



---

## Projektabschlussbericht

**Aufzucht von europäischen Zandern (*Sander lucioperca*) unter Brackwasserbedingungen: Verbesserung von Nachhaltigkeit, Tierwohl und Ökonomie in geschlossenen Kreislaufanlagen**



Foto: Zienert

**Christopher Naas  
Dr. Andreas Müller-Belecke**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Verzeichnis verwendeter Abkürzungen .....</b>	<b>v</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
2.1 Literaturübersicht .....	3
2.1.1 Der Zander .....	3
2.1.2 Der Zander als KLA-Kandidat.....	3
2.1.3 Das Wachstum von Fischen unter dem Einfluss von Salz .....	4
2.1.4 Physiologische und morphologische Reaktionen von Fischen auf Salz .....	5
2.1.5 Die Ontogenese von Fischen und Salz.....	5
2.1.6 Salz als Teil der Anlagenhygiene von KLA .....	5
2.1.7 Effekte von Salz auf Schlachtparameter .....	6
2.1.8 Ziele dieser Arbeit.....	7
<b>3. Materialien und Methoden .....</b>	<b>8</b>
3.1 AP1.....	8
3.1.1 Versuchstiere .....	8
3.1.2 Markieren von Versuchsfischen.....	8
3.1.3 Aufbau der Versuchskreislaufanlagen .....	8
3.1.4 Fütterung.....	10
3.1.5 Wasseruntersuchungen.....	10
3.1.6 Probenahmen.....	10
3.1.7 Wachstums- und Performanceparameter .....	13
3.1.8 Kiemenhistologie .....	13
3.1.9 Bestimmung der Trockenmasse und der Bruttoenergie .....	13
3.1.10 Ermittlung des Sauerstoffverbrauches .....	13
3.1.11 Analyse von Kot- und Futterproben .....	14
3.1.12 Anmerkungen .....	14
3.2 AP2.....	15
3.3 AP3.....	17
3.3.1 Zanderembryonen im Ei .....	17
3.3.2 Schwimm- und fressfähige Zanderlarven.....	17
3.3.3 Trockenfutteradaptierte Jungzander .....	18
3.3.4 Zandersetzlinge.....	19
3.4 AP4.....	20
3.4.1 Versuchstiere, Besatz und Aufsalzen der Anlagen .....	20
3.4.2 Aufbau der Versuchsanlagen .....	20

3.4.3 Fütterung .....	22
3.4.4 Wasseruntersuchungen.....	22
3.4.5 Wachstum und Futtermittelverwertung.....	22
3.4.6 Erhebung von Gesundheitsindikatoren .....	22
3.4.7 Schlachtparameter der speisefähigen Zander .....	23
3.4.8 Sensorische Beurteilung der Zander.....	23
3.5 AP5 – ENTFALLEN .....	24
3.6 AP6.....	24
3.7 Statistik .....	26
<b>4. Ergebnisse.....</b>	<b>27</b>
4.1 AP1.....	27
4.1.1 Wasserparameter .....	27
4.1.2 Stückmasseentwicklung der Zander .....	29
4.1.3 Stückmasseentwicklung individuell markierter Zander .....	30
4.1.4 Futtermittelverwertung und spezifische Wachstumsraten.....	33
4.1.5 Kondition- und Organindizes .....	34
4.1.6 Hämatologie .....	35
4.1.7 Kiemenhistologie .....	45
4.1.8 Wassergehalt und Bruttoenergiebestimmung .....	49
4.1.9 Sauerstoffbedarf.....	49
4.1.10 Analyse von Kot- und Futterproben .....	50
4.2 AP2.....	51
4.2.1 Wasserparameter .....	51
4.2.2 Entwicklung der Fische.....	51
4.2.3 Ektoparasiten .....	52
4.3 AP3.....	55
4.3.1 Zanderembryonen im Ei .....	55
4.3.2 Schwimm- und fressfähige Zanderlarven.....	56
4.3.3 Trockenfutteradaptierte Jungzander .....	59
4.3.4 Zandersetzlinge .....	61
4.4 AP4.....	62
4.4.1 Wasserparameter .....	62
4.4.2 Wachstum und Entwicklung der Zander .....	63
4.4.3 Gesundheitsindikatoren der Zander.....	66
4.4.4 Ermittelte Schlachtparameter der Zander .....	67
4.4.5 Sensorische Beurteilung der Zander.....	68

4.5 AP6.....	69
4.5.1 Ökonomisches Einsparpotential .....	69
4.5.2 Ressourceneinsparung.....	70
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>71</b>
5.1 AP1.....	71
5.1.1 Wasserparameter .....	71
5.1.2 Stückmasseentwicklung, Wachstum und Futtermittelverwertung der Zander .....	71
5.1.3 Konditions- und Organindizes.....	75
5.1.4 Hämatologie .....	75
5.1.5 Kiemenhistologie .....	83
5.1.6 Wassergehalt und Bruttoenergiebestimmung .....	85
5.1.7 Sauerstoffbedarf.....	86
5.1.8 Nährstoff- und Energiebilanzen .....	87
5.1.9 Fazit .....	87
5.2 AP2.....	89
5.2.1 Gültigkeitskriterium .....	89
5.2.2 Wasserparameter .....	89
5.2.3 Wachstum und Entwicklung der Zander .....	89
5.2.4 Ektoparasiten .....	90
5.2.5 Fazit .....	93
5.3 AP3.....	95
5.3.1 Zanderembryonen im Ei .....	95
5.3.2 Schwimm- und fressfähige Zanderlarven.....	96
5.3.3 Trockenfutteradaptierte Jungzander .....	99
5.3.4 Zandersetzlinge .....	101
5.3.5 Fazit .....	102
5.4 AP4.....	106
5.4.1 Wasserparameter .....	106
5.4.2 Wachstum und Entwicklung der Zander .....	107
5.4.3 Gesundheitszustand der Zander.....	108
5.4.4 Ermittelte Schlachtparameter der Zander .....	108
5.4.5 Sensorische Beurteilung der Zander.....	109
5.4.6 Fazit .....	111
5.5 AP6.....	112
5.5.1 Effizienzsteigerung zur Einsparung von Ressourcen .....	112
5.5.2 Verbesserung von Tierwohl und Tiergesundheit.....	113

<b>6. Gesamtfazit.....</b>	<b>115</b>
<b>7. Verwendete Literatur.....</b>	<b>116</b>
<b>8. Veröffentlichungen, Präsentationen und wissenschaftliche Beiträge im Rahmen des Vorhabens .....</b>	<b>129</b>

## Verzeichnis verwendeter Abkürzungen

%	Prozent
‰	Promille
°C	Grad Celsius
d°	Tagesgrad
a	Jahr
AP	Arbeitspaket
Ca <sup>2+</sup>	Calcium
Cl <sup>-</sup>	Chlorid
cm	Zentimeter
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
cm <sup>3</sup>	Kubikcentimeter
CN <sup>-</sup>	Cyanid
D	Durchmesser
d	Tag
DDSF	Dactylogyridae-Dichte pro Sichtfenster und Fisch
dl	Deziliter
DN	Nennweite
dph	<i>days post hatch</i> (Tage nach Schlupf)
€	Euro
Fa.	Firma
FM	Frischmasse
FNU	Formazine Nephelometric Units
FQ	Futterquotient
g	Gramm
GFK	Glasfaserverstärkter Kunststoff
H	Höhe
h	Stunde
HSI	Hepatosomatischer Index
I.U.	International unit
ICP-OES	Optische Emissionsspektrometrie mittels induktiv gekoppelten Plasmas
K <sup>+</sup>	Kalium
Kf	Konditionsfaktor
kg	Kilogramm
KLA	Geschlossene Kreislaufanlage
kW	Kilowatt
kWh	Kilowattstunde
l	Liter
LF	Leitfähigkeit
ln	Natürlicher Logarithmus
lx	Lux (SI-Einheit der Beleuchtungsstärke)
m	Meter
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
m <sup>3</sup>	Kubikmeter
mg	Milligramm
min	Minute
MJ	Megajoule
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimolar
mol	Mol (SI-Basiseinheit)
mOsmol	Milliosmol
mval	Millival
MW	Mittelwert
n	Anzahl

Na <sup>+</sup>	Natrium
NaCl	Natriumchlorid (Kochsalz)
NFE	Stickstofffreie Extraktstoffe
ng	Nanogramm
NH <sub>3</sub>	Ammoniak
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ammonium
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	Ammonium-Stickstoff
nm	Nanometer
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Nitrit
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	Nitrit-Stickstoff
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrat
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	Nitrat-Stickstoff
NWG	Nachweisgrenze
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PDSF	Parasitendichte pro Sichtfenster und Fisch
PIT	Passive Integrated Transponder
psu	<i>Practical Salinity Unit</i>
RP	Rohprotein
rpm	<i>rounds per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SE	Standardfehler
SGR	<i>specific growth rate</i> (Spezifische Wachstumsrate)
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Sulfat
SSI	Splenosomatischer Index
Stk.	Stück
SVFI	Somatischer Visceralfett Index
SVK	Scheinbarer Verdaulichkeitskoeffizient
t	Tonne
TDSF	Trichodinidae-Dichte pro Sichtfenster und Fisch
TL	Totallänge
TM	Trockenmasse
T3	Trijodthyronin
T4	Tetrajodthyronin
UV-C	Ultraviolette Strahlung im Bereich C (100-280 nm Wellenlänge)
VSFI	Visceralfettindex
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
µS	Mikrosiemens
$\bar{X}$	Mittelwert

# 1. Einleitung

In Deutschland beträgt der Pro-Kopf-Verbrauch an Fischereiprodukten laut FIZ (2020) 13,7 kg. Der Selbstversorgungsgrad ist dabei mit 14 % (FIZ 2020) gering und es besteht eine starke Abhängigkeit von Importen aus Drittländern. In der heimischen Salmonidenaquakultur und der traditionellen Karpfenteichwirtschaft sind aufgrund sinkender Verbrauchernachfrage beim Karpfen und zunehmenden Einschränkungen im Produktionsablauf (gesetzliche Auflagen, Koi Herpes Viruse, Prädatorendruck, bürokratische Hürden u. a.) zukünftig kaum nennenswerte Ertragssteigerungen zu erwarten. Im Falle der Karpfenteichwirtschaft ist sogar mit weiteren Ertragsabnahmen zu rechnen.

Im Gegensatz dazu besteht ein kontinuierliches Interesse an der Produktion von aquatischen Organismen in geschlossenen Kreislaufanlagen (KLA). Derzeit werden in Deutschland an 51 Standorten geschlossene KLA betrieben (BRÄMICK 2020). Die Aufzucht von Fischen in KLA kann zur Kompensation der Ertragsverluste beitragen und bei voranschreitendem Wachstum den Selbstversorgungsgrad qualitativ hochwertiger und umweltgerecht erzeugter Fischprodukte steigern. Die Struktur des deutschen Aquakultursektors ist durch eine Vielzahl an Klein- und Familienbetrieben geprägt, die einen guten Teil des Umsatzes über Direktvermarktung an den Endkunden oder an die Gastronomie erwirtschaften. Insbesondere im urbanen Raum oder direkter Umgebung von Städten stehen entsprechende, hochpreisige Absatzmärkte zur Verfügung. KLA erlauben aufgrund des sehr geringen Wasserbedarfs, der hochentwickelten, kompakten Technik und des vergleichsweise geringen Platzbedarfes einen Einsatz direkt in städtischen Gebieten. Damit können sie einen großen Beitrag zur regionalen, marktnahen Produktion mit entsprechenden Vorteilen (kaum Transport, absolute Frische/Qualität, transparente „gläserne“ Produktion, direkter Kontakt zum Verbraucher) leisten. Die Aufzucht in KLA stellt, durch den hohen Grad der Kreislaufführung, das Haltungssystem mit dem vergleichsweise geringsten Wasserbedarf in der Fischhaltung dar. Je nach eingesetzter Technik lässt sich der tägliche Frischwasserbedarf momentan auf rund 2 % des Anlagenvolumens reduzieren. Eine gezielte und bedarfsorientierte Fütterung mit fischartspezifischen Trockenfuttermittel führt dabei bereits zum jetzigen Zeitpunkt zu hohen Wachstumsraten und vergleichsweise kurzen Aufzuchtperioden. Trotz des hohen Standes der Entwicklung bedarf diese aussichtsreiche Form der Fischaufzucht stetiger Verbesserungen und Weiterentwicklungen. Neben einer weiteren Verbesserung der Ressourcennutzung müssen, insbesondere für die Etablierung neuer Aquakulturkanidaten, speziesangepasste Verfahren bzw. Anpassungen der aktuellen Protokolle erarbeitet und in der Praxis etabliert werden.

Die geringen Wasseraustauschraten moderner KLA erlauben den ökonomisch vertretbaren Einsatz von Kochsalz (NaCl). Salz kann zudem im hohen Maße positive Auswirkungen auf Fischwachstum, die Futterraufnahme und -verwertung (ALTINOK u. GRIZZLE 2001, LOŽYS 2004) und die Fischgesundheit haben (BARTON u. ZITZOW 1995, GRIGNARD u. a. 1996). In Bezug auf Produktqualität/ -sicherheit, Verbrauchersicherheit/ -akzeptanz sowie Tiergerechtigkeit ist Kochsalz dabei als unbedenklich einzustufen.

Aufgrund der hohen Nachfrage und den hochpreisigen Absatzmöglichkeiten ist der Zander (*Sander lucioperca*) ein idealer Kandidat für die Aufzucht in KLA. Trotz seiner Entwicklungsgeschichte und dem aktuellen Verbreitungsgebiet, beispielsweise in den Brackwasserbereichen der Ostsee, findet die Aufzucht von Zandern allgemein unter Süßwasserbedingungen in KLA statt. Vertiefende Erkenntnisse zur Zanderaufzucht unter Brackwasser liegen derzeit nicht vor (DALSGAARD u. a. 2013), und das obwohl der Einsatz geringer Salzkonzentrationen

in der kreislaufbasierten Zanderaufzucht mittlerweile regelmäßig zur Anwendung kommt (POLICAR u. a. 2019). Folglich bietet sich eine Überprüfung des Einsatzes von Kochsalz in der KLA-basierten Zanderaufzucht an.

Im Rahmen dieses Projektes wurde zunächst eine 78-tägige Pilotstudie (**AP1**) zum Einsatz von fünf verschiedenen NaCl-Konzentrationen (0, 3, 6, 9, 12 g l<sup>-1</sup>) bei der Aufzucht von juvenilen Zandern in Versuchskreislaufanlagen durchgeführt. Anhand einer Vielzahl von Parametern soll die Performance und das Wohlbefinden der Tiere evaluiert und eine optimale NaCl-Konzentration ermittelt werden. Da Zander beim Transfer von Oberflächengewässer in geschlossene KLA Vektoren für Ektoparasiten sein können, wurde in einem zweiten Versuch der kontinuierliche Einsatz von NaCl zur Reduktion von Ektoparasiten untersucht (**AP2**). In einer Reihe von aufeinander aufbauenden Versuchen wurde überprüft, ob die optimale NaCl-Konzentration bei der Zanderaufzucht im Laufe der Ontogenese variiert (**AP3**). Hierfür wurden vier unterschiedliche Lebensstadien untersucht (Ei, Larve, Jungzander, Setzling). Um zu überprüfen, ob das neue NaCl-Protokoll in die Praxis übertragbar ist, wurde anschließend ein 252 tägiger Versuch im halbtechnischen Maßstab durchgeführt (**AP4**). Hierbei wurden in zwei unabhängigen Kreislaufanlagen Zander bis zur Speisefähigkeit unter Zugabe von 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> aufgezogen. Ein weiterführender Versuch mit einem Praxispartner konnte hingegen nicht realisiert werden (**AP5**). Abschließend erfolgt eine Evaluierung der gewonnenen Ergebnisse unter Berücksichtigung einer möglichen Effizienzsteigerung und der Einsparung von Ressourcen sowie einer Verbesserung des Tierwohls und der Tiergesundheit bei der Verwendung von NaCl während der Aufzucht von Zandern in KLA (**AP6**).

## 2.1 Literaturübersicht

### 2.1.1 Der Zander

Der europäische Zander (*Sander lucioperca*) ist ein Vertreter der Familie der Percidae (Echte Barsche). Er erreicht Körperlängen von bis zu einem Meter, Stückmassen von bis zu 10 kg (SCHARF u. a. 2011) und ein Lebensalter von bis zu 17 Jahren (KOTTELAT u. FREYHOF 2007). Der Zander besiedelt bevorzugt kiesgründige Gewässer mit hartem Grund. Er ist in weiten Teilen Eurasiens und hier insbesondere in trüben Flüssen und eutrophen Seen, aber auch in brackwassergeprägten Küstengewässern und Flussmündungen anzutreffen (KOTTELAT u. FREYHOF 2007). Der Zander benötigt ausgedehnte Freiwasserflächen, die nicht von submersen Wasserpflanzen bewachsen sind (SCHÄPERCLAUS u. VON LUKOWICZ 1998). Das ursprüngliche Verbreitungsgebiet des europäischen Zanders zwischen dem Schwarzen Meer und der Ostsee hat sich durch intensive Besatzmaßnahmen erweitert. Heute ist diese Art fast überall in Europa sowie in Nordafrika und Westasien anzutreffen (KOTTELAT u. FREYHOF 2007). Laut der Roten Liste (IUNC 2017) ist der europäische Zander als nicht gefährdete Fischart eingestuft. Der Zander ist ein beliebter Speisefisch und ein wichtiger Zielfisch für die Erwerbs- und Angelfischerei. Er zeichnet sich durch ein weißes, fettarmes Muskelfleisch aus, das nur wenige intramuskuläre Gräten aufweist.

Zander kommen natürlicherweise im Süß- und Brackwasser vor. Aus Rückschlüssen von Fängen und experimentellen Untersuchungen kann abgeleitet werden, dass Zander 9 bis 12 ‰ Salinität sicher tolerieren (LEHTONEN u. a. 1996, SADOK u. a. 2004), 16 ‰ nach einem direkten Transfer für mindestens 6 Tage überleben und sogar einen Anstieg der Salinität auf 33 ‰, während eines nachempfundenen sechsstündigen Tidenhubes, dulden (BROWN u. a. 2001). Obwohl sich der Einsatz von geringen Salzkonzentrationen als „Gute fachliche Praxis“ in der Zanderaquakultur interpretieren lässt (vgl. POLICAR u. a. 2019), liegen, wie bereits von DALSGAARD u. a. im Jahr 2013 angemerkt, derzeit keine Untersuchungsergebnisse zur Aufzucht von Zandern unter Brackwasserbedingungen vor.

### 2.1.2 Der Zander als KLA-Kandidat

Auf dem deutschen Markt erhältliche Zanderprodukte werden nach Meinung von KLOAS u. a. (2011) häufig unter wenig nachhaltiger Ausbeutung der natürlichen Bestände in exportierenden Ländern (überwiegend Osteuropa) produziert. In der heimischen Teichwirtschaft wird eine extensive Produktion von Zandern als Nebenfisch mit geringen Erträgen und natürlicherweise stark schwankender Qualität betrieben. Dabei handelt es sich jedoch überwiegend um juvenile Fische für verschiedenste Besatzmaßnahmen natürlicher Gewässer. Eine Haltung bis zur Speisefischgröße wird in Teichen hingegen kaum praktiziert. In Abhängigkeit der Witterung benötigen Zander in Teichen 2 bis 5 Sommer bis zum Erreichen einer speisefähigen Stückmasse.

Ein deutlich größeres Potential für eine nachhaltige, heimische Zanderproduktion bieten KLA, die, bei optimalen Bedingungen, eine Aufzucht von Speisefischen innerhalb eines Jahres ermöglichen (ZIENERT u. HEIDRICH 2005). Die bedarfsgerechte, planbare Reproduktion von Zandern auch außerhalb natürlicher Laichzeiten, die Umstellung auf konventionelle Trockenfuttermittel und eine anschließende Aufzucht zur Speisefisch-, Laichfischgröße sind dafür grundlegend. Protokolle in allen Bereichen der Zanderaquakultur werden seit mehreren Jahren erfolgreich untersucht, mit planbaren Ergebnissen durchgeführt und an Praxisbetriebe vermittelt (ZIENERT u. HEIDRICH 2005, MÜLLER-BELECKE u. ZIENERT 2008).

Zahlreiche neuere Unternehmungen auf dem Gebiet der heimischen Aquakultur zielen auf die Erzeugung von Speisezandern ab. Im Jahr 2017 erreichte in Deutschland die Zanderpro-

duktion in Kreislaufanlagen ein Volumen von 132 t (BRÄMICK 2018). Allerdings ist die Senkung der Gesteungskosten in der Zanderaufzucht zur Etablierung einer langfristigen, nachhaltigen und heimischen Produktion weiterhin dringlich geboten.

Der am IfB entwickelte und erfolgreich in die Praxis überführte „Selbstreinigende Innertgas-Denitrifikations-Reaktor (SID)“ führt zu einer direkten, nennenswerten Ersparnis von Frisch- und Ablaufwasser und damit zu einem Grundstein erfolgreicher KLA-Produktion (MÜLLER-BELECKE u. a. 2013). Aufgrund der deutlich reduzierten Wasseraustauschrate ermöglicht er zusätzlich einen ökonomisch vertretbaren Einsatz von Kochsalz (NaCl) in der binnenlandbasierten Kreislaufaquakultur.

Ungünstig stellen sich unter den momentanen Rahmenbedingungen hohe Gesteungskosten von acht bis zehn Euro je Kilogramm dar. Für eine längerfristig kostendeckende Abgabe, auch an den Großhandel, müssten bei aktueller Marktlage Gesteungskosten von max. acht Euro pro Kilogramm (lebend/rund) in der Zanderaufzucht realisiert werden (MÜLLER-BELECKE 2012). Daher gilt es, neue tierwohlgerichte Ansätze zu verfolgen und die Produktivität auf eine kostendeckende, nachhaltige Weise zu erhöhen.

### **2.1.3 Das Wachstum von Fischen unter dem Einfluss von Salz**

Im Hinblick auf den in der Aquakultur sehr wichtigen Parameter Wachstum und die Entwicklung der Fische, wurden in Feldstudien an der Litauischen Ostseeküste für Zander, die in Gewässern mit höherem Salzgehalt (4,9 – 6,8 psu) lebten, höhere Körperlängen, Konditionsfaktoren und intramuskuläre Fettgehalte festgestellt als bei Exemplaren, die bei Salinitäten bis 1,6 psu vorgefunden wurden. Dies deutet auf positive Effekte durch höhere Salzgehalte hin (LOŽYS 2004), die für die Aufzucht von Zandern in KLA von Interesse sein könnten.

Dass Süßwasserfische bei leicht erhöhten Salinitäten bessere Wachstumsleistungen erzielen können, ist bereits für andere Fischarten nachgewiesen. So beobachtete LOŽYS (2004) für den mit dem Zander artverwandten Flussbarsch (*Perca fluviatilis*) ein besseres Wachstum bei einem Salzgehalt von 5 psu gegenüber 2 psu und Süßwasser. Auch bei anderen Fischarten zeigt sich eine positive Wirkung von erhöhten Salinitäten. STEFFENS (1985) beschreibt Untersuchungen an Regenbogenforellen, in denen gute bis sehr gute Massezunahmen und Futtermittelverwertung bei Salzgehalten um 20-30 ‰ erzielt werden konnten. Jüngere Untersuchungen zeigten bereits positive Auswirkungen von Brackwasser bei niedrigeren Salinitäten (3 und 9 ‰) auf die Wachstumsrate, Futtermittelverwertung und Energieverwertung von Regenbogenforelle, Streifenbarsch und einer Störart (ALTINOK u. GRIZZLE 2001). Auf welchen Mechanismen die erhöhten Wachstumsleistungen beruhen, ist nach Untersuchungsansatz und Fischart oft verschieden oder noch ungesichert und wird divers diskutiert. Nach BOEUF u. PAYAN (2001) kommt dabei den vier Punkten Grundumsatz, Futteraufnahme, Futtermittelverwertung und hormonelle Steuerung/Stimulation (bspw. durch Schilddrüsenhormone) eine wichtige Bedeutung zu. Diese Faktoren oder auch Kombinationen aus mehreren haben sich bei unterschiedlichen Fischarten in Studien als ausschlaggebend für ein besseres Wachstum unter höheren Salinitäten herausgestellt. Als Indikator für einen veränderten Grundumsatz kann bspw. ein reduzierter Sauerstoffverbrauch von Fischen unter salinen Bedingungen herangezogen werden (ALTINOK u. GRIZZLE 2003). Ebenso können Salzapplikationen die Verdaulichkeit von Nährstoffen beeinflussen (KIBRIA u. a. 1999) und so die Futtermittelverwertung von Fischen verbessern.

Legt man einige der von HUNTIGFORD u. a. (2006) gelisteten Anzeichen für Tierwohl zugrunde, können die aus einem leicht erhöhten Salzgehalt resultierende höhere Futteraufnahme, das gesteigerte Wachstum und eine erhöhte Kondition bereits Anzeichen für eine Verbesse-

nung des Tierwohls sein, stellt sich doch im Gegenzug eine Verschlechterung dieser Parameter als Folge von beeinträchtigtem Tierwohl dar.

#### **2.1.4 Physiologische und morphologische Reaktionen von Fischen auf Salz**

Im Hinblick auf die Einschätzung des Stresslevels von Fischen kann das Hormon Cortisol herangezogen werden (SADOUL u. GEFFROY 2019). In Studien mit Amerikanischen Zandern (*Sander vitreus*) stellte sich heraus, dass im Anschluss an einen standardisierten Stressor, eine Hälterung in 0,5 % NaCl zu einem schnelleren Rückgang der Cortisolkonzentrationen führte als bei sich in Süßwasser erholenden Artgenossen (BARTON u. ZITZOW 1995). Demzufolge können leicht erhöhte Salinitäten positive Effekte auf das Stresslevel und Wohlbefinden von Perciden haben. Ob dies zudem auch für eine kontinuierliche und längerfristige NaCl-Anwendung gilt ist derzeit nicht bekannt.

Es können jedoch noch weitere hämatologische Parameter zur Evaluierung physiologischer Effekte von Salzen herangezogen werden. Bei vom Süß- ins Brackwasser überführten Fischen werden bei suboptimalen osmotischen Verhältnissen Abweichungen des Hämatokritgehaltes beobachtet (DIOUF u. a. 2002, DE BOECK u. a. 2000). Ebenso können die Konzentrationen gelöster Plasmametabolite (Glukose, Laktat, Protein, Triglyceride) aufgrund von Stress und/oder dem erhöhten Energiebedarf bei osmotischen Herausforderungen verändert sein (BARTON u. IWAMA 1991, SOENGAS u. a. 2007). Durch eine Änderung der Ionenkonzentration bzw. –zusammensetzung in der Haltungsumwelt kann zudem der Ionen- und Wasserhaushalt von Fischen beeinflusst werden. Sichtbar wird dies u. a. durch Veränderungen des Wassergehaltes, aber auch der Osmolalität des Blutplasmas (BROWN u. a. 2001) und der Konzentration von im Blut gelösten Ionen (MATTIOLI u. a. 2017).

Mit den Kiemen steht ein Fisch in direktem Kontakt mit seiner Umwelt. Aufgrund des Aufbaus und der Funktionsweise ist die Fischkieme das primäre osmoregulatorische Organ (EVANS u. a. 2005). Bei einer Erhöhung der Salzkonzentrationen sind neben Adaptationsmechanismen, wie einer Zunahme in Anzahl oder Größe der Chloridzellen (AZIZI u. a. 2011, KÜLTZ u. a. 1995), auch unspezifische Reaktionen, wie die Ablösung des Kiemenepithels oder Fusionen von Sekundärlamellen, zu erwarten (VELASCO-SANTAMARÍA u. CRUZ-CASALLAS 2008). Zweitere deuten auf eine Unverträglichkeit gegenüber erhöhten Salzkonzentrationen hin.

#### **2.1.5 Die Ontogenese von Fischen und Salz**

Studienergebnisse legen nahe, dass sich die Toleranz von Fischen gegenüber salinen Haltungsumwelten im Laufe des Lebenszyklus verändert (ALLEN u. a. 2011, VARSAMOS u. a. 2001). Auch während der Entwicklung des Zanders vom Ei bis zum Setzling finden grundlegende morphologische und physiologische Veränderungen statt. Diese Veränderungen beeinflussen möglicherweise die jeweils optimale NaCl-Konzentration bei der Aufzucht von Zandern in KLA. Bei der Entwicklung und Optimierung eines NaCl-Protokolls für die Zander-aufzucht erscheint es daher geboten die verschiedenen Lebensstadien (Ei, Larve, Jungfisch, Setzling) zu berücksichtigen.

#### **2.1.6 Salz als Teil der Anlagenhygiene von KLA**

Neben den beschriebenen Auswirkungen auf die Tierphysiologie und das Wachstum stellt Kochsalz, mit einer positiven Wirkung auf die Anlagenhygiene sowie bestimmte Wasserparameter, zusätzlich ein interessantes Medium für eine Steigerung des Tierwohls im Zusammenhang mit der Wasserqualität und Tiergesundheit in KLA dar.

Die Reinigungsleistung der in KLA eingesetzten Biofilter basiert auf dem Energiestoffwechsel verschiedener Bakterienstämme (*Nitrosomonas* sp., *Nitrobacter* sp., u. a.). Je nach Abundanz einzelner Bakterienstämme werden dabei unterschiedliche Anteile verschiedener Stickstoffverbindungen vermehrt in das Wasser abgegeben bzw. entfernt.

Für die betreffenden Stickstoffverbindungen ist bekannt, dass sich das Ionengleichgewicht von Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) und Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) bei erhöhten Salinitäten zugunsten des nicht fischtoxischen  $\text{NH}_4^+$  verschiebt (SOUSA u. a. 1974). Zusätzlich ist durch eine erhöhte Chloridionenverfügbarkeit ( $\text{Cl}^-$ ) eine deutlich höhere Nitritkonzentration ( $\text{NO}_2^-$ ) im Anlagenwasser tolerierbar (SCHRECKENBACH 2010, WUERTZ u. a. 2013). Damit stellt der Einsatz von NaCl eine einfache Möglichkeit dar, phasenweise auftretende Leistungsschwankungen des Biofilters abzufedern bzw. auszugleichen und daraus resultierende negative Effekte auf das Tierwohl zu verringern oder gänzlich zu vermeiden.

Obwohl es sich bei KLA um „geschlossene Systeme“ handelt, die im Gegensatz zu anderen Haltungsformen, einem generell geringen Risiko von Pathogen- und Parasitenbefall ausgesetzt sind, kann über kontaminiertes Besatzmaterial oder Zulaufwasserquellen eine Einschleppung von Krankheitserregern oder Parasiten erfolgen. Aufgrund der Begleitumstände einer konzentrierten Fischhaltung in der Aquakultur und den damit einhergehenden Verhaltensweisen von Fischen, stellen Parasiten, neben der Wasserqualität, Haltungsichte und Fütterungsregime, einen nicht zu vernachlässigenden Punkt im Komplex „Tierwohl in der Aquakultur“ dar (BARBER 2007). Ein Parasitenbefall kann sich je nach Ort des Befalls stark auf die sensorischen Fähigkeiten auswirken, eine gestörte Schwimmfähigkeit, -leistung und/oder eine generelle Erhöhung des Energiebedarfs nach sich ziehen. Als Resultat der Beeinträchtigung oder als direkte Reaktion auf den Parasitenbefall können Futteraufnahme und Konkurrenzstärke gegenüber anderen Individuen deutlich eingeschränkt sein. Darüber hinaus stellen Verletzungen der Schleimhaut, Haut, Kiemen oder Flossen durch Parasiten Eintrittspforten für Sekundärinfektionen durch andere Pathogene dar (AMLACHER 1986, BARBER 2007, HOFFMANN 2005, SCHÄPERCLAUS 1990).

Die Abundanz von Parasiten kann durch die präventive Wirkung von NaCl verringert oder ganz vermieden werden. Untersuchungen an Parasiten, die in der Zanderaquakultur auftreten können, zeigten ebenfalls, dass bereits moderat erhöhte Salinitäten gegen *Ichthyophthirius multifiliis*, *Gyrodactylus salaris*, *Trichodina* spp. und *Ichtyobodo necator* wirken können (SCHÄPERCLAUS 1990, SOLENG u. BAKKE 1997, AIHUA u. BUCHMANN 2001). Medikamenten- und Desinfektionsmitteleinsätze in der Zanderaufzucht könnten durch die kontinuierliche Anwendung von leicht salzhaltigem Wasser gegen Parasiten zukünftig also reduziert oder obsolet werden.

### **2.1.7 Effekte von Salz auf Schlachtparameter**

Neben einer effizienteren Ressourcennutzung und einer Erhöhung des Tierwohls während der Aufzucht kann eine Haltung in NaCl-haltigem Wasser auch die Produktqualität beeinflussen. Bei der Exposition von Süßwasserfischen mit Salzen werden z. B. Veränderungen des Körperwasseranteils (ARUNACHALAM u. REDDY 1979) und Energiegehaltes (MATTIOLI u. a. 2017) festgestellt.

Ebenso bilden einige in Fischhaltungssystemen vorkommende *Streptomyces*- und Cyanobakterienarten Geosmin. Dieses ist, wenn es sich im Fischfilet anreichert, für einen erdig-muffigen Geruch und Geschmack verantwortlich. Bisher wird am Ende der Aufzucht zur Elimination des „Off-flavours“ daher eine bis zu 14-tägige Hälterungsphase in Frischwasser angeschlossen (BOHL 1999). Studien haben gezeigt, dass bei Fischen und Shrimps, die in Wasser mit höheren Salinitäten aufgezogen wurden, auch im direkten Vergleich mit im

Süßwasser aufgezogenen Individuen, kein „Off-flavour“ festgestellt werden konnte (LOVELL u. BROCE 1985, YAMPRAYOON u. NOOMHORM 2000). Dies scheint auf einer, je nach Höhe der Salinität, stark verringerten bzw. eingestellten Geosminproduktion zu beruhen (REZANKA u. VOTRUBA 1998). Unter Umständen ermöglicht dies eine Abgabe von Speisezandern aus der Aufzucht unter Brackwasserbedingungen mit deutlich reduzierter bzw. unnötig gewordener Hälterung in Frischwasser und resultiert damit in einer Einsparung von Ressourcen.

### **2.1.8 Ziele dieser Arbeit**

Das Projekt beschäftigt sich mit der Aufzucht von Zandern in geschlossenen Kreislaufanlagen unter Brackwasserbedingungen. Brackwasser beschreibt dabei dieselben Wässer, die in KLA genutzt werden, mit dem Unterschied, dass die Salinität durch die Zugabe von Natriumchlorid (NaCl) geringfügig erhöht wird. Der Fokus des Projektes liegt dabei auf den zu erwartenden positiven Effekten des Brackwassers auf Zander.

In **AP1** sollten grundlegende Informationen zur Haltung von juvenilen Zandern im kleintechnischen Maßstab gewonnen werden. Ziel war es eine für Zander optimale NaCl-Konzentration zu ermitteln. In **AP2** wurde die Wirkung verschiedener NaCl-Konzentrationen auf mit Ektoparasiten befallene Zander unter KLA-Bedingungen untersucht. Im Folgenden wurden dann zur Optimierung des NaCl-Protokolls in **AP3** verschiedene ontogenetische Entwicklungsstufen des Zanders (Ei, Larve, Jungzander, Setzling) berücksichtigt. Anschließend erfolgte in **AP4** die Überprüfung der bisher gewonnen Erkenntnisse im praxisnahen Maßstab. Eine zusätzliche Überprüfung des NaCl-Protokolls bei einem Praxispartner konnte nicht realisiert werden (**AP5**). Abschließend erfolgte in **AP6** die Evaluierung der gewonnen Erkenntnisse zum Einsatz von NaCl in der kreislaufbasierten Zanderaquakultur.

### 3. Materialien und Methoden

#### 3.1 AP1

##### 3.1.1 Versuchstiere

Die durchschnittliche Stückmasseder unmarkierten, am IfB aufgezogenen Zander (*Sander lucioperca*) betrug zu Versuchsbeginn 31 g. Die Startstückmassen der markierten Zander waren um durchschnittlich 3 g geringer und betrugen im Durchschnitt 28 g. Die Startstückmassen der beiden Fischgruppen unterschieden sich zu diesem Zeitpunkt signifikant voneinander ( $P \leq 0,001$ ) (Tabelle 3.1.). Der Fischbesatz der Becken fand randomisiert statt. Beim Versuchsstart wurde jedes der drei Becken der fünf Versuchskreislaufanlagen mit 45 unmarkierten Individuen und zehn markierten Fischen besetzt. Die durchschnittliche Besatzdichte der Kreislaufanlagen am Start des Versuches betrug  $5,3 \text{ kg m}^{-3}$ .

**Tabelle 3.1. Stückmasse der unmarkierten und markierten Versuchsfische am Tag des Besatzes in die Becken der Versuchskreislaufanlagen. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

	Zeit (d)	Unmarkiert	Markiert	Gesamt
Stückmasse $\pm$ SD (g)	-3	$31 \pm 5^a$	$28 \pm 4^b$	$31 \pm 5$
n		675	150	825

Bei den erforderlichen Einzelfischwägungen (Fa. Kern, 440-53N,  $\pm 1,0$  g) während des 78-tägigen Versuches wurden die Zander äußerlich begutachtet und wenn vorhanden die individuelle Markierung ausgelesen.

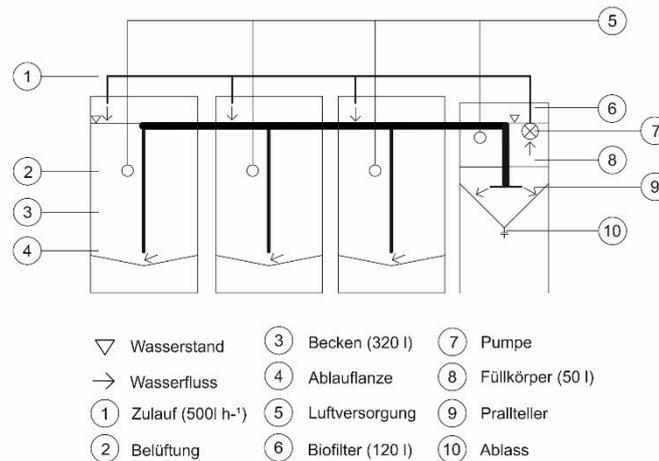
##### 3.1.2 Markieren von Versuchsfischen

Vor dem Versuchsstart wurden 150 Tiere mit einer durchschnittlichen Stückmasse (MW  $\pm$  SD) von  $22 \pm 3$  g individuell markiert. Vor dem markieren wurden die genücherten Fische als erstes tierschutzgerecht betäubt (MS222, Tricain-Methansulfonat). Dem betäubten Zander wurde mit Hilfe eines Spritzenimplantators und einer Kanüle ein *Passive Integrated Transponder* (PIT, Länge: 11 mm, D = 2,2 mm, HDX) eingesetzt. Der PIT wurde in die vordere Bauchhöhle, auf der Höhe der Bauchflossen, eingesetzt.

Direkt nach dem Markieren wurden die Stückmassen der Fische bestimmt und die individuelle Nummer des Fisches ausgelesen (Fa. Datamas, TrackKing-1). Im Anschluss an das Erwachen aus der Betäubung wurden die Fische wieder in die Kreislaufanlage überführt und dort als separate Gruppe in einem Netzgehege zunächst für drei Tage gehalten und danach in das Becken entlassen. Während der ersten drei Tage wurden lediglich geringe Futtermengen von Hand verabreicht, um die Kotausscheidungen auf ein Minimum zu reduzieren. Danach erfolgte eine Fütterung in Anlehnung an ein Protokoll von MÜLLER-BELECKE u. ZIENERT (pers. Mitt.). Die Markierung der Zander erfolgte 14 Tage vor Versuchsstart bzw. der Gewinnung von biologischen Daten (vgl. BARAS u. a. 2000).

##### 3.1.3 Aufbau der Versuchskreislaufanlagen

Für die Versuchsdurchführung wurden fünf identische Kreislaufanlagen mit einem Gesamtvolumen von jeweils 1 080 l konstruiert. Jede der Kreislaufanlagen bestand aus drei Fischhalteeinrichtungen, einer mechanischen und biologischen Reinigungsstufe, Zu- und Ablaufrohren für Wasser, einer Pumpe sowie einer Luftversorgung (Abbildung 3.1.).



**Abbildung 3.1. Versuchskreislaufanlage bestehend aus drei Fischhaltungseinrichtungen und einer Reinigungsstufe.**

Die Wasserförderung in den Kreislaufanlagen wurde mit Hilfe einer Pumpe (Fa. Eheim, Compact 1000) realisiert. Der Zulauf zu den drei Fischhalteneinrichtungen wurde über eine zentrale Leitung (DN 20) vorgenommen und über Kugelhähne reguliert. Um eine Kreisströmung in den Becken zu erzeugen wurde dem zulaufenden Wasser über einen 90° Rohrbogen die Fließrichtung vorgegeben. Mit Hilfe einer mittig, am tiefsten Punkt im Becken installierten Ablauflanze (DN 20), wurde das Wasser aus dem jeweiligen Becken in ein zentrales Ablaufrohr (DN 40) geleitet, das dieses direkt zur mechanisch-biologischen Reinigungsstufe leitete.

Die Belüftung der Fischhaltungseinrichtungen und des Füllkörperbettes erfolgte mit Hilfe von Ausströmersteinen (Oxygenius, D = 30 mm) über eine zentrale Druckluftleitung (Fa. Thomas, Air Pump, 200 l min<sup>-1</sup>).

Jeder Kreislauf wurde mit einer eigenen Reinigungsstufe versehen. Hierfür wurden trichterförmige GFK-Becken mit einem Volumen von 120 l verwendet, die an das zentrale Ablaufrohr angeschlossen wurden. Während des Versuchszeitraumes befanden sich 100 l Wasser in der Reinigungsstufe. Der eigentliche Zulauf wurde im oberen Drittel des konischen Abschnitts des GFK-Beckens installiert. Zur Strömungsumlenkung wurde ein Prallteller verwendet (D = 200 mm, Schlitzmaße: 10 mm). Die mechanische und biologische Reinigung des Haltungswassers erfolgte in einem Schritt. Ein regelmäßiges und für den Versuch standardisiertes Rühren des Füllkörperbettes sowie die Entnahme von Schlamm über den Bodenablass des Trichterbodens erfolgten einmal pro Tag.

Die biologische Reinigung des Haltungswassers fand im oberen Teil des GFK-Beckens statt. Dieses wurde mit 50 l Füllkörpermaterial (Fa. Stoer, Helix 12 mm, 0,9 g cm<sup>-2</sup>, spezifischen Oberfläche von 859 m<sup>2</sup> m<sup>-3</sup>) befüllt. Der Festbettfilter wurde nur zu Reinigungszwecken bewegt. Im oberen Drittel des Bettes wurden zwei Auströmersteine (Oxygenius, D = 50 mm) zur Sauerstoffanreicherung installiert. In der biologischen Reinigungsstufe wurde mit Hilfe von auf den Füllkörpern siedelnden Bakterien das von den Fischen ausgeschiedene Ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) nitrifiziert.

Die täglichen Routinearbeiten an den Kreislaufanlagen umfassten die folgenden Arbeitsschritte:

- Sichtung des Fischbestandes
- Sichtkontrolle Futter- und Kotreste in den Haltungseinrichtungen
- Aufnahme der Wasserparameter: Temperatur (°C) und Sauerstoffkonzentration (mg l<sup>-1</sup>) (Fa. WTW Oxi 340i), pH-Wert (Fa. Merck MColoritest 5,0 - 9,0) im zentralen Ablauf
- Funktionskontrolle Pumpe
- Standardisierte Reinigung des Biofilters
- Futterabhängiger Wasserwechsel (600 l Wasser kg<sup>-1</sup> Futter)

- Eintrag von Alkalinität (Natriumhydrogencarbonat:  $\text{NaHCO}_3$ ) ab einem pH-Wert von  $\leq 7,2$
- Fütterung.

Für den Versuch wurde Trinkwasser der Stadtwerke Potsdam verwendet. Das Wasser für den täglichen Wechsel wurde in 120 l Vorratsbehältern für mindestens 24 Stunden aufbereitet (Belüftung, nach Bedarf NaCl-Zugabe) bevor es in die Kreislaufanlagen gegeben wurde. Für das Erreichen der gewünschten Salinität wurde jodfreies Siede-Speisesalz der Fa. ESCO (Trennmittel: E500, E535) mit einem Natriumchloridgehalt von 99,8 % verwendet. Die initiale Aufsalzung der Anlagen erfolgte, im Anschluss an den Besatz der Anlagen mit Fischen, stufenweise um max.  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  und Tag, sodass alle Anlagen ihre maximale Konzentration ( $0, 3, 6, 9, 12 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) am selben Tag erreichten.

### 3.1.4 Fütterung

Auf jedem Becken wurde ein Uhrwerkfutterautomat mit einer Laufzeit von 24 Stunden installiert, der das Futter mittels eines Förderbandes in die Haltungseinrichtung einbrachte. Gefüttert wurde zu vier Zeitpunkten während eines Tages. Während des gesamten Versuchszeitraums wurde ein kommerzielles Alleinfuttermittel verabreicht (Rohprotein: 64 %, Rohfett: 12,5 %; NFE: 2 %; Rohasche: 13 %; Rohfaser: 1,0 %; Phosphor: 1,5 %; Gesamtenergie: 20,4 MJ; Verdauliche Energie: 19 MJ). Das Fütterungsregime während des Versuches wurde in zwei Abschnitte eingeteilt. Eine Übersicht des Fütterungsregimes ist in Tabelle 3.2. dargestellt. In beiden Fällen erfolgte eine zuwachsbezogene Anpassung der täglichen Futtermenge.

**Tabelle 3.2. Fütterungsintensität der Versuchsfische von Tag 0 bis 36 und von Tag 36 bis 78.**

Zeit	Fütterungsregime
Tag 0 bis Tag 36	Fütterung nach einem von MÜLLER-BELECKE u. Zienert (pers. Mitt.) entwickelten Protokoll
Tag 37 bis Tag 78	Restriktive Fütterung von 0,95 % der Gesamtbiomasse pro Tag bei der Annahme eines FQ von 1,0

### 3.1.5 Wasseruntersuchungen

Neben den bei der täglichen Routine ermittelten Wasserparametern, ist im institutseigenen Wasserlabor mindestens einmal wöchentlich eine Wasseruntersuchung der Versuchskreisläufe vorgenommen worden. Die Untersuchung umfasste die photometrische Bestimmung (Fa. Hach, DR5000) der Konzentrationen an Ammonium ( $\text{mg l}^{-1}$ , LCK 304 und 305), Nitrit ( $\text{mg l}^{-1}$ , LCK 341) und Nitrat ( $\text{mg l}^{-1}$ , LCK 339 und 340) mittels Küvettentests (Hach Lange, LCK-Küvetten-Test-System). Die Umrechnung der Messwerte auf die Äquivalentkonzentration der Stickstoffverbindung erfolgte anschließend mittels der Umrechnungsfaktoren 1,29 für Ammonium-Stickstoff, 3,29 für Nitrit-Stickstoff und 4,43 für Nitrat-Stickstoff (TIMMONS u. EBELING 2013). Zusätzlich ist regelmäßig die Trübung (FNU, Fa. Hach Lange 2100 Q is), das Salzsäurebindungsvermögen ( $\text{mval l}^{-1}$ , Titration, Fa. WTW pH 720), der pH-Wert (Fa. WTW pH 720), die Leitfähigkeit ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ , Fa. WTW LF 197) und die Salinität (‰, Fa. WTW LF 197) des Haltungswassers untersucht worden. Zudem ist die Konzentration von Cyaniden ( $\text{mg l}^{-1}$ , LCK 315) bestimmt worden.

### 3.1.6 Probenahmen

An insgesamt fünf Tagen während des Versuches (1, 3, 8, 36 und 78 d) wurden jeweils acht Zander pro Becken bzw. 24 Fische pro Anlage entnommen und beprobt. Von jedem der fünf Versuchskreisläufe wurde zunächst Becken 1, im zweiten Durchlauf jeweils Becken 2 und im Dritten Durchlauf jeweils Becken 3 beprobt. Um tageszeitliche Effekte auszuschließen wurden an jedem Versuchstag Proben zur gleichen Uhrzeit gewonnen. Ab dem Moment an dem der Kescher die Wasseroberfläche der Haltungseinheit berührte, wurde die Zeit sekundengenau protokolliert. Mit PIT markierte Tiere wurden nicht beprobt und umgehend wieder zurück in das entsprechende Becken gesetzt.

### 3.1.6.1 Hämatologie

Vor der Blutentnahme erfolgte eine tierschutzgerechte Betäubung (Kopfschlag) und Tötung (Durchtrennung der Wirbelsäule) der Fische.

Das Blut wurde an der Caudalvene mit Hilfe einer heparinisierten Spritze (Fa. Braun, Injekt-F, 1,0 ml) und zugehöriger Kanüle (Fa. Braun, 22G) gewonnen. Die Spritzen wurden mit Ammoniumheparin (Fa. Sigma,  $\geq 140$  I.U.; Konzentration in der Arbeitslösung:  $2\ 000$  I.U.  $\text{ml}^{-1}$  bzw.  $14,28$   $\text{mg ml}^{-1}$  destilliertes Wasser) vorbereitet. Um eine Hämolyse des Blutes zu vermeiden, wurden die Spritzen bei  $60$  °C vollständig getrocknet. Die Lagerung erfolgte anschließend im Kühlschrank ( $4$  °C).

Die Lagerung und der Transport der Blutproben erfolgten mittels Kühlrack. Die Trennung des Vollblutes in Blutplasma und Blutkuchen wurde mit einer Zentrifuge durchgeführt (Fa. Sigma, Mikrozentrifuge 1-16 Edition;  $5:00$  min,  $5\ 550$  rpm). Im Anschluss wurde das Blutplasma abpipettiert, in ein neues  $1,5$  ml Reagenzgefäß überführt und bis zur Analyse bei  $-80$  °C gelagert.

Sämtliche weiterführenden Blutplasmaanalysen wurden am Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (Berlin) durchgeführt.

### 3.1.6.2 Hämatokritbestimmung

Die Bestimmung des Anteils der roten Blutkörperchen (Hämatokrit) im Vollblut wurde in Doppelbestimmung durchgeführt. Hierfür wurde Vollblut in zwei Mikrohämatokritpapillaren (Fa. Medlab,  $D = 1,3 \times 50$  mm,  $19$   $\mu\text{l}$ ) überführt und diese mittels Dichtmasse verschlossen. Für die Zentrifugation der Kapillaren wurde eine Zentrifuge (Fa. Sigma, Mikrozentrifuge 1-14;  $4:00$  min,  $13\ 000$  rpm) verwendet. Das Ablesen des Hämatokritwertes wurde mit Hilfe einer standardisierten Schablone für Mikrohämatokritkapillaren (Fa. Sigma) vorgenommen.

### 3.1.6.3 Bestimmung von Cortisol und Schilddrüsenhormonen

#### *Cortisol*

Der Blutplasmacortisolspiegel der Zander wurde mit Hilfe eines kompetitiven Enzymimmunoassay Cortisol-Testkits für humanen Speichel (Cortisol ELISA, RE52611, Lot: ECO143, Fa. IBL International GmbH) bestimmt. Die Messung der Cortisolkonzentration wurde mit einem Mikrotiterplattenleser (Infinite M200, Fa. Tecan) bei  $450$  nm durchgeführt.

#### *Schilddrüsenhormone: Trijodthyronin und Tetrajodthyronin*

Zur Bestimmung der Schilddrüsenhormone Trijodthyronin (T3) und Tetrajodthyronin (T4) im Blutplasma der Zander wurde ein hausinternes, vierstufiges Protokoll des Leibniz-Instituts für Gewässerökologie und Binnenfischerei (Berlin) herangezogen (Proteinfällung, Extraktion, Rücklösung, Messung) (KUPPRAT u. KRÜGER pers. Kom.).

### 3.1.6.4 Bestimmung von Plasmametaboliten

#### *Glukose*

Die Bestimmung des Blutplasmaglukosespiegels der Zander erfolgte als Dreifachbestimmung unter Verwendung eines enzymatisch-photometrischen Assays (Glucose GOD FS\*, Lot: 60102014, Lot Standard: 60121074, Fa. DiaSys Diagnostic Systems GmbH). Die Absorption in den Wells wurde gegen den Blindwert bei  $500$  nm in dem Mikrotiterplattenleser (Infinite M200, Fa. Tecan) bestimmt und die Ergebnisse anschließend in der Software Magellan™ (Fa. Tecan) ausgewertet.

#### *Laktat*

Der Blutplasmalaktatspiegel der Zander wurde unter Verwendung von Amplitude™-Lactat-Assay-Kits (Fa. AAT Bioquest®, L-Laktat, Cat#: 13815, Lot: 1630893) nach Herstellerangaben bestimmt. Das Signal des Sensors wurde mit Hilfe des Mikrotiterplattenlesers (Infinite M200, Fa. Tecan) bei einem Extinktionsverhältnis von  $575 - 605$  nm nach  $1,5$  h ermittelt. Die Auswertung der Daten erfolgte anschließend mit der Software Magellan™ (Fa. Tecan).

### *Proteine*

Die Bestimmung der Proteine im Blutplasma der Zander wurde mit dem Assay Roti®-Quant universal (Reagenz 1: 0118.2; Reagenz 2: 0119.2) durchgeführt. Die Verdünnungsreihen des Proteinstandards wurden nach Herstellerangaben mit bovinem Serumalbumin (A1470-10g, Lot: SLBT4238, Fa. Sigma Aldrich) angesetzt. Die colorimetrische Konzentrationsbestimmung erfolgte mit Hilfe des Mikrotiterplattenlesers (Infinite M200, Fa. Tecan) bei einer Wellenlänge von 492 nm. Die Auswertung der Daten erfolgte anschließend mit der Software Magellan™ (Fa. Tecan).

### *Triglyceride*

Zur Bestimmung des Triglyceridspiegels im Blutplasma der Zander wurde das „Triglyceride Colorimetric Assay Kit“ (10010303) der Fa. Cayman Chemical herangezogen und nach den Herstellerangaben verwendet. Die Absorption wurde bei 540 nm im Mikrotiterplattenleser (Infinite M200, Fa. Tecan) ermittelt und die gewonnenen Daten mit der Software Magellan™ (Fa. Tecan) ausgewertet.

## **3.1.6.5 Bestimmung der Blutplasmaosmolalität und -ionen**

### *Osmolalität*

Die Osmolalität ( $\text{mOsmol kg}^{-1}$ ) des Blutplasmas der Zander wurde nach dem Messprinzip der Gefrierpunktniedrigung bestimmt. Als Messgerät diente der Osmomat 030-M (Fa. Gonotec GmbH, Berlin), welcher es erlaubt auch bei geringen Plasmavolumina die Osmolalität zu ermitteln. Pro Messung wurden 15  $\mu\text{l}$  homogenisiertes Plasma blasenfrei in spezielle Reaktionsgefäße (Fa. Gonotec GmbH, Nr.: 30.9.0010) pipettiert.

### *Ionenbestimmung*

Für die Bestimmung der Anionen Chlorid ( $\text{Cl}^-$ ), Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ -N) und Sulfat ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) erfolgte im ersten Schritt eine Proteinfällung nach einem für geringe Blutplasmavolumina angepassten Protokoll (vgl. BENZO u. a. 2002). Die Messung der Anionen erfolgte mittels Ionenchromatographie (IC Shimadzu) mit einem Leitfähigkeitsdetektor (CDD-10 A) für Chlorid und Sulfat sowie mittels eines UV/VIS Detektors (SPD 20A) bei 210 nm für Nitrat an einer Trennsäule (Shodex SI-90 4 E; isokratisch: 1  $\text{ml min}^{-1}$ , Laufmittel: 1,8 mM  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 1,7 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 1 % ACN).

Für die Kationenbestimmung von Kalzium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), Kalium ( $\text{K}^+$ ) und Natrium ( $\text{Na}^+$ ) wurden die Plasmaproben zunächst mit deionisiertem Wasser 200fach verdünnt. Anschließend erfolgte die Analyse mittels optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP OES) (Fa. Thermo Fischer, iCAP 6000 Duo). Bei den Messungen wurden zwei Standards zur Kalibrierung verwendet (Standard I:  $\text{Ca}^{2+}$ : 5  $\text{mg l}^{-1}$ ,  $\text{K}^+$ : 5  $\text{mg l}^{-1}$ ,  $\text{Na}^+$ : 15  $\text{mg l}^{-1}$ ; Standard II:  $\text{Ca}^{2+}$ : 10  $\text{mg l}^{-1}$ ,  $\text{K}^+$ : 10  $\text{mg l}^{-1}$ ,  $\text{Na}^+$ : 30  $\text{mg l}^{-1}$ ).

## **3.1.6.6 Arbeitslösung Phosphat-gepufferte Salzlösung**

Wenn eine Verdünnung des Blutplasmas nötig war, wurde eine Phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS-Puffer, nach Sörensen) eingesetzt. 1 l PBS-Puffer (pH-Wert: 7,2) wird wie folgt hergestellt:

Stammlösung 1: 11,88 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Fa. Merck) auf 1 000 ml  
Stammlösung 2: 9,08 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Fa. Merck) auf 1 000 ml  
Arbeitslösung: 78 ml Stammlösung 1  
22 ml Stammlösung 2  
8,5 g  $\text{NaCl}$  (Fa. Merck)  
mit destilliertem Wasser auf 1 000 ml auffüllen

Der pH-Wert wurde mittels pH-Meter überprüft und, wenn nötig, entweder mit verdünnter Natriumhydroxid-Lösung oder verdünnter Phosphorsäure angepasst.

### 3.1.7 Wachstums- und Performanceparameter

Die Berechnung des Futterquotienten (FQ), der spezifischen Wachstumsleistung (SGR %<sup>-d</sup>), des Konditionsfaktors (Kf) nach Fulton (NASH u. a. 2006), dem hepatosomatischen Index (HSI %Körpermasse) und dem splenosomatischen Index (SSI %Körpermasse) wurde mit Hilfe folgender Formeln (1-5) durchgeführt:

$$\text{FQ} = \text{Aufgenommenes Futter (kg)} / \text{Zuwachs (kg)} \quad (1)$$

$$\text{SGR} = (\ln (\text{Biomasse Ende}) - \ln (\text{Biomasse Start})) / \text{Versuchstage} * 100 [\% \text{ d}^{-1}] \quad (2)$$

$$\text{Kf} = \text{Stückmasse (g)} * 100 / \text{Körperlänge (cm)}^3 [\text{g cm}^{-3}] \quad (3)$$

$$\text{HSI} = \text{Lebermasse (g)} * 100 / \text{Stückmasse (g)} [\%] \quad (4)$$

$$\text{SSI} = \text{Milzmasse (g)} * 100 / \text{Stückmasse (g)} [\%] \quad (5)$$

### 3.1.8 Kiemenhistologie

An jedem Probenahmetag wurden Zandern (n = 6) jeder Salinität, der dritte Kiemenbogen der linken Körperseite entnommen. Die Aufbereitung sämtlicher Proben erfolgte am Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (Berlin) und erfolgte in Anlehnung an ein Protokoll von GRÖNER u. a. (2017). Die Färbung wurde mit Hämatoxylin (Zellkerne) und Eosin (Gewebe) vorgenommen.

Die Dauerpräparate wurden unter einem Lichtmikroskop (Fa. Leitz, Laborlux S), bei einer Vergrößerung von 400x, semiquantitativ untersucht. Um eine objektive Bewertung zu gewährleisten waren die Kiemenschnitte hierbei maskiert. Pro Zander wurden drei benachbarte, mittig auf dem Kiemenbogen befindliche Primärfilamente und hiervon wiederum jeweils 20 mittige Sekundärfilamente (10 ventral, 10 dorsal) untersucht. Der Mittelwert der drei Primärfilamente repräsentiert 20 Sekundärfilamente.

Bei der Durchsicht wurden die Anzahl der Chlorid- und Schleimzellen, sowie auftretende Hypertrophien der Chlorid- und Schleimzellen, Hyperplasien, Fusionen der Sekundärfilamente sowie der Ablösung von Epithelzellen bestimmt. Lichtmikroskopisch lassen sich Chlorid- und Schleimzellen nur bedingt voneinander unterscheiden (WOOD 2001). Aus diesem Grund wurden diese beiden Zelltypen immer zusammenfassend betrachtet. Als Vorlage bei der Bearbeitung der Proben diente eine Zeichnung zu pathologischen Veränderungen von Kiemen Geweben (MALLATT 1985) sowie Lichtbilder von Kiemenfilamenten des Perciden *Oreochromis niloticus* (HÖHNE 2015).

### 3.1.9 Bestimmung der Trockenmasse und der Bruttoenergie

Die Bestimmung des Wassergehaltes und der Bruttoenergie der Versuchszander erfolgte nach einer von SCHRECKENBACH u. a. (2001) entwickelten Methode. Auf Grundlage der Untersuchungen von SCHRECKENBACH u. a. (2001) kann mit Hilfe der ermittelten Trockenmasse (TM) die Bruttoenergie bestimmt werden ( $\text{Energie (MJ/kg)} = 0,0253 * \text{TM}^{1,6783}$ ). Diese Formel hat als Grundlage eine signifikante Regression ( $r^2 = 0,97$ ) zwischen Bruttoenergie und TM von 18 verschiedenen Süßwasserfischarten, die sowohl aus Aquakulturbetrieben als auch aus natürlichen Gewässern stammten.

### 3.1.10 Ermittlung des Sauerstoffverbrauches

Um eine erhöhte Stoffwechselaktivität während einer Akklimatisierung an die jeweilige Salinität auszuschließen, wurde der Sauerstoffverbrauch erst am Ende des 78-tägigen Versuches ermittelt (vgl. ALTINOK u. GRIZZLE 2003). Dafür wurden die verbliebenen Fische gewogen und die drei separaten Gruppen je Salinität in eine Haltungseinrichtung überführt. Somit wurden die vorgestellten Kreislaufanlagen für diesen Versuchsabschnitt auf ein Becken (B1) und den Biofilter bzw. die mechanische Reinigungsstufe reduziert. Die Ausströmer wurden aus der Haltungseinheit entfernt um einen Sauerstoffeintrag in die Wassersäule zu minimieren. Als

Ausgleich wurde der Biofilter ab diesem Zeitpunkt mit vier Ausströmern betrieben. Die Kreislaufanlagen wurden mit 2,27 kg (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) bzw. 2,33 kg (3 g NaCl l<sup>-1</sup>) Zanderbiomasse besetzt, was einer Besatzdichte von 7,08 bzw. 7,28 kg m<sup>-3</sup> entsprach. Die Fütterung erfolgte wie in der Zeit vom 36 bis 78 Tag: Restriktive Fütterung von 0,95 % der Gesamtbiomasse pro Tag bei der Annahme eines FQ von 1,0.

Zur Ermittlung des Sauerstoffverbrauches der Versuchsgruppen wurde im Abstand von 2 Stunden der Sauerstoffgehalt im Zulauf- und Ablaufwasser (Fa. WTW Oxi 340i) bestimmt. Zusätzlich wurde dreimal täglich die Zulaufwassermenge ausgelitert und hieraus ein arithmetisches Mittel für den jeweiligen Messtag gebildet.

Die Sauerstoffdifferenz zwischen Zu- und Ablauf wurde als die von den Fischen veratmete Menge an Sauerstoff betrachtet. Mit der Multiplikation der Zulaufwassermenge kann ein stündlicher Sauerstoffverbrauch ermittelt werden. Die Biomasse der Zander wurde zu Beginn und am Ende der Versuchskampagne bestimmt. Die Biomasse der jeweiligen Gruppe am Messtag wurde interpoliert. Insgesamt wurden 32 Sauerstoffverbrauchsmessungen pro Salinität durchgeführt.

### 3.1.11 Analyse von Kot- und Futterproben

Die Kotproben wurden während der letzten Phase des Experimentes unter zwei NaCl-Konzentrationen (0 und 3 g l<sup>-1</sup>) gesammelt. An sieben Tagen wurde der anfallende Kot vor der Reinigung der mechanisch-biologischen Reinigungsstufe über den Ablass des Konus standardisiert gewonnen. Die Probenlagerung (500 ml Nalgene®-Flaschen) wurde bis zur Analyse bei -20 °C realisiert. Zusätzlich zu den Kotproben wurde eine Probe des verabreichten Futtermittels analysiert.

Die Analysen wurden vom Umwelt- und Agrarlabor GmbH Fehrbellin durchgeführt und wie folgt vorgenommen:

- Trockensubstanz: VD LUFA Methodenbuch III 3.1
- Rohasche: VD LUFA Methodenbuch III 8.1
- Salzsäure unlösliche Rohasche: VD LUFA Methodenbuch III 8.2
- Phosphor gesamt: Druckaufschluss, DIN EN ISO 11 885 (09.09)
- Rohprotein: VD LUFA Methodenbuch III 4.1.1

Zur Ermittlung der Verdaulichkeit der Futtermittelinhaltsstoffe Stickstoff und Phosphor wurde auf den natürlichen im Futter enthaltenen Marker „salzsäurelösliche Rohasche“ zurückgegriffen. Die Verdaulichkeit kann berechnet werden, indem das Verhältnis des Markers in der Nahrung und im Kot zu einem bestimmten Nährstoff verglichen wird (GODDARD u. MCLEAN 2003). Die scheinbaren Verdaulichkeitskoeffizienten (SVK) wurden nach folgender Formel berechnet.

$$SVK = [1 - (N_K / N_F * M_F / M_K)] * 100 [\%] \quad (6)$$

Wobei:

N<sub>K</sub> = Nährstoff im Kot (%)

N<sub>F</sub> = Nährstoff im Futter (%)

M<sub>F</sub> = Marker im Futter (%)

M<sub>K</sub> = Marker im Kot (%)

### 3.1.12 Anmerkungen

In dem ursprünglichen Projektantrag war vorgesehen, dass ein „Kleines Blutbild“ der in diesem Versuch mit NaCl exponierten Zander angefertigt wird. Aufgrund der z. T. sehr geringen Blutmengen pro Einzelfisch war dies jedoch nicht möglich. Allerdings konnte der Hämatokritwert des Blutes mittels spezieller Mikrohämatokritkapillaren (19 µl) bestimmt werden.

Zur Kompensation der fehlenden Daten wurden die Kiemen der Zander histologisch untersucht.

Die Analyse der Kotproben auf den Parameter „Rohfett“ konnte aufgrund des zu geringen Probenvolumens nicht realisiert werden.

### 3.2 AP2

Für den Versuch wurden vier Kreislaufanlagen herangezogen, die auch in **AP1** verwendet wurden. Das benötigte Biofiltermaterial für die vier Anlagen wurde für 47 Tage vor dem eigentlichen Versuchsbeginn in zwei Kreislaufanlagen angeimpft. Die initiale Füllung der vier Kreislaufanlagen wurde mit Wasser des Sacrower Sees aus einer Tiefe von -3 Metern vorgenommen (16°C, pH: 7,8). Mit Hilfe eines Gazeetzes (100 µm) wurde das Wasser während der Befüllung gefiltert. Die als Negativkontrolle herangezogene Kreislaufanlage wurde hingegen mit gefiltertem (100 µm) und mittels UV-C-Strahlung (Fa. Trop-Electronic GmbH, UV-C-Entkeimer 42 Watt Amalgam, mittlere Wellenlänge 254 nm, 1.4 - 4.0 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>) vorkonditioniertem Wasser des Sacrower Sees gefüllt. Die Vorkonditionierung von 1 m<sup>3</sup> Wasser wurde für vier Tage in einem 1,3 m<sup>3</sup>-Becken durchgeführt.

