©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

Wissenschaft

Österreichs Fischerei Jahrgang 51/1998 Seite 46–54

# Welcher Samen eignet sich am besten zur Gefrierkonservierung, und wie kontrolliert man die Qualität von tiefgefrorenem Samen?

F. Lahnsteiner, B. Berger, T. Weismann und R. A. Patzner

**Abstract**

**Determination of rainbow trout semen quality for cryopreservation**

Parameters for evaluation of semen fitness for cryopreservation and for quality determination of frozen/thawed semen were investigated in the rainbow trout. To determine the semen fitness for cryopreservation the seminal plasma pH, the seminal plasma osmolarity, the fresh semen motility rate and the fresh semen swimming velocity can be used ($p < 0.001$). Further seminal plasma triglycerid levels, lactate dehydrogenase and β-D-glucuronmidase activity are estimators for the semen fitness for cryopreservation ($p < 0.005$). To determine the quality of frozen/thawed semen the post-thaw motility rate and swimming velocity are very reliable predictors ($p < 0.001$).

## 1. Einleitung

Für die Gefrierkonservierung von Samen der Salmonidae (Regenbogenforelle, Äsche, Bachforelle, Bachsaibling, Huchen, Seeforelle und Renke) existiert nun eine gut funktionierende Methode, mit der Befruchtungsraten von 90 bis 100% der Kontrolle mit Fischsamen erreicht werden (Lahnsteiner et al., 1994, 1995). Aus der Literatur (Leung und Jamieson, 1991) und aus eigenen Versuchen ist bekannt, daß die Qualität von gefriergetrocknetem Samen stark schwanken kann. Diese Schwankungen werden auf unterschiedliche Einfrierresistenz zurückgeführt (Leung und Jamieson, 1991), wissenschaftlich fundierte Kenntnisse fehlen jedoch bis jetzt. Ebenso gibt es bis jetzt keine Qualitätskontrollen für gefrierkonservierten Fischsamen. Beide Parameter sind aber für die routinemäßige Nutzung der Samengefrierkonservierung in der Aquakultur von großer Bedeutung. Daher untersuchen wir Möglichkeiten, die Eignung des Samens zur Gefrierkonservierung und die Qualität von gefrierkonserviertem Samen zu bestimmen.

## 2. Material und Methoden

### *2.1 Samengewinnung*

Für die Gefrierkonservierungsversuche wurden Regenbogenforellen *(Oncorhynchus mykiss)* aus der Aufzuchtforschungsanlage Kreuzstein am Mondsee verwendet. Die reifen Milchner wurden mit MS 222 betäubt, ein Katheder wurde 1 cm bis 1,5 cm in die Genitalpapille eingeführt und der Samen in eine 5-ml-Spritze aufgesaugt. Die Samenproben wurden entsprechend der Abb. 1 verarbeitet.

### *2.2 Gefrierkonservierung*

Individuelle Samenproben wurden im Verhältnis 1 : 3 mit 4° C kalter Verdünnerlösung gemischt (Natriumchlorid 602 mg, Kaliumchlorid 300 mg, Magnesiumsulfat 19 mg, Calciumchlorid 25 mg, Hepespuffer 460 mg, Aqua destillata 100 ml, Dimethylsulfoxid 5%, Glycerin 1%, Rin-

