

Fachinformation

**aus dem Ausschuss für Ernährung der
Versuchstiere**

**Fütterungskonzepte und –methoden in der
Versuchstierhaltung und im Tierversuch
- FISCHE -**

Stand: März 2013

**Autorin:
Annette Schuhmacher**

Besonderheiten

Fische weisen im Vergleich zu terrestrischen Tieren einige Besonderheiten auf, die partiell auch Auswirkungen auf die Ernährung und Fütterung bzw. auf die Haltung haben. Nachfolgend sind einige Besonderheiten aufgeführt. Auf die einzelnen Punkte wird – sofern für die Versuchstierhaltung relevant – in den entsprechenden Kapiteln näher eingegangen:

- Aquatischer Lebensraum
- Poikilothermie
- Unendliches Wachstum
- Hoher Proteinbedarf
- NH_3/NH_4 als Endprodukte des Proteinkatabolismus
- $n3$ -Fettsäuren-Bedarf
- Vitamin-C-Bedarf
- Bedarf an Pigmenten?

Fische sind poikilotherme (wechselwarme) Tiere, d.h. die Körpertemperatur von Fischen entspricht weitgehend der Temperatur des umgebenden Mediums (Wasser); daraus resultiert ein deutlich niedrigerer Erhaltungsbedarf als bei homöothermen Tieren. Außerdem benötigen Fische als Folge der aquatischen Lebensweise auch zur Erhaltung ihrer Körperposition weniger Energie als terrestrische Tiere. Andererseits erfordert diese Lebensweise besondere Einrichtungen zur Osmoregulation, da Salzwasserfische gegenüber dem umgebenden Medium hypoosmol, Süßwasserfische hingegen hyperosmol sind.

Das Herz-/Kreislaufsystem von Fischen ist vergleichsweise einfach strukturiert mit einem nacheinander geschalteten arteriellen und venösen System. Das Herz besteht nur aus einer Kammer und führt venöses Blut den Kiemen zu. In den Kiemen bzw. den Kiemenblättchen wird Kohlendioxid abgegeben und der im Wasser gelöste Sauerstoff aufgenommen.

Die meist zweigeteilte Schwimmblase ermöglicht ein Schweben im Wasser. Die Niere liegt eng der Wirbelsäule an, wobei das kraniale Ende der Niere, die Kopfniere, hauptsächlich hormonelle und immunologische Funktionen besitzt.

Der Gastro-Intestinaltrakt der Fische ist hinsichtlich seiner Struktur und Funktion grundsätzlich mit dem höherer Vertebraten vergleichbar, auch wenn sich partiell erhebliche anatomische und zum Teil auch histologische Unterschiede zu den terrestrischen Tieren erkennen lassen. So kann beispielsweise im Darmepithel der Fische keine Zotten- und Kryptenregion unterschieden werden

¹⁾ In Abbildung 1 ist die topographische Anatomie eines Salmoniden schematisch wiedergegeben

²⁾ Differenzen zwischen den Fischspezies sind unter anderem in der Anpassung an verschiedene Verzehrsgewohnheiten begründet: herbivore und omnivore Fische (Friedfische) weisen im

allgemeinen einen langen gewundenen Darm auf, während der Verdauungskanal carnivorer Fische (Raubfische), z.B. der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), mehr oder weniger gestreckt in der Leibeshöhle verläuft; er ist damit vergleichsweise kurz und der

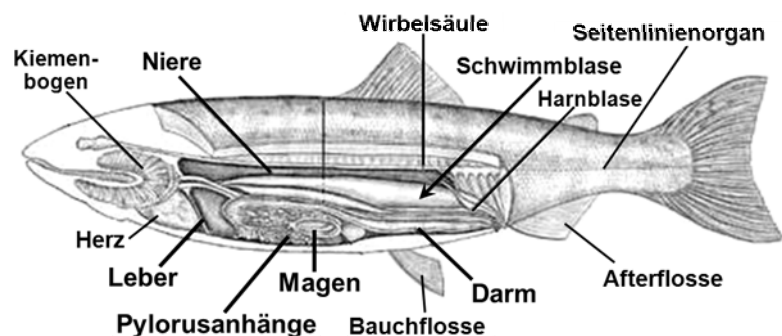


Abbildung 1: Topographische Anatomie eines Salmoniden ²⁾

Körperlänge proportional ^{3) 4) 5)}. Neben diesem Charakteristikum besitzen carnivore Fische einen Magen, der in ein kurzes Darmstück mündet, das zum Teil Ausbuchtungen, die so genannten Pylorusanhänge trägt (s. Abbildung 1), die der Vergrößerung der Oberfläche und damit der Verdauungs- bzw. Absorptionskapazität dienen ^{5) 6)}. Omnivore bzw. herbivore Fische weisen nur einen längeren Verdauungsschlauch meist mit einer magenähnlichen Erweiterung (Pseudogaster) auf. Auch Leber, Gallenblase und Pankreas – partiell als Hepatopankreas angelegt – sind vorhanden.

Fische, insbesondere carnivore Spezies, haben aufgrund des hohen basalen Proteinmetabolismus bzw. der erhöhten Abbaukapazität einen relativ hohen Proteinbedarf. Bei den meisten Spezies stellen Ammoniak (NH₃) bzw. Ammonium-Ion (NH₄⁺) die überwiegenden Endprodukte (ca. 80 - 90 %) des Proteinstoffwechsels dar; beide werden in erster Linie (>80 %) über die Kiemen mittels passiver Diffusion bzw. aktiven Ionenaustausch ausgeschieden. Ammoniak ist hochtoxisch und muss daher im Wasser bakteriell über Nitrit zu Nitrat oxidiert werden. Die bakterielle Umsetzung findet nur bei einer hohen Sauerstoffsättigung des Wassers statt.

