

Aus dem Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen  
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Untersuchungen zur Erprobung von geeigneten Betäubungsverfahren  
für die Schlachtung Afrikanischer Welse (*Clarias gariepinus*)**

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

eingereicht von  
Anna Luise Gaede  
aus Magdeburg

Leipzig, 2016

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Manfred Coenen

Betreuer: Prof. Dr. Uwe Truyen

Gutachter: Prof. Dr. Uwe Truyen  
Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der  
Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig  
Leipzig

Prof. Dr. Dr. Michael Erhard  
Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung  
Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München  
München

Tag der Verteidigung: 03.05.2016

Meiner Familie gewidmet.

# INHALTSVERZEICHNIS

---

## Inhalt

1	Einleitung .....	1
2	Literaturübersicht .....	3
2.1	Der Afrikanische Wels ( <i>Clarias gariepinus</i> ) .....	3
2.1.1	Biologische Grundlagen .....	3
2.1.2	Der Afrikanische Wels als Lebensmittel .....	3
2.2	Schmerzen, Stress und Leiden bei Fischen .....	4
2.2.1	Schmerzen .....	4
2.2.2	Stress .....	5
2.2.3	Leiden .....	7
2.3	Betäuben und Schlachten von Fischen .....	7
2.3.1	Rechtliche Situation .....	7
2.3.2	Betäubungsverfahren .....	8
2.3.2.1	Mechanische Betäubungsverfahren .....	8
2.3.2.2	Elektrische Betäubungsverfahren .....	9
2.3.2.3	Hypothermie .....	11
2.3.2.4	Sonstige Betäubungsverfahren .....	12
2.3.3	Beurteilung des Betäubungserfolges .....	13
2.3.4	Produktqualität .....	14
3	Tiere, Material und Methoden .....	16
3.1	Versuchsaufbau .....	16
3.1.1	Herkunft der Fische .....	17
3.1.2	Hälterung .....	18
3.1.3	Kennzeichnung, Sedation, Blutentnahme und Probenbearbeitung .....	18
3.1.4	Vorkühlung .....	20
3.1.5	Betäubungsversuch .....	20
3.2	Versuch 0 (Vorversuch Methodenprüfung) .....	21
3.3	Versuch 1a (Vergleich verschiedener Methoden der Eiswasserbehandlung) .....	22
3.4	Versuch 1b (Vergleich verschiedener Methoden der Vorkühlung mit anschließender Eiswasserbehandlung) .....	25

# INHALTSVERZEICHNIS

---

3.5	Versuch 2 (Elektrobetäubung) .....	25
3.6	Versuch 3 (Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung).....	27
3.7	Versuch 4 (Erprobung im Praxisbetrieb) .....	27
3.8	Statistische Auswertung.....	28
4	Ergebnisse.....	29
4.1	Ergebnisse Versuch 0 (Vorversuch Methodenprüfung).....	29
4.2	Ergebnisse Versuch 1a (Vergleich verschiedener Methoden der Eiswasserbehandlung).....	30
4.3	Ergebnisse Versuch 1b (Vergleich verschiedener Methoden der Vorkühlung).....	43
4.4	Ergebnisse Versuch 2 (Elektrobetäubung) .....	57
4.5	Ergebnisse Versuch 3 (Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung).....	65
4.6	Ergebnisse Versuch 4 (Erprobung im Praxisbetrieb).....	73
5	Diskussion .....	78
5.1	Diskussion der Untersuchungsmethodik .....	78
5.1.1	Diskussion der Beurteilung des Betäubungserfolges.....	78
5.1.2	Diskussion der Beurteilung der Stressbelastung.....	81
5.2	Diskussion der Eiswasserbehandlung und der Vorkühlung.....	82
5.3	Diskussion der Elektrobetäubung .....	84
5.4	Diskussion der Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung.....	87
5.5	Abschließende Diskussion und Schlussfolgerungen .....	88
6	Zusammenfassung.....	90
7	Summary.....	92
8	Literaturverzeichnis .....	94
9	Anhang.....	104
	Tabellenverzeichnis.....	113
	Abbildungsverzeichnis .....	115

## Abkürzungen

°	Ausreißer
x	Extremer Wert
°C	Grad Celsius
§	Paragraph
%	Prozent
*	signifikant
A	Ampere
A.	<i>Arteria</i>
Abb.	Abbildung
ABl.	Amtsblatt der Europäischen Union
Abs.	Absatz
Anon.	anonym
AVMA	American Veterinary Medical Association
Az.	Aktenzeichen
BGBI.	Bundesgesetzblatt
BGH	Bundesgerichtshof
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
cm	Zentimeter
cm <sup>2</sup>	Quadratcentimeter
d.h.	das heißt
Diss.	Dissertation
dm <sup>2</sup>	Quadratdezimeter
EFSA	European Food Safety Authority (Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit)
EEG	Elektroenzephalogramm
eG	eingetragene Genossenschaft
EG	Europäische Gemeinschaft
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	und andere
EU	Europäische Union
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen)
FLI	Friedrich-Loeffler-Institut Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
g	Gramm
ggf.	gegebenenfalls

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

Gr.	Größe
h	Stunde
Hrsg.	Herausgeber
Hz	Hertz
incl.	inklusive
kg	Kilogramm
l	Liter
LfULG	Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie
m	Meter
max.	maximal
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
Min.	Minute
mind.	mindestens
MRT	Magnetresonanztomographie
MS-222	Tricain (Tricainmethansulfonat)
MW	arithmetisches Mittel
µl	Mikroliter
µS	Mikrosiemens
n	Anzahl
ng	Nanogramm
Nr.	Nummer
n.s.	nicht signifikant
o.g.	oben genannt
OIE	World Organisation for Animal Health (Weltorganisation für Tiergesundheit)
p	probability of error (Irrtumswahrscheinlichkeit)
resp.	respektive
RIA	Radioimmunoassay
rpm	revolutions per minute (Umdrehungen pro Minute)
S	Seite
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SER	somatosensorisch evozierte Reaktion
sog.	sogenannte

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

---

TierSchIV	Tierschutz-Schlachtverordnung
u.a.	unter anderem
u.U.	unter Umständen
V	Volt
V.	<i>Vena</i>
Var.	Variante
VER	visuell evozierte Reaktion
VK	Vorkühlung
VO	Verordnung
vs.	versus (gegen)
zit.	zitiert



## 1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit ist Teil des durch das Sächsische Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie (LfULG) geförderten Projektes „Untersuchungen zur Erprobung von geeigneten Betäubungs- und Tötungsverfahren sowie Erarbeitung eines Leitfadens für die Schlachtung Afrikanischer Welse“ (Az.: 13-0345.40/70/24, Vergabe-Nummer: B 660). Der Tierversuch wurde durch die Landesdirektion Sachsen, Leipzig, genehmigt (Bescheid vom 22.12.2014, Geschäftszeichen LDD24-5131/276/59, TVV 55/14).

In Sachsen bestehen derzeit zwei Aquakulturreislaufanlagen zur Aufzucht und Mast Afrikanischer Welse (*Clarias gariepinus*) (ANON. 2010).

Entsprechend der nationalen Tierschutz-Schlachtverordnung (TierSchIV) sind Wirbeltiere vor der Tötung grundsätzlich zu betäuben (ANON. 2012a). Die für Fische zulässigen Betäubungsmethoden (Elektrobetäubung, stumpfer Schlag auf den Kopf, Verabreichung eines Stoffes mit Betäubungseffekt, Kohlendioxidexposition für Salmoniden) haben sich jedoch für die Betäubung Afrikanischer Welse in der Praxis als problematisch erwiesen.

Die Eiswasserbehandlung, welche vereinzelt beim Afrikanischen Wels eingesetzt wird, führt über eine Reduzierung der Körpertemperatur bei diesen wechselwarmen Tieren zu einer Immobilisierung sowie zu einer Reduzierung der Sensitivität gegenüber äußeren Reizen (FLI 2014). Eine Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit wird allerdings erst nach längerer Zeit erreicht: nach 5 bis 15 Minuten nach HELLMANN et al. (2014) bzw. nach 5 bis 20 Minuten nach LAMBOOIJ et al. (2006a). § 12 Abs. 1 Satz 1 TierSchIV schreibt jedoch eine schnelle Betäubungswirkung vor. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit sieht die Behandlung in Eis oder Eiswasser daher unter Tierschutzgesichtspunkten kritisch (EFSA 2004).

In bisher durchgeführten Studien konnte gezeigt werden, dass eine schnelle Bewusstlosigkeit von Afrikanischen Welsen durch Stromapplikation grundsätzlich möglich ist (LAMBOOIJ et al. 2004; LAMBOOIJ et al. 2006a; SATTARI et al. 2010). Im Vergleich zu anderen Fischarten sind jedoch erheblich höhere Stromstärken bzw. Stromdichten erforderlich. Bedingt durch die kurze Betäubungszeit sehen LAMBOOIJ et al. (2006b) und SATTARI et al. (2010) die Möglichkeit einer effektiven und zugleich tierschutzgerechten Betäubung in der Kombination von Elektrobetäubung und einer sich unmittelbar anschließenden Eiswasserbehandlung bzw. Dekapitation. In der Schweiz ist seit kurzem ein Gerät auf dem Markt, das zur elektrischen Betäubung des Afrikanischen Welses im Wasserbad eingesetzt wird (KNÜSEL und SIEBENTHAL 2016). Dieses Gerät war bei Versuchsbeginn noch nicht kommerziell erhältlich und wurde daher nicht geprüft.

Der Kopfschlag eignet sich bedingt für die Betäubung von Welsen bei der Einzelschlachtung. Der stark ausgebildete Schädelknochen erschwert den unmittelbaren Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens (BAICI 2004; FAO 2008). Als weitere mechanische Verfahren zur Betäubung von Afrikanischen Welsen wurden die Eignung einer Druckluftpistole (LAMBOOIJ et al. 2003) sowie von Bolzenschussgeräten (WEDEKIND et al. 2014) untersucht. Die Autoren weisen dabei auf Probleme bei der praktischen Umsetzung hin (Einzeltierfixierung, genaue Lokalisierung des Gehirns).

Eine Betäubung mittels Kohlendioxidexposition ist laut TierSchIV nur für Salmoniden zulässig. Bezüglich der Betäubung durch Verabreichung eines Stoffes mit Betäubungseffekt existiert in der Europäischen Union kein für die Schlachtung zugelassenes Präparat (ANON. 2001).

Ein praxistaugliches Verfahren zur Betäubung Afrikanischer Welse, das den Anforderungen der TierSchIV gerecht wird, war zum Zeitpunkt des Projektbeginns nicht verfügbar. Damit ergab sich folgende Zielstellung für das Projekt: Erprobung und Optimierung von geeigneten Betäubungsverfahren für die Schlachtung Afrikanischer Welse. Es sollten Verfahren entwickelt werden, die eine tierschutzgerechte und rechtskonforme Betäubung von Welsen in der industriellen Schlachtung ermöglichen. Eine tierschutzgerechte Betäubung erfordert einen unmittelbaren Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit sowie die Gewährleistung dieses Zustandes bis zur Tötung. Gleichzeitig soll die Belastung der Welse in diesem Verfahren so gering wie möglich sein (EFSA 2004; AVMA 2013; OIE 2015).

Zur Entwicklung geeigneter Betäubungsverfahren wurden die folgenden Teilziele verfolgt:

- Prüfung und Validierung der Eiswassermethode durch Variation der Rahmenbedingungen (insbesondere Temperatur sowie Verhältnis Wasser – Eis – Fisch)
- Prüfung und Validierung der der Betäubung vorausgehenden Vorkühlung durch Variation der Vorkühltemperaturen
- Prüfung und Validierung der Elektrobetäubung
- Prüfung und Validierung der Kombination aus Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung
- Prüfung des Betäubungsverfahrens in der Praxis.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Der Afrikanische Wels (*Clarias gariepinus*)

#### 2.1.1 Biologische Grundlagen

Der Afrikanische Wels (*Clarias gariepinus*) gehört zur Familie der Raubwelse (*Clariidae*).

Er kommt in warmen Fließgewässern sowie in Teichen, Seen und Sümpfen in Afrika sowie Vorder- und Westasiens (u.a. in Jordanien, Libanon, Israel, Syrien, Südtürkei) vor (FAO 2010). Mittlerweile ist er auch in Südeuropa und Südamerika zu finden (VITULE et al. 2006).

Beim Afrikanischen Wels handelt es sich um einen fakultativen Luftatmer, der neben den Kiemen über ein speziell dafür ausgebildetes Atmungsorgan verfügt, mit welchem Sauerstoff aus der Luft aufgenommen werden kann. Dieses Suprabranchialorgan besteht aus knöchern gestützten, gut durchbluteten Oberflächenvergrößerungen der Pharynxschleimhaut oberhalb der Kiemenbögen (BELAO et al. 2011). Laut GRAAF et al. (1996) können die Welse damit die Trockenzeit in ausgetrockneten Gewässern überleben.

Nach BRUTON (1979) beträgt die Wassertemperatur im natürlichen Habitat der Afrikanischen Welse zwischen 18 und 28 °C. Aber auch Temperaturen bis 8 °C sollen toleriert werden.

Welse sind Allesfresser: Plankton, Insekten, Schnecken, Würmer, Krebse, Muscheln, kleine Fische, Wasserpflanzen, Vögel und kleine Säugetiere werden aufgenommen. Ca. 70 % der Futteraufnahmeaktivitäten finden nachts statt. Vier Paare von Barteln dienen zur Orientierung im Dunkeln (FAO 2010).

Bei idealen Lebensbedingungen werden die Clarias bis 1,7 m groß und 30 kg schwer (ANON. 2007). Die Knochen des Neurocraniums (Hirnschädel) sind bei Afrikanischen Welsen sehr massiv ausgebildet und schirmen das Gehirn wirkungsvoll vor äußeren Einflüssen ab. Das Gehirn ist in eine fett- bzw. gallertartige Masse eingebettet (HELLMANN et al. 2014).

#### 2.1.2 Der Afrikanische Wels als Lebensmittel

In Ländern wie Benin, Ghana und Mauritius wird der Afrikanische Wels seit Jahrhunderten in traditioneller Teichwirtschaft produziert. In Europa (Belgien, Niederlande) begann in den 1980er Jahren die intensive Forschung an geeigneten Technologien für die Zucht dieser Fischart. Der weltweit größte Produzent ist Nigeria, gefolgt von den Niederlanden, Ungarn und Kenia (FAO 2010). Die Mast des Afrikanischen Welses geschieht in Deutschland in geschlossenen Kreislaufanlagen. Solche Anlagen funktionieren als geschlossene Kreisläufe, eine Verbindung zu natürlichen Gewässern besteht nicht. Derartige Anlagen sind wassersparend und arbeiten unabhängig von Umwelteinflüssen. Zur Heizung der Wasserbecken auf eine Optimaltemperatur von 28 °C wird die Abwärme der den Betrieben angehörigen Biogasanlagen genutzt (MARUSCHKE 2011).

Die erste Anlage in Deutschland entstand 2007 in Mecklenburg-Vorpommern (EHLERS 2012). In Sachsen bestehen derzeit zwei Aquakulturkreislaufanlagen zur Aufzucht Afrikanischer Welse. Mit 196 Tonnen Jahresproduktion im Jahre 2013 stand der Wels damit nach dem Karpfen (*Cyprinus carpio*), der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) und dem Stör (*Acipenser* spp.) an Platz vier

der Gesamtfischproduktion in Sachsen (ANON. 2014), im Jahr 2014 bereits an dritter Stelle vor dem Stör. Im Gegensatz zu den anderen Fischarten, deren Jahresproduktion stabil ist, steigt die der Clarias an (ANON. 2014).

Laut HAHLOWEG (2010) erreicht der Wels bei der Aufzucht in Kreislaufanlagen in ca. 140 bis 150 Tagen das Schlachtgewicht von 1,5 kg. Mit einer Zuwachsrate von mehr als 1,7 % pro Tag, einer Futtermittelverwertung von 0,85 kg/kg Körpergewicht sowie einer Überlebensrate von 85 % eignet sich diese Fischart hervorragend für die intensive Mast in Aquakultur. Festes, schmackhaftes, grätenfreies Fleisch und vielfältige Verarbeitungsmöglichkeiten zeichnen diesen Fisch außerdem aus. Aufgrund des hohen Gehaltes an Omega-3- und -6-Fettsäuren ist das Fischfleisch ernährungsphysiologisch sehr wertvoll (SCHWABBAUER 2013).

## **2.2 Schmerzen, Stress und Leiden bei Fischen**

### **2.2.1 Schmerzen**

Laut Artikel 3 der Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 sollen Fische bei der Tötung bzw. Schlachtung und damit zusammenhängenden Tätigkeiten vor vermeidbaren Schmerzen, Stress und Leiden verschont werden (ANON. 2009).

Schmerz kann als „unangenehme sensorische und gefühlsmäßige Erfahrung, die mit akuter oder potenzieller Gewebsschädigung einhergeht oder in Form solcher Schädigungen beschrieben wird“ definiert werden (MORITZ 2013). Diese Beschreibung umfasst eine emotionale Seite, welche als Voraussetzung für eine Schmerzwahrnehmung schwer zu objektivieren ist. Dies erschwert es zu beweisen, dass Fische ein Schmerzempfinden haben (MORITZ 2013). Laut SNEDDON (2004) ist davon auszugehen, dass Schmerz erfahren werden kann, wenn folgende Bedingungen erfüllt sind:

- Vorhandensein von Nozizeptoren
- Vorhandensein von Gehirnstrukturen zur Schmerzverarbeitung und von Leitungsstrukturen zu übergeordneten Gehirnarealen
- Vorhandensein von Opioidrezeptoren und endogenen Opioiden
- Reduzierung der Schmerzantwort durch Analgetika
- Fähigkeit zur Entwicklung von Meideverhalten gegenüber schmerzauslösenden Reizen
- Störung bzw. Aussetzen des normalen Verhaltens unter Einwirkung von Schmerzreizen

Die anatomischen Voraussetzungen in Form der Rezeptoren und Leitungsbahnen konnten u.a. bei Regenbogenforellen und Goldfischen nachgewiesen werden (SNEDDON et al. 2003a; DUNLOP und LAMING 2005; ASHLEY et al. 2007). Dass Fische auch die biochemischen und neuropharmakologischen Voraussetzungen für eine Schmerzwahrnehmung erfüllen, konnten MACHIN (2001) und SNEDDON (2003b) zeigen. Letztere bewies auch die Wirkung schmerzhemmender Substanzen an Regenbogenforellen, denen Essigsäure in die Lippen verabreicht worden war (SNEDDON 2003a). Anders als höhere Wirbeltiere besitzen Fische keinen

Neocortex, in welchem die bewusste Schmerzwahrnehmung und -verarbeitung bei diesen stattfindet (ROSE et al. 2012). Aber u.a. PORTAVELLA et al. (2004) konnten zeigen, dass bei Fischen andere Großhirnbereiche (Telencephalon) für die Schmerzverarbeitung zuständig sind. Fische können lernen, schmerzhafte Reize zu meiden. Dies beobachteten BEUKEMA (1970) an Karpfen, SNEDDON et al. (2003a) an Forellen und DUNLOP und LAMING (2005) an Goldfischen. Forellen, die Schmerzreizen ausgesetzt wurden, zeigten komplexe Antworten, welche sich vom normalen Verhalten der Kontrollfische unterschieden und über Reflexe hinausgingen (SNEDDON et al. 2003b). Andere Autoren dagegen sprechen den Fischen ein Schmerzempfinden ab und führen dazu u. a. den maximal rudimentär ausgebildeten Neocortex als Ort der Schmerzempfindung („No brain-no pain“-Theorie) oder das Fehlen der bei Säugern für die Schmerzweiterleitung wichtigen C-Fasern an (ROSE et al. 2012). MORITZ (2013) und SNEDDON (2015) dagegen widerlegten diese Darstellung und schlussfolgern, dass Schmerz beim Fisch unstrittig vorhanden sei. Sie führen gegen die „No brain-no pain“-Theorie beispielsweise an, dass im Telencephalon von Fischen den Neuronen des Neocortex der höheren Vertebraten homologe Strukturen beschrieben wurden, welche VERHEIJEN und FLIGHT (1997) als „emotional brain“ (emotionales Gehirn) bezeichnen.

### 2.2.2 Stress

CHROUSOS (1992) definierte Stress als einen Zustand, in welchem das dynamische Gleichgewicht eines Organismus, Homöostase genannt, bedroht oder gestört ist, als Folge der Wirkung innerer oder äußerer Stimuli, allgemein als Stressoren bezeichnet.

Schlacht- und Betäubungsmaßnahmen, damit zusammenhängende Tätigkeiten aber auch die Haltung an sich sind Stressoren, denen Fische in der Aquakultur ausgesetzt sein können und die das homöostatische Gleichgewicht stören können. Eine Stressantwort, welche in eine primäre, sekundäre und tertiäre unterteilt werden kann, ist eine adaptive Reaktion des Körpers auf eine solche Gefährdung der Homöostase (BARTON 2002; ASHLEY 2007). Sie dient also in erster Linie dem Schutz des Individuums. Zieht man Ähnlichkeiten in Neuronenstruktur, neuronaler Biochemie sowie Stressantwort und Verhalten von höheren Vertebraten und Fischen in Betracht, muss laut LAMBOOIJ et al. (2003) von einer nachteiligen Beeinflussung des Wohlbefindens von Fischen durch den Schlachtprozess ausgegangen werden.

Die primäre Stressantwort des Fisches besteht in der Ausschüttung von Catecholaminen (Adrenalin und Noradrenalin) und der Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Interrenal-Achse mit der Folge der Synthese und, etwas zeitverzögert, Ausschüttung von Glukocorticoiden (Cortisol bei Echten Knochenfischen) aus den interrenalischen Zellen (GRONOW 1974; WENDELAAR BONGA 1997). Diese befinden sich als diffuses Organ in der Kopfniere, nahe den hinteren Kardinalvenen (*Venae cardinales posteriores*) (JANZ 2000).

Catecholamine und Cortisol initiieren die sekundäre und tertiäre Stressantwort. Die sekundäre Stressantwort ist durch eine Mobilisierung von Energiereserven – durch Glykogenolyse und Glukoneogenese – gekennzeichnet (BARTON und IWAMA 1991; WENDELAAR BONGA 1997). Außerdem kommt es bei erhöhter Muskelaktivität durch anaerobe Glykolyse zu einer Erhöhung des

## LITERATURÜBERSICHT

---

Plasmalaktatspiegels. Weiterhin wird die Sauerstoffaufnahme durch Erhöhung von Herzminutenvolumen, Kiemendurchblutung und Sauerstoffaffinität des Hämoglobins gesteigert (OIDTMANN und HOFFMANN 2001). Auch die Ionen- und Elektrolytregulation über Darm, Niere und Kiemen wird durch Cortisol beeinflusst. Verschiebungen in den Plasmakonzentrationen verschiedener Elektrolyte sind die Folge (JANZ 2000). Die Effekte der Stresseinwirkung auf die Hydromineralbalance sind bei Fischen, als aquatisch lebende Wirbeltiere, wesentlich stärker als bei terrestrischen Vertebraten (WENDELAAR BONGA 1997).

Die tertiäre Stressantwort schließlich umfasst die Anpassungsmechanismen des Fisches, insbesondere bei lang andauerndem oder wiederholtem Stress (ASHLEY 2007). Sie ist gekennzeichnet durch Verschlechterung von Wachstums-, Reproduktions- und Stoffwechselrate, weiterhin durch Verhaltensänderungen und einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Infektionen (WEDEMEYER und MCLEAY 1981; BARTON und IWAMA 1991). Außerdem kommt es zu typischen, histologisch feststellbaren Gewebeerkrankungen, wie beispielsweise einer Atrophie der Magenmukosa, Hypertrophie und Hyperplasie der Interrenalzellen sowie deren Kernwachstum und Veränderungen im blutbildenden Gewebe von Milz und Kopfniere (PETERS 1979). Die Erfassung der tertiären Stressantwort eignet sich im Besonderen für die Bewertung von Wohlbefinden in Aquakultur (WEDEMEYER und MCLEAY 1981; ASHLEY 2007).

Viele der primären, sekundären und tertiären Stressantworten können als quantitative Stressindikatoren herangezogen werden. Jedoch muss bei der Interpretation stets eine mögliche Beeinflussung dieser Parameter durch „Nicht-Stress-Einflüsse“ bedacht werden. Neben der Verhaltensbeurteilung eignet sich also zur Abschätzung einer Belastung der Fische die Bestimmung diverser Stoffe im Blut. So ist beispielsweise Cortisol, als Indikator der primären Stressantwort, ein solider Messparameter, welcher innerhalb weniger Minuten nach Einwirkung eines akuten Stressors ansteigt und innerhalb einer bis mehrerer Stunden wieder auf Normallevel abfällt (BARTON und IWAMA 1991; WENDELAAR BONGA 1997). Der Anstieg der Konzentration der Catecholamine im Blut geschieht schneller und, bei akuter Stressoreinwirkung, kürzer andauernd als der Cortisolanstieg. Allerdings macht dies die Messung auch problematischer (BARTON und IWAMA 1991; WENDELAAR BONGA 1997). Weiterhin geht eine Stressbelastung durch die oben beschriebenen Abläufe mit einer messbaren Erhöhung der Blutglukose- und -laktatgehalte einher (ARENDS 1999). Schließlich ist die Beeinflussung des Elektrolythaushaltes der Fische als Anstieg der Natrium- und Chloridkonzentration sowie als Abfall der Kaliumkonzentration im Blut messbar (HELLMANN et al. 2014). Schlussendlich können auch hämatologische Fragestellungen bei der Beurteilung einer Stressbelastung hilfreich sein. So ist zum Beispiel die Bestimmung des Hämatokrits als leicht messbare Größe ein geeignetes Mittel um eine Zunahme der Erythrozytenzahl und -größe infolge des Einwirkens von Stressoren festzustellen (WENDELAAR BONGA 1997).

## 2.2.3 Leiden

Gemäß dem Bundesgerichtshof (BGH) sind Leiden „alle nicht bereits vom Begriff des Schmerzes umfassten Beeinträchtigungen im Wohlbefinden, die über ein schlichtes Unbehagen hinausgehen und eine nicht ganz unwesentliche Zeitspanne fort dauern“ (BGH 1987). MORITZ (2013) sieht Stress als Hauptursache von Leiden bei Fischen. Damit ist Leid durch die Effekte der zuvor bereits beschriebenen primären, sekundären und tertiären Stressantwort mess- und belegbar. Weiterhin beinhaltet die Definition, dass Leid mit einer Beeinträchtigung des Wohlbefindens einhergeht. Regelmäßige Anzeichen des Wohlbefindens sind laut LORZ und METZGER (1999) Gesundheit und ein in jeder Beziehung normales Verhalten. POLLMANN und SCHANZ (2006) sehen hier die Möglichkeit der Erfassung von Leiden, da Normalverhalten in Ausprägung, Dauer und Häufigkeit des Auftretens sowie Abweichungen davon gut feststellbar ist.

## 2.3 Betäuben und Schlachten von Fischen

### 2.3.1 Rechtliche Situation

Entsprechend dem Tierschutzgesetz (§ 4) und der bundesdeutschen Tierschutz-Schlachtverordnung (TierSchIV, § 12) sind Wirbeltiere vor der Tötung bzw. Schlachtung grundsätzlich zu betäuben (ANON. 2006; ANON. 2012a). Die Betäubung soll dabei schnell und unter Vermeidung von Schmerzen oder Leiden zu einem bis zum Tod anhaltenden Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit führen.

Zulässige Betäubungsmethoden für Fische sind nach TierSchIV (Anlage 1 Nr. 9):

- stumpfer Schlag auf den Kopf
- Elektrobetäubung
- Verabreichung eines Stoffes mit Betäubungseffekt
- Kohlendioxidexposition (nur für Salmoniden) (ANON. 2012a).

Die Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 des Rates über den Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Tötung enthält allgemeine Regelungen für Fische. So wird in Artikel 3 gefordert, dass bei der Tötung bzw. Schlachtung und damit zusammenhängenden Tätigkeiten Fische vor vermeidbaren Schmerzen, Stress und Leiden verschont bleiben sollen. Methoden zur Betäubung bzw. Tötung von Fischen werden nicht aufgeführt (ANON. 2009). Die Notwendigkeit zur Festlegung detaillierter Vorschriften für Fische wird gesehen, gleichzeitig allerdings auf unzureichende wissenschaftliche Erkenntnisse verwiesen. Weitere Initiativen der Europäischen Gemeinschaft sollen sich auf eine wissenschaftliche Bewertung der EFSA zur Schlachtung und Tötung von Fischen stützen (EFSA 2004).

Bisher hat die EFSA sieben artspezifische Gutachten zu den Tierschutzaspekten von Betäubungs- und Tötungsmethoden für Zuchtfische veröffentlicht. Im Einzelnen betrifft dies den Atlantischen Lachs (*Salmo salar*), den Karpfen (*Cyprinus carpio*), den Aal (*Anguilla anguilla*), die Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), die Goldbrasse (*Sparus aurata*), den Europäischen Wolfsbarsch (*Dicentrarchus labrax*), den Roten Thun (*Thunnus thynnus*) sowie den Steinbutt (*Scophthalmus maximus*) (EFSA 2009a; 2009b; 2009c; 2009d; 2009e; 2009f; 2009g). Mit diesen

Dokumenten wird das Gutachten zu Tierschutzaspekten des Betäubens und Tötens der wichtigsten kommerziell genutzten Tierarten aus dem Jahr 2004, in dem allgemeine Schlussfolgerungen und Empfehlungen enthalten sind, aktualisiert. Ein Gutachten zur Betäubung und Schlachtung des Afrikanischen Welses existiert noch nicht.

Die Betäubung soll unmittelbar einen Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit hervorrufen, der bis zum Tod anhält (EFSA 2004; AVMA 2013; OIE 2015). Erfolgt der Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit nicht unmittelbar, darf das Betäubungsverfahren keine Schmerzen, Leiden bzw. Stress verursachen (EFSA 2004). Die American Veterinary Medical Association (AVMA 2013) zieht als Beurteilungskriterium neben der Zeit bis zum Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit auch die Fähigkeit der betreffenden Methode, während des Zeitraumes bis zum Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit und bis zum Tod mit so wenig Schmerzen und Leiden wie möglich für das Tier verbunden zu sein, heran.

Die EFSA sieht in ihren Gutachten zur Betäubung von Atlantischem Lachs, Regenbogenforelle, Wolfsbarsch, Goldbrasse und Steinbutt die Forderung nach einem unmittelbaren Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit gegeben, wenn dieser in weniger als einer Sekunde erfolgt (EFSA 2009a; 2009d; 2009e; 2009g).

Aus der Sicht des Tierschutzes ist eine irreversible Betäubung vorzuziehen, die unmittelbar zum Tod des Tieres führt, da ein Wiedererlangen der Empfindungs- und Wahrnehmungsfähigkeit vor bzw. bei dem Entblutungsvorgang ausgeschlossen werden kann (ANON. 2012b).

### **2.3.2 Betäubungsverfahren**

#### **2.3.2.1 Mechanische Betäubungsverfahren**

Eine mechanische Betäubung erfolgt ohne oder mit einer unmittelbaren Zerstörung von Gehirnstrukturen. Durch einen Schlag auf den Kopf kann eine schwere Gehirnerschütterung verbunden mit einer Betäubung hervorgerufen werden. Eine Betäubung mit unmittelbarer Zerstörung von Gehirnstrukturen wird durch eine Penetration des Schädelknochens erreicht. Es dringen ein Dorn, eine Nadel bzw. ein Bolzen durch Druck in den Schädel ein und zerstören dabei Teile des Gehirns. An Schweinen wurde die Möglichkeit der mechanischen Betäubung durch einen Hochdruckwasserstrahl untersucht (SCHATZMANN et al. 1990; LAMBOOIJ und SCHATZMANN 1994). Die Schweine wurden dabei nicht nur betäubt, sondern durch die massive Zerstörung des Gehirns gleichzeitig getötet. Das Verfahren erreichte allerdings keine Praxisreife.

Der Kopfschlag ist für die Betäubung von Fischen zugelassen, eignet sich aber nur bedingt für die Betäubung von größeren Fischen bzw. Fischen mit starken Kopfknochen (BAICI 2004; FAO 2008). Laut HELLMANN et al. (2014) schützen der stark ausgebildete Schädelknochen der Afrikanischen Welse sowie der das Gehirn umgebene Fettkörper dieses wirksam vor äußeren Einflüssen und erschweren den unmittelbaren Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens bei dieser Betäubungsmethode. Eine sichere Betäubung wird nur erreicht, wenn der Schlag mit großem Kraftaufwand auf die richtige Stelle des Kopfes ausgeführt wird. Durch den Schlag kann es außerdem zu Verletzungen des Atemorgans verbunden mit erheblichen Belastungen für die Fische kommen.



SENGMÜLLER-SIEBER (1999) benötigte in ihren Untersuchungen mehrere Kopfschläge, um die eingesetzten Europäischen Welse (*Silurus glanis*) zu betäuben. Darüber hinaus ist die Betäubung per Kopfschlag für die Schlachtung einer großen Zahl von Fischen unter praktischen Gesichtspunkten problematisch (HOFFMANN und OIDTMANN 1997; TUENGERHAL 2015; HARTER 2016). Allerdings findet die Betäubung des Afrikanischen Welses per Kopfschlag in praxi durchaus Anwendung (persönliche Mitteilung: Dirk Kleingeld, Leipzig, 15.01.2016). In der Lachsindustrie werden halbautomatische Verfahren eingesetzt, die bei richtigen Einstellungen eine hohe Quote korrekt betäubter Lachse (99 %) erreichen (EFSA 2004).

WEDEKIND et al. (2014) prüften die Eignung zweier Bolzenschussgeräte für die Betäubung von Afrikanischen Welsen. Der eingesetzte Kleintierschussapparat mit Federzug führte nur bei Welsen bis 900 g Lebendmasse zu einer Durchdringung des Schädeldaches. Größere Welse ( $\geq 900$  g) konnten mit einem explosionsgesteuerten Bolzenschussgerät für Ziegen und Schafe unmittelbar und zuverlässig betäubt werden. Voraussetzung dafür waren allerdings die sichere Fixierung der einzelnen Welse sowie die korrekte Platzierung des Bolzenschussgerätes über dem Gehirn.

HELLMANN et al. (2014) wiesen darauf hin, dass eine genaue Lokalisation des Gehirns schwierig ist und damit ein hohes Risiko für eine falsche Ausführung verbunden mit schwersten Verletzungen der Welse ohne Wahrnehmungsverlust besteht.

Ein weiteres mechanisches Verfahren zur Betäubung von Welsen stellt der Einsatz einer Druckluft-Nadelpistole („captive needle pistol“) dar. LAMBOOIJ et al. (2003) konnten bei korrektem Ansatz des Schussapparates 93 % der untersuchten Afrikanischen Welse effektiv betäuben (Bewertung auf der Grundlage der ermittelten Elektroenzephalogramme (EEG)). Die Betäubung beruhte hierbei weniger auf der Zerstörung des Gehirns beim Eindringen der Nadel in den Schädel mit einem Druck von 8 bar, als vielmehr auf der über 1,5 Sekunden injizierten Luft mit einem Druck von 3 bar. Nach der Betäubung zeigten die Welse für  $38 \pm 50$  s unkoordinierte krampfartige Schwimmbewegungen. Die Druckluftpistole wurde auch erfolgreich hinsichtlich ihrer Eignung zur Betäubung von Aalen erprobt (LAMBOOIJ et al. 2002a).

Als mechanisches Verfahren zugelassen ist nach der bundesdeutschen TierSchIV der stumpfe Schlag auf den Kopf.

### **2.3.2.2 Elektrische Betäubungsverfahren**

Untersuchungen an verschiedenen Fischarten (u.a. Atlantischer Kabeljau (*Gadus morhua*), Steinbutt, Aal, Europäischer Wolfsbarsch, Forelle, Atlantischer Lachs) ergaben, dass die elektrische Betäubung zu einem Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens führen kann (MORZEL et al. 2002; DIGRE et al. 2010; LAMBOOIJ et al. 2013). In Abhängigkeit von den Parametern (Feldstärke, Spannung, Stromstärke, Frequenz, Wechsel- oder Gleichstrom, Stromflusszeit) kommt es zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Bewusstlosigkeit oder sogar zum Tod der Fische.

KESTIN et al. 2002 weisen darauf hin, dass bei nicht ausreichender Feld- bzw. Stromstärke eine Immobilisation der Fische ohne Eintritt von Bewusstlosigkeit auftreten kann. Nach Einwirkung des

Stromes zeigen die Tiere dann nicht die üblichen tonisch-klonischen Krämpfe, sondern vielmehr eigeninitiierte Bewegungen.

Für einige Fischarten, werden bereits automatisierte Verfahren eingesetzt (DIGRE et al. 2010).

Die Elektrobetäubung kann auch beim Wels zu einem generalisierten epileptiformen Anfall, einhergehend mit dem sofortigen Verlust des Wahrnehmungs- und Empfindungsvermögens, führen. LAMBOOIJ et al. (2004) erreichten bei der reinen Kopfdurchströmung mit relativ hoher Stromdichte ( $629 \pm 180$  mA,  $362 \pm 32$  V, 50 Hz, über 1,2 s) eine effektive Betäubung bei 91 % (Nachweis über EEG) der 37 untersuchten Welse. Der Zustand der Wahrnehmungslosigkeit konnte für  $23 \pm 8$  s aufrechterhalten werden, so dass im Anschluss ein sofortiges Entbluten oder ein Verbringen in Eiswasser erfolgen sollte.

SATTARI et al. (2010) erreichten mit Kontaktelektroden am Kopf bei einer Kombination von Gleich- und Wechselstrom ( $0,36 \pm 0,23$  A/dm<sup>2</sup>, 150 V, 100 Hz für 1 s) eine effektive Betäubung von 78 % der Welse ( $n_{\text{gesamt}} = 28$ ). Die Autoren untersuchten ebenfalls die Kombination von Elektrobetäubung (150 V für ca. 5 s) und anschließender Eiswasserbehandlung bzw. von Elektrobetäubung (150 V für ca. 9 s) und nachfolgender Dekapitation. Auf der Grundlage ihrer Ergebnisse empfehlen die Autoren die Kombination aus elektrischer Kopfdurchströmung und einer nachfolgenden Dekapitation.

Neben der Kopfdurchströmung als sogenannte trockene Betäubung werden Fische auch im Wasserbad elektrisch betäubt (VAN DE VIS et al. 2003). Im Gegensatz zu anderen Fischarten sind beim Afrikanischen Wels allerdings sehr hohe Stromdichten erforderlich (HELLMANN et al. 2014). LAMBOOIJ et al. (2006a) untersuchten die Elektrobetäubung von Einzeltieren im Wasserbad (Leitfähigkeit 500  $\mu$ S) bei einer Stromdichte von 1,5 A/dm<sup>2</sup> (300 V, 50 Hz) für 5 s mit sich anschließender Dekapitation bzw. Lebendkühlung. 91 % der Tiere konnten dabei effektiv betäubt und getötet werden. Die elektrisch betäubten und anschließend gekühlten Tiere zeigten auch nach Umsetzen in Wasser mit einer Temperatur von 20 °C keine Erholungserscheinungen.

LAMBOOIJ et al. (2006b) konnten in einem weiteren Versuch durch elektrische Betäubung im Wasserbad (ca. 1,6 A/dm<sup>2</sup>, 300 V, 50 Hz, 876  $\mu$ S, Stromflussdauer 1 s) einen epileptiformen Anfall von  $28 \pm 8$  s Dauer bei mindestens 88 % der Welse erreichen. Die Autoren empfehlen eine sich unmittelbar an die Elektrobetäubung anschließende Dekapitation der Welse.

KNÜSEL und SIEBENTHAL (2016) beschrieben ein in der Schweiz eingesetztes Elektrobetäubungsgerät für Speisefische. Zur Betäubung und anschließenden Tötung von Afrikanischen Welse floss hier über 40 s Gleichstrom, gefolgt von einem Umschalten auf Wechselstrom über einen Zeitraum von vier Minuten und 40 s. Angaben zu weiteren elektrischen Parametern konnten nicht gemacht werden.

HELLMANN et al. (2014) simulierten die elektrische Durchströmung des Kopfes beim Wels. Die Berechnungen weisen darauf hin, dass die anatomischen Gegebenheiten der Afrikanischen Welse (massive Anlage des Schädels, Einbettung des Gehirns in eine fettartige Masse) zu einer Abschirmung des Gehirns vom angelegten elektrischen Feld führen. Die Autoren schlussfolgern, dass die Elektrobetäubung keine sichere Betäubungsmethode für Welse darstellt, da keine

ausreichende Durchströmung des Gehirns und damit auch keine sichere Betäubung gewährleistet werden kann.

### 2.3.2.3 Hypothermie

Die Lebendkühlung führt über eine Reduzierung der Körpertemperatur bei wechselwarmen Tieren zu einer Immobilisierung sowie zu einer Reduzierung der Sensitivität gegenüber äußeren Reizen (ROBB und KESTIN 2002).

Laut denselben Autoren stellt die Eiswasserkühlung (live-chilling) bei Farmfischen eine verbreitete Methode dar, die mit arbeitswirtschaftlichen und lebensmittelhygienischen Vorteilen verbunden ist. So können eine große Zahl von Tieren gleichzeitig betäubt und die Fische danach besser weiterverarbeitet werden, da sie durch die Eiswasserbehandlung bereits entschleimt und gekühlt sind. Für viele Arten liegen Untersuchungsergebnisse vor: Regenbogenforelle (KESTIN et al. 1991), Steinbutt (MORZEL et al. 2002; LAMBOOIJ et al. 2013), Aal (LAMBOOIJ et al. 2002b), Atlantischer Lachs (SKJERVOLD et al. 2001) und auch für den Afrikanischen Wels (LAMBOOIJ et al. 2006a; LAMBOOIJ et al. 2006b; SATTARI et al. 2010; HELLMANN et al. 2014). Allerdings wird bei der Eiswasserkühlung der Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit nicht unmittelbar, sondern erst nach längerer Zeit erreicht. Außerdem ist der Vorgang für die Tiere nachweislich mit Stress verbunden. Darauf weisen gestiegene Cortisolspiegel hin (SKJERVOLD et al. 2001; HELLMANN et al. 2014). Andere Anzeichen von Stress wie eine gesteigerte Herzfrequenz konnten ebenso beobachtet werden (LAMBOOIJ et al. 2002b). Nach Einschätzung der EFSA (2004) sollte die Eiswassermethode deshalb nicht als Betäubungsmethode eingesetzt werden.

In Untersuchungen von LAMBOOIJ et al. (2006b) zeigten Afrikanische Welse nach dem Einsetzen in  $0,1 \pm 0,5$  °C kaltes Eiswasser aversive Schwimmbewegungen, gefolgt von klonischen Muskelkrämpfen und einer deutlichen, möglicherweise stressinduzierten Tachykardie, sowie letztendlich einer Bewegungsunfähigkeit. Bei den Welsen konnten nach 12,5 Minuten (Median; Variationsbreite von 5 bis 20 Minuten) bei einer Körpertemperatur von  $13,7 \pm 2,6$  °C keine Verhaltensreaktionen auf Schmerzreize mehr festgestellt werden. Basierend auf EEG-Untersuchungen an 22 Tieren waren nach dieser Absenkung der Körpertemperatur mindestens 87 % der Welse wahrnehmungs- und empfindungslos.

Bei Untersuchungen von HELLMANN et al. (2014) konnte nach einer Zeitspanne von fünf bis 15 Minuten nach Einsetzen in Eiswasser ein Verlust von visuell evozierten Reaktionen (VERs) im EEG als Anzeichen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit festgestellt werden. Voraussetzung war ein komplettes Bedecken der Welse mit Eiswasser. Die Autoren vermuten, dass durch den thermischen Schock ein Verlust der Hirnfunktion bewirkt wird. Eine Erhöhung der Cortisolkonzentration auf  $425,6 \pm 138,0$  ng/ml nach dem Einsetzen in Eiswasser (gegenüber einem Basiscortisolgehalt von  $19 \pm 19,5$  ng/ml, ermittelt in der Haltung bei 28 °C) spricht nach HELLMANN et al. (2014) für eine deutliche Belastungsreaktion. Ausgehend von den bisher durchgeführten Untersuchungen ist davon auszugehen, dass die Tiere bei der Lebendkühlung erst nach einem längeren Zeitraum in den Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit übergehen und

dass dieser Übergang mit Belastungen für die Tiere verbunden ist. Im Vergleich dazu maßen die Autoren bei Tieren nach dem Abfischen und Transport eine Cortisolkonzentration von  $289 \pm 60,8$  ng/ml. Die Hypothese, nach der die Welse im Eisschlamm ersticken (EFSA 2004), konnte widerlegt werden, da sich die Tiere nach Einsetzen in wärmeres Wasser erholten.

GRABER (2007) empfiehlt ein langsames Herunterkühlen der Welse auf 10 °C über zwölf Stunden durch automatische Zugabe von Eis. So sollen die Fische in einen Zustand der Bewusstlosigkeit und Schmerzunempfindlichkeit und somit in einen Betäubungszustand gebracht werden. TUENGERTHAL et al. (2012) empfehlen einen Temperaturrückgang von 28 °C auf 10 °C innerhalb von zwei Tagen. Durch das langsame Herunterkühlen sollen im Gegensatz zum Einsetzen der Fische in Eiswasser mit plötzlicher Temperaturabsenkung von 20 bzw. 15 °C auf ca. 0,1 °C Stress reduziert und eine gute Fleischqualität garantiert werden.

Die Hypothermie bzw. Eiswasserkühlung stellt keine nach TierSchlV zugelassene Betäubungsmethode dar (ANON. 2012a). Eine sich an eine tierschutzgerechte Betäubung unmittelbar anschließende Eiswasserbehandlung bei Gewährleistung des Zustandes der bis zum Tod andauernden Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit wäre dagegen möglich (FLI 2014).

### **2.3.2.4 Sonstige Betäubungsverfahren**

Die Nutzung von Kohlendioxid ist nach TierSchlV nur für Salmoniden erlaubt (ANON. 2012a).

ROBB et al. (2000a) konnten eine Empfindungslosigkeit bei Atlantischen Lachsen nach sechs Minuten in mit Kohlendioxid gesättigtem Wasser feststellen. Bei Fischarten, die unempfindlicher gegen Kohlendioxid sind, kann dies wesentlich länger dauern (ROBB und KESTIN 2003). Bedingt durch den verzögerten Eintritt der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit warnt die EFSA (2004) vor der Schlachtung immobilisierter, aber nicht ausreichend betäubter Fische.

Eine weitere zugelassene Betäubungsmethode stellt die Verabreichung eines Stoffes mit Betäubungseffekt dar (ANON 2012a). Allerdings werden dazu Stoffe benötigt, die lebensmittelhygienisch unbedenklich sind.

OETINGER (2003) untersuchte die Betäubungswirkung von Nelkenöl (Wirkstoff: Eugenol) an Regenbogenforellen und konnte dabei nur geringe Stresserscheinungen beobachten. An den Schlachtkörpern traten minimale Geschmacksabweichungen auf.

Auf der Basis von Isoeugenol wird AQUI-S™ (AQUI-S New Zealand) kommerziell in Australien, Chile und Neuseeland bei der Schlachtung als Sedativum verwendet (EFSA 2004). ROBB et al. (2000b) konnten bei Regenbogenforellen nach 30 Minuten eine tiefe Narkose mit AQUI-S erreichen.

Eine Möglichkeit, Schlachttiere in sehr kurzer Zeit zu betäuben, besteht in der Anwendung von Laserstrahlen (POPP et al. 2000). Mit dem energiereichen Laserstrahl kann eine lokal begrenzte Zerstörung von Gewebe in weniger als einer Sekunde erreicht werden. Bei genau lokalisierter Anwendung könnte durch die Zerstörung von Gehirnarealen eine (irreversible) Betäubung erreicht werden. Dazu ist die sichere Fixation des Tieres sowie Lokalisation des Gehirns vorauszusetzen.

### 2.3.3 Beurteilung des Betäubungserfolges

Voraussetzung für die Beurteilung des Betäubungserfolges ist die sichere Feststellung, ob sich das betäubte Tier im Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit befindet. In praxi ist es schwierig zu bestimmen, wann und wie schnell ein Fisch empfindungslos wird (KESTIN et al. 2002). Laut KESTIN et al. (2002) eignen sich zwei Untersuchungsansätze zur Abschätzung des Bewusstseinszustandes eines Fisches: Auf der einen Seite stellen die Beobachtung und Auswertung von Verhaltensweisen eine einfache, nicht invasive Möglichkeit dar, die besonders für die Anwendung im Feld geeignet ist. Andererseits bringen EEG-basierte Methoden valide Aussagen über Antworten und Funktionen des Gehirns. Diese eignen sich aber wegen ihrer Invasivität und ihrer technischen und zeitlichen Anforderungen nur für Studien im Labor.