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

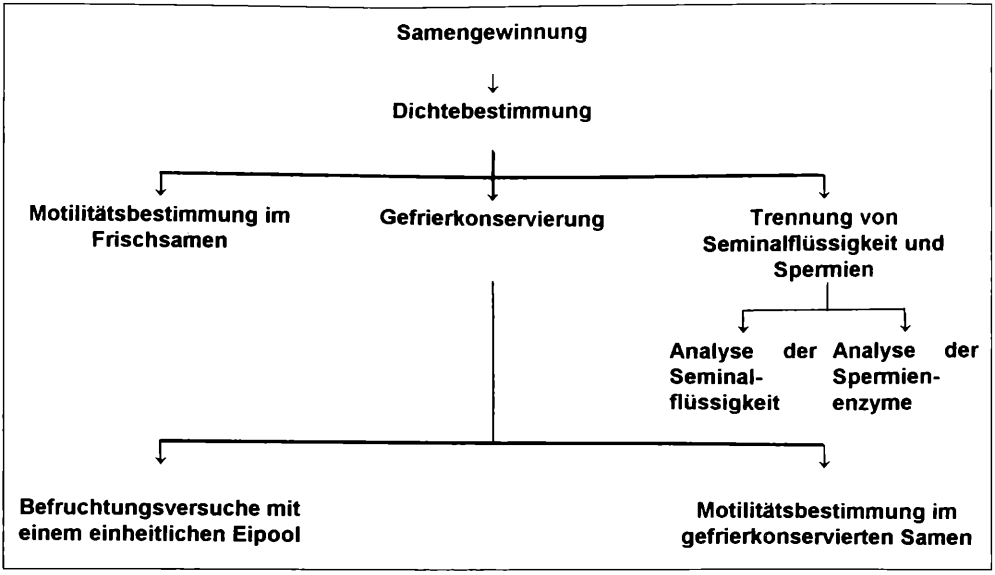


**Abb. 1:** Verarbeitung der Samenproben

derserumalbumin 1,5%, Hühnereidotter 7%, Saccharose 0,5%, pH 7,8). Der verdünnte Samen wurde 5 min äquilibriert, in 0,5-ml-Pailletten (Minitüb) aufgesaugt und im offenen System 1,5 cm über dem Flüssigstickstoffspiegel gefroren. Anschließend wurden die Pailletten im Flüssigstickstoff gelagert. Die Pailletten wurden in einem thermostatregulierten Wasserbad bei 25° C 30 sec lang aufgetaut und sofort zur Befruchtung verwendet.

*2.3 Ermittlung der Spermienmotilität*

Die Beweglichkeitsanalyse von Frischsamen und von gefrierkonserviertem Samen wurde mit Videomikroskopie und computerunterstützten Auswerteverfahren (Cell motility analysis – CMA) durchgeführt. Dazu wurde ein inverses Phasenkontrastmikroskop (Vergrößerung 250fach) verwendet, das mit einer Videokamera gekoppelt war. Die Motilität der Samenproben wurde auf Videobänder aufgezeichnet, und die Messungen erfolgten in einem Zellmotilitäts-Analyse-Programm von Stroemberg/Mika anhand der Videoaufzeichnungen.
Frischsamen wurde im Verhältnis 1 : 3 in einer die Motilität hemmenden Salzlösung (Natriumchlorid 602 mg, Kaliumchlorid 300 mg, Magnesiumsulfat 19 mg, Calciumchlorid 25 mg, Hepespuffer 460 mg, Aqua destillata 100 ml) vorverdünnt, tiefgefrorener Samen im Gefrierkonservierungsverdünner. Zur Motilitätsaktivierung wurde die Untersuchungskammer für das CMA-System (Maklerkammer) mit 20 µl 4° C kalter Befruchtungslösung gefüllt. 0,25 µl bis 0,5 µl vorverdünnter Samen wurde zugegeben, gemischt, ein Deckglas aufgesetzt und die Beweglichkeit auf Videoband aufgezeichnet.
Die Messung der Spermienmotilität erfolgte im Zellmotilitäts-Analyse-Programm von Stroemberg/Mika 10±2 sec nach der Motilitätsaktivierung. Folgende Parameter wurden unterschieden: unbewegliche Spermien (Schwimmgeschwindigkeit <5 µm/sec), lokal bewegliche Spermien (Schwimmgeschwindigkeit 5–20 µm/sec), vorwärts bewegliche Spermien (Schwimmgeschwindigkeit >20 µm/sec). Die vorwärts beweglichen Spermien wurden anhand des Motilitätsmusters in Kreisläufer (maximaler Kreisradius 20 µm), nichtlineare Schwimmer (Linearitätsindex ≤0,9) und lineare Schwimmer (Linearitätsindex >0,9) unterteilt (Abb. 2). Die durchschnittliche Schwimmgeschwindigkeit auf der tatsächlich zurückgelegten Bahn wurde gemessen.