Mannigfaltige Artunterschiede in der Erscheinungsform, Anordnung der inneren Organe und der Fortpflanzung sind bei den ca. 30.000 Fischarten möglich. Fische, die im Laufe der Evolution sehr warme und damit sauerstoffarme Gewässer besiedelt haben, entwickelten zum Teil zusätzlich Möglichkeiten zur Verwertung atmosphärischer Luft.

Fische als Versuchstiere

Als Versuchstiere finden zahlreiche Süßwasserfische, partiell aber auch Salzwasserfische, Verwendung. Dabei werden bis dato jedoch fast ausschließlich Echte Knochenfische (Teleostei) eingesetzt. Diese sind, von wenigen Ausnahmen abgesehen, permanente Wasserbewohner. Dementsprechend ist die Wasserqualität für sämtliche Körperfunktionen, die Tiergesundheit und damit auch für die Reproduzierbarkeit von Versuchsergebnissen von herausragender Bedeutung. Folgende Fischarten werden häufig in Versuchstierhaltungen angetroffen (s. auch [Roundtable discussion] ⁷⁾; [REACH] ⁸⁾):

• Regenbogenforelle	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Rainbow trout
• Zebraäbrbling	<i>Danio rerio</i>	Zebrafish
• Spiegelkarpfen	<i>Cyprinus carpio</i>	Common carp
• Guppy	<i>Poecilia reticulata</i>	Guppy (millionfish)
• Niltilapie	<i>Oreochromis niloticus</i>	Nile tilapia
• Japanischer Reiskarpfing	<i>Oryzias latipes</i>	Medaka (Japanese killifish)
• Fettköpfige Elritze (USA)	<i>Pimephales promelas</i>	Fathead minnow
• Edelsteinkarpfing	<i>Cyprinodon variegatus</i>	Sheepshead minnow
• Kabeljau	<i>Gadus morhua</i>	Atlantic cod
• Flunder	<i>Paralichthys spp./Platichthys</i>	Flounder
• Steinbutt	<i>Psetta maxima</i>	Turbot

In der Umwelttoxikologie und Evolutionsbiologie kommen vor allem Süßwasserfische zum Einsatz (s.o.). Bei den genannten Spezies handelt es sich vorwiegend um tagaktive Fische, die leicht gezüchtet werden können.

Forellen ernähren sich in ihrem natürlichen Lebensraum von sämtlichen für sie schluckbaren Lebewesen (carnivor, besser faunivor), während Karpfen, Zebraäbrblinge und Guppies zusätzlich noch pflanzliche Nahrung aufnehmen (omnivor).

Lebensphasen

Zucht

Bei den häufigsten für den Tierversuch gehaltenen Arten – Forelle, Karpfen, und Zebraäbrbling – werden die Eier erst nach der Ablage befruchtet und nicht betreut. Guppys gehören zu den lebend gebärenden Zahnkarpfen, d.h. sie sind ovovivipar. Bei allen Arten kann die Brut von den Eltern gefressen werden. Dementsprechend wird die Brut in separaten Behältern unter kontrollierten Bedingungen aufgezogen (Batch mit gleichem Alter und gleicher Größe). Dies ist auch aus hygienischen Aspekten und unterschiedlichen Ansprüchen an Umwelt und Futter erforderlich. Neben der Wasserqualität beeinflussen auch die Wassertemperatur und der Sauerstoffgehalt das Wachstum und das Fortpflanzungsverhalten der Fische. Eine Änderung der Wassertemperatur und der Fütterung kann das Fortpflanzungsverhalten vor allem bei Kaltwasserfischen direkt beeinflussen.

Haltung

Fische in Versuchstierhaltungen werden meistens in Aquarien aus Glas oder Kunststoff gehalten, wobei sich für größere Behälter auch Fiberglas oder Edelstahl eignen. Utensilien, die mit dem Wasser in Berührung kommen, z.B. Aquariendichtungen, müssen chemisch inert sein, d.h. Behältermaterialien bzw. Mineralstoffe dürfen nicht in Lösung gehen und umgekehrt im Wasser befindliche Substanzen nicht adsorbiert werden. Beides könnte sowohl die Gesundheit der Fische als auch die Versuchsergebnisse nachhaltig beeinflussen.

Die Vorzugstemperatur für Kaltwasserfische (z.B. Forellen) liegt bei etwa 12 - 18°C, für Warmwasserfische bei 20 - 28°C (z.B. Karpfen $\geq 20^\circ\text{C}$, Zebraäbrlinge 28°C), wobei ein rascher Temperaturwechsel generell nicht gut vertragen wird und daher bei allen Arten vermieden werden muss. Der optimale Sauerstoffgehalt wird bei Forellen als Kaltwasserfischen mit 8 - 11 mg O₂/L höher angesetzt als bei Karpfen (6 - 8 mg O₂/L). Mit abnehmender Wassertemperatur steigt die O₂-Sättigung. Obgleich die Auswirkung eines Sauerstoffmangels als besonders schädlich eingestuft werden muss, sollte auch eine langfristige Sauerstoff- bzw. Gesamtgasübersättigung, insbesondere bei Jungfischen bzw. Eiern, vermieden werden. Der pH-Wert des Wassers sollte bei allen Arten um 7 (6,0 - 8,5) liegen.

Bei den Haltungssystemen kann zwischen offenen Durchflussanlagen und halboffenen bis geschlossenen Kreislaufanlagen unterschieden werden. Die Systeme haben die Aufgabe, das Wasser zu filtern und das biologische Gleichgewicht im Becken aufrecht zu halten. Der Wasserzulauf bzw. die Strömungsgeschwindigkeit muss kontrolliert und der Fischart und Fischgröße angepasst werden. Das Wasser darf kein Chlor oder Kupfer (Leitungsrohre) enthalten. Bei Kreislaufanlagen sind eine mechanische Reinigung mit Absetzbecken bzw. Lamellenabscheider und Siebtrommelfilter sowie eine biologische Reinigung (Nitrifikation/Denitrifikation) in Biofiltern erforderlich; zusätzlich erfolgen eine Sauerstoffanreicherung und gegebenenfalls eine UV-Desinfektion des Wassers.

