluoreszenzmarkierter Primer und interner Größenstandards. Nach erfolgreichem Eignungstest wurden die Genotypen der sechs Mikrosatelliten an zwei Chargen F2-Hybriden (Charge I: 74 Individuen; Charge II: 76 Individuen) bestimmt. Die beobachteten Genotypen wurden für jeden Mikrosatelliten-Locus separat, getrennt nach Chargen und nach vortypierten Phänotyp-Kategorien (Weißbarsch, Hybriden, Streifenbarsch) mit den theoretisch nach den Mendelschen Vererbungsregeln zu erwartenden Zahlen- bzw. Prozentverhältnissen von 1 : 2 : 1 bzw. 25 % : 50 % : 25 % verglichen (Chi-Quadrat-Test in MS Excel 2000). Dazu wurden am 01.09.2008 aus beiden Chargen Jungfische zur Analyse entnommen. Die Fische wurden den drei Phänotypen Streifenbarsch, Weißbarsch und Hybride (Elterntyp) anhand optischer Merkmalsausprägung zugeordnet (Tabelle 8; Abbildung 25).

Eventuelle Kopplungen zwischen den einzelnen Mikrosatelliten wurden für alle Loci-Paare mittels GenePop (ROUSSET 2008) geprüft.

Tabelle 7: Daten der zur genetischen Untersuchung entnommenen Fische der Chargen I und II

Phänotyp	Stückzahl		Anteil [%]		Masse [g]		Stückmasse [g]	
	Charge I	Charge II	Charge I	Charge II	Charge I	Charge II	Charge I	Charge II
Streifenbarsch	9	11	10,6	13,9	203	165	22,6	15,0
Weißbarsch	30	27	35,3	34,2	480	222	16,0	8,2
Hybride (Elterntyp)	46	41	54,1	51,9	1020	548	22,2	13,4
gesamt	85	79	100	100	1703	935	20,0	11,8

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Eignung der getesteten Mikrosatelliten

Fünf der sechs getesteten Mikrosatelliten erwiesen sich für die Differenzierung zwischen den beiden Arten und ihrer Hybriden als geeignet (Tabelle 8). Ein Mikrosatellit (Hsb7C) wies beim Streifenbarsch ein Null-Allel auf, das bei der PCR mit den Originalprimern nicht amplifiziert werden kann. Dadurch ist es an diesem Locus nicht möglich, zwischen einem heterozygoten Hybriden mit diesem Allel (Genotyp 330 - ?) und einem homozygoten "reinen" Weißbarsch (Genotyp 330 - 330) zu unterscheiden. Infolgedessen konnte dieser Mikrosatellit nicht für die Artidentifizierung herangezogen werden.

Da kein Referenzmaterial von allen Elterntieren zur Verfügung stand, traten bei den F2-Nachkommen an einigen Mikrosatelliten „neue“ Allele auf, die sich jedoch ebenfalls den beiden Elternarten Weiß- bzw. Streifenbarsch zuordnen ließen.

Tabelle 8: Allelgrößen an sechs Mikrosatelliten-Loci des Weiß- (W) bzw. Streifenbarsches (S)

Quelle	<i>Hsb1C</i>		<i>Hsb6C</i>		<i>Hsb14C</i>		<i>Hsb2C</i>		<i>Hsb5B</i>		<i>Hsb7C</i>	
	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S	W	S
ROSS et al. (2004) ^a	263-273	253-257	299-317	371->400	180-182	191-238	242	246-252	230-238	224-228	325-330	263-313
F1-Eltern (n=4)	265-267	255-259	311-313	374-498	184	193	242	250-252	236-238	224-228	330	310? ^b
Neu bei F2	275		307		182							

^a untersucht wurden zehn Individuen je Fischart.

^b Null-Allel von unbekannter Größe, das in der PCR nicht amplifiziert werden konnte.

5.2.2 Genotypisierung der F2-Nachkommen

In allen Phänotyp-Kategorien beider Chargen finden sich an allen Mikrosatelliten alle drei Genotyp-Gruppen (Weißbarsch, Streifenbarsch, Hybriden). Einzige Ausnahme ist der Mikrosatellit Hsb2C, wo bei beiden Chargen in der Phänotyp-Kategorie Streifenbarsch kein Weißbarsch-Genotyp festgestellt werden konnte (Anhang 3, Tabellen 1 und 2). In keiner der beiden Chargen gab es Individuen, die an allen fünf Mikrosatelliten nur Weißbarsch- oder nur Streifenbarsch-Genotypen aufwiesen. Durchgängig Hybrid-Genotypen (markiert durch rote Schrift) wurden jedoch bei drei Individuen der Charge I (S9, H64 und H69) sowie vier Individuen der Charge II (S1/2, S6/2, W28/2 und H56/2) gefunden (Anhang 3, Tabellen 1 und 2).

Bis auf wenige Ausnahmen weichen die an den einzelnen Mikrosatelliten-Loci beobachteten Zahlen- bzw. Prozentverhältnisse nicht von den nach den Mendelschen Regeln theoretisch zu erwartenden 1 : 2 : 1 bzw. 25 % : 50 % : 25 % ab (Tabellen 9 und 10; signifikante Abweichungen in roter Schrift). Gepoolt über die drei Phänotyp-Kategorien ergeben sich in beiden Chargen aus diesen

Einzelfällen signifikante Abweichungen an je drei Mikrosatelliten-Loci, wovon aber nur der Locus Hsb2C in beiden Chargen betroffen ist.

Tabelle 9: Charge I: Verteilung der Genotypen W, H und S an den einzelnen Mikrosatelliten in den drei Phänotyp-Kategorien und gepoolt nach Anzahl (n) und Prozent (%)

Phänotyp	Genotyp	Hsb1C		Hsb6C		Hsb14C		Hsb2C		Hsb5B	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Streifenbarsch (n=9)	W	2	22,2	1	11,1	1	11,1	0	0,0	1	11,1
	H	4	44,4	6	66,7	6	66,7	8	88,9	7	77,8
	S	3	33,3	2	22,2	2	22,2	1	11,1	1	11,1
Weißbarsch (n=30)	W	8	26,7	4	13,3	9	30,0	1	3,3	10	33,3
	H	14	46,7	19	63,3	17	56,7	19	63,3	15	50,0
	S	8	26,7	7	23,3	4	13,3	10	33,3	5	16,7
Hybriden (n=35)	W	11	31,4	5	14,3	9	25,7	3	8,6	6	17,1
	H	16	45,7	26	74,3	18	51,4	16	45,7	25	71,4
	S	8	22,9	4	11,4	8	22,9	16	45,7	4	11,4
Total (n=74)	W	21	28,4	10	13,5	19	25,7	4	5,4	17	23,0
	H	34	45,9	51	68,9	41	55,4	43	58,1	47	63,5
	S	19	25,7	13	17,6	14	18,9	27	36,5	10	13,5

Tabelle 10: Charge II: Verteilung der Genotypen W, H und S an den einzelnen Mikrosatelliten in den drei Phänotyp-Kategorien und gepoolt nach Anzahl (n) und Prozent (%)

Phänotyp	Genotyp	Hsb1C		Hsb6C		Hsb14C		Hsb2C		Hsb5B	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Streifenbarsch (n = 11)	W	1	9,1	4	36,4	2	18,2	0	0,0	1	9,1
	H	8	72,7	5	45,4	5	45,4	8	72,7	8	72,7
	S	2	18,2	2	18,2	4	36,4	3	27,3	2	18,2
Weißbarsch (n = 27)	W	7	25,9	4	14,8	2	7,4	2	7,4	4	14,8
	H	17	63,0	18	66,7	14	51,9	18	66,7	18	66,7
	S	3	11,1	5	18,5	11	40,7	7	25,9	5	18,5
Hybriden (n = 38)	W	8	21,6	8	21,1	2	5,3	4	10,5	10	26,3
	H	23	62,2	19	50,0	17	44,7	18	47,4	20	52,6
	S	6	16,2	11	28,9	19	50,0	16	42,1	8	21,1
Total (n = 76)	W	16	21,3	16	21,1	6	7,9	6	7,9	15	19,7
	H	48	64,0	42	55,2	36	47,4	44	57,9	46	60,6
	S	11	14,7	18	23,7	34	44,7	26	34,2	15	19,7

In der Gesamtschau zeigen beide Chargen der F2-Nachkommen hochsignifikante Abweichungen von der zu erwartenden Genotypverteilung mit einem Überschuss an Hybrid-Genotypen und einem Mangel an Weißbarsch-Genotypen (Tabelle 11).

Tabelle 11: Gesamtverteilung der Genotypen W, H und S über alle fünf Mikrosatelliten nach Anzahl (n) und Prozent (%) sowie getrennt nach Chargen

Genotyp	Charge I		Charge II	
	n	%	n	%
W	71	19,2	59	15,6
H	216	58,4	216	57,0
S	83	22,4	104	27,4

Die Mehrzahl der Mikrosatelliten-Loci wird unabhängig voneinander vererbt. Signifikante Abweichungen davon gibt es nur für die Mikrosatelliten-Paare Hsb5B und Hsb6C (beide Chargen) sowie Hsb5B und Hsb1C (Charge I) (genotypic linkage disequilibrium test; GENEPOP 4.0).



Abbildung 25: Phänotypen der F2-Generation. Oben Weißbarsch, Mitte HSB-Typ, unten Streifenbarsch

6 Diskussion und Schlussfolgerungen

Mit den Versuchen zur Überprüfung der Reproduktion von Hybridstreifenbarschen sollte die Vermehrungsfähigkeit sowie die Aufzucht von Brut und Jungfischen in der Praxis geklärt werden. Es wurden sowohl die künstliche Vermehrung unter kontrollierten Warmwasserbedingungen als auch die Vermehrung unter natürlichen Bedingungen in Teichen getestet.

Unter Warmwasserbedingungen gelang es, die Gewinnung von Geschlechtsprodukten, deren Erbrütung sowie die anschließende Anfütterungs- und Aufzuchtphase in zwei Durchgängen zu wiederholen. Die dabei gemachten Erfahrungen lassen in Zukunft eine Reihe weiterer Verbesserungsmöglichkeiten erwarten. Im Gegensatz zu den meisten Warmwasserfischarten ist die Temperatursumme, die zur Vollreife der HSB-Laichfische führt, relativ niedrig. Die Ovulation scheint sogar an niedrige Wassertemperaturen gebunden zu sein. Dies ist mit der anadromen Lebensweise der Ausgangsarten erklärlich, die zum Laichen im Frühjahr die Oberläufe der Flüsse aufsuchen. Sowohl für den Weißbarsch als auch für den Streifenbarsch werden unter natürlichen Bedingungen Laichtemperaturen von 13 bis 19,5 °C angegeben (WOODS 2005). Eine weitere Optimierung des Temperaturregimes in Richtung niedrigerer Temperaturen bei der Vorreife der Laichfische ebenso wie bei der Erbrütung führt mit hoher Wahrscheinlichkeit zu deutlich besseren Ergebnissen und sollte bei einem Anschlussprojekt Berücksichtigung finden.

