

Endbericht

Zuwendungsempfänger:

Prof. Dr. Gabriele Hörstgen-Schwark
Arbeitsgruppe Aquakultur und Gewässerökologie
Institut für Tierzucht und Haustiergenetik
Albrecht-Thaer-Weg 3
D-37075 Göttingen

Forschungsauftrag Nr.:

Aktenzeichen 514-33.22/03HS037

Thema:

"Evaluierung von Möglichkeiten der Erhöhung des Rogeneranteils bei der Regenbogenforelle durch optimierte Temperaturbehandlungen und Selektion auf Sensibilität der Geschlechtsausprägung gegenüber Temperaturbehandlungen"

Laufzeit:

01.01.2004 - 31.01.2007

Berichtszeitraum:

01.01.2004 - 31.03.2008

Zusammenarbeit mit anderen Stellen:

entfällt

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Mit der Geschlechtsreife geht bei Salmoniden, zu denen auch die Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) gehört, eine verschlechterte Futtermittelverwertung einher, eine Verminderung der Fleischqualität und eine erhöhte Empfänglichkeit für bakterielle und durch Pilze bedingte Infektionen. Bei der Ausmast auf hohe Körpergewichte bei Forellen und Lachsen sind daher weibliche Fische gefragt, da diese in der Regel ein Jahr später geschlechtsreif werden als männliche Fische.

Die Erzeugung von Lachsforellen, wie die schweren Regenbogenforellen mit Stückgewichten über 1,2 kg genannt werden, stieg von 1990 bis 2006 um 93 % (zum Vergleich Portionsforellen um ca. 16 % im gleichen Zeitraum), und es wird eine weiter steigende Erzeugung prognostiziert (FEAP, Federation of European Aquaculture Producers, Internet 2007). In den Jahresberichten über die Deutsche Fischwirtschaft wird auf den zunehmenden Anteil rein weiblicher Bestände in der Speiseforellenzucht, mit denen Speiseforellen bereits innerhalb von 12 Monaten auf ein Gewicht von 350 g gemästet werden können (Quellwasserbetriebe in Baden-Württemberg), und die große Beliebtheit, der sich Lachsforellen erfreuen, hingewiesen (BMELF 1999, 2006).

Bei den weltweit in der Aquakultur eingesetzten Arten wie Karpfen, Lachse, Forellen und Tilapien kann das physiologische Geschlecht durch den Einsatz von Hormonen verändert werden. Um eingeschlechtliche weibliche Populationen von Forellen und Lachsen zu erzeugen, wird in Praxisbetrieben in Europa (aber nicht in Deutschland) und Nordamerika bisher vornehmlich der Ansatz verfolgt, dass Laichfische eingesetzt werden, deren physiologisches Geschlecht durch Hormonbehandlungen verändert wurde. Diese Hormonbehandlungen werden im Allgemeinen während der Brüttingsphase über die Fütterung durchgeführt. In Deutschland ist allerdings der Einsatz von Hormonen in der Fischfütterung nicht erlaubt. Durch die Hormonfütterung wird eine "Umkehrung" des Geschlechts von genetisch weiblichen Tieren in funktionell männliche Tiere erreicht. Die funktionell männlichen Fische werden dann mit unbehandelten weiblichen Fischen angepaart. Die Nachkommenschaften derartiger Anpaarungen bestehen nur aus weiblichen Fischen, die als Eier oder Setzlinge in den Handel kommen.

Das Ziel dieses Projektes war es, Temperaturbehandlungen während der Brüttingsphase als eine Alternative zur Hormonbehandlung für die Erzeugung von rein weiblichen Forellenbeständen für die Ausmast auf hohe Stückgewichte (< 1,2 kg) weiterzuentwickeln. Ein solches Verfahren könnte in Deutschland umgesetzt werden und würde neben wirtschaftlichen Aspekten den hohen Qualitätsansprüchen, die der Verbraucher an deutsche Fischprodukte stellt, entsprechen.

In einem von der BLE geförderten Kurzprojekt (01HS073) konnte von der AG Aquakultur und Gewässerökologie gezeigt werden, dass auch bei der Regenbogenforelle die Haltungstemperatur einen Einfluss auf die Geschlechtsausprägung haben kann. Unterschiede in Geschlechterverhältnissen nach Temperaturbehandlung zwischen Herkünften und zwischen Familien innerhalb Herkünften gaben erste Hinweise auf einen genetischen Hintergrund der temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung.

Die Aufgabe im vorliegenden Projekt bestand darin, Folgeversuche zur Überprüfung der Wiederholbarkeit der im vorangegangenen Kurzprojekt erzielten Ergebnisse unter Einbeziehung zusätzlicher Herkünfte durchzuführen und eine weitere Optimierung der eingesetzten Temperaturbehandlungen zu erreichen. Aufbauend auf den erzielten Ergebnissen sollten weiterhin Selektionsversuche mit dem Ziel einer Erhöhung des Weibchenanteils nach Temperaturbehandlung durchgeführt werden. Über die gewonnenen Daten zur Erbllichkeit aus diesen Experimenten soll-

te die notwendige Grundlage zur Bewertung und ggf. Etablierung von Zuchtprogrammen mit dem Ziel der Erhöhung des Weibchenanteils in Produktionspopulationen der Regenbogenforelle geschaffen werden.

1.1 Planung und Ablauf des Projekts

1. Jahr: Im ersten Versuchsjahr 2004 sollte die im vorangegangenen Kurzprojekt erarbeitete Temperaturbehandlung (16°C für 30 Tage) mit dem Ziel der Beeinflussung der Geschlechterverhältnisse bei Regenbogenforellen an weiteren Brütlingsscharen getestet werden, um die Wiederholbarkeit des Behandlungserfolges zu überprüfen. Zusätzlich sollte die Temperaturbehandlung durch Prüfung weiterer Temperaturen und Behandlungszeiträume (18°C für 20 und 30 Tage) und einem schonenderen Einleiten des Behandlungsendes optimiert werden. Hierzu sollten in der Ablaihsaison 03/04 zwölf Elternfischpaare von zwei bereits vorher eingesetzten Herkünften künstlich reproduziert und befruchtete Eier erbrütet werden. Die Elterntiere wurden nach dem Abstreifen der Gonadenprodukte mit Mikrochip-Marken individuell markiert, so dass diese Elterntiere für wiederholbare Anpaarungen im Verlauf des Experiments eingesetzt werden konnten. Kurz zusammengefasst sollte das 1. Versuchsjahr dienen zur

- Untersuchung der Wiederholbarkeit des Behandlungserfolges aus dem vorangegangenen Kurzprojekt
- Technischen Optimierung der Behandlung
- Prüfung weiterer Temperaturbehandlungsvarianten

2. Jahr: In der Ablaihsaison 04/05 sollten Nachkommengruppen von je zwei Elternpaaren aus vier bislang nicht getesteten aber in Relliehausen gehaltenen Herkünften auf ihre Temperatursensibilität der Geschlechtsausprägung hin untersucht werden. Die im ersten Versuchsjahr weiter optimierten Temperaturbehandlungen sollten für die Überprüfung der Temperatursensibilität der Geschlechtsausprägung dieser Herkünfte eingesetzt werden. Des weiteren war geplant von zehn temperaturbehandelten Brütlingen und zehn Kontrolltieren pro Vollgeschwistergruppe Muskelgewebeproben für die Untersuchung von haltungstemperaturspezifischen Körperproteinmustern zu entnehmen. Im Elektrophoreselabor des Instituts für Tierzucht und Haustiergenetik sollten darauf folgend Muskelgewebeproben von Behandlungs- und Kontrolltieren nach entsprechender Aufbereitung eine zweidimensionale SDS - Gelelektrophorese mit anschließender Comassie-Färbung durchlaufen. Falls haltungstemperatur-spezifische Proteinmuster erkannt würden, sollten charakteristische Proteinspots ausgeschnitten, und die entsprechenden Peptidmuster über massenspektrometrische Untersuchungen erfasst werden. Über Peptidmassenvergleiche mittels Proteindatenbanken (SWISS-PROT / TrEMBL) könnten die isolierten Protein-Spots nachfolgend ggf. Proteinverbindungen (Enzymen) und ihren entsprechenden Funktionen zugeordnet werden, wodurch eine erste Basis für zukünftige Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Temperaturbehandlungen gelegt werden könnte. Kurz zusammengefasst diene das 2. Versuchsjahr zur

- Überprüfung der Temperatursensibilität weiterer Herkünfte
- Untersuchung von haltungstemperaturspezifischen Körperproteinmustern über die zweidimensionale SDS-Gelelektrophorese