Laut EFSA (2004) kann die Messung der Gehirnströme in Form spontaner Messungen mit Analyse von Wellenform, Amplitude und Frequenz erfolgen. Hierbei weisen Veränderungen, die mit dem Zustand des Bewusstseins nicht kompatibel sind, auf eine erfolgreiche Betäubung hin. Diese Veränderungen können sich als Grand-Mal-Anfall in Form einer tonisch-klonischen, generalisierten Epilepsie, welche grundsätzlich mit Bewusstlosigkeit einhergeht, als Wellen hoher Amplitude und niedriger Frequenz oder aber als andauernde Inaktivität mit weniger als 10 % der vor der Betäubung gemessenen Aktivität äußern.

Weiterhin ist die Aufzeichnung von evozierten Potentialen, welche als Antwort auf einen äußeren Reiz im EEG sichtbar werden, eine Möglichkeit, die Hirnfunktion einzuschätzen. Ein Ausbleiben dieser evozierten Potentiale nach einem Stimulus bedeutet eine Dysfunktion der jeweils getesteten, einfachen Leitungsbahnen und weist auf den Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit hin (KESTIN et al. 1991; ROBB et al. 2000a). Solche Stimuli können beispielsweise Lichtreize oder aber Elektro- oder Schmerzreize sein. Im ersteren Fall erwartet man als Reaktion sog. visuell evozierte Potentiale (VER). In zweitem Fall tritt die Antwort als somatosensorisch evozierte Reaktion (SER) auf.

Verhaltensmerkmale, die beim Fisch zur Beurteilung des Bewusstseinszustandes herangezogen werden können, sind einerseits selbstinitiierte Verhaltensweisen, wie zum Beispiel koordinierte Schwimmbewegungen und das Halten des Gleichgewichtes. Andererseits können Antworten auf Stimuli, wie beispielsweise das Ergreifen der Schwanzflosse oder die Applikation eines Schmerzreizes (Stich, Elektrostimulus) Hinweise auf den Bewusstseinszustand geben. Schließlich sind klinische Reflexe, wie der Augendrehreflex (Vestibulo-Ocular-Reflex) und der Atemreflex wichtige Hilfsmittel (KESTIN et al. 2002; EFSA 2004). Ist die Reaktion bei einem oder mehrerer dieser Tests positiv, kann laut KESTIN et al. (2002) nicht von einem Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit ausgegangen werden. Umgekehrt warnen die Autoren davor, bei nicht gezeigten Verhaltensmerkmalen sicher auf eine Bewusstlosigkeit zu schließen. Ein fehlender Augendreh- sowie Atemreflex dagegen sind sichere Zeichen der Bewusstlosigkeit (KESTIN et al. 2002; EFSA 2004).

### 2.3.4 Produktqualität

Neben der Tiergerechtigkeit spielt auch die Beeinflussung der Produktqualität des Lebensmittels Fisch durch die jeweilige Betäubungsmethode eine große Rolle. So kann eine Stressbelastung des Fisches vor und/oder während der Schlachtung durch Beeinflussung von *post mortem* ablaufenden physiologischen und biochemischen Reaktionen und Prozessen zu erheblichen Einbußen der Fischfleischqualität führen. Stress unmittelbar vor der Schlachtung („short term stress“) führt durch verstärkten Glykogenabbau und damit verbundener Laktatanhäufung zu einem pH-Wert-Abfall, besonders bezogen auf den initial gemessenen pH-Wert (MORZEL et al. 2002). In der Muskulatur von Fischen, die vor dem Schlachtprozess einem Langzeitstress („long term stress“) ausgesetzt waren, sind die Glykogenreserven erschöpft, der pH-Wert fällt demnach weniger stark. Fleisch mit niedrigem Anfangs-pH-Wert infolge von short term stress ist blass, weich und wässrig (pale, soft and exudative – PSE meat) als Zeichen einer Eiweißdenaturierung. Long term stress dagegen kann zu dunklem, festem und trockenem Fleisch (dark, firm and dry – DFD meat) führen. Beide Phänomene sind in warmblütigen Schlachttieren beschrieben, werden aber auch in Fischen vermutet (MORZEL und VAN DE VIS 2003; LAMBOOIJ et al. 2006a). Da laut POLI et al. (2005) und ASHLEY (2007) eine Minimierung von belastenden Situationen vor und während der Schlachtung zu einer besseren Produktqualität führt, ist eine Verbindung von Tierschutz und Produktqualität keinesfalls ein Widerspruch (ROBB und KESTIN 2002).

Der Einfluss verschiedener Betäubungsmethoden auf die Qualität des Fischfleisches wurde in diversen Studien untersucht. So wurden im Zusammenhang mit der Elektrobetäubung Wirbelbrüche, Rippenfrakturen und Rückenmarksverletzungen sowie Blutgefäßrupturen, einhergehend mit Blutungen in die Muskulatur beschrieben (SENGMÜLLER-SIEBER 1999; BRETZINGER 2001; ROTH et al. 2003; DIGRE et al. 2010). Solche Verletzungen sind nicht nur aus Tierschutzsicht unakzeptabel, sondern mindern auch den Wert des Lebensmittels (MICHIE 2001). Hervorgerufen werden diese Verletzungen durch starke Muskelkontraktionen, ausgelöst durch elektrische Stimulation des neuromuskulären Systems (ROTH et al. 2003). Die Bedeutung unterschiedlicher elektrischer Parameter bezüglich des Ausmaßes dieser Veränderungen wird diskutiert. LINES et al. (2003) und ROTH et al. (2003) erkannten in ihren Versuchen an Regebogenforellen bzw. Atlantischen Lachsen die Zeitdauer der elektrischen Durchströmung als Einflussfaktor. Während ROTH et al. (2003) auch einen Einfluss der elektrischen Feldstärke sahen, beschrieb RAPP (1996) eine Abhängigkeit von der Leitfähigkeit des Fisches sowie des Wassers im Betäubungsbad. LINES et al. (2003) und auch LINES und KESTIN (2004) stellten weiterhin fest, dass hohe Frequenzen (1000 Hz) weniger Blutungen als niedrige Frequenzen (50 Hz) auslösten. Auch Strommarken traten infolge der Elektrobetäubung auf (REIMERS 2008; RETTER 2014). In der letzteren Studie war die Häufigkeit des Auftretens der Strommarken von der Anordnung der Elektroden im Betäubungsbad abhängig.

Bezüglich der Lebendkühlung im Eiswasser sprechen einige Autoren von positiven Auswirkungen auf die Fleischqualität (SKJERVOLD et al. 2001; ERIKSON et al. 2006). Andere dagegen sehen Nachteile im Vergleich zum Kopfschlag oder zur Elektrobetäubung und Vorteile gegenüber der CO<sub>2</sub>-

## LITERATURÜBERSICHT

---

Betäubung (ROTH et al. 2002). Wieder andere konnten keine Unterschiede zwischen mittels Eiswasserbehandlung oder elektrischer Kopfdurchströmung betäubten Fischen feststellen, so zum Beispiel LAMBOOIJ et al. (2006a) und SATTARI et al. (2010) in ihren Untersuchungen an Claresse® (Kreuzung aus zwei Welsfischarten: *Heterobranchus longifilis* x *Clarias gariepinus*) und Clarias.

### 3 Tiere, Material und Methoden

#### 3.1 Versuchsaufbau

Zur Realisierung des Projektes wurden sowohl die Eiswasser- als auch die Elektrobetäubungsmethode mit verschiedenen Modifikationen sowie schließlich eine Kombination aus den jeweils besten Variationen der beiden Verfahren überprüft. Tabelle 1 zeigt die dazu durchgeführten Versuche.

Der Vorversuch diente der Validierung der anzuwendenden Untersuchungsmethoden.

Im Versuch 1a wurden drei verschiedene Varianten der Eiswasserbetäubung miteinander verglichen und die geeignetste ausgewählt. Diese Variante kam in den Versuchen 1b, 3 und 4 zum Einsatz. Im Versuch 1b wurden drei Vorkühltemperaturen hinsichtlich ihrer Auswirkungen auf die Betäubung geprüft.

Ziel des Versuches 2 war die Prüfung der Elektrobetäubung.

Für den Test der kombinierten Anwendung von Eiswasser- und Elektrobetäubung im Versuch 3 kamen die ausgewählten Varianten aus den Versuchen 1a, 1b und 2 zur Anwendung.

Schließlich wurde die Kombination von Eiswasser- und Elektrobetäubung im Versuch 4 unter Praxisbedingungen erprobt.

**Tabelle 1: Überblick über die durchgeführten Teilversuche**

Teilversuch	Untersuchungsziel
Versuch 0 (Vorversuch)	Methodenprüfung
Versuch 1a	Vergleich verschiedener Methoden der Eiswasserbehandlung
Versuch 1b	Vergleich verschiedener Methoden der Vorkühlung
Versuch 2	Erprobung der Elektrobetäubung
Versuch 3	Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung
Versuch 4	Erprobung im Praxisbetrieb

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die in den Versuchen verwendeten Geräte, Chemikalien und Verbrauchsmaterialien.

Im Folgenden werden die einzelnen Schritte und Maßnahmen näher erläutert.



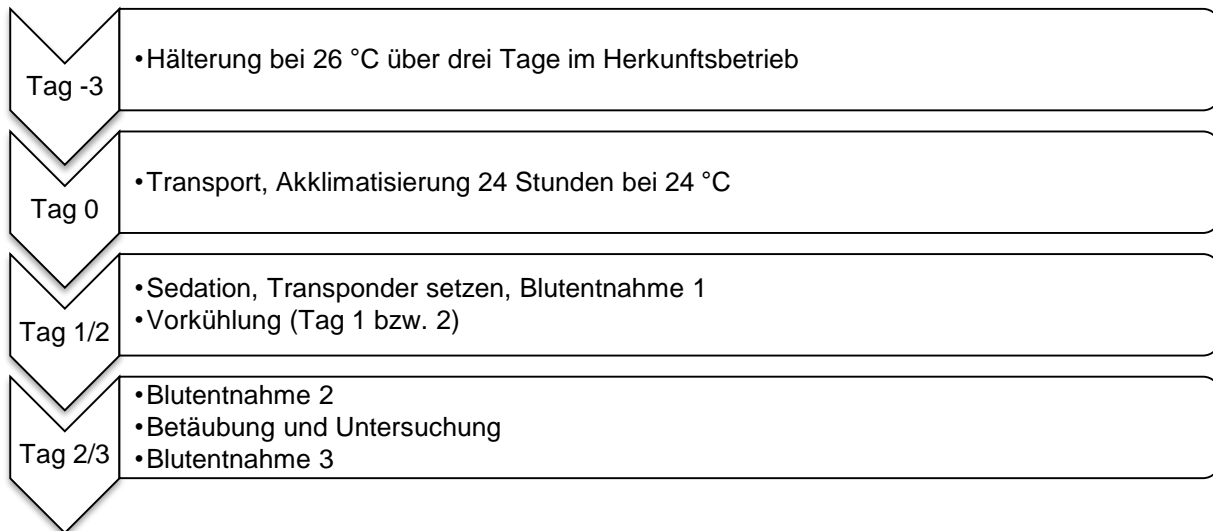
**Tabelle 2: Übersicht über die verwendeten Chemikalien, Geräte und Verbrauchsmaterialien**

Chemikalien/Geräte/Verbrauchsmaterialien	Hersteller
Blutentnahmeröhrchen S-Monovette® Z 4,5 ml	Sarstedt, Deutschland
Blutentnahmeröhrchen S-Monovette® FE 2.7 ml	Sarstedt, Deutschland
Datenlogger Ebi 300	Ebro Electronic WTW GmbH, Deutschland
Datenlogger MicroLite USB Temperature and Humidity Logger LITE5032P-RH	Fourtec Ltd., USA
Doppler Dopplex D900	HNE Huntleigh Nesbit Evans Healthcare GmbH, Deutschland
Durchlaufkühler Hailea HC 1000 A	Guangdong Hailea Group Co. Ltd., China
Einmalkanülen Sterican® Gr. 2, 0,80 x 40 mm	B. Braun Melsungen AG, Deutschland
Einmalspritzen Injekt® Duo, 10 ml	B. Braun Melsungen AG, Deutschland
Elektrobetäubungsanlage TBG 200	Hubert Haas – Fleischereimaschinen - e.K., Deutschland
Filterpumpe Fluval 405	Hagen Deutschland GmbH & Co. KG, Deutschland
Filterpumpe Eheim Professional 3	Eheim GmbH & Co. KG, Deutschland
Implantable Programmable Temperature Transponder: IPTT-200 bzw. 300	BioMedic Data Systems, Inc., USA
Hettich Universal 30F Zentrifuge, Rotortyp 1424 A	Andreas Hettich GmbH & Co.KG, Deutschland
Kurzzeitbetäubungsanlage Typ EC-2	Karl Schermer GmbH & Co. KG, Deutschland
MS-222 (Tricain/Tricainmethansulfonat)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Deutschland
Nelkenöl, 10 ml	Bombastus-Werke AG, Deutschland
pH-Indikator Lackmus-Test Papier-Streifen	Nova Health Products Limited, USA
Sauerstoffmessgerät DO-5509 - Dissolved Oxygen Meter	Lutron Electronics Co., Inc, USA
Tetra Test 6in1	Tetra GmbH, Deutschland

### 3.1.1 Herkunft der Fische

Die in dieser Studie verwendeten 378 Afrikanischen Welse stammten aus der Agrargenossenschaft eG Jesewitz (Sachsen), einer Fischzuchtanlage der Fischgut Mitte eG. Die schlachtreifen Welse hatten ein Gewicht von  $1,51 \pm 0,36$  kg und eine Körperlänge von  $55,70 \pm 5,09$  cm (MW  $\pm$  SD).

Jeder der Versuche folgte dem in Abbildung 1 dargestellten Versuchsplan.



**Abbildung 1: Versuchsablauf eines jeden Teilversuches**

### 3.1.2 Hälterung

Vor den jeweiligen Teilversuchen wurden die benötigten Clarias aus der Kreislaufanlage in Jesewitz entnommen und über ca. 72 Stunden bei einer Wassertemperatur von 26 °C im Welsproduktionsbetrieb gehältert.

Der Transport der Welse an das Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen in Leipzig erfolgte dann in mit Wasser gefüllten Euroboxen (Länge: 60 cm, Breite: 40 cm, Höhe: 42 cm; zehn bis zwölf Tiere pro Box).

Nach Ankunft wurde den Tieren eine ca. 24-stündige Akklimatisierungszeit an die Hälterungsbedingungen am Institut bei einer Wassertemperatur von 24 °C gewährt. Die Lufttemperatur betrug 27,6 °C (Minimum: 23,9 °C, Maximum: 30,8 °C). Außerhalb der Experimentierzeiten erfolgte die Hälterung im Dunkeln. Bis zu 25 Fische wurden in je einem Aquarium mit einem Fassungsvermögen von 280 Litern gehalten, welche identisch mit jeweils drei Filterpumpen (je zwei Fluval 405 sowie eine Eheim Professional 3) versehen waren. Wasser- als auch Lufttemperatur wurden kontinuierlich mittels Datenlogger aufgezeichnet. Sauerstoff-, Nitrat- und Nitritgehalt sowie der pH-Wert und die Wasserhärte wurden im Abstand von acht bis 14 Stunden gemessen. Einmal täglich erfolgte ein Teilwasserwechsel.

Während der separaten Hälterung über 72 Stunden im Betrieb sowie während der Hälterung im Institut erfolgte keine Fütterung der Welse.

### 3.1.3 Kennzeichnung, Sedation, Blutentnahme und Probenbearbeitung

Zur Individualerkennung der Welse sowie zur Ermittlung der Körpertemperatur wurden den Welsen IPTT-Transponder (Implantable Programmable Temperature Transponder) in die Rückenmuskulatur implantiert. Als günstig erwies sich nach Validierung im Vorversuch die Muskulatur in Höhe des Ansatzes der Rückenflosse in einem Abstand von etwa einem Zentimeter links neben der Rückenflosse sowie einer Tiefe von 1,5 bis 2 cm (Abbildung 2).



**Abbildung 2: Position der IPTT-Transponder**

Am sedierten Fisch erfolgte außerdem die erste Blutentnahme. Es wurden sterile Spritzen und Einmalkanülen verwendet. Für die Sedation wurde MS-222 (Tricain; 150 mg pro Liter Wasser) genutzt. Weiterhin wurde den Clarias nach der Vorkühlung, d.h. unmittelbar vor Beginn der Betäubungsbehandlung, sowie nach der Betäubungsbehandlung Blut entnommen (Blutentnahmen 2 und 3). Für diese beiden Blutentnahmen wurden die Fische manuell fixiert. Blutentnahme 2 entfiel im Versuch 1a.

Pro Fisch und Entnahme wurden ca. 3 bis 5 ml Blut durch Punktion der *Vena* (bzw. *Arteria*) *caudalis* gewonnen. Das Blut wurde auf Serum- sowie auf mit Fluorid beschichtete Blutentnahmeröhrchen aufgeteilt.

Die Cortisolbestimmung wurde im Veterinär-Physiologisch-Chemischen Institut der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig, mittels eines nach KRATZSCH (1984) modifizierten 3H-Radioimmunoassay (RIA) vorgenommen. Zuerst erfolgte die Abtrennung störender Eiweiße aus den Serumproben durch Fällung mit Alkohol. Dazu wurden jeweils 100 µl Blutserum (Doppelbestimmung) mit 900 µl Ethanol versetzt und zentrifugiert. Vom Überstand wurden 100 µl abpipettiert, eingedampft und mit Phosphatpuffer aufgenommen. Für die Herstellung der Eichlösungen diente unmarkiertes Cortisol (SERVA Electrophoresis GmbH, Deutschland). Allen Röhrchen wurden 100 µl verdünnte Tracerlösung (1:6000; [1,2,6,7-3H]-Cortisol, PerkinElmer Inc., USA) zugesetzt. Abschließend erfolgte die Zugabe eines hormonspezifischen Antikörpers (polyklonales Antiserum vom Kaninchen, laboreigene Immunisierung (Verdünnung: 1:4500)). Die Ansätze wurden vier Stunden im Eisbad inkubiert. Die anschließende Trennung von freiem und antikörpergebundenem Hormon erfolgte durch Zugabe von 500 µl einer Dextran-Aktivkohle-Suspension. Nach 15-minütigem Stehen im Eisbad und Zentrifugation bei 4 °C wurde der Überstand in Messgläsern abgegossen und mit 3 ml Szintillationsflüssigkeit (Rotiszint Mini, Carl Roth GmbH + Co. KG, Deutschland) versetzt. Die Messung der gebundenen Aktivität erfolgte im Flüssigszintillationszähler Tri-Carb 2810TR (PerkinElmer Inc., USA), zur Ermittlung der Hormonkonzentration in den Proben diente die Auswertesoftware „Multicalc“ (gleiche Firma). Die weiteren Blutparameter wurden durch das Labor der Medizinischen Tierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig, bestimmt.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über die bestimmten blutchemischen Parameter. Durch die Kennzeichnung der Fische mittels Transponder war die individuelle Zuordnung gegeben.

**Tabelle 3: Übersicht über die bestimmten blutchemischen Parameter**

Parameter	Monovette®	Labor	Probenbehandlung
Cortisol	Serummonovette®	Veterinär- Physiologisch- Chemisches Institut	Zentrifugation 8 Minuten bei 2000 rpm, „soft“, Serum bei
Natrium, Kalium, Chlorid		Medizinische Tierklinik (Labor)	- 80 °C bis zur Unter- suchung eingefroren
Glukose, Laktat (nur Versuch 1a)	Fluorid-beschichtete Monovette®		Zentrifugation 10 Minuten bei 3800 rpm, sofortige Untersuchung

### 3.1.4 Vorkühlung

Der Sedation für die Transponderimplantation und die Blutentnahme 1 folgte die Vorkühlung jener Fische, die für den Betäubungsversuch am nächsten Tag vorgesehen waren. Die Welse verblieben dazu im Aquarium, in welchem die Wassertemperatur mit Hilfe eines Durchlaufkühlers auf die gewünschte Vorkühltemperatur herabgesenkt wurde. Nach ca. 14-stündiger Vorkühlung wurden die Tiere am folgenden Tag im Betäubungsversuch eingesetzt. Ein Teil der Fische aus dem Versuchsteil 1b (Vergleich verschiedener Methoden der Vorkühlung) wurde lediglich über drei Stunden vorgekühlt. Die Blutentnahme 2 erfolgte an den vorgekühlten Fischen unter manueller Fixation der Tiere.

### 3.1.5 Betäubungsversuch

Der Test der jeweiligen Betäubungsmethode erfolgte anschließend am Einzeltier. Zur Beurteilung der Betäubungswirkung wurden 60 Sekunden nach Einsetzen in das Eiswasser (Versuche 1a, 1b, 3 und 4) bzw. nach Elektrobetäubung (Versuch 2) klinische Tests durchgeführt, welche über fünf Minuten im einminütigen Abstand wiederholt wurden. Sofern nach diesen fünf Minuten noch positive Reaktionen zu beobachten waren, wurden die Untersuchungen fortgeführt, bis der Fisch keine Reaktion mehr zeigte (Versuche 1a, 1b, 3 und 4). In Versuch 2 wurden die Tests fortgeführt, sofern nach der fünften Minute nach Betäubungsende noch nicht alle Reaktionen wieder positiv waren. Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die angewandten klinischen Tests bzw. Untersuchungen, die im Versuch 0 validiert und ab Versuch 1a angewandt wurden. Nach Ende der Behandlungszeit wurden die Tiere in mit Wasser gefüllte Aquarien umgesetzt (Wassertemperatur: 22 °C). In diesen „Aufwachbecken“ wurde mittels der klinischen Tests nach 30, 60 und in Versuch 1a auch nach

120 Minuten verfolgt, ob und wie schnell die Welse von der Betäubung aufwachten (siehe Tabelle 5). In Versuch 2 erfolgten die Tests im Aufwachbecken nur nach der 30. Minute nach Umsetzen.

Nach Ende des Versuches wurden die Tiere in einem Nelkenölbad (Wirkstoff: Eugenol; 400 mg/l Wasser) euthanasiert.

Sowohl die Betäubungsversuche an jedem einzelnen Fisch als auch die Aufwachphasen wurden mittels Videoaufzeichnung festgehalten.

### **3.2 Versuch 0 (Vorversuch Methodenprüfung)**

Ziele des Vorversuches waren die Validierung der Untersuchungsmethoden sowie die Erprobung des Setzens und Nutzens der Transponder zur Identifizierung und Körpertemperaturbestimmung. Die Auswahl der klinischen Tests im Vorversuch erfolgte in Anlehnung an das Untersuchungsprotokoll von KESTIN et al. (2002).

Zur Prüfung der Untersuchungsmethoden und der Körpertemperaturmessung wurden klinische Tests an Fischen ohne Narkose, mit Narkose (MS-222; Narkosestadium III), nach Vorkühlung über 14 Stunden und nach Eiswasserbehandlung durchgeführt und die Ergebnisse verglichen. Die Untersuchungen fanden nach einer 24-stündigen Akklimatisierungsphase der Welse bei 24 °C Wassertemperatur statt.

Im Vorfeld der Testversuche wurde an drei Fischen die benötigte Dosis MS-222 ermittelt, um a) das Narkosestadium III (Toleranzstadium/chirurgische Anästhesie), welches dem Zustand der Betäubung mit Ausschaltung von Bewusstsein und Schmerzempfindung entspricht, und b) das Narkosestadium I (leichte bis tiefe Sedation), ausreichend für die schnelle Implantation der Transponder als auch die erste Blutentnahme, zu erreichen. Dazu wurde eine Anfangsdosis von 50 mg MS-222 pro Liter Wasser schrittweise erhöht, bis die Fische das gewünschte Stadium erreichten. Die Einordnung in die Narkosestadien erfolgt nach der Einteilung von STOSKOPF (1993). Im Ergebnis wurde das Untersuchungsprotokoll für die klinischen Tests (siehe Tabelle 5) für die weiteren Versuche ausgearbeitet. Das Untersuchungsprotokoll des Vorversuches enthielt neben den in Tabelle 5 aufgeführten Tests außerdem die Überprüfung der Schmerzreaktion durch Kneifen in die Ober- und Unterlippe mittels einer chirurgischen oder anatomischen Pinzette. Weiterhin wurden die Testergebnisse mit den Ziffern 0 bis 2 (0 = keine Reaktion gezeigt, 1 = schwache Reaktion, 2 = normale Reaktion) beurteilt.

Darüber hinaus wurden erste Cortisolwerte ermittelt: von 16 gehälterten Welsen aus der Kreislaufanlage, 16 über 24 Stunden bei 24 °C am Institut gehälterten Welsen, 15 über 14 Stunden bei 15 °C vorgekühlten Welsen sowie von neun über 20 Minuten im Eiswasser behandelten Welsen.

### 3.3 Versuch 1a (Vergleich verschiedener Methoden der Eiswasserbehandlung)

Versuch 1a diente dem Vergleich verschiedener Varianten der Eiswasserbehandlung sowie der Auswahl der geeignetsten Variante. Dazu wurde das Eis-Wasser-Fisch-Verhältnis variiert, um unterschiedliche Temperaturen im Eiswasser zu erreichen. Nach der Akklimatisierungsphase und der Vorkühlung über 14 Stunden bei 15 °C (ab 16:00 Uhr des Vortages) wurden folgende Varianten an insgesamt 99 Tieren getestet (siehe Tabelle 4):

**Tabelle 4: Varianten der Eiswasserbehandlung**

Variante	Zusammensetzung	Temperatur	n (Anzahl Fische)
Variante 1: Eiswasser 1:1	15 l Wasser + 15 kg Crash-Eis	+0,1 °C ± 0,2 °C	33
Variante 2: Eiswasser + Eis	Wie Variante 1 + ein Eimer Crash-Eis (10 l / ca. 7,5 kg)	+0,1 °C ± 0,2 °C	33
Variante 3: Eiswasser + Salz	Wie Variante 1 + 0,6 – 0,7 kg Kochsalz	-2,0 °C ± 0,5 °C	33

In den Varianten 1 und 3 wurden die Clarias einzeln in jeweils demselben Ansatz Eiswasser behandelt und ggf. die Temperatur durch Zugabe von Eis bzw. Salz angepasst.

In Variante 2 wurde vor dem Einsetzen eines jeden Fisches ein Eimer Eiswasser entfernt und ein Eimer Crash-Eis dazugegeben. Je Variante wurden drei Untergruppen getestet:

- Je 11 Tiere verblieben 10 Minuten im Eiswasser.
- Je 11 Tiere verblieben 15 Minuten im Eiswasser.
- Je 11 Tiere verblieben 20 Minuten im Eiswasser.

**Tabelle 5: Klinische Tests für die Beurteilung der Betäubungswirkung**

Klinischer Test	Beschreibung	Durchführung	Beurteilung	Untersuchungszeitpunkt während Betäubung	Untersuchungszeitpunkt während Aufwachphase
Breathing	Regelmäßige Bewegung der Kiemendeckel/ Luftholen an der Oberfläche	Beobachtung der Atembewegungen des Fisches im Wasser	0 – nicht vorhanden 1 – schwach/unregelmäßig 2 – normal	60 Sekunden nach Einsetzen in das Eiswasser (bzw. nach Elektrobetäubung im Versuch 2) im einminütigen Abstand über fünf Minuten, ggf. länger	Minuten 30 und 60 nach Ende der Betäubungsbehandlung, in Versuch 1a außerdem in Minute 120 nach Ende der Betäubungsbehandlung
Swimming	Regelmäßige, koordinierte Schwimmbewegungen	Beobachtung der Schwimmbewegungen des Fisches im Wasser	0 – nicht vorhanden 1 – leichte Bewegungen 2 – normal 3 – starke, unkoordinierte Bewegungen		
Equilibrium ohne Manipulation	Vermögen des Fisches, das Gleichgewicht ohne vorherige Manipulation zu halten	Beobachtung des Fisches im Wasser	0 – nicht vorhanden 1 – vermindert 2 – normal		
Handling	Reaktion des Fisches auf Manipulation	Kräftiges Greifen des Fisches am Schwanzansatz	0 – nicht vorhanden 1 – vermindert 2 – normal		

TIERE, MATERIAL UND METHODEN

Schmerzreiz	Reaktion auf Schmerzreiz an der Bartel	Kneifen in eine Bartel mit chirurgischer Pinzette	3 – verstärkt		
Equilibrium nach Drehen	Vermögen des Fisches, sich nach Drehen auf den Rücken wieder aufzurichten	Drehen des Fisches auf den Rücken, Reaktion beobachten			
Eye-Roll-(Augendreh-)reflex	Test des Vestibulo-Ocular-Reflexes	Drehen des Fisches auf die Seite, Augenstellung beobachten	0 – nicht vorhanden 1 – vermindert 2 – normal		
Temperatur	Körpertemperatur	Ablesung des Transponders in der Rückenmuskulatur mittels Lesegerät	Temperatur in °C	Unmittelbar vor der Betäubung, dann ab der 5. Minute nach Betäubung, weiter im 5-minütigen Abstand	
Herzfrequenz	Herzfrequenz	Messen der Herzfrequenz mittels Doppler-Ultraschall	Herzfrequenz in Schlägen pro Minute	Ab der 5. Minute nach Betäubung, weiter im 5-minütigen Abstand	Keine Messung



Die Untersuchung der Tiere erfolgte einzeln entsprechend dem Untersuchungsprotokoll (Anhang 1). Die Messung der Körpertemperatur sowie der Herzfrequenz nach 15 bzw. 20 Minuten entfiel bei den Tieren, die bereits nach 10 bzw. 15 Minuten aus dem Eiswasser genommen wurden. Die Messung der Körpertemperatur erfolgte durch Ablesen der implantierten Transponder. Die Herzfrequenz wurde mit dem Ultraschall-Doppler bestimmt. Die Blutentnahme 2 (nach Vorkühlung) entfiel im Versuch 1a.

Der Behandlung folgten die Blutentnahme 3 sowie das Umsetzen in die Aufwachbecken. Die Untersuchungen im Aufwachbecken erfolgten wie beschrieben nach 30, 60 und 120 Minuten, anschließend wurden die Tiere im Nelkenölbad euthanasiert.

### **3.4 Versuch 1b (Vergleich verschiedener Methoden der Vorkühlung mit anschließender Eiswasserbehandlung)**

In Versuch 1b wurden verschiedene Wassertemperaturen zur Vorkühlung der Welse getestet:

- |               |                      |        |
|---------------|----------------------|--------|
| • Variante 1: | Vorkühlung bei 10 °C | n = 32 |
| • Variante 2: | Vorkühlung bei 15 °C | n = 33 |
| • Variante 3: | Vorkühlung bei 20 °C | n = 32 |

In allen drei Varianten wurde die gewünschte Vorkühltemperatur gegen 18:00 Uhr erreicht, so dass zu Beginn des Betäubungsversuches um 8:00 Uhr des Folgetages die Fische mindestens 14 Stunden bei niedrigerer Temperatur gehältert waren. In der 10 °C-Vorkühlungsvariante wurde ein Teil der Clarias (n = 20 von 32 Tieren) allerdings nur über drei Stunden vorgekühlt, zuvor erfolgte die Hälterung bei 15 °C über zehn Stunden. Die Abkühlung verlief gleichmäßig mit einem Temperaturabfall von ca. 2 bis 2,5 °C pro Stunde.

Die anschließende Eiswasserbehandlung erfolgte wie in Variante 1 des Versuches 1a über 20 Minuten und entsprechend dem Untersuchungsprotokoll. Eine Ausnahme waren 16 Fische aus der Vorkühlungsvariante 15 °C, welche im Eiswasser nicht untersucht wurden, um eventuelle Einflüsse durch die Manipulation des Untersuchers auf den Zeitpunkt des Betäubungseintrittes sowie auf die blutchemischen Parameter zu ermitteln. Die erstmalige Manipulation an diesen Welsen erfolgte nach der fünften Minute nach Betäubungsbeginn mit der Bestimmung von Körpertemperatur sowie Herzfrequenz.

Blutentnahmen erfolgten dreimalig wie beschrieben.

Die Untersuchungen im Aufwachbecken fanden entsprechend dem Protokoll (siehe Tabelle 5) nach 30 und 60 Minuten statt, anschließend wurden die Tiere euthanasiert.

### **3.5 Versuch 2 (Elektrobetäubung)**

Der Versuch 2 diente der Validierung der Elektrobetäubungsmethode. Für eine Elektrobetäubung im Wasserbad standen keine kommerziellen Fischbetäubungsgeräte mit Leistungsparametern zur Verfügung, die eine ausreichende Stromdichte bzw. Betäubungsspannung entsprechend den

Angaben in der Literatur ermöglichten. Daher wurde die Einzeltierbetäubung mittels Ansatz der Elektroden am Kopf geprüft.

Für die Erprobung der Elektrobetäubung mittels Kopfdurchströmung wurde die Kurzzeitbetäubungsanlage Typ EC-2 (Betäubungsspannung 250 V, Betäubungsstrom 1,3 A, Wechselstrom) genutzt. Die Betäubungszeit betrug vier Sekunden. Die Prüfung der Eignung des Gerätes zur Elektrobetäubung erfolgte zunächst an fünf Fischen. Mit Hilfe klinischer Tests wurde die Dauer der Betäubungswirkung ermittelt. Von drei getöteten Tieren wurden die Köpfe transversal und sagittal gesägt, um die Lage des Gehirnes zu bestimmen und so die beste Ansatzstelle für die Zange zu ermitteln. Anhand dieser Schnitte wurde als Ansatzstelle für die beiden Elektroden die Mitte zwischen Auge und Ansatzstelle der Brustflosse beidseitig am Kopf festgelegt. Zur Validierung der anatomischen Details im Kopf bezüglich der Lage des Gehirns wurden in der Universitätsklinik für Kleintiere, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig (Prof. Dr. Eberhard Ludewig) außerdem Magnetresonanztomographie- (MRT-) Schnittbilder eines Welskopfes angefertigt.

Die weiteren Untersuchungen zur Elektrobetäubung erfolgten nach Vorkühlung bei 15 °C in zwei Varianten:

- Variante 1: Elektrobetäubung durch Kopfdurchströmung (Wasserbad) n = 31
- Variante 2: Elektrobetäubung durch Kopfdurchströmung (Trockenbetäubung) n = 31

Für die Trockenbetäubung wurde der zu betäubende Fisch in eine Eurobox gesetzt, auf deren Boden eine Gummimatte zur Verminderung der Rutschbewegungen des Fisches gelegt wurde. Für die Nassbetäubung wurde Wasser in die Box bis zu einem Wasserstand von 9 cm gefüllt. Die Betäubung erfolgte am Einzeltier. Die Zange wurde, sobald die Eigenbewegungen des Fisches nach Setzen in die Box nachließen, beidseits am Kopf an der beschriebenen Stelle angesetzt. Sobald der Kontakt der Elektroden zum Kopf des Welses bestand, floss automatisch Strom. Ein akustisches Signal gab das Erreichen der Stromflusszeit von vier Sekunden an, daraufhin wurde die Zange augenblicklich entfernt. Da das Gerät nicht über eine Möglichkeit zur Aufzeichnung der Betäubungsparameter verfügte, wurden die erreichten Stromstärken und Spannungen direkt am Volt- bzw. Amperemeter des Gerätes dokumentiert. Nach der Elektrobetäubung wurde der Wels sofort in ein mit Wasser (Wassertemperatur: 22 °C) gefülltes Becken gesetzt und ab der ersten Minute nach Betäubung im einminütigen Abstand entsprechend dem Protokoll untersucht. Zusätzlich wurde nach der ersten Minute die Herzfrequenz per Ultraschall ermittelt. Die Messung der Körpertemperatur entfiel im Versuch 2. Die klinischen Tests wurden bis zur Minute fünf nach Betäubung durchgeführt, anschließend wurde der Fisch in das Aufwachbecken umgesetzt. Die Videoaufzeichnungen dienten dem korrekten Bestimmen der Zeitdauer der tonisch-klonischen Krämpfe.

Die Untersuchungen im Aufwachbecken erfolgten wie beschrieben nach 30 Minuten, anschließend wurden die Tiere im Nelkenölbad euthanasiert.

### **3.6 Versuch 3 (Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung)**

Die ausgewählten Varianten aus den Versuchen 1a, 1b und 2 kamen im Versuch 3 kombiniert zum Einsatz:

- Vorkühlung bei 15 °C
- Elektrobetäubung mittels Elektrobetäubungszange im Wasserbad
- Eiswasserbehandlung Variante 1 (Eiswasser 1:1)

Im Gegensatz zum Versuch 2 kam im Versuch 3 die Elektrobetäubungsanlage TBG 200 der Firma Hubert Haas (Betäubungsspannung 300 V, Betäubungsstrom 1,8 A, Wechselstrom, Stromflusszeit 4 s) zum Einsatz. Diese verfügte, anders als die Betäubungsanlage Typ EC-2, über die Möglichkeit zur Aufzeichnung der Betäubungsparameter.

Die Blutentnahme 1 (nach 24-stündiger Hälterung bei 24 °C) erfolgte bei 14 von 30 in diesem Versuch eingesetzten Welsen unter MS-222-Sedation. Den restlichen 16 Fischen wurde unter manueller Fixation im Kescher (ohne Sedierung) Blut entnommen. Damit sollten Cortisolwerte, welche unbeeinflusst durch die vorherige Sedation sind, ermittelt werden.

Für die kombinierte Betäubung wurde jeder Fisch einzeln aus dem Vorkühlungsbecken gefangen. Anschließend wurde Blut entnommen (Blutentnahme 2) und die Fische unmittelbar danach in die mit einer Gummimatte ausgelegte und mit Wasser (9 cm Wasserstand) befüllte Eurobox gesetzt. Sofort nach der Betäubung durch Kopfdurchströmung wurde jeder Wels in ein mit Eiswasser gefülltes Becken umgesetzt. Es folgten die klinischen Tests bzw. Untersuchungen eine Minute nach Setzen in das Eiswasser entsprechend dem Protokoll. Die Betäubungsparameter wurden für jede Betäubung automatisch aufgezeichnet.

Um die Fleischqualität der mittels Kombinationsmethode betäubten Clarias zu beurteilen, wurden zwölf Tiere dieser Gruppe nach 20-minütiger Eiswasserbehandlung geschlachtet und einer sensorischen Untersuchung durch das Institut für Lebensmittelhygiene unterzogen. Auf die Ergebnisse wird im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen. Die restlichen Fische kamen nach der Betäubung in ein Aufwachbecken und wurden nach 30 sowie 60 Minuten klinisch untersucht. Anschließend erfolgte die Euthanasie.

### **3.7 Versuch 4 (Erprobung im Praxisbetrieb)**

Der Versuch 4 diente der praktischen Erprobung der Kombinationsmethode in einem Produktionsbetrieb. Dazu wurden 50 schlachtreife Welse in der Kreislaufanlage in Jesewitz elektrisch per Kopfdurchströmung im Wasserbad betäubt, unmittelbar danach für 20 Minuten ins Eiswasser gegeben und anschließend geschlachtet. Die Hälterung der Fische fand wie beschrieben über 72 Stunden bei 26 °C statt. Im Gegensatz zu den vorherigen Versuchen erfolgte die Vorkühlung bedingt durch eine technische Havarie erst unmittelbar vor Versuchsbeginn bei einer Temperatur von  $17 \pm 2$  °C.

Klinische Tests nach Protokoll sowie Blutentnahmen (nur Blutentnahme 2 nach Vorkühlung, sowie Blutentnahme 3 nach Betäubung) wurden an 30 der 50 Clarias durchgeführt. Bei den restlichen 20 Fischen erfolgte keine zusätzliche Manipulation.

### 3.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM SPSS Version 22 (IBM Corporation, USA). Metrische Daten wurden auf Normalverteilung getestet (Shapiro-Wilk-Test). Da bis auf wenige Ausnahmen keine Normalverteilung vorlag, wurden nichtparametrische Tests verwendet.

Hierbei wurden der Kruskal-Wallis-Test für  $k$  unabhängige Stichproben bzw. der Friedman-Test für  $k$  verbundene Stichproben gewählt. Bei Vorliegen von signifikanten Unterschieden wurden die einzelnen Varianten unmittelbar mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests bzw. des Wilcoxon-Vorzeichenrangtestes paarweise miteinander verglichen. Dazu erfolgte eine Korrektur der Signifikanzschranke nach Bonferroni. Dabei wurde die übliche Signifikanzschranke für den  $\alpha$ -Fehler von 0,05 durch die Zahl der durchgeführten Tests geteilt (VICTOR et al. 2010). Damit betrug die Signifikanzschranke für diese Post-hoc-Tests bei drei Varianten und damit drei durchgeführten Tests  $p = 0,0167$ , bei vier Varianten und damit sechs durchgeführten Tests  $p = 0,0083$ .

Mit Hilfe der o.g. Software erfolgte die Erstellung der Boxplot-Diagramme. Hierbei gibt die Boxhöhe den Abstand zwischen dem 25% und dem 75% Perzentil wieder. Der Median wird durch den schwarzen Strich innerhalb der Box dargestellt. Die horizontal verlaufenden Striche über und unter der Box kennzeichnen den größten und den kleinsten Wert, welche nicht als Ausreißer oder als extreme Werte klassifiziert werden. Das Programm definiert und kennzeichnet Ausreißer und extreme Werte folgendermaßen:

- ° Ausreißer: Ausreißer sind Werte, deren Abstand vom 25% Perzentil nach unten bzw. vom 75% Perzentil nach oben zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen der Boxhöhe liegt.
- × Extreme Werte: Der Abstand extremer Werte von dem 25% oder dem 75% Perzentil beträgt mehr als das Dreifache der Boxhöhe.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse Versuch 0 (Vorversuch Methodenprüfung)

Die im Versuch 0 verwendeten 20 Welse hatten ein Gewicht von  $1,51 \pm 0,38$  kg und eine Körperlänge von  $56,11 \pm 5,40$  cm (MW  $\pm$  SD).

In Anhang 1 befindet sich das anhand der Ergebnisse des Vorversuches erarbeitete Untersuchungsprotokoll (siehe auch Tabelle 5).

Die Beurteilung der Parameter „Swimming“, „Equilibrium nach Umdrehen“ und „Augendrehreflex“ ergab bei den nach 24-stündiger Hälterung bei 24 °C und den nach Vorkühlung untersuchten Fischen zu jedem Untersuchungszeitpunkt eine positive Antwort (n = 110 von 110 Tests). Die Reaktion auf „Handling“ dagegen wurde an diesen nicht-betäubten Fischen mit der Zeit schwächer. Während hier zu Behandlungsbeginn sowie in der ersten Minute danach bei allen untersuchten Fischen eine Reaktion festgestellt werden konnte (n = 10 von 10 Welsen in Minute null bzw. 20 von 20 in Minute eins), zeigten nach Minute vier 13 von 19 Fischen (68,4 %) eine Reaktion. Bei fünf Fischen (26,3 %) war die Antwort schwach, ein Fisch (5,3 %) zeigte keine Reaktion. Ebenso waren die Reaktionen der Clarias auf den Schmerzstimulus durch Kneifen in die Bartel mit einer chirurgischen Pinzette variabel. Einige Fische zeigten hier keine Antwort, andere reagierten deutlich: Während bei dem Test an nicht betäubten Tieren nach einer Minute 89,5 % der Fische (n = 17 von 19) deutlich reagierten, zeigten 10,5 % (n = 9) eine schwache Reaktion. Der Anteil positiver Reaktionen nahm in den folgenden Tests ab. Nach drei Minuten zeigten 83,3 % normale und je 11,1 % (n = 2) schwache bzw. keine Reaktionen auf den Reiz. Der Test auf Schmerzreaktion durch Kneifen in die Ober- oder Unterlippe mit Hilfe einer anatomischen oder chirurgischen Pinzette ergab an den nicht-betäubten Fischen einen sehr geringen Anteil positiver Reaktionen. „Breathing“ und „Equilibrium ohne Manipulation“ waren an den nicht-betäubten sowie an den mit MS-222 sedierten Fischen zu 100 % sicher beurteilbar. Dagegen konnten im Eiswasser Atembewegungen ohne eine Manipulation des Fisches teilweise nicht gut erkannt werden. Von insgesamt 50 Tests, an zehn Fischen in den ersten fünf Minuten in einminütigem Abstand durchgeführt, konnte die Atmung bei sieben Tests nicht beurteilt werden (14,0 %). Die korrekte Bewertung von „Equilibrium ohne Manipulation“ im Eiswasser war nicht immer sicher möglich, da der Wels auch durch die Eismasse im Gleichgewicht gehalten werden konnte.

Für die Sedation der Clarias wurde durch schrittweises Erhöhen einer Anfangsdosis von 50 mg MS-222 pro Liter Wasser eine Sedationsdosis von 150 mg MS-222 pro Liter Wasser ermittelt. Der pH-Wert der Tauchbadlösung lag im neutralen Bereich: pH 6,8 - 7,0. Es erfolgte keine Neutralisierung. Die Blutentnahme war aus der V. (bzw. A.) *caudalis* sicher möglich.

Als sichere und gut ablesbare Position der Transponder wurde die Rückenmuskulatur des Welses in Höhe des Ansatzes der Rückenflosse, in einem Abstand von etwa 1 cm links neben der Rückenflosse sowie einer Tiefe von 1,5 bis 2 cm festgelegt.

Die statistischen Kenngrößen der ermittelten Cortisolwerte sind in Tabelle 6 aufgeführt.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 6: Cortisolwerte in ng/ml im Versuch 0**

Statistische Kenngröße	Blutentnahmezeitpunkte			
	Nach Hälterung in Jesewitz bei 26 °C (Basiswert)	Nach Hälterung über 24 h bei 24 °C und Sedation	Nach Vorkühlung bei 15 °C	Nach Eiswasser- behandlung über 20 Minuten
Arithmetisches Mittel	101,1	159,0	102,1	167,6
Median	92,2	137,0	105,1	163,2
Standardabweichung	37,76	85,34	31,92	43,82
Minimum	58,6	55,4	35,2	98,0
Maximum	201,8	344,0	154,3	243,4
Anzahl untersuchter Welse	16	16	15	9

Die Cortisolwerte wiesen signifikante Unterschiede zwischen den vier Blutentnahmezeitpunkten auf ( $p = 0,000$ ; Friedman-Test bei  $k$  verbundenen Stichproben). Beim paarweisen Vergleich der einzelnen Varianten mit Hilfe des Wilcoxon-Vorzeichenrangtestes waren die Unterschiede zwischen den Blutentnahmen nach Hälterung in Jesewitz und nach Hälterung über 24 h bei 24 °C signifikant, außerdem die Unterschiede zwischen der Blutentnahme nach Hälterung über 24 h bei 24 °C verglichen mit den Blutentnahmen nach Vorkühlung bei 15 °C und nach Eiswasserbehandlung (siehe Anhang 2).

### **4.2 Ergebnisse Versuch 1a (Vergleich verschiedener Methoden der Eiswasserbehandlung)**

Die im Versuch 1a verwendeten 99 Welse wiesen eine Lebendmasse von  $1,51 \pm 0,32$  kg (MW  $\pm$  SD) und eine Länge von  $57,42 \pm 5,48$  cm (MW  $\pm$  SD) auf.

Bei Prüfung der verschiedenen Eiswasserbehandlungsvarianten zeigten die Fische im Mittel nach den in Tabelle 7 aufgeführten Zeiten nach Einsetzen in das Eiswasser die letzte Reaktion auf klinische Tests.

In Abbildung 3 und Abbildung 4 ist verdeutlicht, zu welchem Zeitpunkt nach Einsetzen in das Eiswasser die Welse die letzte Reaktion auf einen klinischen Test zeigten (maximale Reaktionszeit). Zwischen den drei untersuchten Varianten bestanden bezüglich der maximalen Reaktionszeit, sowohl mit als auch ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten, keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,546$  bzw.  $p = 0,114$ ; Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben).