Die für den Versuch herangezogenen Zander waren bereits im Vorjahr (August 2018) bei isothermischen Bedingungen aus einer institutseigenen Kreislaufanlage in ein Netzgehege überführt und dort gewintert worden. Am 27.05.2019 wurden die Zander nach Stückmasse (g) und Totallänge (cm) sortiert und zu je 57 Stück in drei identische Kreislaufanlagen überführt. Zeitgleich wurde eine vierte Kreislaufanlage mit 57 ektoparasitenfreien Zandern (*Negativkontrolle*) besetzt. Die Zander wiesen zu Versuchsbeginn eine mittlere Stückmasse von 120 ± 16 g und eine Totallänge von 24 ± 1 cm auf (MW ± SD).

Am Tag nach dem Besatz der Kreislaufanlagen wurden diese mit jodfreiem Siede-Speisesalz (Fa. ESCO, Natriumchloridgehalt: 99,8 %, Trennmittel: E500, E535) wie folgt aufgesalzen:

KLA I:	0 g NaCl l <sup>-1</sup> ( <i>Positivkontrolle</i> )
KLA II:	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
KLA III:	6 g NaCl l <sup>-1</sup>
KLA IV:	0 g NaCl l <sup>-1</sup> ( <i>Negativkontrolle</i> )

Die Aufsalzung der Kreislaufanlage mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> erfolgte im Abstand von 24 Stunden in zwei Schritten von jeweils 3 g NaCl l<sup>-1</sup>.

Die Fütterung der Zander erfolgte nach einem Protokoll von MÜLLER-BELECKE und ZIENERT (pers. Mitt.) mit einem Alleinfuttermittel (4,5 mm, Rohprotein: 49 %, Rohfett: 10 %, Rohfaser: 1,5 %, Asche: 7,9 %, Phosphor: 1,27 %). Für die Verabreichung wurden Uhrwerkfutterautomat (24h) verwendet. Pro Kilogramm verabreichtem Futter wurden am Folgetag 600 l Wasser gewechselt. Der Wasserwechsel wurde über die mechanische Reinigungsstufe/Biofilter realisiert. Um auszuschließen, dass mit dem Frischwasser Ektoparasiten in die Anlagen gelangen, wurde ausschließlich gefiltertes (100 µm) und mit UV-C-Strahlung konditioniertes Wasser des Sacrower Sees verwendet (vgl. Befüllung KLA *Negativkontrolle*). Während des Versuches erfolgte die Aufnahme der Wasserparameter wie in **AP1** beschrieben.

Die Zander wurden an Tag 0, 7 und 21 auf Ektoparasiten untersucht. Die Untersuchungen erfolgten dabei in Anlehnung an die in der Fachliteratur angegebenen Handlungsanweisungen und Techniken (AMLACHER 1986; HOFFMANN 2005; SCHÄPERCLAUS 1990). Hierzu wurde jeweils eine repräsentative Anzahl von Zandern pro Becken bzw. Kreislauf (n = 4 bzw. n = 12) herangezogen. Im Anschluss an die tierschutzgerechte Betäubung und Tötung der Zander wurde von jedem Fisch die linke Körperseite untersucht. Die Schleimhautabstriche wurden mit Hilfe von Deckgläschen (24x24 mm, Fa. ThGeyer) vorgenommen. An insgesamt drei Stellen wurden Schleimhautabstriche in Richtung der Beschuppung und an zwei Stellen Organproben genommen:

Rücken:	Abstrich beginnend unterhalb der 1. Rückenflosse bis zum Ende der 2. Rückenflosse
Afterflosse:	Abstrich der Haut oberhalb der Afterflosse auf vollständiger Länge
Bauchflosse:	Vollständiger Abstrich des von der Bauchflosse bedeckten Hautbereiches
Brustflosse:	komplette Flosse, links
Kiemenbogen:	zweiter Kiemenbogen, links

Die Schleimhautabstriche wurden anschließend auf separate Objektträger (Fa. ThGeyer, 76x26x1 mm) mit einem Tropfen Wasser überführt und ausgestrichen. Ebenso wurden die Organproben auf Objektträger überführt, mit Wasser benetzt und mit Deckgläschen bedeckt. Im Anschluss erfolgte umgehend eine Untersuchung der Schleim- und Organproben unter einem Lichtmikroskop (Fa. Leitz, Laborlux S; Okular: 10x/20) in einem definierten Sichtfenster von 0,031 mm<sup>2</sup> (Sehfeldzahl 20, Vergrößerung 10x10).

Bei der gewählten Vergrößerung von 100x wurden an sechs zufällig ausgewählten Sichtfeldern die Ektoparasiten bestimmt und deren Anzahl ermittelt. Bei der Datenaufnahme wurden nur vollständig mit Schleim- bzw. Organproben bedeckte Sichtfelder berücksichtigt.

Die Prävalenz der Ektoparasiten wurde unter Berücksichtigung von BUSH u. a. (1997) mit Hilfe folgender Formel berechnet:

$$\text{Prävalenz} = (\text{Anzahl infizierter Fische} * 100) / \text{Anzahl untersuchter Fische} [\%] \quad (7)$$

Da es sich bei einer Kreislaufanlage um ein System handelt, in dem jedes Becken zumindest indirekt miteinander verbunden ist, wurde die Prävalenz der Ektoparasiten für die gesamte Anlage dargestellt.

Zusätzlich wurde die durchschnittliche Dichte der Parasiten berechnet. In Anlehnung an BUSH u. a. (1997) wurde die durchschnittliche Parasitendichte pro Sichtfenster und Fisch (PDSF) mit folgender Formel berechnet:

$$\text{PDSF} = (\bar{X}_{\text{Fisch 1}} + \bar{X}_{\text{Fisch 2}} + \dots + \bar{X}_{\text{Fisch } n}) / \text{Anzahl untersuchter Fische} [\text{Stk.}] \quad (8)$$

Da in jeder der fünf Schleim- bzw. Organproben eine 6-fach-Bestimmung der Anzahl der Parasiten stattgefunden hatte, wurde für jeden untersuchten Fisch zunächst ein Mittelwert ( $\bar{X}$ ) gebildet. Bei der Berechnung wurde zudem die Anzahl aller untersuchten Wirte berücksichtigt.

### 3.3 AP3

#### 3.3.1 Zanderembryonen im Ei

Zur Durchführung eines Fischeitestes in Anlehnung an DIN EN ISO 15088 (2009) wurden am Institut für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow im April 2019 Zandererier gewonnen. Hierfür wurden zunächst Elterntiere (*Sander lucioperca*) aus den Netzgehen des Sacrower Sees in eine kleinskalige Kreislaufanlage überführt (15 °C Wassertemperatur, pH-Wert 8,2). Hier konnten die Elterntiere auf Bürstenmatten ablaichen. Um maternale und paternale Effekte auszuschließen, wurden für den Versuch die befruchteten Eier eines Laichpaares verwendet. Die Vereinzelnung der befruchteten Eier wurde etwa 36 Stunden nach dem Laichzeitpunkt mit Hilfe von Tonmineralien realisiert. Anschließend wurden die Eier in Gruppen zu je 50 Stück in Petrischalen der entsprechenden Salzkonzentration (0, 3, 6, 9, 12 g NaCl l<sup>-1</sup>) sowie einer Positivkontrolle (3,7 mg l<sup>-1</sup> 3,4-Dichloranilin) überführt. Dieser Zeitpunkt entspricht dem Versuchsstart. Die Salzkonzentration wurde mittels eines jodfreien Siede-Speisesalz der Fa. ESCO (Trennmittel: E500, E535) mit einem Natriumchloridgehalt von 99,8 % hergestellt, welches in standardisiertem Verdünnungswasser (nach DIN EN ISO 15088 (2009)) gelöst wurde (pH 7,7; > 80 % Sauerstoffsättigung am Inkubationsstart). Im Anschluss wurden die Eier unter einem Mikroskop (Fa. LEICA MZ125) begutachtet und einzeln in die Vertiefungen von 24-Well-Platten (Fa. ThGeyer) überführt. Alle Eier befanden sich in einer identischen Entwicklungsstufe („Segmentation“, vgl. GÜRALP u. a. 2017) und wiesen keinerlei Anomalien auf.

Für jede Salzkonzentration sowie die Positivkontrolle wurden 30 Eier in zwei 24-Well Platten inkubiert. Jede Well-Platte wurde zusätzlich mit vier Eiern für eine interne Plattenkontrolle belegt. Die Plattenkontrolle wurde durch die Inkubation von Eiern in Verdünnungswasser vorgenommen. Je Well wurden 2 ml entsprechende Arbeitslösung zur Inkubation verwendet. Die Inkubation erfolgte in einem Thermoschrank (Fa. Liebherr SN-T) bei 15 ± 1°C in Dunkelheit. Die 24-Well-Platten wurden mit Folien abgeklebt um eine Verdunstung von Wasser zu unterbinden. Es fand keine Wasserwechsel während der Inkubation statt.

Im Abstand von 24 Stunden wurde die Entwicklung der Eier untersucht und dokumentiert (Inversmikroskop: Fa. LEITZ DM IL, Kamera: Fa. LEICA 170 HD). Die Bewertungskriterien der Embryonalentwicklung fanden in Anlehnung an den Fischeitest DIN EN ISO 15088 (2009) statt. Zum einen wurden die drei Letalfaktoren Koagulation, Ablösung des Schwanzes vom Dotter und Vorhandensein eines Herzschlages überprüft. Zum anderen wurden sekundäre Lethalfaktoren wie sich bildende Ödeme, Deformationen, Zittern aufgenommen. Bei der Endauswertung wurden primäre und sekundäre Letalfaktoren zusammen betrachtet. Zusätzlich wurden auftretende Pilzhyphen auf den Eihüllen dokumentiert. Die allgemeinen Gültigkeitskriterien des DIN EN ISO 15088 (2009) wurden für diesen Test herangezogen. Mit dem Schlupf der ersten Larve wurde der Versuch terminiert.

#### 3.3.2 Schwimm- und fressfähige Zanderlarven

Die Zanderlarven (*Sander lucioperca*) für diesen Versuch wurden von Herrn M. Stüeken (Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern - Institut für Fischerei) zur Verfügung gestellt. Nach Anwendung eines Licht-Temperaturprogramms laichten die Elterntiere am 30.09.2018 selbstständig auf einem Hartsubstrat ab. Der Schlupfstart des Nestes war der 04.10.2018. Die für den Versuch herangezogenen Larven schlüpften in einem Zeitraum von 24 Stunden am 09. und 10.10.2018. Bereits am 10.10.2018 erfolgte der Transport der Larven zum Institut für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow. Hier wurden die Larven dann für sieben Tage in einer Kreislaufanlage gehalten (15 °C, pH-Wert 7,5) und am 17.10.2018 in die experimentellen Haltungseinrichtungen überführt. Zu diesem Zeitpunkt wiesen die Larven eine durchschnittliche Stückmasse von 0,8 ± 0,3 mg und eine Körperlänge von 6,1 ± 0,6 mm auf (MW ± SD).

Als Haltungseinrichtungen wurden statisch betriebene Glasaquarien (30x45x50 cm) mit einem Gesamtvolumen von 67,5 l herangezogen, die mit 30 l Wasser der Kreislaufanlage befüllt wurden.

Der Versuchsaufbau schloss insgesamt vier Salinitäten in vier unabhängigen Wiederholungen ein. Die Belegung wurde zufällig durch Losverfahren bestimmt. Die NaCl-Konzentration (0, 3, 6, 9 g NaCl l<sup>-1</sup>) wurde mittels eines jodfreien Siede-Speisesalzes der Fa. ESCO (Trennmittel: E500, E535) mit einem Natriumchloridgehalt von 99,8 % eingestellt. Eine stufenweise Gewöhnung der Larven an die jeweilige Salinität fand nicht statt.

Die Wassertemperatur wurde über die Umgebungstemperatur konstant gehalten. Mit Hilfe eines Ausströmersteines wurde das Wasser der Aquarien belüftet. Es erfolgte eine tägliche Kontrolle des pH-Wertes (Fa. WTW pH 720), der Wassertemperatur (°C), der Sauerstoffsättigung (%) und Konzentration (mg l<sup>-1</sup>) (Fa. WTW Oxi 340i), der Trübung (FNU, Fa. Hach Lange 2100 Q is), der Leitfähigkeit (µS cm<sup>-1</sup>, Fa. WTW LF 197) und der Ammoniumkonzentration (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N in mg l<sup>-1</sup>, LCK 304 und 305) in den Aquarien. Die Becken wurden täglich mit Ton eingetrübt. Durch eine exakte Zudosierung eines homogenen Ton-Wasser-Gemisches war es möglich die Trübung konstant aufrechtzuerhalten.

Da es sich um einen statischen Versuch handelte, wurde im Abstand von 3 Tagen ein Drittel des Wasservolumens (10 l) der Aquarien getauscht. Für den Wasserwechsel wurde aus einer fischfreien Kreislaufanlage vorkonditioniertes und im Anschluss aufgesalzenes Wasser verwendet. Die Kreislaufanlage wurde kontinuierlich überwacht (pH-Wert, O<sub>2</sub> in % und mg/l, °C). Die dauerhafte Beleuchtung der Aquarienanlage (24 h d<sup>-1</sup>; < 5 lx) wurde indirekt realisiert. Den Zanderlarven in den Becken wurden viermal täglich eine definierte Menge Artemien (*Artemia salina*; Fa. Tagis-Tropical-Marin, Micro Artemia Cysts, AF 430 Cysts, LOT: ONHO3208) *ad-libitum* angeboten.

Am Tag nach dem Transfer der Larven zum Institut für Binnenfischerei und zu Beginn des Versuches wurde von einer repräsentativen Anzahl von Larven die Totallänge (mm) bestimmt (Digital-Messschieber ABS) und die Stückmasse ermittelt (OHAUS<sup>®</sup>AnalyticalPlus AP210S, ± 0,1 mg). Die Einzelfischwägung und Längenbestimmung erfolgte in Anlehnung an ein von KREJSZEFF u. a. (2013) entwickeltes Protokoll. Hierfür wurde ein GazeNetz (200 µm, ~ 10x10 cm) auf einen trockenen Löschpapierbogen gelegt. Das Löschpapier saugte das auf dem Fisch befindliche Wasser ab. Zusätzlich wurde eine Trockenmassebestimmung (24 Std, 105 °C) gepoolter Proben durchgeführt. Am dritten Tag nach Versuchsstart sowie am Versuchsende (Tag 10) wurden von 10 Fischlarven jeder Wiederholung die Stückmasse (=Frischmasse, FM, s. Formel 9), die Totallänge sowie die Trockenmasse (TM) bestimmt (s. Formel 9).

$$TM = (100 / FM \text{ (g)}) * TM \text{ (g)} [\%] \quad (9)$$

### 3.3.3 Trockenfutteradaptierte Jungzander

Die trockenfutteradaptierten Zander (*Sander lucioperca*) mit einem Alter von 50 Tagen wurden für diesen Versuch von Herrn O. Brauße (Fischräucherei und Aufzucht, Blankensee) zur Verfügung gestellt. Die am 22.11.2018 zum IfB überführten Zander hatten dabei die gleichen Elterntiere wie die Larven des vorherigen Versuches.

Am IfB wurden die Zander für eine Woche in einer KLA gehalten (18 °C, pH-Wert 7,2) und konnten sich in dieser Zeit akklimatisieren. Anschließend wurden die Zander in die experimentellen Haltungseinrichtungen (Glasaquarien: 30x45x50 cm mit 30 l Wasser) überführt. Der Versuchsaufbau schloss insgesamt vier Salinitäten in vier unabhängigen Wiederholungen ein. Die Belegung wurde zufällig durch Losverfahren festgelegt. Die NaCl-Konzentrationen (0, 3, 6, 9 g NaCl l<sup>-1</sup>) wurden mittels eines jodfreien Siede-Speisesalzes der Fa. ESCO (Trennmittel: E500, E535) mit einem Natriumchloridgehalt von 99,8 % eingestellt. Die trockenfutteradaptierten Jungzander wurden stufenweise (max. 3 g NaCl l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) an die jeweilige Zielkonzentration gewöhnt. Als Versuchsstart wurde der Tag des Erreichens der Zielkonzentration definiert.

Die Wassertemperatur wurde über die Umgebungstemperatur konstant gehalten. Mit Hilfe eines Ausströmersteines wurde das Wasser der Aquarien belüftet. Es erfolgte eine tägliche Kontrolle des pH-Wertes (Fa. WTW pH 720), der Wassertemperatur (°C), der O<sub>2</sub>-Sättigung (%) und Konzentration (mg l<sup>-1</sup>) (Fa. WTW Oxi 340i), der Trübung (FNU, Fa. Hach Lange 2100 Q is), der Leitfähigkeit (µS cm<sup>-1</sup>, Fa. WTW LF 197) und der Ammoniumkonzentration

( $\text{NH}_4^+\text{-N}$  in  $\text{mg l}^{-1}$ , LCK 315) in den Aquarien. Die Becken wurden zweimal täglich mit Ton eingetrübt. Durch eine exakte Zudosierung eines homogenen Ton-Wasser-Gemisches war es möglich die Trübung in allen Becken kontinuierlich aufrechtzuerhalten. Da es sich um einen statischen Versuch handelte, wurde täglich ein manueller Wasserwechsel durchgeführt. Pro Gramm verabreichtem Futter wurden 20 l Wasser ausgetauscht. Für den Wasserwechsel wurde aus einer fischfreien Kreislaufanlage vorkonditioniertes und im Anschluss aufgesalzenes Wasser verwendet. Die Kreislaufanlage wurde kontinuierlich überwacht (pH-Wert,  $\text{O}_2$  in % und  $\text{mg/l}$ ,  $^\circ\text{C}$ ). Die Beleuchtung der Aquarienanlage (16 h hell : 8 h dunkel) wurde indirekt realisiert. Während der Hellphasen wurden  $< 5 \text{ lx}$  auf der Wasseroberfläche ermittelt. Den Zandern wurde viermal täglich von Hand ein Alleinfuttermittel angeboten (Granulat, Rohprotein: 50,9 %, Rohfett: 13,8 %; Rohasche: 15 %; Rohfaser: 1,0 %; Phosphor: 2,4 %). Die biomasse- und zugwachstbezogene Fütterung erfolgte in Anlehnung an ein Protokoll von MÜLLER-BELECKE und ZIENERT (pers. Mitt.).

Am Tag des Transfers der Fische in die Aquarien wurde durch Einzelfischwägungen die Stückmassen (OHAUS<sup>®</sup>AnalyticalPlus AP210S,  $\pm 0,1 \text{ mg}$ ) der Zander bestimmt sowie, von einem repräsentativen Anteil, die Totallänge (mm) ermittelt. An Tag 3 und 20 nach Erreichen der benötigten Zielkonzentration, wurde eine Zwischen- bzw. Endbeprobung durchgeführt (Stückmasse, Totallänge, Trockenmasse (TM) s. Formel 9).

### 3.3.4 Zandersetzlinge

Um die Effekte einer salinen Haltungsumwelt auf die Wachstumsparameter von großen Zandersetzlingen (*Sander lucioperca*) mit einer Stückmasse von etwa 100 g zu untersuchen, wurden vier 30-tägige Versuche durchgeführt. Die verwendeten Aquarien-Kreislaufanlagen hatten ein Gesamtvolumen von  $1,03 \text{ m}^3$  und setzten sich zusammen aus: Fischhaltung ( $0,81 \text{ m}^3$ ), Pumpensumpf inkl. mechanischer Reinigungsstufe ( $0,22 \text{ m}^3$ ) und einer Füllkörperkaskade ( $0,23 \text{ m}^3$ ) zur Sauerstoffanreicherung, Kohlenstoffdioxidgasung und Nitrifikation von Ammonium/Ammoniak. Die Pumpe im Pumpensumpf hatte eine Förderleistung von bis zu  $6\,500 \text{ l h}^{-1}$  (Fa. AquaMedic OR6500). Über eine zentrale Druckluftleitung wurde der Sauerstoffeintrag mittels zwei Keramikausströmer ( $D = 30 \text{ mm}$ ) realisiert.

Die Zander wurden jeweils in zwei unterschiedlich aufgesalzenen Aquarien-Kreislaufanlagen eingewogen, und konnten sich zunächst für zwei Wochen an die jeweilige Salinität gewöhnen. Zum Beginn und am Ende der Mastperiode wurden die individuellen Stückmassen der Fische ermittelt (Fa. Kern, 440-53N,  $\pm 1 \text{ g}$ ). Die Fütterung erfolgte mit Hilfe von SPS-Brutfutterautomaten (Fa. Pflanze) nach einem von MÜLLER-BELECKE und ZIENERT (pers. Mitt.) ermitteltem Protokoll, mit einem herkömmlichen Trockenfuttermittel (Rohprotein: 54 %, Rohfett: 18 %; NFE: 12 %; Rohasche: 8 %; Rohfaser: 1,0 %; Phosphor: 1,4 %; Gesamtenergie: 22,0 MJ; Verdauliche Energie: 19,1 MJ).

Mit Hilfe von Einzelfischwägungen konnten die durchschnittlichen Stückmassezunächse (g) ermittelt werden und hiernach die spezifischen Wachstumsraten ( $\text{SGR } \% \text{ d}^{-1}$ ) sowie die Futtermittelverwertung (FQ) kalkuliert werden.

Die Wasserparameter in den Aquarien-Kreislaufanlagen wurden, wie in **AP1** beschrieben, mindestens einmal wöchentlich ermittelt. Die Wassertemperatur, Sauerstoffsättigung (%) (Fa. WTW Oxi 340i), der pH-Wert (Fa. Merck MColorTest 5,0 - 9,0) und die Salinität (‰, Fa. WTW LF 197) wurden zudem täglich erfasst. Die Zander wurden im Anschluss an den Versuch, sofern notwendig, erneut schrittweise an Frischwasser gewöhnt und in die institutseigenen Netzgehegeanlagen überführt.

## 3.4 AP4

### 3.4.1 Versuchstiere, Besatz und Aufsalzen der Anlagen

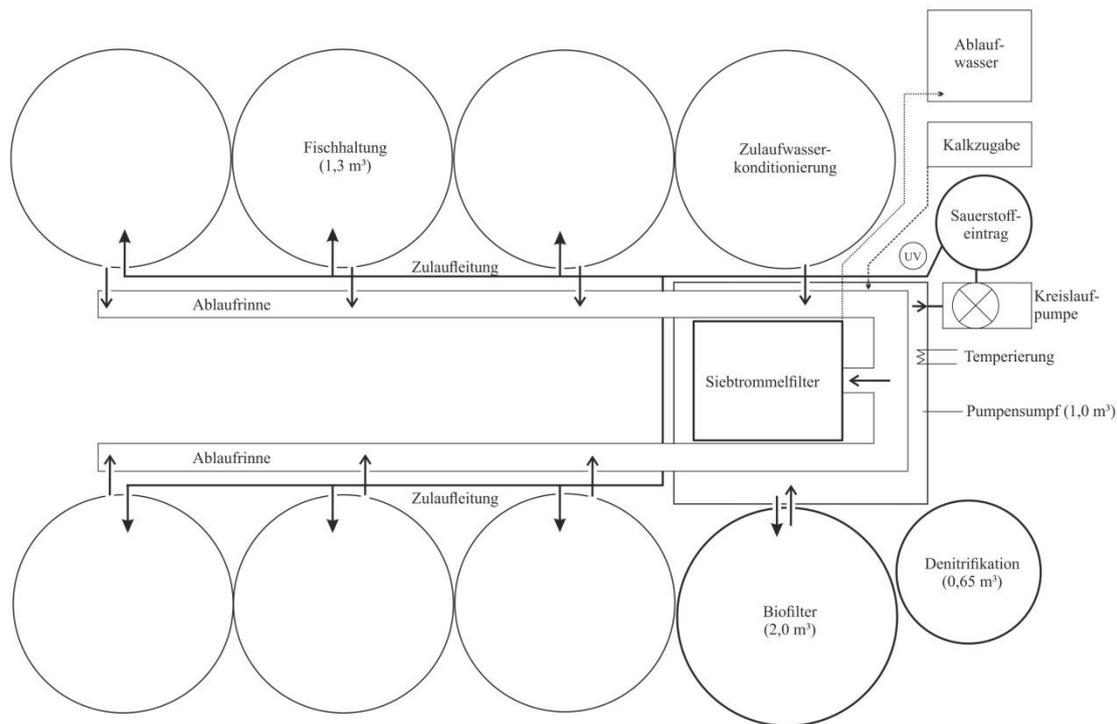
Die Zander (*Sander lucioperca*) für den Versuch stammten aus eigener Vermehrung und Aufzucht des Instituts für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow (Frühbrut 2018). In jede KLA wurden am Tag des Versuchsstarts 550 Individuen mit einer Stückmasse von 30 g, erst händisch nach Größenklassen sortiert, dann gewogen und anschließend in die jeweilige Anlage eingezählt. Zusätzlich wurden 60 der insgesamt 550 Zander jeder KLA im Anschluss nochmals einzeln gewogen (Fa. Kern, 440-53N,  $\pm 1,0$  g) und deren Totallänge ( $\pm 0,5$  cm) bestimmt. Die Besatzdichten bei Versuchsstart betragen  $13,0 \text{ kg/m}^3$  in der  $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage (Anlage 1) bzw.  $12,7 \text{ kg/m}^3$  in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage (Anlage 2).

Im Anschluss an den Besatz der Anlagen wurde für das Erreichen der gewünschten NaCl-Konzentration ein jodfreies Siede-Speisesalz der Fa. ESCO (Trennmittel: E500, E535) mit einem Natriumchloridgehalt von 99,8 % verwendet. Die NaCl-Applikation in die Anlage erfolgte direkt über den Biofilter. Die Aufsalzung der „Anlage 2“ erfolgte zweistufig innerhalb von 48 Stunden auf eine nominale NaCl-Konzentration von  $3 \text{ g l}^{-1}$ . Die „Anlage 1“ wurde nur am Versuchsstart einmalig auf  $1,5 \text{ g NaCl l}^{-1}$  aufgesalzen um etwaigen Verpilzungen im Anschluss an den händischen Sortiervorgang vorzubeugen (ZIENERT, pers. Mitt.). Durch einen hohen Zwangswasserwechsel wurde das NaCl in kurzer Zeit wieder verdünnt. Der hohe Wasserwechsel während dieser Zeit wurde ebenfalls in „Anlage 2“ realisiert, allerdings bei kontinuierlicher Aufrechterhaltung der gewünschten NaCl-Konzentration.

### 3.4.2 Aufbau der Versuchsanlagen

Für die Versuchsdurchführung wurden zwei identische Kreislaufanlagen verwendet (vgl. MÜLLER-BELECKE u. a. 2013, 2018). Beide geschlossenen Kreislaufsysteme befanden sich in dem isolierten und klimatisierten ULRICH-GÖTHLING-HAUS auf dem Gelände des Instituts für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow.

Jede Anlage verfügt über sechs bzw. sieben Rundbecken mit je einem Haltungsvolumen von  $1,3 \text{ m}^3$ . Die Becken wurden mit Hilfe von blickdichter Folie von außen abgeklebt. In je einem Becken pro Anlage wurde für die Aufbereitung und Speicherung von Frischwasser (Entnahme: Sacrower See in -3 m Tiefe) verwendet (vgl. Abbildung 3.2.). Für die Zulaufwasserkonditionierung wurde ein GazeNetz ( $100 \mu\text{m}$ ) zur Filterung, ein UV-C Brenner (Fa. Trop-Elektronik, 85 Watt) zur Inaktivierung von Keimen und Druckluft zur Belüftung eingesetzt. Frischwassergaben (Ziel:  $\leq 600 \text{ l kg Futter}^{-1}$ ) wurden über den jeweiligen Pumpensumpf in die Anlagen eingespeist. Im Pumpensumpf fand eine kontinuierliche Wassertemperatur- und pH-Wert-Anpassung statt. Beim Absinken des pH-Wertes fand eine automatische Zudosierung von Natriumhydrogencarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) statt.



**Abbildung 3.2.: Darstellung der KLA „Anlage 1“ mit einem max. Gesamtvolumen von 12 m<sup>3</sup> inkl. des siebten Beckens für die Zulaufwasserkonditionierung (s. o.r.).**

Das aus den Haltungsecken über Dual-Drain System ablaufende Wasser floss gesammelt zur mechanischen Reinigungsstufe (Fa. Hydrotech HDF 800-Serie, 60  $\mu\text{m}$  Gaze, 30  $\text{l s}^{-1}$ , 0,25 kW) und anschließend in den Pumpensumpf (1,0 m<sup>3</sup>). Die Rückspülung der Filtergaze (Fa. Grundfos CR1-15, 0,5  $\text{l s}^{-1}$ , 0,75 kW) wurde mit Prozesswasser der Anlagen realisiert, womit gleichzeitig ein Mindestwasserwechsel stattfand. Mit Hilfe eines redundanten Pumpensystems (KBS PumpDriveS, max. 33  $\text{m h}^{-1}$ , 0,97 kW, inkl. Frequenzumrichter) wurde das Wasser aus dem Pumpensumpf durch ein Sauerstoffanreicherungssystem (Füllkörperkaskade, 90 mm PAL-Ringe, 75  $\text{m}^2 \text{m}^{-3}$ ) zurück in die Haltungseinrichtungen rezirkuliert. In jedem mit Fischen besetzten Becken befand sich eine Notbegasungseinheit (Fa. Linde, Sauerstoffschlauch). Eine Pumpe (Fa. Wiltec Teichpumpen) förderte im Bypass 10  $\text{m}^3 \text{Wasser h}^{-1}$  in einen Bewegtbettbiofilter (2,0 m<sup>3</sup>), welcher mit 1,3 m<sup>3</sup> Füllkörpern (RK Plast, 750  $\text{m}^2 \text{m}^{-3}$ , 1,0  $\text{g cm}^{-3}$ ) befüllt war. Die Biofilter wurden durch je einen Membrankompressor (Fa. Thomas, Air Pump, 200  $\text{l min}^{-1}$ ) mit Druckluft versorgt. Zusätzlich verfügten beide Anlagen über eine mit Methanol betriebene Denitrifikationsstufe (Selbstreinigender Inertgas Denitrifikations Reaktor, 0,65 m<sup>3</sup> Wasservolumen, 45%ige Füllung, Helix, 824  $\text{m}^2 \text{m}^{-3}$ , 0,9  $\text{g cm}^{-3}$ ) zur Entfernung von Nitrat aus dem Haltungswasser (vgl. MÜLLER-BELECKE u. a. 2013, TORNO u. a. 2018). In Abhängigkeit der Fischgröße wurden die Wasseraustauschraten in den Haltungseinrichtungen zwischen einem und zwei vollständigen Wechsels pro Stunde eingestellt. Während des gesamten Versuches waren in jeder Kreislaufanlage zeitgleich immer mindestens drei Fischhaltungen mit Wasser gefüllt, da die Wasserwechselraten ansonsten zu hoch gewesen wären. Die üblicherweise zur Keimreduzierung genutzten und am Pumpensumpf im Bypass betriebenen UV-C Brenner, wurden während des Versuches nicht betrieben. Durch die vorhandene computergestützte Mess- und Regeltechnik (Fa. Siemens) wurden zentrale Parameter des Haltungswassers (pH-Wert, O<sub>2</sub> in %, Wassertemperatur in °C) kontinuierlich visualisiert und dokumentiert. Im Falle von Grenzwertüber- oder -unterschreitungen benachrichtigte ein Alarmierungssystem den Bereitschaftsdienst (24 h, 7 Tage die Woche). Das Lichtregime (16 h hell : 8 h dunkel) wurde mit vier dimmbaren Lampen (max. 60 Watt) realisiert, sodass sich auf der Wasseroberfläche während der Hellphase eine Lichtstärke von etwa 1,5 lx einstellte.

Die täglichen Routinearbeiten in den Kreislaufanlagen umfassten die folgenden Arbeitsschritte:

- Sichtung des Fischbestandes
- Zweimalige Sichtkontrolle Futter- und Kotreste in Haltungseinrichtungen und Ablaufrinnen
- Spülen der Ablaufrinnen, Reinigung der stationären Messsonden
- Kontrolle der Wasserparameter: Temperatur (°C), Sauerstoffkonzentration (mg l<sup>-1</sup>), pH-Wert
- Ermittlung der Salinität (‰, Hach HQ40d multi) und der Trübung (FNU, Fa. Hach Lange 2100 Q is), Probenahme im Pumpensumpf
- NaCl-Applikation in „Anlage 2“
- Methanolzufuhr in den Denitrifikations-Reaktor
- Fütterung.

### 3.4.3 Fütterung

SPS-gesteuerte Brutfutterautomaten (Fa. Pflanze) wurden zur Fütterung der Fische genutzt. Innerhalb von 24 Stunden wurde die jeweilige Futtermenge in bis zu acht einstündigen Intervallen verabreicht. Eine Kontrolle der Futteraufnahme wurde zweimal täglich vorgenommen. Während des Versuches wurden Alleinfuttermittel verabreicht:

- < 45 g Stückmasse: Granulat, Rohprotein: 64 %, Rohfett: 12,5 %; NFE: 2 %; Rohasche: 13 %; Rohfaser: 1,0 %; Phosphor: 1,5 %; Gesamtenergie: 20,4 MJ; Verdauliche Energie: 19,0 MJ
- > 45 g Stückmasse: Schwimmfutter 3 bzw. 4,5 mm Pellet, Rohprotein: 54 %, Rohfett: 18 %; NFE: 12 %; Rohasche: 8 %; Rohfaser: 1,0 %; Phosphor: 1,4 %; Gesamtenergie: 22,0 MJ; Verdauliche Energie: 19,1 MJ.

Die biomasse- und zuwachsbezogene Fütterung erfolgte während des gesamten Produktionszyklus nach einem von MÜLLER-BELECKE und ZIENERT (pers. Mitt.) entwickelten Protokoll für Zander mit Stückmassen von 1,0 bis 1 000 g. Eine Anpassung der Futtermengen erfolgte täglich. Die Umstellung von einem Alleinfuttermittel auf ein anderes erfolgte abrupt, da Zander ansonsten das Futter selektiv aufnehmen und es dadurch zu hohen Futterverlusten kommen kann.

### 3.4.4 Wasseruntersuchungen

Die mindestens wöchentlichen Wasseranalysen der beiden KLA erfolgten wie in **AP1** beschrieben. Zu zehn Zeitpunkten wurde zudem die Bestimmung der bakteriellen Aktivität des Haltungswassers mit Hilfe der BactiQuant®-Methode (Fa. Mycomter A/S) vorgenommen (s. a. PEDERSEN u. a. 2017, ROJAS-TIRADO u. a. 2017, 2018).

### 3.4.5 Wachstum und Futtermittelnutzung

Am Versuchsstart und anschließend im monatlichen Rhythmus (27 bis 38 Aufzuchtstage), wurden die mittleren spezifischen Wachstumsraten (SGR) und die Futtermittelnutzung (FQ) durch repräsentative Einzelfischwägungen von 60 Zandern je Anlage erfasst und dokumentiert (s. Formeln in **AP1** – 3.1.7).

### 3.4.6 Erhebung von Gesundheitsindikatoren

Zur Einschätzung des Gesundheitszustandes wurde von einem Teil der zu schlachtenden Tiere am Ende des Versuches der Konditionsfaktor (s. **AP1**) sowie die Lebermasse (g), der Hepatosomatischer Index (HSI %Körpermasse), die Leberhelligkeit L, Leberfarbe a und b erhoben. Die Ermittlung der jeweiligen Helligkeit bzw. Farbe des Lebergewebes erfolgte mit Hilfe eines Chromameters (Fa. Minolta CR-300) im CIE-L\*a\*b\*-Farbraum. Dieser Farbraum stellt Helligkeit und Farbanteile nach einem definierten Standard im dreidimensionalen Raum dar (L\*= Helligkeit, von 0 (schwarz) bis 100 (weiß); a\*= rot-grün: erstreckt sich von -a\* (grün)

bis +a\* (rot); b\*= gelb-blau: erstreckt sich von -b\* (blau) bis +b\* (gelb)). Zusätzlich wurde die Milzmasse und der splenosomatische Index (SSI %Körpermasse, s. **AP1** Formel 5) und der Anteil der roten Blutkörperchen (Hämatokritwert, %) bestimmt (s. **AP1** - 3.1.6.2).

### 3.4.7 Schlachtparameter der speisefähigen Zander

Am Ende des Versuches wurden der Wassergehalt (%) und die Bruttoenergie (MJ kg<sup>-1</sup>) der Zander nach SCHRECKENBACH u. a. (2001) bestimmt. Für diese Bestimmung wurden tier-schutzgerecht betäubte und getötete Zander einzeln (n = 12) mit einem Fleischwolf (Fa. Krefft, 0,60 kW, 2 mm Lochscheibe) homogenisiert. Die jeweilige Frischmasse (FM) wurde dann in einer Dreifachbestimmung in einem Trockenschrank bei 105 °C bis zur Massekonstanz getrocknet. Im Anschluss erfolgte eine gravimetrische Bestimmung der Trockenmasse (TM) und folglich eine rechnerische Bestimmung des Wassergehaltes. Die Lagerung der Fische bis zur Bestimmung erfolgte vakuumiert bei -20°C.

Zur Bestimmung der Produktqualität wurden am Versuchsende zudem an 24 Zandern je Salinität (je 8 Zander aus 3 verschiedenen Haltungseinrichtungen) folgende Schlachtkörperparameter ermittelt bzw. berechnet: Stückmasse (g), Totallänge (cm), Filetmasse mit Haut (g), Filetmasse ohne Haut (g), Filetanteil (%; Basis: Filet ohne Haut), Filethelligkeit L, Filetfarbe a und b, Visceralfettmasse (g) sowie der Viscercalfettindex (%; S. Formel 10).

$$SVFI = \text{Visceralfettmasse (g)} * 100 / \text{Stückmasse (g)} [\%] \quad (10)$$

Alle Zander wurden dabei von derselben Person verarbeitet. Im Anschluss an die Verarbeitung der Zander wurden deren Filets vakuumverpackt und bei -20 °C gelagert. Die Ermittlung der jeweiligen Helligkeit bzw. Farbe der Gewebe erfolgte mit Hilfe eines Chromameters (Fa. Minolta CR-300) im CIE-L\*a\*b\*-Farbraum.

### 3.4.8 Sensorische Beurteilung der Zander

Des Weiteren wurde eine sensorische Beurteilung (Geruch, Farbe, Festigkeit und Geschmack der Filets) der Fleischqualität, insbesondere zum Feststellen von Fehlgerüchen, über eine paarweise Blindverkostung in Anlehnung an DIN EN ISO 5495:2007-10 vorgenommen. Dafür wurden Panels aus Prüfpersonen die zu vergleichenden, bei 190 C für 10 min im Backofen gegarten, Zanderfiletstücke in vier Durchgängen (24 Prüfungen pro paarweisem Vergleich) zu sensorischen Beurteilung gereicht. Konnte von einer Prüfperson in einem der vier Prüfmerkmale kein Unterschied detektiert werden, erfolgte eine Zuordnung der Entscheidungen zu gleichen Anteilen zu beiden Gruppen.

### 3.5 AP5 – ENTFALLEN

In dem Projektantrag war ursprünglich vorgesehen, dass das NaCl-Protokoll durch einen externen Praxispartner verifiziert wird. Hierfür war die Aufzucht von Zandern in zwei geschlossenen Kreislaufsystemen mit jeweils 125 m<sup>3</sup> Haltungsvolumen geplant.

Der vorgesehene Praxispartner hat dem Institut für Binnenfischerei im August 2018 jedoch mitgeteilt, dass die Aufzucht von Zandern gestoppt und dafür die einer anderen Fischart aufgenommen wurde. Aus diesem Grund konnte das Arbeitspaket nicht wie geplant realisiert werden.

Um den Wegfall dieses Arbeitspaketes in gewissem Maße zu kompensieren, wurden von den im Rahmen von **AP4** zu schlachtenden Fischen am Versuchsende organologische und hämatologische Untersuchungen vorgenommen, die zur Bewertung des Gesundheitszustandes am Ende der Mast herangezogen werden konnten. Ebenso wurde während des Versuches die bakterielle Aktivität im Wasser der beiden Anlagen regelmäßig untersucht, um so weitere Rückschlüsse auf die Effekte einer NaCl-Applikation zu erhalten.

### 3.6 AP6

Im Anschluss an die praktischen Versuchsdurchführungen ist mit Blick auf die gewonnenen Ergebnisse eine Modellierung des möglichen ökonomischen Einsparpotentials sowie des Ressourceneinsparpotentials vorgesehen. Auf Grundlage vorhandener ökonomischer Betrachtungen zur Zanderaufzucht in KLA von MÜLLER-BELECKE (2010, 2012, 2017) aber auch MEYER u. a. (2016) und TACKEN (2018) sollen die Kosten und Nutzen des kontinuierlichen NaCl-Einsatzes von 3 g l<sup>-1</sup> berücksichtigt werden. Für die Kalkulationen wird eine Jahresproduktion von 100 t Zander angenommen. Die in der folgenden Tabelle 3.3. hinterlegten Parameter bilden die Grundlagen für die Modellierung. Alle Preise verstehen sich netto zzgl. Umsatzsteuer.

**Tabelle 3.3. Annahmen zur Modellierung des NaCl Einsatzes bei einer jährlichen Zanderaufzucht von 100 t in einer geschlossenen KLA nach MÜLLER-BELECKE (2017).**

<b>100 t Speisefischaufzucht</b>			
Einsatz einer Denitrifikationsstufe 150 l Frischwasser / kg Futter			
<b>Kostenpunkt</b>	<b>Einheit</b>	<b>Menge</b>	<b>€/Einheit</b>
KLA 1000 m <sup>3</sup> <sup>I</sup>		1	1.400.000
Halle 2000 m <sup>2</sup> <sup>II</sup>		1	700.000
Setzlinge (10g)	Stk.	120.000	1
Trockenfuttermittel <sup>III</sup>	t	110	1.500
Wasser/Abwasser	m <sup>3</sup>	16.500	2,5
Elektroenergie (30 kW)	kWh	260.000	0,27
Heizenergie (7 kWh/kg)	kWh	700.000	0,05
Sauerstoff	t	100	170
NaCl <sup>IV</sup>	t	52,5	200
Arbeitskraft <sup>V</sup>	€	1	85.000
Kapital	€	1	84.000
Abschreibung	€	1	175.000
Sonstiges	€	1	30.000
Risikoansatz	%	1	16

<sup>I</sup>10 Jahre Abschreibung

<sup>II</sup>20 Jahre Abschreibung

<sup>III</sup>Futterquotient: 1,1

<sup>IV</sup>Einmalige Aufsatzung der Anlage und Aufrechterhaltung von 3 g NaCl l<sup>-1</sup>.

<sup>V</sup>Betriebsleitung (50.000 €/a), Angestellte (30.000 €/a), Hilfskräfte (5.000 €/a)

Der gewählte Risikoansatz geht von einem Totalausfall der Produktion alle sieben Jahre (6,25) aus. Die Kosten für das Kapital sind mit 4 % und Jahr angesetzt worden und unter dem Kostenpunkt „Sonstiges“ befinden sich monetäre Aufwendungen für Puffersubstanzen zur Stabilisierung des pH-Wertes, einer Kohlenstoffquelle für die Denitrifikationsstufe, Verbrauchsmitteln für die Anlagenhygiene, Tierarztkosten und sonstigen Beiträge (MÜLLER-BELECKE 2017).

### 3.7 Statistik

In der vorliegenden Arbeit wurden im praktischen Teil Versuchsanordnungen gewählt, die die Effekte von im Wasser gelösten Kochsalzkonzentrationen (NaCl) auf Zander untersuchen. Die einzelnen ermittelten Parameter der Fische, wie. z. B. Wachstum und Futtermittelverwertung, aber auch physiologische Reaktionen wurden demnach durch einen einzelnen Faktor, der NaCl-Konzentration, beeinflusst.

Die einzelnen Haltungseinrichtungen einer Kreislaufanlage bzw. die Becken der Aquarienanlage wurden für die statistische Auswertung jeweils als Wiederholungen betrachtet.

In einem ersten Schritt wurden zunächst die gewonnenen Datensätze innerhalb einer Versuchsgruppe untereinander verglichen und auf signifikante Unterschiede untersucht. In einem zweiten Schritt wurden dann die gepoolten Datensätze jeder NaCl-Konzentration mit den gepoolten Datensätzen der anderen Salinitäten verglichen.

Bei einer Normalverteilung der Daten ( $P > 0,05$ ) und homogenen Varianzen ( $P > 0,05$ ) wurden einfaktorielle Varianzanalysen (ANOVA) verwendet. Bei dem Vorliegen von signifikanten Unterschieden wurden im Anschluss mit Hilfe von Post-hoc-Tests nach Tukey, Mehrfachvergleiche zwischen den Gruppen vorgenommen. Bei nicht normalverteilten Daten ( $P < 0,05$ ) oder bei normalverteilten Daten mit heterogenen Varianzen ( $P < 0,05$ ) wurden stattdessen Kruskal-Wallis Varianzanalysen durchgeführt. Bei dem Vorliegen von signifikanten Unterschieden erfolgten im Anschluss Post-hoc-Tests nach Dunn. Sowohl bei der einfaktoriellen Varianzanalyse als auch bei der Kruskal-Wallis Varianzanalyse wurde ein P-Wert von 0,05 festgelegt.

Für den Vergleich von zwei Gruppen wurde ebenfalls zuerst mit einer einfaktoriellen ANOVA auf signifikante Unterschiede innerhalb der drei Wiederholungen getestet und im Anschluss entweder ein t-Test (unabhängige, normalverteilte Daten) oder ein Mann-Whitney-U-Test (unabhängige, nicht-normalverteilte Daten) durchgeführt, um signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen zu finden. Es wurde jeweils ein P-Wert von 0,05 verwendet

Um auf Korrelationen zwischen zwei Datensätzen zu testen, wurden Pearson-Produkt-Moment-Korrelationen oder Spearman-Rank-Korrelationen verwendet.

Die Pearson-Produkt-Moment-Korrelation testet die Verbindungstärke zwischen normalverteilten Variablen, ohne zu berücksichtigen welche Variable abhängig und welche unabhängig ist. Bei einer fehlenden Normalverteilung der Daten wurden Spearman-Rank-Korrelationen herangezogen. Der Korrelationskoeffizient ( $r$ ) beschreibt wie viele Punkte der zwei Variablen mit einer Linie beschrieben werden können. Für beide Tests wurde ein P-Wert von 0,05 verwendet. Je kleiner der P-Wert ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer Korrelation.

Hinsichtlich des Auftretens von signifikanten Unterschieden bei der sensorischen Analyse der Zanderfilets wurden bei der Auswertung der Daten die Vorgaben der DIN EN ISO 5495 eingehalten. Bei dem gewählten Stichprobenumfang von 24 ( $4 * 6$  paarweise Prüfungen) gilt, bei einem gewählten P-Wert von 0,05, die Mindestanzahl von  $\geq 18$  übereinstimmenden Antworten, sodass ein wahrnehmbarer Unterschied vorliegt.

Mit Ausnahme der Sensorik wurden alle statistischen Tests sowie die grafischen Darstellungen der Ergebnisse mit Hilfe von Sigmaplot 12.0 durchgeführt.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 AP1

Die in **AP1** erhobenen Daten werden im folgenden Teil als Ergebnisse dargestellt. Vorwegzunehmen ist, dass eine Unterteilung des Versuchszeitraumes in zwei Abschnitte für die Betrachtung der Ergebnisse vorgenommen wurde. Zum einen werden die Ergebnisse der Versuchskreisläufe 0, 3, 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> bis zum 36. Versuchstag dargestellt. Zum anderen werden die Ergebnisse der Versuchskreisläufe mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> nochmals separat vom Start bis zum 78. Versuchstag dargestellt. Da der Versuchskreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> bereits nach acht Tagen beendet wurde, werden diese Daten, wo nötig, gesondert betrachtet. Folgende Tabelle 4.1. listet vorab wichtige Abschnitte des Versuches auf. Die jeweiligen Versuchsaufösungen der Kreisläufe fanden zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt, die sich erst während des laufenden Versuches ergaben.

Tabelle 4.1. Auflistung wichtiger Abschnitte des Versuches AP1

	Tag (d)	Bemerkung
<b>Versuchsdauer</b>	<b>78</b>	Gezählt ab Erreichen der Zielkonzentration
<b>Dauer Aufsatzung</b>	<b>4</b>	Schrittweise Aufsatzung der Versuchskreisläufe
<b>Versuchsstart</b>	<b>0</b>	Alle Versuchskreisläufe haben ihre Zielsalinität erreicht
<b>Probenahmetag 1</b>	<b>1</b>	24 h Exposition mit Zielsalinität
<b>Probenahmetag 2</b>	<b>3</b>	72 h Exposition mit Zielsalinität
<b>Probenahmetag 3</b>	<b>8</b>	192 h Exposition mit Zielsalinität <i>Versuchsauflösung: Kreislauf 12 g NaCl l<sup>-1</sup></i>
<b>Probenahmetag 4</b>	<b>36</b>	36-tägige Exposition mit Zielsalinität <i>Versuchsauflösung: Kreislauf 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup></i>
<b>Probenahmetag 5</b>	<b>78</b>	78-tägige Exposition mit Zielsalinität <i>Versuchsauflösung: Kreislauf 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup></i>

#### 4.1.1 Wasserparameter

Während der täglichen Routinearbeiten in den Versuchskreisläufen wurden jeden Morgen die drei wesentlichen Wasserparameter Sauerstoffkonzentration (mg l<sup>-1</sup>), Wassertemperatur (°C) und pH-Wert erhoben. Zusätzlich dazu sind verschiedene Wasserparameter einer repräsentativen Wasserprobe jedes Versuchskreislaufes mindestens einmal wöchentlich im Labor analysiert worden (Tabelle 4.2. – 4.4.). Während des Versuches wurden zu verschiedenen Zeitpunkten Beleuchtungsstärken von 5 - 10 lx gemessen. Die Messungen erfolgten etwa 5 cm oberhalb des Wasserspiegels der verschiedenen Haltungseinrichtungen. Die Wasserparameter der vier Versuchskreisläufe im Zeitraum von Tag 0 bis Tag 36 wiesen, mit Ausnahme der Werte für das Säurebindungsvermögen (P = 0,020) und der Leitfähigkeit (P ≤ 0,001), keine signifikanten Unterschiede auf (Tabelle 4.2.). Die Messungen der Cyanidkonzentrationen im Haltungswasser der Kreislaufanlagen mit 0, 3, 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> fielen negativ aus.

**Tabelle 4.2. Wasserparameter (MW ± SD) der vier Versuchskreisläufe 0, 3, 6, 9 g NaCl l<sup>-1</sup> vom Versuchstart bis Tag 36. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>pH-Wert*</b>	7,0 ± 0,2	7,0 ± 0,2	7,0 ± 0,2	7,0 ± 0,1
<b>Temp. (°C) *</b>	21,6 ± 0,2	21,6 ± 0,2	21,6 ± 0,2	21,6 ± 0,1
<b>O<sub>2</sub> (mg l<sup>-1</sup>) *</b>	7,5 ± 0,5	7,7 ± 0,4	7,8 ± 0,5	7,8 ± 0,5
<b>SBV (mval l<sup>-1</sup>)</b>	0,9 ± 0,2 <sup>ab</sup>	0,8 ± 0,1 <sup>a</sup>	1,0 ± 0,1 <sup>ab</sup>	1,0 ± 0,2 <sup>b</sup>
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,3 ± 0,2	0,3 ± 0,2	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	37 ± 6	38 ± 7	33 ± 9	30 ± 9
<b>LF (µS cm<sup>-1</sup>)</b>	1 891 ± 410 <sup>a</sup>	5 861 ± 101 <sup>b</sup>	10 874 ± 124 <sup>c</sup>	15 483 ± 221 <sup>d</sup>
<b>Trübung (FNU)</b>	3,5 ± 1,8	4,8 ± 3,6	7,0 ± 5,6	9,1 ± 7,1
<b>CN<sup>-</sup> (mg l<sup>-1</sup>) **</b>	< NWG	< NWG	< NWG	< NWG
<b>n</b>	9	9	9	9

\*n = 36

\*\*n = 3, NWG (Nachweisgrenze) für Cyanid: 0,01 mg CN<sup>-</sup> l<sup>-1</sup>.

Werden die Versuchskreisläufe mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> separat über den gesamten Versuchszeitraum von 78 Tagen betrachtet, unterschieden sich lediglich die Leitfähigkeit der Anlagen signifikant voneinander (P ≤ 0,001) (Tabelle 4.3.).

**Tabelle 4.3. Wasserparameter (MW ± SD) der zwei Versuchskreisläufe 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> vom Versuchstart bis Tag 78. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>pH-Wert *</b>	7,0 ± 0,2	7,0 ± 0,1
<b>Temp. (°C) *</b>	21,2 ± 0,5	21,2 ± 0,5
<b>O<sub>2</sub> (mg l<sup>-1</sup>) *</b>	7,7 ± 0,4	7,8 ± 0,4
<b>SBV (mval l<sup>-1</sup>)</b>	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,1
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,3 ± 0,2	0,4 ± 0,2
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,2
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	44 ± 12	43 ± 10
<b>LF (µS cm<sup>-1</sup>)</b>	1 673 ± 440 <sup>a</sup>	5 842 ± 136 <sup>b</sup>
<b>Trübung (FNU)</b>	4,0 ± 1,6	3,7 ± 3,3
<b>n</b>	14	14

\*n = 78

Der Versuchskreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> muss gesondert betrachtet werden (Tabelle 4.4.). Lediglich der Wasserparameter Ammonium-Stickstoff (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) ist mit 0,9 mg l<sup>-1</sup> im Vergleich mit den anderen Versuchsanlagen etwa doppelt so hoch.

**Tabelle 4.4. Wasserparameter (MW ± SD) des Kreislaufes mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> während des Versuches.**

	12 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>pH-Wert</b>	7,0 ± 0,4
<b>Temp. (°C)</b>	21,5 ± 0,2
<b>O<sub>2</sub> (mg l<sup>-1</sup>)</b>	7,7 ± 0,2
<b>SBV (mval l<sup>-1</sup>)</b>	1,1 ± 0,3
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,9 ± 0,3
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,5 ± 0,2
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	25 ± 9
<b>LF (µS cm<sup>-1</sup>)</b>	19 420 ± 1 180
<b>Trübung (FNU)</b>	4,0 ± 0,8
<b>n</b>	2-7

#### 4.1.2 Stückmasseentwicklung der Zander

Die Tabelle 4.5. gibt einen Überblick über die Stückmassen (g) der Versuchsfische zu verschiedenen Zeitpunkten des Versuches. Zu Beginn des Versuches (0 d) wiesen die Zander eine durchschnittliche Stückmasse von  $31 \pm 5$  g auf ( $P = 0,640$ ). Das Versuchsende der fünf Gruppen fand zu unterschiedlichen Zeitpunkten statt. Die Versuchsfische in den Kreisläufen mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> wurden 78 d gehalten ( $P = 0,085$ ), wobei an Tag 36 eine Zwischenwägung durchgeführt wurde ( $P \leq 0,001$ ). Die Versuchsfische der Kreisläufe mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> wurden für insgesamt 36 Tage gehalten. Nach der Zwischenwägung wurde beschlossen die beiden zuletzt genannten Versuchsgruppen aufzulösen. Der Kreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde, aufgrund der deutlich negativen Einflüsse dieser Salinitätsstufe auf die gehaltenen Fische, lediglich für acht Versuchstage betrieben.

**Tabelle 4.5. Stückmasse der Versuchstiere (MW  $\pm$  SD) bei Besatz der Becken (0 d), bei der Zwischenwägung (36 d) und am Ende des Experimentes (8 d, 36 d bzw. 78 d). Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

	Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>	12 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Stückmasse (g)</b>	<b>0</b>	$31 \pm 5$	$31 \pm 5$	$30 \pm 5$	$31 \pm 5$	$31 \pm 5$
	<b>8</b>	-	-	-	-	$27 \pm 5$
	<b>36</b>	$43 \pm 8^a$	$39 \pm 8^b$	$32 \pm 6^c$	$32 \pm 6^c$	-
	<b>78</b>	$48 \pm 11$	$52 \pm 12$	-	-	-

Mit Blick auf die Stückmasseentwicklung der Versuchsgruppen werden im Folgenden zum einen die Kreisläufe 0, 3, 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> von Tag 0 bis Tag 36 miteinander verglichen und zum anderen die Versuchskreisläufe 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> nochmals von Tag 36 bis Tag 78 gegenübergestellt. Da der Kreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> bereits am achten Versuchstag aufgelöst wurde wird dieser für den Parameter Wachstum separat betrachtet.

##### *Versuchskreisläufe 0, 3, 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> bis Tag 36*

Nach 36 Versuchstagen wurde das Gewicht der Fische in Einzelfischwägungen bestimmt. Die Fische in der Kreislaufanlage 0 g NaCl l<sup>-1</sup> wiesen eine durchschnittliche Gewichtszunahme von 12 g auf und erreichten eine durchschnittliche Stückmasse von 43 g. Die Fische des Versuchskreislaufes mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> erhöhten ihr Gewicht um 8 g auf durchschnittlich 39 g. Dem gegenüber stehen die Versuchskreisläufe mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> in denen die Stückmasse der Zander um durchschnittlich 2 bzw. 1 g zunahmen.

Die Versuchsfische in 0 g NaCl l<sup>-1</sup> hatten eine signifikant höhere Durchschnittsstückmasse als die Fische im 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislauf. Ebenso war die Stückmasse der Versuchsfische in der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> signifikant höher als die der Fische in den Anlagen mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup>. Ein signifikanter Unterschied der Stückmassen zwischen den Kreisläufen mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> konnte nicht festgestellt werden.

Da keine Zunahme des Körpergewichtes der Fische in den Kreisläufen mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> festgestellt werden konnte, ist der Versuch für diese beiden Kreisläufe nach dem 36. Versuchstag beendet worden. In beiden Kreisläufen wurde eine Mortalität von 0,6 % beobachtet.

##### *Versuchskreisläufe 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> bis Tag 78*

Nach insgesamt 78 Versuchstagen wiesen die Zander in der Kontroll-Kreislaufanlage mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> eine durchschnittliche Stückmasse von 48 g auf. Die Fische des Kreislaufes mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> dagegen eine höhere durchschnittliche Stückmasse von 52 g. Während die Fische in dem 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislauf also durchschnittlich 17 g zugenommen haben, sind die Versuchsfische in dem 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislauf um durchschnittlich 21 g gewachsen.

Ein signifikanter Unterschied der durchschnittlichen Stückmassen konnte nicht gefunden werden ( $P = 0,060$ ). Die Tendenz zu einer erhöhten durchschnittlichen Stückmasse bei der Salinität von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> war jedoch feststellbar. In dem Versuchskreislauf mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde eine Mortalität von 0,6 % beobachtet. In der Kreislaufanlage mit einem Salzgehalt von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> traten keine Mortalitäten auf.

#### *Versuchskreislauf 12 g NaCl l<sup>-1</sup>*

Der Versuchskreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde bereits nach acht Tagen aufgelöst, da Mortalitäten sowie ausgeprägte makroskopische Veränderungen der Zander beobachtet wurden (Abbildung 4.1.). Die Mortalität der Versuchsfische betrug 95,6 %. Am achten Versuchstag konnten daher lediglich sieben Zander für eine Blut- und Organuntersuchung herangezogen werden. Die Mortalität der Versuchsfische fand sprunghaft, an den Versuchstagen 6, 7 und 8 nach Erreichen der Zielkonzentration von 12 g NaCl l<sup>-1</sup>, statt.

Die makroskopischen Veränderungen spiegelten sich sowohl auf der Haut als auch an der Leber wider. Zum einen verfärbte sich die Haut der Versuchsfische weißlich, wobei an diesen Stellen die Bedeckung der Haut mit Schuppen nicht mehr vorhanden war. Zusätzlich franzten die Flossen der Fische aus. Die sichtbaren Veränderungen der Haut wurden bei der täglichen Arbeit in der Kreislaufanlage ab Tag 6 beobachtet. Zum anderen konnte bei der Sektion der Fische an den Probenahmetagen festgestellt werden, dass die Lebern eine deutlich hellere Färbung aufwiesen als die der Kontrollgruppe. Die Farbveränderung der Lebern wurden bereits am dritten Tag nach dem Erreichen der Zielkonzentration (2. Probenahmetag) festgestellt.



**Abbildung 4.1.** Zander aus der Kreislaufanlage mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> an Tag 8 des Versuches. Der Fisch weist sowohl eine weißliche Haut, fehlende Schuppen, als auch ausgefranzte Flossen auf. Leber eines Fisches aus derselben Versuchsgruppe (Foto: MÜLLER-BELECKE).

Aufgrund des beobachteten sprunghaften Anstiegs der Sterblichkeit sowie dem veränderten äußeren Erscheinungsbild der Fische, wurde der Versuch an Tag 8 (3. Probenahmetag) beendet. Wie bereits in Tabelle 4.5. dargestellt, fand während des achttägigen Versuches eine signifikante Reduzierung der durchschnittlichen Stückmasse von 31 g um 4 g auf 27 g statt ( $P \leq 0,001$ ).

#### **4.1.3 Stückmasseentwicklung individuell markierter Zander**

Die Überlebensrate der Zander nach dem Markieren mit PIT bis zum Ende des Versuches betrug 93 %. Es konnten keine Verluste von PIT aus dem Bauchraum der Versuchsfische festgestellt werden.

In der Abbildung 4.2. (A-E) sind die Stückmassen der markierten und unmarkierten Zander je Salinität im zeitlichen Versuchsverlauf dargestellt. Mit Ausnahme der Zander aus dem 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislauf wird deutlich, dass sich die durchschnittlichen Stückmassen der markierten Fische bis zum jeweiligen Versuchsende an die durchschnittlichen Stückmassen der unmarkierten Fische angleichen. Am Ende des Versuches waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen. Um zu verdeutlichen, dass, trotz des im Gruppenvergleich ausbleibenden somatischen Wachstums der Zander, in 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> Wachstum stattgefunden hat, sind die Abbildung 4.2. (C) und (D) durch die Stückmasseszunahmen von jeweils drei beispielhaft ausgewählten Individuen ergänzt worden. Bei den Zandern in den Kreislaufanlagen mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> waren individuelle Gewichtsabnahmen von -1 bis -6 g zu verzeichnen. Bei keinem der markierten Fische fand innerhalb der acht Versuchstage eine Gewichtszunahme statt. Die markierten als auch unmarkierten Fische haben gleichmäßig an Gewicht verloren.

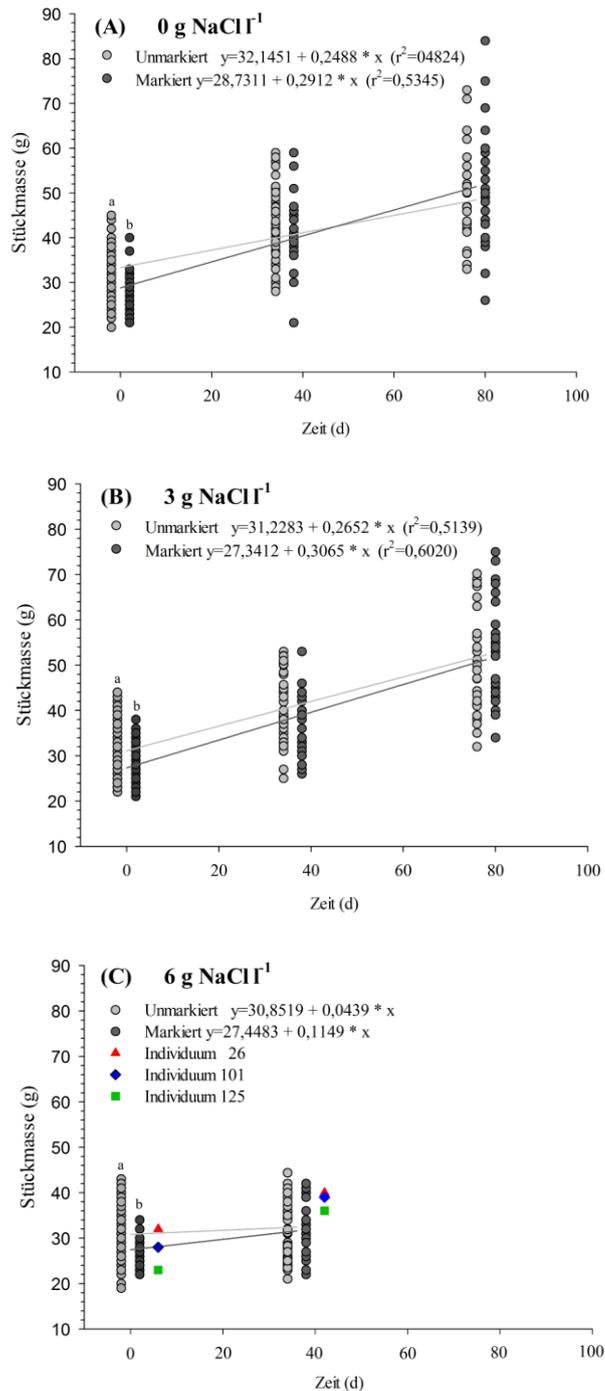
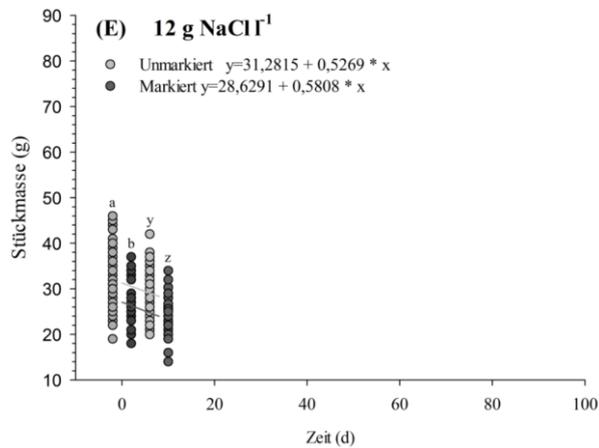
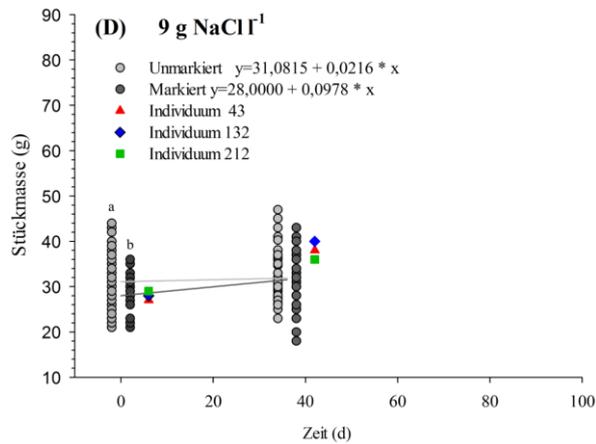


Abbildung 4.2. A-E Vergleich der Stückmassenentwicklung von markierten und unmarkierten Zandern am Versuchstart (0 d), am Tag der Zwischenwägung (36 d) und dem jeweiligen Versuchsende (8 d, 36 d, 78 d) in der Kontrollgruppe (A), dem Kreislauf mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> (B), dem Kreislauf mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> (C), dem Kreislauf mit 9 g NaCl l<sup>-1</sup> (D) und dem Kreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> (E). Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Wägung sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.