Eine Vermehrung von F1-Hybriden ist also unter Bruthausbedingungen möglich. Damit erscheint eine Brutversorgung unter europäischen Bedingungen ohne Haltung der Ausgangsarten grundsätzlich denkbar. Eine Einführung von Hybridstreifenbarschen als mögliche Fischart für die sächsische Binnenfischerei ist damit nicht mehr ausgeschlossen. Primär sollten dazu in weiteren Untersuchungen die Biotechnologien für die Aufzucht in technischen Aquakulturanlagen weiterentwickelt und optimiert werden.

Im Gegensatz zur erfolgreichen künstlichen Vermehrung haben sich Hybridstreifenbarsche in mehrjährigen Versuchen trotz guter Gonadenentwicklung unter natürlichen Bedingungen in Teichen bei unterschiedlichsten Besatzdichten nicht vermehrt. Die besonderen Ansprüche an das Laichhabitat, kiesige Untergründe, Strömung, vor allem aber die vergleichsweise niedrige Laichtemperatur geben auch nach den vorliegenden amerikanischen Untersuchungen eine relativ hohe Sicherheit, dass sich HSB unter Teichbedingungen auch in Mitteleuropa wahrscheinlich nicht erfolgreich reproduzieren können. Befürchtungen über eine unkontrollierte Vermehrung bei der Produktion in Teichen scheinen daher nach dem gegenwärtigen Stand der Untersuchungen unbegründet zu sein. Selbst wenn eine Vermehrung unter bestimmten Rahmenbedingungen nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden kann, wie die Ergebnisse von MÜLLER-BELECKE & ZIENERT (2006) belegen, ist eine regelmäßige, in jedem Frühjahr stattfindende Vermehrung von Hybridstreifenbarschen noch weniger wahrscheinlich als beim Karpfen (*Cyprinus carpio*). Damit ist eine selbständige und invasive Ausbreitung aufgrund unkontrollierbarer Vermehrung in natürlichen Gewässern mit allen denkbaren negativen Einflüssen auf die heimische Wildfischfauna höchst unwahrscheinlich. Selbst bei strengs-

ter Anwendung der Entscheidungskriterien der Verordnung (EG) Nr. 708/2007 des Rates vom 11. Juni 2007 über die Verwendung nicht heimischer und gebietsfremder Arten in der Aquakultur steht auch einer möglichen Teichaufzucht von HSB aus Gründen des Schutzes der Biodiversität kaum etwas entgegen. Das nationale Recht ließe im Übrigen gegenwärtig eine Teichaufzucht ohnehin zu. HSB könnten deshalb zukünftig in Teichen als Alternative zum Zander aufgezogen werden. Streifenbarschhybriden hätten, bei ähnlich hoher Produktqualität, bei der Teichaufzucht gegenüber dem Zander eine Reihe von Vorteilen.

Hybridstreifenbarsche lassen sich unter intensiven Haltungsbedingungen in Teichen aufziehen und sind unproblematisch an Trockenfutter zu gewöhnen. Nach den Erkenntnissen eines Vorläuferprojekts sind die Aufzuchtverluste von HSB aller Altersstufen in Teichen außerordentlich gering (GOTTSCHALK & PFEIFER 2004; FÜLLNER et al. 2007). Wenn für eine mögliche Teichaufzucht künftig ausschließlich Nachfolgenerationen von HSB-Laichfischen aus kontrollierten Bruthausbedingungen eingesetzt werden könnten, ist z. B. die Gefahr der Übertragung von Fischkrankheiten praktisch nicht vorhanden.

Eine offenbar problematische Phase der Brutaufzucht unter den Bedingungen technischer Fischzuchtanlagen ist die Anfütterung der winzigen Brut. Die im Bruthaus erzeugten F2-Hybriden waren noch kleiner, als es Literaturangaben für Palmetto- oder Sunshine-Bass erwarten ließen. Trotz der extremen Kleinheit der Brut von unter zwei Millimeter gelang es jedoch durch die Verfütterung einer innovativen Biomasse, die Larven bis zur Aufnahme von Artemia-Nauplien und anschließender Umstellung auf Trockenfutter vorzustrecken. Damit konnte auch dieser anspruchsvollste Abschnitt der Jungfischaufzucht erfolgreich gestaltet werden. Nach der Umstellung auf Trockenfutter wuchsen die Fische mit guten Zuwachsraten und erlitten dabei nur moderate Verluste. Probleme bereiteten am Anfang der Aufzucht vor allem die hohe Stressanfälligkeit und das starke Auseinanderwachsen der Fische. Mit zunehmender Größe konnten auch viele Bissverletzungen festgestellt werden, die möglicherweise auf Sozialstress zurückzuführen sind und mit veränderten Besatzdichten reduziert werden können.

Im Gegensatz zur Vermehrung ist die Aufzucht von angefügerten Larven in Teichen prinzipiell möglich. Dabei erwies sich in einem ersten Versuch die Variante einer Bikultur mit Karpfenbrut als nicht praxistauglich. In einem demgegenüber ausschließlich mit HSB-Larven besetzten Teich konnten dagegen Ende September Fische mit einer mittleren Stückmasse von 13 Gramm abgefischt werden. Das Wachstum der Teich-HSB war gegenüber den in der Warmwasseranlage aufgezogenen Jungfischen allerdings deutlich geringer. Über die Aufzuchtverluste können wegen der ungezählten Besatzmenge keine Angaben gemacht werden.

Bei der genetischen Untersuchung zeigte sich, dass Phänotyp und Genotyp der Fische nicht übereinstimmen. Eine „Rückzüchtung“ zu den reinen Ausgangsarten nach dem phänotypischen Zeichnungsmuster kann deshalb nicht erfolgen. Eine Selektion hin zu den reinen Ausgangsarten mittels

genetischer Marker (z.B. Mikrosatelliten) wäre zwar theoretisch möglich (wenn je Chromosom mindestens ein artspezifischer Marker zur Verfügung stünde), erscheint aus Zeit- und Kostengründen aber wenig praktikabel. Der bei der F2-Generation beobachtete generelle Mangel an Weißbarsch-Genotypen könnte auf eine geringere Vitalität dieser Art im Vergleich zu den Hybriden und Streifenbarschen unter Aquakulturbedingungen hindeuten. Deshalb sollte nach gegenwärtigem Stand ein möglichst homogener mischerbiger Bestand selektiert werden, der zur weiteren Zuchtarbeit verwendet wird. Weil amerikanische und israelische Spezialisten von der Erzeugung von F2-Hybriden abraten, sind begleitende Leistungsprüfungen zum Erkennen von Vitalitätsverlusten der Folgegenerationen in diesem Zusammenhang unbedingt erforderlich.

7 Zusammenfassung

Es werden Untersuchungen zur Erzeugung von F2-Hybriden aus Gebrauchshybriden von *Morone saxatilis* X *M. chrysops* (Palmettobarsch) beschrieben. Die Gewinnung von Brut erfolgte in einer Warmwasseranlage. Die Aufzucht der unter 2 mm kleinen F2-HSB-Brut gelang mittels einer innovativen Brutfütterungstechnologie, aber auch unter Teichbedingungen. Die weitere Aufzucht der F2-Hybriden in einer Aquakulturkanalanlage war relativ unproblematisch. Die in Teichen aufgezogenen einsömmrigen F2-Hybriden blieben gegenüber ihren Geschwistern in der technischen Anlage deutlich zurück. Palmettobarsche vermehrten sich unter Teichbedingungen in mehrjährigen Versuchen bei unterschiedlichen Besatzdichten, in Mono- oder Polykulturen mit anderen Fischarten nicht. Die F2-Generation spaltete phänotypisch deutlich in die Ausgangsarten und Hybriden auf. Bei der genetischen Untersuchung zeigte sich, dass Phänotyp und Genotyp der Fische nicht übereinstimmen.

Investigations to generate F2-hybrids from F1-parents of *Morone saxatilis* X *M. chrysops* (Palmetto-bass, HSB) are described. The exploitation of viable eggs happened in a warm water circulation system. Rearing of the small, less than 2 mm fry succeeded by using an innovative feeding technology, but under pond-conditions too. The further rearing of the F2-hybrids in a warm water circulation system was relatively uncomplicated. The F2-HSB-fingerlings that was reared in ponds, remains smaller than its siblings in the technical circulation system. Palmetto-basses hadn't propagate naturally under pond conditions by different stocking densities, in mono- or poly-culture with other fish species. F2-generation phenotypic split in the outgoing species and hybrids. Genetically investigations showed, that phenotype was not conform with the genotype of the fishes.