Grundsätzlich sollten neue Aquarien zuerst ohne Tiere über etwa 3 - 4 Wochen „eingefahren“ werden, damit sich das Wasser stabilisieren und ein Gleichgewicht einstellen kann. Der Zusatz einer Bakterienkultur kann diese Zeitspanne verkürzen. In belegten Becken sollte in regelmäßigen Abständen ein partieller Wasserwechsel durchgeführt werden. Dabei ist unbedingt darauf zu achten, dass das vorhandene Biotop erhalten bleibt (nie komplett leeren). In Abhängigkeit von der Leistung der Anlage kann als Faustzahl „Wasserwechsel alle 3 Wochen mit 1/3 frischem,

temperiertem Wasser“ gelten. Die Besatzdichte ist an den Raumbedarf der verwendeten Fischart anzupassen; sowohl eine zu geringe (Rangkämpfe) als auch zu hohe Besatzdichte können Stressreaktionen, vermehrte Aggressivität mit Kannibalismus, vermindertes Wachstum, erhöhte Krankheitsanfälligkeit und verminderte Fertilität zur Folge haben. Für die meisten Fischarten sind Versteckmöglichkeiten erforderlich. Diese müssen bei Versuchsfischen so konzipiert sein, dass eine ausreichende Beobachtung der Tiere gewährleistet wird und tote Fische sofort entfernt werden können; sie sollten außerdem keine Substanzen (z.B. Weichmacher) in das Wasser abgeben. Selbst Zebrafischarten, die ein geringes territoriales Verhalten zeigen, sollten insbesondere während der Paarung Versteckmöglichkeiten (z.B. pflanzenartige Materialien) geboten werden, um aggressives Verhalten zu reduzieren.^{9) 10) 11)} Die Bedeutung von Versteckmöglichkeiten konnte bei Karauschen (*Carassius carassius*) dargestellt werden. Stehen keine Versteckmaterialien zur Verfügung, wird durch olfaktorischen Stress eine höhere serotonerge Aktivität im Hirnstamm und im optischen Tectum ausgelöst; fehlende Versteckmöglichkeiten führen dabei offensichtlich auch ohne Stressoren zu erhöhter serotonerger Aktivität im Hirnstamm.¹²⁾ Eine ausführliche Diskussion über Für und Wider von Enrichment, insbesondere unter Berücksichtigung von Toxizitätsstudien, wurde von Williams et al. 2009 publiziert.¹³⁾

Durch artifizielles Licht (von oben einstrahlend) wird der Tag-/Nachtzyklus gewährleistet, wobei die Erhöhung bzw. Reduzierung der Lichtintensität langsam (dimmen) erfolgen sollte.

Ernährung

Bei Angaben zum Nährstoffbedarf muss zwischen *Minimalbedarf* und *Optimalbedarf* differenziert werden; davon abzugrenzen sind außerdem die Empfehlungen zur Nährstoffversorgung (=Versorgungsempfehlungen, „allowance“). Im Allgemeinen wird die Konzentration an Nährstoffen, Mineralstoffen, Spurenelementen und Vitaminen, die zur Vermeidung von Mangelsymptomen erforderlich ist, als Minimalbedarf bezeichnet. Der Bedarf für optimale Leistungsfähigkeit (Optimalbedarf), z.B. Ausschöpfen des Wachstums- bzw. Reproduktionspotentials, liegt zumeist deutlich über dem Minimalbedarf. Versorgungsempfehlungen berücksichtigen weitere Faktoren, u. a. eingeschränkte Nährstoffverfügbarkeit in praxisrelevanten Futtermitteln, Nährstoffverluste, die selbst bei korrekter technischer Bearbeitung und Lagerung auftreten können. Tabelle 1 dokumentiert diese Unterschiede nochmals am Beispiel Vitamin C.

Tabelle 1: Unterschiede zwischen Bedarfswerten und Versorgungsempfehlung am Beispiel der Ascorbinsäure für Salmoniden¹⁴⁾ (Angaben pro kg Futtertrockensubstanz)

I	Minimalbedarf	20 - 40 mg
II	Bedarf für normale Kollagenbildung und für optimales Wachstum	100 - 150 mg
III	Empfehlung für Intensivhaltung (bei ca. 40 - 70 % Verlust durch Pelletieren und Trocknung)	200 - 400 mg
IV	Empfehlung wie oben (III) und für Zusatzeffekte (Infektionsschutz, schnelle Wundheilung)	500 - 1000 mg

Angaben zum Nährstoffbedarf bzw. zu Versorgungsempfehlungen beschränken sich hier auf die für Versuchstierhaltungen wichtigsten Nährstoffe.

ENERGIEBEDARF

Beim Energiebedarf eines Lebewesens wird zwischen *Erhaltungs-* (Wärmeabgabe unter definierten Bedingungen) und *Leistungsbedarf* unterschieden. Im Vergleich zu Homöothermen weisen Fische (poikilotherm) einen deutlich niedrigeren Erhaltungsbedarf auf, da die Körpertemperatur von Fischen weitgehend der Temperatur des Wassers entspricht und Fische außerdem zur Erhaltung ihrer Körperposition weniger Energie aufwenden müssen als landlebende Tiere. Bei Salmoniden erreicht der Erhaltungsbedarf nur 5 - 10 % des Niveaus von Säugetieren, wobei der Effekt der Temperatur in niedrigen Temperaturbereichen besonders ausgeprägt ist und nahezu der RGT-Regel (Reaktionsgeschwindigkeit-Temperatur-Regel) folgt^{15) 16) 17)}. Dementsprechend muss für die Berechnung des Erhaltungsbedarfs (Nettoenergie) über Schätzgleichungen nicht nur die Lebendmasse, sondern auch die Temperatur berücksichtigt werden. Für Forellen lässt sich der Nettoerhaltungsbedarf nach folgender Formel berechnen¹⁸⁾:

$$\text{Erhaltungsbedarf [J} \cdot \text{Fisch}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}] = 22,1 \cdot e^{1,034 T} \cdot \text{g LM}^{0,833}$$