**Abbildung 4.2. Fortsetzung.**

Auftretende Differenzen der individuellen Stückmassezuwächse der markierten Fische bis zu Tag 36 bzw. Tag 78 sind in Abbildung 4.3. dargestellt. An Tag 36 war ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen Stückmassezuwachs und der Salinität festzustellen ( $P \leq 0,001$ ). Je höher die Salinität, desto geringer der individuelle Stückmassezuwachs. Nach weiteren 42 Tagen war diese Tendenz jedoch nicht mehr vorhanden. Die Stückmassen der Fische aus der Kontrolle und dem 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislauf unterschieden sich nicht mehr signifikant voneinander ( $P = 0,774$ ), sondern eine Tendenz zu höheren Stückmassezuwächsen bei einer NaCl-Konzentration von 3 g l<sup>-1</sup> konnte festgestellt werden.

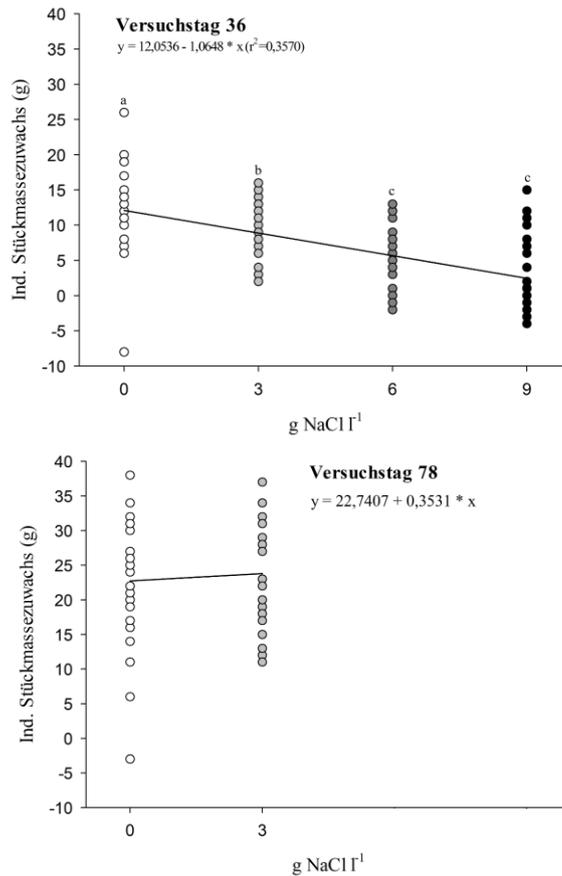


Abbildung 4.3. Differenz der Stückmassenzuwächse individuell markierter Zander in Abhängigkeit der vorliegenden NaCl-Konzentration nach 36 (oben) und 78 (unten) Versuchstagen. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Wägung sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

#### 4.1.4 Futterverwertung und spezifische Wachstumsraten

Tabelle 4.6. stellt die kalkulierten mittleren Futterquotienten (FQ) und spezifischen Wachstumsraten (SGR) der Zander in Abhängigkeit der getesteten Salinitäten und der Zeit dar. Bis zum 36. Tag war festzustellen, dass bei steigender NaCl-Konzentration der FQ der Versuchsgruppen signifikant zunahm ( $P = 0,016$ ). Über den gesamten Versuchszeitraum (0 d bis 78 d) war die Futterverwertung der Zander in  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  besser als die der Kontrollgruppe ( $P = 0,107$ ).

Tabelle 4.6. Futterquotienten (FQ) und spezifische Wachstumsraten (SGR) der Versuchsgruppen (MW  $\pm$  SD). Pro Salinität gilt  $n = 3$ . Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

	Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>	12 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>FQ</b> (kgFutter/kg Zuwachs)	8	-	-	-	-	-0,10 $\pm$ 0,04
	36	1,59 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	2,41 $\pm$ 0,30 <sup>b</sup>	10,57 $\pm$ 0,28 <sup>c</sup>	24,98 $\pm$ 2,64 <sup>d</sup>	-
	78	2,03 $\pm$ 0,24	1,63 $\pm$ 0,11	-	-	-
<b>SGR</b> (% d <sup>-1</sup> )	8	-	-	-	-	-1,55 $\pm$ 0,31
	36	0,87 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,61 $\pm$ 0,13 <sup>b</sup>	0,24 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	0,15 $\pm$ 0,07 <sup>c</sup>	-
	78	0,55 $\pm$ 0,03	0,68 $\pm$ 0,06	-	-	-

Für den Kontrollkreislauf mit  $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$  wurde ein durchschnittlicher SGR von  $0,87 \text{ \% d}^{-1}$  bis zum Tag der Zwischenwägung (0 d bis 36 d) und von  $0,55 \text{ \% d}^{-1}$  bis zum Versuchsende (0 d bis 78 d) realisiert. Für den Kreislauf mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  wurde ein SGR von  $0,61 \text{ \% d}^{-1}$  (0 d bis 36 d) und  $0,68 \text{ \% d}^{-1}$  (0 d bis 78 d) ermittelt. Bis zum Tag 36 war eine signifikant abnehmende spezifische Wachstumsrate bei steigender NaCl-Konzentration festzustellen ( $P \leq 0,001$ ).

Am Versuchsende war die spezifische Wachstumsrate der Zander in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> höher als die der Kontrollgruppe (P = 0,069).

#### 4.1.5 Kondition- und Organindizes

Die Konditionsfaktoren der Zander unterschieden sich zu Beginn des Versuches nicht signifikant voneinander (P = 0,520) und variierten zwischen 0,78 und 0,82 g cm<sup>-3</sup> (Tabelle 4.7.). Signifikante Unterschiede traten erstmals am 36. Versuchstag auf. Die Versuchsfische in den Kreisläufen mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> wiesen einen signifikant höheren Konditionsfaktor auf als die Versuchsfische aus den Kreisläufen mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> (P ≤ 0,001). Am Ende des Versuches (78 d) war der Konditionsfaktor der Zander geringer als am Versuchsstart.

**Tabelle 4.7. Konditionsfaktor (Kf) der Versuchsfische (MW ± SD) in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 24; 8d: 12 g NaCl l<sup>-1</sup> n = 7).**

	Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>	12 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Kf</b>	<b>1</b>	0,80±0,07	0,80±0,09	0,79±0,07	0,78±0,06	0,82±0,09
<b>(g cm<sup>-3</sup>)</b>	<b>3</b>	0,79±0,08	0,79±0,08	0,79±0,04	0,82±0,07	0,82±0,08
	<b>8</b>	0,78±0,05	0,78±0,06	0,80±0,07	0,79±0,06	0,81±0,07
	<b>36</b>	0,79±0,04 <sup>a</sup>	0,77±0,04 <sup>a</sup>	0,68±0,04 <sup>b</sup>	0,67±0,06 <sup>b</sup>	-
	<b>78</b>	0,74±0,03	0,72±0,05	-	-	-

Der hepatosomatische Index (HSI) der je Probenahmetag entnommenen Zander ist in Tabelle 4.8. dargestellt. Am ersten Probenahmetag konnten keine signifikanten Unterschiede des HSI zwischen den einzelnen Versuchsgruppen festgestellt werden (P = 0,250). Der HSI variierte zwischen 1,10 und 1,25 %. Auffallend war jedoch, dass bereits hier die Versuchsfische aus dem Kreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> einen höheren HSI aufwiesen. An Probenahmetag 2 nahm der HSI der Versuchsgruppen 0, 3, 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> ab und variierte zwischen 0,9 und 1,0 %. Lediglich der HSI der Fische im Kreislauf mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> erhöhte sich (1,36 %). Der HSI dieser Gruppe unterschied sich zudem signifikant von den anderen Gruppen (P ≤ 0,001). Am Probenahmetag 3 nahm der HSI aller Gruppen zu und erreichte Werte zwischen 0,99 und 1,16 %. Der HSI der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsfische erhöhte sich erneut und erreichte ein Niveau von 2,1 %. Der HSI dieser Gruppe unterschied sich erneut signifikant von den anderen Versuchsgruppen (P = 0,002). Nach der 36-tägigen NaCl-Exposition blieb der HSI der Gruppen 0, 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> unverändert. Allerdings erhöhte sich der HSI der 9 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe deutlich (P ≤ 0,001). Am letzten Probenahmetag war kein signifikanter Unterschied zwischen dem HSI der Fische in 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> festzustellen (P = 0,980). Allgemein zeichnet sich der ermittelte HSI-Wert bei allen Versuchsgruppen durch eine relativ große Standardabweichung aus. Bei einer zeitlichen Betrachtung ist zu erkennen, dass der HSI der Versuchsgruppen 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> tendenziell abnahm, wohingegen der HSI der Fische in den Salinitäten 6, 9 und 12 g NaCl l<sup>-1</sup> zunahm.

**Tabelle 4.8. Hepatosomatischer Index (HSI) und Splenosomatischer Index (SSI) der Versuchsfische (MW ± SD) in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 23-24; 8 d: 12 g NaCl l<sup>-1</sup> n = 7).**

	Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>	12 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>HSI</b>	<b>1</b>	1,12±0,24	1,14±0,27	1,13±0,25	1,10±0,22	1,25±0,23
<b>(% Körpergewicht)</b>	<b>3</b>	0,99±0,20 <sup>a</sup>	0,93±0,24 <sup>a</sup>	1,07±0,23 <sup>a</sup>	0,99±0,18 <sup>a</sup>	1,36±0,16 <sup>b</sup>
	<b>8</b>	1,07±0,19 <sup>a</sup>	1,07±0,24 <sup>a</sup>	1,09±0,19 <sup>a</sup>	1,16±0,24 <sup>a</sup>	2,10±0,78 <sup>b</sup>
	<b>36</b>	1,07±0,15 <sup>a</sup>	1,05±0,22 <sup>a</sup>	1,14±0,13 <sup>a</sup>	1,52±0,54 <sup>b</sup>	-
	<b>78</b>	1,09±0,23	1,09±0,23	-	-	-
<b>SSI</b>	<b>1</b>	0,11±0,07	0,11±0,04	0,10±0,05	0,11±0,05	0,10±0,05
<b>(% Körpergewicht)</b>	<b>3</b>	0,09±0,02 <sup>a</sup>	0,09±0,03 <sup>a</sup>	0,12±0,03 <sup>b</sup>	0,13±0,03 <sup>b</sup>	0,12±0,05 <sup>b</sup>
	<b>8</b>	0,12±0,04	0,13±0,02	0,11±0,03	0,13±0,03	0,13±0,04
	<b>36</b>	0,08±0,02 <sup>a</sup>	0,07±0,02 <sup>a</sup>	0,09±0,04 <sup>ab</sup>	0,11±0,03 <sup>b</sup>	-
	<b>78</b>	0,08±0,04	0,08±0,03	-	-	-

Der splenosomatische Index (SSI) aller Versuchsfische variierte am ersten Probenahmetag zwischen 0,10 und 0,11 % und es war kein signifikanter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen festzustellen ( $P = 0,951$ ; Tabelle 4.8.). Am zweiten Probenahmetag verringerte sich der SSI der Versuchsgruppen 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> um 0,02 % auf 0,9 % und der SSI der Versuchsgruppen in  $\geq 6$  g NaCl l<sup>-1</sup> war signifikant höher ( $P \leq 0,001$ ). Am dritten Probenahmetag wiesen alle Gruppen einen einheitlichen SSI auf ( $P = 0,266$ ). Im weiteren Verlauf nahm der SSI der Versuchsfische tendenziell ab. Am Ende des Versuches (5. Probenahmetag) waren zudem keine signifikanten Unterschiede festzustellen ( $P = 0,455$ ).

#### 4.1.6 Hämatologie

An insgesamt fünf Zeitpunkten während des Versuches (Tag 1, 3, 8, 36 und 78) wurde den Zandern aus verschiedenen Kreislaufanlagen (0, 3, 6, 9 und 12 g NaCl l<sup>-1</sup>) Blut abgenommen und für spätere Laboranalysen aufbereitet. Bei der Probengewinnung sind fälschlicherweise einzelne mit PIT markierte Zander für die Gewinnung hämatologischer Daten herangezogen worden. Da jedoch 14 Tage nach einer Markierung von Zandern mit PIT nicht mehr mit hämatologischen Veränderungen zu rechnen ist (ZAKĘŚ u. a. 2019), konnten auch die Blutproben der markierten Tiere ebenfalls berücksichtigt werden.

Das entnommene Blutvolumen der Fische wurde mit Hilfe der Skalierung auf den verwendeten Spritzen bestimmt. Die Blutvolumina korrelierten positiv mit den entsprechenden Stückmassen der Zander (Abbildung 4.4.). Im Durchschnitt konnten 0,38 ml Blut pro Fisch bzw. 11,3 ml kg<sup>-1</sup> gewonnen werden.

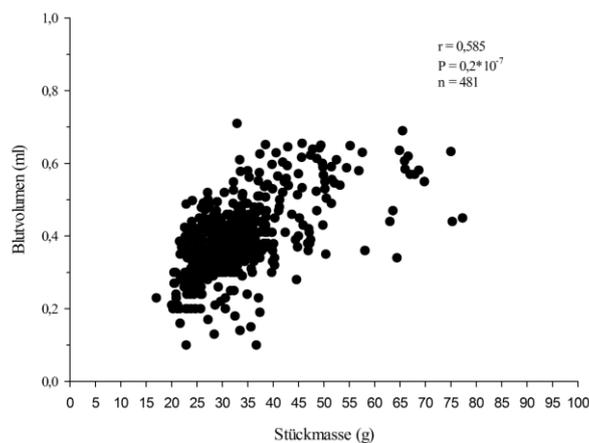
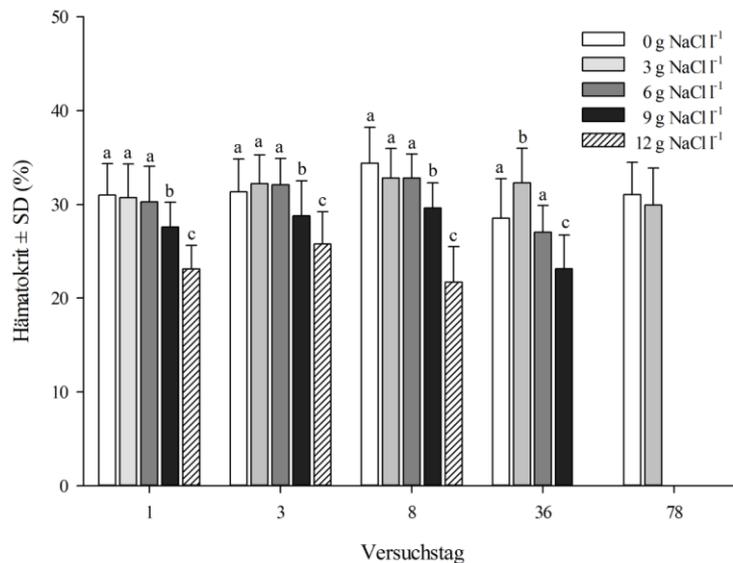


Abbildung 4.4. Korrelation der Stückmasse (g) und des extrahierten Blutvolumens (ml) der juvenilen Zander.

##### 4.1.6.1 Hämatokritbestimmung

Die Ergebnisse der Hämatokritbestimmung sind in Abbildung 4.5. dargestellt. Der durchschnittliche Hämatokritwert der Kontrollgruppe variierte über den gesamten Versuchszeitraum zwischen 29 und 34 %. Bereits nach 24-stündiger NaCl-Exposition wurden signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe bei NaCl-Konzentrationen von  $> 6$  g l<sup>-1</sup> festgestellt. Der niedrigste Hämatokritwert (22 %) wurde am Tag 8 in der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe festgestellt.

Im mittelfristigen Trend (36 d) nahm der Hämatokritwert mit zunehmender Salinität ab (29 % vs. 23 %). Zwischen den Versuchsgruppen 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ließ sich, mit Ausnahme des 4. Probenahmetages, kein signifikanter Unterschied vom Start bis zum Ende des Versuches ausmachen.

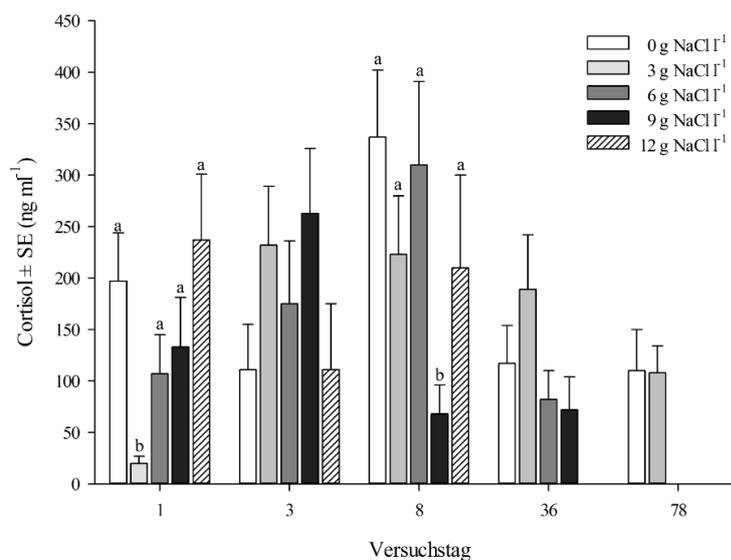


**Abbildung 4.5. Hämatokritgehalt (%) des Blutes von Zandern (MW ± SD) aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 23-24; 1d: 9 g NaCl<sup>-1</sup> n = 16; 8d: 12 g NaCl<sup>-1</sup> n = 7).**

#### 4.1.6.2 Cortisol und Schilddrüsenhormone im Blutplasma

In Abbildung 4.6. sind die ermittelten Blutplasma-Cortisolkonzentrationen ± SE (ng ml<sup>-1</sup>) der Zander dargestellt. Kurzfristig (Tag 1 bis 8) nahmen die Cortisolkonzentrationen im zeitlichen Verlauf tendenziell zu. Dabei werden je nach Versuchsgruppe Mittelwerte von bis zu 337 ng ml<sup>-1</sup> erreicht (Kontrolle). Auffallend ist die an Tag 1, im Vergleich mit allen anderen Gruppen, signifikant niedrigere Cortisolkonzentration (20 ng ml<sup>-1</sup>) der Zander, die in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> gehalten wurden (P = 0,002).

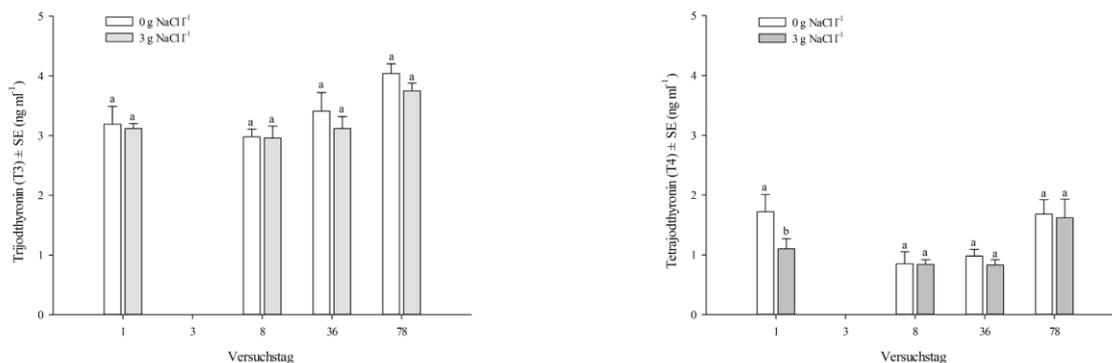
Im mittelfristigen Trend (Tag 36) waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier verbliebenen Versuchsgruppen festzustellen (P = 0,111). Langfristig (Tag 78) sind die mittleren Cortisolkonzentrationen der verbliebenen zwei Versuchsgruppen nahezu identisch (0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 110 ng ml<sup>-1</sup>; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 108 ng ml<sup>-1</sup>) (P = 0,751).



**Abbildung 4.6. Cortisolkonzentrationen (MW ± SE) im Blutplasma von Zandern aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 12; 8d: 12 g NaCl<sup>-1</sup> n = 7).**

Die im Blutplasma gelösten Schilddrüsenhormone Trijodthyronin (T3) und Tetrajodthyronin (T4) sind ausschließlich für die Zander in den Kreislaufanlagen mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> bestimmt worden und in Abbildung 4.7. separat dargestellt. Für Tag 3 konnten, aufgrund der geringen Blutplasmavolumina und der Vielzahl der ermittelten Parameter, keine Bestimmungen vorgenommen werden.

Die mittlere T3 Konzentration beider Versuchsgruppen variierte während des Versuches zwischen 2,96 und 4,04 ng ml<sup>-1</sup>. Zu keinem Zeitpunkt bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ( $P \geq 0,05$ ), wohl aber ein Trend zur generellen Zunahme der mittleren T3-Konzentration im Laufe des Versuches.



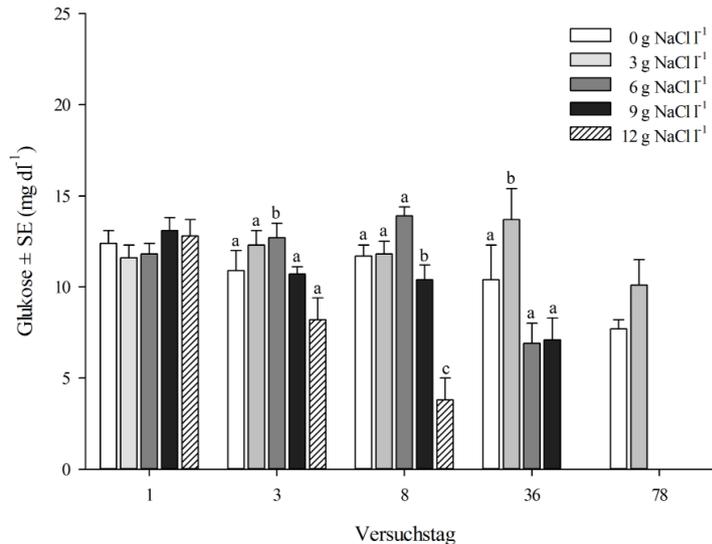
**Abbildung 4.7. Trijodthyronin- (T3; links) und Tetrajodthyronin- (T4; rechts) Konzentrationen (MW  $\pm$  SE) im Blutplasma von Zandern aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 1d: n = 6, 3d: n = 0, 8d: n = 3, 36 d: n=8, 78 d: n = 9; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: n = 9, 3 d: n = 0).**

Die mittlere Konzentration von im Blutplasma gelöstem T4 ist zu jedem Beprobungstermin niedriger als die Konzentration von T3. Lediglich am ersten Versuchstag war die T4-Konzentration bei der Versuchsgruppe mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> ( $1,72 \pm 0,29$  ng ml<sup>-1</sup>) deutlich höher als bei den Fischen der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ( $1,10 \pm 0,17$  ng ml<sup>-1</sup>). An keinem der Probenahmetage bestanden signifikante Unterschiede ( $P \geq 0,05$ ).

Das Verhältnis beider Hormone zueinander (T3 : T4) variierte im Mittel zwischen  $2,10 \pm 0,33$  und  $3,25 \pm 0,33$  (Daten nicht dargestellt). Lediglich am ersten Tag bestanden signifikante Unterschiede des T3-T4-Verhältnisses zwischen den beiden Versuchsgruppen (0 g NaCl l<sup>-1</sup>:  $2,10 \pm 0,33$ ; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>:  $3,25 \pm 0,36$ ) ( $P = 0,044$ ).

#### 4.1.6.3 Plasmametabolite

Die Ergebnisse der Blutplasma-Glukosebestimmungen  $\pm$  SE (mg dl<sup>-1</sup>) sind in Abbildung 4.8. für die Versuchsgruppen dargestellt.

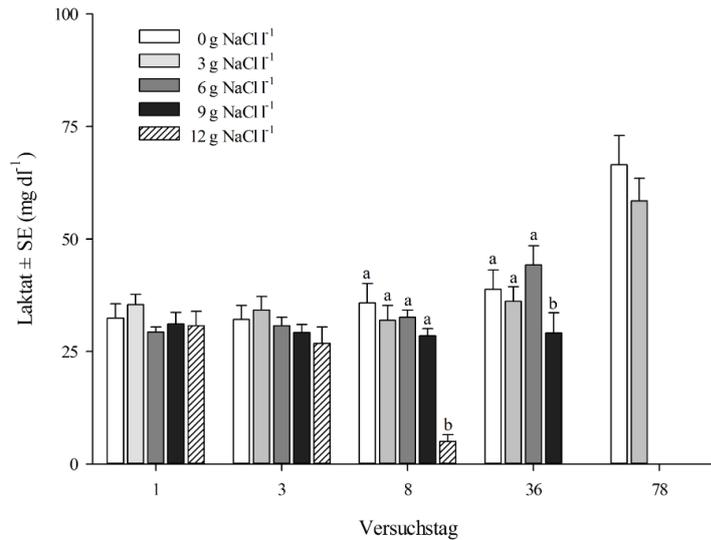


**Abbildung 4.8. Glukosekonzentrationen (MW ± SE) im Blutplasma von Zandern aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 12; 8 d: 12 g NaCl<sup>-1</sup> n = 7).**

Während an Tag 1 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen bestanden (11,6 - 13,1 mg dl<sup>-1</sup>, P = 0,569), traten an Tag 3 (P = 0,036) und 8 (P < 0,001) signifikante Unterschiede auf. Bei den Zandern in der KLA mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> nahm die Glukosekonzentration im Blutplasma im Mittel von 12,8 auf 3,8 mg dl<sup>-1</sup> innerhalb der acht Versuchstage ab. Ein ähnlicher Trend war mittelfristig (36. Tag, P = 0,009) für die Versuchszander in den NaCl-Konzentrationen 6 und 9 g l<sup>-1</sup> zu erkennen. Hier nahmen die Glukosekonzentrationen ab und erreichen am Tag 36 im Mittel Werte von 6,9 bis 7,1 mg dl<sup>-1</sup>. Langfristig waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Plasmaglukosekonzentrationen der Versuchsgruppen mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> vorhanden (P = 0,214). Die mittlere Konzentration der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe war jedoch mit 10,1 mg dl<sup>-1</sup> im Mittel um 2,4 mg dl<sup>-1</sup> höher als die 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe (7,7 mg dl<sup>-1</sup>).

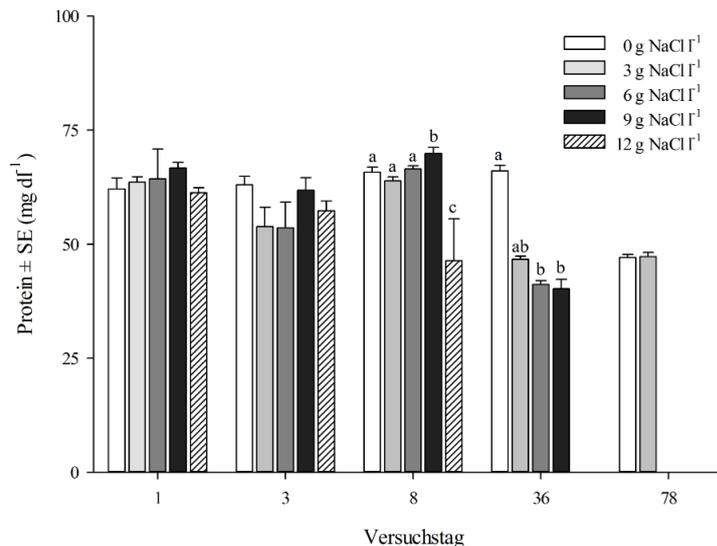
Die Laktatkonzentration ± SE (mg dl<sup>-1</sup>) im Blutplasma der Zander ist in Abbildung 4.9. dargestellt. An Tag 1 und 3 waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen feststellbar (P = 0,553; P = 0,374). Die Laktatkonzentrationen schwankten zwischen 29,3 und 35,4 mg dl<sup>-1</sup>. Am Tag 8 nahm die mittlere Laktatkonzentration der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe auf durchschnittlich 5,0 mg dl<sup>-1</sup> signifikant ab (P = 0,012). An den Probenahmetagen 3 und 8 war eine Tendenz zu niedrigen Laktatkonzentrationen bei erhöhten Salinitäten erkennbar. Mittelfristig war am Tag 36 ein leichter Anstieg der Laktatkonzentration festzustellen. Obwohl der Laktatwert der 9 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe am Tag 36 signifikant niedriger (P = 0,008) war als der der anderen drei Gruppen, bestand im direkten Vergleich kein Unterschied zu den vorherigen Probenahmetagen.

Langfristig waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den verbliebenen Versuchsgruppen 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> festzustellen (P = 0,333). Im Mittel war die Laktatkonzentration der Kontrollgruppe mit 66,5 mg dl<sup>-1</sup> jedoch um 8 mg dl<sup>-1</sup> höher als die der Versuchsgruppe in der Kreislaufanlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> (58,5 mg dl<sup>-1</sup>). Die Laktatwerte waren am fünften Probenahmetag, im Vergleich zu den ersten vier Probenahmetagen, auf einem höheren Niveau.



**Abbildung 4.9.** Laktatkonzentrationen (MW  $\pm$  SE) im Blutplasma von Zandern aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 12; 8 d: 12 g NaCl<sup>-1</sup> n = 7).

Die Konzentration der Proteine  $\pm$  SE (mg dl<sup>-1</sup>) im Blutplasma der Zander ist in Abbildung 4.10. dargestellt.

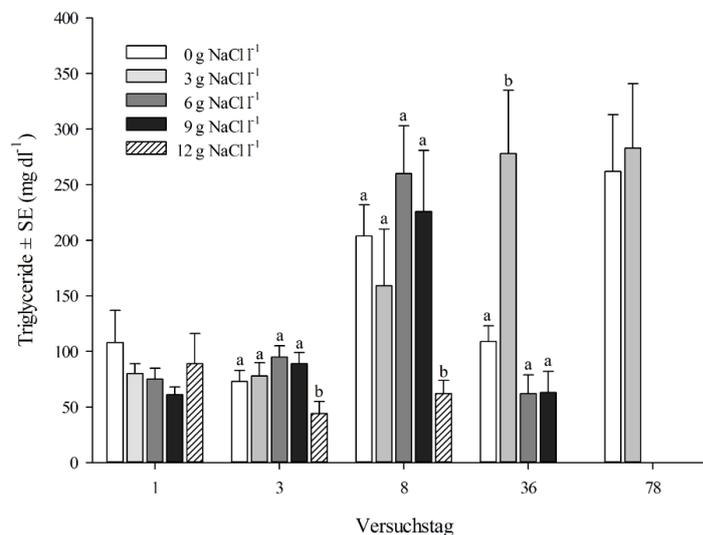


**Abbildung 4.10.** Proteinkonzentrationen (MW  $\pm$  SE) im Blutplasma von Zandern aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 12; 8 d: 12 g NaCl<sup>-1</sup> n = 7).

An den ersten beiden Probenahmetagen waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen vorhanden (P = 0,172; P = 0,319). Die mittleren Proteinkonzentrationen variieren zwischen 53,6 und 64,3 mg dl<sup>-1</sup>. Am achten Tag traten erste signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Während keine Unterschiede der Proteinkonzentrationen der Fische in den Salzkonzentrationen von 0, 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> vorhanden waren (63,9 bis 66,5 mg dl<sup>-1</sup>), war die Konzentration in der 9 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe signifikant erhöhet (69,9 mg dl<sup>-1</sup>) und die Konzentration der Plasmaproteine in der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe signifikant reduziert (46,4 mg dl<sup>-1</sup>) (P = 0,010). Die Proteinkonzentration der Kontrolle blieb auch mittelfristig auf einem ahnelichen Niveau (66,1 mg dl<sup>-1</sup>), die der mit NaCl exponierten Fische nahmen jedoch ab (3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 46,7 mg dl<sup>-1</sup>; 6 g NaCl l<sup>-1</sup>: 41,2 mg dl<sup>-1</sup>; 9 g NaCl l<sup>-1</sup>:

40,2 mg dl<sup>-1</sup>). Im langfristigen Trend waren die mittleren Proteinkonzentrationen der verbliebenen Versuchsgruppen nahezu identisch (47,1 und 47,3 mg dl<sup>-1</sup>) und unterschieden sich nicht signifikant voneinander (P = 0,910).

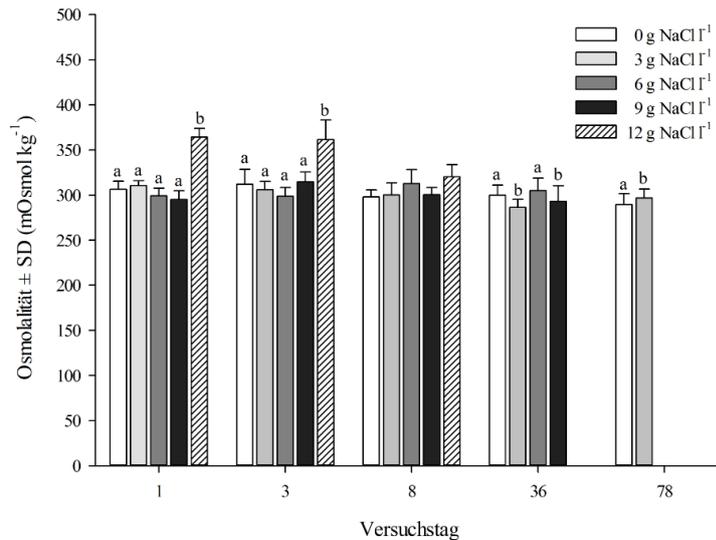
Die Ergebnisse der Blutplasma-Triglyceridbestimmungen ± SE (mg dl<sup>-1</sup>) der Zander sind in folgender Abbildung 4.11. dargestellt. Bereist am Probenahmetag 3 wiesen die Fische der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe signifikant geringere Triglyceridkonzentrationen (44 mg dl<sup>-1</sup>) auf (P = 0,002). Bis zum Tag 8 stiegen die Konzentrationen aller Gruppen deutlich an und erreichten Mittelwerte von bis zu 260 mg dl<sup>-1</sup> (6 g NaCl l<sup>-1</sup>). Auch am Tag 8 wiesen die Fische in der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe mit 62 mg dl<sup>-1</sup> Triglyceriden die geringsten Konzentrationen auf, die sich zusätzlich signifikant von den anderen Versuchsgruppen unterschieden (P = 0,006). Mittelfristig fielen die Konzentrationen der Gruppen mit 0, 6 und 9 NaCl l<sup>-1</sup> wieder auf das Ausgangsniveau des ersten Probenahmetages zurück (62 bis 109 mg dl<sup>-1</sup>), während die Triglyceridkonzentration der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe signifikant erhöht war (278 mg dl<sup>-1</sup>) (P < 0,001). Langfristig bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden verbliebenen Versuchsgruppen (P = 0,840). Die Mittelwerte der Triglyceridkonzentrationen unterschieden sich um 21 mg dl<sup>-1</sup> (0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 262 mg dl<sup>-1</sup>; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 283 mg dl<sup>-1</sup>).



**Abbildung 4.11.** Triglyceridkonzentrationen (MW ± SE) im Blutplasma von Zandern aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (n = 12; 8 d: 12 g NaCl l<sup>-1</sup> n = 7).

#### 4.1.6.4 Blutplasmaosmolalität und -ionen

Die Ergebnisse der Blutplasma-Osmolalitätsbestimmungen sind in Abbildung 4.12. für die Versuchsgruppen in Abhängigkeit der Probenahmetage dargestellt. Kurzfristig waren zunächst an Tag 1 und 3 die Osmolalitäten des Blutplasmas der mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Fische signifikant höher (364 bzw. 361 mOsmol kg<sup>-1</sup>) als die der anderen Versuchsgruppen (298 bis 314 mOsmol kg<sup>-1</sup>) (P < 0,001). Am achten Versuchstag bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen mehr (P = 0,976), jedoch war die Osmolalität bei den Zandern in 12 g NaCl l<sup>-1</sup> weiterhin am höchsten (320 mOsmol kg<sup>-1</sup>). Mittelfristig lagen signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen vor (P < 0,001), die jedoch keinem Muster folgten. Die Osmolalität gleicht im Mittel der Osmolalitäten der vorangegangenen Versuchstage. Am letzten Tag des Experimentes war die Blutplasmaosmolalität der Kontrollgruppe (289 mOsmol kg<sup>-1</sup>) signifikant niedriger als die der Fische in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> (296 mOsmol kg<sup>-1</sup>) (P = 0,025).



**Abbildung 4.12.** Osmolalität (MW ± SD) des Blutplasmas von Zandern aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (1 d: n = 14-15; 3 d: n = 5-18; 8 d: n = 3-24; 36 d: n = 21-24; 78 d: n = 24).

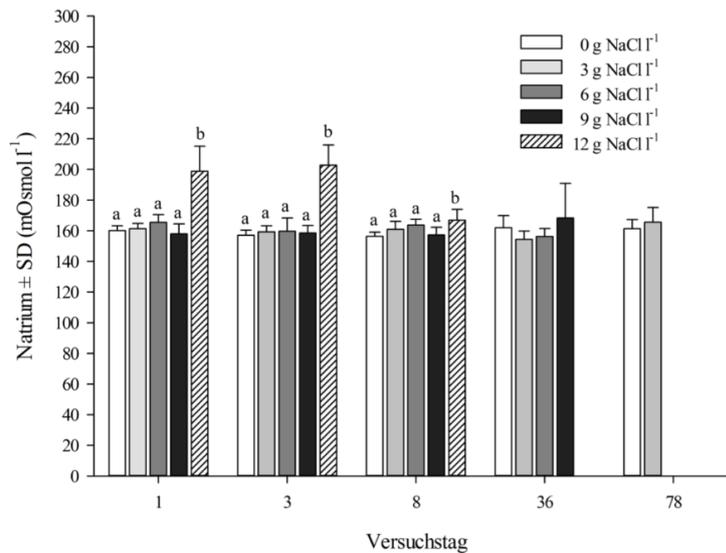
Die Ergebnisse der Ionenbestimmung im Blutplasma der Zander sind im folgenden Abschnitt dargestellt. Insgesamt sind sechs Ionen bestimmt worden. Hierbei handelt es sich um Natrium, Kalium und Calcium sowie Chlorid, Nitrat und Sulfat. Tabelle 4.9 gibt, unabhängig vom zeitlichen Verlauf des Versuches, einen Überblick über die Ionenzusammensetzung (in mOsmol l<sup>-1</sup>) des Blutplasmas.

**Tabelle 4.9.** Zusammensetzung (MW ± SD) der Blutplasmaionen (Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, Nitrat, Sulfat, in mOsmol l<sup>-1</sup>) in Abhängigkeit der NaCl-Zugabe zu den Kreislaufanlagen (0, 3, 6, 9, 12 g NaCl l<sup>-1</sup>), jedoch unabhängig vom zeitlichen Verlauf des Versuches.

Ion (mOsmol l <sup>-1</sup> )	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>	12 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Natrium</b>	160,3 ± 5,5	160,3 ± 6,7	161,3 ± 6,8	160,6 ± 12,4	196,0 ± 17,6
<b>Kalium</b>	3,7 ± 0,6	3,6 ± 0,9	3,3 ± 0,9	3,0 ± 0,9	3,0 ± 0,6
<b>Calcium</b>	3,0 ± 0,3	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,4	2,7 ± 0,4
<b>Chlorid</b>	102,4 ± 11,7	113,6 ± 6,4	114,3 ± 8,1	119,4 ± 6,1	154,2 ± 23,8
<b>Nitrat</b>	1,2 ± 0,6	1,3 ± 0,4	1,6 ± 0,5	1,9 ± 0,5	1,7 ± 0,4
<b>Sulfat</b>	1,8 ± 0,7	1,8 ± 0,8	1,4 ± 0,5	1,2 ± 0,4	1,3 ± 0,6
<b>n</b>	34 - 39	40 - 45	33 - 35	34 - 35	18 - 21

Natrium stellte den größten Anteil der gemessenen sechs Ionen im Blutplasma der Zander dar (Tabelle 4.9 u. Abbildung 4.13).

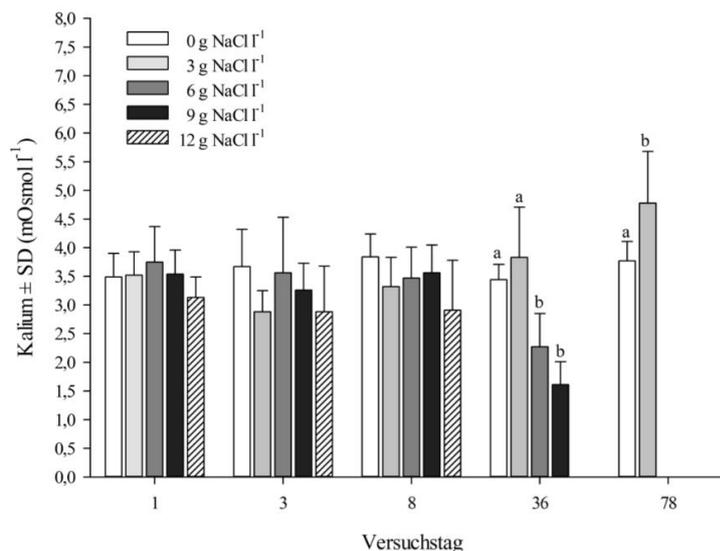
Das Natrium im Blutplasma der Zander variierte an den Tagen 1, 3 und 8 im Mittel zwischen 156 - 165 mOsmol l<sup>-1</sup> (0 - 9 g NaCl l<sup>-1</sup>) und 166 - 202 mOsmol l<sup>-1</sup> (12 g NaCl l<sup>-1</sup>). Während der ersten drei Beprobungen hatten die Fische in der Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> signifikant mehr Natrium im Blut als die Fische aus den anderen vier Versuchsgruppen (1, 3 d: P < 0,001; 8 d: P = 0,008). Mittel- und langfristig traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den verbliebenen Versuchsgruppen auf (36 d: P = 0,097; 78 d: P = 0,268).



**Abbildung 4.13.** Natrium im Blutplasma von Zandern (MW  $\pm$  SD, in mOsmol l<sup>-1</sup>) aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Zugaben während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (1 d: n = 8 - 9; 3 d: n = 3 - 9; 8 d: n = 3 - 9; 36 d: n = 9; 78 d: n = 9).

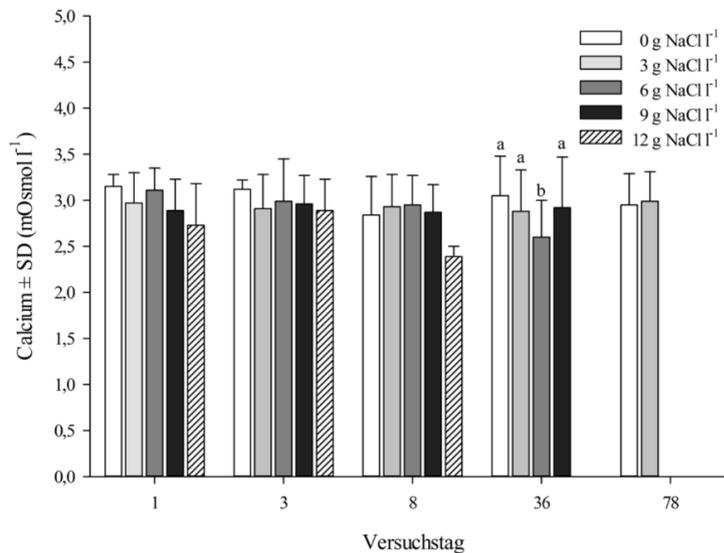
Kalium stellte den drittgrößten Anteil der gemessenen sechs Ionen im Blutplasma der Zander dar (Tabelle 4.9 u. Abbildung 4.14). An den ersten drei Probenahmetagen variierte Kalium im Mittel zwischen 2,8 und 3,8 mOsmol l<sup>-1</sup>, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen bestanden (1 d: P = 0,900; 3 d: P = 0,066; 8 d: P = 0,222).

Mittelfristig (36 d) traten jedoch signifikante Unterschiede auf. Die Zander in der Kontrollgruppe (3,4 mOsmol l<sup>-1</sup>) und der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Expositionsgruppe (3,8 mOsmol l<sup>-1</sup>) hatten signifikant mehr Kalium im Blut als die Versuchsfische in den Kreisläufen mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> (2,3 mOsmol l<sup>-1</sup>) und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> (1,6 mOsmol l<sup>-1</sup>) (P < 0,001). Am Ende des Versuches (78 d) traten ebenfalls signifikante Unterschiede auf. Während in der Kontrollgruppe 3,8 mOsmol l<sup>-1</sup> Kalium im Blutplasma vorhanden war, war Kalium in der Expositionsgruppe mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> signifikant erhöht (4,8 mOsmol l<sup>-1</sup>) (P = 0,012).



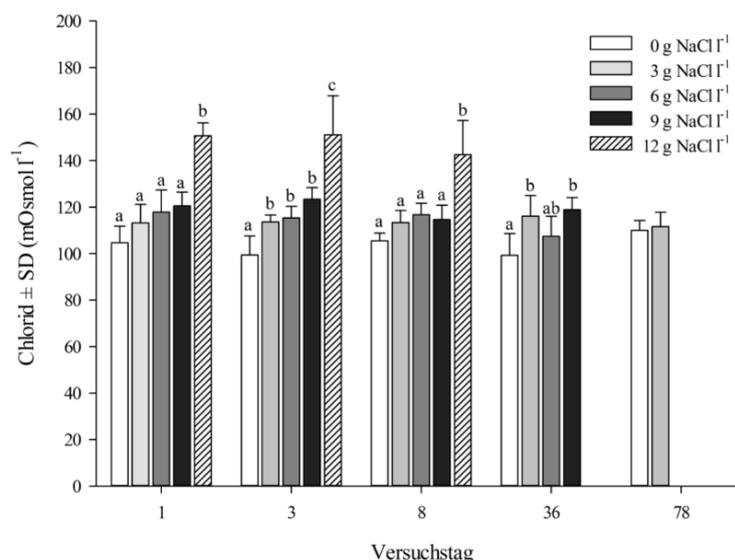
**Abbildung 4.14.** Kalium im Blutplasma von Zandern (MW  $\pm$  SD, in mOsmol l<sup>-1</sup>) aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Zugaben während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (1 d: n = 8 - 9; 3 d: n = 3 - 9; 8 d: n = 3 - 9; 36 d: n = 9; 78 d: n = 9).

Calcium stellte den viertgrößten Anteil der gemessenen sechs Ionen im Blutplasma der Zander dar (Tabelle 4.9 u. Abbildung 4.15). Mit Ausnahme des vierten Probenahmetages (36 d) traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auf (1 d:  $P = 0,050$ ; 3 d:  $P = 0,791$ ; 8 d:  $P = 0,242$ ). Das Calcium im Blutplasma der Versuchszander variierte im Mittel zwischen  $2,4 \text{ mOsmol l}^{-1}$  ( $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Expositionsgruppe; 8 d) und  $3,2 \text{ mOsmol l}^{-1}$  (Kontrollgruppe, 1 d).



**Abbildung 4.15. Calcium im Blutplasma von Zandern (MW  $\pm$  SD, in  $\text{mOsmol l}^{-1}$ ) aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Zugaben während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (1 d:  $n = 8 - 9$ ; 3 d:  $n = 3 - 9$ ; 8 d:  $n = 3 - 9$ ; 36 d:  $n = 9$ ; 78 d:  $n = 9$ ).**

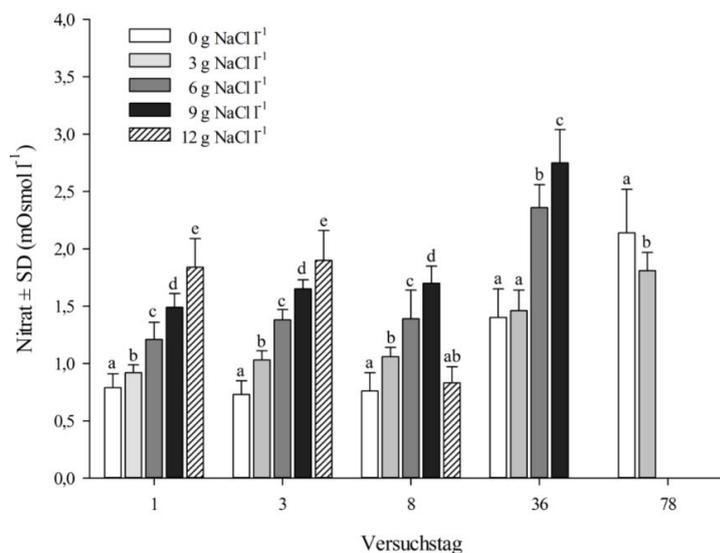
Chlorid stellte den zweitgrößten Anteil der gemessenen sechs Ionen im Blutplasma der Zander dar (Tabelle 4.9 u. Abbildung 4.16). In der Kontrollgruppe ( $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) variierte Chlorid während des gesamten Versuches im Mittel zwischen  $99 \text{ mOsmol l}^{-1}$  und  $110 \text{ mOsmol l}^{-1}$  und war zu jedem Zeitpunkt geringer als in den anderen Expositionsgruppen. An den Probenahmetagen 1 bis 3 nahm Chlorid im Plasma des Fischblutes mit steigenden Umweltsalinitäten zu.



**Abbildung 4.16. Chlorid im Blutplasma von Zandern (MW  $\pm$  SD, in  $\text{mOsmol l}^{-1}$ ) aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Zugaben während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (1 d:  $n = 8 - 9$ ; 3 d:  $n = 3 - 9$ ; 8 d:  $n = 3 - 9$ ; 36 d:  $n = 9$ ; 78 d:  $n = 9$ ).**

Während der ersten drei Probenahmetage war der Anteil an Chlorid in den Expositionsgruppen bis einschließlich 9 g NaCl l<sup>-1</sup> relativ stabil. Allerdings war Chlorid im Blutplasma der Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> an diesen Probenahmetagen gegenüber allen anderen Gruppen signifikant erhöht (142 - 151 mOsmol l<sup>-1</sup>; 1 d, 3 d: P < 0,001; 8 d: P = 0,002). Mit Ausnahme der 6 g NaCl l<sup>-1</sup> Expositionsgruppe nahm der Anteil an Chlorid im Fischblut mittelfristig (36 d) zu und variierte dabei im Mittel zwischen 99 mOsmol l<sup>-1</sup> (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) und 119 mOsmol l<sup>-1</sup> (9 g NaCl l<sup>-1</sup>). Langfristig war der Anteil an Chlorid in den verbliebenen zwei Versuchsgruppen nahezu identisch (0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 110 mOsmol l<sup>-1</sup>; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 112 mOsmol l<sup>-1</sup>) und unterschied sich nicht signifikant voneinander (P = 0,535).

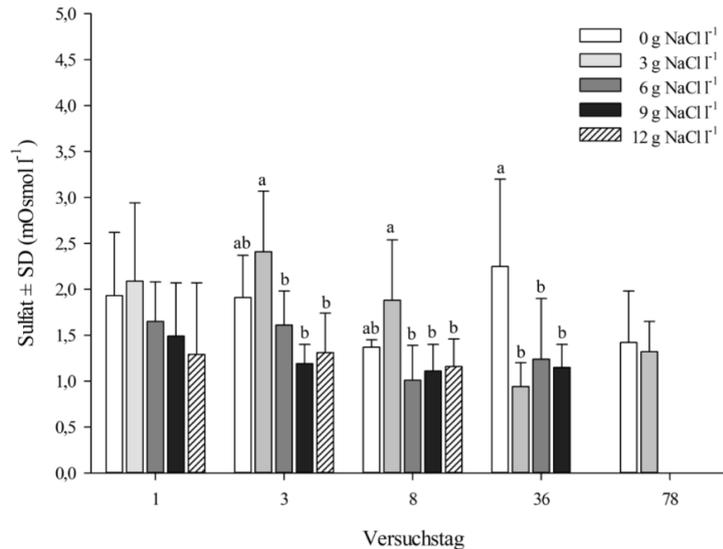
Nitrat stellte den fünft- bzw. sechstsgrößten Anteil der gemessenen sechs Ionen im Blutplasma der Zander dar (Tabelle 4.9 u. Abbildung 4.17). Im Blutplasma der Kontrollgruppe war zum Zeitpunkt des Versuchsstarts im Mittel 0,8 mOsmol l<sup>-1</sup> Nitrat vorhanden.



**Abbildung 4.17.** Nitrat im Blutplasma von Zandern (MW ± SD, in mOsmol l<sup>-1</sup>) aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Zugaben während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (1 d: n = 8 - 9; 3 d: n = 3 - 9; 8 d: n = 3 - 9; 36 d: n = 9; 78 d: n = 9).

Von diesem Ausgangswert ausgehend, ließen sich zwei Trends erkennen. Zum einen nahm mit zunehmender NaCl-Konzentration in der Haltungsumwelt das Nitrat im Blutplasma der Fische zu. Einzig Probenahmetag 8 in der Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> (0,8 mOsmol l<sup>-1</sup>) sowie Probenahmetag 78 waren dieser Tendenz gegenläufig. Zum anderen nahm Nitrat im Blutplasma der Fische im zeitlichen Verlauf des Versuches zu. In der Kontrollgruppe stieg Nitrat im Mittel von 0,8 mOsmol l<sup>-1</sup> auf 2,1 mOsmol l<sup>-1</sup> an. Auch hier bildete die Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> am Tag 8 die einzige Ausnahme. Am letzten Tag des Versuches war im Blutplasma der mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Versuchsgruppe signifikant weniger Nitrat im Blut vorhanden (1,8 mOsmol l<sup>-1</sup>) als in der Kontrollgruppe (2,1 mOsmol l<sup>-1</sup>) (P = 0,029).

Sulfat stellte ebenfalls den fünft- bzw. sechstsgrößten Anteil der gemessenen sechs Ionen im Blutplasma der Zander dar (Tabelle 4.9 u. Abbildung 4.18). Das Sulfat im Blutplasma der Zander variierte am ersten Probenahmetag im Mittel zwischen 1,3 und 2,1 mOsmol l<sup>-1</sup> und über alle Probenahmetage zwischen 0,9 und 2,4 mOsmol l<sup>-1</sup>. Am Ende des Versuches (78 d) bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen (0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 1,4 mOsmol l<sup>-1</sup>; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 1,3 mOsmol l<sup>-1</sup>) (P = 0,675).



**Abbildung 4.18.** Sulfat im Blutplasma von Zandern (MW  $\pm$  SD, in mOsmol l<sup>-1</sup>) aus Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Zugaben während eines 78-tägigen Versuches. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet (1 d: n = 8 - 9; 3 d: n = 3 - 9; 8 d: n = 3 - 9; 36 d: n = 9; 78 d: n = 9).

#### 4.1.7 Kiemenhistologie

Die durchschnittliche Anzahl der Chlorid- und Schleimzellen ist in Abbildung 4.19. dargestellt. Während des gesamten Versuches blieb die Anzahl der Chlorid- und Schleimzellen  $\pm$  SD ( $10 \pm 4$  bis  $12 \pm 1$ ) in der Kontrollgruppe (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) nahezu konstant.

Zu Beginn des Versuches variierte die Anzahl der Zellen im Mittel zwischen  $11 \pm 2$  und  $13 \pm 2$  Stück pro Primärfilamentabschnitt. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen ( $P = 0,245$ ). An den Probenahmetagen 3 und 8 stieg die Anzahl der Chlorid- und Schleimzellen mit zunehmender NaCl-Konzentration signifikant an (3 d; 8 d:  $P \leq 0,001$ ). In der Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> verdoppelte sich die Anzahl der Zellen innerhalb der ersten acht Versuchstage auf  $19 \pm 4$  bis  $22 \pm 3$  Stück. Mittelfristig (36 d) war ein identischer Trend zu erkennen. Die Anzahl der Zellen nahm mit zunehmender NaCl-Konzentration signifikant zu ( $P = 0,001$ ). Am letzten Versuchstag (78 d) unterschied sich die durchschnittliche Anzahl von Chlorid- und Schleimzellen der verbliebenen Gruppen (0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup>) nicht signifikant voneinander ( $P = 0,065$ ). Allerdings war ein deutlicher Trend zu einer höheren Anzahl von Chlorid- und Schleimzellen unter leicht salinen Bedingungen ( $16 \pm 4$ ) gegenüber der Kontrolle ( $12 \pm 1$ ) erkennbar.

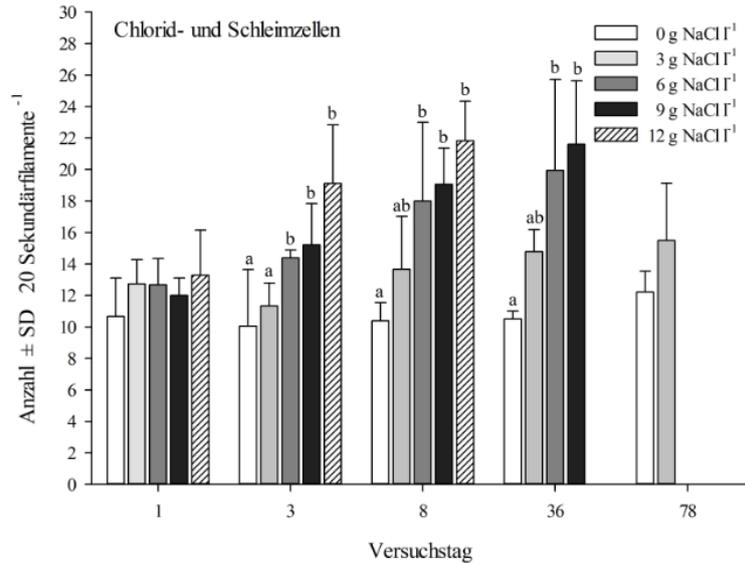


Abbildung 4.19. Anzahl der Chlorid- und Schleimzellen (MW  $\pm$  SD) pro 20 Sekundärfilamente in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration (0, 3, 6, 9 und 12 g l<sup>-1</sup>) und dem Versuchstag (1, 3, 8, 36 und 78). Für jeden Versuchstag und die entsprechende NaCl-Konzentration gilt n = 6. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

Zusätzlich zur Anzahl wurden hypertrophe Chlorid- und Schleimzellen  $\pm$  SE aufgenommen (vgl. Abbildung 4.20.). Die durchschnittliche Anzahl hypertropher Chlorid- und Schleimzellen in den Gruppen mit 0, 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> während der ersten drei Beprobungen war weniger als eine Zelle pro Primärfilament bzw. 20 Sekundärfilamenten ( $0,6 \pm 0,2$  bis  $0,9 \pm 0,4$ ). Erst mit weiter steigenden NaCl-Konzentrationen von 9 und 12 g NaCl l<sup>-1</sup> nahm auch die Anzahl hypertropher Zellen signifikant zu (1 d; 3 d; 8 d:  $P \leq 0,001$ ). In der Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> wurden im Mittel bis zu drei hypertrophe Zellen bestimmt (8 d). An den zwei letzten Probenahmetagen bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen Versuchsgruppen (36 d:  $P = 0,368$ ; 78 d:  $0,804$ ).

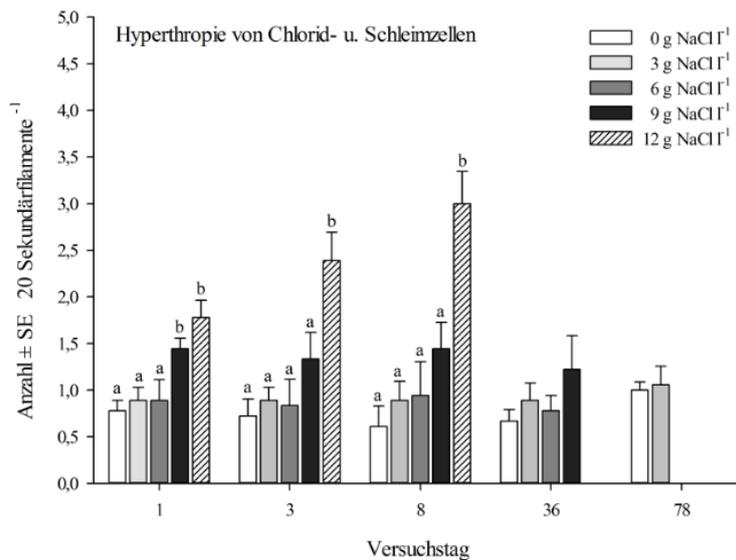
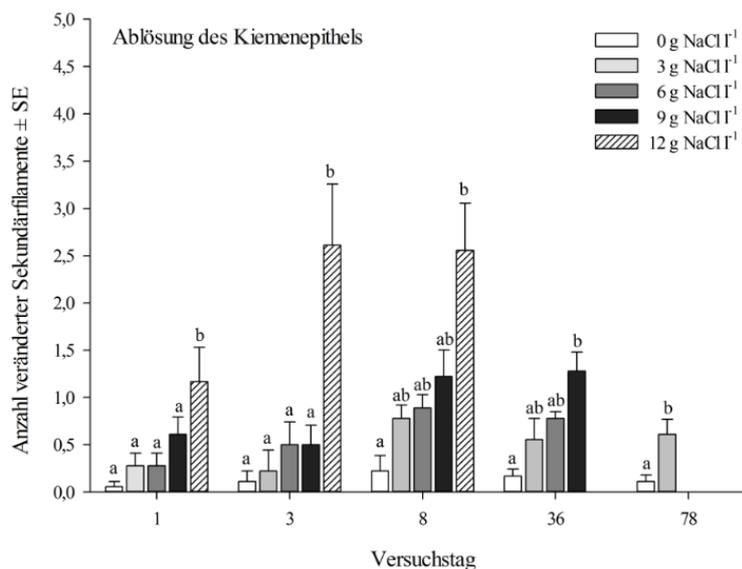


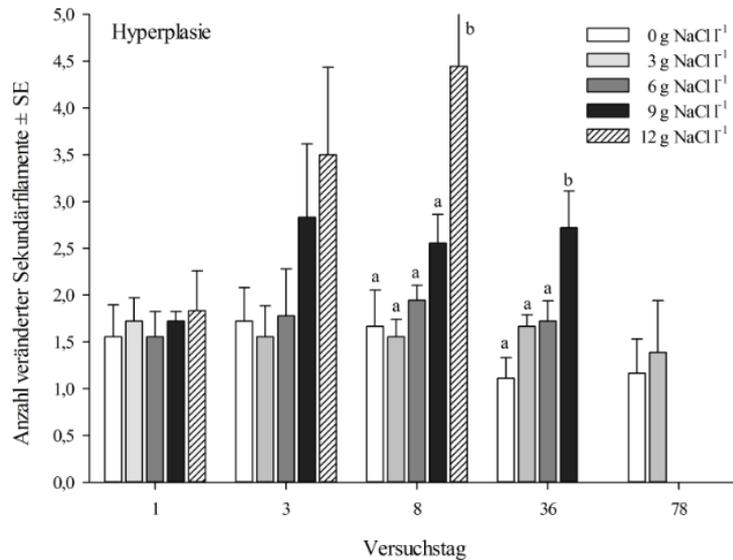
Abbildung 4.20. Anzahl hypertropher Chlorid- und Schleimzellen (MW  $\pm$  SE) pro 20 Sekundärfilamente in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration (0, 3, 6, 9 und 12 g l<sup>-1</sup>) und dem Versuchstag (1, 3, 8, 36 und 78). Für jeden Versuchstag und die entsprechende NaCl-Konzentration gilt n = 6. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

Die durchschnittliche Anzahl von Kiemenepithelablösungen pro 20 Sekundärfilamente ist in Abbildung 4.21. dargestellt. Die Kiemen der Kontrollfische wiesen an jedem Probenahmetag die geringste durchschnittliche Anzahl von Epithelablösungen auf ( $\leq 0,2 \pm 0,2$ ). Bereits einen Tag nach Erreichen der Zielkonzentration wiesen die Fische in der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppen mit durchschnittlich  $1,2 \pm 0,4$  Ablösungen, signifikant ( $P = 0,020$ ) höhere Werte auf als die anderen vier Versuchsgruppen ( $0,1 \pm 0,1$  bis  $0,6 \pm 0,2$ ). Während am dritten Versuchstag die Anzahl der Epithelablösungen in den Gruppen mit 0, 3, 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> nahezu identisch blieb, nahmen die in der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe nochmals deutlich zu ( $2,6 \pm 0,5$ ) und unterschied sich zudem signifikant von allen anderen Versuchsgruppen ( $P \leq 0,001$ ). Auch am achten Probenahmetag traten signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen auf ( $P = 0,001$ ). Unter Salzeinfluss nahm die Anzahl von Epithelablösungen dabei generell zu. Mittelfristig (36 d) setzte sich dieser Trend fort. Die Fische in der Kontrolle wiesen weiterhin die niedrigsten Ablösungen auf ( $0,2 \pm 0,1$ ) und die Fische in der 9 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe die höchste Anzahl von Ablösungen ( $1,3 \pm 0,2$ ). Die Unterschiede waren zudem signifikant ( $P = 0,004$ ). Am Tag der Versuchsauflösung (78 d) war die Anzahl der Epithelablösungen in der Kontrollgruppe ( $0,1 \pm 0,1$ ) signifikant ( $P = 0,017$ ) niedriger als die Anzahl der Ablösungen in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe ( $0,6 \pm 0,2$ ).



**Abbildung 4.21.** Anzahl beobachteter Ablösungen des Kiemenepithels (MW  $\pm$  SE) pro 20 Sekundärfilamente in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration (0, 3, 6, 9 und 12 g l<sup>-1</sup>) und dem Versuchstag (1, 3, 8, 36 und 78). Für jeden Versuchstag und die entsprechende NaCl-Konzentration gilt n = 6. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

Die Ergebnisse der makroskopischen Bestimmungen von Hyperplasien pro 20 Sekundärfilamente  $\pm$  SE sind in Abbildung 4.22. dargestellt.



**Abbildung 4.22. Anzahl beobachteter Hyperplasien (MW ± SE) pro 20 Sekundärfilamente in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration (0, 3, 6, 9 und 12 g l<sup>-1</sup>) und dem Versuchstag (1, 3, 8, 36 und 78). Für jeden Versuchstag und die entsprechende NaCl-Konzentration gilt n = 6. SE 8 d: ± 0,93). Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

An den Versuchstagen 1 und 3 bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Expositionsgruppen (1 d:  $P = 0,876$ ; 8 d:  $P = 0,350$ ). Die durchschnittliche Anzahl von Hyperplasien variierte zwischen  $1,6 \pm 0,3$  und  $3,5 \pm 0,9$  Stück pro untersuchtem Primärfilament bzw. pro 20 Sekundärfilamenten. Ab dem 3. Versuchstag nahm die Anzahl der Hyperplasien ab einer NaCl-Konzentration von  $\geq 9$  g l<sup>-1</sup> deutlich zu. Am 8. Versuchstag wiesen die Kiemen der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Fische eine signifikant höhere Anzahl von Hyperplasien auf ( $4,4 \pm 0,9$ ) als die anderen vier Gruppen ( $1,6 \pm 0,2$  bis  $2,6 \pm 0,3$ ) ( $P = 0,020$ ). An Versuchstag 36 bestand ein deutlicher Trend zu zunehmenden Hyperplasien bei steigenden NaCl-Konzentrationen. Dabei unterschieden sich die Anzahl der Hyperplasien der 9 g NaCl l<sup>-1</sup> (2,7 ± 0,4) signifikant ( $P \leq 0,001$ ) von denen der anderen drei Versuchsgruppen (0 g NaCl l<sup>-1</sup>:  $1,1 \pm 0,2$ ; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>:  $1,7 \pm 0,1$ ; 6 g NaCl l<sup>-1</sup>:  $1,7 \pm 0,2$ ). Am Tag der Versuchsauflösung (78 d) bestanden keine signifikanten Unterschiede ( $P = 0,744$ ) zwischen der Kontrollgruppe ( $1,2 \pm 0,4$ ) und der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Expositionsgruppe ( $1,4 \pm 0,6$ ).