8 Literaturverzeichnis

- ANONYMUS 2004: Why Stock Hybrid Striped Bass. www.ibnature.com/PDF/HSB.pdf
- CARLBERG, J. M., MASSINGILL, M. J. & VAN OLST, J. C. (2007): Twenty-One Years of Hybrid Striped Bass Culture in the U.S. (1987-2007)
www.strippedbassgrowers.org/Publications/HSB2007FINAL.ppt
- FÜLLNER, G., T. GOTTSCHALK & M. PFEIFER (2007): Experiments for the production of hybrid striped bBass in in-pond circulation systems. *Aquaculture International* 15: 241-248
- GOTTSCHALK & M. PFEIFER (2004): Abschlussbericht „Studie zu Möglichkeiten der Einführung neuer Fischarten als Objekte der Aquakultur in Sachsen“. Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft: 52 S.
- HODSON, R. G. (1989): Hybrid Striped Bass, Biology and Life History. Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication No. 300. <http://aquanic.org/beginner/hsb/hsb.htm>
- HODSON, R. G. & M. HAYES (1989 a): Hybrid Striped Bass, Hatchery Phase. Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication No. 301. <http://aquanic.org/beginner/hsb/hsb.htm>
- HODSON, R. G. & M. HAYES (1989 b): Hybrid Striped Bass, Pond Production of Fingerlings. Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication No. 302.
<http://aquanic.org/beginner/hsb/hsb.htm>
- HODSON, R. G., CLARK, R. W., HOPPER, M. S., MCGINTY, A.S., WEBER, G. M. & SULLIVAN, C. V. (1999): Reproduction of Domesticated Striped Bass: Commercial Mass Production of Fingerlings. *UJNR Aquaculture*. 28th Panel Proceedings, 23-32
- MÜLLER-BELECKE, A. & s. ZIENERT (2006): Aufzucht von Streifenbarschhybriden in der Aquakultur. *Schriften des Instituts f. Binnenfischerei*, Bd. 20, 70 S.
- MÜLLER-BELECKE, A., M. BÖHM & s. ZIENERT (2007): Untersuchungen zum Vermehrungspotential von Streifenbarschhybriden (*Morone saxatilis* x *M. chrysops*). *Fischer & Teichwirt*. 58 (5): 168-170
- KERBY, H. J. & HARRELL, R. M. (1992): Hybridisation, Genetic Manipulation, and Gene Pool Conservation of Striped Bass. Chapter 11, 159-190, in: Harell R. M., Kerby J. H. & Minton R. V.: *Culture and Propagation of Striped Bass and its Hybrids*. Striped Bass Committee, Southern Division, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, University of Maryland Center for Environmental and Estuarine Contribution No. 2132
- LUDWIG, G. M. (2004): Hybrid Striped Bass: Fingerling Production in Ponds. Southern Regional Aquaculture Center, SRAC Publication No. 302. <http://aquanic.org/beginner/hsb/hsb.htm>
- NEAL, J. W., R. L. NOBLE and J. A. RICE (1999): Fish Community Response to Hybrid Striped Bass Introduction in small Warmwater Impoundments. *North American Journal of Fisheries Management* (19): 1044-1053.
- ROSS, K., WANG, X., O'MALLEY, K. G., GATLIN III, D. M., GOLD, J. R. (2004). Microsatellite DNA markers for parental assignment in hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *Morone chrysops*). *Molecular Ecology Notes* 4: 156-159.
- ROUSSET, F. (2008). GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources* 8: 103-106.

- STEFFENS, W., H. JÄHNICHEN & F. FREDRICH (1990): Störe als Objekte der Aquakultur in Mitteleuropa. Fortschritte der Fischereiwissenschaft 9: 31-40
- WOODS, L. C. (2005): Striped Bass and Hybrid Stripes Bass Culture. American Fisheries Society Symposium 46: 339-353
- YEAGER, D. M., J. E. VAN TASSEL & C. M. WOOLEY (1992): Collection, Transportation, and Handling of Striped Bass Brood Stock. in: Harell R. M., Kerby J. H. & Minton R. V.: Culture and Propagation of Striped Bass and its Hybrids. Striped Bass Committee, Southern Division, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, University of Maryland Center for Environmental and Estuarine Contribution No. 2132
- ZIENERT, S. & S. HEIDRICH (2005): Aufzucht von Zandern in der Aquakultur. Schriften des Instituts f. Binnenfischerei 18: 60 S.

9 Anhang

Teil 1 Analyse Biomasse

Teil 2 Wasserwerte Erbrütungs- und Anfütterungsphase

Teil 3 Genetik

Teil 4 Verlaufsprotokoll künstliche Vermehrung 2007

Bericht Nr. 2

**Entwicklung eines innovativen, energieautarken Verfahrens zur Gewinnung
von proteinreichen Tierfuttermitteln auf mikrobieller Basis aus
energieabgereicherten NAWAROS**

Auftraggeber: Busse GmbH
Zaucheweg 6
04316 Leipzig

Projektleiter: Dr. Bellmann
Tel: 0172 5202292
Dr.BellmannLeipzig@yahoo.de

Auftragnehmer: EUROFINS-AUA GmbH Jena, Löbstedter Str. 78, 07749 Jena

Bearbeiter: Dr. Thomas Günther
Tel: 03641 4649-82
E-Mail: ThomasGuenther@eurofins.de

Berichtsumfang: 10 Seiten mit 10 Tabellen

Jena, den 24.10.2008

Dr. Thomas Günther

Aufgabenstellung

Im Rahmen von laboranalytischen Begleituntersuchungen sollten ausgewählte Fragestellungen zur Qualität und zur Unbedenklichkeit eines Tierfuttermittels fortgeführt werden.

Der vorliegende Bericht umfasst Ergebnisse zu folgenden Arbeitspunkten:

1. Stoffliche Zusammensetzung und tierernährungsrelevante Inhaltsstoffe von Retentaten der Mikrofiltration
2. Anzucht und Vermehrung einer Bacillus-Mischkultur, Erfassung des zellulären Fettsäurespektrums
3. Keimgehalt der Probe „Salzwasser“

Material und Methoden

Stoffliche Zusammensetzung und Inhaltsstoffe von Retentaten

Die Erfassung des Nährstoff- und Energiegehaltes der zu untersuchenden Proben erfolgte nach den einschlägigen DIN-Normen bzw. nach Vorgaben und Empfehlungen des VDLUFA. Die verwendeten Analysemethoden sind in Tab. 1 aufgeführt.

Als Grundparameter wurden Trockensubstanzgehalt und Glühverlust bestimmt. Außerdem wurden die Makronährstoffe in Form von Gesamtgehalten sowie ausgewählte Aminosäuren, Kohlenhydrate und das Fettsäuremuster analysiert.

Anzucht und Vermehrung einer Bacillus-Mischkultur

Durch den Auftraggeber wurde eine flüssige Bakterien-Mischkultur bereitgestellt, die laut Spezifikation aus vier Bacillus-Stämmen zusammengesetzt war:

- Bacillus subtilis CM 4
- Bacillus subtilis DSM 10
- Bacillus licheniformis Lü. 44
- Bacillus amyloliquefaciens Lü. 12

Außerdem wurden die Methoden und Nährmedien zur Kultivierung der Bacillusstämme übergeben. Die Anzucht des Impfmateri als Schüttelkultur in Glucose-Nährbouillon bei 23 °C über Nacht (ca. 16 h). Für die Hauptkultur sollte ein Sojapepton-basiertes Flüssignährmedium verwendet werden. Es zeigte sich jedoch, dass dieses einen zu hohen Fettgehalt besitzt (Soja, Milchpulver). Damit kann nach Wachstum der Bakterien keine eindeutige Quantifizierung der bakteriellen Fettsäure in Gegenwart von Fettsäuren der Medienbestandteile erfolgen. Es wurde deshalb ein Wachstumsmedium für die Bacillus-Stämme ausgewählt, das frei von Fettsäuren war. Das Medium hatte folgende Bestandteile (g/l):

Glucose	2,0
L-Glutaminsäure	5,0
MgSO ₄	0,25
KCl	0,25
KH ₂ PO ₄	0,5

Fe ₂ (SO ₄) ₃ x 6 H ₂ O	0,00015
MnSO ₄ x H ₂ O	0,005
CuSO ₄ x 5 H ₂ O	0,00016
dest. Wasser	1 000 ml
pH	6,0

Die Hauptkultur wurde in 500 ml-Rundstandkolben mit 100 ml der Hauptkultur-Nährlösung durchgeführt. Die Kulturen wurden bei 23 °C auf einem Rundschtüttler 48 h geschüttelt.

Am Ende der Kultivierung wurden die bewachsenen Kulturen bei 3 000 U/min für 10 min zentrifugiert. Zur Abtrennung von Resten des Nährmediums wurden die im Sediment abgetrennten Bakterien mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt, resuspendiert und erneut zentrifugiert. Das Sediment wurde vom Überstand getrennt und in flacher Schicht in Glaspetrischalen überführt. Die befüllten Schalen wurden bei -18 °C eingefroren. Nachfolgend wurde die Bakterienbiomasse gefriergetrocknet. Der trockene Rückstand der Bakterienbiomasse wurde in dieser Form zur Bestimmung des Fettsäuremusters verwendet.

Keimgehalt der Probe „Salzwasser“

Die Bestimmung der Gesamtkeimzahl, der aeroben Sporenbildner sowie der Schimmelpilze und Hefen erfolgte nach den Methoden des Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB). Die Anzahl der aeroben Sporenbildner entspricht weitgehend der Sporenzahl der Gattung Bacillus.

Tabelle 1: Parameter und Methoden der Substratuntersuchungen

Parameter	Methode
Trockensubstanz (TS)	Trocknung bei 105 °C (DIN ISO 11 465; 1996-12)
	VDLUFA - Methoden, Methodenbuch Band III (1993) (F)
Organische Substanz (oTS)	VDLUFA - Methoden, Methodenbuch Band III (1993) (F)
Glühverlust	DIN EN 12 879 (S3a) ; 2001-02
Rohasche	VDLUFA - Methoden, Methodenbuch Band III (1993) (F)
Rohprotein	VDLUFA - Methoden, Methodenbuch Band III (1993) (F)
Rohfaser	VDLUFA - Methoden, Methodenbuch Band III (1993) (F)
Rohfett	VDLUFA - Methoden, Methodenbuch Band III (1993) (F)
Calcium	DIN EN ISO 11 885 (E22) ; 1998-04 (F)
Phosphor	DIN EN 1189 (D11) ; 1996-12 (F)
Magnesium	DIN EN ISO 11 885 (E22) ; 1998-04 (F)
Kalium	DIN EN ISO 11 885 (E22) ; 1998-04 (F)
Aminosäuren	Amtsblatt der EG 98/64/EG Nr. L257/16 (F)
Fettsäuremuster	DGF - Einheitsmethoden 11e (98) (F)
Aerobe Gesamtkeimzahl	L 00.00-19 in Anlehnung an §64 LFGB; 1993-08 & 1996-02
Aerobe Sporenbildner (Bacillus)	L 00.00-25 in Anlehnung an §64 LFGB; 1993-08 & 1996-02
Hefen und Schimmelpilze	L 00.00-25 in Anlehnung an §64 LFGB; 1993-08 & 1996-02

Übergebene Proben

Für die Untersuchungen wurden vom Auftraggeber die in der nachfolgenden Tabelle aufgeführten Proben zur Analyse übergeben.

