# Aus der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

# PROPHYLAKTISCHER UND THERAPEUTISCHER EINSATZ VON BRAUNKOHLE-HUMINSTOFFEN IN DER NUTZ- UND ZIERFISCHZUCHT

**Inaugural-Dissertation** 

zur Erlangung des Grades eines Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.) durch die Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

eingereicht von

Stefan Heidrich aus Elbingerode/Harz

Leipzig, 2005

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Gotthold Gäbel

Betreuer: Prof. Dr. Jürgen Gropp

Gutachter: Prof. Dr. Kurt Schreckenbach, Institut für Binnenfischerei e. V.

Potsdam-Sacrow, Potsdam

Dr. Thomas Meinelt, Leibniz-Institut für Gewässerökologie und

Binnenfischerei, Berlin

Prof. Dr. Jürgen Gropp, Veterinärmedizinische Fakultät,

**Universität Leipzig** 

Tag der Verteidigung: 06. 12. 2004

### Meiner Frau und meiner Tochter gewidmet

#### Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Einführung in die Stoffklasse der Huminstoffe	3
2.1.1	Ausgewählte Huminstoff-Präparationen	4
2.2	Physiologische und pharmakologische Eigenschaften von Huminstoffen	5
2.2.1	Antibakterielle und antivirale Wirkungen	6
2.2.2	Antiphlogistische und adstringierende Wirkungen sowie Wundheilungseffekte	7
2.2.3	Weitere ausgewählte Wirkungen	9
2.2.4	Einsatz und Effekte in der Tierhaltung	11
2.3	Wirkung und Anwendung von Huminstoffen bei Fischen und aquatischen Organismen	13
2.3.1	Medizinische Wirkungen	13
2.3.2	Wirkungen in der Aufzucht und auf spezielle Körperfunktionen von Fischen sowie	
	Interaktionen mit Xenobiotika in aquatischen Systemen	15
2.3.3	Einsatz in der Aquaristik und Wirkungen auf weitere aquatische Organismen	17
2.3.4	Suche nach Alternativen in der Prophylaxe und Therapie von Fischkrankheiten	18
3	Tiere, Material und Methoden	20
3.1	Hälterung von Goldfischen mit Huminstoff-Bädern	20
3.1.1	Bestimmung der Wasserqualität	20
3.1.2	Versuchsparameter	21
3.1.3	Versuch B I	22
3.1.4	Versuch B II	24
3.2	Aufzucht von Karpfen und Regenbogenforellen mit Huminstoff-Futterzusatz	26
3.2.1	Bestimmung der Wasserqualität	26
3.2.2	Versuchsparameter	27
3.2.3	Versuch F I an Karpfen in teichwirtschaftlicher Haltung	28
3.2.4	Versuch F II an Karpfen in teichwirtschaftlicher Haltung	31
3.2.5	Versuch F III an Regenbogenforellen im Laborversuch	34
3.3	Versuchsauswertung	37
4	Ergebnisse	39
4.1	Physikalische Charakterisierung der eingesetzten HS-Präparationen	39
4.1.1	Präparation in den Versuchen B I und B II	39
4.1.2	Präparation in den Versuchen F I und F III	39
4.1.3	Präparation in Versuch F II	41
4.2	Mortalitätsrate	42
4.2.1	Mortalitätsrate in den Bäderversuchen B I und B II	42
4.2.2	Mortalitätsrate in den Aufzuchtversuchen	44
4.3	Zootechnische Parameter der Aufzuchtversuche	45
4.3.1	Futteraufnahme, Wachstum und Futteraufwand	45
4.3.2	Beobachtungen zu Futter- und Fäzeseigenschaften sowie zur Wasserqualität in Versuch F III	50
4.4	Klinische Symptomatik bei äußerlicher HS-Anwendung (Bäderversuche B I und B II)	50
4.4.1	Befunde an Haut, Flossen und Kiemen	50
4.4.2	Parasitologische Befunderhebung	62
4.4.3	Bakteriologische Befunderhebung	63
4.4.4	Mykologische Befunderhebung	64
4.4.5	Virologische Befunderhebung	64
4.4.6	Sonstige Beobachtungen	65

4.5	Klinische Symptomatik bei oraler HS-Anwendung (Aufzuchtversuche F I, F II und F III)	66
4.5.1	Pathomorphologische Befunderhebung	66
4.5.2	Parasitologische Befunderhebung	67
4.5.3	Bakteriologische Befunderhebung	67
4.5.4	Virologische Befunderhebung	70
5	Diskussion	71
5.1	Physikalische Charakterisierung der eingesetzten Präparationen	71
5.2	Bäderversuche B I und B II	73
5.2.1	Mortalitätsrate in B I und B II	73
5.2.2	Klinische Symptomatik bei äußerlicher HS-Anwendung	73
5.2.3	Umweltbedingungen und Wechselwirkungen in den Versuchen mit HS-Bädern	79
5.3	Aufzuchtversuche	80
5.3.1	Mortalitätsrate in den Versuchen F I, F II und F III	81
5.3.2	Zootechnische Parameter der Aufzuchtversuche	81
5.3.3	Klinische Symptomatik bei oraler HS-Anwendung	84
5.3.4	Umweltbedingungen und HS-Wechselwirkungen bei oraler Applikation	88
5.3.5	Schlussfolgerungen und Ausblick	89
6	Zusammenfassung	91
7	Summary	93
8	Literaturverzeichnis	95
9	Anhang	I
9.1	Hälterung mit Huminstoff-Bädern I (Versuch B I)	I
9.2	Hälterung mit Huminstoff-Bädern II (Versuch B II)	II
9.2.1	Pathologisch anatomische Untersuchung bis zum achten Tag	IV
9.2.2	Pathologisch anatomische Untersuchung bis zum zwölften Tag	XII
9.2.3	Parasitologische Untersuchung	XX
9.2.4	Bakterioskopische Untersuchung auf Myxobakterien	XXIII
9.3	Aufzucht von Karpfen mit Huminstoff-Futterzusatz I (Versuch F I)	XXIV
9.4	Aufzucht von Karpfen mit Huminstoff-Futterzusatz II (Versuch F II)	XXVI
9.5	Aufzucht von Regenbogenforellen mit Huminstoff-Futterzusatz (Versuch F III)	XXIX
9.6	Anwendungsempfehlungen für Huminstoff-Präparationen vom Typ WH 67	XXXI
9.7	Struktureller Aufbau von Boden-Huminstoffen	XXXI

#### Verzeichnis der häufig verwendeten Abkürzungen

Abb. Abbildung(en)

CLK Cellu-Ligno-Karbon-Isolat
GFP Glasfaser-verstärkte Plastik
HA humic acid(s); Huminsäure(n)
HS humic substanc(es); Huminstoff(e)

IR Infrarot

K<sub>0</sub> Dottersacklarve; (fressfähige) Karpfenbrut; Karpfenjungbrut

K<sub>V</sub> vorgestreckte Karpfenbrut

K<sub>1</sub> einsömmrige bzw. -jährige Karpfen
 K<sub>2</sub> zweisömmrige bzw. -jährige Karpfen
 K<sub>3</sub> dreisömmrige bzw. -jährige Karpfen

K<sub>0-1</sub> Aufzucht von Karpfenbrut zu einsömmrigen Karpfen

K<sub>V-1</sub> Aufzucht von vorgestreckten Karpfen zu einsömmrigen Karpfen
 K<sub>1-2</sub> Aufzucht von einjährigen Karpfen zu zweisömmrigen Karpfen
 K<sub>2-3</sub> Aufzucht von zweijährigen Karpfen zu dreisömmrigen Karpfen

KG Kontrollgruppe KM Körpermasse

N Umfang der Grundgesamtheit

n Umfang der Stichprobe; endliche Teilmenge der Grundgesamtheit

n. s. nicht signifikant

p empirische Irrtumswahrscheinlichkeit

Rf<sub>E</sub> Regenbogenforellenlaich

Rf<sub>0</sub> freischwimmende, fressfähige Regenbogenforellenbrütlinge

Rf<sub>v</sub> vorgestreckte Regenbogenforellenbrut

Rf<sub>v-30</sub> Aufzucht von vorgestreckter Regenbogenforellenbrut zu Regenbogenforellen-

setzlingen mit 30 g Körpermasse

Rf<sub>1-3</sub> Aufzucht von Regenbogenforellensetzlingen von 1 g zu 3 g Körpermasse Rf<sub>3-10</sub> Aufzucht von Regenbogenforellensetzlingen von 3 g zu 10 g Körpermasse Rf<sub>10-30</sub> Aufzucht von Regenbogenforellensetzlingen von 10 g zu 30 g Körpermasse

RTG Rainbow Trout Gonads (Gonaden der Regenbogenforelle)
SVC Spring Viraemia of Carp (Frühjahrsvirämie der Karpfen)

Syn. Synonym Tab. Tabelle(n)

Tab. A Anhangstabelle(n)
UV-VIS ultraviolet-visible
VG Versuchsgruppe

WH Weinböhla-Huminsäure(n)

ZK<sub>3</sub> zurückgesetzter dreijähriger Karpfen (als viersömmriger Umtrieb)

 $\Sigma$  Summe

#### 1 EINLEITUNG

Der Einsatz der verschiedenen antimikrobiell wirkenden Arzneimittel ist aus Sicht des Verbraucherschutzes, des Tierschutzes und der öffentlichen Gesundheit nicht zuletzt aufgrund der Resistenzsituation Gegenstand kritischer Auseinandersetzung mit der geltenden Praxis (KLEINGELD et al. 1996, 2001; SIESENOP et al. 1996). Verschiedene Autoren (FUCHS u. HOFFMANN 1999; KLEINGELD u. SCHLOTFELDT 1999 u. a.) setzen die derzeit nur eingeschränkte Auswahl von Medikamenten einem "Therapienotstand" gleich. Aus diesem Grund kommt einer Erweiterung des Medikamentenspektrums, der Suche nach alternativen Behandlungsmöglichkeiten von Erkrankungen der Nutz- und Zierfische, eine hervorragende Bedeutung zu.

Hier bieten sich Huminstoffe (HS) an, die bereits bei landwirtschaftlichen Nutztieren oral eingesetzt werden, in der Humanmedizin dagegen eher bei balneotherapeutischen Verfahren genutzt werden (ZIECHMANN 1996). HS wurden vom deutschen Chemiker F. ACHARD im Jahre 1786 entdeckt, auch das erste Klassifikationsschema und der Begriff "Huminstoffe" wurde von deutschen Wissenschaftlern eingeführt (siehe STEINBERG 2001). Seit einigen Jahren aber erlebt die HS-Forschung insbesondere in der Medizin (z. B. Aufklärung von Wirkungsmechanismen) und den Geowissenschaften (z. B. Bedeutung in limnischen Ökosystemen) eine unübersehbare Renaissance.

Den HS werden antiphlogistische, schleimhautabdeckende, adstringierende, toxinbindende, antibakterielle und viruzide Wirkungen zugeschrieben, über gute Erfahrungen in der Veterinärmedizin bei Erkrankungen der Verdauungsorgane in Verbindung mit Störungen der Verdauung liegen Berichte vor (KÜHNERT et al. 1989; ZIECHMANN 1996). Für die Braunkohle-HS-Präparationen der Fa. Pharmawerk Weinböhla¹ sind weder kanzerogene, mutagene, embryotoxische, fetotoxische noch allergene Eigenschaften bekannt. Bei oraler Applikation lassen sich keine toxischen Wirkungen ermitteln. Die Anwendung von HS soll auch keine Resistenzbildung bewirken (u. a. EICHHORN et al. 1982; KÜHNERT et al. 1989; LANGE et al. 1996; ZIECHMANN 1996).

HS aus nativer Braunkohle erscheinen folglich als eine für die Erprobung in der Fischzucht interessante Stoffgruppe. In der vorliegenden Arbeit sollten daher die Wirkungen von HS bei der Behandlung von Schädigungen an Fischen, die bei Abfischung, Transport und Hälterung entstehen, sowie bei der Konditionierung von Nutzfischen untersucht werden. Beim Auftreten von Fischkrankheiten spielt ein frühzeitiges Eingreifen mit vorwiegend prophylaktischem Charakter sowie ein Vermeiden und Mildern von krankheitsauslösenden Faktoren eine immer größere Rolle. Deshalb wurde neben einem therapeutischen Ansatz auch eine prophylaktische Fragestellung untersucht. Die Versuche gliedern sich in zwei Gruppen, die Verwendung von HS als Zusatz zum Hälterungswasser (HS-Bäder) und als Zusatz zu Futtermitteln.

In zwei Versuchen sollte untersucht werden, ob und inwieweit sich HS-Bäder bei der Hälterung von multifaktoriell erkrankten Goldfischen (*Carassius auratus*), die aus der Frühjahrsabfischung stammten und in teichwirtschaftlichen Anlagen gehalten wurden, positiv auf das Überleben und auf die pathologisch anatomische Befundsituation auswirken. Besonderes Interesse bei den zweijährigen Goldfischen galt den Veränderungen an Haut, Flossen und Kiemen, die nach der Überwinterung und bedingt durch das Handling der Fische (Verletzungen, Stress) auftreten. Als sekundäre Folge mechanischer Verletzungen und suboptimaler Umweltbedingungen präsentieren sich häufig integumentäre Mykosen durch *Saprolegnia sp.* In Vorversuchen (HEIDRICH et al. 1999) konnte ein antimykotischer Effekt von HS-Bädern in der Behandlung durch *Saprolegnia sp.* infizierter Karpfeneier nachgewiesen werden. Es war von Interesse, ob sich der Effekt auch auf durch *Saprolegnia sp.* hervorgerufene integumentäre Mykosen bei Goldfischen erstreckt.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Fa. Pharmawerk Weinböhla GmbH, Poststraße 58, 01689 Weinböhla

Der zweite Versuchsansatz bezieht sich auf die Wirkung einer während der Aufzucht von Nutzfischen dem Futter zugesetzten HS-Präparation. Nachdem sich in Vorversuchen bei der Aufzucht von Regenbogenforellen in Rinnenanlagen positive Effekte auf Fischverluste und Futterverwertung gezeigt hatten (HEIDRICH et al. 1999), sollten in zwei Versuchen bei der Aufzucht von Karpfen (*Cyprinus carpio*; Versuche F I und F II) die Effekte des HS-Futterzusatzes auf die Verlustrate, das Wachstum und das Ausmaß bakterieller Infektionen der inneren Organe geprüft werden. Die Untersuchungen fanden in teichwirtschaftlichen Versuchsanlagen statt, wobei der Versuch F I über drei Aufzuchtperioden, der Versuch F II in drei verschiedenen Besatzdichten über eine Aufzuchtperiode geführt wird. In einem weiteren Versuch (Versuch F III) wurde der Einfluss des HS-Futterzusatzes auf die Futter- und Wassereigenschaften sowie das Wachstum bei der Aufzucht von Regenbogenforellenbrütlingen (*Oncorhynchus mykiss*) in Aquarien untersucht.

In den Versuchen fanden Produkte der Fa. Pharmawerk Weinböhla Verwendung. Der Rohstoff für die HS-Präparationen wird aus einer ausgewählten Braunkohlelagerstätte gewonnen. Die Weinböhla-Produkte, die für die HS-Bäder verwendete "Na-Humat-Lösung" und die in den Fütterungsversuchen eingesetzten pulverförmigen Präparationen "Humocarb, formuliert®" bzw. "Cellu-Ligno-Karbon-Isolat", besitzen die für Braunkohle-HS typische tief braunschwarze Farbe. Der Hersteller empfiehlt "Humocarb, formuliert®" als Antidiarrhoikum für Haus- und Heimtiere, "Cellu-Ligno-Karbon-Isolat" für die Jungtieraufzucht bei eher unscharfer prophylaktischer Indikation bei Verdauungsstörungen. Beide Präparate enthalten als Hauptkomponente hochmolekulare Huminsäure und sollen über das Futter verabreicht werden. "Na-Humat-Lösung" enthält 10 % Na-Humat und ist eine das Wasser stark färbende Flüssigkeit mit annähernd neutralem pH-Wert.

#### 2 LITERATURÜBERSICHT

Für Huminstoffe wurde von deutschsprachigen Autoren in Medizin und Veterinärmedizin bisher vorrangig der Begriff Huminsäuren verwendet. Letztere stellen jedoch nur eine, wenn auch die überwiegende Fraktion der Huminstoffe dar. Sie haben mit ihren vielfältigen medizinisch nutzbaren Eigenschaften die größte Bedeutung erlangt (u. a. KLÖCKING 1972; KLÖCKING et al. 1977, 1983; ANSORG u. ROCHUS 1978; KÜHNERT 1979, 1983; KÜHNERT et al. 1980a, b, 1989, 1992, 1998, 2000).

In Anlehnung an die englischsprachige Literatur wird heute vor allem in den geowissenschaftlichen, chemischen und limnologischen Arbeitsgebieten mehrheitlich der Begriff Huminstoffe (humic substances, HS) verwendet. Dieser Ausdruck findet zunehmend - wahrscheinlich infolge einer Renaissance der Forschung auf diesen und benachbarten Gebieten - eine umfassendere Verbreitung, auch im deutschsprachigen Raum (u. a. ZIECHMANN 1980, 1996; LANGE et al. 1996; STEINBERG 2000, 2001). Zur gewachsenen Bedeutung der HS sei nur auf die Arbeit der 1981 gegründeten International Humic Substances Society (ANON. 2004), u. a. in Deutschland, und auf das Schwerpunktprojekt der Deutschen Forschungsgemeinschaft "Refraktäre Organische Säuren in Gewässern (ROSIG)" verwiesen (KNÖCHEL 1998; ANON. 2001b; FRIMMEL et al. 2002).

#### 2.1 Einführung in die Stoffklasse der Huminstoffe

Die HS zählen zu den bedeutendsten natürlichen organischen Substanzen in terrestrischen und aquatischen Systemen. HS sind braungefärbte, höher- bis hochmolekulare Verbindungen, die sich aus chemisch unterscheidbaren Fraktionen zusammensetzen und saure Eigenschaften aufweisen. Sie sind typische Bestandteile von Böden, damit Naturstoffe und finden sich beispielsweise in Braunkohlen und Torfen. HS entstehen durch chemische und biologische Ab- und Umbauprozesse aus tierischem, pflanzlichem sowie mikrobiellem Material, wobei Mikroorganismen maßgeblich an der Bildung der HS beteiligt sind. Sie können aber auch auf synthetischem Wege hergestellt werden (SEUBERT et al. 1990; SEUBERT 1994)

Die elementare Zusammensetzung der HS ist von ihrem natürlichen Ursprung, der Isolierungsmethode und dem Reinheitsgrad der Produkte abhängig. Kohle-HS weisen im Vergleich zu HS anderen Ursprungs (Boden, Meerwasser) eine höhere Kohlenstoffkonzentration und niedrigere Stickstoff- und Sauerstoffgehaltswerte auf. Wegen der Besonderheiten ihrer Genese kann den HS keine eindeutige chemische Konstitution im Sinne der niedermolekularen Chemie zuerkannt werden. Die sehr polaren Eigenschaften der HS, ihre makromolekulare Struktur und der polydisperse Charakter machen eine exakte Strukturaufklärung unmöglich (ZIECHMANN 1980, 1996; ABBT-BRAUN 1987; HAAG 1999). So existiert heute nur eine Reihe von Näherungsmodellen, wie die Strukturvorschläge von KLEINHEMPEL (1970), s. Abb. A-1 im Anhang, und KICKUTH (1972). Danach sind die Huminsäuren, die Hauptfraktion der natürlichen HS, dreidimensionale Makromoleküle mit Molmassen zwischen etwa 1 bis 200 kD und heterogen verknüpften Bausteinen.

Die Bezeichnung HS umfasst drei Gruppen: die Fulvosäuren (fulvic acids; Synonym: Fulvinsäuren), die Huminsäuren (humic acids, HA) und das Humin. Diese Unterscheidung beruht auf der traditionellen Fraktionierung von Boden-HS. Durch die Behandlung des gesamten HS-Materials mit verdünnten Basen werden die löslichen Fulvosäuren und die HA von den unlöslichen Huminen abgetrennt. Nach der Ansäuerung des alkalischen Extraktes fallen die HA aus. In der Reihenfolge Fulvosäuren, HA und Humin nimmt die Molekülgröße zu und die Reaktivität ab (STEVENSON 1982, 1994; STEINBERG 2001). Die Reaktivität der HA ist in erster Linie von ihren peripheren funktionellen Gruppen abhängig. Dabei kommt vor allem den Stickstoffverbindungen (besonders -NH, -NH2) und den sauerstoffhaltigen funktionellen Gruppen (-COOH, phenolische und alkoholische -OH, =CO, -OCH3, chinoide Gruppen) eine besondere Bedeutung zu. Der Nachweis der funktionellen Gruppen ist mithilfe der IR-Spektroskopie möglich (GÜNZLER u. BÖCK 1983; KNAUF et al. 1983; KÜHNERT et al. 1985). Die Salze der HA sind die Humate (Synonym: Huminate). ZIECHMANN (1996) beschreibt bei der Genese von HS weiterhin

HA-Vorstufen, die aus aromatischen Fragmenten bei der Biosynthese von aromatischen und nichtaromatischen Verbindungen (Ausgangstoffe der HS) und deren partiellem mikrobiellem Abbau über radikalische Zwischenstufen in der so genannten Radikalphase entstehen. Diese HA-Vorstufen gehen im Laufe des Humifizierungsprozesses in HA über.

#### 2.1.1 Ausgewählte Huminstoff-Präparationen

Im Jahre 1967 begann die Fa. Pharmawerk Weinböhla, den Rohstoff für einen standardisierten HS aus einer speziell ausgewählten Braunkohlelagerstätte zu gewinnen. Dieses natürliche HS-Gemisch mit der Hauptkomponente HA erhielt die Bezeichnung Weinböhla-Huminsäure.

Dem internationalen Schrifttum und dem daraus abgeleiteten Bezeichnungsschema dieser Arbeit folgend wäre für die Weinböhla-"Huminsäure" die Abkürzung HA (humic acid) angebracht. Da aber alle Veröffentlichungen, die sich auf Weinböhla-Produkte beziehen, die firmeneigene Bezeichnung "Huminsäure" mit der dem Deutschen entnommenen Abkürzung "HS" und als Produktekurzbezeichnung "HS vom Typ WH 67" (entstand aus Weinböhla Huminsäuren 1967) verwenden, wird im Folgenden für Weinböhla-"Huminsäuren" die Abkürzung "HS" eingeführt.

Aus den Weinböhla-"HS" wurden die ersten veterinärmedizinischen "HS"-Präparationen zur Prophylaxe und Therapie von Durchfallerkrankungen hergestellt. Untersuchungen bestätigen eine weitgehende Homogenität der gewonnenen "HS" (s. Tab. 1). Die Braunkohle-"HS" vom Typ WH 67 weisen wie alle aus pflanzlichen Produkten entstandenen "HS" besondere Flavonstrukturen, u. a. Fisetin, Quercetin, Flavone und Xanthine, auf (Pharmawerk Weinböhla 2002).

Tabelle 1: Elementaranalyse der "HS" vom Typ WH 67, Fa. Pharmawerk Weinböhla

Jahr	C %	Н%	N %	S %	0 %
1976	59,95	6,70	0,65	5,30	27,00
1985	61,90	6,52	0,44	5,44	25,70
1997	60,50	7,21	0,55	4,26	27,50

Messwerte in % der wasser- und aschefreien Substanz

Bei den von der Fa. Pharmawerk Weinböhla in Trockenform angebotenen Handelspräparaten "CLK" (Cellu-Ligno-Karbon-Isolat) bzw. "Humocarb, formuliert®" liegen die natürlichen Braunkohle-"HS" als ein amorphes, geruchloses, in Wasser fast unlösliches und in verdünnter Natronlauge teilweise lösliches Pulver vor. CLK enthält die "HS" vom Typ WH 67 G und Humocarb, formuliert® die "HS" vom Typ WH 67 A mit einem geringen Anteil an Alkali- und Erdalkalihumaten. Die Verteilung der Molmassen der "HS" vom Typ WH 67 liegt mit 27 % zwischen 10 und 50 kD, mit 32 % zwischen 50 und 100 kD und mit 36 % bis 150 kD und reicht für die restlichen 5 % bis 200 kD. Niedermolekulare Verbindungen sind nicht enthalten (KÜHNERT et al. 1985). Mit der Präparation "Na-Humat-Lösung" stehen "HS" vom Typ WH 67 SNa (S für soluble) zur Verfügung, die einen Anteil von 10 % Na-Humat enthält. Na-Humat stellt eine wasserlösliche "HS"-Verbindung dar, die vergleichbare Eigenschaften wie die gesamte Gruppe der "HS" aufweist (BODE 1983; GOLBS u. KÜHNERT 1983; GÖTZE 1986; FERNEKORN 1987). Die Molmassen in dem ausschließlich alkalilöslichen Anteil der "HS" WH 67 SNa sind insgesamt kleiner als in den Feststoffpräparationen. Nach PFÜLLER (1978) beträgt die durchschnittliche Molmasse der im Na-Humat enthaltenen HA 50 bis 70 kD. FERNEKORN (1987) gibt eine Mindestmolmasse von 8,7 kD an. Der pH-Wert der Präparation Na-Humat-Lösung liegt zwischen 7,5 und 8,0².

Das synthetische HS-Präparat HS 1500 (SEUBERT et al. 1990), Fa. Weyl GmbH, Mannheim (heute: Rütgers Organics GmbH), wird von RIEDE et al. (1991) als ein hoch gereinigtes synthetisches Humat

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Persönliche Mitteilung von Herrn Dipl.-Chem. Hartmut Knauf, Weinböhla, 06. Februar 2003

mit einer annähernden Molmasse von 1,5 kD (0,5 bis 2 kD) beschrieben. Das niedermolekulare Humat ist hergestellt aus autoxidierendem Hydrochinon, siehe auch Herstellung und Struktur von HS 1500, z. B. bei SEUBERT et al. (1990) und SEUBERT (1994), und leicht löslich in Wasser.

Die südafrikanische Fa. Enerkom (Pty) Ltd., Pretoria, hat einen Prozess entwickelt, um Steinkohle unter kontrollierter Oxidation mit Sauerstoff (180 °C, 4 MPa) bei hoher Ausbeute zu Humin- und Fulvinsäuren umzuwandeln. Zur Unterscheidung der synthetisierten Kohlederivat-Produkte natürlicher Herkunft wurden sie Oxihumin- und Oxifulvinsäure (oxihumic-, oxifulvic acid) genannt. Eine umfassende massenspektrometrische und gaschromatografische Analyse der Oxifulvinsäure führte zur Identifizierung von etwa 50 verschiedenen Verbindungen (meist Karboxylsäuren und gewöhnliche physiologische Metaboliten) ohne Hinweis auf toxische Komponenten in der Präparation (BERGH et al. 1997; VAN RENSBURG et al. 2001, 2002).

Nach dem oben beschriebenen Prozess wird auch die HS-Präparation "Oxihumate" hergestellt, wobei durch eine nachfolgende Basenbehandlung das wasserlösliche Na-Salz der Oxihuminsäure entsteht (BERGH et al. 1997; VAN RENSBURG et al. 2002). Für Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff werden ungefähre Gehalte von 40 %, 2,5 % bzw. 1 % angegeben. Die HA aus oxidierter Kohle besitzt eine Molmasse zwischen 57 und 70 kD. "Oxihumate" ist als 1%ige Lösung in Wasser und in Form von Kapseln mit 500 mg Wirkstoff erhältlich (PICCOLO et al. 2000; BOTES et al. 2002; JOONÉ et al. 2003).

#### 2.2 Physiologische und pharmakologische Eigenschaften von Huminstoffen

HS, so auch die "HS"-Produkte vom Typ WH 67, werden nur zu einem geringen Teil im Magen-Darm-Trakt resorbiert (BODE 1983; GOLBS 1983; GÖTZE 1986; STEIN 1994). Niedermolekulare HS, wie das niedermolekulare biosynthetische HS 1500, erfahren in der Schleimhaut eine stärkere Einlagerung als die nativen HS-Produkte (STEIN 1994).

BÜSING (2001) beschreibt in ihrer Arbeit die licht- und elektronenmikroskopische Darstellung von "HS"-Partikeln in der duodenalen Darmwand von Schweinen. Die "HS"-Partikel vom Typ WH 67 konnten über die gesamte Darmwand bis in die Tunica muscularis dokumentiert werden. In einem Versuch mit "aktivierten HA" betraf die Lokalisation vorwiegend die Enterozyten, in einem weiteren Versuch mit Dysticum® wurden die "HS"-Partikel in den tieferen Darmschichten gefunden. Dort waren sie sogar in der Tunica media einer Arterie nachweisbar. Die lichtmikroskopischen Befunde wurden auf ultrastruktureller Ebene bestätigt, wobei die Lokalisation der "HS" intrazellulär präzise möglich war. Ultrastrukturell bestätigte sich auch die Lokalisation von "HS"-Partikeln in unmittelbarer Nähe zu Abwehrzellen und Blut- und Lymphgefäßen der Darmschleimhaut.

ZIECHMANN (1993, 1994) untersuchte die Permeation von HS durch die Haut mithilfe eines in-vivo-Modells an der haarlosen Maus. Die HS ergaben bezüglich ihrer Hautpenetration - z. T. konnten Verteilungskoeffizienten bestimmt werden - ein recht differenziertes Bild. Offenbar ist die Penetration von HA-Vorstufen deutlicher ausgeprägt als die der HA selbst, deren Durchdringungsfähigkeit sehr beschränkt zu sein schien. Einige Fraktionen vermochten bis in die Subkutis einzudringen und trafen in diesem Hautbereich danach auf Systeme, mit denen chemische Umsetzungen in vitro bekannt sind, z. B. mit Enzymen. Mit dem beginnenden Vorhandensein weitmaschiger Blutgefäße erscheint damit auch ein weiterer Transport dieser Stoffe möglich. Bei höhermolekularen HS dürften kaum Penetrationseffekte erwarten werden.

Nach STEIN (1994) findet im Hühnerei-Test-Chorio-Allantois-Membran-Test (HET-CAM-Test) eine Diffusion von HS 1500 und Na-Humat ("HS" WH 67) durch die innere Eihaut in das Ei statt.

Von ZIECHMANN (1993) und BEHMEL (1994) wurde weiterhin die Fixierung von HS an Bakterienzellwänden untersucht. Eine Zellwandsorption ließ sich auch bei stark braun gefärbten Zellmassen lichtmikroskopisch unter Phasenkontrast (1000 bis 1600-fache Vergrößerung) nicht beobachten. Um die Wirkung von Hydrochinon-Synthese-HA bzw. der Modellsubstanz Purpurogallin zu untersuchen, wurden elektronenmikroskopische und im Fall von Hydrochinon-Synthese-HA zusätzlich IR-spektroskopische Untersuchungen der Proben vorgenommen. Der Gehalt an Hydrochinonsäure in *Bacillus megaterium* drückte sich im IR-Spektrum kaum aus, obgleich die Trockenzellmasse dunkelbraun gefärbt war. Offensichtlich sorbiert *B. megaterium* während der Kultur weniger als 10 % der Hydrochinon-Synthese-HA. Gleichwohl könnte dieser Befund zu einer Erklärung der bakteriostatischen Eigenschaften der HS beitragen.

Zur Bestimmung der akuten oralen Toxizität (DL<sub>50</sub>) wurden Wistar-Ratten Na-Humate in 15%iger wässriger Lösung in maximal möglicher Dosierung (8-10 mL Ratte-1) appliziert. Selbst mit 11.000 mg Na-Humat kg¹ Körpermasse (KM) wurde die Schwelle der Toxizität nicht erreicht (HAJO 1978). Auch GOLBS (1983) konnte eine akute orale Toxizität von "HS"-Präparationen des Typs WH 67, u. a. Humocarb®, formuliert und Na-Humat an Laboratoriumsratten in der maximal möglichen Dosierung 11.500 mg kg¹ KM nicht ermitteln. Gleichfalls erbrachte die subchronische enterale Verabreichung verschiedener HS-Präparationen, u. a. Na-Humat und Kalumin®, in Dosierungen von 2.000 bis 3.000 mg kg¹ KM an Kaninchen, Hunden, Kälbern und Schweinen (Ferkel und Läuferschweine) über 90 Tage keinen Hinweis auf toxische Nebenwirkungen. Die Ursache hierfür dürfte in der geringen Resorptionsrate im Gastro-Intestinal-Trakt zu sehen sein, die nach oraler Applikation an Ratten nur 0,01 bis 0,07 % bei Nativ-HS beträgt. Bei parenteralen Applikationsformen lassen sich dagegen Toxizitätswerte ermitteln, wonach Na-Humat bei *i. v.* bzw. *i. p.* Applikation als akut toxisch einzustufen ist (GOLBS 1983; KÜHNERT 1983; SCHEINERT 1984).

Aus den biochemischen und pharmakologisch-toxikologischen Eigenschaften kann hinsichtlich der klinischen und nutritiven Anwendung von "HS" des Typs WH 67 in der Veterinärmedizin eine toxikologische Unbedenklichkeit nach oraler Applikation abgeleitet werden; kanzerogene, teratogene, embryotoxische oder reproduktionsschädigende Wirkungen konnten nicht nachgewiesen werden (POLO 1980; KÜHNERT et al. 1989, 1992; ZIMMERMANN 1991).

Nach *i. v.* Applikation einer <sup>14</sup>C-markierten HA-ähnlichen Modellsubstanz ermittelten EICHHORN et al. (1982) bei der Maus eine sehr hohe Aktivität in Leber, Milz, Nieren und den Lymphknoten. HAMPL et al. (1994) bestimmten bei Hühnern grundlegende pharmakokinetische Parameter von intrakardial, oral und subkutan verabreichtem freiem oder Liposomen-eingekapseltem Na-Humat. Abgesehen von der intrakardialen Applikation wurde die höchste Bioverfügbarkeit nach subkutaner Gabe von freiem Na-Humat gefunden.

Das Produkt Oxihumate der Fa. Enerkom (Pty) Ltd., Südafrika, wurde ausgiebig an Tieren untersucht. "Oxihumate" soll nur gering toxisch sein; Studien zur subchronischen Toxizität ergaben nur leichte Veränderungen blutchemischer Parameter bei Dosen ab 100 mg kg¹ (ANON. 1999b). Zwölf Prozent von "Oxihumate" wurden nach oraler Gabe an einem Pavian im Blut gefunden (DORMEHL 1997).

#### 2.2.1 Antibakterielle und antivirale Wirkungen

Bereits NOELLER und KLÖCKING (1972) beschreiben eine vollständige Hemmung des Bakterienwachstums von *B. subtilis* und *St. aureus* durch NH<sub>4</sub>-Humat. Dagegen wurde bei der gleichartigen Überprüfung an *E. coli* keine antibakterielle Wirkung festgestellt. ANSORG und ROCHUS (1978) wiesen im Mikro-Reihenverdünnungstest bei natürlichen aus verschiedenen Bodensorten extrahierten und synthetischen HA unterschiedliche antimikrobielle Aktivitäten gegenüber Repräsentativstämmen human pathogener Mikroorganismen nach (*St. epidermidis, St. aureus, Str. pyogenes, S. typhimurium, Prot. vulgaris, P. aeruginosa* und *C. albicans,* bei *Ent. cloacae* nur synthetische HA). Auf *Str. faecalis* und *E. coli* zeigten die HA hingegen keine Einwirkung. Die Wirkungsintensitäten der natürlichen HA (Rohprodukte ohne eine Anreicherung der wirksamen Komponenten) lagen im Vergleich zu Antibiotika, z. B. der β-Lactamgruppe oder der Aminoglykosidreihe, etwa um zwei bis drei Größenordnungen niedriger. Nur die bei einer synthetischen HA gegenüber *St. epidermidis, St. aureus* und *Prot. vulgaris* ermittelten Mindesthemmkonzentration (MHK) reichte an die Wirkungsintensität der Antibiotika heran.

Neben einer Beschreibung der antibakteriellen Wirksamkeit von Torf durch NAGLITSCH (1983) weisen KÜHNERT et al. (1989) in Prüfungen der "HS"-Präparationen vom Typ WH 67 Na-Huminsäurekonzentrat (Na-HSK), Huminsäurekonzentrat (HSK) und Humocarb, formuliert® im Plattentest konzentrationsabhängige Hemmeffekte gegenüber *E. coli, S. typhimurium, S. cholerae suis* und *St. aureus* nach. Unter den getesteten "HS"-Produkten waren besonders hohe Hemmeffekte bei Humin-säurekonzentrat (HA hier als freie Säure, wasserunlöslich, Molmasse 20 bis 60 kD) zu verzeichnen. Nach Angabe der letztgenannten Autoren werden die antibakteriellen und viruziden Eigenschaften von "HS" weitgehend von ihrer chemischen Grundstruktur bestimmt, wobei diese Aktivität mit zunehmender Molmasse und Verringerung besonders der Anzahl der funktionellen phenolischen OH-Gruppen abnimmt.

VAN RENSBURG et al. (2000) untersuchten die antimikrobielle Aktivität von Oxifulvinsäure-Lösungen, Fa. Enerkom (Pty) Ltd., Südafrika, an Hand des Wachstums von sieben fakultativ pathogenen Bakterien und Candida albicans. Alle acht Mikroorganismen waren gegenüber Oxifulvinsäure sensitiv. Für St. aureus, E. coli, P. mirabilis und C. albicans lag die MHK bei 15 g L-1, für P. aeruginosa und St. pyogenes bei 10 g L-1 sowie für St. faecalis und K. pneumoniae bei weniger als 5 g L-1.

SCHULTZ (1962) setzte HS in Form von Torf erfolgreich in der Bekämpfung eines Ausbruchs der Maulund Klauenseuche bei Schweinen ein und diskutierte erstmals die mögliche Interaktion von natürlich vorkommenden HS mit Viren. Durch umfangreiche Untersuchungen wurde 1975 von KLÖCKING und SPRÖSSIG die Empfindlichkeit von human pathogenen RNA- und DNA-Viren, insbesondere bei Herpessimplex-Virus Typ 1, Influenzavirus A2 und Coxsackievirus A9 gegenüber NH<sub>4</sub>-Humat nachgewiesen. Diese Ergebnisse konnten im Wesentlichen auch auf die HA-ähnlichen Phenolkörperpolymerisate (PKP) übertragen werden. Bei Herpesviren war die antivirale Wirkung von PKP sowohl in vitro als auch in vivo nachweisbar (u. a. KLÖCKING et al. 1983; HELBIG et al. 1997; DENG 1998). LU et al. (2002) berichten über die Inhibierung des Influenza-Virus A/WSN/33 (H1N1) durch HA-ähnliche Substanzen. Die Wirkung, insbesondere der niedermolekularen synthetischen Präparation HS 1500, gegenüber HIV-1-Infektionen ist (in vitro) umfassend bearbeitet worden (u. a. SCHNEIDER et al. 1992; SCHNEIDER et al. 1996). Sie konnte auch für "Oxihumate" nachgewiesen werden (VAN RENSBURG et al. 2002); hier wurde die Infektion von MT-2-Zellen durch das Produkt inhibiert (IC50 von 12,5 µg mL-1).

Ausgehend von der bei einem Pavian gefundenen Plasmakonzentration nach oraler Aufnahme (DORMEHL 1997) kommt HA möglicherweise eine künftige Bedeutung bei der Behandlung von HIV-Patienten (zumindest in Drittweltländern) zu. Ein Versuch an 47 HIV-Patienten mit 2-8 g HA je Proband und Tag über zwei Wochen ließ allerdings keine Schlussfolgerungen zu (BOTES et al. 2002).

#### 2.2.2 Antiphlogistische und adstringierende Wirkungen sowie Wundheilungseffekte

Die entzündungshemmenden Eigenschaften von HS sind seit langem bekannt (TAUGNER 1963; KLÖCKING et al. 1968; KLÖCKING 1972; KÜHNERT 1983; KÜHNERT et al. 1989; WIEGLEB et al. 1993). In der Humanmedizin steht die entzündungshemmende Wirkung der HS bei der Behandlung der rheumatoiden Arthritis (WALTHER 1981) sowie chronischer und subchronischer Entzündungen des Genitalapparates im Vordergrund (BAATZ 1994). Balneotherapeutische Anwendungen von HS haben eine weite Verbreitung gefunden (FLAIG 1992; BAATZ 1994; STÖBER 1994; ZIECHMANN 1996). Doch wird auch über Erfolge bei Peridontalerkrankungen, Dermatitiden, Ekzemen, Verbrennungen, Dekubitus und infizierten Wunden berichtet (ZSUNSHUJ et al. 1981). Die antiphlogistischen Effekte sind insbesondere nach oraler, dermaler bzw. subkutaner HS-Applikation als zeitabhängige Verzögerung der Ödembildung oder als beschleunigte Rückbildung ödematöser Veränderungen im Rattenpfotenödemtest nachgewiesen (KLÖCKING et al. 1968; KÜHNERT 1983; KÜHNERT et al. 1989). Nach KÜHNERT et al. (1989) zeigten die Tiere der "HS"-Gruppe bei ansteigender "HS"-Konzentration die zeitabhängige Rückentwicklung des Ödems nach 3 bis 6 Stunden bei dermaler Anwendung 10 und 20% iger Na-Humat-Lösung und über 6 Stunden bei 20% iger Humocarb-Emulsion. Die Ödem-Rückentwicklungszeit betrug in der Kontrollgruppe 24 Stunden und in der Dimethylsulfoxid-Gruppe 6 bis 24 Stunden. Die gefundenen "HS"-Effekte werden von den Autoren besonders aufgrund des

Vergleichs mit einer etablierten Substanz als klinisch-pharmakologisch bedeutsam eingeschätzt. Auch mithilfe des HET-CAM-Testes konnte die gute Schleimhautverträglichkeit verschiedener untersuchter HS, so auch von Na-Humat und HS 1500, bestätigt sowie ein weiterer Hinweis für ihre entzündungshemmenden und antiirritativen Eigenschaften gewonnen werden (STEIN 1994).

Die antiinflammatorischen Eigenschaften von topisch applizierter Oxifulvinsäure (Kohlederivat-HS der Fa. Enerkom (Pty) Ltd., Pretoria, Südafrika) wurden im Mausmodell bei 4,5 und 9%iger Anwendung im Vergleich zu Diclofenac-Na (1 %) und Betamethason (0,1 %) geprüft. Alle Präparationen unterdrückten die entzündliche Hautreaktion. Die Prüfung ergab am ersten Tag eine bessere Wirkung von Diclofenac-Na und Betamethason gegenüber Oxifulvinsäure (OFA), die dagegen am zweiten Tag bei der 9%iger Anwendung gemeinsam mit Diclofenac-Na das beste Ergebnis brachte. Nach Ansicht der Autoren kann OFA aufgrund der antiinflammatorischen Eigenschaften die Behandlung von entzündlichen Hautveränderungen unterstützen (VAN RENSBURG et al. 2001). In einer Pilotstudie setzten DEKKER und MEDLEN (1999) OFA effektiv in der topischen Behandlung von pyotraumatischen Dermatitiden bei Hunden und Katzen ein. In einer Pilotstudie an 23 (auf Gräserpollen und Hausstaub allergisch reagierenden aber ansonsten gesunden freiwilligen) Probanden wurde eine Salbenformulierung mit 4,5 bzw. 9 % OFA im Vergleich zu Hydrocortison geprüft (SNYMAN et al. 2002). Die etwas unterschiedlichen Ergebnisse (4,5 % OFA vergleichbare Wirkung wie Hydrocortison, 9 % OFA unwirksam) lassen somit keine eindeutigen Schlussfolgerungen zu.

Nach heutiger Kenntnis beruhen die antiinflammatorischen Wirkungen der HS auf der Hemmung des Lipoxygenaseweges der AA-Kaskade (Arachidonic acid, Arachidonsäure) (SCHEWE et al. 1991). Allerdings wiesen RIEDE und SEUBERT (1997) als erste auf die Induktion von Zytokinen (TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$ ) durch einen synthetischen niedermolekularen HS (Molmasse 1,5 kD) hin und schließen auf proinflammatorische Eigenschaften der HS. Das Schlüsselenzym des AA-Metabolismus, die PLA2 (Phospholipase A<sub>2</sub>), wurde von KLINGNER (2002) auf eine Hemmbarkeit durch Stoffe vom HS-Typ, d. h. natürlich vorkommende und synthetische Phenolkörperpolymerisate (PKP) sowie ihren Ausgangsverbindungen, auch Na- und NH4-Humat, in Konzentrationen von 0,002-512 µg mL-1 überprüft. Entgegen den Erwartungen offenbarten die Ergebnisse des Substanzscreenings aber vorwiegend PLA2stimulierende Effekte. Erst bei höheren Konzentrationen traten auch inhibitorische Wirkungen auf. Die vorliegende Ergebnisse lassen nach Aussage der Autorin vermuten, dass vor allem geringe PKP-Konzentrationen in der Lage sind, proinflammatorische Zellsignale auszusenden, deren Wirkung durch die gleichzeitige Hemmung der Lipoxygenase aber limitiert ist. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass die in der Literatur beschriebenen proinflammatorischen und antiinflammatorischen Wirkungen von HS mit großer Wahrscheinlichkeit unterschiedlichen Konzentrationsbereichen der gleichen Substanz zuzuordnen sind. Wird eine PLA2-stimulierende Wirkung unterstellt, könnte auch an den prophylaktischen Einsatz von PKP bzw. HS bei UV-induzierten Strahlenschäden gedacht werden.

In zahlreichen Untersuchungen wurde die adstringierende Wirkung auf die Haut nachgewiesen, die auf die Reaktion der HS mit körpereigenen Eiweißstoffen zurückzuführen ist. Nach GUTENBRUNNER und HILDEBRANDT (1998) fördern HS die Entquellung und fällen zusätzlich Eiweiße durch Koagulation oder Komplexbildung aus. Nach PAINTER (1991) beruht die gerbende Wirkung von Torf gegenüber tierischem Gewebe auf der Maillardreaktion zwischen freien Aminosäurengruppen von Kollagen und reaktiven Karbonylgruppen. RIEDE et al. (1992) finden eine Steigerung der Sehnenreißfestigkeit um 75 % unter der Einwirkung des synthetischen niedermolekularen Humates HS 1500. Die physikochemischen Eigenschaften von ligamentärem Kollagen konnten, offensichtlich durch einen Reifeprozess, so verändert werden, dass es gegenüber mechanischer und chemischer Beanspruchung widerstandsfähiger wurde. Dieser Effekt wird auf eine vermehrte Ausbildung kovalenter Quervernetzungen und Wasserstoffbrückenbindungen im Rahmen des extrazellulären collagen-processing zurückgeführt.

Anwendungen von HS in der Wundbehandlung sind schon seit vielen Jahren bekannt (BANADE u. TEICHMANN 1944). KNOPP und SCHÖTT (1983) fanden eine beschleunigte Ausbildung des Granulationsgewebes unter dem Wundschorf und eine schnellere Retraktion der Wundfläche bei künstlich

durch Hitze erzeugten Erosionen auf der Rückenhaut von Ziegen. So nahm bei topischer Anwendung von "HS" die Wundfläche rasch ab; die Wunde trocknete früher, Granulation und Reinigung der Wunde erfolgte schneller, sodass die Abheilung etwa zwei bis drei Tage früher beendet war. Auch RIEDE (1991) führt aus, dass HS die Reinigung chronischer Hautwunden offenbar durch eine Stimulation der Granulationsgewebsbildung fördern, sodass es zu einer beschleunigten Abheilung kommt. TANG (1981a, b) stellte in klinischen Studien bei der Behandlung von Augenverletzungen mit HA fest, dass die Lichtscheue, der Tränenfluss und die Schmerzen unter einer günstigen Narbenheilung allmählich verschwanden. Diese Wundheilungseffekte werden neben der adstringierenden Wirkung mit einer Unterstützung der Resorption, einer Schmerzstillung und Entzündungshemmung in Zusammenhang gebracht. Weiterhin erzeugen HS günstige Voraussetzungen für eine beschleunigte Abheilung von entzündlichen Prozessen mykotischer und bakterieller Ätiologie (EICHELSDÖRFER 1976).

#### 2.2.3 Weitere ausgewählte Wirkungen

Durch eine Veränderung von Enzymaktivitäten können HS biochemische Reaktionen beeinflussen (u. a. KLÖCKING 1972; ZIECHMANN 1980, 1996).

An einem ausgewählten Beispiel wurde von ZIECHMANN (1993, 1994) die gerinnungshemmende Wirkung einer HA aus Torf und einer synthetischen Hydrochinon-HA vorgestellt. Der Vergleich der Anwendung des Pathromtin-Tests (endogenes System) mit dem Throborel S Test (exogenes System) ergab schon bei geringen Dosen eine deutlich erkennbare chemische Wirkung auf die Faktoren des endogenen Systems, während eine vielfache Menge auf das exogene System nur wenig Wirkung zeigte. Die beim Test-Thrombin beobachtete gerinnungshemmende Wirkung der HA deutet auf eine Hemmung der enzymatischen Wirkung von Thrombin hin.

NAVARA (2001) untersuchte den Einfluss der isolierten natürlichen Moorwasser-HS Na-Humat (Molmasse 7,9 kD) und NH<sub>4</sub>-Humat (Molmasse 7,5 kD, näher beschrieben bei KLÖCKING et al. (1977)), sowie synthetisch zugänglicher HA-ähnlicher Polymere auf die plasmatische Gerinnung und auf die Thrombin-Fibrinogen-Reaktion. Die verwendeten HA und die synthetischen HA-ähnlichen Polymere hemmten den Gerinnungsvorgang konzentrationsabhängig und dürfen als experimenteller Beleg einer Hemmung der Thrombin-Fibrinogen-Interaktion angesehen werden. Diese Wirkung ist im Vergleich zu den therapeutisch eingesetzten Verbindungen Heparin, Pentosanpolysulfat und Reviparin allerdings schwächer ausgeprägt. Eine analoge Wirkung zu der in der Literatur beschriebenen prokoagulatorischen und thrombophilen Wirkung von sog. fluoreszierenden HA (FHA) konnte nicht nachgewiesen werden. Diese Wirkungen der FHA auf das Gerinnungssystem und das Gefäßendothel werden für das Krankheitsbild der Blackfoot disease verantwortlich gemacht (YANG et al. 1994a; YANG et al. 1994b; YANG et al. 1998; GAU et al. 2000; HSEU u. YANG 2002).

Bei Untersuchungen an FHA, isoliert aus dem Trinkwasser des Endemiegebietes der *Blackfoot disease* an der Südwestküste Taiwans, konnte NAVARA (2001) durch eine hohe Konzentration (10-20 mg mL<sup>-1</sup>) eine Verlängerung der Prothrombinzeit und der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit in vitro nachweisen (antikoagulatorische Wirkung). Hingegen bewirkten niedrige FHA-Konzentrationen (0,5-5,0 mg mL<sup>-1</sup>) eine Verkürzung der Gerinnungszeiten (LU et al. 1990). Der prokoagulatorische Effekt der FHA wurde in Verbindungen mit Metallen noch verstärkt, die in Form von HA-Multimetallkomplexen beteiligt waren (LU et al. 1994a). Für die Aldrich-HA wurde von LU et al. (1994b) eine Verkürzung der Prothrombinzeit in einem Bereich von 5 bis 50 µg mL<sup>-1</sup> nachgewiesen.

Die Balneotherapie mit dem Peloid Badetorf weist besonders im Rahmen der Balneogynäkologie bei tubulären Sterilitätsformen, die auf intraperitoneale Verwachsungen zurückgehen, beachtliche und gesicherte Erfolge auf (ÜNLÜ et al. 1988; ZIECHMANN 1993, 1994). Im Tierversuch wurden bei Ratten Adhäsionen künstlich herbeigeführt und bei der anschließenden Behandlung mit wasserlöslichen, gefärbten, HA-Vorstufen enthaltenden Moorextrakten eine deutliche Verringerung der Adhäsionsbildung beobachtet. Hinsichtlich der Wirkung der gynäkologischen Balneotherapie und der Wirkung von Moorinhaltsstoffen auf menschliches Gewebe konnte bei in-vitro-Untersuchungen zur spontanen

Kontraktilität der menschlichen Tubenmuskulatur nach HS- bzw. Moorsuspensionszugabe zum Organbad eine Zunahme der Kontraktionsfrequenz registriert werden, die mit ähnlichen Effekten anderer Substanzen wie Kalium, Kalzium, Natrium oder Acetylcholin vergleichbar ist (KAUFFELS 1990). Zu den Hauptindikationen für die Moortherapie gehören die Sterilität, ferner die Ovarialinsuffizienz, das Klimakterium und genitale Entzündungen (BAATZ 1994). RE und GUALTIEROTTI (1964) beschreiben eine östrogenartige Wirkung von Moorextrakt auf das endokrine System. Die östrogenartige Wirkung des Badetorfs konnte im Allen-Doisy-Test nachgewiesen werden (EICHELSDÖRFER 1976).

Die in Laborversuchen beobachtete Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität durch HA und wässrige Torfextrakte kommt therapeutisch insofern Bedeutung zu, als bei rheumatischen Erkrankungen eine erhöhte Hyaluronidase-Aktivität ermittelt werden konnte, die eine krankhafte Veränderung der als Zwischenzellsubstanz dienenden Hyaluronsäure bewirkt (EICHELSDÖRFER 1976).

Fulvosäuren und HA stimulierten die Zellatmung in den Mitochondrien der Rattenleber, wenn sie in Konzentrationen zwischen 40 und 360 mg L<sup>-1</sup> präsent waren. Niedermolekulare Fraktionen induzierten einen stärker signifikanten Anstieg der Zellatmung als hochmolekulares Material. HA sind in Konzentrationen zwischen 40 und 400 mg L<sup>-1</sup> auch in der Lage, die Effektivität der oxidativen Phosphorylierung in vitro zu steigern, insbesondere nach Kontaktzeiten mit den Mitochondrien von über einer Stunde (VISSER 1987).

Paramunologische Wirkungen von "HS" wurden in Grundlagenuntersuchungen an Ratten untersucht (LANGE 1985; LANGE et al. 1987). Die Versuchsergebnisse ließen den Schluss zu, dass bei oraler Applikation von HS immunstimulierende Einflüsse nicht auszuschließen sind. Die Fähigkeit von HS, verschiedene Funktionen von humanen neutrophilen Granulozyten (PMN) zu stimulieren, konnten RIEDE et al. (1991) nachweisen.

Neue in vivo und in vitro Untersuchungen beschreiben die Effekte von "Oxihumate", dem wasserlöslichen Na-Salz der Oxihuminsäure, auf die proliferative Lymphozytenreaktion an HIV-ifizierten Patienten (JOONÉ et al. 2003). Studien zum Wirkmechanismus ergaben, dass eine Stimulation der proliferativen Lymphozytenreaktion durch "Oxihumate" mit einer steigenden Produktion von IL-2 und mit einem Erhöhung der Anzahl von IL-2-Rezeptoren verbunden ist.

RIEDE (1991) beschreibt die in-vitro-Hemmung der Vermehrung von Ovarialkarzinom-, Magenkarzinom-, Bronchialkarzinom, Nierenkarzinom- und Melanomzellen. Nach ZIECHMANN (1993, 1994) kann die nachweisbare Umsetzung von HS mit dem Enzym Dihydrofolat-Reduktase zu einer Behinderung des Tumorwachstums führen.

TADJERPISHESH (1994) und ZIECHMANN (1996) untersuchten die Wirkung des HS-Präparats HS 1500 auf Kalziumapatitimplantate bei Kaninchen. So besitzt implantiertes bovines Apatit eine hohe osteokonduktive Wirkung, indem es im Wirtsgewebe als Leitschiene zur Ablagerung neu zu bildenden Knochengewebes dient. Es ist gut verträglich, aber schwer resorbierbar. Durch vorherige Beschichtung des bovinen Hydroxilapatits mit dem niedermolekularen HS wird offenbar die Resorption des implantierten Apatits gefördert.

KÜHNERT et al. (1989) weisen darauf hin, dass je nach physikalischer Beschaffenheit der "HS"-Produkte (spezifische Oberflächen) ihre Adsorptionseigenschaften und Ionenaustauscheffekte gegenüber physiologisch aktiven Substanzen im Vergleich zu Carbo medicinalis sehr stark variieren (Chemisorption). "HS" sollen bei oraler Gabe eine Filmbildung auf der Schleimhaut mit Eindringen in das subepitheliale Gewebe bewirken (KÜHNERT et al. 1998). Hervorgehoben werden auch die detoxifizierenden Effekte der "HS", sofern bei toxischen Verbindungen kationische Bedingungen vorliegen, z. B. bei verschiedenen Pestiziden, metallischen Immissionen und Pilztoxinen (KÜHNERT et al. 1980b, 1989; GOLBS u. KÜHNERT 1983; KÜHNERT 1983; GOLBS et al. 1984; FUCHS et al. 1986). Schon RIDWAN (1977) und auch ROCHUS (1983) weisen diese Eigenschaften durch HS-Gaben im Futter nach, die zu einer wesentlichen Senkung der Retentionsrate von Blei und Kadmium im Körper führen.

Spezielle Wechselwirkungen mit Metallen und deren Anwendungen waren und sind Thema umfangreicher Forschungsarbeiten, z. B. HERZIG et al. (2001).

#### 2.2.4 Einsatz und Effekte in der Tierhaltung

Eine Herstellerbroschüre (PHARMAWERK WEINBÖHLA 2002) nennt als Anwendungsgebiete der Präparationen "CLK" und "Humocarb, formuliert®"³ den metaphylaktischen und therapeutischen Einsatz bei unspezifischer Diarrhoe insbesondere auf nichtbakterieller, aber auch infektiöser Grundlage, sowie bei Dyspepsien (Gärungs-/Fäulnisdyspepsie) und Stoffwechseldysregulationen, die durch Umstellung, Futterwechsel, Fehlfütterung oder verminderte Futteraufnahme bedingt sind und in deren Folge Wachstumsstörungen auftreten. Prophylaktisch eingesetzt sollen die Präparate zur Normalisierung der obligaten bakteriellen Magen-Darm-Flora und der davon abhängigen Regenerierung des Stoffwechsels neben einer Entgiftung von exogen oder erst im Magen-Darm-Trakt gebildeten Verbindungen und deren Metaboliten führen.

In der Veterinärmedizin ist die Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes seit langem praktiziert und vielfach beschrieben worden (CHRISTOPH 1956; VOGEL 1956; KÜHNERT 1979; KÜHNERT et al. 1980a, b, 1989, 1991, 1992, 1998, 2000; ELZE 1982; GOLBS u. KÜHNERT 1983; BARTELS 1986; KÜHNERT u. LANGE 1992). Eine Hauptindikation für "HS"-Präparationen ist die orale Applikation bei Durchfallerkrankungen der Jungtiere. Dabei basiert die Indikation auf den adstringierenden und antiphlogistischen, adsorptiven und resorptionshemmenden, antiinfektiösen sowie regenerativen und proinflammatorischen Eigenschaften (KÜHNERT 1979; KÜHNERT et al. 1982). Des Weiteren wird auf eine Regulation der Darmflora, die schleimhautabdeckende Wirkung und eine Stoffwechselstabilisierung verwiesen. Mit Braunkohle-"HS" liegen umfangreiche Erfahrungen bei Erkrankungen der Verdauungsorgane in Verbindung mit Störungen des Verdauungsstoffwechsels von Groß- und Kleintieren (Rind, Schwein, Geflügel, Pferd, Schaf, Ziege, Hund, Katze, kleine Heimtiere, Pelztiere und Zootiere) fast aller Altersstufen vor (KÜHNERT 1979; KÜHNERT et al. 1980a, b, 1989, 1991, 1992, 1998, 2000).

Während der Applikation von "HS" des Typs WH 67 im Rahmen von Verträglichkeitsuntersuchungen an Jungrindern (200 d), Kälbern (30 d) und Schweinen (90 d) konnten keinerlei sensibilisierende Effekte in Form von allergischen Reaktionen und/oder pharmakologisch-toxikologischen Nebenwirkungen festgestellt werden (KÜHNERT et al. 1980b). Im Rahmen der klinischen Prüfung wurde das "HS"-Präparat Kalumin® an mehr als 2.500 Kälber metaphylaktisch (vom 1. bis 20. Lebenstag oral mit 300 mg kg·1 KM) und therapeutisch (mit 600 mg kg·1 KM an 10 Tagen) über die Tränke verabreicht. Bei diesen und weiteren Untersuchungen mit Sulumin® bei Ferkeln konnte die Erkrankungshäufigkeit um 40 bis 50 % gesenkt werden, wobei die Behandlungsquote um 70 % und die Erkrankungsdauer um 33 bis 40 % reduziert wurde. Das durchschnittliche Körpergewicht erhöhte sich bei Kälbern um 6 bis 7 % und bei Ferkeln um 22 %. Die enteritisbedingten Körpermassenverluste der Jungtiere wurden nach therapeutischer Dosierung in der Rekonvaleszenzphase relativ schnell kompensiert.

Eine Weiterentwicklung des Präparates Kalumin® ist Dysticum®, das im Vergleich zu Kalumin® einen um 15 % niedrigeren "HS"-Konzentratanteil zugunsten eines höheren Anteils an Humocarb enthält (KÜHNERT et al. 1989; KÜHNERT u. LANGE 1992). Dysticum® führt ebenfalls zu positiven klinischen Resultaten (FÜRLL u. REINHECKEL 1998). Nach FÜRLL und LEIDEL (2002) sind Effekte insbesondere gegen die Folgen (subklinischer) Pansenazidosen zu erwarten. In Untersuchungen zur Gesundheits-

kum, wird als Pulver eingegeben oder vermischt mit dem Mischfutter angeboten.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Nach Ansicht der Fa. Pharmawerk Weinböhla soll die Präparation "CLK" ein Ausgangserzeugnis nach Futtermittelrecht darstellen. Zweifel an dieser Aussage erscheinen jedoch angebracht (HA sind als Arzneimittel zugelassen, Ausgangserzeugnisse nach Futtermittelrecht dienen der Ernährung und haben damit Nährstoffcharakter, welcher den HS fehlt). Die Verabreichung wird über das Futter oder suspendiert in der Tränke empfohlen. Das Arzneimittel "Humocarb, formuliert®", ein Antidiarrhoi-

stabilisierung im peripartalen Zeitraum bei Milchkühen verwenden die Autoren u. a. 14 Tage ante partum und 14 Tage post partum Dysticum® (100 g d-1; n=39) sowie die Präparation CLK (50 g d-1; n=39), wodurch die Kreatininkinase-Aktivitäten im Serum tendenziell günstig beeinflusst wurden (p<0,05) und weniger Gebärparesen auftraten. Nach Ansicht der Autoren sind anders als bei Mängeln in der Futterqualität unter guten Managementbedingungen offensichtlich keine zusätzlichen Effekte durch HS zu erwarten.

In mehreren Versuchen an frisch abgesetzten Ferkeln wurde geprüft, ob und inwieweit dem Futter zugesetzte "HS" (als Rohprodukt bzw. aktiviert) in subtherapeutischer Dosierung eine Schutzwirkung gegenüber Darminfektionen ausüben und damit möglicherweise zootechnische Parameter verbessern. Ein eindeutiger Effekt auf die zootechnischen Parameter war nicht zu beobachten<sup>4</sup>.

Einen ergotropen Effekt durch den Einsatz von "HS" des Typs WH 67 G in der Schweinemast schildern DUNKEL (1998) und DUNKEL und WALLMEYER (1999). Die genannten Veröffentlichungen behandeln drei Fütterungsversuche beginnend mit Zukaufsferkeln der Rasse Rh/Pietrain F1 bis zur Schlachtung (Versuchsgruppe jeweils N=640, Kontrollgruppe jeweils N=250/260). Im ersten Fütterungsversuch mit 7,5 kg CLK ("HS" WH 67) t1 Futter konnte in der Versuchsgruppe insgesamt ein besseres Aufzuchtergebnis als in der Kontrollgruppe erreicht werden (Anzahl der Masttage 138 vs. 146, Futterverbrauch pro Tier 228 vs. 249 kg, Ausschlachtendgewicht 97,1 vs. 94,8 kg). Die Verlustrate und der Magerfleischanteil waren, wie auch in den folgenden Versuchen, durch CLK ebenfalls positiv beeinflusst. Im zweiten Versuch mit nur 5 kg CLK t-1 Futter wurde gleichfalls ein besseres Aufzuchtergebnis erreicht (Anzahl der Masttage 142 vs. 150, Futterverbrauch pro Tier 240 vs. 269 kg, Ausschlachtendgewicht 97,9 vs. 96,1 kg). Im dritten Versuch mit 5 kg CLK t<sup>-1</sup> Futter wurde nach erheblichen Futterakzeptanz-Problemen in der Kontrollgruppe eine Belastung des verfütterten Weizens mit Fusarientoxinen festgestellt. Bis zur Klärung der Ursache und der nachfolgenden Futterverschneidung sowie Umstellung auf CCM Mais vergingen drei Wochen. Der sichtbar veränderte Weizen wurde "in mehreren Nachbarställen mit gleichen Symptomen" untersucht, wobei "Fusarientoxine z. B. in Höhe von 15,0 mg Deoxynivalenol (DON) und 3,4 mg für Zearalenol (ZEA) kg-1 Futter nachgewiesen" wurden. In der Kontrollgruppe war ein Auseinanderwachsen der Tiere und ein vermehrtes Auftreten von Kümmerern zu beobachten. Zwar verlief die Gewichtsentwicklung in der Versuchgruppe weniger einheitlich als in den beiden vorangegangenen Versuchen, so war aber ohne sichtbare Störungen bei Aufnahme des Fusarientoxinbelasteten Weizen das bessere Ergebnis wieder in der Versuchsgruppe zu verzeichnen (Anzahl der Masttage 151 vs. 165, Futterverbrauch pro Tier 241 vs. 266 kg, Ausschlachtendgewicht 97,3 vs. 95,5 kg). Die Autoren bewerten das HS-Produkt als in der Schweinemast durchaus vergleichbar mit den klassischen antimikrobiellen Leistungsförderern.