3. Jahr: Es sollten erste Schlüsse über den Beitrag der Paarungspartner und zur Erbllichkeit des untersuchten Merkmals gezogen werden. Dazu sollten insgesamt acht weibliche und acht männliche Elterntiere genutzt werden. Von jedem Ge-

schlecht sollten in der Ablaihsaison 05/06 sechs Laichfische eingesetzt werden, die in bereits vorangegangenen Versuchen zu hohen Weibchenanteilen nach Temperaturbehandlungen geführt haben. Die beiden verbleibenden Tiere pro Geschlecht sollten nur geringfügig höhere Weibchenanteile nach Temperaturbehandlung der Nachkommen aufweisen. Zur optimalen Ausnutzung abgestreifter Eier sowie der Temperaturbehandlungseinheit waren zwei zeitlich um etwa einen Monat versetzte Anpaarungsdiallele geplant. Es sollten in beiden Anpaarungsdiallelen Elternkombinationen zusammen kommen, bei denen beide Partner sowohl aus hoch temperatursensiblen als auch aus weniger temperatursensiblen Familien stammen. Für jedes Anpaarungsdiallele sollten vier Rogner abgestreift werden. Die Eier jedes Geleges sollten in vier Gruppen aufgeteilt werden und mit dem Sperma von vier verschiedenen Milchnern befruchtet werden. Die 16 in dieser Form pro Anpaarungsdiallele entstandenen Vollgeschwistergruppen sollten gemeinsam erbrütet werden. Zwei Wochen nach dem Schlupf wurden diese Vollgeschwistergruppen jeweils in eine Kontrollgruppe (weitere Aufzucht bei 12 °C) und eine Behandlungsgruppe aufgeteilt. Die Behandlungsgruppen wurden unter Nutzung des im ersten Versuchsjahr optimierten Behandlungsprotokolls von 18°C für 30 Tage temperaturbehandelt. Die separate Aufzucht der Behandlungs – und Kontrollgruppen eines der beiden Anpaarungsdiallele erfolgte hinsichtlich Besatzdichte und Fütterung unter standardisierten Bedingungen. Nach dem Erreichen eines markierfähigen Alters (ca. 30g) wurden die Gruppen mittels Kaltbrand markiert, gewogen und in einem Teich bis zum Erreichen eines vermarktungsfähigen Gewichts gemeinsam aufgezogen. Anschließend wurden die Tiere geschlachtet, gesext und gewogen. Die Auswertung der Daten ergab Informationen über mütterliche und väterliche Einflüsse der eingesetzten Elternfische wie auch erste Informationen über die mögliche Korrelation zwischen der Sensibilität der Geschlechtsausprägung gegenüber Temperaturbehandlungen und dem Wachstum bei der Regenbogenforelle. Kurz zusammengefasst diente das 3. Versuchsjahr zur

- Erstellung von Anpaarungsdiallelen mit individuell markierten Elternfischen, zu denen bereits Informationen zur Temperatursensibilität von Nachkommenschaften vorliegen
- Überprüfung der Wachstumsleistung temperaturbehandelter Nachkommen-

4. Jahr: Die aus den Kontrollgruppen des ersten Versuchsjahrs erhaltenen, individuell markierten Tiere, deren temperaturbehandelten Vollgeschwister hinsichtlich ihrer Geschlechtsausprägung sensibel reagierten, sollten im vierten Versuchsjahr als Elterntiere eingesetzt werden. Mit dem Ziel einer erstmaligen Selektion auf erhöhte Temperatursensibilität sollten diese Tiere wie im Vorjahr in Form zweier zeitlich versetzter Anpaarungsdiallele verpaart werden. Die 12 Behandlungsgruppen pro Diallele sollten unter Nutzung des im ersten Versuchsjahr optimierten Behandlungsprotokolls von 18°C für 30 Tage temperaturbehandelt und danach bis zur Erfassung der Geschlechterverhältnisse in ca. 80 l fassenden Kleinbecken separat aufgezogen werden. Die Auswertung der erzielten Selektionserfolge sollte eine erste Schätzung der realisierten Heritabilität ermöglichen. Damit stünde erstmalig ein wichtiger genetischer Parameter zur Verfügung, der die Abschätzung des notwendigen Aufwandes und der Erfolgsaussichten eines längerfristig angelegten Selektionsexperimentes zur Erhöhung des Weibchenanteils bei Regenbogenforellen nach Temperaturbehandlungen erlauben würde.

Kurz zusammengefasst diente das 4. Versuchsjahr zu

- Anpaarungsdiallele mit individuell markierten Kontrolltieren zu temperaturbehandelten Nachkommengruppen aus dem 1. Versuchsjahr (Erfassung des Selektionserfolges)

Darüber hinaus wurden noch meiotische Gynogenesen mit Eiern bestimmter Rogner durchgeführt. Die betreffenden Rogner zeichneten sich dadurch aus, dass sie an vorausgegangenen Anpaarungen beteiligt waren, die in ihren Geschlechterverhältnissen niedrige Weibchenanteile aufwiesen. Es sollte hierbei getestet werden, ob durch eine Temperaturbehandlung in der weiblichen gynogenetischen Nachkommenschaft funktionelle Männchen erzeugt werden können.

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Eine so genannte temperaturabhängige Geschlechtsausprägung ist seit den ersten systematischen Untersuchungen von Pieau (1972) an der Europäischen Sympfschildkröte (*Emmys orbicularis*) und der Maurischen Landschildkröte (*Testudo graeca*) bei vielen Reptilien bekannt (Viets et al., 1993, 1994; Pieau 1996). Bei Fischen liegen zu diesem Bereich bisher nur wenige Forschungsarbeiten vor. So berichten Sullivan und Schultz (1986) bei *Poeciliopsis lucida*, Baroillier et al. (1995) bei *Oreochromis niloticus*, Craig et al. (1996) bei *Oncorhynchus nerka*, Struesmann et al. (1996) bei *Odontesthes bonariensis*, und Römer und Beisenherz (1996) bei *Apistogramma* spp. über Einflüsse der Temperatur auf die Geschlechtsausprägung. Am besten dahingehend untersucht ist die Fischart *Menidia menidia* (Conover und Kynard, 1981; Conover, 1984; Conover und Heins, 1987a, b; Conover und van Voorhees, 1990; Conover et al., 1992). Bei *Menidia menidia* geht man davon aus, dass der Mechanismus der Geschlechtsdetermination auf geschlechtsbestimmenden Hauptgenen beruht, deren Expression temperaturabhängig ist. Diese Temperaturabhängigkeit ist zwischen Populationen dieser Art und zwischen Familien unterschiedlich stark ausgeprägt. Bei in Kultur genommenen Arten liegen die bisher einzigen umfassenden Untersuchungen bei Tilapien der Art *Oreochromis niloticus* vor. Bei *O. niloticus* sind männliche Populationen erwünscht, da diese kein Maulbrutverhalten zeigen und somit besser abwachsen sowie geringere Gonadengewichte besitzen und dadurch einen höheren Fleischanteil des Schlachtkörpers aufweisen als weibliche Fische. Unsere Arbeitsgruppe Aquakultur und Gewässerökologie beschäftigt sich bereits seit mehreren Jahren intensiv mit dem System der Geschlechtsdeterminierung bei der wichtigen Nutzfischart *Oreochromis niloticus* (Müller-Belecke und Hörstgen-Schwark, 1995) und hier insbesondere mit Einflüssen von Temperaturwirkungen auf die Geschlechtsvererbung dieser Spezies (Tessema und Hörstgen-Schwark, 2000; Tessema, 2001; Tessema et al., 2003). So konnten Tessema und Hörstgen-Schwark (2000), Tessema (2001) und Tessema et al. (2003) zeigen, dass durch eine Erhöhung der Haltungstemperatur während der Brütlingsphase die Geschlechtsverhältnisse bis zu einem Männchenanteil von 100 % verändert werden können. Ähnlich wie bei *Menidia menidia* scheint die Temperatursensibilität zwischen Populationen und Familien unterschiedlich stark ausgeprägt zu sein. Die Ergebnisse lassen die Existenz von zusätzlichen geschlechtsmodifizierenden autosomalen Genen neben dem XX-XY System (Hauptgene) vermuten, deren Expression sich bei erhöhten Haltungstemperaturen während temperatursensibler Phasen auf die Geschlechtsausprägung auswirkt. Dabei scheint ein bestimmter Schwellenwert sowohl an autosomalen Genen als auch an Temperaturbehandlung für die Geschlechtsausprägung entscheidend zu sein, um den Hauptfaktor (XX-XY) zu überdecken. Im Rahmen unseres bereits erwähnten BLE - finanzierten Kurzprojekts konnte erstmalig ge-

zeigt werden, dass auch bei der Regenbogenforelle die Geschlechtsverhältnisse in Nachkommengruppen durch Temperaturbehandlung beeinflusst werden konnten. Auch bei dieser Spezies gab es erste Anzeichen auf einen genetischen Hintergrund des Merkmals.

2. Material und Methoden

Im vorliegenden Projekt wurden insgesamt 8 europäische Regenbogenforellenherkünfte, die auf der Fischzuchtanlage des Versuchsguts der Georg-August-Universität in Relliehausen (Solling) gehalten werden, genutzt. Nach Herkunft markierte laichreife Rogner und Milchner wurden zunächst abgestreift und dann individuell mit einem Mikrochip markiert, damit sie im weiteren Versuchsverlauf für gezielte Einzelanpaarungen zur Verfügung standen. Nach der künstlichen Befruchtung wurden die den einzelnen Nachkommengruppen zuzuordnenden Eipartien separat unter Standardbedingungen bei einer Wassertemperatur von 10°C erbrütet. Zwei Wochen nach dem Schlupftermin (rund 80 % der Larven waren zu diesem Zeitpunkt frei schwimmend) wurden die Gruppen in Kontrollgruppen und Temperaturbehandlungsgruppen aufgeteilt. Im 1. und 2. Versuchsjahr wurden verschiedene Temperaturregime an unterschiedlichen Populationen und Anpaarungen getestet, wobei neben der Überprüfung der Wiederholbarkeit von Behandlungsergebnissen aus dem vorangegangenen Kurzprojekt mit 16°C für 30 Behandlungstage die Effektivität weiterer Behandlungsvarianten wie 18°C für 20 und 30 Tage und 17°C für 30 Tage erprobt wurde.