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

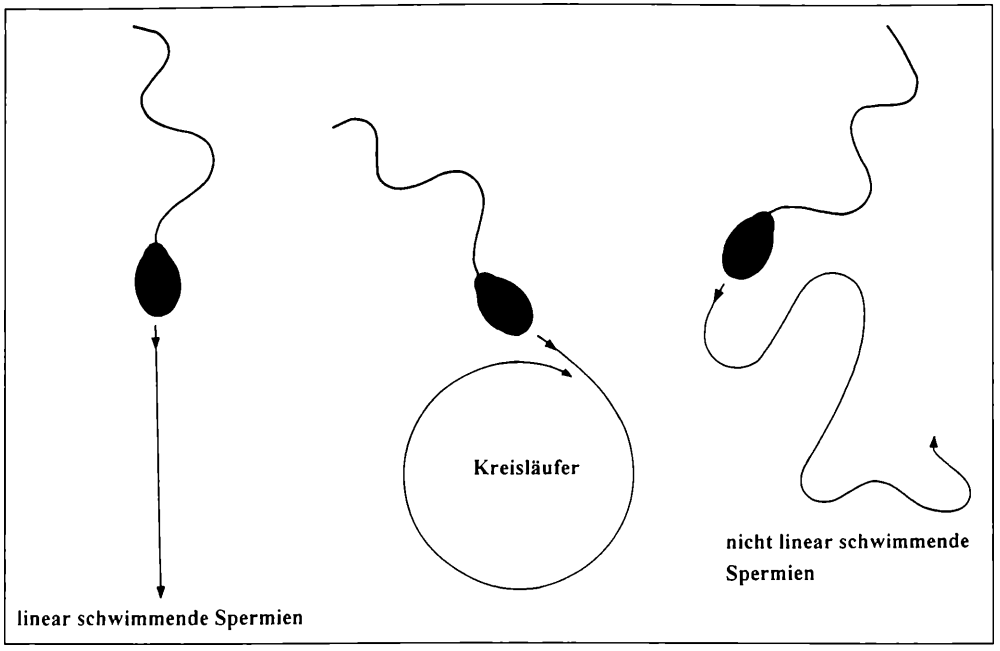


**Abb. 2:** Bewegungstypen bei Spermien, die mittels computergestützter Auswerteprogramme unterschieden werden können

*2.4 Analyse der Seminalflüssigkeit und der Spermienenzyme*

*Ermittlung der Spermiendichte:* Die Spermiendichte wurde nach 100facher Vorverdünnung des Samens mit 0,7% Kochsalzlösung in einem Photometer bei 450 nm gemessen. Zur Kalibrierung des Systems wurde die Dichte ausgewählter Samenproben in einer Zählkammer bestimmt.

*Trennung von Seminalflüssigkeit und Spermien:* Der Samen wurde bei 4° C 10 min lang mit 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Der Überstand, die Seminalflüssigkeit, wurde abpipettiert, ein zweites Mal zentrifugiert und bis zur Analyse in Flüssigstickstoff tiefgefroren. Das Pellet, die Spermien, wurde zweimal in der motilitätshemmenden Salzlösung (siehe oben) gewaschen, um es von restlicher Seminalflüssig-

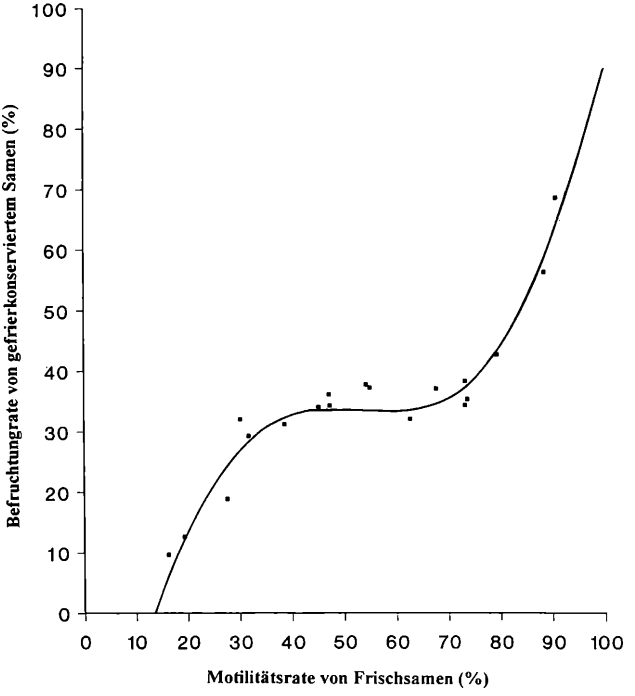


**Abb. 3:** Zusammenhang zwischen Motilitätsrate von Frischsamen und der Befruchtungsfähigkeit von gefrierkonserviertem Samen

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

keit zu säubern. Dann wurden die Spermienenzyme in 0,2 M Trispuffer (pH 7,5), der 0,01% Triton X-100 enthielt, extrahiert, die Zellfragmente mit 10.000 Umdrehungen 15 min lang abzentrifugiert und der Überstand in Flüssigstickstoff bis zur Analyse gelagert.

*Analyse der Seminalflüssigkeit:* Die Osmolarität wurde mit einem automatischen Mikro-Osmometer bestimmt, der pH-Wert mit einer gängigen Elektrode. Die Ionenzusammensetzung (Natrium, Kalium, Calcium) wurde mit Halbmikroelektroden, die mit ionensensitiven Membranen versehen waren, bestimmt. Organische Komponenten (Glukose, Fruktose, Milchsäure, Pyruvat, Creatinphosphat, Triglyceride, Cholesterol, Protein) und Enzymaktivitäten (saure und alkalische Phosphatase, β-D-Glucuronidase, Adenosintriphosphatase, Aspartataminotransferase, Lactatdehydrogenase) wurden mittels spektrophotometrischer Methoden, die für Fischsamen adaptiert worden waren, bestimmt (Bergmeyer, 1985).

*Ermittlung der Enzymaktivitäten in den Spermien:* Routinemethoden von Bergmeyer (1985) wurden bezüglich Substratkonzentration, pH-Wert und Inkubationszeit für Regenbogenforellensamen adaptiert. Sämtliche Messungen wurden bei 20° C durchgeführt. Die Aktivitäten von Isocitratdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Lactatdehydrogenase, Pyruvatkinase, Adenylatkinase, Adenosintriphosphatase, saurer Phosphatase und von β-D-Glucuronidase wurden gemessen.