YASAR et al. (2002) untersuchten in zwei Experimenten die Wirkung der oralen Applikation von Formagülatör®, einer organischen HA-Präparation auf die Entwicklung von Ratten, die Stickstoffretention, die Histomorphologie des Ileums und den Hydroxyprolingehalt (Bestandteil des Kollagens) im Ileum. Formagülatör® wurde in einer Dosierung von 2,5 g (Formagülatör® Dry) kg¹ Futter und von 3,5 mL (Formagülatör® Liquid) L¹ Tränke geprüft. Die orale Applikation von Formagülatör® Dry führte im ersten Experiment nach 20 Tagen zu einer besseren Körpermassenzunahme und einem höheren Hydroxyprolingehalt im Ileum. Die Ratten beider Formagülatör®-Gruppen besaßen eine größere ileale Epitheloberfläche (gestiegene Höhe der Zotten bzw. Tiefe der Krypten). Im zweiten Experiment waren bei Formagülatör® Dry schon bis zum zehnten Tag (Versuchsende) eine erhöhte Körpermassenzunahme und ein verbesserter Futteraufwand, in beiden Formagülatör®-Gruppen eine gesteigerte Futteraufnahme und ein Anstieg der Stickstoffretention zu verzeichnen.

KOCABAGLI et al. (2002) prüften sechs Wochen die HS-Formulierung "Formagülatör DRY™ Humate" auf Wachstum, Futterverwertung und Schlachtausbeute von Broilern. Die HS-Formulierung wurde

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Persönliche Mitteilung von Frau Dr. Annette Schumacher, Leipzig, 03. Juni 2003

dabei jeweils die ersten drei Wochen, die zweiten drei Wochen bzw. über die gesamte Versuchsperiode verabreicht. Hinsichtlich der Gewichtszunahme ergab nur die spätere Verabreichung von Formagülatör DRY™ Humate einen signifikanten Wachstumseffekt gegenüber der Kontrolle (2,451 versus 2,346 g). Die Verabreichung der HS-Formulierung über die Gesamtperiode und die ersten drei Wochen verbesserte das Körpergewicht nicht signifikant (2,428 und 2,394 g). Der Futteraufwand war vergleichbar günstig beeinflusst. Ein signifikanter Effekt ließ sich jedoch nur in der zweiten Versuchshälfte ermitteln. Schlachtausbeute und relativer Eingeweidefettanteil unterschieden sich nicht.

YÖRUK et al. (2004) untersuchten den Einfluss von 0,1 und 0,2 % Humat (aus "Formagülatör DRY™ Humate") in einer Legehennenration auf Legeleistung und Eiqualität im Vergleich zu zwei Konzentrationen eines probiotischen Futterzusatzes. Die Legehennen waren bei Versuchsbeginn 54 Wochen alt. Die Gruppenstärke betrug 60 und die Versuchsdauer 75 Tage. Die HS-Formulierung verbesserte die Legeleistung (von 63,7 % der Kontrollgruppe auf 70,0 %, signifikanter Zeiteffekt), blieb ohne Einfluss auf das Eigewicht (im Mittel 77,4 g) und verbesserte den Futteraufwand von 2,97 der Kontrollgruppe auf 2,69 (Mittelwert aus beiden Gruppen in kg Futter kg¹ Eimasse, signifikanter Zeiteffekt). Die Mortalitätsrate war durch den Zusatz von Humat bei ebenfalls signifikantem Zeiteffekt wenig, die Eiqualität hingegen nicht beeinflusst.

Den Einsatz von Sorbentien auf der Grundlage von HA zur Reduzierung der Ammoniakbelastung der Stallluft beschreiben SUCHY et al. (1999). Vorab wurde in Labortests die NH<sub>4</sub>+-Sorption einer Boden-HS-Präparation ("Oxihumolith") in NH<sub>4</sub>Cl-Lösungen, berechnet auf Gehalte von 5-500 mg NH<sub>4</sub>+ g·1, untersucht. Bis 300 mg NH<sub>4</sub>+ g·1 war die Sorption, hier in der Höhe von 27,1 mg NH<sub>4</sub>+ g·1 Oxihumolith, signifikant nachweisbar. Weiterhin wurden 3 % Na-Humat im Schweinefutter bzw. 150 g HS m·2 Stallboden d·1 auf eine Reduktion von freiem Ammonium in der Stallluft in vier Versuchsabschnitten bei steigenden Futterzuteilungen geprüft. Im ersten Versuchsabschnitt waren signifikant niedrigere Ammoniumgehalte bei HS-Zusatz zum Futter vorhanden, die in der zweiten Periode nicht bestätigt werden konnten. Der Zusatz von Na-Humat zur Ration bewirkte in der ersten und zweiten Periode einen Anstieg der Stickstoffausscheidung über die Fäzes gegenüber niedrigeren Ausscheidungen über den Harn. Im dritten und vierten Versuchsabschnitt wurden in der Gruppe mit auf dem Stallboden ausgebrachtem Boden-HS jeweils signifikant niedrigere NH<sub>4</sub>+-Gehalte in der Stallluft gemessen.

#### 2.3 Wirkung und Anwendung von Huminstoffen bei Fischen und aquatischen Organismen

#### 2.3.1 Medizinische Wirkungen

GAMYGIN et al. (1991; 1992a, b) sowie SCHRECKENBACH et al. (1991, 1994, 1996) wiesen nach, dass HS einen positiven Einfluss auf den Gesundheitszustand sowie die Kondition von Fischen ausüben. So wurde wiederholt festgestellt, dass HS konditionierend wirken und körpereigene Abwehrprozesse stimulieren können. Durch HS wird die bei Fischen stark ausgeprägte unspezifische zelluläre Abwehr stimuliert; so werten SCHRECKENBACH et al. (1991) nach Temperaturstress und gleichzeitigem HS-Bad eine Aktivierung verschiedener Leukozyten in der Milz und im Blut von Karpfen (*Cyprinus carpio*), die eine forcierte Phagozytose geschädigter Körperzellen und Bakterien insbesondere durch die Hämosiderin-, Lipofuszin- und Melaninmakrophagen sowie die Monozyten und Granulozyten dokumentiert.

Nach STEINBERG (2001) kommt der Stimulierung "ichthyogener" Abwehrmechanismen durch gesundheitlich unbedenkliche Stoffe eine hervorragende Bedeutung zu. Dies können nach Ansicht der Autoren HS natürlichen Ursprungs oder synthetische, HS-ähnliche Stoffe sein. Durch den Einsatz des niedermolekularen synthetischen Humates HS 1500 nach einem Dauerbad mit 20 mg L-1 über 24 Stunden sowie dreitägigen Wiederholungen mit 15 mg L-1 über 24 Stunden im Verlauf von 54 Tagen ging die Parasitierung mit *Trichodina sp.* und *Gyrodactylus sp.* vollständig zurück. Daneben kam es zu einer Ausheilung von Hautgeschwüren und Kiemennekrosen (GAMYGIN et al. 1991). STEINBERG (2001) führt an, dass transportbedingte Sekundärschäden, u. a. Hautläsionen, bei Zier-

fischen durch Applikation von HS innerhalb von 13 Tagen ausheilten, während die Normalmedikamentierung mit FMM (kombinierte Anwendung von Formalin, Malachitgrün und Methylenblau) zum Totalverlust der geschädigten Fische führte.

In Untersuchungen zum Einfluss von HS 1500 auf fakultativ pathogene Bakterien bei Fischen konnten SCHRECKENBACH et al. (1991) zwar in vivo und in vitro keine Wachstumshemmung von Aeromonas hydrophila, Pseudomonas fluorescens und P. putida durch HS 1500 nachweisen, als sekundäre Auswirkungen der Bakterieninfektionen war aber 40 Tage nach der Badebehandlung (15 mg HS 1500 L<sup>-1</sup> über 8 Tage) die Infektionsrate der Lebern verringert. SCHRECKENBACH et al. (1996) sehen darin einen weiteren Hinweis, dass die hauptsächliche Wirkung von HS nicht in der direkten Abwehr von Erregern, sondern vielmehr in der Stärkung der Immunabwehr der Fische zu suchen ist.

Nach neueren Befunden von NEUKIRCH (2003) weisen Flavonoide, die Bestandteile der HS vor allem pflanzlicher Herkunft sind, in vitro eine hemmende Wirkung auf die Vermehrung fischpathogener Viren auf, insbesondere des Koi-Herpes-Virus (KHV), welches seit einigen Jahren in Europa und Übersee verbreitet auftritt und zu seuchenhaften Erkrankungen und schweren Verlusten führt.

Sekundärinfektionen durch Pilze der Gattung Saprolegnia sind bei Fischen und Fischeiern weit verbreitet. Infektionsfähige Pilzstadien sind ubiquitär im Wasser vorhanden (ROBERTS u. SCHLOTFELDT 1985; STEFFENS 1986; SCHÄPERCLAUS 1990; SCHÄPERCLAUS 1998; BOHL 1999; PLUMB 1999; NOGA 2000; HOOLE et al. 2001; WILDGOOSE 2001). Bei der Erbrütung der Eier von Regenbogenforellen (Oncorhynchus mykiss) führte die prophylaktische Applikation des niedermolekularen synthetischen Humates HS 1500 als Dauerbad in den Konzentrationen von 15, 30 und 50 mg L<sup>1</sup> zu einem hervorragenden Schutzeffekt gegenüber künstlich induzierten Infektionen mit Saprolegnia (SCHRECKENBACH et al. 1994). Durch die HS-Behandlung konnte die Absterberate gegenüber unbehandelten Eiern beträchtlich gesenkt werden. Auch die Schlupfrate war signifikant erhöht. Eine herkömmliche Malachitgrünoxalat-Behandlung mit 1 mg L-1 über 30 min alle drei bis vier Tage führte zwar zu signifikant weniger Eiverpilzungen, hatte aber gleichzeitig eine deutlich erhöhte Absterberate und eine abnehmende Schlupfrate zur Folge. Selbst bei juvenilen Regenbogenforellen führte die Anwendung von HS 1500 in Konzentrationen von 15 und 50 mg L-1 über 24 Stunden alle drei bis vier Tage zu gesteigerten Überlebensraten. Die Autoren erklären dies mit einer Stimulierung der Abwehrmechanismen. Bereits bei einstündiger Anwendung von 5 mg HS L-1 über vier Tage konnten GAMYGIN et al. (1992a) keine signifikanten Schädigungen von Regenbogenforelleneiern durch Mykosen feststellen. Mit der herkömmlichen Anwendung von Malachitgrünoxalat wurde keine bessere Prävention der Mykosen erreicht (GAMYGIN et al. 1992 a; SCHRECKENBACH et al. 1994). Malachitgrün besitzt kanzerogene sowie teratogene Eigenschaften und schädigt Fischembryonen während ihrer Entwicklung (EIMEN 1989; MEINELT 1990; MEINELT u. STÜBER 1991; MEINELT et al. 1992; WÖRLE 1995). Nach dem Schlupf wurde die HS-Behandlung fortgesetzt. Dabei kam es innerhalb von fünf Wochen zu einer Erhöhung der Körpermassen und zu einer signifikanten Verringerung der Verluste gegenüber den unbehandelten Kontrollgruppen und den mit Malachitgrünoxalat behandelten (SCHRECKENBACH et al. 1994).

Bezüglich des Einflusses von HS gegenüber Ektoparasitosen konnten GAMYGIN et al. (1991, 1992b) zeigen, dass durch den Einsatz eines synthetischen HS die Anzahl von Ektoparasiten über längere Zeiträume reduziert wird und sich die bei jungen Regenbogenforellen mit einer Parasitierung einhergehende Verluste verringern. SCHRECKENBACH et al. (1991) konnte im Gegensatz dazu keine direkte antiparasitäre Wirkung nach HS 1500-Applikation feststellen. Die von GAMYGIN et al. (1991) gefundenen Effekte gegen Ichthyophthirius sp., Trichodina sp. und Costia sp. (Syn. Ichthyobodo sp.) werden als Resistenzerhöhung der Dermis und Steigerung der Kondition der Fische angesehen. Für die frühen Lebensstadien der Fische geben SCHRECKENBACH et al. (1996) eine Inhibierung der Haftung und Penetration fischpathogener Erreger am Beispiel der infektionsfähigen Pilzstadien von Saprolegnia sp. an.

Auch bei der Kultivierung von Algen konnten mit HS-Präparationen gute Erfolge bei der Bekämpfung von parasitären Pilzen erzielt werden. POUNEVA und CHRISTOV (1992) wiesen an Algenkulturen von Scenedesmus acutus und S. incrassatulus eine starke fungizide Wirkung der Präparationen Biomin (bulgarisches Kohle-HS-Produkt, enthält 47 % aktive Substanz an Na-Humat) und Oxyhumate (extrahiert aus Torf im Institut für Probleme der Nutzung natürlicher Ressourcen und Ökologie, Minsk, Weißrussland) gegenüber parasitären Pilzen der Gattung Phlyctidium nach. Ab einer Konzentration von 1.000 mg aktivem Na-Humat aus Biomin L-1 waren nach 48-stündiger Inkubation einer S. acutus-Kultur, davon 2 % befallen mit *Phlyctidium* P-1, keine Pilz-infizierten Algenzellen vorhanden. Gleichzeitig waren in der unbehandelten Kontrolle 100 % der Algen befallen. Bei dem Torfextrakt Oxyhumat wurde im Bereich von 100 bis 5.000 mg L-1 nur eine konzentrationsabhängige fungistatische Wirkung gegenüber Phlyctidium gefunden. Die Vermehrung von Phlyctidium und der Achlya-Spezies (die Gattung Achlya beherbergt fischpathogene Arten) verläuft abhängig von der Kalziumkonzentration. Da Kalziumund Magnesiumionen mit den Liganden der HS Komplexe bilden, sehen die Autoren in dieser HS-Eigenschaft das Wirkprinzip. Daneben könnten die fungistatischen bzw. fungiziden Eigenschaften der HS aber auch auf deren phenolische und chinoide Komponenten, die für die meisten Pilze toxisch sind, zurückgeführt werden.

## 2.3.2 Wirkungen in der Aufzucht und auf spezielle Körperfunktionen von Fischen sowie Interaktionen mit Xenobiotika in aquatischen Systemen

Unter dem Einfluss eines synthetischen niedermolekularen HS kommt es bei jungen Regenbogenforellen neben der Reduzierung des Parasitenbefalls und damit einhergehender Verluste zu einer Wachstumssteigerung sowie der Senkung des Futterquotienten (GAMYGIN et al. 1991, 1992a, b). Bei Untersuchungen von SCHRECKENBACH et al. (1991) zum Einfluss einer Badbehandlung von HS 1500 (15 mg L¹ über acht Tage) auf Karpfen im Temperaturbelastungstest (SCHRECKENBACH et al. 1984) wurde eine signifikante Erhöhung der Schleimzellen der Haut mit einer zäheren Schleimkonsistenz und eine erhöhte Leukozytenzahl als eine Verringerung der negativen Auswirkungen bei Temperaturanpassungsprozessen gewertet. Eine bestehende Leukopenie wurde bei der HS 1500-Exposition deutlich und z. T. signifikant verringert.

RICHTER (1992) untersuchte Effekte bei Platys (*Xiphophorus maculatus*) aus der Familie der Lebendgebärenden Zahnkarpfen nach oraler Gabe von HS-Präparationen über einen Zeitraum von 120 Tagen. Das synthetische niedermolekulare HS-Präparat HS 1500 und HSK (Huminsäurekonzentrat), ein "HS" vom Typ WH 67, waren jeweils in einer Höhe von 5 % einem handelsüblichen Mischfutter (Mela K 40, Alleinfuttermittel für Karpfen) zugesetzt worden. Die HS bewirkten offensichtlich ein verstärktes Einsetzen der Reproduktion, die in den Kontrollgruppen in der Weise nicht beobachtet wurde. Die niedrigeren Endgewichte der HS-Fische werden vom Autor mit der Stimulierung der Fertilität und den resultierenden höheren Besatzdichten erklärt. Alle Fische zeigten ein kontinuierliches Wachstum bei gutem Allgemeinzustand. Abträgliche Befunde wurden – auch in einem sechsmonatigem Nachbeobachtungszeitraum – nicht erhoben.

Angeregt durch positive Erfahrungen mit natürlichen Substraten bei der Pflege und Zucht südamerikanischer Fischarten (Salmler, Welse und Cichliden) führte WEDEKIND (2002) unter standardisierten Aquarienbedingungen Untersuchungen über die Wirkung von HS aus natürlichen Substraten (Eichelhülsen, Eichenlaub, Eichenholzextrakt, Bucheckerhülsen, Buchenlaub, Kiefernzapfen, Erlenzapfen, Schwarztorfgranulat) durch. Die Behandlungen hatten vorerst, bei den getesteten Substratkonzentrationen von 0,08 bis 1,6 g Trockensubstanz L-1, keine negativen Auswirkungen auf die Versuchsfische Roter Neon (*Paracheirodon axelrodi*), Glühlichtsalmler (*Hemigrammus erythozonus*), Kakadu-Zwergbuntbarsche (*Apistogramma cacatuoides*) und Antennen-Harnischwels (*Ancistrus dolichopterus*). Insgesamt reagierten die Versuchsfische durchweg positiv (Ausprägung arttypischen Komfortverhaltens, der Körper- und Flossenfarbe, Revierverteidigung) - wenn auch nicht quantifizierbar - auf die

Behandlung. Die Zusätze zum Aquarienwasser hatten nach Ansicht des Autors offenbar einen vitalisierenden Effekt, wobei besonders die das Wasser stark braun färbenden Erlenzapfen wirksam waren.

Längerfristige Expositionen des Synthese-HS-Präparates HS 1500 scheinen nach STEINBERG et al. (2002c) in Konzentrationen von 5 bis 50 mg L<sup>-1</sup> die Überlebensrate der Brut des Zebrabärblings (*Danio rerio*) zu erhöhen. Bei Exposition von 500 mg HS 1500 L<sup>-1</sup> überlebten keine Larven und Embryonen. In einer weiteren Untersuchung wurden jeweils 50 Individuen einer Generation des Schwertträgers (*Xiphophorus helleri*) in Wasser drei verschiedenen Konzentrationen an HS 1500 (5, 30, 180 mg Dissolved Organic Carbon (DOC) L<sup>-1</sup> gehalten und *ad libitum* gefüttert. Alle HS-Konzentrationen wirkten sich fördernd auf die Gewichtszunahme aus. Diese positive Wirkung der HS veränderte sich auch durch künstlich induzierten Stress infolge täglichen Abkescherns nicht grundlegend.

Auch bei Fischen werden enzymbeeinflussende Wirkungen von HS bzw. HA-ähnlichen Polymeren beschrieben. So fanden VARANKA et al. (1999) anhand von in-vitro-Untersuchungen vorrangig inhibitorische Effekte von mehreren Verbindungen, z. B. Phenol, Kaffeesäure und Gerbsäure, auf Karpfenkatalase und diskutieren Struktur-Wirkungs-Beziehungen. STEINBERG et al. (2002c) wiesen eine Induktion des Hitzeschock-Proteins 70 (hsp 70) in den Kiemen von jungen Karpfen bei 24-stündiger Exposition von 5 mg DOC aus Suwannee River FA L-1 nach. In weiteren Versuchen stellte sich heraus, dass sowohl geringere Konzentrationen als auch andere HS-Quellen ebenfalls zu einer Expression von hsp 70 führen. Demnach können auch HS bestimmte Proteine so verändern, dass körpereigene Reparaturmechanismen in Kraft treten.

STEINBERG et al. (2002b) besprechen die Wirkung von HS auf die Biokonzentration und die Toxizität von organischen lipophilen Chemikalien. Dadurch, dass sich aromatische Teile und untergeordnet auch die aliphatischen Strukturen mit lipophilen Stoffen (polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe) verbinden können, vermindern sich deren Bioverfügbarkeit, die Biokonzentration und die Toxizität.

HS können Einfluss auf die Bioverfügbarkeit und Wirksamkeit beispielsweise von Medikamenten nehmen. Wie auch bei anderen vorhandenen Wasserinhaltsstoffen und Xenobiotika besteht die Möglichkeit, dass Interaktionen auftreten, die zu einer Wirkungs- und Toxizitätsänderung führen (STEINBERG 2000; HAITZER et al. 2001; STEINBERG et al. 2002b; MEINELT et al. 2001b, 2002, 2003a, b, 2004a, b). MEINELT et al. (2001b) zeigten in Versuchen mit juvenilen Lebensstadien von Zebrabärblingen (Danio rerio) in Testwasser mit unterschiedlichem Gehalt an Kalzium und HS eine verminderte Toxizität eines Mischpräparats aus Formalin, Malachitgrün und Methylenblau (FMC) in Anwesenheit von HS auf. In diesem Zusammenhang wirkten Ca-lonen toxizitätsverstärkend. MEINELT et al. (2003a, b) fanden im Einzelnen, dass bei Malachitgrün höhere Ca-Gehalte die Toxizität steigern, während HS toxizitätsvermindernd wirken. Auch gegenüber Formalin wurden entgiftende Wirkungen gefunden. Bei dem Mischpräparat FMC steigerten allerdings HS die Mortalität vor dem Schlupf, während dessen die Toxizität gegenüber den geschlüpften Larven durch HS und niedrige Ca-Gehalte reduziert wurde. Auch bei der Anwendung von Acriflavinhydrochlorid, einem in der Therapie von Fischkrankheiten verbreiteten Akridinfarbstoff, ist eine Interaktion von Kalzium und HS, verbunden mit einer veränderten Toxizität, nachweisbar (MEINELT et al. 2002). Gegenüber der toxischen Wirkung von Kadmium besitzen Kalzium und HS einen Schutzeffekt bei Zebrafischembryonen (MEINELT et al. 2001a). Die Interaktionen von HS und Metallionen bei Fischen, insbesondere protektive Effekte durch HS, sind umfassend Gegenstand der Forschung und vielfach beschrieben (u. a. ZITKO et al. 1973; BROWN et al. 1974; WITTERS et al. 1990; PEURANEN et al. 1994; ROULEAU et al. 1994; RICHARDS et al. 1999, 2001; VAN GINNEKEN et al. 2001; VARANKA et al. 2001; BRAUNER u. WOOD 2002; MEINELT et al. 2004a). Einen Überblick zu Wirkungen von HS und HS-ähnlichen Substanzen, so auch deren Aufnahme und direkte Effekte, bei aquatischen Organismen geben Steinberg et al. (2003).

#### 2.3.3 Einsatz in der Aquaristik und Wirkungen auf weitere aquatische Organismen

HA und Torfextrakte im weiteren Sinne werden seit Jahrzehnten in der Aquaristik zur biologischen Verbesserung der Wassereigenschaften und zur Erzielung eines besonderen Milieus eingesetzt. Dies geschieht beispielsweise in Form des HA-haltigen Präparats Torumin® (TETRA GERMANY 2004), das dem Hälterungswasser zugesetzt wird und bei der Haltung von Schwarzwasserfischen, bei der Prophylaxe und adjuvanten Therapie von Fischmykosen und gegen die so genannte Schwebealgenblüte Verwendung findet.

Des Weiteren sind mehrere Produkte auf Torfbasis zur Anwendung in Gartenteichen auf dem Markt, die insbesondere zur Verminderung einer übermäßigen Algenentwicklung bestimmt sind. Bisher wurden derartige Wirkungen mit einer pH-Wert-Absenkung und dem lichtdämpfenden Effekt durch die Einfärbung und -trübung des Wassers erklärt. In diesem Zusammenhang berichtet auch TEICHFISCHER (1999) bei der Verwendung von Torf im Teich über sehr günstige Auswirkungen auf das Wasser und damit auf die Fische. Die HA im Torf bewirke, dass sich bei einem Ausgangs-pH von 8,0 ein optimaler pH-Wert von 6,5 bis 7,5 einstellt. Durch diesen niedrigeren pH-Wert geht auch die Bakteriendichte im Wasser zurück. Weiter wird Algenentwicklung im Wasser vermindert, was der Autor ebenfalls auf den etwas abgesenkten pH-Wert und eine leichte Braunfärbung des Wassers zurückführt.

WEDEKIND (2002) stellte in seinen Untersuchungen zu den Wirkungen von HS aus natürlichen Substraten auf Fische und Wasserchemie fest, dass sich zwar die Gesamthärte bei allen geprüften Behandlungen nicht veränderte, aber die Karbonathärte sich teilweise, insbesondere bei der Verwendung von Torfgranulat (1,6 g TS L-1), deutlich reduzierte. Auch zeigte sich überwiegend ein gleichmäßiger und z. T. sehr deutlicher pH-Wert-Abfall. Der Verlauf des Säurebindungsvermögens entsprach weitgehend dem pH-Wert. Der Gehalt von NO3 stieg bis zum Versuchsende nach 43 Tagen mehr oder weniger konstant an, maximal im Falle von Torfgranulat von 6,5 auf 37 mg L-1. Damit ist insbesondere bei mehrwöchigem Einsatz von handelsüblichem Torfgranulat der Nitratgehalt des Wassers zu beachten, zumal bei geringen Sauerstoffkonzentrationen eine erhebliche Gefahr der Entstehung von Nitrit durch Denitrifikation besteht. Die anderen Naturstoffe erwiesen sich zwar als wirksam, können aber wegen baldiger Zersetzung im Aquarium oder wegen Verpilzung nur für eine Anwendungsdauer von weniger als zwei Wochen empfohlen werden.

Bei den Untersuchungen von RICHTER (1992) in Aquarien wurde bei oraler Verabreichung von HS 1500 über das Futter gegenüber den Vergleichsgruppen im Versuchsaquarium ein ungewöhnlich starkes Pflanzenwachstum bei den verwendeten *Cabomba aquatica, Egeria densa* und *Myriophyllum heterophyllum* sowie ein Grünalgenbelag auf der Rückscheibe und das Auftreten der grünen Fadenalge (Barthaaralge) festgestellt. Dagegen war im Versuchsaquarium bei oraler Applikation von HSK (Huminsäurekonzentrat), ein "HS" vom Typ WH 67, sowie bei Zusatz von HS 1500 zum Aquarienwasser und in den zwei Kontrollen zwar bei ungefährer Verdopplung des Pflanzenkörpers ein kontinuierliches Wachstum zu verzeichnen, welches aber keine Unterschiede in der Wachstumsintensität erkennen ließ.

Nach STEINBERG und BRÜGGEMANN (2002a, b) muss sich von der Vorstellung gelöst werden, dass HS nur eine Wirkung auf das Ökosystem haben. HS können sowohl auf einzelne Organismen als auch auf Ökosysteme mehr als eine Wirkung gleichzeitig ausüben, die sich u. U. auch gegenseitig aufheben. Am Beispiel des Algenwachstums werden hemmende und fördernde Effekte diskutiert; beide sind auf bestimmte Strukturen der HS zurückzuführen. Im Beitrag von STEINBERG et al. (2002d) wird ein Überblick über die direkte Wirkung von HS auf aquatische Pflanzen gegeben. HS verändern die Produktion von Wasserpflanzen und werden gelegentlich zur Bekämpfung von unerwünschten Algen eingesetzt. Zu dem herkömmlich angenommenen Mechanismus, dass die chromatophoren Gruppen der HS mit den Algen um die Photonen konkurrieren (Lichtauslöschung), wird als ein weiterer Mechanismus der direkte Eingriff in die Photosynthese angeführt. Hierfür werden die chinoiden Strukturen (chemische Elektronenfallen) in den HS verantwortlich gemacht. Anhand von Untersuchungen mit drei sehr unterschiedlichen HS, u. a. HS 1500, in der Konzentration von 0,5 mg

sehr unterschiedlichen HS, u. a. HS 1500, in der Konzentration von 0,5 mg DOC L-1 wurde die hemmende Wirkung auf die Sauerstoffproduktion der Grünalge Scenedesmus armatus nachgewiesen. In nachfolgenden Untersuchungen an Makrophyten und weiteren zusätzlichen HS traten die Effekte noch deutlicher, dargestellt an Hornblatt (Ceratophyllum demersum) und Javamoos (Vesicularia dubyana), zutage.

Die in einem Fall förderliche Wirkung eines HS auf beide Makrophyten, die allerdings auch in früheren Arbeiten mit einer Grünalge (*Scenedesmus subspicatus*) aufgefunden worden war (STEINBERG u. BACH 1996), ließ sich nur schwer erklären.

PFLUGMACHER et al. (2001) konnten bei unterschiedlichen pflanzlichen und tierischen Spezies aquatischer Organismen direkte Effekte, z. B. die Aktivierung der mikrosomalen und löslichen Glutathion-S-Transferase, durch einen HS in einer Konzentration von 0,5 mg DOC L-1 aufzeigen. STEINBERG et al. (2002b) belegen anhand der HA-ähnlichen Modellsubstanz Kaffeesäure, dass HA von aquatischen Organismen aufgenommen und wie Xenobiotika entgiftet werden. Direkte Wirkungen von HS konnten am Beispiel von Nematoden, Wasserflöhen, Köcherfliegenlarven, Wasserschnecken und Fischen (Karpfen) nachgewiesen werden (THAM et al. 1997; HÖSS et al. 2002; STEINBERG et al. 2002a, c).

#### 2.3.4 Suche nach Alternativen in der Prophylaxe und Therapie von Fischkrankheiten

Die Behandlung erkrankter Nutzfische mit wirksamen Medikamenten ist in der Europäischen Union derzeit aufgrund eines umfassenden Therapienotstandes nur mit erheblichen Einschränkungen möglich (FUCHS u. HOFFMANN 1999; KLEINGELD u. SCHLOTFELDT 1999 u. a.). Hinzu kommen die Nachteile aus dem langjährig ausgedehnten und teilweise unbedacht hohen Einsatz herkömmlicher Prophylaktika und Therapeutika, wie beispielsweise von Antibiotika, Chemotherapeutika sowie Triphenylmethanfarbstoffen und anderen Wirkstoffen zur Behandlung bakterieller, parasitärer und umweltbedingter Erkrankungen sowie zur Ertragssteigerung. Als Folge dieses Einsatzes haben sich ungünstige Resistenzsituationen für die Behandlung von bakteriellen Erkrankungen bei Tier (und Mensch) entwickelt (KLEINGELD et al. 1996; SIESENOP et al. 1996).

KLEINGELD et al. (2001) erläutern anhand der Auswertung von umfangreichen Antibiogrammdaten und Hemmstofftests, durchgeführt bei Warmwasser-Zierfischimporten aus Südostasien, zuzüglich von Daten aus der Praxis des Staatlichen Fischseuchenbekämpfungsdienstes Niedersachsen und des Fischgesundheitsdienstes, Hannover, die sich verschlechternde Resistenzsituation bei den überwiegend nachgewiesenen fakultativ pathogenen Aeromonas- und Pseudomonas spp. gegenüber in der Fischzucht bekanntermaßen verwendeten Antibiotika- und Chemotherapeutika. Infolge des ausgedehnten Einsatzes sind mit steigender Tendenz insbesondere Warmwasserzierfische, aber auch Kaltwasserzierfische und Nutzfische betroffen. Die Entstehung von ausgeprägten Therapeutikaresistenzen (z. B. Resistenzrate von 90,1 % gegenüber Oxytetrazyklin bei den untersuchten Warmwasserzierfischen) führen die Autoren auch auf die Praxis der wahllosen, unkontrollierten bzw. prophylaktisch durchgeführten antibiotischen Behandlungen bei Zierfischzüchtern und Großhändlern zurück.

Durch die Anwendung von Antibiotika zeigen sich auch bei Fischen Nebenwirkungen, obwohl diese spezifisch auf den Stoffwechsel der Bakterienzelle einwirken und die therapeutische Breite sehr groß ist. Im Zusammenhang mit dem Einsatz von bakteriziden Substanzen bei bakteriellen Erkrankungen von Fischen führen HOFER und LACKNER (1995) aus, dass längerfristig oral verabreichtes Oxytetrazyklin (OTC) immunsuppressiv wirkt und die Neubildung von Blutzellen vermindert. Eine Normalisierung der Blutbildung tritt erst nach weitgehender Elimination des Antibiotikums aus der Niere (nach etwa drei Wochen) wieder ein. Aufgrund des Ausscheidungsverhaltens von OTC sind Wartezeiten von 30 Tagen einzuhalten. Im Eistadium mit Chlortetrazyklin behandelte Fischbrut weist oft Deformationen auf, da sich diese Substanz im Skelett der Fische wesentlich stärker anreichert als bei höheren Wirbeltieren. Trotz geringer akuter Toxizität von Sulfonamiden können lange Behandlungszeiträume subletale Nierenschäden (Ödem und Hämorrhagien im Bereich der Nierentubuli) hervorrufen. Obwohl Sulfonamide rasch ausgeschieden werden verbleiben geringe Mengen noch sehr lange im Gewebe erhal-

ten, so dass Fische erst 90 Tage nach Behandlung für den Konsum geeignet sind. Auch der Einsatz weiterer bekannter und wirksamer Fischtherapeutika, wie z. B. Formalin, Chloramin-T und Malachitgrünoxalat, ist oft mit einer Reihe von Nebenwirkungen und Risiken verbunden. Diskutiert werden z. B. für das antiparasitär und fungizid wirkende Malachitgrün ausgedehnte toxikologische Effekte bei Fischen und Säugetieren, so auch das karzinogene, mutagene, chromosomenschädigende, teratogene Potential und die Wirkung als Atemgift, weiter histopathologische Folgen und Multiorganschäden sowie signifikante Alterationen biochemischer Blutparameter von Malachitgrün-exponierten Fischen (SANCHEZ et al. 1998; SRIVASTAVA et al. 2004).

Die teilweise in der Aquaristik und im Gartenteichbereich verwendeten Präparate mit Zusätzen natürlicher HS in Form von naturbelassenem Torf und Extrakten, z. B. aus Torf und Eiche, unterliegen je nach Herkunft und Aufbereitung starken Schwankungen in Gehalt und Zusammensetzung, weshalb wissenschaftliche Erklärungen zu Wirkung und Wirksamkeit sowie deren Vergleichbarkeit schwer fallen. Außerdem werden sie bisher ausschließlich als Wasserpflegemittel empfohlen (TEICHFISCHER 1999; TETRA GERMANY 2004).

Trotz positiver Erfahrungen existieren bisher keine zugelassenen Arzneimittel für Fische auf der Grundlage von HS, deren Applikation über das Fischwasser (Badebehandlung) oder oral über das Futter möglich wäre. Gerade die bisherigen umfangreichen Erfahrungen in der Veterinärmedizin bei Großund Kleintieren lassen auch bei Fischen einen Zusatz von HS zum Futter Erfolg versprechend erscheinen. Nicht zuletzt die geringe, wenn nicht fehlende Rückstandsproblematik für Lebensmittel liefernde Tiere, die gute Verträglichkeit für Tier, Mensch und Umwelt sowie die sich verstärkende Resistenzproblematik für Antibiotika bilden einen günstigen Ausgangspunkt für HS in der Suche nach Alternativen zu den herkömmlichen Chemotherapeutika.

#### 3 TIERE, MATERIAL UND METHODEN

Das Kapitel ist nach Versuchen gegliedert. Zuerst werden die Versuche mit Zusatz einer Na-Humat-Lösung zum Fischwasser in der teichwirtschaftlichen Hälterung von Goldfischen (*Carassius auratus*) beschrieben, darauf folgend die Versuche an Karpfen (*Cyprinus carpio*; Teichwirtschaft) und Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*; Laborversuch), in denen HS dem Alleinfutter zugesetzt worden war. Nähere Angaben finden sich in Tabelle 2.

Tabelle 2: Übersicht über die Versuche

Applikationsweg	HS-Quelle	Versuch
Bad (Zusatz von HS zum Fischwasser)	Na-Humat-Lösung Na-Humat-Lösung	Hälterung von Goldfischen (Versuch B I) Hälterung von Goldfischen (Versuch B II)
Futter (Zusatz von HS zum Alleinfutter)	Humocarb, formuliert® Cellu-Ligno-Karbon-Isolat Humocarb, formuliert®	Aufzucht von Karpfen (Versuch F I) Aufzucht von Karpfen (Versuch F II) Aufzucht von Regenbogenforellen (Versuch F III)

Zur physikalischen Charakterisierung der HS-Präparationen wurde jeweils ein Infrarot (IR)-Spektrum und von Humocarb, formuliert® und Cellu-Ligno-Karbon-Isolat zusätzlich ein UV-VIS-Spektrum am Institut für Anorganische Chemie der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität zu Köln (Greinstraße 6, 50939 Köln) aufgenommen. Zur Messung des IR-Spektrums wurde ein aliquoter Teil langsam bei Raumtemperatur getrocknet und der Rückstand eingesetzt. Die Aufnahme des IR-Spektrums erfolgte als KBr-Pressling im Bereich von 400-4000 cm-¹ (Auflösung 4 cm-¹) mit einem FT-IR-Spektrometer IFS 66V/S (Fa. Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Deutschland). Das UV-VIS-Absorptionsspektrum der Präparation wurde mit einem UV-VIS-NIR-Spektrometer CAREY 5 E (Fa. Varian Optical Spectroscopy Instruments, Mulgrave, Victoria, Australien) im Bereich von 200-700 nm mit einer Schrittweite von 1 nm und einer Auflösung von 2 nm aufgenommen. Die Interpretation des IR-Spektrums wurde mit Unterstützung von Herrn Dr. rer. nat. Dipl.-Chem. Matthias Dahm (Frankenring 100, 41812 Erkelenz) durchgeführt.

#### 3.1 Hälterung von Goldfischen mit Huminstoff-Bädern

In beiden Versuchen an Goldfischen (B I und B II) wurde die Wirkung des Huminstoffs vom Typ WH 67 SNa in Form einer 10%igen Na-Humat-Lösung (Fa. Pharmawerk Weinböhla, Weinböhla, Deutschland, Ch.-Nr. 230398) als Zusatz zum Fischwasser überprüft. Dazu wurde die 10%ige Na-Humat-Lösung so dem Fischwasser zugesetzt, dass sich im Behandlungsbad eine Konzentration von 10 mg Na-Humat L-1 ergab. Durch Vorversuche war die Verträglichkeit von halbstündigen Behandlungen bei Wassertemperaturen im Bereich von 10,2-14,7 °C und einem Sauerstoffgehalt von mindestens 7,4 mg L-1 abgesichert worden.

#### 3.1.1 Bestimmung der Wasserqualität

Die Untersuchungen der Parameter der Stickstoffreihe, des pH-Wertes, der Härten und des Sauerstoffgehaltes erfolgten unmittelbar nach den Probennahmen mit dem Aquamerck® Kompaktlabor für Wasseruntersuchungen, Art.-Nr. 11151 (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland). In Versuch B II stand zusätzlich ein Messgerät "OxyGuard" (Fa. OxyGuard International A/S, Birkeroed, Dänemark) für die tägliche Bestimmung der Wassertemperatur, des Sauerstoffgehalts und der Sauerstoffsättigung (SAT) des Wassers zur Verfügung.

Der Ammoniak-Gehalt ist mit der Gleichung von HOFER und LACKNER (1995) berechnet worden (%  $NH_3 = 100 / (10^{pka-pH} + 1)$ ; pKa = 0,09018 + 2729,92 / T (°K)). Zur Vermeidung von Schäden soll nach SCHÄPERCLAUS (1990) der Grenzwert von 0,02 mg  $NH_3$  L-1 nicht überschritten werden. Der

Gehalt an salpetriger Säure (HNO<sub>2</sub>) ist mit Hilfe der Tabellenwerte von SCHRECKENBACH und SPANGENBERG (1983) nach Angaben von WEDEMEYER und YASUTAKE (1978) aus NO<sub>2</sub> bestimmt worden. SCHRECKENBACH und SPANGENBERG (1983) geben als höchstzulässige HNO<sub>2</sub>-Konzentration für Karpfen 0,0004 mg L-1 an.

#### 3.1.2 Versuchsparameter

Während der Versuche wurden täglich alle verendeten Fische in Anlehnung an die von AMLACHER (1992) beschriebenen Methoden pathologisch anatomisch und parasitologisch mit dem Abstrichverfahren untersucht. Die moribunden Fische wurden täglich bei deutlichen Anzeichen des Sterbens, wie dem anhaltenden Verlust der Fähigkeit zur aufrechten Körperhaltung, einer stark verlangsamten Atemfrequenz und fehlender Fluchtreflexe, ebenfalls zur Untersuchung entnommen und den Verlusten zugeordnet.

Bei Versuchsende und in Versuch B II zusätzlich am 8. Tag wurden alle Fische abgekeschert und einzeln zur Vermeidung von Stressfaktoren möglichst unter der Wasseroberfläche beurteilt, wobei die pathophysiologischen Veränderungen mit Schwerpunkt Haut, Flossen und Kiemen graduell bewertet wurden. Für die deskriptive und statistische Auswertung wurde eine gering-, mittel- bzw. hochgradige Befundung jeweils einem Score I, II bzw. III zugeordnet. Die Verwendung der Scores für die statistische Auswertung erfolgte im Sinne diskreter Größen. Ein negativer Nachweis oder keine Veränderungen entsprachen dem Score 0. Bei der Zusammenfassung einzelner Befunde richtete sich der Sammelbefund nach dem jeweiligen maximalen Ausprägungsgrad der Symptome oder des Befallsgrades.

Durch die Bestimmung des Ausgangsstatus in Versuch B II war es möglich, die Prävalenzraten<sup>5</sup> und zusätzlich die Inzidenzraten<sup>6</sup> pathologisch anatomischer Veränderungen zu bestimmen und Unterschiede zwischen dem Behandlungserfolg nach acht bzw. zwölf Tagen aufzuzeigen. Hieraus sollten Empfehlungen zur Behandlungsdauer abgeleitet werden.

Zur Beurteilung des Parasitenbefalls gingen - um die Nachweisbarkeit von einzelligen Parasiten zu gewährleisten - nur lebende (Versuchsende) bzw. moribunde Fische in die Auswertung ein (AMLACHER 1992). Die Untersuchung der Haut- und Kiemenabstriche erfolgte gleichfalls bakterioskopisch auf das Vorkommen von Bakterien der *Cytophaga/Flexibacter*-Gruppe, Syn. Myxobakterien (ROBERTS u. SCHLOTFELDT 1985; SCHÄPERCLAUS 1990). Die Ergebnisse der nativen bakteriologischen Untersuchung wurden semiquantitativ beurteilt. Die Abundanz<sup>7</sup> (Befallsdichte pro Proband) der Parasiten wurde nach deren Anzahl im mikroskopischen Sichtfeld bestimmt, wobei ein bis drei Parasiten einem geringgradigen vier bis zehn Parasiten einem mittelgradigen sowie elf und mehr Parasiten einem hochgradigen Befall entsprachen. Zum mikroskopischen Nachweis der Monogenea kam eine zehnfache, für Protozoen eine 40fache Vergrößerung zum Einsatz. *Argulus sp.* wurden makroskopisch am Fisch ausgezählt.

#### 3.1.2.1 Post-mortem-Untersuchungen

Am letzten Untersuchungstag wurde eine Stichprobe (n=5) erkrankter Fische jeder Gruppe zur pathomorphologischen, bakteriologischen, parasitologischen, mykologischen und gegebenenfalls zur virologischen Untersuchung in die Abteilung Veterinärmedizinische Diagnostik der Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen (Standort Leipzig, Beethovenstr. 25, 04107 Leipzig) gebracht. Die Entnahme des Probenmaterials sowie die Einlieferung und der Umgang mit diesem entsprachen den "Richtlinien für die Entnahme und das Einsenden von Untersuchungsmaterial"

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Die Prävalenzrate ist definiert als die Zahl der Erkrankten bzw. die Häufigkeit eines Symptoms bezogen auf die Population in einem Raum.

<sup>&</sup>lt;sup>6</sup> Die Inzidenzrate (Inzidenz = Neuerkrankungsziffer) bezeichnet die Zahl neuauftretender Fälle einer Krankheit oder eines Symptoms pro Zeiteinheit bezogen auf die Population in einem Raum.

<sup>&</sup>lt;sup>7</sup> Abundanz: Flächen- oder raumbezogene Anzahl von Organismen (absolute Abundanz); gibt die vitale Gesamtindividuenanzahl der jeweiligen Art an

(GRÖTSCH u. BAUER 1990). Weiterhin wurden die in diesen Richtlinien angeführten besonderen Hinweise für die Entnahmetechnik bei den virologischen und bakteriologischen Untersuchungen beachtet.

Zur Tötung der zu untersuchenden moribunden bzw. lebenden Fischen der Stichproben wurde ein kräftiger gezielter okzipitaler Schlag durchgeführt. Anschließend erfolgte, wo notwendig, zur Sicherstellung des Todes ein Durchtrennen der Wirbelsäule hinter dem Kopf sowie jeweils das Ausnehmen im Zuge der Sektion (ANON. 1993, 1997). Weiter unter Beteilung des Promovenden erfolgte die Sektion, nachfolgend die pathologisch anatomische und stichprobenweise histologische Untersuchung der Organe sowie das Beimpfen der Nähragar-Böden, Blutagar-Böden und Wasserblau-Metachromgelb-Agar nach Gassner für die bakteriologische Untersuchung. Die Kultivierung erfolgte bei 20 bis 22 °C. Nähere Angaben zur Methodik finden sich bei SIESENOP und BÖHM (2000a), zu Nachweis und Differenzierung bei SIESENOP und BÖHM (2000b). Die Untersuchung auf Pilzbefall erfolgte mikroskopisch an Hand des Hyphen- bzw. Pilzsporen-Nachweises bzw. kulturell unter Verwendung von Sabouraud-Agar. Die parasitologische Untersuchung wurde in der Regel durch den Promovenden selbst vorgenommen. Die virologische Untersuchung in Versuch B I auf das Virus der Frühjahrsvirämie der Karpfen (SVC, spring viraemia of carp) richtete sich nach der Entscheidung 92/532/EWG (ANON. 1992). Das Organmaterial zur Virusanzüchtung wurde über drei Passagen RTG (Rainbow Trout Gonads)- und EPC (Epithelioma papillosum cyprini)-Zellkulturen geführt.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung wurden semiquantitativ durch das Auszählen der koloniebildenden Einheiten (KBE) beurteilt. Bis zu 30 KBE wurden einem geringgradigen, bis zu 100 KBE einem mittelgradigen und mehr als 100 KBE einem hochgradigen Befall zugeordnet.

#### 3.1.3 Versuch B I

Die Behandlung mit Na-Humat-Lösung bestand aus einem täglichen einstündigen Bad (jeweils um die Mittagszeit) über einen Zeitraum von vier Tagen, die Beobachtungsdauer erstreckte sich über vier Tage mit einer Nachbeobachtungszeit von vier Wochen. Für den Versuch wurden 2 x 322 Goldfische, in GFP- Silos gehalten, verwendet.

#### 3.1.3.1 Tiere

Für den Versuch standen zweijährige Goldfische (*Carassius auratus auratus* LINNAEUS 1758) mit einer Körperlänge von 11 bis 20 cm und einer Körpermasse von ca. 25 bis 90 g aus der Frühjahrsabfischung der Teichwirtschaft und Satzfischzucht Oelzschau GbR, Hauptstrasse 17, 04552 Borna (Leipziger Südraum) zur Verfügung. Die Tiere stammten aus derselben betrieblichen Population und waren dem natürlichen Keimdruck der sie umgebenden Umwelt ausgesetzt.

Der Fischbestand aus Goldfischen und Koi (*Cyprinus carpio* LINNAEUS 1758) wurde abgefischt und nach Aussagen des Eigentümers über zwei Stunden mit 10 kg Kochsalz m<sup>-3</sup> mit dem Ziel einer Reduzierung von ubiquitären Ektoparasiten behandelt und anschließend zur Hälterung in GFP-Silos transportiert. Aufgrund der wahrscheinlich zu langen bzw. konzentrierten Kochsalz-Behandlung kam es bei den Fischen zu einem Verlust des natürlichen Schleimüberzuges der Haut.

Infolge der allgemeinen Schwächung nach der Überwinterung und der üblichen Maßnahmen wie Abfischen, Zählen, Wiegen, Transport und Hälterung wiesen die Fische zunehmend auffällige Krankheitssymptome auf. Sechs Tage nach der Abfischung wurde eine Stichprobe durch den Fischgesundheitsdienst der Sächsischen Tierseuchenkasse (Standort Dresden, Löwenstraße 7a, 01099 Dresden) und der Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen (Standort Dresden, Reichenbachstr. 71/73, 01217 Dresden) untersucht. Die Sektion von fünf Fischen mit einer Körperlänge von 17 bis 20 cm und schlechtem Allgemeinzustand ergab Hautläsionen, Flossenrandnekrosen, Ekchymosen an den Flossen sowie Randnekrosen, Blutungen und eine vermehrte Schleimbildung an den Kiemen. Die inneren Organe zeigten sich unauffällig. Viszeralfett war vorhanden. Ektobzw. Endoparasiten waren durch die parasitologische Untersuchung nicht nachweisbar. Die bakterio-

logische Untersuchung erbrachte einen mittelgradigen Gehalt an beweglichen Aeromonaden sowie einen geringgradigen Gehalt an *Pseudomonas sp.* in den inneren Organen. Der Erreger der Frühjahrsvirämie der Karpfen, das SVC (spring viraemia of carp)-Virus, wurde nicht nachgewiesen.

Auch nach weiteren vier Tagen war das Verlustgeschehen nicht rückläufig. Die Krankheitssymptome verstärkten sich. Fünf untersuchte Fische mit einer Körperlänge von 11 bis 19 cm und einer Körpermasse von 25 bis 80 g wiesen hochgradige Flossenrandnekrosen mit Verpilzung und teilweise hochgradige Nekrosen in den Kiemen auf. Daraufhin wurde der Versuch zehn Tage nach der Abfischung des erkrankten Fischbestandes begonnen.

#### 3.1.3.2 Material und Methoden

Die in einem GFP-Silo gehälterten Goldfische des Bestandes wurden vollständig abgekeschert und die einzelnen Exemplare unter Beachtung der zufälligen Auswahl der Reihe nach abwechselnd auf zwei weitere Silos (Kontrollgruppe, Versuchsgruppe) verteilt.

#### 3.1.3.2.1 Haltung und Fütterung

Die für den Versuch benutzten GFP-Silos besaßen einen Durchmesser von 153 cm bei einer Höhe von 90 cm. In der Mitte befand sich jeweils ein Plastikrohr als Abfluss, so dass sich ein Wasservolumen von 1,5 m³ ergab. Die Silos wurden mit einer Mischung aus Teich- und Brunnenwasser, jeweils zur Hälfte, versorgt. Dieses Wasser lief zur Sauerstoffanreicherung und Austreibung eventuell in Übersättigung stehender Gase (Brunnenwasser) über einen Zylinder. Die Zylinder waren befüllt mit Plastikteilen mit einer großen Oberfläche (SCHMIDT 1998). Der Zulauf in das Silo erfolgte seitlich von der Mitte, so dass eine leichte Kreisströmung erzeugt wurde. Die Wasserzufuhr war auf einen kontinuierlichen Durchfluss von 40 L min-¹ eingestellt. Die tägliche Fütterung erfolgte mit einer geringen Menge (Abtropfgewicht ca. 1 kg je Gruppe) an lebenden Wasserflöhen (*Daphnia sp.*).

#### 3.1.3.2.2 Umweltbedingungen

Tabelle 3: Wasserparameter in Versuch B I

Versuchs- und Kontrollgruppe; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

Wasserparameter	Minimum-Maximum
Temperatur (°C)	10,5-11
$O_2$ (mg L <sup>-1</sup> )	7,5-8
рН	8
NH <sub>4</sub> + (mg L-1)	0-0,1
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	0-0,002
$NO_{2}$ (mg L-1)	0-0,1
HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	0-3.10-6
NO <sub>3</sub> - (mg L-1)	50
SBV (mmol L-1)	8,0
GH (mmol L <sup>-1</sup> )	7,9

Die Wassertemperatur, der pH-Wert, die Gehalte an Sauerstoff, Ammonium, Ammoniak, Nitrit, salpetriger Säure, Nitrat, das Säurebindungsvermögen (SBV) und die Gesamthärte (GH).

Das Wasser wurde zu Beginn und Ende des Versuchs jeweils in beiden Silos untersucht. Die Temperatur wurde täglich bestimmt. Alle gemessenen Parameter lagen im physiologischen Bereich für Goldfische (s. Tab. 3 sowie Tab. A-1 und A-2).

#### 3.1.3.2.3 Behandlung mit Na-Humat-Lösung

Zur Behandlung wurde jeweils der Wasserzufluss unterbrochen. Zur Aufrechterhaltung des Sauerstoffgehalts des Wassers von 7,5 bis 8,0 mg L<sup>-1</sup> während der Behandlung diente eine leichte Begasung mit reinem Sauerstoff. Dazu wurde ein ringförmiger Stahlrohrausströmer auf dem Boden des Silos positioniert.

#### 3.1.3.3 Versuchsverlauf

Während des Versuchs B I traten nach einstündiger Anwendung bei 10,5–11,0 °C traten keine Besonderheiten auf. Der Versuch verlief ohne Auffälligkeiten.

#### 3.1.4 Versuch B II

Die Behandlung bestand aus einem täglichen Bad von 1,5 bis 2 Stunden Dauer mit Na-Humat-Lösung. Der Behandlungszeitraum wurde auf zwölf Tage ausgedehnt, wobei eine Untersuchung aller Goldfische am achten Tag sowie zu Versuchende durchgeführt wurde. Das Behandlungswasser färbte sich in weniger als einer Stunde nach Wiederherstellung des Wasserzuflusses aus. Für den Versuch standen 2 x 100 Goldfische zur Verfügung.

#### 3.1.4.1 Tiere

Für den Versuch wurden zweijährige Goldfische (*Carassius auratus auratus* LINNAEUS 1758) mit einer Körperlänge von 9 bis 14 cm und einer Körpermasse von ca. 12 bis 40 g aus der Frühjahrsabfischung der Fischzucht Beucha, Inh. Udo Wolf, Fischereiweg 1, 04651 Bad Lausick (Leipziger Südraum) verwendet. Die Tiere stammten aus derselben betrieblichen Population und waren dem natürlichen Keimdruck der sie umgebenden Umwelt ausgesetzt. Die Goldfische wurden abgefischt, am gleichen Tag transportiert und 700 Stück des Bestandes in einer GFP-Rinne gehältert. Die Fische wiesen Krankheitssymptome wie Körperschräglage, geschwürige und verpilzte Hautveränderungen, Schleimhautabschürfungen, Flossenrandnekrosen, Blutungen an den Flossen und der Haut sowie Kiemenschwellungen bzw. blassrote anämische Kiemen mit punktförmigen Nekrosen auf.

Fünf erkrankte Goldfische des Bestandes wurden eingangs, vor Beginn des zweiten Versuchs der Hälterung mit HS-Bädern untersucht. Bei einer Körperlänge von 10 bis 14 cm und einer Körpermasse von ca. 15 bis 35 g wiesen die Fische einen guten Ernährungszustand, aber einen schlechten Allgemeinzustand auf. Auffällig waren eine schräge Körperhaltung, eine erschwerte Atmung und bis zu hochgradige Verpilzungen an den Körperseiten ausgehend von geschwürigen Veränderungen der Haut. Weiterhin befanden sich an den Körperseiten multiple Ekchymosen in der Nähe von geschwürigen Veränderungen. Die Kiemen waren entweder blassrot, am Ansatz z. T. weniger blass und mit stecknadelkopfgroßen weißen Nekrosen, oder dunkelrot und geschwollen. Durch die parasitologischen Untersuchungen der Fische wurden ein hochgradiger *Trichodina sp.*-Befall und geringgradiger *Ichthyobodo sp.*-Befall der Haut und der Kiemen sowie zusätzlich ein geringgradiger *Gyrodactylus sp.*-Befall der Haut und ein geringgradiger *Dactylogyrus sp.*-Befall in den Kiemen nachgewiesen. In der Bauchhöhle befand sich etwas vermehrt Transsudat.

#### 3.1.4.2 Material und Methoden

Am Tag nach der Abfischung erfolgte die Entnahme von 200 Goldfischen aus dem Bestand. Von diesem Pool wurden zuerst 86 Fische mit pathologischen Veränderungen selektiert, die nochmals auf Blöcke zu 12 Fischen mit hochgradig, acht Fischen mit mittelgradig, 66 Fischen mit geringgradig ausgeprägten pathologisch anatomischen Veränderungen aufgeteilt wurden. Die übrigen 114 Fische bildeten einen Block ohne sichtbare Veränderungen.

Die Fische der einzelnen Blöcke wurden nach dem Zufallsprinzip auf zwei Gruppen verteilt, die jeweils in einer GFP-Rinne untergebracht wurden. Den Gesamtbefund und die sich ergebene Verteilung der Gruppen mit jeweils N=100 Goldfischen zeigt die Tabelle 4.

Tabelle 4: **Pathologisch anatomische Befundauswertung (Gesamtbefund) zu Beginn von Versuch B II**Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Tag	Score*)	VG	KG
1	0	57	57
	I	33	33
	II	4	4
	III	6	6

<sup>\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

#### 3.1.4.2.1 Haltung und Fütterung

Für die Versuche standen zwei GFP-Rinnen zur Verfügung. Die Rinnen besaßen eine Länge von 388 cm und eine Breite von 75 cm. Durch ein entsprechend als Überlauf angebrachtes Plastikrohr ergab sich ein Wasservolumen von jeweils 0,6 m³ bei einem Wasserstand von 20 cm in der Mitte der Rinnen. Die Rinnen wurden vor dem Besetzen grob gesäubert. Zur Wasserversorgung diente Teichwasser aus einem mit einjährigen Karpfen (K₁) besetzten Aufzuchtteich. Die Wasserzufuhr war auf einen kontinuierlich mit einem Durchfluss von 15 L min-¹ eingestellt.

Die Fütterung der Goldfische erfolgte wie in der Praxis der teichwirtschaftlichen Hälterung üblich täglich einmal mit einem Alleinfuttermittel für Karpfen per Hand in einer minimalen Menge (ca. 0,1 % der Lebendmasse), die sofort gefressen wurde.

#### 3.1.4.2.2 Umweltbedingungen

Tabelle 5: Wasserparameter in Versuch B II

Versuchs- und Kontrollgruppe; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Wasserparameter	VG: Minimum-Maximum	KG: Minimum-Maximum
Temperatur (°C)	17,7-22,8	17,7-22,6
$O_2$ (mg L <sup>-1</sup> )	3,9-9,6	6,3-9,9
Sauerstoffsättigung (%)	45-109	72-110
рН	7,5≤x<9	8≤x<9
NH <sub>4</sub> + (mg L-1)	0,2-0,8	0,2-0,8
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	0,007≤x<0,25	0,007≤x<0,26
$NO_{2}$ (mg L-1)	0,2-0,3	0,2-0,3
HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	5·10 <sup>-7</sup> ≤x≤2·10 <sup>-5</sup>	5·10 <sup>-7</sup> <x≤8·10<sup>-6</x≤8·10<sup>
NO <sub>3</sub> - (mg L-1)	25-30	25-30
SBV (mmol L-1)	6,5-6,8	6,5-6,8
GH (mmol L <sup>-1</sup> )	3,3-3,4	3,3-3,5

Bei Ablesewerten x des pH-Werts zwischen den Intervallen der Farbskala (0,5 Einheiten) ergeben sich für nachfolgend berechnete pH-abhängige Werte (x-NH<sub>3</sub>, x-HNO<sub>2</sub>) ebenfalls Intervalle in der Versuchsgruppe (VG) und Kontrollgruppe (KG).

Der Gehalt des Wassers an Ammonium/Ammoniak, Nitrit und Nitrat, der pH-Wert und die Härten wurden in jedem der drei Versuchsabschnitte untersucht (Tab. 5; einzelne Versuchstage Tab. A-3 und A-4).

Die untersuchten Wasserparameter lagen überwiegend im physiologischen Bereich für Goldfische. Nur zeitweise wurden Grenzbereiche für den Ammoniakgehalt und während der Behandlungen in der Versuchsgruppe für den Sauerstoffgehalt und die Sauerstoffsättigung erreicht (s. Tab. A-3 bis A-5).

#### 3.1.4.2.3 Versuchsverlauf

Angesichts der offensichtlichen guten Verträglichkeit einstündiger Na-Humat-Bäder (Versuch B I) sollte eine weitere Erhöhung der Behandlungsdauer ausgehend von 1,5 Stunden auf ursprünglich 2,5 Stunden in zwei Schritten von 0,5 Stunden im Vier-Tage-Rhythmus geprüft werden. Im zweiten Behandlungsdrittel kam es während der Behandlung am sechsten Tag bei steigender Wassertemperatur auf 21,1 °C zu einer Absenkung der Sauerstoffkonzentration auf 3,9 mg L-1 bei einer Sauerstoffsättigung von 45 % (s. Tab. A-3). Den Sauerstoffgrenzwert zur Erhaltung normaler Lebensbedingungen gibt ITAZAWA (1971) für Karpfen mit 4,2 mg L-1 und 47-49%iger Sättigung an. Auch wenn Goldfischen allgemein ein geringerer Sauerstoffbedarf zugeschrieben wird (PENZES u. TÖLG 1993), waren bei weiter steigenden Wassertemperaturen suboptimale Versuchsbedingungen nicht auszuschließen. Weiterhin war während des zweiten Versuchsabschnittes durch verstärkte Assimilation der Wasserpflanzen im Vorfluter ein Ansteigen des pH-Wertes auf bis zu 8,5 am siebenten Tag festzustellen. Durch Probemessungen des pH-Wert-Verlaufs während der Behandlung wurde am achten Tag innerhalb der zweistündigen Expositionsdauer des HS ein Absinken des pH-Wertes um ca. eine Stufe festgestellt (s. Tab. A-6). Während der Behandlung zeigten zwei erkrankte Fische Gleichgewichtsstörungen und wurden nach dem Übergang in den moribunden Zustand getötet. Da keine ausreichenden Hinweise zur Auswirkung von kurzzeitigen pH-Wert-Schwankungen unter den Versuchsbedingungen vorlagen und sich gleichzeitig die Umweltbedingungen verschlechterten (Temperatur-, pH-, NH<sub>3</sub>-Anstieg im Vorfluter; Abfall des Sauerstoffgehalts während der Behandlung, s. Tab. A-5), wurde auf die in drei Versuchsabschnitten ursprünglich geplante Ausdehnung der Behandlungsdauer auf 2,5 Stunden verzichtet. Stattdessen wurde wegen möglicherweise toxischer NH₃-Belastungen die Behandlungsdauer auf 1,5 Stunden reduziert.

Tabelle 6: **Revidiertes Behandlungsregime in Versuch B II**Versuchsgruppe; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Versuchsabschnitt	Versuchstage	tägliche Behandlungsdauer (h)
1	1-4	1,5
2	5-8	2,0
3	7-12	1,5

#### 3.2 Aufzucht von Karpfen und Regenbogenforellen mit Huminstoff-Futterzusatz

In zwei Versuchen zur Aufzucht von Karpfen in teichwirtschaftlicher Haltung (F I, F II) und in einem Versuch zur Aufzucht von Regenbogenforellen unter Laborbedingungen (F III) wurde ein 5 %iger Zusatz einer pulverförmigem HS-Präparation des Typs WH 67 (Humocarb, formuliert® und Cellu-Ligno-Karbon-Isolat, Fa. Pharmawerk Weinböhla, Weinböhla, Deutschland) zum Alleinfuttermittel eingesetzt.

#### 3.2.1 Bestimmung der Wasserqualität

Alle Wasseruntersuchungen wurden unmittelbar nach der Probennahme durchgeführt. Die entsprechenden Untersuchungen wurden für Versuch F I im Labor des Fischgesundheitsdienstes der Sächsischen Tierseuchenkasse, Standort Sproitz, vorgenommen (teilweise unter eigener Mitwirkung), in F II durch das Betriebspersonal im Labor der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft in Königswartha. Die Bestimmung der Wasserparameter erfolgte in jedem Aufzuchtjahr. Im Versuch F II wurde die Wassertemperatur, der Sauerstoffgehalt und der pH-Wert in wöchentlichem, die Parameter der Stick-

stoffreihe, der Phosphatgehalt und die Alkalität in zweiwöchentlichem Abstand bestimmt. Die Rohdaten wurden dann wieder nach den unter 3.1.1. beschriebenen Methoden selbstständig ausgewertet. Wasseruntersuchungen in F III wurden mit dem Aquamerck® Kompaktlabor vorgenommen (siehe 3.1.1).

#### 3.2.2 Versuchsparameter

Vorversuche bei der Aufzucht von Regenbogenforellen in Rinnenanlagen (HEIDRICH et al. 1999) gaben Anlass zu der Hypothese, dass ein HS-Präparatzusatz (HS 1500, Fa. Weyl) zum Futter in relativ geringer Dosierung von 0,1–0,5 %, in Rinnen-Intensivhaltung gleichzusetzen mit dem Anteil an der Gesamtnahrung, zu einer Verminderung von Verlusten und einer Verbesserung des Futterquotienten führt. Während der Aufzucht von Karpfen unter (intensiven) teichwirtschaftlichen Bedingungen können erfahrungsgemäß hohe Verluste bzw. Erkrankungen auftreten. Bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz (Versuch F I und FII) sollte daher die Langzeitwirkung eines allerdings wesentlich höheren 5%igen HS-Präparatzusatzes in ertragreichen Teichen mit einem Naturnahrungsanteil geprüft werden. Die Dosierung erfolgte in Anlehnung an Konzentrationsempfehlungen des Herstellers. Die Aufzucht von Regenbogenforellen mit HS-Futterzusatz (Versuch F III) erfolgte mit dem Futter aus Versuch F I in Aquarien unter Laborbedingungen.

Die Zuwächse in den Versuchs- und Kontrollgruppen wurden jeweils durch eine komplette Abfischung bestimmt. Aus den Zuwächsen der Bestandsmasse und den aufgewendeten Futtermengen ergab sich der Futteraufwand (fischereilich: Futterquotient; g Futter g-1 Lebendmassezunahme) für die entsprechenden Aufzuchtperioden.

Bei den Berechnungen der Karpfenversuche (F I und II) wurden für das erste Aufzuchtjahr, wie in der Fischwirtschaft aufgrund geringer Körpermassen und hoher Verluste allgemein üblich, die eingesetzten geringen Bestandsmassen an Karpfenbrut vernachlässigt. Die Wägung in Versuch F I erfolgte nicht nach Ende der Fütterungsperiode, sondern nach der Überwinterung. Die mittleren Körpermassen wurden bei den Abfischungen aus der Bestandsmasse und der Anzahl der Fische ermittelt, wie auch die Fische der Stichproben-Untersuchungen nach den Wägungen der näherungsweisen Bestimmung der aktuellen mittleren Körpermassen und Bestandsmassen dienten.

Im Versuch an Regenbogenforellen (F III) wurde zum Ende eines jeden Versuchsabschnitts (vor Bestandsreduzierungen), im ersten Versuchsabschnitt zweimal, die Körpermassen-Entwicklung durch Einzelwägungen bestimmt.