In den Varianten 1, 2 und 3 zeigten zwei (6,1 %), ein (3,0 %) resp. fünf (15,2 %) Fische zehn Minuten nach Beginn der Eiswasserbehandlung unregelmäßige Atembewegungen. Ein mit der Variante 1 behandelter Fisch (3,0 %) zeigte nach 20 Minuten Schnappatmung. Außerdem konnte bei einem

## ERGEBNISSE

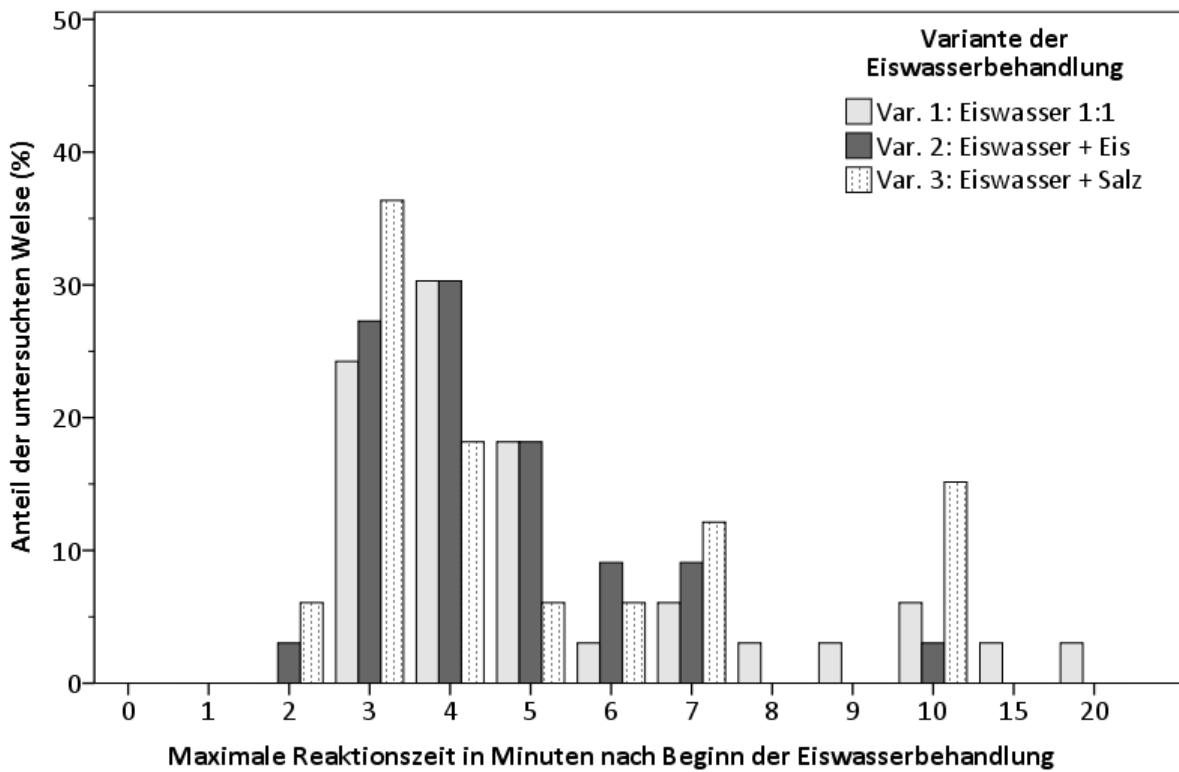
Fisch (3,0 %) aus dieser Variante eine schwache selbstinitiierte Bewegung nach 15 Minuten festgestellt werden.

Alle Welse (n = 99) wiesen nach 30 bzw. 60 Minuten im Aufwachbecken mit 22 °C Wassertemperatur im Anschluss an die Eiswasserbehandlung unabhängig von der Variante deutliche Reflexe auf. Selbstständiges Schwimmen und Gleichgewicht halten wurden wieder gezeigt. Bei 37 der 99 Tiere (37,4 %) war die Hornhaut nach der Eiswasserbehandlung getrübt, so dass eine Beurteilung des Eye-Roll-Reflexes nicht möglich war.

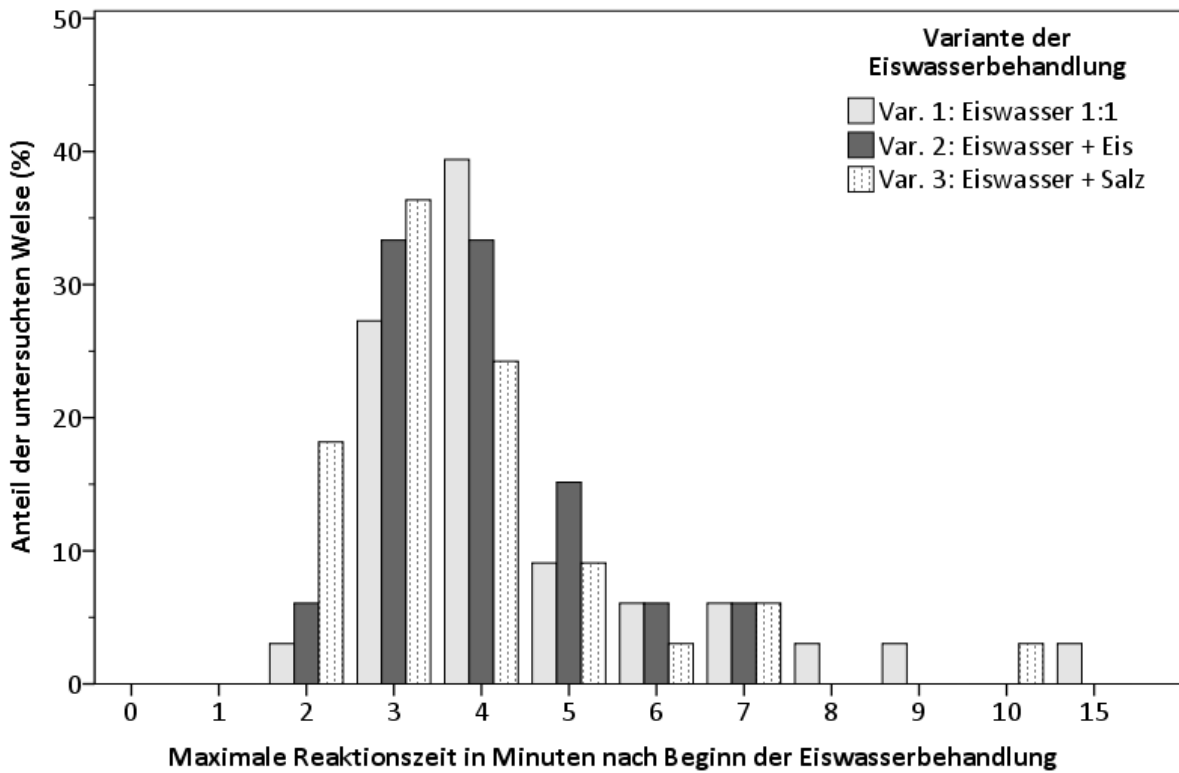
**Tabelle 7: Maximale Reaktionszeit in Minuten nach Beginn der Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 Tiere je Variante)**

Variante	Kenngröße	Maximale Reaktionszeit in Minuten	
		bei allen durchgeführten Tests entsprechend dem Protokoll	ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten
Variante 1: Eiswasser 1:1	Arithmetisches Mittel	5,6	4,7
	Median	4	4
	Maximum	20	15
	Minimum	3	2
	25 % Perzentil	3,5	3
	75 % Perzentil	6,5	5
Variante 2: Eiswasser + Eis	Arithmetisches Mittel	4,5	4,0
	Median	4	4
	Maximum	10	7
	Minimum	2	2
	25 % Perzentil	3	3
	75 % Perzentil	5	5
Variante 3: Eiswasser + Salz	Arithmetisches Mittel	5,0	3,8
	Median	4	3
	Maximum	10	10
	Minimum	2	2
	25 % Perzentil	3	3
	75 % Perzentil	7	4

## ERGEBNISSE



**Abbildung 3: Maximale Reaktionszeit, alle Tests (Versuch 1a; n = 33 Tiere je Variante)**



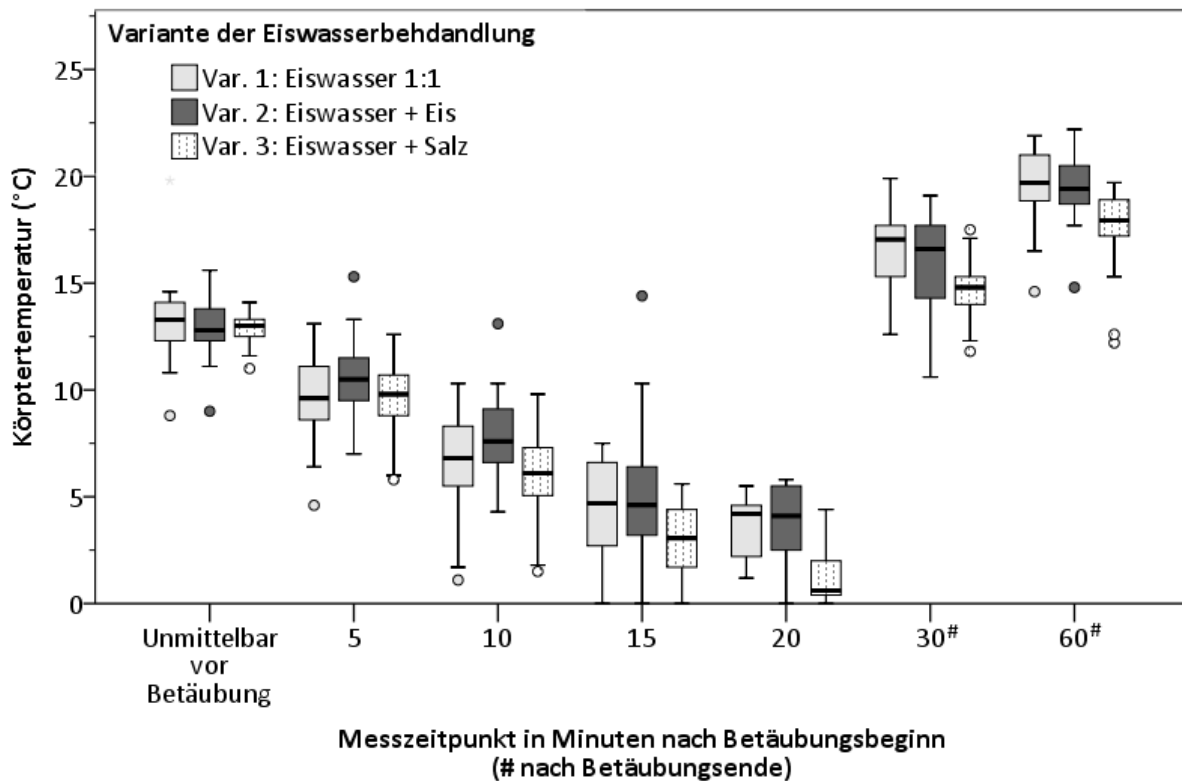
**Abbildung 4: Maximale Reaktionszeit ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 1a; n = 33 Tiere je Variante)**



## ERGEBNISSE

Abbildung 5 zeigt den Verlauf der Körpertemperatur der Welse während der Eiswasserbehandlung. Während in Variante 3 (Eiswasser + Salz) die Körpertemperatur der Welse während der 20-minütigen Eiswasserbehandlung auf  $1,4 \pm 1,5$  °C (MW  $\pm$  SD) sank, fiel sie in den Varianten 1 (Eiswasser 1:1) und 2 (Eiswasser + Eis) auf  $3,3 \pm 1,8$  °C bzw.  $3,7 \pm 1,8$  °C.

Zehn, 15 und 20 Minuten nach Einsetzen in das Eiswasser zeigten sich bezüglich der Körpertemperatur signifikante Unterschiede zwischen den Varianten der Eiswasserkühlung ( $p = 0,008$ ;  $p = 0,003$ ;  $p = 0,011$ ; Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben). Die Fische in Variante 3 (Eiswasser + Salz) wiesen nach 10, 15 und 20 Minuten im Eiswasser eine signifikant niedrigere Körpertemperatur gegenüber Variante 2 (Eiswasser + Eis) auf ( $p = 0,002$ ;  $p = 0,016$ ;  $p = 0,009$ ; Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben). Zwischen Variante 1 und Variante 3 bestanden nur nach 20 Minuten signifikante Unterschiede ( $p = 0,013$ ) bezüglich der Körpertemperatur. Die Varianten 1 und 2 unterschieden sich zu keinem der Untersuchungszeitpunkte signifikant.

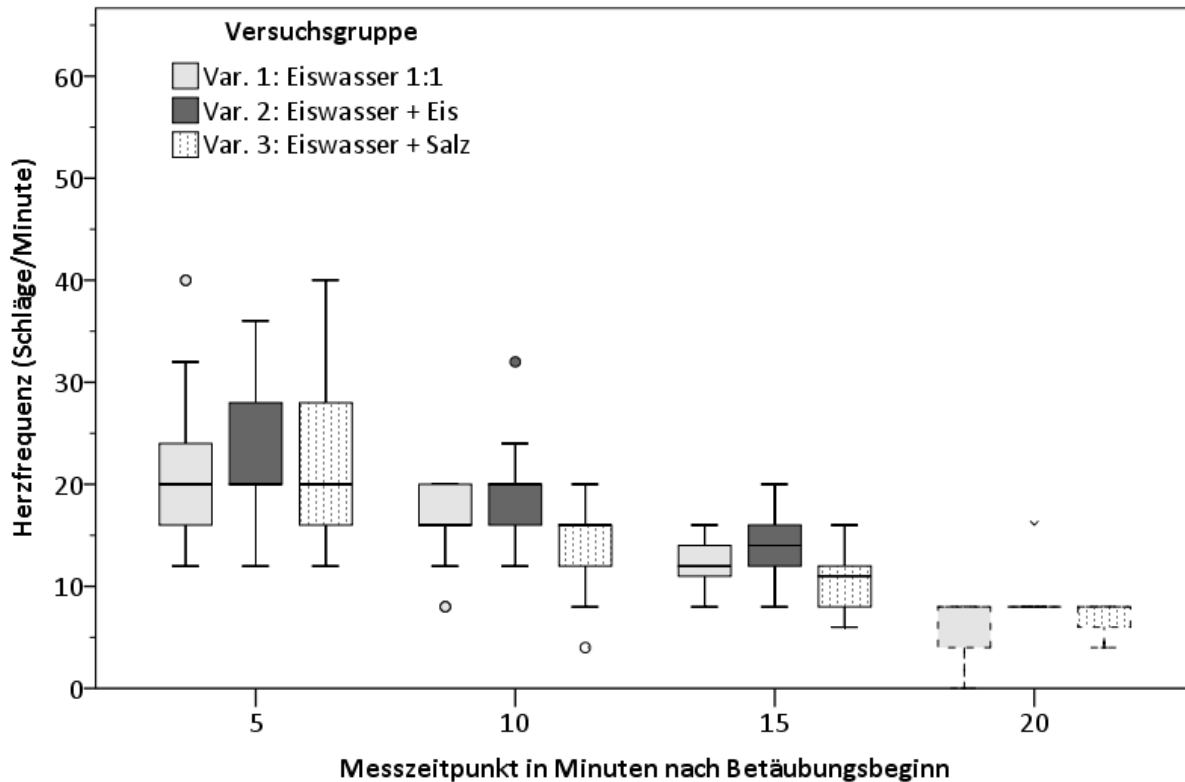


**Abbildung 5: Körpertemperatur in °C während der Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Variante der Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante)**

In Abbildung 6 ist der Abfall der Herzfrequenz der Welse während der Eiswasserbehandlung grafisch dargestellt. Mit zunehmender Zeit im Eiswasser wurde die Bestimmung der Herzfrequenz schwieriger. Zwanzig Minuten nach dem Einsetzen konnte bei zwölf von 99 Welsen (12,1 %) die Herzfrequenz bestimmt werden. Zehn Minuten nach dem Einsetzen ins Eiswasser waren zwischen den drei Varianten der Eiswasserkühlung signifikante Unterschiede nachweisbar ( $p = 0,000$ ; Kruskal-

## ERGEBNISSE

Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben). In Variante 3 lagen signifikant niedrigere Herzfrequenzen gegenüber Variante 2 vor ( $p = 0,000$ ; Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben). Fünf und 15 Minuten nach Betäubungsbeginn unterschieden sich die Herzfrequenzen nicht signifikant. Bei 20 Minuten wurde bedingt durch die hohe Zahl fehlender Werte auf einen statistischen Test verzichtet.



**Abbildung 6: Herzfrequenz der Welse in Schlägen pro Minute während der Eiswasserbehandlung (Versuch 1a, n = 33 je Variante)**

Die ermittelten Blutparameter sind in Anhang 3 für die einzelnen Varianten und Messzeitpunkte als arithmetische Mittel  $\pm$  Standardabweichung aufgeführt. Tabelle 8 und Tabelle 9 zeigen die mit Hilfe nicht parametrischer Tests ermittelten p-Werte bei Vergleich der Parameter zwischen den Entnahmezeitpunkten sowie bei deren Vergleich zwischen den Varianten der Eiswasserbehandlung zu beiden Entnahmezeitpunkten.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 8: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten 1 (nach Hälderung) und 3 (nach Eiswasserbehandlung)**

Parameter	Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben		
	Var. 1 (Eiswasser 1:1)	Var. 2 (Eiswasser + Eis)	Var. 3 (Eiswasser + Salz)
Cortisol	0,000	0,357	0,013
Glukose	0,090	0,580	0,837
Laktat	0,001	0,127	0,000
Natrium	0,001	0,002	0,184
Kalium	0,000	0,000	0,000
Chlorid	0,051	0,027	0,006

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$ ; keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

**Tabelle 9: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Varianten der Eiswasserbehandlung zu den Blutentnahmezeitpunkten**

Messzeitpunkt	Parameter	Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben		
			Var. 1 vs. Var. 2	Var. 1 vs. Var. 3	Var. 2 vs. Var. 3
Nach Hälderung über 24 h bei 24 °C	Cortisol	0,252	-	-	-
	Glukose	0,761	-	-	-
	Laktat	0,212	-	-	-
	Natrium	0,506	-	-	-
	Kalium	0,025	0,014	0,026	0,980
	Chlorid	0,941	-	-	-
Nach Eiswasserbehandlung	Cortisol	0,005	0,001	0,166	0,053
	Glukose	0,047	0,049	0,022	0,858
	Laktat	0,580	-	-	-
	Natrium	0,017	0,389	0,010	0,026
	Kalium	0,036	0,015	0,106	0,228
	Chlorid	0,002	0,156	0,001	0,019

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben) bzw.  $p < 0,0167$  (Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben für den paarweisen Vergleich nach Korrektur der Signifikanzschranke nach Bonferroni); keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

War mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests bei unabhängigen Stichproben keine Signifikanz nachweisbar, erfolgte kein paarweiser Vergleich der Stichproben.

## ERGEBNISSE

---

Bezüglich der Cortisolspiegel wurden nach der Eiswasserbehandlung zwischen den drei Varianten signifikante Unterschiede nachgewiesen (siehe Abbildung 7). In Variante 1 (Eiswasser 1:1) trat der niedrigste Cortisolwert ( $106,7 \pm 36,2$  ng/ml; MW  $\pm$  SD) im Vergleich zu Variante 2 (Eiswasser + Eis:  $142,4 \pm 48,7$  ng/ml) sowie Variante 3 (Eiswasser + Salz:  $123,1 \pm 48,2$  ng/ml) auf. Der Unterschied zwischen den Varianten 1 und 2 war signifikant.

Der Vergleich der Behandlungszeiten im Eiswasser (10, 15 und 20 Minuten) ergab bezüglich des Cortisols keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben).

In den Varianten 1 und 3 war der Cortisolgehalt nach Eiswasserbehandlung – sowohl bei einer Behandlungsdauer von 10 und 15 als auch von 20 Minuten – signifikant niedriger als nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C.

Nach der Eiswasserbehandlung waren zwischen den drei Varianten der Eiswasserbehandlung signifikante Unterschiede beim Glukosegehalt feststellbar (siehe Abbildung 8). Der Vergleich der Behandlungszeiten von 10, 15 und 20 Minuten ergab bezüglich der Glukosewerte keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben). Die Unterschiede im Glukosegehalt zwischen den beiden Blutentnahmezeitpunkten waren in keiner der Varianten signifikant.

Beim Laktatgehalt wurden zwischen den drei Varianten der Eiswasserbehandlung weder nach der Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C noch nach der Eiswasserbehandlung signifikante Unterschiede nachgewiesen (siehe Abbildung 9). In den Varianten 1 und 3 sind die Blutlaktatwerte nach der Betäubung im Eiswasser – unabhängig von den Behandlungszeiten – signifikant niedriger als nach Hälterung. Für die weiteren Untersuchungen (Versuche 1b bis 4) wurde auf eine Bestimmung des Laktatgehaltes verzichtet.

Nach der Eiswasserbehandlung waren die Unterschiede im Natriumgehalt zwischen den drei Varianten signifikant (siehe Abbildung 10). Bei Variante 1 traten gegenüber Variante 3 signifikant geringere Natriumwerte auf. Nach Eiswasserbehandlung waren in den Varianten 1 und 2 bei allen Behandlungszeiten die Natriumgehalte signifikant höher als nach der Hälterung.

Zwischen den drei Varianten der Eiswasserbehandlung waren signifikante Unterschiede beim Kaliumgehalt nach Hälterung über 24 Stunden nachweisbar (siehe **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Beim Vergleich der Varianten 1 und 2 war ein signifikanter Unterschied zu ermitteln. Auch nach der Eiswasserbehandlung waren zwischen den drei Varianten signifikante Unterschiede nachweisbar. Der Kaliumgehalt in Variante 2 war signifikant höher als in Variante 1.

In den drei Varianten war der Kaliumwert nach der Betäubungsbehandlung im Eiswasser bei allen Behandlungszeiten (10, 15 und 20 Minuten) signifikant höher als nach Hälterung.

Nach der Eiswasserbehandlung waren die Unterschiede im Chloridgehalt zwischen den drei Varianten signifikant (siehe Abbildung 12). Bei Variante 3 wurde ein signifikant höherer Chloridgehalt im Blut gegenüber der Variante 1 ermittelt. In Variante 2 war zur Blutentnahme nach Eiswasserbehandlung der Chloridspiegel signifikant niedriger als nach Hälterung. Nach Eiswasserbetäubung war in Variante 3 die Chloridkonzentration im Blut signifikant höher als nach Hälterung.

## ERGEBNISSE

Anhand der vorliegenden Ergebnisse wurde für die weiteren Versuche die Variante 1 der Eiswasserbehandlung (15 l Wasser + 15 kg Crash-Eis bei  $+0,1\text{ °C} \pm 0,2\text{ °C}$ ) ausgewählt.

Bedingt durch die beobachteten maximalen Reaktionszeiten erfolgte die Eiswasserbehandlung in den weiteren Versuchen über 20 Minuten.

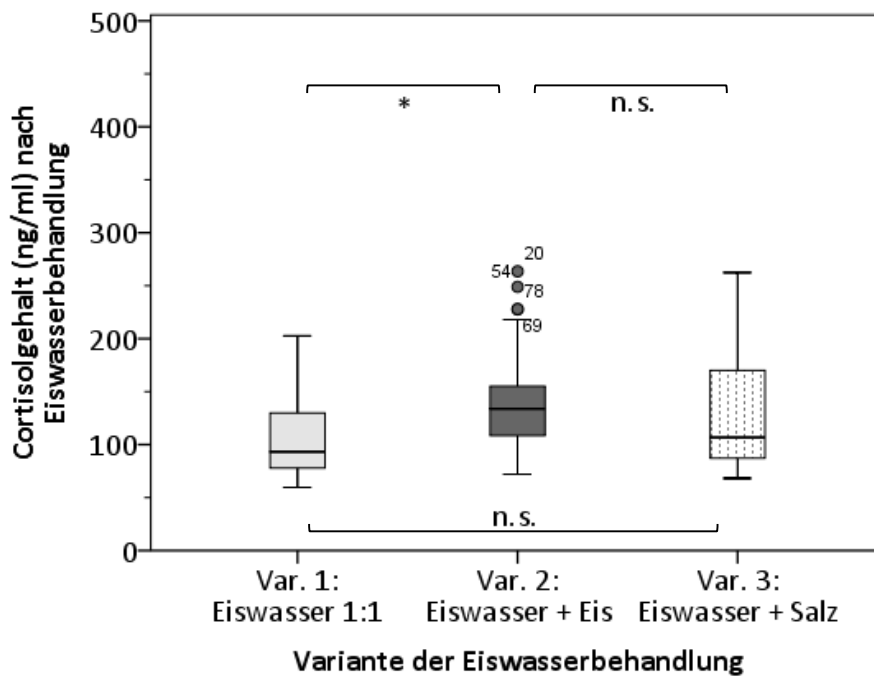
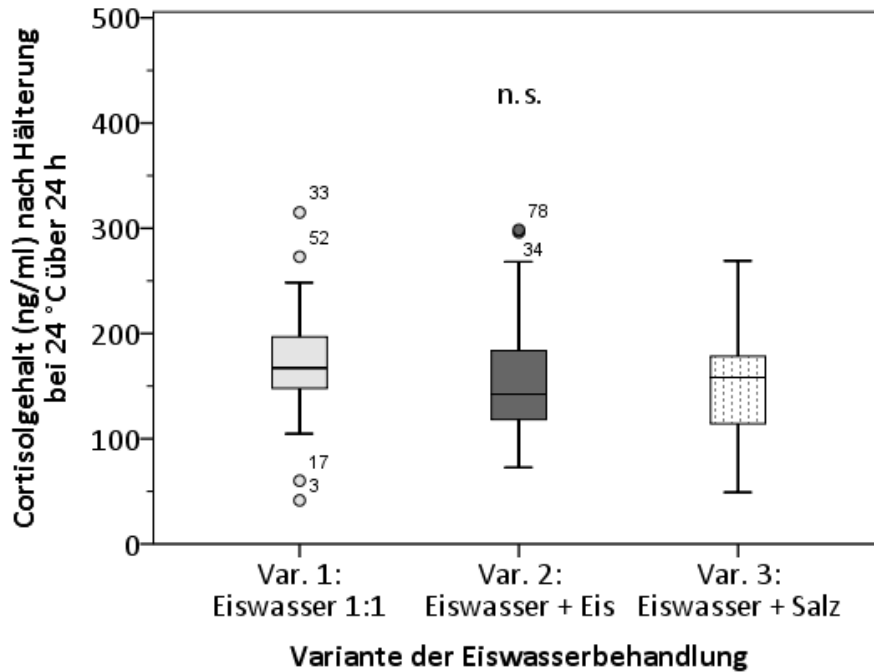


Abbildung 7: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante)

## ERGEBNISSE

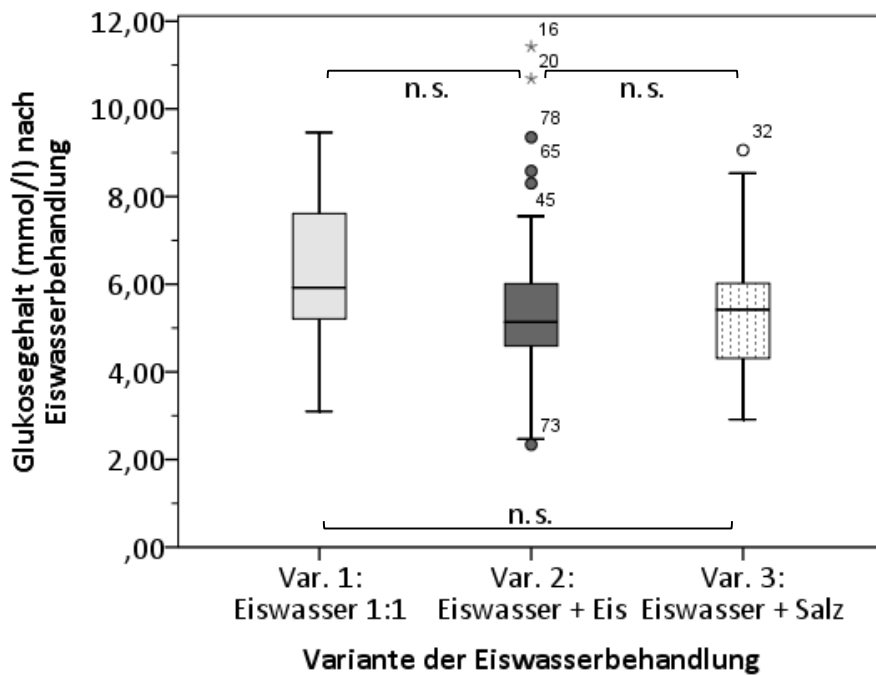
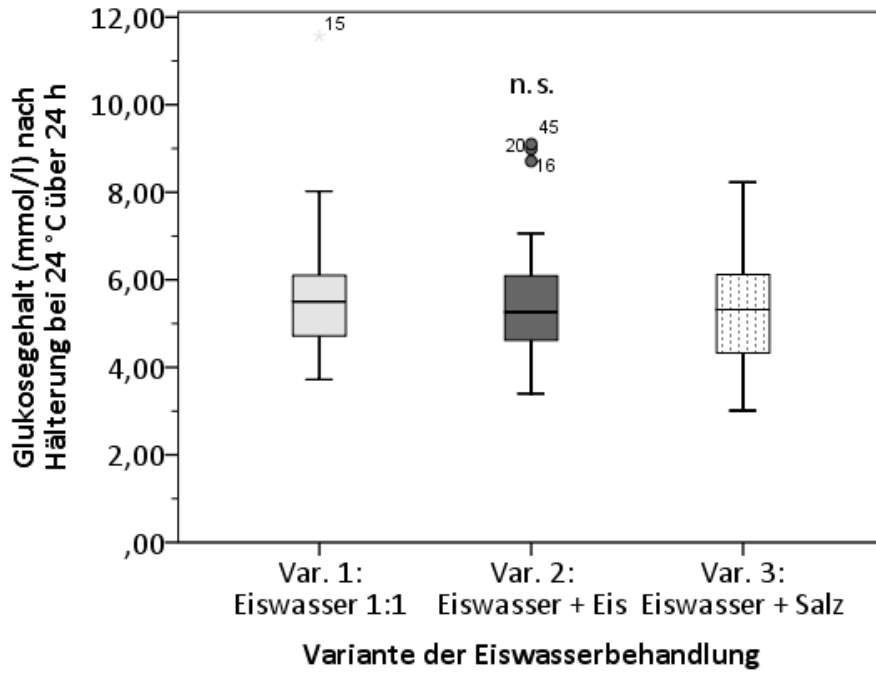


Abbildung 8: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante)

## ERGEBNISSE

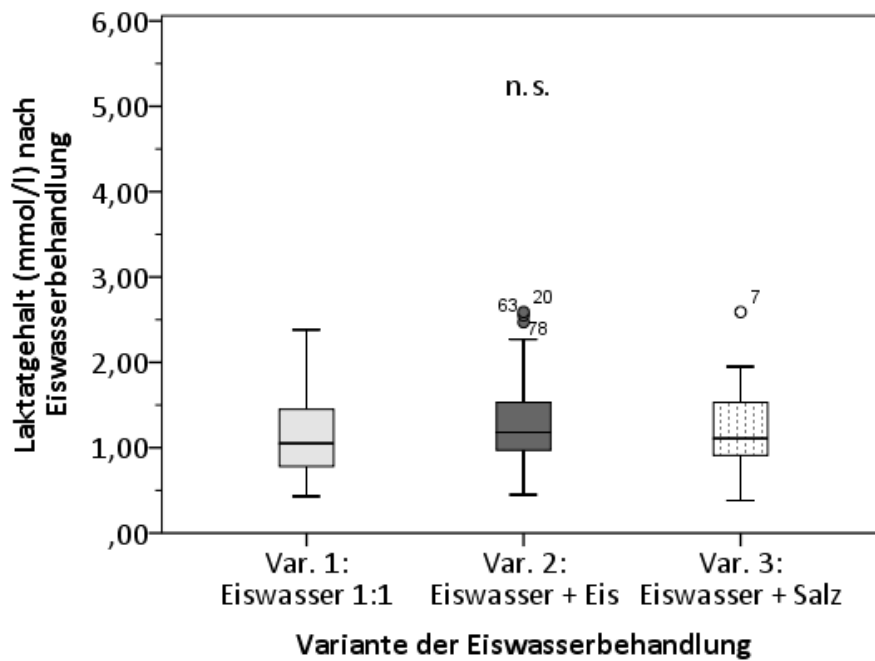
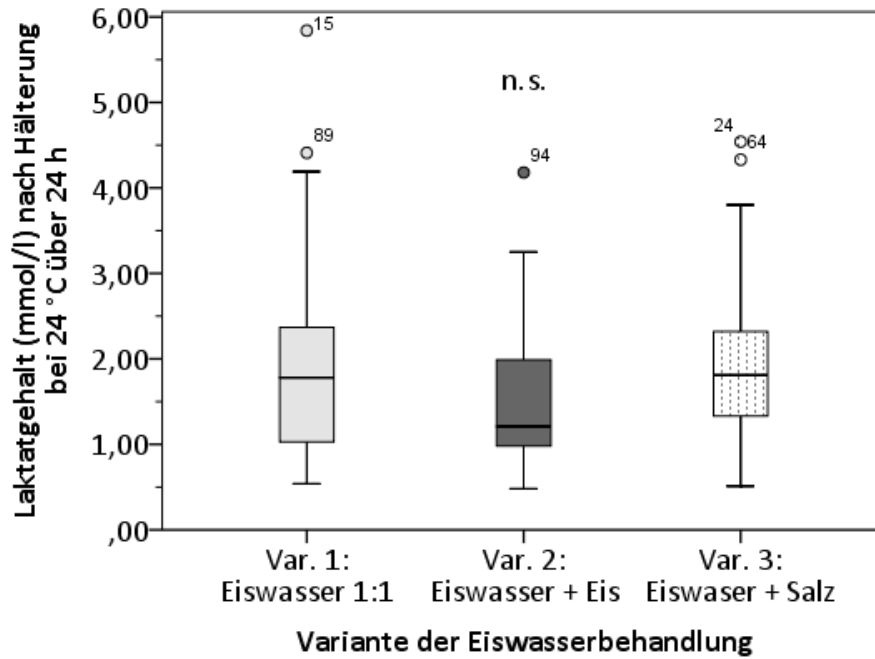


Abbildung 9: Vergleich der Laktatwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante)

## ERGEBNISSE

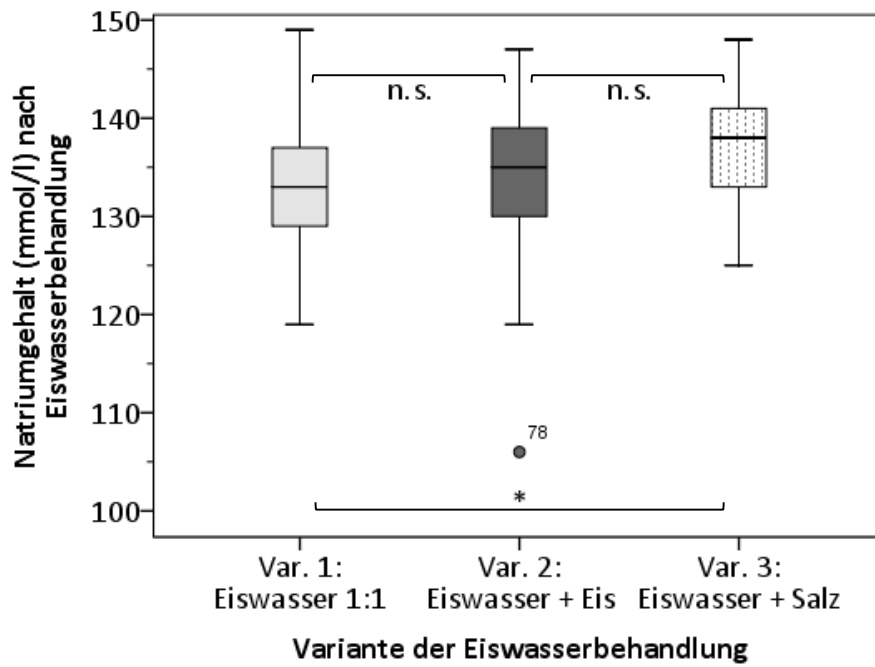
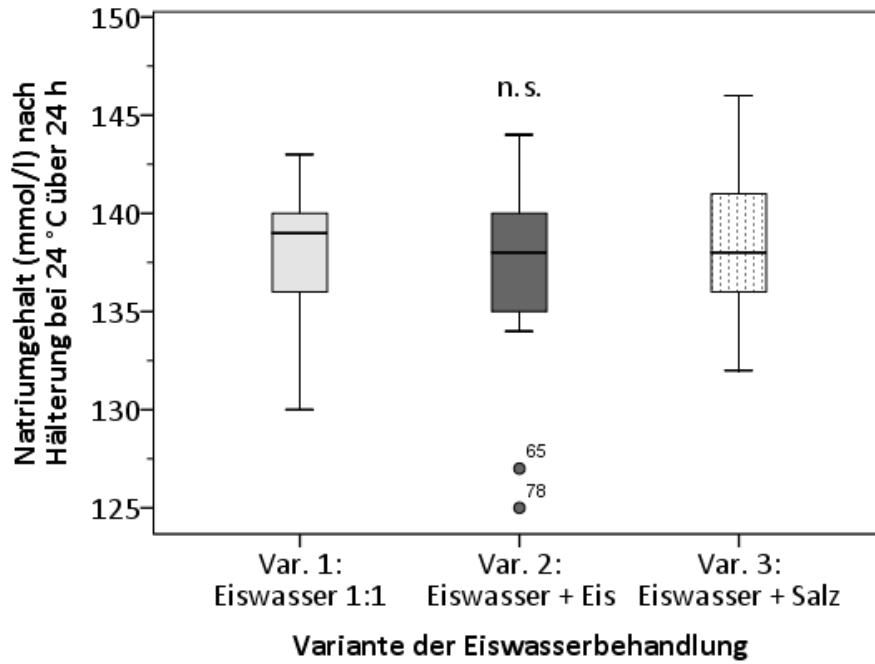
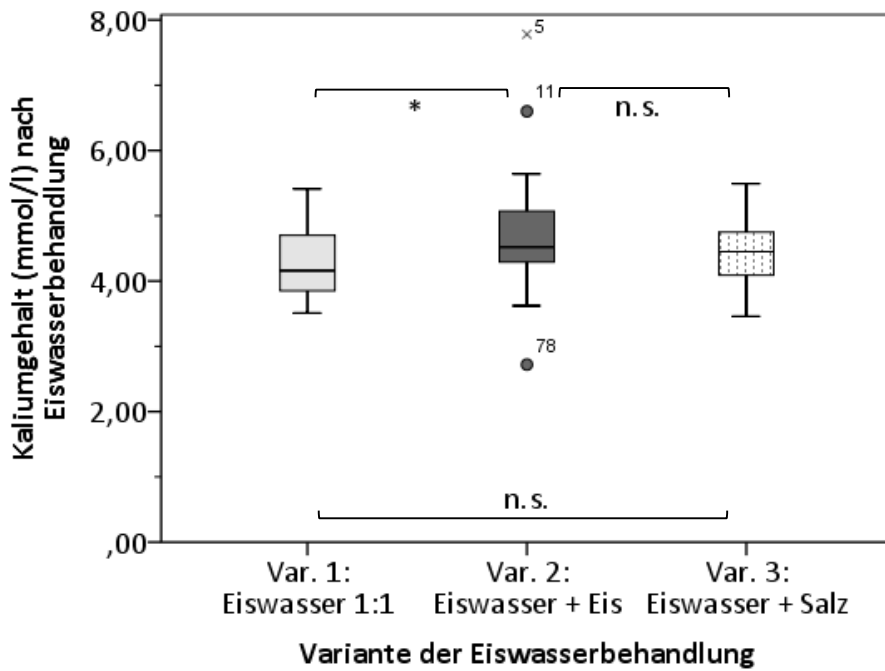
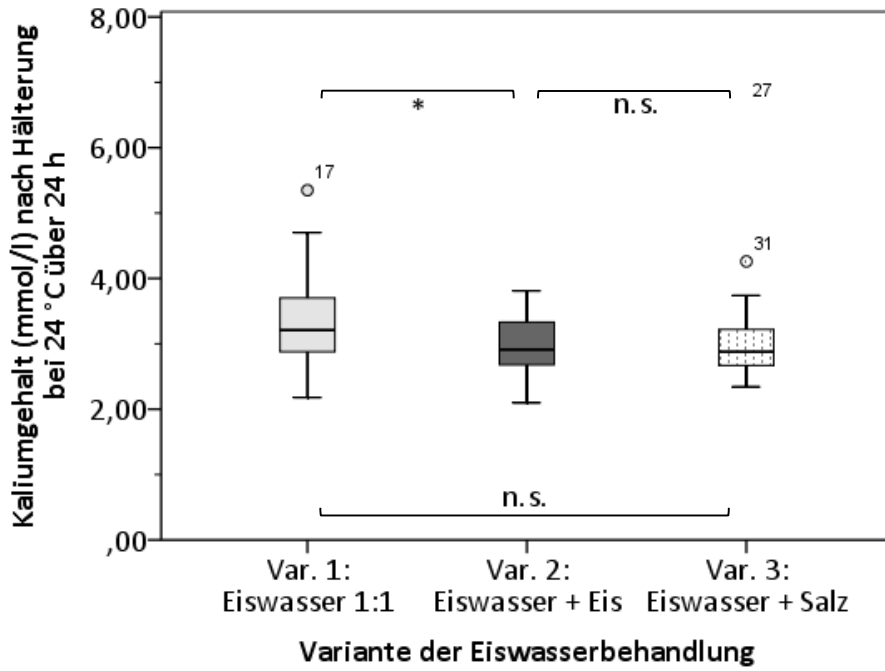


Abbildung 10: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante)



## ERGEBNISSE



**Abbildung 11: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante)**

## ERGEBNISSE

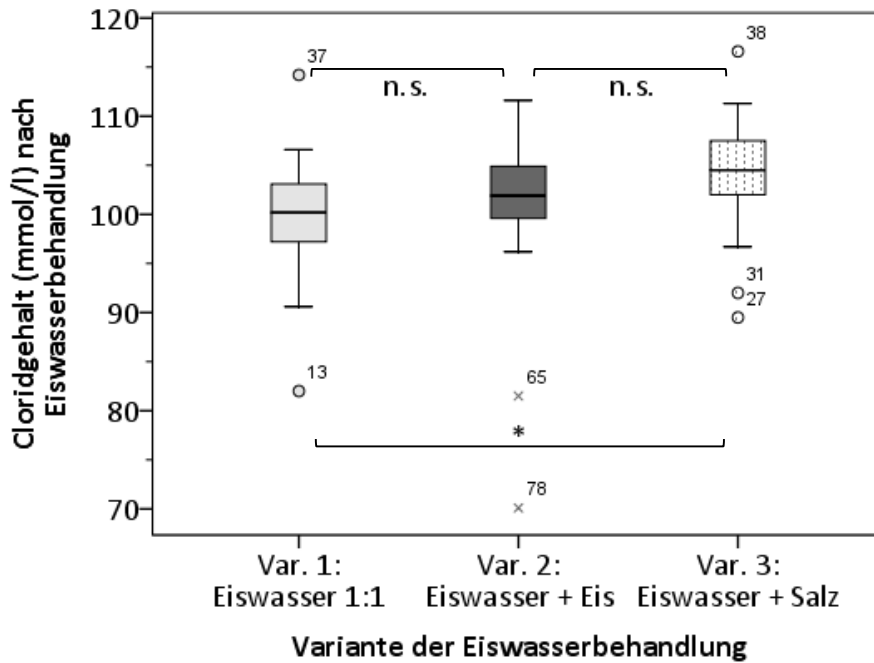
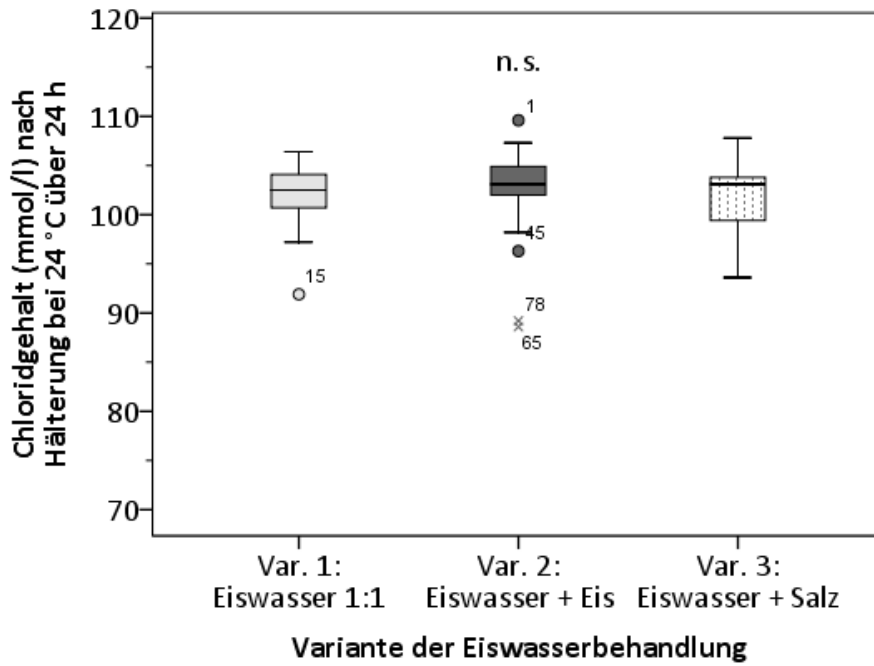


Abbildung 12: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante)

### 4.3 Ergebnisse Versuch 1b (Vergleich verschiedener Methoden der Vorkühlung)

Die im Versuch 1b verwendeten 97 Welse wiesen eine Lebendmasse von  $1,49 \pm 0,41$  kg (MW  $\pm$  SD) und eine Länge von  $53,86 \pm 5,53$  cm (MW  $\pm$  SD) auf.

Bei der Vorkühlung auf 10 °C konnten im Vergleich zu den anderen beiden Vorkühltemperaturen deutliche Unterschiede in mehrererlei Hinsicht festgestellt werden

Nach 14 Stunden bei 10 °C waren acht von zwölf Fischen (67,7 %) bewegungslos und zeigten bei der sich anschließenden Eiswasserbehandlung keinerlei Reaktionen mehr. Bis auf einen Fisch (8,3 %) konnten im Aufwachbecken keine klinischen Reaktionen (incl. Herzfrequenz) festgestellt werden.

Zwanzig Fische wurden über drei Stunden bei 10 °C Vorkühltemperatur gehalten (vorher zehn Stunden bei 15 °C). Der Vorkühlvorgang wurde kontinuierlich beobachtet und aufgezeichnet. Die Fische waren zunehmend inaktiver und legten sich am Boden ab. Einzelne Fische bewegten sich deutlich schneller und stießen wiederholt gegen die Beckenwand. Nach drei Stunden bei 10 °C bewegten sich die Fische kaum noch und reagierten nicht auf Umgebungsreize – im Gegensatz zur Vorkühlung bei 15 °C bzw. 20 °C. Auch die Reaktionen bei der anschließenden Eiswasserbehandlung waren stark reduziert bzw. kaum oder gar nicht mehr feststellbar: keine Reaktion bei vier von 20 Welsen (20,0 %) ab Einsetzen in das Eiswasser.

Zwischen den drei Varianten der Vorkühltemperatur bestanden bezüglich der maximalen Reaktionszeit signifikante Unterschiede ( $p = 0,000$ ; Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben). Der paarweise Vergleich der Variante 1a (10 °C über 14 Stunden) mit der Variante 1b (10 °C über drei Stunden) sowie der Variante 2 (15 °C) mit der Variante 3 (20 °C) ergab keine signifikanten Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben). Beim Vergleich aller anderen Varianten gegeneinander mittels dieses Tests wurden signifikante Unterschiede nachgewiesen (Variante 1a / Variante 2:  $p = 0,000$ ; Variante 1a / Variante 3:  $p = 0,000$ ; Variante 1b / Variante 2:  $p = 0,000$ ; Variante 1b / Variante 3:  $p = 0,000$ ). Tabelle 10 zeigt eine Übersicht über die in den verschiedenen Varianten erreichten maximalen Reaktionszeiten. In Abbildung 13 und Abbildung 14 ist dargestellt, zu welchem Zeitpunkt nach Beginn der Eiswasserbehandlung die Welse noch positive Reaktionen zeigten (als Anteil in %).

Alle bei 20 °C vorgekühlten Welse (100 %) erwachten von der Betäubung nach Umsetzen in die Aufwachbecken. Auch die 33 Fische der Variante mit 15 °C Vorkühlung zeigten bis auf einen 30 und 60 Minuten nach Ende der Eiswasserbehandlung wiederkehrende Reaktionen, Reflexe und selbstinitiierte Bewegungen (97,0 %). Von den über 14 Stunden bei 10 °C vorgekühlten Clarias erholte sich lediglich einer (7,1 %), bei allen anderen konnten im Aufwachbecken keine Lebenszeichen mehr festgestellt werden. Elf der 20 (55,0 %) über drei Stunden bei 10 °C vorgekühlten Welse erholten sich von der Eiswasserbehandlung. Weitere drei Fische (15,0 %) zeigten einzelne Reaktionen nach 30 Minuten im Aufwachbecken, nach 60 Minuten dann keine mehr.