*2.5 Befruchtungsversuche*

Die Eier wurden von vier

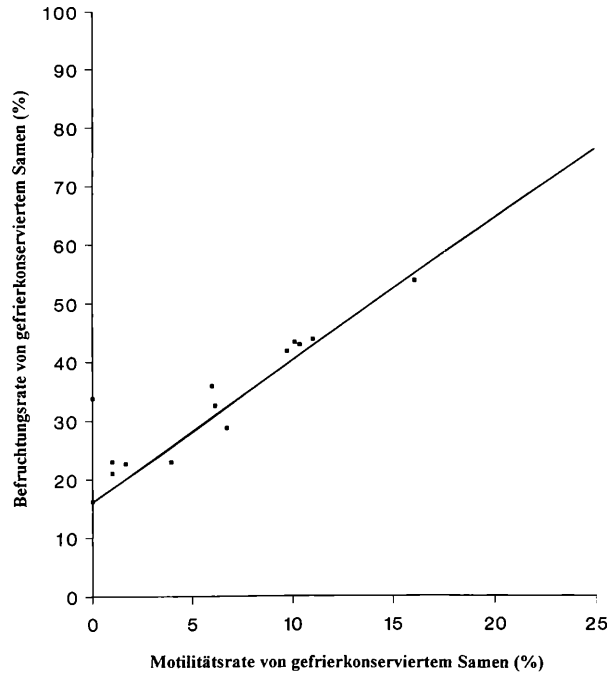


**Abb. 4:** Zusammenhang zwischen der Motilitätsrate von gefrierkonserviertem Samen und seiner Befruchtungsfähigkeit

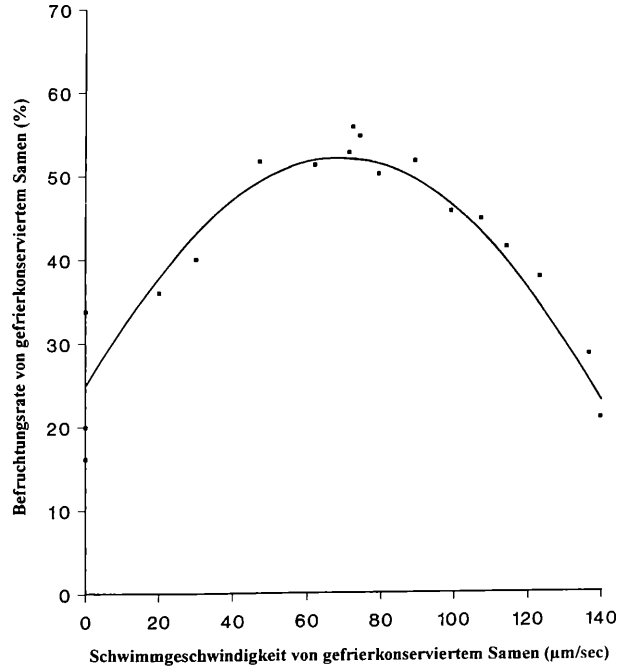


**Abb. 5:** Zusammenhang zwischen der Schwimmgeschwindigkeit von gefrierkonserviertem Samen und seiner Befruchtungsfähigkeit

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

Rognern trocken abgestreift, gepoolt und innerhalb von 30 min für die Befruchtungsversuche verwendet. 12,5 ml Eier wurden im Verhältnis 1:2 in eine 4° C kalte Befruchtungslösung (Natriumhydrogencarbonat 500 mg/100 ml $H_2O$, Glycin 150 mg/100 ml $H_2O$, Theophyllin 100 mg/100 ml $H_2O$, Trispuffer 600 mg/100 ml $H_2O$, pH 9) eingebracht. Der Inhalt einer halben 0,5-ml-Pailette wurde zugegeben und mit den Eiern gemischt. Die Eier wurden in der Aufzuchtforschungsanlage Kreuzstein routinemäßig erbrütet und der Befruchtungserfolg als prozentueller Anteil der Eier, die das Augenpunktstadium erreichten, im Verhältnis zur Gesamtzahl der Eier definiert. Die Befruchtungsversuche wurden mit zwei Eipools wiederholt.

*2.6 Statistik*

Sämtliche Daten wurden auf Normalverteilung geprüft und falls erforderlich mittels logarithmischer Transformation oder Winkeltransformation normalisiert. Die Korrelationskoeffizienten sind nach Pearson für metrische Daten berechnet, Regressionsanalysen wurden mit linearen und nichtlinearen Modellen durchgeführt.

## 3. Ergebnisse

*3.1 Befruchtungsrate*

Die Befruchtungsrate der 50 gefrierkonservierten Samenproben betrug 53,8±37,6%. Dies entspricht 80,3±47,7% der Kontrollbefruchtung, die mit einem Pool von 3 Frischsamenproben durchgeführt wurde.