Tabelle 2: Für die Analysen übergebene Proben

Probenart	Menge	AUA-Prüfbericht
Bakterienbiomasse Bacillus	10 ml	8048/2.1-08
Salzwasser	250 ml	10943/2.1-08
Retentat Mikrofiltration MF K II / 01.09.08	5 Liter	10943/3.1-08 und 10943/4.1-08
Retentat Mikrofiltration MF K III / 01.09.08	5 Liter	10943/3.1-08
NA 1 Biomasse Fisch / 01.09.08	5 Liter	10943/3.1-08

Ergebnisse

1. Stoffliche Zusammensetzung und tierernährungsrelevante Inhaltsstoffe von Retentaten der Mikrofiltration

In Tab. 3 und 4 sind die Inhaltsstoffe der Bakterienbiomasse aufgeführt. Die Biomasse besitzt einen hohen Gehalt an Protein und ist reich an Phosphor. Größere Unterschiede zwischen den Proben treten im Mineralstoffgehalt auf (Calcium, Phosphor, Kalium). Der Fettgehalt der Biomasse liegt zwischen 3 und 5 %.

Sowohl Fett als auch Polysaccharide (Rohfaser) sind typische Kohlenstoff- und Energiespeicher der Zelle. Ihre Konzentration ist von der Ernährungssituation der Bakterien abhängig und unterliegt stärkeren Schwankungen.

Tabelle 3: Trockensubstanzgehalt und Anteil der organischen Substanz der übergebenen Originalproben

Parameter	Einheit	MF K II	MF K III	NA 1 Biomasse
Trockensubstanz	Ma.-% FS	1,9	1,3	0,2
Organische Substanz	Ma.-% TS	67,7	77,2	62,5

Tabelle 4: Zusammensetzung und Nährstoffgehalt der gefriergetrockneten Bakterienbiomasse (3 Chargen)

Parameter	Einheit	MF K II	MF K III	NA 1 Biomasse
Trockensubstanz	Ma.-% FS	100	99,5	100
Organische Substanz	Ma.-% TS	88,5	84,1	90,2
Rohasche	Ma.-% TS	11,5	15,4	9,8
Rohfaser	Ma.-% TS	1,7	3,9	3,3
Rohprotein	Ma.-% TS	61,9	51,3	47
Rohfett	Ma.-% TS	5,2	4,3	2,6
Calcium	g/kg TS	4,0	25	23
Phosphor	g/kg TS	24	38	3,0
Magnesium	g/kg TS	3,0	4,0	10
Kalium	g/kg TS	26	20	3,0

Der Aminosäuregehalt der Biomasse ist weitgehend einheitlich (Tab. 5). In höheren Konzentrationen liegen die Aminosäuren Lysin, Threonin, Arginin, Leucin, Isoleucin und Valin in der Bakterienbiomasse vor.

Tabelle 5: Aminosäuregehalt und -zusammensetzung der Bakterienbiomasse

Parameter	Einheit	MF K II	MF K III	NA 1 Biomasse
Lysin	% TS	2,47	1,96	1,48
Cystin	% TS	0,25	0,26	0,30
Methionin	% TS	1,01	0,68	0,56
Threonin	% TS	2,18	1,99	1,92
Arginin	% TS	2,79	2,17	1,58
Histidin	% TS	0,91	0,62	0,48
Leucin	% TS	3,54	2,88	2,27
Isoleucin	% TS	1,92	1,43	1,16
Valin	% TS	2,88	2,30	2,89
Tryptophan	% TS	0,93	0,89	0,81

In Tab. 6 und 7 ist das zelluläre Fettsäuremuster der Bakterienbiomasse dargestellt. Erwartungsgemäß traten die gesättigten und iso-verzweigten Fettsäuren in erhöhten Konzentrationen auf. Der Anteil der Fettsäuren im Kettenlängenbereich von C16 bis C18 war besonders hoch.

Für die Fischernährung besonders wichtig sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, insbesondere die essentiellen Omega-3-Fettsäuren, z.B. die Eicosapentaensäure (EPA, C20:5n-3). Diese Fettsäuren konnten in der Bakterienbiomasse MF K III nachgewiesen werden (Tab. 7). Die Konzentration der Bakterienbiomasse an mehrfach ungesättigten Fettsäuren liegt zwischen 11 und 17 % des Fettanteils.

Tabelle 6: Konzentration von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren in der Bakterienbiomasse (Angaben in % des Gesamtfettsäuregehaltes)

	% der Gesamtfettsäuren		
	MF K II	MF K III	NA 1 Biomasse
einfach ungesättigte Fettsäuren, gesamt	25,8	60,7	54,9
gesättigte Fettsäuren, gesamt	56,4	28,7	29,2
mehrfach ungesättigte Fettsäuren, gesamt	17,8	10,6	15,9

Tabelle 7: Fettsäuremuster der Bakterienbiomasse (Angaben in % des Gesamtfettsäuregehaltes); wichtige langkettige Omega-3-Fettsäuren sind dunkel unterlegt

<i>Fettsäure</i>		MF K II (% der Gesamtfettsäuren)	MF K III (% der Gesamtfettsäuren)	NA 1 Biomasse (% der Gesamtfettsäuren)
C4:0	Buttersäure	<0,1	<0,1	<0,1
C8:0	Caprylsäure	2,5	12,6	3,6
C10:0	Caprinsäure	1,1	6,4	1,8
C12:0	Laurinsäure	<0,1	<0,1	0,6
C13 iso	11-Methyltridecansäure	<0,1	0,3	<0,1
C13:0	Tridecansäure	0,3	0,2	<0,1
C14 iso	Iso-Myristinsäure	<0,1	0,9	0,6
C14:0	Myristinsäure	0,8	1,7	2,3
C14:1n5 + Isomer	Myristoleinsäure	1,3	0,3	0,7
C15 iso	13-Methyltetradecansäure	1,4	3,0	1,5
C15 aiso	12-Methyltetradecansäure	1,0	1,1	0,9
C15:0	Pentadecansäure	0,3	0,5	0,6
C16:0 iso	Iso-Palmitinsäure	<0,1	1,7	0,8
C16:0	Palmitinsäure	8,5	15,1	23,8
C16:1n7 + Isomere	Palmitoleinsäure	5,6	8,8	4,7
C17 iso	15-Methylhexadecansäure	0,2	1,5	0,8
C17 aiso	14-Methylhexadecansäure	0,6	1,3	0,6
C17:0	Margarinsäure	0,7	1,2	0,8
C17:1n7	Heptadecensäure	<0,1	<0,1	<0,1
C18 iso	Iso-Stearinsäure	<0,1	<0,1	<0,1
C18:0	Stearinsäure	3,0	7,3	8,8
C18:1n9 + Isomere	Ölsäure + Isomere (Octadecensäuren)	44,7	19,2	23,7
C18:2n6 trans	trans-Linolsäure	<0,1	<0,1	<0,1
C18:2n6 cis	Linolsäure	11,3	3,6	10,1
C18:3n6	g-Linolensäure	1,4	0,7	<0,1
C18:3n4	Octadecatriensäure	<0,1	<0,1	<0,1
C18:3n3	a-Linolensäure	4,3	0,7	4,1
C18:4n3	Octadecatetraensäure	<0,1	<0,1	<0,1
C18:2c9t11	cis9, trans11-Octadecadiensäure (rumenic acid)	<0,1	0,2	<0,1
C20:0	Arachinsäure	1,7	0,6	3,9
C20:1n9 + Isomere	Eicosensäure	3,3	0,3	0,3
C20:2n6	n6-Eicosadiensäure	<0,1	0,3	0,8
C20:3n6	n6-Eicosatriensäure	<0,1	0,7	<0,1
C20:4n6	Arachidonsäure	<0,1	2,0	0,9
C20:3n3	n3-Eicosatriensäure	<0,1	1,0	<0,1
C20:5n3	Eicosapentaensäure (EPA)	<0,1	1,3	<0,1
C22:0	Behensäure	2,4	2,3	<0,1
C22:1n9 + Isomere	Erucasäure	1,6	<0,1	<0,1
C22:5n3 (DPA)	Docosapentaensäure	<0,1	<0,1	<0,1
C22:6n3 (DHA)	Docosahexaensäure (DHA)	<0,1	<0,1	<0,1
C24:0	Lignocerinsäure	1,1	0,6	<0,1
C24:1n9	Nervensäure	<0,1	<0,1	<0,1

2. Anzucht und Vermehrung einer Bacillus-Mischkultur, Erfassung des zellulären Fettsäurespektrums

Die Mischkultur der Bacillus-Arten wuchs auf dem verwendeten synthetischen Nährmedium gut. Nach zwei Tagen waren die Kulturen bei 23 °C bewachsen und in der Stationärphase. Die nach Anzucht des Gemisches verschiedener Bacillus-Stämme gewonnene Biomasse wurde einer Analyse des zellulären Fettsäuremusters unterzogen (Tab. 8).

Tabelle 8: Fettsäuremuster der Bacillus-Bakterienbiomasse (Angaben in % des Gesamtfettsäuregehaltes)

Labor-Nr. Fettsäure	Bakterienbiomasse (Bacillus)
	L4 (% der Gesamtfettsäuren)
C12:0 (Laurinsäure)	0,1
C13:0 iso (11-Methyltridecansäure)	11,7
C13:0 aiso (10-Methyltridecansäure)	2,9
C13:0 Tridecansäure	0,4
C14:0 (Myristinsäure)	1,7
C14:0 iso (Iso-Myristinsäure)	0,7
C14:1 (Myristoleinsäure)	0,3
C15:0 (Pentadecansäure)	1,4
C15:0 aiso (12-Methyltetradecansäure)	21,2
C15:0 iso (Isopentadecansäure)	8,8
C16:0 (Palmitinsäure)	4,6
C16:0 iso (Isopalmitinsäure)	9,3
C16:1 Isomer (Palmitoleinsäure)	1,5
C16:1 Isomer (Hexadecansäure)	1,6
C17:0 (Margarinsäure)	1,5
C17:0 aiso (14-Methyl-Palmitinsäure)	12,5
C17:0 iso (15-Methyl-Palmitinsäure)	5,2
C18:0 (Stearinsäure)	3,6
C18:0 iso (Iso-Stearinsäure)	0,8
C18:1n9 (Ölsäure)	5,9
C18:2n6 (Linolsäure)	3,7
C18:3n3 (alpha-Linolensäure)	0,1
C18:3n6 (gamma-Linolensäure)	0,1
C18:4n3 (Octadecatetraensäure)	0,1
C20:0 (Arachinsäure)	0,2
C20:1n9 (Gadoleinsäure)	0,1
einfach ungesättigte Fettsäuren, gesamt	9,4
gesättigte Fettsäuren, gesamt	86,6
mehrfach ungesättigte Fettsäuren	4,0

Es zeigte sich, dass das Fettsäurespektrum hauptsächlich von iso-verzweigten, kurzkettigen Fettsäuren gebildet wird. Das ist typisch für Bakterien. Eicosapentaensäure (EPA) und Docosahexaensäure (DHA) wurden nicht gefunden. Insgesamt war der Anteil an ungesättigten Fettsäuren mit 4 % am Gesamtfettsäuregehalt relativ gering.

