# **Triploidisierung von Bachsaibling, Seesaibling und Seeforelle.** Abschlussbericht und Zusammenfassung der Forschungsarbeiten.

Franz Lahnsteiner | Elias Lahnsteiner | Franz Grubinger
und das gesamte Team der Fischzucht Kreuzstein

Fischzucht Kreuzstein des Bundesamts für Wasserwirtschaft, Oberburgau 28, 4866 Unterach
Kontakt: Franz Lahnsteiner, E-Mail: Franz.Lahnsteiner@baw.at; Tel. +43(0)62 32/38 47-20

## 1. Einleitung

Fische haben wie die meisten Lebewesen einen zweifachen Chromosomensatz, die eine Hälfte stammt vom Vater, die andere von der Mutter. Lebewesen mit einem zweifachen Chromosomensatz bezeichnet man als diploid (aus dem Griechischen: diplos = doppelt). Manche Lebewesen, darunter auch Fische, können einen mehrfachen Chromosomensatz haben. Dies kann natürlich bedingt sein oder durch künstliche Eingriffe erzielt werden. Lebewesen mit einem dreifachen Chromosomensatz sind triploid (griechisch: triplos = dreifach).

Künstlich erzeugte triploide Fische werden zur Speisefischproduktion seit mehr als 20 Jahren getestet und genutzt (Benfey 1999, Piferrer et al. 2009). Triploidisierung ist kein gentechnischer Eingriff, da das Erbgut nicht verändert, sondern nur vervielfacht wird. Eine Verdreifachung des Chromosomensatzes (Triploidisierung) wird erreicht, indem die Eier kurz nach der Befruchtung, nämlich während der ersten Zellteilung, einem Temperatur- oder Druckschock ausgesetzt werden. Während mittels Wärmeschock schwankende Ergebnisse erzielt werden, ist die Druckschockmethode verlässlich und reproduzierbar. Es ist seit langem bekannt, dass die meisten triploiden Fische reduzierte Geschlechtsorgane haben oder steril sind. Da triploide Fische somit weniger oder keine Energie für die Fortpflanzung aufwenden müssen, haben sie ein kontinuierliches Wachstum und das ganze Jahr über eine hochwertige Fleischqualität. Triploide Fische können auch ökologisch von Vorteil sein. Aus Zuchtanlagen entkommene triploide Aquakulturfische können sich nicht mit ihren wildlebenden Artgenossen vermehren. Es kann also zu keiner Vermischung von Aquakulturfischen und autochthonen Wildbeständen kommen. Dagegen sind triploide Fische als Besatzfische für natürliche Gewässer völlig ungeeignet, da sie nicht fortpflanzungsfähig sind. Als Besatzfische sind genetisch konforme Fische mit einem guten Reproduktionspotential die beste Wahl. Somit muss zwischen triploiden Besatzfischen für die Aquakultur und diploiden Besatzfischen für natürliche Gewässer klar und eindeutig unterschieden werden.

Die Triploidisierung der befruchteten Eier durch Druckschock ist ein schwerwiegender Eingriff, da ein Druck zwischen 600 und 700 Bar angewandt werden muss. Dies entspricht einem Wasserdruck in 6.000 – 7.000 m Meerestiefe. Deshalb ist es notwendig die Auswirkungen der Triploidisierung auf Fische genau zu untersuchen und mögliche Vor- und Nachteile objektiv aufzudecken. Wie bereits oben erwähnt, ist die Triploidisierung eine Methode, die seit den neunziger Jahren untersucht, ge-

testet und angewandt wird. Es gibt dazu auch zahlreiche Publikationen, die hauptsächlich Regenbogenforellen und Lachs und zu einem geringeren Teil auch Bachforelle und Bachsaibling behandeln (Maxime 2008, Benfey 2016). In den verfügbaren Studien wurden unterschiedliche Triploidisierungsmethoden verwendet und unterschiedliche Aspekte in unterschiedlichen Arten untersucht. In der Folge kommen manche Studien auch zu unterschiedlichen Ergebnissen und eine Generalisierung der Vor- und Nachteile dieser Methode ist bis heute nur schwer möglich.

Deshalb wurde von uns eine umfassende Studie zur Triploidisierung von Salmoniden initiiert, wobei neben dem Bachsaibling auch heimische Arten, wie die Seeforelle und der Seesaibling untersucht wurden. Ziel der Untersuchung war es, die Vor- und Nachteile dieser Methode darzustellen, um weitere Empfehlungen für deren Einsatz oder Nichteinsatz abgeben zu können. Dieser Bericht ist die Zusammenfassung einer Serie von Fachpublikationen, die im Anhang aufgelistet sind.

## 2. Methode

### 2.1. Produktion von triploiden Fischen

Die Triploidisierung von Seeforellen (*Salmo trutta f. lacustris*), Bachsaiblingen (*Salvelinus fontinalis*) und Seesaiblingen (*Salvelinus umbla*) wurde mittels Druckschockbehandlung durchgeführt. Bei jeder untersuchten Art wurden 1.200 g befruchtete Eier in zwei Teilproben von 600 g aufgeteilt. Eine Teilprobe diente als Kontrolle, die andere wurde mit einer speziellen Druckschockmaschine triploidisiert. Zur Triploidisierung wurden die Eier 5 Min. lang einem hydrostatischen Druck von 660 Bar ausgesetzt. Die Zeitdauer, bis sich dieser Druck aufgebaut hatte, betrug 25 Sek.

Der Zeitpunkt der Druckschockbehandlung ist art- und temperaturabhängig. Bei einer Wassertemperatur von 9 °C war der optimale Zeitpunkt für Seeforellen 40 Minuten nach der Befruchtung, für Bachsaiblinge 35 Minuten nach der Befruchtung, und für Seesaiblinge 30 Minuten nach der Befruchtung. Nach Beendigung der Druckschockbehandlung wurden die Eier wie die Kontrolleier in Brutrahmen erbrütet. Die Druckschockmaschine und die wichtigsten Arbeitsschritte der Triploidisierung sind in *Abb. 1* dargestellt.

### 2.2. Aufzucht der Fische

Die diploiden und die triploiden Brütlinge jeder Art wurden in 500 l Rundstrombecken aufgezogen. Die 1-jährigen Fische wurden in Langstrombecken umgesetzt und dort bis zu einem Alter von drei Jahren gehalten. Da die Fischzucht Kreuzstein eine Aufzuchtanlage ist, stehen keine Fließkanäle zur Speisefischmast zur Verfügung. Aufzucht und Haltung der Fische erfolgte unter den in der Fischzucht Kreuzstein praktizierten Routinebedingungen.