Bei sieben der 16 Clarias (43,8 %), welche bei 15 °C vorgekühlt wurden und anschließend während der ersten fünf Minuten der Eiswasserbehandlung nicht untersucht wurden, konnte keine selbstinitiierte Bewegung (Swimming) beobachtet werden. Die verbliebenen neun nicht-

## ERGEBNISSE

---

untersuchten Fische zeigten im Mittel nach 2,6 Minuten die letzten Schwimmbewegungen (Minimum: 0 Min., Maximum: 6 Min.) Bei den 17 untersuchten Welsen war im Mittel zuletzt nach 3,2 Minuten (Minimum: 1 Min., Maximum: 6 Min.) eine Schwimmbewegung zu beobachten. Nur drei der untersuchten Welse (17,7 %) zeigten gar keine Schwimmbewegungen. Die Unterschiede waren nicht signifikant ( $p = 0,616$ ; Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben).

Auch bezüglich des Blutcortisolspiegels konnten zu allen drei Blutentnahmezeitpunkten (nach Hälterung, nach Vorkühlung, nach Eiswasserbehandlung) keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten und den nicht untersuchten Clarias festgestellt werden (Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben) (siehe Anhang 4). Gleiches gilt für die weiteren Blutparameter.

Abbildung 15 und Abbildung 16 zeigen die bei den unterschiedlich vorgekühlten Welsen gemessenen Körpertemperaturen und Herzfrequenzen.

Bezüglich der Körpertemperatur waren zu allen Messzeitpunkten signifikante Unterschiede zwischen den drei Varianten der Vorkühlung nachweisbar ( $p = 0,000$ ; Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben). Die paarweisen Vergleiche der Varianten mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergaben ebenfalls für alle Messzeitpunkte signifikante Unterschiede bei der Körpertemperatur ( $p = 0,000$  zu allen Messzeitpunkten mit Ausnahme des Tests  $10\text{ °C} / 20\text{ °C}$ , 60 Minuten nach Betäubungsende:  $p = 0,001$  und  $15\text{ °C} / 20\text{ °C}$ , 30 Minuten nach Betäubungsende:  $p = 0,011$ ).

Bei den bei  $10\text{ °C}$  vorgekühlten Fischen war eine Messung der Herzfrequenz lediglich bei drei von 32 Clarias (9,4 %) nach der fünften Minute sowie bei zwei von 32 Clarias (6,3 %) nach der 15. Minute nach Betäubungsbeginn möglich. Bezüglich der Herzfrequenz konnten zwischen Variante 2 und Variante 3 zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede nachgewiesen werden.

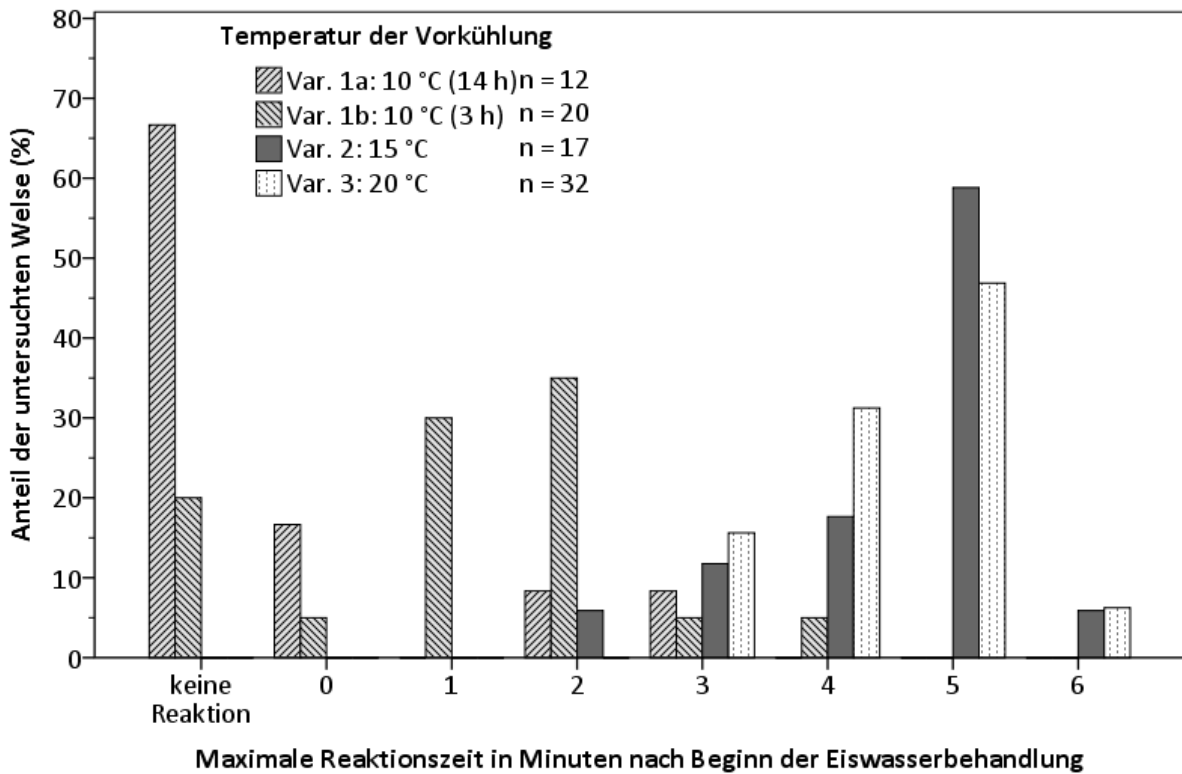
ERGEBNISSE

Tabelle 10: Maximale Reaktionszeit in Minuten nach Beginn der Eiswasserbehandlung (Versuch 1b; n = 97)

Vorkühl- temperatur	n	Kenngröße	Maximale Reaktionszeit in Minuten	
			bei allen durchgeführten Tests entsprechend dem Protokoll	ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten
Variante 1a: 10 °C (14 h)	12	Arithmetisches Mittel	0,4	0,4
		Median	0	0
		Maximum	3	3
		Minimum	0	0
		25 % Perzentil	0	0
		75 % Perzentil	0	0
Variante 1b: 10 °C (3 h)	20	Arithmetisches Mittel	1,4	0,7
		Median	1	0,5
		Maximum	4	3
		Minimum	0	0
		25 % Perzentil	0,25	0
		75 % Perzentil	2	1
Variante 2: 15 °C	17	Arithmetisches Mittel	4,5	3,7
		Median	5	4
		Maximum	6	6
		Minimum	2	2
		25 % Perzentil	4	2
		75 % Perzentil	5	5
Variante 3: 20 °C	32	Arithmetisches Mittel	4,4	3,8
		Median	5	4
		Maximum	6	6
		Minimum	3	3
		25 % Perzentil	4	3
		75 % Perzentil	5	4,75

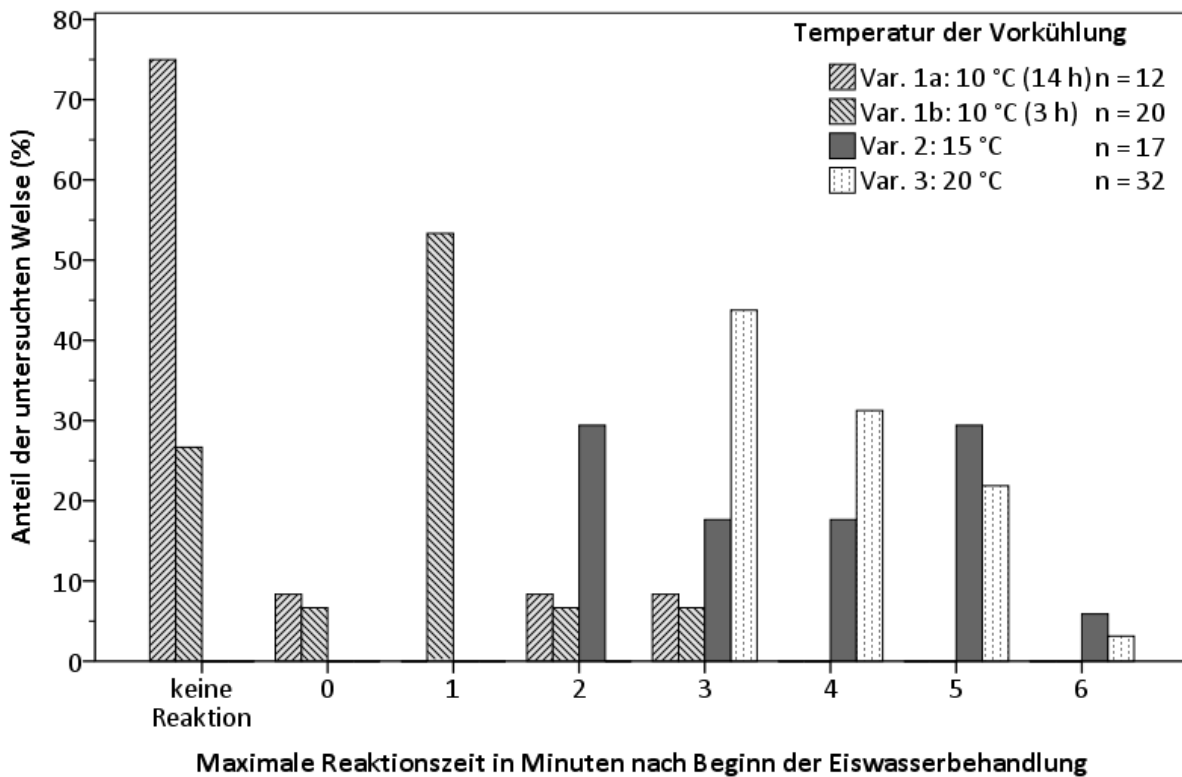
In Variante 2 wurden nur die untersuchten Tiere einbezogen.

## ERGEBNISSE



**Abbildung 13: Maximale Reaktionszeit, alle Tests (Versuch 1b; n = 81)**

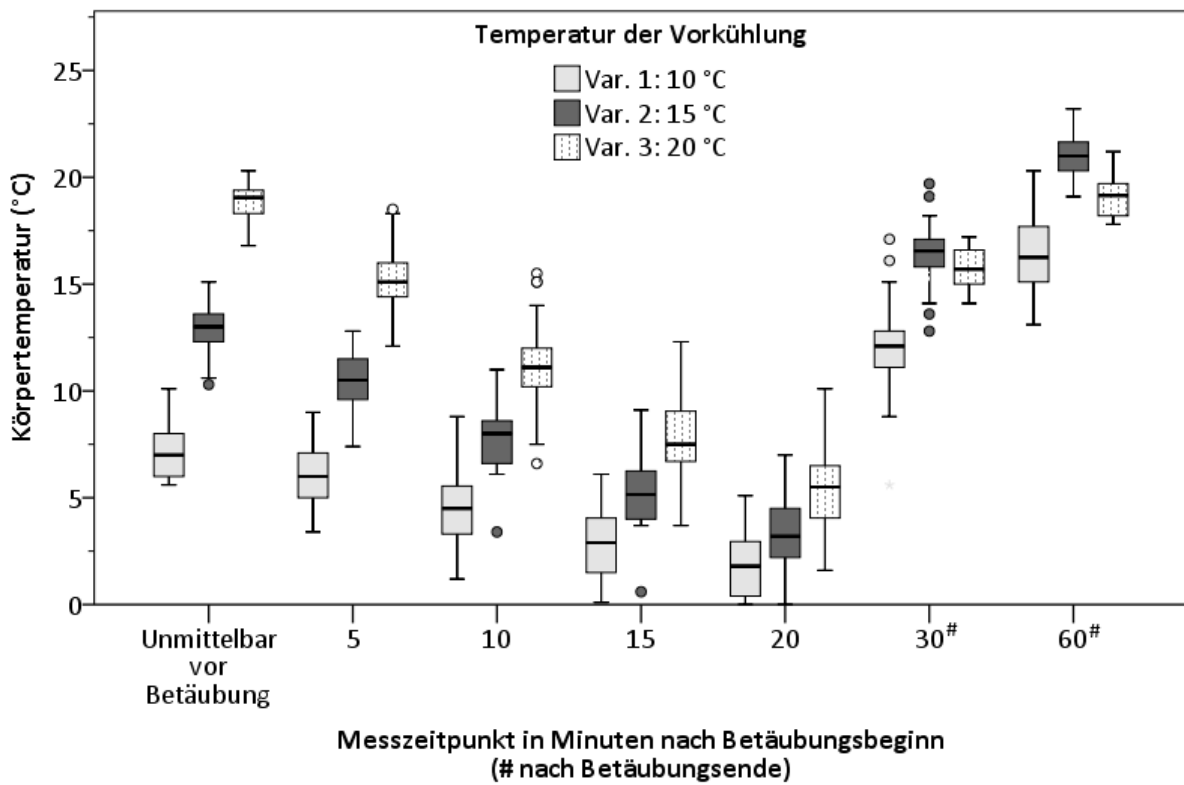
In Variante 2 wurden nur die untersuchten Tiere einbezogen.



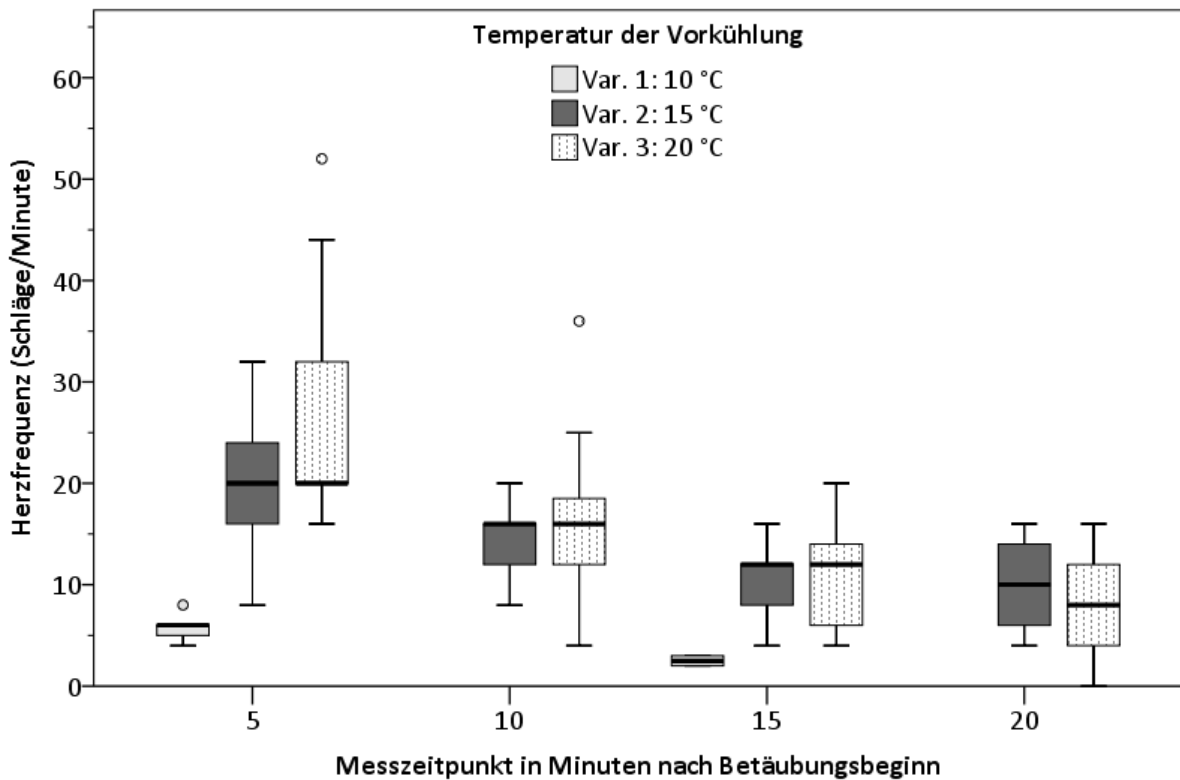
**Abbildung 14: Maximale Reaktionszeit ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 1b; n = 81)**

In Variante 2 wurden nur die untersuchten Tiere einbezogen.

## ERGEBNISSE



**Abbildung 15: Körpertemperatur in °C in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97)**



**Abbildung 16: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97)**

## ERGEBNISSE

---

Die ermittelten Blutparameter sind in Anhang 3 für die einzelnen Varianten und Messzeitpunkte als arithmetische Mittel  $\pm$  Standardabweichung.

Tabelle 11 gibt einen Überblick über die mit Hilfe nicht parametrischer Tests ermittelten p-Werte bei Vergleich der Blutparameter zwischen den drei Varianten der Vorkühlung zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten. In Tabelle 12 sind die Signifikanzwerte bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Entnahmezeitpunkten dargestellt.

Nach der Vorkühlung waren die Unterschiede bezüglich des Cortisolgehaltes zwischen den drei Temperaturvarianten der Vorkühlung signifikant (siehe Abbildung 17). Bei 10 °C waren signifikant höhere Cortisolwerte gegenüber der Variante mit 15 °C sowie der Variante mit 20 °C nachweisbar. Die Blutcortisolspiegel der drei Vorkühlvarianten unterschieden sich nach der Eiswasserbehandlung ebenfalls signifikant. Bei 20 °C Vorkühlung wurden signifikant höhere Cortisolspiegel gegenüber den Varianten mit 10 °C und 15 °C nachgewiesen.

In den Varianten 2 (15 °C) und 3 (20 °C) erhöhte sich der Cortisolspiegel nach Eiswasserbehandlung signifikant gegenüber der Vorkühlung wobei die Steigerung bei 20 °C Vorkühlung wesentlich deutlicher ausfiel. Hier war der Wert auch signifikant höher als der nach Hälterung ermittelte. Bei 15 °C und 20 °C waren die Cortisolwerte nach Vorkühlung signifikant niedriger als nach Hälterung bei 24 °C über 24 Stunden.

Nach der Vorkühlung waren signifikante Unterschiede im Glukosegehalt zwischen den drei Varianten der Vorkühlung nachzuweisen (siehe Abbildung 18). Bei 10 °C Vorkühlung traten signifikant höhere Glukosewerte als bei 15 °C und 20 °C auf. Bei 15 °C konnten ebenfalls signifikant höhere Glukosewerte als bei 20 °C ermittelt werden. Auch nach der Eiswasserbehandlung traten signifikante Unterschiede zwischen den drei Varianten der Vorkühlung auf. Bei 10 °C und bei 15 °C wurden jeweils signifikant höhere Glukosewerte als bei 20 °C ermittelt werden.

Der nach Hälterung ermittelte Glukosegehalt war in den Varianten 1 (10 °C) und 2 (15 °C) signifikant niedriger als die in den beiden folgenden Blutentnahmen ermittelten Werte. In Variante 2 erhöhte sich der Glukosespiegel nach Eiswasserbehandlung auch signifikant gegenüber dem nach Vorkühlung ermittelten Wert. In Variante 3 (20 °C) war der Glukosespiegel nach Eiswasserbehandlung signifikant niedriger als nach Hälterung.

Bei den Natriumwerten wurden nach der Hälterung signifikante Unterschiede zwischen den drei Varianten der Vorkühlung festgestellt (siehe Abbildung 19). In Variante 1 traten signifikant höhere Werte gegenüber den Varianten 2 und 3 auf. Bei 15 °C waren die Natriumwerte signifikant niedriger als bei 20 °C. Die Natriumwerte nach Vorkühlung unterschieden sich zwischen den drei Varianten der Vorkühlung signifikant. Bei 10 °C waren die Werte signifikant höher als bei 15 °C. In der Variante 3 mit 20 °C waren sowohl gegenüber der Variante 1 mit 10 °C als auch gegenüber der Variante 2 mit 15 °C signifikant höhere Natriumgehalte im Blut feststellbar. Nach Eiswasserbehandlung unterschieden sich die Natriumwerte ebenfalls signifikant zwischen den drei Varianten. Bei der Variante 3 waren gegenüber den beiden anderen Varianten signifikant höhere Natriumgehalte im Blut feststellbar.



## ERGEBNISSE

---

In allen drei Varianten sind die nach Vorkühlung ermittelten Natriumwerte signifikant niedriger als die nach Hälterung, in den Varianten 2 und 3 auch als die nach Eiswasserbehandlung ermittelten Spiegel. In Variante 1 ist der Natriumgehalt nach Eiswasserbehandlung signifikant niedriger als nach Hälterung.

Nach der Vorkühlung konnten signifikante Unterschiede bezüglich der Kaliumwerte nachgewiesen werden (siehe Abbildung 20). In Variante 1 mit 10 °C traten signifikant höhere Kaliumwerte gegenüber Variante 2 mit 15 °C sowie gegenüber Variante 3 mit 20 °C auf. Bei 15 °C konnten signifikant niedrigere Kaliumwerte als bei 20 °C festgestellt werden. Die Kaliumwerte nach Eiswasserbehandlung zeigten ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den drei Varianten der Vorkühlung. Bei 10 °C traten signifikant höhere Werte als bei 15 °C Vorkühltemperatur auf, bei 15 °C signifikant niedrigere als bei 20 °C.

In allen drei Varianten waren die zum Blutentnahmezeitpunkt 1 ermittelten Kaliumkonzentrationen signifikant niedriger als die zu den Entnahmezeitpunkten 2 und 3 ermittelten Werte. Nach der Eiswasserbehandlung kam es in Variante 2 gegenüber der Vorkühlung zu einer signifikanten Erhöhung des Kaliumgehaltes

Die Chloridwerte nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C zeigten signifikante Unterschiede zwischen den drei Varianten der Vorkühlung (siehe Abbildung 21). Bei Variante 2 mit 15 °C waren signifikant niedrigere Werte gegenüber Variante 1 mit 10 °C sowie gegenüber Variante 3 mit 20 °C nachweisbar. Nach der Vorkühlung konnten ebenfalls signifikante Unterschiede festgestellt werden. Variante 3 zeigte dabei signifikant höhere Chloridwerte als die Varianten 1 und 2. Auch die Chloridwerte nach Eiswasserbehandlung wiesen signifikante Unterschiede zwischen den drei Varianten der Vorkühlung auf. In Variante 3 mit 20 °C waren signifikant höhere Chloridwerte gegenüber Variante 1 mit 10 °C sowie gegenüber Variante 2 mit 15 °C nachweisbar.

In den Varianten 2 (15 °C) und 3 (20 °C) erhöhte sich der Chloridspiegel nach Eiswasserbehandlung signifikant gegenüber den nach Vorkühlung, in den Varianten 1 (10°C) und 3 auch gegenüber den nach Hälterung gemessenen Werten. Nach Vorkühlung wurden in den Varianten 1 und 3 signifikant geringere Chloridgehalte ermittelt als nach Hälterung.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 11: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Varianten der Vorkühlung (Var. 1: 10 °C, Var. 2: 15 °C, Var. 3: 20 °C) zu den Blutentnahmezeitpunkten**

Messzeitpunkt	Parameter	Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben		
			Var. 1 vs. Var. 2	Var. 1 vs. Var. 3	Var. 2 vs. Var. 3
Nach Hälterung über 24 h bei 24 °C	Cortisol	0,673	-	-	-
	Glukose	0,060	-	-	-
	Natrium	0,000	0,000	0,011	0,000
	Kalium	0,618	-	-	-
	Chlorid	0,000	0,000	0,909	0,000
Nach Vorkühlung	Cortisol	0,001	0,001	0,002	0,875
	Glukose	0,000	0,003	0,000	0,000
	Natrium	0,000	0,000	0,003	0,000
	Kalium	0,000	0,000	0,013	0,000
	Chlorid	0,000	0,483	0,000	0,000
Nach Eiswasserbehandlung	Cortisol	0,000	0,309	0,002	0,000
	Glukose	0,000	0,555	0,000	0,000
	Natrium	0,000	0,180	0,000	0,000
	Kalium	0,002	0,010	0,097	0,001
	Chlorid	0,000	0,613	0,000	0,000

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$  (Kruskal-Wallis-Test bei unabhängigen Stichproben) bzw.  $p < 0,0167$  (Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben für den paarweisen Vergleich nach Korrektur der Signifikanzschranke nach Bonferroni);

keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

War mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests bei unabhängigen Stichproben keine Signifikanz nachweisbar, erfolgte kein paarweiser Vergleich der Stichproben.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 12: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den drei Blutentnahmezeitpunkten (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung, nach Betäubung) in den Varianten der Vorkühlung**

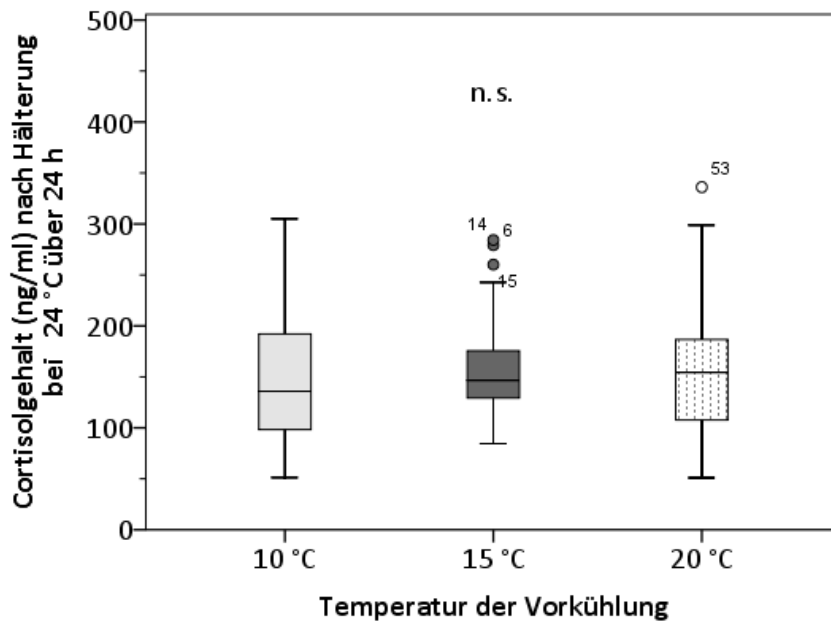
Variante	Parameter	Friedman Test bei k verbundenen Stichproben	Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben		
			Entnahme- zeitpunkt 1 vs. 2	Entnahme- zeitpunkt 1 vs. 3	Entnahme- zeitpunkt 2 vs. 3
Variante 1 (Vorkühlung bei 10 °C)	Cortisol	0,223	-	-	-
	Glukose	0,000	0,000	0,000	0,210
	Natrium	0,000	0,000	0,000	0,356
	Kalium	0,000	0,000	0,000	0,483
	Chlorid	0,000	0,000	0,000	0,977
Variante 2 (Vorkühlung bei 15 °C)	Cortisol	0,000	0,000	0,195	0,000
	Glukose	0,000	0,000	0,000	0,000
	Natrium	0,000	0,000	0,088	0,000
	Kalium	0,000	0,000	0,000	0,000
	Chlorid	0,005	0,195	0,714	0,000
Variante 3 (Vorkühlung bei 20 °C)	Cortisol	0,000	0,000	0,001	0,000
	Glukose	0,000	0,258	0,000	0,114
	Natrium	0,000	0,000	0,514	0,001
	Kalium	0,000	0,000	0,000	0,331
	Chlorid	0,000	0,006	0,014	0,002

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$  (Friedman Test bei k verbundenen Stichproben) bzw.  $p < 0,0167$  (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben für den paarweisen Vergleich nach Korrektur der Signifikanzschranke nach Bonferroni);

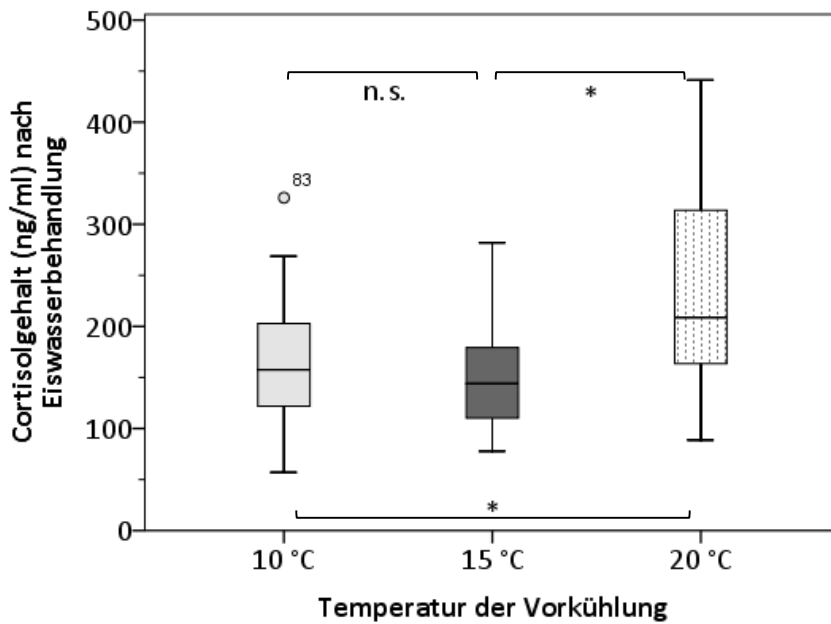
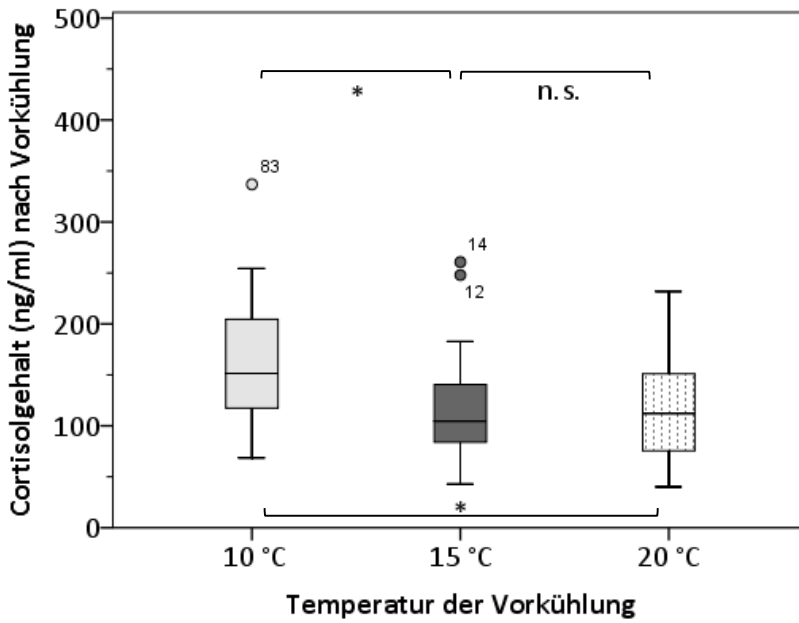
keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

War mit Hilfe des Friedman Tests bei k verbundenen Stichproben keine Signifikanz nachweisbar, erfolgte kein paarweiser Vergleich der Stichproben.

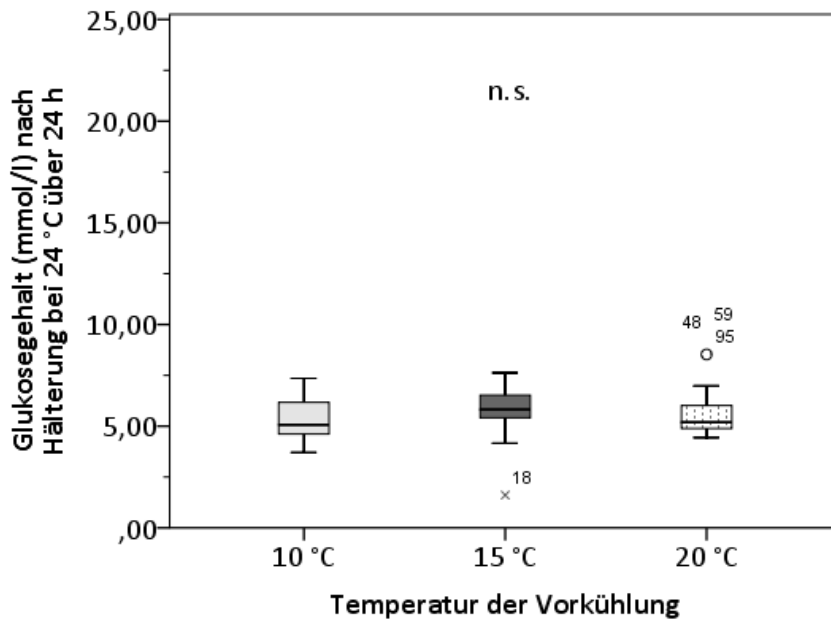
## ERGEBNISSE



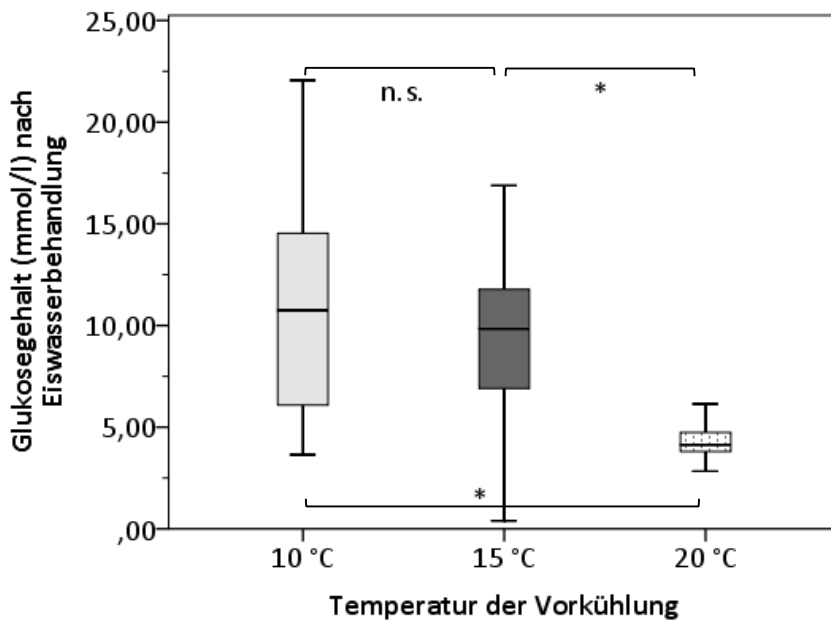
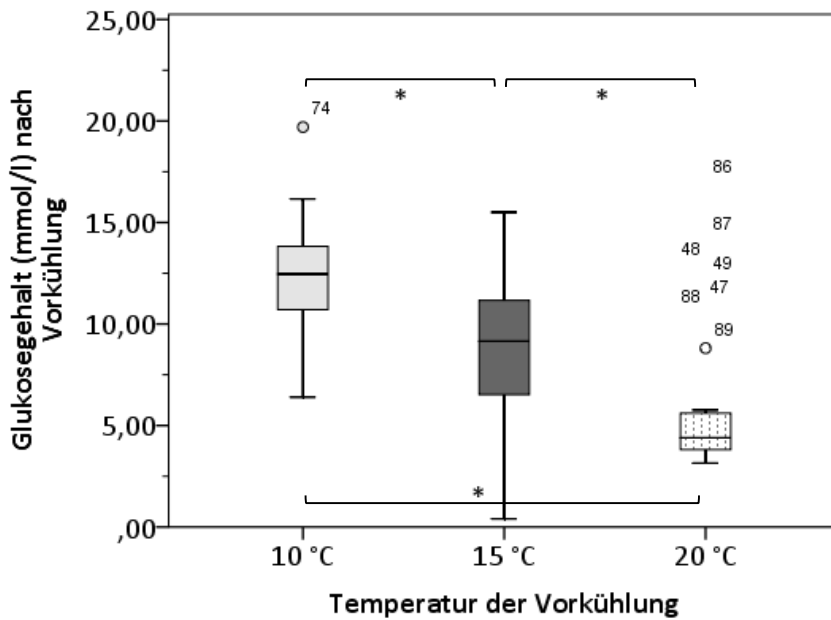
**Abbildung 17: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97)**



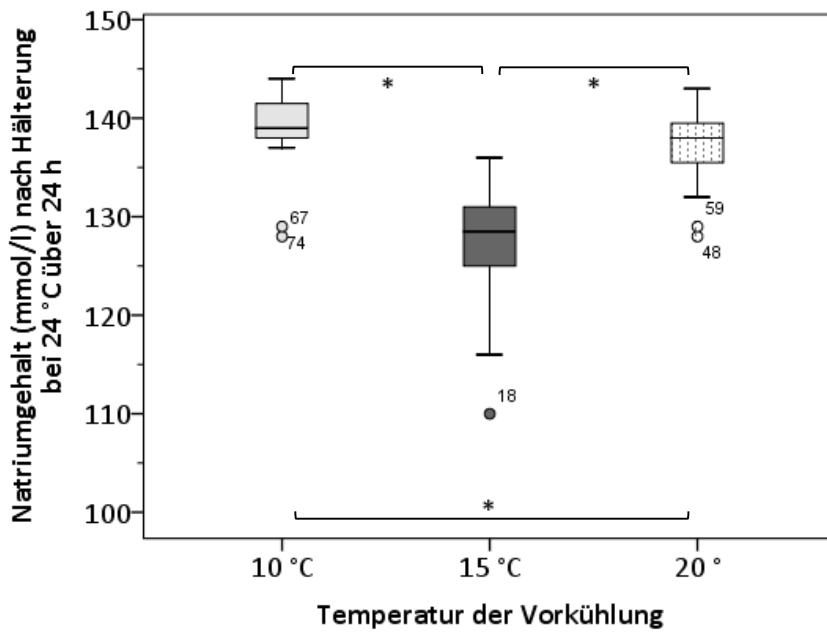
## ERGEBNISSE



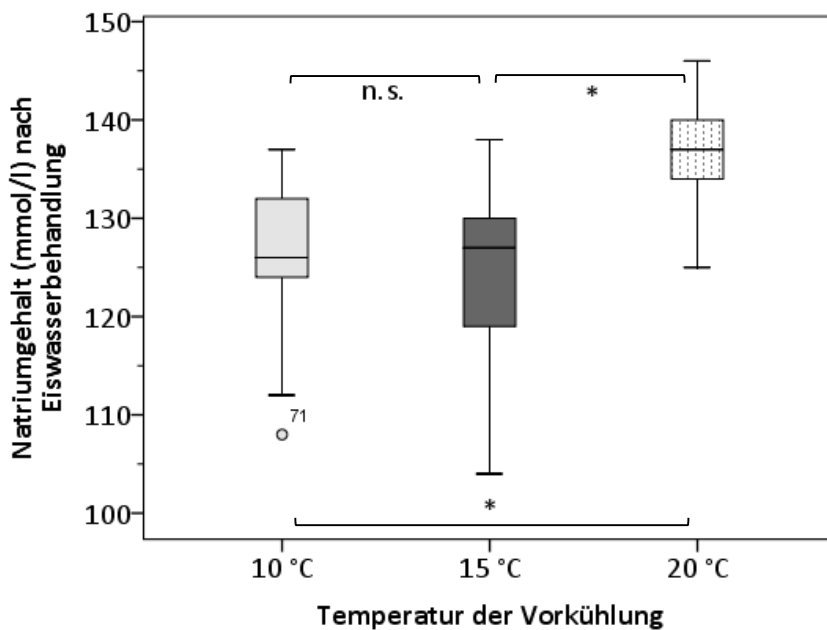
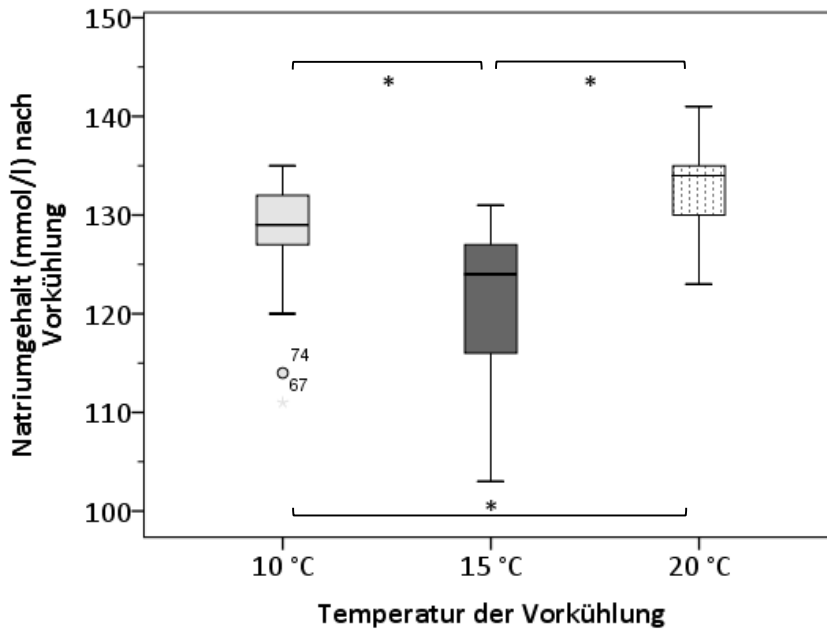
**Abbildung 18: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97)**



## ERGEBNISSE



**Abbildung 19: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97)**



# ERGEBNISSE

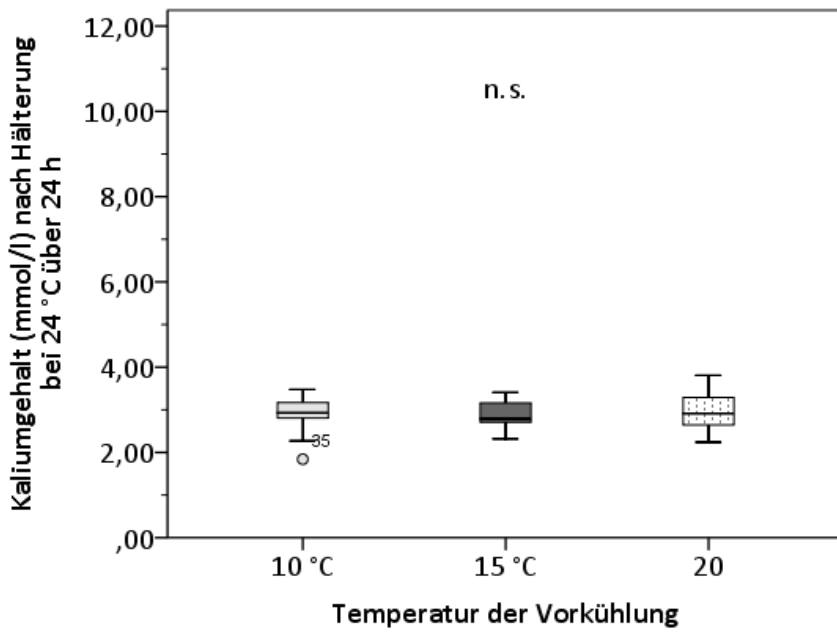
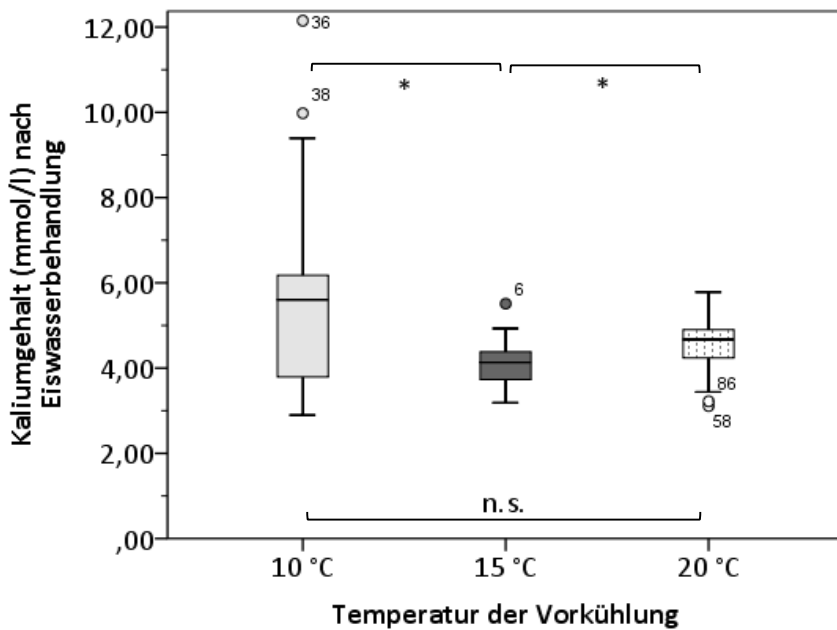
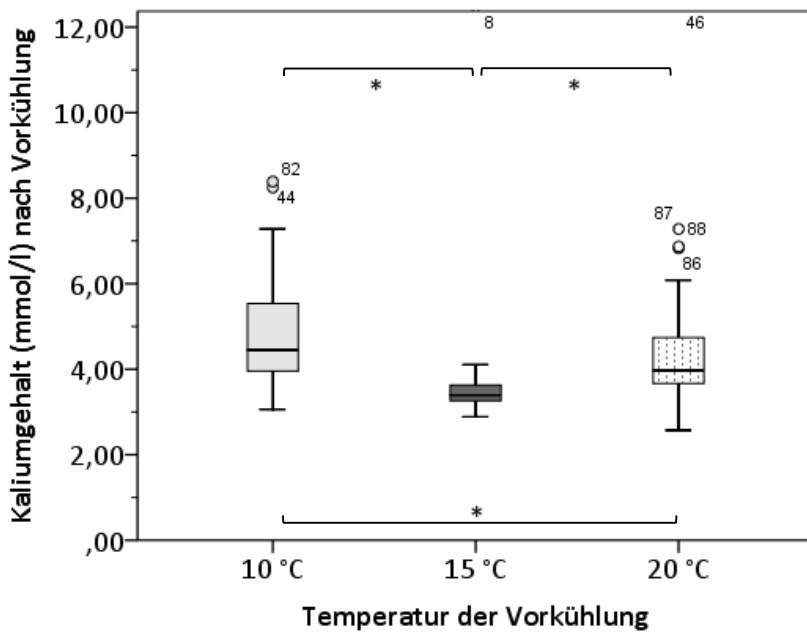
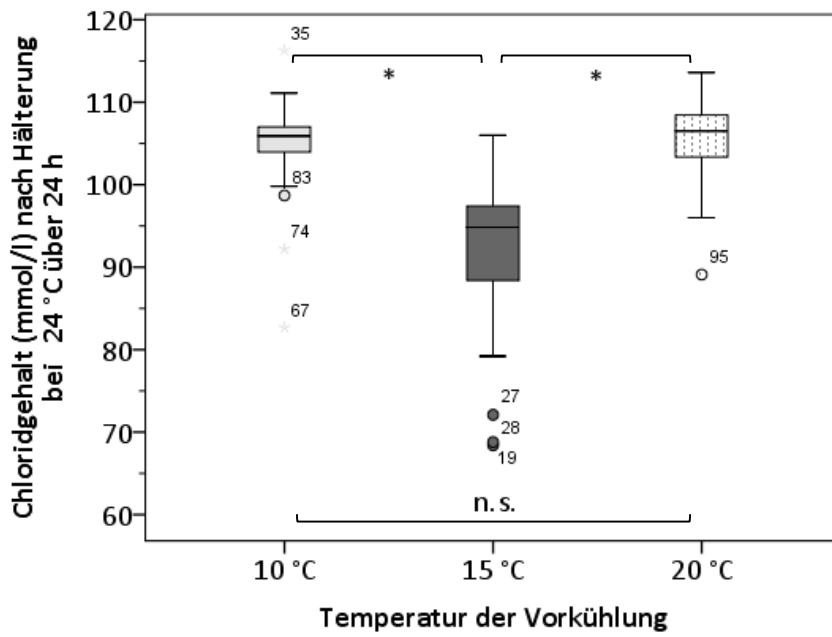


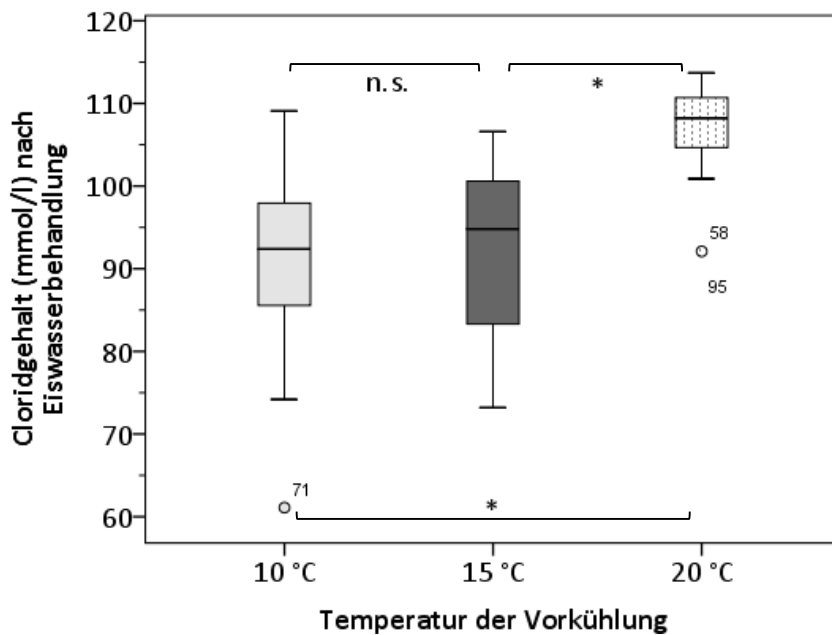
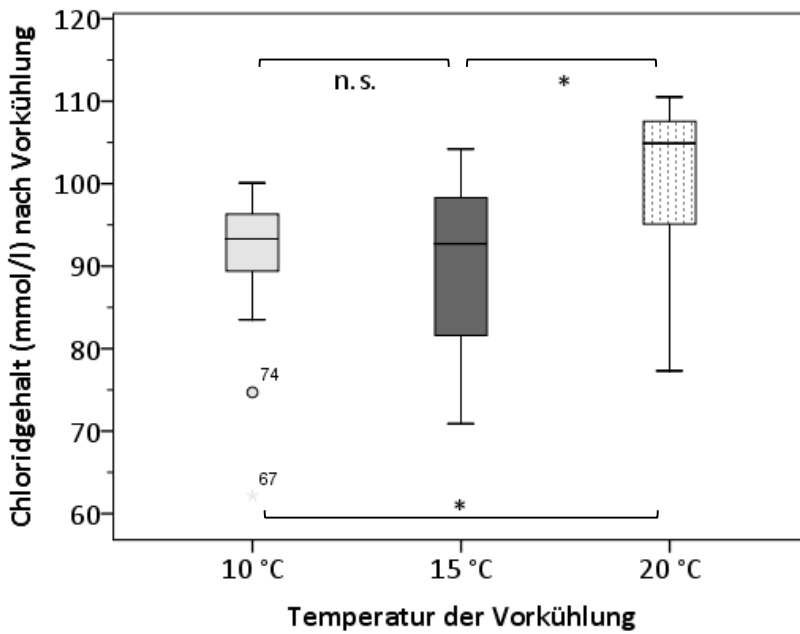
Abbildung 20: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97)



## ERGEBNISSE



**Abbildung 21: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97)**





### 4.4 Ergebnisse Versuch 2 (Elektrobetäubung)

Die im Versuch 2 verwendeten Welse wiesen eine Lebendmasse von  $1,52 \pm 0,33$  kg (MW  $\pm$  SD) und eine Länge von  $55,22 \pm 9,10$  cm (MW  $\pm$  SD) auf.