Zur Durchführung von Temperaturbehandlungen konnten zwei separate Kreislaufanlagen eingesetzt werden, die bereits aus dem vorangegangenen, BLE-finanzierten Kurzprojekt zur Verfügung standen. Diese bestanden jeweils aus

- 3 wärmeisolierten Becken a 300 l Haltungsvolumen
- Pumpensumpf (80 l, isoliert)
- 2 Wasserzirkulationspumpen ($V = 80 \text{ l} / \text{min}$)
- mechanisch/biologische Filtereinheit
- Belüftungseinrichtung (44 l / min)
- Thermostat gesteuerter Heizeinrichtung (3000W)

In die Becken wurden für die separate Behandlung mehrerer Nachkommengruppen Netzgehege (ca. 20 l Haltungsvolumen pro Stück) eingehängt. So war es möglich, gleichzeitig zwei unterschiedliche Behandlungen im Hinblick auf Temperatur und Dauer in den beiden Kreisläufen zu fahren, während so z.B. der eine Kreislauf mit einer Haltungstemperatur von 16°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) gefahren werden konnte, war bei dem zweiten ein Haltungstemperatur von 18°C ($\pm 0,5^\circ\text{C}$) möglich. Durch einen permanenten Wasserzulauf (Brunnenwasser, 12 °C, 1 l/min pro Kreislauf) wurde eine Anreicherung von Stoffwechselendprodukten der behandelten Larven im Haltungswasser eingeschränkt. Die entsprechenden Kontrollgruppen wurden bei einer konstanten Temperatur von 12°C $\pm 1,0^\circ\text{C}$ in Zugergläsern (8 l) aufgezogen.

Bei einer ausreichenden Zahl an Brütlingen innerhalb der Nachkommengruppen konnten diese auf mehrere Behandlungsvarianten mit jeweils mindestens 300 Brütlingen zwecks Ermittlung der optimalen Temperaturbehandlung aufgeteilt werden. Die Überführung von einem Temperaturregime in das andere (von 12°C nach 16° bzw. 18°C und wieder zurück in 12°C) wurde über einen Zeitraum von 2 Tagen durchgeführt. Die Brut wurde zwei Wochen nach dem Schlupftermin (rund 80 % der Larven waren zu diesem Zeitpunkt frei schwimmend) für eine Temperaturbehandlung in die Kleinkreisläufe überführt, die mit 12°C warmem Wasser gefüllt waren. Die Brut wurde auch zuvor schon bei einer Wassertemperatur von 12°C

gehalten, und somit konnte der durch das Umsetzen bedingte Stress minimiert werden. Danach wurden die Heizsysteme der Kleinkreisläufe der Temperaturbehandlungseinheit eingeschaltet, und die Erwärmung des Haltungswasser auf 16 bzw. 18°C erfolgte allmählich über einen Zeitraum von 2 Tagen. Nach Beendigung der Temperaturbehandlungen wurden die Behandlungsgruppen in mit 12°C Brunnenwasser gespeisten Kleinbecken überführt. Dabei wurde das Überführen von einem Temperaturregime in das andere wieder so schonend wie möglich über einen Zeitraum zwei Tagen durchgeführt. Hierzu wurden die Heizsysteme der Kleinkreisläufe der Temperaturbehandlungseinheit nach Ablauf der Behandlung ausgeschaltet. Die Temperatur glich sich daraufhin sehr langsam und gleichmäßig an das als permanenten Zulauf genutzte 12°C kalte Brunnenwasser an. Die anschließende separate Aufzucht von Behandlungs- und Kontrollgruppen erfolgte in 80 l fassenden Kleinbecken. Die Überlebensraten von Behandlungs- und Kontrollgruppen wurden zum Zeitpunkt des jeweiligen Behandlungsendes und zum Zeitpunkt des Sexens bei einem Individualgewicht von etwa 50 g erfasst. Das Geschlecht der zuvor getöteten Fische wurde anhand der Gonaden makroskopisch oder, falls erforderlich, mikroskopisch (Zeiss, 100-fache Vergrößerung), d.h. durch Untersuchen des Gonadengewebes anhand der deutlich zu erkennenden Keimzellunterschiede von männlichen und weiblichen Gonaden bestimmt. Anschließend wurde das Geschlechterverhältnis in der Behandlungs- und Kontrollgruppe jeder Einzelanpaarung ermittelt.

Die zu prüfenden Einzelanpaarungen wurden entsprechend der unter Punkt 1.1 aufgeführten Anpaarungspläne der jeweiligen Versuchsjahre durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

- **Technische Optimierung der Temperaturbehandlung**

Begonnen wurde die Optimierung der Temperaturbehandlung mit einer verlangsamten Anpassung der Temperaturen am Ende der Behandlungen. Dazu wurden die Heizsysteme der Kleinkreisläufe ausgeschaltet. Die Temperatur glich sich daraufhin sehr langsam und gleichmäßig an das als permanenten Zulauf genutzte 12°C kalte Brunnenwasser an. In Tabelle 1a sind die Überlebensraten wiedergegeben, die bei der oben beschriebenen Vorgehensweise nach verschiedenen Temperaturbehandlungen erzielt wurden.

Die in den Kontrollgruppen beobachtete mittlere Überlebensrate von 81% entspricht Werten, die unter günstigen Bedingungen in der Praxis erzielt werden. Behandlungsbedingte Verluste konnten durch die verlangsamte Temperaturanpassung weitestgehend vermieden werden. Allerdings bleibt anzumerken, dass bei einzelnen Herkünften (z.B. Herkunft D) bzw. Anpaarungen die Temperaturbehandlungen schlechtere Überlebensraten aufwiesen als die entsprechenden Kontrollen.

Tabelle 1a: Überlebensraten nach Ende der Temperaturbehandlung in den untersuchten Herkünften gemittelt über Behandlungs- und Kontrollgruppen

Behandlungs- Temperatur	Eingesetzte Fische (N)	Familien (N)	Überlebens- rate ¹⁾ (%)	Streubreite Min - Max
Herkunft 2				
12°C	2300	9	84,0	48,5 - 95,3
16°C - 20d	437	3	89,6	76,9 - 98,0
16°C - 30d	2566	9	91,9	75,3 - 100
18°C - 20d	436	3	90,1	76,4 - 98,4
18°C - 30d	764	3	83,9	71,7 - 94,7
Herkunft D				
12°C	800	4	89,1	75,5 - 97,5
16°C - 20d	784	4	91,6	85,2 - 99,0
16°C - 30d	1566	4	27,6	11,0 - 43,8
18°C - 20d	780	4	59,2	30,5 - 93,1
18°C - 30d	1571	4	20,6	7,4 - 38,2
Herkunft E				
12°C	1000	2	70,8	67,4 - 74,2
17°C	1000	2	63,3	57,4 - 65,0
18°C	583	3	94,4	90,6 - 98,3
Über alle Herkünfte				
Ø 12°C	4200	15	81,3	48,5 - 97,5
Ø 16°C	5353	20	75,2	11,0 - 100,0
Ø 17°C	1000	2	63,3	57,4 - 65,0
Ø 18°C	4134	17	69,6	7,4 - 98,4

Danach wurde die langsamere Temperaturadaptation auch zu Beginn der Behandlung durchgeführt. Die Brut wurde zwei Wochen nach dem Schlupftermin (rund 80 % der Larven waren zu diesem Zeitpunkt frei schwimmend) für eine Temperaturbehandlung in die Kleinkreisläufe überführt, die mit 12°C warmen Wasser gefüllt waren. Die Brut wurde auch zuvor schon bei einer Wassertemperatur von 12°C gehalten, und somit konnte der durch das Umsetzen bedingte Stress minimiert werden. Danach wurden die Heizsysteme der Kleinkreisläufe der Temperaturbehandlungseinheit eingeschaltet, und die Erwärmung des Haltungswassers auf 16°C, 17°C oder 18°C erfolgte allmählich über einen Zeitraum von 2 Tagen.

Tabelle 1b gibt einen Überblick über die erzielten Überlebensraten nach dieser weiteren Verbesserung der Behandlungsmethode

Tab.1b :Überlebensraten nach Ende der Temperaturbehandlung in den untersuchten Herkunftsn gemittelt über Behandlungs- und Kontrollgruppen nach weiterer Optimierung der Behandlungsmethode

Behandlungs- Temperatur	Eingesetzte Fische (N)	Familien (N)	Überlebens- rate ¹⁾ (%)	Streubreite Min - Max
Herkunft 1				
12°C	1800	6	83,0	72,2 - 94,0
16°C	1800	6	92,8	78,7 - 98,0
17°C	1000	2	96,1	94,0 - 98,2
18°C	200	1	96,0	-
Herkunft A				
12°C	200	1	92,5	-
16°C	600	2	89,9	82,4 - 97,3
17°C	1000	2	76,5	70,5 - 82,4
18°C	596	2	82,1	70,5 - 93,6
Herkunft B				
12°C	1000	2	70,8	67,4 - 74,2
17°C	1000	2	63,3	57,4 - 65,0
18°C	583	3	94,4	90,6 - 98,3
Herkunft N				
12°C	3500	7	72,7	39,6 - 96,2
18°C	3500	7	80,0	66,4 - 94,6
Herkunft C				
12°C	490	3	66,7	55,0 - 88,9
16°C	490	3	74,9	68,3 - 83,0
17°C	1000	2	60,2	57,0 - 63,3
18°C	800	2	79,3	77,3 - 81,3
Ø 12°C	6990	19	77,1	39,6 - 97,3
Ø 16°C	2890	11	85,7	68,3 - 98,0
Ø 17°C	4000	8	74,0	57,0 - 98,2
Ø 18°C	5679	15	86,4	66,4 - 98,3

¹⁾ direkt nach Temperaturbehandlung erhoben

Über alle Temperaturbehandlungs- und Kontrollgruppen hinweg, ergab sich bei den Kontrollgruppen eine Überlebensrate von 77 %. Bei den entsprechenden Behandlungsgruppen wurden vergleichbare Überlebensraten beobachtet. Dies macht deutlich, dass nach Optimierung der Methode eine Temperaturbehandlung nicht zu erhöhten Ausfällen gegenüber den Kontrollgruppen führen muss, sondern im Gegenteil eine positive Auswirkung auf die Überlebensrate der Brütlinge haben kann.