### 2.3. Bestimmung, ob Fische diploid oder triploid sind

Bei 2 Monate alten Fischen, die aus Druckschock behandelten Eiern stammten, wurde bestimmt, ob sie diploid oder triploid waren. Dies erfolgte durch Vermessung des Zellkerns der roten Blutkörperchen. Da die triploiden Fische den 3-fachen Chromosomensatz enthalten, ist ihr Zellkern eineinhalb Mal so groß wie bei den diploiden Fischen. Dies kann in einem Mikroskop und mittels geeigneter Analysesoftware ermittelt werden. Dazu wird den Fischen etwa 10 µl Blut abgenommen, fixiert, gefärbt und die Zellkernfläche der roten Blutkörperchen gemessen.

***Abb. 1a.*** *Druckschockmaschine. 1 Podest, 2 Druckkessel, 3 Steueranlage, 4 Druckkammer, 5 Manometer, 6 Verschluss der Druckkammer mit Überdruckventil. Abbildungen 1b – 1f: Vorgangsweise beim Triploidisieren. (b) Die Druckkammer wird geöffnet, (c) mit Eiern befüllt und (d) geschlossen. (e) Die Eier werden unter den in der Steuerungskonsole programmierten Bedingungen Druck-behandelt. (f) Anschließend wird der Verschluss wieder geöffnet, die Eier werden entnommen und erbrütet.*

### 2.4. Untersuchungen an triploiden Fischen

Bei den triploiden Fischen wurden im Vergleich zu diploiden Fischen folgende Parameter untersucht: (1) Die Entwicklung der Geschlechtsorgane, (2) das Wachstum, der Filetanteil und die Körperform, (3) die Fleischqualität (Muskelzusammensetzung), (4) das Auftreten von Missbildungen, (5) der Ruhestoffwechsel und der Sauerstoffverbrauch, (6) die Fitness in Form von Stresstests, und (7) das Immunsystem. Die Vorgangsweise, die bei den jeweiligen Untersuchungen und Messungen verwendet wurde, ist gemeinsam mit den Ergebnissen kurz beschrieben. Die Details der Analysen sind umfangreich und in den Fachpublikationen nachzulesen.

Alle Ergebnisse wurden auch statistisch analysiert. Die statistische Analyse gibt genaueren Aufschluss, ob sich die Messwerte tatsächlich unterscheiden oder ob die Unterschiede auf zufälligen Schwankungen beruhen. Zur Analyse wurden alle Daten auf Normalverteilung überprüft. Als statische Tests wurden der Student t Test, der Welch-Test und die Varianzanalyse verwendet.

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Entwicklung der Geschlechtsorgane

Die Bachsaiblinge, Seesaiblinge und Seeforellen wurden monatlich hinsichtlich der Entwicklung der Geschlechtsorgane untersucht. Unsere Untersuchungen zeigen, dass die Triploidisierung die Entwicklung der Geschlechtsorgane bei den untersuchten Arten nicht vollständig hemmt. Die Entwicklung der Geschlechtsorgane ist von der Art, vom Geschlecht und vom Alter der Fische abhängig und in Tabelle 1 zusammengefasst. Die triploiden Fische waren zu etwa 50 % Männchen und zu 50 % Nicht-Männchen (steril, Zwitter, oder Weibchen – siehe unten). Die triploiden Männchen hatten gut entwickelte Hoden (*Abb. 2a*). Wie bei normalen, diploiden Fischen veränderte sich die Gonadengröße (ausgedrückt als prozentueller Anteil des Körpergewichts) innerhalb eines Jahres. Die Geschlechtsorgane waren während der Laichzeit am größten und in der Ruhephase, wenn keine Fortpflanzung stattfindet, am kleinsten. Bei 2-jährigen, triploiden Milchnern von Seeforellen entsprach die Gonadengröße in etwa den diploiden Fischen (8,3 ± 2,4 % des Körpergewichts), bei triploden Bach- und Seesaiblingen war sie etwa um die Hälfte verringert (3,2 ± 1,6 % des Körpergewichts). Die zweijährigen triploiden Männchen produzierten keinen Samen. Bei dreijährigen triploiden Seeforellen und Bachsaiblingen gab es Unterschiede in der Entwicklung der Hoden. Ein Teil der Fische (60 %) hatte sehr kleine Hoden (0,5 ± 0,4 % des Körpergewichts). Die restlichen 40 % der Männchen hatten gut entwickelte Hoden, die in ihrer Größe den diploiden Fischen entsprachen (7,9 ± 2,3 % des Körpergewichts). Diese Fische produzierten auch Samen. Dieser war beweglich und befruchtungsfähig. Diploide Eier, die mit triploidem Samen befruchtet wurden, hatten eine Befruchtungsrate von 70 – 80 % und eine Schlupfrate von 25 – 30 %. Die geschlüpften Larven hatten eine normale Entwicklung.

Die nicht männlichen triploiden Seeforellen und Bachsaiblinge entwickelten im Alter von 2 Jahren überhaupt keine Geschlechtsorgane (*Abb. 2b*). Anstelle von Geschlechtsorganen waren nur dünne Bindegewebsfäden zu finden. Mit drei Jahren entwickelten sie kleine Zwittergonaden, die sowohl Eizellen als auch Vorläufer von Spermienzellen enthielten (*Abb. 2c*). Diese Zwittergonaden hatten das ganze Jahr über die gleiche Größe und wiesen keinen Jahreszyklus auf. Das Gonadengewicht betrug nur 0,09 ± 0,03 % des Körpergewichts.

Ein Teil (40 %) der triploiden, nicht männlichen Seesaiblinge entwickelte mit 2 Jahren Eierstöcke (Ovarien) (*Abb. 2d*). Während der Laichzeit entsprach das Gonadengewicht damit dem der diploiden Weibchen (10,4 ± 2,3 % des Körpergewichts). In den Ovarien waren wie bei diploiden Fischen reife Eier zu finden. Die Fische konnten aber nicht abgesteift werden bzw. laichten nicht ab. Der übrige Teil der nicht männlichen Seesaiblinge entwickelte schlauchförmige, sterile Gonaden (*Abb. 2e*). Diese waren klein und ihr Gewicht betrug 0,6 ± 0,1 % des Körpergewichts. Die Gonadenentwicklung der untersuchten Arten ist in der folgenden Tabelle 1 zusammengefasst.

