



STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER
UNIVERSITY OF VETERINARY MEDICINE HANNOVER, FOUNDATION

Polyplan GmbH, Bremen, in Kooperation mit der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

**Entwicklung von Verfahren zur Kontrolle der
Mikrobiologie in Aquakultur-Rezirkulationsanlagen
zur Sicherung einer nachhaltigen Garnelenproduktion
(1. Phase)**

Kurztitel: „KoMARE“

Abschlussbericht über ein Entwicklungsprojekt im Rahmen der
Förderinitiative Aquakultur, Az: 30575-23

gefördert durch



Deutsche
Bundesstiftung Umwelt

www.dbu.de

Bearbeitung:

Dipl. Biol. Christina Peppler, Dipl. Ing. Sebastian Flohre,

Dipl. Ing. Stefan Bruns

(Polyplan GmbH)

Tierarzt Felix Teitge, Dr. med. vet. Verena Jung-Schroers,

Dr. Dieter Steinhagen

(Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover)

Bremen, April 2016

11/99		Projektkennblatt der Deutschen Bundesstiftung Umwelt			
Az	30575	Referat	23	Fördersumme	124.872,00 €
Antragstitel		Entwicklung von Verfahren zur Kontrolle der Mikrobiologie in Aquakultur-Rezirkulationsanlagen zur Sicherung einer nachhaltigen Garnelenproduktion (1. Phase)			
Stichworte		Aquakultur, Kreislauf			
Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)		
18 Monate	26.07.2013	25.01.2015	1		
Zwischenberichte					
Bewilligungsempfänger	POLYPLAN GmbH Ingenieurbüro für Energie- und Umwelttechnik Büro Bremen			Tel.: 0421/17876-10 Fax: 0421/17876-19	
	Überseetor 14 28217 Bremen			Projektleitung Dipl. Biol. Christina Peppler Bearbeiter S. Bruns, S. Flohre, P. Hüge	
Kooperationspartner	Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo) Zentrum für Infektionsmedizin 30559 Hannover				
Zielsetzung und Anlass des Vorhabens					
Die Bedeutung der bakteriellen Gemeinschaft in Kreislaufanlagen als Reservoir für Pathogene ist bisher wenig beachtet worden. Die Partner TiHo und das Ingenieurbüro Polyplan GmbH wollen die Wechselwirkungen zwischen der bakteriellen Mikroflora und den Bedingungen in einer Kreislaufanlage untersuchen, um Steuerungsmöglichkeiten zu definieren, die in ein Betriebshandbuch einfließen sollen. Ein weiteres Projektziel ist der Aufbau einer web-basierten Datenbank, die nach Projektabschluss allen Betreibern von Salzwasser-Kreislaufanlagen und weiteren Nutzern zugänglich sein soll. Ziel ist, das in Kreislaufanlagen bislang wenig beachtete Infektionsrisiko durch opportunistische bakterielle Pathogene am Beispielorganismus Garnele zu minimieren und die Betriebssicherheit der Kreislauftechnologie zu erhöhen. Damit sollen Kreislaufsysteme optimiert und ihre Ressourceneffizienz gesteigert werden.					
Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden					
In Schwerpunkt 1 wird die Datenbank entwickelt und es werden Daten zu Betriebsparametern, Wasserqualität, bakterieller Gemeinschaft sowie zur Gesundheit und dem Wachstum der Garnelen erfasst. Mit Unterstützung der Datenbank wird erarbeitet, ob und wie sich aus den Beziehungen der Daten untereinander kritische Betriebszustände ermitteln und definieren lassen, die es frühzeitig zu erkennen und zu vermeiden gilt. Im 2. Arbeitsschwerpunkt, Hygienisierung und Prävention werden Versuchsreihen durchgeführt, die in Phase I des Vorhabens den Einsatz verschiedener Hygienisierungsmethoden und in Phase II Maßnahmen der Prävention mittels Immunstimulanzien beinhalten. Die zu untersuchenden Hygienisierungsverfahren sind: Zugabe von Peressigsäure, sowie Einsatz von UV-Licht und Ozon unter verschiedenen Wasserwechselraten. Diese Versuchsreihen werden von Polyplan in enger Kooperation mit dem Partner TiHo in Testkreisläufen unter Tierbesatz mit Garnelen der Art Litopenaeus vannamei durchgeführt. Im 3. Schwerpunkt werden die Erkenntnisse aus Phase I des Vorhabens in einen Leitfaden zur wirksamen Stabilisierung einer vorteilhaften bakteriellen Mikroflora umgesetzt, und dienen – zusammen mit den Ergebnissen aus Phase II - als Grundlage für ein verbessertes Betriebshandbuch, das in der Salzwasser-Aquakultur allgemein eingesetzt werden kann. Schließlich sollen die Ergebnisse zur Optimierung einer kommerziellen Kreislaufanlage eingesetzt werden, in Form von Empfehlungen zum Betriebsmanagement und ggfls. als technische Optimierungen.					
Deutsche Bundesstiftung Umwelt • An der Bornau 2 • 49090 Osnabrück • Tel. 0541/9633-0 • Fax 0541/9633-190 • http://www.dbu.de					

Ergebnisse und Diskussion

Das Ziel dieses Projektes bestand darin, Erkenntnisse zu gewinnen, wie das von bakteriellen Pathogenen ausgehende Infektionsrisiko für Garnelen minimieren werden kann.

Folgende Lösungsansätze zur Erreichung dieses Ziels wurden umgesetzt:

- 1 Entwicklung einer Datenbank für Indoor-Aquakulturanlagen (DeltA) als Voraussetzung für ein besseres Datenmanagement und Betreuungskonzept
- 2 Erfassen der Interaktion des Organismus Garnele und der bakteriellen Ökologie in Laborversuchen zum Einsatz von Peressigsäure, UV-Strahlung sowie Ozon.
- 3 Untersuchungen der Bestandsentwicklung von Garnelen in einer Versuchsanlage über 12 Monate
- 4 Erarbeitung eines Betriebshandbuchs zur Garnelen-Aquakultur

Der Einfluss von Wasserhygienisierungsmaßnahmen auf die Umweltbedingungen in einer Aquakulturanlage, wirkte sich nicht durchgehend positiv auf die chemischen und mikrobiologischen Wasserparametern aus. Die Parameter schwankten während der jeweiligen Versuchszeiträume teils deutlich. Dies deutet auf eine destabilisierende Wirkung der Maßnahmen insbesondere in Hinblick auf die mikrobiologische Wasserqualität hin. Die Zugabe von Peressigsäure zum Haltungswasser führte in Konzentrationen ab 1 mg/l zu nachteiligen Effekten. Es kam nicht zwangsläufig zu einer Reduktion der Gesamtkeimzahl und potentiell pathogene Bakterien scheinen nicht sicher reduziert werden zu können. Die Ergebnisse untermauern die Bedeutung eines stabilen Umweltmilieus für die Kontrolle der Mikrobiologie in Aquakulturanlagen. Das ursprünglich geplante Monitoring in kommerziellen Garnelenfarmen konnte nicht im geplanten Umfang realisiert werden, soll jedoch in der anschließenden Phase 2 des Vorhabens ein Schwerpunkt werden. Neu soll die Durchführung von Challenge- bzw. Stress-Versuchen aufgenommen werden.

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Erste Ergebnisse des Projektes wurden bereits bei zwei Tagungen vorgestellt, wobei es sich dabei um eine nationale und eine internationale Tagung handelte. In Planung sind zudem weitere Präsentationen. Zudem sollen die gewonnenen Erkenntnisse in mehreren wissenschaftlichen Publikationen veröffentlicht werden.

Fazit

Entgegen der Erwartung, dass Hygienisierungsmaßnahmen zu einer Reduzierung der Keimbelastung und womöglich zur Kontrolle von Pathogenen in intensiven RAS beitragen könnten, zeigten sich nur sehr geringe, wenn nicht sogar negative Effekte auf die Gesamtkeimzahlentwicklung und die Diversität der bakteriellen Mikroflora. Bei der Anwendung hoher Konzentrationen von chemischen Umgebungsdesinfektionen ergaben sich darüber hinaus weitere Probleme. Zum einen wurde die biologische Wasseraufbereitung stark beeinflusst. Weiterhin ist der entscheidende Einfluss externer Faktoren, sowohl in Bezug auf die mikrobielle Flora, als auch auf das Tierwohl und die Entwicklung der Garnelen zu betonen.

Der Einsatz von Ozonatoren oder UV-Strahlungseinheiten zur Hygienisierung des Wassers und zur Prävention vor potentiellen Pathogenen konnte in den hier durchgeführten Versuchen in sehr kleinen Kreislaufsystemen nicht belegt werden und kann in solchen Systemen daher in Frage gestellt werden. Die Auswirkungen auf größere Systeme sollten überprüft werden. Neue Perspektiven für die Weiterentwicklung der Kreislaufanlagentechnologie bietet ein Kooperationsvertrag zwischen Polyplan und einem Anbieter von Biofloc-Anlagen. Diese Kooperation ermöglicht es in Zukunft Anlagen nach dem Biofloc-Prinzip anzubieten. Diese Technologie basiert auf einem Ansatz, der die Entwicklung einer stabilen und vorteilhaften Mikroflora in den Vordergrund rückt. Zudem fällt durch die Biofloc-Methode weitaus weniger Abwasser an, was eine Umweltentlastung bedeutet. Eine weitere Kooperationsvereinbarung mit einem Ende 2015 in Betrieb gegangenen Garnelenbetrieb in der Schweiz („Mayer Shrimps“, Zuben) ermöglicht es, die Datenbank unter Praxisbedingungen anzuwenden und weiter zu entwickeln.

Die Frage nach der positiven Beeinflussung der Mikrobiologie in Garnelen-Kreislaufanlagen ist weiterhin relevant und soll durch ein nun realisierbares Anlagen-Monitoring mit einem Vergleich von zwei unterschiedlichen Aquakultur-Technologien untersucht werden. Eine nähere Untersuchung der Diversität und möglicher Verschiebungen in der mikrobiellen Gemeinschaft soll noch durchgeführt werden.

1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis	4
1.1	Tabellenverzeichnis	5
1.2	Abbildungsverzeichnis	7
1.3	Verzeichnis von verwendeten Abkürzungen	10
2	Zusammenfassung	11
3	Einleitung	12
4	Schwerpunkt Datenbank-Entwicklung und Monitoring von Garnelenfarmen (AP 1)	15
4.1	Verlauf und unerwartete Probleme in der Durchführung der Arbeiten	15
4.2	Aufbau und Einsatz der Datenbank DeltA	17
5	Haltung der Garnelen: Aquakulturlabor Polyplan und Versuchsanlage TiHo	20
5.1	Allgemeines zum Verlauf der Arbeiten	20
6	Versuchsreihe zur Wirkung von Peressigsäure als Hygienisierungsmittel auf Wasserqualität und Garnelenkultur (Arbeitspaket 2, TiHo)	24
6.1	Vorversuche zu Versuch 1 (Wasserhygienisierung mittels Peressigsäure)	25
6.1.1	Verträglichkeit von <i>Litopenaeus vannamei</i> gegenüber Peressigsäure	25
6.1.2	Antibakterielle Wirksamkeit von Peressigsäure	26
6.2	Versuch 1: Einsatz unterschiedlicher Konzentrationen von Peressigsäure in Garnelenhaltungssystemen	27
6.2.1	Versuchsaufbau und Datenerhebung	27
6.2.2	Ergebnisse Versuch 1	29
6.2.3	Beurteilung Einsatz von PES	35
7	Versuchsreihen zur Wirkung von Hygienisierungsmaßnahmen mittels UV-Licht und Ozonisierung des Wassers auf Parameter der Wasserqualität und Garnelenkultur (Arbeitspaket 2, Polyplan unter Beteiligung von TiHo)	35
7.1	Versuchsaufbau:	35
7.2	Versuch 2: Einsatz UV-Licht unter Besatz mit juvenilen Garnelen	37
7.2.1	Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung	37
7.2.2	Ergebnisse Versuch 2	38
7.3	Versuch 3: Einsatz von Ozon unter Besatz von juvenilen-adulten Garnelen	47
7.3.1	Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung	47
7.3.2	Ergebnisse aus Versuch 3	47
7.4	Versuch 4: Einsatz von UV und Ozon an juvenilen und adulten Garnelen	56
7.4.1	Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung	56
7.4.2	Ergebnisse aus Versuch 4	57
7.5	Versuch 5 - in Verlängerung von Versuch 4: Einsatz von UV und Ozon an juvenilen und adulten Garnelen	63
7.5.1	Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung	63

7.5.2	Ergebnisse aus Versuch 5 und im Gesamtversuchszeitraum Versuch 4 + Versuch 5 ...	64
7.6	Zusammenfassung ausgewählter biologischer Kenngrößen aus den Versuchen Nr. 2 bis 5	68
7.7	Ergebnisse des Monitoring in der Vorhälterung des Aquakulturlabors Polyplan (Bremen)	69
7.7.1	Datenerhebung	69
7.7.2	Daten Garnelen	71
8	Betriebshandbuch (AP 3) und Optimierung von Kreislaufanlagen (AP4)	75
8.1	Betriebshandbuch für die Aquakultur von Garnelen in Indoor-Kreislaufanlagen	75
8.2	Optimierung von Kreislaufanlagen	75
9	Darlegung von Maßnahmen zur Verbreitung der Vorhabensergebnisse	75
10	Fazit	76
11	Literaturverzeichnis	79
12	Anhang	81
12.1	Darstellungen zur Datenbank DeltA	81
12.2	Grundlagen für die Bewertung der Messwerte zu Parametern der Wasserqualität	84
12.3	Versuchsaufbau und Datenerhebung in den Hygienisierungsversuchen mit Einsatz von UV und Ozon	86
12.4	Ergebnisse aus den Versuchen 2-5	88
12.4.1	Ergebnisse Versuch 2	88
12.4.2	Ergebnisse Versuch 3	89
12.4.3	Ergebnisse Versuch 4	90
12.4.4	Ergebnisse aus Versuch 5 (mit Gesamtzeitraum Versuch 4 und Versuch 5)	91
12.5	Titelblatt und Inhaltsverzeichnis des Betriebshandbuchs zur Garnelen-Aquakultur in Indoor-Kreislaufanlagen	93

1.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 6-1: Shannon Wiener Index der Diversität der Bakterien, die vom Carapax der Garnelen isoliert werden konnten	34
Tabelle 6-2: Auftreten von Vibrio Spezies im Wasser, im Biofilm von Becken und auf dem Carapax von Garnelen in Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressisäure.	34
Tabelle 7-1: Versuch 2: Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) im Versuchszeitraum (4.2.2015 – 19.3.2015) für die Varianten „Kontrolle“ und „UV_7W“ bzw. „UV_9W“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-6)	38
Tabelle 7-2: Kennzahlen Versuch 2 mit den Varianten „Kontrolle“ und „UV_7W“ bzw. „UV_9W“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-6; N=2 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf, N=1 für spezifischen Verbrauch)	44
Tabelle 7-3: Versuch 3: Übersicht Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) pro Testkreislauf im Versuchszeitraum (26.06.2015 – 05.08.2015) für die Varianten „Kontrolle“ und „Ozon“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-4)	48
Tabelle 7-4: Kennzahlen Versuch 2 mit den Varianten „Kontrolle“ und „Ozon“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-4; N=3 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf; N=1 für spezifischen Verbrauch;)	54