Die durchschnittliche Anzahl von Fusionen einzelner Sekundärlamellen pro 20 Sekundärlamellen ± SE wurden ebenfalls mikroskopisch bestimmt (Abbildung 4.23.). An den Versuchstagen 1 und 3 bestanden hierbei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Expositionsgruppen (1 d:  $P = 0,768$ ; 8 d:  $P = 0,056$ ). Die durchschnittliche Anzahl von Lamellenfusionen variierte zwischen  $0,2 \pm 0,2$  und  $1,2 \pm 0,3$  Stück pro Primärfilament. Am Versuchstag 8 wiesen die Fische in der 9 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe mit  $1,5 \pm 0,3$  Fusionen signifikant höhere Werte auf als die Fische in 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ( $0,2 \pm 0,2$  und  $0,3 \pm 0,2$ ). An Versuchstag 36 hatten die Kontrollfische im Vergleich signifikant weniger Sekundärlamellenfusionen ( $0,1 \pm 0,1$ ) als die restlichen Versuchsgruppen ( $1,1 \pm 0,2$  bis  $2,1 \pm 0,3$ ) ( $P \leq 0,001$ ). Am Ende des Versuches bestanden keine signifikanten Unterschiede ( $P = 0,804$ ) zwischen den beiden verbliebenen Versuchsgruppen mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> ( $0,3 \pm 0,2$ ) und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ( $0,3 \pm 0,1$ ).

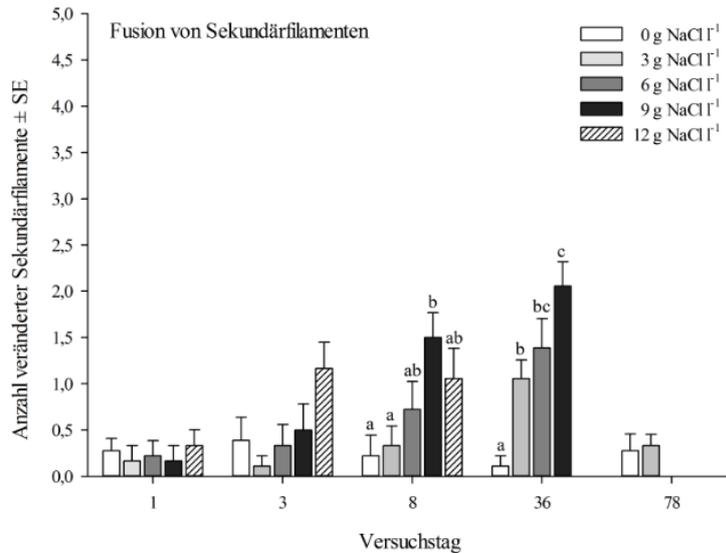


Abbildung 4.23. Anzahl beobachteter Sekundärlamellenfusionen (MW  $\pm$  SE) pro 20 Sekundärfilamente in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration (0, 3, 6, 9 und 12 g l<sup>-1</sup>) und dem Versuchstag (1, 3, 8, 36 und 78). Für jeden Versuchstag und die entsprechende NaCl-Konzentration gilt n = 6. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

#### 4.1.8 Wassergehalt und Bruttoenergiebestimmung

Am jeweiligen Tag der Auslösung der Versuchskreisläufe wurden 24 Zander zur Wassergehalt- und Bruttoenergiebestimmung herangezogen. Die Mittelwerte einer Dreifachbestimmung der gepoolten Proben sind in Tabelle 4.10. dargestellt. Der Wassergehalt der Zander variierte zwischen 73,6 und 75,9 %. Die Bruttoenergie nahm mit steigender NaCl-Konzentration tendenziell ab und variierte zwischen 5,3 und 6,2 MJ kg<sup>-1</sup>.

Für die mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zander war am Ende des Versuches nicht ausreichend Probenmaterial für eine Analyse vorhanden.

Tabelle 4.10. Wassergehalt- und Bruttoenergiebestimmung (nach SCHRECKENBACH u. a. 2001) von Zandern unter verschiedenen Salinitäten und zu verschiedenen Zeitpunkten während des Versuches. Die Tabelle stellt Mittelwerte einer Dreifachbestimmung aus gepoolten Proben (n = 24) dar.

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Versuchstag</b> (d)	78	78	36	36
<b>Wassergehalt</b> (%)	73,6	73,9	75,3	75,9
<b>Bruttoenergie</b> (MJ kg <sup>-1</sup> )	6,2	6,1	5,5	5,3

#### 4.1.9 Sauerstoffbedarf

Der Sauerstoffbedarf der Versuchsfische in Abhängigkeit der vorliegenden NaCl-Konzentration (0 und 3 g l<sup>-1</sup>) ist in Tabelle 4.11. aufgelistet. Der Sauerstoffbedarf der Versuchsfische, die mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> gehalten wurden, war signifikant geringer als der Sauerstoffbedarf der Kontrollgruppe (P = 0,042). Die Zander in der Kontrollgruppe verbrauchten mit durchschnittlich 250 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> \* h, im Mittel 15 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> \* h, mehr Sauerstoff als die Fische in dem Kreislauf mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> (235 mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> \* h).

Tabelle 4.11. Sauerstoffverbrauch (MW  $\pm$  SD) von Zandern unter zwei verschiedenen NaCl-Konzentrationen. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>mg O<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup> Fisch * h</b>	250 $\pm$ 29 <sup>a</sup>	235 $\pm$ 29 <sup>b</sup>
<b>n</b>	32	32

#### 4.1.10 Analyse von Kot- und Futterproben

Mit Hilfe der Analyse der Kot- und Futterproben konnten auf Grundlage der salzsäureunlöslichen Asche die scheinbaren Verdaulichkeitskoeffizienten (SVK) für die Futterinhaltsstoffe Rohprotein und Phosphor berechnet werden (Tabelle 4.12.). Die ermittelten SVK für Rohprotein waren in beiden Versuchsgruppen oberhalb von 98 % (P = 0,340) und die SVK für Phosphor oberhalb von 99 % (P = 0,952). Die täglichen, fischbiomassebezogenen Futtergaben waren während des Versuchsabschnittes für beide Gruppen nahezu identisch (P = 0,066).

**Tabelle 4.12. Scheinbare Verdaulichkeitskoeffizienten (SVK, MW ± SD) von Zandern unter zwei verschiedenen NaCl-Konzentrationen. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

	<b>0 g NaCl l<sup>-1</sup></b>	<b>3 g NaCl l<sup>-1</sup></b>
<b>SVK Rohprotein (%)</b>	98,9 ± 0,02	98,8 ± 0,03
<b>SVK Phosphor (%)</b>	99,5 ± 0,1	99,5 ± 0,1
<b>Futtergabe (g kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>)</b>	23,2 ± 0,7	23,9 ± 0,7
<b>n</b>	7	7

## 4.2 AP2

### 4.2.1 Wasserparameter

Für die ermittelten Wasserparameter während des Versuches (s. Tabelle 4.13.) konnten, mit Ausnahme der Sauerstoffkonzentration ( $P = 0,003$ ) und der Leitfähigkeit (LF) ( $P \leq 0,001$ ), keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsanlagen festgestellt werden.

**Tabelle 4.13. Wasserparameter der vier Versuchskreislaufanlagen (MW  $\pm$  SD) der Expositionsgruppen 0, 3, 6 g NaCl l<sup>-1</sup> sowie der Negativkontrolle während des Versuches. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	Negativkontrolle	n
pH-Wert	7,3 $\pm$ 0,3	7,3 $\pm$ 0,2	7,3 $\pm$ 0,2	7,3 $\pm$ 0,2	22
Temp. (°C)	22,6 $\pm$ 1,5	22,6 $\pm$ 1,5	22,8 $\pm$ 1,4	23,2 $\pm$ 1,1	22
O <sub>2</sub> (mg l <sup>-1</sup> )	6,9 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	7,3 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>	7,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	22
SBV (mval l <sup>-1</sup> )	0,8 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,4	1,4 $\pm$ 0,6	0,9 $\pm$ 0,4	4
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg l <sup>-1</sup> )	0,4 $\pm$ 0,3	0,5 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,7	0,3 $\pm$ 0,2	7
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N (mg l <sup>-1</sup> )	0,6 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,3	0,7 $\pm$ 0,4	0,5 $\pm$ 0,3	7
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg l <sup>-1</sup> )	70 $\pm$ 40	55 $\pm$ 33	46 $\pm$ 29	65 $\pm$ 36	7
LF ( $\mu$ S cm <sup>-1</sup> )	456 $\pm$ 33 <sup>a</sup>	5 636 $\pm$ 148 <sup>b</sup>	10 415 $\pm$ 219 <sup>c</sup>	445 $\pm$ 23 <sup>a</sup>	20
Trübung (FNU)	2,1 $\pm$ 2,1	2,0 $\pm$ 1,8	1,7 $\pm$ 0,7	1,6 $\pm$ 0,7	20

### 4.2.2 Entwicklung der Fische

Eine Übersicht über die Stückmassen der Zander, deren Wachstumsrate, Futterverwertung und Überlebensrate ist in Tabelle 4.14. dargestellt.

Die mittleren Startstückmassen der Zander in den vier Gruppen variierten zwischen 120 und 121 g. Zwischen den Stückmassen bestanden am Versuchsstart keine signifikanten Unterschiede ( $P = 0,869$ ). Während des 21-tägigen Versuches erreichten die Zander mittlere Endstückmassen zwischen 125 und 134 g, signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bestanden jedoch nicht ( $P = 0,425$ ).

Die spezifischen Wachstumsraten (SGR) der Fische variierten zwischen 0,27 und 0,51 % d<sup>-1</sup>. Die Negativkontrolle ohne Ektoparasiten wies hierbei die höchsten SGR-Werte auf. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen bestanden jedoch nicht ( $P = 0,284$ ).

Auch bei der Futterverwertung der Zander konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier Gruppen gefunden werden ( $P = 0,092$ ). Die Negativkontrolle wies mit 1,56  $\pm$  0,07 kg Futter pro kg Zuwachs den besten FQ auf. Von den Versuchsfischen mit Ektoparasiten hatte die Gruppe, der mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zander, mit 1,95  $\pm$  0,13 die beste Futterverwertung. Die Überlebensrate aller Gruppen unterschied sich nicht signifikant voneinander ( $P = 1,0$ ) und betrug 100 %.

**Tabelle 4.14. Start- und Endstückmassen, spezifische Wachstumsraten (SGR), Futterquotienten (FQ) und die Überlebensraten (MW  $\pm$  SD) der Zander in 0, 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> sowie der Negativkontrolle. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen traten bei keiner Variablen auf.**

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	Negativkontrolle
Startstückmasse (g)	120 $\pm$ 16	120 $\pm$ 17	121 $\pm$ 15	121 $\pm$ 14
Endstückmasse (g)	134 $\pm$ 21	125 $\pm$ 24	132 $\pm$ 24	134 $\pm$ 26
SGR (% d <sup>-1</sup> )	0,37 $\pm$ 0,05	0,27 $\pm$ 0,21	0,39 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,05
FQ (kg Futter/kg Zuwachs)	2,29 $\pm$ 0,48	2,43 $\pm$ 0,39	1,95 $\pm$ 0,13	1,56 $\pm$ 0,07
Überlebensrate (%)	100	100	100	100

Die berechneten Konditionsfaktoren (Tabelle 4.15.) der vier Versuchsgruppen variierten am Versuchsstart zwischen 0,74  $\pm$  0,05 und 0,76  $\pm$  0,05 g cm<sup>-3</sup> und am Tag 7 zwischen 0,79  $\pm$  0,05 und 0,83  $\pm$  0,04 g cm<sup>-3</sup>. Es bestanden an beiden Tagen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (0 d:  $P = 0,832$ ; 7 d: 0,163). Am Ende des Versuches war

der Konditionsfaktor der Negativkontrolle ( $0,79 \pm 0,06 \text{ g cm}^{-3}$ ) signifikant geringer ( $P = 0,014$ ) als bei den verbliebenen drei Versuchsgruppen.

**Tabelle 4.15. Konditionsfaktor (MW  $\pm$  SD in  $\text{g cm}^{-3}$ ) der Zander während des Versuches. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	Negativkontrolle
0	0,74 $\pm$ 0,07	0,74 $\pm$ 0,05	0,74 $\pm$ 0,06	0,76 $\pm$ 0,05
7	0,81 $\pm$ 0,05	0,83 $\pm$ 0,04	0,82 $\pm$ 0,05	0,79 $\pm$ 0,05
21	0,84 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,85 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	0,87 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,79 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>

### 4.2.3 Ektoparasiten

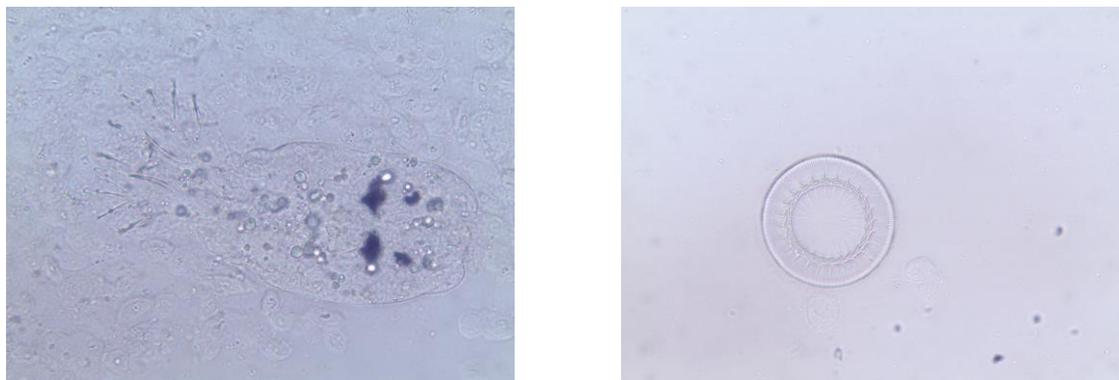
Insgesamt wurden im Laufe des Versuches 144 Zander untersucht. Dabei konnten während des 21-tägigen Versuches in der Negativkontrolle an keinem Probenahmeternin (Tag 0, 7 und 21) Ektoparasiten im Rahmen der lichtmikroskopischen Untersuchungen detektiert werden.

Auf den Fischen in den Kreislaufanlagen wurden zu Versuchsstart zwei verschiedene Ektoparasiten mikroskopisch erfasst (Abbildung 4.24.).

Zum einen wurden Hakensaugwürmer auf den Kiemen der Zander festgestellt. Unter Berücksichtigung des Bestimmungsschlüssels von BAUER (1985) konnten die Hakensaugwürmer der Familie der Dactylogyridae zugeordnet werden. Insgesamt wurden dabei über alle Sichtfenster, Behandlungen und Untersuchungstage 30 Individuen nachgewiesen.

Zum anderen wurden auf den Fischen zahlreiche Ciliaten festgestellt, die unter Berücksichtigung der Klassifikation von LOM u. DYKOVÁ (1992), der Familie der Trichodinidae zugeordnet werden konnten. Insgesamt wurden über alle Sichtfenster, Behandlungen und Untersuchungstage 4 565 Trichodinidae ermittelt.

Zu Versuchsbeginn bestand keine Korrelation zwischen der ermittelten Dichte der Ektoparasiten und den Konditionsfaktoren der infizierten Fische aus den drei Kreislaufanlagen ( $r = 0,279$ ;  $P = 0,099$ ;  $n = 36$ ).



**Abbildung 4.24. Photographische Aufnahmen je eines Vertreters der Dactylogyridae (links) und Trichodinidae (rechts) unter einem Lichtmikroskop bei 40facher Vergrößerung. Dactylogyridae werden bis zu 2 mm und Trichodinidae bis zu 100  $\mu\text{m}$  groß (HOFFMANN 2005).**

Die Prävalenz der Dactylogyridae an den verschiedenen Probenahmetagen in den Versuchskreislaufanlagen ist in Tabelle 4.16. dargestellt.

**Tabelle 4.16. Prävalenz (%) der Dactylogyridae in Abhängigkeit der verschiedenen Kreislaufanlagen und Probenahmetage.**

	Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	Negativkontrolle
Prävalenz (%)	0	8,3	0,0	8,3	0,0
Dactylogyridae	7	16,7	16,7	8,3	0,0
	21	33,3	0,0	0,0	0,0

In der Versuchskreislaufanlage ohne NaCl-Applikation (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) kam es im Laufe des Versuches zu einer Zunahme der Prävalenz von Dactylogyridae. In den Versuchskreislaufanlagen mit 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde von Tag 0 bis Tag 7 eine Zunahme (3 g NaCl l<sup>-1</sup>) und eine gleichbleibende Prävalenz (6 g NaCl l<sup>-1</sup>) der Dactylogyridae festgestellt. Am Ende des Versuches konnten jedoch in beiden Gruppen kein Befall mit Hakensaugwürmern festgestellt werden.

Die Dactylogyridae-Dichte pro Sichtfenster und Fisch (DDSF) (MW ± SD) war sehr gering, da nur wenige Fische mit wenigen Individuen befallen waren. Die DDSF variierte am Versuchstart zwischen 0,00 ± 0,00 und 0,00 ± 0,01, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen bestanden (P = 0,598). Am Tag 7 des Versuches war eine Zunahme der DDSF festzustellen (0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 0,01 ± 0,01; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 0,01 ± 0,03; 6 g NaCl l<sup>-1</sup>: 0,02 ± 0,06), allerdings ohne signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen (P = 0,660). Zusammen mit der Prävalenz stiegen ebenfalls die durchschnittlichen DDSF in der Positivkontrolle (0,04 ± 0,07) bis zum Versuchsende an. Bei den mit 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zandern konnten zu diesem Zeitpunkt hingegen keine Hakensaugwürmer mehr festgestellt werden (0,00 ± 0,00). Zwischen den drei Versuchsgruppen bestanden signifikante Unterschiede (P = 0,009).

Dominiert wurde die Ektoparasitendichte von Vertretern der Familie der Trichodinidae. In Tabelle 4.17. ist zunächst die Prävalenz pro Kreislaufanlage und Probenahmetagen dargestellt.

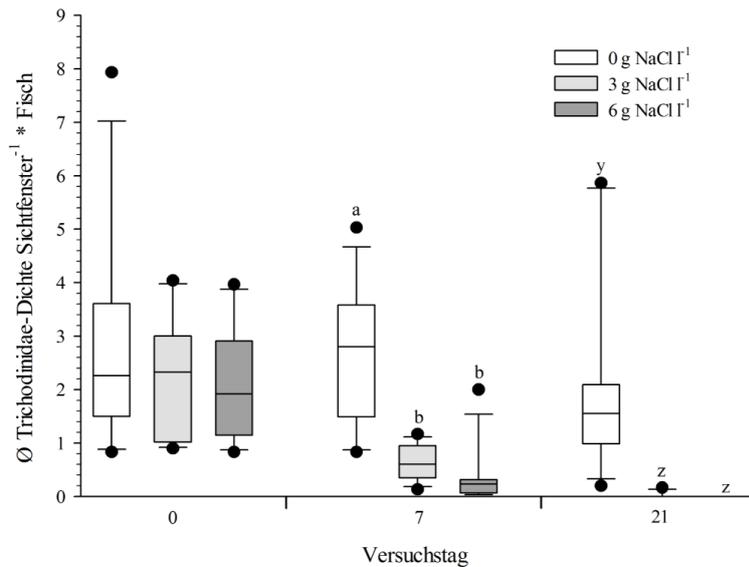
**Tabelle 4.17. Prävalenz (%) der Trichodinidae in Abhängigkeit der verschiedenen Kreislaufanlagen und Probenahmetagen.**

	Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	Negativkontrolle
Prävalenz (%)	0	100	100	100	0,0
Trichodinidae	7	100	100	100	0,0
	21	100	16,7	0,0	0,0

Zu Beginn des Versuches waren, mit Ausnahme der ektoparasitenfreien Fische, alle Zander in den drei Versuchsgruppen mit Trichodinidae infiziert. Im weiteren Versuchsverlauf änderte sich die Prävalenz der *Positivkontrolle* (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) nicht. Bis zum 7. Versuchstag war auch die Prävalenz dieser Ektoparasiten bei den mit NaCl exponierten Zandern unverändert, ging jedoch bis zur Versuchsauflösung (Tag 21) deutlich zurück. Während in der Gruppe mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> weiterhin Fische infiziert waren, konnte bei den Zandern in 6 g NaCl l<sup>-1</sup> kein Vertreter der Trichodinidae mehr festgestellt werden.

Für eine detaillierte Darstellung der Ergebnisse stellt Abbildung 4.25. die durchschnittliche Trichodinidae-Dichte pro Sichtfenster und Fisch (TDSF) in Abhängigkeit der Zeit und den Behandlungsgruppen dar.

Obwohl die durchschnittliche Dichte (MW ± SD) in der Kontrollgruppe (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) mit 2,9 ± 1,9 TDSF im Mittel höher war als in den Expositionsgruppen mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> (2,2 ± 1,1 TDSF) und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> (2,1 ± 1,0 TDSF), bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der TDSF am Versuchstart (P = 0,648). Die ausgeprägtere Streuung der TDSF in der 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Kontrollgruppe ist im Wesentlichen auf die hohe Stückzahl der auf den Kiemen lokalisierten Trichodinidae zurückzuführen (bis zu 60 Individuen pro Sichtfenster; Daten nicht separat dargestellt).



**Abbildung 4.25. Durchschnittliche Trichodinidae-Dichte pro Sichtfenster und Fisch (TDSF) im Laufe des Versuches und in Abhängigkeit der NaCl-Konzentration der Versuchskreislaufanlagen mit Berücksichtigung von Ausreißern. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

Nach einer einwöchigen Haltung der Fische unter Kreislaufanlagenbedingungen nahmen die mittleren TDSF-Werte in der Kontrollgruppe mit  $-6,4\%$  zwar geringfügig ab ( $2,7 \pm 1,2$  TDSF), waren jedoch signifikant höher als in der Expositionsgruppe mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ( $0,6 \pm 0,3$  TDSF) und  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ( $0,3 \pm 0,5$  TDSF), ( $P \leq 0,001$ ). In der Versuchskreislaufanlage mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  wurden nach einer Woche  $71,4\%$  weniger TDSF ermittelt. Der höchste prozentuale TDSF Rückgang von  $-83,8\%$  fand jedoch in der Versuchskreislaufanlage mit  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  statt.

Nach weiteren 14 Tagen (Versuchstag 21) erfolgte die Beendigung des Versuches. In der Kontrollgruppe wurden  $2,04 \pm 1,7$  TDSF ermittelt. Dieser Wert ist signifikant höher als die Werte der Fische in  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ( $0,02 \pm 0,05$  TDSF) und  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ( $0$  TDSF) ( $P \leq 0,001$ ). Während sich in der Kontrolle ohne NaCl-Zugaben die Dichte der Trichodinidae im letzten Versuchsabschnitt zwar um durchschnittlich  $23,6\%$  verringerte, wurden bei den mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  exponierten Fische ein Rückgang um  $96,9\%$  und bei den mit  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  exponierten Zandern ein Rückgang um  $100\%$  festgestellt.

Unter Berücksichtigung der vollständigen Versuchsdauer (Tag 0 bis 21) erfolgte ein prozentualer Rückgang der TDSF um  $28,6\%$  in der Kontrollgruppe ( $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ), um  $99,1\%$  in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Behandlung und um  $100\%$  in der  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Behandlung. Trotz des Rückganges der TDSF um  $28,6\%$  in der *Negativkontrolle* ( $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) bestand kein signifikanter Unterschied der TDSF an den Tagen 0, 7 und 21 in dieser Gruppe ( $P = 0,368$ ).

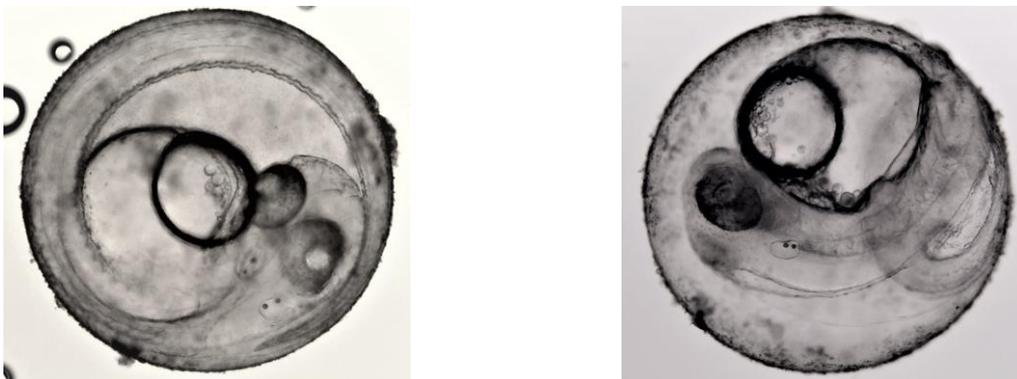
## 4.3 AP3

### 4.3.1 Zanderembryonen im Ei

Der Fischeitest in Anlehnung an DIN EN ISO 15088 (2009) wurde für eine Dauer von insgesamt vier Tagen bzw. 96 h (~ 60 d°) durchgeführt. Die nicht für den Versuch herangezogenen Eier in den Erbrütungseinheiten fingen zeitgleich mit dem Schlupf an.

Die Gültigkeitskriterien des genormten Fischeitests wurden erfüllt (90 % Überlebensrate in der Kontrolle; > 10 % der Positivkontrolle zeigten eine Wirkung (Daten nicht dargestellt)), mit Ausnahme des pH-Wertes des Verdünnungswassers. Da die Kreislaufanlage der Elterntiere mit einem pH-Wert von 8,2 gefahren wurde, wurde das Verdünnungswasser bei einem mittleren pH-Wert von 7,7 belassen.

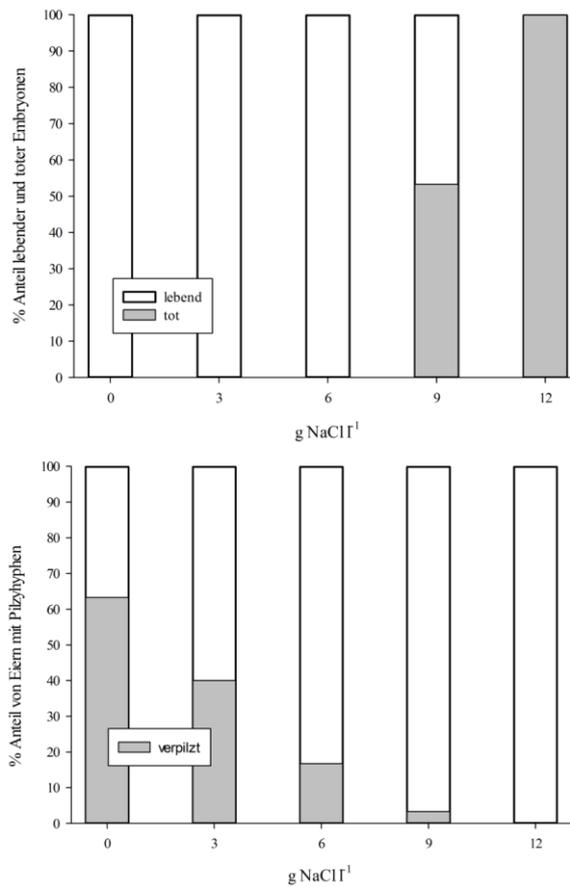
Abbildung 4.26. veranschaulicht beispielhaft die Entwicklung eines Embryos in der Kontrollgruppe (0 g NaCl l<sup>-1</sup>; links) und die eines Embryos in 12 g NaCl l<sup>-1</sup> (rechts). Während die Embryonen in der Kontrollgruppe (sowie in den Expositionen mit 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup>) das Ei vollständig ausfüllten, war dies in der Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> (und auch 9 g NaCl l<sup>-1</sup>) nicht der Fall. Vielmehr wirkten diese Embryonen kleiner und gedrungener in ihrem Erscheinen.



**Abbildung 4.26. Zanderembryonen am Tag der Versuchsauflösung: Kontrolle (0 g NaCl l<sup>-1</sup>, links) und Expositionsgruppe mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> (rechts).**

Die dokumentierten Beobachtungen der embryonalen Entwicklung (vital vs. letal) sowie der Bildung von Pilzhypen auf der Eioberfläche sind für den Zeitpunkt der Versuchsauflösung in Abbildung 4.27. dargestellt. Die Embryonen in der Kontrolle (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) und den Salzkonzentrationen 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> wiesen keinerlei Abnormalitäten auf, sondern typische Vitalzeichen und jeweils eine Überlebensrate von 100 %. Die Embryonen in der Expositionsgruppe mit 9 g NaCl l<sup>-1</sup> hatten hingegen eine reduzierte Überlebensrate von 46,7 %. Bei einer Salinität von 12 g NaCl l<sup>-1</sup> betrug die Überlebensrate 0 %. Bei den Salzkonzentrationen 9 und 12 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde während der täglichen Kontrolle bei einer Vielzahl der Embryonen ein unkontrolliertes Zittern beobachtet.

Während mit zunehmender Salzkonzentration die Überlebensraten der Embryonen abnahmen, wurde für den prozentualen Anteil von mit Pilzhypen befallenen Eiern hingegen ein gegenläufiger Trend festgestellt. Mit zunehmender NaCl-Konzentration nahm der prozentuale Anteil verpilzter Eier ab (0 g l<sup>-1</sup>: 63,3 %; 3 g l<sup>-1</sup>: 40 %; 6 g l<sup>-1</sup>: 16,7 %; 9 g l<sup>-1</sup>: 3,3 %; 12 g l<sup>-1</sup>: 0 %).



**Abbildung 4.27.** Der prozentuale Anteil lebender und toter Embryonen in Abhängigkeit der Salzkonzentration (oben) sowie der prozentuale Anteil von mit Pilzhypphen bewachsener Eier am letzten Tag des Experimentes (unten). Für jede Konzentration gilt n = 30.

#### 4.3.2 Schwimm- und fressfähige Zanderlarven

Folgende Tabelle 4.18. gibt einen Überblick über die Versuchsvorbereitungen und den Versuchsablauf. Der Versuchstart fand am achten Tag nach dem Schlupf (8 dph) der Larven statt. Bereits vier Tage vor dem Versuchsbeginn wurde die erste Futterraufnahme der Fische beobachtet. Aufgrund der zunehmenden Lichtsensibilität der Zanderlarven (Orientierungslosigkeit bei Lichtexposition) wurde der Versuch am Versuchstag 10 terminiert.

**Tabelle 4.18. Übersicht und Anmerkungen über die Versuchsvorbereitungen und die Versuchsdurchführungen. Graue Schattierung: 10-tägiger Versuchszeitraum.**

Datum	Tag nach Schlupf (dph)	Futtertag	Versuchstag	Phototaxis	Bemerkung
30.09.2018					Ablaichen der Elterntiere
04.10.2018					Schlupfbeginn des Nestes
09.10.- 10.10.2018	-	-		-	24-stündiger Schlupfbatch
10.10.2018	1	-		Positiv	
11.10.2018	2	-		Positiv	
12.10.2018	3	1		Positiv	Start Fütterung
13.10.2018	4	2		Positiv	Start Futteraufnahme (< 10 %) *
14.10.2018	5	3		Positiv	
15.10.2018	6	4		Positiv	
16.10.2018	7	5		Positiv	
17.10.2018	8	6	<b>0</b>	Positiv	<b>Versuchsstart</b> 1. Probenahme 0,8 ± 0,3 mg; 6,1 ± 0,6 mm
18.10.2018	9	7	<b>1</b>	Positiv	
19.10.2018	10	8	<b>2</b>	Positiv	
20.10.2018	11	9	<b>3</b>	Positiv	2. Probenahme (s. u.)
21.10.2018	12	10	<b>4</b>	Positiv	
22.10.2018	13	11	<b>5</b>	Positiv	
23.10.2018	14	12	<b>6</b>	Positiv	
24.10.2018	15	13	<b>7</b>	Positiv	
25.10.2018	16	14	<b>8</b>	Positiv	
26.10.2018	17	15	<b>9</b>		Zunehmende Lichtscheue
27.10.2018	18	16	<b>10</b>		Zunehmende Lichtscheue 3. Probenahme (s. u.)

\*weniger als 10 % der Fische nahmen Futter auf

Die Wasserwerte während des Versuches (s. Tabelle 4.19.) befanden sich in einem für Zander optimalen Bereich. Mit Ausnahme der Leitfähigkeit ( $P \leq 0,001$ ) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Becken bzw. Versuchsgruppen festgestellt werden.

**Tabelle 4.19. Ermittelte Wasserparameter (MW ± SD) der Expositionsgruppen 0, 3, 6, 9 g NaCl l<sup>-1</sup> während des Larvenversuches. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet. Die Versuchsgruppe mit 9 g NaCl l<sup>-1</sup> ist bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt worden.**

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>pH-Wert</b>	7,5 ± 0,1	7,5 ± 0,1	7,5 ± 0,1	7,4 ± 0,1
<b>Temp. (°C)</b>	15,8 ± 0,9	15,8 ± 0,9	15,9 ± 0,9	16,0 ± 0,1
<b>O<sub>2</sub> (mg l<sup>-1</sup>)</b>	10,3 ± 0,2	10,3 ± 0,2	10,3 ± 0,2	10,1 ± 0,2
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,09 ± 0,05	0,08 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,03
<b>LF (µS cm<sup>-1</sup>) *</b>	1 039 ± 149 <sup>a</sup>	6 294 ± 269 <sup>b</sup>	10 874 ± 124 <sup>c</sup>	15 005 ± 49
<b>Trübung (FNU)</b>	12,5 ± 1,2	12,7 ± 0,8	12,3 ± 1,7	13,5
<b>n</b>	8	8	8	1 - 2

\*WTW LF197

Am Start des Versuches wurde ein repräsentativer Anteil an Zanderlarven (n = 40) während des Umsetzens von der Kreislaufanlage in die Versuchsaquarien gewogen (0,8 ± 0,3 mg) und vermessen (6,1 ± 0,6 mm). Die ermittelten Startstückmassen und Körperlängen wurden im Folgenden als Ausgangswerte herangezogen.

Bereits nach einer 24-stündigen Salzexposition mit 9 g l<sup>-1</sup> wurde der Versuch für diese Expositionsgruppe beendet. Die moribunden Fische in allen vier Wiederholungen verhielten sich abnormal (orientierungslos, z. T. zittern, keine Futteraufnahme). Die durchschnittliche indivi-

duelle Stückmasse ( $0,7 \pm 0,3$  mg) der Larven war geringer als am Start, unterschied sich aber nicht signifikant ( $P = 0,269$ ) von der Startstückmasse der repräsentativen Larvenmessung am Vortag. Die Körperlänge der  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  hat sich innerhalb der 24-stündigen Exposition im Vergleich zur repräsentativen Messung des Vortages ebenfalls nicht signifikant verändert ( $6,1 \pm 0,5$  mm;  $P = 0,909$ ).

Eine Übersicht über die Stückmassezuwächse der Zanderlarven während des Versuches ist in folgender Abbildung 4.28. dargestellt. Während der ersten drei Versuchstage verdoppelten sich die durchschnittlichen Stückmassen der Fische von  $0,8$  mg auf  $1,7$  mg. Ein signifikanter Unterschied der mittleren Stückmassen zwischen den verschiedenen Salinitäten bestand jedoch nicht ( $P = 0,912$ ). Bis zum Versuchsende am Tag 10 haben die Stückmassen der Fische weiter zugenommen und im Mittel zwischen  $3,4$  und  $4,4$  mg erreicht. Die Fische in der  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Gruppe wiesen dabei die höchsten Stückmassen auf, die sich zudem signifikant ( $P = 0,047$ ) von den anderen beiden Versuchsgruppen ( $0$  und  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) unterschieden.

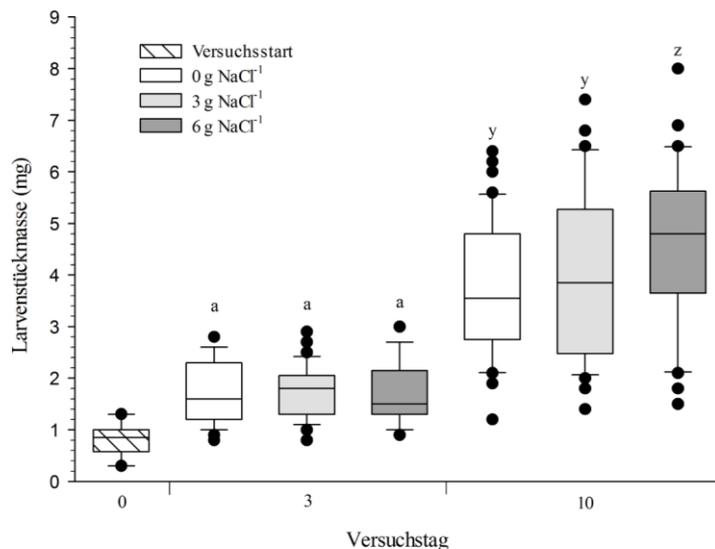


Abbildung 4.28. Stückmasse (mg) der Zanderlarven während des Versuches (0 d:  $n = 40$ ; 3 d:  $0$  und  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  je  $n = 40$ ,  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$   $n = 30$ ; 10 d: je  $n = 40$ ) und in Abhängigkeit der  $\text{NaCl}$ -Konzentration ( $0$ ,  $3$ ,  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) unter Berücksichtigung sämtlicher Ausreißer. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

In der folgenden Tabelle 4.20. sind die Ergebnisse der Längenbestimmung (Totallänge, mm), der spezifischen Wachstumsrate (SGR  $\% \text{ d}^{-1}$ ), des Trockensubstanzgehaltes (%) und der rechnerisch ermittelten Mortalität (%) dargestellt.

Tabelle 4.20. Totallängen, spezifische Wachstumsraten (SGR), Trockenmassen und Mortalität der einzelnen Versuchsgruppen (MW  $\pm$  SD) (3 d:  $0$  und  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  jeweils  $n = 40$ ,  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$   $n = 30$ ; 10 d:  $0$ ,  $3$  und  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$   $n = 40$ ). Es wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

	Tag (d)	$0 \text{ g NaCl l}^{-1}$	$3 \text{ g NaCl l}^{-1}$	$6 \text{ g NaCl l}^{-1}$	$9 \text{ g NaCl l}^{-1}$
Totallänge (mm)	0	$6,1 \pm 0,6$			
	1	-	-	-	$6,1 \pm 0,5$
	3	$7,1 \pm 0,7$	$7,1 \pm 0,7$	$7,3 \pm 0,7$	-
	10	$8,7 \pm 0,8$	$8,9 \pm 1,1$	$9,0 \pm 0,9$	-
SGR ( $\% \text{ d}^{-1}$ )	3	$25,9 \pm 5,7$	$26,0 \pm 2,5$	$25,1 \pm 2,2$	-
	10	$14,7 \pm 0,8$	$16,1 \pm 2,2$	$17,6 \pm 1,2$	-
Trockenmasse (%)	3	$13,6 \pm 2,3$	$14,5 \pm 1,2$	$14,1 \pm 3,2$	-
	10	$15,7 \pm 0,9$	$16,5 \pm 1,2$	$17,5 \pm 0,8$	-
Mortalität (%)	10	$41 \pm 4$	$49 \pm 19$	$42 \pm 10$	-

Die durchschnittlichen Totallängen der Zander am dritten Tag des Versuches schwankte zwischen  $7,1$  und  $7,3$  mm, unterschieden sich jedoch nicht signifikant voneinander

( $P = 0,634$ ). Die spezifischen Wachstumsraten beliefen sich auf 25,1 bis 26,0 %<sup>d</sup>, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen auftraten ( $P = 0,909$ ). Der ermittelte Trockensubstanzgehalt der Zanderlarven variierte zwischen 13,3 und 15,4 % und nahm tendenziell mit zunehmender Salinität zu, jedoch waren die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen nicht signifikant ( $P = 0,870$ ).

Bis zum Ende des Versuches hat die durchschnittliche Körperlänge der Fische auf bis zu 9 mm zugenommen (6 g NaCl l<sup>-1</sup>). Die Fische in der 6 g NaCl l<sup>-1</sup> Exposition wiesen, neben der höchsten Stückmasse, auch das höchste Längenwachstum auf. Mit zunehmender Salinität nahm die mittlere Totallänge der Fische zu. Signifikante Unterschiede traten dabei nicht auf ( $P = 0,100$ ).

Die spezifischen Wachstumsraten (SGR) schwankten zwischen 14,7 und 17,6 % d<sup>-1</sup> und unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $P = 0,113$ ). Das höchste spezifische Wachstum wurde in den Versuchsgruppen mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> festgestellt. Die Tendenz zu höheren Trockenmassegehalten mit steigenden Umweltsalinitäten wurde auch am Versuchsende beobachtet. Signifikante Unterschiede der Trockenmasse lagen nicht vor ( $P = 0,112$ ). Die rechnerisch ermittelten Mortalitäten der Versuchsgruppen betragen zwischen 41 und 49 % und unterschieden sich ebenfalls nicht signifikant voneinander ( $P = 0,552$ ).

#### 4.3.3 Trockenfutteradaptierte Jungzander

Die ermittelten Wasserparameter befanden sich während des 20-tägigen Versuches (Tabelle 4.21.) in einem für Zander unbedenklichen Bereich. Mit Ausnahme der Leitfähigkeit LF ( $P \leq 0,001$ ) konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Becken bzw. Versuchsgruppen festgestellt werden.

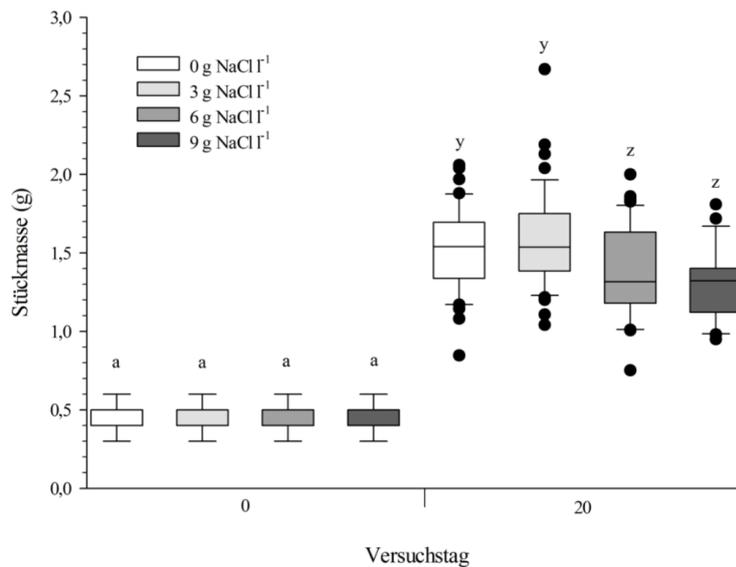
**Tabelle 4.21. Wasserparameter der 16 Aquarien (MW  $\pm$  SD) der Expositionsgruppen 0, 3, 6, 9 g NaCl l<sup>-1</sup> während des Versuches. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet. Für NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N gilt n = 12; ansonsten gilt n = 19.**

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>pH-Wert</b>	7,1 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,1	7,1 $\pm$ 0,1
<b>Temp. (°C)</b>	17,8 $\pm$ 0,7	17,8 $\pm$ 0,8	17,8 $\pm$ 0,7	17,7 $\pm$ 0,8
<b>O<sub>2</sub> (mg l<sup>-1</sup>)</b>	9,4 $\pm$ 0,2	9,3 $\pm$ 0,2	9,3 $\pm$ 0,2	9,4 $\pm$ 0,2
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N (mg l<sup>-1</sup>)</b>	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1	0,6 $\pm$ 0,1
<b>LF (<math>\mu</math>S cm<sup>-1</sup>) *</b>	468 $\pm$ 10 <sup>a</sup>	5 054 $\pm$ 112 <sup>b</sup>	9 314 $\pm$ 173 <sup>c</sup>	13 216 $\pm$ 289 <sup>d</sup>
<b>Trübung (FNU)</b>	4,5 $\pm$ 0,6	4,4 $\pm$ 0,9	4,5 $\pm$ 0,7	4,8 $\pm$ 0,7

\*HACH HQ 40d multi

Am Start des Versuches wurden die Tiere einzeln gewogen und in die Haltungseinrichtungen überführt (Startstückmasse: 0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 0,45  $\pm$  0,12; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 0,46  $\pm$  0,10; 6 g NaCl l<sup>-1</sup>: 0,47  $\pm$  0,11; 9 g NaCl l<sup>-1</sup>: 0,46  $\pm$  0,11). Zwischen den Startstückmassen der einzelnen Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede ( $P = 0,780$ ).

Bis zum Versuchsende am Tag 20 hat die Stückmasse der Fische zugenommen und sich im Mittel etwa verdreifacht (Endstückmasse: 0 g NaCl l<sup>-1</sup>: 1,53  $\pm$  0,27; 3 g NaCl l<sup>-1</sup>: 1,58  $\pm$  0,31; 6 g NaCl l<sup>-1</sup>: 1,38  $\pm$  0,29; 9 g NaCl l<sup>-1</sup>: 1,31  $\pm$  0,22; vgl. Abbildung 4.29.). Die Fische in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe wiesen die höchsten mittleren Endstückmassen auf, die sich zudem signifikant ( $P \leq 0,001$ ) von zwei Versuchsgruppen (6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup>) unterschieden, nicht jedoch von der Kontrollgruppe (0 g NaCl l<sup>-1</sup>).



**Abbildung 4.29.** Stückmasse (g) der trockenfutteradaptierten Zander bei Versuchsstart (0 d; jeweils n = 60) und Versuchsende (20 d: 0 g NaCl l<sup>-1</sup>: n = 41; 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup>: n = 44; 9 g NaCl l<sup>-1</sup>: n = 28) unter Berücksichtigung sämtlicher Ausreißer. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

Die folgende Tabelle 4.22. fasst verschiedene Parameter zusammen, die bei Versuchsstart und -auflösung erhoben worden sind. Von einem repräsentativen Anteil der Jungzander, die jedoch nicht in die Versuchsaquarien überführt wurden, wurden am Tag des Versuchsstarts zunächst die Körperlängen ( $40,5 \text{ mm} \pm 2,3$ ; n = 30) und die individuellen Trockenmassen ( $18,3 \% \pm 0,8$ ; n = 8) bestimmt.

**Tabelle 4.22.** Totallängen, Futterquotienten (FQ), spezifische Wachstumsraten (SGR), Konditionsfaktoren (Kf), Trockenmassen und Mortalitäten der trockenfutteradaptierten Jungzander (MW  $\pm$  SD). Signifikante Unterschiede (P = 0,05) sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

	Tag (d)	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	6 g NaCl l <sup>-1</sup>	9 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Totallänge (mm)</b>	<b>0</b>	$40,5 \pm 2,3$			
	<b>20</b>	$56,6 \pm 3,9^{ab}$	$58,2 \pm 4,9^a$	$55,9 \pm 5,1^{ab}$	$55,1 \pm 5,3^b$
<b>FQ (kg Futter/kg Zuwachs)</b>	<b>20</b>	$0,90 \pm 0,03^a$	$0,88 \pm 0,11^a$	$1,08 \pm 0,12^a$	$1,18 \pm 0,20^b$
<b>SGR (% d<sup>-1</sup>)</b>	<b>20</b>	$5,6 \pm 0,2^a$	$5,6 \pm 0,4^a$	$4,9 \pm 0,4^b$	$4,8 \pm 0,2^b$
<b>Kf (g cm<sup>-3</sup>)</b>	<b>0</b>	$0,68 \pm 0,05$			
	<b>20</b>	$0,83 \pm 0,12$	$0,81 \pm 0,13$	$0,79 \pm 0,08$	$0,79 \pm 0,12$
<b>Trockenmasse(%)</b>	<b>0</b>	$18,3 \pm 0,8$			
	<b>20</b>	$21,2 \pm 0,6$	$21,2 \pm 0,6$	$21,0 \pm 0,6$	$20,7 \pm 0,7$
<b>Mortalität (%)</b>	<b>20</b>	$8,3 \pm 8,7^a$	$0 \pm 0^b$	$0 \pm 0^b$	$21,7 \pm 10,9^a$

Am Versuchsende bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Körperlängen der Versuchsfische in den verschiedenen Versuchsgruppen (P = 0,046). Die Zander in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe wiesen dabei die höchsten durchschnittlichen Körperlängen auf, gefolgt von der Kontrollgruppe sowie den mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Tieren. Im direkten Vergleich waren die Fische der 9 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe signifikant kleiner als die der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe.

Der Futterquotient (FQ; kg Futter / kg Zuwachs) der Zander unterschied sich signifikant voneinander (P = 0,016). Die Futterverwertung der Fische in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Versuchsgruppe war am besten, unterschied sich aber nicht signifikant von der Kontrolle und der 6 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe. Lediglich Versuchsfische in 9 g NaCl l<sup>-1</sup> hatten eine signifikant schlechtere Futterverwertung.

Die spezifischen Wachstumsraten (SGR) der Fische schwankten im Mittel zwischen 5,6 und 4,8 % d<sup>-1</sup>. Die Kontrollgruppe und die 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe erreichten mit durchschnittlich 5,6 % d<sup>-1</sup> die höchsten spezifischen Wachstumsraten. Ein weiterer Anstieg der Salinität re-

sultierte in abnehmenden spezifischen Wachstumsraten. Es bestanden signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ( $P = 0,003$ ).

Der Konditionsfaktor der Zander nahm während des Versuches zu und schwankte in Abhängigkeit der Salinität zwischen  $0,83$  und  $0,79 \text{ g cm}^{-3}$ . Signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen gab es nicht ( $P = 0,168$ ).

Die durchschnittliche prozentuale Trockenmasse (TM) der Zander nahm während des Versuches um etwa  $2 - 3 \%$  zu und schwankte am Versuchsende zwischen  $21,2$  und  $20,7 \%$ . Während die Kontrolle und die  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Gruppe identische Durchschnittswerte erreichten, nahm bei weiter steigenden Salinitäten die Trockenmasse der Fische ab. Signifikante Unterschiede waren jedoch nicht vorhanden ( $P = 0,198$ ).

Zwischen den Versuchsgruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Sterblichkeit ( $P = 0,014$ ). Die Mortalität in der Kontrollgruppe betrug durchschnittlich  $8,3 \%$ . In den Versuchsgruppen  $3$  und  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  traten keine Mortalitäten auf. Die Versuchsgruppen mit der höchsten Salzkonzentration ( $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) wiesen auch die höchsten durchschnittlichen Mortalitäten auf ( $21,7 \%$ ). Bei den täglichen Wasserwechseln sowie der Beprobung am Tag  $20$  kam es vor, dass Fische der  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Gruppen innerhalb weniger Sekunden starben.

#### 4.3.4 Zandersetzlinge

Die Wasserwerte während und zwischen den Versuchen unterschieden sich, mit Ausnahme der Leitfähigkeit, nicht signifikant voneinander (Daten nicht dargestellt). Weder die spezifischen Wachstumsraten noch die Futterverwertung während der vier konsekutiven Versuchsansätze ließen eindeutige Rückschlüsse auf die Performance der Zander zu (Tabelle 4.23.). In dem Versuchsansatz mit  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  wuchs die Kontrollgruppe auf einem sehr ähnlichen Niveau.

**Tabelle 4.23. Übersicht über die mittleren Startstückmassen und Wachstumsleistungen von Zandern mit verschiedenen Salinitäten ( $0, 3$  und  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ).**

	<b>0 g NaCl l<sup>-1</sup></b>	<b>3 g NaCl l<sup>-1</sup></b>	<b>6 g NaCl l<sup>-1</sup></b>
<b>Mittlere Startstückmassen (g)</b>	98,7 – 128,9	105,7 / 120,8	95,7 / 111,8
<b>SGR (% d<sup>-1</sup>)</b>	0,82 – 0,91	0,78 / 0,85	0,89 / 1,01
<b>FQ (kg Futter / kg Zuwachs)</b>	0,86 – 1,40	1,18 / 1,38	0,83 / 1,01
<b>n</b>	4	2	2

/ = Ergebnis 1. Versuch / Ergebnis 2. Versuch

– = von bis

#### 4.4 AP4

Nach insgesamt 252 Versuchstagen wurde die Langzeitapplikation von Kochsalz (NaCl) in Kreislaufanlagen mit Zanderbesatz unter praxisnahen Bedingungen beendet. Im Folgenden werden die Ergebnisse dieses Versuches dargestellt.

##### 4.4.1 Wasserparameter

Tabelle 4.24. fasst die während des Versuches erhobenen Wasserparameter zusammen. Der pH-Wert des Wassers beider Anlagen war während des Versuches im Mittel identisch ( $7,0 \pm 0,2$ ) und es gab keine signifikanten Unterschiede ( $P = 0,877$ ). Die mittlere Wassertemperatur der beiden Versuchsanlagen unterschied sich im Mittel um  $0,08^\circ\text{C}$  und war signifikant ( $P \leq 0,001$ ) verschieden. Die Anlage mit  $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$  war dabei die Anlage mit der geringeren Wassertemperatur. Die mittleren Sauerstoffkonzentrationen in den Ablaufrinnen beider Anlagen unterschieden sich nicht signifikant voneinander ( $P = 0,097$ ). Das Säurebindungsvermögen des Wassers der beiden Anlagen unterschied sich jedoch signifikant voneinander ( $P = 0,001$ ), wobei die Anlage ohne NaCl-Applikation ein geringeres SBV aufwies als die Anlage mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$ .

Tabelle 4.24. Wasserparameter (MW  $\pm$  SD) der Kreislaufanlagen mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> während des Versuches. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
pH-Wert *	7,0 $\pm$ 0,2	7,0 $\pm$ 0,2
Temp. (°C) *	23,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	23,2 $\pm$ 0,4 <sup>b</sup>
O <sub>2</sub> (mg l <sup>-1</sup> ) *	8,3 $\pm$ 0,6	8,5 $\pm$ 1,0
SBV (mval l <sup>-1</sup> )	0,8 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,3 <sup>b</sup>
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg l <sup>-1</sup> )	0,5 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,1 <sup>b</sup>
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N (mg l <sup>-1</sup> )	0,1 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N (mg l <sup>-1</sup> )	19 $\pm$ 6	19 $\pm$ 7
LF (μS cm <sup>-1</sup> )	767 $\pm$ 226 <sup>a</sup>	5 524 $\pm$ 405 <sup>b</sup>
Trübung (FNU)	2,4 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup>	3,7 $\pm$ 1,9 <sup>b</sup>
BactiQuant-Wert**	35 528 $\pm$ 23 461	44 023 $\pm$ 25 067
n	39	39

\*n = 252 (Tagesmittelwerte); \*\*n = 10

Von den drei Stickstofffraktionen (Ammonium-Stickstoff NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, Nitrit-Stickstoff NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N und Nitrat-Stickstoff NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N) unterschieden sich zwei signifikant voneinander. Zum einen war die NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N-Konzentration in der 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage <sup>1</sup> signifikant höher ( $P = 0,005$ ) als die NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N-Konzentration in der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup>. Zum anderen war ebenso die NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N-Konzentration in der 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage signifikant höher ( $P = 0,001$ ) als die NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N-Konzentration in der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup>. Für die NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N-Konzentrationen konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede gefunden werden ( $P = 0,912$ ). Die ermittelten Leitfähigkeiten unterschieden sich ( $P = 0,001$ ), ebenso wie die Trübung ( $P = 0,001$ ) in den beiden Anlagen signifikant voneinander. Die BactiQuant-Werte schwankten innerhalb der Anlagen deutlich, was an der Standardabweichung deutlich wird. Die Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> wies die höheren BactiQuant-Werte auf. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Anlagen konnten jedoch nicht gefunden werden.

Ein weiterer, in den beiden Anlagen zu berücksichtigender Parameter ist der Fischwassereinsatz pro Kilogramm verabreichtem Alleinfuttermittel (l Wasser / kg Futter). Für den Versuchszeitraum wurden in der 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage 416 l / kg Futter ausgetauscht. In der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> war diese Austauschrate mit 412 l / kg Futter etwas geringer. Dies entspricht einem um 0,9 % höheren Wasserwechsel pro Kilogramm verabreichtem Futter bzw. einem um 0,7 % höheren Gesamtwasserwechsel in der Anlage mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup>.

Insgesamt wurden während des Versuches 234 kg NaCl für die Aufrechterhaltung einer Zielkonzentration von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> in die entsprechende Kreislaufanlage appliziert. Dem gegenüber steht die einmalige NaCl Anwendung von 14 kg in der 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage zum Start des

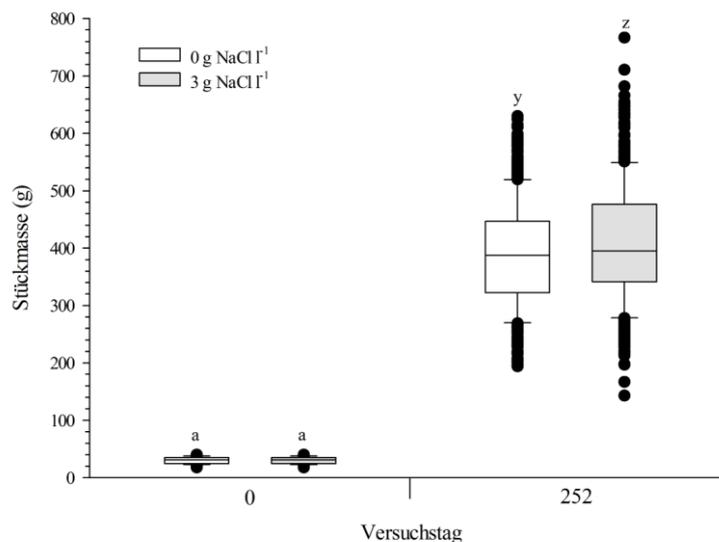
Versuches, um Handlingverluste und etwaige Verpilzungen der Fische vorzubeugen (ZIENERT, pers. Mitt.).

#### 4.4.2 Wachstum und Entwicklung der Zander

Die im Anschluss an den Besatz der Anlagen (Gruppenwägung und Einzählen der Zander) durch Einzelfischwägungen ermittelten Startstückmassen einer repräsentativen Anzahl von Tieren ( $n = 60$ ) betragen in der Anlage mit  $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$   $30 \pm 5 \text{ g}$  bzw.  $30 \pm 6 \text{ g}$  in der Anlage mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.30.). Trotz der höheren Standardabweichung in dem  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Kreislauf bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Startstückmassen ( $P = 0,986$ ). Die Differenzen zwischen  $30$  bzw.  $30,8 \text{ g}$  in der  $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Kreislaufanlage und den  $30$  bzw.  $29,9 \text{ g}$  (vgl. Tabelle 4.25.) sind auf die unterschiedlichen Methoden der Einzel- bzw. Gruppenwägungen zurückzuführen.

Nach 252 Versuchstagen erfolgte die Abfischung und Vermessung der Zander aus den beiden Versuchsanlagen. In der Anlage ohne  $\text{NaCl}$  Applikationen wurden  $180\,513 \text{ g}$  und in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage  $188\,411 \text{ g}$  Zanderbiomasse abgefischt (Tabelle 4.26.). Bezogen auf die Gesamtfischmasse ist dies äquivalent mit einem Wachstumsvorsprung von  $4,4 \%$  in der mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  aufgesalzenen Anlage.

Die Endstückmasse der Zander in der  $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage betrug im Mittel  $389 \pm 91 \text{ g}$  ( $n = 464$ ) und in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage  $410 \pm 104 \text{ g}$  ( $n = 460$ ). Die mittleren Stückmassen der bei  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  gehaltenen Zander waren im Vergleich signifikant höher ( $P = 0,005$ ; vgl. Abbildung 4.30.). Auf Basis der mittleren Endstückmasse bestand ein Wachstumsvorsprung von durchschnittlich  $5,4 \%$  pro Einzelfisch in der Anlage mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$ .



**Abbildung 4.30. Stückmasse (g) der Zander bei Versuchsstart (0 d,  $n = 60$  pro Salinität) und Versuchsende (252 d:  $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$ :  $n = 464$ ;  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$ :  $n = 460$ ), unter Berücksichtigung sämtlicher Ausreißer. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen zum Zeitpunkt der jeweiligen Probenahme sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.**

Eine vollständige Übersicht über die einzelnen Versuchsabschnitte, verwendeten Haltungseinrichtungen, den Start- und Endstückmassen, dem Zuwachs, den spezifischen Wachstumsraten (SGR), den Futterquotienten (FQ), den Besatzdichten und den Überlebensraten sind in folgender Tabelle 4.25. zusammenfassend dargestellt.

**Tabelle 4.25. Übersicht über die Wachstumsleistung, Besatzdichten und Überlebensraten von Zandern in zwei Kreislaufanlagen mit verschiedenen NaCl-Konzentrationen (0 und 3 g l<sup>-1</sup>) während des 252-tägigen Versuches.**

Versuchsgruppe	0 g NaCl l <sup>-1</sup>		3 g NaCl l <sup>-1</sup>	
<b>Anlage</b>	<b>I</b>		<b>II</b>	
Haltungseinheit	B2		B2	
Versuchszeitraum (d)	27		27	
Aug.-Sept. 2018 (28 d)				
Startstückmasse (g)	30,8		29,9	
Endstückmasse (g)	48,5		48,5	
Zuwachs (g)	17,7		18,6	
SGR (% d <sup>-1</sup> )	1,68		1,79	
FQ (kg Futter / kg Zuwachs)	0,99		0,91	
<b>Besatzdichte (kg m<sup>-3</sup>)</b>				
Start	13,0		12,7	
Ende 1. Monat	20,4		20,4	
Überlebensrate (%)	99,5		99,5	
n (Gruppenwägung + Einzählen)	60 (550)		60 (550)	
<hr/>				
Versuchszeitraum (d)	35		35	
Sept.-Okt. 2018 (62 d)				
Startstückmasse (g)	48,5		48,5	
Endstückmasse (g)	99,0		100,2	
Zuwachs (g)	50,5		51,7	
SGR (% d <sup>-1</sup> )	2,04		2,07	
FQ (kg Futter / kg Zuwachs)	0,84		0,82	
Endbesatzdichte (kg m <sup>-3</sup> )	40,4		41,4	
Überlebensrate (%)	98,5		99,6	
n (Einzelfischwägung)	60		60	
<hr/>				
Haltungseinheit	B2	B3	B1	B2
Versuchszeitraum (d)	37	37	37	37
Okt.-Nov. 2018 (99 d)				
Startstückmasse (g)	77,1	111,3	115,6	81,7
Endstückmasse (g)	126,8	167,7	167,5	131,3
Zuwachs (g)	49,8	56,3	51,9	49,6
SGR (% d <sup>-1</sup> )	1,35	1,11	1,00	1,28
FQ (kg Futter / kg Zuwachs)	0,97	0,91	1,05	0,96
Endbesatzdichte (kg m <sup>-3</sup> )	20,2	40,4	33,8	26,1
Überlebensrate (%)	100,0	100,0	100,0	98,8
n (Einzelfischwägung)	30	30	30	30

**Tabelle 4.25. Fortsetzung.**

Versuchsgruppe	0 g NaCl l <sup>-1</sup>				3 g NaCl l <sup>-1</sup>			
Anlage	I				II			
Haltungseinheit	B2	B3	B4	B5	B2	B3	B5	B6
Versuchszeitraum (d)								
Dez. 2018.-Jan. 2019 (163 d)	36	36	36	36	36	36	36	36
Startstückmasse (g)	168,8	160,0	212,0	211,2	166,3	164,7	215,1	221,5
Endstückmasse (g)	228,7	215,0	279,7	270,4	225,6	232,7	295,2	302,1
Zuwachs (g)	60,0	55,0	67,7	59,2	59,3	68,0	80,2	80,6
SGR (% d <sup>-1</sup> )	0,87	0,84	0,79	0,71	0,87	0,99	0,91	0,89
FQ (kg Futter / kg Zuwachs)	1,17	1,12	1,13	1,24	1,07	0,93	0,97	0,99
Endbesatzdichte (kg m <sup>-3</sup> )	16,7	18,2	31,4	31,6	21,3	23,8	28,6	28,1
Überlebensrate (%)	99,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
n (Einzelfischwägung)	20	20	20	20	20	20	20	20
Haltungseinheit	B1	B2	B4	B5	B1	B2	B5	B6
Versuchszeitraum (d)								
Jan.-Feb. 2019 (195 d)	32	32	32	32	32	32	32	32
Startstückmasse (g)	199,7	281,3	279,5	282,2	270,8	196,7	311,9	312,4
Endstückmasse (g)	229,1	366,7	342,2	357,9	313,7	243,1	380,6	380,3
Zuwachs (g)	29,3	85,3	62,6	75,7	42,9	46,4	68,7	67,9
SGR (% d <sup>-1</sup> )	0,44	0,85	0,65	0,77	0,47	0,68	0,64	0,63
FQ (kg Futter / kg Zuwachs)	1,77	0,91	1,23	1,03	1,73	1,10	1,25	1,28
Endbesatzdichte (kg m <sup>-3</sup> )	30,5	27,9	27,6	28,6	29,9	29,9	28,4	28,1
Überlebensrate (%)	97,7	100,0	100,0	100,0	99,2	97,0	100,0	100,0
n (Einzelfischwägung)	20	20	20	20	20	20	20	20
Versuchszeitraum (d)								
Feb.-Mrz. 2019 (223 d)	28	28	28	28	28	28	28	28
Startstückmasse (g)	229,1	366,7	342,2	357,9	313,7	243,1	380,6	380,3
Endstückmasse (g)	277,9	404,7	375,4	390,4	366,8	283,4	444,6	450,1
Zuwachs (g)	48,8	38,0	33,2	32,5	53,1	40,3	64,0	69,8
SGR (% d <sup>-1</sup> )	0,69	0,35	0,33	0,31	0,56	0,55	0,56	0,60
FQ (kg Futter / kg Zuwachs)	0,83	1,50	1,71	1,65	1,05	0,97	0,99	0,87
Endbesatzdichte (kg m <sup>-3</sup> )	36,5	30,8	30,3	31,2	34,7	34,9	33,1	33,2
Überlebensrate (%)	98,8	100,0	100,0	100,0	99,2	100,0	100,0	100,0
n (Einzelfischwägung)	20	20	20	20	20	20	20	20
Versuchszeitraum (d)								
Mrz.-Apr. 2019 (252 d)	29	29	29	29	29	29	29	29
Startstückmasse (g)	277,9	404,7	375,4	390,4	366,8	283,4	444,6	450,1
Endstückmasse (g)	303,5	434,5	440,2	438,8	411,4	315,7	486,3	501,5
Zuwachs (g)	25,6	29,8	64,8	48,4	44,6	32,3	41,7	51,4
SGR (% d <sup>-1</sup> )	0,30	0,24	0,55	0,40	0,40	0,37	0,31	0,37
FQ (kg Futter / kg Zuwachs)	1,85	2,30	1,04	1,31	1,47	1,45	1,81	1,54
Endbesatzdichte (kg m <sup>-3</sup> )	39,9	33,4	32,8	32,7	38,9	38,9	36,3	30,9
Überlebensrate (%)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
n (Einzelfischwägung)	170	100	97	97	123	160	97	80

Das Wachstum der Zander während des Versuches wurde über die Verabreichung von Al-leinfuttermitteln sichergestellt. Insgesamt erfolgten ein Gesamtfuttermitelein-satz von 199 029 g in der Anlage mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> und ein Einsatz von 199 467 g in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage (Tabelle 4.26.). Dies entspricht einer um 0,2 % höheren Futtergabe in der mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> aufgesalzene Kreislauanlage.