- **Untersuchung der Wiederholbarkeit des Behandlungserfolges**

Zur Beurteilung der Wiederholbarkeit des Behandlungserfolges sind in Tabelle 2 die Ergebnisse der Temperaturbehandlung mit 16°C für 30 Tage für die Herkünfte 2, D, B und N aus dem vorangegangenen Kurzprojekt und aus dem vorliegenden Projekt wiedergegeben. Im Kurzprojekt bestanden die Behandlungsgruppen aus Mischgruppen von 10 Einzelgelegen, während es sich bei den Behandlungsgruppen der entsprechenden Herkünfte im vorliegenden Projekt um Einzelanpaarungen handelt.

Tabelle 2: Wiederholbarkeit des Behandlungserfolgs nach Temperaturbehandlung innerhalb verschiedener Herkünfte

Herkunft	Behandlung	Eingesetzte Fische¹⁾ (N)	Untersuchte Gruppen	% Weibchenanteil Durchschnitt (min-max %)
Kurzprojekt				
2	16°C für 30 Tage	1200	1 (Mix) ²⁾	57,1
D	16°C für 30 Tage	1200	1 (Mix)	66,7
B	16°C für 30 Tage	1200	1 (Mix)	68,9
N	16°C für 30 Tage	1200	1 (Mix)	56,3
Vorliegendes Projekt				
2	16°C für 30 Tage	2566	9	56,1 (45,5 - 66,7)
D	16°C für 30 Tage	1766	4	68,8 (65,2 - 83,3)
B	16°C für 30 Tage	246	2	62,9 (54,5 - 71,4)
N	16°C für 30 Tage	259	2	56,8 (47,8 – 65,8)
2 ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	61,4
2 ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	67,2
C ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	43,0
C ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	41,9
C ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	36,8
C ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	32,3
C ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	34,5
C ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	38,2
1 ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	53,1
1 ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	53,8
A ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	60,7
A ³⁾	18°C für 30 Tage	300	1	64,4

¹⁾: Mischgruppe aus 10 Einzelgelegen, ²⁾: Mischgruppe aus 10 Einzelgelegen, ³⁾: wiederholte Einzelanpaarung in aufeinander folgenden Jahren

Vergleichbare Weibchenanteile nach Temperaturbehandlung in den vier Herkünften 2, D, B und N im Kurzprojekt und im vorliegenden Projekt zeigen die Wiederholbarkeit des Behandlungserfolges. Die Schwankungsbreite bei den verschiedenen Gelegen innerhalb der Herkünfte deutet auf einen signifikanten Einfluss der jeweiligen Paarungspartner hin. Vergleichbare Weibchenanteile in Gelegen von wiederholten Einzelanpaarungen nach Temperaturbehandlungen von 18°C für 30 Tage unterstreichen einen genetischen Einfluss auf die Temperatursensibilität. Im Gegensatz zu den anderen untersuchten Herkünften zeigte die Herkunft C in wiederholten Anpaarungen Nachkommenschaften mit sehr niedrigen Weibchenanteilen.

- **Prüfung weiterer Temperaturbehandlungsvarianten / Überprüfung der Temperatursensibilität weiterer Herkünfte**

Im Gegensatz zu den 16°C Behandlungen erschienen die im Kurzprojekt eingesetzten Temperaturbehandlungen mit 20°C zu größeren Verlusten zu führen. Dennoch wurden mit dieser Temperatur in einer Herkunft (Herkunft 2) die besten Behandlungserfolge erzielt. Im vorliegenden Versuchsvorhaben wurden deshalb weitere, auch unter Praxisbedingungen einfach umsetzbare Behandlungsvarianten getestet. Tabelle 3 führt die in den 6 insgesamt geprüften Herkünften beobachteten Weibchenanteile nach Behandlung mit 16°C, 17°C und 18°C für 20 bzw. 30 Tage im Vergleich zu unbehandelten Kontrollgruppen auf.

Die niedrigsten Weibchenanteile von 36,3% und 35,4% wurden in den Behandlungsgruppen der Herkunft C mit einer Behandlungstemperatur von 16°C und 17°C für 30 Tage erzielt, während die entsprechenden Kontrollgruppen Weibchenanteile von 48% und 49,4% aufwiesen. Auch Herkunft 1 zeigte niedrigere Weibchenanteile in den Behandlungsgruppen als in den entsprechenden Kontrollen im Vergleich zu den Herkünften 2, A, B und N, die in den Behandlungsgruppen zum Teil wesentlich höhere Weibchenanteile zeigten als in den entsprechenden Kontrollen.

Die zwischen den Herkünften und Familien innerhalb Herkünften (Min - Max) festgestellten unterschiedlichen Streubreiten in den Geschlechterverhältnissen bei gleichen Temperaturbehandlungen ließen einen genetischen Hintergrund (Herkunft, Familie) der Sensibilität der Geschlechtsausprägung auf eine Temperaturbehandlung vermuten.

Vergleichbare Behandlungserfolge bei Temperaturregimen von 16 bis 18 °C für 30 Tage bei vergleichbaren Überlebensraten (siehe Tab. 1) sowie die Tatsache, dass die meisten verfügbaren individuell markierten Elternfische, Informationen zur Temperatursensibilität von Nachkommenschaften bei Testung von 18°C für 30 Tage aufwiesen, konzentrierten sich die folgenden Untersuchungen auf eine Temperaturbehandlung von 18°C für 30 Tage.

Tabelle 3: Durchschnittliche Weibchenanteile in temperaturbehandelten Nachkommengruppen und entsprechenden Kontrollgruppen

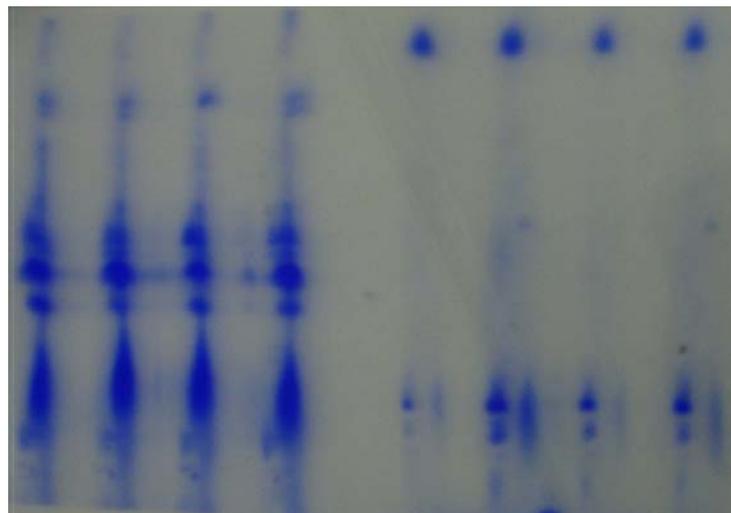
Behandlungs-Temperatur	Eingesetzte Fische (N) ¹	Familien (N) ²	Weibchenanteil Durchschnitt (%) ³	Streubreite Min – Max (%)
Herkunft 1				
12°C	1800	6	51,6	45,0 – 53,8
16°C	1800	6	46,1	37,9 – 53,1
12°C	1000	2	46,2	44,7 – 47,1
17°C	1000	2	52,5	48,6 – 55,3
12°C	164	1	57,1	-
18°C	200	1	43,9	-
Herkunft 2				
12°C	2300	9	50,8	47,2 – 52,6
16°C	2566	9	56,1	45,5 – 66,7
12°C	4500	9	45,2	40,4 – 52,1
17°C	4500	9	52,4	41,5 – 63,9
12°C	4000	8	45,6	41,7 – 52,3
18°C	3264	8	55,3	50,0 – 67,2
Herkunft A				
12°C	200	1	51,2	-
16°C	600	2	60,7	57,1 – 64,3
12°C	1000	2	51,1	50,6 – 51,8
17°C	1000	2	62,3	59,3 – 64,4
12°C	200	1	51,2	-
18°C	596	2	52,2	45,0 – 59,3
Herkunft B				
12°C	1000	5	48,4	45,1 – 52,2
16°C	1000	5	69,0	60,0 – 71,4
12°C	1000	2	45,3	38,0 – 48,0
17°C	1000	2	54,7	43,0 – 69,4
12°C	582	3	46,2	45,3 – 47,1
18°C	583	3	56,4	54,3 – 58,5
Herkunft N				
12°C	-	7	50,9	46,7 – 56,1
16°C	-	7	56,0	47,8 – 65,8
12°C	3500	7	42,0	39,8 – 46,3
18°C	3500	7	47,9	43,7 – 49,2
Herkunft C				
12°C	490	3	48,0	40,0 – 52,7
16°C	490	3	36,3	28,6 – 37,7
12°C	1000	2	49,4	42,9 – 55,0
17°C	1000	2	35,4	32,3 – 38,2
12°C	800	2	48,1	47,1 – 49,1
18°C	800	2	46,7	45,1 – 48,2

¹: eingesetzte Fische in die Temperaturbehandlung, ²: Familien = Einzelanpaarungen, ³: gewichtet mit der Tieranzahl in den Einzelanpaarungen

- **Untersuchung von haltungstemperaturspezifischen Körperproteinmustern über die zweidimensionale SDS-Gelelektrophorese**

Die Untersuchung auf haltungsspezifische Körperproteinmuster von zehn temperaturbehandelten Brütlingen und zehn Kontrolltieren aus jeweils zwei Gelegen von vier verschiedenen Herkunftten (A, B, C, 1) fand mittels SDS - Gelelektrophorese statt. Für die Untersuchung wurden 160 Fischen (80 aus den Kontrollen und 80 aus den Behandlungsgruppen) nach dem Sexen Muskelgewebeproben entnommen. Diese Muskelgewebeproben durchliefen dann im Elektrophoreselabor des Instituts für Tierzucht und Haustiergenetik nach entsprechender Aufbereitung eine zweidimensionale SDS- Gelelektrophorese mit anschließender Comassie - Färbung. Da keine haltungstemperatur-spezifischen Proteinmuster erkannt werden konnten, wie in Abbildung 1 beispielhaft gezeigt, wurde weiteres Probenmaterial für die Untersuchungen herangezogen, das extreme Unterschiede im Weibchenanteil von Behandlungs- und Kontrollgruppen aufwies. Aber auch bei diesem Probenmaterial konnten keine Unterschiede festgestellt werden.