Tabelle 7-5: Versuch 4: Übersicht Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) pro Testkreislauf (Ziffer 1-6) im Versuchszeitraum 15.09.2015 – 15.10.2015.....	57
Tabelle 7-6: Kennzahlen Versuch 4 (N=3 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf; N=1 für spezifischen Verbrauch).....	62
Tabelle 7-7: Übersicht Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) pro Testkreislauf a) im Versuchszeitraum Versuch 5 (15.10.2015 – 25.11.2015).....	64
Tabelle 7-8: Kennzahlen Versuch 5 (N=3 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf; N=1 für spezifischen Verbrauch).....	67
Tabelle 7-9: Ergebnisse zu Überlebens- und Wachstumsraten in den Versuchen Nr. 2 bis 5	68
Tabelle 7-10: Ergebnisse der Laboranalysen an Proben aus der Vorhälterung (N=5) für die Parameter: abfiltrierbare Stoffe, TOC, DOC, Nges-N, NO3-N, PO4-P, Pges-P sowie Schwermetalle (Cu, Zn gesamt) und essenzielle Ionen (Ca, Mg, K)	71
Tabelle 7-11: Kennzahlen aus 1 Jahr der Garnelenkultur: Überlebens-, und Wachstumsrate, Korpulenzfaktor und Besatzdichten in der Vorhälterung (Becken 2) (Spaltenköpfe: Monat der Kultur)	73
Tabelle 12-1: Anforderung und Toleranzen der Garnelen-Spezies <i>Litopenaeus vannamei</i> an Parameter der Wasserqualität	85
Tabelle 12-2: Übersicht der Versuche, die in 2015 im Aquakulturlabor Polyplan unter Garnelenbesatz durchgeführt worden sind, mit Angabe der Versuchsbedingungen	86
Tabelle 12-3: Schema der Datenerhebung in den Versuchen.....	87
Tabelle 12-4: Versuch 2: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den gesamten Versuchszeitraum (Tagesmesswerte aus je 2 Becken/ TK für die physikalischen Parameter und Stichproben an 2 bzw. 3 Messtagen für chemische Parameter zur Laboranalyse)	88
Tabelle 12-5: Versuch 2: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen (N=2 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-6, und N=4 pro Versuchsvariante)	88
Tabelle 12-6: Versuch 3: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den gesamten Versuchszeitraum (Tages- und wöchentliche Messwerte aus mind. je 2 Becken/ Variante bzw. Mischproben aus 3 Becken/ Variante für die physikalischen Parameter und Stichproben an 2 bzw. 3 Messtagen für chemische Parameter zur Laboranalyse)	89
Tabelle 12-7: Versuch 3: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen bei Versuchsstart und -ende (N=3 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-4).....	89
Tabelle 12-8: Versuch 4: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den gesamten Versuchszeitraum	90
Tabelle 12-9: Versuch 4: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen bei Versuchsstart und -ende (N=3 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-6).....	90
Tabelle 12-10: Versuch 5: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den Versuchszeitraum (15.10.2015 bis 25.11.2015).....	91
Tabelle 12-11: Versuch 5: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen bei Versuchsstart und -ende (N=3 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-6).....	91
Tabelle 12-12: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität im gesamten Versuchszeitraum von Versuch 4 und Versuch 5 (15.11.2015 bis 25.11.2015)	92

1.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 4-1: Screenshot eines Ausschnitts der Oberfläche des online abrufbaren Delta Monitoring tools, am Beispiel der Anlage „Mayer Shrimps“, CH-Zuben	19
Abbildung 5-1: Inbetriebnahme der Kreislaufanlage für die Vorhälterung (Polyplan)	21
Abbildung 5-2: schematische Darstellung der Kreisläufe und der in ihnen durchgeführten Versuchs- und Bedingungen.....	22
Abbildung 5-3: Foto von vitalen Garnelen aus dem Erstbesatz vom 10.9.2014 (li: am 1.10.2014), re: am 23.10.2014)	23
Abbildung 5-4: Kulturbedingungen in der Wasserqualität für Garnelenbesatz Nr. 2 (Batch vom 10.12.2014), Konzentrationen von Ammonium- und Nitrit-Stickstoff sowie Salinität in den ersten 7 Wochen ab Besatz	24
Abbildung 6-1: Gesamt-Ammonium und Nitrit im Prozesswasser von Garnelen-Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressigsäure (PES).....	30
Abbildung 6-2: Körperlängen von Garnelen aus Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressigsäure (PES).	31
Abbildung 6-3: Antennenlänge von Garnelen aus Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressigsäure.....	31
Abbildung 6-4: Anteil der Vibrio Spezies in Prozent an der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser von Garnelen-Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressigsäure.	32
Abbildung 6-5: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Prozesswassers von Kreislaufanlagen mit Garnelenbesatz unter Behandlung mit Peressigsäure (PES). Angegeben ist die Anzahl isolierter Taxa.	33
Abbildung 6-6: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm in den Haltungsbecken und auf dem Karapax von Garnelen aus Kreislaufanlagen unter Behandlung des Prozesswassers mit Peressigsäure (PES). Angegeben ist die Anzahl isolierter Taxa.	33
Abbildung 7-1: Versuch 2, Varianten „Kontrolle“ (oben) und „UV“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler NH ₄ -N- und NO ₂ -N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l]	39
Abbildung 7-2: Versuch 2, Variante „Ozon“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler NH ₄ -N- und NO ₂ -N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l]	40
Abbildung 7-3: Versuch 2: Gesamtkeimzahl, gelöster und gesamt-organischer Kohlenstoff (DOC, TOC) sowie Gesamtstickstoff (Nges) im Versuchsverlauf (N=2,- bzw. N=3 für den Parameter Gesamtkeimzahl).....	41
Abbildung 7-4: Versuch 2: Konzentrationen an Metallionen und essenziellen Ionen (Ca, Mg, K) im Versuchsverlauf (Daten aus je 2 Kreisläufen mit je 2 Becken; N=4)	42
Abbildung 7-5: Versuch 2: Überlebensrate [%], Korpulenzfaktor (Versuchsende) sowie mittlere Wachstumsrate [g/Woche] (N=4)	42
Abbildung 7-6: Versuch 2: Garnelendaten zu Versuchsstart und -ende aus je zwei Kreisläufen als unbehandelte Kontrolle und mit Einsatz von UV (mittl. Körpergewicht und mittl. Körperlänge; N=4).....	43
Abbildung 7-7: Gesamtkeimzahl im Prozesswasser der Garnelenhaltungen unter UV-Behandlung. 45	
Abbildung 7-8: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Prozesswasser der Garnelenhaltung unter UV-Behandlung des Wassers. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa	45

Abbildung 7-9: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm von Becken aus der Garnelenhaltung unter UV-Behandlung des Wassers. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa...46

Abbildung 7-10: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf dem Karapax von Garnelen aus Haltungen unter UV-Behandlung des Prozesswassers. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa46

Abbildung 7-11: Versuch 3: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum): maximaler NH₄-N- und NO₂-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2).....49

Abbildung 7-12: Versuch 3: Redoxpotenzial [mV] und Gelbstoffabsorbanz [mAbs 430nm] (N=2-8), gelöster organ. Kohlenstoff (DOC) [mg/l] (N=2) und Wassertemperatur [°C] (N=10-16) im Versuchsverlauf bzw. zu Beginn des Ozoneinsatzes und am Versuchsende50

Abbildung 7-13: Versuch 3: Gesamtkeimzahl, gelöster und gesamt-organischer Kohlenstoff (DOC, TOC) sowie Gesamtstickstoff (Nges) im Versuchsverlauf (N=2, bzw. N=3 für den Parameter Gesamtkeimzahl).....51

Abbildung 7-14: Versuch 3: Konzentrationen an Metallionen und essenziellen Ionen (Ca, Mg, K) im Versuchsverlauf (N=3 in Woche 1 und 2, N=2 in Woche 3 und 6)52

Abbildung 7-15: Versuch 3: Überlebensrate [%], Korpulenzfaktor (*Versuchsende*), mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3).....53

Abbildung 7-16: Versuch 3: Garnelendaten zu Versuchsstart und -ende aus je zwei Kreisläufen als unbehandelte Kontrolle und mit Einsatz von Ozon (mittl. Körpergewicht und mittl. Körperlänge; N=6).....53

Abbildung 7-17: Gesamtkeimzahl im Prozesswasser von Garnelenanlagen unter Ozonbehandlung des Wassers.....55

Abbildung 7-18: Bakterielle Gemeinschaft (Anzahl isolierter Taxa) auf Garnelen, im Prozesswasser und im Biofilm der Becken von Kreislaufanlagen unter Ozon-Behandlung des Prozesswassers.56

Abbildung 7-19: Versuch 4, Versuchsvariante „unbehandelte Kontrolle“ (oben) und „Ozon“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler NH₄-N- und NO₂-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter)58

Abbildung 7-20: Versuch 4, Versuchsvariante „UV“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler NH₄-N- und NO₂-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter) 59

Abbildung 7-21: Versuch 4: abfiltrierbare Stoffe, gelöster und gesamt-organischer Kohlenstoff (DOC, TOC), Gesamt- und Nitrat-Stickstoff (Nges, NO₃-N) sowie Orthophosphat (PO₄-P) zu Versuchsstart (Mischprobe aus 3 Becken, N=1) und zum Ende (N=3)60

Abbildung 7-22: Versuch 4: Konzentrationen an Metallionen und essenziellen Ionen (Ca, Mg, K) im Versuchsverlauf (N=2 in Woche 1, N=6 in Woche 5)61

Abbildung 7-23: Versuch 4: Überlebensrate [%], Korpulenzfaktor (*Versuchsende*), mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) an kleineren und größeren Garnelen62

Abbildung 7-24: Versuch 5, Versuchsvariante „Kontrolle“ (oben) und „Ozon“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum, anschließend an Versuch 4: maximaler NH₄-N- und NO₂-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter).....64

Abbildung 7-25: Versuch 5, Versuchsvariante „UV“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum, anschließend an Versuch 4: maximaler NH₄-N- und NO₂-N-Gehalt [mg/l]

sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter)65

Abbildung 7-26: Versuch 5 und 4+5, unbehandelte Kontrolle: Überlebensrate [%], mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) im Gesamt-Versuchszeitraum von Versuch 4 und 5 („gesamt“), sowie in Versuch 566

Abbildung 7-27: Versuch 5 und 4+5, Ozon-Variante: Überlebensrate [%], mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) im Gesamt-Versuchszeitraum von Versuch 4 und 5 („gesamt“), sowie in Versuch 566

Abbildung 7-28: Versuch 5 und 4+5, UV-Variante: Überlebensrate [%], mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) im Gesamt-Versuchszeitraum von Versuch 4 und 5 („gesamt“), sowie in Versuch 567

Abbildung 7-29: Jahresverlauf kritischer Wasserqualitätsparameter in der Vorhälterung Becken 1 70

Abbildung 7-30: Mittlere Körpermaße und –gewichte von Garnelen in der Vorhälterung (N=83-390)72

Abbildung 7-31: Garnelen aus Besatz 3, nach 11 Monaten in Kultur (Vorhälterung Becken 2)73

Abbildung 7-32: Biologische Kenngrößen im Verhältnis zur Biomassedichte [kg/m³] im Kulturverlauf74

Abbildung 7-33: Besatz aus 03-2015: mittl. Körpergewicht und –länge im Verhältnis zur dorsalen Körperbreite am Cephalothorax (N=2-20)74

Abbildung 12-1: Pflgetool zum einfügen neuer Aquakulturanlagen, Messprotokolle, Messpunkte Parameter und Übersetzungen81

Abbildung 12-2: Übersicht über vergangene automatische Datenimporte aus der Anlagensteuerung inklusive Anzeige von aufgetretenen Alarmen82

Abbildung 12-3: Grafische Auswertung einer Vielzahl automatisch erhobenen Prozesswerte für die Fehleranalyse und das technische Anlagenmonitoring82

Abbildung 12-4: Grafische Auswertung einer Messstelle mit Anzeige verschiedener Messgrößen in einem Diagramm über einen ausgewählten Zeitraum83

Abbildung 12-5: Daten aus Anlage „Mayer Shrimps“, Datenanzeige Parameter der Wasserqualität im Biofilter Hauptkreislauf (HK) als Grafik83

Abbildung 12-6: Versuch 2: Becken-spezifische Daten aus DeltA (für TK1-Becken 1 oben) und kombinierte Anzeige von Daten aus eigenen Messungen („Daten-PP“) sowie Laboranalysen für Becken 1 und 284

1.3 Verzeichnis von verwendeten Abkürzungen

Ca	Calcium
Cu	Kupfer
Delta	Datenbank europäischer, land- und technikgestützter Aquakulturanlagen
DOC	Dissolved Organic Carbon (gelöster organischer Kohlenstoff)
DOC (in Datenbank):	Days of Culture (Tage in Kultur)
EMFF	europäischer Meeres- und Fischereifond
GKZ	Gesamtkeimzahl
HACCP	Hazard Assessment Critical Control Point
HDPE	High Density Polyethylen
K (analysiertes Element)	Kalium
K (Versuchsvariante)	Kontrolle (unbehandelte Versuchsvariante)
KbE	Kolonie bildende Einheiten
KoMARE	Projekttitle: "Kontrolle der Mikrobiologie in Aquakultur-Rezirkulationsanlagen"
MBL	mean body length (mittlere Körperlänge)
MBW	mean body weight (mittleres Körpergewicht)
Mg	Magnesium
NaCl	Natrium-Chlorid, gemeint ist physiologische Kochsalzlösung (0,9 %ig)
Nges	Gesamt-Stickstoff
NH4-N	Ammonium-Stickstoff
NO2-N	Nitrit-Stickstoff
NO3-N	Nitrat-Stickstoff
O2	Sauerstoff
OD-Wert	Maß für optische Dichte
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PE	Polyethylen
PES	Peressigsäure
Pges	Phosphor gesamt
PL	Postlarven
PO4-P	Ortho-Phosphat
RAS	Recirculating Aquaculture Systems
sp.	species
spp.	species pluralis
ssp.	subspecies
TCBS Agar	Thiosulfate-Citrate-Bile-Salts-Sucrose-Agar
TK	Testkreislauf
TOC	total organic carbon (gesamt-organischer Kohlenstoff)
TR	Trockenrückstand absetzbarer Stoffe im Feststoff-Filter
Wo	Woche
WW	Wasserwechsel

2 Zusammenfassung

Die Partner Polyplan und Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover haben in der ersten Phase des DBU-Vorhabens „KoMARE“ zur Kontrolle der Mikrobiologie in Aquakultur-Rezirkulationsanlagen die Bedeutung von Hygienisierungsmaßnahmen in der Garnelen-Aquakultur untersucht.

Das übergeordnete Ziel dieses Kooperationsprojektes bestand darin, auf Basis der hier gewonnenen Erkenntnisse das von bakteriellen Pathogenen ausgehende und speziell in Kreislaufanlagen bislang wenig beachtete Infektionsrisiko für Garnelen zu minimieren und so die Zukunft dieser Technologie zu sichern.