Unklar ist, welchen Anteil die vier Bacillus-Spezies an der Gesamtbiomasse besitzen. Es ist nicht zu erwarten, dass die Stämme mit gleicher Wachstumsgeschwindigkeit sich im Medium vermehrten und am Ende in identischen Anteilen vorliegen.

Keimgehalt der Probe „Salzwasser“

Die Probe Salzwasser besitzt einen hohen Keimgehalt. Ca. 20 % der Gesamtbakterienpopulation wird von aeroben Sporenbildnern repräsentiert, das heißt von Bacillus-Arten. Ihr Anteil ist vergleichsweise hoch. Schimmelpilze und Hefen sind in geringer Zahl in der Probe vorhanden (< 1 % der Bakterienzahl).

Tabelle 9: Mikrobiologische Zusammensetzung der Bakterienbiomasse

Parameter	Einheit	Probe 1
Aerobe Gesamtkeimzahl	KBE/ml	$1,5 \cdot 10^9$
Aerobe Sporenbildner (Bacillus)	KBE/ml	$2,9 \cdot 10^8$
Hefen	KBE/ml	$3,6 \cdot 10^5$
Schimmelpilze	KBE/ml	$1,6 \cdot 10^5$

Zusammenfassung

Die Biomasse aus dem Retentat der Mikrofiltration entspricht in den Hauptbestandteilen weitgehend der Zusammensetzung eines handelsüblichen Jungfischfutters (Tab. 10). Sie ist reich an Protein und Phosphor. Der Fettgehalt ist jedoch geringer. Unklar ist, ob die Verdaulichkeit der Bakterienzelle vergleichbar mit der Verdaulichkeit des Fischfutters ist. Dazu müssen Fütterungsversuche durchgeführt werden. In der Biomasse wurden die mehrfach ungesättigten Fettsäuren EPA und Linolensäure gefunden.

Tabelle 10: Vergleich der Inhaltsstoffe der Bakterienbiomasse und eines handelsüblichen Fischfutters für Jungfische (Perla Larya, Milkivit)

Parameter	Einheit	MF K II	MF K III	NA 1 Biomasse	“Perla Larya”
Rohasche	Ma.-% TS	11,5	15,4	9,8	10
Rohfaser	Ma.-% TS	1,7	3,9	3,3	0,5
Rohprotein	Ma.-% TS	61,9	51,3	47	62
Rohfett	Ma.-% TS	5,2	4,3	2,6	11
Phosphor	g/kg TS	24	38	3,0	1,0

Die im Labor unter standardisierten Bedingungen gewonnene Biomasse aus vier Bacillus-Kulturen besaß einen geringen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Die Konzentration und das Muster der Einzelfettsäuren sprechen nicht dafür, dass Bacillus der Produzent der langkettigen ungesättigten Fettsäuren in der „Fisch-und-Wasser“-

Biomasse ist. Das zelluläre Fettsäuremuster von Mikroorganismen ist nicht konstant, sondern wird in quantitativer Hinsicht zum Teil deutlich von Umweltfaktoren beeinflusst (Temperatur, Medienbestandteile ...). Es ist deshalb nicht auszuschließen, dass Bacillus als Bestandteil der „Fisch-und-Wasser“-Population graduell unterschiedliche Fettsäurekonzentrationen besitzt. Ein prinzipiell anderes Fettsäuremuster tritt jedoch nicht auf.

Die Probe „Salzwasser“ zeigt ein charakteristisches Keimspektrum. Ca. 20 % der Gesamtbakterienpopulation wird durch Bacillus-Arten gebildet.

Anhang Teil 2: Wasserwerte Erbrütungs- und Anfütterungsphase

Tag	Temperatur [°C]	ph-Wert	NH ₄ ⁺ - N [mg/l]	NO ₂ ⁻ - N [mg/l]	NO ₃ ⁻ - N [mg/l]
15.05.2008	24,1	7,4	0,07	0,11	3,5
16.05.2008	24,2	7,4	0,04	0,10	3,6
17.05.2008	24,2	7,3	0,02	0,01	3,6
18.05.2008	24,2	7,3	0,03	0,01	3,7
19.05.2008	24,1	7,3	0,04	0,02	3,8
20.05.2008	24,2	7,4	0,05	0,04	3,9
21.05.2008	24,1	7,3	0,06	0,07	4,0
22.05.2008	24,1	7,3	0,06	0,07	5,1
23.05.2008	24,1	7,3	0,07	0,08	6,2
24.05.2008	24,1	7,4	0,08	0,08	7,5
25.05.2008	24,2	7,4	0,06	0,04	6,8
26.05.2008	24,2	7,4	0,05	0,01	4,0
27.05.2008	24,1	7,4	0,06	0,06	3,5
28.05.2008	24,1	7,3	0,04	0,04	3,9
29.05.2008	24,2	7,4	0,03	0,01	5,1
30.05.2008	24,2	7,4	0,04	0,06	6,1
31.05.2008	24,1	7,4	0,09	0,09	7,0
01.06.2008	24,1	7,3	0,06	0,06	8,4
02.06.2008	24,1	7,3	0,01	0,02	9,1
03.06.2008	24,2	7,3	0,11	0,10	10,0
04.06.2008	24,2	7,4	0,06	0,01	
05.06.2008	24,2	7,4	0,03	0,01	10,0
06.06.2008	24,2	7,3	0,01	0,02	10,1
07.06.2008	24,1	7,4	0,02	0,01	9,8
08.06.2008	24,1	7,4	0,03	0,01	6,0
09.06.2008	24,1	7,4	0,03	0,01	5,2
10.06.2008	24,1	7,4	0,07	0,01	4,1
11.06.2008	24,1	7,3	0,12	0,04	4,2
12.06.2008	24,1	7,3	0,08	0,01	4,2
13.06.2008	24,1	7,3	0,04	0,02	3,8
14.06.2008	24,1	7,3	0,02	0,01	4,1
15.06.2008	24,1	7,3	0,01	0,01	3,9

Tabelle 1: Charge I - Zuordnung der individuellen Mikrosatelliten-Genotypen zu Weißbarsch (W), Hybriden (H) bzw. Streifenbarsch (S) und Anzahl der W- bzw. S-Allele an fünf Mikrosatelliten

Phänotyp	Proben-Nr.	Mikrosatelliten-Genotypen					Anzahl Allele	
		Hsb1C	Hsb6C	Hsb14C	Hsb2C	Hsb5B	W	S
Streifenbarsch	S1	S	H	W	H	H	5	5
	S2	H	H	H	S	H	4	6
	S3	H	S	S	H	H	3	7
	S4	W	H	H	H	W	7	3
	S5	S	W	H	H	H	5	5
	S6	W	S	H	H	S	4	6
	S7	S	H	H	H	H	4	6
	S8	H	H	S	H	H	4	6
	S9	H	H	H	H	H	5	5
Weißbarsch	W10	H	S	H	H	W	5	5
	W11	H	W	H	H	W	7	3
	W12	H	S	H	S	W	4	6
	W13	S	H	H	H	H	4	6
	W14	H	S	W	H	S	4	6
	W15	W	H	H	S	W	6	4
	W16	W	H	H	S	H	5	5
	W17	H	H	W	S	H	5	5
	W18	W	H	H	H	W	7	3
	W19	W	W	H	H	H	7	3
	W20	H	W	W	H	S	6	4
	W21	S	H	H	H	W	5	5
	W22	S	H	S	H	W	4	6
	W23	H	H	H	S	W	5	5
	W24	H	S	S	H	H	3	7
	W25	S	H	H	S	H	3	7
	W26	W	H	H	H	H	6	4
	W27	S	W	W	H	H	6	4
	W28	H	H	H	S	S	3	7
	W29	W	H	H	H	H	6	4
	W30	W	H	S	H	H	5	5
	W31	H	H	W	H	W	7	3
	W32	S	S	W	W	H	5	5
	W33	W	H	W	H	H	7	3
	W34	H	H	H	S	S	3	7
	W35	S	S	H	H	H	3	7
	W36	H	H	W	S	W	6	4
	W37	H	H	S	H	H	4	6
	W38	S	H	H	S	S	2	8
	W39	H	S	W	H	H	5	5

Fortsetzung Tabelle 1:

Phänotyp	Proben-Nr.	Mikrosatelliten-Genotypen					Anzahl Allele	
		Hsb1C	Hsb6C	Hsb14C	Hsb2C	Hsb5B	W	S
Hybriden	H40	H	H	H	S	H	4	6
	H41	H	H	H	S	H	4	6
	H42	H	H	W	S	H	5	5
	H43	W	S	H	H	H	5	5
	H44	W	H	H	S	W	6	4
	H45	S	H	W	S	H	4	6
	H46	W	H	H	S	W	6	4
	H47	H	H	W	H	H	6	4
	H48	H	H	S	S	W	4	6
	H49	H	H	S	S	S	2	8
	H50	S	H	S	W	H	4	6
	H51	S	H	W	S	H	4	6
	H52	W	H	H	H	H	6	4
	H53	W	H	H	H	H	6	4
	H54	H	H	H	S	S	3	7
	H55	H	H	H	W	H	6	4
	H56	S	W	H	S	S	3	7
	H57	W	H	W	H	W	8	2
	H58	H	H	W	S	H	5	5
	H59	S	S	W	S	H	3	7
	H60	H	S	S	W	H	4	6
	H61	H	S	H	S	H	3	7
	H62	W	W	H	H	H	7	3
	H63	W	H	H	H	H	6	4
	H64	H	H	H	H	H	5	5
	H65	W	W	W	H	W	9	1
	H66	H	H	S	H	H	4	6
	H67	S	H	H	S	H	3	7
	H68	W	H	S	H	H	5	5
	H69	H	H	H	H	H	5	5
	H70	H	H	H	H	W	6	4
	H71	S	H	S	H	H	3	7
	H72	W	H	S	H	H	5	5
	H73	S	W	H	H	S	4	6
H74	H	W	W	S	H	6	4	

Anhang Teil 3: Genetik

Tabelle 2: Charge II - Zuordnung der individuellen Mikrosatelliten-Genotypen zu Weißbarsch (W), Hybriden (H) bzw. Streifenbarsch (S) und Anzahl der W- bzw. S-Allele an fünf Mikrosatelliten