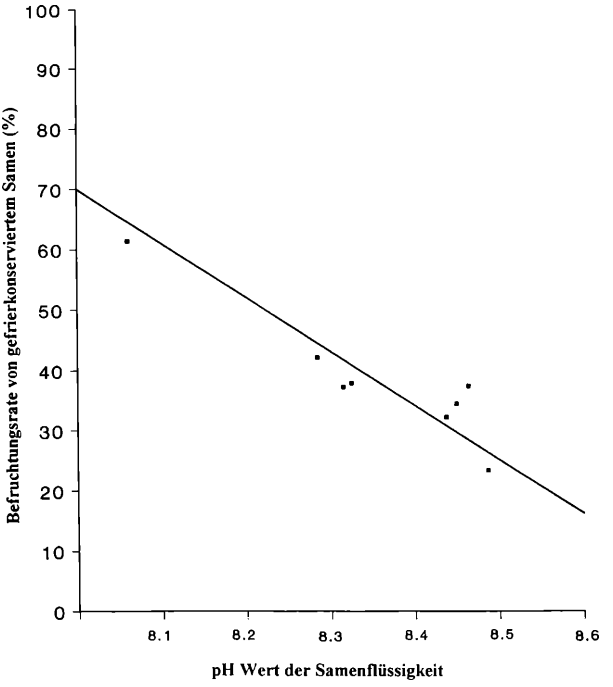


**Abb. 6:** Zusammenhang zwischen dem pH-Wert der Samenflüssigkeit und der Befruchtungsfähigkeit von gefrierkonserviertem Samen

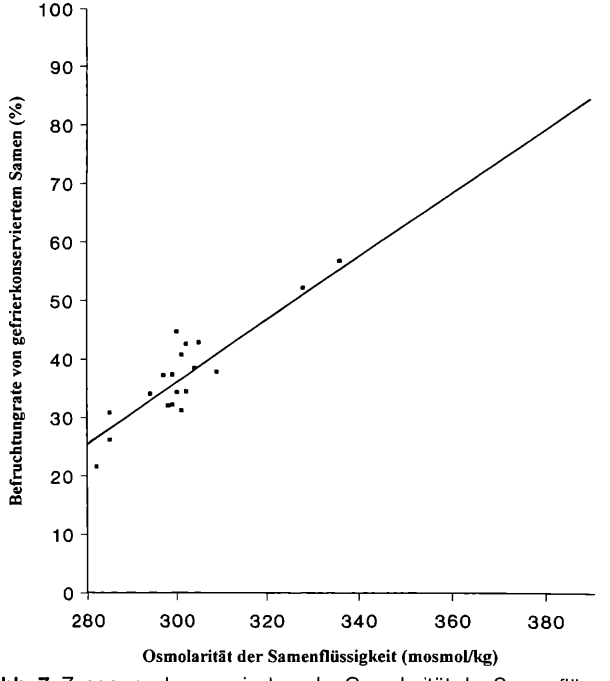


**Abb. 7:** Zusammenhang zwischen der Osmolarität der Samenflüssigkeit und der Befruchtungsfähigkeit von gefrierkonserviertem Samen

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

*3.2 Die Samenmotilität und ihre Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit von tiefgefrorenem Samen*

Die Motilitätsrate war im Frischsamen bedeutend höher als im tiefgefrorenen Samen (Tab. 1). Im Frischsamen schwammen die Spermien hauptsächlich in Kreisen, was auf die verwendete Befruchtungslösung zurückzuführen ist (Lahnsteiner et al., 1996a), im gefrierkonservierten Samen dagegen hauptsächlich linear (Tab. 1). Die Schwimmgeschwindigkeit der Spermien war im Frischsamen und im gefrierkonservierten Samen gleich hoch (Tab. 1).

Tab. 1: **Motilität von Frisch- und Tiefgefriersamen der Regenbogenforelle** (Mittelwert ± Standardabweichung). Werte innerhalb einer Zeile, die mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich nicht ($p < 0,05$).

| | **Frischsamen** | **tiefgefrorener Samen** |
|---|---|---|
| **Motilitätsrate** (%) | | |
| unbewegliche Spermien | $40,1 \pm 23,7^{a}$ | $89,6 \pm 8,4^{b}$ |
| lokal bewegliche Spermien | $9,5 \pm 5,8^{c}$ | $2,2 \pm 3,6^{c}$ |
| vorwärts bewegliche Spermien | $50,4 \pm 50,4^{d}$ | $8,2 \pm 6,5^{e}$ |
| **Motilitätstypen** (%) | | |
| Kreisläufer | $54,8 \pm 12,7^{f}$ | $24,1 \pm 24,3^{g}$ |
| nicht lineare schwimmende Spermien | $27,1 \pm 11,8^{h}$ | $15,1 \pm 15,1^{i}$ |
| linear schwimmende Spermien | $18,1 \pm 16,5^{i}$ | $60,8 \pm 20,3^{k}$ |
| **Schwimmgeschwindigkeit** (µm/sec) | $89,9 \pm 15,2^{l}$ | $89,8 \pm 22,7^{l}$ |