Folgende Lösungsansätze zur Erreichung dieses Ziels wurden umgesetzt:

- Entwicklung einer Datenbank für Indoor-Aquakulturanlagen (DeltA) als Voraussetzung für ein besseres Datenmanagement und Betreuungskonzept
- Erfassen der Interaktion des Organismus Garnele und der bakteriellen Ökologie in Laborversuchen zum Einsatz von Peressigsäure, UV-Strahlung sowie Ozon.
- Untersuchungen der Bestandsentwicklung und der Körpermerkmale von Garnelen in einer Versuchsanlage über 12 Monate
- Erarbeitung eines Betriebshandbuchs zur Garnelen-Aquakultur und Hinweisen zur Prävention opportunistischer Pathogene

Der Einfluss von Wasserhygienisierungsmaßnahmen, wie der Einsatz von Ozon oder UV-Strahlung auf die komplexen Umweltbedingungen in einer Aquakulturanlage, wirkte sich nicht durchgehend positiv auf die chemischen und mikrobiologischen Wasserparametern aus. Die Parameter schwankten während des jeweiligen Versuchszeitraums teils deutlich. Dies deutet auf eine destabilisierende Wirkung der Maßnahmen insbesondere in Hinblick auf die mikrobiologische Wasserqualität hin. Auch die Zugabe von Peressigsäure zum Haltungswasser führte in Konzentrationen ab 1 mg/l zu nachteiligen Effekten. Es kam nicht zwangsläufig zu einer Reduktion der Gesamtkeimzahl und potentiell pathogene Bakterien, wie Vibrionen, scheinen nicht sicher reduziert werden zu können.

Die Ergebnisse aus fünf ausgewerteten Versuchen untermauern dagegen die Bedeutung eines stabilen Umweltmilieus als Instrument der angestrebten Kontrolle der Mikrobiologie in Aquakulturanlagen.

Das ursprünglich geplante Monitoring in kommerziellen Garnelenfarmen konnte nicht im geplanten Umfang realisiert werden, soll jedoch in der anschließenden Phase 2 des Vorhabens ein Schwerpunkt werden.

Die Frage nach der positiven Beeinflussung der Mikrobiologie in Garnelen-Kreislaufanlagen ist weiterhin relevant und soll durch ein nun realisierbares Anlagen-Monitoring mit einem Vergleich von zwei unterschiedlichen Aquakultur-Technologien, sowie anhand von Versuchen mit Immunstimulanzen untersucht werden. Neu soll die Durchführung von Challenge- bzw. Stress-Versuchen durch die TiHo aufgenommen werden. Das hier vorgestellte Vorhaben wurde in Kooperation mit der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt und mit Mitteln der Deutschen Bundesstiftung Umwelt unter dem Aktenzeichen 30575-23 gefördert.

3 Einleitung

Die mikrobielle Lebensgemeinschaft in Kreislaufanlagen ist trotz ihrer elementaren Bedeutung für die Gesundheit aquatischer Organismen und die Qualität und Sicherheit daraus gewonnener Lebensmittel bisher wenig erforscht. Insbesondere die Zusammensetzung der bakteriellen Mikroflora bestimmt maßgeblich die Wirksamkeit der biologischen Wasseraufbereitung und somit die Wasserqualität und das Wohlergehen der Aquakulturorganismen. Zudem stellt sie potenziell ein Reservoir für bakterielle Pathogene für gehaltenen Organismen und eine Quelle für bakterielle Verunreinigungen daraus gewonnener Lebensmittel dar. In diesem Kooperationsvorhaben steht daher unter anderem die bakterielle Mikrobiologie im Fokus.

Zielsetzung (aus Antrag, s. Kap. 5.1 und Kap. 6.1)

Die Partner Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo) und das Ingenieurbüro Polyplan GmbH wollen die Wechselwirkung zwischen der bakteriellen Mikroflora und den vielfältig beeinflussbaren Bedingungen in einer Kreislaufanlage untersuchen, um Steuerungsmöglichkeiten für die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft zu definieren.

Ziel der Arbeiten ist das Erkennen von Wechselwirkungen von Betriebsparametern, physikalisch-chemischer Wasserqualität und der bakteriellen Gemeinschaft mit der Gesundheit und dem Wachstum der Garnelen. Um diese Wechselwirkungen erfassen zu können, sollen die erhobenen Daten in einer Datenbank für Salzwasser-Aquakultur zusammengefasst werden. Zum Erreichen dieses Ziels ist eine enge Zusammenarbeit der Kooperationspartner in und mit den Betreibern von Garnelenfarmen geplant. Die Datenerhebung und Versuchsdurchführung betrifft zunächst allein den „Garnelenhof Schäfer“ in Affinghausen, kann aber voraussichtlich spätestens ab Frühjahr 2013 auf zwei weitere, aktuell noch in der Planung befindliche Garnelenfarmen in Deutschland übertragen werden, die es erlauben werden, die Entwicklung der Mikroflora vom Betriebsbeginn an zu beobachten.

Das übergeordnete Ziel dieses Kooperationsprojektes besteht darin, auf Basis der hier gewonnenen Erkenntnisse das von bakteriellen Pathogenen ausgehende und speziell in Kreislaufanlagen bislang wenig beachtete Infektionsrisiko für Garnelen zu minimieren und so die Zukunft dieser Technologie zu sichern.

Dieses Ziel soll in Kooperation mit der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durch folgende Lösungsansätze und daraus abgeleitete Aufgaben erreicht werden:

- Aufbau einer Datenbank für Salzwasseraquakulturen (DASA) zur Risikoanalyse in Kreislaufanlagen
- Erfassen der Interaktion des Organismus Garnele und der bakteriellen Ökologie in Kreislaufanlagen sowie deren Wechselwirkungen
- Betriebshandbuch mit geprüften Maßnahmen zur Prävention opportunistischer Pathogene
- Optimierung einer Kreislaufanlage im wirtschaftlichen Maßstab (Pilotanlage Affinghausen)

Die Ziele und Aufgaben der Kooperationspartner im Einzelnen:

Polyplan: Aufbau einer Datenbank für Salzwasseraquakultur (DASA) zur Risikoanalyse in Kreislaufanlagen. Aufgaben: Datenerhebung im laufenden Betrieb einer Kreislaufanlage sowie aus Versuchsreihen zur Hygienisierung und Immunstimulierung. Risikoanalyse mit den kritischen Betriebs- und Wasserqualitätsparametern definieren, die das Krankheitsbild begünstigen. Umsetzung der Erkenntnisse zur Optimierung der Pilotanlage in Affinghausen und ggfls. Erprobung der Praxis-tauglichkeit erfolgversprechender Maßnahmen in einer Kreislaufanlage im wirtschaftlichen Maßstab.

Polyplan und TiHo: Betriebshandbuch mit erfolgreich getesteten Maßnahmen zur Prävention opportunistischer Pathogene. Aufgaben: Wirksamkeit verschiedener Hygienisierungsmaßnahmen in Bezug auf mikrobiologische Parameter und den Gesundheitszustand der Garnelen überprüfen und daraus einen Praxisleitfaden für Betreiber zur wirksamen Prävention entwickeln.

TiHo: den Organismus Garnele und die bakterielle Ökologie in Kreislaufanlagen sowie deren Wechselwirkungen verstehen (Dissertation). Dies kann durch Analyse des Biofilms (kulturelle und molekularbiologische Ansätze, z.B. Amplifizierung des 16S rRNA-Gens von Bakterien, Auftrennen der Amplifikate in Denaturierender Gradienten- Gelelektrophorese, Darstellen relevanter Mikroorganismen mittels Fluoreszenz-In Situ Hybridisierung, quantitative Analyse des Vorkommens relevanter Mikroorganismen mittels real-time Polymerase-Kettenreaktion, PCR) erfolgen.

Diese Ziele korrespondieren mit folgenden für den Förderschwerpunkt Aquakultur der DBU genannten Ziele, die insgesamt der Entwicklung anwendungsrelevanter Techniken dienen sollen:

- Steigerung der Energie- und Ressourceneffizienz von offenen und geschlossenen Systemen (z.B. Polykulturen, effiziente Setzlingsproduktion). Begründung: Prävention dient der Risikominimierung für krankheitsbedingte Ineffizienz
- Entwicklung und Optimierung von Kreislaufsystemen und deren Komponenten. Begründung: die Datenbank, das Betriebshandbuch zur Prävention und die Nachweisverfahren dienen der Optimierung von Kreislaufanlagen
- Konzepte zur Verminderung von Arzneimittel- bzw. Schadstoffeinträgen in die Umwelt. Begründung: Präventionsmaßnahmen sichern den Verzicht auf Antibiotika

Aufgabenstellung (aus Kurzfassung Antrag und angelehnt an Arbeitsplanung, Kap. 6.1 Antrag)

Die angestrebten Ziele sollen mit Hilfe von zwei unterschiedlichen Untersuchungsansätzen erreicht werden:

- a) aus einem Monitoring im Produktionsbetrieb einer Garnelen-Aquakulturanlage als Basis für eine Analyse von Wechselwirkungen zwischen der Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft und Parametern des Anlagenbetriebes sowie der resultierenden Wasserqualität,
- b) aus Versuchen der Anwendung marktüblicher Hygienisierungsmaßnahmen und aus dem Einsatz neuartiger Verfahren, u.a. eines rückstandsfreien Desinfektionsmittels, in einer Aquakultur-Versuchsanlage, die Polyplan am Firmensitz in Bremen aufbaut.

Die Ergebnisse der umfassenden Untersuchung zur bakteriellen Gemeinschaft und ihren Wechselwirkungen in Kreislaufanlagen sollen in eine aufzubauende web-basierte Datenbank für

Salzwasser-Rezirkulationsanlagen und in ein Betreuungskonzept von Kreislaufanlagen einfließen, das dazu beiträgt, dass diese Form der Aquakultur nachhaltig hochwertige und gesunde Produkte erzeugen kann.

Die von Polyplan im DBU-Kooperationsvorhaben DANA (Datenbank Naturfreibäder) entwickelte Datenbank soll als Basis für eine an den Bereich Salzwasseraquakultur angepasste Software dienen, die im Unterauftrag von der Firma Ravenworks, Bremen, entwickelt werden soll. Eine Beschreibung der Datenbank und ihrer Anwendung wurde in der Zeitschrift „Schwimmteich & Naturpool“ veröffentlicht (Schwarzer 2011). Das Anforderungsprofil und die Datenbankstruktur für das neue Anwendungsgebiet Aquakultur werden von Polyplan erstellt.

Sobald die Datenbank einsatzbereit ist, sollen alle bisher erhobenen Daten aus der Anlage in Affinghausen eingespeist werden. Über einen Beobachtungszeitraum von ca. 32 Monaten sollen zusätzlich Daten aus dem laufenden Betrieb der von Polyplan betreuten Kreislaufanlagen erhoben und eingespeist werden. Dies gilt zunächst für die Kreislaufanlage in Affinghausen und ab Betriebsstart für eine oder zwei weitere zur Zeit noch in Planung befindliche Anlage(n), eine in Nordrhein-Westfalen und eine weitere in Bayern sowie optional auch für die von Polyplan betreute Anlage der „Förde Garnele OHG“ in Strande, die mit Ostseewasser betrieben wird und ebenfalls Garnelen produziert.

Parallel werden Daten aus dem Monitoring zu den geplanten Versuchsreihen erhoben. Diese Daten stehen in Relation zu verschiedenen Maßnahmen der Hygienisierung bzw. Prävention und ergänzen so die Datengrundlage, auf der die Risikoanalyse und der Leitfaden zur effizienten Prävention entwickelt werden soll.

In allen Versuchsreihen und im Betriebsmonitoring wird die Mikrobiologie von Wasser und Garnelen vom Kooperationspartner TiHo untersucht. Zusätzlich zur Ermittlung der bakteriellen Gemeinschaft von Garnelen und in Kreislaufanlagen wird auch die Gesamtkeimzahl im Wasser bestimmt.

Ergänzt werden diese Daten durch die erzielten Produktionsmengen und biologische Parameter, die Wachstum und Mortalität ebenso wie Gesundheitszustand und Futtermittelverwertung der Garnelen kennzeichnen. Schließlich soll auch die Produktqualität in Abhängigkeit aller erfassten Einflussgrößen untersucht und bewertet werden.

Parallel zur Datenerhebung soll mit Funktionen der Datenbank schrittweise eine Risikoanalyse erarbeitet werden, in der untersucht werden soll, welche Beziehungen die verfügbaren Daten untereinander haben und ob sich daraus kritische Betriebszustände ermitteln und definieren lassen, die es frühzeitig zu erkennen und zu vermeiden gilt. Die Erkenntnisse aus dieser Analyse dienen als Basis für die Erstellung eines Leitfadens zur wirksamen Prävention und Stabilisierung einer vorteilhaften Mikroflora.

4 Schwerpunkt Datenbank-Entwicklung und Monitoring von Garnelenfarmen (AP 1)

4.1 Verlauf und unerwartete Probleme in der Durchführung der Arbeiten

Die Entwicklung der Datenbank für Aquakulturanlagen wurde im Rahmen unseres Unterauftrags durch die Firma Ravenworks (Bremen) in enger Zusammenarbeit mit Polyplan realisiert.

Der Name der Datenbank wurde aus schutzrechtlichen Gründen geändert von DASA in DELTA, als Abkürzung für „**D**atenbank **e**uropäischer, **l**and- und **t**echnikgestützter **A**quakulturanlagen“ bzw. englisch: „**D**atabase for **E**uropean, **l**and- and **t**echnology-based **a**quaculture systems“.

Das im Antrag geplante Anlagen-Monitoring in bestehenden Garnelenproduktionsanlagen konnte aus unterschiedlichen Gründen nicht umgesetzt werden:

1. Garnelenproduktionsanlagen anderer Planungsfirmen waren nicht zugänglich und eine von uns zwischenzeitlich betreute Anlage der Firma Förde Garnele in Strande bei Kiel setzte die Fortführung der Betreuung ab unter dem Hinweis, Fördergelder für eine (von uns bereits begonnene und im Konzept weiter ausgearbeitete) Optimierung der Anlage seien daran gebunden eine in Schleswig-Holstein ansässige Firma zu beauftragen.
2. Die von uns geplante und betreute Anlage „Garnelenhof Schäfer“ ging unerwartet gleich zu Beginn des Vorhabens, im Herbst 2013, in die Insolvenz, bedingt durch einen irreparablen Schaden in der Biogasanlage, die zur Bereitstellung der Abwärme benötigt wurde - wie im Antrag vom 18.03.2014 für eine Projektlaufzeitverlängerung dargelegt.
3. Neue Projekte, die bei Antragstellung in der Planungsphase waren, konnten nicht im Zeitrahmen des Vorhabens realisiert bzw. rechtzeitig in Betrieb genommen werden, um ein Monitoring im geplanten Umfang umzusetzen. Die Gründe dafür sind:
 - a. unklare Situation bei der Förderung bzw. Nichtteilnahme von Bundesländern an Förderprogrammen: In Bayern (Altenstadt) nahmen die Investoren bis auf Weiteres Abstand von der von Polyplan bis Ende 2013 bereits weitgehend geplanten 24t-Anlage, als sie erfuhren, dass es in 2014 keine Möglichkeit geben würde Fördermittel aus dem ab 1-2014 in Kraft getretenen EMFF zu erhalten, da das erforderliche operationelle Programm seitens der deutschen Bundesländer nicht verabschiedet war. Eine Verabschiedung dieses Programms erfolgte zu Beginn dieses Jahres (2016). Ein anderes Projekt, in Hessen, hat sich ebenfalls aufgrund der schwierigen Fördersituation bis heute verzögert. Für beide Vorhaben hat sich in diesem Jahr eine neue Perspektive ergeben, da sich beide Investoren entschieden haben ihre Vorhaben ohne Fördermittel und weiterhin mit Polyplan an diese Herausforderung anzupassen.
 - b. unklare rechtliche Situation beim Tötungsverfahren von Garnelen: Bis Ende 2012 war es den Behörden möglich, Betrieben per Ausnahmeregelung das Töten tropischer Riesengarnelen für die Gewinnung von Lebensmitteln durch Hypothermie zu gestatten. Diese Möglichkeit war mit der Revision der Verordnung zum Schutz der Tiere im

Zusammenhang mit der Schlachtung (Tierschutz-Schlachtverordnung TierSchlV) in 12/2012 nicht mehr gegeben. Die Verordnung erlaubt keine Alternative zum rechtlich vorgegebenen Töten der Garnelen durch Hyperthermie (Abkochen). Diese Rahmenbedingungen führten zu einer starken Verunsicherung unter unseren Kunden und Interessenten. Die rechtliche Unsicherheit bei der Schlachtung von Garnelen besteht nur in Deutschland. Die europäische Regelung (EC No 1099/2009), die die Grundlage für die Novellierung der deutschen TierSchlV bildete, reguliert die Schlachtung von Garnelen nicht.