**Tabelle 4.26. Zusammenfassung der wesentlichen Parameter der Fischperformance während des Versuches (Start- und Endbiomassen, Futtermitteleinsatz, Futterverwertung (FQ), spezifische Wachstumsraten (SGR), Besatzdichten (MW ± SD) sowie Überlebensraten.**

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Biomasse (g)</b>		
Start	19 940	19 445
Ende	180 513	188 411
<b>Futtermitteleinsatz (g)</b>	199 029	199 467
<b>FQ</b> (kg Futter / kg Zuwachs)	1,08	1,02
<b>SGR (% d<sup>-1</sup>)</b>	1,01	1,04
<b>Startbesatzdichte (kg m<sup>-3</sup>)</b>	13,0	12,7
<b>Endbesatzdichte (kg m<sup>-3</sup>) *</b>	34,7 ± 2,9	36,3 ± 3,3
<b>Überlebensrate (%)</b>	96,7	97,3

\*n = 4

Resultierend aus den Futtermitteleinsätzen sowie den Abfischungsmassen (unter Berücksichtigung der Startmasse, etwaiger Entnahmen und Verluste), wurde für die 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage ein geringfügig höherer Futterquotient ermittelt. Die Zander in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlagen wiesen folglich eine verbesserte Futterverwertung auf.

Dies wird ebenso bei den spezifischen Wachstumsraten (SGR) sichtbar. Die Zander in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlagen wiesen eine um 0,03 % verbesserte spezifische Wachstumsrate auf.

Die Besatzdichten erhöhten sich während des Versuches aufgrund des somatischen Wachstums der Tiere. Die Besatzdichten am Versuchsstart von rund 13 kg/m<sup>3</sup> erhöhten sich bis zum Versuchsende auf bis zu 39,7 kg/m<sup>3</sup>. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Endbesatzdichten der Anlagen bei der Versuchsauflösung (P = 0,551). Die maximalen Besatzdichten von bis zu 41,4 kg m<sup>-3</sup> wurden bereits am Ende des 2. Monats, vor dem Breitsetzen der Fische in verschiedene Haltungseinrichtungen, erreicht. Die Überlebensraten während des Versuches waren nahezu identisch.

#### 4.4.3 Gesundheitsindikatoren der Zander

Die erhobenen Gesundheitsindikatoren sind in Tabelle 4.27. dargestellt. Die Konditionsfaktoren beider Expositionsgruppen unterschieden sich geringfügig aber statistisch signifikant voneinander (P = 0,002). Die Lebermasse der Zander aus dem Kreislauf mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> war signifikant geringer als die Lebermasse der Fische aus dem 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislauf (P ≤ 0,001). Auch der hepatosomatische Index (± SD) der beiden Gruppen unterschied sich signifikant voneinander (P = 0,001). Für die Leberhelligkeit L\*, die Leberfarben a\* und b\* bestanden jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (P = 0,617; P = 0,680; P = 0,746).

Die Milzmasse der Zander in der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> war höher als die der Kontrollfische (P = 0,605). Signifikante Unterschiede hinsichtlich des splenosomatischen Indexes (SSI) konnten jedoch nicht festgestellt werden (P = 0,978).

Der mittlere Hämatokritwert der Zander variierte zwischen 31 und 32 %, ohne dass signifikanten Unterschiede vorlagen (P = 0,697).

Tabelle 4.27. Gesundheitsindikatoren (MW  $\pm$  SD) von Zandern aus Kreislaufanlagen mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup>. Je NaCl-Konzentration gilt n = 24 (#: n = 8). Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Konditionsfaktor (g cm<sup>-3</sup>)</b>	0,91 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,86 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
<b>Leber (g)</b>	3,4 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	4,4 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>
<b>HSI (%)</b>	0,8 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	1,0 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>
<b>Leberhelligkeit L*</b>	43,4 $\pm$ 8,2	44,5 $\pm$ 6,5
<b>Leberfarbe a*</b>	15,8 $\pm$ 4,1	15,4 $\pm$ 3,3
<b>Leberfarbe b*</b>	9,8 $\pm$ 4,8	10,3 $\pm$ 3,7
<b>Milz (g) #</b>	0,39 $\pm$ 0,2	0,45 $\pm$ 0,2
<b>SSI (%) #</b>	0,09 $\pm$ 0,04	0,09 $\pm$ 0,04
<b>Hämatokritwert (%) #</b>	31 $\pm$ 5	32 $\pm$ 4

HSI = Hepatosomatischer Index; SSI = Splenosomatischer Index

#### 4.4.4 Ermittelte Schlachtparameter der Zander

Die Ergebnisse der Wassergehalts- und Bruttoenergiebestimmungen sind in Tabelle 4.28. dargestellt. Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen.

Tabelle 4.28. Wassergehalt und Bruttoenergie (MW  $\pm$  SD) von Zandern in 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> nach 252 Versuchstagen. Dreifachbestimmungen von Einzelfischen (n = 12). Es bestanden keine signifikanten Unterschiede.

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Wassergehalt (%)</b>	67,7 $\pm$ 1,5	68,1 $\pm$ 0,8
<b>Bruttoenergie (MJ kg<sup>-1</sup>)</b>	8,7 $\pm$ 0,7	8,5 $\pm$ 0,3

Im Anschluss an die Einzelfischwägungen wurden die Fische für weitere zwei Tage in der jeweiligen Kreislaufanlage gehalten (insgesamt vier futterfreie Tage). Hiernach wurden aus beiden Anlagen jeweils zufällig 24 Fische für eine Schlachtkörperanalyse entnommen. Einen Überblick über die gewonnenen Daten (Mittelwerte  $\pm$  SD) ist in Tabelle 4.29. zu finden.

Die mittlere Stückmasse der Zander in dem Kreislauf mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> war 18 g geringer als die Stückmasse der Zander aus der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup>. Im Gegensatz zur vollständigen Einzelfischwägung konnten bei dieser stichprobenartigen Entnahme keine signifikanten Unterschiede gefunden werden (P = 0,409), wohl aber ein Trend zu höheren Standardabweichungen in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe. Die Totallänge der Zander in 0 g NaCl l<sup>-1</sup> war signifikant geringer als die Totallänge der Fische in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> (P = 0,037).

Bei der Filetmasse mit Haut, der Filetmasse ohne Haut und dem Filetanteil auf Basis der Filetmasse ohne Haut, bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (P = 0,420; P = 0,510; P = 0,238). Auch für die Filethelligkeit L\*, die Filetfarbe a\* und die Filetfarbe b\* bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen (P = 0,408; P = 0,725; P = 0,924).

Tabelle 4.29. Schlachtparameter (MW  $\pm$  SD) von Zandern aus Kreislaufanlagen mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup>. Je NaCl-Konzentration gilt n=24. Signifikante Unterschiede sind mit einem Buchstaben gekennzeichnet.

	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Stückmasse (g)</b>	442 $\pm$ 69	460 $\pm$ 81
<b>Totallänge SD (cm)</b>	36,4 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup>	37,5 $\pm$ 2,0 <sup>b</sup>
<b>Filet m.H. (g)</b>	226 $\pm$ 35	235 $\pm$ 42
<b>Filet o.H. (g)</b>	192 $\pm$ 29	198 $\pm$ 36
<b>Filetanteil (%) #</b>	43,4 $\pm$ 1,3	43,0 $\pm$ 1,1
<b>Filethelligkeit L*</b>	38,2 $\pm$ 2,0	38,7 $\pm$ 2,1
<b>Filetfarbe a*</b>	2,8 $\pm$ 1,5	2,7 $\pm$ 1,1
<b>Filetfarbe b*</b>	- 1,6 $\pm$ 0,5	- 1,6 $\pm$ 0,8
<b>VSF (g)</b>	17,5 $\pm$ 6,4 <sup>a</sup>	13,8 $\pm$ 5,4 <sup>b</sup>
<b>VSFI (%)</b>	3,9 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	2,9 $\pm$ 0,8 <sup>b</sup>

m.H.= mit Haut; o.H.= ohne Haut; VSF(l)= Visceralfett(index); # Basis: Filet o.H.

Die Visceralfettmasse der beiden Versuchsgruppen unterschied sich signifikant voneinander (P = 0,034), wobei die mittlere Visceralfettmasse der 0 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe um 3,7 g höher war als die Masse der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Fische.

Auch der Visceralfettindex der Fischgruppen unterschied sich signifikant voneinander (P = 0,001). Der mittlere VSFI in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe war um etwa ein Viertel geringer als der der Fische in 0 g NaCl l<sup>-1</sup>.

#### 4.4.5 Sensorische Beurteilung der Zander

Die paarweise Vergleichsprüfung in Anlehnung an DIN EN ISO 5495:2007-10 wurde bei einer Raumtemperatur von 22 °C durchgeführt und die Ergebnisse sind in Tabelle 4.30. dargestellt. In vier Durchläufen mit jeweils sechs Prüfenden wurde im Hinblick auf die Ausgeprägtheit der Prüfparameter Geruch, Farbe, Festigkeit und Geschmack der Filets kein signifikanter Unterschied ausgemacht, wohl aber eine Tendenz zu einer ausgeprägteren Sensorik der Kontrollgruppe (0 g NaCl l<sup>-1</sup>). Im Hinblick auf die Bevorzugung einer der beiden Prüfgruppen wurde bei den Parametern Geruch, Farbe und Festigkeit eine Tendenz, sowie für den Faktor Geschmack ein signifikanter Unterschied (P < 0,05) zwischen den Gruppen ausgemacht. Dabei wurden die Fische bzw. Filets aus der mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> aufgesalzene Versuchskreislaufanlage gegenüber denen der Kontrolle bevorzugt.

Tabelle 4.30. Paarweise Vergleichsprüfung sensorischer Parameter in Anlehnung an DIN EN ISO 5495:2007-10 von Zanderfilets der Kontroll- (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) und Versuchskreislaufanlage (3 g NaCl l<sup>-1</sup>, je Konzentration n = 24). Signifikante Unterschiede sind mit einem Stern gekennzeichnet.

	ausgeprägter (n Entscheidungen)			bevorzugt (n Entscheidungen)		
	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	k.U.	3 g NaCl l <sup>-1</sup>	0 g NaCl l <sup>-1</sup>	k.U.	3 g NaCl l <sup>-1</sup>
<b>Geruch</b>	14	2	8	7	4	13
<b>Farbe</b>	8	7	9	6	7	11
<b>Festigkeit</b>	10	6	8	8	6	10
<b>Geschmack</b>	15	5	4	1	5	18 *

k.U. kein Unterschied

## 4.5 AP6

Die anzunehmenden Gestehungskosten bei einer Zanderproduktion von 100 t in einer geschlossenen KLA ohne den kontinuierlichen Einsatz von NaCl sind in Tabelle 4.31. dargestellt. Die Gestehungskosten für 100 t Speisezander belaufen sich auf 981.882 € bzw. auf 9,82 €/kg Zander.

**Tabelle 4.31. Gestehungskosten bei einer Produktion von 100 t Speisezander in einer geschlossenen KLA nach MÜLLER-BELECKE (2017).**

Kostenpunkt	Einheit	Menge	€/Einheit	Betrag €	Anteilig %
Setzlinge 10g	Stk.	120.000	1	144.000	14,7
Trockenfuttermittel	t	110	1.500	165.000	16,8
Wasser/Abwasser	m <sup>3</sup>	16.500	2,5	41.250	4,2
Elektroenergie	kWh	260.000	0,27	70.200	7,1
Heizenergie	kWh	700.000	0,05	35.000	3,6
Sauerstoff	t	100	170	17.000	1,7
NaCl	t	-	-	-	-
Arbeitskraft	€	1	85.000	85.000	8,7
Kapital	€	1	84.000	84.000	8,6
Abschreibung	€	1	175.000	175.000	17,8
Sonstiges	€	1	30.000	30.000	3,1
Summe Kosten	€			<b>846.450</b>	
Risikoansatz				135.432	13,8
<b>Gestehungskosten 100 t Speisezander</b>				<b>981.882</b>	100
<b>Gestehungskosten pro kg Speisezander</b>				<b>9,82</b>	

### 4.5.1 Ökonomisches Einsparpotential

In den Arbeitspaketen **AP1**, **AP3** und **AP4** wurde deutlich, dass beim Einsatz von NaCl während der Zanderaufzucht eine Wachstumssteigerung zu erwarten ist. Insbesondere auf Grundlage der Ergebnisse des Langzeitversuches (**AP4**) wird bei einer kontinuierlichen Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ein Wachstumsvorteil von 5 % angenommen.

Tabelle 4.32. stellt die Gestehungskosten bei einer identischen Produktion dar, jedoch unter der Annahme, dass mit denselben Ressourcen sowie dem Zusatz von NaCl insgesamt 105 t Zander produziert werden können.

**Tabelle 4.32. Gestehungskosten bei einer Produktion von 105 t Speisezander in einer geschlossenen KLA nach MÜLLER-BELECKE (2017) unter der Annahme des kontinuierlichen NaCl-Einsatzes (3 g l<sup>-1</sup>) und einem daraus resultierenden Wachstumsvorsprung von 5 %.**

Kostenpunkt	Einheit	Menge	€/Einheit	Betrag €	Anteilig %
Setzlinge 10g	Stk.	120.000	1	144.000	14,5
Trockenfuttermittel	t	110	1.500	165.000	16,6
Wasser/Abwasser	m <sup>3</sup>	16.500	2,5	41.250	4,1
Elektroenergie	kWh	260.000	0,27	70.200	7,1
Heizenergie	kWh	700.000	0,05	35.000	3,5
Sauerstoff	t	100	170	17.000	1,7
NaCl	t	52,5	200	10.500	1,1
Arbeitskraft	€	1	85.000	85.000	8,6
Kapital	€	1	84.000	84.000	8,5
Abschreibung	€	1	175.000	175.000	17,6
Sonstiges	€	1	30.000	30.000	3,0
Summe Kosten	€			<b>856.950</b>	
Risikoansatz				137.112	13,8
<b>Gestehungskosten 105 t Speisezander</b>				<b>994.062</b>	100
<b>Gestehungskosten pro kg Speisezander</b>				<b>9,47</b>	

Bei dem Einsatz von NaCl (3 g l<sup>-1</sup>) und einer um 5 % höheren Produktion (105 t) sind die Gestehungskosten mit 994.062 € zwar höher, allerdings reduzieren sich gleichzeitig die Kosten pro kg produziertem Fisch um 0,35 € auf 9,47 €. Das ökonomische Einsparpotential pro produziertem kg Fisch bei dem Einsatz von NaCl beträgt etwa 3,6 %.

#### 4.5.2 Ressourceneinsparung

Neben dem ökonomischen Einsparpotential kann auch eine Ressourceneinsparung berechnet werden. Hierfür wird durch den Einsatz von NaCl eine Einsparung von 5 % aller Produktionsressourcen angenommen. Tabelle 4.33. stellt die Gestehungskosten für 100 t Speisezander beim Einsatz von NaCl (3 g l<sup>-1</sup>) und einer 5%igen Einsparung aller Ressourcen dar.

**Tabelle 4.33. Gestehungskosten bei einer Produktion von 100 t Speisezander nach MÜLLER-BELECKE (2017) unter der Annahme einer Ressourceneinsparung von 5 %.**

Kostenpunkt	Einheit	Menge	€/Einheit	Betrag €	Anteilig %
Setzlinge 10g	Stk.	114.000	1	136.800	14,2
Trockenfuttermittel	t	105	1.500	156.750	16,2
Wasser/Abwasser	m <sup>3</sup>	15.675	2,5	39.188	4,1
Elektroenergie	kWh	247.000	0,27	66.690	6,9
Heizenergie	kWh	665.000	0,05	33.250	3,4
Sauerstoff	t	95	170	16.150	1,7
NaCl	t	52,5	200	10.500	1,1
Arbeitskraft	€	1	85.000	85.000	8,8
Kapital	€	1	84.000	84.000	8,7
Abschreibung	€	1	175.000	175.000	18,1
Sonstiges	€	1	30.000	30.000	3,1
Summe Kosten	€			<b>833.328</b>	
Risikoansatz				133.332	13,8
<b>Gestehungskosten 100 t Speisezander</b>				<b>966.660</b>	<b>100</b>
<b>Gestehungskosten pro kg Speisezander</b>				<b>9,67</b>	

Bei einer angenommenen Ressourceneinsparung von 5 % reduzieren sich die Gestehungskosten im Vergleich zur Aufzucht von 100 t Speisezandern um etwa 2,7 % (s. Tabelle 4.3.1). Die Gestehungskosten pro kg Fisch sind mit 9,67 € um 0,15 € geringer als bei Verzicht auf den Einsatz von NaCl. Folglich ist das modellierte, ökonomische Einsparpotential höher als das Ressourceneinsparpotential.

## 5. Diskussion

### 5.1 AP1

#### 5.1.1 Wasserparameter

Die Wasserparameter aller Versuchskreislaufanlagen waren im Versuchszeitraum 0. bis 36. Tag bzw. 0. bis 78. Tag nahezu identisch. Lediglich die NaCl-induzierte Leitfähigkeit des Wassers sowie im ersten Versuchsabschnitt das Säurebindungsvermögen, unterschieden sich signifikant voneinander. Die Unterschiede des Säurebindungsvermögens lassen sich auf die Zugabe des Speise-Siedesalzes und dessen Additiv E500 zurückführen. E500 ist mit dem Überbegriff ‚Natriumcarbonate‘ als zugelassener Lebensmittelzusatzstoff gelistet (ZZuIV 2017). Natriumcarbonate haben die Eigenschaft die Alkalinität und damit das Säurebindungsvermögen eines Wassers zu erhöhen.

Das verwendete Kochsalz weist als weiteren Zusatzstoff E535 (Natriumferrocyanid;  $\text{Na}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) auf. Natriumferrocyanid ist ein stabiler Komplex, der eine geringe bis sehr geringe Toxizität für Fische aufweist (SVOBODOVÁ u. a. 1993), jedoch potentiell unter Lichteinwirkung ( $< 420$  nm Wellenlänge) zerfallen kann (YOUNG u. JORDAN 1995) und dann toxisch für Fische wäre (NOGA 2010). Die ermittelten Cyanid-Konzentrationen waren alle unterhalb der methodischen Nachweisgrenze ( $0,01 \text{ mg CN l}^{-1}$ ) und damit auch unterhalb der für Fische toxischen Cyanid-Konzentrationen von  $\geq 0,03 \text{ mg l}^{-1}$  (SVOBODOVÁ u. a. 1993). Bei der Verwendung des Speise-Siedesalzes unter den gegebenen Gegebenheiten sind keine auf Cyanid zurückzuführenden Effekte zu erwarten.

In der Anlage mit  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  konnten, neben der NaCl-Applikation, keine der ermittelten Wasserparameter ausgemacht werden, die für die geringe Überlebensrate der Zander hätten verantwortlich gemacht werden können (vgl. Tabelle 4.4.).

#### 5.1.2 Stückmasseentwicklung, Wachstum und Futterverwertung der Zander

Tendenziell befand sich das Wachstum und die Futterwertung der Kontrolle sowie aller anderen Expositionsgruppen auf einem niedrigen Niveau, was jedoch auch in anderen Versuchen mit juvenilen Zandern berichtet wurde (HOPKO u. a. 2010; ROŻYŃSKI u. a. 2017; ZAKĘŚ u. HOPKO 2013). Das von MÜLLER-BELECKE u. ZIENERT (pers. Mitt.) entwickelte Protokoll für die Zanderfütterung in großvolumigeren Kreislaufanlagen sieht für die verwendeten Fische eine Futterverwertung von etwa  $0,8 - 1,0 \text{ kg Futter/kg Zuwachs}$  und spezifische Wachstumsraten von bis zu  $3,2 \% \text{ d}^{-1}$  vor. Es wird vermutet, dass zusätzlich zur generellen Sensibilität dieser Spezies hinsichtlich ihrer Futteraufnahme und des Wachstums, das wiederholte Handling der Fische im Rahmen von Probenahmen deren Performance reduziert hat. Ebenso war möglicherweise die Dimensionierung der Becken (Wasserstandshöhe : Beckenbreite) nicht optimal für die Haltung größerer Gruppen juveniler Zander (Abbildung 3.1.). Erst nach der Umstellung auf ein restriktiveres Fütterungsregime, einer erneuten Reduktion der Individuenzahl sowie 41 Tagen ohne ein Handling der Fische, verbesserte sich im zweiten Versuchsabschnitt u. a. die Futterverwertung der verbliebenen Gruppen.

#### *Versuchskreisläufe 0 und $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$*

Die Haltung von juvenilen Zandern in geschlossenen Kreislaufanlagen mit einer kontinuierlichen Aufrechterhaltung einer NaCl-Konzentration von  $3 \text{ g l}^{-1}$  ist möglich. Im Vergleich zur Kontrolle erreichten die Zander dieser Gruppe höhere mittlere Durchschnittsstückmassen und eine bessere Futterverwertung und dies obwohl die Zander nach 36 Versuchstagen, im Vergleich zur Kontrolle hinsichtlich dieser Parameter, noch deutliche Defizite aufwiesen (vgl. Tabelle 4.5.). Anhand der Ergebnisse lassen sich zwei wichtige Erkenntnisse ableiten.

Zum einen resultiert die Applikation von geringen NaCl-Konzentrationen in einem verbesserten Wachstum und einer verbesserten Futtermittelverwertung juveniler Zander. Ähnliche Beobachtungen wurden mit Barschen (*Perca fluviatilis*) gemacht. In einem dreiwöchigen Laborversuch mit Wassertemperaturen von 16 - 25 °C resultierte eine Haltung in 5 ‰ Salinität in einem verbesserten Wachstum der Tiere als in 0 und 2 ‰ (LOŽYS 2004). Ebenso wiesen Australische Grunzbarsche (*Bidyanus bidyanus*) unter einer Salinität von 4 ‰ ein erhöhtes Wachstum und eine verbesserte Futtermittelverwertung auf als die Artgenossen in 0, 8 und 12 ‰ (KIBRIA u. a. 1999). Mit Blick auf die Ergebnisse der vorliegenden Studie unterstreichen diese Beobachtungen den positiven Effekt einer leicht salinen Haltungsumwelt auch für Zander. Legt man zudem einige der von HUNTINGFORD u. a. (2006) gelisteten Anzeichen für Tierwohl zugrunde, kann das durch die leicht erhöhte NaCl-Konzentration resultierende gesteigerte Wachstum und die verbesserte Futterwertung der Zander in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> als Anzeichen für eine Verbesserung des Tierwohls herangezogen werden. Denn eine Verschlechterung dieser Parameter, wie bei den Fischen in 6, 9 und 12 g NaCl l<sup>-1</sup> beobachtet, spiegelt im Gegensatz dazu eine Beeinträchtigung des Tierwohls wider.

Zum anderen deuten die Ergebnisse daraufhin, dass die Notwendigkeit einer Adaptationsphase besteht, denn die Zander in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe wiesen an Tag 36 des Versuches noch signifikant geringere Stückmassen auf als die Fische in der Kontrolle (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) (vgl. Abbildung 4.3.). Die Notwendigkeit einer Adaptationsphase an saline Umwelten lässt sich auch aus den Wachstumsdaten einer anderen Studie mit Perciden ableiten. Bei in Kreislaufanlagen gehaltenen Barschen (*Perca fluviatilis*) wurde innerhalb der ersten 42 Versuchstage bei steigender Salinität (0, 4, 8, 10 ‰) eine stufenweise Abnahme der spezifischen Wachstumsraten um bis zu 33 % gegenüber der Kontrolle deutlich. Mit zunehmender Dauer des Versuches und größeren Abständen zwischen dem Handling der Fische glichen sich die Wachstumsraten der Versuchsgruppen jedoch wieder an und unterschieden sich letztendlich nicht mehr (OVERTON u. a. 2008). Folglich muss bei der Gewinnung biologischer Daten eine potentielle Adaptationsphase berücksichtigt werden, damit keine verfrühten Rückschlüsse zum Wachstum in salinen Haltungsumwelten gezogen werden. Für juvenile Zander sollte bei wiederholtem Handling vorerst von einer Adaptationsphase von mindestens 36 Tagen ausgegangen werden.

Nun könnte zusätzlich auch argumentiert werden, dass es sich bei dem Wachstum der Zander in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> im Anschluss an die Adaptationsphase nicht um einen Wachstumsvorsprung durch den Einsatz von NaCl, sondern um kompensatorisches Wachstum handelte. Kompensatorisches Wachstum ist eine Phase des beschleunigten Wachstums im Anschluss an einen Abschnitt von reduziertem Wachstum unter ungünstigen Bedingungen (ALI u. a. 2003). So resultierte der Transfer von Lachssmolts (*Salmo salar*) von Süß- in Meerwasser in einem temporären Rückgang der Futteraufnahme und, konsequenterweise, des Wachstums. Allerdings wurde das zunächst abgeschwächte Wachstum der ins Meerwasser umgesetzten Tiere innerhalb von vier Wochen vollständig kompensiert, sodass letztendlich keine Unterschiede zwischen den Parametern Stückmasse, Futteraufnahme und Wachstumsrate festgestellt werden konnten (DAMSGÅRD u. ARNESEN 1998).

Gegen die Tatsache, dass es sich bei den juvenilen Zandern dieses Versuches ausschließlich um kompensatorisches Wachstum handelte, sprechen jedoch zwei Gründe. Zum einen wiesen die Fische in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> eine höhere durchschnittliche Endstückmasse auf, womit das zunächst reduzierte Wachstum letztendlich „überkompensiert“ worden wäre. Zum anderen konnte in den folgenden Versuchen dieser Arbeit, und insbesondere im Langzeitversuch unter praxisnahen Bedingungen, wiederholt ein erhöhtes Wachstum von Zandern unter leicht salinen Bedingungen (3 bis 6 g NaCl l<sup>-1</sup>) festgestellt werden.

### *Versuchskreisläufe 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup>*

Der allgemein anerkannten Theorie folgend, resultiert eine Haltung von Fischen nahe des isoosmotischen Punktes, in einem gesteigerten Wachstum, da der Energiebedarf für die Aufrechterhaltung des Wasser- und Ionenhaushaltes reduziert ist (BOEUF u. PAYAN 2001). Isoosmotische Verhältnisse würden einer Salinität von rund 9 g l<sup>-1</sup> entsprechen (7,5 bis 11,6 g l<sup>-1</sup> vgl. HASSAN u.a 2013; SAMPAIO u. BIANCHINI 2002; RAO 1968). Eine 36-tägige Exposition mit NaCl-Konzentrationen von 6 und 9 g l<sup>-1</sup> führte jedoch zu einer reduzierten Kondition, einer verschlechterten Futtermittelverwertung sowie einer ausgeprägten Wachstumsdepression.

Eine so deutliche Veränderung auf der Ebene des gesamten Organismus ist ein klassischer Indikator für eine tertiäre Stressantwort (BARTON u. IWAMA 1991; IWAMA 1998). Denn wenn ein Fisch nicht in der Lage ist sich an einen Stressor zu adaptieren, wird die zur Verfügung stehende Energie nicht mehr für anabole Prozesse verwendet, sondern zur Deckung des durch den Stressor bedingten erhöhten Energiebedarfes (IWAMA 1998).

Für Zander ähnlicher Stückmassen liegen derzeit keine weiteren Studien für einen direkten Vergleich der gewonnenen Erkenntnisse vor (s. a. DALSGAARD u. a. 2013). OVERTON u. a. (2008) haben jedoch für in Kreislaufanlagen aufgezogene Barsche (*Perca fluviatilis*) die Beobachtung gemacht, dass eine 130-tägige Exposition der Tiere mit 10 ‰ Salinität in einer 50%igen Reduktion des Wachstums resultierte. Generell nahm das Wachstum der Barsche mit steigender Salinität in der Haltungsumwelt ab, blieb aber, im Gegensatz zu den juvenilen Zandern, nicht aus. Die Zander reagierten demnach unter den gegebenen Umweltbedingungen empfindlicher auf die kontinuierliche Exposition mit NaCl-Konzentrationen  $\geq 6$  g NaCl l<sup>-1</sup> als Flussbarsche. Der Theorie, derzufolge eine Wachstumssteigerung durch den Einsatz von NaCl-Konzentrationen, die dem isoosmotischen Punkt ähnlich sind, erzielt werden kann, muss deshalb für juvenile Zander widersprochen werden. Ob hingegen durch die Verwendung komplexerer (und deutlich kostenintensiverer) Salzmischungen, bestehend aus einer Vielzahl verschiedener Ionen z. B. NaCl, Calciumchlorid (CaCl<sub>2</sub>), Natriumsulfat (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), Natriumhydrogencarbonat (NaHCO<sub>3</sub>), Kaliumchlorid (KCl), Magnesiumsulfat (MgSO<sub>4</sub>), Kaliumphosphat (K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) oder sonstigen Meersalzmischungen (s. a. GREENWELL u. a. 2003), andere Ergebnisse unter ähnlichen osmotischen Konzentrationen zu erwarten wären, sollte Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein. Möglicherweise müssen bei der Betrachtung des isoosmotischen Punktes, neben den Hauptionen Chlorid und Natrium, weitere Ionen berücksichtigt werden.

### *Versuchskreislauf 12 g NaCl l<sup>-1</sup>*

Während bei den Fischen in 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> das Wachstum ausblieb, wurde eine Exposition mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> durch die juvenilen Zander nur für wenige Tage und eingeschränkt toleriert. Die Applikation dieser Konzentration resultierte innerhalb von 8 Versuchstagen in einem Stückmasseverlust (12 - 13 %) sowie in einer hohen Mortalität (96 %). Gewichtsverluste in ähnlicher Größenordnung wurden auch für Graskarpfen (*Ctenopharyngodon idella*) im Anschluss an sich ändernde osmotische Bedingungen beschrieben. Nach einer 30-stündigen Exposition mit Salinitäten (12 - 14 ‰) wurden bei den Graskarpfen mittlere Stückmasseverluste von bis zu 11,3 % festgestellt, die auf eine Dehydration von Gewebe zurückgeführt werden konnten (MACEINA u. SHIREMAN 1979). Im Gegensatz zum vorliegenden Versuch wurde von MACEINA u. SHIREMAN (1979) innerhalb der 96 Stunden allerdings keine Abgänge beobachtet. Da aber auch die Zander erst ab dem 6. Versuchstag moribund waren, deutet dies darauf hin, dass selbst suboptimale NaCl-Konzentrationen für einen begrenzten Zeitraum toleriert werden können. Dieser Umstand könnte im absoluten Notfall bei einem Befall mit Ektoparasiten dennoch nützlich sein. Generell sind die Stückmasseverluste und hohen

Mortalitätsraten jedoch deutliche Indizien dafür, dass diese NaCl-Konzentration in geschlossenen Kreislaufanlagen nicht anwendbar ist. Dies wird zudem durch nahezu alle erhobenen hämatologischen Parameter (vgl. Kapitel 4.1.6) sowie die deutlichen Veränderungen der Kiemenmorphologie bestätigt (vgl. Kapitel 4.1.7).

#### *Markierung und individuelles Wachstum*

Das Implantieren der Passive Integrated Transponder (PIT) mittels eines Spritzenimplantators resultierte weder in direkten Mortalitäten noch wurde ein Verlust der Markierungen während des Versuches festgestellt. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch in anderen Studien mit juvenilen Zandern erzielt (HOPKO u. a. 2010; ZAKĘŚ u. HOPKO 2013). Eine wesentliche Positionsveränderung der PIT konnte nicht festgestellt werden (Daten nicht dargestellt). Zusätzlich zur Implantation von PIT in den Rückenmuskel (HOPKO u. a. 2010), kann daher auch die Einbringung von PIT auf der Höhe der Bauchflossen in die Bauchhöhle empfohlen werden. Die auf 93 % reduzierte Überlebensrate der markierten Fische war das Resultat einer fehlerhaften Entnahme während der Probengewinnung und kann daher nicht auf die Markierung zurückgeführt werden.

14 Tage nach dem Markierungsprozess bzw. zu Versuchsbeginn wiesen die Zander eine um etwa 9,5 % niedrigere Startstückmasse auf als die unmarkierten Artgenossen (vgl. Tabelle 3.1.). Zurückzuführen ist dies auf die eintägige Nüchterung vor dem Markieren, dem Vorgang der Markierung, sowie der restriktiven Fütterung für drei Tage nach dem Markieren, um sich akkumulierende Ausscheidungsprodukte während der Haltung im GazeNetz zu minimieren.

Zum Zeitpunkt der Zwischenwägung bzw. Versuchsauflösung konnten keine Unterschiede der mittleren Stückmassen unter NaCl-Konzentrationen von 0 bis 9 g l<sup>-1</sup> festgestellt werden (vgl. Abbildung 4.2.). Dies ist ein Indiz für kompensatorisches Wachstum der markierten Tiere (ALI u. a. 2003), was auch aus anderen Markierungsstudien bekannt ist (BARAS u. a. 2000; NAVARRO u. a. 2006). Das Besondere daran ist, dass das kompensatorische Wachstum der markierten Fische gerade auch in jenen Gruppen stattfand, in denen das Wachstum der unmarkierten Fische, auf Basis von Gruppenwägungen, nahezu ausblieb (6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup>). Unter Berücksichtigung der individuellen Performance einiger Fische in den Kreislaufanlagen mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> trat in diesen Expositionsgruppen ganz deutlich somatisches Wachstum auf (vgl. Abbildung 4.2.). Diese Beobachtung unterstreicht, dass, wie beim Wachstum einzelner Fische unter regulären Bedingungen (vgl. DE VERDAL u. a. 2017; MARTINS u. a. 2005), auch in salinen Umwelten die individuellen Eigenschaften eines Tieres von Bedeutung sind. Dieser Umstand bietet Potential für züchterische Ansätze.

Ganz deutlich nahmen jedoch die Stückmassen jener Zander ab, die für acht Tage in 12 g NaCl l<sup>-1</sup> gehalten wurden und dies in beiden Gruppen zu gleichen Teilen (vgl. Abbildung 4.2.). Hierfür können maßgeblich Wasserverluste des Gewebes unter erhöhten Salinitäten verantwortlich gemacht werden (vgl. MACEINA u. SHIREMAN 1979). Dies bedeutet, dass mögliche individuelle Eigenschaften nicht ausreichend waren, um unter dieser Konzentration dem Masseverlust entgegenzuwirken. Wohl aber wiesen einige wenige Fische die Fähigkeit auf länger zu überleben als ihre Artgenossen.

In allen fünf untersuchten Expositionsgruppen reagierten die Stückmassen beider Gruppen von Zandern identisch auf das jeweilige NaCl-Regime. Die Markierung mit PIT hat das Wachstum in einer salinen Haltungsumwelt demnach nicht beeinflusst und die von BARAS u. a. (2000) empfohlene 14-tägige Erholungsphase zwischen dem Markierungsvorgang und der ersten Generierung biologischer Daten, war auch für juvenile Zander ausreichend.

### 5.1.3 Konditions- und Organindizes

Änderungen des Konditionfaktors (Kf), des hepatosomatischen Index (HSI) und des splenosomatischen Index (SSI) wurden bei den Zandern in Verbindung mit der Aufzucht unter verschiedenen NaCl-Konzentrationen festgestellt.

Während sich die Kondition aller Gruppen innerhalb der ersten acht Versuchstage zunächst nicht voneinander unterschieden, war nach 36 Versuchstagen die Kondition der Zander in 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> gegenüber der Kontrolle und den Fischen in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> signifikant reduziert. Mit Werten von 0,67 - 0,68 g cm<sup>-3</sup> kann die Kondition dieser Zander als gering eingestuft werden (vgl. STEINBERG u. a. 2017; ZIMMERMANN u. a. 2019). Der Rückgang der Kondition dieser Fische deutet an, dass sich die Fische, trotz der bestands- und biomassebezogenen Fütterung unter 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup>, nicht ausreichend entwickeln konnten. Dies wurde insbesondere durch das ausbleibende Stückmassenwachstum, aber auch durch die deutlich verschlechterte Futtermittelverwertung sichtbar. Da die Kondition von Fischen mit deren Energiestatus korreliert (bspw. CHELLAPPA u. a. 1995), weist die verringerte Kondition der Fische zudem auf die erhöhten Energiekosten unter einer kontinuierlichen Aufzucht unter suboptimalen NaCl-Konzentrationen hin. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass die Fische nicht nur nicht wuchsen, sondern auch auf die vorhandenen Energiereserven zurückgreifen mussten.

Die Leber gilt als die Hauptquelle für energetische Metabolite, die im Rahmen der Osmoregulation in den verschiedenen hieran beteiligten Organen benötigt werden (TSENG u. HWANG 2008). Veränderungen des hepatosomatischen Index (HSI) können daher zur Abschätzung des Energiestatus von Fischen herangezogen werden (CHELLAPPA u. a. 1995). Der Anstieg des HSI bei den Zandern in 12, aber auch 9 g NaCl l<sup>-1</sup> deuten auf Veränderungen dieses Organes unter dem Einfluss von NaCl hin. Das deutlich hellere und vergrößerte Erscheinungsbild der Lebern in 12 g NaCl l<sup>-1</sup> (vgl. Abbildung 4.1.) bestätigt diese Vermutung. Für Goldfische (*Carassius auratus*) ist bei steigender Salinität (0 bis 10 ‰) bspw. ein Rückgang der Lipid- und Glykogenkonzentrationen in der Leber beobachtet worden (LUZ u. a. 2008). Demnach wird die Exposition der Zander mit hohen NaCl-Konzentrationen, deren Energiestatus und Metabolismus verändert haben. Die gleichzeitige Abnahme der Plasmametabolite im Blut der Zander in 12 g NaCl l<sup>-1</sup> deutet dies ebenfalls an (vgl. Abbildung 4.8. - 4.11.). Im Gegensatz dazu kann bei der Haltung juveniler Zander in NaCl-Konzentrationen von bis zu 3 g l<sup>-1</sup> von keiner, über den HSI abbildbaren, Beeinträchtigung ausgegangen werden.

Der splenosomatische Index (SSI) kann als Indikator für den Immunzustand sowie dessen Veränderungen auf mögliche Infektionen und Krankheiten hindeuten (DEKIĆ u. a. 2016). Im Vergleich mit anderen Studien waren generell keine Auffälligkeiten der ermittelten SSI Werte festzustellen (STEINBERG u. a. 2017, ZIMMERMANN u. a. 2019). Tendenziell wurden unter höheren NaCl-Konzentrationen, also für Zander suboptimalen Konzentrationen, an zwei Probenahmetagen höhere SSI ermittelt. Die gewonnenen Daten lassen allerdings keine eindeutigen Rückschlüsse zu. Bis zu einer Konzentration von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> waren jedoch keine Veränderung der Milz festzustellen, die über den SSI abbildbar gewesen wären.

### 5.1.4 Hämatologie

Die entnommenen Blutvolumina der Zander korrelierten positiv mit den jeweiligen Stückmassen der Versuchstiere. Unter der Annahme, dass das Blutvolumen eines Fisches rund 5 % seiner Stückmasse ausmacht (GALLAUGHER u. FARRELL 1998), konnten bei den juvenilen Zandern durchschnittlich etwas mehr als 20 % des Blutvolumens durch die Punktion der Caudalvene

gewonnen werden. Mit Hilfe des gewonnenen Blutes wurden an Hand verschiedener Parameter die physiologischen Effekte einer salinen Haltungsumwelt auf juvenile Zander untersucht.

#### 5.1.4.1 Cortisol und Schilddrüsenhormone im Blutplasma

Cortisol hat sich als ein zuverlässiger Indikator für akuten Stress bei Fischen erwiesen (SA-DOUL u. GEFFROY 2019). Die Ausschüttung von Cortisol ist eine primäre Reaktion auf einen Stressor, die innerhalb weniger Minuten stattfindet. Unter Belastungssituationen ist Cortisol für die Mobilisierung von Energieträgern verantwortlich, um dem erhöhten Energiebedarf des Organismus gerecht zu werden (MOMMSEN u. a. 1999). Und auch unter anhaltenden, chronischen Stresssituationen werden erhöhte Cortisoltitere bei Fischen beobachtet, dann allerdings unterhalb akuter Spitzenwerte (WENDELAAR BONGA 1997). Zusätzlich spielt Cortisol eine Rolle bei der Anpassung an neue osmotische Verhältnisse (MOMMSEN u. a. 1999, MCCORMICK 2001).

Um Rückschlüsse auf das Stresslevel von juvenilen Zandern unter verschiedenen NaCl-Konzentrationen ziehen zu können, wurden die Cortisolkonzentrationen im Blutplasma der Fische zu verschiedenen Versuchszeitpunkten bestimmt. Die mittleren Cortisolkonzentrationen schwankten über alle Tage und Gruppen zwischen 20 und 337 ng ml<sup>-1</sup> (Abbildung 4.6.). Die Cortisolkonzentrationen einzelner Fische variierten dabei zwischen Werten des Ruhe- und Stresslevels (BARTON u. a. 2003, BARTON u. ZITZOW 1995; FALAHATKAR u. a. 2012; FORSBERG u. a. 2001). Insbesondere die individuellen Werte einzelner Tiere derselben Versuchsgruppe unterschieden sich z. T. deutlich voneinander, sodass deshalb häufig keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen bestanden. Dies wurde auch bei den Zandern im Langzeitversuch beobachtet (**AP4**). Die endokrine Antwort von Zandern auf Stress ist demnach ein individueller Parameter (WENDELAAR BONGA 1997) und insbesondere Zander weisen eine hohe Amplitude auf (BARTON u. ZITZOW 1995, LUCHIARI u. a. 2009). Unabhängig davon lassen sich aus den Ergebnissen relevante Erkenntnisse für die Haltung von Zandern unter Brackwasserbedingungen in geschlossenen Kreislaufanlagen ableiten.

Zunächst wurden 24 Stunden nach der Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ein um rund 90 % geringerer Cortisolspiegel der Zander gegenüber dem der Kontrolle festgestellt (Abbildung 4.6.), was auf ein deutlich geringeres Stresslevel dieser Versuchsgruppe hinweist. Ein ähnlich positiver Effekt wurde auch bei Amerikanischen Zandern (*Sander vitreus*) beobachtet, die im Anschluss an einen 30-sekündigen Handlingsstressor in mit 0,5 % NaCl angereichertem Wasser gehältert wurden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe (0 % NaCl) war bereits 3 Stunden nach der Einwirkung des Stressors eine um rund 65-70 % niedrigere Cortisolkonzentration feststellbar, die zudem auch nach weiteren 23 Stunden fortbestand. Auf Grundlage der Messung der Osmolalität des Blutplasmas verloren die sich in NaCl-haltigem Wasser erholenden Zander weniger Ionen an die Umwelt und wiesen deshalb ein geringes Stresslevel auf als die sich in Süßwasser erholenden Artgenossen (BARTON u. ZITZOW 1995). Durch die Aufsalzung der Haltungsumwelt mittels NaCl können folglich osmotische Imbalancen von Zandern abgemildert und damit Stress reduziert werden. Auf Grundlage der Ergebnisse ist der Einsatz von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> im Anschluss an Sortiervorgänge empfehlenswert.

Mit Blick auf den weiteren Versuchsverlauf, und unabhängig vom jeweiligen Versuchsende, weisen die weitestgehend unveränderten Cortisolspiegel zudem daraufhin, dass die stufenweise Erhöhung der NaCl-Konzentration auf bis zu 12 g l<sup>-1</sup> keinen über Cortisol abbildbaren signifikanten Stress erzeugte, da ansonsten sekundäre Stressreaktionen wie z. B. ein deutlicher Anstieg der Glukosekonzentrationen im Blut der Fische hätten festgestellt werden müssen (BARTON u. IWAMA 1991; IWAMA 1998). In einer Studie von BROWN u. a. (2001) resultierte der abrupte Transfer von Zandern in 16 psu, neben einer Verdoppelung des Cortisolspiegels,

in einer Vervielfachung der Plasmaglukosekonzentration, was im Vergleich mit diesem Versuch ganz deutlich auf eine primäre und sekundäre Stressreaktion nach der Einwirkung von Salinität hinweist.

Für die vorliegende Studie deuten die Ergebnisse sowohl auf das Vorhandensein einer gewissen Toleranz juveniler Zander gegenüber NaCl hin, als auch darauf, dass das Protokoll der stufenweisen Aufsalzung im Sinne des Tierwohles als positiv zu bewerten ist. Da ferner auch beim kontinuierlichen Einsatz von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> keine negativen Effekte auf den Cortisolspiegel und damit die Stressphysiologie juveniler Zander festgestellt werden konnten, kann NaCl in dieser Konzentration bei der Aufzucht juveniler Zander zur Anwendung kommen.

Es gibt fischartenspezifische Hinweise, dass Schilddrüsenhormone durch deren Interaktion mit Wachstumshormonen und Cortisol bei der Akklimatisierung an saline Umwelten unterstützend wirken (MCCORMICK 2001). So fanden SUBASH PETER u. a. (2000) in Versuchen mit Tilapien (*Oreochromis mossambicus*) heraus, dass die Verabreichung von Trijodthyronin (T3) und Tetrajodthyronin (T4) in einer Vergrößerung der Chloridzellen, einer Erhöhung der Aktivität von Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasen und einem Anstieg der Natrium- und Chloridionen im Plasma resultierte.

Bei den, im Zuge des Versuches mit 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup>, exponierten juvenilen Zandern konnten zu keinem Zeitpunkt Unterschiede der T3-Konzentrationen im Blutplasma festgestellt werden. Mit Ausnahme des ersten Versuchstages, an dem die mittlere T4-Konzentration in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe um etwa ein Drittel reduziert war, waren ebenfalls keine Auffälligkeiten hinsichtlich der T4-Konzentrationen erkennbar (vgl. Abbildung 4.7.). Im Kontrast zu diesen Versuchen, wurden bei einer 21-tägigen Exposition von Kletterfischen (*Anabas testudineus*) mit 20 ‰ Salinität hingegen kurzfristig ein deutlicher Anstieg der T4-Konzentration (~ 80 %) und gleichzeitig eine Abnahme der T3-Konzentration beobachtet (~ 50 %). Beide Konzentrationen waren jedoch bereits spätestens am 7. Versuchstag wieder bei dem jeweiligen Ausgangsniveau angelangt (REJITHA u. a. 2009). Es lässt sich an dieser Stelle also vorerst nur vermuten, dass niedrige NaCl-Konzentrationen (3 g l<sup>-1</sup>) höchstens geringfügig und möglicherweise nur kurzfristige Effekte auf die Schilddrüsenaktivität von juvenilen Zandern haben.

#### 5.1.4.2 Hämatokritbestimmung

Die Bestimmung des Anteils roter Blutkörperchen am Blutvolumen (Hämatokritwert) ist ein häufig verwendeter Parameter zur Abschätzung von Stress bei Fischen. Für die juvenilen Zander wurden bereits nach einer 24-stündigen Exposition mit der jeweiligen Zielkonzentration von > 6 g NaCl l<sup>-1</sup>, um bis zu 26 % reduzierte Hämatokritwerte festgestellt (Abbildung 4.5.). Dies stellt eine sehr deutliche physiologische Reaktion auf die Exposition mit NaCl dar, die in unterschiedlich starken Ausprägungen auch bei anderen Fischen auftritt. So reduzierte sich die Hämatokritwerte von Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) bei 10 ‰ Salinität um 4 % (DIOUF u. a. 2002), die gleiche Salinität führte beim Karpfen (*Cyprinus carpio*) jedoch zu einer Reduktion des Hämatokrits von bis zu 65 % (DE BOECK u. a. 2000). Da auch im weiteren Versuchsverlauf keine Zunahme der Hämatokritwerte, insbesondere in den Gruppen mit 9 und 12 g NaCl l<sup>-1</sup>, feststellbar war, kann davon ausgegangen werden, dass juvenile Zander NaCl-Konzentrationen oberhalb von 6 g l<sup>-1</sup> nur sehr eingeschränkt tolerieren. Als Ursache für den bis zu 35%igen Rückgang des Hämatokritwertes sind Dehydrationsprozesse der roten Blutkörperchen anzunehmen, die unter länger andauernden, ungünstigen osmotischen Verhältnissen bei Süßwasserfischen beobachtet werden (BATH u. EDDY 1979; MALAKPOUR KOLBADINEZHAD u. a. 2012).

Die mittleren Hämatokritwerte (30-34 %) der Versuchsgruppen in 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> decken sich mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen mit Zandern (LUCHIARI u. a. 2009; SIWICKI u. a. 2003, STEINBERG u. a. 2017) und auch explizit solchen, die im Zuge von Expositionsversuchen in salinen Umwelten erhoben wurden (AHMADNEZHAD u. a. 2014; BROWN u. a. 2001). Effekte einer leicht salinen Umwelt (3 g NaCl l<sup>-1</sup>) waren im Vergleich zur Kontrolle (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) nur einmalig am 36. Versuchstag festzustellen. Die Langfristige Applikation geringer NaCl-Konzentrationen hatte hingegen keine Effekte auf die Hämatokritwerte der Fische.

#### **5.1.4.3 Plasmametabolite**

Die Anpassung an neue osmotische Verhältnisse geht einher mit der Veränderung der Konzentrationen verschiedener Plasmametabolite (SOENGAS u. a. 2007). Um einschätzen zu können in wie weit juvenile Zander durch eine Applikation von NaCl physiologisch beeinflusst werden, wurden die Konzentrationen der Plasmametabolite Glukose, Laktat, Protein und Triglyceride bestimmt.

Plasmaglukosekonzentrationen können sowohl durch osmotische Herausforderungen als auch durch Einwirkung von Stress verändert werden. Während eine Zunahme auf eine sekundäre Stressreaktion hinweist, da der Organismus kurzfristig mehr Energie benötigt (BARTON u. IWAMA 1991; IWAMA 1998), werden unter physiologisch suboptimalen Salinitäten Reduktionen der Glukosekonzentrationen beobachtet (ARJONA u. a. 2009). Der ausbleibende Anstieg der Glukosekonzentration weist folglich darauf hin, dass die Aufsalzung und Haltung unter NaCl-Konzentrationen mit bis zu 12 g NaCl l<sup>-1</sup> keinen akuten Stress bei den Zandern ausgelöst hat und, dass das Aufsalzungsprotokoll in der Praxis empfohlen werden kann.

Für die in diesem Versuch mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zander wurden dennoch, bereits kurz nach dem Versuchsstart, Veränderungen festgestellt. Die Plasmaglukosekonzentration dieser Tiere reduzierte sich stufenweise und war nach acht Tagen etwa 70 % niedriger als in der Kontrollgruppe (Abbildung 4.8.). Reduzierte Plasmakonzentrationen nach einem Transfer in saline Umwelten sind das Resultat einer erhöhten Glukoseaufnahme durch entsprechende Zellen, da Glukose durch einen erhöhten Energiebedarf für die Regulierung des Wasser- und Ionenhaushaltes in den entsprechenden Organen benötigt wird (MORGAN u. a. 1997). Unter den gegebenen Versuchsbedingungen können 12 g NaCl l<sup>-1</sup> damit als ungeeignete Konzentration für juvenile Zander angesehen werden, was u. a. durch die geringen Überlebensraten unterstrichen wird. Wie schon bei einer kurzfristigen Exposition von Zandern mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup>, so deutet sich die Unverträglichkeit des Zanders gegenüber anhaltenden Expositionen bei 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> in den am 36. Versuchstag um rund 30 % reduzierten Glukosekonzentrationen, an (Abbildung 4.8.). Im Gegensatz dazu war die langfristige Haltung juveniler Zander in bis zu 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ohne feststellbare Effekte möglich.

Akute Stresssituationen, wie z. B. osmotische Schocks, resultieren in einem raschen Anstieg der Laktatkonzentration im Blutplasma von Fischen (WENDELAAR-BONGA 1997). Hierbei ist die anaerobe Verstoffwechslung von Glykogen während einer Belastungssituation für die Akkumulation von Laktat im Gewebe und im Blut verantwortlich (MILLIGAN u. GIRARD 1993). Bis einschließlich des achten Versuchstages wurden allerdings keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen von 0 bis 9 g NaCl l<sup>-1</sup> beobachtet, jedoch ein gradueller Rückgang der Laktatkonzentration im Blutplasma der mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zander (Abbildung 4.9.). Die Zander dieser Versuchsgruppe wiesen am Ende des Versuches eine um etwa 86 % geringere Plasmalaktatkonzentration auf. Zusätzlich verhielten sich diese Tie-

re lethargisch und waren nahezu bewegungslos. Es wird vermutet, dass die reduzierte körperliche Aktivität der Zander die basale Laktatkonzentration sinken ließ.

Bei der Versuchsauflösung waren die Laktatkonzentrationen der verbliebenen Gruppen generell höher als an den vorherigen Probenahmetagen. Es ist anzunehmen, dass aufgrund einer abnehmenden Individuenanzahl pro Haltungseinheit die körperliche Aktivität der Fische zunahm und deshalb die basale Laktatkonzentration angestiegen ist.

Veränderungen der Plasmaproteinkonzentration können bei einer Akklimatisation an neue osmotische Verhältnisse auftreten (SOENGAS u. a. 2007) und ebenso als ein klinischer Indikator für Gesundheit, Stress und Wohlbefinden herangezogen werden (RICHE 2007). Bis einschließlich des dritten Expositionstages wurden keine deutlichen Veränderungen der Proteinkonzentrationen bei den juvenilen Zandern bis 9 g NaCl l<sup>-1</sup> festgestellt (Abbildung 4.10.), womit kurzfristige Effekte zunächst nicht zu erwarten sind. Aufgrund hoher Verluste musste jedoch der Versuch für die Fische in 12 g NaCl l<sup>-1</sup> nach acht Tagen terminiert werden. Zu diesem Zeitpunkt waren die Plasmaproteinkonzentrationen, gegenüber den Fischen in 0 bis 9 g NaCl l<sup>-1</sup>, um etwa 30 % reduziert, was als eine deutliche Reaktion auf die ungünstigen osmotischen Verhältnisse verstanden werden kann. Um rund 16 % reduzierte Plasmaproteinkonzentrationen sind bspw. auch bei Plattfischen (*Solea senegalensis*) festgestellt worden, die im Rahmen eines Langzeitversuches in einer suboptimalen Salinität gehalten wurden (ARJONA u. a. 2009). Interessanterweise wurden im weiteren Verlauf des Versuches in den verbliebenen Versuchsgruppen allerdings ähnlich niedrige Proteinkonzentrationen gemessen wie bei den mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zandern. Damit ist die mittlere Konzentration am Tag 8 nicht unbedingt als physiologisch suboptimale Konzentration zu verstehen, sondern nur die relative Abweichung im Vergleich zu den anderen Gruppen. Die an Versuchstag 36 gegenüber der Kontrolle ebenfalls reduzierten Proteinkonzentrationen bei den Fischen in 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup>, weisen ebenso auf suboptimale Haltungsbedingungen hin (vgl. ARJONA u. a. 2009). Langfristig konnten hingegen keine Effekte zwischen der Kontrollgruppe und den Zandern unter 3 g NaCl l<sup>-1</sup> festgestellt werden. Ausbleibende Veränderungen der Proteinkonzentrationen bei der Exposition mit verschiedenen Salzkonzentrationen sind jedoch auch bei anderen Fischen beobachtet worden (PEYGHAN u. a. 2014; SADOK u. a. 2004). Im Speziellen berichteten SADOK u. a. (2004) für unter Kaltwasserbedingungen im Konzentrationsbereich von 0,9 bis 12 psu gehaltene Zander zwar von nahezu gleichbleibenden Proteingehalten im Blut. Allerdings änderte sich die prozentuale Zusammensetzung der Proteine (Aminosäure- und Trimethylaminoxid-zusammensetzungen) in Abhängigkeit der Salinität. Unabhängig von gleichbleibenden Proteinkonzentrationen könnte sich durch den Einsatz von NaCl die Proteinzusammensetzung im Blut der juvenilen Zander verändert haben. Welche physiologischen Konsequenzen sich hieraus ergaben, bleibt unbeantwortet.

Neben Veränderungen der Triglyceridkonzentrationen bei osmotischen Herausforderungen korreliert dieser Parameter insbesondere auch mit der täglichen Futterraufnahme (KAVADIAS u. a. 2003) und kann damit zusätzlich als Indikator für den Ernährungszustand herangezogen werden. Die bereits nach dreitägiger Exposition mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> signifikant reduzierten Triglyceridekonzentrationen (Abbildung 4.11.) können also sowohl die Folge suboptimaler NaCl-Konzentrationen sein, wegen derer die Fische zusätzliche Energie aufwenden mussten, als auch einer ausbleibenden Futterraufnahme sowie einer Kombination beider Faktoren (ARJONA u. a. 2009; MYLONAS u. a. 2009). Ebenso weisen die deutlich reduzierten Konzentrationen in den Versuchsgruppen mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> am Tag 36 auf einen erhöhten Energiebedarf bzw. eine fehlende oder stark reduzierte Futterraufnahme hin (vgl. Tabelle 4.6.). Der generelle Anstieg der Triglyceridekonzentrationen zwischen dem dritten und achten Ver-

suchstag war vermutlich keine physiologische Reaktion auf das NaCl, sondern kann sehr wahrscheinlich auf den Start der Nahrungsaufnahme zurückgeführt werden.

#### **5.1.4.4 Blutplasmaosmolalität**

Das Maß für die Summe aller gelösten Ionen sowie organischen Verbindungen in biologischen Flüssigkeiten wird als Osmolalität bezeichnet (KÜLTZ 2015). Veränderungen der Osmolalität deuten auf eine gestörte Homöostase hin und können deshalb als ein Indikator für Stress herangezogen werden (BARTON u. IWAMA 1991). Die mittleren Blutplasmaosmolalitäten der Versuchsgruppen von 0 bis 9 g NaCl l<sup>-1</sup> variierten zwischen 289 und 314 mOsmol kg<sup>-1</sup>, und entsprechen damit einer für Süßwasserfische gewöhnlichen Bandbreite (EDWARDS u. MARSHALL 2013). Im deutlichen Gegensatz dazu kam es zu einem Anstieg der Blutplasmaosmolalität (~ 360 mOsmol kg<sup>-1</sup>), wenn die Zander einer NaCl-Konzentration von 12 g l<sup>-1</sup> ausgesetzt waren (Abbildung 4.12.). Ein Überleben in höheren Salzkonzentrationen ist stenohalinen Fischen jedoch nur dann möglich, wenn sie in der Lage sind die Osmolalität ihrer Körperflüssigkeiten oberhalb der Osmolalität des sie umgebenden Wassers einzustellen. Andernfalls stoppt der kontinuierliche Wasserzustrom und die notwendige Exkretion von Stoffwechselendprodukten kann nicht stattfinden (HEGAB u. HANKE 1982).

Der festgestellte Stückmasseverlust (Abbildung 4.2.), der auf eine Dehydration unter der Einwirkung von 12 g NaCl l<sup>-1</sup> hinweist (vgl. MACEINA u. SHIREMAN 1979), die Vielzahl der veränderten hämatologischen Parameter sowie letztendlich die ausgeprägte Mortalität von knapp 96 %, unterstreichen dabei die Unverträglichkeit der juvenilen Zander gegenüber einer NaCl-Konzentration von 12 g l<sup>-1</sup>. Zusammengefasst sind dies deutliche Indizien dafür, dass sich diese Konzentration - unter den gegebenen Umweltbedingungen einer geschlossenen Wamwasser Kreislaufanlage - oberhalb des für juvenile Zander physiologisch tolerierbaren Bereiches befindet.

Da es sich bei der Plasmaosmolalität um einen Summenparameter handelt (KÜLTZ 2015), wird die Normalisierung der Osmolalität in der 12 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe am 8. Versuchstag vorrangig auf die reduzierten Konzentrationen gelöster Plasmametabolite (Glukose, Laktat, Proteine, Triglyceride) zurückzuführen sein, als auf eine osmoregulatorische Anpassung an die NaCl-Konzentration, insbesondere da zu diesem Zeitpunkt sowohl die Ionen Natrium und Chlorid im Plasma weiterhin höher waren als in den Versuchsgruppen von 0 bis 9 g NaCl l<sup>-1</sup>. Bis zum Versuchsende der anderen vier Expositionsgruppen konnten keine so deutlichen Unterschiede festgestellt werden wie innerhalb der ersten acht Tage bei den Fischen in 12 g NaCl l<sup>-1</sup>. Auch das ausbleibende Wachstum der Zander in den Versuchsgruppen 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> bis zum Versuchsabbruch an Tag 36, spiegelte sich nicht in veränderten Plasmaosmolalitäten wider. Folglich kann angenommen werden, dass Zander zwar bis mindestens 9 g NaCl l<sup>-1</sup> erfolgreich osmoregulieren können, dies jedoch auf Kosten des Wachstums geschieht. Auch OVERTON u. a. (2008) stellten bei Versuchen mit Barschen (*Perca fluviatilis*) in Kreislaufanlagen fest, dass das Wachstum unter salinen Bedingungen (10 ‰) bereits um 50 % reduziert war, der physiologische Parameter Plasmaosmolalität aber keineswegs auf eine osmoregulatorische Störung hinwies.

#### **5.1.4.5 Blutplasmaionen**

Ein Anstieg von Ionen im Blutplasma findet statt, wenn Süßwasserfische salinen Umwelten ausgesetzt werden (BROWN u. a. 2001, DE BOECK u. a. 2000, LUTZ 1972, MATTIOLI u. a. 2017, OVERTON u. a. 2008). Bei sich ändernden Salinitäten in der Umwelt ist die kontinuierliche Aufrechterhaltung regulärer physiologischer Ionenkonzentrationen von entscheidender

Bedeutung. Da Chlorid und Natrium die Hauptionen in den Körperflüssigkeiten sind und mehr als 90% der anorganischen Elektrolyte darstellen, ist die Regulierung dieser Ionen für eine erfolgreiche Osmoregulation essenziell (KANEKO u. HIROI 2008). Untersuchungsergebnisse von mit Salzwasser exponierten Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) legen nahe, dass die Ionenaufnahme sowohl durch das Trinken von Wasser als auch über die Kiemen stattfindet (BATH u. EDDY 1979).

Mittels mitochondrienreicher Chloridzellen auf den Kiemen können Süßwasserfische die Ionenaufnahme steuern (PERRY 1997). Den etablierten Modellen zur Ionenaufnahme folgend, werden Chloridionen mit Hydrogencarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) und Natrium mit Wasserstoffionen ( $\text{H}^+$ ) und Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) an den Kiemen ausgetauscht (AVELLA u. BORNANCIN 1989; MAETZ 1973; MARSHALL 1995; PERRY 1997) und somit wird ein kontinuierliches elektrochemisches Gleichgewicht zwischen Fisch und aquatischer Umwelt aufrechterhalten.

Der Anstieg der Chlorid- und Natriumionen im Blutplasma der Fische war bei einer  $\text{NaCl}$ -Konzentration von  $12 \text{ g l}^{-1}$  am deutlichsten ausgeprägt (vgl. Abbildung 4.13. u. 4.16.). Im Vergleich zur Kontrolle wurde ein bis zu 54%iger Anstieg von Chlorid und ein bis zu 29%iger Anstieg von Natrium im Blutplasma dieser Fische beobachtet. Auch bei der Exposition von Karpfen (*Cyprinus carpio*) mit  $10 \text{ g NaCl l}^{-1}$  wurden ähnliche Beobachtungen gemacht. Hierbei wurden nahezu eine Verdoppelung der Chloridionen und ein 30%iger Anstieg der Natriumionen im Blutplasma der Tiere festgestellt (DE BOECK u. a. 2000). Die unterschiedlich ausgeprägte Konzentrationserhöhung der beiden Ionen im Blutplasma der Zander ist das Resultat einer unabhängig voneinander stattfindenden Ionenaufnahme über das Kiemenepithel (GARCIA ROMEU u. MAETZ 1964). Dies wird insbesondere dadurch deutlich, dass die Chloridkonzentrationen der Zander von 3 bis  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  mit zunehmender  $\text{NaCl}$ -Konzentration in der Umwelt stufenweise anstiegen, die Natriumkonzentrationen derselben Tiere jedoch nahezu konstant blieben. Denn während der elektrochemische Gradient zwischen Fisch und Umwelt für Natrium nahezu neutral ist, ist derjenige für Chlorid nach innen gerichtet (WILKES u. MCMAHON 1986), sodass sich auf Grundlage der unterschiedlichen Gradienten die ausgeprägtere Konzentrationszunahme von Chlorid gegenüber Natrium erklären lässt.

Interessanterweise waren die Plasmachloridkonzentrationen bei den Fischen in 0 bis  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ab dem 3. Versuchstag nahezu ausgeglichen, was im Vergleich mit den stufenweise Konzentrationsanstiegen der Vortage für eine erfolgreiche Regulation dieser Ionen spricht. Möglicherweise ist hierfür die zügige Veränderung und Anpassung der Kiemenmorphologie verantwortlich.

Mit Blick auf die hohe Mortalität bei den mit  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  exponierten Zandern und den dabei deutlich erhöhten Ionenkonzentrationen im Plasma, kann von einer toxischen Wirkung der Ionen ausgegangen werden. Die Toxizität von Salzen mit einem Natriumkation ist zwar primär auf das korrespondierende Anion zurückzuführen (MOUNT u. a. 1997), dennoch kann sich sowohl der Zustand einer Hyperchlorämie als auch Hypernatriämie auf vielfältige Weise negativ auf den Organismus ausgewirkt haben (CASTILLA-GUERRA u. a. 2006; DE BOECK u. a. 2000).

Während sich die Konzentrationen von Chlorid und Natrium bei der Exposition mit  $\text{NaCl}$ , zumindest ab einer gewissen Konzentration im Plasma der Zander, deutlich erhöhten, wurden während der ersten acht Versuchstage keine wesentlichen Veränderungen der Calcium- und Kaliumionen festgestellt (vgl. Abbildung 4.14. u. 4.15.). Die Aufnahme von Calciumionen findet, wie Chlorid und Natrium, unter Süßwasserbedingungen über die Kiemen statt (PERRY 1997), was ebenso für Kalium vermutet wird (EDDY 1985). In einem viertägigen Versuch mit Weißen Saugern (*Catostomus commersonii*) waren diese Ionen, bei einer wasserbürtigen

NaCl-Konzentration von 9,4 ‰ und auch unter verschiedenen Wasserhärten, wie im vorliegenden Versuch ebenfalls unbeeinflusst (WILKES u. MCMAHON 1986). Es wird daher angenommen, dass plasmabürtigem Calcium und Kalium in den ersten Tagen einer NaCl-Akklimation eine untergeordnetere Rolle zukommt. Im weiteren Versuchsverlauf waren die Calciumkonzentrationen weiterhin relativ stabil, jedoch insbesondere der signifikante Rückgang der Kaliumionen im Plasma der mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zander auffällig. Gegenüber der Kontrolle wurde mit zunehmender NaCl-Konzentration ein Rückgang von 34 bzw. 52 % beobachtet. Über die Bedeutung von Kalium für die Osmoregulation ist wenig bekannt. Es gibt jedoch Hinweise, dass unter salinen Bedingungen eine Exkretion von Kalium stattfindet (EDDY 1985; FURUKAWA u. a. 2012). So wiesen an Meerwasser akklimatisierte Tilapien (*Oreochromis mossambicus*) geringere Plasmakaliumkonzentrationen auf als die in Süßwasser gehaltenen Artgenossen. FURUKAWA u. a. (2012) stellten bei den untersuchten Buntbarschen eine aktive Exkretion von Kaliumionen über die mitochondrienreichen Zellen bzw. Chloridzellen in den Kiemen fest. Möglicherweise hat also die dauerhafte Exposition der juvenilen Zander mit NaCl zu einer Reduktion der plasmabürtigen Kaliumionen geführt. Neben osmoregulatorischen Imbalancen, kann ein Mangel an Kalium weitere physiologische Konsequenzen haben. In Studien von SHEARER (1988) war bspw. die Wachstumsleistung von Fischen unter Kaliummangelsituationen verringert.