**Tabelle 1:** Gonadenentwicklung bei triploiden Salmoniden in Abhängigkeit von Art, Alter und Geschlecht

| | Triploide Männchen | Triploide, nicht männliche Fische |
|---|---|---|
| Seeforelle | | |
| 2-jährig | gut entwickelte Hoden, keine Samenproduktion | keine Gonaden, nur feine Bindegewebsfäden |
| 3-jährig | sehr kleine Hoden oder gut entwickelte Hoden mit Samenproduktion | kleine Zwittergonaden |
| Bachsaibling | | |
| 2-jährig | gut entwickelte Hoden, keine Samenproduktion | keine Gonaden, nur feine Bindegewebsfäden |
| 3-jährig | sehr kleine Hoden oder gut entwickelte Hoden mit Samenproduktion | Zwittergonaden |
| Seesaibling | | |
| 2-jährig | gut entwickelte Hoden, keine Samenproduktion | gut entwickelte Eierstöcke oder kleine sterile Gonaden |
| 3-jährig | Triploide Fische erreichen nicht das Lebensalter von 3 Jahren | |

### 3.2. Körpergewicht, Filetanteil und Körperform

Bei triploiden Seeforellen, Bachsaiblingen und Seesaiblingen wurden in 2-monatigen Intervallen Körpergewicht, Totallänge und Filetgewicht bestimmt und mit diploiden Kontrollfischen verglichen. Hier in den Ergebnissen werden die Werte für 3-jährige Fische gezeigt (Tabelle 2). Die triploiden Bachsaiblinge hatten ein signifikant besseres Wachstum als die diploiden. Wie oben beschrieben, können triploide Bachsaiblinge Männchen oder Zwitter sein. Das Wachstum der triploiden Zwitter war dabei noch besser als das der triploiden Männchen (Tabelle 2). Auch die Filetausbeute in Prozent des Körpergewichts war bei den triploiden Bachsaiblingen signifikant höher als bei den diploiden (Tabelle 2). Zwischen diploiden und triploiden Bachsaiblingen wurden auch Unterschiede in den Körperproportionen festgestellt. Während die triploiden Männchen in ihrer Körper- und Kopfform in etwa den normalen diploiden Fischen entsprachen, waren die triploiden Zwitter viel höherrückig und der Kopf war kürzer (Verhältnis von Totallänge zu Körperbreite und von Totallänge zu Kopflänge war geringer als bei diploiden Fischen). Dies äußerte sich auch in einem hohen Konditionsfaktor von > 1,6 (Tabelle 2).

Triploide Seeforellen zeigten im Vergleich zu den normalen, diploiden Seeforellen keine signifikanten Wachstumsunterschiede. Totallänge, Körpergewicht und Konditionsfaktor für die 3-jährigen Fische sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Die Filet-

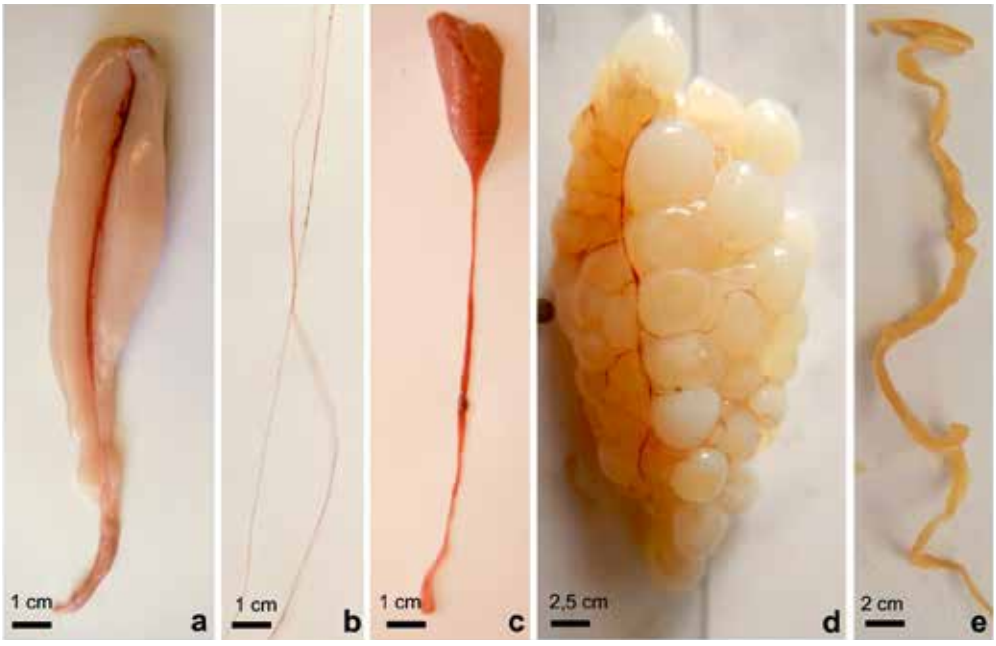


***Abb. 2.*** *Gonadenentwicklung bei triploiden Salmoniden. (a) Hoden einer 2-jährigen, triploiden Seeforelle, (b) Bindegewebsfäden anstelle von Gonaden bei 2 Jahre altem triploiden Bachsaibling, (c) zwittrige Gonade von 3 Jahre altem triploiden Bachsaibling, (d) Eierstock von 2 Jahre altem triploiden Seesaibling, (e) sterile Gonaden von 2 Jahre altem triploiden Seesaibling.*

ausbeute in Prozent des Körpergewichts war bei triploiden Seeforellen geringfügig höher als bei diploiden Seeforellen. Dieser Wert war aber statistisch nicht signifikant. Die Körperproportionen der triploiden und der diploiden Fische unterschieden sich nicht (Tabelle 3).

Alle triploiden Seesaiblinge starben in einem Alter von 24 bis 28 Monaten. Die Fische wiesen keine Krankheiten oder Organveränderungen auf. Es ist somit wahrscheinlich, dass die Triploidisierung die Lebenserwartung der Fische verkürzte. Körpergewicht und Körperlänge der triploiden Fische wurden nach 24 Monaten gemessen und waren im Vergleich zu den diploiden Fischen um circa 10 % niedriger.

**ACHLEITNER FORELLEN** sind robust, gesund und preiswert – ausschließlich aus eigenem Zuchtbetrieb. Die Mutterfische sind ab dem Jahre 1908 in Österreich heimisch geworden und bodenständig sowie ökologisch vollständig angepasst (autochthon). Die verwendeten Futtermittel sind PAP-frei und beinhalten keine GVO-Rohstoffe (»gentechnikfrei« laut EU-VO 1829/2003).