#### 3.2.2.1 Post-mortem-Untersuchungen

In den Versuchen F I und F II an Karpfen wurden während der einzelnen Aufzuchtperioden sowie am Ende jeder Aufzuchtperiode stichprobenweise Gesundheitskontrollen durchgeführt. Die Entnahme der Stichproben erfolgte jeweils bei den Bestandsabfischungen, zusätzlich während des ersten und zweiten Aufzuchtjahres durch Verwendung eines handelsüblichen Wurfnetzes in den Versuchsteichen und bei der abschließenden Winterhälterung durch teilweises Ablassen der Betonbecken. Im Versuch F III mit Regenbogenforellen wurde in den einzelnen Versuchsabschnitten gleichsinnig verfahren. Die Gesundheitskontrollen beinhalteten pathomorphologische und parasitologische sowie ggf. bakteriologische, mykologische und virologische Untersuchungen (zu den Untersuchungsmethoden siehe 3.1.2). Die pathomorphologischen, parasitologischen sowie ggf. bakteriologischen Untersuchungen (Erregeranzüchtung) der Karpfen wurden vor Ort und im Labor des Fischgesundheitsdienstes der Sächsischen Tierseuchenkasse, Standort Sproitz, durchgeführt (teilweise gemeinsam mit dem Promovenden). Weiterführende bakteriologische (Differenzierung) und ggf. die histologischen sowie virologischen Untersuchungen erfolgten an der Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen (Standort Dresden, Reichenbachstr. 71/73, 01217 Dresden), wobei die Einlieferung sowie die Entnahme des Probenmaterials und der Umgang mit diesem den "Richtlinien für die Entnahme und das Einsenden von Untersuchungsmaterial" (GRÖTSCH u. BAUER 1990) entsprachen.

Weiterhin fanden die in diesen Richtlinien angeführten besonderen Hinweise für die Entnahmetechnik bei den virologischen und bakteriologischen Untersuchungen Beachtung. Der bakterielle Befall wurde semiquantitativ durch das Auszählen der koloniebildenden Einheiten (KBE) beurteilt. Die Forellen aus dem Versuch F III wurden in der Regel im eigenen Labor untersucht.

#### 3.2.3 Versuch F I an Karpfen in teichwirtschaftlicher Haltung

In Versuch F I sollte die Wirkung des HS vom Typ WH 67 A in Form der Präparation Humocarb, formuliert® als 5 %iger Zusatz zum Futter an Karpfen in Teichhaltung über drei Wachstumsperioden getestet werden. Dafür wurden zwei ertragreiche, gleich große Versuchsteiche mit einem Erstbesatz jeweils 7.000 Stück K<sub>V</sub> (entsprechend 35.000 Stück ha-1) besetzt. An den eigentlichen Versuch zu verkaufsfähigen dreijährigen Karpfen (K<sub>3</sub>) schloss sich eine Nachbeobachtungszeit mit verminderter Futterzuteilung (Winterhälterung) an.

Die Bewirtschaftung der Versuchsteiche, wie das Aufzuchtverfahren und die Futtermengenzuteilung für die sommerliche Produktion in Teichen, waren prinzipiell an den (erst später veröffentlichten) Regeln guter fachlicher Praxis für eine ordnungsgemäße Teichbewirtschaftung der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft (FÜLLNER et al. 2000) ausgerichtet. Nach der Zatorer Methode (PROSKE 1998) blieben die ein- und zweisömmrigen Karpfen (K<sub>1</sub> und K<sub>2</sub>) auch zu den Überwinterungen bis zu den im Frühjahr erfolgten Abfischungen im selben Versuchsteich stehen.

#### 3.2.3.1 Tiere

Die für die Versuche verwendeten Lausitzer Spiegelkarpfen (*Cyprinus carpio* LINNAEUS 1758) der betrieblichen Population wuchsen als Karpfenbrut ( $K_0$ ) in Vorstreckteichen zu vorgestreckten Karpfen ( $K_v$ ) ab. Nach dem vierwöchigen Vorstrecken der  $K_0$  wurden die  $K_v$  mit einem mittleren Stückgewicht von 0,6 g (annäherndes Wiegen und Auszählen einer Stichprobe von n=500 g) zu Versuchsbeginn abgefischt.

Die Inspektion des Bestandes sowie die pathologisch anatomische und parasitologische Untersuchung einer Stichprobe (n=20) durch den Fischgesundheitsdienst der Sächsischen Tierseuchenkasse, ergab einen guten Allgemein- und Ernährungszustand.

#### 3.2.3.2 Material und Methoden

Dem  $K_v$ -Bestand wurde dem Gewicht entsprechend eine geschätzte Menge von 14000  $K_v$  entnommen, die als zwei Gruppen zu jeweils 7000  $K_v$  zum Besatz der Versuchsteiche dienten.

#### 3.2.3.2.1 Versuchsteiche und Hälterungsanlage

Für den Versuch standen die Versuchsteiche der Satzfischanlage Sproitz, An der Aue, 02906 Sproitz der KREBA-Fisch GmbH, Hoyerswerdaer Str. 18, 02906 Kreba zur Verfügung. Die künstlich angelegten Erdteiche besaßen eine Größe von je 0,2 ha und eine Tiefe von 1,5 m. Es handelte sich um ertragreiche Teiche der Bonitätsklasse II, entsprechend vorgedüngt und vorbereitet (PROSKE 1998; BOHL u. RIEGGER 1999; FÜLLNER et al. 2000).

Die Vorflut konnte gut geregelt werden. So wurde nach Bedarf (z. B. Verdunstung, hohe Temperaturen) Oberflächenwasser (Bach-Talsperren-Wasser) eingeleitet.

Nach drei Wachstumsperioden erfolgte die Hälterung der dreisömmrigen Karpfen (K<sub>3</sub>) im Spätherbst bis zum Winter in betonierten Rundbecken. Bei einem Innendurchmesser von 10 m und einer Wassertiefe von 2 m ergab sich ein Wasservolumen von ca. 150 m<sup>3</sup>. Das gesamte Wasservolumen erneuerte sich durch die Speisung mit Oberflächenwasser einmal am Tag.

# 3.2.3.2.2 HS-Präparation

Humocarb, formuliert® (HS vom Typ WH 67 A der Fa. Pharmawerk Weinböhla, Weinböhla, Deutschland, Ch.-Nr. 100497) wurde einem pelletierten Alleinfutter für Forellen mit 5 % zugesetzt. Die Einmischung der Präparation in das Futter erfolgte durch den Futtermittelhersteller.

## 3.2.3.2.3 Futtermittel

Als Kontrollfutter diente ein handelsübliches pelletiertes Alleinfuttermittel Trouvit® Bio 40 für Forellen (Fa. Milkivit-Werke GmbH, Burgheim, Deutschland). Die Zusammensetzung der Versuchsfuttermischung mit 5 % Humocarb, formuliert®, war so berechnet, dass das Versuchsfutter annähernd die gleichen Gehaltswerte an Rohprotein, Lysin, Rohfett, Rohfaser, Rohasche und Energie aufwies wie das Kontrollfutter.

Informationen über die Futterzusammensetzung konnten nur aus der ordnungsgemäßen Kennzeichnung gewonnen werden. Infolgedessen war die Zusammensetzung in mengenmäßig absteigender Reihenfolge der Ausgangsstoffe zugänglich:

Fischmehl; Weizengrießkleie; Fleischfuttermehl; Weizenflocken; Federmehl, hydrolysiert; Seetieröl für Fische; Griebenkuchen; Zuckerrübenmelasse; Sojaprotein-Konzentrat; Blutmehl; Vormischung Vitamine.

Für beide Futtermittel, ohne (Kontrollfutter) und mit HS-Präparation (Versuchsfutter), wurden die gleichen Gehalte an den Inhaltsstoffen Rohprotein, Lysin, Rohfett, Rohfaser und Rohasche angegeben (s. Tab. 7). Der deklarierte Gehalt an Rohprotein wurde analytisch bestätigt.

Tabelle 7: Futterinhaltsstoffe des Pelletfuttermittels in Versuch F I und F III

Kontrollfutter (Trouvit® Bio 40) und Versuchsfutter (Trouvit® Bio 40 mit 5 % Humocarb, formuliert®);

Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; drei Wachstumsperioden)

Inhaltsstoff	% in der Original-Substanz
Rohprotein	42,5
Lysin	2,5
Rohfett	13,0
Rohfaser	2,5
Rohasche	9,0

Die Überprüfung des Rohprotein-Gehalts der Versuchs- und Kontrollfuttermischung erfolgte am Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig (Gustav-Kühn-Str. 8, 04159 Leipzig). Für das Versuchsfutter ergab sich ein Rohproteingehalt von 43,50 % (47,62 % in der Trockensubstanz). Der Rohprotein-Gehalt des Kontrollfutters betrug 42,31 % (46,27 % in der Trockensubstanz).

Vom Hersteller wurde der Zusatz folgender Zusatzstoffe je kg Mischfutter angeben:

38.000 I. E. Vitamin A; 2.000 I. E. Vitamin D<sub>3</sub>; 100 mg Vitamin E ( $\alpha$ -Tocopherolacetat); Butylhydroxytoluol (BHT); Butylhydroxyanisol (BHA); Propylgallat; Kalziumpropionat.

# 3.2.3.2.4 Fütterungsregime

Der Besatz der Versuchsteiche erfolgte, als die Wassertemperaturen 18 °C erreicht hatten. Die Versuchsgruppe erhielt das Pelletfutter mit der zugesetzten HS-Präparation (Versuchsfutter), die Kontrollgruppe das Pelletfutter ohne HS-Präparation (Kontrollfutter).

Die Fütterung erfolgte täglich per Hand, je nach Futteraufnahme mehrmals täglich durch das ansässige Personal, über einen Zeitraum von 87 Tagen. Aufgrund des wesentlich höheren Nahrungsbedarfs je

Masseeinheit heranwachsender Karpfen als größerer Karpfen betrug die Pelletfuttergabe anfangs täglich 10 % der Lebendmasse des Bestands (Bestandsmasse) (MÜLLER 1986; BOHL u. RIEGGER 1999; SCHUMACHER u. GROPP 1999). Täglich wurden die Aktivität der Fische an der Futterstelle sowie die Versuchsbedingungen an den Teichen überprüft. Lag noch Futter von der letzten Fütterung an der Futterstelle, wurde die Fütterung ausgesetzt. Der tägliche Futterverbrauch verminderte sich in der Wachstumsperiode allmählich auf 4 bis 2 % pro Bestandsmasse und Tag in Abhängigkeit von der Wassertemperatur (MÜLLER 1986). Orientierend an den Ausführungen von PROSKE (1998) wurde als unterste Grenze für eine Gewichtszunahme 13 bis 15 °C angenommen. So war die erste Aufzuchtperiode nach 87 Tagen Pelletgabe bei 13 °C Wassertemperatur beendet.

In der zweiten und dritten Aufzuchtperiode erhielten die Versuchs- und Kontrollgruppe in den Wachstumsperioden das gleiche Pelletfutter in Höhe von 2 bis 4 % der Bestandsmasse. Die zweite bzw. dritte Aufzuchtperiode umfasste 149 bzw. 144 Tage, wobei als unterste Grenze 13 °C Wassertemperatur angenommen wurde. Im Anschluss an die dritte Aufzuchtperiode wurden beide Fischgruppen in die Winterhälterungsanlagen (Betonbecken) verbracht. In der Hälterung erfolgte die Versorgung der Karpfen noch 100 Tage mit dem Versuchs- und Kontrollfutter. Hier wurde aufgrund der niedrigen Temperaturen vorrangig der Erhaltungsbedarf in beiden Gruppen mit einer Pelletfuttergabe in der Höhe von ca. 0,5 % der Bestandsmasse gedeckt und bei Futterverweigerung ausgesetzt. Die Einstellung der Fütterung mit dem Versuchs- und Kontrollfutter erfolgte während der abschließenden Hälterung im dritten Winter, nach insgesamt 900 Versuchstagen und wiederum 100 Tage vor dem Versuchsende, bei den verkaufsfähigen dreijährigen Karpfen (K<sub>3</sub>).

# 3.2.3.2.5 Umweltbedingungen

Alle Messwerte lagen allgemein im physiologischen Bereich für Karpfen. Nur der NH₃-Gehalt befand sich unter spätsommerlichen Bedingungen (hohe Temperaturen, steigende pH-Werte durch verstärkte Assimilation/"Algenblüte") in beiden Gruppen zeitweise außerhalb des Grenzwertes zur Vermeidung von Schädigungen (SCHÄPERCLAUS 1990). Die minimalen und maximalen Messwerte der Wasserparameter finden sich in der Tab. 8 (einzelne Messwerte Tab. A-22−A-25).

Tabelle 8: Wasserparameter in Versuch F I
Versuchs- und Kontrollgruppe; Aufzucht mit HS-Futterzusatz
(5 % HS-Präparation; drei Wachstumsperioden)

Wasserparameter	VG: Minimum-Maximum	KG: Minimum-Maximum
Temperatur (°C)	3,1-21,8	3,2-21,9
$O_2 (mg L^{-1})$	4,5-11,8	4,3-12,4
pH	7,5-8,9	7,6-8,9
NH <sub>4</sub> + (mg L-1)	0,7-1,0	0,7-1,1
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	0,005-0,18	0,006-0,18
$NO_{2}$ (mg L-1)	0-0,6	0-0,6
HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	0-6.10-6	0-4-10-6
NO <sub>3</sub> - (mg L-1)	0,3-4,1	0,8-3,6
PO <sub>4</sub> 3- (mg L-1)	0,010-1,170	0,005-0,760
SBV (mmol L-1)	1,4-2,8	1,4-2,4

Die Wassertemperatur, der pH-Wert, die Gehalte an Sauerstoff, Ammonium, Ammoniak, Nitrit, salpetriger Säure, Nitrat, Phosphat und das Säurebindungsvermögen (SBV).

VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

## 3.2.3.2.6 Versuchsverlauf

Bei der Aufzucht von der vorgestreckten Karpfenbrut bis zu den dreijährigen Karpfen (K<sub>v-3</sub>) wurde bis zum Versuchsende im Frühjahr nach der dritten Aufzuchtperiode (1000 Versuchstage) bei den Fischen der Versuchs- und Kontrollgruppe durch die tägliche Beobachtung der Versuchsteiche und der Beurteilung der Fische bei den Stichproben-Fängen sowie Abfischungen eine hohe Vitalität festgestellt. Verendete Fische, wie sie bei Fischsterben z. B. an der Wasseroberfläche oder im Uferbereich auftreten, so genannte Randsteher und Fische mit Entwicklungsstörungen konnten nicht beobachtet werden. Mechanische Verletzungen durch Vogelbisse traten in beiden Gruppen auf und führten teilweise zu unkoordinierten drehenden Bewegungen unter der Wasseroberfläche.

Am 36. und 66. Versuchstag wurden Trichlorphon-Behandlungen mit 250 mL je Teich gegen einen *Argulus sp.*-Befall und bei der Zwischenabfischung am 557. Tag eine prophylaktische Kochsalz-Behandlung mit dem Ziel einer Reduzierung von ubiquitären Ektoparasiten mit 15 kg m<sup>-3</sup> über eine halbe Stunde in der Versuchs- und Kontrollgruppe durchgeführt.

Ab dem zweiten Aufzuchtjahr wurden am Teich der Versuchsgruppe verstärkt Tritt- und Fraßspuren von Fischottern vorgefunden. Diese für die Auswertung des Bestandszuwachses im zweiten und dritten Aufzuchtjahr ungünstige Situation war hervorgerufen worden einmal durch die randständige Lage des Versuchsteichs direkt am wasserzuführenden Graben (Talsperren-Oberflächen-Wasser) und außerdem durch die zunehmende Größe der Fische, die damit eine höhere Bedeutung als Beutetiere für Fischotter erlangten.

# 3.2.4 Versuch F II an Karpfen in teichwirtschaftlicher Haltung

In Versuch F II wurde die Wirkung des HS vom Typ WH 67 G in Form der Präparation Cellu-Ligno-Karbon-Isolat als 5 %iger Zusatz zum Futter überprüft. Dafür wurden in Versuchsteichen jeweils zwei mal 5.000, 7.500 bzw. 10.000 Stück  $K_0$  (entsprechend 20.000, 30.0000 bzw. 40.0000 Stück  $ha^{-1}$ ) zu  $K_1$  aufgezogen.

Auch im Versuch F II war die Bewirtschaftung der Versuchsteiche, wie z. B. die Futtermengenzuteilung, prinzipiell an den Regeln guter fachlicher Praxis (FÜLLNER et al. 2000) ausgerichtet.

## 3.2.4.1 Tiere

Die für die Versuche verwendeten Niederlausitzer Spiegelkarpfen (*Cyprinus carpio* LINNAEUS 1758) der betrieblichen Population wurden in der Fischzucht Jänschwalde GmbH, Hüttenwerk 1, 03185 Peitz erbrütet. Zwei Tagen nach der Erbrütung standen die schwimm- und fressfähigen Larven für die Versuche zur Verfügung (ALBRECHT 1986; MÜLLER 1986).

Die  $K_0$  besaßen keine Anzeichen von Erkrankungen, erhöhten Verlusten oder Anomalien. Der Transport in die nahegelegene Versuchsteichanlage erfolgte unter Vermeidung von Belastungen in mit Sauerstoff gefüllten Plastiksäcken.

#### 3.2.4.2 Material und Methoden

## Tabelle 9: Besatzintensitäten in Versuch F II

Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>2040</sub>; Karpfenbesatz je Versuchsteich sowie je ha Teichfläche; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; eine Wachstumsperiode)

Gruppe	Besatz K <sub>0</sub> /Versuchsteich	Besatz K <sub>0</sub> ha-1 Teichfläche
VG <sub>20</sub> , KG <sub>20</sub>	5.000	20.000
VG30, KG30	7.500	30.000
VG <sub>40</sub> , KG <sub>40</sub>	10.000	40.000

VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

Durch das Auszählen der K<sub>0</sub> je Volumeneinheit in den entnommenen Mischproben und die Berechnung des nötigen Volumens K<sub>0</sub>-Wasser-Gemischs nach MÜLLER (1986) wurden die notwendigen Mengen für jeweils eine Versuchs- und Kontrollgruppe von 5.000, 7.500 und 10.000 K<sub>0</sub> bereitgestellt (entsprechend 20.000, 30.000 und 40.000 Stück ha<sup>-1</sup>). Die Gruppen der K<sub>0</sub> wurden anschließend in die Aufzuchtteiche verbracht. Die Besatzintensitäten betrugen damit im Verhältnis zur Größe der Teiche für die jeweilige Versuchs- und Kontrollgruppen 20.000, 30.000 und 40.000 Stück ha<sup>-1</sup> (s. Tab. 9).

## 3.2.4.2.1 Versuchsteiche

Die künstlich angelegten Erdteiche der Versuchsteichanlage der Sächsischen Landesanstalt für Landwirtschaft (Referat Fischerei, Hauptstraße 12a, 02699 Königswartha) besaßen eine Größe von je 0,25 ha und eine Tiefe von 1,5 m. Es handelte sich um ertragreiche Teiche der Bonitätsklasse II (PROSKE 1998; BOHL u. RIEGGER 1999). Die Vorflut konnte gut geregelt werden. So wurde nach Bedarf (z. B. Verdunstung, hohe Temperaturen) Oberflächenwasser eingeleitet.

# 3.2.4.2.2 HS-Präparation

Cellu-Ligno-Karbon-Isolat (HS vom Typ WH 67 G der Fa. Pharmawerk Weinböhla, Weinböhla, Deutschland, Ch.-Nr. 010897) wurde einem Alleinfutter für Karpfen mit 5 % zugesetzt. Die Einmischung der Präparation in das Futter erfolgte durch den Futtermittelhersteller.

## 3.2.4.2.3 Futtermittel

Als Kontrollfutter diente ein handelsübliches pelletiertes Alleinfuttermittel Mela K 30-10 für Karpfen (Fa. Mela Kraftfutterwerk GmbH, Wurz, Deutschland). Das Futter für die Versuchsgruppen (Versuchsfutter) enthielt 5 % Cellu-Ligno-Karbon-Isolat.

Informationen über die Futterzusammensetzung konnten nur aus der ordnungsgemäßen Kennzeichnung gewonnen werden. Infolgedessen war die Zusammensetzung in mengenmäßig absteigender Reihenfolge der Ausgangsstoffe zugänglich:

Ölextraktionsschrote; Nebenerzeugnisse der Getreideverarbeitung; Fleischmehl; Fischerzeugnisse; Melasse; Mineralstoffe.

Für das Futter Mela K 30-10 (Kontrollfutter) werden bezogen auf die Originalsubstanz 30,0 % Rohprotein, 10,0 % Rohfett, 6,4 % Rohfaser und 8,4 % Rohasche angegeben (s. Tab. 10).

Tabelle 10: Futterinhaltsstoffe des Pelletfuttermittels in Versuch F II

Kontrollfutter und Ausgangskomponente für Versuchsfutter (Mela K 30-10);

Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; eine Wachstumsperiode)

Inhaltsstoff	% in der Original-Substanz
Rohprotein	30,0
Rohfett	10,0
Rohfaser	6,4
Rohasche	8,4

Angaben der Gehalte an Rohprotein, Rohfett, Rohfaser und Rohasche in % der Originalsubstanz.

Die HS-Präparation wurde der ansonsten unveränderten Futtermischung mit 5 % zugesetzt. Daraus ergibt sich eine Reduzierung an den Nährstoffen im Versuchsfutter um 5 % bezogen auf das Kontrollfutter, was einem Gehalt von 28,5 % Rohprotein und 9,5 % Rohfett bezogen auf die Originalsubstanz entspricht. Da sich die beiden Futtermittel (Kontroll- und Versuchsfutter) aufgrund gleicher Mischungsverhältnisse der Ausgangsstoffe untereinander nur durch den 5%igen Zusatz der HS-Präparation unterschieden und die Versuche keine Energie- und Nährstoffbetrachtungen zum Ziel hatten, wurde von einer analytischen Überprüfung der Nährstoffgehalte abgesehen.

Vom Hersteller wird je kg Mischfutter die Einmischung folgender Zusatzstoffe angegeben:

20.000 I. E. Vitamin A; 2.000 I. E. Vitamin D3; 100 mg Vitamin E; 5 mg Kupfer; Inositol; Butylhydroxyanisol/Ethoxyquin.

# 3.2.4.2.4 Fütterungsregime

Analog zur Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz (Versuch F I) erfolgte der Besatz der Versuchsteiche, als die Wassertemperaturen 18 °C erreicht hatten. Die Versuchsgruppen<sub>20-40</sub> erhielten das Pelletfutter mit der zugesetzten HS-Präparation (Versuchsfutter), die Kontrollgruppen<sub>20-40</sub> das Pelletfutter ohne HS-Präparation (Kontrollfutter).

Anfangs wurde der Nahrungsbedarf der Karpfen allein durch die in den Teichen vorhandene Naturnahrung gedeckt. Am Ende der zweiten Woche nach dem Besatz der Teiche wurde zusätzlich Weizenschrot angeboten. Diese anfängliche Futtergabe besaß in der Aufzucht insgesamt einen Anteil von 9,9 % (VG<sub>20</sub>, KG<sub>20</sub>), 12,0 % (VG<sub>30</sub>, KG<sub>30</sub>) und 14,2 % (VG<sub>40</sub>, KG<sub>40</sub>) an der Gesamtfuttermenge. Die höheren Anteile bei der VG<sub>30</sub>/KG<sub>30</sub> und mehr noch bei der VG<sub>40</sub>/KG<sub>40</sub> gegenüber der VG<sub>20</sub>/KG<sub>20</sub> ergeben sich aus den höheren Besatzdichten und der daraus resultierenden geringeren relativen Anteile der Naturnahrung pro Fischbesatz. Die Pelletfütterung erfolgte ab dem 63. Versuchstag über Futterautomaten und analog zur Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz (Versuch F I) über einen Zeitraum von 87 Tagen und bis die Wassertemperatur auf 13 °C abgesunken war. Nähere Angaben hierzu (Fütterungsintensität des Pelletfutters etc.) sind den Ausführungen zur ersten Aufzuchtperiode der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz (Versuch F I) zu entnehmen (s. 3.2.3.2.4).

# 3.2.4.2.5 Umweltbedingungen

Tabelle 11: Wasserparameter in Versuch F II

Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>20-40</sub>; Aufzucht mit HS-Futterzusatz

(5 % HS-Präparation; eine Wachstumsperiode)

Wasserparameter	Minimum-	-Maximum				_
	$VG_{20}$	$VG_{30}$	$VG_{40}$	$KG_{20}$	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>
Temperatur (°C)	14,5-24,7	14,6-24,8	14,9-23,8	14,7-24,3	14,8-24,0	15,2-24,4
$O_2$ (mg L <sup>-1</sup> )	3,8-13,8	2,5-15,3	2,0-10,4	4,1-17,6	1,3-13,7	1,2-18,3
рН	7,22-8,39	7,13-8,61	7,09-8,58	7,15-9,18	7,22-8,82	7,21-9,11
NH <sub>4</sub> + (mg L <sup>-1</sup> )	0,19-0,75	0,21-0,90	0,28-1,57	0,18-0,45	0,19-1,65	0,17-0,40
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), ber.	0,002-0,020	0,002-0,013	0,002-0,019	0,004-0,076	0,003-0,011	0,002-0,033
$NO_{2}$ (mg L-1)	0,020-0,475	0,003-0,383	0,003-0,449	0,026-0,551	0,010-0,396	0,003-0,195
HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), ber.	2.10-6-6.10-5	1.10-7-2.10-5	2.10-6-6.10-5	<b>1</b> · <b>10</b> <sup>-4</sup> - <b>1</b> · <b>10</b> <sup>-7</sup>	4·10 <sup>-7</sup> -1·10 <sup>-5</sup>	<b>4·10</b> <sup>-8</sup> <b>-2·10</b> <sup>-5</sup>
NO <sub>3</sub> - (mg L-1)	3,1-10,6	2,2-13,2	1,8-7,9	5,3-14,5	3,1-5,7	2,2-8,8
Gesamt-N (anorg.)	0,92-3,07	0,66-3,28	0,65-2,51	1,45-3,64	0,98-2,12	0,63-2,17
PO <sub>4</sub> 3- (mg L-1)	0,02-0,10	0,03-0,12	0,04-0,20	0,01-0,17	0,04-0,47	0,01-0,22
Alkalität (mval L-1)	1,10-1,85	1,15-1,90	1,10-1,95	1,15-1,85	1,30-1,90	1,30-2,25

Die Wassertemperatur, der pH-Wert, die Gehalte an Sauerstoff, Ammonium, Ammoniak (berechnet), Nitrit, salpetriger Säure (berechnet), Nitrat, Gesamtstickstoff (anorganisch), ortho-Phosphat und die Alkalität.

VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

Alle Messwerte lagen allgemein im physiologischen Bereich für Karpfen. Nur der NH<sub>3</sub>-Gehalt befand sich kurzzeitig nach dem Besatz bzw. unter hochsommerlichen Bedingungen (hohe Temperaturen, steigende pH-Werte durch verstärkte Assimilation/"Algenblüte") zeitweise außerhalb des Grenzwertes zur Vermeidung von Schädigungen (SCHÄPERCLAUS 1990). Bei dieser Wetterlage kam es auch vorübergehend in den Morgenstunden, wenn die Wasserpflanzen (Algen) infolge Lichtmangels in der Nacht

keinen Sauerstoff produzierten, sondern nur verbraucht hatten, zu einem kurzzeitigen Sauerstoffdefizit im tolerierbaren Bereich (FÜLLNER et al. 2000; NOGA 2000).

Die minimalen und maximalen Messwerte der Wasserparameter finden sich in der Tabelle 11 (einzelne Messwerte s. Tab. A-28–33). Zur Auswertung kamen die Messwerte des umfangreichen Datenmaterials, die zeitgleich in allen Versuchs- und Kontrollgruppen gemessen wurden.

## 3.2.4.2.6 Versuchsverlauf

Der Versuch F II verlief ungestört und ohne Auffälligkeiten.

# 3.2.5 Versuch F III an Regenbogenforellen im Laborversuch

Vergleichend zu den Feldversuchen an Karpfen sollten im Versuch F III Anhaltspunkte für die Wirkung des HS vom Typ WH 67 A in Form der Präparation Humocarb, formuliert® als 5 %iger Zusatz zum Futter in Laborhaltung an Regenbogenforellen gewonnen werden. Über einen Beobachtungszeitraum von 166 Tagen wurden zwei Gruppen von anfangs jeweils 25 Regenbogenforellenbrütlingen in Aquarien aufgezogen.

## 3.2.5.1 Tiere

Für den Versuch standen Brütlinge von Regenbogenforellen (Oncorhynchus mykiss WALBAUM 1792) aus der Fa. Fischerei "Erzgebirge" GmbH & Co. KG (Annaberger Str. 46, 09477 Arnsfeld) zur Verfügung. Die Rf<sub>E</sub> (Import aus Irland) waren nach den Verbringungsbestimmungen auf dem Konzept zugelassener (seuchenfreier) Gebiete und Zuchtbetriebe für die Krankheiten, die in Liste II von Anhang A der Richtlinie 91/67/EWG (ANON. 1991) genannt werden, eingeführt worden. Daher konnte davon ausgegangen werden, dass die Fische keine Träger des Virus der Viralen hämorrhagischen Septikämie der Salmoniden (VHS) und der Infektiösen hämatopoetischen Nekrose der Salmoniden (IHN) waren. Zu Beginn der Aufzuchtphase stellten sich bei einem geringen Prozentsatz der Regenbogenforellenbrütlinge Symptome der Infektiösen Pankreasnekrose der Salmoniden (IPN) mit Dunkelverfärbung, Exophtalmus und Auftreibungen des Vorderleibs ein (ROBERTS u. SCHLOTFELDT 1985). Nach der Entscheidung 92/532/EWG (ANON. 1992) bzw. den Vorgaben der Fischseuchen-Verordnung (ANON. 2001a) wurde eine Stichprobe (n=20) des Bestandes durch den Fischgesundheitsdienst der Sächsischen Tierseuchenkasse (Standort Leipzig, Bornaische Str. 31/33, 04416 Markleeberg) in Begleitung des Promovenden zur Untersuchung entnommen und lebend transportiert. Die Diagnoseverfahren zur virologischen Untersuchung an der Abteilung Veterinärmedizinische Diagnostik der Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen (Standort Leipzig, Beethovenstr. 25, 04107 Leipzig) erfolgte ebenfalls nach der Entscheidung 92/532/EWG (ANON. 1992). Die Untersuchung erbrachte keinen Nachweis von Virosen der Salmoniden und wurde insgesamt mit negativem Ergebnis abgeschlossen.

Die für die Versuche nach dem Prinzip der zufälligen Auswahl entnommenen freischwimmenden, fressfähigen Regenbogenforellen-Brütlinge (Rfo) mit einem mittleren Gewicht von 0,13 g wurden sechs Wochen im Aquarium aufgezogen und beobachtet. Sie erhielten ein handelsübliches Brutaufzuchtfutter mit einem hohen Gehalt an Protein (55 % Rohprotein) und Fett (20 % Rohfett). Während dieser Aufzuchtphase zu vorgestreckter Regenbogenforellenbrut (Rfo-v), die gleichzeitig zur Adaptation an höhere Wassertemperaturen diente, wurden keine Erkrankungen oder Verluste festgestellt.

Zu Versuchsbeginn wies die vorgestreckte Brut ( $Rf_v$ ) eine Körperlänge von 4–5 cm bei einer mittleren Körpermasse von 0,92 g auf. Eine Stichprobe (n=5) wurde pathologisch anatomisch und parasitologisch untersucht. Die Tiere waren frei von Krankheitsanzeichen.

## 3.2.5.2 Material und Methoden

Aus 50 Rf $_{\rm v}$  wurden nach dem Zufallsprinzip eine Versuchs- und eine Kontrollgruppe zu je 25 Probanden gebildet. Die Wägung (Sartorius, Typ BP 610, Fa. Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) ergab gleiche mittlere Körpermassen in den Gruppen von 0,92 g (s. Tab. A-36).

Um während der gesamten Versuchszeit den Anforderungen an die Umweltfaktoren gerecht zu werden, wurde mit der wachsenden Bestandsmasse nach jeder der drei Aufzuchtphasen, bzw. in der ersten Aufzuchtphase zweimal aufgrund von erhöhtem Aufkommen an NH<sub>3</sub>/NH<sub>4</sub>+ in der Versuchsgruppe, mit dem Erreichen des Zielgewichtes jeweils die gleiche Anzahl von Fischen in der Weise entnommen, dass der folgende Besatz der Aquarien wieder mit einer gleich hohen Fischmasse erfolgte. Insofern wurden im ersten Versuchsabschnitt nach 29 Versuchstagen bei Erreichen eines mittleren Gewichtes von ca. 1 g jeweils zehn von 25 Fischen und zusätzlich nach weiteren 16 Tagen bei Erreichen des Zielgewichtes von 3 g jeweils zwei Fische aus beiden Gruppen entnommen. Wiederum erfolgte eine Entnahme von sechs Fischen in beiden Gruppen am Ende des 47-tägigen zweiten Versuchsabschnitt bei Erreichen des mittleren Zielgewichtes von mindestens 10 g. Der dritte und letzte, 75 Tage währende Versuchsabschnitt wurde mit den noch verbliebenen sieben Fischen in beiden Gruppen bis zum Ziel-Endgewicht von mindestens 30 g geführt. Daraus ergab sich dann der in Tabelle 12 wiedergegebene Versuchplan.

Tabelle 12: Übersicht des Versuchs F III

Versuchs- und Kontrollgruppe; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; 166 d)

Versuchsabschnitt	Aufzuchtphase	Versuchstage (n)	Fische/Gruppe
<b>1</b> .a	Rf <sub>v-1</sub>	29	25
<b>1</b> .b	Rf <sub>1-3</sub>	16	15
2	Rf <sub>3-10</sub>	47	9
3	Rf <sub>10-30</sub>	75	7

# 3.2.5.2.1 Haltung

Die Fische wurden in zwei Aquarien mit je 80 L Wasservolumen bei einer Länge von 70 cm sowie einer Breite und Höhe von je 35 cm untergebracht. Zur Belüftung diente eine handelsübliche Aquarien-Membranpumpe, die über einen an der Wandung angebrachten Luftausströmer (Plastik-Flies) für eine kontinuierliche Wasserumwälzung und kräftige Belüftung sorgte. Die Positionierung der Aquarien im Raum sicherte eine gleichmäßige Ausleuchtung mit Tageslicht.

In Abhängigkeit von der Temperaturentwicklung und der Futteraufnahme wurde das Aquarienwasser durch Teilwasserwechsel in ein- bis zweitägigen Abständen vollständig mit Leitungswasser ausgetauscht. Dabei wurde gleichzeitig der Kot mit einem Schlauch vorsichtig vom Aquarienboden abgesaugt. Weitere Reinigungsarbeiten erfolgten nicht.

Die allgemeinen Versuchsbedingungen wurden täglich kontrolliert.

# 3.2.5.2.2 HS-Präparation

In Versuch F III wurde Futter aus der in Versuch F I (erstes Aufzuchtjahr) verwendeten Charge eingesetzt.

## 3.2.5.2.3 Fütterungsregime

Während des 166 Tage dauernden Versuchs wurden beide Gruppen mindestens drei mal täglich mit einer abgewogenen Menge an Versuchs- bzw. Kontrollfutter versorgt. Die Fütterungsintensität richtete sich nach den Empfehlungen des Herstellers und den Angaben von SCHMIDT (1998). Damit war die Fütterung der Wassertemperatur und der Fischgröße entsprechend angepasst und bewegte sich allgemein zwischen 1,5-6,0 % der Bestandsmasse und Tag.

# 3.2.5.2.4 Zusätzliche Untersuchungen

Weiterhin sollte untersucht werden, ob der HS-Futterzusatz ein spezifisches Milieu im Aquarium erzeugen kann, bei dem gegenüber der Kontrollgruppe unterschiedliche Voraussetzungen für das Wachstum eines Biofilms entstehen. Biofilme werden u. a. beeinflusst von der Verfügbarkeit von Nährstoffen für das Bakterienwachstum, der Anwesenheit bakterizider Stoffe und der Konzentration gelösten organischen Materials (BOVENDEUR 1989). Dazu wurde die Entstehung eines Biofilms bzw. Bewuchses an den Aquarienböden und -wänden dokumentiert. In der 20. Versuchswoche (138. Versuchstag) wurden Proben der Biofilme mit einem Skalpell entnommen und mikroskopisch an der Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen (Standort Leipzig, Beethovenstr. 25, 04107 Leipzig) sowie am Fachgebiet Fischkunde und Fischkrankheiten des Instituts für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig (An den Tierkliniken 29, 04103 Leipzig) untersucht. Außerdem wurden vor dem Versuchsende jeweils 2 mL der Beläge 5 min bei 6000 U min-1 zentrifugiert. Der erhaltene Bodensatz von ca. 1 mL diente aufgeschüttelt zur Anfertigung von Ausstrichpräparaten, die nach Gram und Ziehl-Neelsen gefärbt wurden. Zur bakteriologischen Untersuchung der Bodensätze kamen Blutagar-Böden, Wasserblau-Metachromgelb-Agar nach Gassner sowie Brilliantgrün-Phenolrot-Agar zum Einsatz. Die Bebrütung erfolgte bei 25 °C.

# 3.2.5.2.5 Umweltbedingungen

Tabelle 13: Wasserparameter in Versuch F III

Versuchs- und Kontrollgruppe; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; 166 d)

Wasserparameter	VG: Minimum-Maximum	KG: Minimum-Maximum
Temperatur (°C)	6-22	6-22
pH	7-7,5	7-7,5
0 <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	6,0-11,0	6,0-11,0
NH <sub>4</sub> + (mg L <sup>-1</sup> )	0,1-1,0	0,1-0,3
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	0,0001-0,012	0,0001-0,003
NO <sub>2</sub> - (mg L-1)	0,05-0,6	0,075-1,0
HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> ), berechnet	0,00002-0,0002	0,00002-0,0002
NO <sub>3</sub> - (mg L-1)	40-60	60-90
KH (mmol L <sup>-1</sup> )	4,0-4,1	4,0-4,1
GH (mmol L <sup>-1</sup> )	3,3-3,5	3,3-3,5

Die Wassertemperatur, der pH-Wert, die Gehalte an Sauerstoff, Ammonium, Ammoniak, Nitrit, salpetriger Säure, Nitrat, die Karbonat- und Gesamthärte.

Die Wasseruntersuchungen wurden wie bei der Hälterung mit HS-Bädern (Versuch B I und B II) mit dem Aquamerck® Kompaktlabor für Wasseruntersuchungen, Art.-Nr. 11151 (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Aufgrund der Unterbringung der Aquarien in einem nicht temperierten Raum folgte die Wassertemperatur in gemäßigter Form der jahreszeitlichen Änderung (Sommer/Winter) der Außentemperatur. Die Bestimmung der Parameter der Stickstoffreihe erfolgte in jedem Versuchsabschnitt vor dem Wasserwechsel und unmittelbar nach der Probennahme.

Die Bestimmung der in Bezug auf die fischtoxischen Eigenschaften relevanten Gehalte an Ammoniak (NH<sub>3</sub>) und salpetriger Säure (HNO<sub>2</sub>) erfolgte nach der Gleichung von HOFER u. LACKNER (1995) und der Gehalt an HNO<sub>2</sub> nach WEDEMEYER und YASUTAKE (1978) sowie SCHRECKENBACH und SPANGENBERG (1983), s. Punkt 3.1.1. Allgemein lagen alle bestimmten Wasserparameter im physiologischen Bereich (SCHÄPERCLAUS 1990, SCHMIDT 1998). Eine Übersicht über die Daten der Wasser-

untersuchungen zeigt die Tabelle 13; die Wasserparameter in den einzelnen Versuchsabschnitten sind den Tabellen A-34 und A-35 zu entnehmen.

Der NH<sub>3</sub>-Gehalt lag mit 0,012 mg L<sup>-1</sup> in der Versuchsgruppe zu Beginn des ersten Versuchsabschnitts über dem Qualitätsziel zur Vermeidung von Schädigungen von 0,006 mg L<sup>-1</sup> (SCHÄPERERCLAUS 1990), nicht jedoch im toxischen Bereich (HOFER u. LACKNER 1995) und hatte keine erkennbaren Auswirkungen auf das Verhalten oder den Gesundheitszustand.

## 3.2.5.2.6 Versuchsverlauf

Alle Fische der Versuchs- und Kontrollgruppe zeigten über den Versuchszeitraum von insgesamt 166 Tagen eine sehr hohe Vitalität und wuchsen gleichmäßig ab. Durch die tägliche symptomatische Gesundheitskontrolle wurden keine Anzeichen von Entwicklungsstörungen festgestellt. Fischverluste traten nicht auf.

Nachdem im Versuchsabschnitt 1.a erhöhte NH3/NH4+ -Gehalte in der Versuchsgruppe auftraten (keine biologische und mechanische Filterung, kein Bodengrund), wurde die Fütterung in beiden Gruppen bei steigenden Wassertemperaturen bis zur Einstellung eines ausreichenden NH<sub>4</sub>+-Abbaus am Ende des Versuchsabschnittes 1.a restriktiv auf 1,0 % der Bestandsmasse und Tag gestaltet.

Bei den zum Abschluss eines jeden Versuchsabschnittes vorgenommen Untersuchungen standen jeweils die zur Bestandsreduzierung entnommenen Fische (je n=18) und zum Versuchsabschluss alle verbliebenen Fische der Versuchs- und Kontrollgruppe zur Verfügung.

# 3.3 Versuchsauswertung

In den Versuchen B I und B II wurde mit dem  $\chi^2$ -Homogenitätstest, der insbesondere für diskrete Verteilungsfunktionen geeignet ist (KRAUSE u. METZLER 1988), geprüft, ob zwei unabhängige Stichproben bezüglich ihrer Verteilung aus gleichen Grundgesamtheiten entstammen. Aus den relativen Häufigkeiten der Scores wird eine Testgröße berechnet, die der  $\chi^2$ -Verteilung folgt. Übersteigt die Testgröße eine aus der Irrtumswahrscheinlichkeit ( $\alpha$ =0,05) und der Zahl der Fälle generierte Grenze, ist die These von einer gleichen Grundgesamtheit (Nullhypothese) abzulehnen, der Verteilungsunterschied ist signifikant (p<0,05).

Bei der Betrachtung der Unterschiede im Überleben in zwei Gruppen war zu berücksichtigen, dass die Datenmenge mit den Fischen, die den Beobachtungszeitraum (vier Tage in B I, 12 Tage in B II) überlebten, zensierte Daten enthielt. Deshalb wurden die Überlebenszeiten mit der Kaplan-Meier-Methode analysiert und mit dem F-Test nach Cox bewertet. Bei p<0,05 ist von einem signifikanten Unterschied der Überlebenszeiten auszugehen (STATSOFT 2001).

Bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz (Versuch F I) wurden insgesamt fünf mal zu den Abfischungen im Frühjahr und Herbst die Anzahl aller Fische in der Versuchs- und Kontrollgruppe und die zugehörigen Bestandsmassen ermittelt. Zusätzlich dienten Stichprobenfänge, drei im ersten Aufzuchtjahr und jeweils eine Stichprobe im zweiten und dritten Jahr, zur Ermittlung der Bestandsentwicklung. Um Unterschiede zwischen den mittleren Körpermassen zu ermitteln, kam der t-Test unter Annahme der Normalverteilung - was wegen der hohen Fallzahlen zulässig ist - zur Anwendung. Die bei der letzten Stichprobenuntersuchung (Tab. A-27) ermittelte relative Standardabweichung wurde zur Berechnung der Unterschiede zu den anderen Zeitpunkten übernommen (die für die Zwischenwägungen daraus ermittelten Signifikanzen werden als geschätzt angegeben) und  $\alpha$ =0,05 als Irrtumswahrscheinlichkeit festgelegt.

Die statistische Auswertung der bakteriellen Untersuchungen, der Fischverluste und der Bestandsmassen nach der ersten Aufzuchtperiode der Versuche F I und F II in der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz erfolgte gemeinsam. In beiden Versuchen wurde eine 87-tägige Pelletfütterung, in den Versuchsgruppen mit dem Zusatz von 5 % HS-Präparat, vorgenommen.

Bei der Berechnung des Unterschieds im Keimgehalt der inneren Organe Leber, Niere und Milz nach einer Aufzuchtperiode zu K<sub>1</sub> in den Versuchen I und II bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz kam der Rangsummentest von White zur Anwendung (KRAUSE u. METZLER 1988). Der Keimgehalt der einzelnen Fische der Stichproben wurde nach einem ordinalen Maß, das den Grad des Gehaltes widerspiegelt, beurteilt (Tab. 14). Aus den relativen Häufigkeiten der Gehaltsgrade wird eine Testgröße berechnet, die der t-Verteilung folgt. Wenn die Testgröße größer ist als die sich aus der t-Verteilung ergebene Größe, ist bei zweiseitiger Fragestellung die Nullhypothese der Übereinstimmung der Verteilung abzulehnen, der Verteilungsunterschied ist signifikant.

Tabelle 14: Bakterielle Untersuchungen in Versuch F I und F II

Einordnung der Untersuchungsergebnisse der bakteriellen Untersuchungen in den Grad des Keimgehalts\*; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; nach erster Wachstumsperiode)

Untersuchungsergebnis	Grad des Keimgehalts
kein Organ befallen/keine Infektion	0
geringgradiger Gehalt in mindestens einem Organ	1
mittelgradiger Gehalt in mindestens einem Organ	2
hochgradiger Gehalt in mindestens einem Organ	3

<sup>\*)</sup> Grundlage für die statistische Auswertung mit dem Rangsummentest von White

Die Abfischungsergebnisse bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz F I und F II wurden nach der ersten Aufzuchtperiode (K<sub>1</sub>) auf einen Unterschied im Verlustgeschehen mit dem t-Test für näherungsweise Anwendung bei Binomialverteilungen, die sich bei großen Fallzahlen wie Normalverteilungen verhalten, überprüft (SACHS 1992).

Die durch Abfischung ermittelten Bestandsmassen der Versuchs- und Kontrollgruppen nach der ersten Aufzuchtperiode zu  $K_1$  in den Versuchen F I und F II bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz werden mit dem  $\chi^2$ -Test geprüft. Man geht von der Nullhypothese aus, dass kein Unterschied zwischen den Bestandsmassen existiert. Die beobachteten Unterschiede sind dann zufälliger Natur. Die Testgröße summiert die normierten Abweichungsquadrate und folgt im Falle der Gültigkeit der Nullhypothese näherungsweise der  $\chi^2$ -Verteilung. Eine Abweichung liegt vor, wenn die Testgröße einen Wert  $K_\alpha$  übersteigt, der sich aus der Anzahl der Freiheitsgrade (4) und der gewünschten Irrtumswahrscheinlichkeit ( $\alpha$ =0,05) ergibt.

Die Körpermassenentwicklung der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F III wurde nach jeder Wägung mit Hilfe des t-Tests auf Unterschiede geprüft. Nullhypothese war ein fehlender Unterschied. Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde  $\alpha$ =0,05 festgelegt.

## 4 ERGEBNISSE

# 4.1 Physikalische Charakterisierung der eingesetzten HS-Präparationen

Die Aufnahme des IR-Spektrums der eingesetzten Präparationen erfolgte als KBr-Pressling im Bereich von 400–4000 cm<sup>-1</sup> (Auflösung 4 cm<sup>-1</sup>). Für die Präparationen der F-Versuche wurde zusätzlich ein UV-VIS-Absorptionsspektrum im Bereich von 200–700 nm mit einer Schrittweite von 1 nm und einer Auflösung von 2 nm aufgenommen.

# 4.1.1 Präparation in den Versuchen B I und B II

Abbildung 1 zeigt das Transmissionsspektrum der Trockensubstanz der Na-Humat-Lösung, HS vom Typ WH 67 SNa. Die erkennbaren Banden lassen eine Interpretation im Sinne einer Zuordnung zu charakteristischen Bau-/Molekülgruppen zu.

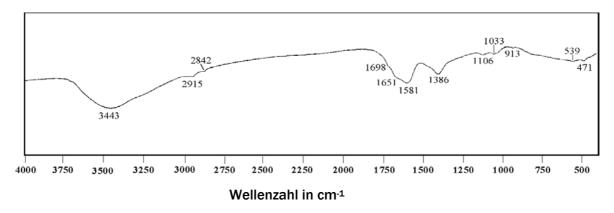


Abbildung 1: Infrarot-Spektrum der getrockneten Na-Humat-Lösung (HS vom Typ WH 67 SNa) in Versuch B I und B II

Die breite und sehr intensive Bande bei 3440 cm<sup>-1</sup> wird von OH- und NH-Gruppen verursacht, wie sie in Aminen, Alkoholen und Phenolen zu finden sind. Die beiden sehr schwachen Banden bei 2915 und 2842 cm<sup>-1</sup> deuten auf einen nur sehr geringen Anteil an CH<sub>2</sub>-Gruppen, also aliphatischen Kohlenwasserstoff-Ketten, hin. Die mittelstarken und schwachen Banden im Gebiet von 1700–1550 cm<sup>-1</sup> werden vermutlich von Kohlenstoff-Ringen (aliphatisch und insbesondere aromatisch) sowie Aminen verursacht. Dagegen deuten die Banden bei 1386 cm<sup>-1</sup> und zwischen 1110–900 cm<sup>-1</sup> auf die Anwesenheit von aromatischen und aliphatischen Alkoholen und Ethern hin.

# 4.1.2 Präparation in den Versuchen F I und F III

Abbildung 2 zeigt das Transmissionsspektrum von Humocarb, formuliert®, HS vom Typ WH 67 A. Zahlreiche Banden lassen sich erkennen, die im Folgenden interpretiert und charakteristischen Bau-/ Molekülgruppen zugeordnet werden.

Die breite und sehr intensive Bande zwischen 3700 und 3100 cm<sup>-1</sup> wird von OH- und NH-Gruppen verursacht, wie sie in Aminen, Alkoholen und Phenolen zu finden sind. Die beiden sehr scharfen und intensiven Banden bei 2920 und 2850 cm<sup>-1</sup> sind dagegen ganz charakteristisch für CH<sub>2</sub>-Gruppen, also aliphatischen Kohlenwasserstoff-Ketten. Die schwache Bande bei 720 cm<sup>-1</sup> könnte ebenfalls dazu gehören, tritt jedoch nur bei Ketten mit mindestens drei CH<sub>2</sub>-Gruppen auf. Die zahlreichen starken und schwachen Banden im Gebiet von 1750–1400 cm<sup>-1</sup> werden vermutlich von Kohlenstoff-Ketten und -Ringen (aliphatisch und aromatisch) sowie Verzweigungen der Ketten verursacht. Dagegen deuten die Banden zwischen 1300 und 1000 cm<sup>-1</sup> auf die Anwesenheit von Alkoholen und Ethern hin. Dabei sind aliphatische, aromatische und gemischte (aliphatisch-aromatische) Ether möglich. Nennenswerte Anteile von endständigen Methylgruppen und Karbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde und Karbonsäuren) finden sich dagegen nicht.

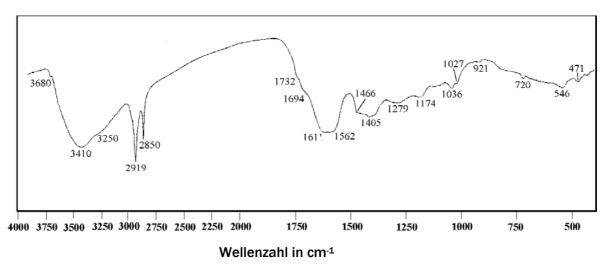


Abbildung 2: Infrarot-Spektrum von Humocarb, formuliert® (HS vom Typ WH 67 A) in Versuch F I und F III

Offensichtlich enthält der HS in Humocarb, formuliert®, zahlreiche Kohlenstoff-Ketten (verzweigt und unverzweigt), -Ringe und Ether (aromatisch und aliphatisch). Als endständige Gruppen finden sich hauptsächlich Alkohole, Phenole und Amine.

Abbildung 3 zeigt das zugehörige UV-VIS-Absorptionsspektrum.

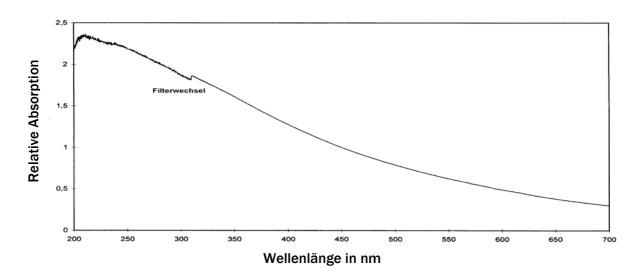


Abbildung 3: UV-VIS-Spektrum von Humocarb, formuliert® (HS vom Typ WH 67 A) in Versuch F I und F III

Das Spektrum zeigt einen kontinuierlichen Anstieg der Absorption vom langwelligen (700 nm) zum kurzwelligen Bereich. Der zunächst sehr langsame Anstieg wird zwischen 550 und 450 nm deutlich steiler und erreicht bei ca. 210 nm ein Maximum.

# 4.1.3 Präparation in Versuch F II

Abbildung 4 gibt das Transmissionsspektrum der Präparation CLK, HS vom Typ WH 67 G, wieder.

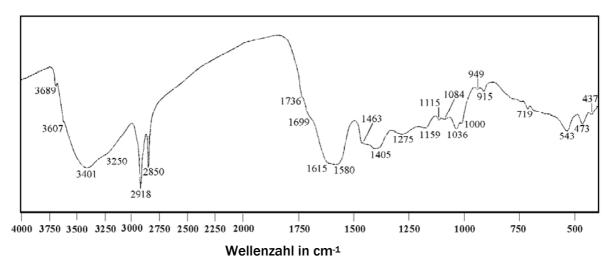


Abbildung 4: Infrarot-Spektrum von Cellu-Ligno-Karbon-Isolat (HS vom Typ WH 67 G) in Versuch F II

Das Spektrum erlaubt die Detektion zahlreicher Banden, die mit den Banden im IR-Spektrum der in den Versuchen F I und F III verwendeten Präparation Humocarb, formuliert® hinsichtlich Lage und Intensität identisch sind. Auch hier muss es sich um einen HS mit zahlreichen Kohlenstoff-Ketten (verzweigt und unverzweigt), Ring- und Etheranteilen (aromatisch und aliphatisch) handeln, der als endständige Gruppen hauptsächlich Alkohole, Phenole und Amine enthält. Auffällig ist das Fehlen von Banden, die von endständigen CH<sub>3</sub>-Gruppen, CH-Gruppen und Karbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde und Karbonsäuren) verursacht werden. Das bedeutet, dass diese Gruppen nicht oder nur in untergeordnetem Maße vorhanden sind, so dass sie nicht im Spektrum beobachtet werden können.

Abbildung 5 zeigt das UV-VIS-Absorptionsspektrum von CLK. Das Spektrum unterscheidet sich ebenfalls nicht von Humocarb, formuliert® aus Versuch F I und F III. Es zeigt genauso einen anfangs langsamen und später steileren Anstieg der Absorption vom langwelligen (700 nm) zum kurzwelligen Bereich. Das Absorptionsmaximum wird bei ca. 208 nm erreicht.

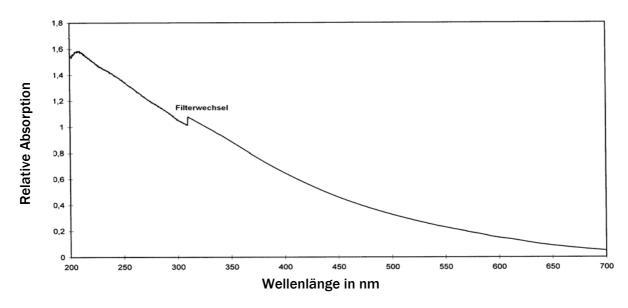


Abbildung 5: UV-VIS-Spektrum von Cellu-Ligno-Karbon-Isolat (HS vom Typ WH 67 G) in Versuch F II

## 4.2 Mortalitätsrate

## 4.2.1 Mortalitätsrate in den Bäderversuchen B I und B II

In Versuch B I traten hinsichtlich der Mortalitätsrate beträchtliche Unterschiede zwischen den Gruppen auf (p<0,0005). Bis zum Versuchsende (Tag 4) waren in der mit Na-Humat-Lösung behandelten Gruppe 2/322 (0,6 %), in der Kontrollgruppe hingegen 15/322 Fischverluste (4,7 %) zu verzeichnen. In der Versuchsgruppe starben ab dem dritten Tag keine Fische mehr. Dagegen stiegen in der Kontrollgruppe die täglichen Verluste bis zum Versuchsende leicht an (Tab. 15). Die kumulierten Überlebensanteile nach Kaplan-Meier sind für die Versuchs- und der Kontrollgruppe in der Abbildung 6 ersichtlich.

Tabelle 15: Mortalitätsrate in Versuch B I

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=322); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³, 1 h d-1)

Tag	Versuc	hsgruppe	Kontrollgruppe		
	Bestand (N)	Bestand (N) Fischverluste (n)		Fischverluste (n)	
1	321	1	319	3	
2	320	1	316	3	
3	320	0	312	4	
4	320	0	307	5	
Resultat	320	2	307	15	
Cox-F-Test	p<0,000	)5			

Innerhalb von vier Tagen sind zwei Fische der Versuchsgruppe und 15 Fische der Kontrollgruppe verendet. Unterschied hoch signifikant mit p<0,0005 (Cox-F-Test).

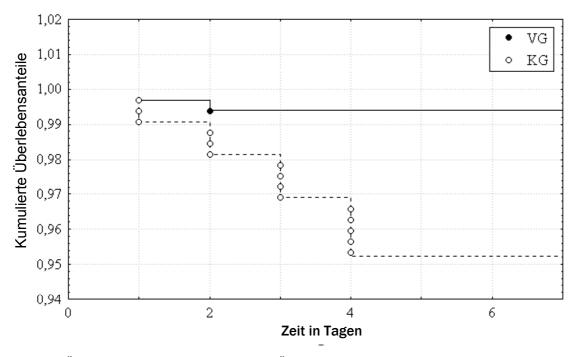


Abbildung 6: Überleben in Versuch B I (kumulierte Überlebensanteile nach Kaplan-Meier)

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=322); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

VG: Versuchsgruppe (durchgezogene Linie); KG: Kontrollgruppe (gestrichelte Linie).

Innerhalb der Nachbeobachtungszeit (vier Wochen) traten in der Versuchsgruppe keine weiteren Todesfälle auf, die Fische konnten aufgrund des verbesserten Allgemeinzustandes zum Verkauf gelangen.

Auch in Versuch B II unterschieden sich die Gruppen hinsichtlich der Verluste signifikant (p<0,05). In der Versuchsgruppe kam es zu 8/100 Stückverlusten (8 %), in der Kontrollgruppe dagegen zu 16/100. Die Verluste traten in beiden Gruppen ab dem dritten Tag und unregelmäßig auf (Tab. 16). Die Abbildung 7 zeigt die kumulierten Überlebensanteile nach Kaplan-Meier für die Versuchs- und Kontrollgruppe.

Tabelle 16: Mortalitätsrate in Versuch B II (Cox-F-Test)

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Tag	Versuc	hsgruppe	Kontr	ollgruppe
	Bestand (N)	Fischverluste (n)	Bestand N	Fischverluste (n)
3	99	1	98	2
4	98	1	96	2
5	98	0	94	2
6	97	1	93	1
7	97	0	91	2
8	94	3	91	0
9	94	0	89	2
10	94	0	87	2
11	93	1	85	2
12	92	1	84	1
Resultat	92	8	84	16
Cox-F-Test	p<0,05			

Innerhalb von zwölf Tagen sind acht Fische der Versuchsgruppe und 16 Fische der Kontrollgruppe verendet. Unterschied signifikant mit p<0,05 (Cox-F-Test).

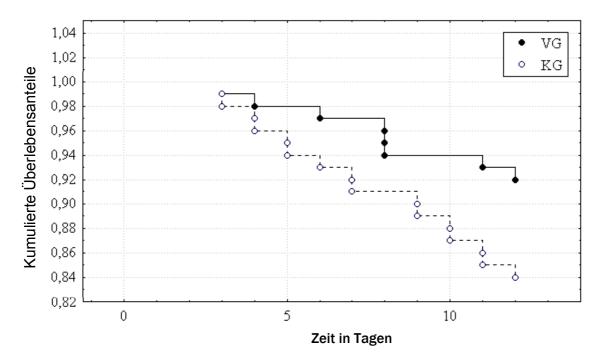


Abbildung 7: Überleben in Versuch B II (kumulierte Überlebensanteile nach Kaplan-Meier)

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5-2 h d¹)

VG: Versuchsgruppe (durchgezogene Linie); KG: Kontrollgruppe (gestrichelte Linie).

## 4.2.2 Mortalitätsrate in den Aufzuchtversuchen

# 4.2.2.1 Mortalitätsrate in den Karpfenversuchen F I und F II

In Versuch F I betrugen die Aufzuchtverluste nach der ersten Aufzuchtperiode 5.939 Stück (84,8 %) in der Versuchsgruppe und 5.904 Stück (84,3 %) in der Kontrollgruppe. Die Abfischung nach der zweiten Aufzuchtperiode ergab in der Versuchsgruppe 3.815 Stück zweijährige Karpfen (K<sub>2</sub>) und damit 292 Stück Fischverluste (27,7 %). Die Kontrollgruppe wies 1.090 Stück K<sub>2</sub> und Fischverluste in Höhe von 223 Stück (20,5 %) auf. Nach der dritten Aufzuchtperiode wurden in der Versuchsgruppe 468 Stück K<sub>3</sub> abgefischt, die Fischverluste betrugen 295 Stück (38,7 %). Die korrespondierenden Werte der Kontrollgruppe lagen bei 840 Stück bzw. 27 Stück (3,1 %) Fischverluste. Die einzelnen Werte sind in Tabelle 17 wiedergegeben.

Tabelle 17: Besatz und Abfischungsergebnisse in Versuch F I

Versuchs- und Kontrollgruppe in den drei Wachstumsperioden sowie der abschließenden Winterhälterung; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; drei Wachstumsperioden)

	K₁-Aufzucht		K <sub>2</sub> -Aufzucht		K <sub>3</sub> -Aufzucht		Winterhälterung	
	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
Besatz (Stück ha-1)	35.000	35.000	5.275	5.450	3.815	4.335	-	-
Besatz (Stück/Teich)	7.000	7.000	1.055	1.090	763	867	468	840
Besatz (kg)	4,2	4,2	85	59	267	295	450	630
Abfischung (Stück ha <sup>-1</sup> )	5.305	5.480	3.815	4.335	2.340	4.200	-	-
Abfischung (Stück/Teich)	1.061	1.096	763	867	468	840	468	840
Fischverluste (Stück)	5.939	5.904	292	223	295	27	0	0
Verlustrate (%)	84,8	84,3	27,7	20,5	38,7	3,1	0	0

In Versuch F II (Aufzucht von K<sub>0-1</sub>) wurde bis zum Versuchsende im Herbst nach der ersten Aufzuchtperiode (150 Versuchstage) bei den Fischen der Versuchs- und Kontrollgruppen durch die tägliche Beobachtung der Versuchsteiche und der Beurteilung der Fische bei den Stichproben-Fängen sowie der Abfischung eine hohe Vitalität festgestellt. Verendete Fische, wie sie bei Fischsterben z. B. an der Wasseroberfläche oder im Uferbereich auftreten, so genannte Randsteher und Fische mit Entwicklungsstörungen konnten nicht beobachtet werden. Mechanische Verletzungen durch Vogelbisse traten vereinzelt in allen Gruppen auf und führten teilweise zu unkoordinierten drehenden Bewegungen unter der Wasseroberfläche.

Bei der Aufzucht von Karpfen ( $K_{0:1}$ ) in Versuch F II traten zur Abfischung in der Versuchsgruppe mit HS-Futterzusatz bei der geringsten Besatzdichte (20.000 Stück ha-1, VG<sub>20</sub>) mit 2.400 Stück (48,0 %) und in der Kontrollgruppe KG<sub>20</sub> mit 2.460 Stück (49,2 %) keine Unterschiede auf. In der Versuchsgruppe mit mittlerer Besatzdichte (30.000 Stück ha-1, VG<sub>30</sub>) waren 3.683 (49,1 %) Fischverluste zu verzeichnen, in der Kontrollgruppe KG<sub>30</sub> waren es 3.805 Stück (50,7 %). Diese Differenz lag mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p<0,07 knapp über dem gewählten Signifikanzniveau. Bei der höchsten Besatzdichte (40.000 Stück ha-1) traten mit 3.720 Stück (37,2 %) in VG<sub>40</sub> 20,3 % weniger Fischverluste (p<0,0001) als in der KG<sub>40</sub> mit 5.751 Stück (57,5 %) auf (Tab. 18).

## 4.2.2.2 Mortalitätsrate im Forellenversuch F III

Alle Fische der Versuchs- und Kontrollgruppe zeigten über den Versuchszeitraum von insgesamt 166 Tagen eine sehr hohe Vitalität und keine Anzeichen von Entwicklungsstörungen. Fischverluste traten nicht auf.