Über akute und chronische Effekte erhöhter Konzentrationen von Sulfationen im Blutplasma von Fischen liegen derzeit nur sehr begrenzte Erkenntnisse vor (BABERSCHKE u. a. 2019). Auch die Bestimmung der Plasmasulfationen lässt keine eindeutigen Rückschlüsse auf etwaige Effekte einer mit NaCl angereicherten Haltungsumwelt zu (Abbildung 4.18.). Möglicherweise sind Sulfationen beim Ausgleich elektrochemischer Gradienten von Bedeutung. Hier bedarf es weiterer Untersuchungen.

Besonders auffällig waren die ermittelten Nitratkonzentrationen im Blutplasma der Zander. Hohe Nitratkonzentrationen von 100 bis 1 000 mg l<sup>-1</sup> im Prozesswasser von Kreislaufanlagen sind keine Seltenheit (TIMMONS u. EBELING 2013). Ferner kann sich Nitrat, als das Endprodukt des aeroben Ammoniumabbaues in Biofiltern, negativ auf die Performance von Fischen auswirken (bspw. VAN BUSSEL u. a. 2012, MONSEES u. a. 2017), weshalb der Einsatz von Denitrifikationsstufen in geschlossenen Kreislaufanlagen (vgl. MÜLLER-BELECKE u. a. 2013) eine immer breitere Anwendung findet.

Insbesondere bis zum achten Versuchstag erhöhte sich bei einer Zunahme der NaCl-Konzentration auch die Konzentration der Nitrationen im Plasma. Ebenso waren die deutlich erhöhten Plasmanitratkonzentrationen der Fische in 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> am 36. Versuchstag auffällig (Abbildung 4.17.). Die Plasmakonzentrationen waren dabei immer geringer als die Konzentrationen in der Haltungsumwelt (Daten nicht dargestellt), was auf einen Gradienten zwischen Fisch und Wasser hinweist.

Der Aufnahmeweg von Nitrationen in den Organismus ist nicht abschließend untersucht. Zumindest das Integument gilt jedoch als effektive Barriere (SCHRAM u. a. 2014). Folglich kann die Aufnahme sowohl über die Kiemen stattfinden (STORMER u. a. 1996) als auch über das Abschlucken von Wasser (SCHRAM u. a. 2014, MONSEES u. a. 2017). Da sich die Permeabilität von Kiemen mit steigender NaCl-Konzentration verringert (KÜLTZ 2015), sich jedoch die Wasseraufnahme durch Trinken erhöht (BATH u. EDDY 1979), fand die Nitrataufnahme vermutlich primär oral statt. Gefährlich werden könnte das aufgenommene Nitrat für die Fische dann, wenn es, wie bspw. von MONSEES u. a. (2017) für Tilapien (*Oreochromis niloticus*) beschrieben, im Gastrointestinaltrakt zu Nitrit reduziert wird und im Folgenden eine Bildung von fischgiftigem Methhämoglobin einsetzt.

In nitratreichen Haltungsumwelten, wie es in intensiv bewirtschafteten Kreislaufanlagen auch mit einer Denitrifikationsstufe der Fall sein kann, könnten die positiven Effekte des Einsatzes von NaCl durch eine damit einhergehende Nitrataufnahme negativ beeinflusst werden. Aufgrund der hier gewonnenen ersten Erkenntnisse leitet sich ein akuter Forschungsbedarf zur Fisch-Nitrat- sowie Fisch-Nitrat-NaCl-Interaktion ab.

#### **5.1.5.6 Zwischenfazit Hämatologie**

Die hämatologischen Untersuchungen vertiefen die durch das Wachstum und die Futterverwertung erlangten Erkenntnisse zur Haltung von juvenilen Zandern unter Brackwasserbedingungen in geschlossenen Kreislaufanlagen deutlich. Die aussagekräftigsten Parameter waren hierbei der Hämatokritwert, die Osmolalität sowie die Konzentrationen der im Blutplasma gelösten Ionen Chlorid, Natrium und Nitrat.

Bereits kurzfristig hat eine leicht aufgesalzene Haltungsumwelt einen positiven Effekt auf den Cortisolspiegel und damit das Stressniveau der Tiere, wenn diese 24 Stunden einer NaCl-Konzentration von  $3 \text{ g l}^{-1}$  ausgesetzt waren. Aber auch die langfristige Haltung von juvenilen Zandern unter den gegebenen Umweltbedingungen geschlossener Kreislaufanlagen ist unter Berücksichtigung der hämatologischen Ergebnisse bis zu einer NaCl-Konzentration von  $3 \text{ g l}^{-1}$  problemlos möglich.

Das schrittweise Aufsalzen der Anlagen mit maximal  $3 \text{ g NaCl l}^{-1} \text{ d}^{-1}$  hat bei den Fischen keine Stressreaktion ausgelöst, die über hämatologische Parameter wie Cortisol oder Glukose abbildbar gewesen wären, auch wenn die stufenweise Aufsalzung sehr wahrscheinlich physiologische Effekte überdeckt haben wird. Unabhängig davon wird eine stufenweise Erhöhung der NaCl-Konzentration für Zander empfohlen.

Das ausbleibende Wachstum der Fische unter  $6$  und  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  spiegelte sich in den erhobenen hämatologischen Parametern nur bedingt wider. Veränderungen des Wachstums unter dem Einfluss von NaCl können also bereits auftreten, bevor etwaige physiologische Parameter osmoregulatorische Imbalancen aufzeigen (s. a. OVERTON u. a. 2008). Im Gegensatz dazu war die Unverträglichkeit von juvenilen Zandern gegenüber  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  eindeutig über nahezu alle hämatologischen Parameter abbildbar. Die stark abnehmenden Plasmametabolite in dieser Versuchsgruppe lassen den Rückschluss zu, dass es sich für die Fische um eine energiezehrende Stresssituation handelte.

#### **5.1.5 Kiemenhistologie**

Stressoren unterschiedlicher Art, einschließlich Veränderungen der Ionenkonzentrationen in der aquatischen Umwelt, können unspezifische morphologische Veränderungen der Kiemen hervorrufen (MALLATT 1985). Und auch die Exposition der juvenilen Zander mit NaCl hatte ab Konzentrationen  $> 6 \text{ g l}^{-1}$  deutliche Effekte auf die Morphologie der untersuchten Kiemen.

Zunächst sollen die Veränderungen der Anzahl und Größe der Chlorid- und Schleimzellen betrachtet werden. Hierbei gilt es jedoch zu beachten, dass eine lichtmikroskopische Unterscheidung dieser beiden Zelltypen nur sehr bedingt möglich ist (WOOD 2001). Demzufolge können keine Aussagen zu Veränderungen der Relation beider Zelltypen zueinander getroffen werden. Allerdings weisen Untersuchungen durch VIRABHADRACHARI (1961) an Barschkiemen (*Etroplus maculatus*) darauf hin, dass bei einer steigenden Salinität mit einer Zunahme der Chlorid- und einer Abnahme der Schleimzellen zu rechnen ist.

Unabhängig vom Zelltyp kann die festgestellte Zunahme der Zellen sowie die steigende Anzahl hyperthropher Zellen mit zunehmender NaCl-Konzentration (vgl. Abbildung 4.19. u. 4.20.) als ein notwendiger Adaptationsmechanismus verstanden werden, denn vergleichbare

morphologische Veränderungen der kiemenbürtigen Chloridzellen sind auch für andere Fischarten beschrieben worden, die einem Transfer in saline Haltungsumwelten unterzogen wurden (bspw. AZIZI u. a. 2011; KÜLTZ u. a. 1995; PISAM u. a. 1987; RODRIGUEZ u. a. 2002). Beim euryhalinen Killifisch (*Fundulus heteroclitus*) resultiert ein Transfer vom Süß- ins Meerwasser in einer Stimulation der Chloridzellen und einer Sekretion von überschüssigen Ionen (ZADUNAISKY 1996). Die Abgabe dieser Ionen ist für die Wiederherstellung der inneren Homöostase erforderlich. Auch bei den juvenilen Zandern dieses Versuches wurde die Notwendigkeit zur Adaptation, insbesondere durch den ausgeprägten Anstieg der Natriumionen in  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$ , aber auch dem stufenweisen Anstieg der Chloridionen im Blutplasma, deutlich (vgl. Abbildung 4.13. u. 4.14.). Trotz der zügigen Veränderungen der Kiemenmorphologie, was ein Zeichen für eine schnelle Akklimatisierung ist (vgl. SHIRANGI u. a. 2016), waren die Fische in  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  jedoch nicht in der Lage ihren Ionenhaushalt (Chlorid, Natrium) auszugleichen und ihre Homöostase aufrechtzuerhalten. Im Gegensatz dazu könnte die morphologische Umstrukturierung der Chlorid- und Schleimzellen, die ab dem 3. Versuchstag erfolgreiche Osmoregulation der Fische in  $6$  und  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  erklären. Denn zeitgleich mit der Zunahme der Chlorid- und Schleimzellen auf den Kiemen fand eine Reduktion der Konzentration der Chloridionen im Blutplasma dieser Tiere auf das Niveau der Kontrollgruppe statt. Da vom Fisch für die morphologische Anpassung der Kiemen sowie die Aktivität der Chloridzellen Energie bereitgestellt werden muss (ANNI u. a. 2016; CHANG u. a. 2007), könnte der erhöhte osmoregulatorische Energiebedarf der Kiemen, dem primären Organ der Osmoregulation (EVANS u. a. 2005), zudem in Teilen für das ausbleibende Wachstum dieser Versuchsgruppen verantwortlich gemacht werden. Die Zunahme der Anzahl und Größe der Chlorid- und Schleimzellen kann noch eine weitere Implikation haben. Denn durch diese Veränderungen kann sich die Diffusionsstrecke zwischen Blut und Wasser vergrößert haben und damit u. a. der Gasaustausch negativ beeinflusst worden sein (PERRY 1997).

Neben Veränderungen der Chlorid- und Schleimzellen können bei Fischen weitere Veränderungen der Kiemenmorphologie beim Kontakt mit NaCl auftreten, die die Integrität des Kiemenepithels jedoch deutlich schädigen können. Für Scheibensalmler (*Metynnis orinocensis*) stellten VELASCO-SANTAMARÍA u. CRUZ-CASALLAS (2008) eine Zunahme von Hyperplasien, sowie Fusionen von Sekundärlamellen und Ablösungen des Kiemenepithels fest, wenn die Fische mit NaCl exponiert wurden. Der Schweregrad morphologischer Veränderungen korrelierte dabei positiv mit zunehmender NaCl-Konzentration in der Haltungsumwelt. Und auch im vorliegenden Versuch wurden vergleichbare Abweichungen der Kiemenmorphologie durch die kontinuierliche Anwendung von NaCl nachgewiesen (vgl. Abbildung 4.21. - 4.23.).

Die am häufigsten festgestellte histopathologische Veränderung der Kiemen bei den mit NaCl exponierten Zandern waren Hyperplasien an den Sekundärlamellen. Die Hyperplasie ist ein Zustand übermäßiger Proliferation von Zellen und ist das Resultat einer anhaltenden Belastung durch einen Stressor (STRZYZEWSKA u. a. 2016). Innerhalb von acht Expositionstagen wurde bei den Fischen in  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  an knapp 25 % der Sekundärlamellen Hyperplasien festgestellt. Am 36. Versuchstag waren in der Gruppe mit  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  (~ 13 %) im Vergleich zur Kontrolle (~ 5 %) mehr als doppelt so viele Hyperplasien vorhanden. Somit hatten sowohl die NaCl-Konzentration als auch die zeitliche Dauer der Exposition einen Effekt auf die Zanderkiemen. Laut MALLATT (1985) sind Hyperplasien im Kiemengewebe ein adaptiver Schutzmechanismus gegen umweltbürtige Stressoren. Mit Blick auf diese morphologische Veränderung sind NaCl-Konzentrationen  $\geq 9 \text{ g l}^{-1}$  für juvenile Zander als ungeeignet anzusehen.

Des Weiteren wurden Ablösungen des Kiemenepithels festgestellt (Abbildung 4.21.). Ablösungen des Kiemenepithels lassen sich auf vorangegangene Ödembildungen im Kiemengewebe zurückführen und deuten osmoregulatorische Imbalancen an (STRZYZEWSKA u. a.

2016). Während in der Kontrolle im Laufe des Versuches nur sehr vereinzelt Epithelablösungen festgestellt wurden, nahm deren Anzahl mit steigender NaCl-Konzentration zu. Nach einer dreitägigen Exposition mit  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  waren rund 13 % des Kiemengewebes von dieser Veränderung betroffen. Möglicherweise handelt es sich hierbei ebenso um einen Schutzmechanismus der Kiemen, der die reizende Wirkung des NaCl abschwächt (VELASCO-SANTAMARÍA u. CRUZ-CASALLAS 2008). Da es zudem, neben den Ablösungen des Kiemenepithels, zu einer Vergrößerung der Diffusionsstrecke zwischen Wasser und Blut kommt, ist mit einem gestörten Gasaustausch an den Kiemen zu rechnen (WOOD 2001). Insbesondere bei den Fischen in  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  könnte dies für die Tiere eine zusätzliche Belastung gewesen sein. Mit Blick auf die bessere Performance der Fische unter  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  kann jedoch davon ausgegangen werden, dass ein gewisser Anteil von Epithelablösungen ( $\sim 3 \%$ ) von Zandern durchaus toleriert werden kann.

Ferner wurden bei den Zanderkiemen Fusionen der Sekundärlamellen festgestellt. Fusionen sind ein Indikator für schwere Kiemenschädigungen (WOOD 2001) durch chronische Beeinträchtigungen (STRZYZEWSKA u. a. 2016). Speziell bei den Zandern in den höchsten NaCl-Konzentrationen ( $9$  und  $12 \text{ g l}^{-1}$ ) wurde diese Form der Kiemenveränderung festgestellt (Abbildung 4.23.). Der deutliche Anstieg der Lamellenfusionen in  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ab Tag 3 des Versuches und der zeitlich versetzte Anstieg in  $6$  und  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$ , deutet darauf hin, dass die Fusion von Lamellen unter höheren NaCl-Konzentrationen prinzipiell beschleunigt stattfand, die Dauer der Exposition aber ebenso einen Effekt hatte. Letztendlich wird durch die Fusion von Sekundärlamellen die aktive Kiemenoberfläche reduziert (MALLATT 1985), damit wird die Wirkung des Stressors auf den Organismus verringert, jedoch nimmt gleichzeitig die Funktionsfähigkeit der Kiemen ab. Aufgrund der festgestellten Fusionen sollte von längerfristigen Expositionen juveniler Zander mit NaCl-Konzentrationen  $\geq 6 \text{ g l}^{-1}$  abgesehen werden.

Zanderkiemen können als sensibler Indikator bei der Exposition mit NaCl herangezogen werden. Die histologischen Untersuchungen der Zanderkiemen spiegelten die Wachstumsperformance sowie die hämatologischen Reaktionen der Tiere wider.

Die bereits nach 24-stündiger Exposition mit der Zielkonzentration von  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  entstandenen signifikanten Veränderungen der Kiemenmorphologie weisen, im Zusammenhang mit erhöhten Ionenkonzentrationen daraufhin, dass die Fische nicht in der Lage waren zu osmoregulieren. Die bei Fischen in  $12 \text{ g l}^{-1}$  beobachteten, schweren Schädigungen des Kiemenepithels könnten zudem eine Hypoxie ausgelöst haben. Die durch NaCl hervorgerufenen adaptiven Mechanismen der Kiemen waren nicht ausreichend um  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  zu tolerieren. Auch wenn die Zander in  $6$  und  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  erfolgreich osmoregulierten, was trotz der festgestellten morphologischen Veränderungen zunächst für ein funktionierendes Kiemengewebe spricht, ist von einer länger anhaltenden Exposition juveniler Zander mit NaCl-Konzentrationen  $\geq 6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  abzusehen.

Das Kiemenbild der Zander in  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  war dem der Kontrollfische in weiten Teilen sehr ähnlich. Daher kann, zusätzlich zur verbesserten Performance, auch aus Sicht der Kiemen-gesundheit die Applikation von  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  bei der Aufzucht juveniler Zander in Kreislaufanlagen zum Einsatz kommen.

### **5.1.6 Wassergehalt und Bruttoenergiebestimmung**

Bei der Exposition von Süßwasserfischen mit Salzen werden Veränderungen des Körperwasseranteils (ARUNACHALAM u. REDDY 1979) und Energiegehaltes (MATTIOLI u. a. 2017) festgestellt. Im Rahmen des Versuches wurden zum Zeitpunkt der jeweiligen Versuchsauflösung Wassergehalts- und der Bruttoenergiebestimmungen durchgeführt (vgl. Tabelle 4.10.).

Da nicht zu jedem Zeitpunkt Probenmaterial aller Gruppen zur Verfügung stand, lassen sich keine endgültigen Aussagen zu den beiden Parametern treffen.

Im vorliegenden Versuch wurden keine Veränderungen des Körperwasseranteils festgestellt, was darauf hindeutet, dass der Wasserhaushalt der Zander bis  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  nicht gestört war. Auch bei Barschen (*Perca fluviatilis*) wurden in Salinitäten von 0 bis 10 ‰ keine wesentlichen Unterschiede hinsichtlich des Muskelwassergehaltes festgestellt (OVERTON u. a. 2008). Deutlichere Effekte sind erst bei höheren Salzkonzentrationen zu erwarten. Bei Graskarpfen (*Ctenopharyngodon idella*) war der Muskelwassergehalt bspw. ab Salinitäten oberhalb von 12 ‰ signifikant reduziert (MACEINA u. SHIREMAN 1979). Deutliche Abnahmen des Wassergehaltes sind also erst oberhalb des isoosmotischen Punktes zu erwarten, da sich an diesem Punkt die Voraussetzungen für die Osmoregulation umkehren und es zu einem Wasserverlust kommt. Für die mit  $12 \text{ g NaCl l}^{-1}$  exponierte Gruppe lagen jedoch am Versuchsende nicht ausreichend Probenmaterial für eine Analyse vor. Die deutliche Reduktion der Stückmasse innerhalb der acht Versuchstage ist jedoch ein eindeutiger Indikator für einen Verlust von Wasser.

Mit zunehmender NaCl-Konzentration war jeweils eine Abnahme der Bruttoenergie verbunden. Zeitgleich wurde bei den Fischen mit niedrigen Bruttoenergiegehalten ( $6$  und  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) auch reduzierte Konditionsfaktoren festgestellt. Allerdings sind Bruttoenergiegehalte von  $5,4 \text{ MJ kg}^{-1}$  auch für Zander unterschiedlicher Herkunft ermittelt worden (SCHRECKENBACH u. a. 2001) und damit zunächst als nicht unbedingt ungewöhnlich einzustufen. Für eine abschließende Aussage fehlen hier Daten der Kontrollgruppe.

Bei den in  $0$  und  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  aufgezogenen Zandern ließen sich am Versuchsende nur geringfügige Unterschiede feststellen, womit eine Haltung unter  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ohne erwartbare Effekte auf den Wassergehalt und auch die Bruttoenergie der Fische vorgenommen werden kann. Dies bestätigte sich auch in dem durchgeführten Langzeitversuch (AP4).

### 5.1.7 Sauerstoffbedarf

Der Sauerstoffverbrauch unter verschiedenen osmotischen Verhältnissen lässt Rückschlüsse auf die jeweiligen energetischen Kosten zu (ALTINOK u. GRIZZLE 2003). Die juvenilen Zander in der Anlage mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  hatten im Mittel einen um 6 % geringeren Sauerstoffverbrauch als die Fische in der Kontrolle. An Süßwasser adaptierte Silberkarpfen (*Hypophthalmichthys molitrix*) wiesen unter 3 ‰ ebenfalls einen reduzierten Sauerstoffverbrauch auf, allerdings war dieser sogar um etwa 29 % geringer als in der Süßwasserkontrolle. Sowohl in Haltungsumwelten mit geringeren (0 ‰) als auch höheren Salinitäten (5 und 10 ‰) wiesen die Karpfen jedoch höhere Sauerstoffverbräuche auf (VON OERTZEN 1985). Und auch der Sauerstoffverbrauch von Bachforellen (*Salmo trutta*) war in 3 ‰ Salinität um rund 28 % geringer als in der Süßwasserkontrolle und nahm mit weiter steigender Salinität ebenfalls zu (ALTINOK u. GRIZZLE 2003).

Folglich wird unter leicht salinen Umwelten der Stoffwechsel von Süßwasserfischen reduziert. Sehr wahrscheinlich spiegelt dies die verringerten energetischen Kosten für die Osmoregulation wider (ALTINOK u. GRIZZLE 2003; WANG u. a. 1997). Unabhängig von der Höhe der Reduktion des Sauerstoffverbrauches, ist bei dem Einsatz von NaCl mit einer Reduktion des Sauerstoffbedarfes von Zandern zu rechnen. Die Unterschiede hinsichtlich des Sauerstoffverbrauches zwischen den vorgestellten Studien und der vorliegenden können entweder artspezifischer Natur sein, da Zander bspw. die Eigenschaft besitzen generell sehr ruhig in der Wassersäule zu stehen, oder aber das Resultat einer deutlich zu verfeinernden Messmethodik sein (vgl. CHRISTENSEN 2017).

### 5.1.8 Nährstoff- und Energiebilanzen

Unter salinen Umwelten kann sich die Verdaulichkeit von Nährstoffen bei Fischen verändern (ALTINOK u. GRIZZLE 2001, KANG'OMBE u. BROWN 2008). So resultiert bei australischen Grunzbarschen (*Bidyanus bidyanus*) eine leicht saline Umwelt (4 ‰ Salinität), im Vergleich zur Aufzucht in Süßwasser, in einer erhöhten Nährstoffverwertung. Dabei wurde eine um etwa 42 % höhere Stickstoff- und eine etwa 43 % höhere Phosphorausnutzung der Tiere festgestellt (KIBRIA u. a. 1999). Als eine mögliche Ursache werden Veränderungen der Verdauungsenzyme durch den Einfluss von im Wasser gelösten und durch die Fische aufgenommenen Ionen diskutiert (BOEUF u. PAYAN 2001).

In diesem Versuch konnte auf Grundlage der scheinbaren Verdaulichkeitskoeffizienten jedoch kein Effekt der Salinität festgestellt werden. Für beide Futterinhaltsstoffe wurde unabhängig von der NaCl-Konzentration (0 und 3 g l<sup>-1</sup>) eine mittlere Verdaulichkeit von > 98 % festgestellt. Speziell für den Zander liegen keine anderen Studienergebnisse für einen direkten Vergleich der SKV vor. Die ermittelte scheinbare Verdaulichkeit der Zander ist jedoch im Vergleich zu anderen Fischarten beim Rohprotein um etwa 8 bis 11 % (ABDELGHANY 2003; GODDARD u. MCLEAN 2001; OGUNJI u. a. 2009) und bei Phosphor zwischen 18 und 57 % höher (ALLAN u. a. 1999; SCHAMBER u. a. 2014).

Aufgrund der sehr hohen SVK sowie der Divergenz zu anderen Studien wird angenommen, dass Rücklösungsprozesse der Nährstoffe in die Wassersäule stattgefunden haben bevor die Kotproben über den Konus des Biofilters (Abbildung 3.1.) gewonnen werden konnten. Unabhängig von den berechneten SVK lassen die verbesserte Futtermittelverwertung sowie die höheren Endstückmassen bei den Zandern in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> die Vermutung zu, dass die Nährstoffverwertung der Tiere unter leicht salinen Bedingungen verbessert war. Für abschließende Aussagen sind jedoch in diesem Fall weitere Untersuchungen notwendig.

Die Bestimmung des Parameters Rohfett war aus den gewonnenen Kotproben nicht möglich. Somit können keine Aussagen zur Verdaulichkeit der zugeführten Energie getroffen werden. Unabhängig davon weisen die Ergebnisse der Bruttoenergiebestimmung (vgl. Tabelle 4.10.) jedoch darauf hin, dass sich die Bruttoenergiegehalte der in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> gehaltenen Zander nicht von der Kontrolle unterschieden.

### 5.1.9 Fazit

Die optimale NaCl-Konzentration bei der Aufzucht juveniler Zander in geschlossenen Kreislaufanlagen ist 3 g l<sup>-1</sup>. Beim Einsatz dieser Konzentration ist, im Vergleich mit einer Aufzucht im Süßwasser, mit einem erhöhten Wachstum und einer verbesserten Futtermittelverwertung zu rechnen. Dies kann als eine Verbesserung des Tierwohles interpretiert werden (HUNTINGFORD u. a. 2006). Eine 24-stündige Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> reduziert die Konzentration des Stresshormons Cortisol im Blutplasma der Zander deutlich und wird deswegen im Anschluss an Sortiervorgänge ausdrücklich empfohlen. Beim Einsatz von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> sind zudem auch langfristig keine negativen Effekte im Hinblick auf die Konditions- und Organindizes, der Hämatologie und der Kiemengesundheit zu erwarten. Jedoch scheint bei wiederholtem Handling der Tiere eine mindestens 36-tägige Adaptationsphase an die neuen Umweltbedingungen notwendig zu sein.

Das schrittweise Aufsalzen der Anlagen mit maximal 3 g NaCl l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> hat bei den Fischen keine Stressreaktion ausgelöst, die über hämatologische Parameter wie Cortisol oder Glukose abbildbar gewesen wäre. Aus diesem Grund wird bei Zielkonzentrationen > 3 g NaCl l<sup>-1</sup> eine schrittweise Erhöhung der Salinität um maximal 3 g NaCl l<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> empfohlen.

Unter den gegebenen Umweltbedingungen wurden von den juvenilen Zandern NaCl-Konzentrationen oberhalb von 6 g l<sup>-1</sup> nur eingeschränkt toleriert, weshalb sich NaCl bei un-

sachgemäßer Anwendung als ein Stressor für die Tiere darstellt. Die Bestimmung der Osmolalität sowie der Ionen im Blutplasma belegen, dass juvenile Zander in bis zu 9 g NaCl l<sup>-1</sup> erfolgreich osmoregulieren, allerdings zeichnete sich bei den Fischen in 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> eine ausgeprägte Wachstumsdepression und eine deutlich verschlechterte Futtermittelverwertung ab. Zusätzlich deuten die Konditions- und Organindizes daraufhin, dass sich eine Haltung unter diesen Konzentrationen sich für die Fische als energiezehrend darstellt. Die hämatologischen sowie kiemenhistologischen Ergebnisse unterstreichen die deutlich eingeschränkte Verträglichkeit gegenüber diesen Konzentrationen.

Eine NaCl-Konzentration von 12 g l<sup>-1</sup> tolerieren juveniler Zander nicht. Innerhalb von acht Tagen wurden Stückmasseverluste und ausgeprägte Mortalitäten festgestellt. Die Unverträglichkeit gegenüber 12 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde dabei anhand aller erhobenen fischgesundheitlichen Parameter bestätigt.

Die Markierung mittels PIT hatte keine feststellbaren Effekten auf das Wachstum von Zandern während des Versuches. Die individuellen Markierungen eines Teils der Versuchstiere erlaubten jedoch zusätzliche Erkenntnisse, die jene einer regulären Gruppenwägung vertiefen. Insbesondere in jenen Gruppen, in denen auf Grundlage der Gruppenwägung kein oder nur ein sehr geringes Wachstum festgestellt wurde (6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup>), wiesen vereinzelte Individuen somatisches Wachstum auf. Dieser Umstand bietet Potenzial für züchterische Ansätze.

## 5.2 AP2

### 5.2.1 Gültigkeitskriterium

Das Gültigkeitskriterium des Versuches wurde eingehalten. Auf den Fischen der *Negativkontrolle* wurden zu keinem Zeitpunkt Ektoparasiten festgestellt. Es wird demnach davon ausgegangen, dass keine Kreuzkontamination zwischen den Anlagen, aber auch keine Kontamination mit Ektoparasiten über das täglich gewechselte Frischwasser stattgefunden hat.

### 5.2.2 Wasserparameter

Alle während des Versuches ermittelten Wasserwerte (vgl. Tabelle 4.13.) können als für Zander unbedenklich angesehen werden. Allerdings bestanden, neben den bezweckten signifikanten Unterschieden der Leitfähigkeit des Wassers durch NaCl-Applikation, auch signifikante Unterschiede in der Konzentration des gelösten Sauerstoffes in den einzelnen Anlagen. Alle Anlagen wurden mittels Membrankompressor und einer gleichen Anzahl von Sauerstoffausströmern betrieben, die in identischer Wassertiefe installiert waren. Die Sauerstoffkonzentration in der *Positivkontrolle* ( $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) war jedoch im Mittel am niedrigsten ( $6,9 \text{ mg l}^{-1}$ ). Dieser Wert unterschied sich zwar nicht signifikant von der *Negativkontrolle* ( $7,1 \text{ mg l}^{-1}$ ) und der Anlage mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ( $7,1 \text{ mg l}^{-1}$ ). Allerdings unterschieden sich diese drei Sauerstoffkonzentrationen signifikant von jener in der Anlage mit  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ( $7,3 \text{ mg l}^{-1}$ ). Im Anschluss an den eigentlichen Versuch wurden daher die Kreislaufanlagen weitere drei Tage betrieben und die Sauerstoffkonzentrationen am zentralen Ablauf ermittelt ( $n = 8$ ). In den fischfreien Anlagen konnten keine signifikanten Unterschiede der Sauerstoffkonzentrationen zwischen den vier Kreislaufanlagen festgestellt werden (Daten nicht dargestellt). Aufgrund dessen kann ein systemischer Fehler ausgeschlossen werden.

Da die Löslichkeit von Sauerstoff im Wasser von dessen Salzkonzentration abhängig ist und mit zunehmender Salzkonzentration die Löslichkeit von Sauerstoff sinkt (WORCH 1997), kann der Faktor „Aufsalzung“ mit Blick auf die signifikant verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen ebenfalls ausgeschlossen werden.

Mit Ektoparasiten befallene Fische können jedoch einen veränderten Sauerstoffbedarf aufweisen. Dieser kann dabei um bis zu 35 % höher sein als von nicht infizierten Artgenossen (GRUTTER u. a. 2011). Hierfür gibt es zwei Erklärungen. Zum einen können Ektoparasiten den Energiebedarf der Fische beim Schwimmen erhöhen (bspw. BINNING u. a. 2013), da sich die Grenzflächen zwischen Fisch und Wasser verändern. Zum anderen kann der erhöhte Sauerstoffbedarf durch allgemeine Stressreaktionen bei einem Ektoparasitenbefall bedingt sein (JORGENSEN u. BUCHMANN 2007). Zusätzlich zu den Effekten der Ektoparasiten ist es sehr wahrscheinlich, dass der Sauerstoffbedarf der Versuchsfische unter leicht salinen Bedingungen reduziert war (vgl. IWAMA u. a. 1997), da unter diesen Umweltbedingungen der Energiebedarf für die Osmoregulation verringert ist (ALTINOK u. GRIZZLE 2003). Zusammen erklärt dies warum in der Anlage mit der höchsten Dichte von Trichodinidae ( $0 \text{ g NaCl l}^{-1}$  *Positivkontrolle*) die geringsten Sauerstoffkonzentrationen ermittelt wurden und in der Anlage mit der niedrigsten Trichodinidae-Dichte ( $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$ ) die höchsten Sauerstoffkonzentrationen.

### 5.2.3 Wachstum und Entwicklung der Zander

Sowohl bei den mittleren Start- und Endstückmassen ( $120 - 121 \text{ g} / 125 - 134 \text{ g}$ ) sowie den spezifischen Wachstumsraten ( $0,27 - 0,51 \text{ \% d}^{-1}$ ), der Futterverwertung ( $1,56 - 2,29 \text{ kg Futter/kg Zuwachs}$ ) als auch der Mortalität ( $0 \text{ \%}$ ), bestanden keine Unterschiede zwischen den Versuchsanlagen (vgl. Tabelle 4.14.). Allerdings wies die *Negativkontrolle* sowohl die höchst-

ten spezifischen Wachstumsraten ( $0,51 \% d^{-1}$ ) als auch die beste Futtermittelverwertung ( $1,56 \text{ kg Futter/kg Zuwachs}$ ) auf.

Tendenziell befand sich das Wachstum aller Versuchsgruppen, wie schon in **AP1** beobachtet, auf einem niedrigen Niveau. Das von MÜLLER-BELECKE u. ZIENERT (pers. Kom.) entwickelte Protokoll für die Zanderfütterung und deren Wachstum in Kreislaufanlagen sieht für die herangezogene Fischgröße eine Futtermittelverwertung von etwa  $1,0 \text{ kg Futter/kg Zuwachs}$  und spezifische Wachstumsraten von  $1,2-1,4 \% d^{-1}$  vor (vgl. Tabelle 4.25.).

Das Wachstum ist einer der wichtigsten physiologischen Prozesse bei der Aufzucht von Fischen in der Aquakultur. Intensive Produktionsbedingungen können jedoch den Befall mit Parasiten und anderen Erregern begünstigen, die ihrerseits Einfluss auf das Wachstum nehmen. Ektoparasiten sind in der Lage die individuelle Fitness von Fischen zu beeinträchtigen, indem sie das Verhalten, aber auch morphologische und physiologische Merkmale beeinflussen (BINNING u. a. 2013). Eine Infestation mit Ektoparasiten kann in einem reduzierten Wachstum der Fische resultieren (vgl. SANMARTIN u. a. 1991; YIN u. a. 2014), wobei Defizite von bis zu 26 % gegenüber der nicht infizierten Kontrollgruppe berichtet worden sind (SANMARTIN u. a. 1991). Neben dem Rückgang des Wachstums ist ebenso ein Rückgang der Futtermittelverwertung von infizierten Fischen beschrieben worden (YIN u. a. 2014). Die Effekte des reduzierten Wachstums bzw. der verringerten Futtermittelverwertung in diesem Versuch können dabei, neben dem versuchsbedingt unumgänglichen zusätzlichen Handling und dem spezifischen Aufbau der Versuchsanlagen (schmale Becken, hohe Wassersäule, geringe Besatzdichten mit Ausbildung von Hierarchien zwischen den Tieren), insbesondere der NaCl-Applikation und der notwendigen Adaptationsphase an die osmotischen Bedingungen zugeschrieben werden (**AP1**) sowie auch dem Ektoparasitenvorkommen auf den Fischen. Eine deutliche Trennung der Effekte „NaCl“ und „Parasit“ ist an dieser Stelle nicht möglich. Dafür hätte der Versuch ausgeweitet und weitere Anlagen mit nicht-infizierten Zandern unter identischen Bedingungen betrieben werden müssen.

#### **5.2.4 Ektoparasiten**

Auf den Zandern der Anlagen mit  $0, 3$  und  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  wurden während des Versuches zwei Arten von Ektoparasiten festgestellt. Zum einen handelte es sich dabei um einen Hakensaugwurm der Familie der Dactylogyridae und zum anderen um einen Vertreter der Familie der Trichodinidae.

Vertreter beider Familien wurden sowohl bei in künstlichen Teichen aufgezogenen Jungzandern (RAHKONEN 1994) als auch adulten Zandern aus natürlichen Gewässern beobachtet (MOVAHED u. a. 2016) und können beim Transfer der Fische in geschlossene Kreislaufanlagen ein Problem hinsichtlich der Anlagenhygiene und damit für die Fischgesundheit darstellen (vgl. NÉMETH u. a. 2013).

Im Gegensatz zu Ergebnissen von kontrollierten Infestationsversuchen (BARKER u. a. 2002) konnte zu Versuchsbeginn kein Zusammenhang zwischen der Ektoparasiten-Dichte und dem Konditionsfaktor der Zander festgestellt werden. Dies deutet auf einen Befall der Versuchsfische mit Ektoparasiten hin, der unabhängig vom individuellen Konditionsfaktor stattgefunden hat.

##### **5.2.4.1 Dactylogyridae**

Dactylogyridae sind mehrzellige Haut- bzw. Kiemenwürmer und haben eine schlanke, spindelförmige Gestalt mit Körperlängen von bis zu  $2 \text{ mm}$  (HOFFMANN 2005). Der Kopf ist mit schwarzen, punktförmigen Augenflecken ausgestattet. Dactylogyridae legen Eier, aus denen

schwimmfähige Larven schlüpfen, die sich im Anschluss an den Befall des Wirtes auf selbigem zum geschlechtsreifen Saugwurm entwickeln (SCHÄPERCLAUS 1990). Die Entwicklung des Eies ist temperaturabhängig und beträgt bei 20 - 28 °C Wassertemperatur zwischen 1 bis 5 Tage (SCHÄPERCLAUS 1990, HOFFMANN 2005). Die Geschlechtsreife wird nach weiteren 7 bis 8 Tagen erreicht (SCHÄPERCLAUS 1990).

Hakensaugwürmer können zu Fischverlusten führen (AL-HARBI 2011; KRITSKY u. HECKMANN 2002; THONEY u. HARGIS 1991), infizierte Wirte lassen sich aber mit Hilfe verschiedenster chemischer Substanzen behandeln (THONEY u. HARGIS 1991). Auch der Einsatz von Salzen (NaCl) ist empfohlen, allerdings oftmals in hohen Konzentrationen (Kurzzeitbäder von 10 - 50 g NaCl l<sup>-1</sup> für 1,5 bis 20 min), sodass zwar Ektoparasiten effektiv inaktiviert werden können, gleichzeitig aber der jeweilige Wirtsfisch signifikant gestresst sein kann (vgl. THONEY u. HARGIS 1991). Niedriger dosierte NaCl-Bäder (7 g NaCl l<sup>-1</sup>) über einen Zeitraum von 24 Stunden sind hingegen als nicht effektiv eingestuft worden (WILLOMITZER 1980). Wohl auch deshalb wird die Applikation von NaCl in niedrigen Konzentrationen (1 - 2 g l<sup>-1</sup>) über einen langen Zeitraum empfohlen (BUCHMANN u. a. 1987; SWANN u. FITZGERALD 1992), wobei hierbei von einem wesentlich geringeren Stress für die Fische ausgegangen werden kann, so denn die Parasiten tatsächlich inaktiviert werden und nicht etwa weiter schadhafte Wirkungen ausstrahlen können.

In der *Positivkontrolle* (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) fand während des Versuches eine Zunahme der Dactylogyridae-Dichte statt. Dabei stieg sowohl die Anzahl der infizierten Fische als auch die Anzahl der Individuen. Bei einer Entwicklungsdauer von 1 bis 5 Tagen und den notwendigen 7 bis 8 Tagen zur Erreichung der Geschlechtsreife (SCHÄPERCLAUS 1990, HOFFMANN 2005), konnten die Hakensaugwürmer ihren Entwicklungszyklus demnach erfolgreich abschließen und sich fortpflanzen.

In der Kreislaufanlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> wurden an Tag 7 Dactylogyridae auf den Zandern festgestellt, jedoch weder am Versuchsstart noch am Versuchsende. In den anderen beiden Anlagen war zu Versuchsbeginn jedoch jeweils ein Fisch mit einem Hakensaugwurm befallen. Drei Gründe könnten diese Abweichung erklären: (i) die Zander waren zu Versuchsbeginn nicht gleichmäßig mit diesem Parasiten befallen, (ii) die Fische waren nicht infiziert, sondern bei der initialen Füllung der Kreislaufanlage mit Wasser oder dem Besatz wurden Dactylogyridae oder ihre Entwicklungsstadien in die Einheit transferiert, oder (iii) am Versuchsstart lagen die Hakensaugwürmer in dieser Gruppe noch als Ei in den Kiemen vor und wurden deshalb übersehen.

Folglich hätten die Fische also entweder mit Vertretern der Dactylogyridae standardisiert infiziert werden müssen (vgl. BARKER u. a. 2002, GANNICOTT u. TINSLEY 1998) oder aber aufgrund der allgemein sehr niedrigen Prävalenz war die Anzahl der untersuchten Zander pro Probenahme (n = 4 Becken, n = 12 pro Anlage) für diesen Ektoparasiten nicht ausreichend, um aussagekräftigere Ergebnisse generieren zu können.

Am Versuchsende wurden in der Kreislaufanlage mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> keine Hakensaugwürmer mehr festgestellt. Andere Vertreter (*Aphanoblastella mastigatus*) reagieren bereits bei einer 24-stündigen Exposition von erhöhten NaCl-Konzentrationen (0 vs. 5 vs. 9 g NaCl l<sup>-1</sup>) mit einer reduzierten Eiablage und einer verringerten Anzahl an abgelegten Eiern, welche letztendlich bei 9 g NaCl l<sup>-1</sup> vollständig zum Erliegen kam (MARCHIORI u. a. 2015). NaCl könnte folglich auf wenigstens dreierlei Wegen wirken. Zum einen werden durch NaCl die Ablagerate und die Anzahl der Eier verringert, was die Vermehrung des Parasiten stark einschränkt. Zum anderen könnten die langandauernden osmotischen Veränderungen zu physiologischen Imbalancen führen (KIRSCHNER 2004), wodurch letztendlich auch die im Ei vorliegenden sowie heranwachsenden und adulten Hakensaugwürmer inaktiviert werden (MARCHIORI u. a. 2015) und der Lebenszyklus unterbrochen wird. Zudem schleimen Fische unter dem

Einfluss von hypertonen NaCl-Konzentrationen vermehrt (SCHÄPERCLAUS 1990), sodass möglicherweise die Hakensaugwürmer und deren Eier abgestoßen worden sind.

#### 5.2.4.2 Trichodinidae

Trichodinidae sind einzellige Fischparasiten (AMLACHER 1986) und haben bei Draufsicht einen runden Körperbau und bei seitlicher Betrachtung eine glockenförmige Gestalt (SCHÄPERCLAUS 1990). Die Parasiten werden bis zu 100 µm groß (HOFFMANN 2005) und deren teilweise explosionsartige Vermehrung erfolgt asexuell durch einfache Querteilung (AMLACHER 1986). Trichodinidae befallen die Haut und die Kiemen von Fischen. Mit ihrer Saugscheibe heften sich Trichodinidae an ihren Wirt, ernähren sich aber nicht von diesem, sondern von Bakterien und organischem Material (COLLYMORE u. a. 2013). Frei im Wasser schwimmend ist es den Ciliaten möglich ihren Wirt zu wechseln (AMLACHER 1986). Trichodinosen, auch in Kombination mit anderen Ektoparasiten, können für Fischverluste verantwortlich gemacht werden (vgl. KHAN 1991; PEARSE 1972). Zur Behandlung von Trichodinosen ist, neben der Verwendung von Chemikalien oder UV-C-Strahlung, der Einsatz von Salzen (NaCl) empfohlen (AMLACHER 1986; GRIGNARD u. a. 1996; SCHÄPERCLAUS 1990; SMITH u. SCHWARZ 2019). In der Regel werden Kurzzeitbäder mit hohen NaCl-Konzentrationen empfohlen.

In der Kreislaufanlage ohne NaCl-Applikation wurden am Tag 0, 7 und 21 Trichodinidae auf den Zandern festgestellt, allerdings mit einer abnehmenden Tendenz. In den 21 Versuchstagen reduzierte sich die Trichodinidae-Dichte um insgesamt 28,6 % (Abbildung 4.25.). Einen Rückgang der Dichte von *Trichodina* sp. in der Kontrollgruppe (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) während eines 14-tägigen Versuches mit Zandern in Kreislaufanlagen wurden auch von NÉMETH u. a. (2013) beobachtet. Der beobachtete Rückgang in den Kontrollgruppen lässt sich auf die sich einstellenden Umweltverhältnisse in geschlossenen Kreislaufanlagen zurückführen. Wasseruntersuchungen von mit *Trichodina jadratica* befallenen Aalquakulturanlagen durch MADSEN u. a. (2000) geben Hinweise, dass bei höheren pH-Werten (6,2 - 7,4) und niedrigen Nitratkonzentrationen (33 - 113 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N l<sup>-1</sup>) häufiger Infestationen auftreten als in Anlagen mit niedrigeren pH-Werten (5,4 - 6,9) und hohen Nitratkonzentrationen (56 - 203 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N l<sup>-1</sup>). Damit kann der durch die Nitrifikation absinkende pH-Wert des Anlagenwassers mit dem gleichzeitigen Anstieg der Nitratkonzentration potentiell für den Rückgang der Dichte der Trichodinidae in der Kontrollgruppe (0 g NaCl l<sup>-1</sup>) verantwortlich gemacht werden. In den Anlagen mit 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> könnten die sich im Versuchsverlauf ebenfalls veränderten Umweltparameter unterstützend zur NaCl-Applikation gewirkt haben.

Gegen Trichodinosen bei Süßwasserfischen kommt im Allgemeinen der Einsatz von 1,5 - 3 g NaCl l<sup>-1</sup> zur Anwendung (SMITH u. SCHWARZ 2019). Um Infestationen vorzubeugen und diese zu kurieren, werden in der intensiven Aufzucht von, dem Zander verwandten, Flussbarschen (*P. fluviatilis*) wiederholte Salzbäder mit 3 g l<sup>-1</sup> empfohlen (GRIGNARD u. a. 1996). In der hier vorliegenden Studie war ein 21-tägiges Dauerbad mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> zwar in der Lage die Dichte der Ciliaten auf Zandern signifikant zu reduzieren (um 99,1 %), eine vollständige Reduzierung der Parasitenzahl auf Null war jedoch nicht möglich (Abbildung 4.25.). Möglicherweise ist die einmalige Anhebung der NaCl-Konzentration auf 3 g l<sup>-1</sup> bei Trichodinosen nicht ausreichend, um deren Prävalenz vollständig zu stoppen. Auch wenn sich die Ergebnisse der 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> Expositionen nicht signifikant voneinander unterscheiden (Abbildung 4.25.), kann es jedoch auch bei einer nur sehr geringen Prävalenz zu erneuten Infestationen kommen (vgl. JIMÉNEZ-GARCÍA u. a. 2012), insbesondere da sich Trichodinidae asexuell durch Querteilung vermehren. Ob stattdessen die von GRIGNARD u. a. (1996) wiederholten Expositionen mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> für die Abtötung von Trichodinidae auf Zandern ausreichen würden, müsste in weiteren Versuchen überprüft werden. Allerdings weisen die Er-

gebnisse aus der Anlage mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> darauf hin, dass eine höhere NaCl-Konzentration zur Inaktivierung von Trichodinidae benötigt wird.

In der Kreislaufanlage mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde bereits am Tag 7 ein deutlicher Rückgang und am Tag 21 eine vollständige Reduktion festgestellt (Abbildung 4.25.). Auch NÉMETH u. a. (2013) beschrieben eine vollständige Inaktivierung von *Trichodina* sp. auf juvenilen Zandern in Kreislaufanlagen, allerdings bei einer geringeren Salzkonzentration (5 g NaCl l<sup>-1</sup>) und in einer kürzeren Zeit (14 Tage). Dieser Versuchsaufbau beinhaltete jedoch, um Kreuzkontaminationen zwischen den Becken zu verhindern, zwei in Reihe geschaltete 18 Watt UV-Strahler in der Kreislaufanlage. Der Effekt der Inaktivierung von *Trichodina* sp. in NÉMETH u. a. (2013) kann aus diesem Grund nicht ausschließlich auf die Salzapplikation im Dauerbad zurückgeführt werden. Insbesondere da sich in anderen Versuchen herausstellte, dass eine Übertragung von Trichodinidae (*Trichodina truttae*) von infizierten zu nicht infizierten Salmoniden (*Oncorhynchus keta*) mit Hilfe von UV-C-Strahlung vollständig unterbinden lässt (MIZUNO u. a. 2019).

Eine wichtige, jedoch subjektive Beobachtung während der Probenahmen war zudem, dass die Zander in der 6 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislaufanlage eine wesentlich geringere Schleimhautdicke aufwiesen als die Fische aus der *Positivkontrolle* und der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Kreislaufanlage. Vielmehr fühlten sich die Fische sogar „trocken“ an. Auch SCHÄPERCLAUS (1990) beschreibt dieses Phänomen für in hypertonischen NaCl-Lösungen behandelte Fische. Als Folge der erhöhten Natriumkonzentrationen schleimen Fische stark ab, wodurch dann die Ektoparasiten zusammen mit dem Schleim abgestoßen werden. Da sich die Parasiten dann allerdings immer noch in der Kreislaufanlage befinden und einen anderen Fisch befallen könnten (vgl. MIZUNO u. a. 2019), liegt die Vermutung nahe, dass 6 g NaCl l<sup>-1</sup> die Fische zum einen von einem Befall mit Trichodinidae befreit und zum anderen durch eine osmotische Druckdifferenz für eine effektive Reduzierung selbiger sorgt.

### 5.2.5 Fazit

Im Vergleich mit der *Negativkontrolle* waren das Wachstum und die Futtermittelverwertung der mit Ektoparasiten infizierten Zander in den Anlagen mit NaCl-Applikation reduziert. Es wird angenommen, dass sowohl der Befall mit Parasiten als auch die notwendige Anpassung an neue osmotische Bedingungen dafür verantwortlich waren. Von den mit Ektoparasiten befallenen Zandern wiesen die mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> behandelten Fische die beste Futtermittelverwertung und die höchsten spezifischen Wachstumsraten auf.

Während die Dichte der Dactylogyridae in der *Positivkontrolle* während des Versuches wie erwartet zunahm, reduzierte sich die der Trichodinidae in dieser Gruppe im Laufe der Zeit auch ohne die Zugabe von NaCl. Diese Abnahme der Trichodinidae-Dichte ist vermutlich auf die sich ändernden Umweltbedingungen in geschlossenen Kreislaufanlagen (Absinken des pH-Wertes, Erhöhung der Nitratkonzentrationen) zurückzuführen.

Bei Dactylogyridae sind die gewonnenen Ergebnisse nicht eindeutig. Möglicherweise sind bereits 3 vielleicht aber erst 6 g NaCl l<sup>-1</sup> zur Abtötung dieses mehrzelligen Parasiten notwendig. Eine explizite Aussage kann aufgrund der Inkonsistenz der Ergebnisse an dieser Stelle nicht getätigt werden (es fehlte ein Dactylogyridae-Befall am Versuchsstart in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage). Hier könnten kontrollierte Infestationsversuche Klarheit bringen.

Bei dem Einsatz von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde die Trichodinidae-Dichte zwar signifikant reduziert, jedoch nicht vollständig eliminiert, weshalb es u. U. zu Re-Infestationen kommen könnte (vgl. JIMÉNEZ-GARCÍA u. a. 2012). Demnach sind zur Bekämpfung von Trichodinidae bei der Zanderaufzucht in geschlossenen Kreislaufanlagen 3 g NaCl l<sup>-1</sup> als Dauerbad für 21 Tage nicht ausreichend. Mit diesem Versuch ist jedoch der Nachweis gelungen, dass mit Hilfe von NaCl

die Trichodinidae-Dichte auf Zandern mit Stückmassen von 120 g, unter Bedingungen der Kreislaufanlagenbewirtschaftung und ohne den Einsatz von Chemikalien/Medikamenten, vollständig auf null gesenkt werden kann. Da zwischen dem 7. und 21. Tag keine weitere Beprobung stattgefunden hatte, muss vorsorglich davon ausgegangen werden, dass 6 g NaCl l<sup>-1</sup> im Dauerbad über einen Zeitraum von 21 Tagen bei Wassertemperaturen von 22 – 23 °C für die erfolgreiche Behandlung von Trichodinidae-Infestationen bei Zandern angesetzt werden müssen. Berücksichtigt werden muss in der Aquakulturpraxis dabei jedoch, dass die Leistungsfähigkeit der Biofilter bei einer Erhöhung der NaCl-Konzentration sichergestellt werden muss.

### 5.3 AP3

Mit Hilfe einer Reihe von Einzelversuchen wurde untersucht, welches die jeweils optimale NaCl-Konzentration bei der Haltung von vier sich deutlich unterscheidenden ontogenetischen Entwicklungsstufen des Zanders (Ei, Larve, Fingerling, Setzling) ist.

Zunächst werden die gewonnenen Erkenntnisse der jeweils untersuchten Altersstufe getrennt voneinander betrachtet und in den Kontext mit Studienergebnissen ähnlicher Alters- bzw. Entwicklungsstufen gesetzt. Abschließend erfolgt dann eine ganzheitliche Betrachtung der gewonnenen Erkenntnisse, anhand derer die optimale NaCl-Konzentration für die Haltungsumwelt von Zandern in geschlossenen Kreislaufanlagen festgelegt werden soll. Ferner soll so ein optimaler Zeitpunkt für eine Aufsatzung der Haltungsumwelt hergeleitet und die Toleranz von Zandern gegenüber NaCl abgeleitet werden. Bei der abschließenden Betrachtung werden zusätzlich die Erkenntnisse aus der **AP1**, **AP2** und **AP4** berücksichtigt.

#### 5.3.1 Zanderembryonen im Ei

Anhand der Ergebnisse des Fischeitests lässt sich ableiten, dass im Konzentrationsbereich von 0 bis 6 g NaCl l<sup>-1</sup> eine Inkubation von Zandereiern möglich ist, ohne dass Mortalitäten der Embryonen zu erwarten sind (Abbildung 4.27.). Analog dazu bestätigen Ergebnisse von TIBBLIN u. a. (2012) mit Laich von Barschen (*P. fluviatilis*) die Beobachtungen dieses Experiments. Dabei sammelten die Wissenschaftler Laichschnüre und inkubierten diese im Labor unter zwei salinen Regimen (0 und 7 ‰ (Brackwasser der Ostsee)). Hinsichtlich des Schlupferfolges der Barschlarven, welcher indirekt auch als Indikator für die Entwicklung der Tiere herangezogen werden kann, stellten TIBBLIN u. a. (2012) keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Salzkonzentrationen fest.

NaCl-Konzentration  $\geq 9$  g l<sup>-1</sup> wurden von den inkubierten Zandereiern hingegen nicht toleriert. Ab dieser Konzentration stieg die Sterblichkeit der Embryonen signifikant auf 47 % an. Auch bei der Durchführung von Fischeitests mit Zebraäbrlingsembryonen (*Danio rerio*) sind vergleichbare Ergebnisse gewonnen worden. HENN (2011) gibt für eine 48-stündige Exposition der Embryonen eine mittlere lethale Konzentration von 7,09 g NaCl l<sup>-1</sup> an. Eine 100%ige Mortalität der Zebraäbrlingsembryonen trat etwa bei 12 g l<sup>-1</sup> ein, was auch für die Zanderembryonen in dieser Arbeit festgestellt wurde. Artenunabhängig ist damit ein ähnlicher Trend zu erkennen. Der Anstieg der Mortalität von Embryonen bei zunehmenden Salzkonzentrationen ist auch für andere Perciden beschrieben worden. Für zwei Populationen des Amerikanischen Flussbarsches (*Perca flavescens*) wurden in Inkubationsversuchen mit Laich bei Salzkonzentrationen von 0, 7, 9 und 12 ‰, Mortalitäten von 4, 16, 28 und 100 % festgestellt (VICTORIA u. a. 1992). Und die Eier des anadromen Felsenbarsches (*Morone saxatilis*) tolerieren zwar höhere Salzkonzentrationen von bis zu 15 ‰ ohne signifikante Unterschiede zur Inkubation in Süßwasser, eine weitere Zunahme der Salzkonzentration führt jedoch ebenfalls zu einem schrittweisen Anstieg der Verluste bis zu 100 % ( $\geq 24$  ‰) (WINGER u. LASIER 1994). Unabhängig von der Toleranz gegenüber salinen Umwelten, wird eine identische Reaktion der Fischembryonen bei einer ansteigenden Salinität deutlich.

Ein Fischembryo weist eine sehr geringe Permeabilität gegenüber Wasser und Ionen auf (MANGOR-JENSEN 1987), da dieser durch die Eizellmembran und das Ektoderm geschützt ist (RIIS-VESTERGAARD 1987). Das Fischei hingegen ist von einer porösen, nichtzellulären Hülle umgeben. Diese ist für niedermolekulare Stoffe permeabel, nimmt jedoch nicht aktiv an der Osmoregulation teil, weshalb die perivitelline Flüssigkeit des Eies und die aquatische Umwelt isoosmotisch zueinander sind (KLINKHARDT u. WINKLER 1989). Veränderungen des osmotischen Gradienten nach einer NaCl-Exposition haben demnach physiologische Konsequenzen für den sich entwickelnden Embryo.

In Versuchen mit Augenpunkteiern des Ketalachses (*Oncorhynchus keta*) fanden KANEKO u. a. (1995) heraus, dass sich innerhalb weniger Stunden nach einem Transfer von Süß- in Brack- bzw. Meerwasser die Osmolalität der perivitellinen Flüssigkeit an die der neuen Umwelt angleicht. Während die Eimasse nach einem Transfer unverändert blieb, nahm der prozentuale Anteil der perivitellinen Flüssigkeit zu und komplementär dazu, der des Masseanteils des Embryos ab. Auf Grundlage der Ergebnisse machen KANEKO u. a. (1995) für die Abnahme der Embryonalmasse Dehydrationsprozesse verantwortlich, die auf den osmotischen Gradienten zwischen Körperflüssigkeit des Embryos und perivitelliner Flüssigkeit zurückgeführt werden können. Diese Beobachtung erklärt sehr wahrscheinlich auch das veränderte Erscheinen der Zanderembryonen in 9 und 12 g NaCl l<sup>-1</sup> sowie deren erhöhte Mortalität gegenüber der Kontrollgruppe am Ende der viertägigen Inkubation.

Im Gegensatz zu diesen im Fischeitest gewonnenen Ergebnissen gibt es eine Studie mit Barschen aus der Ostsee, die das erfolgreiche Ablachen der Tiere und eine positive Eientwicklung bei Salinitäten von bis zu 9,6 psu beschreiben (SKOVRIND u. a. 2013). Demnach sind zumindest in Süßwasser befruchtete Zandereier physiologisch nicht in der Lage NaCl-Konzentration von  $\geq 9$  g l<sup>-1</sup> zu tolerieren. Ob es Unterschiede zwischen der embryonalen Entwicklung bei einer Befruchtung unter Süßwasser oder salinen Bedingungen und anschließender NaCl-Exposition gibt, könnte Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein.

Zudem können insbesondere frühe Entwicklungsstadien im Ei, wie in Versuchen mit Gabelwelsen (*Ictalurus punctatus*) festgestellt, sensibler auf externe NaCl-Konzentrationen reagieren (SU u. a. 2013). Der Start des Versuches mit Zanderlaich begann im Gegensatz dazu erst 36 Stunden nach dem Ablachen der Elterntiere. Zu diesem Zeitpunkt befanden sich die Embryonen bereits im Entwicklungsstadium der Segmentation (vgl. GÜRALP u. a. 2017), womit, bei Wassertemperaturen von 15°C, das erste Drittel der embryonalen Entwicklung abgeschlossen war (GÜRALP u. a. 2017). Im Gegensatz zu den Vorgaben des Tests DIN ISO 15088:2008 (2009), der die Inkubation von Fischeiern ab dem 4. bis 128. Zellstadium vorgibt, lässt dieser durchgeführte Fischeitest keine Rückschlüsse auf die Effekte von NaCl auf die frühen embryonalen Entwicklungsstufen Furchung, Blastula und Gastrula von Zandern zu. In Folgeversuchen sollten daher auch frühere Entwicklungsstadien berücksichtigt werden.

Des Weiteren spielt, aufgrund der kurzen Entwicklungszeit unter den Bedingungen in Kreislaufanlagen, die Verpilzung von Eiern bei der Zandererbrütung nur eine untergeordnete Rolle. Dennoch wurde der positive Nebeneffekt beobachtet, dass eine NaCl-Exposition zu einem signifikanten Rückgang der mit Pilzhyphen befallenen Zandereier führte (Abbildung 4.27.). NaCl-Konzentrationen von bis zu 6 g l<sup>-1</sup> können daher wirkungsvoll als Fungizid eingesetzt werden, ohne dass Veränderungen der embryonalen Entwicklung zu erwarten sind. Im Vergleich zur Kontrollgruppe erfolgte eine Reduzierung der Pilzhyphen-Prävalenz von 63 % auf 17 % der Eier. Damit kann auf die Verwendung anderer Desinfektionsmittel bei Verpilzungserscheinungen, wie Formaldehyd oder Peroxidverbindungen (LAHNSTEINER u. KLETZL 2016; RACH u. a. 1998), bei NaCl-Einsatz (3 - 6 g l<sup>-1</sup>) potentiell verzichtet werden.

### 5.3.2 Schwimm- und fressfähige Zanderlarven

Der zweite Versuch dieses Arbeitspaktes untersuchte die Performance von schwimm- und fressfähigen Zanderlarven unter vier verschiedenen NaCl-Konzentrationen (0, 3, 6 und 9 g l<sup>-1</sup>). Da die Exposition mit 12 g NaCl l<sup>-1</sup> in einer 100%igen Mortalität der Zanderembryonen resultierte (Abbildung 4.27.), wurden die Effekte dieser Konzentration nicht untersucht.

Zum Zeitpunkt des Versuchsstarts waren die Fische 8 Tage alt (8 dph, Tabelle 4.18.), schwammen frei in der Wassersäule, verfügten über eine Maulspalte und nahmen Futter auf. Aufgrund des zur Verfügung stehenden experimentellen Zeitfensters von nur 10 Tagen zwischen dem Start der Futteraufnahme und dem Einsetzen von Kannibalismus (ZIENERT, pers. Mitt.), negativer Phototaxis (TIELMANN u. a. 2016) sowie der allgemein sehr schnellen Entwicklung von Fisch- bzw. Zanderlarven (vgl. SZKUDLAREK u. ZAKĘŚ 2007), wurde auf eine stufenweise Erhöhung der NaCl-Konzentration verzichtet.

Das Wiege- und Vermessungsprotokoll in Anlehnung an KREJSZEFF u. a. (2013) erwies sich auch für die Bestimmung von biologischen Parametern junger Zanderlarven als äußerst praktikabel. Die ermittelte Startstückmasse (0,8 mg) und Körperlänge (TL) (6,1 mm) zu Versuchsbeginn stimmten zudem mit anderen Angaben zu Zanderlarven überein (IMENTAI u. a. 2019, PETERKA u. a. 2003). Aus diesem Grund kann zudem von einer normalen Entwicklung der Larven bis zum Zeitpunkt des Versuchsstarts ausgegangen werden.

Die Haltung von Zanderlarven im Entwicklungsabschnitt vom 8 dph bis 18 dph ist unter salinen Bedingungen bis 6 g NaCl l<sup>-1</sup> möglich. Am Ende des 10-tägigen Versuches hatten die Larven aus der 6 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe signifikant höhere Stückmassen als die Larven der Kontrolle und der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe (Abbildung 2.28.). Generell nahmen bei steigender NaCl-Konzentration die Totallängen, die spezifischen Wachstumsraten und die Trockenmassen der Larven zu (vgl. Tabelle 4.20.). Dies unterstreicht die positiven Eigenschaften einer salinen Haltungsumwelt bei der Aufzucht von Zanderlarven bei Wassertemperaturen von 15 bis 16°C.

Während sich für Larven des Siamesischen Kampffisches (*Betta splendens*) unter salinen Bedingungen (0 vs. 5 ppt) lediglich ein Trend zu höherem Stückmassewachstum andeutet (PUELLO-CRUZ u. a. 2010), wurde von JOMORI u. a. (2012) für Larven des Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) ein signifikant besseres Wachstum unter salinen Bedingungen (2 bis 4 ppt) gegenüber der Süßwasserkontrolle sowie höheren Salinitäten ( $\geq 8$  ppt) festgestellt. Ähnliche Beobachtungen wurden kürzlich auch von IMENTAI u. a. (2019) für Zanderlarven gemacht. In Salzkonzentrationen von 2 bis 4 ‰ wuchsen die Larven signifikant besser als die Artgenossen in Süßwasser. Bei höheren Salzkonzentrationen (8 ‰) reduzierte sich das Wachstum der Zanderlarven hingegen wieder und 16 ‰ wurden nicht toleriert.

Gemein haben diese drei verschiedenen Versuchsprotokolle, dass die Fischlarven mit Lebendfutter versorgt wurden. Lebendfutterorganismen wie z. B. Artemia-Nauplien (*Artemia salina*) werden in salzhaltigem Wasser (für diesen Versuch mit 21 - 22 g NaCl l<sup>-1</sup>) erbrütet und im Anschluss verabreicht. Unter Süßwasserbedingungen sterben diese Futtertiere jedoch innerhalb von 30 bis 60 min (MERCHIE 1996) und werden dann von den Fischlarven nicht mehr als Nahrung erkannt. Die Anhebung der Salzkonzentration der Haltungsumwelt erhöht die Dauer der Überlebensfähigkeit von Lebendfutter (s. a. IMENTAI u. a. 2019, HØJGAARD u. a. 2018, MERCHIE 1996, YANES-ROCA u. a. 2018), weshalb davon ausgegangen werden kann, dass den Fischlarven ein längeres Zeitfenster zu Verfügung steht dieses zu erbeuten. Aus diesem Grund machen sowohl JOMORI u. a. (2012) als auch IMENTAI u. a. (2019) maßgeblich die längere Vitalität des verabreichten Lebendfutters für den Wachstumsvorsprung der Fischlarven unter salinen Bedingungen verantwortlich.

Es muss jedoch insbesondere auch der osmotische Aspekt für die Fische bei einer aufgesalzten Umwelt berücksichtigt werden. Zum einen führt die Aufsalzung mittels NaCl sehr wahrscheinlich zum osmotischen Angleich zwischen der Körperflüssigkeit der Larven und dem Haltungswasser. Ein geringerer osmotischer Gradient hat zur Folge, dass weniger Energie zur Aufrechterhaltung der Homöostase aufgewendet werden muss und die hierdurch eingesparte Energie dann in Körperwachstum umgesetzt werden kann (BOEUF u. PAYAN

2001, SINGH 1980, s. **AP1, AP4**). Zum anderen sind Artemia-Nauplien, die sich in salzigem Wasser befinden, zwar generell hypotonisch zu ihrer Umwelt, die Hämolymphe weisen jedoch eine höhere Osmolalität auf (118 - 224 mOsmol l<sup>-1</sup>, RUSSLER u. MANGOS 1978) als Süßwasser (0 ‰ Wasser = 3,33 mOsmol l<sup>-1</sup>, LUZ u. a. 2008). Ebenso steigt mit zunehmender Salzkonzentration in der Umwelt auch die Konzentration von Natriumionen in der Körperflüssigkeit von Artemia-Nauplien an (RUSSLER u. MANGOS 1978). Dementsprechend kann davon ausgegangen werden, dass bei der Aufnahme von Nauplien durch die Zanderlarven gleichzeitig auch immer eine Aufnahme von Ionen stattgefunden hat. Diese Ionen waren zudem identisch mit denen in der Haltungsumwelt.