Der Test der unmittelbaren Kopfdurchströmung am Einzeltier mit Hilfe der Schermer Kurzzeitbetäubungsanlage Typ EC-2 (Betäubungsspannung 250 V, 1,3 A, Wechselstrom) ergab, dass mit dieser Methode die Betäubungswirkung schnell eintrat. Die Tiere zeigten deutliche tonisch-klonische Krämpfe, die 30 bis 60 Sekunden anhielten. Des Weiteren ist die Praktikabilität bei dieser Methode gegeben.

Die Betäubung in Variante 1 wurde im Wasserbad mit einem Wasserstand von 9 cm durchgeführt. Bei allen 31 betäubten Tieren wurde über eine Stromflusszeit von vier Sekunden bei einer Betäubungsspannung von  $239,0 \pm 5,60$  V (MW  $\pm$  SD) und einer Stromstärke von  $2,1 \pm 0,26$  A (MW  $\pm$  SD) eine Betäubung erreicht (siehe Tabelle 13). Die Beurteilung erfolgte anhand der klinischen Tests. So wurden deutliche tonisch-klonische Krämpfe sowie der Ausfall aller entsprechend dem Untersuchungsprotokoll getesteten Reflexe bzw. Reaktionen festgestellt. Die Betäubung dauerte 30 bis 60 Sekunden an. Danach zeigten die Tiere wiederkehrende Reaktionen in den klinischen Tests (siehe Tabelle 14).

Bei sechs Welsen (19,4 %) musste der Zangensitz korrigiert werden. Alle sechs Tiere konnten nach Zangenkorrektur erfolgreich betäubt werden (siehe Tabelle 13).

Alle betäubten Tiere wachten aus der Betäubung auf. Nach 30 Minuten im Aufwachbecken konnten keine Ausfälle bei den klinischen Tests festgestellt werden.

Mit der Variante 2 wurden weitere 31 Welse elektrisch betäubt. Dies erfolgte als Trockenbetäubung. Im Gegensatz zur Variante 1 waren die erreichten Stromstärken allerdings wesentlich geringer. Im Mittel wurden Spannungen und Stromstärken von  $250 \pm 0$  V und  $0,7 \pm 0,18$  A (MW  $\pm$  SD) erreicht (siehe Tabelle 13).

Bei zwei Welsen war der Stromfluss so gering, dass das Gerät den Stromfluss unterbrach. Ein Tier wurde nachbetäubt, das andere sofort euthanasiert. Bei drei weiteren Welsen (9,7 %) musste der Zangensitz korrigiert werden. Alle drei Tiere konnten nach Zangenkorrektur erfolgreich betäubt werden, sodass insgesamt 30 von 31 Tieren (96,8 %) erfolgreich betäubt wurden.

Die Betäubung dauerte bei den erfolgreich betäubten Tieren ebenfalls 30 bis 60 Sekunden an. Danach zeigten die Tiere wiederkehrende Reaktionen in den klinischen Tests (siehe Tabelle 14). Auch bei dieser Variante wachten alle betäubten Tiere aus der Betäubung auf.

In beiden Varianten zeigten die Welse unmittelbar nach der elektrischen Kopfdurchströmung tonisch-klonische Krämpfe mit Maulsperre. Innerhalb der ersten Minute nach der Betäubung ließen die Krämpfe nach. Dies äußerte sich zunächst in einem Zucken einzelner Barteln, gefolgt vom Schließen des Mauls sowie einer merklichen Entspannung der kontrahierten Rumpf- und Schwanzmuskulatur. Die Krämpfe dauerten bei Tieren aus der Nassbetäubung  $34,4 \pm 5,58$  s, bei den mit Variante 2 betäubten Welsen  $34,3 \pm 6,11$  s (jeweils MW  $\pm$  SD). Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen waren nicht signifikant ( $p = 0,728$ ; Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben).

## ERGEBNISSE

Bei den klinischen Tests eine Minute nach der Elektrobetäubung waren in beiden Varianten im Mittel vier bzw. fünf von acht Tests wieder positiv. Vier von 31 (12,9 %) untersuchten Welsen in Variante 1 und drei von 30 (10,0 %) in Variante 2 zeigten eine Minute nach Betäubung lediglich eine positive Reaktion. Reaktionen, die zuerst wieder auftraten, waren die Antwort auf „Handling“ sowie Atembewegungen. Auch die Clarias, bei welchen der Zangensitz korrigiert werden musste, zeigten alle nach der ersten Minute nach der Elektrobetäubung wieder positive Reaktionen, ein Wels aus der Trockenbetäubung sogar innerhalb der ersten Minute (Atembewegungen).

**Tabelle 13: Parameter der Elektrobetäubung (Versuch 2; n<sub>Var. 1</sub> = 31, n<sub>Var. 2</sub> = 31)**

Parameter	Variante der Elektrobetäubung	
	Variante 1 (nass)	Variante 2 (trocken)
Erreichte Stromstärke (MW ± SD)	2,1 ± 0,26 A	0,7 ± 0,18 A
Minimum / Maximum	1,5 A / 2,6 A	0,3 A / 1,1 A
Erreichte Spannung (MW ± SD)	239,0 ± 5,60 V	250 ± 0 V
Minimum / Maximum	230 V / 250 V	250 V / 250 V
Anzahl betäubter Welse mit fehlerhaftem Zangensitz (Anzahl der erfolgreich nachbetäubten Tiere)	6 (6)	5 (4)

Bei den Clarias aus dem Versuch 2 erfolgte keine Messung der Körpertemperatur, da die Tiere nicht im Eiswasser behandelt wurden.

Die Messung der Herzfrequenz unmittelbar nach der Betäubung ergab bei den Fischen aus Variante 1 42 ± 8 Schläge pro Minute und 36 ± 8 Schläge pro Minute (MW ± SD) bei den Welsen aus Variante 2. Fünf Minuten danach lag die Herzfrequenz bei 41 ± 12 bzw. 35 ± 12 Schlägen pro Minute (MW ± SD) (siehe Abbildung 22). Weder in Variante 1 noch in Variante 2 waren die Unterschiede bei Vergleich der Herzfrequenzen zu den beiden Messzeitpunkten signifikant ( $p = 0,808$  bzw.  $p = 0,703$ ; Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben). Bei Vergleich der beiden Varianten miteinander waren die Unterschiede in der Herzfrequenz unmittelbar nach der Betäubung signifikant ( $p = 0,016$ ; Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben), fünf Minuten nach der Betäubung dagegen nicht ( $p = 0,052$ ).

## ERGEBNISSE

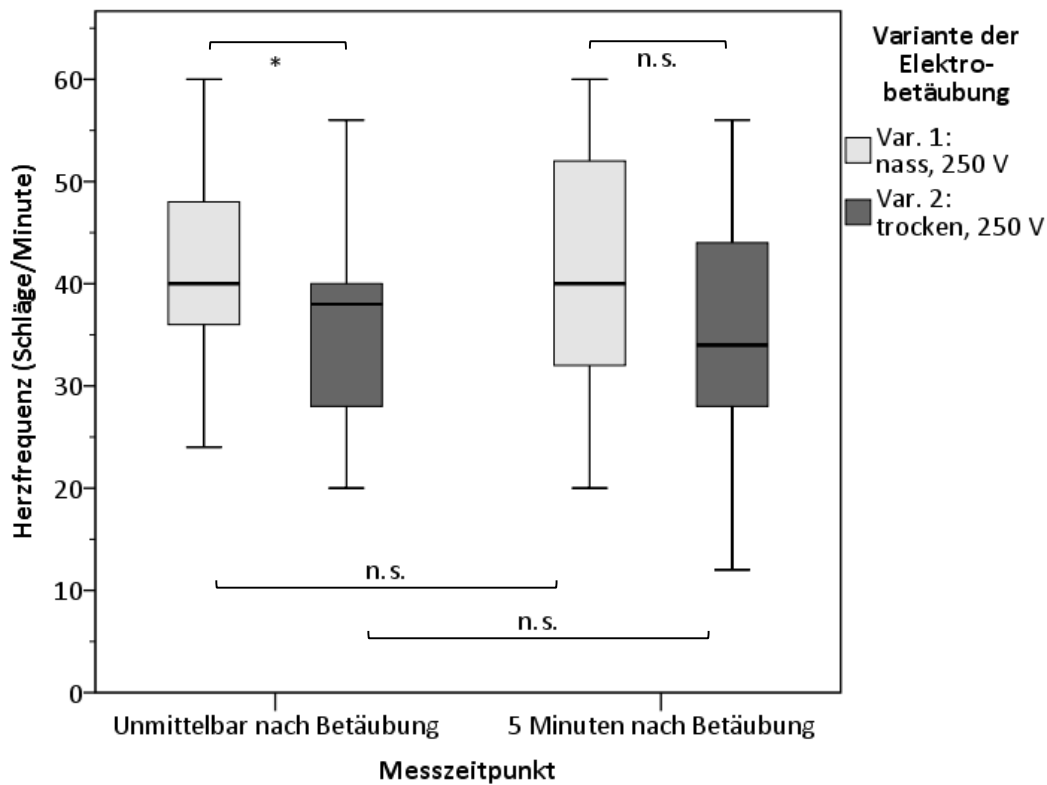
**Tabelle 14: Anzahl an Welsen mit positiven Reaktionen auf klinische Tests in den ersten fünf Minuten nach Elektrobetäubung für Variante 1 (nass) und Variante 2 (trocken) (Versuch 2; n<sub>Var. 1</sub> = 31, n<sub>Var. 2</sub> = 30)**

Klinischer Test	Zeit in Minuten nach Elektrobetäubung									
	1		2		3		4		5	
	Var. 1	Var. 2	Var. 1	Var. 2	Var. 1	Var. 2	Var. 1	Var. 2	Var. 1	Var. 2
Breathing <sup>(1)</sup>	19	22 (22 <sup>(2)</sup> )	29 (29 <sup>(2)</sup> )	27 (27 <sup>(2)</sup> )	28 (28 <sup>(2)</sup> )	28 (28 <sup>(2)</sup> )	31	28 (28 <sup>(2)</sup> )	29 (29 <sup>(2)</sup> )	29 (29 <sup>(2)</sup> )
Swimming	4	12	27	25	27	24	16	18	1	8
Equilibrium ohne Manipulation	11	13	29	28	29	30	30	30	30	30
Handling	28	26	31	30	29	28	28	25	25	25
Equilibrium nach Drehen	25	24	30	30	31	29	30	30	31	30
Eye-Roll-Reflex, links <sup>(1)</sup>	20 (29 <sup>(2)</sup> )	24	28 (29 <sup>(2)</sup> )	29	29 (29 <sup>(2)</sup> )	29	29 (29 <sup>(2)</sup> )	30	29 (29 <sup>(2)</sup> )	30
Eye-Roll-Reflex, rechts	20	22	28	28	29	27	30	29	30	30
Schmerzreiz <sup>(1)</sup>	4	3	7 (30 <sup>(2)</sup> )	3	7	5	3	1	2	3

<sup>(1)</sup> Eine Durchführung bzw. Beurteilung des Tests war nicht bei allen Tieren des Versuchs möglich.

<sup>(2)</sup> Zahl der Tiere, bei denen eine Beurteilung des Tests möglich war.

## ERGEBNISSE



**Abbildung 22: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2;  $n_{\text{Var. 1}} = 31$ ,  $n_{\text{Var. 2}} = 30$ )**

Bei der Variante 2 wurden im Gegensatz zur Variante 1 nach der Betäubung vereinzelt Strommarken an den Ansatzstellen der Elektroden festgestellt (siehe Abbildung 23).



**Abbildung 23: Strommarken am Elektrodenansatz (Variante 2: trocken, 250 V)**

Die ermittelten Blutparameter sind in Anhang 3 für die einzelnen Varianten und Messzeitpunkte als arithmetische Mittel  $\pm$  Standardabweichung aufgeführt.

Nicht parametrische Tests dienen dem Vergleich der Blutparameter zu den verschiedenen Entnahmezeitpunkten und zwischen den beiden Varianten der Elektrobetäubung. In Tabelle 15 und Tabelle 16 sind die Ergebnisse zusammengefasst.

Nach der Elektrobetäubung waren in Variante 1 signifikant höhere Cortisolwerte als in Variante 2 feststellbar (siehe Abbildung 24). In beiden Varianten kam es nach der Elektrobetäubung gegenüber Blutentnahmezeitpunkt 2 (nach Vorkühlung) zu einer signifikanten Erhöhung des Cortisolspiegels,

## ERGEBNISSE

wobei die Steigerung in Variante 1 deutlicher ausfiel. Auch die nach Hälterung ermittelten Konzentrationen waren signifikant höher als die nach Vorkühlung gemessenen Werte.

Die Glukosewerte zeigten zu keinem Zeitpunkt der Blutentnahme signifikante Unterschiede zwischen den beiden Varianten (siehe Abbildung 25). Nach der Elektrobetäubung kam es in beiden Varianten gegenüber den Blutentnahmezeitpunkten 1 und 2 zu einer signifikanten Erhöhung des Glukosespiegels. Auch die nach Vorkühlung gemessenen Werte waren signifikant höher als die nach Hälterung ermittelten.

Zu allen Blutentnahmezeitpunkten konnten signifikant höhere Natriumwerte in Variante 1 gegenüber Variante 2 nachgewiesen werden (siehe Abbildung 26). Nach der Elektrobetäubung kam es in beiden Varianten gegenüber Blutentnahmezeitpunkt 2 zu einer signifikanten Erhöhung des Natriumspiegels. Außerdem waren die nach Hälterung gemessenen Spiegel in beiden Varianten signifikant höher als nach Vorkühlung und Elektrobetäubung.

Nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C traten in Variante 2 signifikant höhere Kaliumwerte als in Variante 1 auf (siehe Abbildung 27). Nach der Elektrobetäubung kam es in beiden Varianten gegenüber den Blutentnahmezeitpunkten 1 und 2 zu einer signifikanten Erhöhung des Kaliumspiegels. In Variante 1 war der nach Hälterung ermittelte Wert im Vergleich zu dem nach Vorkühlung gemessenen signifikant niedriger, in Variante 2 dagegen signifikant höher.

Die Chloridwerte nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach der Elektrobetäubung zeigten signifikante Unterschiede zwischen den beiden Varianten der Betäubung (siehe Abbildung 28). In Variante 1 waren die nach Hälterung und nach Elektrobetäubung gemessenen Chloridwerte signifikant höher als die nach Vorkühlung ermittelte Konzentration.

**Tabelle 15: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen Variante 1 (nass) und Variante 2 (trocken) der Elektrobetäubung zu den Blutentnahmezeitpunkten**

Parameter	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben		
	Nach Hälterung über 24 h bei 24 °C	Nach Vorkühlung	Nach Elektrobetäubung
Cortisol	0,105	0,714	0,024
Glukose	0,778	0,346	0,156
Natrium	0,000	0,002	0,001
Kalium	0,000	0,481	0,186
Chlorid	0,000	0,050	0,007

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$ ; keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

## ERGEBNISSE

**Tabelle 16: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung, nach Betäubung) in den Varianten der Elektrobetäubung**

Variante der Elektrobetäubung	Parameter	Friedman Test bei k verbundenen Stichproben	Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben		
			Entnahmezeitpunkt 1 vs. 2	Entnahmezeitpunkt 1 vs. 3	Entnahmezeitpunkt 2 vs. 3
Variante 1 (nass)	Cortisol	0,000	0,000	0,088	0,000
	Glukose	0,000	0,000	0,000	0,000
	Natrium	0,000	0,000	0,007	0,000
	Kalium	0,000	0,000	0,000	0,000
	Chlorid	0,000	0,000	0,478	0,000
Variante 2 (trocken)	Cortisol	0,000	0,000	0,184	0,000
	Glukose	0,000	0,004	0,000	0,000
	Natrium	0,000	0,000	0,004	0,000
	Kalium	0,000	0,000	0,001	0,000
	Chlorid	0,076	-	-	-

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$  (Friedman Test bei k verbundenen Stichproben) bzw.  $p < 0,0167$  (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben für den paarweisen Vergleich nach Korrektur der Signifikanzschranke nach Bonferroni);

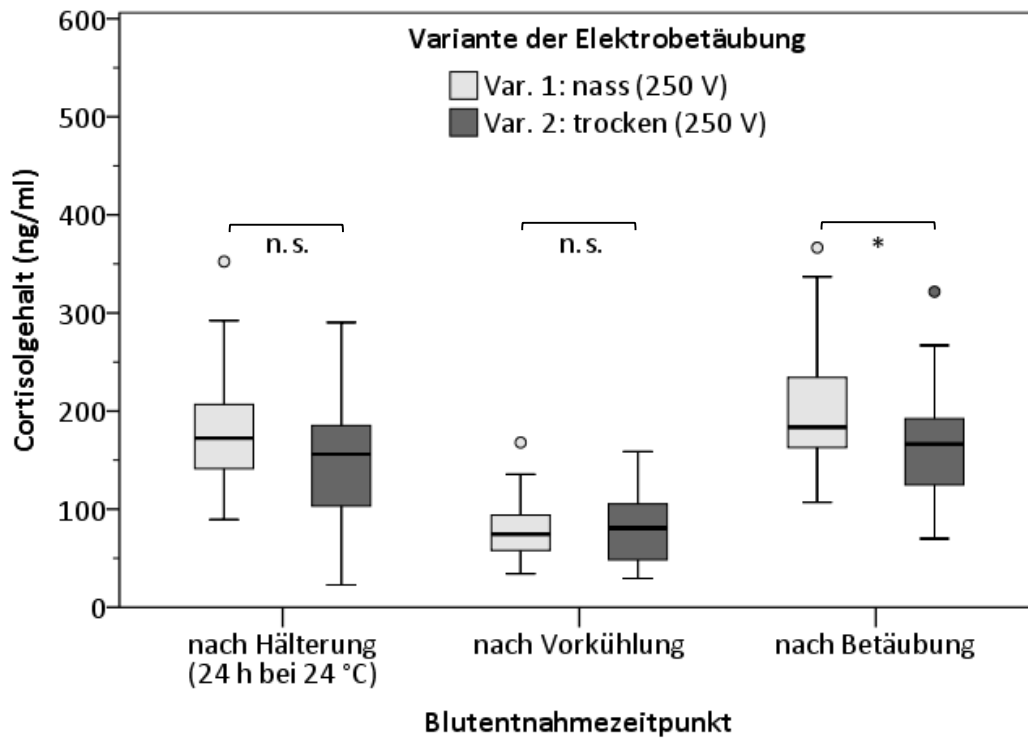
keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

War mit Hilfe des Friedman Tests bei k verbundenen Stichproben keine Signifikanz nachweisbar, erfolgte kein paarweiser Vergleich der Stichproben.

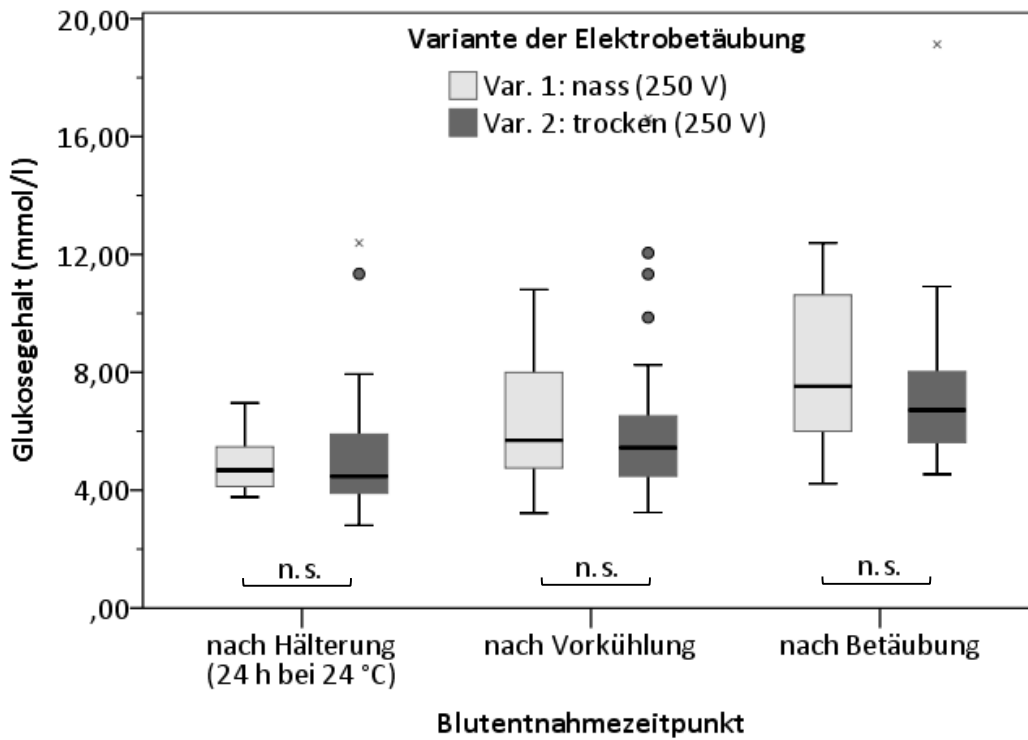
Wurden beim Vergleich der beiden Elektrobetäubungsvarianten nur diejenigen Fische, bei denen der Zangenansatz sofort korrekt war, einbezogen, so unterschieden sich die Ergebnisse nicht von den Berechnungen, bei denen alle Welse einbezogen worden waren.

Abbildung 46 und Abbildung 47 in Anhang 5 zeigen die anatomischen Details in einem sagittal gesägten Welskopf sowie einem mittels MRT erzeugten sagittalen Schnittbildes des Kopfes.

## ERGEBNISSE

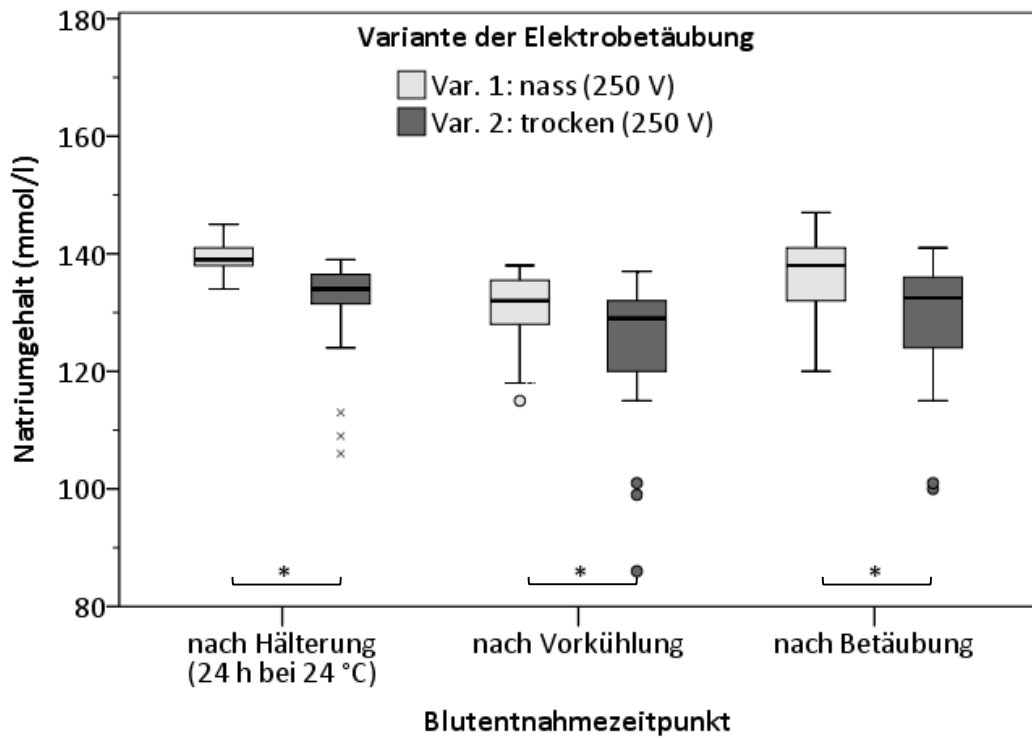


**Abbildung 24:** Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62)

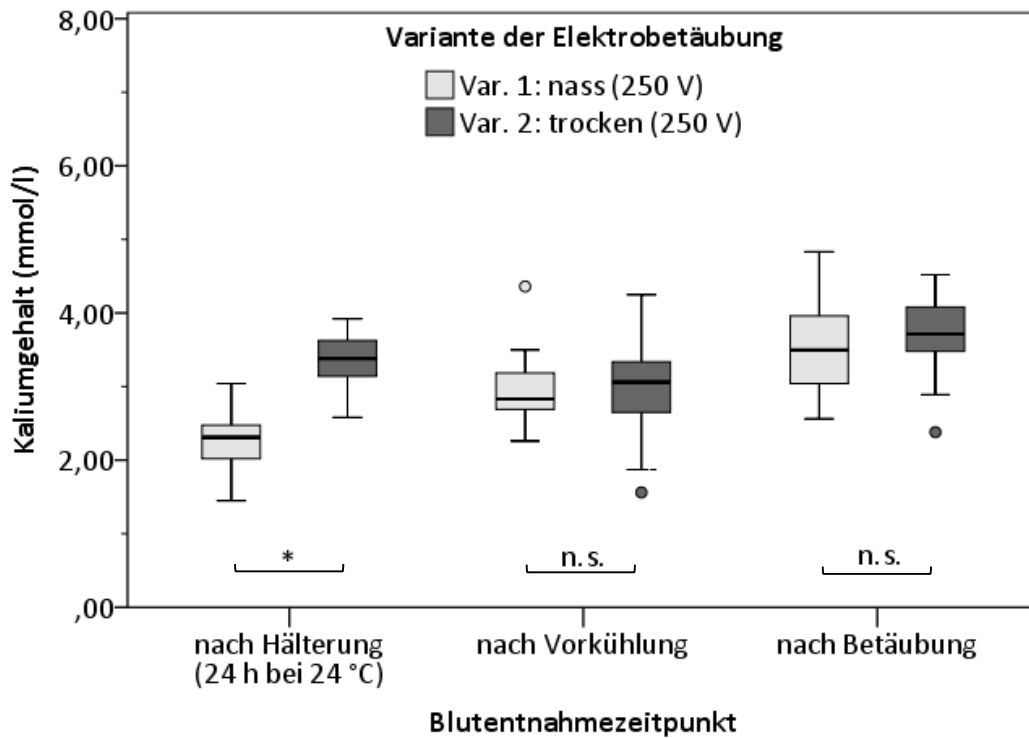


**Abbildung 25:** Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62)

## ERGEBNISSE



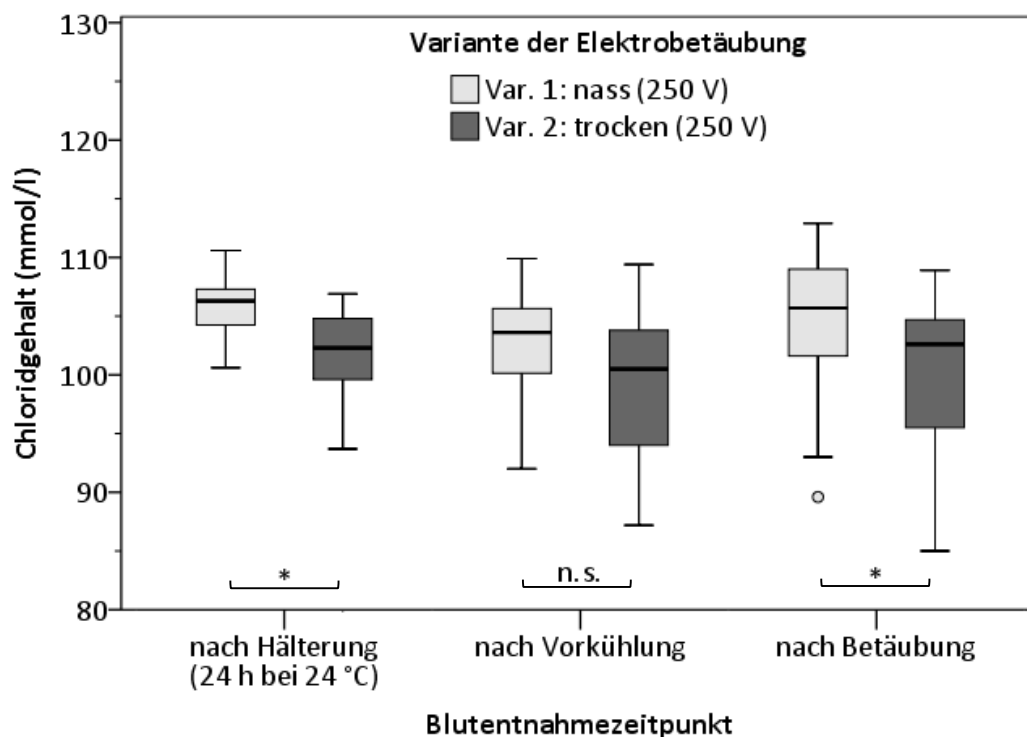
**Abbildung 26:** Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62)



**Abbildung 27:** Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62)



## ERGEBNISSE



**Abbildung 28: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62)**

### 4.5 Ergebnisse Versuch 3 (Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung)

Die im Versuch 3 verwendeten Welse wiesen eine Lebendmasse von  $1,52 \pm 0,43$  kg (MW  $\pm$  SD) und eine Länge von  $54,83 \pm 5,54$  cm (MW  $\pm$  SD) auf.

Im Kombinationsversuch konnten bei allen 30 Tieren deutliche tonisch-klonische Krämpfe unmittelbar nach Elektrobetäubung festgestellt werden.

Die Clarias zeigten im Mittel 2,8 Minuten (bzw. 2,7 Minuten ohne Berücksichtigung von Atmung und des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten) nach Beginn der Eiswasserbehandlung, welche sich unmittelbar an die Elektrobetäubung anschloss, die letzte Reaktion auf einen klinischen Test (Minimum: keine Reaktion, Maximum: 5 Minuten). Fünf dieser 30 Tiere (16,7 %) zeigten nach dem Umsetzen ins Eiswasser gar keine Reaktionen auf die Tests. Abbildung 29 zeigt, zu welchem Zeitpunkt nach dem Einsetzen in das Eiswasser bei den weiteren Welsen keine Reaktionen mehr zu beobachten waren (maximale Reaktionszeit).

Alle 18 Fische, welche nach der Betäubungsbehandlung in ein Aufwachbecken gesetzt wurden, erholten sich von der Betäubung und zeigten bei der Untersuchung 30 und 60 Minuten nach dem Umsetzen mehr oder weniger deutliche Reflexe, Reaktionen und selbstinitiierte Bewegungen.

Von insgesamt 30 untersuchten Welsen war bei drei Tieren (10,0 %) die Position der Zunge beim Ansetzen nicht korrekt und es musste nachkorrigiert werden, so dass sich die Stromflusszeit

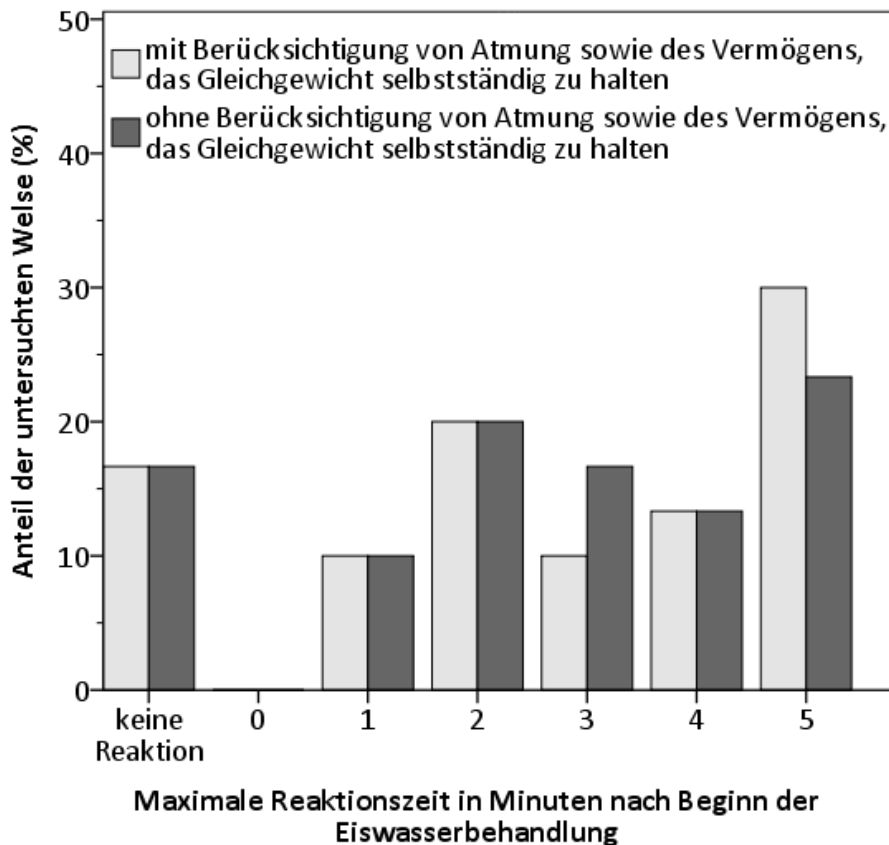
## ERGEBNISSE

verlängerte. Von diesen drei Fischen zeigte einer nach der Elektrobetäubung und dem Umsetzen ins Eiswasser keine Antworten bei den klinischen Tests. Bei den anderen beiden wurden ab der zweiten bzw. dritten bis zur fünften Minute nach Beginn der Eiswasserbehandlung positive Reaktionen verzeichnet.

Im Mittel lag die Stromstärke nach einer Sekunde bei  $1,3 \pm 0,26$  A (MW  $\pm$  SD). Die Spannung nach einer Sekunde lag im Mittel bei  $231,1 \pm 2,81$  V (MW  $\pm$  SD) (siehe Tabelle 17). Bei allen Tieren wurde bei korrektem Zangenansatz nach einer Sekunde eine Frequenz von 400 Hz erreicht.

Der Verlauf der Körpertemperaturen über den Untersuchungszeitraum ist in Abbildung 30 dargestellt. Die Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten sind signifikant ( $p = 0,000$ ; Friedman Test bei k verbundenen Stichproben).

Abbildung 31 zeigt den Abfall der Herzfrequenz während der Betäubungsbehandlung. Auch hier waren die Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten signifikant ( $p = 0,004$ ; Friedman Test bei k verbundenen Stichproben).



**Abbildung 29: Maximale Reaktionszeit mit und ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 3; n = 30)**

## ERGEBNISSE

**Tabelle 17: Parameter der Elektrobetäubung (Versuch 3; n = 30)**

Parameter	Kombinationsversuch Versuch 3
Erreichte Stromstärke nach 1 s (MW $\pm$ SD)	1,3 $\pm$ 0,26 A
Minimum / Maximum	1,2 A / 1,7 A
Minimal erreichte Stromstärke während Betäubungszeit (MW $\pm$ SD)	1,3 $\pm$ 0,28 A
Maximal erreichte Stromstärke während Betäubungszeit (MW $\pm$ SD)	1,5 $\pm$ 0,16 A
Erreichte Spannung nach 1 s (MW $\pm$ SD)	231,1 $\pm$ 2,81 V
Minimum / Maximum	225 V / 236 V
Minimal erreichte Spannung während Betäubungszeit (MW $\pm$ SD)	230,6 $\pm$ 3,12 V
Maximal erreichte Spannung während Betäubungszeit (MW $\pm$ SD)	239,9 $\pm$ 4,53 V
Anzahl betäubter Welse mit fehlerhaftem Zangensitz (Anzahl der erfolgreich nachbetäubten Tiere)	3(3)

Die ermittelten Blutparameter sind in Anhang 3 für die einzelnen Messzeitpunkte als arithmetische Mittel  $\pm$  Standardabweichung aufgeführt.

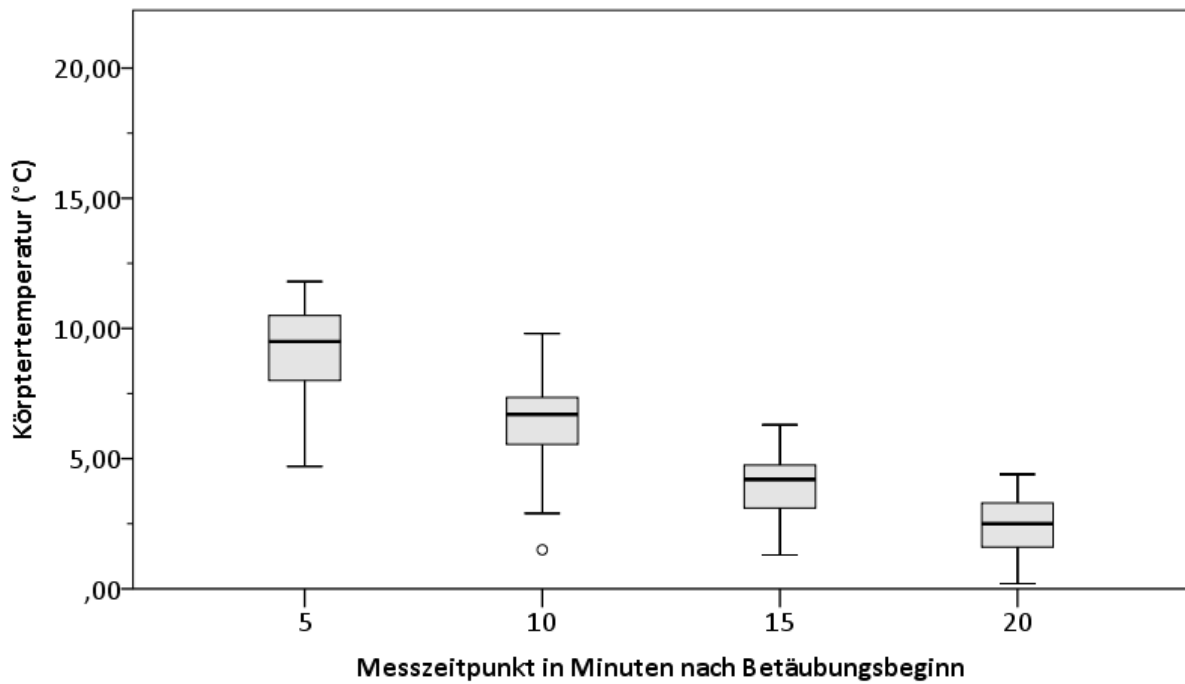
Tabelle 18 fasst die bei Vergleich der Blutparameter zu den Blutentnahmezeitpunkten ermittelten Signifikanzwerte zusammen. Tabelle 19 gibt eine Übersicht über die Unterschiede bzgl. der Blutparameter zwischen den zum Blutentnahmezeitpunkt 1 sedierten und den nicht-sedierten Clarias.

Die Cortisolwerte wiesen signifikante Unterschiede zwischen den drei Blutentnahmezeitpunkten auf (siehe Abbildung 32). Nach der Vorkühlung war der Cortisolwert signifikant niedriger als nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C und nach Betäubung.

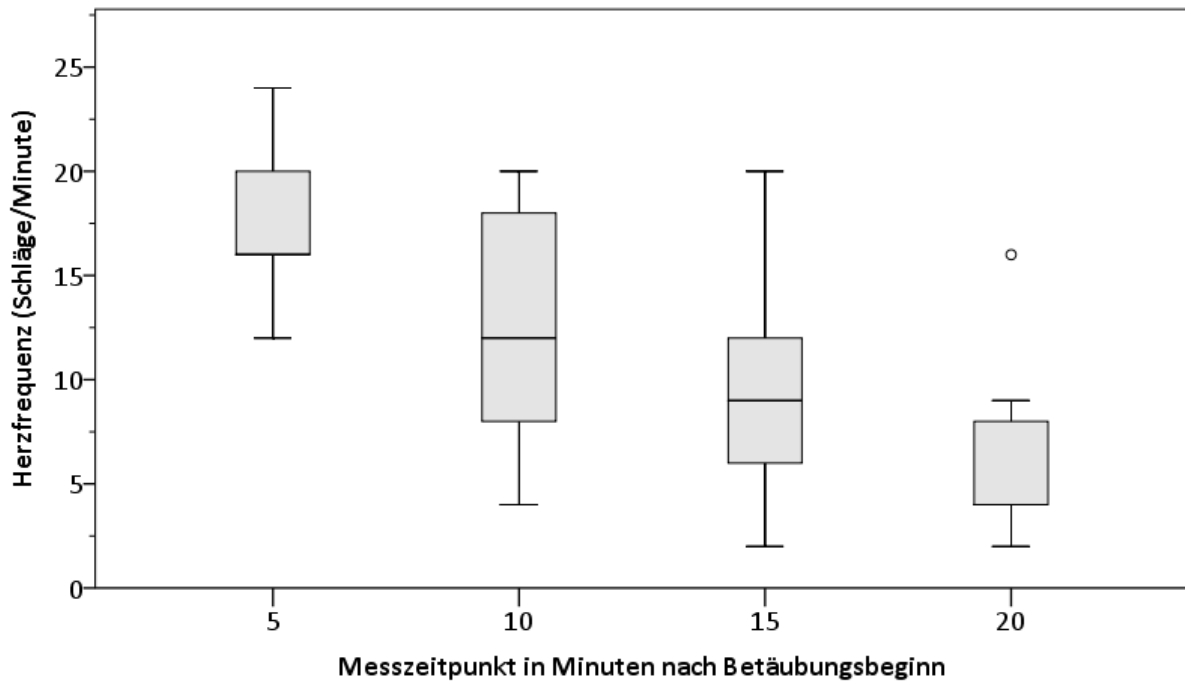
Zum Blutentnahmezeitpunkt 1 war der Cortisolgehalt bei den Welsen, welchen unter MS-222-Sedation Blut entnommen wurde, signifikant höher als bei jenen, welche zur Entnahme manuell im Kescher fixiert wurden (siehe Abbildung 48 in Anhang 6).

Die Glukosewerte unterschieden sich zwischen den drei Blutentnahmezeitpunkten signifikant (siehe Abbildung 33). Nach der Betäubung wurden gegenüber den Blutentnahmezeitpunkten 1 und 2 signifikant höhere Glukosewerte nachgewiesen. Nach der Vorkühlung kam es ebenfalls zu einem signifikanten Anstieg gegenüber Entnahmezeitpunkt 1. Keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Blutglukosegehalte zu allen drei Blutentnahmezeitpunkten bestanden zwischen den zur Blutentnahme 1 sedierten und den nicht-sedierten Fischen.

## ERGEBNISSE



**Abbildung 30: Körpertemperatur in °C während der Eiswasserbehandlung (Versuch 3; n = 30)**



**Abbildung 31: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute während der Eiswasserbehandlung (Versuch 3; n = 30)**

Die Natriumwerte wiesen signifikante Unterschiede zwischen den drei Blutentnahmezeitpunkten auf (siehe Abbildung 34). Nach Vorkühlung und nach Betäubung traten gegenüber Blutentnahmezeitpunkt 1 signifikant niedrigere Werte auf. Die Natriumgehalte unterschieden sich

## ERGEBNISSE

zu keinem der drei Entnahmezeitpunkte signifikant zwischen den zur Blutentnahme 1 sedierten und den nicht-sedierten Welsen.

Die Kaliumwerte zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Blutentnahmezeitpunkten (siehe Abbildung 35). Nach der Betäubung konnten signifikant höhere Kaliumwerte gegenüber den ersten beiden Blutentnahmezeitpunkten nachgewiesen werden. Zwischen den Entnahmezeitpunkten 1 und 2 bestanden ebenfalls signifikante Unterschiede. Der Vergleich der Kaliumspiegel nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C ergab signifikant höhere Werte bei den zu diesem Zeitpunkt nicht-sedierten gegenüber den sedierten Clarias.

Die Chloridwerte unterschieden sich zwischen den drei Blutentnahmezeitpunkten signifikant (siehe Abbildung 36). Sowohl nach der Vorkühlung als auch nach der Betäubung wurden signifikant niedrigere Chloridwerte gegenüber Blutentnahmezeitpunkt 1 (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C) nachgewiesen. Die Werte nach der Betäubung waren signifikant niedriger verglichen mit Blutentnahmezeitpunkt 2. Zu keinem Blutentnahmezeitpunkt bestanden zwischen den sedierten und den nicht-sedierten Tieren signifikante Unterschiede.

Wurden beim Vergleich der Parameter zu den Blutentnahmezeitpunkten nur die Fische, bei denen der Zangenansatz sofort korrekt war ( $n = 27$ ), einbezogen, so unterschieden sich die Ergebnisse nicht von den Berechnungen, bei denen alle Welse einbezogen worden waren ( $n = 30$ ).