Tabelle 18: Vergleichende Mortalitätsrate während der Aufzucht zu K<sub>1</sub> in Versuch F I und F II Versuchs- und Kontrollgruppen; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; erste Wachstumsperiode)

	Versuch F I			Versuch F II				
	VG	KG	VG <sub>20</sub>	$KG_{20}$	$VG_{30}$	KG <sub>30</sub>	$VG_{40}$	<b>KG</b> <sub>40</sub>
Besatz (Stück ha-1)	35.0	000	20	.000	30.	000	40.	000
Besatz (Stück/Teich)	7.0	000	5.0	000	7.	500	10.	000
Abfischung (Stück ha <sup>-1</sup> )	5.305	5.480	10.400	10.160	15.268	14.780	25.120	16.996
Abfischung (Stück/Teich)	1.061	1.096	2.600	2.540	3.817	3.695	6.280	4.249
Fischverluste (Stück)	5.939	5.904	2.400	2.460	3.683	3.805	3.720	5.751
Verlustrate (%)	84,8	84,3	48,0	49,2	<b>49,1</b> *)	<b>50,7</b> *)	37,2**)	57,5**)

<sup>\*)</sup> p<0,07 (t-Test) \*\*) Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe hoch signifikant mit p<0,0001 (t-Test)

# 4.3 Zootechnische Parameter der Aufzuchtversuche

# 4.3.1 Futteraufnahme, Wachstum und Futteraufwand

Das Futter mit 5 % HS aus Humocarb, formuliert®, bzw. CLK wurde in allen Versuchen gut aufgenommen. Da diese Konzentration bereits der zu therapeutischen Zwecken gegebenen Dosierungsempfehlung des Herstellers entsprach, mag es von tierärztlichem Interesse sein, auch die auf Körpermasse bezogenen HS-Mengen zu erfahren. Die tägliche Anwendungskonzentration je Prozent Fütterungsintensität betrug 500 mg kg¹ KM. Daraus ergab sich in der ersten Aufzuchtperiode von F I (87 Tage Wachstumsfütterung mit Versuchsfutter) mit der höchsten anfänglichen Fütterungsintensität in Höhe von 10 % der Bestandsmasse die maximale Anwendungskonzentration von 5.000 mg Humocarb, formuliert®, kg¹ KM und Tag. Im weiteren Versuchsverlauf mit praxisgerecht sinkender mittlerer Fütterungsintensität lassen sich dann Anwendungskonzentrationen von 2.500 bis 1.000 mg kg¹ KM und Tag errechnen. In der Versuch F I abschließenden Winterhälterung (100 Tage Erhaltungsfütterung mit Versuchsfutter) belief sich die Anwendungskonzentration nur noch auf ca. 250 mg kg¹ KM und Tag. Werte ähnlicher Größenordnung lassen sich für die Versuche F II und F III errechnen (F II: 5.000 bis 2.500 mg kg¹ KM und Tag, F III: 3.000 bis 1.500 mg kg¹ KM und Tag).

## 4.3.1.1 Versuch F I

Unter Zuhilfenahme aller Stichproben-Wägungen und der Abfischungsergebnisse nach den drei Aufzuchtperioden ergibt sich bei den Karpfen der Versuchsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe ab dem 50. Versuchstag eine höhere mittlere Körpermasse. Dieser Unterschied wird auch bei den drei Abfischungsergebnissen (Wägung der gesamten Bestände, p<0,0001) und bei vier Stichproben-Untersuchungen (n=10 bis 58) deutlich (geschätzt p<0,05 bis 0,0001). Die mittleren Körpermassen der Versuchs- und Kontrollfische aus den Stichproben-Untersuchungen und den Bestandsabfischungen sind der Tabelle 19 zu entnehmen.

Nach der ersten Aufzuchtperiode wurden in der Versuchsgruppe 1.061 K<sub>1</sub> mit einem Gesamtgewicht von 86 kg und in der Kontrollgruppe 1.090 K<sub>1</sub> mit einem Gesamtgewicht von 59 kg abgefischt. Bei einem um 45,8 % höheren Zuwachs der Versuchs- gegenüber der Kontrollgruppe, aber vergleichbaren Fischverlusten (ca. 85 %), ergibt sich auch mit 81 g eine höhere mittlere Körpermasse der Versuchsfische als mit 54 g für die Kontrollfische (p<0,0001). In der Versuchsgruppe resultiert aus einem Zuwachs von 86 kg und einem Futterverbrauch von 135 kg ein Futterquotient von 1,57 g Futter g-1 Lebendmassezunahme. In der Kontrollgruppe betrug der Zuwachs 59 kg, der Futterverbrauch 132,5 kg, und damit der relative Futterquotient 2,25 g g-1.

Tabelle 19: Entwicklung der mittleren Körpermassen (g) in Versuch F I

Versuchs- und Kontrollgruppe; Stichprobennahmen und Bestandsabfischungen; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; drei Wachstumsperioden)

Versuchstag	Versuchs	gruppe	Kontrollg	ruppe	t-Test
	mittlere KM (g)	N bzw. n	mittlere KM (g)	N bzw. n	
1	0,6	7000	0,6	7000	-
50	33	58	19	37	p<0,0001
60	41	34	34	35	p<0,005
114	65	17	45	20	p<0,05
259	81	1.061	54	1.096	p<0,0001
373	200	10	150	12	p<0,02
557	350	763	340	867	p<0,02
800	962	468	750	840	p<0,0001
983	971	10	815	10	n. s.
1.000	1.146	458	855	830	p<0,0001

Bis auf die Stichprobennahme am 983. Versuchstag (je n=10; zu geringe Fallzahl) ist der Unterschied in den mittleren Körpermassen (KM) zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe ab dem 50. Versuchstag signifikant bis hoch signifikant mit p<0,05–0,0001 (t-Test) unter Zugrundelegung einer Standardabweichung von 32 % in der Versuchs- und 18 % in der Kontrollgruppe (Tab. A-27). Die angegebenen Irrtumswahrscheinlichkeiten müssen in Anbetracht der hohen Mortalitätsrate vorsichtig interpretiert werden.

Die Abfischung nach der zweiten Aufzuchtperiode ergab in der Versuchsgruppe 3.815 Stück zweijährige Karpfen (K<sub>2</sub>), eine Bestandsmasse von 267 kg, eine mittlere Körpermasse von 350 g sowie 292 Stück Fischverluste (27,7 %). Die Kontrollgruppe wies 1.090 Stück K<sub>2</sub>, ein Gesamtgewicht von 295 kg und eine mittlere Körpermasse von 340 g auf. Der Zuwachs betrug in der Versuchsgruppe 182 kg (219 %), so dass sich bei einem Futterverbrauch von 450 kg ein Futteraufwand von 2,47 g Futter g-1 Lebendmassezunahme ergab. In der Kontrollgruppe wurde ein Zuwachs von 236 kg (400 %) und damit bei einem Futterverbrauch von 455 kg ein Futterquotient von 1,93 g g-1 ermittelt (Tab. 20).

Tabelle 20: **Besatz und Abfischungsergebnisse in Versuch F I**Versuchs- und Kontrollgruppe in den drei Wachstumsperioden sowie der abschließenden Winterhälterung; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation)

	K₁-Au	fzucht	K <sub>2</sub> -Au	fzucht	K₃-Au	fzucht	Winterh	älterung
	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
Besatz (Stück ha-1)	35000	35000	5275	5450	3815	4335	-	-
Besatz (Stück/Teich)	7000	7000	1055	1090	763	867	468	840
Besatz (kg)	4,2	4,2	85	59	267	295	450	630
Abfischung (Stück ha <sup>-1</sup> )	5305	5480	3815	4335	2340	4200	-	-
Abfischung (Stück/Teich)	1061	1096	763	867	468	840	468	840
Abfischung (kg)	86	59	267	295	450	630	535	718
mittlere Körpermasse (g)	81	54	350	340	962	750	1143	855
Zuwachs (kg)	86	59	182	236	183	335	85	88
Futterverbrauch (kg)	135	132,5	450	455	884	852	-	-
Futterquotient (g g-1)	1,57	2,25	2,47	1,93	4,83	2,54	-	-

Nach der dritten Aufzuchtperiode wurden in der Versuchsgruppe 468 Stück K<sub>3</sub> mit einem Gesamtgewicht von 450 kg abgefischt. Die mittlere Körpermasse betrug 962 g. Bei einem Zuwachs von 183 kg (69 %) und einem Futterverbrauch von 884 kg ergibt sich ein Futterquotient von 4,83 g g<sup>-1</sup>. In der

Kontrollgruppe wurden 840 Stück K<sub>3</sub> mit einem Gesamtgewicht von 630 kg und einem mittleren Stückgewicht von 750 g abgefischt. Aus dem Zuwachs von 335 kg (114 %) und dem Futterverbrauch von 852 kg resultiert ein Futteraufwand von 2,54 g Futter g-1 Lebendmassezunahme.

An die Abfischung nach der dritten Aufzuchtperiode schloss sich die abschließende Winterhälterung der K<sub>3</sub> in den Betonbecken an. Die Abfischung nach der Winterhälterung ergab in der Versuchsgruppe 468 Stück ZK<sub>3</sub> (zurückgesetzte dreijährige Karpfen) mit einem Gesamtgewicht von 535 kg und einer mittleren Körpermasse von 1.143 g. In der Kontrollgruppe wurden 840 Stück K<sub>3</sub> mit einem Gesamtgewicht von 718 kg und einer mittleren Körpermasse von 855 g abgefischt (Tab. 20). Bei der vorrangig zur Deckung des Erhaltungsbedarfs bestimmten, geringen Fütterungsintensität in beiden Fischgruppen war in der Versuchsgruppe ein Zuwachs von 85 kg (19 %) und in der Kontrollgruppe von 88 kg (14 %) zu verzeichnen (der Futterverbrauch in kg und die Futterquotienten wurden nur in den Aufzucht- bzw. Wachstumsperioden bestimmt).

Die Entwicklung der mittleren Körpermassen während der Aufzucht der Karpfen in der Versuchs- und Kontrollgruppe verdeutlicht Abbildung 8.

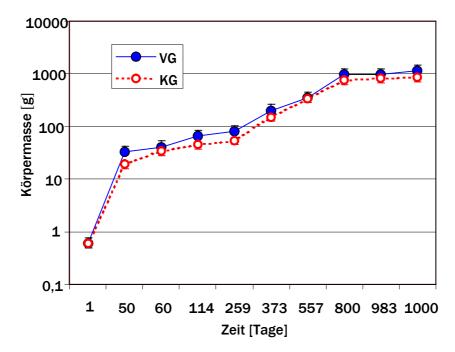


Abbildung 8: Entwicklung der mittleren Körpermassen (g) in Versuch F I

Versuchs- und Kontrollgruppe; Stichprobennahmen und Bestandsabfischungen;

Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; drei Wachstumsperioden)

VG: Versuchsgruppe (blaue durchgezogene Linie); KG: Kontrollgruppe (rote gestrichelte Linie)

# 4.3.1.2 Versuch F II

Bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz in Versuch F II ergab die Abfischung der Bestände nach der ersten Aufzuchtperiode ( $K_{0:1}$ ) in der Versuchsgruppe $_{20}$  (niedriger Besatz) bei einer Stückzahl von 2.600  $K_1$  eine Bestandsmasse von 365,6 kg und eine mittlere Körpermasse von 140,6 g. In der Kontrollgruppe $_{20}$  wurden 2.540  $K_1$  mit einer Bestandsmasse von 367,5 kg und einer mittleren Körpermasse von 145 g abgefischt. Der Zuwachs an der Bestandsmasse lag in der  $KG_{20}$  mit 1,9 kg um 0,5 % höher als in der  $VG_{20}$ . Dabei ist ein um 0,8 % bzw. 5 kg höherer Futterverbrauch in der  $VG_{20}$  und ein Anteil von nährstofffreien 5 % bzw. 28,1 kg HS im Pelletfutter der  $VG_{20}$  zu beachten.

In der Versuchsgruppe $_{30}$  (mittlerer Besatz) betrug die Anzahl der abgefischten  $K_1$  3.815 Stück, bei einer Bestandsmasse von 384,7 kg und einer mittleren Körpermasse von 101 g. In der Kontrollgruppe $_{30}$  wurden 3.695 Stück  $K_1$  mit einer Bestandsmasse von 403,4 kg und einer mittleren Körpermasse von 110 g abgefischt. Damit war bei gleicher Futtergabe der Zuwachs an der Bestandsmasse bei der  $KG_{30}$  gegenüber der  $VG_{30}$  um 4,9 % höher. Dabei ist allerdings ein Anteil von nährstofffreien 5 % bzw. 30,45 kg HS im Pelletfutter der  $VG_{30}$  zu beachten (Tab. 21).

In der Versuchsgruppe $_{40}$  (hoher Besatz) ergab die Abfischung 6.280 K<sub>1</sub> mit einer Bestandsmasse von 421,6 kg und einer mittleren Körpermasse von 67 g. In der Kontrollgruppe $_{40}$  wurden 4.249 K<sub>1</sub> mit einer Gesamtmasse von 366,2 kg und einem mittleren Stückgewicht von 86 g ermittelt. Der Zuwachs an der Bestandsmasse lag in der VG $_{40}$  um 15,1 % höher als in der KG $_{40}$ . Zusätzlich ist ein um 1 kg höherer Futterverbrauch und ein Anteil von nährstofffreien 5 % bzw. 31,45 kg HS im Pelletfutter der VG $_{40}$  in Rechnung zu ziehen (Tab. 23).

Beim Vergleich der Gesamtmassen aller Versuchs- und Kontrollgruppen nach einer Aufzuchtperiode in den Versuchen F I und F II bei der Aufzucht von Karpfen kann mit dem t-Test kein signifikanter Unterschied feststellt werden. Die um 45,8 % bzw. 15,1 % höheren Bestandsendgewichte in der Versuchsgruppe des Versuchs F I bzw. der Versuchsgruppe 3 des Versuchs F II können daher zufälliger Natur sein.

Tabelle 21: Besatz und Abfischungsergebnisse bei der Aufzucht zu K₁ in Versuch F I und F II Versuchs- und Kontrollgruppen; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; erste Wachstumsperiode)

	Versu	ıch F I			Versu	ıch F II			
	VG	KG	VG <sub>20</sub>	$KG_{20}$	<b>VG</b> <sub>30</sub>	KG <sub>30</sub>	$VG_{40}$	KG <sub>40</sub>	
Besatz (Stück ha-1)	35.	000	20.000		30	.000	40.	.000	
Besatz (Stück/Teich)	7.0	000	5.0	000	7.	500	10.000		
Abfischung (Stück ha <sup>-1</sup> )	5.305	5.480	10.400	10.160	15.268	14.780	25.120	16.996	
Abfischung (Stück/Teich)	1.061	1.096	2.600	2540	3817	3.695	6.280	4.249	
Abfischung (kg)	86	59	365,6	367,5	384,7	403,4	421,6	366,2	
Mittlere Körpermasse (g)	81	54	141	145	101	110	67	86	
Futterverbrauch (kg)*)	135	132,5	624	629	692	692	733	732	
Futterquotient (g g <sup>-1</sup> )	1,57	2,25	1,71	1,71	1,80	1,72	1,74	2,00	
- nach Abzug HS-Anteil	1,49		1,63		1,72		1,66		

<sup>\*)</sup> Futtermenge in F II entspricht der Summe aus pelletiertem Futter und Weizen (9,9 % in G<sub>20</sub>, 12,0 % in G<sub>30</sub> und 14,2 % G<sub>40</sub>). Zusätzlich wurden die Futterquotienten nach Abzug der Masse der HS-Präparation als nährstofffreier Anteil an der verbrauchten Futtermenge berücksichtigt.

Beim Vergleich der aus dem Futterverbrauch und dem Zuwachs der Bestandsmasse resultierenden Futterquotienten zeigen sich Vorteile in den hohen Besatzvarianten. Nachdem sich in Versuch F I der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz bei einem Besatz von 35.000 Stück ha<sup>-1</sup> ein relativer Futterquotient in der Versuchsgruppe von 1,54 gegenüber 2,25 in der Kontrollgruppe ergeben hatte, zeigte sich nun im Versuch F II der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz bei einem Besatz von 40.000 Stück ha<sup>-1</sup> in der Versuchsgruppe ein relativer Futterquotient von 1,74 gegenüber 2,0 in der Kontrollgruppe<sub>40</sub>. In der Versuchs- und Kontrollgruppe<sub>20</sub> betrug der relative Futterquotient jeweils 1,71 sowie 1,80 in der Versuchsgruppe<sub>30</sub> gegenüber 1,72 in der Kontrollgruppe<sub>30</sub> (Besatz 30.000 Stück ha<sup>-1</sup>).

Bei Abzug des nährstofffreien HS-Zusatzes von der verabreichten Futtermenge in Höhe von 28,1 kg in der Versuchsgruppe<sub>20</sub>, von 30,45 kg in Versuchsgruppe<sub>30</sub> und von 31,45 kg in Versuchsgruppe<sub>40</sub> ergeben sich jeweils relative Futterquotienten von 1,63 (VG<sub>20</sub>), 1,72 (VG<sub>30</sub>) und 1,66 (VG<sub>40</sub>). Damit war der

Futteraufwand bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz in den Versuch F I und F II in den Versuchsgruppen in drei Fällen besser als in den Kontrollgruppen (VG/KG, VG<sub>20</sub>/KG<sub>20</sub>, VG<sub>40</sub>/KG<sub>40</sub>) sowie in einem Fall gleich hoch (VG<sub>30</sub>/KG<sub>30</sub>).

## 4.3.1.3 Versuch F III

Zum Abschluss des Versuchsteils 1.a lag die Bestandsmasse bzw. der Zuwachs in der Versuchsgruppe geringfügig höher gegenüber der Kontrollgruppe. In den folgenden Versuchsabschnitten 1.b, 2 und 3 besaßen die Fische der Kontrollgruppe geringfügig höhere Bestandsmassen bzw. Zuwächse bezogen auf die jeweiligen Ausgangsgewichte. Der jeweilige Vergleich der Körpermassen nach einem Versuchsabschnitt mit Hilfe des t-Tests ergab zu keinem Zeitpunkt Unterschiede zwischen den Fischen der Versuchs- und Kontrollgruppe (Tab. 22). Die Einzelmassen der Fische in der Versuchs- und Kontrollgruppe sind den Tabellen A-36 und A-37 zu entnehmen.

Tabelle 22: Wachstum in Versuch F III

Versuchs- und Kontrollgruppe; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; 166 d)

Versuchs-	Versuchs- tag	Bestands	massen (g)		e Körper- sse (g)	Zuwac	chs (%)	Körper- masse
		VG	KG	VG	KG	VG	KG	t-Test
<b>1</b> .a	1	23,1	23,0	0,9	0,9			
	29	34,5	33,5	1,4	1,3	49,2	45,7	n. s.
<b>1</b> .b	30	18,2	17,6	1,2	1,2			
	45	49,1	50,1	3,3	3,3	169,2	185,1	n. s.
2	46	40,7	40,8	3,1	3,1			
	92	140,1	<b>1</b> 53,9	10,8	11,8	243,9	277,3	n. s.
3	93	76,5	77,4	10,9	11,1			
	166	216,9	233,2	31,0	33,3	183,5	201,2	n. s.

Die Körpermassen unterscheiden sich zu keinem Zeitpunkt (t-Test).

Der Zuwachs an der Bestandsmasse betrug über den gesamten Versuchszeitraum in der Versuchsgruppe 282,0 g, in der Kontrollgruppe 311,9 g (Zuwachs je Versuchsabschnitt s. Tab. A-38). Der Futterverbrauch war in beiden Gruppen vergleichbar. Nur zu Versuchende erhielt die Kontrollgruppe bei höherer Bestandsmasse eine geringfügige Menge mehr Futter, wonach sich aus einem Futterverbrauch von 282,5 g in der Versuchsgruppe bzw. 286,3 g in der Kontrollgruppe jeweils ein Futteraufwand von 1,00 (VG) bzw. 0,92 (KG) ergibt (Tab. 23 und A-38). Bereinigt um den nährstofffreien HS-Anteil ergibt sich für die Versuchsgruppe ein Futteraufwand von 0,95 g Futter g-1 Lebendmassezunahme.

Tabelle 23: Futteraufwand in Versuch F III

Versuchs- und Kontrollgruppe; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; 166 d)

	Versuchsgruppe	Kontrollgruppe
Zuwachs (g)	282,0	311,9
Futterverbrauch (g)	282,5	286,3
Futteraufwand	1,00	0,92

# 4.3.2 Beobachtungen zu Futter- und Fäzeseigenschaften sowie zur Wasserqualität in Versuch F III

Die Akzeptanz von Versuchs- bzw. Kontrollfutter war bei den Fischen der Versuchs- bzw. Kontrollgruppe sehr gut. Beide Futtermittel wurden über den gesamten Versuchszeitraum sehr gut angenommen.

Nach der Verfütterung des Kontrollfutters kam es infolge eines rascheren Zerfalls von Futter- und Kotbestandteilen innerhalb kurzer Zeit zu einer milchigen Trübung des Wassers. Im Vergleich zum Versuchsaquarium befanden sich deutlich weniger (ca. halb so viele) Futter- und Kotbestandteile am Boden. Die Wassertrübungen traten verstärkt bei höheren Temperaturen (≥18 °C) auf und konnten dann auch durch Wasserwechsel nicht restlos beseitigt werden. Das Versuchsfutter dagegen wies eine dunklere Färbung auf, besaß eine festere Konsistenz und damit eine höhere Bruchfestigkeit. Es zerfiel im Wasser langsamer als das Kontrollfutter. Auch der im Vergleich zu den Kontrollfischen dunkler gefärbte Kot der Versuchsfische war von festerer Konsistenz und löste sich daher im Wasser langsamer auf.

# 4.3.2.1 Entstehung und Untersuchung von Biofilmen

Im Kontrollaquarium war zu beobachten, dass sich nach sechs Wochen (43. Versuchstag) auffällige, herdförmige, schmierige braune Beläge gebildet hatten. Im Versuchsaquarium war nach neun Wochen (64. Versuchstag) ein mehr oder weniger unauffälliger, leichter und gleichmäßig verteilter bräunlicher Belag sichtbar, der vor allem die Bodenscheibe betraf. Zum selben Zeitpunkt war der Biofilm im Kontrollaquarium schon deutlich stärker entwickelt. Die geringere Entwicklung des Bewuchses im Versuchsaquarium setzte sich bis zum Versuchsende fort. Bei der Entnahme der Biofilm-Proben in der 20. Versuchswoche (138. Versuchstag) wurde auf der Bodenscheibe des Kontrollaquariums ein ungefähr doppelt so starker Bewuchs wie im Versuchsaquarium festgestellt. Die mikroskopische Untersuchung ergab in der Kontrollgruppe einen starken Gehalt an Kieselalgen der Gattung Navicula sowie an Rädertierchen. Die untersuchte Probe war stark belebt. In der Versuchsgruppe konnten dagegen wesentlich weniger Algen und Ziliaten, allerdings ein deutlicher Niederschlag von HS-Teilchen nachgewiesen werden. Die Probe war mäßig belebt. Die durch die bakteriologischen Untersuchungen aus dem Material der Biofilme angezüchteten Bakterien konnten mit den in der Veterinärmedizin üblichen Nährmedien nicht differenziert werden. Somit muss von spezifischen Wasserbakterien ausgegangen werden. Übliche fischpathogene und auf den Säugetierorganismus übertragbare Keime waren nicht nachweisbar.

# 4.4 Klinische Symptomatik bei äußerlicher HS-Anwendung (Bäderversuche B I und B II)

## 4.4.1 Befunde an Haut, Flossen und Kiemen

Die Goldfische waren in beiden Versuchen mehr oder weniger deutlich vorgeschädigt. Eine genaue Befunderhebung vor Versuchsbeginn konnte aus Zeitgründen nur in Versuch B II (geringere Fallzahl) vorgenommen werden.

## 4.4.1.1 Versuch B I

Die Fische beider Gruppen besaßen geschwürige Hautveränderungen, Hämorrhagien in der Haut und den Flossen, Flossenrandnekrosen und nach bestehender Vorschädigung Pilzbefall. Erkrankungen der Kiemen waren durch Schwellungen, Rötungen, graue Schleimbeläge, Anämie und Randnekrosen gekennzeichnet. Die Abbildungen 9 und 10 verdeutlichen die Krankheitssymptomatik bei einem Goldfisch der Kontrollgruppe. Bei den Fischen der Versuchsgruppe zeigte sich unter der HS-Behandlung eine beschleunigte Heilung in Form von Demarkations- und Reparationserscheinungen der Kiemen-, Flossen- und Hautläsionen. Nach vier HS-Behandlungen waren Krankheitssymptome wie Flossenrandnekrosen und Hautläsionen überwiegend abgeheilt oder in der Abheilung begriffen sowie die Entzündungssymptome in den Kiemen der Versuchsfische abgeklungen (s. Abb. 11).



Abbildung 9: **Proband der Kontrollgruppe zu Ende von Versuch B I**Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

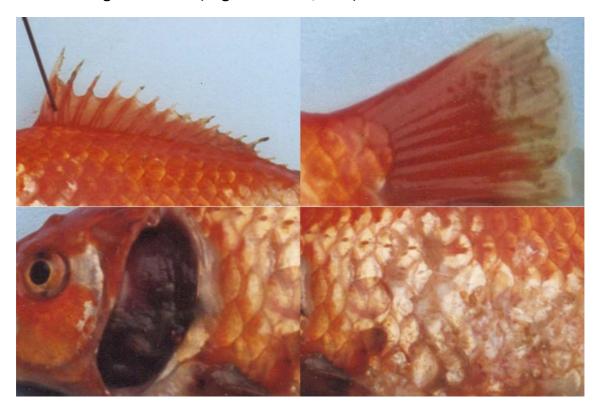


Abbildung 10: **Proband der Kontrollgruppe zu Ende von Versuch B I (Details)** Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

Flossenrandnekrosen der Rücken- bzw. Schwanzflosse mit sekundärer integumentärer Mykose durch Saprolegnia sp. (oben links und rechts) sowie Läsionen der Kiemen bzw. der Haut mit Hämorrhagien, Gewebsnekrosen sowie sekundärer integumentärer Mykose durch Saprolegnia sp. (unten links und rechts).

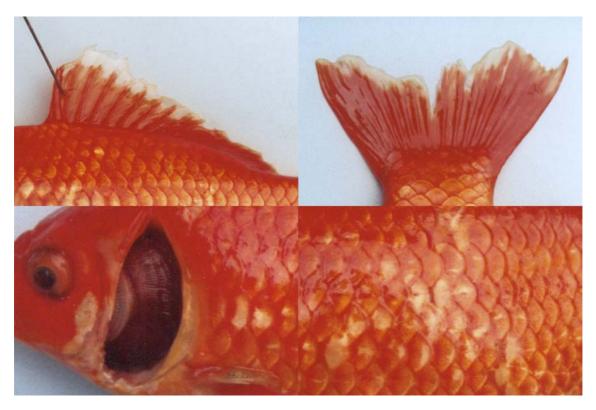


Abbildung 11: **Proband der Versuchsgruppe zu Ende von Versuch B I (Details)**Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

Demarkations- und Reparationserscheinungen: Flossenrandnekrose der Rücken- bzw. Schwanzflosse überwiegend abgeheilt (oben links und rechts), Entzündungssymptome der Kiemen abgeklungen (unten links), Hautläsionen überwiegend abgeheilt (unten rechts).

Die pilzinfizierten Fische der Versuchsgruppe besaßen eine gering- bis mittelgradige umschriebene Dermatomykose, insbesondere an den Körperseiten bzw. Flossen. Infektionen durch Pilze äußerten sich bei den Fischen der Kontrollgruppe in einer generalisierten integumentären Mykose mit ausgeprägter Dermatitis.

Die Fische beider Gruppen besaßen reichlich Viszeralfett. Schwimmblase sowie parenchymatöse Organe und Magen-Darm-Kanal waren unauffällig. Nur moribunde und verendete Fische wiesen einen klaren gelblichen gallertigen und teilweise aufgegasten Darminhalt sowie eine Hyperämie bzw. multiple Petechien und Ekchymosen an der Schwimmblasenwand auf (s. Abb. 12 und 13).



Abbildung 12: **Hyperämie der Schwimmblasenwand; Versuch B I** 

Verendeter Goldfisch; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)



Abbildung 13: Multiple Petechien und Ekchymosen der Schwimmblasenwand; Versuch B I

Moribunder Goldfisch; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

## 4.4.1.2 Versuch B II

Bei den folgenden Ergebnissen ist die Gruppierung der Fische nach der Ausprägung der Symptome den jeweiligen Tabellen zu entnehmen. Die zugehörigen Urdaten befinden sich in den Anhangstabellen 8–15. Die Ergebnisse des  $\chi^2$ -Homogenitäts-Tests sind mit der empirischen Irrtumswahrscheinlichkeit p angegeben. Dabei wurde für p<0,05 schwach signifikant, p<0,01 signifikant und p<0,001 hoch signifikant zu Grunde gelegt.

# 4.4.1.2.1 Untersuchung der Haut

Gefäßstauungen in Form einer aktiven Hyperämie der Haut kamen sowohl großflächig an den Körperseiten und dem unteren Körperbereich, als auch begrenzt vor, in letzterem Fall in Verbindung mit einer örtlichen Entzündung (Ulkus). Die Prävalenzrate der Gefäßstauungen betrug am achten Tag bei den Versuchsfischen 3 % und bei den Kontrollfischen 6 %. Bis zum zwölften Tag verringerte sich die Prävalenzrate jeweils um 2 %.

Es wurden zwei verschiedene Formen der Blutungen festgestellt. Einmal kam die Haemorrhagia per diapedesin vor, die durch Petechien und Ekchymosen gekennzeichnet war. Die Diapedeseblutungen traten hauptsächlich in der Abdominalgegend, im unteren Kopf- und Kiemendeckelbereich und an den Flossenansätzen auf (s. Abb. 14).

Die zweite festgestellte Blutungsform war die Haemorrhagia per rhexin. Diese war in der Unterform der Arrosionsblutung ausgeprägt und wird als Haemorrhagia per diabrosin bezeichnet. Das Vorkommen der Arrosionsblutung beschränkte sich auf Zusammenhangstrennungen der Hautgewebe, insbesondere bei den Ulzera.

Die Diapedeseblutungen unterschieden sich am achten Tag mit einer Prävalenzrate von 7 % in der Versuchsgruppe gegenüber 19 % in der Kontrollgruppe (p<0,05). Am zwölften Tag traten Diapedeseblutungen mit einer Prävalenzrate von 11 % bei den Versuchs- und von 10 % bei den Kontrollfischen auf.



Abbildung 14: Diapedeseblutungen in Form von multiplen Petechien und Ekchymosen im unteren Kopf- und Abdominalbereich: Versuch B II

Verendeter Goldfisch der Versuchsgruppe am 12. Tag; Hälterung mit HS-Bädem (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹) Am achten Tag betrug die Prävalenzrate der Arrosionsblutungen bei den Versuchsfischen wie bei den Kontrollfischen 6 %. Auch am zwölften Tag unterschied sich die Prävalenzrate mit 10 % in der Versuchs- und 11 % in der Kontrollgruppe nur geringfügig. Die Arrosionsblutungen der Haut kamen meist im Zusammenhang mit geschwürigen Veränderungen vor.



Abbildung 15: Geschwürige Veränderung der Haut auf der Körperseite mit Arrosionsblutung; Versuch B II

Verendeter Goldfisch der Versuchsgruppe am 11. Tag; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)



Abbildung 16: Ausgeprägtes Ulkus an der Körperseite ausgehend von der Haut bis in die Muskulatur reichend mit Arrosionsblutung; Versuch B II

Goldfisch der Kontrollgruppe am 12. Tag; Hälterung mit HS- Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Die geschwürigen Veränderungen (Ulzera) entwickelten sich aus einer oberflächlichen kreisförmigen Entzündung der Haut. Mit dem Voranschreiten der Entzündung wurden die Hautpartien nekrotisch (s. Abb. 15). Im fortgeschrittenen Stadium der Ulzeration war zusätzlich die Muskulatur betroffen (s. Abb. 16) und im Endstadium bei entsprechender Lokalisation die Bauchhöhle eröffnet. Die Prävalenzrate betrug am achten Tag in der Versuchsgruppe 9 %, in der Kontrollgruppe 14 %. Am zwölften Tag verringerte sie sich in beiden Gruppen um 1 %, wobei sich jedoch bei den Kontrollfischen der Anteil der stärker erkrankten Tiere erhöhte.

Auf der Haut wurden integumentäre Mykosen festgestellt, die als sekundäre Erscheinungen auftraten, vor allem bei Ulzerationen und Schleimhautläsionen. Während sich am achten Tag die Prävalenzrate der Fische mit Mykosen der Haut noch auf 4 % in der Versuchs- und 8 % Kontrollgruppe belief, konnte bis zum zwölften Tag mit 5 % in der Versuchs- und 13 % in der Kontrollgruppe eine geringere Prävalenzrate (p<0,05) von integumentären Mykosen festgestellt werden (Tab. 24).

## 4.4.1.2.2 Untersuchung der Flossen

Gefäßstauungen wiesen allgemein die gesamte Flosse, bei paariger Anlage das Flossenpaar bzw. bis zu alle Flossen auf. Die Hyperämie ging von der Flossenwurzel aus (s. Abb. 17). Am achten Tag belief sich die Prävalenzrate in der Versuchsgruppe auf 24 %, in der Kontrollgruppe auf 21 %. Bis zum zwölften Tag verringerte sie sich um 9 % in der Versuchs- und 12 % in der Kontrollgruppe.

Trübungen der Flossenschleimhaut kamen nur in geringgradiger Ausprägung vor. Am achten Tag betrug die Prävalenzrate in der Versuchsgruppe 6 % und in der Kontrollgruppe 4 %, am zwölften Tag dann 5 % in der Versuchs- und 7 % in der Kontrollgruppe.

Tabelle 24: Anzahl pathologisch anatomischer Hautbefunde (8. und 12. Tag\*) in Versuch B II

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Tag	Score**)	Gefäß		Diape blutur		Arros blutu		Gesch	_	Myko	sen
			_	Diutui	_		_	U			
		VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
8	0	97	94	93	81	94	94	91	86	96	92
	I	1	6	5	16	1	3	5	4	3	2
	II	2	0	2	3	5	3	2	5	0	3
	Ш	0	0	0	0	0	0	2	5	1	3
	χ²-Test	n.	S.	p<0	),05	n. s.		n. s.		n.	s.
12	0	99	96	89	90	90	89	90	85	95	87
	I	1	4	6	7	7	7	5	2	4	2
	II	0	0	3	1	3	3	2	6	0	6
	III	0	0	2	2	0	1	3	7	1	5
	χ²-Test	n.	s.	n. s.		n. s.		n. s.		p<0,05	

<sup>\*)</sup> Die Befunde vom 8. bzw. 12. Tag enthalten auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

<sup>\*\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

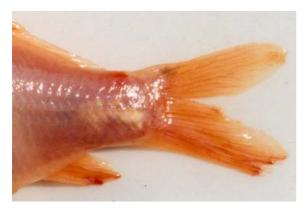


Abbildung 17: Gefäßstauungen und Arrosionsblutungen im Bereich der Schwanz- und Afterflosse; Versuch B II

Goldfisch der Kontrollgruppe am 12. Tag; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m<sup>-3</sup>; 1,5–2 h d<sup>-1</sup>)

Diapedeseblutungen waren in Form von Petechien, Ekchymosen bis hin zu Suggilationen zu verzeichnen. Ein klarer Unterschied im Anteil der Fische mit Diapedeseblutungen wurde am achten Tag sichtbar. Die Prävalenzrate unterschied sich mit 2 % bei den Versuchsfischen gegenüber 20 % bei den Kontrollfischen (p<0,001). Auch bis zum zwölften Tag lag die Prävalenzrate bei den Versuchsfischen mit 1 % niedriger als bei den Kontrollfischen mit 9 % (p<0,02).

Die Diapedeseblutungen waren abzugrenzen von Arrosionsblutungen, die meist in Verbindung mit nekrotischen Flossenrändern und Läsionen am Unterteil der paarigen Flossen auftraten. Arrosionsblutungen wurden bis zum achten Tag in der Versuchsgruppe mit einer Prävalenzrate von 7 % und in der Kontrollgruppe von 8 % festgestellt. Durch die Untersuchung am zwölften Tag wurde ein Unterschied deutlich, nach dem die Prävalenzrate in der Versuchsgruppe mit 9 % niedriger war als in der Kontrollgruppe mit 24 % (p<0,05).

Am zweiten Tag fielen bei den Fischen der Kontrollgruppe weiße Flossenränder auf. Davon ausgehend kam es zur Flossenregression zwischen den Flossenstrahlen ("Ausfransung"). Die Flossen verkleinerten sich im Verlaufe der Flossenfäule durch progressiven Zelltod (s. Abb. 18). Bis zum achten Tag war

eine Prävalenzrate von Flossenrandnekrosen in der Versuchsgruppe in Höhe von 14 % gegenüber 31 % in der Kontrollgruppe zu verzeichnen (p<0,05). Der Unterschied zwischen den Gruppen verstärkte sich bis zum zwölften Tag mit einer Prävalenzrate von 21 % in der Versuchs- und 47 % in der Kontrollgruppe (p<0,002).



Abbildung 18: Flossenrandnekrose der Schwanzflosse; Versuch B II

Moribunder Goldfisch der Kontrollgruppe am 9. Tag; Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Weiterhin geschwürige Veränderung der Haut bis in die Muskulatur reichend, im Bereich des Schwanzstiels, mit sekundärer integumentärer Mykose durch Saprolegnia sp.

Die integumentären Mykosen der Flossen traten sekundär an vorgeschädigten Partien der Flossenränder auf. Bis zum achten Tag konnte in der Versuchsgruppe eine Prävalenzrate von 1 % und nur in geringgradiger Ausprägung festgestellt werden. In der Kontrollgruppe lag die Prävalenzrate bei 7 %, wobei gering-, mittel- und hochgradige Befälle festgestellt wurden. Bis zum zwölften Tag erhöhte sich die Prävalenzrate in beiden Gruppen um 1 % (Tab. 25).

Tabelle 25: **Pathologisch anatomische Flossenbefunde (8. und 12. Tag\*) in Versuch B II**Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Tag	Score**)	Gefäß stauu		Trübu	ngen	Diape blutur		Arrosi		Rand		Mykosen	
		VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
8	0	76	79	94	96	98	80	93	92	86	69	99	93
	ı	16	17	6	4	1	11	5	3	7	14	1	2
	II	8	4	0	0	1	7	1	3	5	11	0	2
	III	0	0	0	0	0	2	1	2	2	6	0	3
	χ²-Test	n.	s.	n.	s.	p<0	,001	n.	S.	p<0	),05	n.	s.
12	0	85	91	95	93	99	91	91	76	79	53	98	92
	I	15	9	5	7	0	6	6	<b>1</b> 6	<b>1</b> 5	31	2	3
	II	0	0	0	0	0	3	2	7	3	10	0	2
	III	0	0	0	0	1	0	1	1	3	6	0	3
	χ²-Test	n.	S.	n. s.		p<0,02		p<0,05		p<0,002		n. s.	

<sup>\*)</sup> Die Befunde vom 8. bzw. 12. Tag enthalten auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

# 4.4.1.2.3 Untersuchung der Kiemen

Anfangssymptome einer Erkrankung der Kiemen waren Rötungen, Schwellungen und eine gesteigerte Schleimsekretion. Rötungen (Hyperämien) als Ausdruck von Blutstauungen in den Kiemengefäßen wurden bis zum achten Tag nur in der Versuchsgruppe mit einer Prävalenzrate von 1 % festgestellt.

<sup>\*\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

Bis zum zwölften Tag konnten die Kiemenrötungen nur bei den Kontrollfischen mit einer Inzidenzrate von 4 % nachgewiesen werden.

Kiemenschwellungen konnten durch die Untersuchung am achten Tag nicht festgestellt werden. Bis zum zwölften Tag entwickelten sich Kiemenschwellungen nur in der Kontrollgruppe mit einer Inzidenzrate von 7 %.

Eine gesteigerte Schleimsekretion der Kiemen konnten nur in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Bis zum achten Tag war bei den Fischen der Kontrollgruppe eine gesteigerte Schleimsekretion mit einer Prävalenzrate von 1 %, bis zum zwölften Tag von 4 % vorhanden.

Hämorrhagien kamen bis zum achten Tag mit einer Prävalenzrate von 1 % in der Versuchsgruppe, bis zum zwölften Tag mit einer Inzidenzrate von 0 % in der Versuchsgruppe und 2 % in der Kontrollgruppe vor.

Anämische, blasse Kiemen wurden bis zum achten Tag mit einer Prävalenzrate von 1 % bei den Versuchs- und 4 % bei den Kontrollfischen festgestellt. Bis zum zwölften Tag betrug die Prävalenzrate in der Versuchsgruppe 2 %, in der Kontrollgruppe 8 % (s. Abb. 19).

Kiemennekrosen kamen am distalen Ende der Kiemenbögen vor oder breiteten sich von der proximalen Seite des Kiemenbogens aus (s. Abb. 20). Bei hochgradiger Erkrankung in der Kontrollgruppe war ein großflächiger Verlust von Teilen des Parenchyms und des Stromas zu beobachten, die Sekundärlamellen der Kiemen waren teilweise vollständig nekrotisch. In der Versuchsgruppe lag die Prävalenzrate bis zum achten Tag mit 9 % niedriger im Gegensatz zur Kontrollgruppe mit 22 % (p<0,05). Bis zum zwölften Tag blieb ein Unterschied in der Ausprägung von Kiemennekrosen zwischen den Versuchs- und Kontrollfischen mit einer Prävalenzrate von 3 % gegenüber 13 % erhalten (p<0,05).

Integumentäre Mykosen wurden an chronisch vorgeschädigten Kiemen bis zum achten Tag mit einer Prävalenzrate von 1 % bei den Versuchs- und von 2 % bei den Kontrollfischen festgestellt. Bis zum zwölften Tag betrug die Prävalenzrate in der Versuchsgruppe 1 %, in der Kontrollgruppe 3 % (Tab. 26).



Abbildung 19: Kiemen; Versuch B II

Moribunder Goldfisch der Versuchsgruppe am 8. Tag; Hälterung in HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Bezogen auf den moribunden Zustand des Goldfisches befinden sich die Kiemen bis auf eine geringgradige Anämie gegenüber erkrankten Kiemen von Goldfischen der Kontrollgruppe vergleichsweise in einem guten Zustand.



Abbildung 20: Kiemennekrose, Versuch B II

Moribunder Goldfisch der Kontrollgruppe am 9. Tag; Hälterung in HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Tabelle 26: **Anzahl pathologisch anatomischer Kiemenbefunde (8. und 12. Tag\*) in Versuch B II**Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Tag	Score**)	Rötui	ngen		Schwel- lungen		im- tion	Blutu	ngen	Anäm	ien	Nekro	sen	Mykos	sen	
		VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	
8	0	99	100	100	100	100	99	99	100	99	96	91	78	99	98	
	I	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	5	11	1	1	
	II	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	11	0	0	
	III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	χ²-Test	n	. s.	n	. S.	n. s.		n. s.		n.	S.	p<0	,05	n.	s.	
12	0	100	96	100	93	100	96	99	98	98	92	97	87	99	95	
	1	0	1	0	4	0	3	1	0	2	5	1	8	1	3	
	II	0	1	0	2	0	1	0	2	0	3	2	3	0	0	
	III	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	
	χ²-Test	n	. S.	n	n. s.		n. s.		n. s.		n. s.		p<0,05		n. s.	

<sup>\*)</sup> Die Befunde vom 8. bzw. 12. Tag enthalten auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

# 4.4.1.3 Zusammenfassende Bewertung der Befunde

In Versuch B I wurden insgesamt 644 Fische untersucht. Wie aus Tabelle 27 und Abbildung 21 ersichtlich ist, betrug vier Tage nach Beginn der HS-Behandlung in der Versuchsgruppe die Prävalenzrate der Fische ohne oder mit überwiegend in Abheilung befindlichen Organ-, insbesondere Haut-, Flossen- und Kiemenveränderungen 62,4 %. Für die übrigen Fische aus der Versuchsgruppe mit geringgradigen klinischen Symptomen lag die Prävalenzrate bei 31,7 %, für die mit mittelgradigen bei 4,3 % und für die mit hochgradigen klinischen Symptomen bei 1,6 %.

Tabelle 27: Anzahl pathologisch anatomischer Befunde von integumentären Organveränderungen (4. Tag\*) in Versuch B I

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=322); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

Tag	Score**)	Versuch	sgruppe	Kontrol	lgruppe			
		n	%	n	%			
4	0	201	62,4	96	29,8			
	I	102	31,7	160	49,7			
	II	14	4,3	32	9,9			
	Ш	5	1,6	34	10,6			
	χ²-Test	p<1·10 <sup>-16</sup>						

<sup>\*)</sup> Der Befund vom 4. Tag enthält auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

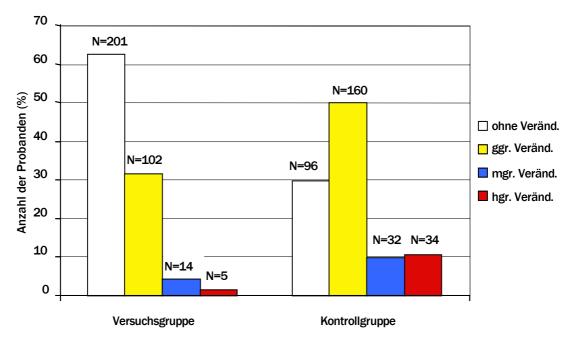
Unterschied zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe hoch signifikant mit p<1.10 $^{16}$  ( $\chi^2$ -Homogenitäts-Test).

<sup>\*\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

<sup>\*\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen

Die Fische der Kontrollgruppe ohne oder mit überwiegend in Abheilung befindlichen Organ-, insbesondere Haut-, Flossen- und Kiemenveränderungen, wurden mit einer Prävalenzrate von 29,8 % festgestellt. Die Prävalenzrate der nicht behandelten Fische lag bei 49,7 % mit geringgradigen, bei 9,9 % mit mittelgradigen und bei 10,6 % mit hochgradigen klinischen Symptomen (s. Tab. 27 und Abb. 21).

Es zeigte sich eine geringgradigere Ausprägung (p $<1\cdot10^{-16}$ ) des Krankheitsgeschehens nach der HS-Behandlung.



Grad pathologisch anatomischer Veränderungen am 4. Tag

Abbildung 21: Anzahl pathologisch anatomischer Befunde (4. Tag\*) in Versuch B I

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=322); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1 h d¹)

Goldfische der Versuchsgruppe (links) und Kontrollgruppe (rechts) ohne (weiß), mit geringgradigen (gelb), mittelgradigen (blau) und hochgradigen Veränderungen (rot). Über den Säulen Anzahl der dem Grad der Veränderung zugeteilten Probanden.

Die vergleichbare Gesamtbewertung von Versuch B II findet sich in Tabelle 28 und den Abbildungen 22 und 23. Betrachtet man alle untersuchten Symptome, ergibt sich ein Unterschied im Gesamtbefund. Demnach waren erkrankte Fische bis zum achten Tag mit einer Prävalenzrate in der Versuchsgruppe von 44 %, in der Kontrollgruppe hingegen von 71 % zu verzeichnen (p<0,002). Bis zum zwölften Tag traten in der Versuchsgruppe bei 52 % und in der Kontrollgruppe bei 72 % der Fische Krankheitssymptome auf (p<0,001). In der Versuchsgruppe dominierten die Fische ohne Krankheitssymptome, in der Kontrollgruppe die mit geringgradigen Krankheitssymptomen.

In den Säulendiagrammen wird die Überlegenheit der Versuchsgruppe gegenüber der Kontrollgruppe im pathologisch anatomischen Befund zu beiden Untersuchungszeitpunkten am achten und zwölften Tag besonders anschaulich verdeutlicht.

<sup>\*)</sup> Der Befund vom 4. Tag enthält auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die ieweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

Tabelle 28: Anzahl pathologisch anatomischer Befunde von integumentären Organveränderungen (8. und 12. Tag\*) in Versuch B II

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädem (10 g Na-Humat m3; 1,5-2 h d1)

Tag	Score**)	Haut Floss		Kiem	nen	Gesa befu		
		VG	KG	VG	KG	VG	KG	
8	0	58	29	88	73	56	29	
	1	23	37	9	12	23	33	
	II	13	20	3	14	16	26	
	III	6	14	0	1	5	12	
	χ²-Test	p<0,	,001	p<0	,02	p<0,	,002	
12	0	49	33	94	73	48	28	
	I	38	37	4	13	39	36	
	II	4	14	2	8	5	18	
	III	9	16	0 6		8	18	
	χ²-Test	p<0	,02	p<0,	001	p<0,001		

<sup>\*)</sup> Die Befunde vom 8. bzw. 12. Tag enthalten auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

<sup>\*\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

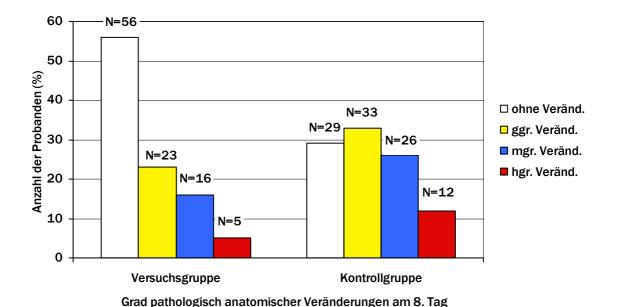


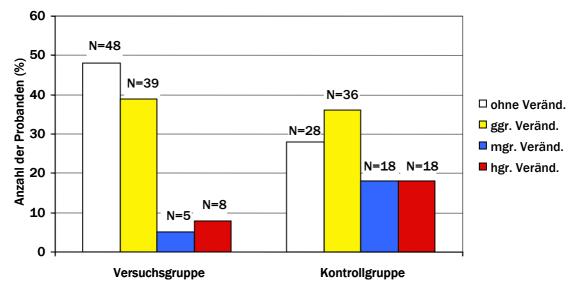
Abbildung 22: Anzahl pathologisch anatomischer Befunde (Gesamtbefund 8. Tag\*) in Versuch B II

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Keine Veränderungen (weiß), geringgradige (gelb), mittelgradige (blau) bzw. hochgradige (rot) Veränderungen. Über den Säulen Anzahl N der dem Grad der Veränderung zugeteilten Probanden.

Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe signifikant mit p<0,002 (χ²-Homogenitäts-Test)

<sup>\*)</sup> Der Befund vom 8. Tag enthält auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.



Grad pathologisch anatomischer Veränderungen am 12. Tag

Abbildung 23: Anzahl der pathologisch anatomischen Befunde (Gesamtbefund 12. Tag\*) in Versuch B II

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädem (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

\*) Der Befund vom 12. Tag enthält auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

Unterschied zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe hoch signifikant mit p<0,001 ( $\chi^2$ -Homogenitäts-Test).

Durch die in Tabelle 28 ausgewiesene Zusammenfassung aller bei der Untersuchung der Haut und der Flossen festgestellten Symptome ergab sich bis zum achten Tag ein deutlicher Unterschied bei der Prävalenzrate von 42 % in der Versuchs- und 70 % in der Kontrollgruppe (p<0,001). Bis zum zwölften Tag betrug die Prävalenzrate bei den Versuchsfischen 51 %, bei den Kontrollfischen 67 % (p<0,02).

Bezüglich der Kiemen lag die Prävalenzrate von Krankheitssymptomen bis zum achten Tag in der Versuchsgruppe bei 12 % und in der Kontrollgruppe bei 27 % (p<0,02). Bis zum zwölften Tag verstärkte sich der Unterschied nochmals dadurch, dass die Prävalenzrate für die an den Kiemen erkrankten Versuchsfische auf 6 % sank, die Prävalenzrate bei den Kontrollfischen aber unverändert bei 27 % bestehen blieb (p<0,001).

Tabelle 29 fasst die wichtigsten Befunde aus Versuch B II nach Symptomengruppen zusammen. Wie aus Tabelle 29 ersichtlich wird, ergab sich bei der Ausprägung der Hämorrhagien an der Haut, den Flossen und den Kiemen bis zum achten Tag eine deutlich unterschiedliche Prävalenzrate bei den Fischen von 20 % in der Versuchs- und 45 % in der Kontrollgruppe (p<0,002). Ein Unterschied war auch bis zum zwölften Tag vorhanden, bis zu dem die Fische in der Versuchsgruppe Hämorrhagien mit der Prävalenzrate von 26 % und in der Kontrollgruppe von 52 % aufwiesen (p<0,02).

Die Beurteilung aller festgestellten nekrotischen Veränderungen an der Haut (Ulzera), der Flossen (Flossenrandnekrosen) und der Kiemen (Kiemennekrosen) ergab bis zum achten Tag eine Prävalenzrate von 24 % in der Versuchs- und 47 % in der Kontrollgruppe (p<0,01). Bis zum zwölften Tag unterschied sich die Prävalenzrate noch deutlicher zu Gunsten der HS-Behandlung mit 29 % bei den Versuchs- und 69 % bei den Kontrollfischen (p<0,0001).

Integumentäre Mykosen der Haut, der Flossen und der Kiemen kamen zusammen bis zum achten Tag mit der Prävalenzrate von 4 % bei den Versuchs- und 11 % bei den Kontrollfischen vor. Bis zum zwölften Tag unterschied sich die Prävalenzrate dann klar mit 6 % in der Versuchs- und 17 % in der Kontrollgruppe (p<0,01).

Die Prävalenzrate der Symptome einer akuten Kiemenentzündung Rötung, Schwellung und verstärkte Schleimsekretion lag bis zum achten Tag bei jeweils 1 % in der Versuchs- und Kontrollgruppe. Bis zum zwölften Tag betrug die Prävalenzrate wieder 1 % bei den Versuchs-, dagegen aber schon 10 % bei den Kontrollfischen (p<0,02).

Tabelle 29: Anzahl pathologisch anatomischer Befunde zusammengefasst zu Symptomgruppen (8. und 12. Tag\*) in Versuch B II

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Tag	Score**)	Hämo gien	rrha-	Nekro	sen	Mykos	sen	akute Kiemen- entzündungen		
		VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	
8	0	80	55	77	53	96	89	99	99	
	1	11	28	11	19	3	3	0	1	
	II	8	13	8	16	0	4	1	0	
	Ш	1	4	4	12	1	4	0	0	
	χ²-Test	p<0,	,002	p<0,005		n. s.		n.	s.	
12	0	74	58	72	48	94	83	100	90	
	1	18	24	17	27	5	4	0	4	
	II	5	14	5	12	0	7	0	3	
	Ш	3	4	6	13	1	6	0	3	
	χ²-Test	n. s.		p<0	,01	p<0	,01	p<0,02		

<sup>\*)</sup> Die Befunde vom 8. bzw. 12. Tag enthalten auch die an vorhergehenden Tagen bei verendeten Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe

# 4.4.2 Parasitologische Befunderhebung

Bei Versuchsende von B I waren Ekto- und Endoparasiten nicht nachweisbar.

Für die ektoparasitologischen Untersuchungen von Versuch B II wurden 24 Goldfische ausgewertet. Die Artendiversität ("species richness") unterschied sich zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe nicht. Es konnten jeweils sieben verschiedene Parasitenarten gefunden werden. Zur Parasitenfauna der Versuchs- und Kontrollfische gehörten *Ichthyobodo sp., Chilodonella sp., Ichthyophthirius sp., Trichodina sp., Gyrodactylus sp., Dactylogyrus sp.* und *Argulus sp.* Das Auftreten der einzelnen Parasiten ist in der Tabelle 30 verzeichnet.

In der Versuchsgruppe besaßen 80% (8/10) der untersuchten Fische insgesamt einen geringgradigen Befall der Haut mit Ektoparasiten, die restlichen 20% (2/10) einen mittelgradigen Befall. Die Kiemen waren zu 10% (1/10) nicht, zu 80% (8/10) geringgradig und zu 10% (1/10) hochgradig mit Ektoparasiten befallen. In der Kontrollgruppe war die Haut der untersuchten Fische insgesamt zu 21,4% (3/14) geringgradig, zu 71,4% (10/14) mittelgradig und zu 7,1% (1/14) hochgradig mit Ektoparasiten befallen. Die Kiemen wiesen insgesamt zu 7,1% (1/14) einen geringgradigen, zu 50% (7/14) einen mittelgradigen und zu 42,9% (6/14) einen hochgradigen Befall auf.

Die Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der Parasitierung der Haut insgesamt mit *Ichthyobodo* sp., *Chilodonella* sp., *Ichthyophthirius* sp., *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp. und *Argulus* sp. (p<0,02). Bei den Kiemen wurde insgesamt der Unterschied im Befall mit den Ektoparasiten *Ichthyobodo* sp., *Chilodonella* sp., *Ichthyophthirius* sp., *Trichodina* sp. und *Dactylogyrus* sp. geringfügig deutlicher (p<0,01). Hier stellte sich allein schon ein Unterschied im Auftreten von *Ichthyophthirius* sp. heraus (p<0,05). So war in der Versuchsgruppe *Ichthyophthirius* sp. auf den Kiemen nicht nachweisbar,

<sup>\*\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen

Tabelle 30: Anzahl der Befälle mit Ektoparasiten (12. Tag\*) in Versuch B II

Versuchs- (n=10) und Kontrollgruppe (n=14); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Score	Haut													
	Ichthy	/O-	Chilod	lo-	Ichthy	oph-	Tricho	dina	Gyro-		Argulu	IS	Zusan	nmen-
	bodo		nella		thirius	6			dactyl	us			fassur	ng
	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
0	6	4	9	10	6	9	0	1	5	6	10	12	0	0
1	4	3	1	1	4	4	8	9	5	8	0	1	8	3
II	0	6	0	3	0	1	2	4	0	0	0	1	2	10
III	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
χ²-Test	n.	s.	n.	S.	n. s.		n. s.		n. s.		n. s.		p<0	,02
Score	Kieme	n											Ges	amt-
	Ichthy	/O-	Chilod	lo-	Ichthyoph-		Trichodina		Dactylo-		Zusammen-		bef	und
	bodo		nella		thirius	<b>;</b>					fassur	ıg		
	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
0	5	3	7	4	10	7	5	1	3	2	1	0	0	0
I	5	10	2	3	0	5	5	11	7	8	8	3	7	1
II	0	1	0	1	0	2	0	1	0	3	0	5	2	7
III	0	0	1	6	0	0	0	1	0	1	1	6	1	6
χ²-Test	n.	s.	n.	S.	p<0	),05	n.	s.	n.	s.	p<0	,01	p<0	,01

<sup>\*)</sup> Der Befund vom 12. Tag enthält auch die an vorhergehenden Tagen bei moribunden Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in den jeweiligen Zahlenwert mit eingehen.

wogegen in der Kontrollgruppe 35,7 % (5/14) der Fische geringgradig und 14,3 % (2/14) mittelgradig befallen waren (s. Tab. A-16-A-19).

Zusammengefasst ergibt sich für den Gesamtbefund der ektoparasitologischen Untersuchung ein Unterschied zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe (p<0,01). In der Versuchsgruppe waren 70 % (7/10) der Fische geringgradig, 20 % mittelgradig und 10 % (1/10) hochgradig parasitiert. Dagegen wurde in der Kontrollgruppe bei 7,1 % (3/14) ein geringgradiger, bei 50 % (7/14) ein mittelgradiger und bei 42,9 % (6/14) ein hochgradiger Befall nachgewiesen.

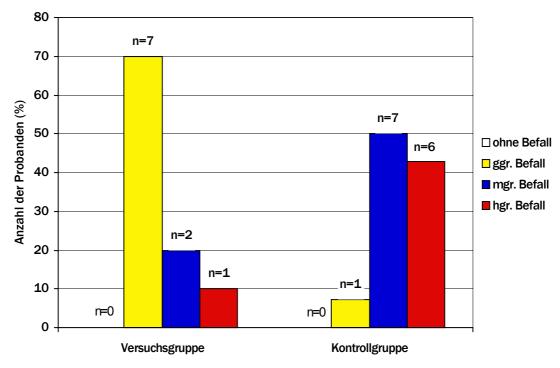
Der beschriebene Sachverhalt zum Befall mit Ektoparasiten insgesamt ist durch das Säulendiagramm der Abbildung 24 gesondert dargestellt.

# 4.4.3 Bakteriologische Befunderhebung

Durch die bakteriologischen Untersuchungen der Organe, Haut bzw. Kiemen der Fische in Versuch B I wurden in beiden Gruppen bewegliche Aeromonaden (*A. hydrophila, A. sobria, A. schubertii*) biochemisch nachgewiesen. In der Versuchsgruppe waren die Keime in geringer bis mittlerer Anzahl in der Haut, in der Kontrollgruppe in hoher Anzahl in der Haut und den Kiemen vorhanden.

In der Kontrollgruppe wurde außerdem bakterioskopisch in den Kiemen eines erkrankten Fisches mit Kiemenrötung, vermehrter Schleimsekretion sowie Flossenrandnekrosen ein geringgradiger Myxobakterienbefall festgestellt.

<sup>\*\*)</sup> Score 0: keine Veränderungen, Score I, II bzw. III: geringgradige, mittelgradige bzw. hochgradige Veränderungen VG: Versuchsgruppe; KG: Kontrollgruppe; Abundanz der Parasiten (Befallsgrad pro Proband) auf der Haut, den Kiemen und zusammenfassende Auswertung zum Haut- und Kiemenbefund (Zusammenfassung) sowie Gesamtbefund.



Grad Parasitenbefall am 12. Tag

Abbildung 24: Anzahl ektoparasitologischer Befunde (Gesamtbefund 12. Tag\*) in Versuch B II

Versuchs- und Kontrollgruppe (jeweils N=100); Hälterung mit HS-Bädern (10 g Na-Humat m³; 1,5–2 h d¹)

Unterschied zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe signifikant mit p<0,01 ( $\chi^2$ -Homogenitäts-Test).

Die Untersuchungen von je einer Stichprobe (n=5) der Versuchs- und Kontrollgruppe aus Versuch B II am zwölften Tag erbrachten in beiden Gruppen den biochemischen Nachweis eines gering- bis hochgradigen Befalls der Haut und einen gering- bis mittelgradigen Befall der inneren Organe (Leber, Niere, Milz) mit beweglichen Aeromonaden (A. sobria, A. hydrophila).

Myxobakterien konnten bakterioskopisch schon im Nativpräparat diagnostiziert werden. Im Verlauf des Versuches wurden bei den Untersuchungen von lebenden oder frischtoten Fischen der Kontroll-(n=6) und Versuchsgruppe (n=3) bei zwei Kontrollfischen die für Myxobakterien typischen Kolumnen und die rasenbüschelartige Anordnung der beweglichen Stäbchenbakterien gefunden. Die Myxobakterien kamen am neunten Tag jeweils in hochgradiger Zahl auf der Haut (hochgradige Ulzera), sowie einmal in mittlerer Anzahl auf den Kiemen (hochgradige Kiemennekrose) vor. Bei den restlichen untersuchten Fischen der Kontrollgruppe (n=4) und Versuchsgruppe (n=3) wurden zwar überwiegend bewegliche Stäbchenbakterien in geringer Anzahl festgestellt, es fehlte jedoch immer die für Myxobakterien typische Anordnung (s. Tab. A-20 und A-21).

# 4.4.4 Mykologische Befunderhebung

Die mykologischen Untersuchungen in beiden Versuchen erbrachte bei beiden Fischgruppen den Nachweis von Pilzen der Gattung Saprolegnia.

## 4.4.5 Virologische Befunderhebung

In keiner der jeweils drei Passagen über RTG- und EPC (Epithelioma papillosum cyprini)-Zellkulturen zeigte sich ein zytopathischer Effekt. Daher wurden die virologischen Untersuchungen insgesamt mit negativem Ergebnis abgeschlossen.

<sup>\*)</sup> Der Befund vom 12. Tag enthält auch die an vorhergehenden Tagen bei moribunden Fischen beobachteten Symptome, die dadurch in die jeweiligen Zahlenwerte mit eingehen.

### 4.4.6 Sonstige Beobachtungen

In Versuch B I konnten Nebenwirkungen während und nach der viertägigen Behandlung nicht festgestellt werden. Dagegen kam es in Versuch B II während der Behandlung in der Versuchsgruppe am achten Tag zu einem Zwischenfall. So zeigten zwei Goldfische während der Behandlungsdauer Gleichgewichtsstörungen. Innerhalb kurzer Zeit verloren sie die Fähigkeit zur kontrollierten Körperhaltung, legten sich an der Wasseroberfläche auf die Seite und ließen bei stark verlangsamter Atemfrequenz den moribunden Zustand erkennen. Die Fische wurden der Vorschrift entsprechend getötet und untersucht. Der erste Fisch war hochgradig verändert. Dieser wies ein grau-olivgrünes hochgradig verpilztes Auge, Kiemen mit geringgradigen Hämorrhagien und schleimigen Belägen sowie mittelgradiger Kiemenrandnekrose auf. Auf der Haut waren geringrandig Trichodina sp., Chilodonella sp., Ichthyobodo sp. und Gyrodactylus sp. nachweisbar. Die Kiemen wiesen einen Massenbefall mit Chilodonella sp. und jeweils geringgradig Trichodina sp., Ichthyobodo sp. und Dactylogyrus sp. auf. Der zweite Fisch besaß geringgradig anämische Kiemen. Die parasitologische Untersuchung erbrachte den Nachweis eines geringgradigen Trichodina sp.-Befalls auf der Haut und jeweils geringgradig Ichthyobodo sp., Chilodonella sp., Trichodina sp. und Dactylogyrus sp. Bei beiden Fischen wurden bakterioskopisch nativ vereinzelt bzw. geringgradig bewegliche Stäbchenbakterien auf der Haut nachgewiesen. Die für Myxobakterien typische Anordnung war aber nicht vorhanden.

Bei einer durchgeführten gleichartigen Behandlung von weiteren 100 Goldfischen des Bestandes konnten auch nach 2,5 Stunden Einwirkungszeit keine negativen Wirkungen beobachtet werden.

Allgemein schwammen die Fische nach dem Einfüllen der Behandlungslösung ruhig und verteilt in der Rinne. Eine anfängliche geringe Scheu und Neugier der Fische aufgrund der das Wasser stark dunkelbraun färbenden Lösung verschwand schnell.

In Versuch B II waren die parenchymatösen Organe gering- bis mittelgradig hyperämisch. Selten wurden Petechien festgestellt. Einige Fische besaßen bis zu hochgradig geschwollene und vergrößerte Milzen. Der Darminhalt war graugelblich und dünn- bis lockerbreiig bzw. rötlich-gelb und flüssig, teilweise klar oder aufgegast, die Darmschleimhaut unauffällig.

# 4.4.6.1 Untersuchung ausgewählter Wasserparameter während der Behandlung in Versuch B II

In Versuch B II war während der Behandlungen in der Versuchsgruppe infolge der Unterbindung des Wasserzuflusses eine Verringerung des Sauerstoffgehaltes bzw. der Sauerstoffsättigung bei einer meist gleichzeitig erfolgenden leichten Erwärmung des Behandlungswassers zu verzeichnen (nicht in Versuch B I, O<sub>2</sub>-Begasung). Die Messungen am siebten Tag ergaben bei der getesteten Behandlungsdauer von 1,5 Stunden insgesamt einen Abfall im Sauerstoffgehalt von anfangs 9,0 auf 5,5 mg L<sup>-1</sup> und bezüglich der Sauerstoffsättigung von 100 auf 62 %. Bei der maximal getesteten Behandlungsdauer von zwei Stunden fiel am achten Tag der Sauerstoffgehalt von anfangs 9,6 auf 5,3 mg L<sup>-1</sup> und die Sauerstoffsättigung von 109 auf 61 % (Tab. A-5). Die minimale Sauerstoffkonzentration zu Behandlungsende betrug 3,9 mg L<sup>-1</sup> bei einer Sauerstoffsättigung von 45 % mit einem Ausgangswert von 7,1 mg Sauerstoff L<sup>-1</sup> und 80 % Sauerstoffsättigung am sechsten Tag. Die Wassertemperatur erhöhte sich während der Behandlungen um maximal 1,8 °C am zehnten Tag (s. Tab. A-3).