Die Aufnahme der Ionen ist mit positiven Effekten für Fische verbunden. So kann z. B. die Verabreichung von mit NaCl angereichertem Futter wachstumssteigern auf im Süßwasser lebende Fische wirken. CNAANI u. a. (2010) fütterten Buntbarschhybriden (*Oreochromis aureus* x *O. niloticus*) mit einem NaCl-haltigem Futter (0 bis 3,5 %). Mit zunehmendem NaCl-Anteil im Futter wurde hierbei eine schrittweise Erhöhung der spezifischen Wachstumsleistungen der Fische festgestellt. Bei einer Verabreichung von 3 % NaCl im Futter war das Wachstum der Fische gegenüber der Kontrollgruppe signifikant gesteigert. Die Aufnahme von futterbürtigen Ionen spiegelte sich bei den Buntbarschhybriden auch in anderen physiologischen Parametern wider. So resultierte die Verabreichung von NaCl-haltigem Futter bspw. in einer signifikanten Erhöhung der Blutplasma-Osmolalität (0 % NaCl: 275 mOsmol kg<sup>-1</sup>, 3 % NaCl: 287 mOsmol kg<sup>-1</sup>). Weil die im Süßwasser gehaltenen Fische weniger Ionen, unter Aufwendung von Energie, aktiv aus der Umwelt aufnehmen mussten (vgl. MARSHALL u. GROSELL 2006), hatten die mit NaCl-haltigem Futter gefütterten Fische wahrscheinlich einen reduzierten Energiebedarf für die Osmoregulation und somit mehr Energie für das Körperwachstum zur Verfügung.

Zusätzlich erhöht sich die Toleranz verschiedener Fischarten gegenüber salinen Umwelten, wenn diesen NaCl über das Futter verabreicht wird (FONTAINHAS-FERNANDES u. a. 2000, GATLIN III u. a. 1992, HARPAZ u. a. 2005, LIM u. a. 2006, STAURNES u. FINSTAD 2000). Der Transfer von Tilapien (*Oreochromis niloticus*) aus Süß- in Salzwasser gestaltet sich, im Anschluss an eine vorhergehende zwei bis sechswöchige Phase, während derer den Fischen NaCl-haltiges Futter verabreicht wurde, einfacher. Die mit NaCl-Futter (6 - 8 %) versorgten Fische wiesen nach einer Überführung ins Salzwasser (≤ 20 ‰) bessere osmoregulatorische Fähigkeiten auf (niedrigere Osmolalität des Plasmas, geringere Chloridkonzentrationen im Plasma) als jene Artgenossen, denen zuvor NaCl-freies Futter verabreicht wurde (FONTAINHAS-FERNANDES u. a. 2000, LIM u. a. 2006). Durch die Verabreichung von NaCl über das Futter können also osmotische Imbalancen bei einer Salzwasserexposition reduziert werden. Auf dieser Grundlage können für die Zanderlarven dieses Versuches verschiedene Rückschlüsse gezogen werden. In einer NaCl-haltigen Umwelt steht den Fischen das verabreichte Lebendfutter länger zur Verfügung als unter Süßwasserbedingungen (vgl. JOMORI u. a. 2012, IMENTAI u. a. 2019), was sich wiederum positiv auf die Wachstumsperformance der Tiere auswirken kann. Die Verabreichung von NaCl-haltigem Futter wirkt sich zudem positiv auf das Wachstum (CNAANI u. a. 2010) und auch die generelle Toleranz gegenüber salinen Umwelten aus (FONTAINHAS-FERNANDES u. a. 2000, LIM u. a. 2006). Die Aufnahme von in NaCl aufgezogenem Lebendfutter wird für Fische zusätzlich mit einer Aufnahme von Ionen einhergehen (vgl. RUSSLER u. MANGOS 1978). In Süßwasser wird der osmotische Gradient zwischen Umwelt und Fisch dadurch, auf Kosten des Wachstums, sehr wahrscheinlich erhöht. Erfolgt die Verabreichung von NaCl-haltigem Lebendfutter hingegen in einer mit identischen Ionen angereicherten Haltungsumwelt, wird dies den osmotischen Gradienten zwischen Organismus und aquatischer Umwelt verringern und damit die energetischen Aufwendungen für die Aufrechterhaltung des Wasser- und Ionenhaushaltes reduzieren.

Auf diese Weise lässt sich zum einen der generelle Anstieg des Larvenwachstums bei zunehmender NaCl-Konzentration erklären. Zum anderen wird deutlich warum eine Haltung bei einer NaCl-Konzentration von 6 g l<sup>-1</sup> in einem signifikant gesteigerten Wachstum der Zanderlarven resultierte.

Während am Ende des Versuches ein signifikant besseres Wachstum der Larven in 6 g NaCl l<sup>-1</sup> festgestellt wurde und auch IMENTAI u. a. (2019) Zanderlarven noch bei 8 ‰ Salinität aufziehen konnte, musste der Versuch für die Gruppe mit 9 g NaCl l<sup>-1</sup> bereits nach 24-stündiger Exposition terminiert werden. Die Fische wirkten orientierungslos, zitterten teilweise und nahmen kein Futter auf. Auch IMENTAI u. a. (2019) beobachtete bei Zanderlarven in 8 ‰ Salinität zunächst eine zweitägige Verweigerung der Futteraufnahme. Die ausbleibende Überlebensfähigkeit der Fische dieses Versuches bei 9 g NaCl l<sup>-1</sup> deutet letztendlich daraufhin, dass Zanderlarven keine physiologische Möglichkeit haben sich auf diese NaCl-Konzentration einzustellen. Das Fenster der optimalen NaCl-Konzentrationen ist demnach deutlich begrenzt.

Mit Blick auf die Exposition der Fische mit 9 g NaCl l<sup>-1</sup> muss berücksichtigt werden, dass die abrupte Erhöhung der NaCl-Konzentration ohne die Möglichkeit einer schrittweisen Gewöhnung zu schnell für die Tiere war. Allerdings führte auch die Exposition von Barschlarven (*P. fluviatilis*) mit einer Salinität von 9,6 ‰ bei einer stufenweisen Erhöhung zu einer nahezu vollständigen Mortalität (99,4 - 100 %). Die Sterblichkeit der Larven setzte dabei jedoch erst zwei Tage nach einem Erreichen der Zielkonzentration ein (BEIN u. RIBI 1994). Eine stufenweise Erhöhung der NaCl-Konzentration hätte vermutlich nur zu einer zeitversetzten Reaktion der Zanderlarven geführt. In keiner der anderen drei Gruppen wurde hingegen ein Effekt der NaCl-Konzentration auf die Überlebensrate der Zanderlarven festgestellt (Tabelle 4.20.). Die von RIBI (1992) für Barschlarven und IMENTAI u. a. (2019) für Zanderlarven beobachteten erhöhten Überlebensraten unter leicht salinen Bedingungen konnten in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden.

### 5.3.3 Trockenfutteradaptierte Jungzander

Der dritte Versuch dieses Arbeitspaktes untersuchte die Performance von trockenfutteradaptierten Zandern (> 50 dph) unter vier verschiedenen NaCl-Konzentrationen (0, 3, 6 und 9 g l<sup>-1</sup>) in einem 20-tägigen Versuch.

Im Gegensatz zu anderen Wachstumsversuchen verschiedener Süßwasserfische ähnlicher Stückmassen unter salinen Bedingungen (LUZ u. a. 2008, OVERTON u. a. 2008, WANG u. a. 1997), nahm das Wachstum der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Zander im Vergleich zur Kontrolle tendenziell zunächst zu und erst bei weiter steigenden NaCl-Konzentrationen (≥ 6 g l<sup>-1</sup>) signifikant ab. Am Ende des Versuches hatten die Larven aus der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe die höchsten durchschnittlichen Stückmassen (1,6 g) und Totallängen (58,2 mm) (Abbildung 4.29., Tabelle 4.22.). Die Zander in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> hatten ferner die beste Futtermittelverwertung (FQ: 0,88), signifikant reduzierte Sterblichkeitsraten (0 %), jedoch identische spezifische Wachstumsraten (5,6 %<sup>-d</sup>) und Trockenmassegehalte (21,2 %) wie die Zander der Kontrollgruppe. Demzufolge hat die Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> positive Effekte auf das Wachstum trockenfutteradaptierter Jungzander.

Für juvenile Barsche (*Perca fluviatilis*) ähnlicher Altersstufen, lässt sich hinsichtlich des Parameters Wachstum ein Fenster einer optimalen Salinität zwischen 0 bis 4 ‰ (OVERTON u. a. 2008) und 2 bis 5 ‰ (LOŽYS 2004) ableiten. Bisherige Erkenntnisse anderer juveniler Perciden sind damit nahezu deckungsgleich mit den Ergebnissen des vorliegenden Versuches. Unabhängig vom Wachstum können juvenile Zander mit Stückmassen von 1 und 2 g Salini-

täten von bis zu 12 ‰ tolerieren, ohne dass in einem Untersuchungszeitraum von 10 Tagen negative physiologische Konsequenzen erkennbar waren (AHMADNEZHAD u. a. 2014). Allerdings liefert die Studie von AHMADNEZHAD u. a. (2014) keine Daten zum Wachstum der Tiere. Während also NaCl-Konzentrationen von 3 g l<sup>-1</sup> als optimal für die Haltung trockenfutteradaptierter Jungzander angesehen werden können, verschlechterten sich ab einer NaCl-Konzentration von ≥ 6 g l<sup>-1</sup> alle erhobenen Leistungsparameter sehr deutlich. Die Performance dieser beiden Gruppen war gegenüber den Fischen in 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup> signifikant reduziert. Damit sind Konzentrationen von 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> für eine Aufzucht juveniler Zander ungeeignet. Bei einem Befall mit Ektoparasiten (**AP 2**) wäre potentiell eine Aufsatzung mit bis zu 6 und in Ausnahmefällen bis 9 g NaCl l<sup>-1</sup> möglich, wobei dann allerdings mit deutlichen Wachstumseinbußen gerechnet werden müsste.

Insbesondere das Wachstum gilt als ein empfindlicher Indikator, wenn Fische sich ändernden Ionenkonzentrationen ausgesetzt sind, da dieser Parameter bereits messbare Veränderungen andeuten kann, bevor physiologische Reaktionen, wie bspw. die Osmolalität des Blutplasmas, eine Störung des Ionen- und Wasserhaushaltes anzeigen (OVERTON u. a. 2008). In der Studie von OVERTON u. a. (2008) wirkten sich Salzkonzentrationen oberhalb von 4 ‰ negativ auf die Wachstumsperformance der Barsche aus. Nach einer 130-tägigen Aufzucht in Kreislaufanlagen bei 10 ‰ bestand im Vergleich zur Süßwasserkontrolle ein Wachstumsdefizit von 50 %. In den mit 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zandern kam es im Vergleich zur 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Gruppe zu einer Reduktion des Wachstums zwischen 13 und 17 %. Verschiedene Ursachen können für die Leistungszunahme bis 3 g NaCl l<sup>-1</sup> bzw. den Leistungsabfall ab ≥ 6 g NaCl l<sup>-1</sup> verantwortlich sein.

Zunächst muss der osmoregulatorische Aufwand berücksichtigt werden. Denn wenn sich das Ionengefälle zwischen Fischinnerem und der aquatischen Umwelt angleicht, sind die energetischen Kosten für die Ionenregulierung reduziert. Die damit verbundene Energieeinsparung kann in einer Wachstumssteigerung resultieren (BOEUF u. PAYAN 2001, MORGAN u. IWAMA 1991, SINGH 1980). Bei einer Überschreitung der optimalen Salinität erhöhen sich folglich die energetischen Kosten für die Osmoregulation, was die Wachstumsleistung der Tiere letztendlich reduziert.

Zusätzlich zum Wachstum kann auch die Futtermittelverwertung verändert sein. Artenabhängig werden dabei sowohl positive als auch negative Effekte beschrieben. Bei Cypriniden (*Carrasius auratus*, *Cyprinus carpio*) nimmt bspw. parallel zum Wachstum, die Futtermittelverwertung bei steigendem Salzgehalt stufenweise ab (LUZ u. a. 2008, WANG u. a. 1997), für Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) und Felsenbarsche (*Morone saxatilis*) hingegen zu (ALTINOK u. GRIZZLE 2001). Dies bedeutet, dass das zugeführte Futter von den Zandern in 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> nicht mehr in Körperwachstum umgesetzt werden konnte, sondern zur Aufrechterhaltung physiologischer Funktionen gegenüber suboptimalen NaCl-Konzentrationen verwendet wurde.

Unter salinen Umwelten verändert sich zudem die Verdaulichkeit von Nährstoffen (ALTINOK u. GRIZZLE 2001, KANG'OMBE u. BROWN 2008). Bei australischen Grunzbarschen (*Bidyanus bidyanus*) resultiert eine leicht saline Umwelt (4 ‰ Salinität), im Vergleich zur Haltung in Süßwasser, in einer signifikant verringerten Nährstofffreisetzung. Es wurde eine um etwa 42 % niedrigere Stickstoff- und eine etwa 43 % niedrigere Phosphorfreisetzung beobachtet (KIBRIA u. a. 1999). Die wie im Versuch durchgeführte biomassebezogene Fütterung resultiert also potentiell in einer verbesserten Nährstoffverwertung, was sich wiederum in einer erhöhten Wachstumsleistung manifestieren konnte. Als eine mögliche Ursache werden Veränderungen der Verdauungsenzyme durch den Einfluss von Ionen diskutiert (BOEUF u. PAYAN 2001).

Des Weiteren kann die Futtermittelaufnahme von der Salinität der Haltungsumwelt beeinflusst sein. Während es bei karpfenartigen Fischen in niedrigeren Salzkonzentrationen (2 ‰) zu einem leichten Anstieg der Futtermittelaufnahme kommen kann (LUZ u. a. 2008), wurde im Brackwasser (10 ‰) eine 70%ige Reduktion der Futtermittelaufnahme gegenüber der Süßwasserkontrolle festgestellt (DE BOECK u. a. 2000). Bei den Zandern in 9 g NaCl l<sup>-1</sup> wurde ebenfalls ein Rückgang der Futtermittelaufnahme festgestellt, die sich in anfallenden Futterresten manifestierte. Aufgrund des Aufbaus der Versuchseinheiten ließ sich die Höhe der Futterreste jedoch nicht quantifizieren. Ein verringerter Appetit bei Fischen kann bspw. das Resultat einer verminderten Empfindlichkeit der olfaktorischen Nerven unter salinen Bedingungen sein (SHOJI u. a. 1996).

Die Mortalität in den Expositionsgruppen mit 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> war signifikant niedriger als in der Süßwasserkontrolle und in der höchsten Testkonzentration. Während die Fische in der Süßwasserkontrolle aufgrund von Verpilzungen, im Anschluss an kannibalistisches Verhalten, verstarben (8 % Mortalität), konnten keine Verpilzungen in den drei anderen Versuchsgruppen festgestellt werden. Insbesondere 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup> haben sich positiv auf die Überlebensraten (100 %) juveniler Zander ausgewirkt. Die von RIBI (1992) für Barschlarven und IMENTAI u. a. (2019) für Zanderlarven beobachtete Verbesserung der Überlebensraten unter leicht salinen Bedingungen wurden auch für trockenfutteradaptierte Zander unter NaCl festgestellt.

In der NaCl-Konzentration mit 9 g l<sup>-1</sup> stieg die Mortalität (22 %) signifikant an. Im Zuge der täglichen Routinearbeiten oder auch Probenahmen schossen einige Individuen dieser Gruppe unkontrolliert durch die Wassersäule und verstarben hiernach innerhalb weniger Sekunden. Für Hechte (*Esox lucius*) ist ein ähnliches Verhalten beschrieben worden, wenn während eines Salzstresstests ein kritischer Grenzwert überschritten wurde. Einige, aber nicht alle Individuen reagierten ab 13,2 psu mit Körperzittern, einem Verlust des Gleichgewichtes und Mortalität (JØRGENSEN u. a. 2010). Zudem stimmt das gestresst erscheinende Verhalten der trockenfutteradaptierten Zander unter 9 g NaCl l<sup>-1</sup> in gewisser Weise auch mit dem Verhalten der schwimm- und fressfähigen Zanderlarven des vorherigen Versuches überein.

#### 5.3.4 Zandersetzlinge

Die Wachstumsperformances der Zander mit Startstückmassen zwischen 95 und 128 g aller untersuchten Salinitäten (0, 3 und 6 g NaCl l<sup>-1</sup>) waren sehr ähnlich. Fische dieser Entwicklungsstufe können problemlos in bis zu 6 g NaCl l<sup>-1</sup> gehalten werden, was auch in den Versuchen in **AP2** bestätigt wurde.

Die Versuchsansätze waren mit etwa 30 Futtertagen relativ kurz. Daher können insbesondere zur langfristigen Haltung von Zandersetzlingen bei 6 g NaCl l<sup>-1</sup> keine Aussagen getroffen werden. Eine kontinuierliche Haltung von Zandern (251 g) bei > 5 ppt Salinität in Kreislaufanlagen während eines 57-tägigen Versuches wurde aber bspw. von ZIMMERMANN u. a. 2019 praktiziert. Auch VON PLESSSEN u. MÜLLER-BELECKE (pers. Mitt.) war es möglich Zander mit Stückmassen von 200 bis 500 g für mehrere Wochen erfolgreich unter 6 g NaCl l<sup>-1</sup> in Kleinkreislaufanlagen zu halten, im Vergleich zur Süßwasserkontrolle allerdings ohne nennenswerte Wachstumsvorsprünge oder verbesserte Futterverwertungen. Die Ergebnisse aus **AP4** zur Haltung von Zandern mit Stückmassen von 30 bis 460 g unter salinen Bedingungen (3 g NaCl l<sup>-1</sup>), resultierten in einer signifikant gesteigerten Abfischungsmasse der Zander. Eine längerfristige Haltung von Zandern in salinen Umwelten ist demnach möglich, wobei 3 g NaCl l<sup>-1</sup> als optimal angesehen werden können.

Aus Studienergebnissen von SADOK u. a. (2004) lässt sich zudem ableiten, dass eine Haltung von Zandern mit Stückmassen von 137 g auch bis 12 psu für mindestens 11 Tage möglich ist. Allerdings ist die Wassertemperatur des Versuches mit 10 °C als niedrig einzustufen und spiegelt die Aufzuchtbedingungen in der Warmwasser-Aquakultur nicht wider.

Auch in natürlichen Habitaten präferieren adulte Tiere niedrigere Salzkonzentrationen unterhalb von 12 g l<sup>-1</sup> (ABDOLMALAKI u. PSUTY 2007, GHARIBKHANI u. a. 2014). Und Rückschlüsse aus Fängen deuten ebenso darauf hin, dass 9 bis 10 ‰ Salinität von adulten Tieren durchaus toleriert werden (LEHTONEN u. a. 1996), höhere Konzentrationen allerdings gemieden werden und es zu einem Rückgang der fischereilichen Anlandungen kommen kann (POULET u. a. 2004).

Die kurzfristige Salztoleranz von Zandern ist jedoch noch ausgeprägter. Tiere mit Stückmassen zwischen 150 - 450 g können bspw. einen direkten Transfer in bis zu 16 psu für mindestens 6 Tage tolerieren und sogar 29 bis 33 psu während eines nachempfundenen, sechsständigen Tidenhubes. Hierbei traten dann allerdings physiologische Imbalancen, wie z. B. erhöhte Cortisolkonzentrationen und auch Plasmaosmolalitäten, auf. Einen unmittelbaren Transfer von Süßwasser in 26 bis 35 psu überleben Zander hingegen nicht (BROWN u. a. 2001).

### 5.3.5 Fazit

Unter Vorbehalt des Fehlens von Daten zur Performance von Zandern unter dem Einfluss von NaCl/Salinität während der ersten vier Tage nach dem Schlupf, kann die Applikation von NaCl während des gesamten Produktionszyklus vom Ei bis zum Speisefisch zur Anwendung kommen. Die optimale NaCl-Konzentration bei der Zanderhaltung unter Bedingungen geschlossener Kreislaufanlagen variiert jedoch während der Ontogenese. Hierfür werden mit großer Wahrscheinlichkeit anatomische, physiologische, zelluläre und molekulare Veränderungen im Laufe der Entwicklung verantwortlich sein (VARSAMOS u. a. 2005). Ebenso muss die Art der aufgenommenen Nahrung bei der Interpretation der gewonnenen Erkenntnisse berücksichtigt werden.

Als eine zusammenfassende Übersicht der gewonnenen Erkenntnisse ist in Abbildung 5.1. eine „Zanderampel für den Einsatz von NaCl“ dargestellt. In den grün dargestellten Konzentrationsbereichen können Zander problemlos gehalten werden. Hier kann eine verbesserte Performance erwartet werden. Die orangen Bereiche werden potentiell von Zandern toleriert, es kann allerdings zu einem Rückgang der Leistung kommen. Rote Bereiche stellen NaCl-Konzentrationen dar, denen Zander nur bedingt oder gar nicht ausgesetzt werden sollten.

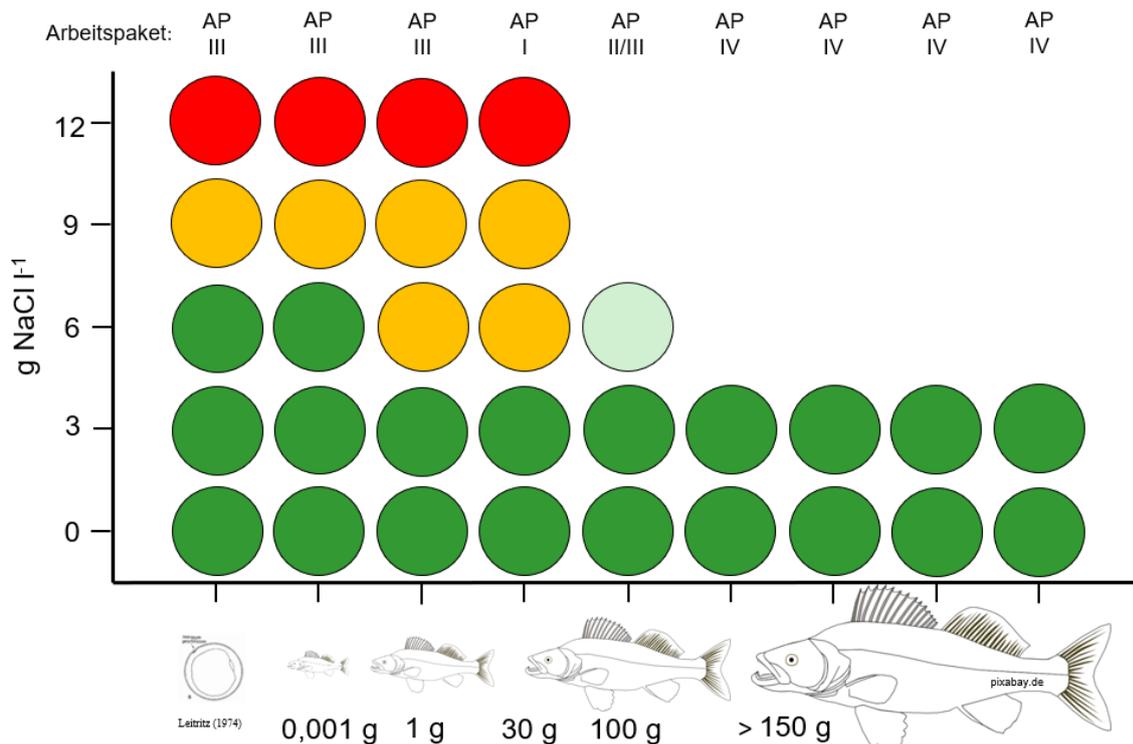


Abbildung 5.1. Die „Zanderampel für den Einsatz von NaCl“ bei der Aufzucht von Zandern in Kreislaufanlagen unter Berücksichtigung verschiedener ontogenetischer Entwicklungsstufen. Grün: OK. Orange: es kann zu einer verringerten Performance kommen. Rot: nicht anwenden. Bild: Fischei aus LEITRITZ (1974). Zander: pixabay.de.

### Embryonale Entwicklung

Während der embryonalen Entwicklung im Ei werden spätestens 36 Stunden nach der Befruchtung bis zu 6 g NaCl l<sup>-1</sup>, bei einer Wassertemperatur von 15°C problemlos toleriert. Bei höheren NaCl-Konzentrationen steigt die Mortalität der Embryonen hingegen sprunghaft an und erreicht bei 12 g NaCl l<sup>-1</sup> ein Niveau von 100 %. Sehr wahrscheinlich sind dafür Dehydrationsprozesse verantwortlich (KANEKO u. a. 1995).

Als positiver Nebeneffekt wurde mit steigenden NaCl-Konzentrationen eine Abnahme der mit Pilzhyphen befallenen Eier beobachtet. Sollten trotz der kurzen Entwicklungszeit Probleme mit Pilzbefall bestehen, kann auf Grundlage der Ergebnisse, die Aufsatzung der Haltungsumwelt mit bis zu 6 g NaCl l<sup>-1</sup> zur Anwendung kommen.

### Zanderlarven

#### 0 bis 7 dph

Für den Zeitraum vom Schlupf der Larven bis zum siebten Entwicklungstag (7 dph) liefert diese Arbeit hinsichtlich der Effekte von NaCl keine Daten. Somit fehlt der Abschnitt in dem sich Zander primär endogen ernähren. Wie sich erhöhte NaCl-Konzentrationen auf Zanderlarven auswirken und welches die optimale Konzentration wäre, kann deshalb nur auf der Grundlage anderer Versuche hergeleitet werden.

Generell soll die Inkubation von Fischeiern in salzhaltigem Wasser die Toleranz der späteren Lebensstadien erhöhen (ALDERDICE 1988). Dennoch werden bei jungen Fischlarven gesteigerte Sterblichkeiten in salinen Umwelten beobachtet. So kommt es bei afrikanischen Welsen (*Ictalurus punctatus*) nach dem Schlupf bei zunehmender Salinität zu einem Anstieg der Mortalität. Während innerhalb von vier Tagen nach Schlupf keine Welslarven in 0 und 2 ppt verstarben, wurde bei 4 ppt bereits eine 55%ige und bei 6 ppt eine 85%ige

Mortalität festgestellt. Zusätzlich hatte die Welsbrut unter salinen Bedingungen Schwierigkeiten ihren Dottersack zu absorbieren (Su u. a. 2013). Aber auch bei Barschen (*Perca fluviatilis*) ist eine um etwa 12 % erhöhte Sterblichkeit der Dottersackbrut nach Schlupf im Brackwasser (7 ‰) im Vergleich zum Süßwasser (0 ‰) beobachtet worden (TIBBLIN u. a. 2012). Findet eine Erbrütung der Eier unter Einwirkung von NaCl statt, könnte folglich während der ersten sieben Lebenstage die Reduzierung der NaCl-Konzentration notwendig werden. Weiterführende Untersuchungen müssen diese Wissenslücke für den Zander schließen. Zumindest ab dem vierten Tag nach Schlupf tolerieren Zanderlarven einen Transfer in Salinitäten von bis zu 8 ‰. Bis zum 11. Tag nach dem Schlupf kann hinsichtlich der Überlebens- und Wachstumsraten eine Salinität zwischen 2 und 4 ‰ als optimal angesehen werden (IMENTAI u. a. 2019).

#### *8 bis 18 dph:*

Zanderlarven in dem Lebensabschnitt von 8 bis 18 Tagen nach Schlupf können in NaCl-Konzentrationen von bis zu 6 g NaCl l<sup>-1</sup> bei Wassertemperaturen von 17 - 18°C erfolgreich gehalten werden. Die Stückmassen der mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> exponierten Zanderlarven waren am Versuchsende signifikant höher, weshalb die Haltung von Larven mit 6 g NaCl l<sup>-1</sup> empfohlen wird. Es wird vermutet, dass das signifikant bessere Wachstum unter 6 g NaCl l<sup>-1</sup> eine Kombination zwischen der Verabreichung von NaCl-reichem Lebendfutter und einer mit identischen Ionen angereicherten Haltungsumwelt zusammenhängt. In einem Konzentrationsbereich von 0 bis 6 g NaCl l<sup>-1</sup> konnten keine Effekte einer erhöhten NaCl-Konzentration auf die Sterblichkeit der Larven festgestellt werden. 9 g NaCl l<sup>-1</sup> werden von Zanderlarven hingegen keine 24 Stunden toleriert.

#### *Trockenfutteradaptierte Jungzander*

##### *> 50 dph*

Aufgrund der Photosensitivität und dem Beginn des Kannibalismus in dem Entwicklungszeitraum ab dem 19. Tag nach Schlupf konnten erst für die Entwicklungsphase ab > 50 dph belastbare Daten generiert werden.

Im Vergleich zu den Larven, die unter 6 g NaCl l<sup>-1</sup> signifikant höhere Endstückmassen aufwiesen, hatten die trockenfutteradaptierten Fische in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> die höchsten durchschnittlichen Stückmassen, jedoch ohne einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle. Aus diesem Grund kann die Haltung dieser Altersstufen mit bis zu 3 g NaCl l<sup>-1</sup> empfohlen werden. Auch für in Kreislaufanlagen aufgezogene Barsche ähnlicher Stückmassen, denen ebenfalls konventionelles Futter verabreicht wurde, ist von OVERTON u. a. (2008) eine optimale Salinität zwischen 0 und 4 ‰ ermittelt worden.

Erst bei höheren NaCl-Konzentrationen ( $\geq 6$  g NaCl l<sup>-1</sup>) nahm die Endstückmasse der Zander signifikant ab. Auch wenn das Wachstum dieser Gruppen reduziert war, waren insbesondere die trockenfutteradaptierten Zander in 9 g NaCl l<sup>-1</sup> dennoch toleranter als die entsprechenden Zanderlarven, für die der Versuch bereits nach 24 Stunden abgebrochen werden musste. Auch wenn die optimale NaCl-Konzentration für trockenfutteradaptierte Zander also geringer ist als für Zanderlarven, ist die Toleranz gegenüber NaCl mit gesteigertem Lebensalter höher. Mit Blick auf die Zanderaufzucht in Kreislaufanlagen kann sich dies bei der Behandlung von Ektoparasiten als nützlich erweisen (**AP2**).

#### *Zander*

##### *30 bis 50 g Stückmasse*

Wie für die trockenfutteradaptierten Zander mit Stückmassen von 0,5 bis 1,6 g, so wurde auch für Zandersetzlinge mit durchschnittlichen Stückmassen von 30 bis etwa 50 g eine

optimale NaCl-Konzentration von 3 g l<sup>-1</sup> ausgemacht (**AP1**). In der Tendenz wurde ein verbessertes Wachstum der Zander unter 3 g NaCl l<sup>-1</sup> festgestellt. Ebenso tolerierten die Zandersetzlinge zwar 6 und 9 g NaCl l<sup>-1</sup> physiologisch, zeigten dafür aber ausgeprägte Anzeichen einer Wachstumsdepression. Von dieser Alter- bzw. Größenklasse wurden unter den gegebenen Umweltbedingungen 12 g NaCl l<sup>-1</sup> nur wenige Tage toleriert.

> 100 g Stückmasse

Unter der Berücksichtigung der Ergebnisse des Langzeitversuches (**AP4**) ist der Einsatz von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> als optimal bei der Haltung von Zander mit Stückmassen > 100 g anzusehen. Bei dieser Konzentration kann von einer signifikanten Steigerung des Wachstums ausgegangen werden. Zusätzlich sind keine negativen Effekte auf die Gesundheits- und Entwicklungsparameter zu erwarten.

Im Gegensatz zu Zandern mit 0,5 bis 50 g Stückmasse können größere Zander jedoch auch unter höheren NaCl-Konzentrationen von 6 g l<sup>-1</sup> gehalten werden, allerdings ohne dass es weder zu einer Steigerung oder aber deutlichen Reduktion der Wachstumsperformance kommt (vgl. **AP1** und **AP3**, VON PLESSEN u. MÜLLER-BELECKE (pers. Mitt.)).

Diese Ergebnisse lassen, unter Berücksichtigung weiterer Studien (ABDOLMALAKI u. PSUTY 2007, BROWN u. a. 2001, GHARIBKHANI u. a. 2014, LEHTONEN u. a. 1996, POULET u. a. 2004, SADOK u. a. 2004, ZIMMERMANN u. a. 2019), zusätzlich den Rückschluss zu, dass sich die Toleranz von Zandern gegenüber NaCl mit zunehmender Stückmasse bzw. Lebensalter potentiell erhöht. Über welchen Zeitraum die Zander diese erhöhten Salzkonzentrationen tatsächlich tolerieren können, kann keine exakte Aussage getroffen werden. Dass es beim Zander, wie auch beim Grünen Stör (*Acipenser medirostris*) (ALLEN u. a. 2011) oder Europäischen Wolfsbarsch (*Dicentrarchus labrax*) (VARSAMOS u. a. 2001) postuliert, einen positiven Zusammenhang zwischen Salztoleranz und Lebensalter/Stückmasse gibt, liegt mit Blick auf die verschiedenen Studienergebnisse nahe. Die physiologische Toleranz gegenüber NaCl kann dabei deutlich von einer für das Wachstum optimalen Konzentration abweichen.

## 5.4 AP4

Mit dem Ziel die langfristigen Effekte bei der Anwendung von NaCl während der Zanderaufzucht im halbtechnischen Maßstab zu untersuchen, wurde ein 252 Tage andauernder Versuch unter praxisnahen Bedingungen durchgeführt. Die Festlegung der NaCl-Konzentration von 3 g l<sup>-1</sup> basierte auf den Ergebnissen von **AP1**. Im Folgenden werden die Untersuchungsergebnisse diskutiert.

### 5.4.1 Wasserparameter

Mit zunehmender Dauer eines Versuches steigt die Herausforderung alle Umweltparameter identisch zu halten. Ein Teil der Wasserparameter war trotz der identischen Bewirtschaftung der Anlagen nicht identisch. Hierbei handelt es sich um die Parameter Wassertemperatur, Säurebindungsvermögen, Ammonium- und Nitritkonzentration, der NaCl-induzierten Leitfähigkeit sowie der Trübung beider Anlagen (vgl. Tabelle 4.24.). Die durchschnittliche Wassertemperatur in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage war mit 23,21 °C höher als die Temperatur der Anlage ohne NaCl-Applikation (23,13 °C). Laut Industriestandard ist bei einer Temperatur von 23 °C mit einer Messtoleranz der verwendeten Temperaturfühler (PT 100 Klasse B) von ± 0,4 °C (= 0,30 + (0,005 \* Temperatur °C)) auszugehen. Die Messgenauigkeit der Sensoren ist somit um ein Fünffaches höher als die Abweichung der mittleren Durchschnittstemperaturen der beiden Versuchsanlagen. Auf dieser Grundlage wird die festgestellte Temperaturdifferenz als vernachlässigbar eingestuft. Dennoch soll der Parameter Wassertemperatur bei der Diskussion des Wachstums der Fische erneut aufgegriffen werden.

Das Säurebindungsvermögen in der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> war höher und unterschied sich signifikant von der Anlage ohne NaCl-Applikation. Da die Denitrifikationsstufen identisch arbeiteten (Daten nicht dargestellt), kann die Ursache für diesen signifikanten Unterschied durch die Zugabe des Speise-Siedesalzes und dessen Additiv E500 erklärt werden. E500 ist mit dem Überbegriff ‚Natriumcarbonate‘ als zugelassener Lebensmittelzusatzstoff gelistet (ZZuIV 2017). Natriumcarbonate haben die Eigenschaft die Alkalinität und damit das Säurebindungsvermögen eines Wassers heraufzusetzen.

Das verwendete Kochsalz wies neben E500 auch E535 auf. E535 ist als Zusatzstoff in Lebensmitteln (Kochsalz und Kochsalzersatz) mit einer Höchstmenge von 20 mg kg<sup>-1</sup> zugelassen (ZZuIV 2017). E535 (Natriumferrocyanid; Na<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]) ist ein stabiler Komplex mit einer geringen bis sehr geringen Toxizität für Fische (SVOBODOVÁ u. a. 1993). Da Natriumferrocyanid unter Lichteinwirkung (< 420 nm Wellenlänge) potentiell zu Cyanid zerfallen kann (YOUNG u. JORDAN 1995) und dann toxisch für Fische wäre (NOGA 2010), waren die UV-C-Brenner während des Versuches inaktiv. Somit fand keine Keimreduzierung bzw. Wasserconditionierung statt. Die Applikation von NaCl allein hatte jedoch keine messbaren Effekte auf die bakterielle Aktivität des Haltungswassers (vgl. Tabelle 4.24.), vielmehr war diese in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage im Mittel sogar höher. Die Trübungswerte beider Anlagen waren auf einem niedrigen Niveau, unterschieden sich allerdings signifikant voneinander. Die höhere Trübung in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage könnte hierbei sowohl das Resultat veränderter Schleimhautcharakteristika als auch einer veränderten Schleimproduktion sowie dessen Abgabe in die Wassersäule sein (SHEPHARD 1994; TACCHI u. a. 2015). Dieser Umstand könnte zudem eine Erklärung sein, warum die bakterielle Aktivität in der aufgesalzene Anlage höher war.

Die Ammonium- und Nitritkonzentrationen in der Anlage mit 0 g NaCl l<sup>-1</sup> waren signifikant höher als die Konzentrationen in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage. In beiden Anlagen waren dennoch alle Konzentrationen der Stickstoffverbindungen in für Zander physiologisch tolerierbaren Bereichen. Dies gilt ebenso für die ermittelten Nitratkonzentrationen der Versuchsanlagen

(STEINBERG u. a. 2018). Demnach ist nicht von einer Beeinträchtigung der Fische durch die gelösten Stickstoffkomponenten auszugehen.

#### **5.4.2 Wachstum und Entwicklung der Zander**

Mit Hilfe von NaCl-Applikationen von  $3 \text{ g l}^{-1}$  können bei, in geschlossenen Kreislaufanlagen gehaltenen, Zandern signifikant gesteigerte Endstückmassen, verbesserte spezifische Wachstumsraten und eine bessere Futtermittelverwertung erzielt werden. Nach 252 Versuchstagen war die mittlere Stückmasse der Zander in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage (410 g) signifikant höher als die der Fische in der Kontrollanlage (389 g). Bezogen auf die Gesamtfischmasse entsprach dies einem Wachstumsvorsprung von 4,4 % in der mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  aufgesalzene Anlage und auf Basis der mittleren Endstückmasse sogar von durchschnittlich 5,4 % pro Einzelfisch. Des Weiteren wurden höhere spezifische Wachstumsraten und eine verbesserte Futtermittelverwertung in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage beobachtet. Neben Zandern und Flussbarschen (LOŽYS 2004) weisen auch andere Vertreter der Familie der Perciden ein gesteigertes Wachstum und verbesserte Futtermittelverwertungen bei der Haltung unter leicht salinen Bedingungen auf (CHOTIPUNTU u. AVAKUL 2011; KIBRIA u. a. 1999; LUO u. a. 2012; MAHON u. a. 2015). Vergleichbare Untersuchungsergebnisse zur Langzeithaltung von europäischen Zandern unter Brackwasserbedingungen liegen derzeit für einen direkten Vergleich mit dieser Studie nicht vor (DALSGAARD u. a. 2013).

Die Fische in beiden Versuchsanlagen haben sich nahezu ideal entwickelt und das von MÜLLER-BELECKE und ZIENERT (pers. Mitt.) erarbeitete Protokoll zur bestandsbiomasseabhängigen Zanderfütterung wurde über weite Abschnitte des Versuches eingehalten. Allerdings musste die täglich verabreichte Futtermenge ab Monat 6 um etwa 0,2 - 0,3 %<sup>-d</sup> nach unten korrigiert werden, da die Fische in beiden Anlagen nahezu zeitgleich die Futteraufnahme reduzierten bzw. verweigerten (Tabelle 4.25.). Die Futtergaben wurden immer identisch für beide Gruppen angepasst. Eine externe Ursache für die veränderte Futteraufnahme konnte nicht ausgemacht werden.

Mit Blick auf die signifikant höheren Endstückmassen der Zander aus der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Kreislaufanlage sollen allerdings noch zwei wesentliche Parameter angesprochen werden.

Zum einen wurden während der 252 Versuchstage in der aufgesalzene Anlage 438 g mehr Alleinfuttermittel verabreicht (Tabelle 4.26.). Dennoch lässt sich auch mit dem höheren Futtermittelsatz selbst unter optimalen Aufzuchtbedingungen die um 7 898 g höhere Abfischungsbiomasse nicht erklären. Und dies insbesondere auch weil in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage zu Versuchsbeginn die Biomasse um 495 g geringer war als in der Kontrollanlage.

Zum anderen müssen die signifikant verschiedenen Durchschnittstemperaturen der beiden Anlagen berücksichtigt werden, da es eine starke Abhängigkeit zwischen Fischwachstum und Wassertemperatur gibt (CHO 1992; DUMAS u.a 2010; IWAMA u. TAUTZ 1981). Wie bereits erwähnt, unterschieden sich die mittleren Temperaturen zwischen den Anlagen um 0,08°C. Dabei war die Anlage, in der die höhere Endbiomasse geerntet wurde, auch jene die die höheren durchschnittlichen Wassertemperaturen aufwies.

Unabhängig von der Messungenauigkeit der Temperaturfühler bestand auf Basis von Tagesgraden ein Unterschied von 20 d° zwischen den Anlagen. Die 20 d° entsprechen einer Temperatursummendifferenz von weniger als einem Aufzuchtstag während der 252 Versuchstage. Etwa die Hälfte der Differenz ist wiederum auf einen dreitägigen Ausfall der Klima- bzw. Heizungsanlage zurückzuführen, während dessen ein Temperaturrückgang von bis zu 3,2 °C vom Zielwert (23,0 °C) in der Anlage ohne NaCl-Applikation aufgetreten ist.

Aufgrund dieser Umstände, und unter Berücksichtigung der Wachstumsergebnisse der anderen Versuche dieser Arbeit, werden weder die höhere Futtergabe noch die geringfügige Temperaturdifferenz für das volle Maß des beobachteten Wachstumsunterschieds verantwortlich gemacht, sondern maßgeblich die Veränderung der Haltungsumwelt durch Aufsalzung sowie dessen positive Effekte auf die Physiologie und das Wachstum von Fischen (vgl. BOEUF u. PAYAN 2001).

#### **5.4.3 Gesundheitszustand der Zander**

Die Spannweite der ermittelten Konditionsfaktoren deckt sich mit anderen aktuellen Untersuchungsergebnissen zur Haltung von Zandern in Kreislaufanlagen (STEINBERG u. a. 2017, ZIMMERMANN u. a. 2019) und können als regulär für Zander eingeordnet werden. Die etwas höheren Totallängen der Zander in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> resultierten in einem geringeren Konditionsfaktor dieser Gruppe.

Es wurden signifikant höhere Lebermassen und hepatosomatische Indizes bei den Zandern aus der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage festgestellt. Eine steigende Lebermasse ist ein Hinweis auf einen veränderten Leberstoffwechsel (LUZ u. a. 2008). Allerdings bestanden weder zwischen der Leberhelligkeit L\* noch der Leberfarbe a\* und b\* signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen, die einen ersten Anhaltspunkt geliefert hätten. Für detaillierte Aussagen sollten daher in zukünftigen Studien die Nährstoffzusammensetzungen von Zanderlebern unter verschiedenen Salinitäten berücksichtigt werden.

Der splenosomatische Index (SSI) kann als Indikator für den Immunitätszustand sowie dessen Veränderungen auf mögliche Infektionen und Krankheiten hindeuten (DEKIĆ u. a. 2016). Zwar war die Milzmasse der Fische in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> höher, dennoch unterschieden sich der SSI der Zander beider NaCl-Regime nicht signifikant voneinander. Die SSI Werte variierten im Mittel um 0,09 % und stimmen mit anderen Untersuchungsergebnissen von Zandern überein (STEINBERG u. a. 2017, ZIMMERMANN u. a. 2019). Eine Veränderung des SSI durch die Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> ist demnach nicht zu erwarten.

Die Hämatokritwerte der Zander aus beiden Versuchsgruppen waren, wie schon in **AP1** festgestellt, nahezu identisch. Die ermittelten Werte deckten sich zudem mit anderen Untersuchungen von Zandern (LUCHIARI u. a. 2009; SIWICKI u. a. 2003, STEINBERG u. a. 2017).

Anhand der erhobenen Parameter kann abgeleitet werden, dass die langfristige Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> den Gesundheitszustand der Zander nicht beeinflusst hat.

#### **5.4.4 Ermittelte Schlachtparameter der Zander**

Bei der Exposition von Süßwasserfischen mit Salzen werden Veränderungen des Körperwasseranteils (ARUNACHALAM u. REDDY 1979) und Energiegehaltes (MATTIOLI u. a. 2017) festgestellt. Am Ende des Versuches wurde deshalb eine Wassergehalts- und eine Bruttoenergiebestimmung nach SCHRECKENBACH u. a. (2001) durchgeführt. Die gewonnenen Ergebnisse stimmen generell mit anderen Studien natürlicher oder auch aquakulturbasierter Zander- und Barscherkünfte überein (JANKOWSKA u. a. 2007; OVERTON u. a. 2008; PYANOV u. a. 2017; SCHULZ u. a. 2006; SCHRECKENBACH u. a. 2001; STEINBERG u. a. 2017).

Die Langzeitapplikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> unter Aufzuchtbedingungen geschlossener Warmwasser-Kreislaufanlagen führte weder zu Veränderungen des Wassergehaltes noch der Bruttoenergie der Zander im Vergleich mit den Fischen der NaCl-freien Kontrolle. Neben etwaigen physiologischen Konsequenzen, die bei einer Veränderung der Ionenkonzentration und –zusammensetzung des Haltungswassers hätten auftreten können, sind der sich nicht ändernde Wassergehalt und die Bruttoenergie bereits ein Indikator dafür, dass auch die

Schlacht- und Produktqualitätsparameter durch den Einsatz von NaCl nicht maßgeblich beeinflusst wurden.

Das primäre Ziel eines Aufzuchtzyklus von Fischen bis zur Speisefähigkeit ist es ein vermarktbares Produkt (Größe, Filetanteil, Färbung, Geschmack, etc.) zu produzieren, das letztendlich vom Verbraucher akzeptiert, erworben und konsumiert wird. Zander genießen aufgrund ihres geringen Fettanteils, der geringen Anzahl intramuskulärer Gräten und insbesondere dem weißen Filet ein hohes Ansehen bei Verbrauchern.

Am Ende des Langzeitversuches wurden die Fische für einen Zeitraum von 3 Tagen direkt in der jeweiligen Anlage gehältert, d. h. die Anlage regulär bewirtschaftet, den Zandern jedoch kein Futter angeboten. Aus jeder Anlage wurden danach 24 Fische entnommen, um die Schlachtparameter der speisefähigen Zander aufzunehmen. Um etwaige individuelle Unterschiede bei der Schnittführung während des Filetierens auszuschließen, wurde die Verarbeitung durch eine einzige geschulte Person vorgenommen.

Die Fische in der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage wiesen eine signifikant höhere Totallänge auf als die Fische der Kontrolle- und ebenso einen deutlichen Trend zu höheren durchschnittlichen Stückmassen. Darauf basierend wurde ebenfalls ein Trend zu einer höheren Filetausbeute bei den Zandern in 3 g NaCl l<sup>-1</sup> festgestellt. Der rechnerisch ermittelte Filetanteil (ohne Haut) von rund 43 % deckt sich mit anderen Untersuchungsergebnissen von Zandern aus Kreislaufanlagen mit nahezu identischen Stückmassen (42 - 48 % Filetanteil; KOWALSKA u. a. (2011) sowie kalkulatorischen Annahmen bei der Zandervermarktung (45 %; MEYER u. a. 2016).

Die Bestimmung der Filethelligkeit L\* sowie der Filetfarben a\* und b\* ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Zandern aus 0 und 3 g NaCl l<sup>-1</sup>. Demzufolge hatte die Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> während des Produktionszyklus im Vergleich zur Kontrolle keine Effekte auf die Farbeigenschaften von Zanderfilets. Hinsichtlich dieses Parameters kann also von einer problemlosen Vermarktung ausgegangen werden (s. a. ERDÖS u. a. 2017).

Im Gegensatz zu Studien von LOŽYS (2004) konnte kein signifikanter Anstieg des Fettgehaltes von Zander unter salinen Bedingungen beobachtet werden. Die durchschnittliche Visceralfettmasse der Kontrollzander war signifikant höher als die der Fische aus der Anlage mit 3 g l<sup>-1</sup> und folglich auch die somatischen Visceralfett-Indizes. Dies könnte auf eine veränderte Nährstoffverwertung unter salinen Bedingungen hinweisen (s. a. KIBRIA u. a. 1999). Mit Ausnahme der potentiellen Reduktion des Schlachtkörperanteils hat dies jedoch, mit Blick auf die Schlachtparameter, keine weiteren Konsequenzen.

Die Langzeitapplikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> zur Haltungsumwelt von Zandern in geschlossenen Kreislaufanlagen hatte keine Effekte auf die erhobenen Schlachtparameter. Die Verwendung von NaCl in niedrigen Konzentrationen (3 g l<sup>-1</sup>) kann daher problemlos zur Anwendung kommen.

#### **5.4.5 Sensorische Beurteilung der Zander**

Die paarweise Blindverkostung von Zanderfilets in Anlehnung an DIN EN ISO 5495:2007-10 ergab eine Tendenz zu ausgeprägteren Eigenschaften hinsichtlich des Geruches, der Festigkeit und des Geschmacks der Fische aus der Kontrollanlage, nicht aber der Färbung der Filets (Tabelle 4.30.). Auf die Frage welche Filetherkunft bevorzugt wird, bestand für die Eigenschaften Geruch, Farbe und Festigkeit eine Tendenz zu den Filets aus der Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup>. Hinsichtlich des Faktors Geschmack wurden von den Prüfpanels die Filets aus der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage signifikant bevorzugt. Die Fische aus der aufgesalzene Anlage be-

saßen demzufolge bessere geschmackliche Eigenschaften, als die identisch aufgezogenen, gehälterten und zubereiteten Kontrollfische. Dies kann zwei mögliche Ursachen haben. Zum einen reichern sich Fehlgerüche wie z. B. Geosmin und Methylisoborneol bevorzugt im Fettgewebe von Fischen an. In Versuchen mit Afrikanischen Welsen (*Ictalurus punctatus*) stellten JOHNSEN u. LLOYD (1992) fest, dass jene Fische mit einem Muskelfettanteil von > 2,5 % höhere Konzentrationen von Fehlgerüchen (hier: Methylisoborneol) in einer kürzeren Zeit aufnahmen als Fische mit Fettanteilen von < 2,5 %. Methylisoborneol und Geosmin sind bei einer Anreicherung im Fischgewebe für den „erdig-muffigen“ Geschmack verantwortlich (TUCKER 2000). Der Aufnahmeweg dieser s. g. Fehlgerüchen findet über die permeablen Oberflächen Kieme, Haut und Darm statt (HOWGATE 2004). Fehlgerüchen im Endprodukt können zum einen die Ernte und damit den Verkauf verzögern, zum anderen, und im schlimmsten Fall, die Fische in Gänze unverkäuflich werden lassen (RURANGWA u. VERDEGEM 2015). Mit Blick auf die bevorzugte Akkumulation von Fehlgerüchen in lipidhaltigen Geweben ist festzuhalten, dass jene Fische die geschmacklich bevorzugt wurden (3 g NaCl l<sup>-1</sup>) auch jene Fische waren, die den geringeren (Körper-)Fettanteil aufwiesen. Da weder der Fettanteil im Filet selbst noch die Konzentration von Fehlgerüchen labortechnisch bestimmt wurden, kann nur vermutet werden, dass der Fettanteil einen Effekt auf die Bevorzugung durch das Prüfpanel hatte.

Zum anderen haben, neben den Eigenschaften des verabreichten Futters (GONZALEZ ARTOLA 2004b), was jedoch für beide Anlagen immer identisch war, die Umweltbedingungen während der Aufzucht Auswirkungen auf die Qualitätseigenschaften des jeweiligen Endproduktes von Perciden (vgl. GONZALEZ ARTOLA 2004a). Denn trotz der deckungsgleichen Bewirtschaftung war die Umwelt in den beiden Versuchskreislaufanlagen nicht identisch (Tabelle 4.24.). Mit Blick auf das Bevorzugen der Filets aus der 3 g NaCl l<sup>-1</sup> Anlage muss daher berücksichtigt werden, dass die mittleren Konzentrationen der gelösten Stickstofffraktionen (Ammonium/Ammoniak und Nitrit) unterschiedlich waren. Die Umwandlung des von den Fischen abgegebenen Ammoniums/Ammoniak wurde in den Versuchsanlagen mit Hilfe von aeroben Biofiltern und die Nitratentfernung mittels Denitrifikationsreaktoren sichergestellt. In der kreislaufbasierten Zanderaquakultur sind aber gerade Biofilter und Denitrifikationsstufen als explizite Quellen von Fehlgerüchen (Geosmin und Methylisoborneol) ausgemacht worden (PODDUTURI u. a. 2020). Trotz der deckungsgleichen Futtergaben war im langfristigen Trend die Umwandlung von Ammonium und Nitrit in der Anlage 0 g NaCl l<sup>-1</sup> im Vergleich zur Anlage mit 3 g NaCl l<sup>-1</sup> nicht identisch. Da sich die Filter in ihrer Bauweise und Bewirtschaftung nicht unterschieden, deutet dies möglicherweise auf eine veränderte Bakteriengemeinschaft in den Biofiltereinheiten hin. Bakteriengemeinschaften von aeroben und anaeroben Biofiltern sind u. a. vom vorliegenden Salzgehalt geprägt (GONZALEZ-SILVA u. a. 2016; VON AHNEN u. a. 2019). Einige der in den Filtern der Fischhaltungssysteme vorkommenden Bakterien- und Pilzarten bilden Geosmin und Methylisoborneol als Metabolit ihres Stoffwechsels, mit den oben beschriebenen negativen Effekten auf fischereiliche Endprodukte.

Im speziellen werden Bakterien der Gattung *Streptomyces* für die Bildung von Geosmin in Kreislaufanlagen verantwortlich gemacht (AUFFRET u. a. 2011; LUKASSEN u. a. 2017). Das Bakterium *Streptomyces avermitilis* reagierte in Laborversuchen bei steigenden NaCl-Konzentrationen mit einer reduzierten Bildung von Geosmin. Ab Konzentrationen von ~ 3 g NaCl l<sup>-1</sup> war dabei die Geosminbildung durch *S. avermitilis* nahezu eingestellt (ŘEZANKA u. VOTRUBA 1998). Sehr wahrscheinlich hat die Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> also zu einer Hemmung bzw. deutlichen Verringerung der Produktion von Fehlgerüchen geführt. Andere Untersuchungsergebnisse stützen diese Vermutung. So weisen Lachse (*Salmo salar*) aus dem Meer, im Vergleich zu in Flüssen gefangenen Tieren, geringere Konzentrationen unerwünschter Fehlgerüchen auf (FARMER u. a. 1995). Und auch aus der teichbasierten Garnelen-

aquakultur mit Salzwasser gibt es ähnliche Hinweise. Hier wurden nur dann Fehleraromen in den Tieren festgestellt, wenn die Salzkonzentration des Haltungswassers im Jahresverlauf unter eine Grenze von  $10 \text{ g l}^{-1}$  fiel (LOVELL u. BROCE 1985). Beim Vergleich von Fehleraromen im Filet von Tilapien (*Oreochromis niloticus*) aus Süß- ( $\sim 0\text{-}1 \text{ g l}^{-1}$ ) und Brackwasserteichen ( $\sim 10 \text{ g l}^{-1}$ ) machen YAMPRAYOON u. NOOMHORM (2000) die Beobachtung, dass das Prüfpanel in den Brackwasser-Tilapien keine Fehleraromen feststellte. Zusätzlich zum Prüfpanel wurden auch labortechnisch bei den Tilapien aus der salinen Umwelt signifikant geringere Konzentrationen von Geosmin ( $1,5 - 2,6 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), als bei den Fischen aus einer limnischen Haltungsumwelt ( $7,5 - 9,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), festgestellt.

Die Ergebnisse der sensorischen Verköstigung der Zanderfilets unterstreichen somit zum einen, dass die Langzeitapplikation von NaCl keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich der Produkteigenschaften Geruch, Festigkeit und Färbung bei Zandern herbeiführt. Zum anderen wird aber anhand der signifikanten Bevorzugung der Filets beim Parameter Geschmack aus der aufgesalzene Anlage deutlich, dass die NaCl-Applikation von  $3 \text{ g l}^{-1}$  ein Potential zur Verringerung/Vermeidung von unerwünschten Fehleraromen hat. Zur finalen Verifizierung der Verköstigungen wäre zusätzlich die Konzentrationsbestimmung von Fehleraromen eine sinnvolle Ergänzung des Datensatzes gewesen.

Die Anreicherung von Fehleraromen in Fischen ist reversibel, weshalb mit zunehmender Hälterungsdauer diese im Fisch wieder abnehmen (YAMPRAYOON u. NOOMHORM 2000). Aus diesem Grund lässt sich ein weiterer Schluss ziehen. Die Applikation von NaCl hat, im Vergleich zur Kontrolle, einen verkürzenden Effekt auf die Dauer der Hälterung, was sich für Fischzüchter wiederum als ein ökonomischer Vorteil darstellt (LINDHOLM-LEHTO u. VIELMA 2019). Um zu überprüfen, ob gegen eine Anreicherung mit Fehleraromen eine Langzeitapplikation von NaCl notwendig ist oder aber bereits die NaCl-Applikation am Ende der Mastphase ausreichend ist, sind weitere Untersuchungen notwendig.

#### 5.4.6 Fazit

Die Aufzucht von Zandersetzlingen zu einer vermarktungsfähigen Stückmasse in oligohalinen, brackisch-limnischen Haltungswasser im halbtechnischen Maßstab ist gelungen. Nach 252 Versuchstagen waren die Stückmassen der Zander in der  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  Anlage signifikant höher als die der Fische in der Kontrollanlage. Die Fische in der NaCl-Anlage wiesen dabei eine um 4,4 % höhere Gesamtfischmasse auf. Die spezifischen Wachstumsraten und die Futtermittelverwertung waren dementsprechend verbessert.

Bei der Erhebung des Gesundheitsstatus konnten keine wesentlichen Unterschiede zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Auch die Entwicklung der Zander verlief normal und war mit aus der Literatur bekannten Werten vergleichbar.

Die Langzeitapplikation von  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  unter Produktionsbedingungen geschlossener Warmwasser-Kreislaufanlagen führte weder zu Veränderungen des Wasser- noch des Bruttoenergiegehaltes der Zander. Der HSI war bei den mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  exponierten Zandern im Mittel höher als der HSI der Kontrollfische, was auf eine Veränderung des Energiestoffwechsels hinweist. Unter Berücksichtigung des geringeren SVFI und dem signifikant besseren Wachstum deutet dies auf eine verbesserte Nährstoffverwertung unter leicht salinen Bedingungen hin. Die erhobenen Schlachtparameter waren nicht beeinflusst. Die abschließende sensorische Verköstigung zeigte, dass die Zander aus der aufgesalzene Anlage hinsichtlich des Geschmacks signifikant bevorzugt wurden.

## 5.5 AP6

Im durchgeführten Vorhaben wurden die Möglichkeiten und der Nutzen des Einsatzes von Kochsalz (NaCl) bei der Zanderaufzucht in KLA untersucht. In diesem Abschnitt sollen einzelnen Arbeitspakete in ihrem Zusammenwirken betrachtet werden.

### 5.5.1 Effizienzsteigerung zur Einsparung von Ressourcen

Für das Jahr 2018 wurde vom Statistischen Bundesamt (DESTATIS 2020) folgende mittlere Preise für Zander (lebend oder frisch geschlachtet - auch ausgenommen) in den vier verschiedenen Vermarktungswegen erzielt:

-Direktvermarktung:	18,49 €
-Vermarktung an Großhandel:	12,06 €
-Vermarktung an Einzelhandel:	9,88 €
-Vermarktung an Sonstige:	15,81 €

Bei Gestehungskosten von 9,82 € pro kg produziertem Fisch kann der wirtschaftlich sinnvolle Absatz also in der Direktvermarktung, an den Großhandel sowie an Sonstige (Gastronomie, Angelparks, Aquakulturbetriebe und weiterverarbeitende Betriebe) erfolgen. Die zu erzielenden mittleren Preise bei der Vermarktung an den Einzelhandel befinden sich jedoch nur ganz knapp oberhalb der Gestehungskosten. Von einer kostendeckenden Produktion kann daher nicht ausgegangen werden.

Insbesondere auf Grundlage des Langzeitversuches im halbtechnischen Maßstab (**AP4**) kann bei der Applikation von 3 g NaCl l<sup>-1</sup> jedoch mit einer 5%igen Steigerung des Wachstums kalkuliert werden. Demnach kann bei der Anwendung von NaCl während der Aufzucht von einer Reduzierung der Gestehungskosten ausgegangen werden. Die modellierte Senkung beträgt bei einer Produktion von 105 statt 100 t, 3,6 % bzw. 0,35 € pro kg produziertem Fisch. Somit wäre bei der Applikation von NaCl nun für den Produzenten auch ein Absatz an den Einzelhandel möglich, da sich die Verkaufserlöse wesentlich deutlicher von den Gestehungskosten abgrenzen.

Neben dem ökonomischen Einsparpotential, ist die Einsparung von Ressourcen für eine nachhaltige Produktion von Bedeutung. Wesentliche Inputfaktoren bzw. variable Kosten bei der Aufzucht von Fischen in der Aquakultur sind Futter, Setzlinge, Wasser und Energie. Bei der Annahme einer 5%igen Einsparung dieser Ressourcen durch den Einsatz von NaCl (3 g l<sup>-1</sup>) verringern sich die Gestehungskosten bei der Produktion von 100 t Zander um rund 2,7 % bzw. 0,15 € pro kg produziertem Fisch. Mit Blick auf das Einsparen von Ressourcen, ist der Einsatz von NaCl folglich ebenfalls vorsichtig als positiv einzuschätzen. Auch bei dieser Modellierung kann durch den Einsatz von NaCl die Vermarktung an den Einzelhandel mit geringen, aber dennoch positiven Margen bedient werden.

Bei beiden Modellierungen sind etwaige Standort- und Skalierungseffekte zu berücksichtigen, die bei verschiedenen dimensionierten Anlagen auftreten können. Mit Blick auf die Ressource Wasser/Abwasser bedeutet dies, dass zunächst der Preis pro Kubikmeter standortabhängigen Schwankungen unterliegen kann (landwirtschaftliche Fläche vs. Industriestandort im Gewerbegebiet). Zusätzlich zum Preis ist aber auch der Wasserverbrauch pro kg eingesetztem Futtermittel ein wichtiger Faktor. Je nach verwendeter Anlagentechnik (Siebtrommelfilter) kann der Spülwasserbedarf deutlich variieren. Die kleinskaligeren Siebtrommelfilter des Langzeitversuches (**AP4**) führten zu Wasserwechselraten von rund 0,4 m<sup>3</sup> pro

kg Futtermittel, bei der Verwendung großskaligerer Filter ist jedoch mit einem deutlich geringeren Spülwasserbedarf zu rechnen. Zudem wird die Effektivität der Denitrifikationsstufe einen Einfluss darauf haben, wie viel Nitrat sich in der Haltungsumwelt anreichert und wie viel Wasser tatsächlich gewechselt werden muss. Eng mit der Frischwasserzufuhr ist dann wiederum der Faktor „Heizenergie“ verbunden, da das zulaufende Wasser auf die gewünschte Temperatur erwärmt werden muss.

### 5.5.2 Verbesserung von Tierwohl und Tiergesundheit

Die Applikation von Salzen ist in der Aquakultur mit einer Vielzahl von positiven Effekten verbunden. Mit Blick auf das Tierwohl und die Tiergesundheit von Zandern in Kreislaufanlagen, die mit „Brackwasser“ betrieben werden, liefert die vorliegende Arbeit verschiedene Erkenntnisse.

Zunächst ist anzumerken, dass das herangezogene Protokoll der Aufsalzung bei den juvenilen Zandern (**AP1**) keinen Stress ausgelöst hat. Es konnten weder erhöhte Cortisol- noch erhöhte Glukosespiegel im Blutplasma der Tiere festgestellt werden. Insbesondere ein Anstieg der Glukosekonzentration wäre ein deutlicher Indikator für sekundären Stress gewesen (BARTON u. IWAMA 1991; IWAMA 1998). Demzufolge ist eine stufenweise Erhöhung der NaCl-Konzentration von maximal  $3 \text{ g l}^{-1} \cdot \text{d}$ , als für die Tiere unbedenklich einzustufen und deshalb für die Aquakulturpraxis empfohlen, wenn z. B. im Rahmen einer Ektoparasitenbehandlung (**AP2**) höhere NaCl-Konzentrationen notwendig wären.

Zusätzlich ist aus den Cortisolwerten des **AP1** abzuleiten, dass eine Exposition von juvenilen Zandern mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  für 24 Stunden den Cortisolspiegel und damit das Stresslevel der Tiere signifikant reduziert. Aus diesem Grund wird die Applikation von  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  im Anschluss an Sortier- und Umsetzungsvorgängen ausdrücklich empfohlen.

Das Wachstum von Fischen während ihrer Aufzucht in der Aquakultur ist einer der entscheidendsten Parameter. Neben dem ökonomischen Faktor, kann über das Wachstum ein Rückschluss auf das Wohlbefinden der Fische gezogen werden. In den verschiedenen Versuchen (**AP1**, **AP3**, **AP4**) dieser Arbeit wurde festgestellt, dass der Einsatz von NaCl zu einer Steigerung der Futtermittelverwertung und Verbesserung des Wachstums führte. HUNTIGFORD u. a. (2006) beschreiben eine Verschlechterung der Futteraufnahme und des Wachstums als Anzeichen für eine Beeinträchtigung des Tierwohles. Bei Zulässigkeit des Umkehrschlusses, können die beobachteten Verbesserungen dieser Parameter beim Einsatz von NaCl sehr wohl als Anzeichen für eine Verbesserung des Tierwohls der Zander interpretiert werden.

Sowohl aus dem 78-tägigen Versuch mit juvenilen Zandersetzlingen als auch aus dem 252-tägigen Langzeitversuch kann geschlussfolgert werden, dass bei einer kontinuierlichen Exposition von Zandern mit  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  keine, die Tiergesundheit betreffenden, negativen Effekte zu erwarten sind. Der Einsatz von NaCl kann demnach auch langfristig zur Anwendung kommen.

Ein positiver Nebeneffekt einer kontinuierlich aufgesalzenen Haltungsumwelt ist ein verringertes Risiko, dass, bei gelegentlich auftretenden Leistungsschwankungen der Biofilter, fischtoxische Stickstoffverbindungen (Ammoniak, Nitrit) die Tiere negativ beeinflussen können.