**Tabelle 18: Signifikanzwerte  $p$  bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung, nach Betäubung)**

Parameter	Friedman Test bei k verbundenen Stichproben	Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben		
		Entnahmezeitpunkt 1 vs. 2	Entnahmezeitpunkt 1 vs. 3	Entnahmezeitpunkt 2 vs. 3
Cortisol	0,000	0,002	0,057	0,000
Glukose	0,000	0,000	0,000	0,000
Natrium	0,000	0,000	0,000	0,949
Kalium	0,000	0,000	0,001	0,000
Chlorid	0,000	0,000	0,000	0,004

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$  (Friedman Test bei k verbundenen Stichproben) bzw.  $p < 0,0167$  (Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben für den paarweisen Vergleich nach Korrektur der Signifikanzschranke nach Bonferroni);

keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

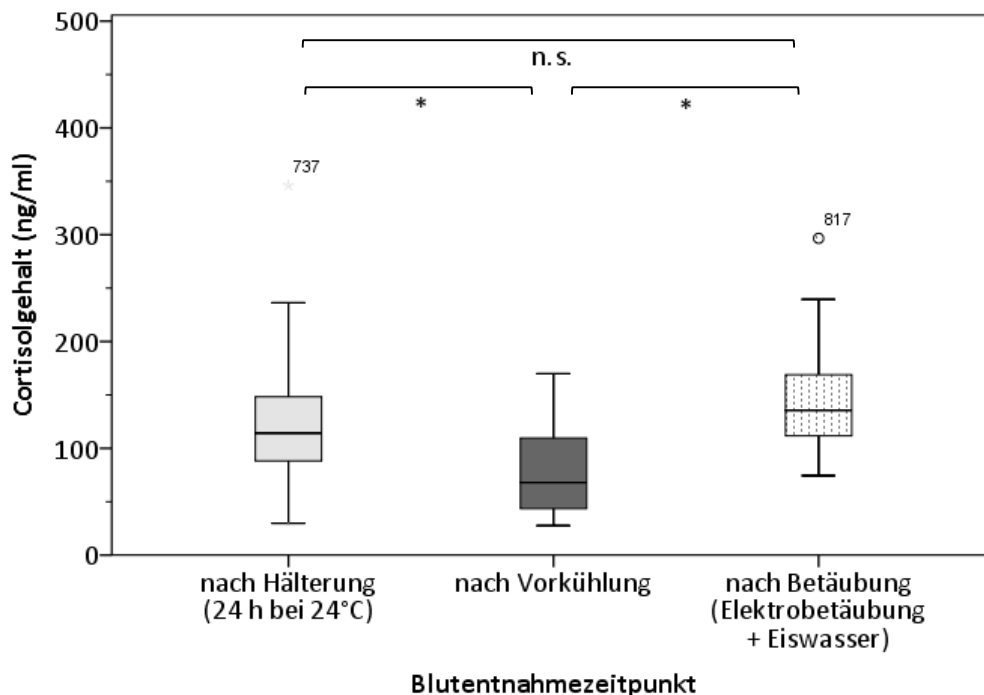
War mit Hilfe des Friedman Tests bei k verbundenen Stichproben keine Signifikanz nachweisbar, erfolgte kein paarweiser Vergleich der Stichproben.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 19: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den zum Blutentnahmezeitpunkt 1 (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C) sedierten und den nicht-sedierten Clarias zu den Blutentnahmezeitpunkten**

Parameter	Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben		
	Nach Hälterung über 24 h bei 24 °C	Nach Vorkühlung	Nach Elektrobetäubung
Cortisol	0,010	0,294	0,120
Glukose	0,400	0,918	0,854
Natrium	0,886	0,313	0,759
Kalium	0,000	0,559	0,886
Chlorid	0,984	0,240	0,918

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$ ; keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)



**Abbildung 32: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30)**

## ERGEBNISSE

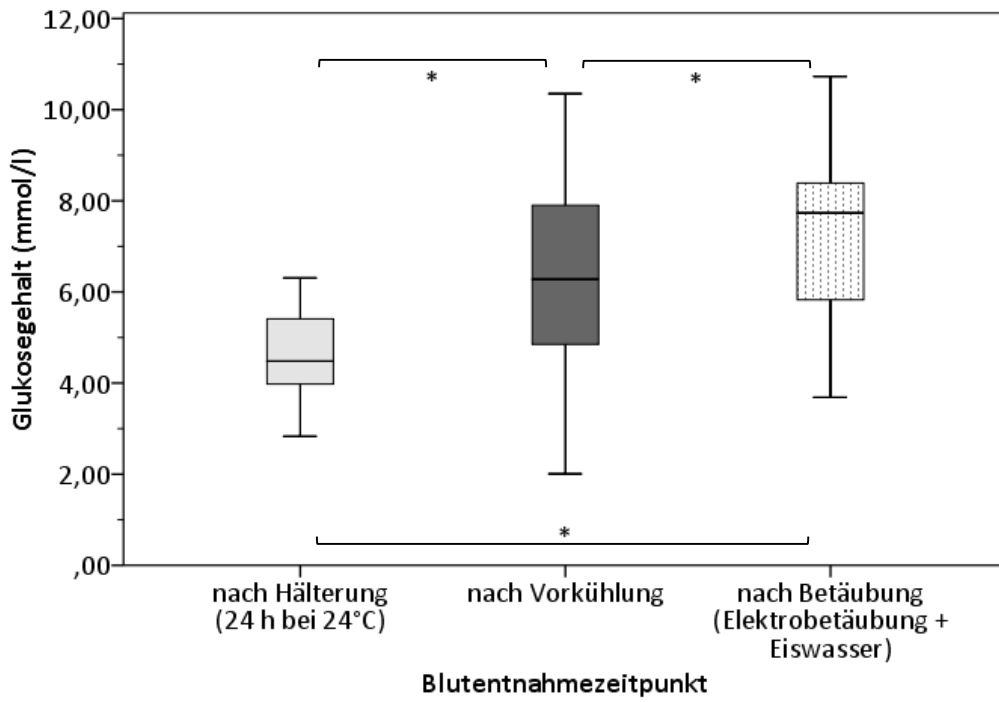


Abbildung 33: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30)

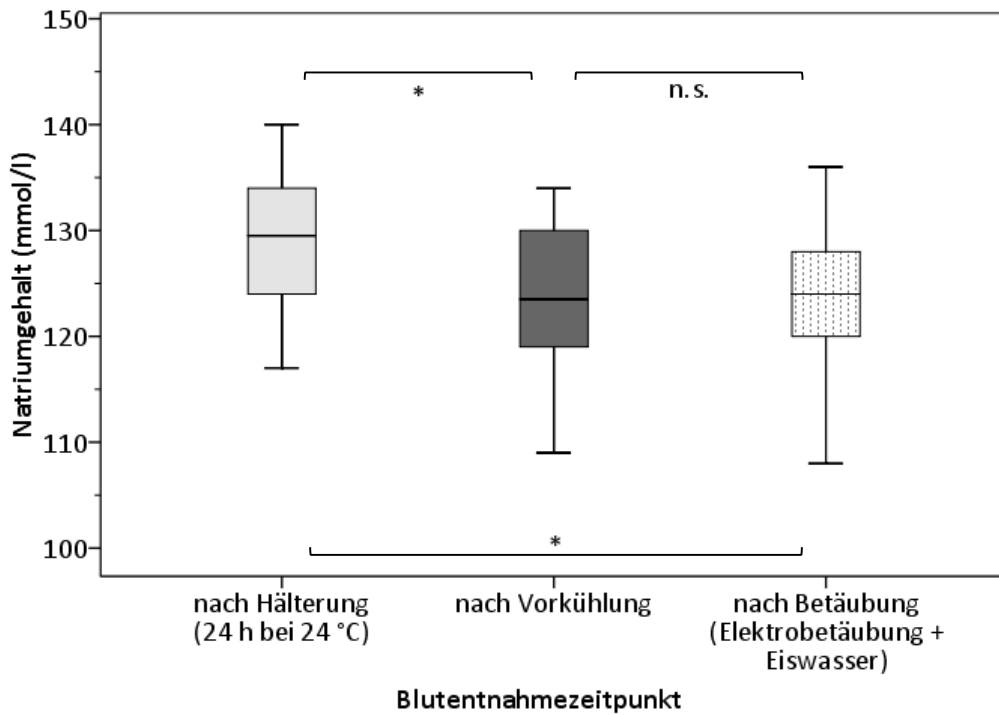
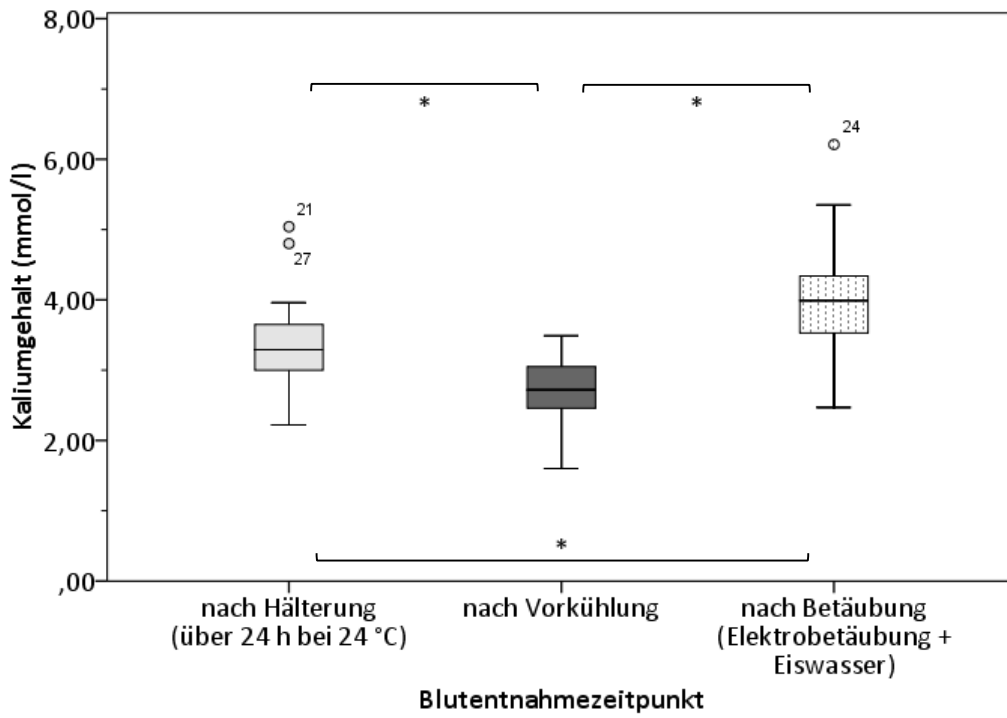
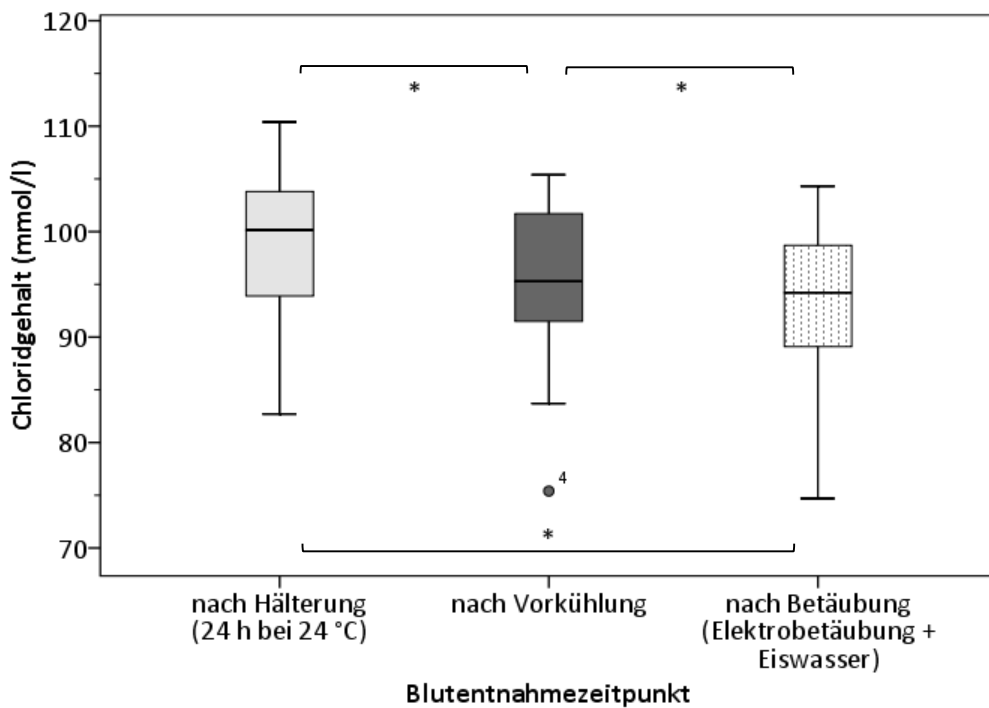


Abbildung 34: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30)

## ERGEBNISSE



**Abbildung 35: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30)**



**Abbildung 36: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30)**



**4.6 Ergebnisse Versuch 4 (Erprobung im Praxisbetrieb)**

Im Versuch 4 wurden 50 Welse nach dem Ablauf wie im Versuch 3 unter Praxisbedingungen betäubt und anschließend geschlachtet. Bei allen 50 Tieren wurden deutliche tonisch-klonische Krämpfe beobachtet. Bei zwei Clarias (4,0 %) musste der Zangensitz korrigiert werden (siehe Tabelle 20). Einer dieser beiden Welse wurde in die anschließenden Untersuchungen einbezogen.

Nach Einsetzen in das Eiswasser wurden bis maximal zur sechsten Minute (n = 1 Wels, 2,0 %) Reaktionen bzw. Reflexe auf klinische Tests ermittelt. Die maximale Reaktionszeit betrug im Mittel 3,3 Minuten bzw. 3,3 Minuten ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten. Jeder der 30 untersuchten Fische zeigte spätestens nach der ersten Minute nach Umsetzen ins Eiswasser Reaktionen. Abbildung 37 zeigt die maximale Reaktionszeit nach Einsetzen in Eiswasser. Reaktionen, die zuletzt ausfielen, waren „Handling“ (n = 24) und der Eye-Roll-Reflex (n = 14, jeweils für das linke und das rechte Auge).

Den Clarias aus dem Versuch 4 wurden keine IPTT-Transponder implantiert, daher erfolgte keine Messung der Körpertemperatur. Die Individualerkennung geschah durch Befestigung von nummerierten Klammern an den Schwanzflossen.

**Tabelle 20: Parameter der Elektrobetäubung (Versuch 4; n = 50)**

Parameter	Versuch 4
Erreichte Stromstärke nach 1 s (MW ± SD)	1,9 ± 0,11 A
Minimum / Maximum	1,49 A / 2,24 A
Minimal erreichte Stromstärke während Betäubungszeit (MW ± SD)	1,8 ± 0,22 A
Maximal erreichte Stromstärke während Betäubungszeit (MW ± SD)	2,0 ± 0,05 A
Erreichte Spannung nach 1 s (MW ± SD)	188,3 ± 15,36 V
Minimum / Maximum	165 V / 228 V
Minimal erreichte Spannung während Betäubungszeit (MW ± SD)	176,2 ± 18,33 V
Maximal erreichte Spannung während Betäubungszeit (MW ± SD)	192,3 ± 18,16 V
Anzahl betäubter Welse mit fehlerhaftem Zangensitz (Anzahl der erfolgreich nachbetäubten Tiere)	2(2)

Den Verlauf der Herzfrequenz während der Betäubungsbehandlung zeigt Abbildung 38. Die Unterschiede zwischen den zu den verschiedenen Zeitpunkten gemessenen Herzfrequenzen waren nicht signifikant (p = 0,134; Friedman-Test bei k verbundenen Stichproben).

Die ermittelten Blutparameter sind in Anhang 3 für die einzelnen Messzeitpunkte als arithmetische Mittel ± Standardabweichung aufgeführt. Tabelle 21 führt die bei Vergleich der Blutparameter zu den beiden Blutentnahmezeitpunkten ermittelten Signifikanzwerte auf.

## ERGEBNISSE

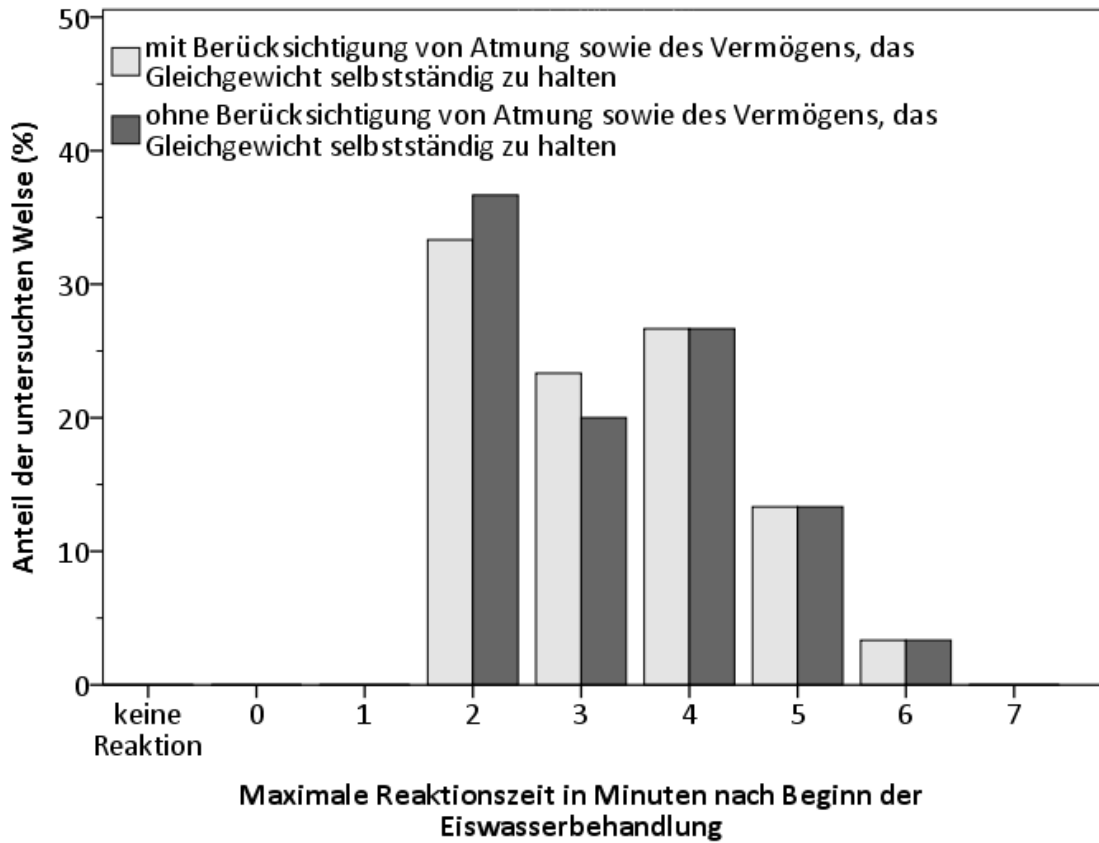


Abbildung 37: Maximale Reaktionszeit mit und ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 4; n = 30)

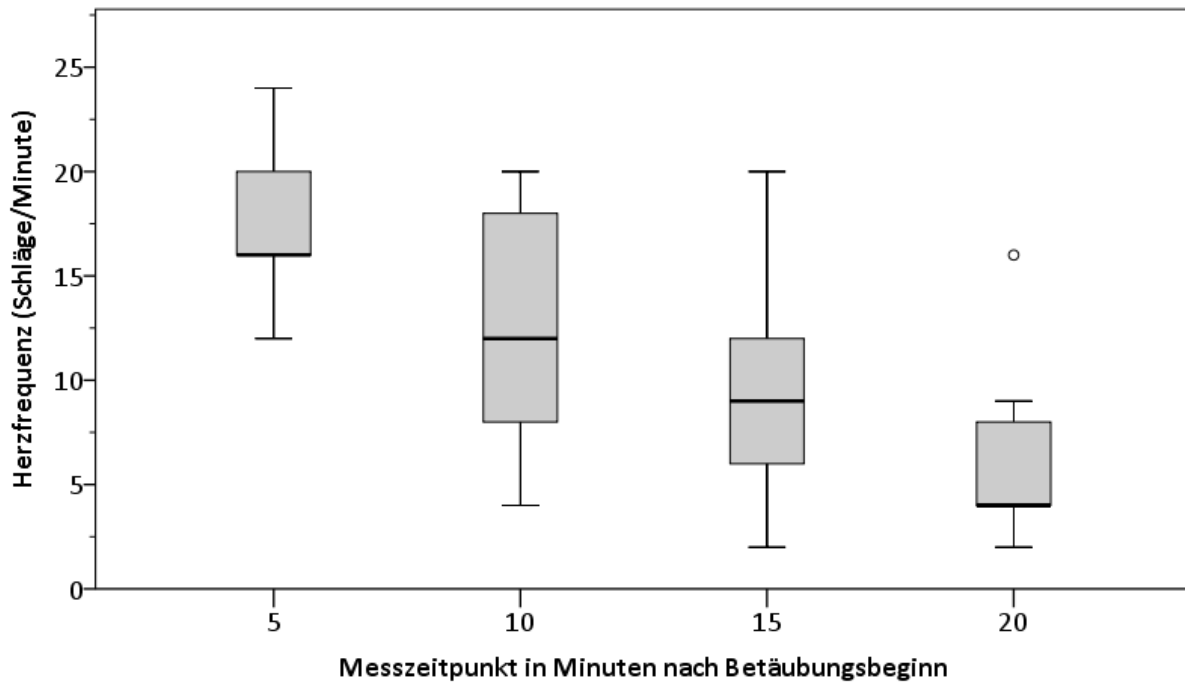


Abbildung 38: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute während der Eiswasserbehandlung (Versuch 4; n = 30)

## ERGEBNISSE

**Tabelle 21: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten (nach Vorkühlung und nach Betäubung)**

Parameter	Wilcoxon-Vorzeichenrangtest für verbundene Stichproben
Cortisol	0,000
Glukose	0,000
Natrium	0,000
Kalium	0,000
Chlorid	0,422

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt):  $p < 0,05$ ; keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

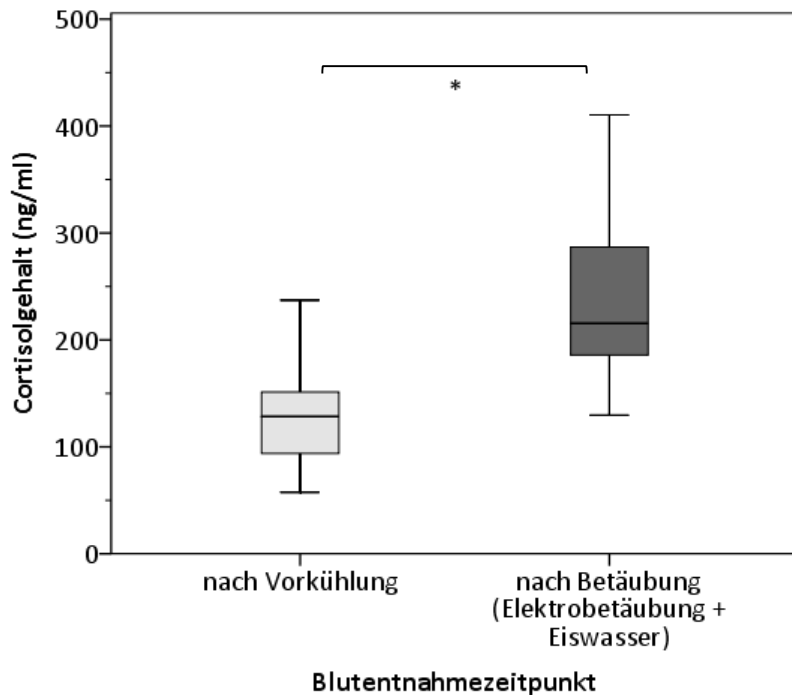
Nach der Betäubung konnten signifikant höhere Cortisolwerte gegenüber dem Blutentnahmezeitpunkt nach Vorkühlung nachgewiesen werden (siehe Abbildung 39).

Die Glukosewerte zeigten ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den beiden Blutentnahmezeitpunkten (siehe Abbildung 40).

Nach der Betäubung waren signifikant höhere Natriumwerte gegenüber dem Blutentnahmezeitpunkt nach Vorkühlung nachweisbar (siehe Abbildung 41).

Die Unterschiede bei den Kaliumwerten erwiesen sich als signifikant (siehe Abbildung 42).

Keine signifikanten Unterschiede waren dagegen bei den Chloridwerten zwischen beiden Blutentnahmezeitpunkten zu verzeichnen (siehe Abbildung 43).



**Abbildung 39: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30)**

## ERGEBNISSE

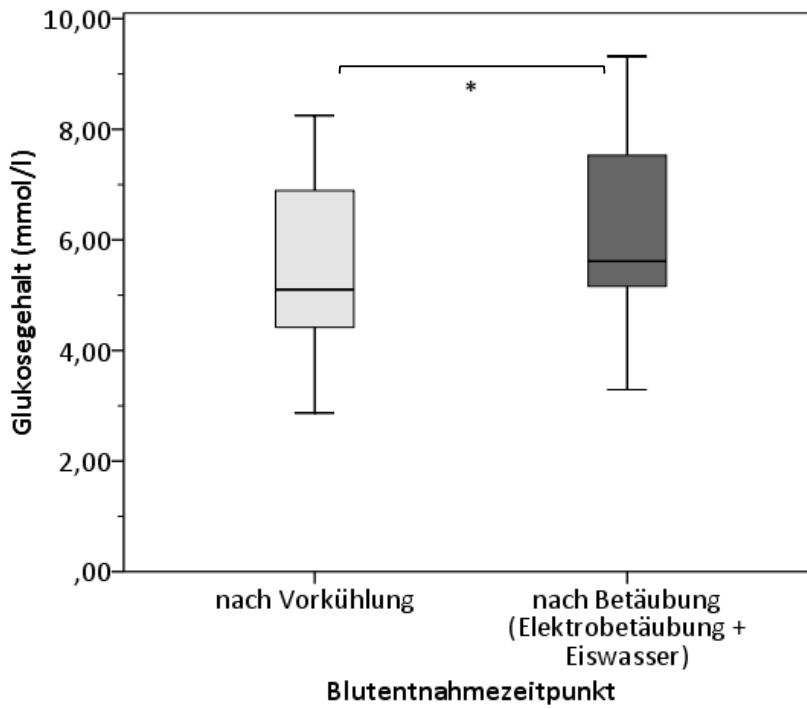


Abbildung 40: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30)

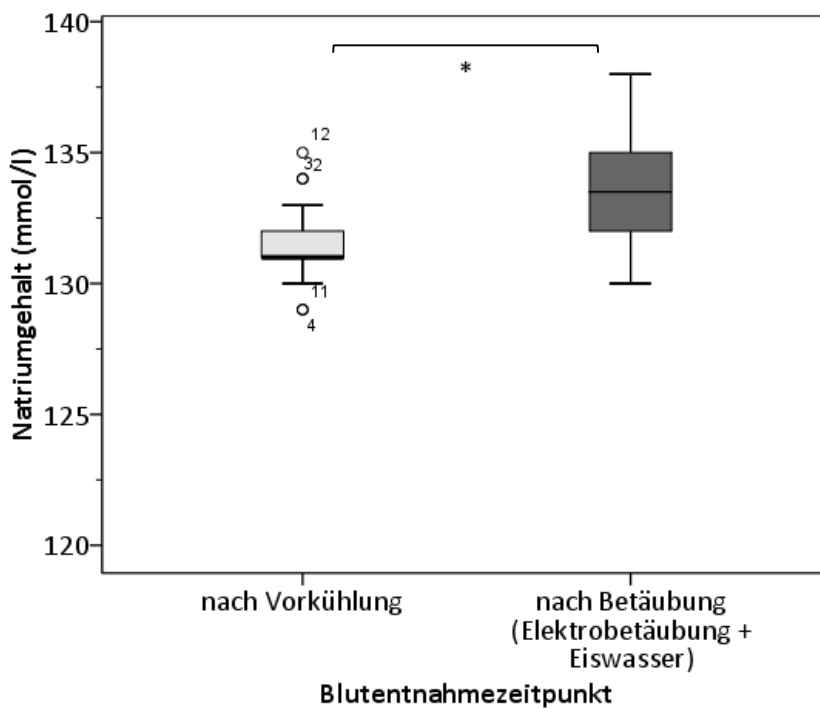


Abbildung 41: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30)

## ERGEBNISSE

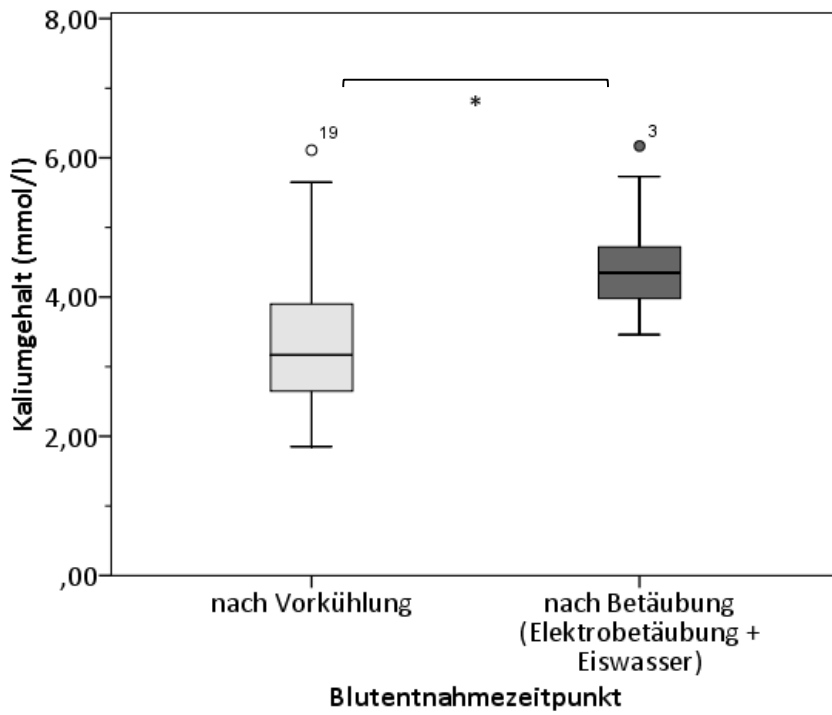


Abbildung 42: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30)

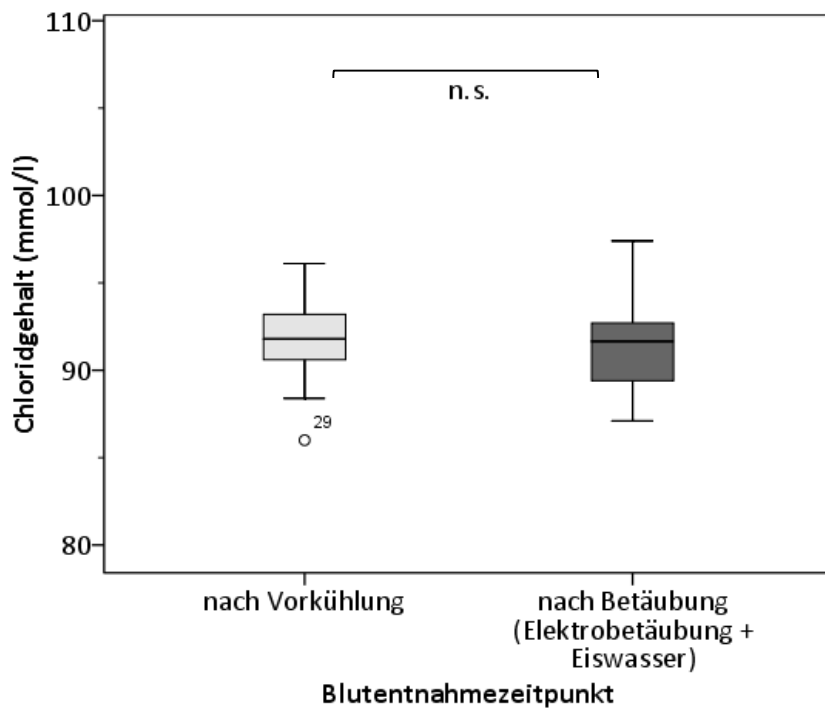


Abbildung 43: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30)

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Untersuchungsmethodik

#### 5.1.1 Diskussion der Beurteilung des Betäubungserfolges

Um den Betäubungserfolg der jeweils getesteten Methode zu beurteilen, wurden verschiedene Tests und Untersuchungen durchgeführt.

Ein Ausbleiben von VERs im EEG wird mit dem Verlust des Wahrnehmungsvermögens gleichgesetzt, da dies zeigt, dass das Gehirn Reize nicht mehr verarbeiten kann (KESTIN et al. 1991). HELLMANN et al. (2014) beobachteten bei in Eiswasser betäubten Clarias, dass der Zeitpunkt des Ausbleibens der Reaktionen auf Lichtsignale mit dem Ausbleiben von Bewegungen übereinstimmte. Auch LAMBOOIJ et al. (2006b) beobachteten zeitgleich mit dem Ausbleiben von Bewegungen der Welse im Eiswasser ein Auftreten von theta- und delta-Wellen im EEG als Zeichen beginnender Bewusstlosigkeit. KESTIN et al. (2002) zeigten an Regenbogenforellen, Atlantischen Lachsen, Doraden sowie Aalen, welche mit verschiedenen Methoden betäubt und geschlachtet wurden, dass der Ausfall der VERs mit dem Sistieren von Atembewegungen und dem Ausfall des Augendrehreflexes einhergeht. Das Fehlen dieser Hirnstammreflexe gilt als Zeichen der Insensibilität eines Tieres (ANIL 1991; KESTIN et al. 2002). ROBB und ROTH (2003) empfehlen die Beurteilung des Betäubungserfolges von Lachsen durch Beobachtung der Atembewegungen als verlässliche Methode für die Praxis, da die Wiederaufnahme von Kiemendeckelbewegungen nach Elektrobetäubung zeitlich mit dem Wiederauftreten von VERs im EEG einhergeht. Dagegen beobachtete RETTER (2014) an Karpfen, dass bei sistierender Atmung die Reizwahrnehmung noch gegeben sein kann. Verhaltensparameter sind daher nicht bei allen Fischarten gleich gut geeignet, um sicher auf einen Wahrnehmungsverlust schließen zu können (STEINHAGEN et al. 2014).

Zielsetzung dieses Versuchsvorhabens war es u.a., nicht-invasive Verfahren zur Feststellung der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit zu validieren. Diese könnten unmittelbar im Schlachtprozess zur Kontrolle des Betäubungserfolges eingesetzt werden.

Mit der Annahme, dass der Zeitpunkt des Empfindungsverlustes mit dem Ausbleiben von VERs und dies wiederum mit dem Ausbleiben von Bewegungen und Reflexen einhergeht, erscheint es möglich, auf die Ableitung eines EEGs zur Beurteilung des Wahrnehmungsvermögens zu verzichten. Außerdem stellt die Anbringung von Elektroden zur Aufzeichnung eines EEGs einen invasiven Eingriff dar, der zeit- und arbeitsintensiv und für die Fische mit Belastungen verbunden ist (KESTIN et al. 2002). Weiterhin kann eine Beeinflussung der Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden. So gelang es HELLMANN et al. (2014) lediglich in sieben von 13 untersuchten Welsen auswertbare VERs aufzuzeichnen. Zudem wurden in dieser Studie die Clarias sediert, um durch Muskelbewegungen ausgelöste EEG-Signale zu vermeiden, welche nicht von spezifischen Antworten auf Reize unterschieden werden können. Fraglich ist, inwieweit eine Sedierung bereits die Wahrnehmungsfähigkeit der Welse beeinträchtigt. Zudem ist die Ableitung eines EEGs insbesondere dann weniger geeignet, wenn die Betäubung durch Einwirkung einer starken

## DISKUSSION

---

physikalischen Kraft am Fischkopf erreicht werden soll, wie bei der Elektrobetäubung mittels Kopfdurchströmung. Auch LAMBOOIJ et al. (2006a), LAMBOOIJ et al. (2006b) und SATTARI et al. (2010) leiteten EEGs an fixierten Welsen ab. Die Betäubung und Tötung erfolgte in ersterer Studie durch Elektrobetäubung im Wasserbad und darauffolgender Dekapitation oder Eiswasserkühlung, in der zweiten Studie mittels Trockenelektrobetäubung, zum Teil kombiniert mit Lebendkühlung in Scherbeneis oder Dekapitation. Für die Implantation der EEG-Elektroden wurden die Fische in einer Spannvorrichtung fixiert sowie lokal am Schädel mit Lidocain betäubt. Anhand von veränderten EEG-Signalen sollten Reaktionen auf einen Schmerzreiz (Kratzen mit einer Nadel an der Körperseite des Fisches (LAMBOOIJ et al. 2006a; LAMBOOIJ et al. 2006b) bzw. mehrfache Messerstiche in die Schwanzflossenhaut (SATTARI et al. 2010)) erkannt werden. Dieselben Autoren weisen auf die Schwierigkeit hin, einen sicheren Zusammenhang zwischen elektrischer Hirnaktivität und Bewusstseinszustand zu ziehen. Für eine sichere Beurteilung empfehlen VAN DE VIS et al. (2003) und LAMBOOIJ et al. (2006a) eine Kombination aus EEG-Ableitung und Verhaltensbeobachtungen sowie klinischer Tests. SATTARI et al. (2010) beobachteten sogar das Auftreten von Antworten auf Schmerzreize, obwohl die Aufzeichnungen im EEG noch auf eine Bewusstlosigkeit hinwiesen. Sie vermuten ein zusätzliches neuronales Zentrum und schließen daraus, dass Schmerzreaktionen nicht zwangsläufig mit einer Erholung der Hirnfunktionen zusammenhängen. Nach LAMBOOIJ et al. (2004) bedeutet das Vorhandensein evozierter Reaktionen, dass die afferenten Bahnen zu höheren nervösen Zentren intakt sind, nicht aber, dass die Tiere zwangsläufig auch Reize bewusst wahrnehmen. Umgekehrt sahen STEINHAGEN et al. (2014) in Karpfen ein Ausbleiben von Atembewegungen nach Elektrobetäubung während im EEG noch VERs auftraten und daher eine Reizwahrnehmung gegeben war.

KESTIN et al. (2002) beobachteten das Ausfallen von Reaktionen an Regenbogenforellen in Tauchbadnarkose in folgender Reihenfolge: 1. Verhalten (wie Schwimmen und Gleichgewicht), 2. Reaktionen (wie Antwort auf Elektrostimulus oder Stich in die Lippe) und 3. Reflexe (rhythmisches Öffnen und Schließen der Kiemendeckel, Augendrehreflex). In umgekehrter Reihenfolge traten die Reaktionen bei Entnahme aus dem Tauchbad wieder auf. Übereinstimmend waren in der vorliegenden Studie die Atembewegungen ebenfalls am längsten zu beobachten. Einzelne Welse zeigten während der Untersuchungen in der 10., 15. und 20. Minute schnappatmungsähnliche Bewegungen, jedoch keine rhythmischen Kiemendeckelbewegungen, welche laut KESTIN et al. (2002) Zeichen des Bewusstseins sind.

Um das Vorhandensein von Atembewegungen sicher beurteilen zu können, war eine genaue und ggf. längere Beobachtung des Welses im Eiswasser notwendig. Dies war durch die Glaswände der verwendeten Aquarien möglich. Unter Praxisbedingungen bei Verwendung von undurchsichtigen Behältnissen und einer großen Zahl von Fischen dürfte sich das schwieriger gestalten. Eine verlässliche Beurteilung des Bewusstseinszustandes anhand der Atembewegungen ist bei dieser Fischart auch aufgrund des Vermögens, Luftsauerstoff atmen zu können, eingeschränkt möglich.

## DISKUSSION

---

Im Gegensatz zu den Feststellungen von KESTIN et al. (2002) war bei den untersuchten Welsen bereits nach zwei Minuten (Median; Maximum: sechs Minuten) der Augendrehreflex letztmalig positiv. Die von HELLMANN et al. (2014) beschriebene schlechte Beurteilbarkeit aufgrund der seitlich am Kopf liegenden kleinen Augen konnte nicht bestätigt werden. Die EFSA (2004) weist darauf hin, dass der Vestibulo-Ocular-Reflex durch die kältebedingte Immobilisation bei vorhandenem Bewusstsein ausfallen kann.

KESTIN et al. (2002) stellten fest, dass Reaktionen erst nach Wegfall der selbstinitiierten Verhaltensweisen ausfielen. In der vorliegenden Untersuchung dagegen war die Schmerzreaktion sehr unterschiedlich und meist als erster Test negativ. Selbst nicht-betäubte Tiere zeigten bei wiederholtem Testen abnehmende bzw. keine Antworten mehr (Versuch 0). Bedingt durch die Unsicherheit dieses Tests hat eine negative Reaktion keine sichere Aussagekraft. Lediglich eine positive Reaktion kann als Hinweis auf eine noch vorhandene Sensibilität angesehen werden. Der Test auf Schmerzreaktion durch Kneifen in die Ober- oder Unterlippe des Tieres mit Hilfe einer anatomischen oder chirurgischen Pinzette wurde nicht in das Protokoll aufgenommen, da selbst die nicht-betäubten Welse hier nur selten und unregelmäßig Antworten zeigten.

Selbstinitiierte Bewegungen konnten dagegen vereinzelt sehr lang beobachtet werden: maximal bis zur 15. Minute nach Beginn der Eiswasserbehandlung im Versuch 1a.

Da ein Wels während der Eiswasserbehandlung u.U. auch durch die Eismasse im Gleichgewicht gehalten werden konnte, obwohl er möglicherweise nicht mehr in der Lage war, das Gleichgewicht selbstständig zu halten, war die Bewertung von „Equilibrium ohne Manipulation“ nicht immer sicher möglich. Unter Berücksichtigung der eingeschränkten Aussagekraft wurde dieser Test dennoch in das Protokoll aufgenommen, bei der Darstellung der Ergebnisse allerdings teilweise ausgeklammert.

Um eine eventuelle Beeinflussung der Betäubungswirkung durch den Experimentator zu eruieren, wurden im Versuch 1b 15 der 32 bei 15 °C vorgekühlten Clarias während der ersten fünf Minuten der Eiswasserbehandlung nicht untersucht. Die Unterschiede zwischen beiden Gruppen bezüglich der Zeit in Minuten nach Beginn der Betäubungsbehandlung, zu der zuletzt selbstinitiierte Bewegungen gezeigt wurden, sowie der Blutparameter nach der Eiswasserbehandlung waren nicht signifikant. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der Einfluss des Untersuchers auf die Ergebnisse zu vernachlässigen ist. Allerdings zeigten aus der nicht-untersuchten Gruppe deutlich weniger Tiere Schwimmbewegungen als aus der untersuchten Gruppe. Die Beurteilung des Betäubungserfolges sollte in der Praxis also nicht durch reine Beobachtung der Fische erfolgen, sondern durch Anwendung einfacher Tests wie der in dieser Studie vorgestellten. Andernfalls kann von nicht gezeigten selbstinitiierten Bewegungen fälschlicherweise auf eine Bewusstlosigkeit der Welse geschlossen werden.

Als wirksam haben sich hier insbesondere die Reaktion des Fisches auf Manipulation (kräftiges Greifen am Schwanzansatz), das Vermögen des Fisches, sich nach Drehen auf den Rücken wieder aufzurichten und der Augendrehreflex erwiesen.



### 5.1.2 Diskussion der Beurteilung der Stressbelastung

Die in den Versuchsgruppen nach 24-stündiger Hälterung bei 24 °C (Blutentnahme 1) ermittelten Cortisolspiegel lagen teilweise deutlich über den zu den Entnahmezeitpunkten 2 bzw. 3 ermittelten Werten. HELLMANN et al. (2014) ermittelten nach Hälterung bei 28 °C bzw. bei 20 °C wesentlich geringere Cortisolwerte, ebenso MANUEL et al. (2014) mit Werten unter 10 ng/ml. Da die Blutentnahme 1 am sedierten Fisch durchgeführt wurde, kann eine hierdurch bedingte Belastung angenommen werden. Die im Versuch 3 bestimmten Cortisolwerte nach Hälterung mit Sedierung ( $156,1 \pm 71,5$  ng/ml) waren signifikant höher als die Werte nach Hälterung ohne Sedierung ( $94,2 \pm 41,4$  ng/ml). Fische in Tauchbadnarkose können auf das MS-222 selbst (TOPIC POPOVIC et al. 2012) bzw. auf die durch die Sedation ausgelöste Hypoventilation und damit einhergehende Hypoxämie (NEIFFER und STAMPER 2009) mit einer Cortisolausschüttung reagieren. HELLMANN et al. (2014) allerdings sedierten die Welse ebenfalls mit MS-222 vor der Blutentnahme. MANUEL et al. (2014) nutzten 2-Phenoxyethanol. Für die in dieser Studie im Vergleich zu HELLMANN et al. (2014) und MANUEL et al. (2014) höheren Cortisollevel nach Hälterung kann auch eine höhere Stressbelastung durch die Hälterung in Betracht gezogen werden. Viele weitere Faktoren wie beispielsweise die Wasserqualität, der Salzgehalt, der Ernährungszustand oder diurnale sowie saisonale Zyklen beeinflussen den Cortisolspiegel (BARTON und IWAMA 1991; WENDELAAR BONGA 1997). Somit können die Unterschiede zwischen den in verschiedenen Studien ermittelten Basallevels bei einer Fischart erklärbar sein. Laut SMIT et al. (1979) können weitere Parameter, wie der Blutglukose- oder -elektrolytgehalt, durch Tricain-Narkose beeinflusst sein. Dieser Effekt kann durch Neutralisierung der MS-222-Lösung vermindert werden. In den hier beschriebenen Versuchen erfolgte keine Pufferung des Narkosebades, da der pH-Wert im neutralen Bereich lag. Bei den Blutglukose-, -natrium- und -chloridwerten wurden keine Unterschiede zwischen sedierten und nicht-sedierten Tieren festgestellt.

ARENDS et al. (1999) verweisen darauf, dass eine Stressbelastung beim Fisch mit einer messbaren Erhöhung des Laktatgehaltes einhergeht. Demgegenüber konnten HELLMANN et al. (2014) in gestressten (abgefischt und/oder transportiert und/oder in Eiswasser betäubt) Clarias eine niedrigere Laktatkonzentration als in Tieren aus der normalen Haltung feststellen. Im Versuch 1a war in den Varianten 1 und 3 nach der Eiswasserbehandlung ein niedrigerer Laktat Spiegel messbar als nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C. In Variante 2 bestand diesbezüglich kein signifikanter Unterschied. Des Weiteren unterschieden sich die drei Varianten untereinander zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten nicht signifikant. Daher erfolgte in den folgenden Versuchen keine Bestimmung des Blutlaktatgehaltes.

Der Kaliumgehalt im Blut der Welse unterschied sich in den Versuchen 1a, 2, 3 und 4 bereits nach Hälterung signifikant zwischen den einzelnen Varianten. Bei der Probenaufarbeitung fiel, besonders zum Blutentnahmezeitpunkt 3, zum Teil eine starke Hämolyse auf. Diese Erythrozytenzerstörung bedingt eine Erhöhung der Kaliumkonzentration. Bei einer Stressbelastung wird dagegen mit einer Abnahme gerechnet (HELLMANN et al. 2014). Daher ist die Aussagekraft des gemeinsam mit der Natrium- und Chloridkonzentration bestimmten Kaliumgehaltes bezüglich der Stressbelastung der

Fische in dieser Studie eingeschränkt und kann bei zukünftigen ähnlichen Versuchsanstellungen entfallen.

### 5.2 Diskussion der Eiswasserbehandlung und der Vorkühlung

Die Eiswasserkühlung wird unter Tierschutzgesichtspunkten kritisch bewertet, da sie nicht unmittelbar zum Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit führt (STAMER 2009). Die im Rahmen dieses Projektes erfolgten Untersuchungen zeigten ebenfalls einen späten Verlust der Reaktionen auf die durchgeführten Untersuchungen in Abhängigkeit vom Verfahren der Eiswasserkühlung (Versuch 1a).

Bei HELLMANN et al. (2014) zeigten die Welse nach 5 bis 15 Minuten und bei LAMBOOIJ et al. (2006b) nach 5 bis 20 Minuten einen Verlust der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit. In vorliegender Untersuchung waren im Versuch 1a, Variante 1 (Eiswasser 1:1 bei  $0,1 \pm 0,2$  °C) nach 20 Minuten (bzw. 15 Minuten ohne Berücksichtigung von Atembewegungen) noch einzelne positive Reaktionen zu beobachten. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass die längere Beobachtungszeit hier auf selbstinitiierten Bewegungen bzw. Atembewegungen von insgesamt zwei Fischen (9,0 % der untersuchten Fische) in der 15. und 20. Minute im Eiswasser basierten. In den Varianten 2 und 3 mit höherem Eisanteil bzw. niedrigerer Temperatur waren nach zehn Minuten die letzten Reaktionen zu beobachten. Die mittleren maximalen Reaktionszeiten zwischen den drei Varianten unterschieden sich im Versuch 1a nicht signifikant.

Im Versuch 1b zeigten die Welse nach Vorkühlung bei 15 sowie 20 °C länger Reaktionen im Eiswasser als nach Vorkühlung bei 10 °C. Die signifikant niedrigere mittlere maximale Reaktionszeit bei 10 °C-Vorkühlung begründet sich auch darin, dass die meisten Fische bereits am Ende der Vorkühlung bewegungslos waren und keine Reaktionen mehr zeigten.