LM = Lebendmasse [g]; T = Wassertemperatur [°C]; e = Euler'sche Zahl (~2,71828)

Die resultierenden Zahlenwerte für den Nettoerhaltungsbedarf werden durch eine ähnliche Schätzgleichung von einer kanadischen Arbeitsgruppe bestätigt^{17) 19)}. Da Fische durch unendliches Wachstum charakterisiert sind, wird Energie grundsätzlich zur Deckung des Erhaltungs- und Leistungsbedarfs zugeführt. Angaben zur Deckung des Gesamtenergiebedarfs sind allerdings nur unzulänglich möglich, da der Energiebedarf von vielen abiotischen (s.o.) und biotischen Faktoren sowie von der angestrebten Leistung abhängt. Bei carnivoren Fischarten dienen in erster Linie Fett und Protein als Energiequelle, da komplexe, unbearbeitete Kohlenhydrate nur unzureichend verwertet werden können und daher zu einer Einschränkung des Wachstums und zur Verschlechterung der Wasserqualität führen würden (s.u.). Bei omnivoren und insbesondere bei herbivoren Spezies tragen dagegen komplexe Kohlenhydrate maßgeblich zur Energieversorgung bei.

NÄHRSTOFFBEDARF

Die Naturnahrung von Fischen zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an *Rohprotein* (ca. 60 % XP) aus; Gleiches gilt auch für praxisübliche Fischrationen (40 - 55 % XP). Allerdings wird nicht das gesamte Nahrungsprotein zum Proteinansatz genutzt; ein Teil wird der energetischen Verwertung, d.h. der Energiegewinnung und damit der Fettsynthese zugeführt. Wahrscheinlich aufgrund des hohen Proteinangebots in der Naturnahrung, das eine geringere Adaptationsfähigkeit der Enzyme des Protein- bzw. Aminosäurenkatabolismus' erfordert, wandeln Fische (ähnlich wie die Katze) im Vergleich zu den meisten anderen Tierarten einen deutlich höheren Anteil des Nahrungsproteins in Energie um. Daraus resultiert dementsprechend auch ein höherer Proteinbedarf. Allerdings sollte die Proteinversorgung (Aminosäurenversorgung) - insbesondere unter dem Aspekt der Wasserqualität und deren unmittelbare Auswirkung auf die Tiergesundheit - dem Bedarf bzw. der Energiedichte des Futtermittels angepasst sein. Dabei sollte beachtet werden, dass der Proteinbedarf - wie bei terrestrischen Tieren - mit zunehmenden Alter bzw. Lebendmasse sinkt. Das NRC empfiehlt daher in Abhängigkeit von der Fischart und der Fischgröße Protein/Energie-Verhältnisse zwischen rund 19 und 28 g verdauliches Protein pro MJ verdauliche Energie (g DP/MJ DE; ²⁰⁾). Als Proteinquellen werden, insbesondere bei carnivoren Fischen, vor allem Fischmehle guter Qualität eingesetzt. Daneben finden auch hochwertige pflanzliche Proteine (z.B. Sojaproteinkonzentrat) vor allem in der Ernährung omnivorer Fische Verwendung.

Grundsätzlich besteht kein echter Bedarf an *Kohlenhydraten*. In der Ernährung carnivorer Spezies spielen (komplexe) Kohlenhydrate eine eher untergeordnete Rolle, werden jedoch u. a. aus technologischen Gründen auch bei diesen Fischen meist als thermisch aufbereitete Stärke (z.B. Extrusion) eingesetzt. Dabei sollte jedoch beachtet werden, dass mit steigendem Gehalt im Futter die Stärkeverdaulichkeit sinkt⁶⁾ und damit der Eutrophierung des Wassers Vorschub geleistet wird. Bei omnivoren (und v. a. herbivoren) Fischen, insbesondere bei Karpfenartigen, können Kohlenhydrate hingegen einen maßgeblichen Beitrag zur Energieversorgung leisten. *Rohfaser* kann für die Energieversorgung kaum genutzt werden; gleichwohl hat Rohfaser eine gewisse Bedeutung für die Chymuspassage und die Exkretion (z.B. von Gallensäuren und Toxinen). Eine ähnliche Funktion wie die Rohfaser übernimmt auch Chitin aus Lebendfutter.

Der Zusatz von *Fett* dient neben der Deckung des Energiebedarfs und Verbesserung der Proteinverwertung („Proteinspareffekt“) vor allem der Versorgung mit essentiellen Fettsäuren.

Tabelle 2 informiert über die Empfehlungen zur Nährstoffversorgung bzw. zu den Nährstoffkonzentrationen im Futter verschiedener Fischarten.