Eine weitere wesentlich kleinere Kreislaufanlage in der Schweiz wurde aufgrund verschiedener Verzögerungen (u.a. Baugenehmigung) erst im November 2015 in Betrieb genommen. Hier konnten im Dezember 2015 erste Proben genommen werden, die mikrobiologisch durch die TiHo untersucht wurden. Zu diesem Zeitpunkt war der Biofilter jedoch noch nicht angefahren. Es wurden zwar im Frühjahr 2016 aus den USA importierte Garnelen besetzt, aufgrund unvorhergesehener Schwierigkeiten und einer reklamierungswürdigen PL-Qualität ging diese erste Charge jedoch verloren. Ein Neubesatz mit Postlarven erfolgte kürzlich im April 2016.

Der Entwicklung der geplanten Datenbank haben diese Verzögerungen im Anlagenbau keinen Abbruch getan: Polyplan hat die Garnelenfarm in der Schweiz erfolgreich an die Datenbank Delta (Datenbank europäischer, land- und technikbasierter Aquakulturanlagen) angeschlossen. Zudem wurden Daten aus einem Jahr der im Aquakulturlabor von Polyplan kultivierten Garnelen im Rahmen von KoMARE erhoben.

Entgegen der genannten negativen Erfahrungen im Fortschritt von Planungsaufträgen sehen wir dennoch einen wachsenden Markt und ein Entwicklungspotenzial des Indoor-Garnelenfarming. Die rechtliche Unsicherheit bei der Schlachtung von Garnelen besteht nur in Deutschland und ist mittlerweile durch Verfahren zur Elektro-Betäubung gelöst. Innerhalb der vergangenen Jahre wurden in mehreren europäischen Ländern Indoor-Aquakulturanlagen zur Garnelenproduktion in Betrieb genommen:

- in Deutschland (Grevesmühlen: <http://www.fluxx2.net/de/fluxx2-food/fluxx2-aquafarming> und Langenpreising: <http://www.crustanova.com/>)
- in der Schweiz: 2 Anlagen, Firma „Aemme Shrimp“ von Familie Kunz, die in US-Lizenz die sog. Biofloc-Technologie einsetzt: <http://www.aemmeshrimp.ch/von-der-larve-zur-delikatesse/>; und eine von uns geplante Garnelenfarm am Bodensee „Mayer Shrimp“: <http://mayer-shrimps.ch/> (Inbetriebnahme Ende 2015)
- in Belgien, eine 12-t Anlage: <http://www.crevetec.be/>
- in Italien: <http://www.aquaculture-ft.com/projects>
- in Griechenland: <http://www.shrimp.eu/en>
- in Litauen: <http://www.mereshrimpfarms.com/>
- in Schweden: <http://www.vegafish.com/>
- in Spanien: <http://www.gambanatural.es/>

Als Kompensation für die fehlenden Daten aus Aquakulturbetrieben haben sowohl Polyplan als auch die TiHo den Umfang der Datenerhebung in den eigenen Versuchsanlagen erhöht. Im Falle der TiHo wurde entgegen der ursprünglichen Planung eine eigene Versuchsanlage aus Eigenmitteln aufgebaut und es wurden eigene Versuche durchgeführt, um den vorgesehenen Versuchsplan umzusetzen.

Folgende zusätzlichen Aufgaben wurden von den Partnern zur **Kompensation** des nicht durchführbaren Monitorings in Garnelenfarmen bearbeitet:

- a. in der TiHo wurde eine Versuchsanlage mit Vorhälterung und 4 Kreisläufen mit jeweils 3 Haltungsbecken aufgebaut. Zudem wurde ein Messverfahren zur Messung von Wasserstoffperoxid etabliert. Dadurch konnte der Unterauftrag storniert werden und die entsprechenden Untersuchungen (Empfindlichkeit von pathogenen Bakterien und von Garnelen gegenüber Peressigsäure) wurden von der TiHo durchgeführt. Des Weiteren wurden Versuche zur Hygienisierung mit Peressigsäure in der Laboranlage durchgeführt (**s. Kapitel 6**).
- b. Polyplan hat eine engmaschige Datenerhebung in der Versuchsanlage (Vorhälterung mit konstantem Betrieb) durchgeführt, die für den Garnelenbesatz Nr. 3 ein ganzes Jahr umfasst (**s. Kapitel 7.7**). Zudem war der Arbeitsaufwand für die erfolgreiche Aufzucht der Besatztiere bis zur Einsatzreife in den Versuchsreihen deutlich höher als erwartet (s. Kapitel 5.1).

4.2 Aufbau und Einsatz der Datenbank Delta

Die Datenbank ist seit Ende 2015 in einer von Polyplan geplanten Garnelenfarm in Zuben in der Schweiz im Einsatz, wo sie zeitgleich mit der Anlage in Betrieb ging. Die Kreislaufanlage besteht aus zwei getrennten Kreisläufen: einem Postlarven-Kreislauf bestehend aus zwei Becken für die Besatztiere und einem Biofilter im Schwebbettverfahren sowie dem Haupt-Kreislauf aus vier größeren Hälterungsbecken, dessen Wasseraufbereitung neben einem Schwebbett-Biofilter einen Trommelfilter sowie Eiweißabschäumer beinhaltet. Die Anlage ist mit einem Gesamtvolumen von ca. 150 m³ und einer angestrebten Jahrestonnage von weniger als 1,5t klein dimensioniert, da sie in erster Linie als Pilotanlage konzipiert ist, die der Akquise von Kunden dient, die der Betreiber, Simon Mayer, als Investoren für Anlagen in der Schweiz gewinnen möchte. Als sein Kooperationspartner sehen wir hierin einen Zugang zum potenziellen Wachstumsmarkt in der Schweiz.

Datenbankstruktur:

Das Konzept der Datenbank basiert auf der in einem früheren DBU-Vorhaben entwickelten Datenbank für Naturfreibäder „DANA“ (Az: 25480-23). Für den Einsatz in Aquakulturanlagen waren weitgehende Anpassungen erforderlich, die im Rahmen eines Unterauftrags von der Softwarefirma Ravenworks GbR in Abstimmung mit Polyplan erarbeitet und programmiert wurden. Von Beginn an

wurde die Datenbank in den Sprachen Englisch und Deutsch entwickelt. Weitere Sprachen sind optional hinzufüßbar.

Die Datenbank-Grundstruktur wird im Java basierten Pflgetool erstellt, zu dem nur der Administrator Zugang hat (Mitarbeiter von Polyplan) und in dem alle neuen Anlagen, sowie die Protokollvorlagen und Downloads bearbeitet werden. Weiterhin können im Pflgetool neue Betreiber und deren Zugänge in einem vollständigen Benutzermangementsystem eingefügt werden. Für jede Aquakulturanlage werden Kulturprotokolle je nach Eingangsdatum einer PL-Batchlieferung automatisiert angelegt. Alle zu erhebenden Messwerte können frei konfiguriert werden und einer unbegrenzten Zahl an gewünschten Messpunkten in der Anlage zugeordnet werden. Zur Dokumentation von Vorfällen in der Anlage sind Betriebsbücher in Listenform konfigurierbar.

Die eigentliche Datenbank bzw. das Monitoring-tool der Datenbank ist für die Dateneingabe und -darstellung online abrufbar. Es handelt sich dabei um eine in Javascript, HTML und CSS programmierte Webanwendung, welche eine Anbindung an eine SQL-Datenbank hat. Über die Webanwendung sind alle zuvor im Pflgetool konfigurierten Eingaben möglich.

Wie im Menü abgebildet, gliedert sich die Datenbank in die vier Hauptmodule Stammdaten, Messdaten, Datenerfassung und Datenanzeige.

Im Bereich Stammdaten sind grundsätzliche Daten zur entsprechenden Aquakulturanlage wie Eigentümer, Größe und Ort hinterlegt. In Zukunft sind die Stammdaten erweiterbar auf Informationen zu einzelnen Anlagenkompartimenten, die den Bereichen Hälterung, Wasseraufbereitung und Technik zuzuordnen sind. Auf diese Weise erhalten Betreiber sowie Betreuer einen Überblick der wichtigsten Fakten zur Anlage.

Im Bereich Messdaten wird ein Überblick über alle Batches, deren Kulturverlauf sowie aller konfigurierten Messpunkte gegeben. Dieser Bereich dient der Übersicht aller erfassten Parameter, deren Einheiten und eingestellten Grenzwerte.

Im Bereich Datenerfassung erfolgt die Dateneingabe. Hier kann der Betreiber alle wichtigen Informationen zu den Batches (d.h. einem Bestand an Garnelen, die einem Besatztermin zugeordnet sind), Messungen und täglichen Protokollen eingeben. Alle Daten können im csv-Format in Delta importiert und in diesem Format auch exportiert werden, um z.B. für weitere Auswertungen (Pivot-Berichte) bearbeitet werden zu können. Neben den händisch eingegebenen Daten können auch automatisch erfasste Daten der Anlagensteuerung in die Datenbank importiert werden. Wichtige technische Parameter zu Betriebsstunden, Messsondenwerten (Salinität, pH und Temperaturen) können auch diese Weise in einer hohen Datendichte automatisiert importiert und zeitnah analysiert werden. Diese Anbindung hat sich zur Fehlerbehebung in der Anlagensteuerung und in der Beobachtung des Aufzuchtprozesses bereits bewährt.

Die Anzeige der eingegeben Daten erfolgt im Bereich Datenanzeige. Die Anzeige der Daten ist als Tabelle und als Grafik möglich. Die Ausgabe der automatisch erfassten Werte aus der

Anlagensteuerung geschieht ebenfalls über die Datenanzeigen im Unterpunkt SPS-Daten und kann ebenso als Grafik oder als Tabelle dargestellt und exportiert werden.

Die Dateneingabe erfolgt ausschließlich über das Modul Datenerfassung, alle anderen sind Ausgabemodule (**Abbildung 4-1**).



Abbildung 4-1: Screenshot eines Ausschnitts der Oberfläche des online abrufbaren DeltaA Monitoring tools, am Beispiel der Anlage „Mayer Shrimps“, CH-Zuben

Weitere Beispiele der Leistungen und Funktionen der Datenbank sind im Anhang abgebildet (s. **Abbildung 12-1** bis **Abbildung 12-6**)

Zur Auswertung der Daten können einzelne Zeiträume und einzelne Parameter ausgewählt werden. Zudem lässt sich die Art der grafischen Darstellung beeinflussen. Diagrammtyp und Anzeigefarbe lassen sich für jeden Parameter individuell anpassen und dauerhaft speichern. Für die Achse des Parameters lässt sich ein Minimum- und ein Maximumwert festlegen. Gleiche Einheiten und gleiche Messgrößen lassen sich kombinieren und so auf eine gemeinsame Achse bringen. Die gesamte Darstellung lässt sich zur schnellen Weiterverarbeitung abspeichern. Im Grafen lassen sich Teilbereiche für Detailanalysen zoomen und beim Berühren der Datenreihe mit dem Mauszeiger wird der berührte Wert in einem Tooltip angezeigt.

Die gesamte grafische Auswertung der eingegebenen Daten hat sich bereits während der Entwicklung als äußerst hilfreich im gesamten Anlagenmanagement erwiesen.

Kombinierte Datenanzeige:

Die erhobenen Werte von unterschiedlichen Messpunkten lassen sich in einer Anlage und sogar zwischen verschiedenen Anlagen miteinander vergleichen. Der Nutzer kann sich eine grafische Anzeige über alle je in der Datenbank gesicherten Daten konfigurieren und so detaillierte Analysen über Zeiträume oder Batches (Garnelenbestand) anfertigen.

Der Hauptvorteil der Datenbank liegt in dem ortsunabhängigen und einfachen Zugriff auf die Daten. Dies erleichtert enorm die Betreuung von Kreislaufanlagen, die Polyplan als notwendig erachtet und daher bei allen Planungsleistungen mit anbietet, um im beiderseitigen Interesse ein Vorhaben zum Erfolg zu führen.

5 Haltung der Garnelen: Aquakulturlabor Polyplan und Versuchsanlage TiHo

5.1 Allgemeines zum Verlauf der Arbeiten

Als Voraussetzung für die Durchführung von Versuchen hat Polyplan ein Aquakulturlabor in einem neuen Gebäude-Anbau am Firmensitz in Bremen eingerichtet.

Das Labor beinhaltet folgende Bereiche:

- Die sog. „Vorhälterung“
- Sechs separate Testkreislaufanlagen
- Einen Laborarbeitsplatz mit Messinstrumenten
 - ein Photometer, zur Messung von Ammonium-Stickstoff und Nitrit-Stickstoff (Firma VWR, Modell Colorimeter Spectroquant Multy).
 - ein Handmessgerät für physikalische Wasserparameter (Hersteller Hach-Lage, Modell HQ40D Digitales Multimeter-Kit, pH Gel & LF Elektrode)

Die „Vorhälterung“ dient zur Akklimatisierung und Hälterung der Garnelen bis zum Versuchsbeginn. Diese Kreislaufanlage besteht aus zwei Hälterungsbecken aus HDPE von je ca. 0,7m³ Volumen auf einer Grundfläche von 1,2 x 1,2m und einer Wasseraufbereitung bestehend aus einem Biofilter im Schwebbettverfahren (ca. 0,7 m³) sowie einem Abschäumer (Firma Eheim, motorbetriebener Außenabschäumer EVO 3000). Das Gesamtvolumen der Vorhälterung beträgt ca. 2,1 m³. Der Biofilter wird mit einem Trägermaterial betrieben, das eine spezifische Oberfläche aufweist von ca. 850 m²/m³. Feststoffe werden zusätzlich in einer Filtermatte aufgefangen, die manuell zu reinigen ist.

Die 6 Testkreislaufanlagen (TK) bestehen aus jeweils 3 PE-Hälterungsbecken zu je ca. 70L und einem Schwebbett-Biofilter, von dem ein Absetzbereich abgetrennt ist.

Das Gesamtvolumen pro Testkreislauf beträgt ca. 200L. Die Fütterung der Garnelen wurde 4x täglich durch programmierbare Fütterungsautomaten an den einzelnen Haltungsbecken gewährleistet.