**Brütlinge vorgestreckt –**
**Heimische Besatzforellen – Speiseforellen**

*Seit über 100 Jahren virusseuchenfreie Forellen aus eigener Zucht!*

**FORELLENZUCHT ACHLEITNER**

A-5230 Schalchen bei Mattighofen · Häuslbergerstr. 11 · Tel. 07742/2522 · Fax 07742/252233 · office@forellen.at

**Tabelle 2:** Körpergewicht, Totallänge, Filetanteil, und Körperproportionen von drei Jahre alten diploiden und triploiden Bachsaiblingen (n = 30). Mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnete Daten sind statistisch signifikant unterschiedlich, P < 0,05. Die Messungen wurden bei Fischen außerhalb der Laichzeit durchgeführt.

| Bachsaibling | Männchen | | Weibchen | |
|---|---|---|---|---|
| | Diploid | Triploid | Diploid | Triploid |
| Körpergewicht [g] | 785 ± 90 [a] | 1205 ± 105 [b] | 830 ± 75 [a] | 1520 ± 95 [b] |
| Totallänge [cm] | 40 ± 3 [a] | 44 ± 3 [a] | 42 ± 3 [a] | 45 ± 3 [a] |
| Konditionsfaktor | 1,24 ± 0,10 [a] | 1,49 ± 0,04 [b] | 1,16 ± 0,05 [a] | 1,63 ± 0,9 [c] |
| Filetanteil [%] | 51 ± 2[a] | 59 ± 3[b] | 52 ± 2 [a] | 62 ± 3 [b] |
| Verhältnis Totallänge zu Körperbreite | 4,4 ± 0,3 [a] | 3,8 ± 0,4 [b] | 3,8 ± 0,17 [b] | 3,1 ± 0,1 [c] |
| Verhältnis Totallänge zu Kopflänge | 6,4 ± 0,4 [a] | 6,6 ± 0,3 [a] | 5,0 ± 0,76 [c] | 4,7 ± 0,4 [d] |

**Tabelle 3:** Größe, Filetanteil, und Körperproportionen von drei Jahre alten diploiden und triploiden Seeforellen (n = 30). Mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnete Daten sind statistisch signifikant unterschiedlich, P < 0,05. Die Messungen wurden bei Fischen außerhalb der Laichzeit durchgeführt.

| Seeforelle | Männchen | | Weibchen | |
|---|---|---|---|---|
| | Diploid | Triploid | Diploid | Triploid |
| Körpergewicht [g] | 926 ± 75 [a] | 957 ± 91 [a] | 945 ± 75 [a] | 968 ± 85 [a] |
| Totallänge [cm] | 44 ± 5 [a] | 43 ± 3 [a] | 45 ± 5 [a] | 43 ± 5 [a] |
| Konditionsfaktor | 1,22 ± 0,12 [a] | 1,19 ± 0,10 [a] | 1,25 ± 0,15 [a] | 1,18 ± 0,11 [a] |
| Filetanteil [%] | 56 ± 3 [a] | 59 ± 2 [a] | 57 ± 2 [a] | 61 ± 2 [a] |
| Verhältnis Totallänge zu Körperbreite | 4,9 ± 0,4 [a] | 4,5 ± 0,3 [a] | 4,8 ± 0,3 [a] | 4,7 ± 0,3 [a] |
| Verhältnis Totallänge zu Kopflänge | 5,3 ± 0,3 [a] | 4,8 ± 0,3 [a] | 5,1 ± 0,3 [a] | 4,7 ± 0,5 [a] |

### 3.3. Fleischqualität (Muskelzusammensetzung):

Um die Fleischqualität von triploiden Fischen im Vergleich zu diploiden zu charakterisieren, wurden die Fische filetiert und hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und der Größe der Muskelfasern untersucht (Tabelle 4). Die Analysen wurden außerhalb der Laichzeit an hautlosen Filetquerschnitten von Seeforellen durchgeführt. Bei den triploiden Fischen war der Wasseranteil des Filets signifikant um circa 3 % niedriger als bei den diploiden Fischen. Dafür hatte das Filet der triploiden Fische einen höheren Proteingehalt. Im Fettgehalt des Muskels waren zwischen diploiden und triploiden Fischen keine Unterschiede erkennbar. Auch die analysierten Fettklassen (Triglyceride [Neutralfette], Phospholipide und freie Fettsäuren) unterschieden sich nicht. Dagegen hatten die Muskelfasern von triploiden Fischen einen etwas größeren Durchmesser als die der diploiden Fische (Tabelle 4). In der Folge war die Anzahl der Muskelfasern pro Flächeneinheit bei triploiden Fischen geringer als bei diploiden Fischen. Aufgrund des dreifachen Chromosomensatzes sind bei triploiden Fischen

*Abb. 3.*
*(a) Rotgefärbtes Filet von triploidem Bachsaiblings-zwitter und (b) weißliches Filet von triploidem Bachsaiblings-männchen am Beginn der Laichzeit.*

alle Körperzellen größer als bei diploiden Fischen, was sich auch in größeren Muskelfasern äußert. Die größeren Muskelfasern könnten auch ein Grund für den niedrigeren Wasseranteil und höheren Proteingehalt des Muskels sein.

Entsprechend den Wünschen der Konsumenten sollen Forellenfilets eine homogene zartrosa bis rote Färbung haben, welche durch Fütterung von Pigmentfutter erzielt wird. Dieses Futter enthält Carotinoide, eine Klasse natürlich vorkommender fettlöslicher Pigmente, die sich im Muskel einlagern und zu dessen rötlicher Färbung führen. Während der Vorlaichzeit und Laichzeit werden diese Farbstoffe aber im Muskel mobilisiert und in die Haut und in die Gonaden transportiert. Dadurch verliert das Filet der diploiden Fische seine rötliche Färbung und wird weißlich bis bräunlich. Bei triploiden Fischen, bei denen die Gonadenentwicklung gehemmt ist, sollte die Filetfarbe daher ganzjährig konstant bleiben. Wurden die triploiden Seeforellen und Bachsaiblinge ganzjährig mit Pigmentfutter gefüttert, veränderte sich die Filetfarbe der sterilen bzw. zwittrigen Fische nicht (*Abb. 3a*). Bei männlichen triploiden Seeforellen und Bachsaiblingen wurden die Filets aber während der Laichzeit bräunlich weiß (*Abb. 3b*), ähnlich wie bei den diploiden Männchen.

Zusammenfassend zeigen diese Daten, dass die Muskelzusammensetzung der triploiden Fische gegenüber diploiden geringfügig verändert ist. Ebenso ist die Größe der Muskelfasern und damit die Muskelstruktur anders. Diese Veränderungen liegen aber in einem Bereich, der keine geschmacklichen Auswirkungen hat. Wichtig ist aber, dass eine ganzjährig konstante Filetqualität nur bei den nicht-männlichen Fischen erzielt werden kann, während sich bei den männlichen triploiden Fischen die Färbung während der Laichzeit verändert.