Tabelle 2: Empfehlungen zum Nährstoffgehalt (% in der Originalsubstanz)

	Rohprotein	Rohfett	Rohfaser	Kohlenhydrate
Lachsartige	35 – 50	14 – 15	0,5 – 1	max. 35
Karpfenartige	25 – 38	6 – 10	1,0 – 2	max. 65
Zebrabärbling	46 – 49	8 – 12	1,5 – 3	max. 35

Essentielle Fettsäuren können vom Organismus weder de novo noch über Kettenverlängerung oder Einführung von Doppelbindungen synthetisiert werden; sie müssen daher mit dem Futter zugeführt werden. Bei den essentiellen Fettsäuren handelt es sich um mehrfach ungesättigte Fettsäuren mit mindestens 18 Kohlenstoffatomen und zwei oder mehr Doppelbindungen. Fischfett ist reich an Polyenfettsäuren der n3-Serie (z.B. Eicosapentaensäure, C20:5; Docosahexaensäure, C22:6). Während für Salmoniden offensichtlich nur die n3-Fettsäuren essentiell sind, weisen Karpfenartige zusätzlich einen Bedarf an n6-Fettsäuren (z.B. Linolsäure, C18:2 n6) auf. Generell darf für Kaltwasserfische ein höherer Bedarf an essentiellen Fettsäuren als für Warmwasserfische unterstellt werden. Dennoch sollte immer ein Gleichgewicht zwischen n3-, n6- und n9-Fettsäuren im Futter vorhanden sein. In Tabelle 3 sind beispielhaft die Versorgungsempfehlungen an essentiellen Fettsäuren für drei Fischarten wiedergegeben.

Aus dem Bedarf an essentiellen Fettsäuren lässt sich ableiten, dass vor allem Fischöl, aber auch Kleinstkrebse (Krill) zur Bedarfsdeckung geeignet sind. Bei omnivoren Spezies können auch größere Mengen an pflanzlichen Ölen eingesetzt werden. Fette mit einem hohen Schmelzpunkt können aufgrund der geringeren Verdaubarkeit und des niedrigen (fehlenden) Gehalts an essentiellen Fettsäuren dagegen nicht für die Fischfütterung empfohlen werden.

Darüber hinaus sollte beachtet werden, dass mit steigendem Gehalt an ungesättigtem Fett der Bedarf an Vitamin E (und Antioxidantien im Futter) steigt; im Allgemeinen wird ein *zusätzlicher* Gehalt von 25 IE Vitamin E pro 10 % Fischöl bzw. PUFA veranschlagt.

Tabelle 3: Versorgung mit essentiellen Fettsäuren; nach ²⁰⁾

Fettsäuretyp	% der Nahrung (Originalsubstanz)		% im Nahrungsfett (6 %)	
	n3	n6	n3	n6
Forelle	1	—	10 – 20 ^{a)}	—
Karpfen	0,5 – 1 ^{a)}	1	bis15	15
Steinbutt	0,8 ^{b)}	—		

^{a)} höherer Wert bei alleiniger Deckung über Linolensäure

^{b)} nur über n3-PUFA

Im Gegensatz zu terrestrischen Tieren können Fische einen Großteil ihres Bedarfs an *Mineralstoffen* und *Spurenelementen* durch direkte Absorption über Kiemen und Haut aus dem Wasser decken. Dies trifft vor allem auf die Kationen Calcium, Natrium, Magnesium, Kalium, Eisen, Kupfer, Zink und Selen zu, während die anionischen Phosphate und Sulfate besser aus dem Futter über den Verdauungstrakt aufgenommen werden ²¹⁾. Die Absorption der Mineralstoffe aus dem umgebenden Medium erschwert die Bedarfsbestimmung; daher liegen nur wenige Angaben über den quantitativen Bedarf vor. Der Phosphor-Bedarf (ca. 6 bis 7 g P/kg Futter) wird durch herkömmliche Futtermittel gut gedeckt, da diese durch das enthaltene Fischmehl meist sehr P-reich sind.

Auch der Bedarf an *Vitaminen* sinkt mit der Lebendmasse bzw. mit dem Alter der Fische; umgekehrt führen Temperaturerhöhung und Stress zu einem erhöhten Bedarf (s. Ascorbinsäure). In handelsüblichen Alleinfuttermitteln erfolgt die Ergänzung mit den Vitaminen auf Basis der Versorgungsempfehlungen, wobei ein ausreichender Sicherheitszuschlag z.B. für Lagerverluste, potentielle Auswaschung („leaching“) enthalten ist. Da insbesondere wasserlösliche Vitamine kurz nach der Futtergabe in Lösung gehen, ist eine rasche Futteraufnahme, die auch hier durch restriktive Fütterung erreicht werden kann, vorteilhaft.

FÜTTERUNGSTECHNIK UND FÜTTERUNGSINTENSITÄT

Grundsätzlich sollten Fische, die als Versuchstiere gehalten werden, restriktiv gefüttert werden, um eine nahezu vollständige Aufnahme der Futterpartikel zu gewährleisten und um einer Belastung des Wassers mit Schwebstoffen und Ausscheidungsprodukten entgegen zu wirken. Für toxikologische bzw. ökotoxikologische Studien wird eine Fütterungsintensität von 1 - 2 % der Lebendmasse empfohlen, sodass die Tiere „normales“ Wachstum bei konstanten Fettkonzentrationen im Tierkörper zeigen ⁸⁾. Diese Fütterungsintensität kann bei frisch geschlüpften Larven bzw. Jungfischen aber deutlich höher (speziesabhängig bis 30 %) liegen.

Bei Forellen und Karpfen liegt der Futteraufwand bei 0,8 - 1,4 g/g Zuwachs. Durch Temperaturerhöhung werden Futterverzehr und Wachstum überproportional gesteigert, durch Temperaturabsenkung entsprechend reduziert. Auch das Fortpflanzungsverhalten der Fische kann mit der Fütterung und der Temperatur direkt beeinflusst werden.

Das Futter sollte behutsam auf die Wasseroberfläche gestreut oder mittels Fütterungsapparaten verabreicht werden. Dabei sollte nur restriktiv gefüttert werden, da nicht gefressenes Futter das Wasser verschmutzt und eine Belastung der Tiere darstellt; bei fast allen adulten Fischspezies sollte deshalb ein Tag Nahrungskarenz eingehalten werden. In Tabelle 4 sind die Fütterungsfrequenz und angemessene Pelletgröße für Forellen zusammengefasst.