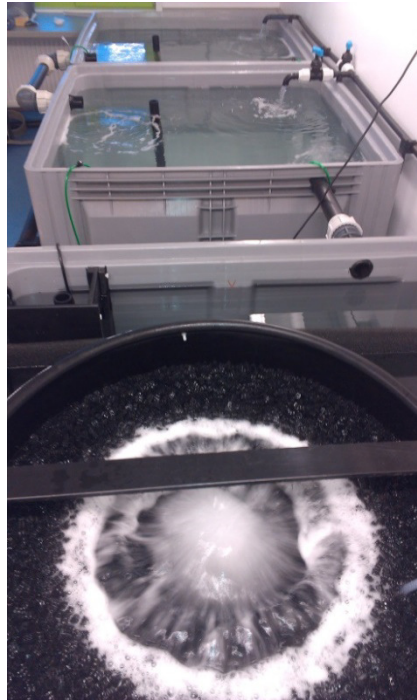


Abbildung 5-1: Inbetriebnahme der Kreislaufanlage für die Vorhälterung (Polyplan)

Nachdem sich bei Polyplan der Bau der Gebäude-Erweiterung und damit des Aquakulturlabors (s. Antrag auf Projektlaufzeitverlängerung vom 18.3.2014) weiter verzögert hatte, konnte das bereits veterinärrechtlich registrierte Aquakulturlabor im Juli 2014 baulich fertig gestellt werden. Im August 2014 ging zunächst die Hauptkreislaufanlage zur Vorhälterung der Garnelen in Betrieb. Die sechs separaten Testkreisläufe zur Durchführung der Versuche wurden Anfang November 2014 in Betrieb genommen.

Darüber hinaus wurde eine weitere Versuchsanlage bestehend aus 4 separaten Kreisläufen mit jeweils drei Haltungsbecken und einem Reservoirbecken an der Tierärztlichen Hochschule Hannover aus Eigenmitteln des Institutes aufgebaut. In den Reservoirbecken befanden sich neben einer Pumpe, die für einen stetigen Wasserkreislauf im gesamten System sorgte, Filtermaterial und Abschäumer, sowie Einrichtungen zur Belüftung des Wassers und falls erforderlich, zur Zudosierung von Peressigsäure. Die Fütterung der Garnelen erfolgte durch an den einzelnen Haltungsbecken installierten Fütterungsautomaten. Somit standen zwei Anlagen zur Verfügung, in denen Untersuchungen parallel durchgeführt werden konnten. Dieses sollte ermöglichen, das umfangreiche Versuchsprogramm nach Ausfall der kommerziellen Anlagen während der Projektlaufzeit realisieren zu können und aufzuwendende Reisekosten für Probenahmen zu reduzieren. Der Aufbau sowie die Einlaufphase des Biofilters erforderten für beide Labor-Anlagen einen erheblichen Zeitaufwand.

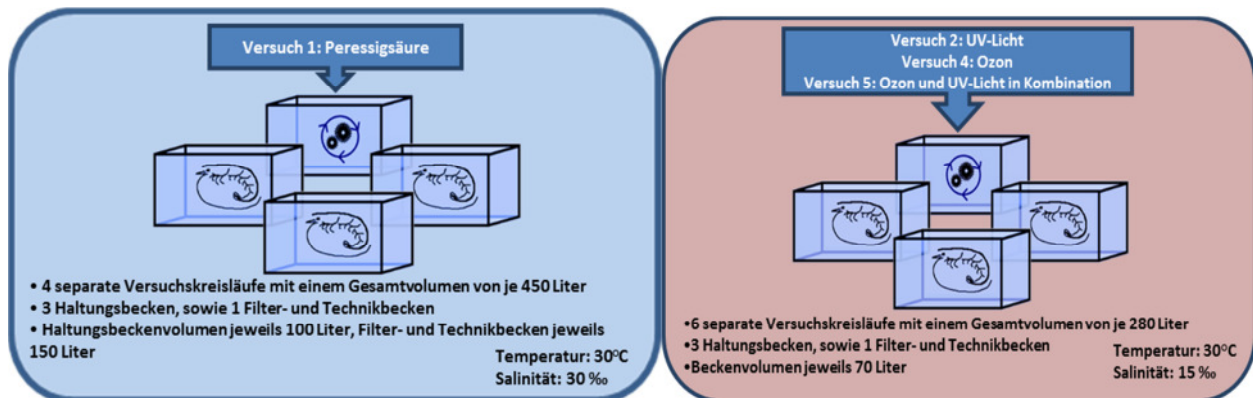


Abbildung 5-2: schematische Darstellung der Kreisläufe und der in ihnen durchgeführten Versuchs- und Bedingungen

Um den Zeitverlust etwas aufzuholen, wurden die ersten ca. 8000 Garnelen bereits am 10.09.2014 als Postlarven in die Laborkreislaufanlage in Bremen eingesetzt. Dieser Erstbesatz von Postlarven ging jedoch innerhalb der ersten acht Wochen nahezu vollständig verloren.

Auch die etwa 2500 Garnelen, die ab Woche zwei in der TiHo-Aquakulturanlage gehalten wurden, zeigten hohe Verluste. Auffallend war, dass die Tiere deutlich auseinander wuchsen (Größen von 1,2 cm bis 7 cm Länge und 0,2 g bis 1,2 g Körpergewicht).

Am 23.10.14 kam eine Bestandschätzung auf <200 Tiere. Es wurden an keinem Tag tote Tiere in den Vorhälterungsbecken gesehen. Dies kann dadurch erklärt werden, dass die kleinsten Garnelen transparent und dadurch kaum zu sehen sind und sich nach dem Tod sehr schnell zersetzen. Zudem werden nach Beobachtungen im „Garnelenhof Schäfer“ kleinere tote Tiere umgehend restlos von anderen aufgeessen.

Ursachenforschung: Als Qualitätskontrolle war die Körperlängenvarianz als Kriterium für die Qualität der Besatztiere an den Postlarven erhoben worden. Der ermittelte relativ hohe Grad der Abweichung deutete auf eine mindere, jedoch nicht reklamierfähige Qualität hin. Es fanden durch die TiHo eine und ca. drei Wochen nach Erstbesatz veterinärmedizinische Untersuchungen der Garnelen statt, die keine auffälligen Befunde ergaben. Die Garnelen wirkten vital, der Darm war gefüllt und es gab keine Hinweise auf Erkrankungen. Mikrobiologische Untersuchungen der Garnelen ergaben ebenfalls keine Auffälligkeiten. Es wurden lediglich ubiquitäre Bakterien, die an sich nicht pathogen sind, nachgewiesen. Die Information über die massiven Garnelenverluste und der tierärztliche Befund wurden an die bremische Veterinärbehörde zur Kenntnisnahme (Dr. Janssen) weitergeleitet. Das Monitoring der Wasserqualität ergab keine Hinweise auf Stressfaktoren, die die Verluste erklären konnten. Die Nitrifizierungsleistung des Biofilters hatte sich stabilisiert und es kam nicht zu Ammonium- oder Nitrit-Stickstoffkonzentrationen oberhalb der Toleranzgrenzen der Spezies.

Als Ursache für die Verluste kam möglicherweise die deutliche Absenkung der Salinität in Frage, die innerhalb von wenigen Tagen nach Besatz der Postlarven von ca. 32 g/l auf 10 g/l reduziert worden war. Eine Salinität von ca. 10g/l wurde angestrebt, da diese laut Literatur von den Garnelen als euryhaline Organismen, die auch Brackwasser-Lebensräume besiedeln, gut toleriert wird und somit als ausreichend für die Garnelen-Aquakultur eingeschätzt wird (u.a. Boyd 2000; Davis et al. 2002). Polyplan hatte diesen Wert aus ökonomischen und Umweltentlastungsgründen als Planungsgrundlage für Garnelen-Aquakulturanlagen definiert. Im vorliegenden Fall führte vermutlich die nicht optimale Qualität der Postlarven dazu, dass die Absenkung der Salinität nicht vertragen wurde.

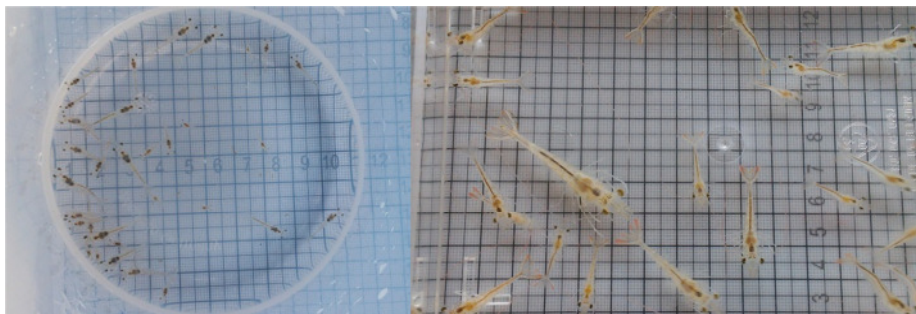


Abbildung 5-3: Foto von vitalen Garnelen aus dem Erstbesatz vom 10.9.2014 (li: am 1.10.2014), re: am 23.10.2014)

Da die Anzahl der Garnelen nicht mehr ausreichte, um eine Versuchsreihe in der Anlage in Bremen zu starten (Bedarf ca. 900 Garnelen), wurden die restlichen Tiere der TiHo für die Vorversuche zur Toxizität von Peressigsäure übergeben. Am 29.10.2014 wurden alle verbliebenen Garnelen (137 Stück) durch Mitarbeiter der TiHo nach Hannover transportiert.

Am 10.12.2014 wurde ein zweiter Besatz von ca. 8000 PL importiert, der sich jedoch ebenfalls schnell zahlenmäßig verringerte, trotz der mit wenigen Ausnahmen stabil im Toleranzbereich der Garnelen liegenden Wasserparameter. Lediglich an 2 Messtagen, direkt vor dem Anschluss des Biofilters, der erst mit Beginn der Salinitätsabsenkung angeschlossen wurde, kam es zu einer geringfügig erhöhten Konzentration an Nitrit-N, s. **Abbildung 5-4**). Die Nitrifizierungsleistung des Biofilters hatte sich unter einer mittleren Salinität von 15 g/l stabilisiert und die Nitrit-Stickstoffkonzentration blieb innerhalb der Toleranzgrenzen der Spezies; allerdings zeigten auftretende Schwankungen von Tag 22-26 die Anfälligkeit der relativ kleinen Kreisläufe für betriebliche Schwankungen. Eine mikrobiologische Untersuchung an den Garnelen durch die TiHo ergab wiederum keinen auffälligen Befund. Das Veterinäramt Bremen wurde erneut über die Tierverluste und die Untersuchungsergebnisse der TiHo informiert.

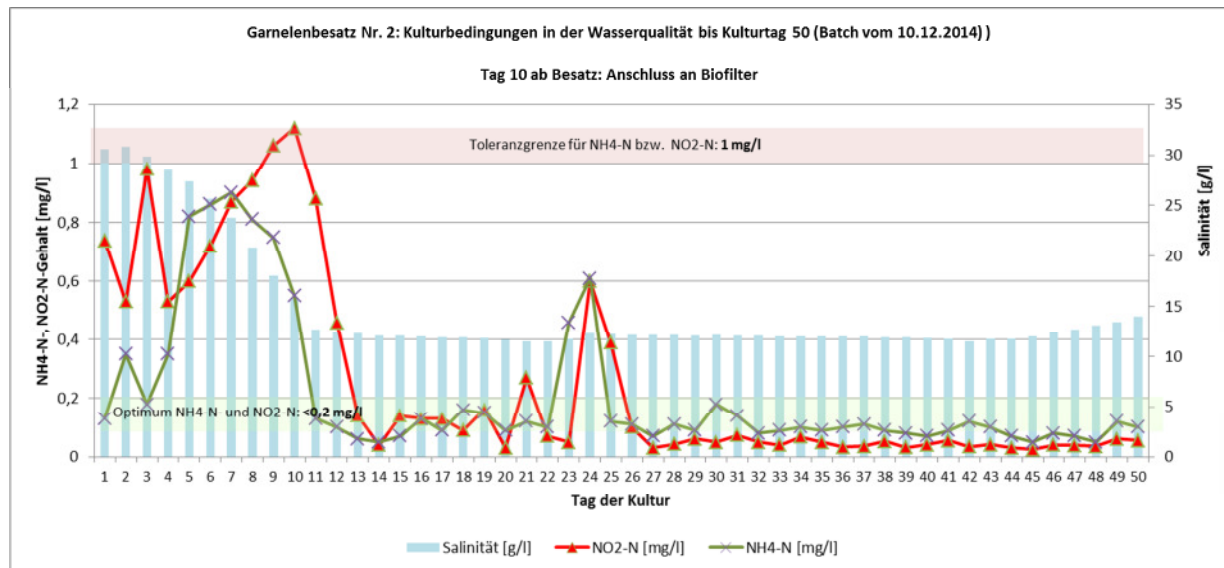


Abbildung 5-4: Kulturbedingungen in der Wasserqualität für Garnelenbesatz Nr. 2 (Batch vom 10.12.2014), Konzentrationen von Ammonium- und Nitrit-Stickstoff sowie Salinität in den ersten 7 Wochen ab Besatz

Auch in diesem Fall kann die Absenkung der Salinität als möglicher kritischer Faktor für die hohen Verluste an Garnelen betrachtet werden, obwohl diese Absenkung aufgrund der vorherigen Erfahrungen über einen längeren Zeitraum äußerst schonend durchgeführt worden war. Innerhalb der ersten 10 Tage ab Besatz wurde die Salinität allmählich von ca. 31 g/l auf 16 g/l verringert und innerhalb der nächsten 4 Tage weiter auf 12 g/l.

Als Konsequenz wurde von einer Haltung der Garnelen bei einer Salinität von 10‰ Abstand genommen und eine Mindest-Salinität von 15‰ definiert. Zudem sollte die Absenkung der Salinität in Zukunft nicht vor Woche 3 der Kultur beginnen.

Im März 2015 wurde der 3. Besatz geliefert. Bei der Eingewöhnung dieser Postlarven wurde mit einer Absenkung der Salinität erst nach einem Zeitraum von drei Wochen begonnen. Mit den Garnelen aus dieser 3. Batch wurden alle weiteren Versuche durchgeführt.

6 Versuchsreihe zur Wirkung von Peressigsäure als Hygienisierungsmittel auf Wasserqualität und Garnelenkultur (Arbeitspaket 2, TiHo)

Durch die Verzögerungen bei der Beschaffung und Stabilisierung von Garnelen-Postlarven musste die zeitliche Abfolge der Versuchsreihen in Abweichung der ursprünglichen Planung den Erfordernissen angepasst werden. Zunächst wurden wie geplant Vorversuche zur Toleranz von Garnelen gegenüber Peressigsäure (PES) und zur Wirksamkeit von PES gegenüber für aquatische Organismen pathogenen Bakterien durchgeführt. Da in der Praxis Peressigsäure dem Haltungswasser vielfach kontinuierlich und nicht intervallartig in größeren Gaben zugesetzt wird,

wurde diese Dosierungsart in den eigenen Versuchen ebenfalls gewählt und auf Studien zur Stabilität von Peressigsäure im Prozesswasser verzichtet. Stattdessen wurden die in den Haltungsbecken erzielten Konzentrationen von Peressigsäure regelmäßig gemessen.