**Tabelle 4:** Filetzusammensetzung und Muskelstruktur bei 3-jährigen diploiden und triploiden Seeforellen. Jeweils 10 diploide und 10 triploide Fische wurden verwendet. Mittelwerte ± Standardabweichung mit unterschiedlicher Buchstabenkennzeichnung sind statistisch signifikant unterschiedlich (P < 0,05).

| | Diploide Seeforellen | Triploide Seeforellen |
|---|---|---|
| **Zusammensetzung** | | |
| Wasseranteil in % vom Gesamtgewicht | 77,4 ± 1,1 [a] | 74,5 ± 2,3 [b] |
| Trockengewicht in % vom Gesamtgewicht | 22,5 ± 1,1 [a] | 25,5 ± 2,3 [b] |
| Ascheanteil in % vom Gesamtgewicht | 1,7 ± 0,1 [a] | 1,9 ± 0,1 [b] |
| Protein in mg/g Gewebe | 170,7 ± 14,8 [a] | 190,2 ± 23,1 [b] |
| Gesamtfett in mg/g Gewebe | 14,2 ± 7,9 [a] | 14,7 ± 4,2 [a] |
| davon Fettsäuren in % | 7,0 ± 3,0 [a] | 5,9 ± 2,2 [a] |
| davon Triglyceride in % | 56,0 ± 19,0 [a] | 53,2 ± 16,7 [a] |
| davon Phospholipide in % | 37,0 ± 23,1 [a] | 40,8 ± 16,2 [a] |
| Muskelfasern | | |
| Durchmesser in µm | 2,21 ± 0,25 [a] | 2,33 ± 0,31 [a] |
| Anzahl pro100 µm² | 3.553 ± 363 [a] | 2.880 ± 458 [b] |

### 3.4. Missbildungen

Bei Salmoniden entstehen Missbildungen hauptsächlich durch Verknöcherungsfehler der Wirbelsäule. Bei Brütlingen bestehen die Wirbel nur aus Knorpelmasse und verknöchern erst im Verlauf der Entwicklung. Die Verknöcherungsprozesse können durch schlechte Haltung und Ernährung gestört werden, aber auch durch die Triploidisierung. Daher wurde das Vorkommen von Missbildungen mittels Röntgenuntersuchung und mit speziellen Methoden der Knorpel- und Knochenfärbung bei zweijährigen triploiden Seeforellen und Bachsaiblingen im Vergleich zu normalen diploiden Fischen untersucht. Folgende Formen von Veränderungen wurden festgestellt (A*bb. 4*): das Verwachsen einzelner Wirbel wurde beobachtet. Diese Verwachsungen können möglicherweise die Beweglichkeit der Fische beeinflussen, führen aber nicht zu Verkrüppelungen, sind optisch also an den Fischen nicht feststellbar und auch für die Verarbeitung (Filetieren) unbedeutend. Stärkere Verwachsung von Wirbelabschnitten in Kombination mit Verknöcherungsfehlern führen zu einer Wirbelsäulenverkrümmung. Die Krümmung der Wirbelsäule Richtung Rückenflosse äußert sich in einer Buckelbildung (*Abb. 4a*). Eine seitliche Krümmung der Wirbelsäule führt zu einer Abweichung von der Körperlängsachse (*Abb. 4c*). Letztgenannte Krümmung verändert die Symmetrie der Fische und bringt auch Probleme beim Filetieren. Je nach Grad der Wirbelsäulenverkrümmung ist diese auch äußerlich als Verkrüppelung erkennbar. Sehr selten wurden auch Missbildungen am Kieferknochen beobachtet. Grundsätzlich stellen Missbildungen jeglicher Art auch ein tiergesundheitliches Problem dar und sollen daher vermieden werden.

Die beschriebenen Veränderungen wurden bei diploiden und triploiden Fischen festgestellt. Sie traten bei triploiden Fischen aber deutlich häufiger auf (Tabelle 5). So betrug bei diploiden Bachsaiblingen der Prozentsatz der Fische mit keinen oder leichten Missbildungen (Verwachsung einzelner Wirbel) 95 %, bei triploiden Bach-

saiblingen aber nur 70 %. Ein ähnliches Ergebnis ergab sich für Seeforellen. Bei dieser Art machte der Prozentsatz der diploiden Fische mit keinen oder leichten Missbildungen 84 % aus, der Prozentsatz der triploiden Fische mit keinen oder leichten Missbildungen 63 %.