Gleichzeitig wurde während der HS-Exposition eine pH-Wert-Erniedrigung festgestellt. Mit dem pH-Test-Reagenz konnte der pH-Wert auf einer Farbskala mit 0,5-pH-Einteilung abgelesen werden. Die am achten Tag durchgeführten Messungen ergaben eine Absenkung des pH-Wertes von 8,5 vor der zweistündigen HS-Exposition auf 7,5 zu Behandlungsende. Der pH-Wert-Abfall wurde in Abhängigkeit der Zeit bestimmt und bei Ablesewerten zwischen den vorgegeben 0,5-pH-Intervallen mit Hilfe von Messwert-Intervallen angegeben. Im Einzelnen lagen die Messwerte nach 15, 30 und 60 Minuten bei einem pH-Wert von 8<x<8,5, nach 120 Minuten bei 7,5. Das entspricht insgesamt einem Abfall um eine pH-Wert-Einheit bei zweistündiger HS-Exposition. Am neunten Tag wurden jeweils vor Beginn der HS-Behandlung und nach 15 sowie 30 Minuten der 1,5-stündigen HS-Exposition ein pH-Wert von 8,5<x<9

festgestellt. Nach 60 Minuten war ein pH-Wert von 8,5 und nach 90 Minuten ein pH-Wert von 8,0 zu verzeichnen. Der pH-Wert verringerte sich insgesamt um weniger als eine Einheit bei 1,5-stündiger HS-Exposition (s. Tab. A-6).

Am achten Versuchstag wurde ein Gehalt an Ammoniak in der Kontrollgruppe von 0,09 mg L-1 und in der Versuchsgruppe von 0,01–0,09 mg L-1 (Abfall an undissoziiertem NH<sub>3</sub> bedingt durch pH-Erniedrigung während der HS-Exposition) bestimmt. Die höchste Belastung mit Ammoniak trat im letzten Versuchsabschnitt auf. Am elften Versuchstag erreichte die Ammoniakkonzentration 0,11<x<0,26 mg L-1 in der Kontrollgruppe und 0,04 $\le$ x<0,25 mg L-1 in der Versuchsgruppe (s. Tab. A-4 und A-7).

# 4.5 Klinische Symptomatik bei oraler HS-Anwendung (Aufzuchtversuche F I, F II und F III)

# 4.5.1 Pathomorphologische Befunderhebung

In der ersten Aufzuchtperiode des Versuchs F I ergaben die pathomorphologischen Untersuchungen der Stichproben vom 35. bis 260. Versuchstag sowohl bei den Versuchs- als auch bei den Kontrollfischen (je n=36) eine Kiemenschwellung, epitheliale Hyperplasie der Kiemenblättchen beginnend vom distalen Ende mit Fusionen der respiratorischen Fältchen bzw. vereinzelt eine Regression der Sekundärlamellen sowie Nekrosen der Kiemen. Die Haut war abgesehen von vereinzelt auftretenden Vogelbissverletzungen unverändert. Es traten vereinzelt Schwimmblasenentzündungen in beiden Gruppen auf. Die Fische beider Gruppen wiesen einen guten Ernährungszustand auf.

Durch die in der zweiten Aufzuchtperiode bis zum 557. Versuchstag durchgeführten Stichprobenuntersuchungen wurde sowohl bei den Versuchs- als auch bei den Kontrollfischen (je n=16) ein guter Ernährungszustand festgestellt. Abgesehen von Kiemenschwellungen waren die inneren Organe unauffällig.

Myxosporidienstadien wurden bei den Fischen der Versuchs- und Kontrollgruppe am 50. Versuchstag in den Nierenkanälchen im mikroskopischen Quetschpräparat und am 260. Versuchstag in der Kontrollgruppe histologisch in den Kiemen und den Nierenkanälchen bzw. im Nierengewebe nachgewiesen.

Durch die Stichprobenuntersuchungen (je n=16) in der dritten Aufzuchtperiode bis zum 983. Versuchstag in der abschließenden Hälterung wurden bei den Fischen in der Versuchs- und auch in der Kontrollgruppe ein guter Ernährungszustand und am 954. Versuchstag, dem 154. Tag nach Überführung der Fischgruppen in die abschließende Winterhälterung und dem 54. Tag nach Einstellung der Versuchsfütterung, erstmals die so genannten "Neuartigen Hautveränderungen" (BRÄUER et al. 2001) festgestellt. Es waren 50 % der Versuchs- und 10 % der Kontrollfische betroffen. Diese klar umschriebenen kreisrunden Hautveränderungen wiesen eine milchigtrübe Schleimauflagerung mit nachfolgenden Pigmentstörungen und Rötungen auf und zeigten sich im Bereich des Rückens sowie der Schwanzflosse. Nach vier Wochen, bei einer Bestandsinspektion am 983. Versuchstag, traten diese Hautveränderungen noch bei 40 % der Versuchs- und 10 % der Kontrollfische als kraterförmige Hautzusammenziehungen bzw. Vernarbungen in der Rücken und Schwanzregion auf. Die Kiemen und inneren Organe waren in beiden Gruppen unauffällig.

Bei der Aufzucht von Karpfen in Versuch F II ergaben die pathomorphologischen Untersuchungen der Stichproben vom 57., 84. und 141. Versuchstag bei den Fischen sowohl aller Versuchs- als auch Kontrollgruppen (je n=18) eine Kiemenschwellung, epitheliale Hyperplasie der Kiemenblättchen beginnend vom distalen Ende mit Fusionen der respiratorischen Fältchen bzw. vereinzelt eine Regression der Sekundärlamellen, Nekrosen der Kiemen sowie Schwimmblasenentzündungen. Die Haut war abgesehen von vereinzelt auftretenden Vogelbissverletzungen unverändert. Die Fische aller Gruppen wiesen über den gesamten Untersuchungszeitraum einen guten Ernährungszustand auf, nur die Fische der KG<sub>40</sub> (hohe Besatzdichte) besaßen zu Versuchsende einen mäßigen bis guten Ernährungszustand.

Myxosporidiensporen wurden am 141. Versuchstag histologisch bei den Fischen aller Versuchs- und Kontrollgruppen grundsätzlich in der Niere und im Herz (Epikard, z. T. auch Myo- und Endokard), teilweise auch in den Kiemen, der Haut und der Schwimmblase nachgewiesen.

Im Forellenversuch F III wurden alle Fische der Versuchs- und Kontrollgruppe (je N=25) begutachtet. Die Fische waren zu allen Untersuchungszeitpunkten am 29., 45., 92. und 166. Versuchstag frei von pathologischen Veränderungen und wiesen einen sehr guten Allgemein- sowie einen guten Ernährungszustand auf. Viszeralfett war vorhanden. Weiterhin ließen sich auch im äußeren Erscheinungsbild keine Unterschiede feststellen. Nur die arttypische schwarze Bänderung (Färbung) der Körperseiten schien bei den Fischen der Versuchsgruppe geringgradig intensiver ausgeprägt zu sein.

# 4.5.2 Parasitologische Befunderhebung

Die parasitologische Untersuchung ergab in beiden Gruppen der ersten Aufzuchtperiode von Versuch FI einen geringgradigen Argulus sp.-Befall der Haut sowie einen geringgradigen Trichodina sp.-, Trichodinal sp.-, Chilodonella sp.- und Gyrodactylus sp.-Befall der Haut bzw. der Kiemen.

In der zweiten Aufzuchtperiode erbrachten die parasitologischen Untersuchungen bei vereinzelten Fischen in beiden Gruppen einen geringgradigen Argulus sp.- bzw. Piscicola sp.-Befall der Haut sowie einen geringgradigen Trichodina sp.-, Trichodinella sp.- und Gyrodactylus sp.-Befall der Haut bzw. der Kiemen.

Die Untersuchung der Stichproben in der dritten Aufzuchtperiode ergab bei den Fischen in der Versuchs- und auch in der Kontrollgruppe einen geringgradigen *Trichodina sp.-, Trichodinella sp.-* und *Gyrodactylus sp.-*Befall der Haut bzw. der Kiemen.

Die parasitologischen Untersuchungen in Versuch F II ergaben bei den Fischen der Kontrollgruppen und anfänglich auch der Versuchsgruppen einen geringgradigen *Trichodina sp.-, Trichodinella sp.-, Ichthyophthirius sp.-* bzw. *Dactylogyrus sp.-*Befall der Haut bzw. Kiemen. In den Versuchsgruppen<sub>20-40</sub> (je n=12) waren die Haut, die Kiemen und der Verdauungstrakt der Fische ab der Stichprobenuntersuchung am 84. Versuchstag frei von einzelligen Parasiten, nur in der Versuchsgruppe 3 (hohe Besatzdichte) trat bei der letzten Untersuchung ein vereinzelter *Trichodina sp.-* bzw. *Dactylogyrus sp.-*Befall der Kiemen auf. In allen Kontrollgruppen wurde am bzw. ab dem 84. Versuchstag ein vereinzelter bis mittelgradiger, in der Versuchsgruppe<sub>20</sub> ab dem 84. Tag ein vereinzelter *Posthodiplostomum sp.-*Befall der Haut festgestellt. Der anfängliche *Ichthyophthirius sp.-*Befall verlor sich ab dem 84. Versuchstag in allen Versuchs- und Kontrollgruppen.

Bei den Regenbogenforellen (Versuch F III) waren Ekto- und Endoparasiten nicht nachweisbar.

### 4.5.3 Bakteriologische Befunderhebung

Die in Versuch F I nach Abschluss des ersten Aufzuchtjahres durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen der inneren Organe Leber, Niere und Milz der Stichproben (je n=6) erbrachten in der Versuchsgruppe Keimfreiheit, in der Kontrollgruppe den biochemischen Nachweis von Aeromonas sobria in Mischkultur mit Pseudomonas putrefaciens mit einer Infektionsrate von 50 %. Dabei wurde in zwei Fällen ein geringgradiger und in einem Fall ein hochgradiger Gehalt an o. g. Keimen in der Milz festgestellt (s. Tab. 31). Auch in vier benachbarten Aufzuchtteichen mit gleichem Fischbesatz (K1) und einer der Kontrollgruppe vergleichbaren Fütterung ergaben die zeitgleich durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen von Stichproben (je n=6) den Nachweis von beweglichen Aeromonas- und Pseudomonas sp. mit Infektionsraten von jeweils 100 % (s. Tab. A-26). Die Gehalte an den o. g. Keimen in den inneren Organen waren hier geringgradig, mittelgradig, mittel- bis hochgradig und hochgradig (s. Tab. A-26; dort auch Angaben zu weiteren bakteriologischen Untersuchungen). Während der ersten Aufzuchtperiode wurden vereinzelt Myxobakterien (Bakterien aus der Cytophaga/Flexibacter-Gruppe) schon durch die native bakterioskopische Untersuchung in den Kiemen der Versuchs- und Kontrollfische nachgewiesen.

Tabelle: 31: Gehalte der inneren Organe und Infektionsraten mit Aeromonas sobria und Pseudomonas putrefaciens in Versuch F I

Versuchs- und Kontrollgruppe (je n=6); bakteriologische Untersuchungen nach der ersten Aufzuchtperiode mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; drei Wachstumsperioden)

Fisch	V	ersuchsgruppe	Э	Kontrollgruppe			
	Leber	Niere	Milz	Leber	Niere	Milz	
1	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	
2	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	
3	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	geringgradig	
4	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	geringgradig	
5	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	
6	k. l.	k. I.	k. l.	k. l.	k. l.	hochgradig	
ektionsrate		0 %			50 %		

Infektion erfasst als geringgradiger, mittelgradiger oder hochgradiger Gehalt bzw. keine Infektion (k. l.).

Die bakteriologischen Untersuchungen der inneren Organe Leber, Niere und Milz nach der dritten Aufzuchtperiode (983. Versuchstag) erbrachte 83 Tage nach der Beendigung der Versuchsfütterung in der Versuchs- und Kontrollgruppe (je n=10) den biochemischen Nachweis von Aeromonas sobria in Mischkultur mit Pseudomonas sp. und nicht näher differenzierbaren Aeromonas sp. Die Infektionsraten betrugen 60 % in der Versuchs- und 40 % in der Kontrollgruppe. Die Gehalte an o. g. Keimen waren in der Versuchsgruppe in fünf Fällen geringgradig und in einem Fall gering- bis hochgradig in der Leber, Niere bzw. Milz, in der Kontrollgruppe in drei Fällen geringgradig in der Leber bzw. Milz sowie in einem Fall mittel- bis hochgradig in der Niere und Leber (Tab. 32).

Tabelle: 32: Gehalte der inneren Organe und Infektionsraten mit Aeromonas- und Pseudomonas spp. in Versuch F I Versuchs- und Kontrollgruppe (je n=10); bakteriologische Untersuchungen nach der dritten Aufzuchtperiode, 83 Tage nach Beendigung der Versuchsfütterung; Aufzucht mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; drei Wachstumsperioden)

Fisch	Versuchsgruppe			Kontrollgruppe			
	Leber	Niere	Milz	Leber	Niere	Milz	
1	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	
2	geringgradig	mittelgradig	hochgradig	geringgradig	k. l.	k. I.	
3	k. l.	k. I.	k. l.	k. l.	k. l.	geringgradig	
4	k. l.	k. I.	k. l.	hochgradig	mittelgradig	k. l.	
5	geringgradig	k. I.	geringgradig	geringgradig	k. l.	geringgradig	
6	k. l.	k. I.	geringgradig	k. l.	k. l.	k. l.	
7	geringgradig	k. I.	k. I.	k. l.	k. l.	k. I.	
8	k. l.	k. I.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	
9	k. l.	k. I.	geringgradig	k. l.	k. I.	k. l.	
10	geringgradig	geringgradig	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	
Infektionsrate	60 %			40 %			

Infektion erfasst als geringgradiger, mittelgradiger oder hochgradiger Gehalt bzw. keine Infektion (k. l.).

Die bakteriologischen Untersuchungen der inneren Organe Leber, Niere und Milz der Stichproben in allen Versuchs- und Kontrollgruppen (je n=6) bei der Aufzucht von Karpfen in Versuch F II ergab in Versuchsgruppe<sub>20</sub> und Versuchsgruppe<sub>30</sub> sowie der Versuchsgruppe<sub>40</sub> Keimfreiheit. In VG<sub>40</sub> sowie in

Kontrollgruppe<sub>20</sub> und Kontrollgruppe<sub>30</sub> wurde der biochemische Nachweis von *Aeromonas sobria* in Mischkultur mit *A. hydrophila* bzw. *Pseudomonas putrefaciens* erbracht. Die Infektionsraten lagen in der VG<sub>40</sub> und in der KG<sub>20</sub> bei ca. 33 % sowie in der KG<sub>30</sub> bei ca. 17 %. Dabei waren die Gehalte an den o. g. Keimen bei der VG<sub>40</sub> in zwei Fällen geringgradig in der Milz, bei der KG<sub>20</sub> in zwei Fällen hochgradig in der Milz bzw. der Leber und Milz und bei der KG<sub>30</sub> in einem Fall gering- bis mittelgradig in der Niere und Leber (Tab. 33).

Tabelle 33: **Gehalte der inneren Organe und Infektionsraten mit Aeromonas sobria und A. hydrophila bzw.**\*Pseudomonas putrefaciens in Versuch F II

Versuchs- und Kontrollgruppen (je n=6); bakteriologische Untersuchungen nach einer Aufzuchtperiode mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation; eine Wachstumsperiode)

Fisch	Versuchsgruppe <sub>20</sub>		Versuchsgruppe <sub>30</sub>			Versuchsgruppe <sub>40</sub>			
	Leber	Niere	Milz	Leber	Niere	Milz	Leber	Niere	Milz
1	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
2	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
3	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	geringgr.
4	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	geringgr.
5	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
6	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. I.	k. l.	k. l.	k. l.
Infektionsrate		0 %			0 %			33 %	
Fisch	Kontrollgruppe <sub>20</sub>		Kontrollgruppe <sub>30</sub>		Kontrollgruppe <sub>40</sub>				
	Leber	Niere	Milz	Leber	Niere	Milz	Leber	Niere	Milz
1	hochgr.	k. l.	hochgr.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
2	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
3	k. l.	k. l.	hochgr.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
4	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
5	k. l.	k. l.	k. l.	mittelgr.	geringgr.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
6	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.	k. l.
Infektionsrate		33 %			<b>17</b> %			0 %	

Infektion erfasst als geringgradiger (geringgr.), mittelgradiger (mittelgr.) oder hochgradiger (hochgr.) Gehalt bzw. keine Infektion (k. l.).

Tabelle 34: Gehalte der inneren Organe mit Aeromonas sobria und A. hydrophila bzw. Pseudomonas putrefaciens in den Versuchen F I und F II (Zusammenfassung)

Versuchs- und Kontrollgruppen (je n=24); bakteriologische Untersuchungen jeweils nach der ersten Wachstumsperiode mit HS-Futterzusatz (5 % HS-Präparation)

Grad des Keimgehalts	Versuchsgruppen	Kontrollgruppen		
0	22	18		
1	2	2		
2	0	1		
3	0	3		
Rangsummen-Test	p<0,05			

Grad 0: kein Organ befallen/keine Infektion,

Grad 1, 2 bzw. 3: geringgradiger, mittelgradiger bzw. hochgradiger Gehalt in mindestens einem Organ

Unterschied zwischen den Versuchs- und Kontrollgruppen signifikant mit p<0,05 (Rangsummentest von White).

Durch die zusammenfassende Auswertung der bakteriologischen Untersuchungen des Versuchs F I und F II bei der Aufzucht von Karpfen nach der ersten Aufzuchtperiode zu K<sub>1</sub> (je n=24 der Versuchs- und Kontrollgruppen) ergibt sich ein Unterschied hinsichtlich des Gehalts der parenchymatösen Organe Leber, Niere und Milz an den Bakterienspezies *Aeromonas sobria* und *A. hydrophila* bzw. *Pseudomonas putrefaciens* (p<0,05; Rangsummentest von White). In den Versuchsgruppen wurde bei ca. 8 % der untersuchten Karpfen ein geringgradiger Gehalt, dagegen in den Kontrollgruppen bei 25 % der Karpfen ein gering- bis hochgradiger Gehalt an o. g. Keimen nachgewiesen (s. Tab. 34).

Bei der Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz II (Versuch F II) wurden am 84. Versuchstag in der Versuchsgruppe<sub>30</sub> in einem Fall Myxobakterien im Zusammenhang mit einer Kiemenschwellung und vereinzelten Nekrosen der Kiemen schon durch die native bakterioskopische Untersuchung in den Kiemen festgestellt.

### 4.5.4 Virologische Befunderhebung

Durch die nach dem ersten und letzten Aufzuchtjahr in Versuch F I durchgeführten virologischen Untersuchungen konnten bei den Versuchs- und Kontrollfischen keine Fischvirosen, insbesondere auch nicht das SVC-Virus, nachgewiesen werden.

Auch in Versuch F II verliefen alle virologischen Untersuchungen negativ. Die virologischen Untersuchungen konnten daher mit einem negativem Ergebnis abgeschlossen werden.

### 5 DISKUSSION

In der vorliegenden Studie sollten Braunkohle-HS-Präparationen in der äußerlichen Anwendung bei Zierfischen und in der oralen Verabreichung über das Futter von Nutzfischen unter den Bedingungen von Feldversuchen in der Teichwirtschaft (Bäderversuch B I und B II, Aufzuchtversuch F I und F II) und in einem Laborversuch (Aufzuchtversuch F III) näher untersucht werden.

Feldversuche erreichen in aller Regel nicht die Präzision von kontrollierten Instituts- bzw. Laborversuchen. Die Versuchsbedingungen unterliegen einer Reihe von Einflüssen, die durch den Versuchsansteller kaum bestimmt werden können. Gleichwohl können infolge der hohen Tierzahl aber grundsätzliche und bei bestimmten Fragestellungen (Praxisanwendbarkeit, Effektivität) verallgemeinerungsfähige Aussagen getroffen werden. Steigende pH- und NH3-Werte sowie sinkende Sauerstoffgehalte bei steigenden Temperaturen stellten in den vorliegenden Feldversuchen Stressfaktoren dar, die den Fischen besondere Anpassungsleistungen unter vermehrter Energieaufwendung abverlangen und mit einer allgemeinen Schwächung sowie erhöhter Erkrankungsdisposition in Zusammenhang stehen (SCHRECKENBACH u. SPANGENBERG 1987). Das Auftreten der beschriebenen kritischen Umweltbedingungen erlaubte in Bäderversuch B II keine weitere Ausdehnung der täglichen Behandlungsdauer. In Aufzuchtversuch F I mit Karpfen mussten bei randständiger Lage des Versuchsteiches in der Teichanlage, direkt am wasserzuführenden Graben, im zweiten und dritten Aufzuchtjahr verstärkt Tritt- und Fraßspuren von Fischottern und damit verbunden eine deutliche Abnahme der Anzahl der Versuchsfische festgestellt werden (mit zunehmender Fischgröße ansteigende Rolle der K2/3 als Beutetiere). Da genaue Bestandsmassen erst zu den Abfischungsterminen bekannt waren, wurde somit verhältnismäßig mehr Futter in der Versuchsgruppe trotz abnehmender Tierzahl verabreicht, wodurch sich der Futteraufwand verschlechterte. Im Versuch F II war durch fehlende Einzelwägungen der aufgezogenen Karpfen keine weitergehende statistische Auswertung möglich. Eine weitere Erhöhung des Untersuchungsaufwandes hinsichtlich der Durchführung von entsprechenden Versuchswiederholungen ist für beweiskräftigere Aussagen angezeigt (CASTELL u. TIEWS 1980), war unter Feldversuchsbedingungen jedoch nicht möglich. In den vorliegenden Versuchen lagen bis auf eine Überprüfung des Rohproteingehaltes von Versuchs- und Kontrollfutter (Versuch F I und F III) keine über die Herstellerangaben hinausgehenden Informationen zu den ordnungsgemäß deklarierten Futtermitteln vor. In Fütterungsversuchen mit entsprechenden Fragestellungen ist auch grundsätzlich gefordert, Futteranalysen vorzunehmen (CASTELL u. TIEWS 1980).

In den Bäderversuchen B I und B II bei der Hälterung von Goldfischen konnte sich nur auf Dosierungsempfehlungen des Herstellers und Angaben aus einem Untersuchungsbericht (RICHTER 1992) gestützt werden. Allein die Verträglichkeit von halbstündigen Bädern mit Na-Humat-Lösung war aus Vorversuchen bei Goldfischen gesichert (HEIDRICH et al. 1999). Auch zur Dosierung der HS-Präparationen als 5%iger Zusatz zum Futter standen nur die o. g. Quellen und mit Einschränkungen die Vorversuche zur Verfügung, in denen ein 0,1–0,5 %iger Zusatz der synthetischen HS-Präparation HS 1500 verwendet worden war. In weiterführenden Untersuchungen zu Bädern und der oralen Anwendung sollte daher auch an den Vergleich verschieden hoher Dosierungen der HS-Präparationen gedacht werden.

# 5.1 Physikalische Charakterisierung der eingesetzten Präparationen

Von den in den Versuchen verwendeten HS-Präparationen wurde jeweils ein IR-Spektrum aufgenommen. Allen HS-Präparationen sind breite und intensive Banden gemeinsam, die von einem deutlichen Anteil an OH- und NH-Gruppen verursacht werden, wie sie in Aminen, Alkoholen und Phenolen zu finden sind. Das IR-Spektrum der getrockneten Na-Humat-Lösung (HS vom Typ WH 67 SNa; Versuch B I und B II) deutet im Gegensatz zu den übrigen in den Aufzuchtversuchen F I-III als Futterzusatz verwendeten HS-Präparationen und in Analogie zu dem in Vorversuchen eingesetzten HS 1500 auf einen nur sehr geringen Anteil an CH<sub>2</sub>-Gruppen, also aliphatischen Kohlenwasserstoff-Ketten hin. Bei Humocarb,

formuliert® (HS vom Typ WH 67 A; Versuch F I und III) und CLK (HS vom Typ WH 67 G; Versuch F II) lassen sich Banden erkennen, die charakteristisch für CH<sub>2</sub>-Gruppen sind und somit auf einen erhöhten Anteil an aliphatischen Kohlenwasserstoff-Ketten mit teilweise mehr als drei CH<sub>2</sub>-Gruppen hindeuten. Des Weiteren kann bei Na-Humat auf die Anwesenheit von (aliphatischen und insbesondere aromatischen) Kohlenstoff-Ringen, Aminen und aromatischen sowie aliphatischen Alkoholen und Ethern (GÜNZLER u. BÖCK 1983) geschlossen werden. Auch in den Spektren von Humocarb, formuliert®, und CLK finden sich weitere Hinweise auf (aliphatische und aromatische) Kohlenstoff-Ketten und -Ringe, Verzweigungen der Ketten sowie Alkohole und Ether.

Bei Humocarb, formuliert® und CLK wurden zahlreiche Banden detektiert, die hinsichtlich Lage und Intensität identisch sind. Unterschiede zwischen den beiden dem Futter zugesetzten HS-Präparationen sind aus den IR-Spektren heraus nicht zu erkennen. Endständige Methylgruppen und Carbonylverbindungen (Ketone, Aldehyde und Carbonsäuren) lassen sich nur in nicht nennenswerten Anteilen bzw. gar nicht finden (GÜNZLER u. BÖCK 1983). Von allen in dieser Arbeit dargestellten IR-Spektren werden bei Na-Humat die wenigsten Banden detektiert. Das Spektrum ähnelt deutlich mehr dem des synthetischen HS 1500<sup>8</sup> als den Spektren der hier als Futterzusatz verwendeten Braunkohle-HS. Vermutlich sind bei Na-Humat ebenfalls viel geringere Anteile von verzweigten und unverzweigten Kohlenstoff-Ketten vorhanden als bei den übrigen verwendeten HS. Die Anteile an Aminen, Alkoholen und Ethern scheinen jedoch vergleichbar. Damit ergibt sich für HS vom Typ WH 67 A, G und SNa eine recht gute Übereinstimmung mit dem von KLEINHEMPEL (1970) aufgestellten HS-Modell, sowie eine Bestätigung der Aussagen von KNAUF et al. (1983) und KÜHNERT et al. (1985) in Bezug auf die fehlenden Hinweise auf Carbonylverbindungen bei Kohle-HS.

Zur physikalischen Charakterisierung von Humocarb, formuliert® und Cellu-Ligno-Karbon-Isolat wurde zusätzlich je ein UV-VIS-Absorptionsspektrum aufgenommen. Auch zwischen diesen ist eine Übereinstimmung ersichtlich. Der beschriebene Absorptionsanstieg ist bei HS grundsätzlich zu beobachten und daher für sich genommen wenig aussagekräftig, wenn man von der dunkelbraunen Färbung absieht. Das UV-VIS-Spektrum kann daher nur der weiteren Charakterisierung des HS dienen.

Zahlreiche in den IR-Spektren detektierte Bestandteile sind chemische Gruppen und Verbindungen, von denen medizinische Wirkungen bekannt sind. Amine kommen bei Pflanzen und Tieren natürlich vor (biogene Amine) und besitzen große physiologische Bedeutung als Drüsen- und Gewebshormone, Transmethylierungspartner, Transmitter, als Vitamin-, Phosphatid-, und Coenzym-A-Bestandteile. Sie sind als pflanzliche Amine (Braunkohle ist hauptsächlich pflanzlichen Ursprungs) teilweise halluzinogen wirksam. Wichtige Vertreter der biogenen Amine sind z. B. Adrenalin, Carnitin, Dopamin, Histamin, Melatonin, Mescalin, Serin und Serotonin. Vasoaktive Amine werden von aktivierten Mastzellen und basophilen Granulozyten nach Aktivierung durch Immunkomplexe sowie von Thrombozyten (nach deren Aggregation durch Immunkomplexe) freigesetzt und besitzen Wirkung auf die Gefäßmuskulatur. Ähnlich vielfältige Wirkungen und Vorkommen ließen sich für (aliphatische, aromatische usw.) Alkohole finden. Auch die detektierten Phenole (Gruppenbezeichnung für aromatische Hydroxylverbindungen wie Phenol, Resorcin, Brenzkatechin, Pyrogalol) besitzen schon in geringen Konzentrationen Wirkungen auf den Organismus und können z. T. desinfizierend (TUTSCH et al. 1997) oder Enzyminhibierend wirken, wie von VARANKA et al. (1999) am Beispiel der Karpfenkatalase gezeigt wurde. Wie von GOLBS und KÜHNERT (1983), LANGE et al. (1987) und KÜHNERT et al. (1989) angeführt wird, können die phenolischen Komponenten der HS durch einen Inducer-Effekt eine paramunologische Wirkung (Stimulierung der körpereigenen Abwehr) ausüben. Anhand des synthetischen niedermolekularen HS 1500 (hergestellt aus Hydrochinon) wiesen RIEDE et al. (1991) eine Aktivierung von humanen neutrophilen Granulozyten (PMN) nach, RIEDE und SEUBERT (1997) eine Induktion von Zytokinen (TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$ ), woraus die Autoren proinflammatorische Eigenschaften der HS ableiten.

<sup>8</sup> Persönliche Mitteilung von Herrn Dr. M. Dahm, Erkelenz, 22. Juni 2002

JOONÉ et al. (2003) beschreiben für die HS-Präparation Oxihumate (Na-Salz der Oxihuminsäure) eine vermehrte proliferative Reaktion von Phytohämagglutinin-stimulierten humanen Lymphozyten.

#### 5.2 Bäderversuche B I und B II

Bei beiden Versuchen (B I und B II) waren die verwendeten Goldfische durch die kräftezehrende Winterung, die Frühjahrsabfischung mit Handling (Keschern, Sortieren, Wiegen, Transport) sowie die Hälterung an sich gestresst und teilweise bereits multifaktoriell erkrankt. Damit sind hinsichtlich der Versuchsbedingungen besonders die ständige Stressbelastung, der stets vorhandene natürliche Infektionsdruck sowie außerdem die bereits zu Beginn beider Bäderversuche vorhandenen Vorschädigungen der Fische hervorzuheben.

Im Versuch B I kam es aufgrund einer wahrscheinlich zu langen bzw. konzentrierten Kochsalzbehandlung während des Transportes von der Abfischung in die Hälterung mit dem Ziel einer Reduzierung von ubiquitären Ektoparasiten bei den Fischen und möglicherweise vorgenommenen weiteren Maßnahmen zu einem Verlust des natürlichen Schleimüberzuges der Haut. Dies bildete anscheinend den Ausgangspunkt für weitere Schädigungen. Trotz guter Wasserqualität - alle gemessenen Wasserparameter befanden sich innerhalb der Grenzen für die Lebensansprüche von Goldfischen - zeigten und verstärkten sich die Krankheitssymptome ohne Behandlung.

Im Versuch B II wurden die Fische bereits mit stärkeren Schwächeanzeichen und Schäden an Haut und Kiemen abgefischt. Die Symptome waren jedoch vergleichbar. Im Versuch B II erlaubte die genaue Untersuchung aller Probanden am achten und zwölften Tag einzelne Effekte deutlicher herauszustellen und durch Bildung von Symptomgruppen grundsätzliche HS-Wirkungen aufzuzeigen.

#### 5.2.1 Mortalitätsrate in B I und B II

Durch die HS-Badbehandlungen wurde das Verlustgeschehen von 4,7 % auf 0,6 % im Versuch B I (p<0,0005) und von 16 % auf 8 % im Versuch B II (p<0,05) reduziert. In Versuch B I traten während der vierwöchigen Nachbeobachtungszeit nach Aussagen des Eigentümers keine weiteren Verluste auf. Die Versuchsfische konnten danach zum Verkauf gelangen. Im Gegensatz dazu mussten die Kontrollfische aufgrund ihres ungenügenden Gesundheitszustandes in den Teich zurückgesetzt werden.

# 5.2.2 Klinische Symptomatik bei äußerlicher HS-Anwendung

Die Goldfische zeigten während beider Versuche (B I und B II) eine vergleichbare klinische Symptomatik, die durch Hämaorrhagien, Nekrosen und Mykosen an Haut, Flossen und Kiemen gekennzeichnet war. Die ausgedehnten Entzündungen der Kiemen im Verlauf des Versuchs B II sind bei der aufgetretenen NH<sub>3</sub>-Belastung als Symptome der Kiemennekrose einzuordnen, die in Übereinstimmung mit SCHÄPERCLAUS (1990) und AMLACHER (1992) zusätzlich Schädigungen der Haut und der Flossen (Hämorrhagien und Hyperämien) hervorruft. Während im Versuch B I im Gegensatz zu Versuch B II Parasiten keine Rolle spielten, waren an der Ausprägung des Krankheitsgeschehens in beiden Versuchen bewegliche (fakultativ pathogene) Aeromonaden beteiligt.

Schon während des Versuchs B I wurde beobachtet, dass unter HS-Einwirkung Entzündungen von Kiemen und Flossen schneller abklangen und stärkere Demarkations- und Reparationserscheinungen auftraten. Es scheint, besonders bei Flossenrandnekrosen, eine beschleunigte Organisation bzw. Wundheilung mit Bildung eines ausgeprägten Walls hellen neuen Gewebes aufzutreten (Abb. 11). Diese schnellere Wundheilung unter HS-Einfluss ist in der Humanmedizin und für Säugetiere bekannt (u. a. BANADE u. TEICHMANN 1944, EICHELSDÖRFER 1976, TANG 1981a, b, KNOPP u. SCHÖTT 1983, RIEDE 1991).

# 5.2.2.1 Befunde an Haut, Flossen und Kiemen

Durch die ausgeweitete Befunderhebung in Versuch B II (ermöglicht durch geringere Anzahl an Versuchsfischen als in B I) war der Vergleich auch von einzelnen Symptomen an Haut, Flossen und

Kiemen sowie die statistische Absicherung von teilweise schon in Versuch B I sichtbaren Unterschieden zwischen den Gruppen möglich.

Infolge der HS-Badebehandlung waren in Versuch B II bis zum achten Tag in der Haut der Versuchsfische weniger Diapedeseblutungen (Petechien, Ekchymosen) vorhanden (p<0,05). Hier waren bis zum Versuchsende am zwölften Tag zudem weniger Hautmykosen festzustellen (p<0,05). Auch die Flossen der HS-behandelten Fische wiesen bis zum achten Tag (p<0,001) und zwölften Tag (p<0,02) deutlich weniger Diapedeseblutungen (Petechien, Ekchymosen, Sugillationen) auf. Die in Versuch B II bis zum zwölften Tag weniger aufgetretenen Arrosionsblutungen an Gewebsläsionen der Flossen (p<0,05) werden als Ausdruck einer blutstillenden oder/und antiphlogistischen Wirkung gesehen. Flossenrandnekrosen waren in der Versuchsgruppe bis zum zwölften Tag noch seltener (p<0,002) als schon bis zum achten Tag (p<0,05) ausgeprägt.

Auch Nekrosen der Kiemen kamen in der Versuchsgruppe am achten und auch am zwölften Tag seltener vor (p<0,05). Da die Kiemen sowohl für die Atmung als auch für die Regulation des Salz- und Wasseraustausches verantwortlich sind und die Hauptrolle bei der Ausscheidung von Stickstoffabbauprodukten spielen, kommt dieser HS-Wirkung eine herausragende Wirkung zu. Sogar geringfügige strukturelle Kiemenschäden können osmoregulatorische wie auch respiratorische Probleme zur Folge haben (ROBERTS 1993).

Aufgrund der gefundenen Unterschiede wird ein Einfluss der HS auf das Gefäßsystem der Dermis deutlich. So müssen insbesondere durch niedermolekulare HS-Bestandteile entweder die schleimige Kutikula und die Epidermis durchdrungen werden oder es kommt zu einer Folgereaktion bzw. einem systemischen Effekt nach HS-Einwirkung auf die äußeren Hautpartien. Zur Aufnahme von HS über die Haut dokumentiert neben anderen Autoren BÜSING (2001) speziell zu HS des gleichen Typs (WH 67) nach oraler Verabreichung einen Übergang bis in die Tunica muscularis an der duodenalen Schleimhaut von Ferkeln. Sogar in der Tunica media einer Arterie lokalisierte HS-Partikel wurden nachgewiesen.

Übereinstimmend mit den vorliegenden Ergebnissen führen STEINBERG et al. (2001) an, dass transportbedingte Sekundärschäden, u. a. Hautläsionen, bei Fischen durch eine HS-Badbehandlung innerhalb von 13 Tagen ausheilen. STEINBERG et al. (2002c) belegen anhand der HS-ähnlichen Modellsubstanz Kaffeesäure, dass HS bei Karpfen Abwehrreaktionen wie die Expression des Hitzeschockproteins (hsp 70) in den Kiemen hervorrufen, aufgenommen und wie Xenobiotika entgiftet werden können. Damit ist auch bei den behandelten Goldfischen ein geringer Übergang von HS-Partikeln und eine direkte Wirkung auf die Gefäße der Dermis nicht auszuschließen.

### 5.2.2.1.1 Zusammenfassende Bewertung der Befunde

Neben dem Vergleich von einzelnen Symptomen ermöglichte die ausgeweitete Befunderhebung in Versuch B II durch Zusammenfassungen von klinischen Erscheinungen einmal Aussagen zu Effekten speziell auf Haut, Flossen und Kiemen, zum anderen Wirkungen auf bestimmte klinische Erscheinungen, wie Hämorrhagien, nekrotische oder mykotische Prozesse, und weiterhin wie in Versuch B I die grundsätzliche Beschreibung des Gesamtbefundes pro Fischgruppe.

Durch die Auswertung aller Untersuchungsbefunde zu Ende der Versuche B I und B II konnte ein überaus positiver Effekt der HS-Bäder durch den Rückgang der klinischen Symptome an der Haut, den Flossen und den Kiemen bei den behandelten Goldfischen nachgewiesen werden (Gesamtbefund: p<1·10<sup>-16</sup> in B I bzw. p<0,001 in B II). In den Versuchsgruppen war der Anteil der gesunden und genesenden gegenüber der kranken Fische ungefähr doppelt so hoch wie in den Kontrollgruppen (62,4 zu 29,8 % in B I und 48 zu 28 % in B II). In beiden Versuchen dominierten in der Versuchsgruppe jeweils Fische ohne oder mit abgeheilten, in der Kontrollgruppe Fische mit geringgradigen Krankheitssymptomen. Der bis zum Versuchsende insgesamt bessere Gesundheitszustand der Versuchsgruppen dürfte mit den geringeren Verluste in Zusammenhang stehen.

Da in Versuch B II ein Vergleich der HS-Wirkungen nach acht und zwölf Tagen Behandlunsgdauer möglich ist, wird unter Berücksichtigung aller festgestellten klinischen Symptome ersichtlich, dass sich der positive Effekt auf den Gesamtbefund der Versuchsgruppe vom achten Tag (p<0,002) bis zum zwölften Tag (p<0,001) nur noch geringfügig gegenüber der Kontrollgruppe verbessert. Dies könnte auf einen relativ bedeutsamen Anfangseffekt der HS-Behandlung hinweisen. Aus der Zusammenstellung aller Krankheitssymptome geordnet jeweils nach dem Auftreten an Haut und Flossen ist ersichtlich, dass bis zum achten Tag ein positiver Effekt auf die Haut und Flossen deutlicher ausgeprägt war (p<0,001) als bis zum zwölften Tag (p<0,02). Bei den Kiemen verhält es sich umgekehrt. Dort verstärken sich die bis zum achten Tag (p<0,02) festgestellten günstigen Wirkungen noch einmal bis zum zwölften Tag (p<0,001) unter sich verschlechternden Umweltbedingungen (Temperatur- und NH<sub>3</sub>-Anstieg).

Nachdem sich jeweils in der Haut und den Flossen eine geringere Ausprägung von Hämorrhagien bei den Versuchsfischen gezeigt hatten (p<0,001-0,5 in B II), kann auch beim Vergleich aller äußerlich sichtbaren Hämorrhagien insgesamt von einem antiphlogistischen, gefäß(wand)stabilisierenden und blutstillenden Effekt der HS gesprochen werden, der bis zum achten Tag stark ausgeprägt war (p<0,002). Dieser Effekt verliert anschließend bis zum zwölften Tag an Deutlichkeit. Somit lassen sich auch Hinweise auf das von STEINBERG und BRÜGGEMANN (2002a, b) beschriebene ambivalente Verhalten von HS finden. Danach können HS mehrere Wirkungen gleichzeitig entfalten, die nicht in die selbe Richtung gehen müssen sondern sich auch gegenseitig aufheben können. Auf antiphlogistische Eigenschaften von HS wird übereinstimmend in einer Vielzahl von Veröffentlichungen eingegangen (TAUGNER 1963; KLÖCKING et al. 1968; KLÖCKING 1972; WALTHER 1981, ZSUNSHUJ et al. 1981, FLAIG 1992; BAATZ 1994; STÖBER 1994; ZIECHMANN 1996; VAN RENSBURG et al. 2001; SNYMAN et al. 2002). Durch eine Veränderung von Enzymaktivitäten können HS biochemische Reaktionen beeinflussen (u. a. KLÖCKING 1972; ZIECHMANN 1980, 1996). Auch pro- und antikoagulatorische Eigenschaften von HS, z. T. in Abhängigkeit von der Konzentration, und Wirkungen auf das Gefäßendothel sind bekannt (ZIECHMANN 1993, 1994; YANG et al. 1994a, b, 1998; YU et al. 1998; GAU et al. 2000; NAVARA 2001; HSEU u. YANG 2002; LU et al. 1990; LU et al. 1994a, b).

Werden in Versuch B II nekrotische Veränderungen der Haut (Ulzera), der Flossen (Flossenrandnekrosen) und der Kiemen (Kiemennekrosen) insgesamt betrachtet, zeigt sich ein deutlicher Effekt des HS auf Gruppen- und Massennekrosen am achten und zwölften Tag (p<0,01 in B II). Genau genommen wurde die Nekrophanerose (Sichtbarwerden der Veränderungen bei umschriebenem Zelltod) beurteilt. Während die Nekrosen der stark durchbluteten Kiemen in Versuch B II zum Großteil auf die Einwirkung von NH3 im letzten Versuchsdrittel zurückzuführen sein dürften, werden die nekrotischen Veränderungen an der Haut und den gering durchbluteten distalen Flossenenden wahrscheinlich wesentlich mehr durch Bakterientoxine der beweglichen Aeromonaden verursacht. Aus den Ergebnissen kann eine Antinekrosewirkung bzw. Gewebestabilisierung durch HS abgeleitet werden, die die Zellen, vor allem in oberflächlichen Gewebsverbänden, auch unter Einbeziehung von Parenchym und Stroma, vor dem intravitalen Zelltod schützt. Dabei können wahrscheinlich die schädigenden Einflüsse von umweltbedingten Noxen und Bakterientoxinen gleichermaßen gemildert werden. KÜHNERT et al. (1980a) vermuten eine interionische Bindung hochmolekularer Eiweißbestandteile, wie die von Bakterien gebildeten Endotoxine, an HS, aber auch eine Inhibition der Wirkung von Infektmikroben durch Adsorption von Toxinen. ZIECHMANN (1996) führt eine Beeinflussung, vor allem eine Inhibition, von Enzymen durch HS an. Auf die Produktion einer Reihe von Enzymen (z. B. Gelatinase, Elastase, Lipase) zusätzlich zu Hämolysinen, Zytotoxinen und Enterotoxinen durch bewegliche Aeromonaden (nachgewiesen in B I und B II) wird bei ROBERTS (1993) eingegangen. Andererseits ist bei den HSbehandelten Goldfischen auch eine, allgemein zwar seltener vorkommende, Aktivierung von Enzymen nicht auszuschließen, die die Heilung geschädigter oder den Erhalt integumentärer Gewebe positiv beeinflussen. Den Rückgang von ausgeprägten Hautulzera und Kiemennekrosen im Verlauf eines 54tägigen Behandlungsregimes mit HS 1500-Bädern beschreiben auch GAMYGIN et al. (1991) bei gestressten und parasitierten Karpfen.

Gegenüber den sekundären Saprolegnia-Infektionen konnte der im Versuch B I wahrgenommene antimykotische Effekt im Versuch B II verifiziert werden. Werden dort alle aufgetretenen Mykosen an der Haut, den Flossen und den Kiemen einbezogen, zeigt sich zum zwölften Tag eine antimykotische Wirkung der HS-Behandlung (p<0,01): Integumentäre Mykosen wiesen nur 6 % der Fische in der Versuchsgruppe gegenüber 17 % der Fische in der Kontrollgruppe auf (s. 5.2.2.4).

Unter Beachtung der Mitteilungen von SCHÄPERCLAUS (1990) und AMLACHER (1992) wurden in Versuch B II die Symptome Rötung, Schwellung und vermehrte Schleimsekretion zusätzlich als akute Entzündungssymptome der Kiemen zusammengefasst und gesondert ausgewertet. Dabei wurde bezüglich der Kiemen im letzten Versuchsabschnitt ein besonderer Schutzeffekt infolge der HS-Behandlung deutlich. Durch die Umwandlung von unschädlichem NH<sub>4</sub>+ in fischtoxisches NH<sub>3</sub> in Abhängigkeit von der Wassertemperatur und dem pH-Wert traten im letzten Versuchsdrittel (elfter Tag) bei Erreichen der maximalen Wassertemperatur und des maximalen pH-Werts im Bereich zwischen 8,5 und 9,0 (bedingt durch verstärkte Assimilationstätigkeit im Vorfluter) zeitweise kritische NH<sub>3</sub>-Konzentrationen zwischen 0,04 mg L<sup>-1</sup> und weniger als 0,26 mg L<sup>-1</sup> auf. Damit überstieg die Konzentration von NH3 den für Karpfen angegebenen Grenzwert zur Vermeidung von Schädigungen (SCHÄPERCLAUS 1990) um ca. das Zehnfache. Obwohl an gleicher Stelle ausgeführt wird, dass der Goldfisch weniger empfindlich gegenüber NH3 ist als der Karpfen (WILSON et al. 1969) und die akute Toxizität für Karpfen bei 1,5-2,3 mg L-1 NH<sub>3</sub> erreicht wird (HOFER u. LACKNER 1995), dürfte dennoch ein tatsächlich schädigender Einfluss zu vermuten sein (SCHRECKENBACH u. SPANGENBERG 1987), da am zwölften Tag Symptome von akuten Kiemenentzündungen (Rötung, Schwellung und verstärkte Schleimsekretion) ausnahmslos bei den Kontrollfischen (10 %) nachgewiesen wurden (p<0,02). Aufgrund dieser Gruppenspezifität kann bei den HS-behandelten Fischen von einem protektiven Effekt unter den genannten Bedingungen ausgegangen werden. Damit würden sich auch bei Fischen die bei Ratten nach dermaler und subcutaner Applikation (KÜHNERT 1979) und im modifizierten HET-CAM-Test (WIEGLEB et al. 1993; STEIN 1994) beschriebenen antiphlogistischen Eigenschaften speziell von 10% iger Na-Humat-Lösung des Typs WH 67 bestätigen.

### 5.2.2.2 Parasitologische Befunde

Die parasitologische Untersuchung der moribunden, gestorbenen und erkrankten Fischen der Stichproben ergab bei den mit Kochsalz vorbehandelten Fischen im Versuch B I Parasitenfreiheit, im Versuch B II von Beginn an den Nachweis verschiedener Ektoparasiten. Hier wurden Ichthyobodo sp., Chilodonella sp., Ichthyophthirius sp., Trichodina sp., Gyrodactylus sp., Dactylogyrus sp. und Argulus sp. festgestellt. Diese Parasiten sind bei Teich- und Zierfischen weit verbreitet (AMLACHER 1992; WOO 1995; NOGA 2000; ROMMEL et al. 2000). Der teilweise hohe Befall mit Ektoparasiten kann neben auf Dauer ungünstigen Bedingungen in der Hälterung nach SCHÄPERCLAUS (1990) insbesondere auf chronische Einwirkungen subletaler NH3-Konzentrationen, wie im Versuch B II beobachtet, hervorgerufen worden sein. Die Fische kamen mit dem Parasitenspektrum der sie umgebenden Umwelt ständig in Kontakt, so vermutlich auch über das Speisungswasser aus dem mit einjährigen Karpfen (K1) besetzten Aufzuchtteich. Trotz einer jederzeit möglichen Reinfektion wiesen die HS-behandelten Fische jeweils in der Zusammenfassung der Haut- und Kiemenbefunde und auch insgesamt (p<0,01) einen geringeren Befall mit den Ektoparasiten Ichthyobodo sp., Chilodonella sp., Ichthyophthirius sp., Trichodina sp., Gyrodactylus sp., Dactylogyrus sp. und Argulus sp. auf. Damit ist grundsätzlich von einem antiektoparasitären Effekt des HS auszugehen. Auf den Kiemen war der Unterschied geringfügig deutlicher (p<0,01) als auf der Haut (p<0,02).

Die erhaltenen Ergebnisse sind aufgrund geringer Fallzahlen der in die statistische Auswertung einbezogenen Stichproben- und moribunden Fische (n=24) vorsichtig zu interpretieren. Umfangreichere Untersuchungen sind hier angezeigt, auch um spezifische Effekte auf einzelne Parasitenarten beschreiben zu können.

Hinsichtlich der Parasitierung der Kiemen manifestierten sich ausschließlich positive Tendenzen, wobei sich der gleichfalls gute Befund aus der pathologisch anatomischen Untersuchung zu bestätigen scheint. Gerade der festgestellte Effekt gegenüber einer Infektion der Kiemen mit *Ichthyophthirius sp.* (p<0,05), der als weitverbreiteter einzelliger Erreger mit einer hohen Vermehrungsrate für große Verluste in der Nutz- und Zierfischzucht verantwortlich ist (SCHÄPERCLAUS 1990; DICKERSON u. DAWE 1995; NOGA 2000; WILDGOOSE 2001), sollte weiter untersucht werden. Ein wirksames therapeutisches Eingreifen bei *Ichthyophthirius sp.* ist bisher nur mit hohem Aufwand und unter der Verwendung von Mitteln, wie Malachitgrünoxalat (oder anderen Triphenylmethanfarbstoffen) und Formalin bzw. Kombinationen aus ihnen, mit einem erheblichen Gefahrenpotential für Fische, Menschen und Umwelt möglich (EIMEN 1989; SCHÄPERCLAUS 1990; WÖRLE 1995; SANCHEZ 1998; WILDGOOSE 2001; NOGA 2000; SRIVASTAVA et al. 2004).

Die Ursachen für die gefundenen HS-Wirkungen werden in Übereinstimmung mit SCHRECKENBACH et al. (1991 u. 1996) vor allem in einer verbesserten Erregerabwehr oder Verhinderung der Penetration vermutet. Zwar konnten SCHRECKENBACH et al. (1991) antiparasitären Wirkungen von HS 1500-Bädern nicht nachweisen, demgegenüber sehen GAMYGIN et al. (1991, 1992b) antiparasitäre Wirkungen von HS 1500-Bädern bei einem *Trichodina sp.*- und *Gyrodactylus sp.*-Befall von Karpfen und bei einem *Ichthyophthirius sp.*, *Costia sp.* (Syn. *Ichthyobodo sp.*) bzw. *Trichodina sp.* bei jungen Regenbogenforellen.

Speziell für die in den vorliegenden Untersuchungen gefundene Wirkung der HS-Bäder bei Ektoparasiten, insbesondere den einzelligen, können verschiedene Mechanismen unterstellt werden. Durch die leicht gerbende Wirkung der angewendeten HS-Bäder werden die integumentären Gewebsstrukturen adstringiert, was die mechanische Abwehr verbessert. Mit der Stimulierung der bei Fischen stark ausgeprägten unspezifischen Abwehr würde in der Haut eine höhere Schutzwirkung vor dem Eindringen von Erregern erreicht werden. So weisen auch höhere Schleimzellzahlen in der Haut sowie die zähere Schleimkonsistenz bei Karpfen unter Einfluss von HS 1500-Bädern auf die Verfestigung der Schleimhautoberfläche hin (SCHRECKENBACH 1991), die eine höhere unspezifische Schutzwirkung bedingen könnte. Weiter können die der Parasitenernährung dienenden Körperflüssigkeiten so in ihren Eigenschaften, z. B. der Konsistenz (enzymatisch oder aushärtende Wirkung auf Eiweißbestandteile), verändert sein, dass deren Aufnahme erschwert wird und damit ungünstigere Lebensbedingungen zu einer Reduzierung der Parasiten führen. Außerdem sind Wirkungen in der Haut denkbar, die die Parasiten zu einer Beschleunigung (wie bei der Verwendung von Malachitgrün) oder einer Verzögerung der Auswanderung veranlassen. Eine Beschleunigung kann sich nur positiv auf die Erregerausdünnung auswirken, wenn Parasiten gleichzeitig vermindert eindringen können (z. B. durch Oberflächenaushärtung). Eine Verzögerung der Auswanderung wirkt sich bei Ichthyophthirius sp. negativ auf die Zystenanzahl außerhalb des Fisches und somit auf die Anzahl sich entwickelnder Theronten auf.

Durch Ektoparasiten entstandene Läsionen in der Haut können wieder Eintrittspforten darstellen, zumindest wird anderen Mikroorganismen, z. B. Bakterien, der Eintritt in tiefere Hautschichten bzw. in den Organismus erleichtert. Würden die wundheilungsfördernden, schleimhautabdeckenden und antiphlogistischen Eigenschaften der HS-Behandlung zum Tragen kommen (u. a. KLÖCKING et al. 1968; KNOPP u. SCHÖTT 1983; KÜHNERT 1983; KÜHNERT et al. 1989; RIEDE 1991; STEIN 1994), wären eine beschleunigte Regeneration und eine verminderte nachfolgende Schädigung dieser Partien durchaus möglich.

# 5.2.2.3 Bakteriologische Befunde

Gewebsnekrosen, insbesondere Flossenrandnekrosen, waren in beiden Versuchen bei den Fischen in der Hälterung mit HS-Bädern stark ausgeprägt. Diese Flossenrandnekrosen, d. h. die fortschreitende Flossenregression zwischen den Flossenstrahlen mit entzündlicher Hyperämie des Nekroserandes, werden von AMLACHER (1992) beim Vorkommen von Aeromonaden, Pseudomonas fluorescens und Vibrio als Bakterielle Flossenfäule (Fin Rot) bezeichnet. In beiden Versuchen der Hälterung mit HS-

Bädern wurden bewegliche Aeromonaden (A. hydrophila, A. caviae, A. sobria, A. schubertii) diagnostiziert, die als fakultativ pathogene Erreger gelten (ROBERTS u. SCHLOTFELDT 1985; WILDGOOSE 2001; NOGA 2000). Die motilen Keime sind oft ubiquitär im aquatischen Ökosystem vorhanden und können der ständigen Darmflora angehören sowie als Krankheitserreger bei Fischen wirken (SALTON u. SCHNICK 1973; FRAIRE 1978; PLUMB 1999; WILDGOOSE 2001). Die nachgewiesen beweglichen Aeromonaden A. hydrophila, A. caviae und A. sobria stehen in Zusammenhang mit hämorrhagischen Septikämien bei Süßwasserfischen. Sie können, wie auch aus den vorliegenden Bäderversuchen ersichtlich war, Bauchwassersucht, Ulzerationen und ausgedehnte Gewebsnekrosen verursachen (ROBERTS 1993). Gleichermaßen wurden die in der Literatur beschriebenen, von A. hydrophila ausgelösten unregelmäßigen Hämorrhagien auf der Körperoberfläche und den Flossenansätzen sowie Hautläsionen festgestellt. Diese Hautläsionen beginnen als ein schweres Dermisödem mit Hyperämie des Stratum reticulare, die in eine Spongiose und Ulzeration der Epidermis übergeht, dem eine ausgedehnte hämorrhagische Nekrose bis hinunter zur Muskelschicht folgt (ROBERTS u. SCHLOTFELDT 1985). In den beobachteten Geschwüren der vorliegenden Untersuchungen wurden durch die bakteriologische Untersuchung die beweglichen Aeromonaden in hoher Anzahl nachgewiesen. Die Ulzera führten im fortgeschrittenen Stadium bei entsprechender Lokalisation zu einer Eröffnung der Bauchhöhle. Hier war die Prognose der betroffenen Goldfische infaust. Der Verlust der Fische konnte in diesem Zustand durch eine HS-Badbehandlung nicht mehr verhindert werden.

SCHÄPERCLAUS (1990) führt an, dass chronische Einwirkungen subletaler NH<sub>3</sub>-Konzentrationen vor allem zu einer hohen Anfälligkeit gegenüber Ektoparasitosen und Myxobakterien-Infektionen führen. Myxobakterien wurden in beiden Versuchen mit HS-Bädern eindeutig nur in der Kontrollgruppe diagnostiziert. Bei abwehrgeschwächten Fischen kann vor allem eine Infektion mit A. hydrophila und A. sobria nicht nur zu Hautläsionen, sondern auch zu septikämischen Erscheinungen führen (NOGA 2000). Bei den vorliegenden Untersuchungen ist davon auszugehen, dass die beweglichen Aeromonaden am Krankheitsbild entscheidenden Einfluss genommen haben, da sie in der Haut, den Kiemen sowie den inneren Organen in teilweise hochgradiger Anzahl nachgewiesen wurden. Zum Einfluss der HS-Bäder auf bakterielle Infektionen ist herauszustellen, dass im Versuch B I die Untersuchung der Stichproben nur eine Verminderung der Keimzahlen, nicht aber ein Freisein von bakteriellen Erreger ergab. Aus diesem Ergebnis ließe sich eine nicht ausreichend hohe direkte Mikrobizidie der HS-Behandlung auf die beweglichen Aeromonaden ableiten, wie auch den Ausführungen verschiedener Autoren über die antimikrobielle Aktivität von HS zu entnehmen ist. In in-vitro-Untersuchungen bescheinigen ANSORG und ROCHUS (1978) nicht angereicherten Rohprodukten natürlicher HS im Vergleich mit Antibiotika (z. B. der β-Lactamgruppe oder der Aminoglycosidreihe) eine zwei- bis dreifach niedrigere Wirkung. VAN RENSBURG et al. (2000) fanden für HS bei verschiedenen Bakterienspezies MHK-Werte zwischen 5 und 15 g L-1. SCHRECKENBACH et al. (1991) konnten in vivo nach achttägiger Badebehandlung mit 15 mg HS 1500 L<sup>-1</sup> keinen Einfluss auf die Infektionsraten der Lebern und in vitro keine Wachstumshemmung gegenüber Aeromonas hydrophila, Pseudomonas fluorescens und P. putida nachweisen, als sekundäre Auswirkungen der Bakterieninfektionen war aber 40 Tage nach der Behandlung die Infektionsrate der Lebern verringert. In diesem Zusammenhang berichten auch GAMYGIN et al. (1991) nach Einsatz von HS 1500 über eine Ausheilung von Sekundärsymptomen wie Ulzera oder Haut- und Kiemennekrosen. Aus einer möglichen Beeinflussung von Enzymen (ZIECHMANN 1996) bakterieller Erreger und aus einer Toxinbindung (KÜHNERT et al. 1980a) durch HS ließen sich am ehesten die beschriebenen Wirkungen ableiten, die die Fische zu einer verbesserten Erregerabwehr befähigten. Ob dies auch einer paramunologischen bzw. einer die Abwehr aktivierenden Wirkung zugeordnet werden kann (GOLBS u. KÜHNERT 1983, LANGE et al. 1987, KÜHNERT et al. 1989, RIEDE et al. 1991, RIEDE und SEUBERT 1997, JOONÉ et al. 2003), kann aus den vorgelegten Befunden nicht entschieden werden und sollte in nachfolgenden Untersuchungen geklärt werden. Für eine Stärkung der Abwehr und eine forcierte Regeneration spricht, dass in den eigenen Versuchen Erkrankungen mit bakterieller Beteiligung hinsichtlich Anzahl und Ausprägungsgrad der Symptome, wie Ulzera in der Haut, Bakterielle Flossenfäule und Nekrosen in den Kiemen, vermindert auftraten.

### 5.2.2.4 Mykologische Befunde

Die durch die mykologische Untersuchung nachgewiesene Infektion der Haut-, Flossen- und Kiemenläsionen mit Pilzen der Gattung Saprolegnia dürfte sekundär an vorgeschädigtem Gewebe erfolgt sein, wie dies auch von ROBERTS und SCHLOTFELDT (1985) im Zusammenhang mit Läsionen durch traumatische Hautschäden nach Abfischung und Transport, umweltbedingter Belastung sowie bakteriellen Krankheitsbildern beschrieben wird. NOGA (2000) ordnet diese Pilze als klassische Opportunisten ein. Eine Infektion ist mit einer Immunsuppression verbunden. Durch mechanische Traumata oder andere Einwirkungen bzw. Erreger verursachte Hautwunden (bakteriell befallenen Ulzerationen und Schleimhautläsionen) bilden die Grundlage für den Eintritt. In diese Zusammenhänge werden auch die bei den Goldfischen vorgefundene Saprolegnia-Infektionen an der Haut, den Flossen und den Kiemen eingeordnet.

Die in den vorliegenden Untersuchungen nachgewiesene antimykotische Wirkung hinsichtlich des verminderten Auftretens von Hautmykosen (p<0,05) und Mykosen durch Saprolegnia sp. an Haut, Flossen und Kiemen insgesamt (p<0,01) (s. 5.2.2.1 und 5.2.2.1.1) stimmt mit der von EICHELSDÖRFER (1976) erwähnten günstigen Beeinflussung der Abheilung von mykotischen Ekzemen durch Torf-HA überein. In die gleiche Richtung dürften der Schutzeffekt der synthetischen HS-Präparation HS 1500 gegenüber Saprolegnia-Infektionen bei Eiern von Regenbogenforellen (SCHRECKENBACH et al. 1994; GAMYGIN et al. 1992a) und die guten Erfolge bei der Bekämpfung von parasitären Pilzen der Gattung Phlyctidium in der Algenkultivierung mit den HS-Präparationen Biomin (Kohle-HS, enthält Na-Humat) und Oxyhumate (Torfextrakt) (POUNEVA u. CHRISTOV 1992) einzuordnen sein.

Ursachen für die antimykotischen Effekte bei Fischen könnten adstringierende Wirkungen darstellen (EICHELSDÖRFER 1976; KÜHNERT et al. 1989), wodurch sich an der Schleimhaut, mit besonderer Bedeutung bei Wunden, durch Eiweißfällung und -fixierung Membranen bilden, die sich in entzündungswidrigen, austrocknenden und blutstillenden Effekten äußern (EICHELSDÖRFER 1976). Auch eine paramunologische Wirkung (u. a. LANGE 1987; KÜHNERT et al. 1989) mit der Folge einer verbesserten Abwehrbereitschaft gegenüber dem Eindringen und Wachstum der ubiquitär auftretenden Pilze könnte in Betracht gezogen werden. Als direkte Folge der adstringierenden Wirkung auf die oberflächlichen Zelllagen ist eine erschwerte Anheftung von Zygoten oder Sporen der Pilze wahrscheinlich. Nach einem erfolgten Befall, wenn aus den Cysten nach Bildung der Keimhyphe ein Myzel wächst, kann dabei möglicherweise die Ausbreitung zwischen den Epidermiszellen und damit eine Degeneration dieser Zellen behindert werden. Wahrscheinlich sind gleichzeitig zum einen eine Hemmung des Pilzstoffwechsels über das vielfach beobachtete Eingreifen in die Zellenzymsysteme (ZIECHMANN 1996) bei der Membranpassage niedermolekularer HS-Bestandteile oder zum anderen zumindest eine Hemmung der Wirkung von Nahrungsenzymen, die der Pilz zur Ernährung durch die Oberfläche ausscheidet, um das ihn umgebende organische Material aufzulösen und absorbierbar zu machen (BAUER 1991).

### 5.2.2.5 Virologische Befunde

Durch die virologischen Untersuchungen in Versuch B I wurden auf EPC- und RTG-Zellen keine Viren nachgewiesen. Das SVC-Virus kann daher ausgeschlossen werden, obwohl einige typische klinische Symptome, z. B. Hämorrhagien in der Schimmblasenwand, Bauchwassersucht und assoziierte Fischverluste (ROBERTS u. SCHLOTFELDT 1985; AMLACHER 1992) zu verzeichnen waren.

# 5.2.3 Umweltbedingungen und Wechselwirkungen in den Versuchen mit HS-Bädern

Ein möglicher Einfluss der unterschiedlichen Wassertemperaturen auf die HS-Wirkung (in Versuch B II waren gegenüber Versuch B I bis zu ca. 10 °C höhere Wassertemperaturen zu verzeichnen) konnte nicht geklärt werden. Im Versuch B I lag die Wassertemperatur mit 10,5–11,0 °C erst nahe bzw. noch unterhalb des zur allgemeinen Stoffwechselaktivierung als günstig angesehenen Bereichs. Bei Temperaturen um 10 °C sind die Fische nicht aktiv, bewegen sich wenig und fressen kaum (PENZES u. TÖLG

1993). Dagegen wurde der Versuch B II schon bei Wassertemperaturen begonnen, die sich um die optimale Laichtemperatur von 20 °C bewegen (PENZES u. TÖLG 1993). Im Versuch B II, ohne Sauerstoffbegasung, fiel während der HS-Behandlung die Sauerstoffkonzentration teilweise auf 3,9 mg L-1 bei einer Sauerstoffsättigung von 45 % in für Karpfen nicht mehr unbedenkliche Bereiche ab, ohne dass es zu Notatmung oder unmittelbar sichtbaren Schädigungen kam. Den Sauerstoffgrenzwert zur Erhaltung normaler Lebensbedingungen gibt ITAZAWA (1971) für Karpfen mit 4,2 mg L-1 und 47-49%iger Sättigung an, wobei Goldfischen eine Akzeptanz geringerer Gehalte zugesprochen wird (PENZES u. TÖLG 1993). Weiterhin stiegen während des Versuchszeitraums die Wassertemperatur, der pH-Wert, der NH<sub>4</sub>+-Gehalt und daraus resultierend der NH<sub>3</sub>-Gehalt im Speisungswasser. Die kritischen Umweltbedingungen stellten Stressfaktoren gerade für die gehälterten erkrankten Goldfische dar.