Forellen benötigen schwimmfähige bzw. langsam sinkende Futtermittel, da sie Futter fast ausschließlich während des Absinkens und nicht vom Boden aufnehmen (können); während andere Fischarten, z.B. Karpfen, das Futter bevorzugt vom Boden aufnehmen.

Tabelle 4: Forellenfütterung

	<i>Fischlänge</i>	Mahlzeit	Granulatgröße	Rohprotein
Brut	2 - 5 cm	8 - 12 x täglich	0,4 - 0,8 mm	50 %
	5 - 12 cm	4 x täglich	1,0 - 1,5 mm	48 %
Setzlinge	6 -13 cm	3 x täglich	1,2 - 2,5 mm	44 %
	> 13 cm	2 x täglich	3,5 mm	40 %
Zuchtfische		1 x täglich	8,0 mm	35 %

Für die meisten Fischarten sind Trockenalleinfuttermittel, welche an die speziesspezifischen Anforderungen angepasst wurden, kommerziell erhältlich. Obschon diese Futtermittel eine annähernd standardisierte Fütterung erlauben, muss gleichwohl darauf hingewiesen werden, dass eine Standardisierung und Überprüfung der Futtermittel wie in GLP-Studien mit Nagetieren nicht gegeben ist. Bei Zebraäbrlingen, die in Kreislaufanlagen gehalten wurden und kommerzielles Futter erhielten, wurde eine deutlich erhöhte Inzidenz von Neoplasien aufgefunden, die mit der Fütterung und Haltung in ursächlichen Zusammenhang gebracht wurden²²⁾. Daher fordern einige Forscher die Einführung semi-gereinigter Diäten oder zumindest von Futtermischungen, die auf den Versuchstierbereich und toxikologische Studien, z.B. hinsichtlich einer niedrigeren Energiedichte, Kontaminanten etc., abgestimmt sind (s. Reviews:^{22) 23) 24)}).

Grundsätzlich sollten nur qualitativ hochwertige Futtermittel (Extrudat, Flocken, Tabletten, Sticks oder schwimmfähige Pellets) aus dem Zoofachhandel verwendet werden. Im Hinblick auf die Tiergesundheit und Wasserqualität sollte die Futtermenge und Futterzusammensetzung auf den aktuellen Bedarf ausgerichtet sein. Dabei sollte berücksichtigt werden, dass handelsübliche Trockenalleinfuttermittel häufig sehr energie- und nährstoffreich sind.

Die Fütterung bzw. Zufütterung von „natürlichen“ Substraten wie Zooplankton ist – zumindest in versuchsfreien Perioden – möglich. Gleichwohl muss darauf hingewiesen werden, dass dieses Fütterungsregime zu maßgeblichen Schwankungen in der Nährstoffversorgung führen kann und dementsprechend eine Standardisierung der Fütterung nicht möglich ist; auf Schlachtabfälle, z.B. Rinderherz oder -milz, sollte möglichst verzichtet werden.

Der Einsatz von Lebend- bzw. Frischfutter birgt unter anderem die Gefahr Krankheitserreger einzuschleppen; weitere Nachteile von Lebendfutter sind

- unausgeglichene Nährstoffkonzentrationen, z.B. weist „verhungertes“ Lebendfutter (ohne Nahrung bevorratete Organismen) einen deutlich verminderten Futterwert auf,
- Thiaminasen (z. B. Garnelen, kleine Fische)
- hoher Arbeitsaufwand

Zooplankton ist für die Anfütterung von Brut der meisten Fischarten ernährungsphysiologisch bzw. von Seiten der Futterpräferenz und des Nahrungsspektrums herkömmlichen Alleinfuttermitteln meist deutlich überlegen. Auch die Aufzucht von Zebraäbrlingen in Versuchstierhaltungen erfolgt partiell auf Basis von Lebendfutter unterschiedlicher Größe und

GV-SOLAS, Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere, Fütterungskonzepte FISCHE

Herkunft. Die folgenden Lebendfutterarten/-gruppen, inklusive deren Eier und/oder Larven, sind für die Fütterung von Brut bzw. für die Aufzucht geeignet und werden häufig verwendet (s. u.a. ²⁵):

Rädertierchen	<i>Brachionus plicatilis</i>	ca. 0,15 - 0,40 mm
Salzkrebschen	<i>Artemia</i>	
Salinenkrebs	<i>Artemia salina</i>	ca. 10 mm
Dekapsulierte Eier		ca. 0,2 - 0,3 mm
Nauplien		ca. 0,5 mm
Bachröhrenwurm	<i>Tubifex tubifex</i>	ca. 25 - 80 mm
„Wasserflöhe“	<i>Daphnia</i>	1 - 5 mm

Falls Lebendfutter verwendet wird, sollte es aus Zuchten stammen bzw. selbst gezüchtet werden, um eine Schadstoffbelastung auszuschließen, da selbst die „Reinigung“ von Lebendfutter (über mehrere Tage wässern), die angereicherten Schadstoffe nicht zu beseitigen vermag. Lebendfutter für Faunivoren wie kleine Fische, Bachröhrenwürmer, Krebstiere (z.B. Garnelen, Bachflohkrebs, Wasserasseln etc.) sollten aus hygienischen Gründen möglichst tiefgefroren (Frostfutter) bevorratet und immer frisch aufgetaut verfüttert werden.

Im Gegensatz zu den Nutzfischen (Forellen, Karpfen) sind die artspezifischen Ansprüche der „Exoten“, z.B. Zebraäbrbling, nicht im Detail bekannt und handelsübliche Alleinfuttermittel möglicherweise nährstoff- und energiereicher als erforderlich. In Tabelle 5 ist beispielhaft die Aufzucht und Fütterung von Zebraäbrblingen in einer Versuchstierhaltung wiedergegeben.