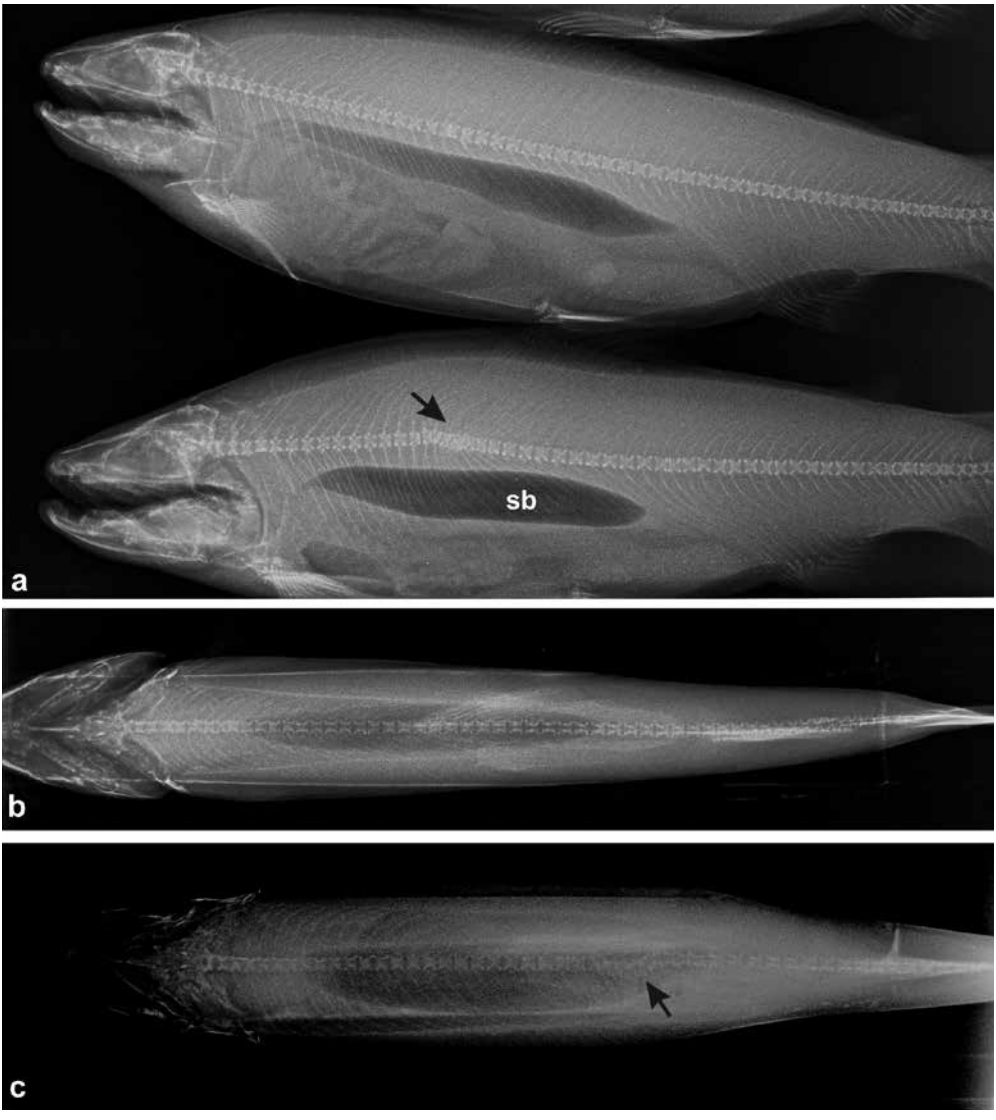


***Abb. 4.*** *Röntgenuntersuchungen am Skelett von triploiden Bachsaiblingen zur Bestimmung von Missbildungen. (a) Seitenansicht, der untere Fisch weist eine Wirbelsäulenkrümmung nach oben (Buckel) auf (Pfeil). (b) Ansicht von der Bauchseite, normale Wirbelsäule ohne Veränderung, (c) Ansicht von der Bauchseite, Wirbelsäule mit seitlicher Krümmung (Pfeil).*
sb: *Schwimmblase.*

**Tabelle 5:** Missbildungen bei 2-jährigen diploiden und triploiden Bachsaiblingen und Seeforellen. Die Probenanzahl beträgt für diploide und triploide Fische jeder Art jeweils 20.

| Art der Missbildung | Bachsaiblinge | | Seeforellen | |
|---|---|---|---|---|
| | Diploid | Triploid | Diploid | Triploid |
| keine Missbildungen | 75 % | 50 % | 75 % | 50 % |
| Verwachsen einzelner Wirbel | 20 % | 20 % | 9 % | 13 % |
| Buckelbildung | 0 % | 20 % | 16 % | 25 % |
| Seitliche Krümmung der Wirbelsäule | 5 % | 10 % | 0 % | 12 % |
| Kiefermissbildung | 0 % | 0 % | 0 % | 0 % |

### 3.5. Stoffwechsel und Fitness triploider Fische

Triploide Fische haben wie bereits mehrfach beschrieben einen dreifachen Chromosomensatz und damit von jedem Gen 3 Kopien. Durch das Vorhandensein von jeweils 3 Genkopien kann es zu speziellen Regulationsmechanismen kommen, wobei bestimmte Genabschnitte abgeschaltet und andere auf ein höheres Niveau aktiviert werden (Pala et al. 2008, Dheilly et al. 2014). Dies wiederum führt bei triploiden und diploiden Fischen zur unterschiedlichen Ausprägung bestimmter Gene (Pala et al. 2008). In der Folge unterscheiden sich auch Stoffwechsel und Physiologie der Fische. Kenntnisse über den Stoffwechsel von triploiden Fischen sind daher notwendig, um zu verstehen, ob sich diese unter normalen Fischzuchtbedingungen und unter Stressbedingungen gleich gut wie die diploiden zurechtfinden. Deshalb wurde der Ruhestoffwechsel der triploiden Fische untersucht und sie wurden auch 2 Stresstests ausgesetzt.

#### 3.5.1. Ruhestoffwechsel und Sauerstoffverbrauch

Der Ruhestoffwechsel ist der Stoffwechsel, den die Fische unter Normalbedingungen haben. Diese Normalbedingungen entsprechen den Haltungsbedingungen, an die die Fische in der Fischzucht angepasst sind. Stoffwechseluntersuchungen sind spezielle biochemische Analysen, in denen die Konzentrationen von bestimmten Stoffwechselprodukten und die Aktivitäten von Enzymen (das sind Proteine, die eine biochemische Reaktion im Körper beschleunigen oder ermöglichen) gemessen werden. Da die Bedeutung und Funktion der unterschiedlichen Stoffwechselprodukte und Enzyme biochemisches Fachwissen darstellen, wird hier nicht näher darauf eingegangen, sondern auf die entsprechenden wissenschaftlichen Veröffentlichungen verwiesen. Die Untersuchungen wurden an Kiemen, Darm, Niere, Leber und Muskel von Seeforellen und Bachsaiblingen durchgeführt. Die Untersuchungen zeigen, dass sich der Stoffwechsel der triploiden Fische eindeutig von dem der diploiden Fische unterscheidet. Bestimmte Stoffwechselwege waren besser ausgeprägt als bei diploiden Fischen und bei bestimmten anderen war es umgekehrt. Aus den durchgeführten Untersuchungen kann aber nicht geschlossen werden, dass der Stoffwechsel der triploiden Fische weniger gut funktioniert, als der der diploiden Fische, sondern nur dass er anders ist. Zusätzlich wurden im Blut verschiedene Komponenten untersucht, die in der Veterinärmedizin verwendet werden, um Stoffwechselstörungen und Organschädigungen zu diagnostizieren. Auch diese Untersuchungen gaben keine Hinweise auf negative Veränderungen bei triploiden Fischen.

Ein für die Fischzucht wichtiges Ergebnis ist, dass sich der Sauerstoffverbrauch der triploiden Fische von dem der diploiden unterscheidet. Der Sauerstoffverbrauch von diploiden und triploiden Seeforellen und Bachsaiblingen wurde unter exakt definierten Bedingungen in einer speziellen Messkammer (Respirometer) ermittelt. Bei allen untersuchten Wassertemperaturen hatten die triploiden Seeforellen und Bachsaiblinge einen geringeren Sauerstoffverbrauch als die diploiden (Tabelle 6). Reduzierter Sauerstoffverbrauch ist oft mit einer geringeren Stoffwechselrate verbunden (Zeng et al. 2017). Niedrigere Stoffwechselraten bewirken meist ein verringertes Wachstum. Dies könnte erklären, warum das Wachstum mancher triploiden Fischarten trotz Hemmung der Gonadenentwicklung gleich oder sogar geringer ist wie bei den diploiden Fischen.