Abbildung 1: Ergebniss der zweidimensionalen SDS Gelelektrophorese (K = Kontrolle, B = Behandlung)



K K B B K K B B

Page 1. Dimension

Page 2. Dimension

- **Erstellung von Anpaarungsdiallelen mit individuell markierten Elternfischen, zu denen bereits Informationen zur Temperatursensibilität von Nachkommenschaften vorliegen**

Um den Beitrag der Paarungspartner auf die Temperatursensibilität ihrer Nachkommen zu untersuchen, wurden Anpaarungsdialele durchgeführt, deren Ergebnisse in Tabelle 4 zusammengefasst sind. Bei den Anpaarungen wurde so verfahren, dass Elternkombinationen zusammen gebracht wurden, bei denen beide Partner in der Vorsaison an Gelegen mit hohem (H) bzw. an Gelegen mit niedrigem Weibchenanteil (N) beteiligt waren. Weiterhin wurde ein Rogner in die diallelen Anpaarungen eingebunden, der an Gelegen beteiligt war, deren temperaturbehandelte Gruppen Weibchenanteile um 50% aufwiesen (M Rogner). Insgesamt wurden 24 diallele Paarungskombinationen durchgeführt, woran 8 Rogner (6 Rogner mit H Gelegen, 1 Rogner mit N Gelege, 1 Rogner mit M Gelege) und 3 Milchner (2 mit N Gelegen, 1 mit H Gelegen) beteiligt waren. Die Nachkommen aus diesen Anpaarungen wurden einer Temperaturbehandlung von 18°C für 30 Tage unterzogen. Parallel dazu wurden entsprechenden Kontrollgruppen mitgeführt.

Die in Tab. 4 wiedergegebenen Ergebnisse zeigen deutlich, dass Paarungskombinationen, bei denen beide Partner in der vorangegangenen Laichsaison an Gelegen mit hohem (H) Weibchenanteil beteiligt waren (H-Rogner x H-Milchner), wieder Gelege mit hohen Weibchenanteilen aufwiesen (siehe rot beschriftete Felder). Ebenso erbrachten Laichfische, die in vorangegangenen Versuchen Geschlechterverhältnisse mit einem niedrigen Weibchenanteil in der Nachkommenschaft temperaturbehandelter Gruppen zeigten (N-Rogner x N-Milchner), wieder Nachkommenschaften mit niedrigen Weibchenanteilen in den temperaturbehandelten Gruppen (siehe blau beschriftete Felder).

Bei Anpaarungen zwischen H und N Laichfischen variierten die Weibchenanteile in den temperaturbehandelten Nachkommenschaften. So konnten bei der Verpaarung des N-Rogners mit dem H-Milchner ein Weibchenanteil von 50% in der Behandlungsgruppe und 48% in der entsprechenden Kontrolle erzielt werden gegenüber einem Weibchenanteil von 35% bzw. 40% in den Behandlungsgruppen und 47% in den jeweiligen Kontrollen bei Verpaarung desselben N-Rogners mit den N-Milchnern. Wurden H-Rogner mit N-Milchnern verpaart, so kam es in den Extremen zu Veränderungen des Weibchenanteils in den temperaturbehandelten Gruppen von +14% bis zu -3% gegenüber den entsprechenden Werten in den Kontrollen. Anhand der erzielten Ergebnisse ist davon auszugehen, dass beide Elternteile (Rogner und Milchner) zu den verschiedenen Geschlechterverhältnissen in den temperaturbehandelten Nachkommengruppen beitragen.

Tabelle 4: Durchschnittliche Weibchenanteile in temperaturbehandelten Nachkommen- und entsprechenden Kontrollgruppen von Anpaarungen zwischen Elternfischen mit geprüfter Temperatursensibilität (hoch (H), mittel (M), niedrig (N)) in Nachkommenschaften aus vorangegangenen Anpaarungen

 	$H_M^{1)-1}$ (61%)	N_M-1 (34%)	N_M-2 (43%)
	In %	In %	In %
$H_R-1^{1)}$ (69%)	B:66,9** K:48,4 (+18,5)	B:55,7** K:41,7 (+14,0)	B:58,5* K:45,3 (+13,2)
H_R-2 (56%)	B:62,2* K:47,3 (+14,9)	B:59,7* K:53,4 (+6,3)	B:56,5 K:50,7 (+5,8)
H_R-3 (61%)	B:67,2* K:52,3 (+14,9)	B:44,2 K:47,6 (-3,4)	B:52,3 K:53,8 (-1,5)
H_R-4 (59%)	B:64,0 K:51,1 (+12,9)	B:53,1 K:50,8 (+2,3)	B:54,5 K:53,8 (+0,7)
H_R-5 (58%)	B:64,7* K:48,8 (+15,9)	B:57,4 K:53,6 (+3,8)	B:55,7 K:54,0 (+1,7)
H_R-6 (57%)	B:57,7 K:48,9 (+8,8)	B:58,3 K:51,3 (+7,0)	B:59,0 K:47,5 (+11,5)
M_R-1 (53%)	B:61,9 K:52,8 (+9,1)	B:49,1 K:49,5 (-0,4)	B:51,2 K:48,2 (+3,0)
N_R-1 (39%)	B:50,0 K:47,6 (+2,4)	B:35,2 K:47,3 (-12,1)	B:39,8 K:46,7 (-6,9)

B = Behandlungsgruppe; K = Kontrollgruppe;

*, ** signifikant verschieden von Kontrolle bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ (Chi-quadrat-Test);

¹⁾ Elternfische der Einzelanpaarungen, z.B.: H_M (61%) = Hoch_{Milchner}; Milchner an Gelege mit 61% Weibchenanteil in Vorsaison beteiligt gewesen; H_R (69%) = Hoch_{Rogner} : Rogner an Gelege mit 69% Weibchenanteil in Vorsaison beteiligt gewesen;

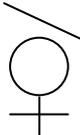
Hoch-Hoch-Anpaarungen; Hoch-Mittel-Anpaarungen; **Niedrig-Niedrig-Anpaarungen**;

stark umrahmten Anpaarungen: Wachstumsvergleich, siehe Tabelle 5.

- **Überprüfung der Wachstumsleistung temperaturbehandelter Nachkommengruppen**

Für die Prüfung der Wachstumsleistung von temperaturbehandelten Nachkommengruppen und ihrer entsprechenden Kontrollgruppen wurde ein Teil des in Tabelle 4 vorgestellten Diallels (zwei 3x4 Diallele) bis zu einem Alter von 1,5 Jahren unter standardisierten Bedingungen aufgezogen. Danach wurden die Fische geschlachtet, gewogen (siehe Tabelle 5), und es wurde das Geschlecht der Fische bestimmt (siehe Tabelle 4).

Tabelle 5: Wachstumsleistungsvergleich zwischen temperaturbehandelten Nachkommengruppen und ihren entsprechenden Kontrollen

 	H_M-1 (61%)	N_M-1 (34%)	N_M-2 (43%)
	In %, g	In %, g	In %, g
H_R-4 (59%)	B:271,0 ± 17,0 K:266,1 ± 14,1	B:291,6 ± 26,3 K:283,7 ± 20,5	B:285,6 ± 13,1 K:274,5 ± 12,8
H_R-5 (58%)	B:292,6 ± 10,0 K:279,2 ± 10,6	B:283,0 ± 15,2 K:274,1 ± 9,9	B:293,1 ± 12,1 K:278,3 ± 7,0
H_R-6 (57%)	B:290,7 ± 9,7 K:279,1 ± 8,4	B:290,6 ± 9,5 K:282,6 ± 10,0	B:286,5 ± 13,5 K:271,7 ± 12,1
M_R-1 (53%)	B:286,3 ± 18,0 K:273,8 ± 8,7	B:287,5 ± 15,1 K:275,9 ± 9,8	B:290,3 ± 6,0 K:278,3 ± 13,4

Die Auswertung des Wachstumsversuches ergab höhere Wachstumsleistungen für alle Behandlungsgruppen im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollen.

Die Untersuchung auf eine mögliche Korrelation zwischen der Sensibilität der Geschlechtsausprägung gegenüber Temperaturbehandlungen (gemessen in Weibchenanteilen der Behandlungs- und entsprechenden Kontrollgruppen) und dem Wachstum von diesen Regenbogenforellen war positiv mit $r_p=0,54$ ($p \leq 0,01$).

Es muss hier jedoch deutlich darauf hingewiesen werden, dass in vorangegangenen Untersuchungen bezüglich des Wachstums von Regenbogenforellen bis zum Portionsgewicht (Morkramer et al., 1985) keine Unterschiede in der Wachstumsleistung zwischen männlichen und weiblichen Tieren festgestellt werden konnten. Die hier festgestellten Differenzen im Gewicht zwischen Behandlungsgruppen und Kontrollen sind mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit nicht auf die unterschiedlichen Geschlechterverhältnisse in den Behandlungs- und entsprechenden Kontrollgruppen zurückzuführen, sondern allein auf die höhere Wassertemperatur während der 30-tägigen Temperaturbehandlung, die den Tieren in den Behandlungsgruppen einen großen Entwicklungsvorsprung gegenüber den Kontrollgruppen verschaffte, der bis zum marktrelevanten Portionsgewicht behauptet werden konnte.