Tab. 2: **Zusammensetzung der Samenflüssigkeit der Regenbogenforelle** (Mittelwert ± Standardabweichung)

| **Inhaltsstoff** | **Konzentration** |
|---|---|
| Osmolarität | 313,3 ± 22,3 mosmol/kg |
| pH-Wert | 8,27 ± 0,16 |
| Spermiendichte | $3,3 \times 10^{9} \pm 0,7 \times 10^{9}$/ml |
| Natrium | 3670 ± 710 mg/l |
| Kalium | 1000 ± 160 mg/l |
| Calcium | 50 ± 10 g/l |
| Protein | 1555 ± 780 mg/l |
| Saure Phosphatase | 0,2 ± 0,1 mg substrate/min/l |
| Alkalische Phosphatase | 0,4 ± 0,3 mg substrate/min/l |
| Lactatdehydrogenase | 22,8 ± 8,5 mg substrate/min/l |
| Aspartat-aminotransferase | 11,9 ± 3,3 mg substrate/min/l |
| β-D-glucuronidase | 0,4 ± 0,3 mg substrate/min/l |
| Adenosintriphosphatase | 3,6 ± 1,8 mg substrate/min/l |
| Cholesterol | 54,1 ± 37,6 mg/l |
| Cholin | 6,7 ± 3,6 mg/l |
| Creatinphosphat | 15,0 ± 5,8 mg/l |
| Fruktose | 3,9 ± 5,0 mg/l |
| Glukose | 21,2 ± 24,5 mg/l |
| Lactat | 2,9 ± 2,0 mg/l |
| Pyruvat | 10,5 ± 5,4 mg/l |
| Triglyceride | 177,5 ± 95,4 mg/l |

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

Zwischen der Beweglichkeit von Frischsamen und der Befruchtungsrate von gefrierkonserviertem Samen bestehen folgende hochsignifikante Beziehungen ($p < 0{,}001$): Befruchtungsrate – Motilitätsrate: $y = 4{,}996x - 0{,}0958x^2 + 0{,}0006x^3 - 512{,}7363$ (Abb. 3), Befruchtungsrate – Schwimmgeschwindigkeit: $y = 6{,}741x - 0{,}036x^2 + -268{,}37$ (Abb. 4).
Auch zwischen der Beweglichkeit von gefrierkonserviertem Samen und seiner Befruchtungsrate bestehen hochsignifikante Beziehungen ($p < 0{,}001$): Befruchtungsrate – Mobilitätsrate: $y = 1{,}943x + 28{,}002$ (Abb. 5), Befruchtungsrate – Schwimmgeschwindigkeit: $y = 0{,}821x - 0{,}0059x^2 + 24{,}968$ (Abb. 6).

*3.3 Zusammensetzung der Seminalflüssigkeit und ihre Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit von tiefgefrorenem Samen*

Die Zusammensetzung des Seminalplasmas ist aus Tabelle 2 ersichtlich. Zwischen der Befruchtungsfähigkeit des gefrierkonservierten Samens und Seminalplasmakomponenten bestehen folgende hochsignifikante ($P < 0{,}001$) Zusammenhänge: pH-Wert – Befruchtungsrate: $y = -82{,}768x + 728{,}133$ (Abb. 7), Osmolarität – Befruchtungsrate: $y = 0{,}539x - 125{,}59$ (Abb. 8). Auch die Triglyceridkonzentration ($y = 0{,}069x + 29{,}863$), die β-D-Glucuronidaseaktivität ($y = -1{,}112x + 0{,}0058x^2 + 82{,}229$) und die Lactatdehydrogenaseaktivität ($y = 0{,}096x + 0{,}00006x^2 + 58{,}802$) der Samenflüssigkeit weisen einen Zusammenhang zur Befruchtungsrate auf, der aber von geringerer statistischer Signifikanz ($P < 0{,}005$) ist.

*3.4 Enzymaktivitäten der Spermien und ihre Beziehung zur Befruchtungsfähigkeit von tiefgefrorenem Samen*

Mittels der Enzymaktivitäten (Tabelle 3) lassen sich die Befruchtungsraten von gefrierkonserviertem Samen nicht verläßlich vorhersagen. Nur die saure Phosphataseaktivität ($y = -132{,}51x + 126{,}38x^2 + 66{,}48$) sowie die Adenylatkinaseaktivität ($y = 3{,}474x + 4{,}925$) der Spermien hatten eine Beziehung zur Befruchtungsrate des gefrierkonservierten Samens, die eine geringe statistische Signifikanz ($p > 0{,}01$) aufwies.

Tab. 3: **Enzymaktivitäten in den Spermien der Regenbogenforelle** (Mittelwert ± Standardabweichung)

| **Enzym** | **Aktivität**[1] |
|---|---|
| Isocitratdehydrogenase | 4,0 ± 3,0 |
| Malatdrehydrogenase | 1,5 ± 0,5 |
| Lactatdehydrogenase | 7,1 ± 3,1 |
| Pyruvatkinase | 9,2 ± 4,0 |
| Adenylatkinase | 4,8 ± 2,3 |
| Adenosintriphosphatase | 7,4 ± 5,2 |
| Saure Phosphatase | 0,1 ± 0,05 |
| b-D-Glucuronidase | 0,9 ± 0,4 |

1 mg substrate/min/100 mg Protein

## 4. Diskussion

Unter Routinebedingungen verwendet man zirka 5 bis 10 ml gefrierkonservierten Samen zur Befruchtung von einem Liter Eier (Spermien-Ei-Verhältnis $3 \times 10^6$ Spermien/Ei) (Lahnsteiner et al. 1996b), also eine 5- bis 10mal größere Menge als bei Frischsamen (3- bis $6 \times 10^5$ Spermien/Ei) (Stein, 1980). Die hier beschriebenen Befruchtungsversuche wurden bei einem niedrigeren Spermien-Ei-Verhältnis von 0,5 bis $1 \times 10^6$ Spermien/Ei durchgeführt. Daraus resultieren die großen Schwankungen in der Befruchtungsrate, die die unterschiedliche Samenqualität zeigen.