6.1 Vorversuche zu Versuch 1 (Wasserhygienisierung mittels Peressigsäure)

6.1.1 Verträglichkeit von *Litopenaeus vannamei* gegenüber Peressigsäure

Die Verträglichkeit von Peressigsäure wurde an den eingesetzten Garnelen (*Litopenaeus vannamei*) verschiedenen Alters getestet. Insgesamt wurden zu diesem Zweck 280 Garnelen verwendet. Dabei bestand die Versuchsgruppe 1 (Vg.1) aus 59-67 Tage alten Tieren (n=125) und die Versuchsgruppe 2 (Vg.2) aus 21-31 Tage alten Tieren (n=155).

In einem ersten Versuchsdurchlauf wurden je 10 Garnelen der Vg.1 und je 12 Garnelen der Vg.2 in jeweils 12 Plastikaquarien mit einem Wasservolumen von je zwei Litern gesetzt. Das Wasser wurde bei der Vg.1 auf eine Salinität von 10‰ und eine Temperatur von 30°C, wie es ursprünglich auch für den Hauptversuch 3 vorgesehen war, eingestellt. In der Vg.2 wurde das Wasser auf eine Salinität von ca. 30‰ und ebenfalls auf eine Temperatur von 30°C eingestellt. Jedes der Becken wurde belüftet und mit einer identischen Menge Plastikfasern als Haltematerial für die Garnelen ausgestattet.

Die 12 Plastikaquarien wurden jeweils in Triplikaten mit der gleichen Konzentration PES behandelt, so dass sich vier Versuchsgruppen ergaben. Da keine Hinweise zur Empfindlichkeit der Garnelen gegenüber PES vorlagen, wurden ausgehend von der im Aquakulturbereich zur Umgebungsdesinfektion üblichen Konzentration von 1mg/l PES drei Konzentrationen ausgewählt. Es wurden Konzentrationen von 1mg/l, 0,1mg/l, 0,01mg/l und als Kontrolle Kochsalzlösung (NaCl) eingesetzt. Nach Zugabe von PES zum Haltungswasser wurden die Garnelen über einen Zeitraum von zehn Stunden in den Plastikaquarien gehalten und beobachtet. Über die ersten zwei Stunden erfolgte eine ununterbrochene Tierbeobachtung. Im Anschluss erfolgte mindestens alle 30 Minuten eine Kontrolle. Neben einer Temperaturüberwachung wurde vor allem auf Verhaltensänderungen geachtet. In keiner der beiden Versuchsgruppen kam es im ersten Versuchsdurchlauf zu Verlusten oder Verhaltensauffälligkeiten. Es konnten keine Unterschiede im Vergleich der vier Behandlungen festgestellt werden.

In einem zweiten Versuchsdurchlauf wurden bei identischem Versuchsaufbau PES-Konzentrationen von 1mg/l, 10 mg/l, und 100 mg/l sowie NaCl als Kontrolle eingesetzt.

Auch beim zweiten Versuchsdurchlauf traten keinerlei Verluste oder Verhaltensauffälligkeiten auf.

Die Konzentrationen aus dem zweiten Versuchsdurchlauf wurden in einem dritten Durchgang wiederholt eingesetzt, wobei bei identischem Versuchsaufbau die Beobachtungszeit auf 12 Stunden erhöht wurde. Auch hier kam es zu keinen Verlusten oder sonstigen Auffälligkeiten.

6.1.2 Antibakterielle Wirksamkeit von Peressigsäure

Um die Wirksamkeit von Peressigsäure gegenüber Bakterien zu überprüfen wurden drei Bakterienisolate, die mittels 16s-rRNA-Sequenzanalyse eindeutig als *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* und *Vibrio* sp. identifiziert sind, auf ihre Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Peressigsäurekonzentrationen getestet. Dazu wurden die Isolate jeweils auf je drei Columbia-Schafblut-Agar-Platten (Oxoid) für 24 Stunden bei 25°C in einem Kühlbrutschrank inkubiert. Die so vermehrten Bakterien wurden homogen in einem Nährmedium (Veal-Infusion-Bouillon) gelöst. Um einer Beeinflussung durch stark unterschiedliche Bakteriengehalte entgegenzuwirken wurde anschließend die optische Dichte (OD-Wert) der Bakteriensuspensionen photometrisch bestimmt und auf einen einheitlichen Wert von 0,2 eingestellt. Die so gewonnenen Bakteriensuspensionen wurden aliquotiert und mit verschiedenen Konzentrationen Peressigsäure (PES) versetzt. Als Negativkontrolle wurde jeweils die gleiche Menge des Veal-Infusion-Bouillons, versetzt mit PES, verwendet. Zur Verdünnung der PES wurden 0,9%ige Kochsalzlösung (NaCl) sowie Phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) getestet. Da kein Unterschied in Bezug auf das Bakterienwachstum bzw. auf die Wirksamkeit der PES zwischen diesen beiden Lösungen festgestellt wurde, kam im weiteren Versuchsverlauf Kochsalzlösung zum Einsatz.

Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden bei 25°C in einem Kühlbrutschrank wurde mit den bebrüteten Nährmedien eine zehnstufige Verdünnungsreihe mit Verdünnungsschritten von jeweils 1:10 angesetzt. Jede dieser Verdünnungsstufen wurde in Triplikaten auf Columbia-Schafblut-Agar-Platten nach dem Spatelplattenverfahren ausgestrichen und nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden bei 25°C ausgezählt.

Zunächst wurden PES Konzentrationen von 1 mg/l PES, 0,1 mg/l PES und 0,01 mg/l PES gegen eine Kontrollgruppe ohne PES getestet. Hierbei zeigten sich bei keinem der drei Bakterienisolate signifikanten Unterschiede im Wachstum. Insgesamt fiel auf, dass *Aeromonas hydrophila* unter den Versuchsbedingungen das stärkste, *Vibrio* sp. das schwächste Wachstum zeigte.

In einem zweiten Versuchsansatz wurde *Vibrio* sp. mit PES Konzentrationen von 4 mg/l, 40 mg/l, 400 mg/l, 4000 mg/l und 40000 mg/l inkubiert. Dabei zeigte sich, dass bei allen PES-Konzentrationen ab 400 mg/l kein Bakterienwachstum mehr festzustellen waren. Wie zu erwarten, wies die Kontrollgruppe den höchsten Bakteriengehalt auf. Bei einer Behandlung mit 4 mg/l PES kam es zu einer leichten Reduktion und bei 40 mg/l konnte der deutlichste Effekt beobachtet werden.

Nach den so gewonnenen Erkenntnissen wurden Konzentrationen von 10 mg/l PES, 1 mg/l PES und 0,1 mg/l PES eingesetzt.

Während die Bakteriengehalte in der Kontrollgruppe im Bereich von 10^8 koloniebildenden Einheiten pro ml (KbE/ml) lagen, lag der Gehalt bei Einsatz von 10 mg/l PES im Bereich von 10^4 und bei Einsatz von 1 mg/l PES im Bereich von 10^7 . Keine feststellbare Reduktion des Bakterienwachstums konnte beim Einsatz von 0,1 mg/l PES nachgewiesen werden. Diese Konzentrationen wurden abschließend für Versuch 1 festgelegt.

6.2 Versuch 1: Einsatz unterschiedlicher Konzentrationen von Peressigsäure in Garnelenhaltungssystemen

6.2.1 Versuchsaufbau und Datenerhebung

Die Versuchsanlage, in der der Effekt von Peressigsäure (PES) in verschiedenen Konzentrationen getestet wurde, bestand aus vier separaten Kreisläufen mit jeweils drei 100 Litern fassenden Haltungsbecken und einem Reservoirbecken mit einem Volumen von 150 Litern. In den Reservoirbecken befanden sich neben einer Pumpe, die für einen stetigen Wasserkreislauf im gesamten System sorgte, Filtermaterial und Abschäumer, sowie Einrichtungen zur Belüftung des Wassers und, falls erforderlich, zur Zudosierung von Peressigsäure. Die Fütterung der Garnelen erfolgte durch an den einzelnen Haltungsbecken installierten Fütterungsautomaten.

In einem der Kreisläufe der Anlage wurden Garnelen über die gesamte Versuchsdauer als Kontrollgruppe gehalten, während in den drei weiteren Kreisläufen PES-Konzentrationen von 0,1 mg/l PES, 1 mg/l PES und 10 mg/l PES eingesetzt wurden. Die Zudosierung der entsprechenden Menge Peressigsäure erfolgte über eine Feinpumpe kontinuierlich über 24 Stunden, um starke Konzentrationsspitzen zu vermeiden. Während des gesamten Versuchsverlaufs wurde durch regelmäßige Kontrollmessungen mit einem photometrischen Testsystem sichergestellt, dass die Konzentration an Peressigsäure stabil blieb.

Der Besatz der Anlage erfolgte mit 230 Postlarven (PL 12, ca. 12 Tage alt) pro Haltungsbecken. Die Garnelen wurden über einen Zeitraum von 4 Wochen akklimatisiert und waren bei Versuchsstart ca. 39 Tage alt.

Im Verlauf des Versuchs wurden zu fünf Zeitpunkten Proben aus der Anlage entnommen. Die ersten Proben wurden vor Zugabe von PES entnommen, weitere Proben wurden zwei, neun, 29 und 56 Tage nach Beginn der PES-Zudosierung entnommen. An jedem der fünf Zeitpunkte wurde die Gesamtkeimzahl im Wasser ermittelt, der Biofilm in den Haltungsbecken beprobt und Garnelen mittels einer Tupferprobe von außen sowie bei Versuchsstart und bei der letzten Probennahme zusätzlich in der Bauchhöhle beprobt. Zusätzlich wurden die chemischen Wasserparameter bestimmt.

Zur Beurteilung der Wirkung von Peressigsäure (PES) auf die Zusammensetzung der Bakterien im System wurden Proben des Haltungswassers, des Biofilms der Beckenoberfläche sowie der Garnelen (Karapax und Bauchhöhle) mikrobiologisch untersucht.

In den Wasserproben wurde die Gesamtkeimzahl mittels mikrobiologisch-kultureller Verfahren bestimmt. Dafür wurden Proben aus den Becken entnommen und in Verdünnungsreihen mit sterilisiertem Wasser gleicher Salinität von unverdünnt bis zu einer Verdünnungsstufe von 10^{-5} vorbereitet und jeweils auf zwei Columbia-Schafblut-Agarplatten mittels Spatelplattenverfahren ausgestrichen. Zusätzlich wurden je zwei Columbia-Schafblut-Agarplatten, die mit dem gleichen Salzgehalt wie das Probenwasser versetzt waren, verwendet. Um der Problematik extrem schwärmend wachsender Bakterienkolonien entgegenzuwirken, wurden diese Agarplatten ein erstes Mal nach ca. 12 Stunden beurteilt. Die endgültige Beurteilung und Auszählung der

koloniebildenden Einheiten (KBE) erfolgte nach 48 Stunden. Bei Bedarf wurde eine weitere Beurteilung zwischen diesen Zeitpunkten vorgenommen. Im Anschluss wurden die gewachsenen Bakterienkolonien morphologisch beschrieben, ihr Gehalt semiquantitativ bestimmt und je eine Subkultur angelegt. Diese Subkulturen wurden erneut für 48 Stunden auf Columbia-Schafblut-Agarplatten bei 25°C inkubiert und anschließend in Veal-Infusion-Boullion in 2 ml fassenden Cryoröhrchen bei -80°C konserviert.

Vom Biofilm auf den unter Wasser liegenden Wänden der Haltungsbecken wurden Tupferproben genommen. Diese wurden sowohl auf Columbia-Schafblut-Agar sowie auf mit Salz versetztem Columbia-Schafblut-Agar jeweils im Duplikat ausgestrichen und für 48 Stunden inkubiert. Es fand eine Kontrolle nach 12 Stunden und eine abschließende Beurteilung nach 48 Stunden statt. Die Bakterienkolonien wurden morphologisch beschrieben und ihr Gehalt semiquantitativ bestimmt. Anschließend wurden analog zu der Bearbeitung der Wasserproben von den morphologisch unterschiedlichen Bakterienkolonien Subkulturen genommen und diese bei -80°C konserviert.

Die Beprobung der Garnelen wurde jeweils an drei Tieren durchgeführt. Zu jedem Probennahmezeitpunkt mittels eines Tupfers der Übergang von Karapax zu den Abdominalsegmenten von außen beprobt. Auf diese Weise wurde die adhärente bakterielle Mikroflora auf den Garnelen erfasst. Bei der ersten und bei der letzten Probennahme wurden die beprobten Garnelen euthanasiert, um zusätzlich die Bauchhöhle zu beproben. Dazu wurden die Garnelen einzeln in ein 1 Liter fassendes Plastikaquarium mit Eiswasser gesetzt. Das Verhältnis von Eis zu Wasser wurde so eingestellt, dass ein deutlicher Überschuss an Eis vorlag (ca. 3:1), die Garnele aber gleichzeitig komplett von freiem Wasser umgeben war. In dem 0°C ± 1°C kalten Wasser zeigten die Garnelen in der Regel direkt nach dem Einsetzen für ca. 1-2 Sekunden starke Muskelkontraktionen und erschlafften im Anschluss vollständig. Um eine sichere Betäubung und den Tod der Garnelen durch Hypothermie zu erreichen, wurden diese für mindestens zwei Minuten im Eiswasser belassen. Die Garnelen wurden gemessen und gewogen und die Antennenlänge wurde bestimmt. Anschließend wurde die Bauchhöhle mit einem sterilen Skalpell eröffnet und ebenfalls mit einem Tupfer beprobt. Die Tupfer wurden, wie bereits bei der Beprobung des Biofilms beschrieben, auf Agarplatten ausgestrichen, die inkubiert wurden. Die gewachsenen Bakterien wurden morphologisch beschrieben, ihr Gehalt semiquantitativ bestimmt und je eine Subkultur angelegt. Die Subkulturen wurden anschließend in Veal-Infusion-Boullion in 2 ml fassenden Cryoröhrchen bei -80°C konserviert. Die bakterielle Gemeinschaft im Wasser und in den Biofilmen auf Becken und Garnelen wurde entgegen der ursprünglichen Planung zunächst mittels bakteriologisch-kultureller Methoden bestimmt, da auf diese Weise das Auftreten relevanter Organismen, insbesondere pathogener Bakterien, leichter bestimmbar war. Proben für eine molekularbiologische Analyse der Gemeinschaft im Wasser wurden genommen und sollen nachfolgend analysiert werden.

Es wurden für Proben des Wassers, des Biofilms und der Garnelen Bakterien-Diversitäten anhand der Anzahl isolierter und morphologisch unterschiedlicher Spezies bestimmt. Anhand dieser Daten wurde für die Proben der Garnelen der Shannon-Wiener Index errechnet. Dieser Index ist ein Maß für die Diversität einer Gemeinschaft und kann Werte zwischen 0 und 4,6 erreichen. Dabei ist die Diversität größer je höher der Wert ist.