Die ursprünglich im dritten Versuchsabschnitt (B II) geplante Ausdehnung der Behandlungszeit um weitere 0,5 Stunden wurde aufgrund von sich verschlechternden Behandlungsbedingungen (Temperatur-, pH-Wert, NH<sub>3</sub>-Anstieg im Speisungswasser; O<sub>2</sub>- und geringer pH-Abfall während der Behandlung) ausgesetzt. Ob diese bei der maximal zweistündigen HS-Exposition festgestellte geringe pH-Wert-Absenkung um ca. eine Stufe (s. Tab. A-7) auf der anderen Seite sogar prophylaktisch zur Vermeidung von Schädigungen bei hohen pH- und NH<sub>3</sub>-Werten, z. B. der NH<sub>3</sub>-(Auto-)Intoxikation (SCHÄPERCLAUS 1990), genutzt werden könnte, ist eine interessante Spekulation, die aber durchaus eine nachfolgende Untersuchung verdienen dürfte. Mit dem pH-Wert-Abfall zeigt sich eine Abhängigkeit der HS-Badbehandlung von der Wasserhärte, vor allem durch die Bildung von Kalziumhuminat, der mit einem Dosierungsschema Rechnung getragen werden sollte.

Die in den vorliegenden Versuchen angewendete Behandlungsdosierung (10 mg L¹ Na-Humat täglich 1 h in B I und 1,5–2 h in B II) bzw. -durchführung war für die Fische verträglich. Ein Zwischenfall mit zwei Todesfällen erkrankter Fische (u. a. Nekrose und Parasitenbefall der Kiemen) während der wiederholten zweistündigen Behandlung (ohne Sauerstoffzufuhr) lässt sich nicht weiter werten. Neben der eventuell ursächlichen Kiemenerkrankung der Fische sollte ein möglicher Einfluss des beobachteten pH-Wert-Abfalls um eine Stufe bis zum Ende der zweistündigen Behandlung abgeklärt werden. Dagegen wurden bei einer als Kontrolle durchgeführten gleichartigen HS-Behandlung sogar über 2,5 Stunden keine negativen Auswirkungen festgestellt. Zur Aufrechterhaltung optimaler Bedingungen während der Behandlung ist insbesondere bei hohen Wassertemperaturen eine Sauerstoffbegasung, wie in Versuch B I vorgenommen, zu empfehlen. Weiterhin sollten bei optimierten Behandlungsbedingungen auch HS-Dauerbäder untersucht werden, da eine längere Einwirkungsdauer pro Tag bei HS bezogen auf zügiger eintretende bzw. ausgeprägtere Effekte von Vorteil sein könnte.

#### 5.3 Aufzuchtversuche

Bei landwirtschaftlichen Nutztieren, Klein- und Heimtieren ist die orale Applikation von HS, insbesondere der HS vom Typ WH 67, vielfach beschrieben (u. a. KÜHNERT et al. 1980a, b, 1989, 1992; DUNKEL 1998, 2001). Im Gegensatz dazu finden sich für Fische nur die Untersuchungen von RICHTER (1992).

Wie die nachfolgend diskutierten Ergebnisse zeigen, kann bei ähnlichen physikalischen Eigenschaften der beiden als Futterzusatz verwendeten HS-Präparationen (F I und II) durch die Betrachtung der Ergebnisse der ersten Aufzuchtperiode zu K<sub>1</sub> auch von vergleichbaren Wirkungen bei Fischen nach oraler Gabe ausgegangen werden. Die Höhe des Zusatzes der HS-Präparationen entsprach dem von Richter (1992) im Zierfischversuch mit Platys verwendeten Anteil von 5 % Huminsäurekonzentrat (HS vom Typ WH 67) im Mischfuttermittel. In der Aufzucht von Nutzfischen, wie auch in den vorliegenden Untersuchungen, liegen die Futtergaben nach Abschluss der Entwicklungsstufen der juvenilen Lebensstadien gewöhnlich bei 2–3 % der Bestandsmasse und Tag (MÜLLER 1986; SCHMIDT 1998; BOHL u. RIEGGER 1999; SCHUHMACHER u. GROPP 1999). Die Anwendungskonzentration der HS-Präparationen betrug folglich 1000–1500 mg kg<sup>-1</sup> KM und Tag. Damit findet sich eine Übereinstimmung zu den Empfehlungen des Herstellers (PHARMAWERK WEINBÖHLA 2002) für den Einsatz von HS

des Typs WH 67 A bei Geflügel bzw. kleinen Heimtieren in therapeutischer Dosierung (s. Übersicht zu den Anwendungsempfehlungen Tab. A-39).

# 5.3.1 Mortalitätsrate in den Versuchen F I, F II und F III

In Versuch F I (Fischotterfraß in VG) lagen die Fischverluste ab dem zweiten Aufzuchtjahr in der Versuchsgruppe zunehmend über denen der Kontrollgruppe, woraus sich ein geringerer Zuwachs des kompletten Versuchsgruppenbestandes ergab. Ab der Überführung beider Fischgruppen in die abschließende 200-tägige Winterhälterung waren sowohl in der Kontroll- als auch in der Versuchsgruppe keine Verluste mehr zu verzeichnen. Da hier die Versuchsgruppe die ersten 100 Tage noch das HS-Futter erhielt, kann ein grundsätzlich bestehender Zusammenhang zwischen HS-Gabe und erhöhten Verlusten auch für K2 und K3 nicht erkannt werden.

Bei der Aufzucht von K<sub>1</sub> in Versuch F II waren bei der höchsten Besatzdichte (40.000 Stück ha<sup>-1</sup>) die geringsten Fischverluste in der Versuchsgruppe<sub>40</sub> zu beobachten. Die Mortalitätsrate lag gegenüber der entsprechenden Kontrollgruppe<sub>40</sub> um ca. 20 % niedriger (p<0,0001). Auch in Vorversuchen bei der Aufzucht von Regenbogenforellen in Rinnenanlagen (HEIDRICH et al. 1999) war mit dem Zusatz von 0,1-0,5 % HS 1500 zum Futter ein Rückgang von Verlusten zu verzeichnen gewesen. Bei den restlichen, niedrigeren Besatzdichten zeigten sich keine Unterschiede im Verlustgeschehen.

Bei der allein in der Versuchsgruppe<sub>40</sub> aufgetretenen Absenkung der Verlustrate deutlich unterhalb des Bereichs der restlichen Fischgruppen lässt sich schwerlich abschätzen, ob der aus der höheren Futtermenge resultierende stärkere HS-Eintrag ein günstigeres Milieu an der Futterstelle bzw. im Gewässer hervorgerufen hat.

#### 5.3.2 Zootechnische Parameter der Aufzuchtversuche

Die Aufzucht von Regenbogenforellen mit pelletierten bzw. extrudierten Mischfuttermitteln stellt die übliche Produktionsmethode in der gewerbsmäßigen Fischzucht dar (SCHMIDT 1998, BOHL 1999).

In der sächsischen Teichwirtschaft wird zur Fütterung von Karpfen die Verwendung der relativ kostspieligen Alleinfuttermittel im Rahmen guter fachlicher Praxis als Standard bei der Aufzucht einsömmriger Karpfen empfohlen. Die Aufzuchtvariante mit Mischfuttermitteln ist auch bei zwei- und dreisömmrigen Karpfen erprobt und bewährt, kann aber wegen der knappen Gewinnspanne bei der Speisekarpfenerzeugung in Sachsen kaum mehr rentabel durchgeführt werden (FÜLLNER et al. 2000). Sie bleibt daher in der Karpfenteichwirtschaft Sachsens auf bestimmte Zeiträume, Teiche zur Erzeugung von Satzkarpfen und besondere Indikationen beschränkt.

# 5.3.2.1 Futteraufnahme, Wachstum und Futteraufwand

Die Beobachtung des Verzehrsverhaltens bei den täglichen Futtergaben im Laborversuch mit Forellen (F III) und - eingeschränkt - bei der Kontrolle der Futterstellen (F I und F II) sowie in F II zusätzlich durch die Verfolgung der Bedienung der Pendelfutterautomaten erlaubt den Schluss, dass in allen drei Versuchen eine sehr gute Akzeptanz jeweils beider Futtermittel (mit und ohne HS-Zusatz) über den gesamten Versuchszeitraum vorlag. Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht zu verzeichnen.

Bei der Aufzucht von Karpfen in Versuch F I lagen die mittleren Körpermassen der Versuchsfische ab dem 50. Versuchstag über denen der Kontrollfische. Bis auf die Stichprobennahme am 983. Versuchstag ist der Unterschied in den mittleren Körpermassen zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe bis zum Versuchsende zugunsten der HS-Gabe jeweils signifikant bis hoch signifikant (p<0,05–0,0001). Die ausbleibende Signifikanz am 983. Versuchstag dürfte auf einen zu geringen Stichprobenumfang (je n=10) zurückzuführen sein.

Die in Versuch F I im ersten Aufzuchtjahr gefundenen positiven Effekte auf das Wachstum in der HS-Gruppe konnten zwar in den folgenden zwei Aufzuchtperioden für die mittleren Körpermassen bestätigt werden, die Entwicklung der Bestandsmassen in der HS-Gruppe lag aber aufgrund steigender Verluste (Fischotterfraß) hinter der Kontrollgruppe zurück. Im ersten Versuchsjahr war der um die HS-Aufnahme bereinigte Futteraufwand in der Versuchsgruppe um 34 % verbessert. Die Futterquotienten in der zweiten und dritten Aufzuchtperiode waren durch die subjektive Futterzumessung (Nichtberücksichtigung zwischenzeitlicher Verluste) verfälscht.

Die durch die Abfischung ermittelten Bestandsmassen der  $K_1$  in Versuch F II der Aufzucht von Karpfen waren in den zugehörigen Fischgruppen bei geringer Besatzdichte annähernd gleich ( $VG_{20}$ =365,6 kg,  $KG_{20}$ =367,5 kg), bei mittlerer Besatzdichte war die Kontrollgruppe ( $VG_{30}$ =384,7 kg,  $KG_{30}$ =403,4 kg), bei höchster Besatzdichte die Versuchsgruppe ( $VG_{40}$ 421,6 kg,  $KG_{40}$ =366,2 kg) favorisiert. Die geringfügig unterschiedlich hohen Futterzuteilungen wurden mit der Berechnung des Futteraufwandes Rechnung getragen.

Dabei ergeben sich in den Versuchen F I und F II in der ersten Aufzuchtperiode zu K₁ bei 87-tägiger Wachstumsfütterung mit pelletiertem Futter in den beiden hohen Besatzvarianten die günstigsten Futterquotienten in den jeweiligen Gruppen mit HS-Futterzusatz. Im Versuch F I steht bei einem Besatz von 35.000 Stück ha-1 ein Futterquotient von 1,54 g g-1 in der Versuchsgruppe einem Futterquotienten von 2,25 g g-1 in der Kontrollgruppe gegenüber. Wird vom Futter der Versuchsgruppe der nährstofffreie 5%ige Zusatz der HS-Präparation abgezogen, verbessert sich hier der FQ nochmals auf 1,49 g g-1. Der Futteraufwand verringert sich in der Versuchs- im Vergleich zur Kontrollgruppe damit um 34 %, der Zuwachs lag in der Versuchsgruppe um ca. 46 % höher. Auch im Versuch F II der Aufzucht von Karpfen zeigte sich bei der höchsten Besatzdichte von 40.000 Stück ha-1 in der Versuchsgruppe40 ein Futterquotient von 1,74 g g<sup>1</sup> gegenüber 2,00 g g<sup>1</sup> in der Kontrollgruppe<sub>40</sub>. Der Zuwachs an der Bestandsmasse lag in der Versuchsgruppe<sub>40</sub> um 15,1 % höher als in der Kontrollgruppe<sub>40</sub>. Wird im Falle des Versuchsfutters für Versuch F II noch der nährstofffreie 5%ige HS-Zusatz bei den verabreichten Futtermengen berücksichtigt, verbessert sich zum einen der Futterquotient in der Versuchsgruppe40 weiter auf 1,66 g g<sup>-1</sup> gegenüber der Kontrollgruppe<sub>40</sub> mit 2,00 g g<sup>-1</sup> und zum anderen wird dann auch ein günstigerer Futterquotient in der Versuchsgruppe<sub>20</sub> mit 1,63 g g-1 zu 1,71 g g-1 in Kontrollgruppe<sub>20</sub> ersichtlich. Weiterhin ergibt sich mit einem Futterquotienten von 1,72 g g-1 eine gleich gute Futterverwertung in der Versuchsgruppe<sub>30</sub> und Kontrollgruppe<sub>30</sub>. Damit war der um die HS-Aufnahme bereinigte Futteraufwand in den HS-Gruppen bei geringer bzw. höchster Besatzdichte um 5 bzw. 17 % verringert.

Die Aufzuchtziele in der ordnungsgemäßen Teichbewirtschaftung zu K<sub>1</sub> nach FÜLLNER et al. (2000) wurden im Versuch F I allein in der Versuchsgruppe bezüglich der mittleren Stückmasse und der Futterverwertung, im Versuch F II für diese Wachstumsparameter und die Stückzahl erreicht. Zielstellung sind Abfischungsergebnisse von ca. 10.000-15.000 K<sub>1</sub> ha<sup>-1</sup> mit einer mittleren Stückmasse über 70 g (F II: 10.160-25.120 K<sub>1</sub> ha<sup>-1</sup>; 67-145 g). Nur durch die Paarung von höchster Besatzdichte und niedrigster Verluste in der Versuchsgruppe<sub>40</sub> waren die K<sub>1</sub> hier geringfügig (im Mittel 3 g) minderkonditioniert, was theoretisch durch eine verstärkte Futtergabe (bei ausreichenden Umweltbedingungen) hätte ausgeglichen werden können. Der Futteraufwand liegt in den niedrigen und mittleren Besatzdichten (VG/KG<sub>20-30</sub>) sowie bei der höchsten Besatzdichte nur in der Versuchsgruppe<sub>40</sub> im vertretbaren Bereich (Ziel <1,5 g g<sup>-1</sup>). Die Naturnahrung spielt in den gewählten Besatzgrößen durch den hohen Fraßdruck keine große Rolle, da die Naturnahrungsbestände schon zur Mitte des Sommers hin deutlich reduziert sind und im Frühherbst dann sogar vollständig erschöpft sein können (FÜLLNER et al. 2000).

Im Laborversuch mit Regenbogenforellen (Versuch F III) ergab der zum Abschluss eines jeden Versuchsteils durchgeführte Vergleich der Körpermassen mit Hilfe des t-Tests zu keinem Zeitpunkt Unterschiede zwischen den Fischen der Versuchs- und Kontrollgruppe. Der Futteraufwand der Versuchsgruppe in Höhe von 1,00 g g·1 (0,95 g g·1 nach Abzug der HS-Präparation) war mit dem der Kontrollgruppe von 0,92 g g·1 vergleichbar. In Vorversuchen (HEIDRICH et al. 1999) konnte durch den Zusatz eines niedermolekularen synthetischen HS-Präparates zum Futter in prophylaktischer Dosierung von 0,1–0,5 % eine Verminderung von Verlusten erreicht werden. Insbesondere diese Wirkung führte zu einer Verbesserung des Futterquotienten bei der Aufzucht von Regenbogenforellen. Dieser Effekt konnte durch die vorliegende Versuchsanordnung mit der höheren therapeutischen Dosierung des HS

in Höhe des 5%igen Futterzusatzes nicht erreicht werden: Weder in der Versuchs- noch in der Kontrollgruppe kam es zu Fischverlusten. Die Fische beider Gruppen besaßen durchgehend einen sehr guten Gesundheitszustand. Angriffspunkte für ein therapeutisches Eingreifen bzw. das Wirksamwerden der HS-Präparation bestanden offensichtlich zu keinem Zeitpunkt.

Auf die Berechnung der spezifischen Wachstumsrate wurde aufgrund der geringen Aussagefähigkeit, insbesondere bei den teilweise hohen Verluste in Versuch F II und allem in Versuch F I, verzichtet.

#### 5.3.2.1.1 Beobachtungen zu Futter- und Fäzeseigenschaften sowie zur Wasserqualität in Versuch F III

Der Zusatz der braunschwarz gefärbten HS-Präparationen bewirkte beim Versuchsfutter gegenüber dem Kontrollfutter eine dunklere Färbung, eine festere Konsistenz und damit eine höhere Bruchfestigkeit, die sich auch in einer besseren Wasserstabilität und Konsistenz des Kotes äußerte. Die festere Konsistenz und höhere Bruchfestigkeit des Futters werden z. T. auch durch den Zusatz von Pelletierhilfen bei der Herstellung erreicht, die bei Verwendung der HS-Präparationen zurückgenommen werden könnten. Infolge eines geringeren Zerfalls von Futter- und Kotbestandteilen wurden insbesondere die bei höheren Temperaturen (≥18 °C) im Kontrollaquarium auftretenden milchigen Trübungen des Wasser verhindert. Gleichfalls war bis zum Versuchsende ein stark wachstumsdepressiver Effekt (Wachstumsintensität ca. halbiert) auf die Belagbildung an der Bodenscheibe und den Wandungen des Versuchsaquariums zu verzeichnen. Diese Beobachtung deckt sich mit dem herkömmlichen Einsatz von natürlichen HS in Aquarien, Garten- und Zierteichen, v. a. auf der Grundlage von Torf und Torfextrakten, gegen eine übermäßige Algenentwicklung (TEICHFISCHER 1999) und steht im Gegensatz zu der u. a. von RICHTER (1992) angeführten Steigerung des Algenwachstums (das sich hier aber auf Fadenalgen bei Anwesenheit des niedermolekularen synthetischen HS 1500 bezog). Da HS aber strukturabhängige und ambivalente Wirkungen besitzen, dürften solche verschiedene Wirkungen nicht überraschen (STEINBERG u. BRÜGGEMANN 2002a, b).

Durch den HS-Futterzusatz konnte im Aquarium ein spezifisches Milieu erzeugt werden, bei dem in beiden Gruppen unterschiedliche Voraussetzungen für das Wachstum eines Biofilms entstanden. Biofilme werden u. a. beeinflusst von der Verfügbarkeit von Nährstoffen für das Bakterienwachstum, der Anwesenheit bakterizider Stoffe und der Konzentration gelösten organischen Materials (BOVENDEUR 1989). Normalerweise steigt die Dicke des Biofilms mit dem NH4+-Gehalt (SANDU et al. 2002), der zu Beginn des Versuchs im Versuchsaquarium höher als im Kontrollaquarium lag. Da aber die Wirkung von NH4+-abbauenden Bakterien (Nitrosomonas sp.) an die Ansiedlung an eine Matrix, d. h. eine entsprechende Oberfläche, gebunden ist (EDING u. VAN WEERD 1999), führte die Entwicklung des aus ästhetischen Gründen in der Aquaristik unerwünschten starken Bewuchses aus pflanzlichen und tierischen Einzellern im Kontrollaquarium zu einer höheren Besiedlungsfläche für u. a. NH4+abbauende Bakterien und einer höheren NH4+-Abbaurate. Im Versuchsaquarium kam es unter dem Einfluss der HS-Präparation zu einer allgemeinen Hemmung der Vermehrung der Mikroorganismen des Bewuchses, sichtbar vor allem im geringeren Vorkommen von Algen. Angesichts des erhöhten NH<sub>4</sub>+-Aufkommen im ersten Versuchsabschnitt schienen gleichfalls die NH<sub>4</sub>+-abbauenden Bakterien betroffen gewesen zu sein. Das Gleichgewicht der Nitrifikation war bis zur Ausbildung eines ausreichenden Bewuchses (Siedlungsfläche) zu Beginn des zweiten Versuchsabschnitts auf die Seite von NH<sub>4</sub>+, vor die erste Abbaustufe NO<sub>2</sub>-, verschoben. HOFER und LACKNER (1995) führen an, dass die Oxidationsvorgänge von NH<sub>4</sub>+ zu NO<sub>2</sub>- und NO<sub>3</sub>- bei Vorhandensein von glatten Wandungen bzw. bei einer geringen spezifischen Oberfläche vermindert sind. Im ersten Versuchsabschnitt waren NO2 und NO<sub>3</sub> dadurch und durch den höher frequenten Wasserwechsel nur in geringeren Mengen nachweisbar.

Auch die nur im Kontrollaquarium beobachtete milchige Trübung des Aquarienwassers, besonders bei Temperaturen ab 18 °C, muss in Zusammenhang mit einer stärkeren Entwicklung von Bakterien bzw. Einzellern gesehen werden. Auch kann im Versuchsaquarium eine antimikrobielle Wirkung der HS-Präparation bei oraler Applikation über das Futter unterstellt werden, wie sie u. a. NOELLER und KLÖCKING (1972), ANSORG und ROCHUS (1978), NAGLITSCH (1983), KÜHNERT et al. (1989) und

VAN RENSBURG et al. (2000) für HS beschreiben. EDING und VAN WEERD (1999) geben an, dass die NH<sub>4</sub>+-Abbaurate eines Biofilms von der Anwesenheit bakterizider Stoffe und der Konzentration gelösten organischen Materials abhängig ist. Zum einen wurde in der mikroskopischen Untersuchung des Biofilms im Versuchsaquarium ein Niederschlag von HS-Partikeln nachgewiesen, auf den eine Teilwirkung zurückgeführt werden könnte. Eine gewisse antimikrobielle Wirkung wäre auch schon im Chymus und nachfolgend in den Fäzes denkbar. Zum anderen ist zu beachten, dass die höhere Futterstabilität und die verminderte Löslichkeit der Fäzes zur Verminderung des Anteils gelösten organischen Materials und damit der Bereitstellung von Nährstoffen für den Bewuchs beigetragen haben.

Die Versuchsbedingungen (ohne Aquarienfilter, Bodengrund, Bepflanzung und Einrichtungsgegenstände) stellen einen Sonderfall dar. Unter den üblichen Bedingungen in Aquarien, Teichen und sonstigen Aquakulturanlagen sind keine Beeinträchtigungen hinsichtlich einer verminderten Abbaurate von NH<sub>4</sub>+ auf Grund zu geringer bakterieller Siedlungsfläche zu erwarten. So gab es bei den Versuchen in der teichwirtschaftlichen Aufzucht von Karpfen mit HS-Futterzusatz (Versuch F I und F II) keine Hinweise auf ein erhöhtes Aufkommen dieser Stickstoffprodukte. Außerdem stehen vielfältige, ausgereifte und sichere Technologien zur Wasseraufbereitung und -filterung zur Verfügung, die den nitrifizierenden Bakterien im Biofilm hervorragende Wachstumsbedingungen bzw. eine ausreichende Besiedlungsfläche bieten.

Sowohl die durch den HS-Zusatz bedingte Veränderung der Konsistenz des Kotes (z. B. Kotabscheidung vor der biologischen Reinigung) als auch die Vermeidung einer starken Belagbildung (d. h. ein Bewuchs aus Algen und anderen Mikroorganismen) sowie die geringere Wassertrübung sind Faktoren, die zur Gewährleistung eines störungsfreien Betriebes von Kreislauf-, Rinnenanlagen und Hälterbecken bzw. von Aquarien und den auf einen hohen Schauwert abzielenden Klein- und Gartenteichen berücksichtigt werden sollten. Da dringender Bedarf an einem Mittel mit prophylaktischer Wirkung besteht, das ohne toxische Wirkungen auf Fisch und Umwelt seine Wirkung bedarfsgerecht entfaltet, bietet sich somit ein Futterzusatz mit den verwendeten HS vom Typ WH 67 zur Reinhaltung, Arbeitserleichterung, Hemmung des Algen- bzw. Belagwachstums und Wasserklärung in den genannten Einsatzgebieten an.

# 5.3.3 Klinische Symptomatik bei oraler HS-Anwendung

So wie die zootechnischen Parameter überwiegend mehr oder weniger unverändert waren, sind auch die Effekte der oralen Applikation von 5 % HS im Futter bei der Fischaufzucht weniger augenfällig als nach äußerlicher Anwendung von HS-Bädern bei multifaktoriell erkrankten Goldfischen.

# 5.3.3.1 Pathomorphologische Befunde

In der Aufzucht von Karpfen (Versuche F I und F II) waren durch die Auswertung der pathomorphologischen und histologischen Untersuchungen der Stichproben während und nach Abschluss der Aufzuchtperiode zu K<sub>1</sub> keine Unterschiede im Gesundheitszustand zu erkennen. Sowohl bei den Versuchs- als auch bei den Kontrollfischen ergaben die pathomorphologischen Untersuchungen eine Kiemenschwellung, epitheliale Hyperplasie der Kiemenblättchen bzw. vereinzelt eine Regression der Sekundärlamellen, Nekrosen der Kiemen und Schwimmblasenentzündungen. Für die Erkrankungen der Kiemen sind die unter hochsommerlichen Bedingungen erhöhten NH<sub>3</sub>-Belastungen verantwortlich zu machen (SCHÄPERCLAUS 1990; AMLACHER 1992).

In Versuch F I wurden bei den Fischen der Versuchs- und Kontrollgruppe erstmals am 954. Versuchstag, dem 154. Tag nach Überführung der Fischgruppen in die abschließende Winterhälterung und dem 54. Tag nach Einstellung der Versuchsfütterung, die so genannten "Neuartigen Hautveränderungen" (BRÄUER et al. 2001) festgestellt. Von diesen klar umschriebenen kreisrunden Hautveränderungen mit einer milchigtrüben Schleimauflagerung sowie nachfolgenden Pigmentstörungen und Rötungen waren ca. 50 % der Versuchs- und 10 % der Kontrollfische betroffen. Vier Wochen später traten diese Hautveränderungen noch bei ca. 40 % der Versuchs- und 10 % der Kontrollfische als

kraterförmige Hautzusammenziehungen bzw. Vernarbungen in der Rücken und Schwanzregion auf. Nach BRÄUER et al. (2001) heilt diese erst seit wenigen Jahren bekannte und ätiologisch nicht eindeutig eingeordnete Erkrankung in den Sommermonaten aus.

Die Karpfen aller Gruppen wiesen über den gesamten Untersuchungszeitraum einen guten Ernährungszustand auf, nur die Fische der Kontrollgruppe<sub>40</sub> (Versuch F II: höchste Besatzdichte, niedrigste Verlustrate) besaßen zu Versuchsende einen mäßigen bis guten Ernährungszustand.

# 5.3.3.2 Parasitologische Befunde

Die parasitologischen Untersuchungen ergaben im Versuch F I in beiden Gruppen einen geringgradigen *Trichodina sp.-, Trichodinella sp.-, Chilodonella sp.-* und *Gyrodactylus sp.-*Befall der Haut bzw. der Kiemen und bei vereinzelten Fischen einen geringgradigen *Argulus sp.-* bzw. *Piscicola sp.-*Befall der Haut. Unterschiede zwischen der Versuchs- und Kontrollgruppe konnten nicht festgestellt werden.

In Versuch F II wurde durch die parasitologischen Untersuchungen bei den Fischen der Kontrollgruppen und nur anfänglich in den Versuchsgruppen ein geringgradiger *Trichodina sp.-, Trichodinella sp.-, Ichthyophthirius sp.-* bzw. *Dactylogyrus sp.-*Befall der Haut bzw. Kiemen festgestellt. In den Versuchsgruppen<sub>20-40</sub> (je n=12) waren die Haut, die Kiemen und der Verdauungstrakt der Fische ab der Stichprobenuntersuchung bereits nach dreiwöchiger Verabreichung der HS-Futtermischung frei von einzelligen Parasiten, nur in der Versuchsgruppe<sub>40</sub> (höchste Besatzdichte, niedrigste Verlustrate und deshalb niedrigste Futtergabe sowie Zuwachs pro Tier) trat bei der letzten Untersuchung ein vereinzelter *Trichodina sp.-* bzw. *Dactylogyrus sp.-*Befall der Kiemen auf. Weiterhin wurde an bzw. ab diesem Zeitpunkt in allen Kontrollgruppen ein vereinzelter bis mittelgradiger und von den Versuchsgruppen nur in der Versuchsgruppe<sub>20</sub> ein vereinzelter *Posthodiplostomum sp.-*Befall der Haut festgestellt. Gleichzeitig verlor sich der anfängliche *Ichthyophthirius sp.-*Befall in allen Versuchs- und Kontrollgruppen. Diese im Versuch nachgewiesenen Parasiten sind bei Teichfischen weit verbreitet (SCHÄPERCLAUS 1990; AMLACHER 1992; WOO 1995; ROMMEL 2000; NOGA 2000).

In Versuch F II lassen die Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen nach anfänglich übereinstimmender Parasitierung einen positiven Effekt der HS-Langzeitapplikation auf die Verringerung des Befalls mit den einzelligen Ektoparasiten (zusätzlich *Dactylogyrus sp.- Plathelminthes*) vermuten. Möglicherweise handelt es sich um den Ausdruck einer insgesamt gestiegenen Abwehrleistung. SCHRECKENBACH et al. (1991) führen die Stimulierung der bei Fischen stark ausgeprägten unspezifischen zellulären Abwehr an. Eine direkte antiparasitäre HS-Wirkung auf die vorgenannten Ektoparasiten ist bei oraler Applikation schwerlich vorstellbar. Da mit den vorliegenden Stichprobenumfängen eine statistische Auswertung nicht möglich war, kann nur eine Ausweitung entsprechender Untersuchungen die gewünschte Abklärung erbringen. Der Befall der Haut mit *Argulus sp.-, Piscicola sp.* bzw. *Posthodiplostomum sp.* (Vielzeller) war insgesamt gering. Ein antiparasitärer Effekt wäre auch hier nicht direkt, sondern nur über eine erhöhte Abwehrbereitschaft zu erklären.

Myxosporidienstadien wurden entweder bereits nativ in Quetschpräparaten (Fischgesundheitsdienst) oder in histologischen Schnittpräparaten (Landesuntersuchungsanstalt) bei den Fischen aller Versuchs- und Kontrollgruppen grundsätzlich in der Niere bzw. im Herz, teilweise auch in den Kiemen, der Haut und der Schwimmblase nachgewiesen. In Versuch F I wurden Myxosporidienstadien am 260. Versuchstag nicht mehr in der Versuchsgruppe, sondern nur noch in der Kontrollgruppe histologisch in den Kiemen und den Nierenkanälchen bzw. im Nierengewebe nachgewiesen.

Myxosporidien sind bei Fischen obligate Parasiten. Das infektiöse Agens und der Übertragungsweg sowie die sich anschließenden ersten Entwicklungsstadien im Fisch sind aber lediglich im Falle der Drehkrankheit der Salmoniden lückenlos aufgeklärt (KÖRTING 2000). Molekularbiologische Untersuchungen deuten darauf hin, dass sie enge verwandtschaftliche Beziehungen zu den *Cnidaria* oder zu Nematoden aufweisen (SMOTHERS et al. 1994; SIDALL et al. 1995; SCHLEGEL et al. 1996). Die von den Untersuchenden angegebenen Myxosporidienstadien können *Sphaerospora renicula* zugeordnet

werden. Bei dieser Art bilden sich in einer als Pseudoplasmodium bezeichneten Zelle Sekundär- und Tertiärzellen, die zu Sporoblasten werden und schließlich die ebenfalls zunächst mehrzelligen und mehrkernigen Sporen bilden. Diese extrasporogenen Entwicklungsstadien werden im Blutstrom der Fische gebildet. Die Sporogonie findet in den Nierentubuli statt. Die Bedeutung der davorgeschalteten Entwicklung der vielzelligen K-Stadien, ebenfalls aus Primär-, Sekundär- und Tertiärzellen bestehenden Komplexe, in der Schwimmblase von Karpfen ist noch unklar (KÖRTING 2000). Die Schwimmblasenentzündung (SBE) stellt bei jungen Karpfen das Haupterscheinungsbild dar. Die von ODENING et al. (1987) angeführte Beteiligung weiterer Organe (Niere, Herz u. a.) ist auch bei den Karpfen der vorliegenden Untersuchungen vorhanden. Bei der Diagnose der Myxosporidienstadien ist zu beachten, dass leicht Verwechslungen mit Pseudoplasmodien-ähnlichen Gebilden und K-Protozoen-ähnlichen Gewebsmakrophagen möglich sind (die insbesondere durch die native Untersuchungstechnik nicht unterschieden werden können). Deren Auftreten in der Niere, den Schwimmblasen und im Blut korrelierte in Untersuchungen von SCHRECKENBACH (1994) mit der SBE-Extensität. Die SBE trat besonders bei Getreidezufütterung auch ohne den Nachweis von *Spaerospora renicula* in den ausführlich untersuchten Organen auf.

Ein Einfluss der oralen HS-Applikation auf die Myxosporidieninfektionen kann aus den Ergebnissen vorerst nicht abgeleitet werden.

# 5.3.3.3 Bakteriologische Befunde

Deutliche Unterschiede zeigten sich dagegen bei der Auswertung der bakteriologischen Untersuchungen nach der Aufzuchtperiode zu K<sub>1</sub> (Versuch F I und F II). Hierbei wurden die Versuche F I und F II zusammengefasst, da aufgrund der ähnlichen physikalischen Zusammensetzung, siehe auch die IRund UV-VIS-Spektren, und der Produktspezifikationen der Fa. Pharmawerk Weinböhla (PHARMAWERK WEINBÖHLA 2002) von vergleichbaren Wirkungen ausgegangen werden kann. In den Versuchen F I und F II ergaben die bakteriologischen Untersuchungen der parenchymatösen Organe Leber, Niere und Milz (je n=24 der Versuchs- und Kontrollgruppen) einen unterschiedlichen Gehalt an den Bakterienspezies Aeromonas hydrophila, A. sobria und Pseudomonas putrefaciens (p<0,05). In den Versuchsgruppen wurde bei ca. 8 % der untersuchten Karpfen ein nur geringgradiger Gehalt an den o. g. Keimen nachgewiesen, in den Kontrollgruppen waren demgegenüber 25 % der Karpfen gering- bis hochgradig bakteriell infiziert.

Zur Verdeutlichung dieses Ergebnisses der bakteriologischen Untersuchungen der Versuchsfische sollen an dieser Stelle übliche Ergebnisse anhand weiterer - zeitgleich zu Versuch F I der Aufzucht von Karpfen - durchgeführter Untersuchungen von Stichproben (je n=6) angeführt werden. So erfolgte in vier der Versuchs- und Kontrollgruppe benachbarten Aufzuchtteichen mit gleichartigem Fischbesatz (K<sub>1</sub>) und einer der den Kontrollgruppen vergleichbaren Fütterung der Nachweis von beweglichen Aeromonaden und Pseudomonaden mit Infektionsraten von jeweils 100 %. Die Gehalte an den o. g. Keimen in den inneren Organen Leber, Niere und Milz waren auch hier gering- bis hochgradig. Zusätzlich erbrachten alle übrigen zeitgleich durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen bei K<sub>2</sub> und ZK<sub>3</sub> in den weiteren sechs benachbarten Teichen der Versuchsanlage Infektionsraten von 50–100 % mit den o. g. Keimen. Hier wiesen die inneren Organe wiederum gering- bis hochgradige Keimgehalte auf (s. Tab. A-26).

Mit den vorliegenden Untersuchungen in der Aufzucht von Karpfen konnte erstmals eine Verminderung des bakteriellen Gehaltes der inneren Organe Leber, Niere und Milz bei oraler HS-Langzeitapplikation nachgewiesen werden. Neben vermutlich geringen direkten Hemmwirkungen auf die o. g. Bakterienspezies (zum Vergleich mit in der Literatur beschriebenen Wirkungen s. 2.2.1) ist auch eine schleimhautschützende, abschwellende (antiphlogistische, mild adstringierende) Wirkung bei einer ödematisierten und mit mikrobiellen Erregern behafteten Darmwand sowie ein verminderter Übertritt von ubiquitären (fakultativ pathogenen) Darmbakterien in Verbindung mit einer positiven Beeinflussung des Darmmilieus und/oder einer verbesserten Abwehrleistung im Verdauungstrakt

anzunehmen. Dass die gefundene Verminderung des bakteriellen Gehaltes der inneren Organe zeitlich an die orale HS-Applikation gebunden ist, verdeutlicht die bakteriologische Untersuchung der inneren Organe im Versuch I der Aufzucht von Karpfen nach der dritten Aufzuchtperiode (983. Versuchstag): 83 Tage nach Beendigung der Versuchsfütterung waren keine Unterschiede mehr bezüglich des Gehaltes der Leber, Niere und Milz an Aeromonas- und Pseudomonas spp. bei den K3 in der Versuchsund Kontrollgruppe festzustellen. Deshalb ist von einer lokalen intestinalen Wirkung der im Wesentlichen nicht absorbierbaren HS auszugehen, die zeitlich an die HS-Applikation gebunden ist. Dieser intestinale Effekt darf auch für Versuch F III unterstellt werden, auch wenn direkte Auswirkungen nicht sichtbar wurden.

## 5.3.3.4 Virologische Befunde

Alle in den Karpfenversuchen F I und F II durchgeführten virologischen Untersuchungen verliefen negativ. Bei den Versuchs- und Kontrollfischen konnten keine Fischvirosen, insbesondere auch nicht das SVC-Virus, nachgewiesen werden. Bei den Regenbogenforellenbrütlingen aus Versuch F III, die zu Beginn der Aufzucht Symptome der Infektiösen Pankreasnekrose der Salmoniden (IPN) mit Dunkelverfärbung, Exophtalmus und Auftreibungen des Vorderleibs (ROBERTS u. SCHLOTFELDT 1985) aufgewiesen hatten, ergaben sich durch die daraufhin durchgeführten virologischen Untersuchung keine Hinweise auf eine Virusinfektion. Damit spielten offensichtlich virale Erkrankungen in den Aufzuchtversuchen keine Rolle.

### 5.3.3.5 Zusammenfassende Bewertung einer intestinalen Wirkung

Bei der oralen HS-Applikation muss bei geringer oder weitgehend fehlender Resorption von hochmolekularen HS-Partikeln (BODE 1983; GOLBS 1983; GÖTZE 1986; STEIN 1994) vor allem eine direkte intestinale Wirkung angenommen werden.

Aufgrund des härteren Pellets bei entsprechend hoher Zumischung, wie hier bei 5%igen Zusatz, kann eine erhöhte Quellzeit in den vorderen Abschnitten des Verdauungstraktes der Fische und eine Verlangsamung der Darmpassage unterstellt werden. Der letztgenannte Effekt wird auch bei reiner Kohleapplikation (Carbo medicinalis) genutzt. Ein hoher Zusatz von HS könnte demnach die Futteraufnahme beim gesunden Fisch herabsetzen.

Da sich die HS-Teilchen mehr oder weniger fein im Darm verteilen, ist von einem geringfügigem Besetzen der Resorptionsfläche im Darm auszugehen, möglicherweise wird reaktiv durch die HS-Applikation eine Vergrößerung der Resorptionsfläche (YASAR et al. 2002) ausgelöst, sodass sich dadurch positive Effekte auf Verdauung und Resorption ergeben, was in letzter Konsequenz wiederum eine erhöhte Futteraufnahme begünstigen würde. Ein klares Bild ergibt sich jedenfalls nicht, zumal Interaktionen zwischen intestinaler Wirkung und HS-Menge nicht auszuschließen sind. Intrazelluläre mikrobielle Enzyme werden offensichtlich durch HS nicht beeinflusst, verschiedene intrazelluläre Enzyme der Haut wurden in in-vitro-Untersuchungen eher gehemmt (Ziechmann 1996).

Davon unabhängig dürfte im Darm die vielfach beschriebene Wirkung der HS (vor allem in vitro) auf Bakterien und andere Mikroorganismen stehen (NOELLER u. KLÖCKING 1972; KLÖCKING u. SPRÖSSIG 1975; ANSORG u. ROCHUS 1978; KLÖCKING et al. 1983; NAGLITSCH 1983; SCHNEIDER et al. 1992; SCHNEIDER et al. 1996; HELBIG et al. 1997; DENG 1998; VAN RENSBURG et al. 2000, 2002; LU et al. 2002).

Aus den für HS beschriebenen adsorptiven und antiresorptiven Eigenschaften sind für die über das Futter verabreichten HS-Präparationen toxizitätsmindernde Wirkungen im Chymus denkbar, wie sie u. a. für verschiedene Schwermetalle, Organophosphate, Ammonium, Nitrat, Nitrit, Fluorid, DDT und seine Metabolite, Pilztoxine gefunden wurden (ZITKO et al. 1973; BROWN et al. 1974, RIDWAN 1977; GOLBS u. KÜHNERT 1983; KÜHNERT et al. 1980b, 1989; GOLBS et al. 1984; KÜHNERT 1983; FUCHS

et al. 1986; ZIECHMANN 1996; RICHARDS et al. 1999; MEINELT et al. 2001a, STEINBERG et al. 2002b).

Abgeleitet von den bekannten Eigenschaften besitzen die HS-Präparationen eine leicht gerbende Wirkung auf die Darmmukosa, die anscheinend besonders bei ödematisierten, entzündeten Schleimhäuten (Enteritis) genutzt werden kann. In diesem Fall kommen auch die entzündungshemmenden Eigenschaften an der gereizten Darmschleimhaut zur Wirkung. Durch die Reaktion der HS mit körpereigenen Eiweißstoffen fördern HS die Entquellung und fällen zusätzlich Eiweiße durch Koagulation oder Komplexbildung aus (GUTENBRUNNER u. HILDEBRANDT 1998). Damit können Verluste an Elektrolyten und energiereichen Körperflüssigkeiten in das Darmlumen vermindert werden. Der Übertritt von Mikroorganismen, speziell obligaten Darmkeime (z. B. fakultativ pathogene Aeromonaden und Pseudomonaden), die möglicherweise auch in geringem Maße direkt beeinflusst werden (u. a. KÜHNERT et al. 1989; VAN RENSBURG et al. 2000), könnte über den Darm in das umliegende Gewebe sowie in Blut und Lymphe vermindert werden. Die neben einer beschleunigten Abheilung von entzündlichen Prozessen (EICHELSDÖRFER 1976) beschriebenen adsorptiven und resorptionsvermindernden Eigenschaften (u. a. KÜHNERT et al. 1980a) könnten zusätzlich die Aufnahme der Endotoxine von Bakterien und weiterer toxisch wirkender Futterinhaltsstoffe verringern. Weiterhin kommt einer Ruhigstellung von Nervenendigungen durch die Verringerung der pathologisch erhöhten Darmmotilität Bedeutung zu, wie sie von KÜHNERT et al. (1989) angeführt wird. Damit könnte sich bei vorhandener Noxe oder bestehender Erkrankung eine den Körpermassenzuwachs steigernde Wirkung ergeben. Dagegen kann bei unter optimalen Umweltbedingungen gehaltenen, gesunden Fischen nach derzeitigem Erkenntnisstand nicht von weiteren wachstumsfördernden Effekten ausgegangen werden.

### 5.3.4 Umweltbedingungen und HS-Wechselwirkungen bei oraler Applikation

Bei der K<sub>1</sub>-Aufzucht sollen Flächenhektarerträge von nicht wesentlich mehr als 1.500 kg ha-1 angestrebt werden, um kritische Sauerstoffsituationen zeitlich so weit als möglich zu vermeiden. Empfehlungen zum Besatz bei der Aufzucht großer, konditionsstarker einsömmriger Karpfen (K1) mit vollwertigen Mischfuttermitteln werden in den Größenordnungen von 20.000-25.000 Stück ha-1 gegeben (FÜLLNER et al. 2000). In Versuch F II traten bei maximalen Hektarerträgen von weniger als 1.700 kg ha-1 nur in zwei Fischgruppen (KG<sub>30/40</sub>) kurzzeitig in den Morgenstunden bei hochsommerlicher Wetterlage Sauerstoffgehalte auf, die außerhalb des optimalen aber noch im kurzzeitig tolerierbaren Bereich für Karpfen lagen. Eine weitere Erhöhung der Besatzdichte (20.000-40.000 Stück ha-1 in F I und F II) hätte vermehrt kritische Umweltbedingungen (NH<sub>3</sub>-Anfall, O<sub>2</sub>-Defizit) provoziert, die Stressfaktoren darstellen und den Fischen besondere Anpassungsleistungen unter vermehrter Energieaufwendung abverlangen und durch die Schwächung der Fische das Auftreten von Erkrankungen begünstigen (SCHRECKENBACH u. SPANGENBERG 1987). Die in F I und F II aufgetretenen und insgesamt als gering einzuschätzenden pathomorphologischen Veränderungen, in Teilen auch der Umfang der Nachweise verschiedener Parasiten und von Bakterien in den inneren Organen, lassen auf eine offensichtlich nur geringe und vitalitäts- sowie konditionsabträgliche Belastung der Fische bei den vorherrschenden Aufzuchtbedingungen schließen.

Unterschiede lassen sich hinsichtlich der gemessenen und für die Fischzucht bedeutsamen Wasserparameter zwischen den Versuchs- und Kontrollgruppen (Versuch F I und F II) nicht ableiten. Die Unterbringung der Regenbogenforellen in Aquarien im Versuch F III und die in allen Versuchsabschnitten verwendeten gleich hohen Besatzintensitäten in der Versuchs- und Kontrollgruppe sicherten zu jedem Zeitpunkt vergleichbare Umweltbedingungen. Auf das erhöhte NH<sub>4</sub>+-Aufkommen zu Versuchsbeginn wurde unter 5.3.2.1.1 eingegangen.

Möglicherweise hätten ungünstigere Umweltbedingungen bzw. stärker krankmachende Reize ausübende Faktoren einen besseren Angriffspunkt für die oral applizierten HS-Präparationen dargestellt. Bei optimalen Umweltbedingungen (wie in F III) scheint die Anwendung von HS kein günstigeres Aufzuchtergebnis zu bewirken.

### 5.3.5 Schlussfolgerungen und Ausblick

Aus den Ergebnissen der Untersuchungen lassen sich bei Fischen für die äußerliche Behandlung mit Na-Humat-Lösung (HS vom Typ WH 67 SNa) folgende Wirkungen ableiten:

- gewebeschützend (Schutz vor erregerbedingter Schädigung und Nekrose),
- antiphlogistisch (örtliche Entzündungshemmung),
- · antimykotisch (Hemmung integumentärer Mykosen durch Saprolegnia sp.) und
- antiparasitär (Verminderung des Befalls mit Ektoparasiten).

HS-Bäder lassen sich praktikabel in der Hälterung und sicherlich auch während Transporten durchführen. Ausgehend von den nachgewiesenen positiven Wirkungen der angewendeten Bäder in den eigenen Versuchen ist unter den beschriebenen Bedingungen eine Behandlungskonzentration von 10 mg Na-Humat L-1 und eine tägliche Behandlungsdauer von ein bis zwei Stunden über einen Zeitraum von vier bis zwölf Tagen anzusetzen, wobei die Dosierungsangaben für weitere Präzisierungen offene Empfehlungen darstellen.

Zu Indikationen und der empfohlenen Anzahl der Wiederholungen von HS-Bädern lassen sich unter vergleichbaren Voraussetzungen vorerst folgende Aussagen treffen:

Zielt die Anwendung von HS-Bädern allgemein auf einen hohen Anteil an gesunden Fischen (z. B. für den Verkauf) ab, sind vier bis acht Tage Behandlungsdauer, auch unter Berücksichtigung des Therapieaufwandes, zu empfehlen. Sollen dagegen spezielle Effekte erzielt werden, können die nachfolgenden Hinweise als Richtlinien angenommen werden. Für Haut- und Flossenläsionen und Hämorrhagien an Haut, Flossen und Kiemen ist eine geringe bis mittlere Behandlungszeit (vier bis acht Tage getestet im Versuch B I bzw. B II) ausreichend. Dagegen wird für einen deutlichen Effekt auf integumentäre Mykosen durch Saprolegnia sp. unter Umständen eine längere Behandlungszeit (bis zu zwölf Tage geprüft im Versuch B II) notwendig. Akut auftretende Entzündungsymptome der Kiemen können mit wenigen Behandlungswiederholungen (vier Tage im Versuch B I und B II) erfolgreich therapiert werden. Das Auftreten nekrotischer Erscheinungen (Ulzera der Haut, Flossenrandnekrosen, Kiemennekrosen) wird sowohl bei geringer als auch längerer Behandlunsgdauer positiv beeinflusst (vier Tage im Versuch B I bis zwölf Tage im Versuch B II), wobei der Effekt allein auf Flossenrandnekrosen deutlicher bei längerer Behandlunsgdauer (zwölf Tage im Versuch II) in Erscheinung tritt. Bei Flossenrandnekrosen lässt sich gleichzeitig das Auftreten von Diapedeseblutungen ("Blutungen in den Flossen") und Arrosionsblutungen ("blutige Flossenränder") reduzieren. Eine Heilung von Fischen mit ausgeprägten Ulzera der Haut erscheint nicht möglich. Eine Verringerung des Befalls mit Ektoparasiten, insbesondere mit Ichthyophthirius sp. in den Kiemen, wird bei längerer HS-Einwirkung erreicht (bis zu zwölf Tage im Versuch B II).

Ausgehend von den vorliegenden Untersuchungen kann HS vom Typ WH 67 A und G in der Fischaufzucht vorerst mit folgenden Zielen oral über das Futter appliziert werden:

- Verminderung der (bakteriellen) Keimbelastung (Aeromonas- u. Pseudomonas spp.) der inneren Organe,
- Verminderung einer Belagbildung aus Algen und anderen Mikroorganismen sowie Wasserklärung (bedarfsgerecht und ohne abträgliche Wirkung auf die Umwelt).

Zur Absicherung der Ergebnisse zur Erhöhung des Körpermassenzuwachses oder Verringerung von Verlusten sowie der Verminderung des Befalls mit einzelligen Ektoparasiten durch HS-Langzeitapplikation sind weitere Untersuchungen angezeigt.

Unter Zusammenfassung der diskutierten Literatur und der vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeichnet sich vorerst der Einsatz eines HS-Futterzusatzes bei bakteriell (unter Beteilung von Aeromonas, Pseudomonas spp.) bedingten sowie unspezifischen Enteritiden bzw. zur Prophylaxe und Therapie von Schäden bei Umwelt- und Haltungsstress (Transport, Adaptationsprobleme nach Umsetzen, Futter-

umstellungen etc.) ab, da Enteritiden bei Fischen unspezifisch bei den meisten Krankheitsbildern auftreten. Dabei kann der Zusatz einer HS-Präparation bis zu 5 % im Futter erfolgen. Hierbei ist von einer spezifisch lokalen intestinalen Wirkung auszugehen, die sich auf den Applikationszeitraum beschränkt. Die für den jeweiligen Einsatz optimale Futterkonzentration bleibt jedoch offen.

Eine Applikation aus prophylaktisch/therapeutischer Indikation sollte bei ersten Anzeichen von Erkrankungen (Pseudofäzes, sich verschlechternde Nahrungsaufnahme bzw. Futterverwertung) begonnen werden und bis zur Regulierung der Symptome, beschränkt auf zwei bis vier Wochen erfolgen und gegebenenfalls wiederholt werden. Sollte sich für die HS-Applikation eine abwehrsteigernde Wirkung bestätigen, ist zu untersuchen, ob diese auch mit niedrigeren HS-Zusätzen zum Futter verbunden sind.

Im Hinblick auf die zusätzlichen Kosten eignet sich ein HS-Futterzusatz neben der Konditionssteigerung der jungen Lebensstadien (K<sub>1</sub>-Aufzucht) insbesondere für hochpreisige Fische, z. B. Zierkarpfen (Koi) und weitere Zierfische, unter Umständen sogar auch für längere Zeiträume, da hier ohnehin kostspieligere Futtermittel und Aufzuchtmethoden zur Anwendung kommen.

# 5.3.5.1 Anwendung von HS als Arzneimittel für Fische

In der Zierfischbranche wird die Verwendung von Huminstoffen, v. a. aus Torfen, zur Verbesserung der Teichhygiene oder zur Erzielung eines besonderen Wassermilieus empfohlen (TEICHFISCHER 1999; TETRA GERMANY 2004). Trotz der Erfahrungen und des erfolgversprechenden Einsatzes existieren bisher noch keine zugelassenen Arzneimittel für Fische auf der Grundlage von Huminstoffen.

Huminsäuren und ihre Na-Salze wurden mit der Verordnung (EWG) Nr. 2393/1999 vom 11. November 1999 als Wirkstoff in den Anhang II für alle zur Lebensmittelerzeugung genutzten Arten aufgenommen. Der Verabreichungsweg ist dabei auf die orale Anwendung beschränkt (ANON. 1999a).

Bisher wird noch kein Arzneimittel für Zierfische mit dem verwendeten Wirkstoff Na-Humat angeboten. Aufgrund der erleichterten Zulassungsbedingungen für Tierarzneimittel, die nach § 60 Arzneimittelgesetz (ANON. 1998) ausschließlich zur Anwendung bei Zierfischen, Zier- oder Singvögeln, Brieftauben, Terrarientieren oder Kleinnagern bestimmt und für den Verkehr außerhalb der Apotheken zugelassen sind, erscheint die Verwendung von HS in Tierarzneimitteln für Zierfische unproblematisch. Zur Zeit ist bei Zierfischen eine therapeutische Anwendung von Na-Humat-Lösung als Zusatz zum Fischwasser daher allein durch den niedergelassenen Tierarzt mittels Rezeptieren möglich. Das benötigte Arzneimittel wird über die Apotheke bereitgestellt.

Das Präparat "Humocarb, formuliert®" ist in Deutschland für die Anwendung bei Hund, Katze, Pferd, Rind, Schaf, Schwein, Ziege und Ziervögel zugelassen. Eine Anwendung dieses Präparates bei Nutzund Zierfischen ist im Falle des Therapienotstandes nach den Regelungen der Umwidmung nach § 56a Arzneimittelgesetz möglich (ANON. 1998).

### 5.3.5.2 Ausblick

Neben dem möglichen Einsatz von HS-Präparationen als Bad sowie Zusatz zum Futter zur Gesunderhaltung und Konditionssteigerung von Nutz- und Zierfischen, v. a. bei Koi und anderen Gartenteichfischen, besteht eine Bedeutung für Nutzfische in der Weise, dass zunehmend gesunde und schadstoffarme Lebensmittel verlangt werden. Die vorliegenden Ergebnisse bilden einen Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen mit HS auf den Gebieten der Nutz- und Zierfischzucht. Neben der Einbeziehung weiterer Fischarten, der denkbaren Ausdehnung der Anwendung auf die übrigen poikilothermen Tierarten (Reptilien) bietet vor allem die Frage nach den Wirkungsmechanismen der HS und ihrer jeweils korrekten Dosierung weiten Forschungsspielraum.

### 6 ZUSAMMENFASSUNG

Prophylaktischer und therapeutischer Einsatz von Braunkohle-Huminstoffen in der Nutz- und Zierfischzucht

Stefan Heidrich

Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im August 2004

#### Schlüsselworte:

Fischgesundheit, Aquakultur, Huminstoff, Huminsäure, Goldfisch, Karpfen, Regenbogenforelle

108 S., 24 Abb., 34 Tab., 243 Lit., 32 S. Anhang mit 1 Abb., 39 Tab.

Für die Therapie und Prophylaxe von Fischkrankheiten stehen nur wenige geeignete und zugelassene Medikamente zur Verfügung. Daher kommt der Suche nach wirksamen und für Tier, Verbraucher und Umwelt sicheren Alternativen in der Fischhaltung eine besondere Bedeutung zu. Über positive Effekte beim oralen Einsatz von Huminstoffen an landwirtschaftlichen Nutztieren, Zootieren und Heimtieren liegen eine Vielzahl von Berichten vor. Deshalb sollten in der vorliegenden Studie Huminstoffe (HS) in der äußerlichen Anwendung bei Zierfischen und in der oralen Verabreichung über das Futter bei Nutzfischen näher untersucht werden.

Dazu wurden zwei Versuche (B I: Dauer 4 Tage; B II: Dauer 12 Tage) an Goldfischen (*Carassius auratus*) unter teichwirtschaftlichen Bedingungen, zwei Aufzuchtversuche (F I: K<sub>v</sub> bis K<sub>3</sub>, Dauer: 1.000 Tage: F II: K<sub>0</sub> bis K<sub>1</sub>, Dauer: 150 Tage) an Karpfen (*Cyprinus carpio*) in der Teichwirtschaft und ein Aufzuchtversuch (F III: vorgestreckte Brut bis 30 g Lebendmasse, 166 Tage) an Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) unter Laborbedingungen durchgeführt. Als Versuchsparameter dienten Mortalität und Morbidität, Wachstum und Futteraufwand in den Aufzuchtversuchen, pathologisch anatomische (einschließlich histologischer Befunde in B I und F II), parasitologische, bakteriologische und virologische Kriterien. Die Wasserqualität wurde regelmäßig ermittelt.

In den Versuchen B I und B II wurde eine 10%ige Na-Humat-Lösung (HS vom Typ WH 67 SNa der Fa. Pharmawerk Weinböhla) dem Hälterungswasser so zugesetzt, dass eine Na-Humat-Konzentration von 10 mg L<sup>-1</sup> entstand. Zweijährige, multifaktoriell erkrankte Goldfische (B I: N=2 x 322, B II: N=2 x 100) wurden dem Na-Humat-Bad täglich für die Dauer einer Stunde (B I) bzw. von 1,5 bis 2 Stunden (B II) ausgesetzt.

Die HS-Badehandlungen führten in beiden Versuchen zu einer Senkung der Verluste (Mortalitätsrate in B I: 0,6 versus 4,7 %, p<0,0005; B II: 8 versus 16 %, p<0,05). Bei Versuchsende war in den Versuchsgruppen (Na-Humat-Bad) der Gesundheitszustand, beurteilt nach äußerlich sichtbaren Veränderungen an Haut, Flossen und Kiemen, deutlich verbessert (B I: p<1·10·16; B II: p<0,001). So waren (Signifikanzangaben nur für B II) vor allem Hämorrhagien der Haut und der Flossen (p<0,05), Flossenrandund Kiemennekrosen (p<0,05) sowie akute Kiemenentzündungen (p<0,02) verringert. Die Badebehandlungen bewirkten weiter eine geringere Ausprägung integumentärer Mykosen der Haut, Flossen

und Kiemen durch Pilze der Gattung Saprolegnia (p<0,05). Der Befall von Haut und Kiemen mit vorrangig protozoären Ektoparasiten konnte insgesamt ebenso vermindert werden (p<0,01) wie der Befall der Kiemen mit *Ichthyophthirius* sp. (p<0,05).

Aus der beobachteten Milderung von Krankheitssymptomen umweltbedingter, bakterieller, ektoparasitärer und mykotischer Genese nach Na-Humat-Bädern bei Goldfischen kann auf einen gewebeprotektiven, antiphlogistischen, antimykotischen und antiparasitären Effekt der Na-Humat-Behandlung geschlossen werden.

In der Aufzucht von Karpfen (F I) und Regenbogenforellen (F III) wurden dem Futter 5 % Humocarb, formuliert® (HS vom Typ WH 67 A), im Karpfenversuch F II 5 % Cellu-Ligno-Karbon-Isolat (HS vom Typ WH 67 G, beide Produkte: Fa. Pharmawerk Weinböhla) zugesetzt. In F I und F III wurde ein gleiches pelletiertes Alleinfutter für Forellen, in F II ein pelletiertes Alleinfutter für Karpfen eingesetzt.

In Versuch F I (Besatzdichte der beiden Teiche (0,2 ha) jeweils 35.000 K<sub>V</sub> ha<sup>-1</sup>) wiesen die Karpfen der Versuchs- gegenüber der Kontrollgruppe höhere mittlere Körpermassen auf. Der Unterschied zwischen den Gruppen bewegte sich mit einer Ausnahme (zu geringer Stichprobenumfang) zwischen p<0,05 (65 versus 45 g, 114. Tag) und p<0,0001 (1.146 versus 855 g, Versuchsende 1000. Tag). Der um die HS-Aufnahme bereinigte Futteraufwand des ersten Versuchsjahres war durch HS um 34 % verbessert. Die Futterquotienten in der zweiten und dritten Aufzuchtperiode waren durch die subjektive Futterzumessung (Nichtberücksichtigung zwischenzeitlicher Verluste) verfälscht.

In Versuch F II (Besatzdichten der 2 x 3 Teiche (0,25 ha) 20.000, 30.000 bzw. 40.000 K<sub>0</sub> ha<sup>-1</sup>) erhielten die Brütlinge über die ersten zwei Wochen kein zusätzliches Futter (nur Naturnahrung), anschließend wurde Weizenschrot zugefüttert, erst ab dem 63. Tag das Versuchs- bzw. Kontrollfutter für 87 Tage. Bei Versuchsende war in den Gruppen der höchsten Besatzdichte die Mortalität durch HS um ca. 20 % verringert (p<0,0001). Die Abfischungsmassen waren bei geringer Besatzdichte annähernd gleich, bei mittlerer Besatzdichte war die Kontrollgruppe, bei höchster Besatzdichte die Versuchsgruppe favorisiert (statistische Prüfung wegen des Fehlens von Einzeldaten nicht möglich). Der um die HS-Aufnahme bereinigte Futteraufwand war in den HS-Gruppen bei geringer bzw. höchster Besatzdichte um 5 bzw. 17 % verringert.

In beiden Versuchen, F I und F II, wurde eine deutliche Verringerung des Gehaltes der inneren Organe Leber, Niere und Milz an fakultativ pathogenen *Aeromonas*- und *Pseudomonas spp.* nachgewiesen (p<0,05).

Bei der Aufzucht von Regenbogenforellen (F III; N=2 x 25) trugen die durch den HS-Zusatz bedingten Veränderungen der Konsistenz von Futter und Kot zur Verminderung einer starken Belagbildung (Bewuchs aus Algen und anderen Mikroorganismen) sowie zur Vermeidung von Wassertrübungen in den Aquarien, insbesondere bei höheren Temperaturen, bei. Signifikante Unterschiede in den Kenndaten von Wachstum und Futteraufwand wurden nicht beobachtet.

Insgesamt gesehen erscheint aber der Zusatz von 5 % HS zum Futter als zu hoch gewählt, da sich der Futteraufwand in den HS-Gruppen bei Berücksichtigung der Gesamtfuttermenge (einschließlich des 5%igen HS-Zusatzes) überwiegend ungünstiger gestaltete.

Die Effekte der oralen Applikation von 5 % HS im Futter sind damit weit weniger augenfällig als nach äußerlicher Anwendung. Die zootechnischen Parameter waren überwiegend mehr oder weniger unverändert; allein in Versuch F I war die Körpermasse in der HS-Gruppen im Versuchsverlauf (Stichproben und Abfischung) in der Regel signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Von künftiger Bedeutung für die Aquarienhaltung von Fischen (und möglicherweise in Klein- und Zierteichen) könnte die beobachtete Wasserklärung und die Verminderung einer Belagbildung aus Algen und anderen Mikroorganismen sein. Eine intestinale Wirkung der HS wird insoweit unterstellt, als in beiden Karpfenversuchen die inneren Organe einen verminderten Befall an beweglichen Aeromonaden und Pseudomonaden aufwiesen.

# 7 SUMMARY

Prophylactic and therapeutic use of brown coal-derived humic substances in finfish and ornamental fish farming

Stefan Heidrich

Faculty of Veterinary Medicine University of Leipzig

Submitted in August 2004

#### **Keywords:**

fish health, aquaculture, humic substances, humic acid, goldfish, carp, rainbow trout

108 pp., 24 fig., 34 tab., 243 ref., 32 pp. appendix with 1 fig., 39 tab.

On the market, there is a limited number of suitable and approved drugs available for therapy and prophylaxis of fish diseases. The search for alternatives which are both effective and safe for animals, consumers and environment is therefore of special importance. There are numerous reports on positive effects of orally administered humic substances (HS) on agricultural livestock, zoo animals and pets. Therefore, the present study aimed on effects of HS for both external treatment of ornamental fish and oral application on culture fish via feed.

Two experiments on goldfish (*Carassius auratus*) (exp. B I: 4 days; exp. B II: 12 days), and on common carp (*Cyprinus carpio*) (exp. F I: 1,000 days, fry to 3-year-old fish; exp. F II: 150 days, fry to young-of-the-year size) were carried out under pond culture conditions. Additionally, one experiment on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) was carried out in the laboratory (exp. F III: 166 days, fingerlings up to 30 g body weight). The following parameters were examined: mortality, morbidity, growth, feed conversion ratio (exp. F I, F II, F III only), pathologic anatomical criteria (including histological examination of fish from B I and F II), parasitological investigation, bacteriological and virological state. Water quality was regularly examined as well.

In the experiments B I and B II, a 10% sodium-humate solution (type WH 67 SNa, Pharmawerk Weinböhla) was mixed into the water until a sodium-humate concentration of 10 mg  $L^{-1}$  was reached. Two-year old, multifactorially diseased goldfish (B I: N= 2 x 322; B II: N= 2 x 100) were daily exposed to this water for a period of one (B I) and 1.5-2 (B II) hours, respectively.

In both experiments the treatment of fish reduced in mortality (B I: 0.6 vs. 4.7 %, p<0.0005; B II: 8 vs. 16 %, p<0.05). Moreover, at the end of the experiments the sodium-humate treated fish showed a significantly improved health state (B I: p<10<sup>-16</sup>; B II: p<0.001) as indicated by externally visible changes of the skin, fins and gills. Specifically, reductions in haemorrhage of skin and fins (B II: p<0.05), and fin and gill necroses (B II: p<0.05), and gill inflammations (B II: p<0.02) were noted. Additionally, the sodium-humate treatment reduced integumental mucoses of skin, fins and gills (p<0.05) caused by *Saprolegnia sp.* The infection of skin and gills with protozoan parasites was reduced (p<0.01) as well. *Ichthyophthirius sp.* infections of the gills dropped significantly (p<0.05) in the treated fish groups as compared to the controls.

Due to the observed mitigation of disease symptoms of environmental, bacterial, parasitic and fungal origin after a sodium-humate bath treatment of goldfish, a tissue protective, antiphlogistic, antimycotic and antiparasitic effect of sodium-humate can be concluded.

For rearing of carp (F I) and rainbow trout (F III), 5 % Humocarb, formuliert® (type WH 67 A, Pharmawerk Weinböhla) was mixed among the feed, while for the experiment F II 5 % Cellu-Ligno-Carbon-Isolat (type WH 67 G, Pharmawerk Weinböhla) was added. In F I and F III a complete feed for trout was applied whereas for F II a complete feed for carp was used.