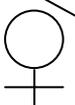
- Anpaarungsdiallele mit individuell markierten Kontrolltieren zu temperaturbehandelten Nachkommengruppen aus dem 1. Versuchsjahr (Erfassung des Selektionserfolges)

Im letzten Versuchsjahr wurden die im ersten und zweiten Versuchsjahr erhaltenen, individuell markierten Tiere aus Kontrollgruppen, deren temperaturbehandelte Vollgeschwister hinsichtlich ihrer Geschlechtsausprägung sensibel reagierten, als Elterntiere eingesetzt. Aufgrund der geringen Anzahl einsatzfähiger Milcherner und Rogner zu Beginn der Ablaichsaison 06/07 (keine ausreichende Sperma- bzw. Eimengen für Diallelanpaarungen, Ausfall von vorhandenen Milchnern im Verlauf derselben Ablaichsaison) konnten keine vollständigen 4x4 Diallele (24 Anpaarungen) durchgeführt werden. Stattdessen wurden die Laichfische in Form eines Anpaarungsdiallels (3 Rogner x 3 Milchner) angepaart (Tabelle 6), neben weiteren diallelen Anpaarungen der selektierten Milcherner mit nachkommegeprüften Rognern (insgesamt 6 Rogner x 3 Milchner = 18 Anpaarungsgruppen). Darüberhinaus erfolgten gezielte Anpaarungen eines selektierten und zweier geprüften Milcherner mit verschiedenen geprüften Rognern (väterliche Halbgeschwister), die in Tabelle 7 dargestellt sind (insgesamt 21 Anpaarungsgruppen).

Insgesamt wurden bei diesen Anpaarungen 10.596 Fische aus Behandlungs- und Kontrollgruppen ausgewertet. Für die Beurteilung der Anwendbarkeit der Temperaturbehandlung in der Praxis hat die Überlebensrate eine entscheidende Bedeutung. Die durchschnittliche Überlebensrate, über alle Einzelanpaarungen gemittelt, betrug 88% für die Behandlungsgruppen und war von der in den Kontrollgruppen ermittelten durchschnittlichen Überlebensrate von 81% signifikant verschieden. Wie bereits in den Vorjahren bestätigte sich die positive Wirkung der optimierten Temperaturbehandlung (18°C für 30 Tage) auf die Überlebensraten direkt nach Temperaturbehandlung.

Wie aus Tabelle 6 ersichtlich, führen alle Anpaarungen mit dem selektierten N-1 Milcherner zu reduzierten oder gleichen Weibchenanteilen wie in den Kontrollen. Das schließt auch die Anpaarung mit einem geprüften hoch temperatursensiblen Rogner ein. Demgegenüber konnten die selektierten Milcherner N-2 und N-3 den Effekt des H-Rogners nicht beeinflussen, so dass in diesen beiden Nachkommenschaften die hohen Weibchenanteile erhalten blieben. Dergleiche H-Rogner erbrachte in Anpaarung mit dem Vater des Milcherner N-2 vergleichbar hohe Weibchenanteile in den temperaturbehandelten Nachkommenschaften (Differenz im Weibchenanteil zwischen Kontrolle und Behandlungsgruppe +13,2%).

Tabelle 6: Weibchenanteile (%) von Behandlungs (B) -und Kontrollgruppen (K) aus Anpaarungen von selektierten Milchnern mit selektierten oder geprüften Rognern

 	$N_M - 1^{2)}$ (37%)	$N_M - 2^{2)}$ (43%)	$N_M - 3^{2)}$ (34)
	In %	In %	In %
$H_R - 1^{1)}$ (69%)	B:48,4 K:45,9 (+2,5)	B:64,2 K:52,1 (+12,1)	B:60,7 K:50,0 (+10,7)
$M_R - 1^{1)}$ (53%)	B:41,9 K:52,8 (-10,9)	B:49,1 K:49,5 (-0,4)	B:51,2 K:48,2 (+3,0)
$M_R - 2^{2)}$ (50%)	B:43,8 K:47,6 (-3,8)	B:48,3 K:47,2 (+1,1)	B:49,2 K:47,7 (+1,5)
$M_R - 3^{2)}$ (50%)	B:43,7 K:53,4 (-9,7)	B:41,9 K:45,8 (-3,9)	B:46,7 K:51,3 (-4,6)
$M_R - 4^{2)}$ (50%)	B:48,3 K:49,0 (-0,7)	B:41,3 K:48,9 (-7,6)	B:46,3 K:50,9 (-4,6)
$N_R - 1^{1)}$ (39%)	B:41,1 K:47,1 (-6,0)	B:52,7 K:47,5 (+5,2)	ausgefallen

B=Behandlungsgruppe; K=Kontrollgruppe;

*, ** signifikant verschieden von Kontrolle auf einem Niveau von $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ (Chi-quadrat-Test);

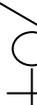
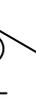
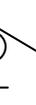
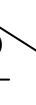
¹⁾ geprüfte Elternfische, ²⁾ selektierte Fische.

Elternfische der Einzelanpaarungen, z.B.: N_M (37%) = Niedrig_{Milchner}; Milchner aus Gelege (Kontrolle) mit 37%; H_R (69%) = Hoch_{Rogner}: Rogner an Gelege mit 69% Weibchenanteil in Vorsaison beteiligt gewesen.

Die Nachkommenschaften der Anpaarungen zwischen dem Milchner H-2 mit allen sieben Rognern führten zu deutlichen Unterschieden zwischen den Behandlungs- und den Kontrollgruppen (Tabelle 7). So zeigten die väterlichen Halbgeschwister in ihren Behandlungsgruppen Weibchenanteile von 63 -55% je nachdem, ob es sich um hoch temperatursensible Rogner oder weniger temperatursensible bzw. bisher ungeprüfte Rogner handelte.

Der Milchner $N_M - 1$, dessen Einfluss bereits ausführlich dargestellt wurde (Tabelle 6: 7x3-Anpaarungsdiallel), war auch an sieben weiteren Anpaarungen beteiligt, bei denen seine niedrige Temperatursensibilität abermals zu geringen Weibchenanteilen in Behandlungsgruppen (39% – 43%) im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollgruppen (47%– 52%) führte.

Tabelle 7: Weibchenanteile (%) von Behandlungen (B) -und Kontrollgruppen (K) aus Anpaarungen von selektierten oder geprüften Milchnern mit nachkommengeprüften Rognern

 	H _M -2 (63%)	 	N _M -1 ^{1) 2)} (37%)	 	N _M -2 (43%)
	In %		In %		In %
H _R (56%)	B:61,9 K:49,1 (+12,8)	L _R ¹⁾ (43%)	B:41,7 K:50,0 (-8,3)	H _R (69%)	B:58,5 K:45,3 (+13,2)
H _R (58%)	B:62,7 K:53,0 (+9,7)	M _{R1} (53%)	B:41,9 K:52,8 (-10,9)	H _R (56%)	B:52,7 K:52,5 (+0,2)
M _R (43%)	B:59,4 K:53,0 (+6,4)	M _{R5} (50%)	B:39,1 K:49,0 (-9,9)	H _R (58%)	B:48,9 K:47,6 (+1,3)
M _R (51%)	B:58,8 K:47,5 (+11,3)	M _{R6} (50%)	B:41,2 K:48,1 (-6,9)	M _{R7} (50%)	B:45,9 K:52,3 (-6,4)
U _{R1}	B:58,9 K:47,6 (+11,3)	U _{R4}	B:42,9 K:49,6 (-6,7)	M _{R1} (53%)	B:49,1 K:49,5 (-0,4)
U _{R2}	B:60,9* K:47,6 (+13,3)	M _{R1} (50%)	B:40,8 K:47,4 (-6,6)	N _R -2 (43%)	B:41,9 K:49,5 (-7,6)
U _{R3}	B:55,3 K:48,0 (+7,3)	M _{R2} (50%)	B:39,8 K:52,2 (-12,4)	M _{R3} (50%)	B:43,8 K:46,2 (-2,4)

B = Behandlungsgruppe, K = Kontrollgruppe; *, ** = signifikant von Kontrolle verschieden auf einem Niveau von $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ (Chi-quadrat-Test);¹⁾ Elternfische der Einzelanpaarungen: N_M-1(37%) = Niedrig_{Milchner}; N_R(43%) = Niedrig_{Rogner}: Rogner an Gelege mit 43% Weibchenanteil in Vorsaison beteiligt gewesen; Milchner aus Gelege mit 37% Weibchenanteil selektiert worden.; M_R=Mittel_{Rogner}: Rogner an Gelege mit ausgeglichenen Geschlechteranteilen in Vorsaison beteiligt gewesen; U_R=Ungeprüft_{Rogner}: Rogner im Ersteinsatz; ²⁾ selektierter Fisch.