Phänotyp	Proben-Nr.	Mikrosatelliten-Genotypen					Anzahl Allele	
		Hsb1C	Hsb6C	Hsb14C	Hsb2C	Hsb5B	W	S
Streifenbarsch	S1/2	H	H	H	H	H	5	5
	S2/2	H	S	W	H	H	5	5
	S3/2	H	H	H	H	S	4	6
	S4/2	S	W	W	H	H	6	4
	S5/2	S	W	H	H	H	5	5
	S6/2	H	H	H	H	H	5	5
	S7/2	W	W	S	H	H	6	4
	S8/2	H	S	S	S	H	2	8
	S9/2	H	H	S	H	W	5	5
	S10/2	H	H	H	S	S	3	7
	S11/2	H	W	S	S	H	4	6
Weißbarsch	W12/2	W	H	H	H	S	5	5
	W13/2	W	H	H	W	H	7	3
	W14/2	H	H	H	H	S	4	6
	W15/2	H	W	H	H	H	6	4
	W16/2	H	H	H	S	H	4	6
	W17/2	H	S	H	H	W	5	5
	W18/2	H	S	H	H	H	4	6
	W19/2	H	H	W	S	H	5	5
	W20/2	S	H	S	S	H	2	8
	W21/2	H	W	S	S	S	3	7
	W22/2	W	H	H	H	S	5	5
	W23/2	H	W	H	H	W	7	3
	W24/2	H	H	H	W	H	6	4
	W25/2	H	H	W	H	H	6	4
	W26/2	W	S	S	H	W	5	5
	W27/2	W	S	S	H	H	4	6
	W28/2	H	H	H	H	H	5	5
	W29/2	W	S	S	S	H	3	7
	W30/2	H	H	S	H	H	4	6
	W31/2	H	H	S	H	H	4	6
	W32/2	H	H	S	H	H	4	6
	W33/2	H	W	S	H	H	5	5
	W34/2	S	H	S	H	S	2	8
	W35/2	H	H	H	S	H	4	6
	W36/2	W	H	S	H	H	5	5
	W37/2	H	H	H	S	W	5	5
	W38/2	S	H	H	H	H	4	6

Fortsetzung Tabelle 2:

Phänotyp	Proben-Nr.	Mikrosatelliten-Genotypen					Anzahl Allele	
		Hsb1C	Hsb6C	Hsb14C	Hsb2C	Hsb5B	W	S
Hybriden	H39/2	W	S	S	H	H	4	6
	H40/2	W	H	H	H	S	5	5
	H41/2	H	W	S	W	H	6	4
	H42/2	H	H	S	S	H	3	7
	H43/2	H	H	H	W	S	5	5
	H44/2	W	S	S	H	W	5	5
	H45/2	H	W	S	H	H	5	5
	H46/2	S	H	S	H	H	3	7
	H47/2	H	H	H	S	H	4	6
	H48/2	H	H	S	S	S	2	8
	H49/2	W	H	H	H	S	5	5
	H50/2	W	H	S	H	S	4	6
	H51/2	H	S	W	H	H	5	5
	H52/2	W	H	H	S	S	4	6
	H53/2	H	W	S	S	H	4	6
	H54/2	S	H	H	H	H	4	6
	H55/2	H	S	H	H	H	4	6
	H56/2	H	H	H	H	H	5	5
	H57/2	H	H	S	S	H	3	7
	H58/2	W	S	S	H	H	4	6
	H59/2	H	S	H	S	W	4	6
	H60/2	H	S	S	S	H	2	8
	H61/2	S	H	H	H	W	5	5
	H62/2	H	S	H	S	W	4	6
	H63/2	S	W	S	H	H	4	6
	H64/2	H	S	H	H	H	4	6
	H65/2	H	H	H	S	W	5	5
	H66/2	H	H	S	S	W	4	6
	H67/2	H	S	S	H	W	4	6
	H68/2	H	W	H	S	H	5	5
	H69/2	H	S	S	H	H	3	7
	H70/2	H	H	H	S	S	3	7
	H71/2	H	H	S	S	S	2	8
	H72/2	S	W	S	W	H	5	5
H73/2	S	W	S	W	W	6	4	
H74/2	Ausfall	H	H	S	H	-	-	
H75/2	W	W	H	S	W	7	3	
H76/2	H	H	W	H	W	7	3	

Tabelle 3: Genotypen von 74 F2-Hybriden der Charge I an fünf Mikrosatelliten-Loci

Probe-Nr.	<i>Hsb1C</i>		<i>Hsb6C</i>		<i>Hsb14C</i>		<i>Hsb2C</i>		<i>Hsb5B</i>	
S1	259	259	307	374	182	184	242	252	228	236
S2	259	265	307	374	184	193	250	252	228	236
S3	259	265	374	374	193	193	242	252	228	236
S4	265	275	311	374	182	193	242	252	236	236
S5	259	259	307	311	182	193	242	250	228	236
S6	265	275	374	374	182	193	242	250	228	228
S7	259	259	307	374	182	193	242	250	228	236
S8	259	265	311	374	192	193	242	252	228	236
S9	259	265	307	374	182	193	242	252	228	236
W10	259	265	374	374	184	193	242	250	236	236
W11	259	265	307	313	182	193	242	250	236	238
W12	259	275	374	374	184	193	250	252	236	236
W13	259	259	311	374	184	193	242	250	228	236
W14	259	265	374	374	182	184	242	250	228	228
W15	265	275	311	374	182	193	250	252	236	236
W16	265	275	311	374	184	193	250	252	228	236
W17	259	265	307	374	182	184	250	252	228	236
W18	265	275	313	374	182	193	242	250	236	238
W19	265	275	307	307	184	193	242	250	224	236
W20	259	265	307	311	182	184	242	252	228	228
W21	259	259	311	374	184	193	242	252	236	236
W22	259	259	307	374	192	193	242	252	236	236
W23	255	275	313	374	182	193	250	250	236	238
W24	255	275	374	374	193	193	242	250	228	238
W25	259	259	307	374	184	193	250	252	228	236
W26	265	275	311	374	182	193	242	252	228	236
W27	259	259	307	311	182	184	242	250	228	236
W28	259	265	313	374	184	193	250	250	224	228
W29	265	275	313	374	182	193	242	250	228	238
W30	265	275	307	374	193	193	242	252	228	236
W31	259	265	307	374	182	184	242	252	236	236
W32	259	259	374	374	182	184	242	242	228	236
W33	265	275	307	374	182	184	242	252	228	236
W34	255	275	307	498	182	193	250	250	224	228
W35	259	259	374	374	182	193	242	250	228	236
W36	259	265	311	374	182	184	250	252	236	236
W37	259	265	311	374	193	193	242	252	228	236
W38	255	259	307	498	182	193	250	250	224	228
W39	259	275	374	374	182	184	242	252	228	236

Fortsetzung Tabelle 3:

Probe-Nr.	Hsb1C		Hsb6C		Hsb14C		Hsb2C		Hsb5B	
H40	259	265	311	374	184	193	250	252	228	236
H41	259	275	311	374	182	193	250	252	228	236
H42	259	265	311	374	182	184	250	252	228	236
H43	265	275	374	374	182	193	242	252	228	236
H44	265	275	311	374	184	193	250	252	236	236
H45	259	259	307	374	182	184	250	252	228	236
H46	265	275	307	374	182	193	250	252	236	236
H47	259	275	311	374	182	184	242	252	228	236
H48	259	265	307	374	193	193	250	252	236	236
H49	259	275	311	374	193	193	250	252	228	228
H50	259	259	307	374	193	193	242	242	228	236
H51	259	259	307	374	182	184	250	252	228	236
H52	265	275	307	374	184	193	242	252	228	236
H53	265	275	311	374	182	193	242	252	228	236
H54	259	265	307	374	182	193	250	252	228	228
H55	259	265	311	374	184	193	242	242	228	236
H56	259	259	307	311	182	193	250	252	228	228
H57	265	275	307	498	182	184	242	250	236	238
H58	259	275	307	374	182	184	250	252	228	236
H59	259	259	374	374	182	184	250	252	228	236
H60	259	275	374	374	193	193	242	242	228	236
H61	259	275	374	374	184	193	250	252	228	236
H62	265	275	307	311	182	193	242	252	228	236
H63	265	275	307	374	182	193	242	252	228	236
H64	259	265	311	374	182	193	242	250	228	236
H65	265	275	307	311	182	184	242	252	236	236
H66	259	275	311	374	193	193	242	250	228	236
H67	259	259	307	374	184	193	250	252	228	236
H68	265	275	307	374	193	193	242	250	228	236
H69	255	275	313	374	182	193	242	250	228	238
H70	259	265	307	374	184	193	242	252	236	236
H71	259	259	307	374	193	193	242	250	228	236
H72	265	275	313	374	193	193	242	250	228	238
H73	259	259	307	311	182	193	242	252	228	228
H74	259	275	307	311	182	184	250	252	228	236

Tabelle 4: Genotypen von 76 F2-Hybriden der Charge 2 an fünf Mikrosatelliten-Loci

Probe-Nr.	<i>Hsb1C</i>		<i>Hsb6C</i>		<i>Hsb14C</i>		<i>Hsb2C</i>		<i>Hsb5B</i>	
S1/2	259	265	311	374	184	193	242	252	228	236
S2/2	259	267	374	374	184	184	242	252	228	236
S3/2	259	267	311	374	184	193	242	252	228	228
S4/2	255	259	311	311	184	184	242	250	228	236
S5/2	255	259	311	311	184	193	242	252	228	236
S6/2	259	267	311	374	184	193	242	250	228	236
S7/2	267	267	311	311	193	193	242	252	228	236
S8/2	259	267	374	374	193	193	250	252	228	236
S9/2	255	267	311	374	193	193	242	252	236	236
S10/2	259	265	311	374	184	193	250	252	228	228
S11/2	255	267	311	311	193	193	250	252	228	236
W12/2	267	267	311	374	184	193	242	252	228	228
W13/2	265	267	311	374	184	193	242	242	228	236
W14/2	255	267	311	374	184	193	242	250	228	228
W15/2	259	267	311	311	184	193	242	252	228	236
W16/2	259	265	311	374	184	193	250	252	228	236
W17/2	255	267	374	374	184	193	242	250	236	236
W18/2	259	265	374	374	184	193	242	252	228	236
W19/2	259	267	311	374	184	184	250	252	228	236
W20/2	255	259	311	374	193	193	250	252	228	236
W21/2	259	265	311	311	193	193	250	252	228	228
W22/2	265	267	311	374	184	193	242	252	228	236
W23/2	259	267	311	311	184	193	242	252	236	236
W24/2	255	267	311	374	184	193	242	242	228	236
W25/2	259	265	311	374	184	184	242	250	228	236
W26/2	265	267	374	374	193	193	242	252	236	236
W27/2	265	267	374	374	193	193	242	252	228	236
W28/2	259	265	311	374	184	193	242	252	228	236
W29/2	265	267	374	374	193	193	250	252	228	236
W30/2	259	265	311	374	193	193	242	252	228	236
W31/2	255	267	311	374	193	193	242	252	228	236
W32/2	259	265	311	374	193	193	242	252	228	236
W33/2	259	265	311	311	193	193	242	250	228	236
W34/2	259	259	311	374	193	193	242	252	228	228
W35/2	255	267	313	374	184	193	250	250	228	238
W36/2	265	267	311	374	193	193	242	252	228	236
W37/2	259	267	311	374	184	193	250	252	236	236
W38/2	255	259	311	374	184	193	242	252	228	236