In experiment F I (stocking density of both ponds 35,000 carp fry per ha) test fish revealed a higher mean body weight compared to the controls. With one exception (sample size to small), the difference between the groups was either significant (day 114: 65 vs. 45 g, p<0.05) or highly significant (day 1000: 1,146 versus 855 g, p<0.0001). The feed conversion ratio of the first experimental year (expurgated by HS-uptake) improved by 34 % due to HS application. Feed conversion ratio of the second and third year were falsified because of subjective feeding (which does not consider occurring losses).

In experiment F II (stocking density of the 2 x 3 ponds (0,25 ha) were 20,000, 30,000 and 40,000 individuals per ha, respectively) no additional feed was given to the hatched fry during the first two weeks so that all the fish lived on natural feed items. Afterwards, bruised wheat grain was given until from day 63 either test or control feed was applied for a total of 87 days. At the end of the experiment, at the highest stocking density the mortality was significantly (p<0.0001) decreased by 20% in the test group supplied with HS. At low stocking density the total weight of fish at harvest was not different between the test and control group. However, at medium stocking density the average body weight was higher in the control whereas reverse conditions were observed at the highest stocking density (due to a loss of data no statistical analysis was possible). The feed conversion ratio (expurgated by the uptake of humic substances) was decreased in the test groups of low (5 %) and high (17 %) density.

In both experiments (F I and F II) significantly reduced infections of the internal organs liver, kidney and spleen with potentially pathogenic *Aeromonas* and *Pseudomonas spp.* were detected.

In the rainbow trout rearing (F III;  $N = 2 \times 25$ ), the HS-caused changes in consistency of feed and faeces impaired the formation of heavy algal films and large microorganism populations, and contributed to less turbid water turbidity in the aquaria, particularly at high temperatures. Significant differences in growth and feed conversion ratio could not be observed.

In general, the addition of 5 % HS to the feed is regarded as being too high because the total amount of feed given (inclusive 5 % HS) is considered. The feed conversion ratio was higher in most of the HS-groups.

Effects of oral application of 5 % HS in feed were thus less obvious than the bath treatment. Zootechnical parameters, in general, did not change. Merely in experiment F I the body weight of the HS-groups was significantly higher than that of the controls. In aquaria and small ponds used for ornamental fish breeding the observed cleaning of water and reduced formation of algal films and microorganism populations caused by HS could be of future importance. Intestinal effects of HS are assumed as internal organs revealed a reduced infection with both motile aeromonads and pseudomonads.

### 8 LITERATURVERZEICHNIS

Abbt-Braun G. Untersuchungen zur Struktur isolierter Huminstoffe - Allgemeine Charakterisierung und Massenspektrometrische Bestimmungen [Dissertation rer. nat.]. München: Technische Universität; 1987.

Achard FK. Chemische Untersuchung des Torfs. Crell's Chem Ann. 1786;II:391-403.

Albrecht M-L. Industriemäßige Karpfenproduktion in Warmwasseranlagen und Käfigen. In: Steffens W, Hrsg. Binnenfischerei - Produktionsverfahren. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1986. S. 69-95.

Amlacher E. Taschenbuch der Fischkrankheiten. 6. Aufl. Jena, Stuttgart: Fischer; 1992.

Anon. Richtlinie 91/67/EWG des Rates betreffend die tierseuchenrechtlichen Vorschriften für die Vermarktung von Tieren und anderen Erzeugnissen der Aquakultur vom 28. Jan. 1991 ABI. EG Nr. L 46 S. 1 (19. Febr. 1991).

Anon. Entscheidung 92/532/EWG der Kommission über die Probenahmepläne und Diagnoseverfahren zur Erkennung und zum Nachweis bestimmter Fischseuchen vom 19. Nov. 1992 ABI. EG Nr. L 337 S. 18 (21. Nov. 1992).

Anon. Richtlinien über das fachgerechte und tierschutzkonforme Töten von Versuchstieren. Liebefeld-Bern, Schweiz: Bundesamt für Veterinärwesen (12. Juli 1993).

Anon. Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung (Tierschutz-Schlachtverordnung) vom 3. März 1997. BGBI. I Nr. 13 S. 405-415 (6. März 1997).

Anon. Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz) in der Fassung der Bekanntmachung vom 11. Dezember 1998. BGBI. I S. 3586. Zuletzt geändert durch Artikel 1 des Gesetzes vom 30. Juli 2004. BGBI. I S. 2031.

Anon. Verordnung (EG) Nr. 2393/1999 der Kommission zur Änderung der Anhänge I, II und III der Verordnung (EWG) Nr. 2377/90 des Rates zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs vom 11. November 1999a. ABI. EG L 290 S. 5-8 (12. November 1999).

Anon. Verordnung zum Schutz gegen Süßwasserfisch-Seuchen, Muschelkrankheiten und zur Schaffung seuchenfreier Fischhaltungsbetriebe und Gebiete (Fischseuchen-Verordnung) vom 16. Mai 2001. BGBI. I Nr. 24 S. 938-945 (28. Mai 2001).

Anon. Progress Report. Pretoria, Südafrika: Biocon (Pty) Ltd; Jul 1999b. zitiert nach Botes et al. (2002)

Anon. ROSIG (Refraktäre Organische Säuren in Gewässern). 2001b (zitiert vom 7. 10. 2001):1-10 <a href="http://www.wasserchemie.uni-karlsruhe.de/Deutsch/Rosigde/literatur.html">http://www.wasserchemie.uni-karlsruhe.de/Deutsch/Rosigde/literatur.html</a>.

Anon. International Humic Substance Society - Introduction to the International Humic Substance Society. 2004 (zitiert vom 6. 4. 2004):1 < http://www.ihss.gatech.edu/info.html>.

Ansorg R, Rochus W. Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirksamkeit von natürlichen und künstlichen Huminsäuren. Arzneimittelforschung. 1978;28(II):2195-8.

Baatz H. Aus der Praxis für die Praxis der klassischen Moortherapie - 3 Jahrzehnte Erfahrung mit der klasssischen Moortherapie. In: Müller-Wegener U, Hrsg. Organische Inhaltsstoffe des Bodens. Göttingen: Cuvillar; 1994. S. 170-7.

Banade W, Teichmann R. Torf in der Wundbehandlung. Balneologie. 1944;11:33.

Bartels KP. Bericht über die klinische Erprobung eines neuen Antidiarrhoikum auf Huminsäurebasis. Prakt Tierarzt. 1986;6:516-8.

Bauer R. Erkrankungen der Aquarienfische. Berlin, Hamburg: Parey; 1991.

Behmel P. Die Sorption von Huminsäuren durch Bakterienzellwände. In: Müller-Wegener U, Hrsg. Organische Inhaltsstoffe des Bodens. Göttingen: Cuvillar; 1994. S. 1-13.

Bergh JJ, Cronje IJ, Dekker TG, Gerritsma LM, Mienie LJ. Non-catalytic oxidation of water-slurried coal with oxygen: identification of fulvic acids and acute toxicity. Fuel. 1997;76:147-54.

Bode W. Untersuchungen zu Wanderungsgeschwindigkeit und Resorptionsverhalten von Huminsäuren sowie zu ihrer Einflußnahme auf die Resorption von zweibindigem Eisen bei Laboratoriumsratten [Diplomarbeit vet. med.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1983.

Bohl M, Hrsg. Zucht und Produktion von Süßwasserfischen. 2. Aufl. Frankfurt: DLG; 1999.

Bohl M, Riegger G. Karpfenproduktion unter extensiven und intensiven Bedingungen. In: Bohl M, Hrsg. Zucht und Produktion von Süßwasserfischen. 2. Aufl. Frankfurt: DLG: 1999. S. 332-435.

Botes ME, Dekker J, Van Rensburg CRJ. Phase I trial with oral oxihumate in HIV-infected patients. Drug Dev Res. 2002;57:34-9.

Bovendeur J. Fixed biofilm reactors applied to waste water treatment and aquacultural water recirculating systems [Dissertation agr.]. Wageningen: Agriculture Univ.; 1989. zitiert nach: Bohl (1999)

Bräuer G, Baska F, Herms J. Neues zu "Neuartigen Hautveränderungen" bei Karpfen. In: Wedekind H, Hrsg. Fischkrankheiten: Vortrag auf der 8. Tagung Deutsche Sektion der European Association of Fish Pathologists; 2000 Sept 19-21; Potsdam. Potsdam Sacrow: Institut für Binnenfischerei; 2001. S. 127-30

Brauner CJ, Wood CM. Effect of long-term silver exposure on survival and ionoregulatory development in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos and larvae, in the presence and absence of added dissolved organic matter. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2002;133:161-73.

Brown DA, Shaw TL, Shurben DG. Aspects of water quality and the toxicity of copper to rainbow trout. Water Res. 1974:8:797-803.

Büsing K. Licht- und elektronenmikrosokopischer Nachweis oral aufgenommener Huminsäuren in der duodenalen Schleimhaut des Schweins [Dissertation vet. med.]. Leipzig: Universität; 2001.

Castell JD, Tiews K. Report of the EIFAC, IVNS and ICES working groups on standardization of methology in fish nutrition research. EIFAC technical paper, Nr. 36 1980.

Christoph H-J. Klinischer Erfahrungsbericht über das Enterosal, ein neues Antidiarrhoikum in der Kleintierpraxis. Tierärztl Umschau. 1956;11:150-2.

Dekker J, Medlen CE. Fulvic acid and its use in the treatment of various conditions. PTC Patent Application no. PCT/IB 99/01567. Südafrika; 1999. zit. nach: Van Rensburg et al. (2001)

Deng H. Huminate - Potente Wirkstoffe gegen Herpesviren [Dissertation med.]. Freiburg i. Br.: Univ. Freiburg; 1998.

Dickerson HW, Dawe DL. Ichthyophthirius multifiliis and Cryptocaryon irritans (Phylum Ciliophora). In: Woo PTK, Hrsg. Fish Diseases and Disorders - Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections. Cambridge: Cab International; 1995. S. 181-225.

Dormehl I. Pharmacocinetic study with oxihumate on baboons. Pretoria, Südafrika: Atomic Energy Corporation Institute for Life Sciences; Dez 1997. zitiert nach Botes et al. (2002)

Dunkel R. Schweinemast - Was bringen Huminsäuren? Schweinewelt. 1998;23(1):22-3.

Dunkel R. Huminsäure stabilisiert die Futterqualität. Neue Landwirtschaft. 2001;6: 60-2.

Dunkel R, Wallmeyer J. Nutrizeutika - Huminsäuren als Leistungsförderer und Toxinbinder. Schweinewelt. 1999;24(3):14-5.

Eding EH, Van Weerd JH. Spezielle Aquakulturverfahren und Aquakulturkandidaten. In: Bohl M, Hrsg. Zucht und Produktion von Süßwasserfischen. 2. Aufl. Frankfurt: DLG-Verlag; 1999. S. 436-528.

Eichelsdörfer D. Moor in der Heilkunde. In: Göttlich K, Hrsg. Moor- und Torfkunde. Stuttgart: Schweizerbart; 1976. S. 239-57.

Eichhorn U, Klöcking R, Helbig B, Koch J. Organverteilung einer huminsäureähnlichen Modellsubstanz (14C-KOP) bei der Maus. Z Physiother. 1982;34:103-8.

Eimen S. Literaturstudie zur Verwendung von Malachitgrün und Formalin als Fischtherapeutika [Dissertation vet. med.]. München: Univ. München; 1989.

Elze K. Über den Einsatz von Huminsäuren zur Prophylaxe und Therapie von Durchfällen bei Zootieren. Verhandlungsbericht des 24. Internation. Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere [Sonderdruck]; 1982; Veszprém, Ungarn. Berlin: Akademie-Verlag; 1982. S. 209-15

Fernekorn A. Beitrag zur chemischen und biologischen Charakterisierung von Huminsäuren und huminsäureähnlichen Polymeren [Dissertation rer. nat.]. Leipzig: Akad. der Wissensch. der DDR; 1987.

Flaig W. Humic substances and associated small molecules from peats in balneology. Sci Total Environ. 1992;118:561-7.

Fraire AE. Aeromonas hydrophila infection. J Americ Medic Assoc. 1978;239:192.

Frimmel FH, Abbt-Braun G, Heumann KG, Hock B, Lüdemann H-D, Spiteller M, Hrsg. Refractory Organic Substances (ROS) in the Environment. Weinheim: Wiley-VCH; 2002.

Fuchs I, Hoffmann R. Therapienotstand bei Nutzfischen - Ursache und Lösungsmöglichkeiten. In: Wedekind H, Hrsg. Krankheiten der Aquatischen Organismen: Vortrag 7. Tagung Deutsche Sektion der European Association of Fish Pathologists; 1998 Sept 23-25; Schmallenberg-Grafschaft. Potsdam Sacrow: Institut für Binnenfischerei e. V.; 1999. S. 153-6

Fuchs V, Kühnert M, Golbs S. Detoxifizierende Wirkung von Huminsäuren gegenüber ausgewählten Schadstoffen. Mh Vet-Med. 1986;41:712-3.

Füllner G, Langner N, Pfeifer M. Ordnungsgemäße Teichbewirtschaftung im Freistaat Sachsen - Regeln guter fachlicher Praxis. Dresden: Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft; 2000.

Fürll M, Leidel I. Untersuchungen zur Gesundheitsstabilisierung im peripartalen Zeitraum bei Milchkühen. Tierärztl Umschau. 2002;57:423-38.

Fürll M, Reinheckel L. Erfahrungen mit dem huminsäurehaltigen Tierarzneimittel "Dysticum®" bei der Behandlung von Kälberdiarrhoen. In: Fürll M, Hrsg. Leipziger Samstagsakademie: Stoffwechselbelastung, -diagnostik und -stabilisierung beim Rind. Bonn: Akad. für tierärztl. Fortbildung; 1998. S. 218 - 25.

Gamygin E, Ponomarew SW, Kanidjew AN, Sytschow GA, Schmakow NF, Marsanowa AG, et al. Überprüfung der fischereibiologischen Effektivität des Präparates RHS 1500 der Firma Weyl GmbH Mann-

heim (auf Deutsch). Rybnoe (UdSSR): Ministerium für Fischwirtschaft der UdSSR, Wissenschaftliche Produktionsvereinigung für Fischzucht, Wissenschaftlich-technisches Zentrum "Aquakorm" 1991. S. 1-29. Gefördert durch die Firma Weyl GmbH Mannheim. zitiert nach Steinberg (2001), S. 156-158

Gamygin E, Ponomarew SW, Kanidjew AN, Sytschow GA, Schmakow NF, Marsanowa AG, et al. Überprüfung der fischereibiologischen Effektivität des Präparates RHS 1500 der Firma Weyl GmbH Mannheim. IV - Präparatauswirkung auf die Fischeier während der Erbrütung, auf die Embryonen und Larven (auf Deutsch). Rybnoe (UdSSR): Ministerium für Fischwirtschaft der UdSSR, Wissenschaftliche Produktionsvereinigung für Fischzucht, Wissenschaftlich-technisches Zentrum "Aquakorm" 1992a. S. 36-41. Gefördert druch die Firma Weyl GmbH Mannheim. zitiert nach Steinberg (2001), S. 156-158

Gamygin E, Ponomarew SW, Kanidjew AN, Sytschow GA, Schmakow NF, Marsanowa AG, et al. Überprüfung der fischereibiologischen Effektivität des Präparates RHS 1500 der Firma Weyl GmbH Mannheim. V - Prophylaktische und therapeutische Wirkung des Präparates bei den infektiösen und parasitären Fischerkrankungen sowie den traumatischen Haut- und Kiemenschädigungen (auf Deutsch). Rybnoe (UdSSR): Ministerium für Fischwirtschaft der UdSSR, Wissenschaftliche Produktionsvereinigung für Fischzucht, Wissenschaftlich-technisches Zentrum "Aquakorm" 1992b. S. 41-50. Gefördert durch die Firma Weyl GmbH Mannheim. zitiert nach Steinberg (2001), S. 156-158

Gau RJ, Yang L, Chow SN, Suen JL, Lu FJ. Humic acid suppresses the LPS-induced expression of cell-surface adhesion proteins through the inhibition of NF-kappa B activation. Toxicol Appl Pharmacol. 2000;166:59-67.

Golbs S. Experimentelle Untersuchungen zur pharmakologischen Wirksamkeit und zur Pharmakodynamik von Huminsäuren unter besonderer Berücksichtigung koergistischer Effekte und ihrer therapeutischen sowie prophylaktischen Nutzung beim Schwein [Dissertation B med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1983.

Golbs S, Kühnert M. Huminsäuren - Anwendung in Therapie, Pro- und Metaphylaxe in der Veterinärmedizin. Z Physiother. 1983;35:151-8.

Golbs S, Kühnert M, Fuchs V. Beeinflussung der akuten Toxizität von ausgewählten Pestiziden durch Huminsäuren. Z Ges Hyg. 1984;30(12):720-3.

Götze T. Untersuchungen zur Verteilung von Huminsäuren (Natriumhumat, Huminsäurekonzentrat und Sulumin) sowie Carbo medicinalis® und Adsorgan® im Rattendarm [Diplomarbeit vet. med.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1986.

Grötsch -, Bauer -. Richtlinien für die Entnahme und das Einsenden von Untersuchungsmaterial. 1990 (zitiert vom 28. 1. 1998):1-5,8-9,11,14,17,19 <a href="http://www.luas.bayern.de/vricht1.htm">http://www.luas.bayern.de/vricht1.htm</a>.

Günzler H, Böck H. IR-Spektroskopie. 2. Aufl. Weinheim: Verlag Chemie; 1983.

Gutenbrunner C, Hildebrandt G, Hrsg. Handbuch der Balneologie und medizinischen Klimatologie. Berlin, Heidelberg: Springer; 1998.

Haag A. Untersuchungen zur Struktur und Bildung von Huminstoffen [Dissertation rer. nat.]. Tübingen: Univ. Tübingen; 1999.

Haitzer M, Akkanen J, Steinberg CEW, Kukkonen JVK. No enhancement in bioconcentration of organic contaminants by low levels of DOM. Chemosphere. 2001;44(165-171).

Hajo M. Ein Beitrag zur Bestimmung der akuten Toxizität von Humaten bei Laboratoriumsratten nach unterschiedlichen Applikationsformen [Dissertation vet. med.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1978.

Hampl J, Herzig I, Vlcek J. Pharmakokinetics of sodium humate in chickens. Veterinarni Medicina. 1994;39:305-13.

Heidrich S, Herms J, Schneider J. Beitrag zum Einsatz von Huminsäurepräparaten in der Fischzucht. In: Wedekind H, Hrsg. Krankheiten der Aquatischen Organismen: Vortrag auf der 7. Tagung Deutsche Sektion der European Association of Fish Pathologists; 1998 Sept 23-25; Schmallenberg-Grafschaft. Potsdam Sacrow: Institut für Binnenfischerei e. V.: 1999. S. 157-63

Helbig B, Klöcking R, Wutzler P. Anti-herpes simplex virus type 1 activity of humic acid-like polymers and their o-diphenolic starting compounds. Antivir Chem Chemoth. 1997;8:265-73.

Herzig I, Pisarikova B, Kursa J, Bendova J. Effects of humine compounds on iodine utilisation and retention and on the function of the thyroid gland. Veterinarni Medicina. 2001;46:61-4.

Hofer R, Lackner R. Fischtoxikologie in Theorie und Praxis. Jena, Stuttgart: Fischer; 1995.

Hoole D, Bucke D, Burges P, Wellby I. Diseases of carp and other cyprinid fishes. Oxford, London: Blackwell Science: 2001.

Höss S, Jüttner I, Traunspurger W, Pfister G, Schramm KW, Steinberg CEW. Enhaced growth and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in the presence of 4-nonylphenol. Environ Pollut. 2002;120:169-72.

Hseu YC, Yang HL. The effects of humic acid-arsenate complexes on human red blood cells. Environ Res. 2002;89:131-7.

Itazawa Y. An estimation of the minimum level of dissolved oxygen in water required for normal life of fish. Bull Jap Soc Sci Fish. 1971;37:273-6.

Jooné GK, Dekker J, Van Rensburg CEJ. Investigation of the immunostimulatory properties of oxihumate. Z Naturforsch. 2003;58(3-4):263-7.

Kauffels W. Untersuchungen über die Wirkung von Moorinhaltsstoffen ("Huminstoffe") auf die Kontraktilität der Tubenmuskulatur [Dissertation med.]. Hannover: Med. Hochsch.; 1990.

Kickuth R. Huminstoffe, ihre Chemie und Ökochemie - Mitteilung 1. Chemie Labor Betrieb. 1972;23:481-6.

Kleingeld DW, Braune S, Schlotfeldt H-J, Albrecht I. Bakteriologische Befunde, Resistenzentwicklung und Risikoentwicklung im Zierfischhandel. In: Wedekind H, Hrsg. Fischkrankheiten: Vortrag auf der 8. Tagung Deutsche Sektion der European Association of Fish Pathologists; 2000 Sept 19-21; Potsdam. Potsdam Sacrow: Institut für Binnenfischerei; 2001. S. 186-96

Kleingeld DW, Schlotfeldt H-J. Therapiemöglichkeiten bei Fischen - eine Datenbankerfassung. In: Wedekind H, Hrsg. Krankheiten der Aquatischen Organismen: Vortrag auf der 7. Tagung Deutsche Sektion der European Association of Fish Pathologists; 1998 Sept 23-25; Schmallenberg-Grafschaft. Potsdam Sacrow: Institut für Binnenfischerei e. V.: 1999. S. 173-6

Kleingeld DW, Schlotfeldt H-J, Siesenop U, Böhm KH. Administration of antibiotics & chemotherapeutents and development of resistance in coldwater ornamentals. Bull Eur Ass Fish Pathol. 1996;17:4-7.

Kleinhempel D. Ein Beitrag zur Theorie des Huminstoffzustandes. Albrecht Thear Arch. 1970;14:3-14.

Klingner J. Screening-Untersuchungen zur Wirkung von natürlich vorkommenden Huminsäuren und synthetischen Phenolkörperpolymerisaten sowie ihren Ausgangsstoffen auf die Aktivität von Phospholipase A2 [Dissertation]. Jena: Universität; 2002.

Klöcking R. Stabile Naturstoffe in Gewässern. In: Kaeding J, Hrsg. Fortschritte der Wasserchemie und ihrer Grenzgebiete. Berlin: Akademie-Verlag; 1972. S. 127-35.

Klöcking R, Helbig B, Drabke P. Eine verbesserte Methode für die Isolierung wasserlöslicher Huminsäuren und enzymatisch oxydierter Diphenolverbindungen. Pharmazie. 1977;32:297.

Klöcking R, Hofmann R, Mücke D. Tierexperimentelle Untersuchungen zur entzündungshemmenden Wirkung von Humaten. Arzneimittelforschung. 1968;18:941-2.

Klöcking R, Sprössig M. Wirkung von Ammoniumhumat auf einige Virus-Zell-Systeme. Z Allg Mikrobiol. 1975;15:25-30.

Klöcking R, Sprössig M, Wutzler P, Thiel K-D, Helbig B. Antiviral wirksame Huminsäuren und huminsäureähnliche Polymere. Z Physiother. 1983;35:95-101.

Knauf H, Fuchs V, Kühnert M. Chemische Isolierung von Huminsäuren aus Naturstoffen unter Berücksichtigung toxisch wirkender Nebenprodukte. Z Physiother. 1983;34:143-9.

Knöchel. DFG-Schwerpunktprojekt (SPP) "Refraktäre Organische Säuren in Gewässern (ROSIG)". 1998 (zitiert vom 22. 11. 2001):1 <a href="http://analytik.chemie.uni-hamburg.de/rosig/ROSIG.html">http://analytik.chemie.uni-hamburg.de/rosig/ROSIG.html</a>.

Knopp N, Schött S. Tierexperimentelle Untersuchungen zum Einfluss verschiedener Huminsäurepräparate auf den Verlauf der Wundheilung [Diplomarbeit vet. med.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1983.

Kocabagli N, Alp M, Acar N, Kahraman R. The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. Poult Sci. 2002;81:227-30.

Körting W. Parasitosen der Süßwassernutzfische. In: Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schnieder T, Hrsg. Veterinärmedizinische Parasitologie. Berlin, Hamburg: Parey; 2000. S. 801-54.

Krause B, Metzler P. Angewandte Statistik - Lehr- und Arbeitsbuch für Psychologen, Mediziner, Biologen und Pädagogen. Berlin: Deutscher Verlag der Wissenschaften; 1988.

Kühnert M. Untersuchungen über chemische Eigenschaften sowie chemisch-toxikologische und pharmakologisch-toxikologische Wirkungen von Huminsäuren mit der Zielstellung ihrer Anwendung in der Medizin (speziell Veterinärmedizin) [Dissertation B med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig: 1979.

Kühnert M. Biochemische und pharmakologisch-toxikologische Eigenschaften von isoliert hergestellten Huminsäuren. Z Physiother. 1983;35:13-23.

Kühnert M, Bartels KP, Kröll S, Lange N. Huminsäurehaltige Tierarzneimittel in Therapie und Prophylaxe bei gastrointestinalen Erkrankungen von Hund und Katze. Mh Vet-Med. 1991;46:4-8.

Kühnert M, Fuchs V, Golbs S. Charakterisierung und Anwendungsmöglichkeiten von Huminsäuren unter veterinärmedizinischen Aspekten. Medicamentum. 1980a;21:116-21.

Kühnert M, Fuchs V, Golbs S. Zur Anwendung von Huminsäuren in Therapie und Metaphylaxe bei Enteritis des Kalbes. Mh Vet-Med. 1980b;35:144-6.

Kühnert M, Fuchs V, Golbs S. Chemische Charakterisierung und besondere pharmakologisch-toxische Eigenschaften von Huminsäuren. Arch Exper Veterinärmed. 1982;36:169-77.

Kühnert M, Fuchs V, Golbs S. Pharmakologisch-toxikologische Eigenschaften von Huminsäuren und ihre Wirkungsprofile für eine veterinärmedizinische Therapie. Dtsch tierärztl Wochenschr. 1989;96:3-10.

Kühnert M, Fuchs V, Knauf H, Knoll U. Charakterisierung von Kohlehuminsäuren für die medizinische Verwendung. Arch exper Veterinärmed. 1985;39:344-9.

Kühnert M, Kröll S, Penschuk K, Rutz C, Seidel U, Seidel S, et al. Erfahrungsbericht über die Anwendung von Vertinal bei Kleintieren. Fachpraxis Z Mod Tierarztprax. 2000;38:32-4.

Kühnert M, Kröll S, Seidel S, Seidel U, Neumann R. Dysticum - ein Tierarzneimittel auf Huminsäurebasis beim Kleintier. Fachpraxis Z Mod Tierarztprax. 1998;33:2-5.

Kühnert M, Lange N. Dysticum - Ein huminsäurehaltiges Tierarzneimittel zur Anwendung bei Magen-Darm-Erkrankungen von Kalb und Jungrind. VET. 1992;3:29-33.

Kühnert M, Lange N, Knauf H. Medizinische Anwendungsmöglichkeiten von Huminsäuren. Medicamentum. 1992;33:257-61.

Lange N. Grundlagenuntersuchungen zum Einfluss von Huminsäuren auf das Immunsystem der Laboratoriumsratte [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1985.

Lange N, Faqi S, Kühnert M, Haase A, Höke H, Seubert B. Untersuchungen zum Einfluss eines niedermolekularen synthetischen Huminstoffes auf die prä- und postnatale Entwicklung bei Ratten. Dtsch tierärztl Wschr. 1996;103:6-9.

Lange N, Golbs S, Kühnert M. Grundlagenuntersuchungen zu immunologischen Reaktionen an der Laboratoriumsratte unter dem Einfluss von Huminsäuren. Arch Exper Vetmed. 1987;41:140-6.

Lu FJ, Huang TS, Lee JH. Effect of synthetic acid-multimetal complex on human plasma prothrombin time. Bull Environ Contam Toxicol. 1994a;53:577-82.

Lu FJ, Lin WW, Huang TS. Humic substances shorten human plasma prothrombin time. Environ Geochemistry Health. 1994b;16:65-9.

Lu FJ, Shih SR, Liu TM, Shown SH. The effect of fluorescent humic substances existing in the well water of blackfoot disease endemic areas in Taiwan an prothrombin time and activated partial thromboplastin time in vitro. Thromb Res. 1990;57:747-53.

Lu FJ, Tseng SN, Li ML, Shih SR. In vitro anti-influenza virus activity of synthetic humate analogues derived from protocatechuic acid. Arch Virol. 2002;147:273-84.

Meinelt T. Untersuchungen zur Klassifizierung der akuten Fischtoxizität ausgewählter Therapeutika und Wasserschadstoffe. Z Binnenfischerei. 1990;374:118-25.

Meinelt T, Burnison BK, Stüber A, Pietrock M, Steinberg CEW. Antagonistic effects of calcium and natural organic matter on the toxicity of metals and xenobiotics to fish - a synopsis. Fres Environ Bull. 2004a;13:1-5.

Meinelt T, Körner O, Stüber A, Steinberg CEW. Influence of calcium and natural organic matter on the toxicity of an organophosphorus insecticide. Fres Environ Bull. 2004b;13:262-7.

Meinelt T, Pietrock M, Wiencke A, Völker F. Humic substances and the water calcium content change the toxicity of malachite green. J Appl Ichthyol. 2003a;19:380-2.

Meinelt T, Playle RC, Pietrock M, Burnison BK, Wiencke A, Steinberg CEW. Interaction of cadmium toxicity in embryos and larvae of zebrafish (*Danio rerio*) with calcium and humic substances. Aquat Toxicol. 2001a;54:205-15.

Meinelt T, Playle RC, Schreckenbach K, Pietrock M. Interaction of antiparasitic mixture FMC, humic substances and the water calcium content. Aquacul Res. 2001b;32:405-11.

Meinelt T, Rose A, Pietrock M. Effects of humic substances and the water calcium content upon toxicity of acriflavine. J Aquat Anim Health. 2002;14:35-8.

Meinelt T, Stüber A. Subchronische Toxizität von Malachitgrünoxalat. Fischer u Teichwirt. 1991;42(12):428-9.

Meinelt T, Stüber A, Heidrich S, Steinberg C. Toxizität von Xenobiotika in Abhängigkeit von Calciumund Huminstoffgehalt des Wassers. In: Licek E, Wedekind H, Weismann T, Hrsg. Fischkrankheiten -Aktuelles aus Wissenschaft und Praxis: Vortrag auf der 9. Tagung der Deutschen u. Österr. Sektion der European Association of Fish Pathologists; 2002 Sept 19-21; Mondsee, Österreich. Potsdam Sacrow: Institut für Binnenfischerei e. V.; 2003b. S. 199-205

Meinelt T, Stüber A, Staaks G. Die Praktikabilität eines Embryo-Brut-Testes mit dem Zebrabärbling (*Brachydanio rerio* HAMILTON-BUCHANAN), dargestellt am Beispiel fischereilich genutzter Therapeutika. Fortschr Fischereiwissensch. 1992;10:111-33.

Müller W. Karpfenproduktion in Teichen. In: Steffens W, Hrsg. Binnenfischerei - Produktionsverfahren. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1986. S. 44-68.

Naglitsch F. Antibakterielle Wirkung und Wiederverwendung von Badetorfen. Z Physiother. 1983;35:39-44.

Navara V. Einfluss von natürlichen Huminsäuren und synthetischen Huminsäure-ähnlichen Polymeren auf die Blutgerinnung [Dissertation med.]. Jena: Univ. Jena; 2001.

Neukirch M. In vitro-Untersuchungen zum Einfluss von Temperatur sowie von Flavonoiden auf die Infektiosität einiger Koi-Virusisolate. In: Licek E, Wedekind H, Weismann T, Hrsg. Fischkrankheiten - Aktuelles aus Wissenschaft und Praxis. Vortrag 9. Tagung der Deutschen u. Österr. Sektion der European Association of Fish Pathologists; 2002 Sept 19-21; Mondsee, Österreich. 2003. S. 170-3

Noeller I, Klöcking R. Testung der antimikrobiellen Wirkung von Humaten. In: Kaeding J, Hrsg. Fortschritte der Wasserchemie und ihrer Grenzgebiete. Berlin: Akademie-Verlag; 1972. S. 147-50.

Noga EJ. Fish Disease - Diagnosis and Treatment. Ames: Iowa State University Press; 2000.

Odening K. Merkblätter über angewandte Parasitenkunde und Schädlingsbekämpfung. *Spaerospora renicula* (*Myxosporidia*), der Erreger der protozoären Schwimmblasenentzündung des Jungkarpfens (*renicula*-Spaerosporose). Angew Parasitologie. 1987;28(4):1-16.

Painter TJ. Lindow man, Tollund man and other peat-bog bodies - The preservative and antimicrobial action of sphagnam, a reactive glucuronoglycan with tanning and sequestering properties. Carbohydr Polymers. 1991;15:123-42.

Penzes B, Tölg I. Goldfische und Kois. 2. Aufl. Stuttgart: Ulmer; 1993.

Peuranen S, Vuorinen P, Vuorinen M, Hollender A. The effects of iron, humic acids and low ph on the gills and physiology of brown trout (Salmo-trutta). Ann Zoologici Fennici. 1994;31:389-96.

Pflugmacher S, Tidwell LF, Steinberg CEW. Dissolved humic substances can directly affect freshwater organisms. Acta Hydrochim Hydrobiol. 2001;29:34-40.

Pfüller U. Untersuchungen zur Molmasse, Metallbindung und Redoxverhalten von Braunkohlehuminsäuren. Berlin: Bericht des staatl. Inst. für Immunpräp. u. Nährmed. 1978. zitiert nach: Stein (1994).

Pharmawerk-Weinböhla. Natürliche Huminsäuren in der Veterinärmedizin. 2. Aufl. Weinböhla: Pharmawerk Weinböhla GmbH; 2002.

Piccolo A, Conte P, Cozzolino A. Differences in high performances size exlusion chromatography between humic substances and macromolecular polymers. In: Ghabbour EA, Davies G, Hrsg. Humic substances versatile components of plants, soils and water. Cornwall, UK: M. P. G. Books; 2000 zit. nach: Jooné et al. (2003)

Plumb JA. Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes. Ames: Iowa State University Press; 1999.

Polo CA. Pränataltoxikologische Untersuchungen mit definierten Huminsäuren an der Ratte [Dissertation vet. med.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1980.

Pouneva I, Christov C. Use of humic preparations as fungicidal means for the control of parasites from the genus phlyctidium. Dokladi na Bolgarskata Akademyia na Naukite. 1992;45(12):117-20.

Proske C. Bewirtschaftung des Karpfenteiches. In: Von Lukowicz M, Hrsg. Lehrbuch der Teichwirtschaft. 4. Aufl. Berlin, Wien: Parey Buchverlag; 1998. S. 247-66.

Re A, Gualtierotti R. Wirkung eines Moorextraktes auf das endokrine System. Dtsch Mediz J. 1964;15:838-42.

Richards JG, Burnison BK, Playle RC. Natural and commercial dissolved organic matter protects against the physiological effects of a combined cadmium and copper exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Can J Fish Aquat Sc. 1999;56:407-18.

Richards JG, Curtis PJ, Burnison BK, Playle RC. Effects of natural organic matter source on reducing metal toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and on metal binding to their gills. Environ Toxicol Chem. 2001;20:1159-66.

Richter H. Untersuchungen und Gutachten zur Wirkung von Huminsäureprodukten an Zierfischen der Art Xiphophorus maculatus GÜNTHER 1866. Leipzig: Univ. Leipzig, Veterinärmed. Fak. 1992. Untersuchungsbericht u. Gutachten.

Ridwan FNJ. Untersuchungen zum Einfluss von Huminsäuren auf die Blei- und Cadmium-Absorption bei Ratten [Dissertation agr.]. Göttingen: Univ. Göttingen; 1977.

Riede UN. Huminstoffe als Biosignale. Freiburg i. Br.: Univ. Freiburg, Patholog. Inst. 1991. Jahresforschungsbericht.

Riede UN, Jonas I, Kirn B, Usener UH, Kreutz W, Schlickewey W. Collagen stabilization induced by natural humicsubstances. Arch Orthop Trauma Surg. 1992;111:259-64.

Riede UN, Seubert B. In: Klöcking, R. Bericht über die Arbeitstagung der Sektion IV der DGMT "Huminstoffe - Chemische Analytik und biologische Wirkungen": Vortrag auf der Arbeitstagung der Sektion 4 der Deutschen Gesellsch. für Moor- u. Torfkunde; 1997 Sept 4-6; Bad Elster. Telma 27; 1997. S. 231-3.

zitiert nach: Klingner (2002)

Riede UN, Zeck-Kapp G, Freudenberg N, Keller HU, Seubert B. Humate-induced activation of human granulocytes. Virchows Archiv B Cell Pathol. 1991;60:27-34.

Roberts RJ. Motile Aeromonad Septicaemia. In: Inglis V, Roberts RJ, Bromage NR, Hrsg. Bacterial Diseases of Fish. Oxford, London: Blackwell Scient Public; 1993

Roberts RJ, Schlotfeldt H-J. Grundlagen der Fischpathologie. Roberts RJ, Hrsg. Berlin, Hamburg: Parey; 1985.

Rochus W. Der Einfluß von Torf-Huminsäuren auf die Aufnahme, Ausscheidung und Verteilung von Blei und Kadmium im Organismus der Ratte. Z Physiother. 1983;35:25-30.

Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Schnieder T. Veterinärmedizinische Parasitologie. Berlin, Hamburg: Parey; 2000.

Rouleau C, Tjalve H, Gottoferey J, Pelletier E. Effects of some chelating-agents on the uptake and distribution of Mn-54(II) in the brouwn-trout (Salmo trutta). Pharmacol Toxicol. 1994;74:271-9.

Sachs L. Angewandte Statistik. 7. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer; 1992.

Salton R, Schnick S. Aeromonas hydrophila peritonitis. Cancer Chemother Rep. 1973;57:489-91.

Sanchez JG, Speare DJ, Sims DE, Johnson GJ. Morphometric assessment of epidermal and mucous-biofilm changes caused by exposure of trout to chloramine-T or formalin treatment. J Comp Pathol. 1998;118:81-7.

Sandu SI, Boardman GD, Watten BJ, Brazil BL. Factors influencing the nitrification efficiency of fluidized bed filter with a plastic bead medium. Aquacultural Eng. 2002;26:41-59.

Schäperclaus W. Fischkrankheiten. 5. Aufl. Berlin: Akademie-Verlag; 1990.

Schäperclaus W. Lehrbuch der Teichwirtschaft. 4. Aufl. Von Lukowicz M, Hrsg. Berlin, Wien: Parey Buchverlag; 1998.

Scheinert B. Tierexperimentell-toxikologische Untersuchungen bei parenteraler Anwendung von Huminsäuren an der Ratte [Dissertation med. vet.]. Leipzig: Univ. Leipzig; 1984.

Schewe CR, Klöcking R, Helbig B, Schewe T. Lipoxygenase-inhibitory action of antiviral polymeric oxidation products of polyphenols. Biomed Biochim Acta. 1991;50:299-305.

Schlegel M, Lom J, Stechmann A, Bernhard D, Leipe D, Dyková I, et al. Phylogenetic analysis of complete small subunit ribosomal RNA coding region of Myxidium lieberkuehni: Evidence that Myxozoa are Metazoa and related to Bilateria. Arch Protistenkd. 1996;147:1-9.

Schmidt GW. Bewirtschaftung der Forelle. In: Von Lukowicz M, Hrsg. Lehrbuch der Teichwirtschaft. 4. Aufl. Berlin, Wien: Parey Buchverlag; 1998. S. 365-467.

Schneider J, Weis R, Manner C, Kary B, Werner A, Seubert BJ, et al. Inhibition of HIV-1 in cell culture by synthetic humate analogues derived from hydroquinone: Mechanism of inhibition. Virology. 1996;218:389-95.

Schneider J, Werner A, Weis R, Männer C, Riede UN. HIV-virostatic effects of humic acids. Pathol Res Pract. 1992;190:245.

Schreckenbach K. Schwimmblasenentzündung und Ernährung bei Karpfen. In: Wedekind H, Hrsg. Fischkrankheiten: Vortrag auf der 5. Tagung Deutsche Sektion der European Association of Fish Pathologists; 1994 Sept 14-15; Wolfegg/Baden-Württemberg. Weymoth, Dorset, UK: EAFP, Publication Office, Fish Diseases Laboratory; 1994. S. 92-103

Schreckenbach K, Knösche R, Seubert BJ, Höke H. Klinische Prüfung des Synthesehuminstoffes HS 1500 bei Eiern und Larven von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*): Institut für Binnenfischerei e. V. 1994. Bericht.

zitiert nach Steinberg (2001)

Schreckenbach K, Kühnert M, Haase A, Höke H. Gutachten über die Wirkung des Arzneimittelgrundstoffes HS 1500 bei Nutz- und Zierfischen in der Aquakultur und Aquaristik. Potsdam Sacrow: Institut für Binnenfischerei e. V. 1996. Gutachten. zitiert nach Steinberg (2001)

Schreckenbach K, Meinelt T, Spangenberg R, Staaks G, Kalettka T, Spangenberg M, et al. Untersuchungen zur Wirkung des Synthesehuminstoffes RHS 1500 auf Süßwasserfische der Aquakultur. Berlin: Institut für Binnenfischerei 1991. Bericht. zitiert nach Steinberg (2001)

Schreckenbach K, Spangenberg M. Die Leistungs- und Belastungsfähigkeit von Karpfen (*Cyprinus carpio*) in Abhängigkeit von ihrer energetischen Versorgung. Fortschr Fischereiwissensch. 1987;5-6:49-67.

Schreckenbach K, Spangenberg R. Das Auftreten von Stickstoffverbindungen bei der Satzkarpfenproduktion und ihre Toxizität. Z Binnenfischerei. 1983;30:115-22.

Schreckenbach K, Spangenberg R, Blume H-W, Breuninger E, Hiltner R, Kasper W, et al. Stabilisierung der Satzkarpfenproduktion in Warmwasseranlagen durch Frühbesatz. Z Binnenfisch. 1984;31:63-8.

Schultz H. Die viruzide Wirkung der Huminsäuren im Torfmull auf das Virus der Maul- und Klauenseuche. Dtsch Tierärztl Wschr. 1962;69:613-4.

Schumacher A, Gropp J. Ernährung und Fütterung. In: Bohl M, Hrsg. Zucht und Produktion von Süßwasserfischen. Frankfurt: DLG-Verlag; 1999. S. 96-158.

Seubert B, Erfinder; Rütgerswerke Aktiengesellschaft, Frankfurt/Main, Anmelder. Verfahren zur Herstellung von Huminaten. Europäisches Patent EP 0537427. 8. Febr 1994.

Seubert B, Beilhartz H, Fickert W, Jeromin G, Spitaler U, Erfinder; Rütgerswerke Aktiengesellschaft, Frankfurt/Main, Anmelder. Verfahren zur Herstellung von niedermolekularen Alkalihuminaten. Europäisches Patent EP 0281678. 1. Mai 1990.

Sidall ME, Martin DS, Bridge D, Desser SS, Cone DK. The demise of phylium protists: phylogeny of myxozoa and other parasitic cnidaria. J Parasitol. 1995;81:961-7.

Siesenop U, Böhm KH. Siebzehn Jahre fischbakteriologische Diagnostik an der Tierärztlichen Hochschule Hannover - Erfahrungen, Ergebnisse, praktische Hinweise für die Diagnostik. Mitteilung 1. Diagnostik. Tierärztl Umschau. 2000a;55:36-41.

Siesenop U, Böhm KH. Siebzehn Jahre fischbakteriologische Diagnostik an der Tierärztlichen Hochschule Hannover - Erfahrungen, Ergebnisse, praktische Hinweise für die Diagnostik. Mitteilung 2. Nachweis und Differenzierung von Aeromonaden, Pseudomonaden, Vibrionen und anderen oxidasepositiven Bakterien. Tierärztl Umschau. 2000b;55:89-96.

Siesenop U, Kleingeld DW, Schlotfeldt H-J, Böhm KH. Problematik der Antibiotikaresistenzen bei Fischbakterien. In: Deustche "Veterinärmedizinische "Gesellschaft, Hrsg. Vortrag auf der Tagung der Fachgruppe Fischkrankheiten in Verbindung mit der European Association of Fish Pathologists; 1996 Sept 24-26; Königswartha. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft; 1996.

Smothers JF, Von Dohlen CD, Smith LH, Spall RD. Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans. Science. 1994;265:1719-21.

Snyman JR, Dekker J, Malfeld SCK, Van Rensburg CRJ. Pilot study to evaluate tehe safety and therapeutical efficacy of topical oxifulvic acid in atopic volunteers. Drug Dev Res. 2002;57:40-3.

Srivastava S, Sinha R, Roy D. Toxicological effects of malachite green. Aquat Toxicol. 2004;66(3):225-343.

Statsoft. Statistica für Windows [Computer-Programm-Handbuch]. 2001 (zitiert vom 11. 9. 2001):1 < <a href="http://www.statsoft.com">http://www.statsoft.com</a>.

Steffens W. Binnenfischerei - Produktionsverfahren. Berlin: Deutscher Landwirtschaftsverlag; 1986.

Stein K. Vergleichende Untersuchungen zu ausgewählten pharmakologischen und toxikologischen Eigenschaften verschiedener Huminsäureprodukte [Dissertation med. vet.]. Leipzig: 1994.

Steinberg CEW. Biogeochemische Regulierung in limnischen Ökosystemen: Zur ökologischen Bedeutung von Huminstoffen. Teil 1. Kap. IV-4.1 [11. Ergänzungslieferung 12/2000]. In: Steinberg CEW, Calmano W, Klapper H, Wilken R-D, Hrsg. Handbuch Angewandte Limnologie. Landsberg/Lech: Ecomed; 2000

Steinberg CEW. Biogeochemische Regulierung in limnischen Ökosystemen: Zur ökologischen Bedeutung von Huminstoffen. Teil 2. Kap. IV-4.1 [12. Ergänzungslieferung 5/2001]. In: Steinberg CEW, Calmano W, Klapper H, Wilken R-D, Hrsg. Handbuch Angewandte Limnologie. Landsberg/Lech: Ecomed; 2001 Steinberg CEW. Huminstoffe sind natürliche Umweltchemikalien - Belege aus dem aquatischen Bereich: Vortrag während des Kolloquiums an der Techn. Universität Hamburg-Harburg; 2002 Febr 1; Hamburg-Harburg. 2002.

Steinberg CEW, Bach S. Growth promotion by a groundwater fulvic acid in a bacteria/algae system. Acta Hydrochim Hydrobiol. 1996;24:98-100.

Steinberg CEW, Brüggemann R. Ambiguous ecological control by dissolved humic matter (DHM) and natural organic matter (NOM): Trade-offs between specific and non-specific effects. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 2002a;9:399-411.

Steinberg CEW, Brüggemann R. Gelöste Huminstoffe - Teil VII: Ökosystemare Zusammenhänge. Wasser u Boden. 2002b;54(6):37-43.

Steinberg CEW, Höss S, Brüggemann R. Further evidence that humic substances have the potential to modulate the reproduction of the nematode *Caenorhabditis elegans*. Int Rev Hydrobiol. 2002a;87:121-33.

Steinberg CEW, Paul A, Pflugmacher S, Meinelt T, Klöcking R, Wiegand C. Pure humic substances have the potential to act as xenobiotic chemicals - a review. Fres Environ Bull. 2003;12:391-401.

Steinberg CEW, Perminova IV, Haitzer M. Gelöste Huminstoffe - Teil IX: Indirekte Wirkungen auf aquatische Organismen. Wasser u Boden. 2002b;54(10):55-9.

Steinberg CEW, Pflugmacher S, Höss S, Greulich K, Meens N, Hillmeister P, et al. Gelöste Huminstoffe - Teil XI: Direkte Wirkungen von Huminstoffen auf aquatische Tiere. Wasser u Boden. 2002c;54(12):44-9.

Steinberg CEW, Pflugmacher S, Paul A. Gelöste Huminstoffe - Teil X: Direkte Wirkungen von Huminstoffen auf aquatische Pflanzen. Wasser u Boden. 2002d;54(11):44-8.

Stevenson FJ. Humus chemistry. New York: J. Wiley & Sons; 1982.

Stevenson FJ. Humus chemistry - Genesis, Composition, Reactions. 2. Aufl. New York: Wiley Interscience: 1994.

Stöber O. Moor-Schwarzwasser - Eine Moor-balneologische Studie zum Problem des Torf-Brei-Bades. In: Müller-Wegener U, Hrsg. Organische Inhaltsstoffe des Bodens. Göttingen: Cuvillar; 1994. S. 178-92.

Suchy P, Herzig I, Pisarikova B. The use of sorbents on the basis of humic acids to reduce ammonia levels in stable environment. Veterinarni Medicina. 1999;44:331-8.

Tadjerpishesh N. Adsorption von Huminstoffen an Ca-Bentonit. In: Müller-Wegener U, Hrsg. Organische Inhaltsstoffe des Bodens. Göttingen: Cuvillar; 1994. S. 78-87.

Tang G-F. Die Wirkung der Huminsäure in der Behandlung von Augenkrankheiten. In: Plötner G, Weber U, Hrsg. Torf in der Medizin: Vortrag auf dem Symposium der Kommission 6 der Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981 Sept 21-25; Bad Elster. Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981a. S. 256-67

Tang G-F. Klinische Studie über die Behandlung von 33 Patienten mit Augenverletzungen mit Huminsäuren. In: Plötner G, Weber U, Hrsg. Torf in der Medizin: Vortrag auf dem Symposium der Kommission 6 der Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981 Sept 21-25; Bad Elster. Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981b. S. 245-55

Taugner B. Tierexperimentelle Untersuchungen über ein Natriumhumat-Salicylsäure-Bad. Arzneimittelforschung. 1963;13:329-33.

Teichfischer B. Nishigikoi. Ettlingen: Dähne: 1999.

Tetra Germany. TetraAqua ToruMin - Stellt naturidentisches Schwarzwasser her. 2004 (zitiert vom 6. 4. 2004):1 <a href="http://www.tetra.de">http://www.tetra.de</a>.

Tham J, Jansen W, Rahmann H. Effect of humic material on aquatic invertebrates in streams of a raised bog complex. In: Drozd J, Gonet SS, Senesi N, Weber J, Hrsg. The role of humic substances in the ecosystems and in environmental protection: Vortrag 8. Treffen International Humic Substance Society; 1996 Sept 9-14; Wroclaw, Polen. Wroclaw: PTSH - Polish Society of Humic Substances; 1997. S. 929-35.

zitiert nach: Steinberg et al. (2002 d)

Tutsch D, Boss N, Wangerin G, Bertschinger B, Parzhuber S, Striebeck C, et al., Hrsg. Lexikon Medizin. München, Wien: Urban & Schwarzenberg; 1997.

Ünlü C, Mesrogli M, Maas DHA, Ziechmann W. Moorbadtherapie zur Verhinderung intraperitonealer Verwachsungen am Tiermodell der Ratte. Z Phys Med Baln Med Klim. 1988;17:92-100.

Van Ginneken L, Bervoets L, Blust R. Bioavailability of Cd to the common carp, *Cyprinus carpio*, in the presence of humic acid. Aquat Toxicol. 2001;52:13-27.

Van Rensburg CRJ, Dekker J, Weis R, Smith T-L, Janse Van Rensburg E, Schneider J. Investigation of the anti-HIV properties of oxihumate. Chemotherapy. 2002;48:138-43.

Van Rensburg CRJ, Malfeld SCK, Dekker J. Topical application of oxifulvic acid suppresses the cutaneous immune response in mice. Drug Dev Res. 2001;53:29-32.

Van Rensburg CRJ, Van Straten A, Dekker J. An *in vitro* investigation of the antimicrobial activity of oxifulvic acid. J Antimicob Chemother. 2000;46:853-4.

Varanka Z, Rojik I, Varanka I, Nemcsok J, Abraham M. Biochemical and morphological changes in carp (Cyprinus carpio L.) liver following exposure to copper sulfate and tannic acid. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2001;128:467-78.

Varanka Z, Szegletes T, Szegletes Z, Nemcsok J, Abraham M. Relationship between the structure of some humic compounds and their inhibitory effect on carp catalase. Bull Environ Contam Toxicol. 1999;63:751-8.

Visser SA. Effect of humic substances on mitochondrial respiration and oxidativ phosphorylation. Sci Tot Environ. 1987;62:347-54.

Vogel R. Über die Anwendung der Huminsäuren zur Therapie dyspeptischer und diarrhoischer Zustände unserer Haustiere. Tierärztl Umschau. 1956;11:16-9.

Walther H. Klinische Erfahrungen bei der Behandlung der Rheumatoid Arthritis mit Moorpaste. In: Plötner G, Weber U, Hrsg. Torf in der Medizin: Vortrag auf dem Symposium der Kommission 6 der Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981 Sept 21-25; Bad Elster. Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981. S. 358-62

Wedekind H. Wirkungen von Huminstoffen aus natürlichen Substraten auf Fische und Wasserchemie. In: Riehl R, Greven H, Hrsg. Verhalten der Aquarienfische (2). Bornheim: Schmettkamp; 2002. S. 169-74.

Wedemeyer GA, Yasutake WT. Prevention and Treatment of nitrit toxicity in juvenile steelhead trout (Salmo gairdneri). J Fish Res Board Can. 1978;35:822-7.

Wiegleb K, Lange N, Kühnert M. Zur Anwendung des HET-CAM-Testes für die Ermittlung irritativer Effekte von Huminsäuren. Dtsch tierärztl Wochenschr. 1993;100:412-6.

Wildgoose WH, Hrsg. BSAVA Manual of Ornamental Fish. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association; 2001.

Wilson RP, Anderson RO, Bloomfield RA. Ammonia toxicity in selected fishes. Comp Biochem Physiol. 1969;28:107-18.

Witters HE, Van Puymbroeck S, Vangenechten JHD, Vanderborght OLJ. The effect of humic substances on the toxicity of aluminium to adult rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J Fish Biol. 1990;37:43-53.

Woo PTK, Hrsg. Fish Diseases and Disorders - Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections. Cambridge: Cab International; 1995.

Wörle B. Gentoxikologische Untersuchungen an Fischeiern [Dissertation vet. med.]. München: Univ. München; 1995.

Yang HL, Hseu YC, Lu FJ, Tsai HD. Humic acid reduces protein-C-activating cofactor activity of throm-bomodulin of human umbilical vein endothelial cells. Br J Haematol. 1998;101:16-23.

Yang HL, Lu FJ, Wung SL, Chiu HC. Humic-acid induced expression of tissue factor by cultured endothelial-cells-regulation by cytosolic calcium and protein-kinase-C. Thromb Haemost. 1994a;71:325-30.

Yang HL, Tu SC, Lu FJ, Chiu HC. Plasma-protein-C activity is enhaced by arsenic but inhibited by fluorescent humic-acid associated with blackfoot-disease. Am J Hematol. 1994b;46:264-9.

Yasar S, Gokcimen A, Altunas I, Yonden Z, Petekkaya E. Performance and ileal histomorpholoy of rats treated with humic acid preparations. J Anim Physiol Anim Nutr. 2002;86:257-64.

Yöruk MA, Gül M, Hayirli A, Macit M. The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. Poult Sci. 2004;83(1):84-8.

Yu HS, Chang KL, Kao YH, Yu CL, Chen GS, Chang CH, et al. In vitro cytotoxicity of IgG antibodies on vascular endothelial cells from patients with endemic peripheral vascular disease in Taiwan. Atheroscler. 1998;137:141-7.

Ziechmann W. Huminstoffe - Probleme, Methoden, Ergebnisse. Weinheim: Verlag Chemie; 1980.

Ziechmann W. Abschlußbericht zum Forschungsvorhaben Schlickinhaltsstoffe, Moorinhaltsstoffe, Wirkungsmechanismen und Therapie. In: Wilhelm H, Meyer M, Hrsg. Medizinische Forschungsergebnisse. Band 12. Braunschweig: Norddeutsches Institut für Fremdenverkehrs- und Heilbäderforschung; 1993. S. 67-102.

Ziechmann W. Humic substances: A Study about their Theory and Reality. Mannheim, Leipzig: Bl-Wissenschaftsverlag; 1994.

Ziechmann W. Huminstoffe und ihre Wirkungen. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag; 1996.

Zimmermann H. Reproduktionstoxikologische Grundlagenuntersuchungen an adulten Böcken des Rattenstammes WIST/Lppt mit Huminsäure und Furazolidon allein und in Kombination [Dissertation]. Leipzig: Universität; 1991.

Zitko P, Carson WV, Carson WG. Prediction of incipient lethal levels of copper to juvenile Atlantic salmon in the presence of humic acid by cupric electrode. Bull Environ Contam Toxicol. 1973;10:265-71.

Zsunshuj V, Tschen P, Njanzy L, Sjaona T. Untersuchungen des antiphlogistischen Effekts von Huminsäuren. In: Plötner G, Weber U, Hrsg. Torf in der Medizin: Vortrag auf dem Symposium der Kommission 6 der Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981 Sept 21-25; Bad Elster. Internation. Moor- u. Torfgesellsch.; 1981. S. 268-85

### 9 ANHANG

### 9.1 Hälterung mit Huminstoff-Bädern I (Versuch B I)

Tab. A-1: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 1): Verlauf der Wassertemperatur (°C) bis zum vierten Tag in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch B I.

Ten	mperatur (°C)  VG KG  10,5 10,5													
Tag	VG	KG												
1	10,5	10,5												
2	10,5	10,5												
3	11,0	11,0												
4	11,0	11,0												

Tab. A-2: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 2) am ersten und vierten Tag in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch B I.

	Tag	02	рН	NH <sub>4</sub> +	ΝН₃	$NO_2$	HNO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> <sup>2</sup> -	SBV	GH
VG	1	8	8	0,1	0,002	0	0	50	8,0	7,9
	4	7,5	8	0	0	0,1	3.10-6	50	8,0	7,9
KG	1	8	8	0	0	0	0	50	8,0	7,9
	4	7,5	8	0,1	0,002	0,1	3.10-6	50	8,0	7,9

Gehalte an Sauerstoff, Ammonium, Ammoniak (berechnet), Nitrit, salpetriger Säure (berechnet) und Nitrat in mg  $L^{-1}$ , der pH-Wert, das Säurebindungsvermögen (SBV) und die Gesamthärte (GH) in mmol  $L^{-1}$ .

## 9.2 Hälterung mit Huminstoff-Bädern II (Versuch B II)

Tab. A-3: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 1) bis zum zwölften Tag in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch B II.

Tag		VG			KG	
	T (°C)	0 <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	<b>SAT</b> (%)	T(°C)	0 <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	<b>SAT</b> (%)
1	17,8-17,9	7,1-9,1	77-99	17,8	8,7	94
2	18,0	6,7-7,9	63-86	17,9	7,6	82
3	17,7-18,2	6,9-8,3	76-89	17,7	7,3	78
4	18,8-19,1	6,6-8,9	73-97	19,1	9,3	102
5	20,3-21,1	5,9-8,4	77-96	21,5	8,1	94
6	20,4-21,1	3,9-7,1	45-80	20,8	7,1	84
7	19,8-20,1	5,5-9,0	62-100	19,6	8,8	99
8	18,8-20,6	5,3-9,6	61-109	19,5	9,9	110
9	21,7-22,7	5,9-9,2	70-106	20,6	6,3	72
10	19,9-21,7	4,8-8,0	56-90	22,1	8,2	96
11	22,1-22,8	4,7-8,0	55-94	22,6	7,8	93
12	19,8-20,5	5,5-8,4	62-94	20,6	7,2	81

Verlauf der Wassertemperatur (T in  $^{\circ}$ C), des Sauerstoffgehalts (mg L $^{1}$ ) und der Sauerstoffsättigung (SAT in %). Sauerstoffabfälle und Temperaturanstiege in der Versuchsgruppe bedingt durch die Unterbindung des Wasserzuflusses während der HS-Behandlung (Minimalwerte der Sauerstoffmessungen bei Behandlungsende).

Tab. A-4: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 2) in jedem der drei Versuchsabschnitte in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch B II.

	Tag	T (°C)	рН	NH <sub>4</sub> +	NH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub> -	HNO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> 2-	SBV	GH
VG	2	18,0	8	0,2	0,007	0,3	8.10-6	25	7,6	3,4
	8	18,8	7,5	0,8	0,01	0,25	<b>2·10</b> -6	30	6,9	3,3
		-20,6	-8,5		-0,09		<b>-2·10</b> <sup>-5</sup>			
	11	22,1	8≤x<9	0,8	0,04≤x	0,2	<b>5</b> ·10 <sup>-7</sup> ≤	30	6,5	3,3
		-22,8			<0,25		x<510 <sup>6</sup>			
KG	2	17,9	8	0,2	0,007	0,3	8.10-6	25	7,6	3,4
	8	20,5	8,5	0,8	0,09	0,25	2.10-6	30	7,0	3,4
	11	22,6	8,5 <x<9< td=""><td>0,8</td><td>0,<b>11</b><x< td=""><td>0,2</td><td>5·10<sup>-7</sup>&lt;</td><td>30</td><td>6,5</td><td>3,3</td></x<></td></x<9<>	0,8	0, <b>11</b> <x< td=""><td>0,2</td><td>5·10<sup>-7</sup>&lt;</td><td>30</td><td>6,5</td><td>3,3</td></x<>	0,2	5·10 <sup>-7</sup> <	30	6,5	3,3
					<0,26		x<1.10 <sup>6</sup>			

pH-Wert: Messwert x im Ableseintervall von 0,5 Einheiten; in der Versuchsgruppe Minimalwerte bei Behandlungsende. Intervalle von  $NH_3$  und  $HNO_2$  ergeben sich aus pH-Wert-Abhängigkeit, s. auch Tab. 5 . Sonstige Erläuterungen s. Tab. A-2.

Tab. A-5: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 3): Verlauf des Sauerstoffgehalts (mg L-1) und der Sauerstoff sättigung (%) während der HS-Exposition am siebenten Tag in der Versuchsgruppe in Versuch B II.

VG			C	)2	SA	<b>Δ</b> Τ
Tag	Zeit	T(°C)	Mess-	Abfall	Mess-	Abfall
	(min)		wert	insges.	wert	insges.
7	0	19,8	9,0	3,5	100	38
	30	19,9	8,2		92	
	120	20,1	5,5		62	
8	0	20,3	9,6	4,3	109	48
	70	20,5	7,1		81	
	120	20,6	5,3		61	

Zeit in Minuten nach der HS-Exposition (Zeitpunkt 0 vor HS-Zugabe). Sonstige Erläuterungen s. Tab. A-3.

Tab. A-6: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 4): Verlauf des pH-Wertes (Doppelmessungen) während der HS-Exposition am achten und neunten Tag in der Versuchsgruppe in Versuch B II.

VG	рН	-Wert	
Tag	Zeit	Messwert	Abfall
	(min)		insges.
8	0	8,5	1
	15	8 <x<8,5< td=""><td></td></x<8,5<>	
	30	8 <x<8,5< td=""><td></td></x<8,5<>	
	60	8 <x<8,5< td=""><td></td></x<8,5<>	
	120	7,5	
9	0	8,5 <x<9< td=""><td>&lt;1</td></x<9<>	<1
	15	8,5 <x<9< td=""><td></td></x<9<>	
	30	8,5 <x<9< td=""><td></td></x<9<>	
	60	8,5	
	90	8	

Erläuterungen s. Tab. A-4.

Tab. A-7: Beispiel für die pH-Wert- und Temperatur-Abhängigkeit der Umwandlung von unschädlichem Ammonium in fischtoxisches Ammoniak (mg L¹) am elften Tag bei einem pH-Wert von 8≤x<9 (Maximum) während der Behandlung in der Versuchsgruppe in Versuch B II.

VG			
Tag	рН	T(°C)	NНз
11	9,0	22,1	0,252
	8,8	22,1	0,180
	8,4	22,4	0,085
	8,0	22,8	0,037

Der NH<sub>3</sub>-Wert für pH=9,0 ist nur theoretisch, da gemessener pH<9. Der NH<sub>3</sub>-Gehalt ist proportional zu pH-Wert und Temperatur, wobei der pH-Wert einen größeren Einfluss als die Temperatur besitzt, wie auch aus der Tabelle ersichtlich ist.

### 9.2.1 Pathologisch anatomische Untersuchung bis zum achten Tag

Tab. A-8: Reihenfolge der untersuchten verendeten bzw. moribunden Goldfische bis zum achten Tag in der Versuchsgruppe in Versuch B II (Urdatenliste).

Fisch Nr.	1	2	3	4	5	6
Tag	3	4	6	8	8	8
Zustand	verendet	verendet	moribund	verendet	moribund	moribund

Reihenfolge entspricht der Fisch-Nr., Untersuchungstag (Tag) und Zustand zum Untersuchungszeitpunkt: verendet bzw. moribund. Diese Goldfische sind in untenstehender Tab. mit der gleichen Fisch-Nr. (Fi. Nr.) aufgelistet; die übrigen Fische der Gruppe standen der Untersuchung am achten Tag lebend zur Verfügung.

Tab. A-9: Pathologisch anatomische Haut-, Flossen- und Kiemenbefunde aller Goldfische bis zum achten Tag in der Versuchsgruppe (N=100) in Versuch B II (Urdatenliste).