Mit zunehmendem Aufenthalt im Eiswasser nahm die in der Rückenmuskulatur gemessene Temperatur ab. Der deutlichere Abfall in der Variante 3 des Versuches 1a im Vergleich zu den beiden anderen Varianten spiegelte sich dabei nur bedingt im zeitlichen Verlauf des Ausfalls der Reaktionen auf klinische Tests wider. Parallel zum Sinken der Körpertemperatur nahm auch die Herzfrequenz ab. Dies war in Variante 3, Versuch 1a, deutlicher als in den Varianten 1 und 2. Bei der Lebendkühlung von Aalen in Eiswasser mit  $0,2$  °C (Temperaturdifferenz zur vorherigen Hälterung ca.  $18$  °C) kam es ebenfalls zu einem deutlichen Absinken der Herzfrequenz (LAMBOOIJ et al. 2002b). Dagegen beobachteten LAMBOOIJ et al. (2006b) eine anhaltende Tachykardie bei einer 30-minütigen Eiswasserkühlung von Afrikanischen Welsen, welche allerdings aus einer Hälterung bei  $24$  °C kamen und nicht vorgekühlt waren. In diesen Untersuchungen war parallel zum Abfall der Körpertemperatur von initial ca.  $24$  °C auf  $13,7 \pm 2,6$  °C ein Verlust der Wahrnehmungsfähigkeit nach 12,5 Minuten im Eiswasser zu verzeichnen. Daraus schlossen LAMBOOIJ et al. (2006b), dass nach einem Absinken der Körpertemperatur um ca.  $8,7$  °C mit einer Insensibilität der Tiere gerechnet werden kann.

DONALDSON et al. (2008) vermuten, dass ein schneller Wassertemperaturabfall zu einem thermischen Schock bei Fischen führt. Dieser bewirkt den Verlust der Hirnfunktion, verbunden mit

## DISKUSSION

---

Bewegungs- und Reaktionslosigkeit und letztendlich einer Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit. Außerdem geht dieser Kälteschock mit einer Stressbelastung einher (SKJERVOLD et al. 2001; DONALDSON et al. 2008). Laut letzterer Autoren sind für die Höhe der Belastungen neben der absoluten Temperatur des Eiswassers auch die Differenz zwischen vorheriger Hälterungs- und Eiswassertemperatur sowie die Dauer der Hypothermie entscheidend. Deutlich wird die Auswirkung des Temperaturunterschiedes bei Betrachtung des Cortisolspiegels. Im Versuch 1a wurden sowohl bei der Variante 2 (Eiswasser + Eis) sowie der Variante 3 (Eiswasser mit Salz bei -2 °C) höhere Cortisolwerte gegenüber der Variante 1 (Eiswasser 1:1) festgestellt. Tiefere Temperaturen bzw. größere Temperaturdifferenzen scheinen mit einer höheren Belastung der Welse einherzugehen. In Variante 2 lag die unmittelbare Eiswassertemperatur wie in Variante 1 bei  $0,1 \pm 0,2$  °C. Durch das zusätzliche Eis hatten die Welse aber unmittelbaren Oberflächenkontakt mit dem Eis, welches eine niedrigere Temperatur aufwies.

Im Versuch 1b konnten nach der Eiswasserbehandlung bei Variante 3 (Temperaturdifferenz ca. 20 °C) signifikant höhere Cortisolwerte gegenüber Variante 2 (Temperaturdifferenz ca. 15 °C) sowie Variante 1 (Temperaturdifferenz ca. 10 °C) nachgewiesen werden.

Während sich im Versuch 1b bei Vergleich der Cortisolwerte nach Vorkühlung mit den Werten nach der Eiswasserbehandlung in der Variante 3 (Vorkühlung bei 20 °C) eine deutliche Erhöhung zeigte (von  $115,7 \pm 47,52$  auf  $237,2 \pm 95,97$  ng/ml), kam es bei der Variante 2 (15 °C) nur zu einem geringen Anstieg (von  $114,2 \pm 51,11$  auf  $148,9 \pm 49,0$  ng/ml) des Cortisolgehaltes. In der Variante 1 (10 °C) war der Cortisolwert nach der Eiswasserbehandlung nicht höher als nach der Vorkühlung. Eine ausreichende Vorkühlung scheint zu bewirken, dass die anschließende Betäubungsbehandlung weniger belastend ist. Dies zeigen auch die fehlenden signifikanten Unterschiede zwischen den Entnahmezeitpunkten 2 und 3 bei den weiteren Blutparametern in Variante 1. Allerdings weist der nach der Vorkühlung ermittelte signifikant höhere Cortisolwert der Variante 1 gegenüber den anderen beiden Varianten auf höhere Belastungen durch die Vorkühltemperatur von 10 °C hin. Im Becken bei 10 °C Wassertemperatur zeigten die Welse mit unkontrolliertem Stoßen gegen die Beckenwand stark aversives Verhalten. Ähnliche Beobachtungen machten FRIEDLÄNDER et al. (1976) an Goldfischen bei 6 - 7 °C. TUENGERTHAL et al. (2012) empfehlen eine zeitlich herausgezögerte Kühlung von 28 °C auf 10 °C innerhalb von zwei Tagen. Inwiefern dies zu keinen bzw. geringeren Belastungen führt, kann nicht beurteilt werden.

Eine Stresswirkung durch die Vorkühlung zeigt auch der Vergleich der Cortisolwerte aus dem Versuch 3. Die nach Vorkühlung bei 15 °C ermittelten Werte waren signifikant höher als die nach Hälterung bei nicht-sedierten Welsen ermittelten Konzentrationen.

Die Eiswasserbehandlung ist für die Clarias in dem Zeitraum, bis es zur Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit kommt, mit Belastungen verbunden. Das zeigten u.a. HELLMANN et al. (2014) an deutlich höheren Cortisolspiegeln nach der Eiswasserbehandlung ( $425,6 \pm 138,0$  ng/ml (bzw.  $434,5 \pm 163,1$  ng/ml bei zusätzlichem vorherigem Abfischen)) gegenüber der Hälterung bei 28 °C ( $19,0 \pm 19,5$  ng/ml) bzw. Vorkühlung bei 20 °C ( $53,5 \pm 35,5$  ng/ml). Allerdings führten auch Transport und Abfischen zu einer signifikanten Erhöhung des Cortisolspiegels ( $289,1 \pm 60,8$  ng/ml).

MANUEL et al. (2014) konnten an Hand von Cortisol- und Glukosewerten eine hohe Stressbelastung durch Handling und Transport beim Wels nachweisen. In Karpfen, die einer rapiden Abkühlung um 9 °C ausgesetzt wurden, wurde ein bis zu sechsfach erhöhter Plasmacortisolspiegel festgestellt (ARENDS et al. 1998).

Während sich im Versuch 1a nach Eiswasserbehandlung keine signifikanten Unterschiede im Glukosegehalt zwischen den drei Varianten feststellen ließen, wies im Versuch 1b die Variante 3 (20 °C) nach der Eiswasserbehandlung signifikant niedrigere Glukosewerte gegenüber den Varianten 1 und 2 auf. Nach ARENDS et al. (1999) zeigt sich eine Stressbelastung in einer Erhöhung des Glukosegehaltes. Im Versuch 1b kam es lediglich bei Variante 2 (15 °C) zu einer Erhöhung nach der Eiswasserbehandlung gegenüber den nach der Vorkühlung ermittelten Werten.

In Versuch 1a waren nach Eiswasserbehandlung die Gehalte an Natrium und Chlorid im Blut der Welse in Variante 3 signifikant höher als in den Varianten 1 und 2. Laut HELLMANN et al. (2014) spricht eine Konzentrationserhöhung dieser Elektrolyte für eine Stressbelastung.

Im Versuch 1b wurden bereits zur Blutentnahme 1 (nach Hälterung bei 24 °C über 24 Stunden) signifikante Unterschiede in den Blutnatrium- und -chloridwerten zwischen den Gruppen ermittelt. Zu den weiteren Entnahmezeitpunkten ergab sich ein differenziertes Bild, so dass keine eindeutige Aussage hinsichtlich möglicher Belastungsunterschiede zwischen den Varianten zulässig war.

Ein ‚Ersticken‘ im Eis bzw. Eiswasser konnte in den durchgeführten Untersuchungen analog wie bei HELLMANN et al. (2014) nicht beobachtet werden. Nach 30 bzw. 60 Minuten zeigten die Welse unabhängig von der Variante der Eiswasserbehandlung wiederkehrende Reaktionen. Der teilweise zu beobachtende Ausfall des Augendrehreflexes könnte allerdings auf noch bestehende Schäden durch die Hypothermie hinweisen. ROBB und KESTIN (2002) verweisen ebenfalls darauf, dass eine Erholung nach der Eiswasserbehandlung in Wasser mit höherer Temperatur möglich ist. Abweichungen gab es bei den Fischen, die bei 10 °C vorgekühlt wurden. Diese zeigten nach Umsetzen in das Aufwachbecken nur noch in Einzelfällen selbstinitiierte Bewegungen bzw. Reaktionen auf Tests. Die Quantität der Reaktionen schien von der Dauer der Vorkühlung abhängig zu sein: Bei den über 14 Stunden bei 10 °C vorgekühlten Fischen, wurde lediglich eine leichte Atembewegung nach 30 Minuten im Aufwachbecken beobachtet. Bei drei Stunden Vorkühlung zeigten 14 von 20 Tieren leichte Bewegungen. Bei der 10 °C-Vorkühlungsvariante zeigten die Welse allerdings bereits im Eiswasser wesentlich weniger bzw. weniger deutliche Reaktionen auf die Tests.

### **5.3 Diskussion der Elektrobetäubung**

Die EFSA (2004) fordert, das Stadium der Bewusstlosigkeit innerhalb der ersten Sekunde der Betäubung zu erreichen. Die Anwendung der Elektrobetäubung, welche diese Forderung erfüllen kann, ist bei einigen Fischarten, wie beispielsweise dem Atlantischen Lachs, dem Aal, der Dorade und dem Karpfen, verbreitet (VAN DE VIS et al. 2003; LAMBOOIJ et al. 2007). Für den Afrikanischen Wels ist in Deutschland noch keine Methode beschrieben, mit der die Elektrobetäubung sicher und auch praktikabel erscheint.

## DISKUSSION

---

Die Elektrobetäubung kann mit Ansatz der Elektroden am Kopf oder aber im Wasserbad erfolgen. Letztere Variante ermöglicht es, mehrere Fische gleichzeitig zu betäuben. Neben dem arbeitstechnischen Vorteil würde dies den Welsen die Vereinzelnung als zusätzlichen Stressor ersparen. Allerdings benötigt diese Methode mehr Energie als die Trockenbetäubung (LAMBOOIJ et al. 2006a). Außerdem sind ein häufiger Wasserwechsel im Betäubungsbecken sowie eine regelmäßige Reinigung der Elektroden notwendig, um der Verschmutzung durch Fischschleim zu begegnen (SATTARI et al. 2010).

Bei den in der vorliegenden Studie getesteten Varianten der Einzelfischbetäubung mittels Kopfdurchströmung (nass und trocken) zeigten bei korrektem Zangenansatz alle betäubten Fische deutliche tonisch-klonische Krämpfe, die auf eine erfolgreiche Betäubung hinweisen. Da der Zustand der Wahrnehmungslosigkeit allerdings nicht länger als eine Minute andauerte, müsste in dieser Zeit auch die Schlachtung erfolgt sein. Alternativ wäre es möglich, die Dauer der Bewusstlosigkeit durch Setzen der Clarias in Eiswasser zu verlängern.

Nach SATTARI et al. (2010) verlängert auch eine Erhöhung der Stromflusszeit die Dauer der Betäubungswirkung. Sie betäubten Clarias<sup>®</sup> mit Hilfe eines für die Lachsbetäubung entwickelten Gerätes und wandten eine Spannung von 150 V und eine Stromstärke von  $0,36 \pm 0,23$  A bei einer Frequenz von 100 Hz über  $0,7 \pm 0,2$  s an. So erreichten sie eine Empfindungslosigkeit über einen Zeitraum von  $48 \pm 15$  s. Eine Bewusstlosigkeit trat bereits nach einer Betäubungszeit von weniger als einer Sekunde ein. Daher sehen die Autoren eine längere Stromflusszeit zur Verlängerung der Bewusstlosigkeit als unkritisch, da während des Betäubungsvorganges nicht mehr von einer Wahrnehmungsfähigkeit der Fische ausgegangen werden kann. SATTARI et al. (2010) sehen die Gründe für die längere Bewusstlosigkeit in einem verlängerten Herzkammerflimmern und Atemstillstand.

In der vorliegenden Studie waren Spannung, Stromstärke und Stromflusszeit sowohl für die Variante im Wasserbad ( $239,0 \pm 5,60$  V /  $2,1 \pm 0,26$  A / 4 s Stromflusszeit/Wechselstrom) als auch für die Trockenvariante ( $250 \pm 0$  V /  $0,7 \pm 0,18$  A / 4 s Stromflusszeit / Wechselstrom) höher als bei SATTARI et al. (2010). Dennoch wurde lediglich eine Bewusstlosigkeit von weniger als einer Minute erreicht. Auch LAMBOOIJ et al. (2004) testeten die Elektrobetäubung Afrikanischer Welse mittels Kopfdurchströmung durch eine Elektrobetäubungszange. Bei einer Betäubungszeit von etwa einer Sekunde konnten sie die Fische ab einer Spannung von 350 Volt erfolgreich betäuben ( $362 \pm 32$  V /  $629 \pm 180$  mA /  $1,2 \pm 0$  s Stromflusszeit / 50 Hz Wechselstrom). Die Betäubung hielt über einen Zeitraum von  $23 \pm 8$  s an. Bei Anwendung noch höherer Spannungen (600 V) wurden längere Betäubungszeiten ( $58 \pm 22$  s) erreicht. Die Tötung der Clarias erfolgte durch Kiemenstich. Zwei von sieben der auf diese Weise betäubt und geschlachteten Tiere zeigten zwei und fünf Minuten nach Betäubung Reaktionen auf Schmerzreize. Obwohl mit der beschriebenen Methode eine Betäubung der Fische erreicht werden konnte, empfehlen die Autoren, Elektrobetäubung und Schlachtmethode für die Tierart weiter zu optimieren.

In späteren Studien betäubten LAMBOOIJ et al. (2006a) und LAMBOOIJ et al. (2006b) Clarias erfolgreich in einem Wasserbad ( $269 \pm 4$  V /  $1,5$  A/dm<sup>2</sup> / 5 s Stromflusszeit / 500 µS / 50 Hz bzw.

## DISKUSSION

---

$291 \pm 5 \text{ V} / 1,60 \pm 0,11 \text{ A/dm}^2 / 1 \text{ s}$  Stromflusszeit /  $876 \mu\text{S} / 50 \text{ Hz}$ ). Die Plattenelektroden mit einem Flächeninhalt von je  $648 \text{ cm}^2$  befanden sich in einer Plexiglasbox über und unter dem Fisch in einem Abstand von 16 cm zueinander. Die Versuche wurden am Einzelfisch durchgeführt. Eine Betäubung mehrerer Clarias mit den beschriebenen Leistungsparametern im Wasserbad wurde nicht untersucht. Die Bewusstlosigkeit dauerte  $20 \pm 10$  bzw.  $28 \pm 8 \text{ s}$  an. Auch bei einer Verlängerung der Stromflusszeit bei geringer Stromdichte erholten sich einige Fische bereits nach einer halben Minute wieder. Dagegen blieb bei einer sofortigen Dekapitation nach Betäubung die Hirnaktivität niedrig und die Fische reagierten nicht auf Schmerzstimuli (LAMBOOIJ et al. 2006a; LAMBOOIJ et al. 2006b). KNÜSEL und VON SIEBENTHAL (2016) berichteten von einem in der Schweiz angewandtem Gerät. Dieses betäubt mittels Gleichstromfluss über 40 Sekunden und tötet anschließend durch Wechselstromfluss über vier Minuten und 40 Sekunden die sich in diesem Wasserbad befindlichen Clarias. Nähere Angaben zu elektrischen Parametern erfolgten nicht. Ebenso wenig ist bekannt, ob und wann ein Bewusstseinsverlust der Welse auftrat bzw. wie dessen Überprüfung geschah.

Bei Vergleich der in dieser Studie getesteten Varianten der Elektrobetäubung bezüglich der Stressbelastung kann festgestellt werden, dass die Variante 1 (Kopfdurchströmung im Wasserbad) zu signifikant höheren Cortisolspiegeln nach der Elektrobetäubung führte als Variante 2 (Kopfdurchströmung des Welses im Trockenen). Auch die Herzfrequenz der nach Variante 1 betäubten Tiere war unmittelbar nach Betäubung signifikant höher als bei den Clarias der Variante 2. Ähnlich den Messungen im EKG von LAMBOOIJ et al. (2004) und LAMBOOIJ et al. (2006b) war die Herzfrequenz nach der Elektrobetäubung zunächst unregelmäßig und normalisierte sich innerhalb weniger Sekunden. Allerdings waren die in der vorliegenden Untersuchung ermittelten Frequenzen niedriger als in diesen beiden Studien ( $70 \pm 19$  bzw.  $88 \pm 27$  Schläge pro Minute 30 Sekunden nach Betäubung bei LAMBOOIJ et al. (2006b) im Vergleich zu  $42 \pm 8$  bzw.  $36 \pm 8$  Schlägen pro Minute in dieser Studie). In den Untersuchungen LAMBOOIJ's wurden die Clarias nicht vorgekühlt. Ob die von uns angewandten Betäubungsmethoden auch zu einer Erhöhung der Herzfrequenz führten, wie von LAMBOOIJ et al. (2004) und LAMBOOIJ et al. (2006b) beobachtet, konnte auf Grund fehlender Vergleichswerte von vor der Betäubung nicht beurteilt werden.

Bezüglich des Blutglukosegehaltes unterschieden sich die beiden Varianten nicht signifikant voneinander. Die Elektrolytkonzentrationen zeigten zu den Blutentnahmezeitpunkten 1, 2 (außer Chlorid) und 3 signifikante Unterschiede zwischen den beiden Varianten. Daher ergeben diese Messungen keine eindeutigen Hinweise auf Belastungsunterschiede zwischen den Varianten. Jedoch konnte in beiden Varianten ein signifikanter Anstieg des Cortisolgehaltes und auch der anderen Blutparameter nach Elektrobetäubung im Vergleich zur Messung nach Vorkühlung beobachtet werden. Beide Varianten bedeuten also eine Stressbelastung für die Clarias.

Hinsichtlich der Dauer der Bewusstlosigkeit unterschieden sich die Varianten nicht. Aufgrund der Tatsache, dass bei Variante 1 keine Strommarken an den Elektrodenansatzstellen zu beobachten waren, wurde diese Variante in den Versuchen 3 und 4 angewandt. Die Blutuntersuchungsergebnisse lagen zu diesem Zeitpunkt noch nicht vor. Die Frage, ob mit dem in den Versuchen 3 und 4 verwendeten Elektrobetäubungsgerät mit einer Frequenz von 400 Hz bei

einer Kopfdurchströmung im Trockenen noch Strommarken auftreten würden, bedarf weiterer Untersuchungen.

### **5.4 Diskussion der Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung**

Bei keiner der bisher geprüften Methoden der Elektrobetäubung hielt die Betäubung der Welse länger als eine Minute an. Damit müsste die anschließende Schlachtung durch beispielsweise Dekapitation oder Kiemenschnitt unmittelbar nach der Betäubung erfolgen, um eine Bewusstlosigkeit sicher bis zum Eintritt des Todes gewährleisten zu können. Sinnvoll ist also eine Maßnahme, welche die Dauer der Bewusstlosigkeit verlängert.

Die von LAMBOOIJ et al. (2006b) beschriebene Methode einer der eigentlichen Elektrobetäubung folgenden Hirndurchströmung über einen längeren Zeitraum mit geringeren Stromstärken führte nicht zum gewünschten Erfolg.

Alternativ kann die Kombination aus Elektrobetäubung und nachfolgender Eiswasserbehandlung in Betracht gezogen werden.

LAMBOOIJ et al. (2006a) betäubten Welse elektrisch im Wasserbad ( $299 \pm 3 \text{ V} / 9,6 \pm 0,6 \text{ A} / 1,5 \text{ A/dm}^2$ ) über fünf Sekunden. Das Umsetzen in Eiswasser erfolgte erst  $34 \pm 13$  Sekunden (Welse, bei denen ein EEG abgeleitet wurde) bzw.  $14 \pm 4$  Sekunden (Welse, bei denen kein EEG abgeleitet wurde) nach der Elektrobetäubung. Nach Umsetzen in Eiswasser zeigten die Clarias zum Teil klonische Krämpfe. Antworten auf Schmerzstimuli traten nicht auf. Auch in  $20^\circ\text{C}$  warmem Wasser nach Ende der 15-minütigen Eiswasserbehandlung zeigten die Fische, bis auf einen, keine Lebenszeichen. Dies steht konträr zu der vorliegenden Studie, in der alle Fische, welche mit der Kombinationsmethode in den Versuchen 3 und 4 betäubt wurden und hernach in Aufwachbecken umgesetzt wurden, wieder Bewegungen, Reaktionen und Reflexe zeigten. Außerdem blieb mit Ausnahme von fünf Welsen in Versuch 3 keiner der untersuchten Clarias nach Einsetzen in das Eiswasser durchgängig betäubt. Stattdessen zeigten sie nach der ersten bis max. zur fünften (Versuch 3) bzw. sechsten Minute (Versuch 4) nach Umsetzen Reaktionen auf Tests.

SATTARI et al. (2010) betäubten Clariess<sup>®</sup> in einer Kombinationsmethode aus Elektrobetäubung (Kopfdurchströmung bei  $150 \text{ V} / 0,57 \pm 0,16 \text{ A} / 5,2 \pm 0,5 \text{ s}$ ) und anschließender Behandlung im Scherbeneis und erreichten damit eine Bewusstlosigkeit der Fische über einen Zeitraum von  $124 \pm 20 \text{ s}$ . Den Grund für die kurze Insensibilität im Scherbeneis sahen die Autoren in einem insuffizienteren Kontakt zwischen dem Scherbeneis und dem Fischkörper im Vergleich zur Behandlung im Eiswasser.

In beiden Kombinationsversuchen dieser Studie konnte eine signifikante Erhöhung der Cortisolspiegel nach Betäubung (Elektrobetäubung und anschließende Eiswasserkühlung) im Vergleich zur Messung nach Vorkühlung festgestellt werden. Im Versuch 3 waren auch die Glukose- und Kaliumwerte signifikant höher, im Versuch 4 außerdem der Natriumgehalt im Blut. Die Cortisolwerte nach Vorkühlung und Betäubung waren im Versuch 4 höher als im Versuch 3, was auf eine höhere Stressbelastung der Clarias beim Kombinationsversuch im Praxisbetrieb hinweist.

Möglicherweise spielt die wesentlich kürzere Vorkühlungszeit bei etwas höherer Temperatur im Versuch 4, bedingt durch eine technische Havarie, im Vergleich zu Versuch 3 eine Rolle.

Ebenso wurde in beiden Versuchen ein Abfall der Herzfrequenz nach initial unregelmäßigem Herzschlag (nach Elektrobetäubung) beobachtet. LAMBOOIJ et al. (2004) und LAMBOOIJ et al. (2006b) konnten unmittelbar nach Elektrobetäubung Kammerflimmern sowie Extrasystolen im EKG beobachten. Auch SATTARI et al. (2010) beobachteten an elektrobetäubten und anschließend in Scherbeneis gekühlten Claesse® ein Absinken der Herzfrequenz. Die Elektrobetäubung an sich führte zunächst aber zu einem Anstieg der Herzfrequenz. Vor der Elektrobetäubung fand in der vorliegenden Studie keine Herzfrequenzmessung statt.

### **5.5 Abschließende Diskussion und Schlussfolgerungen**

Die vorliegende Arbeit diente der Untersuchung bestimmter Verfahren bei der Betäubung von Welsen: Vorkühlung, Eiswasserbehandlung und Elektrobetäubung. Die Anwendung klinischer Tests und Untersuchungen ermöglichte Erkenntnisse bezüglich des Zeitpunktes, zu dem die Welse in Abhängigkeit vom Verfahren die Fähigkeit zur Reaktion auf spezielle Tests sowie zum Ausführen selbstinitiiertes Verhaltensweisen verlieren. Auf Grundlage dessen wurden Aussagen zur Wahrnehmungs- und Empfindungsfähigkeit getroffen und ausgewählte Test bei der Schlachtung von Welsen in der Praxis bei der Eigenkontrolle genutzt. Die Einschätzung der Belastung der Fische mit Hilfe von Blutparametern ermöglichte es außerdem, wenig belastende Verfahren auszuwählen. Eine Vorkühlung vor der eigentlichen Betäubung erscheint sinnvoll. Unter den untersuchten Varianten 10 °C, 15 °C und 20 °C erwies sich die Variante mit 15 °C als günstigste und am wenigsten belastende.

Für die Eiswasserkühlung wurde die Variante mit einer Temperatur von ca. 0,1 °C ausgewählt, bei der Wasser und Eis im gleichen Verhältnis gemischt werden. Gegenüber einer Variante, bei der die Fische unmittelbar im Eis liegen, kann hier mit einer geringeren Belastung der Tiere gerechnet werden. Außerdem ist die Temperatur über einen längeren Zeitraum ohne besondere Maßnahmen stabil zu halten. Um den Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit sicher zu erreichen, sollte die Zeitdauer im Eiswasser mindestens 20 Minuten betragen.

Die Eiswasserbehandlung ist allerdings mit Belastungen für die Tiere verbunden und führt nicht zu einem unmittelbaren Verlust der Wahrnehmungsfähigkeit. Die EFSA (2004), WALSCH (2014) und die OIE (2015) sehen sie daher als ungeeignet für die Betäubung und Tötung. HELLMANN et al. (2014) dagegen weisen darauf hin, dass mit dieser Methode eine große Zahl an Fischen betäubt werden kann und zusätzliche Manipulationen wie die Vereinzelung der Fische sowie unnötige Transporte, die ebenfalls mit hohem Stress für die Tiere verbunden sind, vermeidbar sind. Außerdem kann die Eiswassermethode bei ausreichender Dauer und komplettem Eintauchen des Fisches in das Eiswasser im Gegensatz zu anderen Verfahren unter Praxisbedingungen sicherstellen, dass die betäubten Welse im Zustand der Wahrnehmungslosigkeit geschlachtet werden können.

Eine Elektrobetäubung von Welsen ist grundsätzlich möglich. Allerdings erlaubt das im Rahmen der Untersuchungen erprobte Verfahren der Kopfdurchströmung nur eine Betäubung von Einzeltieren



## DISKUSSION

---

mit vorheriger Separierung. Weiterhin besteht die Gefahr eines unkorrekten Elektrodenansatzes durch schnelle Bewegungen der Welse. Mit entsprechender Erfahrung des Betäubers kann dies reduziert werden. Eine Vorkühlung erscheint notwendig, da sie die Beweglichkeit der Welse einschränkt. Eine Betäubung im Wasserbad durch Plattenelektroden ohne direkten Kontakt am Kopf konnte in der Literatur nachgewiesen werden (LAMBOOIJ et al. 2006a; LAMBOOIJ et al. 2006b; KNÜSEL und VON SIEBENTHAL 2016). Die Überprüfung dieser Methode im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen konnte aufgrund mangelnder gerätetechnischer Möglichkeiten nicht durchgeführt werden. Kommerziell erhältliche Fischbetäubungsgeräte erreichen die laut Literaturangaben notwendigen elektrischen Parameter (Stromstärke, Spannung) nicht.

Inwiefern eine automatisierte elektrische Betäubung eine Möglichkeit bietet, größere Zahlen von Tieren in kurzer Zeit zu betäuben unter Vermeidung von Belastungen und bei sicherer Gewährleistung eines Zustandes der Empfindungs- und Wahrnehmungslosigkeit bis zur Tötung, bleibt fraglich. Für kleine Schlachtzahlen und als Alternative zur Betäubung per Kopfschlag erscheint die untersuchte Methode der Elektrobetäubung per Kopfdurchströmung in der verwendeten gerätetechnischen Ausstattung bzw. unter Beachtung der elektrischen Betäubungsparameter geeignet.

Bei Kombination der Elektrobetäubung mit nachfolgender Eiswasserbetäubung mit den beschriebenen Parametern konnte kein durchgängiger Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit bis zum Schlachten gewährleistet werden. Trotz der kurzen Wahrnehmungslosigkeit von ca. 30 bis 60 Sekunden könnte eine sich unmittelbar anschließende Entblutung bzw. Dekapitation diese Forderung gewährleisten.

Zur Validierung der Kombination von Vorkühlung, Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung sind weitere Untersuchungen erforderlich. So ist zu prüfen, inwiefern durch Veränderung der Betäubungsparameter, wie Erhöhung der Stromstärke, insbesondere aber Verlängerung der Betäubungszeit, die sich anschließende Wahrnehmungslosigkeit verlängert oder sogar der Tod der Welse erreicht werden kann. Eine nachfolgende Eiswasserbetäubung ermöglicht dann die Entschleimung und eine sichere Entblutung im betäubten Zustand. Um mögliche Auswirkungen der Betäubungsmethoden auf die Fleischqualität zu prüfen, sind gleichzeitig vergleichende lebensmittelhygienische Untersuchungen von geschlachteten Welsen erforderlich.

## 6 Zusammenfassung

Anna Luise Gaede

Untersuchungen zur Erprobung von geeigneten Betäubungsverfahren für die Schlachtung Afrikanischer Welse (*Clarias gariepinus*)

Aus dem Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im April 2016

93 Seiten, 43 Abbildungen, 21 Tabellen, 118 Literaturstellen, Anhang (incl. fünf Abbildungen, vier Tabellen)

Schlüsselwörter: Afrikanischer Wels, Eiswasserbetäubung, Elektrobetäubung, Tierschutz-Schlachtverordnung, Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit, Stressbelastung

### Einleitung

Entsprechend der Tierschutz-Schlachtverordnung sind Wirbeltiere vor der Tötung grundsätzlich zu betäuben. Die für Fische zulässigen Betäubungsmethoden haben sich jedoch für die Betäubung Afrikanischer Welse (*Clarias gariepinus*) in der Praxis als problematisch erwiesen.

### Ziel der Untersuchungen

Das Untersuchungsziel bestand in der Erprobung und Optimierung von Betäubungsverfahren für die Schlachtung Afrikanischer Welse. Verschiedene Varianten der Vorkühlung, Eiswasserbehandlung und Elektrobetäubung wurden einzeln oder in Kombination vergleichend geprüft.

### Materialien und Methoden

Zur Beurteilung der Betäubungswirkung dienten klinische Tests: Atmung, Schwimmbewegungen, Reaktion auf Manipulation, Gleichgewicht mit und ohne Manipulation, Augendrehreflex, Schmerzreiz. Weiterhin erfolgten Blutuntersuchungen mit Bestimmung der Cortisol-, Glukose-, Laktat-, Natrium-, Kalium- und Chloridgehalte zur Beurteilung der Stressbelastung der Welse.

Insgesamt wurden 378 Afrikanische Welse genutzt. Die Untersuchungen umfassten sechs Teilversuche: Im Vorversuch 0 fand die Prüfung der Untersuchungsmethoden statt.

Versuch 1a diente dem Vergleich von drei Varianten der Eiswasserbehandlung: Variante 1: Eiswasser mit  $+0,1 \pm 0,2$  °C, Variante 2: Eiswasser mit zusätzlichem Crash-Eis bei gleicher Temperatur und Variante 3: Eiswasser mit Kochsalz bei  $-2,0 \pm 0,5$  °C.

Im Versuch 1b wurden drei Vorkühltemperaturen getestet: 10 °C, 15 °C und 20 °C.

## ZUSAMMENFASSUNG

---

Die Elektrobetäubung (Versuch 2 bzw. Versuche 3 und 4 als Kombinationsmethoden) erfolgte am Einzeltier per Kopfdurchströmung mit 250 bzw. 300 V und 1,3 bzw. 1,8 A Wechselstrom.

Bei der Prüfung der Kombination von Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung wurden die Welse nach der Kopfdurchströmung unmittelbar in ein mit Eiswasser gefülltes Becken umgesetzt. Versuch 4 diente der Überprüfung der Kombinationsmethode auf Praxistauglichkeit in einer Kreislaufanlage an 50 schlachtreifen Welsen.

### Ergebnisse

Die maximalen Reaktionszeiten im Eiswasser lagen in den drei Varianten des Versuches 1a zwischen 3,8 und 4,7 Minuten (arithmetische Mittel). Die Eiswasserbehandlung ermöglichte kein schnelles Erreichen der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit. Die Variante 1 – Eiswasser mit  $+0,1 \pm 0,2$  °C – war mit den geringsten Belastungen verbunden. Gleiches trifft auf die Vorkühltemperatur von 15 °C zu. Mittels elektrischer Kopfdurchströmung wurde im Versuch 2 eine Betäubung der Welse erreicht, verbunden mit einer 30 bis 60 Sekunden andauernden Wahrnehmungslosigkeit. Die Betäubung geschah am Einzeltier nach vorheriger Separierung. In den Kombinationsversuchen 3 und 4 wurde kein durchgängiger Zustand der Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit beobachtet. Die Welse zeigten im Mittel 2,7 bzw. 3,3 Minuten nach Umsetzen in das Eiswasser zuletzt Reaktionen auf klinische Tests.

### Schlussfolgerungen

Die Eiswasserbehandlung ermöglicht keine tierschutzgerechte Betäubung entsprechend der Tierschutz-Schlachtverordnung. Eine Vorkühlung vor der Betäubung scheint notwendig. Vor der Elektrobetäubung schränkt sie die Beweglichkeit der Welse ein und ermöglicht somit ein besseres Ansetzen der Elektroden. Die Einzeltierbetäubung ist zeitaufwendig und setzt von der durchführenden Person ausreichend Erfahrung voraus, um Fehlbetäubungen zu vermeiden. Die kurze Wahrnehmungslosigkeit erfordert eine sich unmittelbar anschließende Entblutung bzw. Dekapitation. Für kleine Schlachtzahlen bzw. als Alternative zur Betäubung per Kopfschlag erscheint die untersuchte Methode mit der verwendeten gerätetechnischen Ausstattung bzw. unter Beachtung der elektrischen Betäubungsparameter geeignet. Zur Validierung der Kombination von Vorkühlung, Elektrobetäubung und Eiswasserbehandlung sind weitere Untersuchungen erforderlich. Es ist zu prüfen, ob durch eine Veränderung der Betäubungsparameter eine bis zum Tod anhaltende Wahrnehmungs- und Empfindungslosigkeit gewährleistet werden kann.

## 7 Summary

Anna Luise Gaede

Investigation on testing of stunning methods for the slaughter of African catfish (*Clarias gariepinus*)

Institute of Animal Hygiene and Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig

Submitted in April 2016

93 pages, 43 figures, 21 tables, 118 references, appendix (including five figures, four tables)

Keywords: African catfish, ice chilling, electrical stunning, German regulations on the protection of animals at the time of slaughter, loss of sensibility and consciousness, stress

### Introduction

According to the German regulations on the protection of animals at the time of slaughter, vertebrates must be stunned prior to killing. Methods, admissible to stun fish, showed to be problematic with regards to African catfish (*Clarias gariepinus*).

### Aim of the study

The aim of this study was to test and optimize stunning methods for the slaughter of African catfish. Various methods involving live chilling prior to stunning, ice chilling as well as electrical stunning were tested in different modifications, compared, and combined.

### Materials and methods

A number of clinical tests, such as the testing for respiration, self-initiated behavior, handling, equilibrium maintenance with and without manipulation, eye-roll reflex and pain stimulus, were used in order to assess the effectiveness of each stunning method. The stress response was measured by determining the concentrations of cortisol, glucose, lactate, sodium, potassium and chloride through the analysis of blood samples.

A total of 378 African catfish were used in the study which consisted of six trials:

A pretrial was conducted to test the examination methods.

In trial 1a, three modifications of the method of chilling in ice water were compared: variant 1: ice water with a temperature of  $+0.1 \pm 0.2$  °C, variant 2: ice water with some additional crushed ice at the same temperature, and variant 3: ice water with sodium chloride at a temperature of  $-2.0 \pm 0.5$  °C.

Ten, 15 and 20 °C were tested as temperatures for live chilling prior to stunning in trial 1b.

Electrical stunning was carried out as head-only electrical stunning of each fish individually. In trial 2, 250 V, 1.3 A, AC were applied and in trials 3 and 4 (the combined trials), 300 V, 1.8 A, AC.

## SUMMARY

---

In the combined trials, the catfish were placed into ice water immediately after electrical stunning. This combination of stunning methods was tested in practice in an aquaculture farm in trial 4 with 50 catfishes which had reached the age of slaughter.

### Results

In trial 1a, movement within the ice water was observed over 3.8 - 4.7 minutes (arithmetic mean). Chilling in ice water did not lead to a quick loss of sensibility. Variant 1 – ice water with  $+0.1 \pm 0.2$  °C – was the least stressful. Furthermore, alive chilling prior to stunning at 15 °C was the most appropriate method. Stunning by head-only electrical stunning in trial 2 was successful and resulted in an insensibility of 30 - 60 seconds. Fish were separated from one another before the stunning was applied and each fish was treated individually. Sustained and prolonged unconsciousness could not be observed in the combined trials 3 and 4. Last reactions on clinical tests occurred 2.7 and 3.3 minutes after placement into ice water (arithmetic mean), respectively.

### Conclusions

Chilling in ice water as stunning method does not meet the requirements of the German regulations on the protection of animals at the time of slaughter concerning animal welfare. Chilling prior to stunning seems to be useful. With the electrical stunning, it reduces any movements of the fish and facilitates the positioning of the electrodes. The stunning of single fish is complex and time-consuming and requires a great amount of experience to avoid stunning failures. Due to the short time period of insensibility, blood withdrawal and/or decapitation is necessary right after electrical stunning. Electrical stunning, as used in this study, could be suitable for small numbers of fish and, also, be an alternative for stunning by percussion. Further investigations are necessary in order to validate the combination of chilling prior to stunning, electrical stunning and chilling in ice water. It must be evaluated, whether a change in the electrical parameters could render the fish insensible until death.

**8 Literaturverzeichnis**

American Veterinary Medical Association (AVMA). AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. 2013 (zitiert vom 10.01.2016), <<https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>>.

Anil MH. Studies on the return of physical reflexes in pigs following electrical stunning. *Meat Sci.* 1991;30(1):13-21.

Anon. Richtlinie 2001/83/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 6. November 2001 zur Schaffung eines Gemeinschaftskodexes für Humanarzneimittel. ABl. EG Nr. L 311/67 vom 28. November 2001 (2001).

Anon. Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Fassung vom 18. Mai 2006. BGBl. I S. 1206, zuletzt geändert durch Gesetz vom 03. Dezember 2015. BGBl. I S. 2178 (2006).

Anon. Guide to the fish species of Southern Africa - Sharptooth Catfish - *Clarias gariepinus*. 2007. (zitiert vom 24.01.2016), <<http://home.intekom.com/ecotravel/african-wildlife/animals/fishes-pisces/sharptooth-catfish-clarias-gariepinus.htm>>.

Anon. Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 des Rates vom 24. September 2009 über den Schutz von Tieren zum Zeitpunkt der Tötung. ABl. EU Nr. L 303 S. 1-30 vom 18.11.2009 (2009).

Anon. Markt. 2010. (zitiert vom 24.01.2016), <<http://www.fischgut-mitte.org/markt/>>.

Anon. Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung und zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 des Rates (Tierschutz-Schlachtverordnung - TierSchIV) vom 20. Dezember 2012. BGBl. I Nr. 63 S. 2982 (2012a).

Anon. Bundesratdrucksache 672/12 vom 01. November 2012. Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung und zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 1099/2009 des Rates (Tierschutz-Schlachtverordnung - TierSchIV) (2012b).

Anon. Aquakultur und Binnenfischerei in Sachsen. 2014 (zitiert vom 09.10.2016), <[http://www.smul.sachsen.de/lfulg/download/Daten\\_Fakten\\_Binnenfischerei\\_in\\_Sachsen\\_2014\\_endgueltig.pdf](http://www.smul.sachsen.de/lfulg/download/Daten_Fakten_Binnenfischerei_in_Sachsen_2014_endgueltig.pdf)>.

Arends RJ, van der Gaag R, Martens G, Wendelaar Bonga SE, Flik G. Differential expression of two pro-opiomelanocortin mRNAs during temperature stress in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Letter to the editor. *J Endocrinol.* 1998;159(1):85-91.

Ashley PJ. Fish welfare: Current issues in aquaculture. *Appl Anim Behav Sci.* 2007;104(3/4):199-235.

Ashley PJ, Sneddon LU, McCrohan CR. Nociception in fish: stimulus-response properties of receptors on the head of trout *Oncorhynchus mykiss*. *Brain Res.* 2007;1166:47-54.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Baici F. Faire Fische - Betäubungsverfahren im Vergleich: Möglichkeiten zum Nachweis einer erfolgten Kopfschlagbetäubung und Alternativen bei der Narkose von Speisefischen. 2004 (zitiert vom 10.01.2016), <<http://www.fair-fish.ch/files/pdf/wissen/baici.pdf>>.

Barton BA, Iwama GK. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annu Rev Fish Dis.* 1991;1:3-26.

Belao TC, Leite CAC, Florindo LH, Kalinin AL, Rantin FT. Cardiorespiratory response to hypoxia in the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822), an air-breathing fish. *J Comp Physiol B.* 2011;181(7):905-916.

Beukema JJ. Angling experiments with carp (*Cyprinus carpio* L.): Decreasing catchability through one-trial learning. *Neth J Zool.* 1970;20(1):81-92.

Bundesgerichtshof (BGH) 1987. Urteil vom 18. Februar 1987, Az.: 2 StR 159/86.

Bretzinger CHP. Einfluss unterschiedlicher Betäubungsmethoden auf Stressbelastung und Produktqualität bei der Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*) [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilian-Universität München; 2001.

Bruton MN. The survival of habitat desiccation by air breathing clariid catfishes. *Environ Biol Fish.* 1979;4(3):273-80.

Chrousos GP, Gold PW. The Concepts of Stress and Stress System Disorders: Overview of Physical and Behavioral Homeostasis. *JAMA.* 1992;267(9):1244-52.

Digre H, Erikson U, Misimi E, Lambooj B, van de Vis H. Electrical stunning of farmed Atlantic cod *Gadus morhua* L: A comparison of an industrial and experimental method. *Aquac Res.* 2010;41:1190-202.

Donaldson MR, Cooke SJ, Patterson DA, Macdonald JS. Cold shock and fish. *J Fish Biol.* 2008;73(7):1491-530.

Dunlop R, Laming P. Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J Pain.* 2005;6(9):561-8.

Erikson U, Hultmann L, Steen JE. Live chilling of Atlantic salmon (*Salmo salar*) combined with mild carbon dioxide anaesthesia I. Establishing a method for large-scale processing of farmed fish. *Aquaculture.* 2006;252:183-98.

European Food Safety Authority (EFSA). Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission related to welfare aspects of the main systems of stunning and killing the main commercial species of animals. *EFSA Journal.* 2004;45:1-29.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

European Food Safety Authority (EFSA). Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed Atlantic salmon. EFSA Journal. 2009a;2012:1-77.

European Food Safety Authority (EFSA). Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed carp. EFSA Journal. 2009b;1013:1-37.

European Food Safety Authority (EFSA). Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed eels (*Anguilla anguilla*). EFSA Journal. 2009c;1014:1-42.

European Food Safety Authority (EFSA). Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed fish: rainbow trout. EFSA Journal. 2009d;1013:1-55.

European Food Safety Authority (EFSA). Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed seabass and seabream. Scientific opinion of the panel on animal health and welfare. EFSA Journal. 2009e;1010:1-52.

European Food Safety Authority (EFSA). Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed tuna. Scientific opinion of the panel on animal health and welfare. EFSA Journal. 2009f;1072:1-53.

European Food Safety Authority (EFSA). Species-specific welfare aspects of the main systems of stunning and killing of farmed turbot. EFSA Journal. 2009g;1073:1-34.

Ehlers E. Lieber Fisch als Fleisch: Die Schwaaner Fischwaren GmbH "Sywan" produziert Wurst aus Afrikanischem Wels. Ostsee-Zeitung. 2012 Aug 11.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Report of the EIFAC ad hoc working party on handling of fishes in fisheries and aquaculture; 2004 März 24-26; Utrecht, Netherlands. EIFAC Occasional Paper No 40; 2008.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Fisheries and Aquaculture Department. Cultured Aquatic Species Information Programme *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). 2010 (zitiert vom 10.01.2016), <[http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Clarias\\_gariepinus/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Clarias_gariepinus/en)>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. 2012 (zitiert vom 10.01.2016), <<http://www.fao.org/docrep/016/i2727e/i2727e.pdf>>.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). The State of World Fisheries and Aquaculture 2014: Opportunities and challenges. 2014 (zitiert vom 10.01.2016), <<http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>>.

Friedlander MJ, Kotchabhakdi N, Prosser CL. Effects of cold and heat on behavior and cerebellar function in goldfish. J Comp Physiol 1976;112(1):19-45.



## LITERATURVERZEICHNIS

---

Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) 2014. Tierschutz; Betäuben und Schlachten von Afrikanischen Welsen, hier: tierschutzfachliche Beurteilung der Forschungsergebnisse der Tierärztlichen Hochschule Hannover vom 29. April 2014:1-16.

Graber A. Schlachtungsmethoden bei Afrikanischen Welsen. Gutachten vom 21. September 2007. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften/Zürcher Fachhochschule, Fachstelle Ökotechnologie 2007.

Graaf G, Janssen H. Artificial reproduction and pond rearing of the African Catfish *Clarias gariepinus* in sub-Saharan Africa - a handbook. FAO Fisheries Technical Paper. 1996;362:1-109.

Gronow G. Über die Anwendung des an Säugetieren erarbeiteten Begriffs "Streß" auf Knochenfische. Zool Anz., Jena. 1974;192(5/6):316-31.

Hahlweg R. Nutzung von Abwärme aus Biogasanlagen für die Erzeugung von Süßwasserfisch in geschlossenen Kreislaufanlagen – profitable Symbiose? 2010 (zitiert vom 10.01.2016), <<http://www.euroroute-r1.de/LAG-FH/Der-Verein/Foren/13.Forum/E1633.htm>>.

Harter V. Tierschutzaspekte bei der Schlachtung und Tötung von Afrikanischen Raubwelsen und tropischen Riesengarnelen. Proceedings der 21. Internationalen Fachtagung zum Thema Tierschutz. 2016 Feb 25-27; München, Deutschland. Gießen: Verlag der DVG Service GmbH; 2016.

Hellmann J, Hörnig W, Lüpke M, Steinhagen D. Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben Betäuben und Schlachten von Afrikanischen Welsen vom 31. März 2014. Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover. 2014.

Hoffmann R, Oidtmann D. Fische in Aquakultur. In: Sambraus HH, Steiger A, Hrsg. Das Buch vom Tierschutz. 1. Aufl. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag; 1997. p. 477-487.

Janz DM. Endocrine system: Gross functional anatomy. In: The handbook of experimental animals. The laboratory fish. 1. Aufl. London: Academic Press; 2000. p. 189-217.

Kestin S, Wotton S, Gregory N. Effect of slaughter by removal from water on visual evoked activity in the brain and reflex movement of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Vet Rec. 1991;128(19):443-6.

Kestin SC, van de Vis JW, Robb DH. Protocol for assessing brain function in fish and the effectiveness of methods used to stun and kill them. Vet Rec. 2002;150(10):302-7.