Tabelle 5: Fütterung von Zebraäbrblingen

Alter	Mahlzeit	Futterart
Ab 4. Lebenstag	3 x täglich	Paramecium ^{a)} +/- feines Staubfutter
Ab 10. Lebenstag	3 x täglich 1 x täglich	Feines Staubfutter plus zusätzlich Artemien (24 h alt)
Ab 4 Wochen	2-3 x täglich	Gröberes Staubfutter plus lebende Artemien
Ab 2 Monaten	Zufütterung von	Frostfutter ^{b)} und Flocken plus lebende Artemien
Ab 3 Monaten	ausschließlich	Frostfutter ^{b)} und Flocken
Adulte	4 x wöchentlich 2 x wöchentlich	Frostfutter ^{b)} handelsübliches Trockenfutter

^{a)} Pantoffeltierchen

^{b)} Artemien, Daphnien, Japanischer Wasserfloh (*Moina macrocopa*)

TIERE IM VERSUCH

Die für ein Experiment vorgesehenen Fische sollten aus einer Brut stammen (gleiches Alter und etwa gleiche Länge). Das Umsetzen in neue Becken bedeutet immer eine große körperliche Belastung; daher müssen die Tiere vor Versuchsbeginn über mindestens 10 - 14 Tage unter standardisierten Umweltbedingungen und standardisierter Fütterung gehältert werden.

Fische müssen in guter gesundheitlicher Verfassung sein und dürfen keine offensichtlichen Missbildungen aufweisen. Besonders bei weichem Wasser können sich toxische Mengen an Schwermetallen lösen (z.B. Kupfer aus Leitungsrohren, Blei aus Ausströmern). Bei der Auswahl der Fischart sollten die bestehenden internationalen Richtlinien (z.B. OECD Guidelines ²⁶⁾) berücksichtigt werden. Die Fische sollten - wie alle Versuchstiere - aus bekannten (tiermedizinisch überwachten) Beständen stammen.

In Abhängigkeit von der Fragestellung beträgt die Nahrungskarenz vor Versuchsbeginn mindestens 24 Stunden, in der Ökotoxikologie können 96 Stunden erforderlich werden; dies stellt kein Problem für adulte Fische dar. Die Fische werden nach den ersten 2-4 Stunden und mindestens einmal pro Tag beobachtet. Neben Mortalität sind sichtbare Veränderungen wie Gewichtsverlust, Änderungen im Schwimmverhalten, der Atmung und der Pigmentierung etc. festzuhalten. Bei der Versuchsplanung müssen Fischart und besonders auch das Alter berücksichtigt werden. Jungfische vertragen keine langen Fastenzeiten.

ERNÄHRUNGSBEDINGTE ERKRANKUNGEN UND STÖRUNGEN

(mehrheitlich aus ¹⁴⁾ und ²⁰⁾)

Die häufigsten und ersten Anzeichen ernährungsbedingter Erkrankungen sind verminderte Futteraufnahme verbunden mit Wachstumsdepression sowie erhöhte Mortalität und Anämie.

Überversorgung

- **Adipositas bzw. Fettleber:** Zu hohe Energieaufnahme, zu kohlenhydratreiche Nahrung.
- **Kiemenschädigung:** Anreicherung von H_2S , NH_3 , NH_4 (pH-Extrem-Werte).
- **Vergiftungserscheinungen bis hin zum Massensterben:** Sauerstoffverarmung hervorgerufen durch faulendes Futter. In der Regel zeigen sich jedoch nur unspezifische Symptome, wie verblasste Farben, partielle Dunkelfärbung, Apathie, mangelhafte Fertilität und verändertes Schwimmverhalten.
- **Viszeralgranulome:** Ätiologie unbekannt, aber Futter abhängig.

Unterversorgung

- **Schilddrüsentumor:** durch Jodmangel, besonders bei Forellen im Voralpenbereich
- **Anämie:** Mangel an essentiellen Nährstoffen (Vitaminen, Spurenelementen, Aminosäuren), Folge anderer ernährungsbedingter Krankheiten
- **Fettsäuren:** Wachstumsdepression, erhöhte Mortalität. Forelle: Leberverfettung, akute lokale Myokarditis, Flossenerosion, spezifische Stressreaktionen (nach dem Handling + Sonnenlichteinwirkung) mit heftigen Schwimmbewegungen und komatösen Zuständen.
- **Vitaminmangelerscheinungen (Auszug)**
 - **Vitamin A:** Ascites, Verlagerung der Augenlinse, Exophthalmus, Retinadegeneration, Depigmentierung.
 - **Vitamin D:** Forelle Nierensklerose

GV-SOLAS, Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere, Fütterungskonzepte FISCHE

- **Vitamin E:** Anämie, Leberverfettung, Ascites, erhöhte Mortalität, im Auge; exsudative Diathese, muskuläre Dystrophie, Peroxidation des Fettgewebes, gelbbraune Pigmentablagerung
- **Vitamin C:** u.a. Skoliose und Lordose, Lethargie, Anämie, Ascites, intramuskuläre Hämorrhagien, Forelle: Deformation der Kiemendeckel und Kiemenknorpel, verzögerte Wundheilung
- **Vitamin K:** Anämie (nach Behandlung mit Sulfonamiden, Störung der Darmflora), Hämorrhagien, reduzierter Hämatokrit
- **Vitamin B₁:** Gleichgewichtsstörung, Exzitation, veränderte Luftblase, Konvulsionen, Zuckungen, Neuritis, Paralysen
- **Vitamin B₂:** Katarakt (irreversibel), Blindheit, Hämorrhagien (Auge), Nekrosen an Kiemen, Kiemendeckel und Flossenrändern, dunkle Hautfärbung, unkoordinierte Bewegungen
- **Vitamin B₆:** Nervale Störung - epileptiforme Konvulsionen, Überreizbarkeit, Empfindlichkeit gegen Behandlung, Schwimmen in Spiralen, beschleunigte Atmung und "Luftschnappen", plötzliche Todesfälle
- **Pantothensäure:** Ataxie, Proliferation und Verklebung der Kiemen, abnorme bzw. schwerfällige Schwimmbewegungen
- **Folsäure:** Anämie, makrozytäre normochrome Anämie, blasse Kiemen, Verlust der Schwanzflosse
- **Biotin:** Degeneration der Kiemenlamellen, Hautläsionen, "blue slim patch" (= kleine blaue Flecken bei der Forelle)