						ŀ	Haι	ıt														Flo	sse	n																Kie	eme	n								
Fi.	Ge	sch	wür	Arro	sions	Dia	aped	lese	G	efä	ß-	Му	/ko	se	R	and	-	Arro	sion	s-D	iape	dese	G	efä	iß-	Tri	übu	ıng	My	/ko	se	Ne	kros	se	Sc	hwel	- R	ötu	ng	Blu	utun	g A	ınä	mie	S	chlei	im-	Му	kose	<u> </u>
Nr.				blu	tung	bl	utu	ng	sta	auu	ng				ne	kros	se	blu	tun	g b	lut	ung	st	auı	ıng										lı	ung									SE	ekret	ion			
	g	m	h	g	m h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	gι	m ł	۱ [8	s n	n h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	യ	m	h	g	m h	g	m	h	g	m l	h g	gn	n h	g	m	h	g	m h	
1	0	0	0	0	0 0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0	) (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	
2	1	0	0	0	0 0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0 (	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	1	0 0	
3	0	0	1	0	1 0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0 (	) (	) (	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	
4	0	0	1	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	-
5	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0	0	0	1	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	
6	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 1	LC	0	0	0	0	0	0 0	
7	0	1	0	0	1 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	
8	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	
9	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) 1	LC	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	1
10	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	
11	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 (	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	) (	0	0	0	0	0	0 0	Ī
12	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0 0	Ī
13	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 1	L	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0	0	0	0	0	0 0	
14	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0	0	0	0	0	0 0	

### <

For	set	zun	g Ta	ab.	<b>A-9</b> :																																											
15	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
16	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
17	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
18	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
19	1	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
20	1	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
21	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
22	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	) 0	0	0	0 0	0
23	0	0	0	0	0	0 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
24	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
25	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
26	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (		_	0		0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
27	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
28	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
29	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
30	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0		-	0 0	0	0	0	0 0	0
31	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0			0	0	0	_			_	) (		0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	_	0	0	0 0	0
32	1	0	0	0	0	0 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0				0	0	0	0	0	0	_	) (		0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
33	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	_	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
34	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	_	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
35	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	_	0	0				0		_			_	) (		_		0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
36	0	0	0	0	0	0 0		0	0	0	0							) (		0		0				0			0		_	) (		+		-+	0 0	0	0				0 0	0	0	0	0 0	0
37	0	0	0	0	0	0 0		0	0	0		0			1		0 (	) (		0						0		_	0			) (		+			0 0		+		_		0 0	0	0	0	0 0	0
38	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0		_	) (		_	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
39	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	_	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
40	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	_		0	0 (	) (	0	0	0	0	0		0			-			0 (	) (		_		_	0 0		4	0	_	0 (	0 0	_	0	0	0 0	0
41	0	0	0	0	0	0 0		0	0	0	0		0			0		) (	0	0			0					-				) (		_			0 0		_	0			0 0	_		0	0 0	0
42	0	0	0	0	0	0 0		0	0	0	0						-+	) (	0	0		0	0		0			-				) (		+		-	0 0		_	0		_	0 0			0	0 0	0
43	0	0	0	0	0	0 0	0	0	1		0	0	0	_		0	-+	) (	0	+	0	0			_	0			0			) (				-+	0 1		_		0		0 0	_		0	0 0	0
44	0	_		0	_	0 0		0	0	0	0	_		-+	_		-+	) (		+	0				_						_	) (		+			0 0		+	0			0 0			0	0 0	_
45	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0

### Fortsetzung Tab. A-9:

			6		. • .																																										
46	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	1	0	0	0	0	0 0	) (	) 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
47	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
48	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
49	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
50	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
51	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
52	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
53	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
54	0	0	0	0	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
55	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
56	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
57	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	1	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
58	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
59	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
60	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
61	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
62	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
63	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
64	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
65	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 0
66	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
67	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
68	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 0
69	1	0	0	0	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	) (	1	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	) (	0	0 0
70	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0 (	0 0	0	0 0
71	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0 (	0 0	0	0 0
72	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0 (	) (	1	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0 (	0	) 0	0 0
73	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0 (	0	0	0 0
74	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0 (	0	0	0 0
75	0	0	0	0	0 (	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0 (	0	0	0 0
76	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0 (	) (	0	0 0

### Fortsetzung Tab. A-9:

77	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
78	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
79	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
80	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
81	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
82	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
83	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
84	0	0	0	1	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 1	L 1	L O	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 (	) 1	<b>L</b> 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
85	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
86	0	0	0	0	1 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	O C	0	0	0	0 0	0 (
87	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 (
88	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	O C	0	0	0	0 0	0 (
89	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	O C	0	0	0	0 0	0 (
90	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) 1	L O	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	O C	0	0	0	0 0	0 (
91	0	0	0	0	<b>1</b> 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	O C	0	0	0	0 0	0 (
92	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 (
93	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	O C	0	0	0	0 0	0 (
94	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 (
95	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 (
96	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	) (	1	. 0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0 (	0 (	) 1	<b>L</b> 0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
97	0	1	0	0	<b>1</b> 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) 1	L O	0	0	1		0	1	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 (
98	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
99	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0
100	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0 0	0 (
Σ	5	2	2	1	5 0	5	2	0	1	2	0	3	0	1	7 !	5 2	2 5	5 1	. 1	1	1	0	16	8	0	6	0	0	1 (	0 (	) 5	5 4	0	0	0	0	0 1	. 0	1	0	0	1 (	<b>O</b> C	0	0	0	1 0	0 (

Erläuterung: Prävalenz von geschwürigen Veränderungen (Geschwür), Arrosionsblutungen, Diapedeseblutungen, Gefäßstauungen, Flossenrandnekrosen (Randnekrose), Kiemennekrosen (Nekrose) und vermehrter Schleimsekretion (Schleimsekretion).

Auftreten von geringgradigen (g), mittelgradigen (m) und hochgradigen (h) Veränderungen. Das Vorhandensein des Merkmals ist mit "1" und das Nichtvorhandensein mit "0" gekennzeichnet. Summe der Fische ( $\Sigma$ ) mit den einzelnen graduell bewerteten Veränderungen.

Tab. A-10: Reihenfolge der untersuchten Goldfische bis zum achten Tag in der Kontrollgruppe in Versuch B II (Urdatenliste).

Fisch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Tag	3	3	4	4	5	5	6	7	7
Zustand	verendet	verendet	verendet	moribund	verendet	verendet	moribund	moribund	verendet

Erläuterungen s. Tab. A-8.

Tab. A-11: Pathologisch anatomische Haut-, Flossen- und Kiemenbefunde aller Goldfische bis zum achten Tag in der Kontrollgruppe (N=100) in Versuch B II (Urdatenliste).

					Н	aut														F	los	ser	1															Ki	eme	n							
Fi.	Gesc	ions-	Diap	oedes	æ	Get	fäß	- N	Луk	(os	е	Ra	nd-	Ar	rosi	ons	Dia	aped	œ	Ge	efäí	3-	Trül	bur	gľ	Иyŀ	(OS	e N	Nek	rose	S	chwe	: -   F	₹öt	ung	BI	utun	g A	näi	nie	S	chlei	m-	Му	kose		
Nr.			bluti	ıng	blu	ıtun	g	stau	uun	g			n	ekı	rose	bl	utu	ng	bl	utu	ng	sta	uui	ng										lung									se	kreti	ion		
	g n	n h	g m	ı h	g	m l	h {	g r	n I	h {	g n	n I	h g	g n	n h	g	m	h	g	m	h	gg	m	h	g r	m	h į	g r	n ł	۱ [	g n	n h	g	m	h g	g n	n h	g	m l	۱ [8	s m	n h	g	m	h	g	m h
1	0 0	0 (	0 0	0	0	1 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) :	1 (	0 1	L (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
2	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 0	) (	) (	0 1	L (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 :	1 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
3	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 0	) (	) :	1 1	L (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 1	L (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0	0 (	0	0	0	0	0	0 0
4	0 1	0	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) :	1 (	) (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 1	L (	0 (	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0 (	) (	1	. 0	0	0	0	0	0 1
5	0 1	. 0	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) :	1 (	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 (	0 :	1 (	) (	0 (	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
6	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 0	) :	1 (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
7	0 0	0 (	<b>1</b> 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) :	1 (	) (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) :	1 (	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	1 (	) (	1	. 0	0	0	0	0	0 0
8	0 0	1	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 0	) (	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 :	1 (	) (	0 (	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	1	0 0
9	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 0	) (	) (	0 0	) 1	L 0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 1	L (	0 (	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	1	0	0	0	0 0
10	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
11	1 (	0 (	0 0	0	1	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) (	0 (	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
12	0 0	0 (	0 1	. 0	1	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 (	) (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
13	0 0	0 (	0 0	0	1	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 1	L (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) (	0 1	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
14	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
15	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
16	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0 (	0 (	0 (	) (	) (	0 0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
<b>17</b>	0 0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 :	1 (	0 (	0 (	) (	) (	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0

### Fortsetzung Tab. A-11:

. •.			<b>5</b> - •		_																																									
18	0	0	0	1 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 :	<b>L</b> 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	1	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	)
19	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
20	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
21	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
22	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	1	0 (	0 0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 (	)
23	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 (	)
24	0	0	_								_		_						_					_			_				0 0	+													0 (	)
								_			_		_											_			_				0 0	_					_		_					_		_
26	1		_								+		_						1					_			_			1	0 0	_					-							-		-
27	_										_		_			_			_					_			_			_	0 0													_		_
28	-		_										_			-			+					-+			_			+	0 0	+														_
	_	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
-	+		_										_			-			+					-+			_			+	0 0	+														_
31	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	1 (	0 0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 0	0	0 (	)
	_	0	0	0 0	0	1	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
33	_							-			+					-			+		_			_			_			-	0 0	_		_			_							_		_
34	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
35	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	1	0 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
36	0	0	0	0 0	0	0	0	0 1	<b>L</b> (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
37	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	1 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
38	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	1	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
39	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0	0 0	)
40	0	0	0	0 0	0	1	0	0 1	L C	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 0	0	0 (	)
41	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0	0 0	)
42	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 (	0	0 0	)
43	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	1 0	0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	)
44	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 (	0	0 (	)
45	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0	0 0	0	0	1	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 (	0	0 (	)
46	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	1 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	1 0	0	0	0	0 (	) 0	0	0 (	0 0	0	0	0 (	0 (	0	0 (	)
47	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 (	0	0 (	)
48	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0 (	0 0	0 (	0	0 (	0 (	0	0 0	)

### ×

Fort	set	zun	g Ta	ab. A	4-11:	:																																										
49	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	1	. (	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 0
50	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	) ()
51	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
52	0	0	0	0	0	0 1	L O	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	1	. (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 0
53	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
54	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) :	1 (	0 0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 0
55	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 (
56	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	) ()
57	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	) ()
58	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 (
59	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	) :	1 (	0 (	0	) (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	) C	0	0	0	0 0	) ()
60	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	1	. (	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 0
61	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 0
62	0	0	0	0	0	0 1	L 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	1	. 0	-				0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 :	1 0	0	0	0	0 0	) ()
63	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0		0	0	0	0			0 (	) (	) (	0 (	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	) ()
64	0	0	0	0	0	0 0	0 (	0	0	0	0	0			0		_	0		_			_			_	0	_	0		_		0 0	_		0	0 0		+		0	0 (	) C	0	0	0	0 0	0 (
65	0		0	_		0 0			0			0			1			1		_			_		0 (	_		_	0					_		0			0		0		0 0			0	0 0	) 0
66	0	0	0	0	0	_		0	+			-	0		0		_			_			_			+		_						_		_	0 0		+		0	0 (	0 0			0	0 0	0 0
67	0	0	0	0	0	0 0		0	+	0	0	_			0			0		_	) (		_	) (		_			0		_	0 (					0 0	0	+		0	0 (	0 0	_		0	0 0	0 (
68	1	0		0	0	0 0			+						0		_	0		_	) (		_	0		_		_	0		_	0 :		0		_	0 0		+				0 0			0	0 0	0 0
69	0	0	0	0	0	0 0			_		0	-			0		_	0					+-			+		_	0				0 (	_			0 0		+				0 0			0	0 0	) 0
70	0	0	0	0		_	L 0		_			-			0			0		_	1 (		_		0 (	_			0			0 (				-+	0 0		+		0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 0
71	0	0		0	0	_	0 (		+		0	-			0		_		0 (				+-		0 (	+		_						_		_	0 0		+		0			0		0	0 0	0 0
72	0		0	-		0 0			_				0					0					+-		0	+		_						_	0				4		0		0 0				0 0	) 0
73	0	0	0	0	0	0 1			Ť											_	) (		_	0		_			0		_	0 (		0		-+	0 0		0				0 0	_		0	0 0	) 0
74	0	0		0	0	_	0 (	0	+	0		-			0			0					+-		0 (	+		_					0 (	_			0 0		+			0 (				0	0 0	0 0
75	0			0	_	0 0			_			0			0		_	0				0 (	+-			+		_	0			0 (		_		_	0 0		0		0			0		0	0 0	) 0
76	0	_		0		0 0		_	+=			-	0		0			0		-	) :		-		0 (	_											0 0		+		0							0 0
77	0		0	_	0	_	0 (		+		0	-	0										+-		0 (	+		_					0 (	_		_	0 0		+		_				0		_	0 0
78	1	0	_	-			L O		Ť			0			0			0			) (		+-	. 0		0			0		_	0 (		0		0			0		0			0		_		0 0
79	0	0	0	0	0	0 1	L 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	) (	) :	1 0	1	. (	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 0	0 0

### $\succeq$

For	set	zun	g Ta	b. A	<b>\-11</b> :																																												
80	1	0	0	0	0 (	0 0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	) (	0	1	. 0	0 (	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0	0 0	0 (
81	0	0	0	0	0 (	0 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0	0	0	0	0 0	0
82	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 (	) 1	. 0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0 (
83	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	) 1	. 0	0	0	0	C	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	) (	0	0	0	0	0 0	0 (
84	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	1	. 0	1	О	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0	0	0	0	0 0	0 (
85	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 (	0	1	. 0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	) (	0	0	0	0	0 0	0 (
86	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0	0 0	0
87	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0	0	0	0 0	0 (
88	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0	0 0	0 (
89	0	1	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	) (	0	0	0	0	0 0	0 (
90	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 (	0	1	. 0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 0	0
91	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0	0 0	0
92	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 :	L O	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0 0	0 (
93	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 :	L O	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0	0 0	0
94	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 :	L O	0	0	0	0	C	0 (	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 0	0
95	0	0	1	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 (	0 (	0	0	1	0	C	0 (	0	0	0	0	0	0	0 :	1 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	) (	0	0	0	0	0 0	0
96	0	0	1	1	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	1	. 0	0	0	0	0 0	0 (
97	0	1	0	0	1 (	0 1	. 0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	1	0	C	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 0	0
98	0	0	1	0	1 (	0 0	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	) (	0	0	0	0	0 0	0
99	0	0	1	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 0	0	1	. 0	1	. 0	0 (	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0 0	0 (
100	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0
Σ	4	5	5	3	3 (	0 16	6 3	0	6	0	0	2	3	3	14	11	6	3 3	3 2	1	1 7	2	17	7 4	10	4	0	0	2	2	3 :	11 1	11 (	) (	0 0	0	0	0	0	0	1 (	0 0	) 4	- 0	1	0	0	1 (	1

Erläuterungen s. Tab. A-9.

# ≚

### 9.2.2 Pathologisch anatomische Untersuchung bis zum zwölften Tag

Tab: A-12: Reihenfolge der untersuchten verendeten bzw. moribunden Goldfische bis zum zwölften Tag in der Versuchsgruppe in Versuch B II (Urdatenliste).

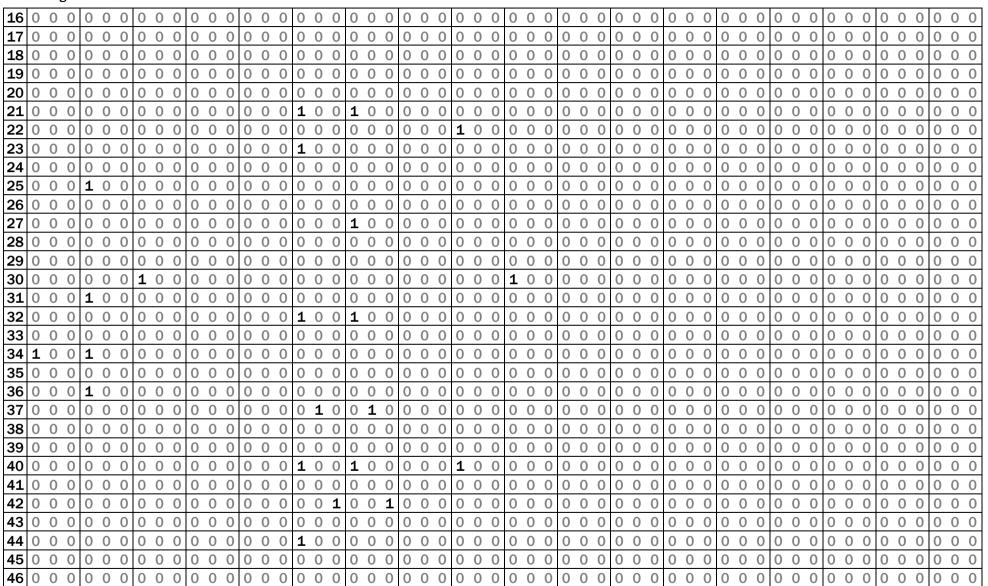
Fisch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Tag	3	4	6	8	8	8	11	12
Zustand	verendet	verendet	moribund	verendet	moribund	moribund	moribund	moribund

Erläuterungen s. Tab. A-8.

Tab. A-13: Pathologisch anatomische Haut-, Flossen- und Kiemenbefunde aller Goldfische bis zum zwölften Tag in der Versuchsgruppe (N=100) in Versuch B II (Urdatenliste).

						H	lau	t													F	los	sse	n																Ki	eme	n							
Fi	. G	esch	wür	An	osions-	Dia	pede	æ	Ge	fäß	3-  1	My	kos	se	Ra	and-	Α	rros	ions	Dia	aped	lesse	G	efä	ß-	Trü	ibu	ng	Му	/ko	se	Ne	kros	se	Scl	hwe	- R	ötu	ıng	Bli	utun	g A	när	nie	Sc	chlei	m-	Му	kose
N	٠.			bl	utung	blu	utur	ng	sta	uur	ng			ı	nel	ros	e b	luti	ıng	bl	utu	ng	st	auu	ng										lı	ıng									se	kreti	on		
	٤	s m	ı h	g	m h	g	m	h	g	m	h .	g ı	m	h	g	m ł	ו פ	m	ı h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m l	n g	m	h	g	m ł	ı g	m	h	g	m	h	g	m h
1	. (	0 (	0	0	0 0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
2	1	L 0	0	0	0 0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0 :	L C	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	1	0 0
3	(	0	1	0	1 0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1 (	) (	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
4	(	0	1	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
5	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 0	0	0	1	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
6	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) 1	. 0	0	0	0	0	0	0 0
7	C	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
8	0	0	0	0	0 0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	) 1	. 0	0	0	0	0	0	0 0
9	C	0 (	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
10	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
1:	L	0 (	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
12	2 (	0 (	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
13	3	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
14	1 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
1	5 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0

#### Fortsetzung Tab. A-13:



### Fortsetzung Tab. A-13:

			<b>5</b> - •-																																										
47	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0 (	0 0
48	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0 (	0 0
	-																										_			_	0 0														
_	_					+		_			-					_					_			_			_			-	0 0	_		_					_						
	_					-					_		_			_			_		_			_						1	0 0	_							+						
-	_		_			+					+		_			_			_		_			-+						+	0 0	+													
	_					-					_		_			_			_		_			_						1	0 0	_							+						
	_					-		_			_		_			_			_		_			_						1	0 0	_							+						
	_					+		_			+					_					_			_						+	0 0	+		_					+				-		
	-					+		_			_		_			_			_					_							0 0	_				_									
	-																										_			_	0 0														
	_					+		_			+					_					_			_						+	0 0	+		_					+				-		
-	_										+					_								_							0 0														
	_					-					_		_			_			_		_			_						1	0 0	_							+						
	-					1					+		_			_			_		-+			_						<del>                                     </del>	0 0	+		_					-		-		-		
-	_		_			+					+		_			_			_		_			-+						+	0 0	+													
63	_		_			+					+		_			_			_		_			-+						+	0 0	+													
_	_					+		_			-					_					_			_			_			-	0 0	_		_					_						
-	_										+					_								_							0 0														
	_					-					_		_			_			_		_			_						1		_							+						
-	_										+					_								_							0 0														
																_											_				0 0								_						
	_					-					_		_			_			_		_			_						1		_							+						
	_					-					_		_			_			_		_			_						1	0 0	_							+						
-	_										+					_								_							0 0														
-	-					-		_			+					_			_		-			_						+	0 0	_		_					_		_				
	_										_																_			_	0 0														
-	-					-		_			+					_			_		-			_						+	0 0	_		_					_		_				
-	-					-		_			+					_			_		-			_						+	0 0	_		_					_		_				
_						_					_					_			_		_			_			_				0 0	_		_					_						
	_					+		_			_		_			_			_					_							0 0	_				_									
77	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0	0	0 0	0	0 (	) ()

### Fortsetzung Tab. A-13:

78	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0 0
79	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0 0
80	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0 0
81	. 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
82	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	1	L (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
83	0	0	0	1	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
84	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) 1	L (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
85	1	. 0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) 1	L (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
86	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) 1	L (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
87	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) 1	L (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
88	0	0	1	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
89	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0
90	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0 0
91	. 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
92	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
93	0	0	0	1	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
94	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) 1	L (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
95	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0 0
96	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0 0
97	0	0	0	0	0 (	0 0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 (	) (	) (	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
98	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	) (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 0
99	0	0	0	0	0 (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	O C	) 1	L (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
100	_	0	0	0	0 (	<b>1</b>	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 0	(	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0 0
$\sum$	5	2	3	7	3 (	) 6	3	2	1	0	0	4	0	1	15	3	3	6	2 :	L (	) (	) 1	. 1	5 (	0 (	5	0	0	2	0	0	1	2 (	0 (	0 0	0	0	0	0	1	0 (	) 2	2 0	0	0	0	0	1	0 0

Erläuterungen s. Tab. A-9.

<u>×</u>

Tab. A-14: Reihenfolge der untersuchten verendeten bzw. moribunden Goldfische bis zum zwölften Tag in der Kontrollgruppe in Versuch B II (Urdatenliste).

Fisch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8
Tag	3	3	4	4	5	5	6	7
Zustand	verendet	verendet	verendet	moribund	verendet	verendet	moribund	moribund
Fisch Nr.	9	10	11	12	13	14	15	16
Tag	7	9	9	10	10	11	11	12
Zustand	verendet	moribund	moribund	moribund	moribund	moribund	verendet	moribund

Erläuterungen s. Tab. A-8.

Tab. A-15: Pathologisch anatomische Haut-, Flossen- und Kiemenbefunde aller Goldfische bis zum zwölften Tag in der Kontrollgruppe (N=100) in Versuch B II (Urdatenliste).

						ŀ	-lau	t														F	los	sei	1																Kie	mei	1							
Fi.	Ge	eschw	vür	Arro	osions	Dia	apeda	æ	Ge	efäß	3-	Му	kos	se	R	anc	<b>1</b> -	Am	osio	ns-	Dia	peck	æ	Ge	efäß	-  1	Γrük	oun	g N	lyk	ose	N	ekr	ose	S	chw	el-	Rö	tur	ıg	Blu	tun	ξA	näı	nie	So	chlei	m-	Myl	kose
Nr				blu	tung	bl	utur	ng	sta	uur	ng				nel	<ros< th=""><th>se</th><th>blι</th><th>ıtuı</th><th>ng</th><th>blι</th><th>ıtuı</th><th>ng</th><th>sta</th><th>uun</th><th>g</th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th>lung</th><th>g</th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th>se</th><th>ekret</th><th>ion</th><th></th><th></th></ros<>	se	blι	ıtuı	ng	blι	ıtuı	ng	sta	uun	g										lung	g									se	ekret	ion		
	g	m	h	g	m h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m l	h	g r	n h	ı g	m	ı h	g	m	h	g	m	h	Ø	m	h	g	m h	g	m	ı h	g	m	h	g ı	m h
1	0	0	0	0	0 0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 0	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 0
2	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	1 (	) (	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 0
3	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 0
4	0	1	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	) (	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	1	. 0	0	0	0	0	0 1
5	0	1	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	)	1 (	0 0	0	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 0
6	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	)	1 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 0
7	0	0	0	1	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	) (	0	0	0	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0	1	. 0	0	0	0	0	0 0
8	0	0	1	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 0	0	1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	1	0 0
9	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	1	0	0	0	0 0
10	0	1	0	1	0 0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 0
11	. 0	0	1	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	1	. 0	0	0	0	0	0	0 0
12	0	0	1	1	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 1
13	0	0	0	0	0 1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	) (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	1	. 0	0	0	0	0	1	0 0
14	0	0	0	1	0 0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) C	0 (	) (	1	. 0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0 0	1	. 0	0	0	0	0	0	0 0

# ×

Fort	setz	ung	ξTa	b. A	-15:																																												
15	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 1	<b>L</b> 0	1	0	0	0 (	0 0	1	. 0	0	0	1 (	0 (	0 0	0
16	0	0	1	0	0	0 0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	1 (	) [	1 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	1 (	0 (	0	1	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
17	0	0	0	1	0	0 1	. 0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	0	0	1 (	) [	1 (	0 0	0	0	0	0	0	0	1	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	1	0 (	0 0	0 0	0
18	0	0	0	0	0	0 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1 (	0	0	1 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	1	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
19	0	1	0	0	0	0 1	. 0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 :	1	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	1	0	0	0 (	0 0	0 0	0
20	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 1	<b>L</b> 0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
21	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	1 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
22	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	1 (	0 (	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
23	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
24	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	0 :	1	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
25	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0	0 (	0 (	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
26	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
27	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	1	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
28	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	1 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
29	1	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
30	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0	1	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	1	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
31	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	1	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
32	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	1	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
33	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (		0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
34	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
35	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0			0	0	0 (	0 0	0 0	0
36	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (		0 (	0 (	0	0		0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
37	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
38	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
39	0	0	1	0	1	0 0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0 (	0	0	0 0	) [	1 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	1 (	0 (	0	0	1 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
40	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
41	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
42	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 (	0 0	0
43	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 0	1	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
44	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0 (	0 1	1 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 0	0
45	0	0	1	0	1	0 0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0 (	0	0	0 0	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	1	0 (	0	0 (	0 (	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	1	0 (	0 (	0 0	0

# X

For	set	zun	g Ta	b. A	<b>\-1</b> 5:																																											
46	0	0	0	0	0	0 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
47	0	0	1	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
48	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0 0
49	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 :	<b>L</b> 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
50	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
51	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
52	1	0	0	0	0	0 1	. 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
53	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
54	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
55	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0 0
56	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
57	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
58	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
59	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
60	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
61	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0 0
62	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
63	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
64	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
65	0	0	0	1	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			0 (	0 (	0			0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
66	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0 (	0 0
67	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
68	0	0	0	1	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0			0 0	0	0	0 0
69	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
70	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0 0
71	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0				0				0			0 (		0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
72	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0		0 0		0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
73	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
74	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0
75	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0 :	<b>L</b> 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0 0
76	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	0 (	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	0 0	0 0	0	0	0 0

# ×

Fort	setz	zun	g Ta	b. A	-15:																																												
77	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0 (	) (	) (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
78	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0
79	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) :	<b>L</b> (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
80	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0
81	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
82	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0
83	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0 (	0
84	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0 (	) (	) (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
85	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0	) (	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
86	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
87	0	0	0	0	0 (	0 0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
88	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
89	0	1	0	0	1 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
90	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
91	1	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
92	2	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
93	3	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
94	4	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	1	0	0	0	0 (	0 1	L 0	0
95	0	1	0	0	0 (	0 0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
96	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
97	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
98	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
99	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0	0	0	0		-	0 0	0	0
100	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (	) (	) (	0 (	_		0	0	0	0	0	0	0	0	0 0	0	0	0	0	0	0 (	) (	0 (	0	0	0	0	0 (	0 0	0	0
$\sum$	2	6	7	7	3 :	1 7	1	2	4	0	0	2	6	5	31	10	6	16	7 :	1 6	3	3 0	9	0	0	7	0	0	3	2	3	8	3 2	4	. 2	1	1	1	2 (	) 1	L 0	5	3	0	3	1 (	0 3	3 0	2

Erläuterungen s. Tab. A-9.

### 9.2.3 Parasitologische Untersuchung

Tab. A-16: Befall mit Ektoparasiten der verendeten (n=3) und moribunden Goldfische (n=5) bis zum zwölften Tag in der Versuchsgruppe in Versuch B II (Urdatenliste).

Zustand	Fi.	Tag									На	ut															K	ieme	en						
	Nr.		Icht	hyob	odo	Chil	odor	ella	Ichth	yopht	hirius	Tri	chod	ina	Gyro	odact	ylus	Α	rgulı	ıs	Icht	hyob	odo	Chil	odor	nella	Ichth	iyoph	hirius	Tric	chod	ina	Dac	tylog	yrus
			g	m	h	æ	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h
verendet	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	k			k			k			k			1	0	0
verendet	2	4	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	k			k			k			k			k		
moribund	3	6	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
verendet	4	8	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	k			k			k			k			1	0	0
moribund	5	8	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
moribund	6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
moribund	7	11	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
moribund	8	12	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Prävalenz und Abundanz von Ichthyobodo sp., Chilodonella sp., Ichthyophthirius sp., Trichodina sp., Gyrodactylus sp., Argulus sp. und Dactylogyrus sp. auf der Haut und den Kiemen.

Zustand zum Untersuchungszeitpunkt, Reihenfolge und Untersuchungstag der untersuchten Goldfische. Auftreten von geringgradigem (g), mittelgradigem (m) und hochgradigem Befall (h). Das Vorhandensein des Merkmals ist mit "1" und das Nichtvorhandensein mit "0" gekennzeichnet. Mit "k" wurde vermerkt, wenn aufgrund einsetzender Autolyse keine (k) einwandfreie Untersuchung mehr möglich war.

Tab. A-17: Befall mit Ektoparasiten der moribunden (n=5) und lebenden Fische der Stichprobe (n=5) bis zum zwölften Tag in der Versuchsgruppe in Versuch B II (Auswahl aus der Urdatenliste für die Auswertung).

Zustand	Fi.								Haut	t																K	ieme	en						
	Nr.	Icht	hyob	odo	Chil	lodor	nella	Ichth	yopht	hirius	Tric	chod	lina	Gyro	odac	tylus	Α	rgulı	JS	Icht	thyob	odo	Chi	lodor	nella	Ichth	yopht	hirius	Tric	chod	ina	Dac	tylog	yrus
		g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	Ø	m	h	g	m	h	g	m	h	യ	m	h	gg	m	h	Ø	m	h
moribund	3	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	5	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0

## Fortsetzung Tab. A-17:

	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
lebend	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Σ	10	4	0	0	1	0	0	4	0	0	8	2	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	2	0	1	0	0	0	5	0	0	7	0	0

Summe der Fische  $(\Sigma)$  mit den einzelnen graduell bewerteten Veränderungen. Weitere Erläuterung s. Tab. A-9.

Tab. A-18: Befall mit Ektoparasiten der verendeten (n=7) und moribunden Goldfische (n=9) bis zum zwölften Tag in der Kontrollgruppe in Versuch B II (Urdatenliste).

	Zustand	Fi.	Tag									На	ut															K	iem	en						
×		Nr.		Icht	hyob	odo	Chil	odor	nella	Ichth	yopht	hirius	Tric	chod	ina	Gyr	odact	ylus	Α	rgulı	ıs	Icht	hyob	odo	Chil	odor	ella	Ichth	yoph	thirius	Tric	chod	ina	Dac	tylog	yrus
≚ L				g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	Ø	m	h	g	m	h
,	verendet	1	3	k			k			k			k			k			k			k			k			k			k			k		
,	verendet	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	k			k			k			k			k		
,	verendet	3	4	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	moribund	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
,	verendet	5	5	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	k			k			k			k			k		
,	verendet	6	5	k			k			k			k			k			k			k			k			k			k			k		
	moribund	7	6	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	moribund	8	7	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
,	verendet	9	7	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	moribund	10	9	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	moribund	11	9	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	moribund	12	10	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

# <u>×</u>

Fortsetzung Tab. A-18:

moribund	13	10	1	0	0	0	1		0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
moribund	14	11	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
verendet	15	11	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	k			k			k			k			k		
moribund	16	12	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0

Erläuterung s. Tab. A-16.

Tab. A-19: Befall mit Ektoparasiten der moribunden (n=9) und lebenden Fische der Stichprobe (n=5) bis zum zwölften Tag in der Kontrollgruppe in Versuch B II (Auswahl aus der Urdatenliste für die Auswertung).

Zustand	Fi.							_		На	ut			_												K	ieme	n						
	Nr.	Icht	hyob	odo	Chil	odor	nella	Ichth	yopht	hirius	Tric	chod	ina	Gyro	odact	ylus	A	rgulı	us	Icht	thyok	odo	Chi	lodor	ella	Ichth	yopht	hirius	Tric	chod	ina	Dac	tylog	yrus
		g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	æ	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h	g	m	h
moribund	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	7	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	8	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	10	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	11	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0
	12	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	13	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0
	14	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	16	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1		1	0	0	0	1	0
lebend	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
	5	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1
Σ	14	3	6	1	1	3	0	4	1	0	9	4	0	8	0	0	1	1	0	10	1	0	3	1	6	5	2	0	11	1	1	8	3	1

Erläuterung s. Tab. A-16 und A-9.

### 9.2.4 Bakterioskopische Untersuchung auf Myxobakterien

Tab. A-20: Bakterioskopischer Nachweis beweglicher Stäbchenbakterien in Haut und Kiemen bei den verendeten (n=3) und moribunden Goldfischen (n=5) bis zum zwölften Tag in der Versuchsgruppe in Versuch B II (Urdatenliste).

Zustand	Fi.	Tag		Haut	t	K	ieme	n
	Nr.		g	m	h	g	m	h
verendet	1	3	0	0	0	1	0	0
verendet	2	4	0	1	0	0	0	0
moribund	3	6	1	0	0	1	0	0
verendet	4	8	1	0	0	k		
moribund	5	8	1	0	0	0	0	0
moribund	6	8	1	0	0	0	0	0
moribund	7	11	1	0	0	0	1	0
moribund	8	12	0	0	0	0	0	0

Insgesamt ohne die für Myxobakterien typische rasenbüschelartige Anordnung bzw. Kolumnen. Weitere Erläuterung s. Tab. A-16.

Tab. A-21: Bakterioskopischer Nachweis beweglicher Stäbchenbakterien in Haut und Kiemen bei den verendeten (n=7) und moribunden Goldfischen (n=9) bis zum zwölften Tag in der Kontrollgruppe in Versuch B II (Urdatenliste)

Zustand	Fi.	Tag	На	aut		K	ieme	en
	Nr.		g	m	h	g	m	h
verendet	1	3	k			k		
verendet	2	3	0	1	0	k		
verendet	3	4	0	0	0	k		
moribund	4	4	0	0	0	0	0	0
verendet	5	5	0	0	0	k		
verendet	6	5	k			k		
moribund	7	6	0	0	0	0	0	0
moribund	8	7	1	0	0	1	0	0
verendet	9	7	1	0	0	k		
moribund	10	9	0	0	1	0	1	0
moribund	11	9	0	0	1	0	0	0
moribund	12	10	0	0	0	1	0	0
moribund	13	10	0	0	1	1	0	0
moribund	14	11	0	0	0	1	0	0
verendet	<b>1</b> 5	11	0	1	0	0	1	0
moribund	16	12	0	1	0	0	0	0

Die für Myxobakterien typische rasenbüschelartige Anordnung bzw. Kolumnen durch Fettdruck (1) hervorgehoben. Weitere Erläuterung s. Tab. A-16.

### 9.3 Aufzucht von Karpfen mit Huminstoff-Futterzusatz I (Versuch F I)

Tab. A-22: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 1) am 52. Versuchstag in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F I.

	T (°C)	02	рН	SBV	NH <sub>4</sub> +	ΝН₃	NO <sub>2</sub> -	HNO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> <sup>2</sup> -	PO <sub>4</sub> 3-
VG	21,8	4,5	7,7	2,8	0,8	0,018	0	0	0,3	1,170
KG	21,9	4,3	7,7	2,4	1,0	0,022	0	0	1,0	0,760

Wassertemperatur T (°C), pH-Wert, SBV (mmol L¹), Gehalt (mg L¹) an Sauerstoff, Ammonium, Ammoniak (berechnet), Nitrit, salpetriger Säure (berechnet) und Nitrat. Die Messwerte liegen allgemein im physiologischen Bereich für Karpfen. Nur der Ammoniakgehalt befindet sich in der Kontrollgruppe geringfügig außerhalb des Grenzwertes zur Vermeidung von Schädigungen.

Tab. A-23: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 2) am 436. Versuchstag (Spätsommer) in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F I.

	T(°C)	02	рН	SBV	NH <sub>4</sub> +	NHз	NO <sub>2</sub> -	HNO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	PO <sub>4</sub> 3-
VG	19,1	7,3	8,9	1,4	0,8	0,18	0,01	3.10-8	0,5	0,130
KG	19,0	7,2	8,9	1,4	0,8	0,18	0,01	3.10-8	0,8	0,110

Erläuterungen s. Tab. A-22.

Tab. A-24: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 3) am 847. Versuchstag in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F I.

	T (°C)	02	рН	SBV	NH <sub>4</sub> +	NH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub> -	HNO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> 2-	PO <sub>4</sub> 3-
VG	10,0	9,1	7,5	1,6	1,0	0,006	0,06	6.10-6	1,1	0,10
KG	10,2	9,4	7,6	1,6	1,1	0,008	0,06	4·10 <sup>-6</sup>	0,9	0,20

Die Messwerte liegen im physiologischen Bereich für Karpfen. Sonstige Erläuterungen s. Tab. A-22.

Tab. A-25: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 4) am 898. Versuchstag in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F I.

	T(°C)	02	рН	SBV	NH <sub>4</sub> +	NH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub> -	HNO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> 2-	PO <sub>4</sub> 3-
VG	3,1	11,8	7,8	1,7	0,7	0,005	0,04	2.10-6	4,1	0,010
KG	3,2	12,4	7,9	1,7	0,7	0,006	0,05	2.10-6	3,6	0,005

Erläuterungen s. Tab. A-24.

Tab. A-26: Gehalte der inneren Organe und Infektionsraten (%) mit Aeromonas- bzw. Pseudomonas spp. durch die bakteriologischen Untersuchungen von Stichproben der benachbarten Teiche der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F I.

Teich	Besatz	Keimgehalt	Infektionsrate
1	K <sub>1</sub>	mgrhgr.	100
2	K <sub>1</sub>	hgr.	100
3	K₁	mgr.	100
4	K <sub>1</sub>	ggr.	100
5	K <sub>2</sub>	mgr.	100
6	$K_2$	ggr.	100
7	K <sub>2</sub>	mgrhgr.	100
8	K <sub>2</sub>	ggr.	75
9	K <sub>2</sub>	ggr.	50
10	ZK <sub>3</sub>	ggrmgr.	67

Tab. A-27: Ermittlung der mittleren Körpermassen (g), Mediane (g), Standardabweichungen (g) und relativen Standardabweichungen (%) anhand der Stichproben-Untersuchung am 983. Versuchstag in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F I.

Fisch	Versuchsgruppe	Kontrollgruppe
1	640	610
2	650	680
3	740	680
4	760	720
5	780	730
6	990	900
7	1000	930
8	1370	930
9	1380	980
10	1400	990
Mittelwert	971	815
Median	885	815
Standardabw.	308,9	143,9
rel. Standardabw.	32	18

Die relative Standardabweichung (rel. Standardabw.) wurde zur Berechnung der Unterschiede zu den anderen Zeitpunkten übernommen.

## 9.4 Aufzucht von Karpfen mit Huminstoff-Futterzusatz II (Versuch F II)

Tab. A-28: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 1): Verlauf der Wassertemperaturen und Sauerstoffgehalte in den Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>20-40</sub> mit den jeweiligen Mittelwerten in Versuch F II.

Tag			T (	°C)					0 <sub>2</sub> (m	ng L-1)		
	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>
2	18,3	18,3	18,1	18,3	18,0	18,4	7,3	11,7	9,1	11,4	7,7	12,4
10	19,3	18,7	18,8	18,5	18,7	17,9	9,9	<b>1</b> 5,3	8,9	17,1	10,4	18,3
17	22,5	22,1	21,4	21,7	22,0	22,0	13,8	7,3	6,8	7,2	5,4	10,5
23	23,6	23,9	23,8	24,0	24,0	22,8	3,8	6,6	3,8	4,1	5,0	8,5
30	19,7	20,0	19,7	19,9	19,7	19,0	7,6	6,8	5,5	5,2	3,4	10,7
37	20,7	21,1	20,6	20,9	20,8	20,1	10,0	6,3	9,0	5,4	4,6	8,1
43	22,8	22,8	22,0	23,0	22,3	22,6	12,6	6,0	10,2	7,0	4,2	6,6
50	18,3	18,6	17,5	18,2	18,0	17,0	12,5	7,6	10,4	9,1	6,6	6,0
57	19,5	19,6	18,8	19,9	19,3	19,0	13,3	10,5	6,0	<b>1</b> 5,0	13,7	7,5
64	24,7	24,8	23,7	24,3	23,8	24,4	13,2	9,3	10,3	17,6	13,7	8,4
70	23,4	23,6	22,9	23,1	22,7	23,6	10,8	7,5	3,2	10,6	3,1	5,7
72	22,8	23,0	22,3	22,4	22,5	22,4	9,3	4,5	2,2	5,7	1,7	3,8
80	20,6	20,8	19,8	20,3	20,4	20,2	9,3	4,3	3,9	7,0	1,4	3,6
85	22,1	22,1	21,7	21,5	21,5	22,2	8,9	6,3	5,1	12,4	1,3	3,8
88	19,9	20,9	20,3	20,3	20,5	20,6	4,0	2,5	2,8	5,0	1,9	1,2
92	23,0	22,8	22,5	21,9	22,3	22,8	7,1	4,5	4,0	4,1	6,1	6,7
99	16,7	17,3	16,1	16,7	16,2	16,1	6,7	5,6	5,7	6,7	6,9	6,3
107	16,9	16,9	16,6	16,8	16,6	16,4	10,2	7,6	11,0	13,3	10,4	7,0
113	17,4	17,4	17,4	17,3	17,5	17,8	7,7	5,1	9,9	<b>11</b> ,6	8,6	6,2
128	14,5	14,6	14,9	14,7	14,8	15,2	5,3	3,9	2,0	8,5	5,4	2,4
135	15,9	16,0	15,8	15,9	<b>1</b> 5,9	16,2	4,2	4,5	7,1	8,1	6,1	6,1
MW <sub>1</sub>	20,1	20,3	19,7	20,0	19,9	19,8	8,8	6,8	6,5	9,1	6,1	7,1
$MW_2$	20,0 19,9			7,4 7,5			7,5					

 $MW_1$  als Mittelwert für die jeweilige Versuchs- oder Kontrollgruppe,  $MW_2$  als Mittelwert für jeweils alle Daten der Versuchs- oder Kontrollgruppen insgesamt. Die Sauerstoffgehalte liegen unter sommerlichen Bedingungen bei den morgendlichen Messungen kurzzeitig unterhalb der empfohlenen Mindestwerte.

Tab. A-29: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 2): Verlauf der pH-Werte in den Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>20-40</sub> mit den jeweiligen Mittelwerten in Versuch F II.

Tag			р	Н		
	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>
2	7,33	8,28	7,50	8,02	7,61	8,80
10	7,46	8,61	7,40	9,16	7,64	9,11
17	8,16	7,13	7,09	7,16	7,23	7,66
23	7,22	7,22	7,11	7,15	7,22	7,40
30	7,40	7,24	7,24	7,31	7,24	7,93
37	7,53	7,21	7,64	7,28	7,24	7,69
43	8,06	7,16	8,14	7,44	7,23	7,54
50	7,90	7,43	7,86	7,77	7,47	7,54

### Fortsetzung Tab. A-29:

57	8,14	7,67	7,25	8,98	8,80	7,65
64	8,39	7,72	8,58	9,09	8,82	8,15
70	7,93	7,36	7,15	8,60	7,31	7,53
80	7,63	7,21	7,20	8,00	7,16	7,29
85	7,74	7,45	7,35	9,18	7,18	7,35
92	7,66	7,17	7,29	7,70	7,41	7,56
99	7,63	7,33	7,44	7,68	7,53	7,64
107	8,25	7,53	7,99	8,78	8,31	7,47
113	7,76	7,45	7,86	8,32	7,84	7,39
128	7,42	7,32	7,20	7,49	7,41	7,21
135	7,30	7,26	7,40	7,57	7,49	7,35
MW <sub>1</sub>	7,71	7,46	7,51	8,04	7,59	7,70
$MW_2$		7,56	•		7,77	

Erläuterung s. Tab. A-28.

Tab. A-30: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 3): Verlauf der Gehalte an Ammonium und Ammoniak in den Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>20-40</sub> mit den jeweiligen Mittelwerten in Versuch F II.

Tag			NH <sub>4</sub> + (	mg L <sup>-1</sup> )					NH₃ (r	ng L <del>-1</del> )		
	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>
2	0,26	0,21	0,34	0,26	0,28	0,18	0,002	0,013	0,004	0,009	0,004	0,033
17	0,31	0,90	0,44	0,76	0,75	0,40	0,020	0,006	0,002	0,005	0,006	0,008
30	0,75	0,68	1,57	0,84	1,65	0,35	0,007	0,005	0,010	0,007	0,011	0,011
43	0,22	0,32	0,32	0,37	0,48	0,32	0,012	0,002	0,019	0,005	0,004	0,005
57	0,19	0,21	0,36	0,18	0,19	0,17	0,010	0,004	0,002	0,050	0,036	0,003
70	0,32	0,26	0,45	0,30	0,54	0,28	0,013	0,003	0,003	0,050	0,005	0,005
85	0,39	0,23	0,28	0,19	0,62	0,36	0,010	0,003	0,003	0,076	0,004	0,004
99	0,26	0,30	0,28	0,28	0,30	0,21	0,003	0,002	0,002	0,004	0,003	0,003
113	0,46	0,68	0,31	0,23	0,32	0,35	0,008	0,006	0,007	0,015	0,007	0,003
135	0,68	0,58	0,74	0,45	0,44	0,36	0,004	0,003	0,005	0,005	0,004	0,002
MW <sub>1</sub>	0,38	0,44	0,51	0,39	0,56	0,30	0,009	0,005	0,006	0,023	0,008	0,008
MW <sub>2</sub>		0,44	•		0,41	•		0,006			0,013	·

Erläuterung s. Tab. A-28.

Tab. A-31: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 4): Verlauf der Gehalte an Nitrit und salpetriger Säure in den Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>20-40</sub> mit den jeweiligen Mittelwerten in Versuch F II.

Tag			NO <sub>2</sub> - (r	ng L <sup>-1</sup> )			HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )						
	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>	
2	0,073	0,383	0,135	0,475	0,224	0,195	1.10-5	<b>1</b> ·10-7	2.10-6	2.10-6	2.10-6	4.10-8	
17	0,125	0,340	0,125	0,551	0,300	0,195	2.10-6	<b>5.10</b> -6	<b>5.10</b> -6	1.10-4	2.10-5	2.10-6	
30	0,241	0,109	0,125	0,310	0,102	0,063	1.10-5	2.10-6	<b>4.10</b> -6	3.10-6	6.10-6	4·10 <sup>-7</sup>	
43	0,020	0,026	0,003	0,211	0,396	0,016	4.10-6	<b>6.10</b> -6	2.10-6	1.10-5	1.10-5	3.10-6	
57	0,099	0,003	0,056	0,096	0,082	0,003	8.10-6	6· <b>1</b> 0-6	6.10-5	<b>5-10</b> -6	7.10-7	9.10-6	

Fortsetzung Tab. 70:

70	0,089	0,010	0,023	0,069	0,033	0,010	2.10-6	<b>1</b> ·10-7	4.10-6	2.10-7	4.10-6	7.10-7
85	0,100	0,030	0,026	0,066	0,145	0,033	4.10-6	3.10-6	3.10-6	<b>1</b> ·10 <sup>-7</sup>	2.10-5	<b>1</b> ·10-6
99	0,096	0,016	0,030	0,026	0,036	0,013	6.10-6	2.10-6	3.10-6	<b>1</b> ·10-6	3.10-6	<b>1</b> ·10-6
113	0,221	0,036	0,050	0,129	0,010	0,040	1.10-5	3.10-6	<b>2·10</b> -5	2.10-6	4·10 <sup>-7</sup>	3.10-6
135	0,475	0,116	0,449	0,188	0,132	0,162	6.10-5	2.10-5	<b>5.10</b> -5	9.10-6	1.10-5	<b>2·10</b> -5
MW <sub>1</sub>	0,154	0,115	0,110	0,212	0,146	0,073	1.10-5	<b>5</b> ·10 <sup>-6</sup>	<b>2·10</b> -5	1.10-5	8.10-6	<b>4.10</b> -6
$MW_2$		0,127			0,144	•		1.10-5		·	8.10-6	

Erläuterung s. Tab. A-28.

Tab. A-32: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 5):Verlauf der Gehalte an Nitrat und N-Stickstoff (anorganisch) in den Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>20-40</sub> mit den jeweiligen Mittelwerten in Versuch F II.

Tag			NO <sub>3</sub> 2- (	mg L-1)				N (a	norgani	sch) (m	g L <sup>-1</sup> )	
	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>
2	3,1	13,2	4,4	14,5	5,7	8,8	0,92	3,28	1,30	3,64	1,59	2,17
17	4,8	6,6	4,8	9,2	5,3	5,7	1,38	2,30	1,44	2,86	1,87	1,67
30	4,8	3,1	1,8	6,2	3,1	2,2	1,75	1,26	1,66	2,14	2,01	0,79
43	6,6	2,6	1,8	6,2	3,5	2,2	1,68	0,86	0,65	1,75	1,29	0,76
57	7,0	2,2	3,5	5,7	3,5	2,2	1,78	0,66	1,10	1,47	0,98	0,63
70	7,9	3,5	3,5	5,3	5,3	2,2	2,08	1,00	1,16	1,45	1,63	0,72
85	7,9	4,8	4,4	5,7	7,0	4,0	2,13	1,29	1,23	1,47	2,12	1,19
99	9,7	4,4	4,4	7,5	4,8	3,1	2,23	1,24	1,23	1,93	1,34	0,86
113	11,0	3,1	4,0	8,4	4,0	3,1	2,93	1,24	1,16	2,11	1,15	0,98
135	10,6	2,6	7,9	8,8	4,4	2,2	3,07	1,08	2,51	2,41	1,38	0,83
MW <sub>1</sub>	7,0	4,6	4,1	7,8	4,7	3,6	2,00	1,42	1,34	2,12	1,54	1,10
$MW_2$		5,2			5,3			1,59			1,57	

Erläuterung s. Tab. A-28.

Tab. A-33: Daten der Wasseruntersuchungen (Teil 6):Verlauf der Gehalte an ortho-Phosphat und die Alkalität in den Versuchs- und Kontrollgruppen<sub>20-40</sub> mit den jeweiligen Mittelwerten in Versuch F II.

Tag			PO <sub>4</sub> 3- (	mg L <sup>-1</sup> )					Alkalitä	t (mval)		
	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>	VG <sub>20</sub>	VG <sub>30</sub>	VG <sub>40</sub>	KG <sub>20</sub>	KG <sub>30</sub>	KG <sub>40</sub>
2	0,08	0,09	0,08	0,09	0,10	0,06	1,40	1,15	1,70	1,40	1,60	1,40
17	0,03	0,04	0,17	0,09	0,06	0,12	1,45	1,30	1,90	1,40	1,80	1,30
30	0,09	0,09	0,20	0,16	0,22	0,06	1,40	1,60	1,60	1,60	1,90	1,70
43	0,02	0,04	0,04	0,12	0,09	0,13	1,10	1,65	1,10	1,60	1,50	1,85
57	0,04	0,03	0,13	0,04	0,06	0,09	1,15	1,90	1,20	1,65	1,45	1,90
70	0,02	0,03	0,12	0,05	0,11	0,03	1,15	1,90	1,30	1,15	1,30	1,90
85	0,10	0,12	0,16	0,17	0,47	0,22	1,35	1,60	1,45	1,25	1,70	1,90
99	0,05	0,06	0,10	0,11	0,09	0,05	2,00	1,60	1,90	1,75	2,00	2,10
113	0,08	0,04	0,06	0,03	0,04	0,02	1,70	1,50	1,70	1,60	1,85	2,05
135	0,04	0,03	0,09	0,01	0,04	0,01	1,85	1,65	1,95	1,85	2,00	2,25
MW <sub>1</sub>	0,06	0,06	0,11	0,09	0,13	0,08	1,46	1,59	1,58	1,53	1,71	1,84
$MW_2$		0,07			0,10			1,54			1,69	

Erläuterung s. Tab. A-28.

### 9.5 Aufzucht von Regenbogenforellen mit Huminstoff-Futterzusatz (Versuch F III)

Tab. A-34: Daten der Wasseruntersuchungen in der Versuchsgruppe in den Versuchsabschnitten 1, 2 und 3 in Versuch F III.

Versuchsabschnitt	1	2	3	Mittelwert
T (°C)	18-21,5	14-22	6-15	aller Messungen
NH <sub>4</sub> + (mg L <sup>-1</sup> )	0,1-1,0	0,1-0,2	0,1	0,4
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	0,001-0,012	0,0004-0,0005	0,0001	0,003
NO <sub>2</sub> - (mg L-1)	0,075-0,6	0,5-0,6	0,05	0,33
HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	3.10-5-7.10-5	0,0001-0,0002	0,00002	0,00006
NO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	40-60	40	60	46

Erläuterung s. Tab. A-2.

Tab. A-35: Daten der Wasseruntersuchungen in der Kontrollgruppe in den Versuchsabschnitten 1, 2 und 3 in Versuch F III.

Versuchsabschnitt	1	2	3	Mittelwert
T (°C)	18-21,5	14-22	6-15	aller Messungen
NH <sub>4</sub> + (mg L <sup>-1</sup> )	0,1-0,3	0,1-0,3	0,1	0,17
NH <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	0,0004-0,003	0,0004	0,0001	0,001
NO <sub>2</sub> - (mg L-1)	0,5-1,0	0,075-0,6	0,2	0,57
HNO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	<b>5·10</b> -5-0,0002	2.10-5-0,0001	0,00006	0,0001
NO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	60-90	60	60	70

Erläuterung s. Tab. A-2.

Tab. A-36: Tierzahl, Einzelgewichte (g) der Probanden am Anfang und Ende der Aufzuchtperiode von Rf<sub>v1</sub> und Rf<sub>13</sub> im Versuchsabschnitt 1.a und 1.b in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F III.

Versuchsabschnitt	<b>1</b> .a				1.b			
Versuchstag	-	Ĺ	2	9	3	0	4	5
Tierzahl	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
1	0,54	0,52	0,83	0,75	0,83	0,75	2,56	2,67
2	0,60	0,64	0,97	0,84	0,97	0,84	2,60	2,70
3	0,73	0,68	1,02	0,93	1,02	0,93	2,73	2,83
4	0,77	0,75	1,12	1,03	1,12	1,03	2,98	2,91
5	0,80	0,76	1,14	1,15	1,14	1,15	2,98	2,92
6	0,84	0,80	1,20	1,17	1,20	1,17	3,03	2,94
7	0,85	0,83	1,24	1,21	1,24	1,21	3,04	3,02
8	0,89	0,84	1,27	1,26	1,27	1,26	3,08	3,18
9	0,90	0,86	1,29	1,26	1,29	1,26	3,13	3,33
10	0,90	0,87	1,30	1,28	1,30	1,28	3,41	3,35
11	0,92	0,88	1,32	1,30	1,32	1,30	3,54	3,49

### Fortsetzung Tab. A-36:

12	0,92	0,91	1,36	1,30	1,36	1,30	3,74	3,59
13	0,93	0,92	1,36	1,32	1,36	1,32	3,92	3,85
14	0,94	0,94	1,40	1,39	1,40	1,39	4,01	4,11
15	0,95	0,94	1,42	1,40	1,42	1,40	4,35	5,25
16	0,97	0,96	1,44	1,42				
17	0,99	0,96	1,44	1,44				
18	1,03	0,98	1,51	1,46				
19	1,03	1,02	1,53	1,47				
20	1,05	1,04	1,61	1,58				
21	1,05	1,07	1,63	1,60				
22	1,07	1,13	1,67	1,63				
23	1,08	1,19	1,69	1,70				
24	1,12	1,22	1,76	1,76				
25	1,23	1,30	1,94	1,87				
Summe	23,10	23,01	34,46	33,52	18,24	17,59	49,10	50,14
Mittelwert	0,92	0,92	1,38	1,34	1,22	1,17	3,27	3,34

Tab. A-37: Tierzahl, Einzelgewichte (g) der Probanden am Anfang und am Ende der Aufzuchtperiode von Rf<sub>3-10</sub> und Rf<sub>10-30</sub> im Versuchsabschnitt 2 und 3 in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F III.

Versuchsabschnitt	2			3				
Versuchstag	4	<del>1</del> 6	9	2	ç	93	16	67
Tierzahl	VG	KG	VG	KG	VG	KG	VG	KG
1	2,56	2,67	9,04	9,03	9,04	9,03	25,20	29,37
2	2,60	2,70	9,63	9,89	9,63	9,89	28,90	34,11
3	2,73	2,83	10,66	10,26	10,66	10,26	28,92	36,07
4	2,98	2,91	10,80	11,41	10,80	11,41	32,60	32,70
5	2,98	2,92	11,25	11,88	11,25	11,88	33,35	33,07
6	3,03	2,94	11,78	12,04	11,78	12,04	33,86	34,51
7	3,04	3,02	13,34	12,90	13,34	12,90	34,08	33,36
8	3,08	3,18	15,71	<b>1</b> 5,47				
9	3,13	3,33	9,11	10,90				
10	3,41	3,35	8,88	10,82				
11	3,54	3,49	9,44	11,19				
12	3,74	3,59	10,95	11,01				
13	3,92	3,85	9,52	17,07				
Summe	40,74	40,78	140,11	153,87	76,50	77,41	216,91	233,19
Mittelwert	3,13	3,14	10,78	11,84	10,93	11,06	30,99	33,31

Tab. A-38: Zuwächse (g) in den einzelnen Versuchabschnitten, Futterverbrauch (g) und Futteraufwand bis Versuchsende in der Versuchs- und Kontrollgruppe in Versuch F III.

	VG	KG
Zuwachs 1.a	11,36	10,51
Zuwachs 1.b	30,86	32,55
Zuwachs 2	99,37	113,09
Zuwachs 3	140,41	155,78
$\sum$ Zuwachs	282,00	311,93
Futterverbrauch	282,45	286,32
Futteraufwand	1,00	0,92

## 9.6 Anwendungsempfehlungen für Huminstoff-Präparationen vom Typ WH 67

Tab. A-39: Anwendungsempfehlungen für HS-Präparationen vom Typ WH 67 (PHARMAWERK WEINBÖHLA 2002)

HS Typ WH 67 A (Humocarb, formuliert®)							
Einzeltieranwendung	Therapeutische Dosierung	Prophylaktische Dosierung					
Kalb, Rind, Schaf,	300-500 mg kg <sup>-1</sup> KM	7- <b>1</b> 5 d	200-300 mg kg <sup>-1</sup> KM 10-	20 d			
Ziege, Pferd							
Hund, Katze	500-1000 mg kg <sup>-1</sup> KM	7- <b>1</b> 0 d	250-500 mg kg <sup>-1</sup> KM				
Geflügel	1000-1500 mg kg <sup>-1</sup> KM		300-500 mg kg <sup>-1</sup> KM				
kleine Heimtiere	1000-1500 mg kg <sup>-1</sup> KM		500-750 mg kg <sup>-1</sup> KM				
Bestandsanwendung	Therapeutische Anwendungs	konz./FI*)	Anteil im Futtermittel				
tierartübergreifend	75-100 mg kg <sup>-1</sup> KM	7-15 d	0,75-1 %				
Bestandsanwendung	<b>Prophylaktische Anwendungs</b>	Prophylaktische Anwendungskonz./FI*)					
tierartübergreifend	30-50 mg kg-1 KM	10-20 d	0,3-0,5 %				
HS Typ WH 67 G (Cellu	ı-Ligno-Karbon-Isolat)						
Einzeltieranwendung	Anwendungskonzentration/F	<b>(</b> *)	Anteil im Futtermittel				
tierartübergreifend	60-100 mg kg <sup>-1</sup> KM 0,5-1 %						
Bestandsanwendung	Anwendungskonzentration/F	<b>(</b> *)	Anteil im Futtermittel				
Kalb	30-60 mg kg-1 KM		0,3-0,6 % in der Tränke				
			(=1,5-3,8 % im Kälberfutte	er)			
Schwein	50-70 mg kg <sup>-1</sup> KM	7-15 d	0,5-0,7 %				
Ferkel (4 Wochen)9	150 mg kg <sup>-1</sup> KM	28 d	0,5 % im Flüssigfutter				
			(=1,5 % in Ausgangskompor	nente)			
Geflügel	50-80 mg kg <sup>-1</sup> KM	10-20 d	0,5-0,8 %				

<sup>\*)</sup> Anwendungskonzentration (mg HS-Präparat kg<sup>-1</sup> KM d<sup>-1</sup>) je Fütterungsintensität (FI in % der Bestandsmasse d<sup>-1</sup>). Aus den maximalen Fütterungsintensitäten ergeben sich die maximalen Anwendungskonzentrationen.

### 9.7 Struktureller Aufbau von Boden-Huminstoffen

(s. Abb. A-1 folgende Seite)

-

<sup>&</sup>lt;sup>9</sup> Persönliche Mitteilung von Herrn J. Wallmeyer, Hamm, 17. April 2002 und Angaben von DUNKEL und WALLMEYER (1999)

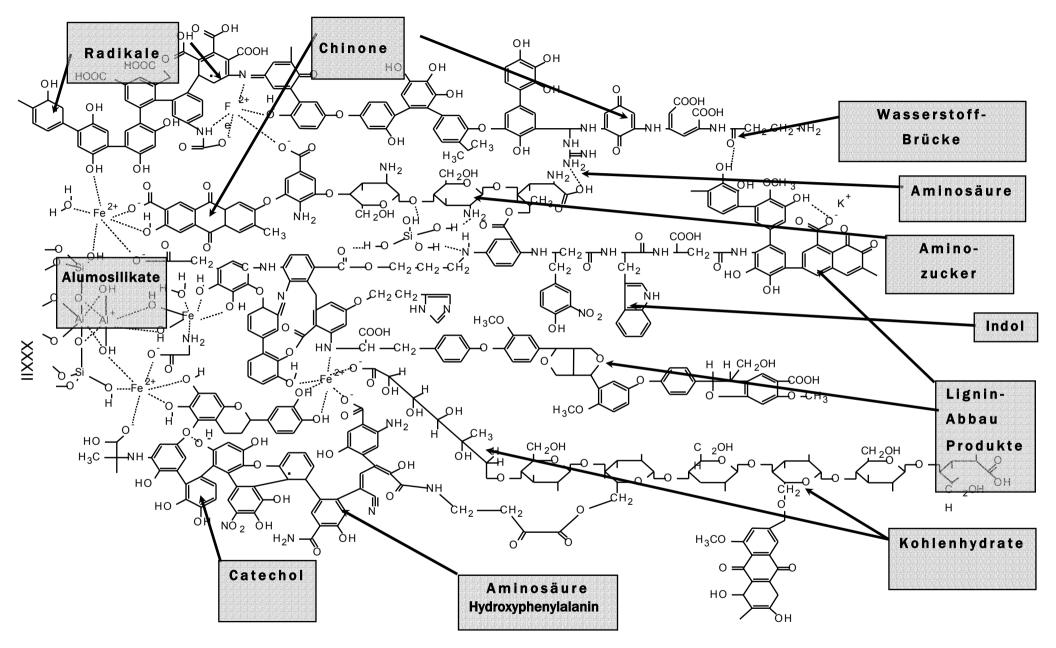


Abbildung A-1: Allgemeiner struktureller 2D-Aufbau von Huminstoffen in Böden (KLEINHEMPEL 1970), bearbeitet von STEINBERG (2002)

### **DANKSAGUNG**

An erster Stelle möchte ich meinem Betreuer, dem ehemaligen Direktor des Instituts für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Herrn Prof. Dr. Jürgen Gropp, für seine freundliche Unterstützung, die stets gern gewährte Hilfe bei der Abfassung der vorliegenden Arbeit, die zahlreichen fruchtbaren Diskussionen und seine wertvollen Ratschläge ganz herzlich danken. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Jürgen Hartung, (ehem.) Fischgesundheitsdienst der Sächsischen Tierseuchenkasse, Standort Leipzig, für die Idee zu den vorliegenden Untersuchungen. Ferner bin ich meinem anfänglichen Betreuer, Herrn Doz. Dr. Jürgen Schneider, Institut für Bakteriologie und Mykologie der Veterinärmedizinischen Fakultät, für die Überlassung des Themas und die eingeräumten Arbeitsmöglichkeiten zu Dank verpflichtet.

Des Weiteren gilt mein nicht minder herzlicher Dank allen Personen, die zum Zustandekommen des experimentellen Teils wesentlich und zum Teil über Jahre beigetragen haben, ohne deren ideelle und materielle Hilfe die Untersuchungen nicht hätten durchgeführt werden können:

Dr. Grit Bräuer, Fischgesundheitsdienst der Sächsischen Tierseuchenkasse, Dresden DVM Verena Bulla, Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Dresden

Dr. Matthias Dahm, Erkelenz, ehem. Institut für Anorganische Chemie der Universität zu Köln

Dr. Gerd Füllner, Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Referat Fischerei, Königswartha

Dr. Jochen Herms, ehem. Fischgesundheitsdienst der Sächsischen Tierseuchenkasse, Sproitz

Dr. Thomas Keller, Acomed, Leipzig

Dipl.-Chem. Hartmut Knauf, Pharmawerk Weinböhla GmbH, Weinböhla

Prof. Dr. Manfred Kühnert, Pharmawerk Weinböhla GmbH, Weinböhla

Dr. Angela Möller, Institut für Anorganische Chemie der Universität zu Köln

Dipl.-Ing. Matthias Pfeifer, Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Referat Fischerei, Königswartha

Dr. Petra Scheuermann, Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Leipzig

Regina Schulze, Institut für Anorganische Chemie der Universität zu Köln

Udo und Dipl.-Ing. Klaus Wolf, Fischzucht Beucha, Inh. Udo Wolf, Bad Lausick

Gerne bedanke ich mich auch bei Herrn Dr. Henry Ottilie, Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie, für die kritische Durchsicht der arzneimittelbezogenen Aussagen zu Huminstoffen in der Diskussion.

In meinen Dank möchte ich auch alle an der Versuchsdurchführung beteiligten Mitarbeiter folgender Institutionen einschließen:

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; Fischerei "Erzgebirge" GmbH & Co. KG, Arnsfeld; Mela Kraftfutterwerk GmbH, Wurz; Milkivit-Werke GmbH, Burgheim; Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Standorte Leipzig/Dresden; Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Ref. Fischerei, Königswartha; Satzfischanlage Sproitz der KREBA-Fisch GmbH, Kreba; Teichwirtschaft und Satzfischzucht Oelzschau GbR, Borna.

Schließlich gilt mein ganz persönlicher Dank meinen Eltern und meiner Frau für ihre stets bewiesene Geduld, Nachsicht und Hilfe.