Aufgrund der bisherigen Ergebnisse kann von einer Vererbbarkeit der Temperatursensibilität ausgegangen werden. Ein weiteres Diallel mit selektierten Rognern und Milchnern aus den Kontrollen, deren Vollgeschwister in den Temperaturbehandlungsgruppen hohe oder niedrige Weibchenanteile erbrachten, wurde in der Laichsaison 2007/8 erstellt. Die Bestimmung des Geschlechtes und die Auswertung der Geschlechterverhältnisse in diesen Nachkommengruppen wird im Herbst möglich sein. Basierend auf den bisher vorliegenden Daten konnte eine realisierte Heritabilität von 0.18 ermittelt werden, die eine vergleichbare Größe wie die im Rahmen eines Selektionsexperimentes für die Stückmasse von Regenbogenforellen (Portionsforellen) aufweist (Hörstgen-Schwark 1993). Aufgrund der bisher erzielten Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass Selektionslinien entwickelt werden könnten, die nach Temperaturbehandlung der Brut je nach Ausgangspopulation erhöhte Weibchen- oder Männchenanteile aufweisen. Allerdings wäre dieser Weg des Aufbaus von Zuchtlinien bei Regenbogenforellen mit einem hohen Ar-

beits-, Kosten- und Zeitaufwand aufgrund des langen Generationsintervalls von mindestens 3 Jahren verbunden. (Möglicherweise könnte durch eine Marker Assisted Selection der Aufwand verringert werden, falls MAS machbar)

Meiotische Gynogenese

Des Weiteren wurden meiotische Gynogenesen mit Rognern durchgeführt, die in vorangegangenen Anpaarungen niedrige Weibchenanteile in temperaturbehandelten Nachkommenschaften zeigten. Dabei wurde zuerst das Spermium mit einer Lösung aus 2 g Kaliumchlorid auf 1l Wasser gemischt und dann einer fünfminütigen UV - Bestrahlung ausgesetzt. Dies diente der Inaktivierung der männlichen Erbinformation, wobei das Spermium jedoch die Fähigkeit zur Aktivierung der weiblichen Eizellen behielt. Unter Zugabe von einer Befruchtungslösung (bestehend aus 2,42 g Tris, 3,75 g Glycin, 5,52 g Natriumchlorid pro Liter Wasser) wurden dann die Eier mit dem bestrahlten Spermium aktiviert. Somit konnte gewährleistet werden, dass nur die weiblichen Erbinformationen an die Nachkommen weitergegeben wurden. Anschließend wurden die aktivierten Eier der Behandlungsgruppe 25 Minuten nach der Scheinbefruchtung für 20 Minuten in 26°C warmes Wasser verbracht (bis auf 50 Eier, die als haploide Kontrollgruppe dienten), um die Beibehaltung des 2. Polkörpers während der Meiose zu erreichen. Danach wurden die Eier in einem Brutschrank bei 12°C erbrütet, bis sie dann ebenfalls nach dem Schlupf der meiotisch gynogenetischen Brütlinge in eine Kontroll- und eine Behandlungsgruppe aufgeteilt wurden. Die Behandlungsgruppe wurde, wie bei den vorangegangenen Versuchen, 14 Tage nach dem Schlupf für 30 Tage in 18 °C warmes Wasser in die Kleinkreisläufe verbracht. Aus der haploiden Kontrolle, die keiner Hitzeschockbehandlung ausgesetzt wurde, gingen keine schwimmfähigen Fische hervor, was auf eine erfolgreiche Inaktivierung des Spermiums hindeutete.

Der Rogner N_R-1 (39%), der bereits in vorangegangenen Anpaarungen in verschiedenen Jahren wiederholt Nachkommenschaften in den Temperaturbehandlungsgruppen mit niedrigem Weibchenanteil gegenüber den entsprechenden Kontrollgruppen (1. Anpaarung: Behandlungsgruppe: 35%; Kontrollgruppe:47% und 2. Anpaarung: Behandlungsgruppe:39%; Kontrollgruppe:46%) aufwies, wurde auch für eine meiotische Gynogenese herangezogen. Die gynogenetischen Fische wiesen nach Temperaturbehandlung einem Weibchenanteil von 84,2% in der Behandlungsgruppe und von 96,3% in der Kontrollgruppe auf, wobei diese beiden Geschlechterverhältnisse hochsignifikant ($p \leq 0,01$) verschieden von einander waren.

Die Tatsache, dass auch in der Kontrollgruppe männliche Tiere unter den Nachkommen waren, kann auf epistatische Effekte zurückzuführen sein oder auch seine Ursache in der Existenz eines (oder mehrerer) Gens(e) haben, welches(e) in der Lage ist (sind), die Geschlechtshauptfaktoren zu überlagern und so Weibchen mit XX - Hauptgeschlechtsfaktoren zu funktionelle Männchen umzuwandeln (Quillet et al., 2002).

Die durchgeführte Temperaturbehandlung begünstigt offensichtlich die Umwandlung von genetisch weiblichen Fischen in funktionelle männliche Tiere. Diese funktionellen Männchen wären im geschlechtsreifen Alter bei einer Verpaarung mit normalen Rognern in der Lage, rein weibliche Nachkommenschaften zu erzeugen, was noch in Testanpaarungen zu prüfen ist, in die auch die männlichen Fische aus der Kontrolle eingeschlossen werden müssen.

3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Von wissenschaftlicher Bedeutung ist die im vorliegenden Versuchsvorhaben bestätigte Sensibilität des Systems der Geschlechtsausprägung von Regenbogenforellen gegenüber Umweltwirkungen (Temperatur). Es konnte gezeigt werden, dass mit einer auch unter Praxisbedingungen einfach durchzuführenden Temperaturbehandlung eine signifikante Erhöhung des Weibchenanteils zu erreichen ist, bei vergleichbaren Überlebensraten der Fische wie in den nicht temperaturbehandelten Kontrollgruppen und besseren Wachstumsleistungen als in den Kontrollen. Es konnte ferner erstmalig gezeigt werden, dass, bei bestimmten Herkünften und Familien, durch eine Temperaturbehandlung auch höhere Männchenanteile erreicht werden können. Ähnliche Temperaturwirkungen auf die Geschlechtsausprägung wurden auch beim Rotlachs (*Oncorhynchus nerka*) beobachtet (Craig et al., 1996; Azuma et al., 2004). Die Ergebnisse der Temperaturtestung (18°C für 30 Tage) von Nachkommen aus wiederholten Anpaarungen derselben Eltern variierten nur um 1 bis 6%. Beide Elternteile (Milchner und Rogner) trugen zu den verschiedenen Geschlechterverhältnissen in den temperaturbehandelten Nachkommengruppen bei. Da die verpaarten Nachkommen, die zuvor aus Kontrollgruppen temperatursensibler Gelege selektiert wurden, ebenfalls hohe bzw. niedrige Weibchenanteile in ihren Nachkommenschaften zeigten, kann die Sensibilität der Geschlechterverhältnisse gegenüber Temperaturbehandlungen (temperaturabhängige Geschlechtsausprägung) bei Regenbogenforellen als genetisch kontrolliert und vererbbares Merkmal angesehen werden.

Von den Ergebnisse des Forschungsvorhabens könnten Praxisbetriebe direkt profitieren, indem sie diese umwelt- und konsumentenfreundliche Methode zur Erhöhung der Weibchenanteile bei Regenbogenforellen nutzen, die auf jeglichen Hormoneinsatz verzichtet und mit verhältnismäßig geringem Material- bzw. Kapitalaufwand durchgeführt werden kann. So könnten die Forellenbetriebe ihre selbst erzeugte Brut während der geschlechtslabilen Phase einer Temperatur von 16-18°C aussetzen, sofern die Herkunft sich als sensibel erweist. Aber eine erhöhte Wassertemperatur während der Brüttingsphase hatte immer eine positive Auswirkung auf das Heranwachsen der Brütlinge. Auf der anderen Seite könnte im Rahmen von Zuchtprogrammen eine Selektion von temperatursensiblen Regenbogenforellen erfolgen. Aufgrund der erzielten Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass Selektionslinien entwickelt werden könnten, die nach Temperaturbehandlung der Brut je nach Ausgangspopulation erhöhte Weibchen- oder Männchenanteile aufweisen.

Dass es möglich ist, Zuchtlinien für eine hohe Temperatursensibilität der Geschlechtsausprägung durch Selektion zu erstellen, konnte kürzlich bei der Spezies Tilapia (*Oreochromis niloticus*) mit einem Generationsintervall von 9 Monaten in einem Selektionsexperiment zur temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung über zwei Generationen gezeigt werden (Wessels und Hörstgen-Schwark, 2007). Allerdings wäre dieser Weg des Aufbaus von Zuchtlinien bei Regenbogenforellen mit einem hohem Arbeits-, Kosten- und Zeitaufwand aufgrund des langen Generationsintervalls von mindestens 3 Jahren verbunden. (Möglicherweise könnte durch eine MarkerAssistedSelection der Aufwand verringert werden, falls MAS machbar)

Eine mögliche Alternative, rein weibliche Nachkommenschaften zu erzeugen, wäre es, mit Hilfe der bereits in diesem Projekt getesteten meiotischen Gynogenese und einer anschließenden Temperaturbehandlung der Nachkommen, funktionelle

Milchner zu erstellen. Funktionelle Milchner erbringen in Anpaarung mit normalen Rognern weibliche Nachkommenschaften. So hätte man einen zusätzlichen Weg gefunden, bei der Ausmast von Regenbogenforellen auf hohe Stückgewichte über 1,2 kg den Einsatz von Hormonen zwecks Erstellung eingeschlechtlicher weiblicher Populationen überflüssig zu machen.

4. Zusammenfassung

Das Ziel dieses Projektes war es, eine alternative Form (zum sonst üblichen Hormoneinsatz) für die Erzeugung von rein weiblichen Forellenbeständen für die Ausmast auf hohe Körpergewichte (> 1,2 kg) zu eruieren, die in Deutschland umgesetzt werden kann und neben wirtschaftlichen Aspekten den hohen Qualitätsansprüchen, die der deutsche Verbraucher an deutsche Fischprodukte stellt, entspricht. Der hier verfolgte neue Ansatz, die Geschlechtsausprägung bei Forellen zu beeinflussen, beruhte auf der gezielten Veränderung der Haltungstemperatur während der Brüttingsphase. Eine Sensibilität der Geschlechtsausprägung gegenüber Haltungstemperaturen konnte für andere Fischarten (z.B. Tilapien) bereits wissenschaftlich nachgewiesen werden.