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

## Eignung von Samen zur Gefrierkonservierung

Die Eignung des Samens zur Gefrierkonservierung läßt sich am besten mittels zwei Parameter der Seminalflüssigkeit bestimmen: pH-Wert und Osmolarität stehen beide in linearer, hochsignifikanter Beziehung zur Befruchtungsrate von gefrierkonserviertem Samen. Der pH-Wert kann in unbehandeltem Samen direkt nach der Gewinnung und ohne Probenaufbereitung gemessen werden, zur Osmolaritätsmessung ist nur ein Präparationsschritt, nämlich das Zentrifugieren der Samenproben, notwendig. Bei entsprechend adaptierter Ausstattung kann somit eine hohe Anzahl an Samenproben rasch überprüft werden (zirka 20 bis 30 Proben in 15 min).
Weiters kann die Eignung von Samen zur Gefrierkonservierung durch seine Beweglichkeit bestimmt werden: Die Beziehung zwischen der Motilitätsrate von Frischsamen und der Befruchtungsrate des tiefgefrorenen Samens ist durch eine kubische Funktion wiedergegeben. Dies bedeutet, daß die Frischsamenmotilität nur sehr schlechte und sehr gute Samenproben charakterisiert (der steil ansteigende Bereich der Funktion), während Samenproben mit mittleren Motilitätsraten keine genauen Schlüsse auf ihre Eignung zur Gefrierkonservierung zulassen (der flache Teil der Funktion). Die Beziehung zwischen der Schwimmgeschwindigkeit von Frischsamen und der Befruchtungsrate von tiefgefrorenen Samen ist quadratisch. Spermien haben also ein gewisses Geschwindigkeitsoptimum. Höhere und niedrigere Schwimmgeschwindigkeiten lassen auf Veränderungen in Physiologie und Metabolismus (Vorschädigungen) schließen.
Weitere organische Komponenten der Seminalflüssigkeit, wie Lactatdehydrogenase, Triglyceridspiegel und β-D-Glucuronidaseaktivität eignen sich ebenfalls zur Vorhersage des Gefrierkonservierungserfolges, der Analyseaufwand ist jedoch bedeutend größer und die statistische Signifikanz geringer. Die Spermienenzyme, die die Stoffwechselaktivität des Samens charakterisieren, eignen sich zur Vorhersage des Gefrierkonservierungserfolges nur begrenzt.

## Qualitätsbestimmung des tiefgefrorenen Samens

Zur Charakterisierung der Qualität des tiefgefrorenen Samens eignet sich die Motilität. Die Motilitätsrate von gefrierkonserviertem Samen weist eine hochsignifikante, lineare Beziehung zur Befruchtungsrate auf, die Schwimmgeschwindigkeit eine quadratische. Wie Frischsamen hat somit auch gefrierkonservierter Samen ein Geschwindigkeitsoptimum. Die Motilitätsrate kann für grobe Qualitätserhebungen rasch in einem Lichtmikroskop geschätzt werden, genauere Daten liefern die beschriebenen computergestützten Auswerteverfahren, die auch für Samenqualitätserhebungen bei Säugern routinemäßig verwendet werden.

## Zusammenfassung

Merkmale, mit denen die Eignung von Samen zur Gefrierkonservierung und die Qualität von gefrierkonserviertem Samen bestimmt werden können, wurden an der Regenbogenforelle untersucht. Die Eignung des Samens zur Gefrierkonservierung kann am besten durch den pH-Wert und durch die Osmolarität des Seminalplasmas und durch die Motilitätsrate und die Schwimmgeschwindigkeit von Frischsamen bestimmt werden ($p < 0{,}001$). Weiters können der Triglyceridgehalt, die Lactatdehydrogenase- und die β-D-Glucuronidaseaktivität des Seminalplasmas zur Qualitätsbestimmung herangezogen werden ($p < 0{,}005$). Die Qualität des tiefgefrorenen Samens wird am besten durch die Motilitätsrate und die Schwimmgeschwindigkeit charakterisiert ($p < 0{,}001$).

## Danksagung

Gefördert vom Österreichischen Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft. Wir bedanken uns bei der Aufzuchtforschungsanlage Kreuzstein, Herrn Pfeiffer und seinen Mitarbeitern, für die Bereitstellung von Material, die Mithilfe bei den Experimenten und für die Betreuung und Auswertung der Befruchtungsversuche.

©Österr. Fischereiverband u. Bundesamt f. Wasserwirtschaft, download unter www.zobodat.at

LITERATUR

Bergmeyer, H. U., 1985. Methods of Enzymatic Analysis. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Deutschland.