**Tabelle 6:** Sauerstoffverbrauch von diploiden und triploiden 2-jährigen Seeforellen und Bachsaiblingen. Für die Sauerstoffmessung wurden 3 Fische pro Messung verwendet und die Messungen wurden 8 Mal wiederholt. Daten sind Mittelwerte ± Standardabweichung. Alle Werte zeigen einen statistisch signifikanten Unterschied ($P < 0,05$).

| **Sauerstoffverbrauch** (mg $O_2$ /100 g Fisch/Std.) | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **Bachsaiblinge** | | **Seeforellen** | |
| | Diploid | Triploid | Diploid | Triploid |
| 9 °C | 1,39 ± 0,05 [a] | 1,19 ± 0,05 [b] | 1,23 ± 0,18 [a] | 1,10 ± 0,27 [b] |
| 18 °C | 2,34 ± 0,06 [c] | 1,88 ± 0,05 [d] | 2,21 ± 0,09 [c] | 2,03 ± 0,06 [d] |

### 3.5.2. Stresstests

Um das Verhalten von triploiden Fischen unter Extrembedingungen auszutesten, wurden mit 10 Monate alten triploiden Seeforellen 2 Belastungstests durchgeführt, Ausdauerschwimmversuche und Tests auf Widerstandsfähigkeit gegenüber Sauerstoffmangel. Für Ausdauerschwimmversuche wurden die diploiden und triploiden Seeforellen in Langstromrinnen besetzt, in denen der Wasserdurchfluss im Vergleich zu routinemäßigen Zuchtbedingungen auf das 5-fache erhöht war. Der Versuch dauerte 24 Stunden und das Verhalten und der Stoffwechsel der triploiden Fische wurde mit den diploiden verglichen. Während des Ausdauerschwimmens und auch in der nachfolgenden Erholungsphase kam es weder bei triploiden noch bei diploiden Seeforellen zu Erschöpfungserscheinungen, Verhaltensstörungen oder zu Todesfällen. Der Energiestoffwechsel war im Muskel von triploiden Fischen im Vergleich zu diploiden leicht erniedrigt (Abnahme bestimmter energiereicher Stoffwechselprodukte wie Phosphokreatin und Adenylatenergieladung). Leber- und Blutwerte unterschieden sich nicht.

Um die Widerstandsfähigkeit gegenüber Sauerstoffmangel zu testen, wurde Brunnenwasser mit einer Sauerstoffsättigung von 32 % verwendet. Der Wasserchemismus entsprach mit Ausnahme der Sauerstoffkonzentration dem Grundwasser aus der Fischzucht. Das sauerstoffarme Wasser wurde in 2 Becken im Kreislauf gepumpt. Ein Becken wurde mit diploiden Seeforellen, das andere mit triploiden besetzt. Bei den diploiden und triploiden Fischen, die in sauerstoffarmem Wasser gehalten wurden, war die Atemfrequenz (Kiemendeckelbewegungen pro Zeiteinheit) erhöht. Nach 3 Stunden zeigten die Fische ein Erschöpfungsverhalten, d. h. sie hatten Mühe sich

im Wasserstrom zu halten und wurden an das Absperrgitter gedrückt. Deshalb wurde der Versuch abgebrochen. Zwischen diploiden und triploiden Fischen gab es keine Verhaltensunterschiede, ebenso verendeten keine Fische. Auch in der nachfolgenden Erholungsphase in mit Sauerstoff gesättigtem Wasser waren keine Ausfälle zu beobachten. Nach 3 Stunden in sauerstoffarmem Wasser waren im Stoffwechsel der diploiden und triploiden Fische Veränderungen festzustellen. Unter anderem nahmen im Muskel und in der Leber wichtige Energiereserven ab (Leber- und Muskelglykogen, Muskel-ATP: ADP Verhältnis). Im Muskel und im Blut nahm die Laktatkonzentration zu. Zwischen diploiden und triploiden Fischen waren aber nur geringe Unterschiede im Stoffwechsel zu beobachten. In Summe zeigen diese Versuche, dass die triploiden Fische Belastungen und Stress gleich gut aushalten wie diploide Fische.

### 3.6. Immunsystem

Das Immunsystem von Fischen besteht wie das von anderen Wirbeltieren aus einem angeborenen und einem spezifischen, adaptiven Abwehrsystem. Die angeborene Immunität ist eine unspezifische Immunabwehr und ein allgemeiner Verteidigungsmechanismus gegenüber Krankheitserregern. Es ist somit nicht spezifisch gegenüber bestimmten Krankheitserregern, reagiert dafür aber sehr schnell, nämlich innerhalb von Minuten bis Stunden. Die Komponenten der nicht spezifischen Immunabwehr sind sogenannte Fresszellen (Makrophagen und Granulozyten) und verschiedene Biomoleküle wie Lektine, Lysozym, Interferon und Komplementfaktor. Das adaptive Abwehrsystem erkennt spezifische Krankheitserreger und eliminiert diese gezielt aus dem Körper. Die Entwicklung dieser spezifischen Immunität ist ein langsamer Prozess und kann Tage bis Wochen ab Infektionsbeginn dauern. Dafür kommt es zu einer »Gedächtnisentwicklung«, das heißt, das Immunsystem erkennt den Krankheitserreger bei Neuinfektion wieder und kann dadurch eine dauerhafte Immunität aufbauen. Die wichtigsten Komponenten des spezifischen Immunsystems sind Lymphozyten und Immunglobuline.

Bei diploiden und triploiden zweijährigen Seeforellen und Bachsaiblingen und einjährigen Seesaiblingen wurden verschiedene Komponenten des angeborenen Immunsystems und des adaptiven Immunsystems untersucht. Die Untersuchungen zeigten, dass das angeborene und das adaptive Immunsystem bei triploiden Fischen aller 3 Arten schwächer ist als bei den diploiden Fischen. So waren die Aktivität des Komplementsystems, die Lysozymaktivität, die Konzentration von Immunglobulin und die Anzahl der Makrophagen und Lymphozyten verringert. In diesem Zusammenhang muss auch hervorgehoben werden, dass die untersuchten Immunparameter nur bei gesunden Fischen untersucht wurden, bei denen sich das Immunsystem sozusagen im Ruhemodus befand. Es ist unklar, wie die untersuchten triploiden Fische auf eine Infektion reagieren und ob die Aktivität des Immunsystems im Fall einer Infektion auf Werte hochgefahren werden kann, die den diploiden Fischen gleicht. Die triploiden Fische, die in unserer Fischzucht gehalten wurden, wiesen im dreijährigen Versuch im Vergleich zu diploiden Kontrollen keine erhöhte Krankheitsanfälligkeit auf.

### Zusammenfassung

1. Die Triploidisierung von Fischen führt nicht generell zu einer Verbesserung der Wachstumsleistung, da sie eine niedrigere Stoffwechselrate als diploide Fische

haben. Dafür wird die Gonadenentwicklung gehemmt, wodurch mehr Energie in das Wachstum investiert werden kann. Diese beiden Faktoren wirken gegensätzlich. Je nachdem welcher Faktor überwiegt, kommt es zu einer Wachstumssteigerung oder nicht.