Fortsetzung Tabelle 4:

Probe-Nr.	Hsb1C		Hsb6C		Hsb14C		Hsb2C		Hsb5B	
H39/2	267	267	374	374	193	193	242	252	228	236
H40/2	265	267	311	374	184	193	242	250	228	228
H41/2	259	265	311	311	193	193	242	242	228	236
H42/2	259	265	311	374	193	193	250	252	228	236
H43/2	255	267	311	374	184	193	242	242	228	228
H44/2	267	267	374	374	193	193	242	250	236	236
H45/2	255	265	311	311	193	193	242	250	224	236
H46/2	255	259	311	374	193	193	242	250	228	236
H47/2	259	265	311	374	184	193	250	252	228	236
H48/2	259	267	311	374	193	193	250	252	228	228
H49/2	265	267	311	374	184	193	242	250	228	228
H50/2	265	267	311	374	193	193	242	250	228	228
H51/2	259	265	374	374	184	184	242	252	228	236
H52/2	267	267	311	374	184	193	250	252	228	228
H53/2	255	267	311	311	193	193	250	252	228	236
H54/2	255	259	311	374	184	193	242	252	228	236
H55/2	255	267	374	374	184	193	242	250	228	236
H56/2	255	267	311	374	184	193	242	250	228	236
H57/2	259	265	311	374	193	193	250	250	224	236
H58/2	265	267	374	374	193	193	242	250	228	236
H59/2	259	265	374	374	184	193	250	252	236	236
H60/2	259	265	374	498	193	193	250	250	224	236
H61/2	255	259	311	374	184	193	242	252	236	236
H62/2	259	267	374	374	184	193	250	252	236	236
H63/2	255	259	311	311	193	193	242	252	228	236
H64/2	255	267	374	374	184	193	242	250	228	236
H65/2	259	267	311	374	184	193	250	252	236	236
H66/2	255	267	311	374	193	193	250	252	236	236
H67/2	259	265	374	374	193	193	242	252	236	236
H68/2	259	267	311	311	184	193	250	252	228	236
H69/2	259	265	374	374	193	193	242	252	228	236
H70/2	255	265	311	374	184	193	250	250	224	228
H71/2	259	265	311	313	193	193	250	250	224	228
H72/2	255	259	311	311	193	193	242	242	228	236
H73/2	255	259	311	311	193	193	242	242	236	236
H74/2	Ausfall	Ausfall	311	374	184	193	250	252	228	236
H75/2	265	267	311	311	184	193	250	252	236	236
H76/2	259	267	311	374	184	184	242	250	236	236

Am 15.05.07 erfolgte die Anlieferung von 50 Stück Streifenbarschhybriden (HSB) mit einer durchschnittlichen Stückmasse von 1 702 g aus der Lehr- und Versuchsteichanlage Königswartha. Die Fische wurden in den Morgenstunden direkt aus dem Teich entnommen und nach ca. vier Stunden Fahrt erreichten die HSB die Anlage in Thierbach. Hier wurden die Fische in ein Rundbecken mit einem Volumen von 19 000 l eingesetzt, die Wassertemperatur betrug 22,7 °C. Nach der Aussage der Auftraggeber und den Erkenntnissen von MÜLLER-BELECKE & ZIENERT (2006) ist die finale Eireife ab Ende Mai zu erwarten. Aussagen über eine definierte Anzahl von Tagesgraden bis zur finalen Eireife sind durch den Auftragnehmer bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt in der Literatur nicht gefunden worden.

21.05.07

Es erfolgten die Sortierung nach Geschlecht und der Besatz von zwei Langstromrinnen. Die Langstromrinnen haben ein Wasservolumen von je 4 500 Litern. Es wurden 31 Stück Milchner und 19 Stück Rogner getrennt. 90 % der Milchner (28 Stück) gaben auf leichten Druck Sperma ab. 30 % der Milchner (sechs Stück) hatten einen sichtlich gewölbten und weichen Bauch. Zur Beobachtung werden mehrere Geschlechtskombinationen in eine Glasanlage gesetzt. Eine Glasanlage besteht aus 12 Stück Aquarien mit einem Volumen von jeweils 500 l. Die Anlage verfügt über ein eigenes Klärsystem.

Mit folgenden Kombinationen der Geschlechter wird die Glasanlage besetzt:

Glasanlage 4-10:	1 x männl. 1 x weibl.
Glasanlage 4-11:	1 x männl. 3 x weibl.
Glasanlage 4-12:	2 x männl. 1 x weibl.

Jedes Becken erhält eine Matte (Kokosfaserfußmatte) als Laichsubstrat, der Anlagenbereich wird mit einer Plane abgedunkelt und der direkte Beckenzugang wird abgesperrt. Damit soll Stress für die HSB weitgehend vermieden werden. Die Wassertemperatur im Becken beträgt 24 °C. Eine Hypophysierung dieser Fische ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht vorgesehen. Ziel des Teilver-suches soll sein, die HSB in ihrem Verhalten zu beobachten und gegebenenfalls Rückschlüsse auf den Reifezustand der Fische zu erhalten. Die Versuchsgruppen werden täglich zu verschiedenen Tageszeiten mehrfach kontrolliert. Weiterhin werden drei Stück weiblichen Streifenbarschhybriden Eier entnommen und der Reifegrad bestimmt (nach ZIENERT & HEIDRICH 2005). Die Eientnahme wird am betäubten Fisch durchgeführt. Dazu werden 2,5 ml Nelkenöl auf 50 l Wasser gegeben. Die Fische werden in das Wasser gegeben und nach ca. 3 min setzt die narkotisierende Wirkung ein. Die Eientnahme kann beginnen. Mit Hilfe einer 3 mm starke Kanüle und einer Einwegspritze werden die Eier durch die Geschlechtsöffnung entnommen. Unter einem Mikroskop erfolgte bei 40-facher Vergrößerung die Reifegradbestimmung.

Dabei wurde folgendes Ergebnis erzielt:

- 1 x vollreif (große zentrale Ölkugel)
- 1 x einsetzende Reife (Zellkern nahe der Peripherie)
- 1 x reifend (Zellkern beginnt zur Peripherie zu wandern)

Zwei männlichen HSB wird durch leichten, abdominalen Druck Sperma entnommen und auf einen Objektträger gegeben. Nach der Zugabe von einigen Tropfen Anlagenwasser können unter dem Mikroskop ca. 90 % des Spermias als motil eingestuft werden, die Lebensdauer der Spermatozyten beträgt in diesem Fall 4 min. Nach dieser Zeitdauer konnten keine lebenden Spermatozyten mehr beobachtet werden.



23.05.07

Drei Stück HSB Rogner, mit fühlbarem, sehr weichem Gonadenansatz, werden 16:00 Uhr mit 5 mg Karpfenhypophyse/kg Lebendgewicht (7,5 mg pro Tier) hypophysiert. Die Hypophysengabe erfolgt durch eine Injektion in die Rückenmuskulatur. Die Wassertemperatur betrug zu diesem Zeitpunkt 22,8 °C.

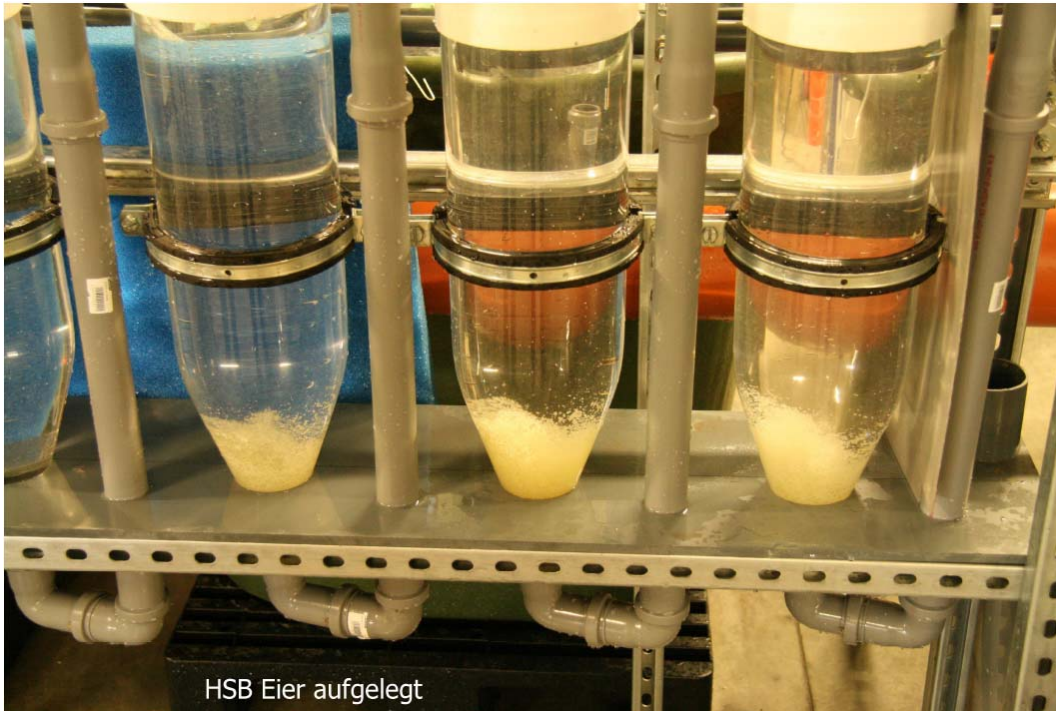
24.05.07

Die drei Stück vor 16 Stunden hypophysierten HSB Rogner werden mit Nelkenöl (5 ml/ 100 l H₂O) betäubt. 08:10 Uhr erfolgt das Abstreifen von 126 g Eiern aus einem 1 550 g schweren HSB, davon sind ca. 5 % als unreif einzustufen (weiße Eier). Die Eier haften in Form von Eiballen relativ fest aneinander. Zur Befruchtung der Eier wird das Sperma direkt aus dem betäubten, männlichen