Knüsel R, von Siebenthal B. Elektrobetäubung bei Speisefischen in der Schweiz. 8. Leipziger Tierärztekongress – Tagungsband 3; 2016 Jan 14-16; Leipzig, Deutschland; Berlin: Lehmanns Media GmbH; 2016.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Kratzsch J. Methodische Beiträge zur kompetitiven Proteinbindungsanalyse und zum Radioimmunoassay für die Bestimmung von Cortisol und Corticosteron im Serum bzw. Plasma einiger landwirtschaftlicher Nutztiere. [Dissertation med. vet]. Leipzig: Universität Leipzig; 1984.
- Lambooij E, Schatzmann U. The use of a high pressure waterjet combined with electroimmobilization for the stunning of slaughter pigs: Some aspects of meat quality. *Meat Sci.* 1994;37(3):381-9.
- Lambooij E, van de Vis J, Kloosterboer R, Pieterse C. Evaluation of captive needle stunning of farmed eel (*Anguilla anguilla* L.): Suitability for humane slaughter. *Aquaculture.* 2002a;212(1-4):141-8.
- Lambooij E, van de Vis J, Kloosterboer R, Pieterse C. Welfare aspects of live chilling and freezing of farmed eel (*Anguilla anguilla* L.): Neurological and behavioural assessment. *Aquaculture.* 2002b;210(1-4):159-69.
- Lambooij E, Kloosterboer RJ, Pieterse C, Gerritzen MA, van de Vis JW. Stunning of farmed African catfish (*Clarias gariepinus*) using a captive needle pistol; assessment of welfare aspects. *Aquac Res.* 2003;34(14):1353-8.
- Lambooij E, Kloosterboer RJ, Gerritzen MA, van de Vis JW. Head-only electrical stunning and bleeding of African catfish (*Clarias gariepinus*): assessment of loss of consciousness. *Anim Welf.* 2004;13(1):71-6.
- Lambooij B, Kloosterboer K, Gerritzen MA, Andre G, Veldman M, van de Vis, H. Electrical stunning followed by decapitation or chilling of African catfish (*Clarias gariepinus*): Assessment of behavioural and neural parameters and product quality. *Aquac Res.* 2006a;37(1):61-70.
- Lambooij E, Kloosterboer RJ, Gerritzen MA, van de Vis JW. Assessment of electrical stunning in fresh water of African Catfish (*Clarias gariepinus*) and chilling in ice water for loss of consciousness and sensibility. *Aquaculture.* 2006b;254(1-4):388-95.
- Lambooij B, Digre H, Erikson U, Reimert H, Burggraaf D, van de Vis H. Evaluation of Electrical Stunning of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) and Turbot (*Psetta maxima*) in Seawater. *J Aquat Food Prod Technol.* 2013;22(4):371-9.
- Lines JA, Robb DH, Kestin SC, Crook SC. Electric stunning: a humane slaughter method for trout. *Aquacult Eng.* 2003;28:141-54.
- Lines J, Kestin S. Electrical stunning of fish: the relationship between the electric field strength and water conductivity. *Aquaculture.* 2004;241:219-234.
- Lorz A, Metzger E. Tierschutzgesetz. 5. Aufl. München: Verlag C.H. Beck; 1999.
- Machin KI. Fish, amphibian, and reptile analgesia. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2001;4(1):19-33.

- Manuel R, Boerrigter J, Roques J, van der Heul J, van den Bos R, Flik G, van de Vis H. Stress in African catfish (*Clarias gariepinus*) following overland transportation. *Fish Physiol Biochem*. 2014;40(1):33-44.
- Maruschke A. Afrikanische Welse schwimmen bald in Thüringen. 2011 (zitiert vom 10.01.2016), <<http://www.openbroadcast.de/article/131848/afrikanische-welse-schwimmen-bald-in-thueringen.html>>.
- Michie I. Causes of downgrading in the salmon farming industry. In: Kestin S, Warriss P, Hrsg. *Farmed fish quality*. 1. Aufl. London: Fishing News Books; 2001. p. 129-36.
- Moritz J. Schmerzen und Leiden bei Fischen. 2013 (zitiert vom 05.01.2016), <[http://www.gv-solas.de/fileadmin/user\\_upload/pdf\\_publikation/6.\\_Fortb\\_Moritz-Fische.pdf](http://www.gv-solas.de/fileadmin/user_upload/pdf_publikation/6._Fortb_Moritz-Fische.pdf)>.
- Morzel M, Sohier D, van de Vis H. Evaluation of slaughtering methods for turbot with respect to animal welfare and flesh quality. *J Sci Food Agric*. 2002;83(1):19-28.
- Morzel M, van de Vis H. Effects of the slaughter method on the quality of raw and smoked eels (*Anguilla anguilla* L.). *Aquac Res*. 2003;34:1-11.
- Neiffer DL, Stamper MA. Fish Sedation, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia: Considerations, Methods, and Types of Drugs. *ILAR Journal*. 2009;50(4):343-60.
- Oetinger FC. Betäubung von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) mit Nelkenöl und BHA – Stressbelastung und Produktqualität [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilian-Universität München; 2003.
- Oidtmann B, Hoffmann RW. Schmerzen und Leiden bei Fischen. *Berl Münch Tierärztl Wschr*. 2001;114:277-82.
- Peters G. Zur Interpretation des Begriffs "Stress" beim Fisch. *Fisch und Tierschutz*. 1979(7):25-32.
- Poli BM, Parisi G, Scappini F, Zampacavallo G. Fish welfare and quality as affected by pre slaughter and slaughter management. *Aquacult Int*. 2005;13:29-49.
- Pollmann U, Tschanz B. Leiden - ein Begriff aus dem Tierschutzrecht. *Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle*. 2006;13(4):234-9.
- Portavella M, Torres B, Salas C. Avoidance Response in Goldfish: Emotional and Temporal Involvement of Medial and Lateral Telencephalic Pallium. *J Neurosci*. 2004;24(9):2335-42.
- Popp W, Troeger K, Birngruber R, Theisen D, Erfinder; Innostrat GmbH Thalwil, Zessionar. Verfahren zur Betäubung von Schlachttieren. Patentnummer DE 10050560 A1. 2000 Okt 12.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Rapp J. Tierschutzgerechtes Betäuben bzw. Töten von Süßwasserfischen vor dem Schlachten ohne Beeinträchtigung der Qualität des Lebensmittels. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle. 1996;3(3):217-23.
- Reimers U. Untersuchung zur Elektrobetäubung von Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) [Dissertation med. vet]. Hannover: Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; 2008.
- Retter K. Untersuchung zur Elektrobetäubung von Karpfen (*Cyprinus carpio* L.) [Dissertation med. vet]. Hannover: Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; 2014.
- Robb DH, Wotton SB, McKinstry JL, Sørensen NK, Kestin SC. Commercial slaughter methods used on Atlantic salmon: determination of the onset of brain failure by electroencephalography. Vet Rec. 2000a;147(11):298-303.
- Robb D, Kestin S, Warriss P. Muscle activity at slaughter: I. Changes in flesh colour and gaping in rainbow trout. Aquaculture. 2000b;182(3-4):261-9.
- Robb DHF, Kestin SC. Methods Used to Kill Fish: Field Observations and Literature Reviewed. Anim welf. 2002;11(3):269-82.
- Robb DH, Roth B. Brain activity of Atlantic salmon (*Salmo salar*) following electrical stunning using various field strengths and pulse durations. Aquaculture. 2003;216(1-4):363-9.
- Rose JD, Arlinghaus R, Cooke SJ, Diggles BK, Sawynok W, Stevens ED, Wynne CDL. Can fish really feel pain? Fish Fish. 2014;15(1):97-133.
- Roth B, Moeller D, Veland JO, Imsland A, Slinde E. The effect of stunning methods on rigor mortis and texture properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*). J Food Sci. 2002;67:1462-6.
- Roth B, Imsland A, Moeller D, Slinde E. Effect of Electric Field Strength and Current Duration on Stunning and Injuries in Market-Sized Atlantic Salmon Held in Seawater. N Am J Aquacult. 2003;65(1):8-13.
- Roth B, Slinde E, Robb DHF. Field evaluation of live chilling with CO<sub>2</sub> on stunning Atlantic salmon (*Salmo salar*) and the subsequent effect on quality. Aquac Research. 2006;37:799-804.
- Sattari A, Lambooj E, Sharifi H, Abbink W, Reimert H, van de Vis JW. Industrial dry electro-stunning followed by chilling and decapitation as a slaughter method in Claresse® (*Heteroclaris* sp.) and African catfish (*Clarias gariepinus*). Aquaculture. 2010;302(1-2):100-5.
- Schatzmann U, Leuenberger T, Fuchs P, Howald M, Howard J. Jet-Injektion. Untersuchungen über die Anwendbarkeit eines Hochdruckwasserstrahls zur Betäubung von Schlachtschweinen. Fleischwirtschaft. 1990;70(8):890-4.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Schwabbauer S. Integrationsmarketing für afrikanischen Wels! (*Clarias gariepinus*): Süßwasserfisch gezüchtet und veredelt durch Betriebe der Erzeugergemeinschaften Fischgut Mitte eG und Nord eG. Nachhaltiger Geschmack! Ernährungsphysiologisch wertvoll! 2013 (zitiert vom 18.03.2016), <[http://www.bioconvalley.org/fileadmin/user\\_upload/Downloads/Aquakultur/Vortraege\\_22.10.2013/6\\_Vertrieb\\_Schwabbauer.pdf](http://www.bioconvalley.org/fileadmin/user_upload/Downloads/Aquakultur/Vortraege_22.10.2013/6_Vertrieb_Schwabbauer.pdf)>.

Sengmüller-Sieber TM. Vergleichende Untersuchungen zur Streßbelastung und Produktqualität von Regenbogenforelle (*Oncorhynchus mykiss*), Wels (*Silurus glanis*) und Flunder (*Platichthys flesus*) bei unterschiedlichen Betäubungsmethoden [Dissertation med. vet]. München: Ludwig-Maximilians-Universität München; 1999.

Skjervold PO, Fjæra SO, Østby PB, Einen O. Live-chilling and crowding stress before slaughter of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 2001;192(2-4):265-80.

Smit GL, Hattingh J, Burger AP. Haematological assessment of the effects of the anaesthetic MS-222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: interspecies differences. J Fish Biol. 1979;15:633-43.

Sneddon LU. The evidence for pain in fish: The use of morphine as an analgesic. Appl Anim Behav Sci. 2003a;83(2):153-62.

Sneddon LU. Trigeminal somatosensory innervation of the head of a teleost fish with particular reference to nociception. Brain Res. 2003b;972(1-2):44-52.

Sneddon LU, Braithwaite VA, Gentle MJ. Do fishes have nociceptors? Evidence for the evolution of a vertebrate sensory system. Proc Biol Sci. 2003a;270(1520):1115-21.

Sneddon LU, Braithwaite VA, Gentle MJ. Novel object test: Examining nociception and fear in the rainbow trout. J Pain. 2003b;4(8):431-40.

Sneddon LU. Evolution of nociception in vertebrates: comparative analysis of lower vertebrates. Brain Res Rev. 2004;46(2):123-30.

Sneddon LU. Pain in aquatic animals. J Exp Biol. 2015;218(7):967-76.

Stamer A. Betäubungs- & Schlachtmethoden für Speisefische. Eine Literaturzusammenstellung und Bewertung im Hinblick auf den Tierschutz und die resultierende Produktqualität. FiBL-Bericht. Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL); 2009 Apr/Nov ID-Code: 16511.

Steinhagen D, Retter K, Hellmann J. Ist eine tierschutzgerechte Betäubung und Schlachtung bei Fischen möglich? 2014 (zitiert vom 10.01.2016), <[http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/ifi/dateien/steinhagen\\_betaeuben\\_schlachten.pdf](http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/ifi/dateien/steinhagen_betaeuben_schlachten.pdf)>.

Stoskopf M. Fish medicine. 1. Aufl. Philadelphia: W.B. Saunders Co.; 1993.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

- Topic Popovic N, Strunjak-Perovic I, Coz-Rakovac R, Barisic J, Jadan M, Persin Berakovic A, Sauerborn Klobucar R. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. *J Appl Ichthyol.* 2012;28(4):553-64.
- Tuengerthal H, Kurze S, Wegener J, Rothenhöfer M. Tierschutzaspekte bei Betäubung, Schlachtung und Tötung von Fischen. *Arch Lebensm Hyg.* 2012;63(1):4-10.
- Tuengerthal H. Überlegungen zum sachgerechten Betäuben von Welsen durch Eingabe derselben in Eiswasser. *Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle.* 2015;22(3):160-2.
- Van de Vis H, Kestin S, Robb D, Oehlenschläger J, Lambooi B, Münkner W, Kuhlmann H, Kloosterboer K, Tejada M, Huidobro A, Otterå H, Roth B, Sørensen NK, Akse L, Byrne H, Nesvadba P. Is humane slaughter of fish possible for industry? *Aquac Research.* 2003;34:211-20.
- Van de vis JW, Poelman M, Lambooi E, Bégout M, Pilarczyk M. Fish welfare assurance system: initial steps to set up an effective tool to safeguard and monitor farmed fish welfare at a company level. *Fish Physio Biochem.* 2012;38(1):243-57.
- Verheijen FJ, Flight W. Decapitation and brining: Experimental tests show that after these commercial methods for slaughtering eel *Anguilla anguilla* (L.), death is not instantaneous. *Aquac Research.* 1997;28(5):361–6.
- Victor A, Elsässer A, Hommel G, Blettner M. Judging a plethora of p-values: how to contend with the problem of multiple testing - part 10 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Ärztebl Int.* 2010;107(4):50-6.
- Vitule JRS, Umbria SC, Aranha JMR. Introduction of the African Catfish *Clarias gariepinus* (BURCHELL, 1822) into Southern Brazil. *Biol Invasions.* 2006;8(4):677-81.
- Walsch F. Tierschutzrechtliche Aspekte der Hypothermie zur Betäubung und Tötung von Fischen. *Proceedings der 19. Internationalen Fachtagung der DVG-Fachgruppe Tierschutz; 2014 Feb 20; München, Deutschland. Gießen: Verlag der DVG Service GmbH; 2014.*
- Wedekind H, Hellmann J, Steinhagen D. Untersuchungen zur tierschutzgerechten Schlachtung von Afrikanischen Raubwelsen – ein Diskussionsbeitrag zur Tierschutzschlachtverordnung. *Fischgesundheit und Fischerei im Wandel der Zeit: Tagungsband der XV. Gemeinschaftstagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizer Sektion der European Association of Fish Pathologists (EAFP); 2014 Okt 08 - 10; Starnberg, Deutschland. Freising-Weihenstephan: LfL; 2014.*
- Wedemeyer GA, McLeay DJ. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: Pickering AD, Hrsg. *Stress and fish.* London: Academic Press; 1981. p. 247-75.
- Wendelaar Bonga SE. The stress response in fish. *Physiol Rev.* 1997;77(3):591-625.

## LITERATURVERZEICHNIS

---

Weniger U. Aktuelle Fragen der Aquakultur und der Fischerei in Sachsen. 2015 (zitiert vom 09.10.2016), <[https://www.landwirtschaft.sachsen.de/landwirtschaft/download/Aktuelles\\_aus\\_Aquakultur\\_und\\_Fischerei.pdf](https://www.landwirtschaft.sachsen.de/landwirtschaft/download/Aktuelles_aus_Aquakultur_und_Fischerei.pdf)>.

World Organization of Animal Health (OIE). Aquatic Animal Health Code. 18th Edition. 2015 (zitiert vom 01.02.2016), <<http://www.oie.int/en/international-standard-setting/aquatic-code/access-online/>>.

9 Anhang

Anhang 1

Tabelle 22: Untersuchungsprotokoll

Versuch:                      Fisch-ID:                      Datum:                      Behandlung:                      Beginn:

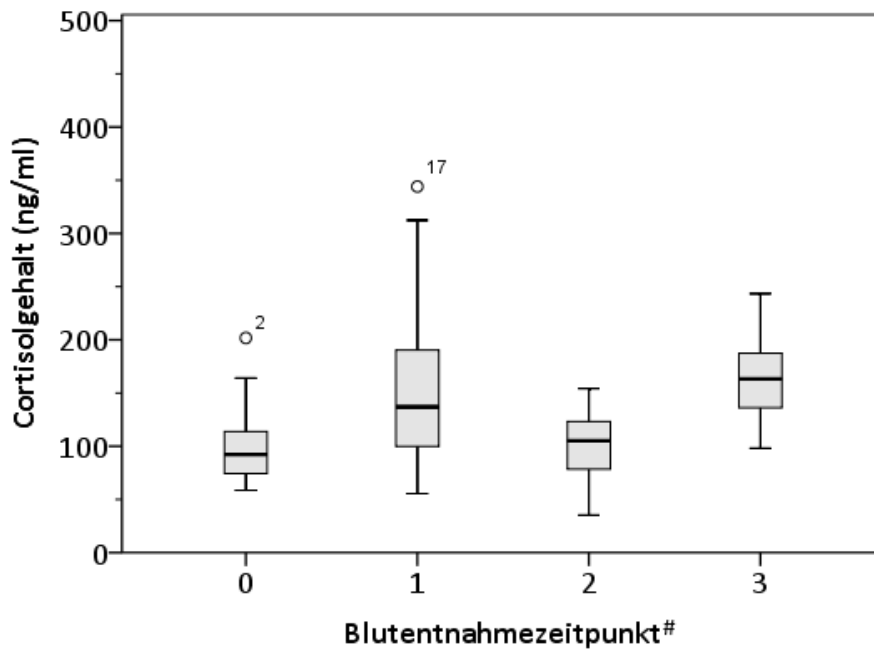
	SELBSTINITIIERTE BEWEGUNGEN / VERHALTEN			ANTWORT AUF STIMULUS				VITALPARAMETER		
	Untersuchung während Fisch <b>im Wasser</b>				Untersuchung <b>außerhalb Wasser</b>					
Zeit	Breathing	Swimming	Equilibrium ohne Manipulation	Handling	Equilibrium nach Drehen	Augendreh- reflex	Schmerz- reiz	Temperatu- r	Herzaktion	Bemer- kungen
	Bewegung der Kiemen- deckel (Atemfre- quenz)/Luft- holen an Oberfläche	Regel- mäßige, koordinierte Schwimm- bewe- gungen	Gleich- gewicht halten, ohne dass Fisch manipuliert wird	Fisch fest am Schwanz- ansatz greifen	Fisch auf Rücken drehen, Reaktion beobachten	Fisch auf Rücken drehen, Augen- stellung beobachten	Chirurgische Pinzette an Bartel	Ablesung des Trans- ponders unter der Haut	Mittels Doppler	
Start						links   rechts				
01:00										
02:00										
03:00										
04:00										
05:00										



## ANHANG

06:00											
07:00											
08:00											
09:00											
10:00											
11:00											
12:00											
13:00											
14:00											
15:00											
16:00											
17:00											
18:00											
19:00											
20:00											
fehlend: 0	vermindert: 1			normal: 2				verstärkt: 3			

Anhang 2



**Abbildung 44: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) zu verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 0; n = 16)**

#Blutentnahmezeitpunkte 0: nach Hälterung in Jesewitz bei 26 °C (Basiswert), 1: nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C und Sedation, 2: nach Vorkühlung bei 15 °C, 3: nach Eiswasserbehandlung über 20 Minuten

**Tabelle 23: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Cortisolwerte zu unterschiedlichen Blutentnahmezeitpunkten mit Hilfe des Wilcoxon-Vorzeichenrangtests bei verbundenen Stichproben (Versuch 0; n = 16)**

	Hälterung in Jesewitz vs. Hälterung über 24 h bei 24 °C	Hälterung in Jesewitz vs. Vorkühlung bei 15 °C	Hälterung in Jesewitz vs. Eiswasserbehandl. über 20 Min.	Hälterung über 24 h bei 24 °C vs. Vorkühlung bei 15 °C	Hälterung über 24 h bei 24 °C vs. Eiswasserbehandl. über 20 Min.	Vorkühlung bei 15 °C vs. Eiswasserbehandl. über 20 Min.
p	0,013	0,796	0,569	0,017	0,049	0,691

Statistische Signifikanz (weiß hinterlegt): p < 0,05; keine statistische Signifikanz (grau hinterlegt)

### Anhang 3

**Tabelle 24: Blutkonzentrationen der bestimmten Parameter in den Teilversuchen**

Blutparameter	Teilversuch	Varianten	Blutentnahmezeitpunkt		
			Nach Hälterung	Nach Vorkühlung	Nach Eiswasserbehandlung bzw. E-Betäubung
			MW ± SD	MW ± SD	MW ± SD
Cortisolgehalt in ng/ml	Versuch 1a	Var. 1 (Eiswasser)	170,2 ± 56,49	--	106,7 ± 36,15
		Var. 2 (Eiswasser + Eis)	157,3 ± 57,23	--	142,4 ± 48,72
		Var. 3 (Eiswasser + Salz)	151,5 ± 44,70	--	123,1 ± 48,21
	Versuch 1b	Var. 1 (10 °C, 14 h)	101,7 ± 30,05	125,4 ± 52,48	140,9 ± 52,13
		Var. 1 (10 °C, 3 h)	181,2 ± 68,28	185,0 ± 56,81	180,1 ± 62,88
		Var. 1 (alle Tiere)	151,4 ± 68,61	161,9 ± 54,35	160,3 ± 65,96
		Var. 2 (15 °C)	161,9 ± 54,35	114,2 ± 51,11	148,9 ± 49,0
		Var. 3 (20 °C)	160,3 ± 65,96	115,7 ± 47,52	237,2 ± 95,97
	Versuch 2	Var. 1 (nass)	183,4 ± 60,35	79,2 ± 31,65	203,7 ± 64,69
		Var. 2 (trocken)	145,5 ± 53,55	79,7 ± 37,16	164,6 ± 54,46
	Versuch 3	Kombinationsbetäubung	123,9 ± 64,78	73,9 ± 36,93	145,1 ± 48,69
Versuch 4	Praxiserprobung	--	125,2 ± 42,56	251,1 ± 95,56	
Glukosegehalt in mmol/l	Versuch 1a	Var. 1 (Eiswasser)	5,6 ± 1,53	--	6,3 ± 1,60
		Var. 2 (Eiswasser + Eis)	5,5 ± 1,43	--	5,7 ± 2,12
		Var. 3 (Eiswasser + Salz)	5,3 ± 1,12	--	5,4 ± 1,52
	Versuch 1b	Var. 1 (10 °C)	5,4 ± 1,09	12,3 ± 2,92	10,5 ± 5,06
		Var. 2 (15 °C)	5,8 ± 1,14	9,0 ± 3,44	9,6 ± 3,66

		Var. 3 (20 °C)	5,7 ± 1,36	6,1 ± 3,89	4,3 ± 0,71
	Versuch 2	Var. 1 (nass)	4,9 ± 0,84	6,6 ± 2,32	8,2 ± 2,87
		Var. 2 (trocken)	4,9 ± 1,87	5,7 ± 2,71	7,1 ± 2,82
	Versuch 3	Kombinationsbetäubung	4,5 ± 0,89	6,2 ± 2,08	7,2 ± 1,92
	Versuch 4	Praxiserprobung	--	5,5 ± 1,57	6,2 ± 1,66
Natriumgehalt in mmol/l	Versuch 1a	Var. 1 (Eiswasser)	137,7 ± 3,35	--	133,0 ± 6,80
		Var. 2 (Eiswasser + Eis)	137,4 ± 4,01	--	133,4 ± 7,40
		Var. 3 (Eiswasser + Salz)	138,6 ± 3,38	--	137,2 ± 5,71
	Versuch 1b	Var. 1 (10 °C)	139,1 ± 3,91	128,3 ± 6,20	126,6 ± 7,0
		Var. 2 (15 °C)	127,0 ± 5,97	121,7 ± 7,75	125,2 ± 8,0
		Var. 3 (20 °C)	137,3 ± 3,63	132,4 ± 4,42	136,4 ± 5,04
	Versuch 2	Var. 1 (nass)	138,6 ± 2,75	130,6 ± 5,81	136,0 ± 6,02
		Var. 2 (trocken)	133,6 ± 5,12	127,2 ± 7,43	130,8 ± 8,56
	Versuch 3	Kombinationsbetäubung	129,7 ± 5,91	124,1 ± 6,19	124,1 ± 6,12
	Versuch 4	Praxiserprobung	--	131,4 ± 1,38	133,6 ± 2,0
Kaliumgehalt in mmol/l	Versuch 1a	Var. 1 (Eiswasser)	3,3 ± 0,66	--	4,1 ± 0,51
		Var. 2 (Eiswasser + Eis)	3,0 ± 0,40	--	4,7 ± 0,88
		Var. 3 (Eiswasser + Salz)	3,1 ± 0,78	--	4,4 ± 0,44
	Versuch 1b	Var. 1 (10 °C)	2,9 ± 4,0	4,9 ± 1,48	6,0 ± 2,90
		Var. 2 (15 °C)	2,9 ± 0,31	3,7 ± 1,68	4,1 ± 0,48
		Var. 3 (20 °C)	3,0 ± 0,40	4,6 ± 1,83	4,5 ± 0,63
	Versuch 2	Var. 1 (nass)	2,3 ± 0,37	3,0 ± 0,44	3,5 ± 0,61
		Var. 2 (trocken)	3,4 ± 0,36	3,0 ± 0,51	3,8 ± 0,43
	Versuch 3	Kombinationsbetäubung	3,4 ± 0,64	2,7 ± 0,49	4,0 ± 0,81

	Versuch 4	Praxiserprobung	--	$3,4 \pm 1,0$	$4,4 \pm 0,67$
Chloridgehalt in mmol/l	Versuch 1a	Var. 1 (Eiswasser)	$102,2 \pm 2,95$	--	$100,0 \pm 5,88$
		Var. 2 (Eiswasser + Eis)	$102,6 \pm 4,37$	--	$101,0 \pm 7,55$
		Var. 3 (Eiswasser + Salz)	$102,0 \pm 3,10$	--	$104,3 \pm 5,36$
	Versuch 1b	Var. 1 (10 °C)	$104,4 \pm 6,61$	$91,4 \pm 8,56$	$90,9 \pm 11,02$
		Var. 2 (15 °C)	$91,9 \pm 9,87$	$90,2 \pm 9,51$	$91,9 \pm 9,81$
		Var. 3 (20 °C)	$105,4 \pm 5,54$	$101,0 \pm 8,67$	$107,0 \pm 5,93$
	Versuch 2	Var. 1 (nass)	$105,7 \pm 2,42$	$101,73 \pm 4,85$	$104,2 \pm 6,16$
		Var. 2 (trocken)	$102,0 \pm 5,22$	$99,2 \pm 8,86$	$97,9 \pm 11,59$
	Versuch 3	Kombinationsbetäubung	$99,6 \pm 6,48$	$96,2 \pm 6,13$	$94,5 \pm 6,26$
	Versuch 4	Praxiserprobung	--	$91,7 \pm 2,08$	$91,4 \pm 2,5$
Laktatgehalt in mmol/l	Versuch 1a	Var. 1 (Eiswasser)	$2,0 \pm 1,29$	--	$1,7 \pm 0,53$
		Var. 2 (Eiswasser + Eis)	$1,6 \pm 0,91$	--	$1,3 \pm 0,56$
		Var. 3 (Eiswasser + Salz)	$2,0 \pm 1,0$	--	$1,2 \pm 0,48$

Anhang 4

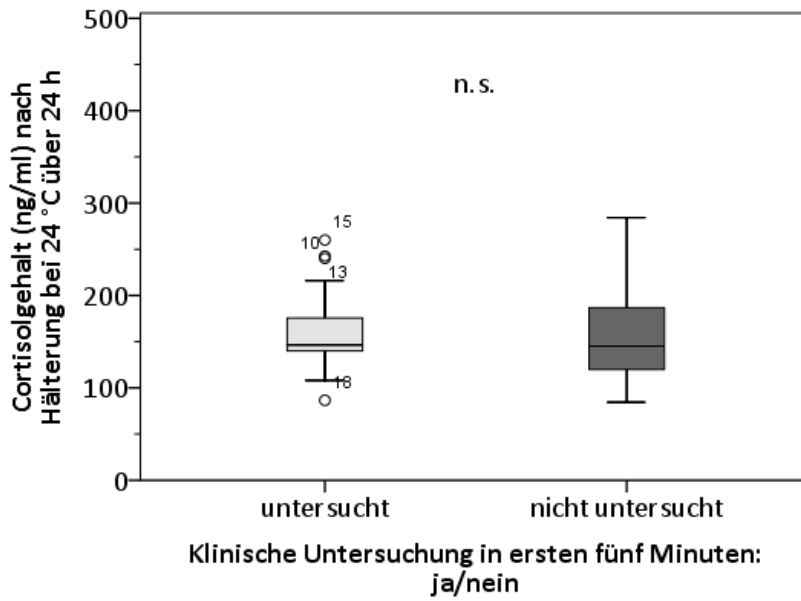
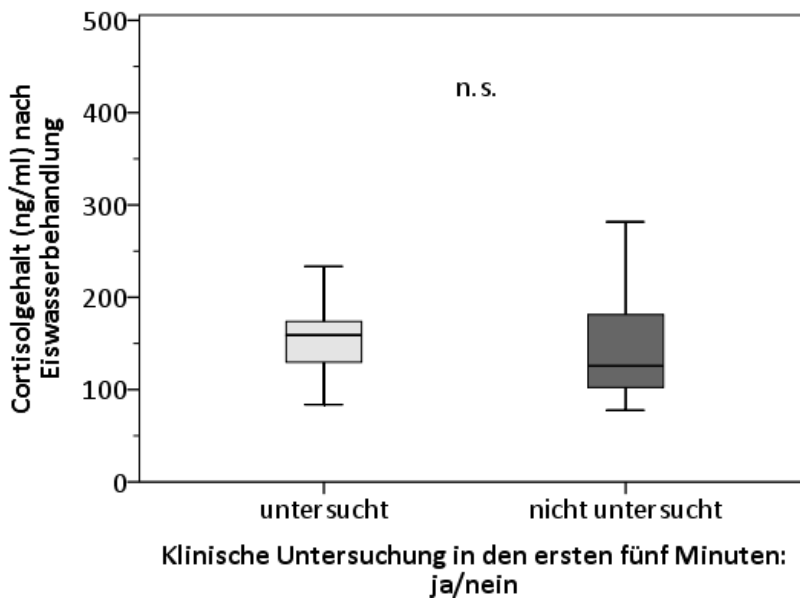
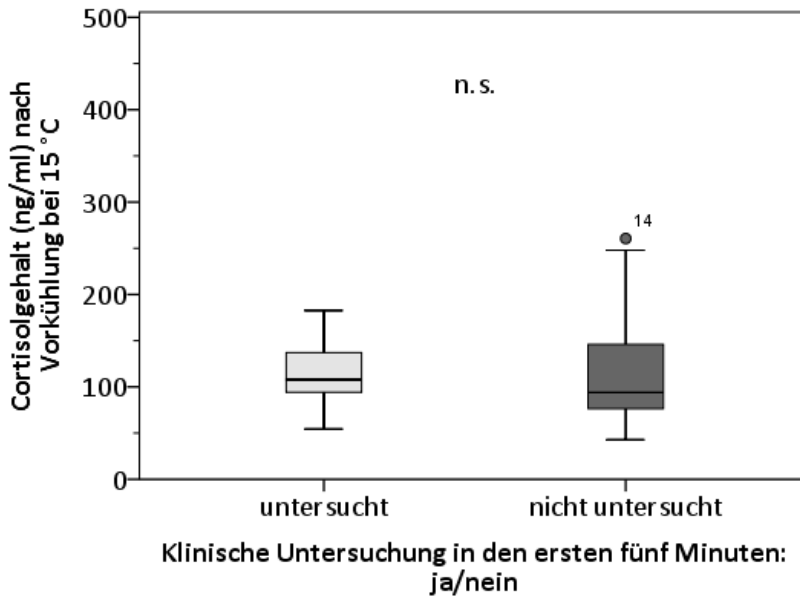
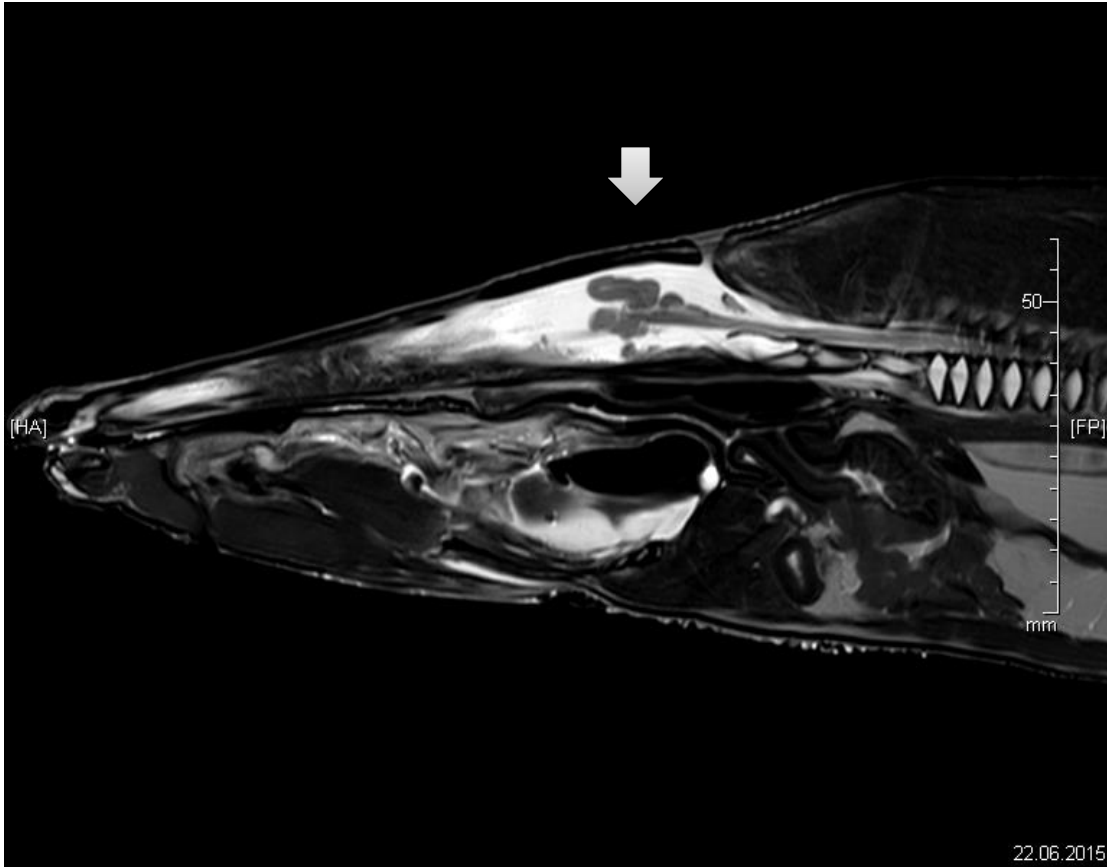


Abbildung 45:  
Vergleich der Cortisol-  
werte (ng/ml) nach  
Eiswasserbehandlung  
(Versuch 1b;  
 $n_{\text{untersucht}} = 17$ ,  
 $n_{\text{nicht untersucht}} = 16$ )



Anhang 5



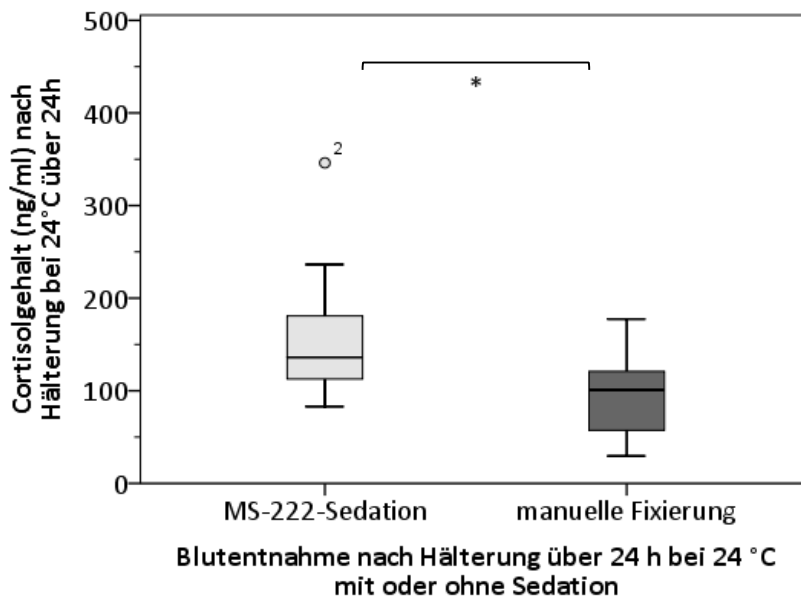
**Abbildung 46: Sagittalschnitt durch den Welskopf, MRT, T2**

Der Pfeil kennzeichnet die Lage des Gehirns.



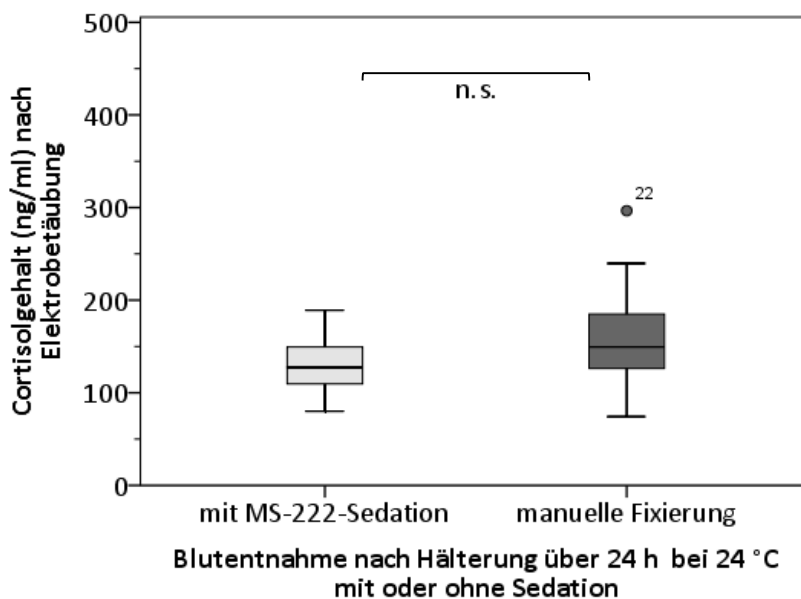
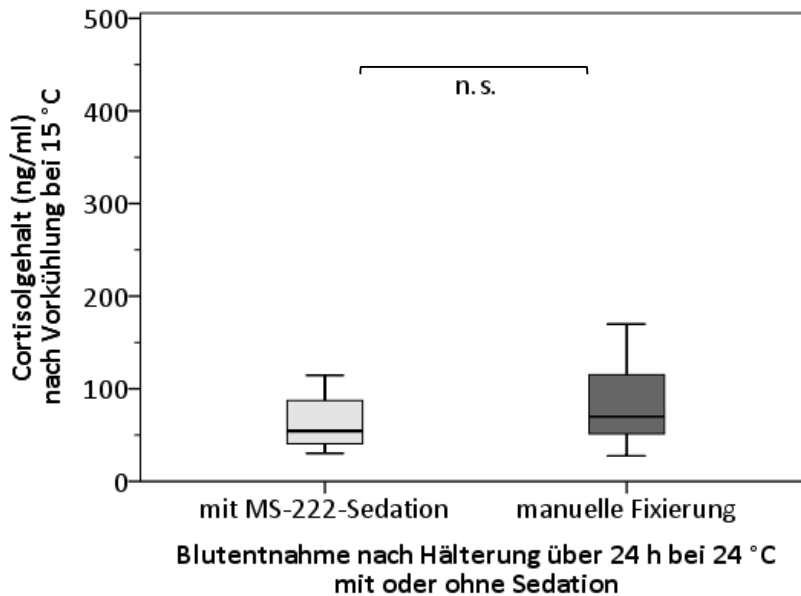
**Abbildung 47: Sagittalschnitt durch den Welskopf, Schädelhöhle ausgeräumt**

Anhang 6



**Abbildung 48:**  
**Vergleich der Cortisol-**  
**werte (ng/ml) zu den**  
**Blutentnahmezeit-**  
**punkten zwischen den**  
**zur Blutentnahme 1**  
**(nach Hälterung über**  
**24 Stunden bei 24 °C)**  
**sedierten (MS-222)**  
**und nicht-sedierten**  
**(manuell fixierten)**  
**Welsen**

(Versuch 3; n = 30)





## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Überblick über die durchgeführten Teilversuche .....	16
Tabelle 2: Übersicht über die verwendeten Chemikalien, Geräte und Verbrauchsmaterialien .....	17
Tabelle 3: Übersicht über die bestimmten blutchemischen Parameter .....	20
Tabelle 4: Klinische Tests für die Beurteilung der Betäubungswirkung .....	23
Tabelle 5: Varianten der Eiswasserbehandlung.....	22
Tabelle 6: Cortisolwerte in ng/ml im Versuch 0 .....	30
Tabelle 7: Maximale Reaktionszeit in Minuten nach Beginn der Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 Tiere je Variante).....	31
Tabelle 8: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten 1 (nach Hälterung) und 3 (nach Eiswasserbehandlung).....	35
Tabelle 9: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Varianten der Eiswasserbehandlung zu den Blutentnahmezeitpunkten.....	35
Tabelle 10: Maximale Reaktionszeit in Minuten nach Beginn der Eiswasserbehandlung (Versuch 1b; n = 97) .....	45
Tabelle 11: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Varianten der Vorkühlung (Var. 1: 10 °C, Var. 2: 15 °C, Var. 3: 20 °C) zu den Blutentnahmezeitpunkten .....	50
Tabelle 12: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den drei Blutentnahmezeitpunkten (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung, nach Betäubung) in den Varianten der Vorkühlung.....	51
Tabelle 13: Parameter der Elektrobetäubung (Versuch 2; n <sub>Var. 1</sub> = 31, n <sub>Var. 2</sub> = 31) .....	58
Tabelle 14: Anzahl an Welsen mit positiven Reaktionen auf klinische Tests in den ersten fünf Minuten nach Elektrobetäubung für Variante 1 (nass) und Variante 2 (trocken) (Versuch 2; n <sub>Var. 1</sub> = 31, n <sub>Var. 2</sub> = 30) .....	59
Tabelle 15: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen Variante 1 (nass) und Variante 2 (trocken) der Elektrobetäubung zu den Blutentnahmezeitpunkten .....	61
Tabelle 16: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung, nach Betäubung) in den Varianten der Elektrobetäubung .....	62
Tabelle 17: Parameter der Elektrobetäubung (Versuch 3; n = 30) .....	67
Tabelle 18: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung, nach Betäubung).....	68

Tabelle 19: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den zum Blutentnahmezeitpunkt 1 (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C) sedierte und den nicht-sedierte Clarias zu den Blutentnahmezeitpunkten ....	70
Tabelle 20: Parameter der Elektrobetäubung (Versuch 4; n = 50) .....	73
Tabelle 21: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Blutparameter zwischen den Blutentnahmezeitpunkten (nach Vorkühlung und nach Betäubung).....	75
Tabelle 22: Untersuchungsprotokoll.....	104
Tabelle 23: Signifikanzwerte p bei Vergleich der Cortisolwerte zu unterschied- lichen Blutentnahmezeitpunkten mit Hilfe des Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben (Versuch 0; n = 16) .....	106
Tabelle 24: Blutkonzentrationen der bestimmten Parameter in den Teilversuchen .....	107

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Versuchsablauf eines jeden Teilversuches .....	18
Abbildung 2: Position der IPTT-Transponder .....	19
Abbildung 3: Maximale Reaktionszeit, alle Tests (Versuch 1a; n = 33 Tiere je Variante).....	32
Abbildung 4: Maximale Reaktionszeit ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 1a; n =33 Tiere je Variante) .....	32
Abbildung 5: Körpertemperatur in °C während der Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Variante der Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante) .....	33
Abbildung 6: Herzfrequenz der Welse in Schlägen pro Minute während der Eiswasserbehandlung (Versuch 1a, n = 33 je Variante).....	34
Abbildung 7: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante) .....	37
Abbildung 8: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante) .....	38
Abbildung 9: Vergleich der Laktatwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante) .....	39
Abbildung 10: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante).....	40
Abbildung 11: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante).....	41
Abbildung 13: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C sowie nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1a; n = 33 je Variante).....	42
Abbildung 14: Maximale Reaktionszeit, alle Tests (Versuch 1b; n = 81) .....	46
Abbildung 15: Maximale Reaktionszeit ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 1b; n = 81) ....	46
Abbildung 16: Körpertemperatur in °C in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97) .....	47
Abbildung 17: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97) .....	47
Abbildung 18: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97).....	52
Abbildung 19: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97).....	53

Abbildung 20: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur .....	54
Abbildung 21: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C, nach Vorkühlung sowie nach Eiswasserbehandlung in Abhängigkeit von der Vorkühltemperatur (Versuch 1b; n = 97).....	55
Abbildung 22: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) .....	56
Abbildung 23: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n <sub>Var. 1</sub> = 31, n <sub>Var. 2</sub> = 30).....	60
Abbildung 24: Strommarken am Elektrodenansatz (Variante 2: trocken, 250 V) .....	60
Abbildung 25: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62).....	63
Abbildung 26: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62).....	63
Abbildung 27: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62).....	64
Abbildung 28: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62).....	64
Abbildung 29: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten in Abhängigkeit von der Variante der Elektrobetäubung (Versuch 2; n = 62).....	65
Abbildung 30: Maximale Reaktionszeit mit und ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 3; n = 30).....	66
Abbildung 31: Körpertemperatur in °C während der Eiswasserbehandlung .....	68
Abbildung 32: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute während der Eiswasserbehandlung (Versuch 3; n = 30).....	68
Abbildung 33: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30).....	70
Abbildung 34: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30).....	71
Abbildung 35: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30).....	71

Abbildung 36: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30).....	72
Abbildung 37: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) zu den Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 3; n = 30).....	72
Abbildung 38: Maximale Reaktionszeit mit und ohne Berücksichtigung von Atembewegungen sowie des Vermögens, das Gleichgewicht selbstständig zu halten (Versuch 4; n = 30).....	74
Abbildung 39: Herzfrequenz in Schlägen pro Minute während der Eiswasserbehandlung (Versuch 4; n = 30).....	74
Abbildung 40: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30).....	75
Abbildung 41: Vergleich der Glukosewerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30).....	76
Abbildung 42: Vergleich der Natriumwerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30).....	76
Abbildung 43: Vergleich der Kaliumwerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30).....	77
Abbildung 44: Vergleich der Chloridwerte (mmol/l) nach Vorkühlung und nach Betäubung (Versuch 4; n = 30).....	77
Abbildung 45: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) zu verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (Versuch 0; n = 16).....	106
Abbildung 46: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) nach Eiswasserbehandlung (Versuch 1b; n <sub>untersucht</sub> = 17, n <sub>nicht untersucht</sub> = 16).....	110
Abbildung 47: Sagittalschnitt durch den Welskopf, MRT, T2 .....	111
Abbildung 48: Sagittalschnitt durch den Welskopf, Schädelhöhle ausgeräumt .....	111
Abbildung 49: Vergleich der Cortisolwerte (ng/ml) zu den Blutentnahmezeitpunkten zwischen den zur Blutentnahme 1 (nach Hälterung über 24 Stunden bei 24 °C) sedierten (MS-222) und nicht-sedierten (manuell fixierten) Welsen (Versuch 3; n = 30).....	112

## Danksagung

Hiermit möchte ich allen herzlich danken, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle gilt mein besonderer Dank Herrn Prof. Dr. Uwe Truyen für die Bereitstellung und Überlassung des Themas sowie die wissenschaftliche Betreuung der Arbeit.

Herrn Dr. Gerd Möbius danke ich von Herzen für die freundliche Zusammenarbeit, die stets geduldige Unterstützung und kompetente Beratung.

Ein großer Dank gebührt Frau Linda Oettel für ihre große Hilfe in allen technischen Belangen sowie für ihre hilfreichen Anmerkungen bei der Abfassung der Summary.

Vielen lieben Dank allen weiteren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung des praktischen Teils der Arbeit, jedwede sonstige Hilfe und Ratschläge, das kollegiale Miteinander und die Motivation.

Danken möchte ich Frau Prof. Dr. Almuth Einspanier, Frau Dr. Jutta Gottschalk und ihren Mitarbeitern des Veterinär-Physiologisch-Chemischen Instituts für die Durchführung der Cortisolbestimmung, weiterhin Frau Annekathrin Ruhland und Mitarbeitern des Labors der Medizinischen Tierklinik für die schnelle und verlässliche Untersuchung der weiteren Blutproben.

Herrn Lutz Gumpert aus dem Institut für Lebensmittelhygiene gebührt Dank für die Hilfe bei der Schlachtung der Clarias im Versuch 4.

Herrn Prof. Dr. Eberhard Ludewig aus der Kleintierklinik gilt mein Dank für die Erstellung der MRT-Schnittbilder eines Welskopfes.

Herrn Prof. Dr. Michael Pees, Vogel- und Reptilienklinik, und Frau Dr. Kathrin Pees danke ich für die Einarbeitung in den Umgang mit dem Versuchstier Fisch und die Bereitstellung des Dopplers.

Herrn Ingo Vetterlein der Agrargenossenschaft eG Jesewitz danke ich vielmals für die stets unkomplizierte Bereitstellung der von uns benötigten Afrikanischen Welse.

Dem Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie danke ich für die Ausschreibung des Projektes und damit der Ermöglichung und Finanzierung meiner Promotion sowie Frau Dr. Grit Bräuer vom Fischgesundheitsdienst Sachsen für die fachliche Unterstützung.

Meiner lieben Familie und besonders meinen Eltern gilt unendlicher Dank für die immerwährende Unterstützung, Hilfsbereitschaft und Motivation nicht erst seit Beginn der Promotion.