Abkürzungsverzeichnis

DE	=	digestible energy = verdauliche Energie
DP	=	digestible protein = verdauliches Protein
MJ	=	Megajoule
PUFA	=	Polyunsaturated fatty acids (Polyenfettsäuren)
RGT-Regel	=	Reaktionsgeschwindigkeit-Temperatur-Regel
XP	=	Rohprotein

Literatur

- ¹⁾ Ferraris RP, Ahearn GA. 1984. Sugar and amino acid transport in fish intestine. *Comp Biochem Physiol.* 77A, 397-413.
- ²⁾ <http://alaskasmokedsalmon.info/>
- ³⁾ Ezeasor DN. 1978. The gut of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*): A gross histological and ultrastructural study with some aspects of functional significance. Ph. D. thesis, University of Edinburgh.
- ⁴⁾ Ash R. 1980. Hydrolytic capacity of the trout (*Salmo gairdneri*) intestinal mucosa with respect to three specific dipeptides. *Comp Biochem Physiol.* 65B:173-6.
- ⁵⁾ Buddington RK, Chen JW, Diamond J. 1987. Genetic and phenotypic adaptation of intestinal nutrient transport to diet in fish. *J Physiol.* 393:261-81.
- ⁶⁾ Nose T. 1989. Protein and amino acid nutrition in fish, pp 23-50. In: Schriftenreihe aus dem Institut für Nutztierwissenschaften, Gruppe Ernährung. ETH-Zürich. Heft 2, Tagungsbericht.
- ⁷⁾ Carvan III MJ, Gallagher EP, Goksoyr A, Hahn ME, Larsson DGJ. 2007. Roundtable discussion. Fish models in toxicology. *Zebrafish.* 4(1):9-20.

GV-SOLAS, Ausschuss für Ernährung der Versuchstiere, Fütterungskonzepte FISCHE

- 8) Council Regulation (EC) No 440/2008. Official Journal of the European Union L 142:739 p.
- 9) Matthews M, Trevarrow B, Matthews J. 2002. A virtual tour of the guide for zebrafish care and users. *Lab Animal*. 31(3):34-40.
- 10) Basquill SP, Grant JWA, 1998. An increase in habitat complexity reduces aggression and monopolization of food by zebra fish (*Danio rerio*). *Can J Zool*. 76:770-772.
- 11) Oldfield RG. Aggression and welfare in a common aquarium fish, the Midas cichlid. *J Appl Anim Welf Sci*. 2011;14(4):340-60.
- 12) Höglund E, Weltzien FA, Schjolden J, Winberg S, Ursin H, Døving KB. Avoidance behavior and brain monoamines in fish. *Brain Res*. 2005;1032(1-2):104-10.
- 13) Williams TD, Readman GD, Owen SF. Key issues concerning environmental enrichment for laboratory-held fish species. *Lab Anim*. 2009;43(2):107-20.
- 14) Schuhmacher A, Gropp JM. 1999. Ernährung und Fütterung, pp 96-158. In: M. Bohl (ed.), *Zucht und Produktion von Süßwasserfischen*, 1999. 2. vollkommen neu überarbeitete Auflage, DLG-Verlag, München, 719pp.
- 15) Cho CY, Slinger SJ. 1979. Effect of water temperature on energy utilization in rainbow trout. pp. 287-291. In: Mont SE (ed.), *Proc 8th Symposium on Energy Metabolism in Farm Animals*. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press.
- 16) Cho CY, Slinger SJ, Bayley HS. 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: Energy intake, expenditure and productivity. *Comp Biochem Physiol*. 73B:25-41.
- 17) Cho CY, Bureau DP. 1995. Determination of the energy requirements of fish with particular reference to salmonids. *J Appl Ichthyol*. 11(3-4):141-163.
- 18) Beck F, Gropp J. 1995. Estimation of the starvation losses of nitrogen and energy with special regard to protein and energy maintenance requirements. *J Appl Ichthyol*. 11(3-4):263-275.
- 19) Cho CY. 1994. Methods for determination of the energy requirements in fish. In: Gropp JM & Tacon AGJ (eds.), *Report of the EIFAC Workshop on Methodology for Determination of Nutrient requirements in Fish*, Eichenau, Germany 29 June – 1 July 1993. EIFAC Occasional Paper No. 29 Rome, FAO. 92 p.
- 20) NRC, National Research Council. 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. Nat. Acad. Press, Washington, D.C. NRC, 114pp.
- 21) Lall SP. 1989. The minerals, pp210-257. In: Halver E. (ed.), *Fish Nutrition 2nd edition*. Academic Press, New York.
- 22) Spitsbergen JM, Kent ML. 2003. The state of the art of the zebrafish model for toxicology and toxicologic pathology research -advantages and current limitations. *Toxicol Pathol*. 31(Suppl):62-87.
- 23) Gerhard GS, Cheng KC. 2002. A call to fins! Zebrafish as a gerontological model. *Aging Cell*. 1(2):104-11.
- 24) Hill AJ, Teraoka H, Heideman W, Peterson RE. 2005. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. *Toxicol Sci*. 86(1):6-19.
- 25) Verreth J, Hogendoorn H, Huisman EA. 1999. Fortpflanzung und Brutaufzucht, pp 159-215. In: M. Bohl (ed.), *Zucht und Produktion von Süßwasserfischen*. 2. vollkommen neu überarbeitete Auflage, DLG-Verlag, München, 719pp.
- 26) OECD Test Guideline 203. 1992