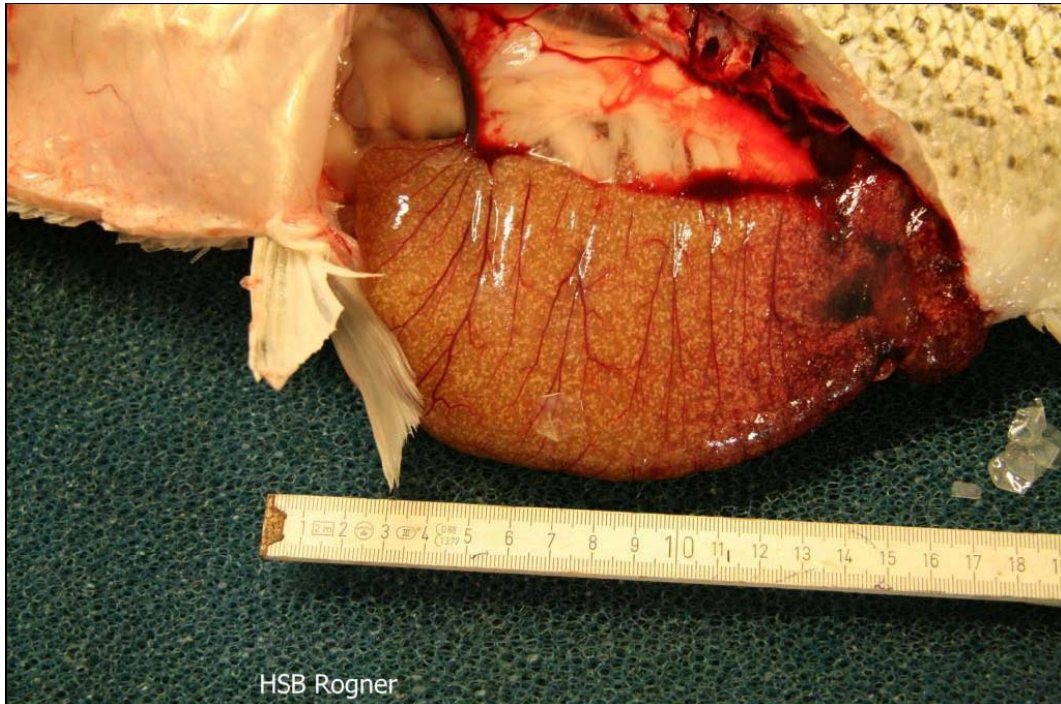
Fisch auf die Eier gegeben. Zur Sicherheit wird Spermia eines weiteren Milchners zur Befruchtung eingesetzt.



Die Eier werden in einer Tonsuspension ca. 20 min unter leichtem Rühren entklebt. Die Eier sind als „gering klebrig“ zu bezeichnen (weniger klebrig als Karpfeneier). 08:40 Uhr werden die Eier in drei Stück Zugergläsern (bei 7 l Volumen 42 g Eier je Glas) bei einer Wassertemperatur von 21,8 °C aufgelegt.



Fünfundzig Minuten nach dem ersten Abstreifen wird der Rogner erneut abgestrichen. Dabei können nur sehr wenig Eier gewonnen werden, so dass der Fisch getötet und die Bauchhöhle geöffnet wird. Es können weitere 305 g Eier entnommen werden. Hauptsächlich die im Randbereich befindlichen Eier sind auf Grund ihrer weißen Färbung als nicht reif einzustufen. Lediglich 140 g der 305 g entnommenen Eier können zur Befruchtung genutzt werden. Mit den durch Öffnen der Leibeshöhle gewonnenen Eiern wird analog der abgestrichenen Eier verfahren. Diese Eier werden in weiteren drei Stück Zugergläsern aufgelegt.



Dieser Streifenbarschhybridrogner mit einem Stückgewicht von 1 550 g enthielt 431 g Eier, was 278 g Eier/kg Körpermasse entspricht bzw. einem Gonadenanteil von 27,8 %. Die Gonaden müssen damit als voll ausgebildet angesehen werden. Die gequollenen Eier haben einen durchschnittlichen Durchmesser von 1 mm. Die weißen, unreifen Eier waren noch fest mit der Gonadenhülle verbunden. Ein weiterer HSB stellt sich als männlich heraus, der dritte HSB muss im Becken bereits gelaicht haben. Dieser Fisch war eindeutig leer, allerdings wurden trotz intensiver Suche keine Eier gefunden. Es kann nur vermutet werden, dass die Eier gefressen worden sind.

25.05.07

Die aufgelegten Eier in den sechs Stück Zugergläsern waren am Morgen (07:00 Uhr) alle abgestorben. Als Ursache kann die noch fehlende Vollreife der Eier vermutet werden. Die registrierten Wasserwerte der Anlage schließen einen Verlust der Eier durch mangelnde Wasserqualität aus.



29.05.07

Es erfolgt eine wiederholte Kontrolle der weiblichen Streifenbarschhybriden von Hand auf weiche Gonadenansätze. Es können drei Stück weibliche Streifenbarsche mit weichem, leicht gewölbtem Bauch festgestellt werden. Die Reifegraduntersuchung erfolgt wie am 21.05.07 mit dem Mikroskop, gefunden werden trübe und unreife Eier.

05.06.07

Es erfolgt eine erneute Kontrolle der HSB Rogner. Nur ein Fisch weist Anzeichen einer möglichen Reife aus. Dieser stellt sich aber bei der anschließenden Untersuchung als unreif heraus. Die Eier sind trüb, lediglich die Eihülle ist klar zu erkennen. Alle weiteren Rogner sind hart und schlank. Es kann beobachtet werden, dass der Gonadenansatz der weiblichen Streifenbarschhybriden seit der Anlieferung am 15.05.07 zurückgeht (22 Tage seit Lieferung). Es ist vorstellbar, dass die HSB bereits überreif sind und ihren Laichansatz zurückbilden. Die in den Glasbecken zur Beobachtung eingesetzten Laichtiergruppen werden wieder in die Langstromrinne zurückgesetzt. In den einzelnen Gruppen lässt sich während der gesamten Beobachtungszeit in keiner Weise ein Laichverhalten erkennen. Beim Umsetzen fühlen sich alle Fische fest an, die Milchner geben nur mit relativ starkem Druck noch Sperma ab.

13.06.07

Es werden drei Stück Rogner und zwei Stück Milchner erneut mit Karpfenhypophyse (5 mg/kg Körpergewicht) injiziert. Die restlichen zur Verfügung stehenden Milchner gaben auf leichten abdominalen Druck kein Sperma mehr ab. Die drei Stück Rogner waren die einzigen noch im Gonadenbereich fühlbar weichen Tiere.

14.06.07

Die beiden vor 16 Stunden hypophysierten Milchner geben ausreichend Sperma ab. Bei den weiblichen Streifenbarschen gelingt es nicht, Eier abzustreifen. Auf etwas stärkeren abdominalen Druck tritt etwas Blut aus der Geschlechtsöffnung. Es ist zu schlussfolgern, dass die zur Verfügung stehenden Streifenbarschhybriden bereits ihre Gonaden zurückbilden, so dass der Versuch in Abstimmung mit dem Auftraggeber abgebrochen wird.

Zusammenfassung

Im Verlauf des Versuches über einen Zeitraum von 31 Tagen wurde ein Rückgang der Anzahl der „reifen“ Tiere beobachtet. Die anfänglich als „noch nicht reif“ eingestuften Fische hatten zu diesem Zeitpunkt mit der Rückbildung der Gonaden bereits begonnen. 70 % der Streifenbarschhybriden hatten bei Anlieferung einen durch Gonadenausbildung sichtbar gewölbten Bauch. Es war auffällig, dass in mehreren Fällen die Milchner stärker gewölbten Gonadenansatz ausbildeten als die Rogner. Es wurde immer problematischer, geeignete Streifenbarschhybriden zur Hypophysierung zu finden. Am 13.06.07 wurden nur noch drei Stück weibliche Streifenbarschhybriden mit sichtbarem Gonadenansatz selektiert. Es kann geschlussfolgert werden, dass die Fische schon im Teich mit

der Rückbildung der Gonaden begonnen hatten oder der Abfischungs- und Transportstress die Ovulation unterbrochen hat. Am Liefertag betrug die Außentemperatur 29 °C, die Wassertemperatur im Transportkübel 22 °C. Reife Fische hätten schon bei der ersten Untersuchung am 21.05.07 einzelne Eier abgeben können, auch hätte es in der Glasanlage mit den drei Stück verschiedenen Geschlechterkombinationen mindestens Anzeichen von Laichverhalten geben müssen. Auf Grund des sehr warmen Frühjahres 2007 konnten auch bei anderen Fischarten eine Verschiebung der Laichreife auf einen früheren Zeitpunkt beobachtet werden. Bei einem erneuten Versuch einer Vermehrung der Streifenbarschhybriden sollte ca. vier Wochen eher begonnen werden.

Impressum

Herausgeber: Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
Pillnitzer Platz 3, 01326 Dresden
Internet: <http://www.smul.sachsen.de/lfulg>

Autoren: Matthias Pfeifer, Dr. Gert Füllner
Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
Abteilung Tierische Erzeugung
Gutsstraße 1
02699 Königswartha
Telefon: 035931 296-10
Telefax: 035931 296-11
E-Mail: matthias.pfeifer@smul.sachsen.de

Andreas von Bresinsky, Jan Aurich
Fisch + Wasser Oelzschau GmbH
Thomas Plathe
Teichwirtschaft Wermsdorf-Torgau
Dr. Klaus Kohlmann
Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei e.V.
Berlin-Friedrichshagen

Redaktion: Matthias Pfeifer

Endredaktion: Öffentlichkeitsarbeit
Präsidialabteilung

ISSN: 1867-2868

Redaktionsschluss: März 2009

Für alle angegebenen E-Mail-Adressen gilt:

Kein Zugang für elektronisch signierte sowie für verschlüsselte elektronische Dokumente

Verteilerhinweis

Diese Informationsschrift wird von der Sächsischen Staatsregierung im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit herausgegeben. Sie darf weder von Parteien noch von Wahlhelfern zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für alle Wahlen.