Mit Blick auf die Tiergesundheit von Zandern in KLA lässt diese Arbeit zudem den Rückschluss zu, dass NaCl erfolgreich zur Behandlung von Ektoparasiten angewendet werden kann. Mit Hilfe von  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  war es möglich die Dichte eines Vertreters der Trichodinidae

auf den Zandern auf null zu reduzieren (**AP2**). Somit kann zumindest bei Trichodinidae auf eine Behandlung mit herkömmlichen Therapeutika verzichtet werden. Da zudem die Erhöhung der NaCl-Konzentration auf  $6 \text{ g l}^{-1}$  keinen Stress bei den Tieren ausgelöst haben dürfte (vgl. **AP1**), kann im Vergleich zu herkömmlichen Therapeutika von einer stressfreien Behandlung ausgegangen werden (vgl. GRIFFIN u. a. 1999). Durch die prophylaktische Wirkung auf Parasiten und möglicherweise weiteren Pathogenen, ist unter Praxisbedingungen von einem verminderten Therapeutika- und Desinfektionsmitteleinsatz sowie geringeren Tierarztkosten auszugehen. Ein weiterer positiver Nebeneffekt ist die zu erwartende erhöhte Verbraucherakzeptanz gegenüber NaCl in Zeiten einer anhaltend erregten Diskussion über Antibiotikaeinsatz bei der Tiermast sowie einer Emissionsvermeidung von Medikamentenrückständen oder Desinfektionsmitteln über das Ablaufwasser.

Ein weiterer positiver Effekt ist bei der Erbrütung der Zandereier unter dem Einfluss von NaCl beobachtet worden (**AP3**). Gegenüber der Kontrolle verringerten sowohl  $3$  als auch  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  die Verpilzungsraten der Eier deutlich. Damit kann auch hier auf die Verwendung von herkömmlichen Desinfektionsmitteln, wie Formaldehyd oder Peroxidverbindungen (LAHNSTEINER u. KLETZL 2016; RACH u. a. 1998), potentiell verzichtet werden.

## 6. Gesamtfazit

Die optimale NaCl-Konzentration bei der Haltung und Aufzucht juveniler Zander (30 g Stückmasse) in geschlossenen KLA beträgt  $3 \text{ g l}^{-1}$  (**Meilenstein I**). Gegenüber einer herkömmlichen Haltung im Süßwasser wird bei der Applikation dieser Konzentration eine verbesserte Wachstumsleistung und Futtermittelverwertung der Zander eintreten. Bis zu einer NaCl-Konzentration von  $3 \text{ g l}^{-1}$  wurden keine physiologischen Reaktionen der Tiere festgestellt, die auf eine Unverträglichkeit gegenüber dieser Konzentration hinweisen. Auch die Kiemenmorphologie war bei dieser Konzentration nicht beeinträchtigt. Ein wiederholtes Handling der Fische im Anschluss an eine Exposition mit  $\geq 3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  sollte jedoch vermieden werden, da es ansonsten zu Wachstumseinbußen während der Adaptation an die salinen Umweltverhältnisse kommen kann.

Im Gegensatz dazu werden NaCl-Konzentrationen  $\geq 6 \text{ g l}^{-1}$  von juvenilen Zandern längerfristig nicht optimal toleriert. Die Fische in  $6$  und  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  waren dabei zwar in der Lage zu osmoregulieren, allerdings wuchsen die Fische während des 36-tägigen Versuchsabschnittes nicht. Das auf Basis von Gruppenwägungen ausbleibende Wachstum der Tiere weist auf die Unverträglichkeit dieser NaCl-Konzentrationen hin. Auf Grundlage individueller Markierungen wurde jedoch ersichtlich, dass einige Individuen dennoch unter  $6$  und  $9 \text{ g NaCl l}^{-1}$  wuchsen. Diese Tatsache bietet bspw. züchterisches Potential.

Eine NaCl-Konzentration von  $12 \text{ g l}^{-1}$  wurde von den juvenilen Zandern nicht toleriert. Die hämatologischen und kiemenhistologischen Parameter wiesen deutliche Veränderungen auf. Die sehr geringen Überlebensraten unterstreichen die physiologischen und morphologischen Beobachtungen.

Beim Einsatz von NaCl können auf Zandern (120 g Stückmasse) vorkommende Ektoparasiten erfolgreich behandelt werden (**Meilenstein II**). Mittels einer NaCl-Konzentration von  $6 \text{ g l}^{-1}$  kann innerhalb eines Zeitraumes von 21 Tagen die Dichte von Ektoparasiten (hier: Trichodinidae) auf null gesenkt werden. Bei einem Befall mit diesen Ciliaten kann demnach auf den Einsatz herkömmlicher Therapeutika verzichtet werden.

Die optimale NaCl-Konzentration variiert während der Entwicklung eines Zanders (**Meilenstein III**). Befruchteter Zanderlaich kann in bis zu  $6 \text{ g NaCl l}^{-1}$  problemlos inkubiert werden, wobei die Anzahl der mit Pilzhyphen befallenen Eier mit zunehmender NaCl-Konzentration sinkt. Unter  $9$  und  $12 \text{ g l}^{-1}$  kommt es jedoch zu einem deutlichen Anstieg der embryonalen Sterblichkeit. Während Zanderlarven (8 - 18 dph) die beste Performance unter einer NaCl-Konzentration von  $6 \text{ g l}^{-1}$  aufweisen, sind für trockenfutteradaptierte Jungzander ( $> 0,4 \text{ g}$ ) sowie ältere Lebensstadien  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  als optimal anzusehen.

Auch die langfristige Haltung von Zandern unter praxisnahen Bedingungen in geschlossenen KLA ist problemlos möglich. Eine Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse in die Aquakulturpraxis ist demnach möglich (**Meilenstein III**). Es ist mit keiner gesundheitlichen Beeinträchtigung der Fische durch NaCl ( $3 \text{ g l}^{-1}$ ) während eines Produktionszyklus zu rechnen. Vielmehr wiesen die Fische ein besseres Wachstum und eine verbesserte Futtermittelverwertung auf. Bei der kontinuierlichen Applikation von  $3 \text{ g NaCl l}^{-1}$  ist mit einem Wachstumsvorsprung von rund  $5 \%$  zu rechnen. Aus diesem Grund bietet der Einsatz von NaCl sowohl ökonomisches Einsparpotential als auch Einsparpotential bei den einzusetzenden Ressourcen.

## 7. Verwendete Literatur

- Abdelghany, A. E. (2003). Partial and complete replacement of fish meal with gambusia meal in diets for red tilapia '*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*'. *Aquaculture Nutrition*, 9 (3), 145-154.
- Abdolmalaki, S., Psuty, I. (2007). The effects of stock enhancement of pikeperch (*Sander lucioperca*) in Iranian coastal waters of the Caspian Sea. *ICES Journal of Marine Science*, 64 (5), 973-980.
- Aihua, L., Buchmann, K. (2001): Temperature- and salinity-dependent development of a Nordic strain of *Ichthyophthirius multifiliis* from rainbow trout. *Journal of Applied Ichthyology* 17 (6), 273-276.
- Ahmadnezhad, M., Oryan, S., Bahmani, M., Sayad Bourani, M. (2014). Osmoregulatory capabilities of Zander (*Sander lucioperca*) fingerlings in different salinities of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13 (2), 247-261.
- Alderice, D. F. (1988). Osmotic and ionic regulation in teleost eggs and larvae. In: Hoar, W. S., Randall, D. J. (Hrsg). *Fish Physiology*, Vol. 11, Academic Press, New York, ISBN: 978-0123504333, 163-251.
- Al-Harbi, A. H. (2011). A monogenic trematode (*Dactylogyrus* sp.) associated with hybrid Tilapia (*Oreochromis Niloticus* × *O. Aureus*) mortality. *The Bioscan* 6 (1), 1-3.
- Ali, M., Nicieza, A., Wootton, R. J. (2003). Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries*, 4 (2), 147-190.
- Allan, G. L., Rowland, S. J., Parkinson, S., Stone, D. A., Jantrarotai, W. (1999). Nutrient digestibility for juvenile silver perch *Bidyanus bidyanus*: development of methods. *Aquaculture*, 170 (2), 131-145.
- Allen, P. J., McEnroe, M., Forostyan, T., Cole, S., Nicholl, M. M., Hodge, B., Cech, J. J. (2011). Ontogeny of salinity tolerance and evidence for seawater-entry preparation in juvenile green sturgeon, *Acipenser medirostris*. *Journal of Comparative Physiology B*, 181 (8), 1045-1062.
- Altinok, I., Grizzle, J. M. (2001). Effects of brackish water on growth, feed conversion and energy absorption efficiency by juvenile euryhaline and freshwater stenohaline fishes. *Journal of fish Biology*, 59 (5), 1142-1152.
- Altinok, I., Grizzle, J. M. (2003). Effects of low salinities on oxygen consumption of selected euryhaline and stenohaline freshwater fish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 34 (1), 113-117.
- Amlacher, E. (1986): Taschenbuch der Fischkrankheiten- Grundlagen der Fischpathologie, 5., überarbeitete Auflage, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Anni, I. S. A., Bianchini, A., Barcarolli, I. F., Junior, A. S. V., Robaldo, R. B., Tesser, M. B., Sampaio, L. A. (2016). Salinity influence on growth, osmoregulation and energy turnover in juvenile pompano *Trachinotus marginatus* Cuvier 1832. *Aquaculture*, 455, 63-72.
- Arjona, F. J., Vargas-Chacoff, L., Ruiz-Jarabo, I., Gonçalves, O., Páscoa, I., del Río, M. P. M., Mancera, J. M. (2009). Tertiary stress responses in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858) to osmotic challenge: Implications for osmoregulation, energy metabolism and growth. *Aquaculture*, 287 (3-4), 419-426.
- Arunachalam, S., Reddy, S. R. (1979). Food intake, growth, food conversion, and body composition of catfish exposed to different salinities. *Aquaculture*, 16 (2), 163-171.
- Auffret, M., Pilote, A., Proulx, É., Proulx, D., Vandenberg, G., Villemur, R. (2011). Establishment of a real-time PCR method for quantification of geosmin-producing *Streptomyces* spp. in recirculating aquaculture systems. *Water research*, 45 (20), 6753-6762.
- Avella, M., Bornancin, M. (1989). A new analysis of ammonia and sodium transport through the gills of the freshwater rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Experimental Biology*, 142 (1), 155-175.
- Azizi, S., Kochanian, P., Peyghan, R., Khansari, A., Bastami, K. D. (2011). Chloride cell morphometrics of common carp, *Cyprinus carpio*, in response to different salinities. *Comparative Clinical Pathology*, 20 (4), 363-367.
- Baberschke, N., Irob, K., Preuer, T., Meinelt, T., Kloas, W. (2019). Potash mining effluents and ion imbalances cause transient osmoregulatory stress, affect gill integrity and elevate chronically plasma sulfate levels in adult common roach, *Rutilus rutilus*. *Environmental pollution*, 249, 181-190.
- Baras, E., Malbrouck, C., Houbart, M., Kestemont, P., Méland, C. (2000). The effect of PIT tags on growth and physiology of age-0 cultured Eurasian perch *Perca fluviatilis* of variable size. *Aquaculture* 185, 159-173.

- Barber, I. (2007): Parasites, behavior and welfare in fish. *Applied animal behavior science* 104, 251-264.
- Barker, D. E., Cone, D. K., Burt, M. D. B. (2002). *Trichodina murmanica* (Ciliophora) and *Gyrodactylus pleuronecti* (Monogenea) parasitizing hatchery-reared winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum): effects on host growth and assessment of parasite interaction. *Journal of Fish Diseases*, 25 (2), 81-89.
- Bauer, O. N. (1985). Key to the parasites of freshwater fishes of the USSR (in Russisch). Teil 2. Nauka, Leningrad.
- Barton, B. A., Iwama, G. K. (1991). Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of fish diseases*, 1, 3-26.
- Barton, B. A., Haukenes, A. H., Parsons, B. G., Reed, J. R. (2003). Plasma cortisol and chloride stress responses in juvenile walleyes during capture, transport, and stocking procedures. *North American Journal of Aquaculture*, 65 (3), 210-219.
- Barton, B. A., Zitzow, R. E. (1995). Physiological responses of juvenile walleyes to handling stress with recovery in saline water. *The Progressive Fish-Culturist*, 57 (4), 267-276.
- Bath, R. N., Eddy, F. B. (1979). Salt and water balance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) rapidly transferred from fresh water to sea water. *Journal of Experimental Biology*, 83 (1), 193-202.
- Bein, R., Ribí, G. (1994). Effects of larval density and salinity on the development of perch larvae (*Perca fluviatilis* L.). *Aquatic Sciences*, 56 (2), 97-105.
- Benzo, Z., Escalona, A., Salas, J., Gómez, C., Quintal, M., Marciano, E., Ruiz, F., Garaboto, A. Bartoli, F. (2002). Evaluation of Select Variables in the Ion Chromatographic Determination of F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, and PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> in Serum Samples. *Journal of chromatographic science*, 40 (2), 101-106.
- Binning, S. A., Roche, D. G., Layton, C. (2013). Ectoparasites increase swimming costs in a coral reef fish. *Biology Letters*, 9 (1), 1-4.
- Boeuf, G., Payan, P. (2001). How should salinity influence fish growth?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130 (4), 411-423.
- Bohl, M. (1999): Zucht und Produktion von Süßwasserfischen. 2., vollkommen neu überarb. Aufl. DLG-Verlag, Frankfurt (Main): 426-427.
- Brämick (2018): Jahresbericht zur Binnenfischerei 2017. Institut für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow.
- Brämick (2020): Jahresbericht zur Binnenfischerei 2018. Institut für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow.
- Brown, J. A., Moore, W. M., Quabius, E. S. (2001). Physiological effects of saline waters on zander. *Journal of Fish Biology*, 59 (6), 1544-1555.
- Buchmann, K., Møllergaard, S., Køie, M. (1987). Pseudodactylogyrus infection in eel: a review. *Disease of Aquatic Organisms* (3), 51-57.
- Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., Shostak, A. W. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *The Journal of Parasitology*, 575-583.
- Castilla-Guerra, L., Fernández-Moreno, M. D. C., López-Chozas, J. M., Fernández-Bolaños, R. (2006). Electrolytes disturbances and seizures. *Epilepsia*, 47 (12), 1990-1998.
- Chang, J. C. H., Wu, S. M., Tseng, Y. C., Lee, Y. C., Baba, O., Hwang, P. P. (2007). Regulation of glycogen metabolism in gills and liver of the euryhaline tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during acclimation to seawater. *Journal of Experimental Biology*, 210 (19), 3494-3504.
- Chellappa, S., Huntingford, F. A., Strang, R. H. C., Thomson, R. Y. (1995). Condition factor and hepatosomatic index as estimates of energy status in male three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 47 (5), 775-787.
- Christensen, E. A. F., Svendsen, M. B. S., Steffensen, J. F. (2017). Plasma osmolality and oxygen consumption of perch *Perca fluviatilis* in response to different salinities and temperatures. *Journal of fish biology*, 90 (3), 819-833.
- Cho, C. Y. (1992). Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements. *Aquaculture*, 100 (1-3), 107-123.

- Chotipuntu, P., Avakul, P. (2011). Aquaculture potential of climbing perch, *Anabas testudineus*, in brackish water. *Walailak Journal of Science and Technology*, 7 (1), 15-21.
- Cnaani, A., Barki, A., Slosman, T., Scharcanski, A., Milstein, A., Harpaz, S. (2010). Dietary salt supplement increases the growth rate in freshwater cultured tilapia hybrids. *Aquaculture Research*, 41 (10), 1545-1548.
- Collymore, C., White, J. R., Lieggi, C. (2013). *Trichodina xenopodus*, a ciliated protozoan, in a laboratory-maintained *Xenopus laevis*. *Comparative medicine*, 63 (4), 310-312.
- Dalsgaard, J., Lund, I., Thorarinsdottir, R., Drengstig, A., Arvonen, K., Pedersen, P. B. (2013). Farming different species in RAS in Nordic countries: Current status and future perspectives. *Aquacultural engineering*, 53, 2-13.
- Damsgård, B., Arnesen, A. M. (1998). Feeding, growth and social interactions during smolting and seawater acclimation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture*, 168 (1-4), 7-16.
- De Boeck, G., Vlaeminck, A., Van der Linden, A., Blust, R. (2000). The energy metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*) when exposed to salt stress: an increase in energy expenditure or effects of starvation?. *Physiological and Biochemical Zoology*, 73 (1), 102-111.
- Dekić, R., Savić, N., Manojlović, M., Golub, D., Pavličević, J. (2016). Condition factor and organosomatic indices of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*, Wal.) from different brood stock. *Biotechnology in animal husbandry*, 32 (2), 229-237.
- Destatis (2020). Fischerei: Preise für ausgewählte Fischarten im Jahr 2018 nach Vermarktungswegen. Statistisches Bundesamt. Online verfügbar: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Branchen-Unternehmen/Landwirtschaft-Forstwirtschaft-Fischerei/Fischerei/Tabellen/preise-ausgewaehlte-fischarten.html>
- De Verdal, H., Mekki, W., Lind, C. E., Vandeputte, M., Chatain, B., Benzie, J. A. (2017). Measuring individual feed efficiency and its correlations with performance traits in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 468, 489-495.
- DIN EN ISO 15088:2008 (2009). Wasserbeschaffenheit – Bestimmung der akuten Toxizität von Abwasser auf Zebrafisch-Eier (*Danio rerio*) (ISO 15088:2007); Deutsche Fassung EN ISO 15088:2008, 20.
- DIN EN ISO 5495:2007-10: Sensorische Analyse – Prüfverfahren - Paarweise Vergleichsprüfung (ISO 5495:2005 und ISO 5495:2005/Cor 1:2006); Deutsche Fassung EN ISO 5495:2007. Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN. Deutsches Institut für Normung e.V., 25.
- Diouf, B., Rioux, P., Blier, P. U., Rajotte, D. (2000). Use of brook char (*Salvelinus fontinalis*) physiological responses to stress as a teaching exercise. *Advances in Physiology Education*, 23 (1), 18-23.
- Dumas, A., France, J., Bureau, D. (2010). Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going? *Aquaculture Research*, 41 (2), 161-181.
- Eddy, F. B. (1985). Uptake and loss of potassium by rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in fresh water and dilute sea water. *Journal of experimental biology*, 118 (1), 277-286.
- Edwards, S. L., Marshall, W. S. (2013). Principles and patterns of osmoregulation and euryhalinity in fishes. *Fish Physiology* (32), 1-44.
- Erdős, A. K., Borchert, N., Valbuena, R., Tschuikowa, S., Müller-Belecke, A., Zienert, S., Hennicke, M. (2017). Praxisgerechte Erzeugung extrudierter Alleinfuttermittel aus Nebenprodukten der Süßwasserfischverarbeitung und deren Einsatz in nachhaltiger Aufzucht karnivorer Wirtschaftsfischarten. Abschlussbericht Az 32041/01, 95.
- Evans, D. H., Piermarini, P. M., Choe, K. P. (2005). The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. *Physiological reviews*, 85 (1), 97-177.
- Falahatkar, B., Akhavan, S. R., Efatpanah, I., Meknatkhah, B. (2012). Primary and secondary responses of juveniles of a teleostean, pikeperch *Sander lucioperca*, and a chondrosteian, Persian sturgeon *Acipenser persicus*, to handling during transport. *North American Journal of Aquaculture*, 74 (2), 241-250.
- Farmer, L. J., McConnell, J. M., Hagan, T. D. J., Harper, D. B. (1995). Flavour and off-flavour in wild and farmed Atlantic salmon from locations around Northern Ireland. *Water Science and Technology*, 31 (11), 259-264.
- FIZ (2020): Fischwirtschaft Daten und Fakten 2018. Herausgegeben vom Fisch-Informationszentrum e.V.. Online verfügbar: [www.fischinfo.de](http://www.fischinfo.de), Stand 05/2020.
- Forsberg, J. A., Summerfelt, R. C., Barton, B. A. (2001). Physiological and behavioral stress responses of wall-eyes transported in salt and buffered-salt solutions. *North American Journal of Aquaculture*, 63 (3), 191-200.

- Fontainhas-Fernandes, A., Russell-Pinto, F., Gomes, E., Reis-Henriques, M. A., Coimbra, J. (2000). The effect of dietary sodium chloride on some osmoregulatory parameters of the teleost, *Oreochromis niloticus*, after transfer from freshwater to seawater. *Fish Physiology and Biochemistry*, 23 (4), 307-316.
- Furukawa, F., Watanabe, S., Kimura, S., Kaneko, T. (2012). Potassium excretion through ROMK potassium channel expressed in gill mitochondrion-rich cells of Mozambique tilapia. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 302 (5), R568-R576.
- Gallaugh, P., Farrell, A. P. (1998). Chapter 6: Hematocrit and blood oxygen-carrying capacity. In: Perry, S. F., Tufts, B. (Hrsg.). *Fish respiration*. Academic Press, San Diego, ISBN: 0-12-350441, 185-227.
- Gannicott, A. M., Tinsley, R. C. (1998). Environmental effects on transmission of *Discocotyle sagittata* (Monogenea): egg production and development. *Parasitology*, 117(5), 499-504.
- Garcia Romeu, F., Maetz, J. (1964). The mechanism of sodium and chloride uptake by the gills of a fresh-water fish, *Carassius auratus*: I. Evidence for an independent uptake of sodium and chloride ions. *The Journal of general physiology* 47 (6), 1195-1207.
- Gatlin III, D. M., MacKenzie, D. S., Craig, S. R., Neill, W. H. (1992). Effects of dietary sodium chloride on red drum juveniles in waters of various salinities. *The Progressive Fish-Culturist*, 54 (4), 220-227.
- Gharibkhani, M., Pourkazemi, M., Rezvani Gilkolai, S., Tatina, M., Azizzade, L. (2014). Genetic analysis of pike-perch, *Sander lucioperca* L., populations revealed by microsatellite DNA markers in Iran. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 12 (1), 99-108.
- Goddard, J. S., McLean, E. (2001). Acid-insoluble ash as an inert reference material for digestibility studies in tilapia, *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 194 (1-2), 93-98.
- Gonzalez Artola, S. (2004a). Composition of farmed and wild yellow perch (*Perca flavescens*). Chapter III, Doktorarbeit, Virginia Tech, 32-51.
- Gonzalez Artola, S. (2004b). Chemical, physical and sensorial differences between farmed yellow perch (*Perca flavescens*) fed diets varying in protein concentration. Chapter IV, Doktorarbeit, Virginia Tech, 52-74.
- Gonzalez-Silva, B. M., Jonassen, K. R., Bakke, I., Østgaard, K., Vadstein, O. (2016). Nitrification at different salinities: biofilm community composition and physiological plasticity. *Water research*, 95, 48-58.
- Griffin, B. R., Davis, K. B., Schlenk, D. (1999). Effect of simulated copper sulfate therapy on stress indicators in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health*, 11 (3), 231-236.
- Grueter, A. S., Crean, A. J., Curtis, L. M., Kuris, A. M., Warner, R. R., McCormick, M. I. (2011). Indirect effects of an ectoparasite reduce successful establishment of a damselfish at settlement. *Functional Ecology*, 25 (3), 586-594.
- Grignard, J. C., Mélard, C., Kestemont, P. (1996). A preliminary study of parasites and diseases of perch in an intensive culture system. *Journal of Applied Ichthyology*, 12 (3-4), 195-199.
- Gröner, F., Höhne, C., Kleiner, W., Kloas, W. (2017). Chronic diclofenac exposure affects gill integrity and pituitary gene expression and displays estrogenic activity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere*, 166, 473-481.
- Güralp, H., Pocherniaieva, K., Blecha, M., Policar, T., Pšenička, M., Saito, T. (2017). Development, and effect of water temperature on development rate, of pikeperch *Sander lucioperca* embryos. *Theriogenology*, 104, 94-104.
- Greenwell, M. G., Sherrill, J., Clayton, L. A. (2003). Osmoregulation in fish. Mechanisms and clinical implications. *The veterinary clinics of North America. Exotic animal practice*, 6 (1), 169-89.
- Harpaz, S., Hakim, Y., Slosman, T., Erol Dogan, O. T. (2005). Effects of adding salt to the diet of Asian sea bass *Lates calcarifer* reared in fresh or salt water recirculating tanks, on growth and brush border enzyme activity. *Aquaculture*, 248 (1-4), 315-324.
- Hassan, B., El-Salhia, M., Khalifa, A., Assem, H., Al Basomy, A., El-Sayed, M. (2013). Environmental isotonicity improves cold tolerance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Egypt. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 39 (1), 59-65.
- Hegab, S. A., Hanke, W. (1982). Electrolyte changes and volume regulatory processes in the carp (*Cyprinus carpio*) during osmotic stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 71 (2), 157-164.

- Henn, K. (2011). Limits of the fish embryo toxicity test with *Danio rerio* as an alternative to the acute fish toxicity test. Doktorarbeit, Ruperto-Carola Universität, Heidelberg, 103.
- Hoffmann, R. W. (2005): *Fischkrankheiten*, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.
- Hopko, M., Zakeš, Z., Kowalska, A., Partyka, K. (2010). Impact of intraperitoneal and intramuscular PIT tags on survival, growth, and tag retention in juvenile pikeperch, *Sander lucioperca* (L.). *Archives of Polish Fisheries*, 18 (2), 85-92.
- Höhne, C. (2015). Einfluss von Diclofenac auf Histopathologie, oxidative Stressantwort und Genexpression ausgewählter Biomarker in den Kiemen der Nil-Tilapie (*Oreochromis niloticus*) nach Langzeitexposition. Bachelorarbeit, Humboldt-Universität zu Berlin, 45.
- Højgaard, J. K., Rayner, T. A., Jensen, C. K., Overton, J. L., Hansen, B. W. (2018). Exploring the potential of providing and feeding pikeperch larvae (*Sander lucioperca* L.) with euryhaline copepod nauplii: A zoo technical trial. *Journal of applied aquaculture*, 30 (4), 312-324.
- Howgate, P. (2004). Tainting of farmed fish by geosmin and 2-methyl-iso-borneol: a review of sensory aspects and of uptake/depuration. *Aquaculture*, 234 (1-4), 155-181.
- Huntingford, F. A., Adams, C., Braithwaite, V. A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandøe, P., Turnbull, J. F. (2006). Current issues in fish welfare. *Journal of fish biology*, 68 (2), 332-372.
- Imentai, A., Yanes-Roca, C., Steinbach, C., Policar, T. (2019). Optimized application of rotifers *Brachionus plicatilis* for rearing pikeperch *Sander lucioperca* L. larvae. *Aquaculture International*, 27 (4), 1137-1149.
- IUNC (2017). The IUNC Red List of Threatened Species 2017-3: *Sander lucioperca*, Online verfügbar: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T20860A9231839.en>
- Iwama, G. K. (1998). Stress in fish. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 851 (1), 304-310.
- Iwama, G. K., Takemura, A., Takano, K. (1997). Oxygen consumption rates of tilapia in fresh water, sea water, and hypersaline sea water. *Journal of Fish Biology*, 51 (5), 886-894.
- Iwama, G. K., Tautz, A. F. (1981). A simple growth model for salmonids in hatcheries. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38 (6), 649-656.
- Jankowska, B., Zakeš, Z., Zmijewski, T., Szczepkowski, M., Kowalska, A. (2007). Slaughter yield, proximate composition, and flesh colour of cultivated and wild perch (*Perca fluviatilis* L.). *Czech Journal of Animal Science*, 52 (8), 260.
- Jiménez-García, I., Rojas-García, C. R., Castro-José, C. N., Pavón-Suriano, S., Lango-Reynoso, F., del Refugio Castañeda-Chávez, M. (2012). Growth enhancement, survival and decrease of ectoparasitic infections in masculinized Nile tilapia fry in a recirculating aquaculture system. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15 (2), 51-56 S.
- Johnsen, P. B., Lloyd, S. W. (1992). Influence of fat content on uptake and depuration of the off-flavor 2-methylisoborneol by channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49 (11), 2406-2411.
- Jomori, R. K., Luz, R. K., Célia Portella, M. (2012). Effect of salinity on larval rearing of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, a freshwater species. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43 (3), 423-432.
- Jorgensen, T. R., Buchmann, K. (2007). Stress response in rainbow trout during infection with *Ichthyophthirius multifiliis* and formalin bath treatment. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 1 (37), 25-28.
- Jørgensen, A. T., Hansen, B. W., Vismann, B., Jacobsen, L., Skov, C., Berg, S., Bekkevold, D. (2010). High salinity tolerance in eggs and fry of a brackish *Esox lucius* population. *Fisheries Management and Ecology*, 17 (6), 554-560
- Kaneko, T., Hasegawa, S., Takagi, Y., Tagawa, M., Hirano, T. (1995). Hypoosmoregulatory ability of eyed-stage embryos of chum salmon. *Marine Biology*, 122(1), 165-170.
- Kaneko, T., Hiroi, J. (2008). Chapter 6: Osmo- and Ionoregulation. In: Finn, R. N., Kapoor, B. G. (Hrsg). *Fish Larval Physiology*. Science Publisher, Enfield, ISBN: 978-1-578083886, 163-183.
- Kang'ombe, J., Brown, J. A. (2008). Effect of salinity on growth, feed utilization, and survival of *Tilapia rendalli* under laboratory conditions. *Journal of applied aquaculture*, 20 (4), 256-271.

- Kavadias, S., Castritsi-Catharios, J., Dessypris, A. (2003). Annual cycles of growth rate, feeding rate, food conversion, plasma glucose and plasma lipids in a population of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) farmed in floating marine cages. *Journal of Applied Ichthyology*, 19 (1), 29-34.
- Khan, R. A. (1991). Mortality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) associated with trichodinid ciliates. *Journal of Wildlife Diseases*, 27 (1), 153-155.
- Kibria, B. G., Nugegoda, D., Fairclough, R., Lam, P. (1999). Effects of salinity on the growth and nutrient retention in silver perch, *Bidyanus bidyanus* (Mitchell 1838) (Teraponidae). *Journal of Applied Ichthyology*, 15 (3), 132-134.
- Kirschner, L. B. (2004). The mechanism of sodium chloride uptake in hyperregulating aquatic animals. *Journal of Experimental Biology*, 207 (9), 1439-1452.
- Klinkhardt, M.B., Winkler, H.M. (1989). Einfluß der Salinität auf die Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit der Eier von vier Süßwasserfischarten Plötze (*Rutilus rutilus*), Barsch (*Perca fluviatilis*), Kaulbarsch (*Gymnocephalus cernua*) und Zander (*Stizostedion lucioperca*). *Wiss. Z. Universität Rostock N-Reihe*, 38 (5), 23-30.
- Kloas, W., Würtz, S., Rennert, B. (2011): Quo vadis Aquakultur? Aus: Welchen Beitrag kann die Aquakultur in Deutschland zur Bioökonomie leisten? Berichte aus dem BioÖkonomieRat 05. Geschäftsstelle des Forschungs- und Technologierats Bioökonomie (BÖR) und Deutsche Bundesstiftung Umwelt (DBU).
- Kottelat, M., Freyhof, J. (2007). Handbook of European Freshwater Fishes. Publikation Kottelat.
- Kowalska, A., Zakęś, Z., Jankowska, B., Demska-Zakęś, K. (2011). Effect of different dietary lipid levels on growth performance, slaughter yield, chemical composition, and histology of liver and intestine of pikeperch, *Sander lucioperca*. *Czech Journal of Animal Science*, 56 (3), 136-149.
- Krejszeff, S., Źarski, D., Palińska-Źarska, K., Trąbska, I., Kupren, K., Targońska, K., Bowszys, M., Kucharczyk, D. (2013). Procedure for harmless estimation of fish larvae weight. *Italian Journal of Animal Science*, 12 (2), 270-274.
- Kritsky, D. C., Heckmann, R. (2002). Species of *Dactylogyrus* (Monogenoidea: Dactylogyridae) and *Trichodina mutabilis* (Ciliata) infesting koi carp, *Cyprinus carpio*, during mass mortality at a commercial rearing facility in Utah, USA. *Comparative parasitology*, 69 (2), 217-219.
- Kültz, D. (2015). Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. *Journal of Experimental Biology*, 218 (12), 1907-1914.
- Kültz, D., Jürss, K., Jonas, L. (1995). Cellular and epithelial adjustments to altered salinity in the gill and opercular epithelium of a cichlid fish (*Oreochromis mossambicus*). *Cell and Tissue Research*, 279 (1), 65-73.
- Lahnsteiner, F., Kletzl, M. (2016). Investigations on the effect of formalin and iodophor on embryo and larvae development in pikeperch, *Sander lucioperca*. *Journal of Applied Aquaculture*, 28 (1), 47-51.
- Lehtonen, H., Hansson, S., Winkler, H. (1996). Biology and exploitation of pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.), in the Baltic Sea area. *Annales Zoologici Fennici* 33, 525-535.
- Leitritz, E. (1974). Die Praxis der Forellenzucht. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, 2. Auflage, ISBN: 3 490 08714 3, 33.
- Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Welker, T., Veverica, K. (2006). Effect of feeding duration of sodium chloride-containing diets on growth performance and some osmoregulatory parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, after transfer to water of different salinities. *Journal of applied aquaculture*, 18 (4), 1-17
- Lindholm-Lehto, P. C., Vielma, J. (2019). Controlling of geosmin and 2-methylisoborneol induced off-flavours in recirculating aquaculture system farmed fish - A review. *Aquaculture research*, 50 (1), 9-28.
- Lom, J., u. Dyková, I. (1992). Protozoan parasites of fishes. In: *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* (26), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, ISBN: 0-444-89434-9, 316.
- Lovell, R. T., Broce, D. (1985). Cause of musty flavor in pond-cultured penaeid shrimp. *Aquaculture*, 50 (1-2), 169-174.
- Ložys, L. (2004). The growth of pikeperch (*Sander lucioperca* L.) and perch (*Perca fluviatilis* L.) under different water temperature and salinity conditions in the Curonian Lagoon and Lithuanian coastal waters of the Baltic Sea. *Hydrobiologia*, 514 (1-3), 105-113.

- Luchiari, A. C., de Morais Freire, F. A., Pirhonen, J., Koskela, J. (2009). Longer wavelengths of light improve the growth, intake and feed efficiency of individually reared juvenile pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture Research*, 40 (8), 880-886.
- Lukassen, M. B., Saunders, A. M., Sindilariu, P. D., Nielsen, J. L. (2017). Quantification of novel geosmin-producing bacteria in aquaculture systems. *Aquaculture*, 479, 304-310.
- Luo, G., Zhang, N., Tan, H. (2012). Effect of Low Salinity on Jade Perch *Scortum barcoo* Performance in a Recirculating Aquaculture System. *North American Journal of Aquaculture*, 74(3), 395-399.
- Lutz, P. L. (1972). Ionic and body compartment responses to increasing salinity in the perch *Perca fluviatilis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 42(3), 711-717.
- Luz, R. K., Martínez-Álvarez, R. M., De Pedro, N., Delgado, M. J. (2008). Growth, food intake regulation and metabolic adaptations in goldfish (*Carassius auratus*) exposed to different salinities. *Aquaculture*, 276 (1-4), 171-178.
- Maceina, M. J., Shireman, J. V. (1979). Grass carp: effects of salinity on survival, weight loss, and muscle tissue water content. *The Progressive Fish-Culturist*, 41 (2), 69-73.
- Madsen, H. C., Buchmann, K., Møllergaard, S. (2000). Association between trichodiniasis in eel (*Anguilla anguilla*) and water quality in recirculation systems. *Aquaculture*, 187 (3-4), 275-281.
- Maetz, J. (1973).  $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanges and  $\text{NH}_3$  movement across the gill of *Carassius auratus*. *Journal of Experimental Biology*, 58 (1), 255-275.
- Mahon, H. C., Hammer, M. P., Harris, J. O. (2015). Effect of salinity on growth of juvenile Yarra pygmy perch (*Nannoperca obscura*: Percichthyidae). *Environmental Biology of Fishes*, 98 (6), 1491-1500.
- Mangor-Jensen, A. (1987). Water balance in developing eggs of the cod *Gadus morhua* L. *Fish physiology and biochemistry*, 3(1), 17-24.
- Malakpour Kolbadinezhad, S., Hajimoradloo, A., Ghorbani, R., Joshaghani, H., Wilson, J. M. (2012). Effects of gradual salinity increase on osmoregulation in Caspian roach *Rutilus caspicus*. *Journal of Fish Biology*, 81(1), 125-134.
- Mallatt, J. (1985). Fish gill structural changes induced by toxicants and other irritants: a statistical review. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42 (4), 630-648.
- Marchiori, N. C., Gonçalves, E. L. T., Tancredo, K. R., Pereira-Junior, J., Garcia, J. R. E., Martins, M. L. (2015). Effect of water temperature and salinity in oviposition, hatching success and infestation of *Aphanoblastella mastigatus* (Monogenea, Dactylogyridae) on *Rhamdia quelen*. *Brazilian Journal of Biology*, 75 (4), 245-252.
- Marshall, W. S. (1995). Transport processes in isolated teleost epithelia: opercular epithelium and urinary bladder. In: Wood, C. M., Shuttleworth, T. J. (Hrsg.). *Cellular and molecular approaches to fish ionic regulation*, Academic Press, New York, ISBN: 9780080585383, 1-23.
- Marshall, W.S., Grosell, M. (2006). Chapter 6: Ion Transport, Osmoregulation, and Acid-Base Balance. In: Evans, D.H.; Claiborne, J.B. *The Physiology of Fishes*. 3<sup>rd</sup> Edition. Taylor&Francis, 177-214.
- Martins, C. I., Schrama, J. W., Verreth, J. A. (2005). The consistency of individual differences in growth, feed efficiency and feeding behaviour in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) housed individually. *Aquaculture Research*, 36(15), 1509-1516.
- Mattioli, C. C., Takata, R., Leme, F. D. O. P., Costa, D. C., Melillo Filho, R., e Silva, W. D. S., Luz, R. K. (2017). The effects of acute and chronic exposure to water salinity on juveniles of the carnivorous freshwater catfish *Lophosilurus alexandri*. *Aquaculture*, 481, 255-266.
- McCormick, S. D. (2001). Endocrine control of osmoregulation in teleost fish. *American zoologist*, 41(4), 781-794.
- Merchie, G. (1996). Artemia: Use of nauplii and meta-nauplii. In: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Hrsg): *Manual on the production and use of live food for aquaculture* (No. 361). Food and Agriculture Organization (FAO) Italien, Rom, 137-160.
- Meyer, S., Griese, M., Schlachter, M., Gehlert, G., Schulz, C. (2016). Konzeptstudie zur Nutzung der Synergieeffekte zwischen Insdutrieparks und Ernährungswirtschaft insbesondere der Aquakultur in der Region Unterelbe. Öffentliche Fassung. Gesellschaft für Marine Aquakultur (GMA), Büsum, 71.

- Mizuno, S., Urawa, S., Miyamoto, M., Hatakeyama, M., Koide, N., Ueda, H. (2019). Experimental evidence on prevention of infection by the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* in juvenile chum salmon using ultraviolet disinfection of rearing water. *Journal of fish diseases*, 42(1), 129-140.
- Milligan, C. L., Girard, S. S. (1993). Lactate metabolism in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology*, 180 (1), 175-193.
- Mommsen, T. P., Vijayan, M. M., Moon, T. W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9 (3), 211-268.
- Monsees, H., Klatt, L., Kloas, W., Wuertz, S. (2017). Chronic exposure to nitrate significantly reduces growth and affects the health status of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) in recirculating aquaculture systems. *Aquaculture Research*, 48 (7), 3482-3492.
- Morgan, J. D., Iwama, G. K. (1991). Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48 (11), 2083-2094
- Morgan, J. D., Sakamoto, T., Grau, E. G., Iwama, G. K. (1997). Physiological and respiratory responses of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to salinity acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 117 (3), 391-398.
- Mount, D. R., Gulley, D. D., Hockett, J. R., Garrison, T. D., Evans, J. M. (1997). Statistical models to predict the toxicity of major ions to *Ceriodaphnia dubia*, *Daphnia magna* and *Pimephales promelas* (Fathead minnows). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 16 (10), 2009-2019.
- Müller-Belecke, A., Zienert, S. (2008): Out-of-season spawning of pike perch (*Sander lucioperca* L.) without the need for hormonal treatments. *Aquaculture Research* 39 (12), 1279-1285.
- Müller-Belecke, A. (2010). IFB Zanderworkshop V: Produktqualität, Betrachtung zur Wirtschaftlichkeit. Institut für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow, 02.05.2010.
- Müller-Belecke, A. (2012). Aufzucht von Zandern in Warmwasser-Kreislaufanlagen: Technische Möglichkeiten und ökonomische Rentabilität. Fortbildungsveranstaltung des Instituts für Binnenfischerei e.V., Seddin, 19.09.2012.
- Müller-Belecke, A., Zienert, S., Thürmer, C., Kaufhold, S., Spranger, U. (2013): The "Self cleaning Inherent gas Denitrification-reactor" for nitrate elimination in RAS for pike perch (*Sander lucioperca*) production. *Aquacultural Engineering* 57, 18-23.
- Müller-Belecke, A. (2017). Zanderezeugung in Kreislaufanlagen: Ableitung von Gestehungskosten und Vermarktungsoptionen. Fokusgruppe Aquakultur, Wietendorf, 09.02.2017.
- Müller-Belecke, A. von Plessen, S., Schmidt, G., Kühn, C., Spranger, A. (2018): Design and practical test of a compact phosphorus elimination module for freshwater RAS discharge water. *Aquaculture International* 26 (4), 1135-1145.
- Mylonas, C. C., Pavlidis, M., Papandroulakis, N., Zaiss, M. M., Tsafarakis, D., Papadakis, I. E., Varsamos, S. (2009). Growth performance and osmoregulation in the shi drum (*Umbrina cirrosa*) adapted to different environmental salinities. *Aquaculture*, 287 (1-2), 203-210.
- Movahed, R., Khara, H., Ahmadnezhad, M., Sayadboorani, M. (2016). Hematological characteristics associated with parasitism in pikeperch *Sander lucioperca* (Percidae) from Anzali Wetland. *Journal of parasitic diseases*, 40 (4), 1337-1341.
- Nash, R. D., Valencia, A. H., Geffen, A. J. (2006). The origin of Fulton's condition factor—setting the record straight. *Fisheries*, 31 (5), 236-238.
- Navarro, A., Oliva, V., Zamorano, M. J., Ginés, R., Izquierdo, M. S., Astorga, N., Afonso, J. M. (2006). Evaluation of PIT system as a method to tag fingerlings of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): effects on growth, mortality and tag loss. *Aquaculture*, 257 (1-4), 309-315.
- Németh, S., Horváth, Z., Felföldi, Z., Beliczky, G., Demeter, K. (2013). The use of permitted ectoparasite disinfection methods on young pike-perch (*Sander lucioperca*) after transition from over-wintering lake to RAS. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*, 6 (1), 1-11.
- Noga, E. J. (2010). Fish disease: diagnosis and treatment. 2. Auflage, Wiley-Blackwell, ISBN: 978-0813806976, 536.

- Ogunji, J., Pagel, T., Schulz, C., Kloas, W. (2009). Apparent digestibility coefficient of housefly maggot meal (mameal) for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) and carp (*Cyprinus carpio*). *Asian Fisheries Science*, 22 (4), 1095-1105.
- Overton, J. L., Bayley, M., Paulsen, H., Wang, T. (2008). Salinity tolerance of cultured Eurasian perch, *Perca fluviatilis* L.: effects on growth and on survival as a function of temperature. *Aquaculture*, 277 (3-4), 282-286.
- Pearse, L. (1972). A note on a marine trichodinid ciliate parasitic on the skin of captive flatfish. *Aquaculture*, 1, 261-266.
- Pedersen, P. B., von Ahnen, M., Fernandes, P., Naas, C., Pedersen, L. F., Dalsgaard, J. (2017). Particle surface area and bacterial activity in recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 78, 18-23.
- Perry, S. F. (1997). The chloride cell: structure and function in the gills of freshwater fishes. *Annual Review of Physiology*, 59 (1), 325-347.
- Peterka, J., Matína, J., Lipka, J. (2003). The diet and growth of larval and juvenile pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L.)): A comparative study of fishponds and a reservoir. *Aquaculture International*, 11 (4), 337-348.
- Peyghan, R., Khadjeh, G. H., Enayati, A. (2014). Effect of water salinity on total protein and electrophoretic pattern of serum proteins of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. *Veterinary research forum* 5 (3), 225-229.
- Pisam, M., Caroff, A., Rambourg, A. (1987). Two types of chloride cells in the gill epithelium of a freshwater-adapted euryhaline fish: *Lebistes reticulatus*; their modifications during adaptation to saltwater. *American Journal of Anatomy*, 179(1), 40-50.
- Poddaturi, R., Petersen, M. A., Vestergaard, M., Jørgensen, N. O. (2020). Geosmin fluctuations and potential hotspots for elevated levels in recirculated aquaculture system (RAS): A case study from pikeperch (*Stizostedion lucioperca*) production in Denmark. *Aquaculture*, 514, 734501.
- Polcar, T., Schaefer, F. J., Panana, E., Meyer, S., Teerlinck, S., Toner, D., Źarski, D. (2019). Recent progress in European percid fish culture production technology—tackling bottlenecks. *Aquaculture International*, 27 (5), 1151-1174.
- Puello-Cruz, A. C., Velasco-Blanco, G., Martínez-Rodríguez, I. E., Felix-Ramos, E., Voltolina, D. (2010). Growth and survival of siamese fighting fish, *Betta Splendens*, larvae at low salinity and with different diets. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41 (5), 823-828.
- Poulet, N., Berrebi, P., Crivelli, A. J., Lek, S., Argillier, C. (2004). Genetic and morphometric variations in the pikeperch (*Sander lucioperca* L.) of a fragmented delta. *Archiv für Hydrobiologie*, 159 (4), 531-554.
- Pyanov, D., Molchanova, K., Khrustalev, E., Delmukhametov, A. (2017). The chemical composition of two commercial fish species—pikeperch (*Sander lucioperca*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultivated in artificial conditions. *FOODBALT 2017*, 66-69.
- Rach, J. J., Gaikowski, M. P., Howe, G. E., Schreier, T. M. (1998). Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogen peroxide treatments on eggs of warm-and coolwater fishes. *Aquaculture*, 165(1-2), 11-25.
- Rahkonen, R. (1994). Parasites of pike perch *Stizostedion lucioperca* (Linnaeus 1758) fry reared in two different types of natural food ponds in southern Finland. *Aquaculture*, 122(4), 279-293.
- Rao, G. M. M. (1968). Oxygen consumption of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in relation to activity and salinity. *Canadian journal of zoology*, 46 (4), 781-786.
- Ribi, G. (1992). Perch larvae (*Perca fluviatilis* L.) survive better in dilute sea water. *Aquatic sciences*, 54 (1), 85-90.
- Riis-Vestergaard, J. (1987). Physiology of teleost embryos related to environmental challenges. *Sarsia*, 72 (3-4), 351-358.
- Rejitha, V., Peter, V. S., Peter, M. S. (2009). Short-term salinity acclimation demands thyroid hormone action in the climbing perch *Anabas Testudineus* Bloch. *Journal of Endocrinology and Reproduction*, 13 (2), 63-72.
- Řezanka, T., Votruba, J. (1998). Effect of salinity on the formation of avermectins, odor compounds and fatty acids by *Streptomyces avermitilis*. *Folia microbiologica*, 43 (1), 47.
- Riche, M. (2007). Analysis of refractometry for determining total plasma protein in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) at various salinities. *Aquaculture*, 264 (1-4), 279-284.

- Rodriguez, A., Gallardo, M. A., Gisbert, E., Santilari, S., Ibarz, A., Sanchez, J., Castello-Orvay, F. (2002). Osmoregulation in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 26 (4), 345-354.
- Rojas-Tirado, P. A., Pedersen, P. B., Pedersen, L. F. (2017). Bacterial activity dynamics in the water phase during start-up of recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 78, 24-31.
- Rojas-Tirado, P. A., Pedersen, P. B., Vadstein, O., Pedersen, L. F. (2018). Changes in microbial water quality in RAS following altered feed loading. *Aquacultural Engineering* 81, 80-88.
- Rożyński, M., Kapusta, A., Demska-Zakęś, K., Hopko, M., Sikora, A., Zakęś, Z. (2017). The effects of surgically implanted dummy tags on the survival, growth performance, and physiology of pikeperch (*Sander lucioperca*). *Fish physiology and biochemistry*, 43 (4), 999-1010.
- Rurangwa, E., Verdegem, M. C. (2015). Microorganisms in recirculating aquaculture systems and their management. *Reviews in aquaculture*, 7 (2), 117-130.
- Russler, D., Mangos, J. (1978). Micropuncture studies of the osmoregulation in the nauplius of *Artemia salina*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 234 (5), 216-222.
- Sadok, S., M'Hetli, M., El Abed, A., Uglow, R. F. (2004). Changes in some nitrogenous compounds in the blood and tissues of freshwater pikeperch (*Sander lucioperca*) during salinity acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 138 (1), 9-15.
- Sadoul, B., Geffroy, B. (2019). Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of fish biology*, 94 (4), 540-555.
- Sanmartin Duran, M. L., Fernandez Casal, J., Tojo, J. L., Santamarina, M. T., Estevez, J., Ubeira, F. (1991). *Trichodina* sp.: effects on the growth of farmed turbot (*Scophthalmus maximus*). *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol*, 11, 89-91.
- Sampaio, L. A., Bianchini, A. (2002). Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 269 (2), 187-196.
- Schamber, C. R., Boscolo, W. R., Natali, M. R. M., Michelato, M., Furuya, V. R. B., Furuya, W. M. (2014). Growth performance and bone mineralization of large Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of available phosphorus. *Aquaculture international*, 22 (5), 1711-1721.
- Schäperclaus, W. (1990): *Fischkrankheiten*. 5. bearbeitete Auflage, Akademie Verlag, Berlin.
- Schäperclaus, W., von Lukowicz, M. (1998). *Lehrbuch der Teichwirtschaft*. 4., neubearbeitete Auflage. Parey Buchverlag, Berlin, S. 336 f.
- Scharf, J., Brämick, U., Fredrich, F., Rothe, U., Schuhr, H., Tautenhahn, M., Wolter, C, Zahn, S. (2011). *Fische in Brandenburg - Aktuelle Kartierung und Beschreibung der märkischen Fischfauna*. Institut für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow, 166-167.
- Schram, E., Roques, J. A., van Kuijk, T., Abbink, W., van de Heul, J., de Vries, P., Biermann, S., van de Vis, H., Flik, G. (2014). The impact of elevated water ammonia and nitrate concentrations on physiology, growth and feed intake of pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 420-421, 95-104.
- Schreckenbach, K., Knösche, R., Ebert, K. (2001). Nutrient and energy content of freshwater fishes. *Journal of Applied Ichthyology* 17, 142-144.
- Schreckenbach, K. (2010): *Gesundheit und Hygiene*. In: Schmidt-Puckhaber u. a. (Hrsg.): *Fisch vom Hof?! Fischeerzeugung in standortunabhängigen Kreislaufanlagen*. 1. Auflage, DLG-Verlag.
- Schulz, C., Günther, S., Wirth, M., Rennert, B. (2006). Growth performance and body composition of pike perch (*Sander lucioperca*) fed varying formulated and natural diets. *Aquaculture international*, 14(6), 577-586.
- Shearer, K. D. (1988). Dietary potassium requirement of juvenile chinook salmon. *Aquaculture*, 73 (1-4), 119-129.
- Shephard, K. L. (1994). Functions for fish mucus. *Reviews in fish biology and fisheries*, 4 (4), 401-429.
- Shirangi, S. A., Kalbassi, M. R., Khodabandeh, S., Jafarian, H., Lorin-Nebel, C., Farcy, E., Lignot, J. H. (2016). Salinity effects on osmoregulation and gill morphology in juvenile Persian sturgeon (*Acipenser persicus*). *Fish physiology and biochemistry*, 42 (6), 1741-1754.

- Shoji, T., Fujita, K. I., Furihata, E., Kurihara, K. (1996). Olfactory responses of a euryhaline fish, the rainbow trout: adaptation of olfactory receptors to sea water and salt-dependence of their responses to amino acids. *Journal of experimental biology*, 199 (2), 303-310.
- Singh, T. (1980). The isoosmotic concept in relation to the aquaculture of the giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture* (20), 251-256.
- Siwicki, A. K., Zakęś, Z., Trapkowska, S., Kowalska, A., Kazuń, K., Glabski, E. (2003). Selected hematological and biochemical parameters of pikeperch *Sander lucioperca* (L.) from intensive culture. *Archiwum Rybactwa Polskiego*, 11 (1), 17-22.
- Skovrind, M., Christensen, E. A., Carl, H., Jacobsen, L., Møller, P. R. (2013). Marine spawning sites of perch *Perca fluviatilis* revealed by oviduct-inserted acoustic transmitters. *Aquatic Biology*, 19 (3), 201-206.
- Smith, S. A., Schwarz, M. H. (2019). Dealing with Trichodina and Trichodina-like species. *Commercial Fish & Shellfish Technology Fact Sheet* (600-205). Virginia State University.
- Soengas, J. L., Sangiao-Alvarellos, S., Laiz-Carrión, R., Mancera, J. M. (2007). Chapter 10: Energy Metabolism and Osmotic Acclimation in Teleost Fish. In: Baldisserotto, B., Mancera, J. M., Kapoor, B. G. (Hrsg.). *Fish Osmoregulation*, Science Publisher, Enfield, ISBN: 978-1439843116, 277-307.
- Soleng, A., Bakke T. A. (1997): Salinity tolerance of Gyrodactylus salaris (*Platyhelminthes, Monogenea*): laboratory studies. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54, 1837–1845.
- Sousa, R.J., Meade, T.L., Wolke, R.E. (1974): Reduction of ammonia toxicity by salinity and pH manipulation. *Proceedings of the annual meeting - World Mariculture Society* 5 (1-4), 343–354.
- Staurnes, M., Finstad, B. (2000). The effects of dietary NaCl supplement on hypo-osmoregulatory ability and sea water performance of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) smolts. *Aquaculture Research*, 31 (10), 737-743.
- Steffens, W. (1985): *Grundlagen der Fischernährung*. 1. Auflage, VEB Gustav Fischer Verlag Jena.
- Steinberg, K., Zimmermann, J., Stiller, K. T., Meyer, S., Schulz, C. (2017). The effect of carbon dioxide on growth and energy metabolism in pikeperch (*Sander lucioperca*). *Aquaculture*, 481, 162-168.
- Steinberg, K., Zimmermann, J., Stiller, K. T., Nwana, L., Meyer, S., Schulz, C. (2018). Elevated nitrate levels affect the energy metabolism of pikeperch (*Sander lucioperca*) in RAS. *Aquaculture*, 497, 405-413.
- Stormer, J., Jensen, F. B., Rankin, J. C. (1996). Uptake of nitrite, nitrate, and bromide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on ionic balance. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53 (9), 1943-1950.
- Strzyżewska, E., Szarek, J., Babinska, I. (2016). Morphologic evaluation of the gills as a tool in the diagnostics of pathological conditions in fish and pollution in the aquatic environment: a review. *Veterinárni Medicina*, 61 (3), 123–132.
- Su, B., Perera, D. A., Mu, X., Dunham, R. A. (2013). Effect of sodium chloride on hatching rate on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, embryos. *Journal of Applied Aquaculture*, 25 (4), 283-292.
- Subash Peter, M., Lock, R. A. C., Wendelaar Bonga, S. E. (2000). Evidence for an osmoregulatory role of thyroid hormones in the freshwater Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology*, 120 (2), 157-167.
- Svobodová, Z., Lloyd, R., Machova, J., Vykusova, B. (1993). Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper. Nr. 54, Rom, FAO, ISBN 92-5-103437-0, 59.
- Swann, L., Fitzgerald, S. (1992). Use and application of salt in aquaculture. *North Central Regional Aquaculture Center (NCRAC). Extension Fact Sheet*.
- Szkudlarek, M., Zakęś, Z. (2007). Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), larvae under controlled conditions. *Aquaculture International*, 15 (1), 67-81.
- Tacchi, L., Lowrey, L., Musharrafieh, R., Crossey, K., Larragoite, E. T., Salinas, I. (2015). Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 435, 120-127.
- Tacken, G. (2018). Market, consumer perception, new products and business model. What are the market chances for cultured pikeperch? DIVERSITY Pikeperch Know-How Transfer Workshop, Nancy, 27.06.2018.

- Tibblin, P., Koch-Schmidt, P., Larsson, P., Stenroth, P. (2012). Effects of salinity on growth and mortality of migratory and resident forms of Eurasian perch in the Baltic Sea. *Ecology of Freshwater Fish*, 21 (2), 200-206.
- Tielmann, M., Schulz, C., Meyer, S. (2016). Self-grading of larval pike-perch (*Sander lucioperca*), triggered by positive phototaxis. *Aquacultural engineering*, 72, 13-19.
- Timmons, M.B., Ebeling, J.M. (2013). Recirculating Aquaculture. 3. Auflage. Ithaca Publishing Company LLC, ISBN: 978-0971264656, 788.
- Thoney, D. A., Hargis, W. J. (1991). Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. *Annual Review of Fish Diseases*, 1, 133-153.
- Torno, J., Naas, C., Schroeder, J. P., Schulz, C. (2018). Impact of hydraulic retention time, backflushing intervals, and C/N ratio on the SID-reactor denitrification performance in marine RAS. *Aquaculture*, 496, 112-122.
- Tseng, Y. C., Hwang, P. P. (2008). Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(4), 419-429.
- Tucker, C. S. (2000). Off-flavor problems in aquaculture. *Reviews in Fisheries Science*, 8(1), 45-88.
- van Bussel, C. G., Schroeder, J. P., Wuertz, S., Schulz, C. (2012). The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 326, 163-167.
- Varsamos, S., Connes, R., Diaz, J. P., Barnabé, G., Charmantier, G. (2001). Ontogeny of osmoregulation in the European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. *Marine Biology*, 138 (5), 909-915
- Varsamos, S., Nebel, C., Charmantier, G. (2005). Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: a review. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 141 (4), 401-429.
- Velasco-Santamaría, Y. M., Cruz-Casallas, P. E. (2008). Behavioural and gill histopathological effects of acute exposure to sodium chloride in monada (*Metynnis orinocensis*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 25 (3), 365-372.
- Victoria, C. J., Wilkerson, B. S., Klauda, R. J., Perry, E. S. (1992). Salinity tolerance of yellow perch eggs and larvae from coastal plain stream populations in Maryland, with comparison to a Pennsylvania lake population. *Copeia*, 859-865.
- Virabhadrachari, V. (1961). Structural changes in the gills, intestine, and kidney of *Etroplus maculatus* (Teleostei) adapted to different salinities. *Journal of Cell Science*, 3 (59), 361-369.
- von Ahnen, M., Aalto, S. L., Suurnäkki, S., Tirola, M., Pedersen, P. B. (2019). Salinity affects nitrate removal and microbial composition of denitrifying woodchip bioreactors treating recirculating aquaculture system effluents. *Aquaculture*, 504, 182-189.
- von Oertzen, J. A. (1985). Resistance and capacity adaptation of juvenile silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.), to temperature and salinity. *Aquaculture*, 44 (4), 321-332.
- Wang, J. Q., Lui, H., Po, H., Fan, L. (1997). Influence of salinity on food consumption, growth and energy conversion efficiency of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture*, 148 (2-3), 115-124.
- Wendelaar Bonga, S. E. (1997). The stress response in fish. *Physiological reviews*, 77 (3), 591-625.
- Wilkes, P. R. H., McMahon, B. R. (1986). Responses of a stenohaline freshwater teleost (*Catostomus commersoni*) to hypersaline exposure: I. The dependence of plasma pH and bicarbonate concentration on electrolyte regulation. *Journal of experimental biology*, 121 (1), 77-94.
- Willomitzer, J. (1980). Therapy of major ectoparasitoses in grasscarp (*Ctenopharyngodon idella*) fry and fingerlings. *Acta Veterinaria Brno*, 49 (3-4), 279-282.
- Winger, P. V., Lasier, P. J. (1994). Effects of salinity on striped bass eggs and larvae from the Savannah River, Georgia. *Transactions of the American Fisheries Society*, 123 (6), 904-912.
- Wood, C. M. (2001). Toxic responses of the gill. In: Schlenk, B., Benson, W. H. (Hrsg.), Target Organ Toxicity in Marine and Freshwater Teleosts: Organs. 1. Auflage, Taylor & Francis, London, ISBN: 0-415-24838-8, 426.
- Worch, E. (1997). Wasser und Wasserinhaltsstoffe. Eine Einführung in die Hydrochemie. Teubner-Reihe Umwelt, Springer, Wiesbaden, ISBN: 978-3-8154-3525-0, 111.

- Wuertz, S., Schulze, S. G. E., Eberhardt, U., Schulz, C., Schroeder, J. P. (2013). Acute and chronic nitrite toxicity in juvenile pike-perch (*Sander lucioperca*) and its compensation by chloride. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 157 (4), 352-360.
- Yamprayoon, J., Noomhorm, A. (2000). Geosmin and off-flavor in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 9 (2), 29-41.
- Yanes-Roca, C., Mráz, J., Born-Torrijos, A., Holzer, A. S., Imentai, A., Policar, T. (2018). Introduction of rotifers (*Brachionus plicatilis*) during pikeperch first feeding. *Aquaculture*, 497, 260-268.
- Yin, F., Dan, X. M., Sun, P., Shi, Z. H., Gao, Q. X., Peng, S. M., Li, A. X. (2014). Growth, feed intake and immune responses of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) exposed to low infectious doses of ectoparasite (*Cryptocaryon irritans*). *Fish & shellfish immunology*, 36 (1), 291-298.
- Young, C. A., Jordan, T. S. (1995). Cyanide remediation: current and past technologies. In *Proceedings of the 10th Annual Conference on Hazardous Waste Research*, 104-129.
- Zadunaisky, J. A. (1996). Chloride cells and osmoregulation. *Kidney international*, 49(6), 1563-1567.
- Zakęś, Z., Hopko, M. (2013). Tagging juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)) in the cheek with Passive Integrated Transponders (PIT)—impact on rearing indexes and tag retention. *Archives of Polish Fisheries*, 21 (4), 243-248.
- Zakęś, Z., Rożyński, M., Demska-Zakęś, K. (2019). Effect of PIT tagging on hematology and plasma composition of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)). *Aquaculture International*, 27 (4), 971-981.
- Zienert, S., Heidrich, S. (2005): Aufzucht von Zandern in der Aquakultur. Schriften des Instituts für Binnenfischerei e.V. Potsdam-Sacrow (18), 60.
- Zimmermann, J., Steinberg, K., Meyer, S., Schulz, C. (2019). Maintenance requirement and utilisation efficiency of energy and protein for ongrowing pikeperch (*Sander lucioperca* (L.)). *Aquaculture International*, 1-15.
- ZZuV (2017). Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln zu technologischen Zwecken. Zusatzstoff-Zulassungsverordnung vom 29. Januar 1998 (BGBl. I S. 230, 231), die zuletzt durch Artikel 23 der Verordnung vom 5. Juli 2017 (BGBl. I S. 2272) geändert worden ist, 92.

## 8. Veröffentlichungen, Präsentationen und wissenschaftliche Beiträge im Rahmen des Vorhabens

Im Laufe der Projektbearbeitung bereits erfolgte Veröffentlichungen:

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (2018): Effekte von Brackwasser auf juvenile Zander (*Sander lucioperca*) in Kreislaufanlagen (KLA). Posterausstellung Deutscher Fischereitag, Lübeck, 28.08.2018

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (2018). Production of pike-perch under brackish water condition in RAS. Doktoranden Kolloquium am Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (Berlin), 18.10.2018

Muhammad, H., Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (2019): Gill integrity of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*) under saline conditions in recirculating aquaculture system. Posterausstellung Deutscher Fischereitag, Magdeburg, 20.08.2019

Muhammad, H. (2019). Gill integrity of juvenile pike-perch (*Sander lucioperca*) under saline conditions in the recirculating aquaculture system (RAS). Studienarbeit im Masterprogramm „Fish Biology, Fisheries and Aquaculture“ der Humboldt-Universität zu Berlin, 24 S.

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (2019): Short-term physiological effects of brackish water on juvenile pike perch (*Sander lucioperca*) in recirculating aquaculture systems. International Symposium of the European Inland Fisheries and Aquaculture Advisory Commission (EIFAAC), Dresden, 10.09.2019

Naas, C., Müller-Belecke, A. (2019). Die Haltung von Zandern (*Sander lucioperca*) unter Brackwasserbedingungen in geschlossenen Kreislaufanlagen. Eine Projektvorstellung für Mitarbeitende des Fischereiabgabausschusses des Landes Schleswig-Holstein. Potsdam-Sacrow, 24.09.2019

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (2019): Individual growth performance of juvenile pike perch (*Sander lucioperca*) under saline conditions in recirculating aquaculture systems (RAS). Posterausstellung AquacultureEurope, Berlin, 07.-10.10.2019

Naas, C., Müller-Belecke, A. (2019). Brackish water pike-perch (*Sander lucioperca*) in recirculating aquaculture systems. Potsdam-Sacrow, 11.10.2019

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (2020). Cultivation of pike-perch (*Sander lucioperca*) under brackish water conditions in recirculating aquaculture systems. Doktoranden Kolloquium am Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (Berlin), 13.02.2020

Zukünftig geplante Veröffentlichungen:

Vorträge auf weiteren fischereilichen Fortbildungsveranstaltungen wie z. B. in Büsum, Königwartha, Seddin und Starnberg sind angestrebt. Ebenso ist bereits für die Aquaculture Europe 2020/21 folgender Vortrag eingereicht worden:

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (eingereicht). Physiological effects of NaCl application on juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) reared in recirculating aquaculture systems – A Pilot Study.

Zur schriftlichen Veröffentlichung liegen zudem folgendende englischsprachige Fachartikel in Form von Manuskripten vor:

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (Manuskript). Effects of NaCl on physiological parameters and osmoregulation of juvenile pikeperch (*Sander lucioperca*) reared in recirculating aquaculture systems.

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (Manuskript). The application of NaCl in pikeperch (*Sander lucioperca*) aquaculture taking into account ontogeny.

Naas, C., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (Manuskript). Effects of low NaCl concentrations on pikeperch (*Sander lucioperca*) performance in recirculating aquaculture systems – a production cycle.

Naas, C., Muhammad, H., Kloas, W., Müller-Belecke, A. (Manuskript). Effects of NaCl on pikeperch's (*Sander lucioperca*) ectoparasitic burdens transferred from over-wintering net cages into recirculating aquaculture systems.

Als Masterstudent des Programmes „Fish Biology, Fisheries and Aquaculture“ (Humboldt-Universität zu Berlin) bearbeitet H. Muhammed aktuell folgende Abschlussarbeit:

Muhammad, H. (Manuskript). Examination of the effects of elevated NaCl concentrations on the burden of the ectoparasites Trichodinids and Dactylogyrids for pikeperch (*Sander lucioperca*) maintained in recirculating aquaculture systems. Entwurf: Abschlussarbeit im Masterprogramm „Fish Biology, Fisheries and Aquaculture“ der Humboldt-Universität zu Berlin.

Abschließend sollen die im Rahmen dieser Arbeit gewonnen Erkenntnisse in eine Dissertationschrift einfließen:

Naas, C. (Manuskript). Die Aufzucht von Zandern (*Sander lucioperca*) unter Brackwasserbedingungen in geschlossenen Kreislaufanlagen. Entwurf: Dissertationsschrift.