Lahnsteiner, F., Weismann, T. & R. A. Patzner, 1994: Neue Gesichtspunkte zur Gefrierkonservierung von Salmonidensamen. Österr. Fischerei 4: 84–89.

Lahnsteiner, F., Weismann, T. & R. A. Patzner, 1995: Gefrierkonservierung von Äschen- und Huchensamen. Österr. Fischerei 11/12: 257–261.

Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T. & R. A. Patzner, 1996a: The influence of various cryoprotectants on semen quality of the rainbow trout *(Oncorhynchus mykiss)* before and after cryopreservation. Appl. J. Ichthyol., in Druck.

Lahnsteiner, F., Weismann, T. & R. A. Patzner, 1996b: Semen cryopreservation of salmonid fishes. Influence of handling parameters on the postthaw fertilization rate. Aquaculture Research, 27, in Druck.

Leung, L. K. B. & B. G. M. Jamieson, 1991. Live preservation of fish gametes. Pages 245–269. In B. G. M. Jamieson, Herausgeber. Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa. University Press, Cambridge, U. K.

Stein, H. (1980): Die künstliche Besamung bei Salmoniden Mitteleuropas. Habilitationsschrift. Universität München-Weihenstephan.

Anschrift der Autoren:
Mag. Dr. Franz Lahnsteiner und Univ.-Doz. Dr. Robert A. Patzner: Institut für Zoologie, Universität Salzburg, Hellbrunner Straße 34, A-5020 Salzburg
Dipl.-Tzt. Beate Berger: Bundesanstalt für künstliche Befruchtung und Fortpflanzung von Haustieren in Wels
Dipl.-Tzt. Thomas Weismann: Bundesamt für Wasserwirtschaft, Institut für Gewässerökologie, Fischereibiologie und Seenkunde, Scharfling 18, A-5310 Mondsee

*Österreichs Fischerei* *Jahrgang 51/1998* *Seite 54–58*

J. Hartmann und L. Probst

# Mehr Bodentiere näher zum organisch belasteten See-Zufluß?

## Einleitung

Der Bestand der am Seeboden lebenden »nackenden und schaligen Gewürme« (Miller, 1875) ändert sich räumlich und zeitlich, regel- und unregelmäßig mit dem Sediment und dem Wasserkörper, dem Nahrungsangebot und den Schadstoffen, den Freßfeinden und Konkurrenten, der Ufergestalt und der Zuflußfracht, dem Wetter und dem Stabilitäts-

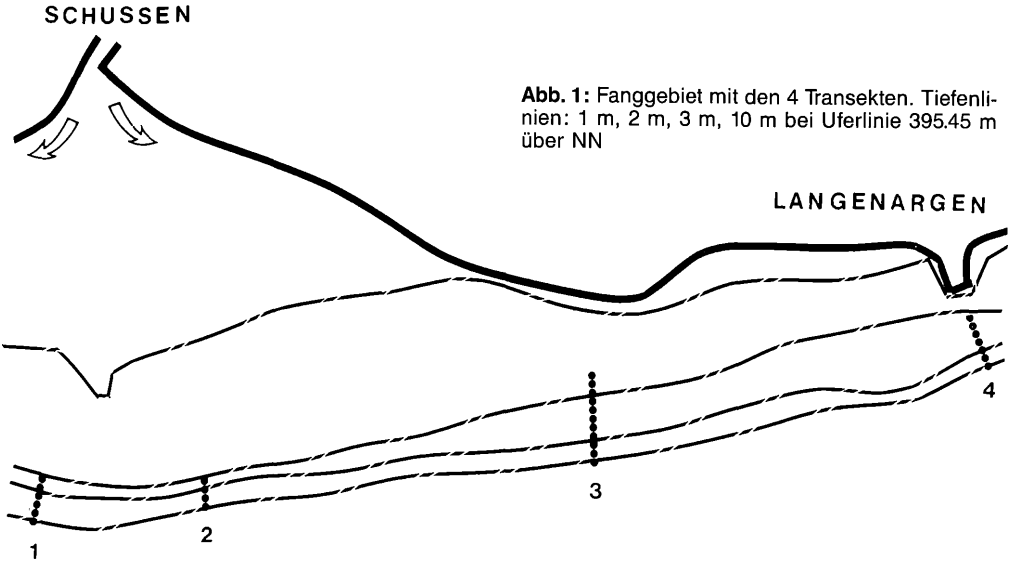


**Abb. 1:** Fanggebiet mit den 4 Transekten. Tiefenlinien: 1 m, 2 m, 3 m, 10 m bei Uferlinie 395.45 m über NN

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Österreichs Fischerei

Jahr/Year: 1998

Band/Volume: 51

Autor(en)/Author(s): Patzner Robert A., Weismann Thomas, Berger Beate, Lahnsteiner Franz

Artikel/Article: Welcher Samen eignet sich am besten zur Gefrierkonservierung, und wie kontrolliert man die Qualität von tiefgefrorenem Samen? 46-54