Sowohl die Wasserproben, als auch die Proben des Biofilms und der Garnelen wurden auf das Vorkommen von *Vibrio* sp. untersucht. Dafür wurden alle Proben zusätzlich zu den oben beschriebenen Verfahren auf einem Spezialnährboden für Vibrionen, dem Thiosulfate-Citrate-Bile-Salts-Sucrose-Agar (TCBS Agar) bei 25°C für 24 Stunden inkubiert. Die gewachsenen Vibrionen wurden subkultiviert und bis zur weiteren Bearbeitung bei -80°C gelagert. Eine Speziesbestimmung fand mittels biochemischer Verfahren (API 20 E Test, Biomerieux) sowie mittels molekularbiologischer Verfahren statt. Da sich eine Sequenzierung des 16S rRNA Gens als nicht geeignet erwies, wurde das House keeping gene *pyrH* sequenziert. Dazu wurde von jeder Subkultur DNA mittels eines kommerziell erhältlichen Testkits (QIAamp DNA mini kit, Qiagen) extrahiert und mittels PCR und spezifischen Primern für *pyrH* untersucht. Die erhaltenen PCR Produkte wurden zum Sequenzieren an ein kommerzielles Labor (LGC Genomics) geschickt. Mit Hilfe der Datenbank Blast (www.blast.com) wurden die erhaltenen Sequenzen abgeglichen und beschriebenen Spezies zugeordnet.

Vibrio spp. sind zwar ubiquitär im Seewasser vorkommende Bakterien, jedoch sind auch pathogene Species bekannt und für verschiedene Spezies Pathogenitätsfaktoren beschrieben. Bei Infektionen von Garnelen mit diesen Spezies können daher klinische Krankheitssymptome auftreten. Um das Vorkommen von möglicherweise pathogenen *Vibrio* sp. Isolaten zu überprüfen, wurden alle Isolate auf sechs in der Literatur beschriebene Pathogenitätsfaktoren (*VPI*, *zot*, *flaB*, *flaC*, *toxR*, *toxS*) untersucht. Die Untersuchungen fanden mittels PCRs und spezifischen Primern für den jeweiligen Pathogenitätsfaktor statt. Die Ergebnisse wurden im Rahmen einer Masterarbeit beschrieben (Lisa Neffe: „Investigations on *Vibrio* spp. in *Litopenaeus vannamei* recirculation aquaculture systems“, 2015).

6.2.2 Ergebnisse Versuch 1

6.2.2.1 Daten zur Wasserqualität

Die Salinität wurde gemittelt über die gesamte Anlage und Versuchsdauer auf 31 ‰ ± 1,4 und der pH-Wert auf 8,01 ± 0,25 gehalten. Die Wassertemperatur wurde auf 30°C ± 2°C eingestellt. Zwei Tage nach Beginn der Zugabe von PES musste die Futtermenge reduziert werden, da sich die Futteraufnahme nicht wie angenommen entwickelte und es zu Futterrückständen in den Becken kam. Dabei wurden alle Versuchskreisläufe bis auf den unterschiedlichen Einsatz von PES zu jeder Zeit identisch behandelt. Der Versuch mit Einsatz von 10 mg PES /ml wurden zwei Tage nach

Beginn der PES Zugabe abgebrochen, weil die in der Tierversuchsanzeige angegebenen Abbruchkriterien erreicht wurden.

Die Gehalte an Ammonium, Nitrit (s. **Abbildung 6-1**) und Nitrat lagen in der Kontrollgruppe und der mit 0,1 mg PES / ml behandelten Gruppe über den gesamten Versuchszeitraum stabil in einem für Garnelen nicht bedenklichen Bereich. In den Gruppen, die mit PES Konzentrationen von 1 mg/l und 10 mg/l behandelt wurden, kam es zu Schwankungen der Gehalte an Ammonium und Nitrit, wobei die Werte zu einzelnen Zeitpunkten deutlich über die für Garnelen optimalen Bereiche anstiegen. Ein Abfall der Werte kann nach der oben beschriebenen Futterreduzierung beobachtet werden. Insgesamt lassen die Gehalte vermuten, dass durch den Einsatz von PES in Konzentrationen von 1 mg/ml und 10 mg/ml die biologische Filterung beeinträchtigt wurde.

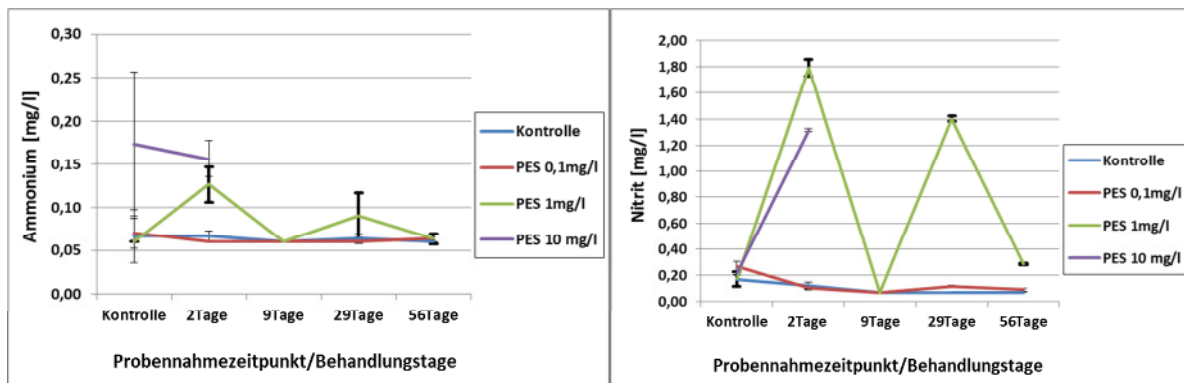


Abbildung 6-1: Gesamt-Ammonium und Nitrit im Prozesswasser von Garnelen-Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressigsäure (PES).

6.2.2.2 Daten Garnelen

Bereits bei Versuchsbeginn wiesen die Garnelen Größen- und Gewichtsunterschiede auf. Diese Unterschiede lagen auch zu Versuchsende weiterhin vor (**Abbildung 6-2**). Die Zunahme und das Größenwachstum der Garnelen unterschied sich nicht signifikant zwischen den einzelnen Behandlungsgruppen. Die Länge der Antennen überragte in aller Regel die Körperlänge der Garnelen und verlief homogen zur Körperlängenzunahme (**Abbildung 6-3**). Die Antennenlänge wird als Parameter für Tierwohl angesehen. Da diese sich im Verlauf des Versuchs nicht verkürzten, kann davon ausgegangen werden, dass zu keinem Versuchszeitpunkt und bei keiner der eingesetzten Behandlungen Schäden durch das Haltungssystem verursacht wurden.

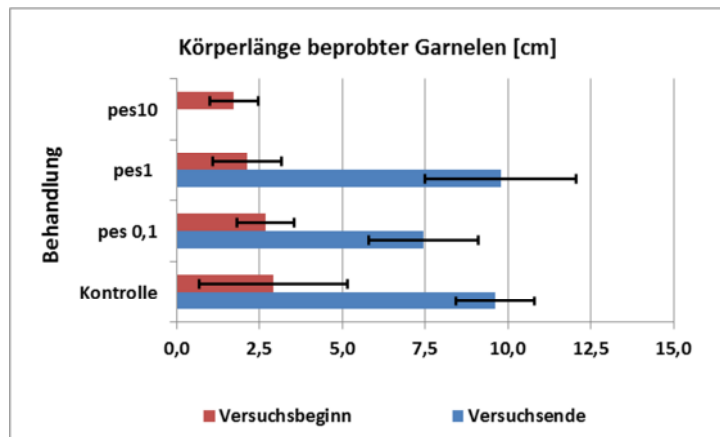


Abbildung 6-2: Körperlängen von Garnelen aus Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressigsäure (PES).

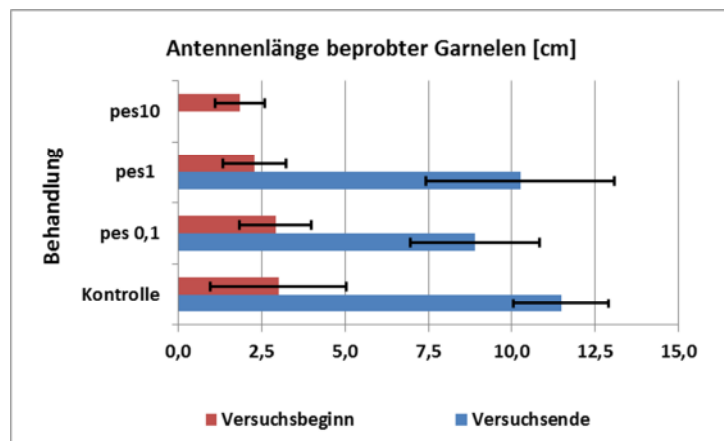


Abbildung 6-3: Antennenlänge von Garnelen aus Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressigsäure

6.2.2.3 Bakterielle Gemeinschaft

In den **Wasserproben** wurden die Gesamtkeimzahl (GKZ, in KBE/ml) sowie die Gehalte an *Vibrio* sp. bestimmt. Die Gesamtkeimzahl war zu Versuchsbeginn in allen Systemen vergleichbar. Zwei Tage nach Beginn der Zugabe von PES stieg die Gesamtkeimzahl in der Kontrollgruppe sowie in der mit 1 mg/l PES behandelten Gruppe an. Nach der Futterreduktion konnte am Tag 9 nach Beginn der PES Zugabe eine Reduktion der Gesamtkeimzahl in allen Gruppen festgestellt werden, die am deutlichsten in der Kontrollgruppe zu beobachten war. Im weiteren Verlauf kam es in allen Gruppen zu einer Erhöhung der Gesamtkeimzahl, die in der mit 1 mg / l behandelten Gruppe am stärksten ausfiel. Am stabilsten stellte sich die Gesamtkeimzahl über den gesamten Versuchszeitraum für die mit 0,1 mg PES/ l behandelte Gruppe dar, während die stärksten Schwankungen in der mit 1 mg PES / ml behandelten Gruppe auftraten.

Die Zugabe von PES führte demnach nicht in jedem Fall – wie häufig von Anlagenbetreibern angenommen – zu einer Absenkung der Gesamtkeimzahl im System. Dennoch schien es möglich zu sein, dass eine Zugabe einer geringen Menge PES (0,1ml/l) zu einer stabilen Gesamtkeimzahl beitragen kann. Im Gegensatz dazu waren in der Kontrollgruppe deutlichere Schwankungen der GKZ zu beobachten. Dennoch schien der Effekt der Futterreduzierung einen stärkeren Einfluss auf die GKZ zu haben, als die Zugabe von PES.

Der Gehalt an *Vibrio* sp. in den Wasserproben wurde ebenfalls quantitativ bestimmt. Während bei der Untersuchung vor Zugabe von PES keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen vorlagen, sank initial der Anteil von *Vibrio* spp. an der GKZ mit ansteigender PES-Konzentration (2 Tage nach Beginn der Zudosierung) (**Abbildung 6-4**). Im weiteren Verlauf kam es zu einem Anstieg des Gehalts an *Vibrio* spp. in allen Versuchsgruppen.

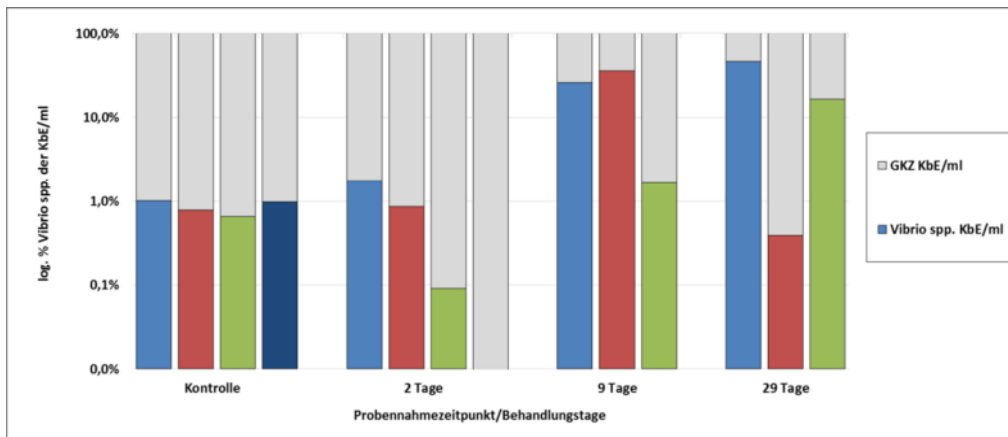


Abbildung 6-4: Anteil der *Vibrio* Spezies in Prozent an der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser von Garnelen-Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressisäure.

Die Diversität der Bakterien in den Wasserproben lag vor Zugabe von PES bei einer Anzahl von 5-10 unterschiedlichen Isolaten pro Probe (**Abbildung 6-5**). Zwei Tage nach Versuchsstart erhöhte sich die Diversität in allen Gruppen, mit Ausnahme der mit 10 mg PES /l behandelten Gruppe. Im weiteren Versuchsverlauf änderte sich die Diversität in allen Gruppen, wobei kein eindeutiges Muster zu erkennen war.

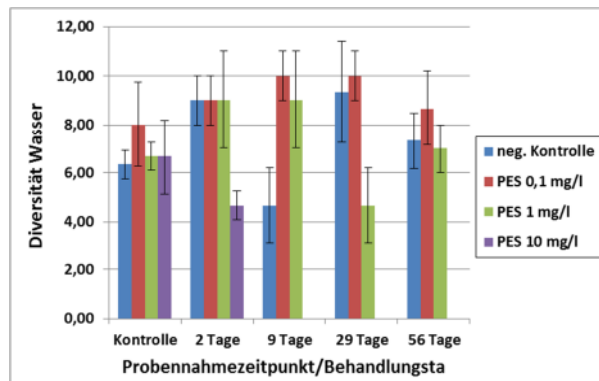


Abbildung 6-5: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Prozesswassers von Kreislaufanlagen mit Garnelenbesatz unter Behandlung mit Peressigsäure (PES). Angegeben ist die Anzahl isolierter Taxa.

In Proben des **Biofilms** und der **Garnelen** wurden zum Zeitpunkt der Kontrolluntersuchung vergleichbare Diversitäten in den Versuchsgruppen festgestellt. Im Folgenden unterlagen sowohl die mit 1mg PES /l behandelten, als auch die unbehandelten Kontrollbecken größere Schwankungen in der Diversität. Im Vergleich hierzu erschien die Diversität in den Proben aus mit PES 0,1 mg/l behandelten Becken konstanter (**Abbildung 6-6**).

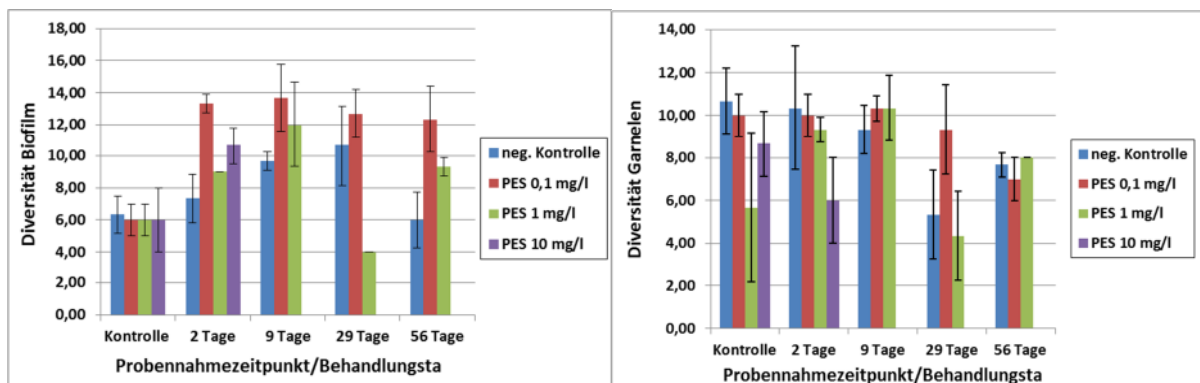


Abbildung 6-6: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm in den Haltungsbecken und auf dem Karapax von Garnelen aus Kreislaufanlagen unter Behandlung des Prozesswassers mit Peressigsäure (PES). Angegeben ist die Anzahl isolierter Taxa.