2. Triploidisierung hemmt die Gonadenentwicklung von Salmoniden auf unterschiedliche Weise und zwar in Abhängigkeit von der Art und vom Alter. Männchen bilden immer Hoden aus und ein bestimmter Prozentsatz der Männchen produziert mit zunehmendem Alter auch befruchtungsfähigen Samen. Nicht-Männchen sind steril oder haben kleine Zwittergonaden. In seltenen Fällen können sie auch Ovarien ausbilden. Sterile Fische und Fische mit Zwittergonaden sind ein Vorteil für die Speisefischproduktion, da durch Verletzung und Verpilzung bedingte Verluste während der Laichzeit verhindert werden können und die Filetqualität das ganze Jahr über konstant bleibt.
3. Triploide Fische kommen mit Stresssituationen gleich gut zurecht wie diploide.
4. Die Filetqualität und Muskelzusammensetzung triploider Fische ist im Vergleich zu diploiden nicht nachteilig verändert.
5. Bei allen untersuchten Arten bringt die Triploidisierung auch Nachteile, da sich der Prozentsatz der missgebildeten Fische erhöht und das Immunsystem schwächer ist als bei diploiden Fischen. Diese beiden Faktoren haben aber keinen direkten Einfluss auf die Produktion, insbesondere nicht auf die Produktqualität und auf die Ausfallsraten.
6. Da triploide Männchen mit zunehmendem Alter befruchtungsfähigen Samen produzieren, können sich aus Aquakulturen entkommene triploide Fische in natürlichen Gewässern mit diploiden Artgenossen fortpflanzen. Dies ist unter ökologischen Gesichtspunkten zu beachten.
7. Triploidisierung ist bei Bachsaiblingen eindeutig ein wirtschaftlicher Vorteil: Das Wachstum ist gegenüber diploiden Fischen gesteigert, die Filetausbeute ist erhöht und die Entwicklung der Gonaden gehemmt. Die Verwendung von ausschließlich nicht männlichen Fischen (all female stocks) wäre ein zusätzlicher Faktor zur Ertragssteigerung.
8. Triploidisierung von Seeforellen steigert im Vergleich zu diploiden Fischen weder Wachstum noch Filetausbeute, hemmt aber die Gonadenentwicklung. Damit ist auch bei Seeforellen die Verwendung von triploiden Fischen zur Ertragssteigerung sinnvoll.
9. Triploidisierung von Seesaiblingen ist nachteilig. Es verkürzt die Lebensspanne der Fische und reduziert das Wachstum.

## LITERATUR


Benfey, T.J. (1999). The physiology and behavior of triploid fishes. *Reviews of Fisheries Science*, 7: 39–67.

Benfey, T.J. (2016). Effectiveness of triploidy as a management tool for reproductive containment of farmed fish: Atlantic salmon (*Salmo salar*) as a case study. *Reviews in Aquaculture*, 8: 264–282.

Dheilly, N.M., A., Jouaux, P., Boudry, P., Favrel, and C., Lelong (2014). Transcriptomic profiling of gametogenesis in triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas*: Towards an understanding of partial sterility associated with triploidy. *PLoS ONE*, 9(11): e112094.

Maxime, V. (2008). The physiology of triploid fish: current knowledge and comparisons with diploid fish. *Fish and Fisheries*, 9: 67–78.

Pala, L., Coelho, M.M., and M., Schartl. (2008). Dosage compensation by gene-copy silencing in a triploid hybrid fish. *Current Biology*, 18: 1344–1348.

Piferrer, F., Beaumont, A., Falguière, J.C., Flajšhan, M., Haffray, P., and L., Colombo (2009). Polyploid fish and shellfish: Production, biology and applications to aquaculture for performance improvement and genetic containment. *Aquaculture*, 293: 125–156.

Zeng L.Q., Zhang A.J., Killen S.S., Cao Z.D., Wang Y.X., and S.J., Fu (2017). Standard metabolic rate predicts growth trajectory of juvenile Chinese crucian carp (*Carassius auratus*) under changing food availability. *Biology Open*, 6: 1305–1309.

**Dieser Bericht ist eine Zusammenfassung folgender wissenschaftlicher Publikationen:**

(1) Lahnsteiner, F. and Kletzl. M. (2018). Pressure shock triploidization of *Salmo trutta f. lacustris* and *Salvelinus umbla* eggs and its impact on fish development. Theriogenology 115, 65 –76. https://doi: 10.1016/j.theriogenology.2018.04.020

(2) Lahnsteiner, F., Lahnsteiner, E., and Kletzl, M. (2019). Differences in metabolism of triploid and diploid *Salmo trutta f. lacustris* under acclimation conditions and after exposure to stress situations. Aquaculture Research 50, 2444 – 2459. https://doi.org/10.1111/are.14198

(3) Lahnsteiner, F., Lahnsteiner, E., and Kletzl, M. (2020). Age and species related differences in gonad development of triploid Salmonidae. Journal of Applied Aquaculture, vol 0, 1-24 (= early view). https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1760993

(4) Lahnsteiner, F. (2020). Differences in immune system and lymphoid organs between diploid and auto- and allotriploid Salmonidae. Tissue and Cell, 67:101445. doi: 10.1016/j.tice.2020.101445. .

**Punktgenau und zielgerichtet werben!**

Erreichen Sie mit Ihrer **Einschaltung** in **Österreichs Fischerei** punktgenau Ihre **Zielkunden!** Details finden Sie unter **www.oesterreichs-fischerei.at** im Bereich **»Media Daten«** inklusive der Anzeigenpreise.

**Anzeigenannahme:** Lukas Hundritsch, A-5310 Mondsee, Scharfling 18 | E-Mail: office@oesterreichs-fischerei.at
Telefon: Mittwoch 15 bis 18 Uhr, +43(0)680/12 85 001
**Annahmeschluss für Inserate Heft 2/3 2021:** 31. Jänner 2021

KLEINANZEIGE

Rund 18 ha geschlossene gut strukturierte (Schilfgürtel usw.) Teichfläche mit bester Infrastruktur, stadtnahe, direkt bei einem Hotel und Freizeitzentrum liegend (Bootssteg möglich) zwecks Sportfischerei zu verpachten. Bonität des Teiches ohne Zufütterung rund 500 kg/ha. Übergabe der Anlage: Mai 2021. Nähere Auskünfte: +43(0)664/42 80 265, Gutsverwaltung, Habsburg-Lothringen'sches Gut, Stadtplatz 3, 3950 Gmünd.

**KLEINANZEIGEN**

Als Service bieten wir Ihnen die Schaltung von Kleinanzeigen zu einem Sonderpreis von nur € 36,– inkl. Mehrwertsteuer im Inland pro Ausgabe an.

Um als Kleinanzeige zu gelten, darf diese nur aus Text mit maximal 500 Zeichen (inklusive Leerzeichen) bestehen.

# ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Österreichs Fischerei

Jahr/Year: 2021

Band/Volume: 74

Autor(en)/Author(s): Lahnsteiner Franz, Lahnsteiner Elias, Grubinger Franz

Artikel/Article: Fischereibiologie & Aquakultur. Triploidisierung von Bachsaibling, Seesaibling und Seeforelle. Abschlussbericht und Zusammenfassung der Forschungsarbeiten. 16-30