Nach technischer Optimierung der Behandlungsabläufe kam eine Behandlungstemperatur von 18°C für 30 Tage, beginnend zwei Wochen nach Schlupf, zum Einsatz. Die Überlebensraten der Brut nach dieser Behandlungsvariante zeigten keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollwerten. Eine erhöhte Wassertemperatur während der Brüttingsphase hatte im Gegenteil eine positive Auswirkung auf das Heranwachsen der Brütlinge. Je nach verwendeter Herkunft und Familie zeigten die Behandlungsgruppen gegenüber den unbehandelten Kontrollgruppen deutlich erhöhte Weibchenanteile (von bis zu 83%) oder deutlich niedrigere (bis zu 30%). Die Ergebnisse der Temperaturtestung (18°C für 30 Tage) von Nachkommen aus wiederholten Anpaarungen derselben Eltern variierten nur um 1 bis 6%. Beide Elternteile (Milchner und Rogner) trugen zu den verschiedenen Geschlechterverhältnissen in den temperaturbehandelten Nachkommengruppen bei. Da die verpaarten Nachkommen, die zuvor aus Kontrollgruppen temperatursensibler Gelege selektiert wurden, ebenfalls hohe bzw. niedrige Weibchenanteile in ihren Nachkommenschaften zeigten, kann bei der Sensibilität der Geschlechtsausprägung gegenüber Temperaturbehandlungen bei Regenbogenforellen von einem vererbbares Merkmal ausgegangen werden.

Forellenbetriebe könnten die entwickelte Temperaturbehandlungsmethode direkt zur Erhöhung des Anteils weiblicher Fische in ihren Produktionspopulationen nutzen, die durch die wärmeren Haltungstemperaturen gleichzeitig einen Wachstumsvorsprung erfahren würden. Auf der anderen Seite könnte im Rahmen von Zuchtprogrammen eine Selektion von temperatursensiblen Regenbogenforellen erfolgen. Aufgrund der erzielten Ergebnisse kann davon ausgegangen werden, dass Selektionslinien entwickelt werden könnten, die nach Temperaturbehandlung der Brut je nach Ausgangspopulation erhöhte Weibchen- oder Männchenanteile aufweisen. Wie schnell die Zuchtlinienentwicklung durchgeführt werden kann, hängt vorrangig von der jeweils zur Verfügung stehenden Ausgangspopulation ab, da große Unterschiede bezüglich der Temperatursensibilität zwischen Herkünften und Familien gefunden wurden. Dass es möglich ist, Zuchtlinien für eine hohe Temperatursensibilität der Geschlechtsausprägung durch Selektion zu erstellen, konnte kürzlich bei der Spezies Tilapia (*Oreochromis niloticus*) mit einem Generationsintervall von 9 Monaten in einem Selektionsexperiment zur temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung über zwei Generationen gezeigt werden (Wessels und

Hörstgen-Schwark, 2007). Allerdings wäre dieser Weg des Aufbaus von Zuchtlinien bei Regenbogenforellen mit einem hohem Arbeits-, Kosten- und Zeitaufwand aufgrund des langen Generationsintervalls von mindestens 3 Jahren verbunden. (Möglicherweise könnte durch eine MarkerAssistedSelection der Aufwand verringert werden, falls MAS machbar)

Eine mögliche Alternative, rein weibliche Nachkommenschaften zu erzeugen, wäre es, mit Hilfe der bereits in diesem Projekt getesteten meiotischen Gynogenese und einer anschließenden Temperaturbehandlung der Nachkommen, funktionelle Milchner zu erstellen. Funktionelle Milchner erbringen in Anpaarung mit normalen Rognern weibliche Nachkommenschaften. So hätte man einen zusätzlichen Weg gefunden, bei der Ausmast von Regenbogenforellen auf hohe Stückgewichte über 1,2 kg den Einsatz von Hormonen zwecks Erstellung eingeschlechtlicher weiblicher Populationen überflüssig zu machen.

5. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen und weiterführende Fragestellungen

Das Ziel des vorliegenden Projektes war es, den Einfluss der Temperatur während der Geschlechtsausprägung bei der Regenbogenforelle vertiefend zu untersuchen. Dazu bedurfte es zunächst der weiteren Optimierung des Behandlungsprotokolls (Behandlungstemperatur, Behandlungsdauer). Dann sollte der Einfluss der Haltungstemperatur während der Brütlingsphase auf die Geschlechtsausprägung bei Regenbogenforellen und auf die Überlebensraten nach der Temperaturbehandlung bei verschiedenen Herkünften und bei Familien innerhalb Herkünften geprüft werden. Es sollte ferner untersucht werden, ob eine Korrelation zwischen der temperaturabhängigen Geschlechtsausprägung und dem Wachstum der Regenbogenforelle besteht. Vorrangig sollte geprüft werden, ob es sich bei der Temperatursensibilität um ein erbliches Merkmal handelt, so dass auch die Nachkommen der Eltern vergleichbare Geschlechterverhältnisse in ihren Nachkommenschaften aufweisen. Diese Ziele wurden, wie in Abschnitt 3.1 berichtet, erreicht. Weitere Nachkommen aus der ersten Selektionsgeneration können erst im Herbst gesext werden. Diese Daten dienen der weiteren Absicherung der bisher erzielten Selektionserfolge.

Über die Ziele des Projektantrages hinaus wurde mittels meiotischer Gynogenesen und anschließender Temperaturbehandlung geprüft, ob bestimmte Rogner, die bereits in vorangegangenen Anpaarungen niedrige Weibchenanteile gezeigt hatten, die Fähigkeit besaßen, über Temperaturbehandlungen funktionelle Männchen zu erzeugen. Dieses Ziel wurde ebenfalls erreicht.,

6. Literaturverzeichnis

- Bundesministerium für Landwirtschaft und Forsten (BMELF), 1999, 2006: Jahresberichte über die Deutsche Fischwirtschaft.
- Baroiller, J.F., Chourrout, D., Fostier, A., Jalabert, B. (1995): Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. J. Exp. Zool. 273, 216 – 223.
- Conover, D.O., (1984): Adaptive significance of temperature dependant sex determination in a fish. Am. Nat. 123, 297 – 313.
- Conover, D.O., Kynard, B. E. (1981): Environmental sex determination: interaction of temperature and genotype in a fish. Science 213, 577 – 579.
- Conover, D.O., Heins, S.W. (1987a): Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish. Nature, 326, 496 – 498.
- Conover, D.O., Heins, S.W. (1987b): The environmental and genetic components of sex ratio in *Menidia menidia* (Pisces: *Atherinidae*). Copeia, 732 – 742.
- Conover, D.O., Van Voorhees, D.A. (1990): Evolution of a balanced sex ratio by frequency dependant selection in a fish. Science, 250, 1556 – 1558.
- Conover, D.O., Van Voorhees, D.A., Ehtisham, A. (1992): Sex ratio selection and the evolution of environmental sex determination in laboratory populations of *Menidia menidia*. Evolution 46, 1722 – 1730.
- Craig, J.K., Foote, C.J., Wood, C.C. (1996): Evidence for temperature dependant sex determination in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). Can.J.Fish. Aqua. Sci. 53, 141 -147.
- Federal European Aquaculture Producers (FEAP): Internet 2007: Trout production In Europe.
- Hörstgen-Schwark, G. (1993): Selection experiments for improving "pan-size" body weight of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 112, 13 - 24.
- Morkramer, S., Hörstgen-Schwark, G., Langholz, H.J. (1985): Comparison of different European rainbow trout populations under intensive production conditions. Aquaculture 44, 303 – 320.
- Müller - Belecke, A., Hörstgen - Schwark, G. (1995): Sex determination in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Sex ratios in homozygous gynogenetic progeny and their offspring. Aquaculture 137, 57 – 65.
- Pieau, C. (1972): Effects de la temperature sur le developement des glandes genitales chez les embryons de deux Chelonians, *Embris orbicularis* L. et *Tesudo graeca*. L.C.: R. Acad. Sci. Paris 274, 719 – 722 (zitiert nach Pieau et al., 1994).
- Pieau, C. (1996): Temperature variation and sex determination in reptiles. Review article. Bioessays 18, 19 – 26.
- Quillet, E., Aubard, G., Queau, I. (2002): Mutation in a Sex-Determining Gene in Rainbow Trout: Detection and Genetic Analysis. The Journal of Heredity. 93 (2), 91-99.
- Römer, U., Beisenherz, W. (1996): Environmental determination of sex in *Apistogramma* (*Cichlidae*) and two other water fishes (*Teleoste*). J. Fish. Biol. 48, 714 – 725.
- Strüssmann, C. A., Moriyama, S., Hanke, E.F., Cota, J.C.C. und Takashima, F. (1996): Evidence of thermo-labile sex determination in Pejerrey. J.Fish. Biol. 48, 643 -651.
- Sullivan, J.A., und Schultz, R.J. (1986): Genetic and environmental basis of variable sex ratios in laboratory strains of *Poeciliopsis lucida*. Evolution 40, 152-158.
- Tessema, M. und Hörstgen-Schwark, G. (2000): Sex ratios in Tilapia (*Oreochromis*

- niloticus*): Interaction between genotype and temperature. Proc.VII.Int. Congress Genetics in Aquaculture, Townsville, Australia, 15-22 July, 118.
- Tessema, M. (2001): Sex ratios in Tilapia (*Oreochromis niloticus*): Interactions between genotype and temperature. Dissertationsschrift, Fakultät für Agrarwissenschaften, Universität Göttingen, Cuvillier Verlag ISBN 3-89873-143-X, 156 Seiten.
- Viets, B.E., Tousignant, A., Ewert, M.A., Nelson, C.E. (1993): Temperature dependent sex determination in the Leopard gecko, *Eublepharis macularius*. J. Exp. Zool. 265, 679 – 683.
- Viets, B. E., Ewert, M.A., Talent, L.G. und Nelson, C.E. (1994): Sex determining mechanisms in squamate reptiles. J. Exp. Zool. 270, 45 – 56.
- Wessels, S., Hörstgen-Schwark, G. (2007): Selection experiments to increase the proportion of males of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by means of temperature treatment. Aquaculture, Volume 272, Supplement 1, 2007, 80-87.