Der Shannon-Wiener Index, der für die Proben der Garnelen ausgerechnet wurde, zeigt, dass durchschnittlich die größte Diversität in der Gruppe, die mit 0,1 mg PES / ml behandelt wurde, vorlag (**Tabelle 6-1**).

Tabelle 6-1: Shannon Wiener Index der Diversität der Bakterien, die vom Carapax der Garnelen isoliert werden konnten

PES Dosierung	Kontrolle vor PES	2 Tage nach PES	9 Tage nach PES	29 Tage nach PES	56 Tage nach PES	Mittelwert
Kontrolle	2,94	2,47	2,61	2,31	2,38	2,54
0,1 ml / l	2,77	2,50	2,80	2,85	2,44	2,67
1 ml / l	2,48	2,48	2,85	1,95	2,54	2,46
10 ml / l	2,54	2,55				2,55

Die Gehalte an **Vibrio sp.** wurden für alle Proben (**Wasser, Biofilm und Garnelen**) ermittelt. Es konnten insgesamt 350 Isolate von *Vibrio sp.* detektiert werden. Mit Ausnahme von 65 Isolaten konnten alle Isolate 6 Spezies zugeordnet werden (**Tabelle 6-2**).

Tabelle 6-2: Auftreten von *Vibrio* Spezies im Wasser, im Biofilm von Becken und auf dem Carapax von Garnelen in Kreislaufanlagen unter Behandlung mit Peressisäure.

Species	Garnelen	Biofilm	Wasser	Gesamtnachweise
<i>V. alginolyticus</i>	11	36	37	84
<i>V. harveyi</i>	14	17	17	48
<i>V. pelagius</i>	9	16	13	38
<i>V. rotiferianus</i>	14	21	16	51
<i>V. tubiashii</i>	14	25	24	63
<i>V. xuii</i>	1			1
<i>Vibrio sp.</i>	9	27	29	65
Gesamtnachweise	72	142	136	350

Bei 82 Isolaten der 350 Isolate wurde mindestens ein Pathogenitätsfaktor nachgewiesen. Innerhalb dieser 82 Isolate wurde am häufigsten *flaC20* (37,8%) nachgewiesen. Ebenfalls traten positive Nachweise für *flaB* (28%), *toxS* (18,3%), *toxR* (15,9%), *vhh* (15,9%) und *VPI* (9,8%) auf. Bei den Isolaten, bei denen Pathogenitätsfaktoren nachgewiesen wurden, handelte es sich bei 20 Isolaten um *V. harveyi*, bei 19 Isolate um *V. tubiashii*, bei 15 Isolaten um *V. alginolyticus*, bei 10 Isolaten um *V. pelagius*, bei 9 Isolaten um *V. rotiferianus* und bei einem Isolat um *V. xuii*. Zusätzlich konnten in acht Isolaten, die nicht bis auf Speziesebene ausdifferenziert werden konnten, Pathogenitätsfaktoren nachgewiesen werden. Die Ergebnisse zeigen, dass bei *Vibrio sp.* aus Kreislaufanlagen Pathogenitätsfaktoren vorliegen können, dass dies aber nur bei einer geringen Anzahl der isolierten Spezies der Fall war.

6.2.3 Beurteilung Einsatz von PES

Die erhobenen Daten zeigen, dass die Zugabe von PES zum Haltungswasser nicht zwangsläufig zu einer Reduktion der Gesamtkeimzahl führt. Auch scheinen potentiell pathogene Bakterien, wie Vibrionen, nicht sicher reduziert werden zu können. Eine Selektion auf bestimmte Bakterien scheint nicht stattzufinden, da die Diversitätsdaten keine deutlichen Änderungen nach Gabe von PES aufweisen. Andere externe Faktoren hingegen, wie z.B. die Fütterung, scheinen einen erheblich größeren Einfluss auf die Mikroflora im System zu haben, als die Gabe von PES. Höhere PES Konzentrationen ab 1 mg/ l wirken sich zusätzlich offensichtlich negativ auf die biologische Wasserklärung aus. Vermutlich reagieren bestimmte Bakterien, die für die Filterleistung verantwortlich sind, besonders empfindlich. Aufgrund der Verschlechterung der chemischen Wasserqualität sollten diese Konzentrationen vermieden werden. Insgesamt scheint sich eine geringe Konzentration von 0,1 mg PES / ml eher positiv auf das System auszuwirken. Ein Großteil der in dieser Studie erhobenen Werte scheint in den mit 0,1 mg PES / ml behandelten Becken stabiler zu sein.

7 Versuchsreihen zur Wirkung von Hygienisierungsmaßnahmen mittels UV-Licht und Ozonisierung des Wassers auf Parameter der Wasserqualität und Garnelenkultur (Arbeitspaket 2, Polyplan unter Beteiligung von TiHo)

7.1 Versuchsaufbau:

Abweichend von der ursprünglichen Planung wurde von den Partnern die Notwendigkeit gesehen, jeweils zwei Kreislaufanlagen einer Versuchsvariante zuzuordnen und nicht nur eine. Nur durch diese Vorgehensweise kann ausgeschlossen werden, dass es zu kreislaufspezifischen Effekten kommt, die die Wirkungen der eingesetzten Hygienisierungsmaßnahmen verschleiern könnten. In den sechs unabhängigen Testkreisläufen konnten daher neben der unbehandelten Kontrolle (2 TK) nur zwei weitere Varianten parallel in einem Versuchsdurchgang eingesetzt werden, in Versuch 2 waren dies UV-Intensitäten, in Versuch 3 bis 5 eine Behandlung mit UV-Strahlung bzw. Ozon (**s. Kap. 7.2 bzw. 7.3**).

Jeder Versuchskreislauf war aufgebaut aus einem als Schwebbettreaktor gestalteten Biofilter sowie aus drei Hälterungsbecken, in die zu Versuchsbeginn eine definierte Anzahl und Biomasse an Garnelen eingesetzt wurde. Der erste Versuch begann drei Monate nach Inbetriebnahme der Testkreisläufe, sodass stabile Versuchsbedingungen mit eingefahrenen Biofiltern und etablierter bakterieller Mikroflora gewährleistet waren. Ein Zeitraum von ca. 4-6 Wochen für das Anfahren des Biofilters hat sich als nicht ausreichend herausgestellt. Die Versuchsdauer unter Garnelenbesatz betrug mindestens 30 Tage, sodass biologische Parameter wie Wachstum und Überlebensrate aussagekräftig erfasst werden konnten.

Die Betreuung der Kreislaufanlagen erwies sich als arbeitsintensiver als eingeschätzt. Auch in Zeiten, in denen kein Versuch durchgeführt wurde, musste - wenn auch in geringerer Frequenz - die Wasserqualität überprüft werden, um die Stickstoffzufuhr sowie Wasserwechsel und Puffermittelgaben anpassen zu können. Zudem sind die Kreislaufanlagen ohne Automatisierung ausgestattet worden, da dies bei 7 Anlagen den Kostenrahmen gesprengt hätte. Wasserwechsel, Puffermittelzugabe und Verdunstungsausgleich mussten daher manuell durchgeführt werden. Als unproblematisch und konstruktiv erwies sich die Kommunikation mit der Veterinärbehörde in Bremen, bei der der Aquakulturbetrieb von Polyplan registriert und die Tierversuche angemeldet werden mussten. Die Kooperation zwischen Polyplan und TiHo gestaltete sich sehr konstruktiv. Im Rahmen des Vorhabens wurden zur Abstimmung der Versuchsdurchführung mehrere Projekttreffen organisiert.

Die wichtigsten Parameter und die Aufgabenteilung bei der Datenerhebung in den Versuchen sind in tabellarischen Schema im Anhang dargestellt (**s. Tabelle 12-3**).

Der Stromverbrauch der Pumpen und ggf. weiterer Stromverbrauchender Geräte (Ozonator) kann nur über den Leistungsverbrauch im Versuchszeitraum ermittelt werden. Die hier zu gewinnenden Erkenntnisse sind jedoch nicht übertragbar auf die Bedingungen in einem Praxisbetrieb einer kommerziellen Garnelenproduktion. Daher wurde dieser Parameter nicht ermittelt. In dem geplanten Folgevorhaben sollen jedoch Daten zum Stromverbrauch und dessen Verhältnis zum Ernte-Ertrag in kommerziellen Garnelenfarmen erhoben werden.

Der Mindestumfang der Datenauswertung beinhaltet folgende zu berechnende Größen (Polyplan):

1. Überlebensrate der Garnelen pro Versuchsbecken [%]
2. Garnelenwachstum [g/Woche] und spezifische Wachstumsrate [%/Tag]
3. Lebendbiomasse Garnelen [g] pro Becken und Kreislauf am Start und Ende des Versuchs, sowie Zunahme Biomasse im Versuchszeitraum
4. Korpulenzfaktor bzw. Bodymass-Index (MBW [g]x100/MBL [cm]³)
5. Verhältnis der Antennenlänge zur Körperlänge (ab einer Mindestlänge der Garnelen)
6. Futterverwertung (Futtereinsatz [g]/ Zunahme Lebendbiomasse [g])
7. Minima/ Maxima kritischer Parameter der Wasserqualität im Versuchszeitraum [NH₄-N, NO₂-N, O₂-Konzentration [mg/l], pH-Wert, Wassertemperatur [°C] und Salinität [g/l]
8. Verbrauch Puffermittel (absolute Menge [g NaHCO₃] und spezifische Menge [g/g eingesetztes Futter] sowie spezifischer Verbrauch pro kg Ernte
9. Wasserverbrauch [l] im Versuchszeitraum, mit spezifischem Verbrauch pro kg Ernte
10. Salzverbrauch [kg] im Versuchszeitraum, mit spezifischem Verbrauch pro kg Ernte

Alle Wasserproben wurden mit einem sauberen Gefäß entnommen. Die Wasser- und Feststoffproben für die Analyse in einem externen Labor wurden bis zum Versand tiefgefroren.

7.2 Versuch 2: Einsatz UV-Licht unter Besatz mit juvenilen Garnelen

7.2.1 Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung

In diesem Versuch wurde der Einsatz von UV-Strahlung unter Nutzung von sechs Testkreislaufanlagen über eine Versuchsdauer von 7 Wochen untersucht. Jeweils zwei der Testkreisläufe erhielten die gleiche Behandlung (genaue Zuordnung der Versuchsvarianten sowie Versuchsbedingungen s. Tabelle 12-2 im Anhang).

Die eingesetzten UV-Einheiten hatten 7 bzw. 9 Watt Leistung und wurden in den Ablauf der Biofilter integriert. Somit wurde der gesamte Volumenstrom durch die UV-Einheiten geleitet bevor das Wasser in die Hälterungsbecken gelangte.

Die Versuchskreisläufe wurden mit Garnelen aus der Batch vom 10.12.2014 besetzt. Da nicht vorab einzuschätzen war, wieviel Garnelen zur Verfügung standen, wurde von den Partnern gemeinsam beschlossen nur zwei der drei Hälterungsbecken pro Testkreislauf zu besetzen. Die angestrebte Besatzdichte von 100 Garnelen pro Quadratmeter Hälterungsfläche konnte annäherungsweise erzielt werden. Da der Bestand optisch im Wachstum heterogen erschien und die gemessenen Körpergewichte der Garnelen zwischen 0,2 bis 1,65 g relativ weit auseinander lagen, wurden die größeren Garnelen soweit wie möglich homogen über die Versuchsbecken verteilt, um eine relativ homogene Lebend-Biomasse pro Becken zu erzielen. Aus diesem Grund war keine identische Besatzzahl pro Becken zu erreichen. Die Versuchsdauer betrug 43 Tage.

Datenerhebung:

Für die Messungen vor Ort wurden Wasserproben aus den jeweils 2 besetzten Hälterungsbecken pro Versuchskreislauf entnommen und es wurden unmittelbar nach Probennahme die physikalischen Sondenparameter per Handsonde und die Nährstoffgehalte photometrisch mit Reagenzientests bestimmt. Sondenparameter (Wassertemperatur, pH-Wert, Salinität, Sauerstoffgehalt und -sättigung) wurden täglich bestimmt. Die NH₄-N- und NO₂-N-Konzentrationen wurden mindestens im wöchentlichen Rhythmus erhoben. Proben zur Analyse durch ein externes Labor (zur Bestimmung von Nitrat und DOC etc.) wurden zum Start des Versuchs, nach einem Monat sowie zum Versuchsende entnommen.

Proben zur Analyse der Gesamtkeimzahl und zur Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser, im Biofilm der Haltungsbecken und auf dem Carapax von Garnelen wurden an 4 Zeitpunkten, wie unter **Kap. 6.2.2** beschrieben, entnommen. Außerdem wurde die bakterielle Besiedlung der Gewebe von Garnelen zu Beginn des Versuches und bei der letzten Probennahme bestimmt.

7.2.2 Ergebnisse Versuch 2

7.2.2.1 Verbrauch an Betriebsmitteln

Der Wasserverbrauch pro Tag summiert sich aus der Einspeisung von Leitungswasser als Verdunstungsausgleich, der unregelmäßig erforderlichen Nachfüllung von Salzwasser sowie dem täglich durchgeführten Wasserwechsel, der in diesem Versuch 2l/Tag betrug, entsprechend einem prozentualen Anteil von 0,8% am Gesamtvolumen des Testkreislaufs.

Der Salzverbrauch wurde täglich berechnet aus der Salinität und aus dem Volumen des eingebrachten Salzwassers, wobei die Salinität mit einem Faktor von 1,2 multipliziert wurde, da nicht alle Inhaltsstoffe des Salzes, wie Calcium und Magnesium, mit der Leitfähigkeitssonde erfasst werden.

Der Verbrauch an Natriumkarbonat als Puffermittel wurde anhand der eingesetzten Puffermittellösung und der eingesetzten Konzentration berechnet.

Der Parameter „Entnahme TR“ bezieht sich auf die Trockenmasse der mittels Feststoff-Filter entnommenen und bei deren Reinigung als Volumen absetzbarer Stoffe dokumentierten Feststoffe. Das Volumen absetzbarer Stoffe wurde nach 1h Standzeit im Imhoff-Trichter abgelesen. Die Masse des Trockenrückstandes wurde basierend auf den im Labor analysierten Trockenrückstand [%] sowie einem Verhältnis von 0,98g Masse zu 1 ml Volumen berechnet.

Tabelle 7-1: Versuch 2: Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) im Versuchszeitraum (4.2.2015 – 19.3.2015) für die Varianten „Kontrolle“ und „UV_7W“ bzw. „UV_9W“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-6)

Werte	K		K		UV_7W		UV_9W		UV_9W Ergebnis
	Ergebnis	Ergebnis	Ergebnis	Ergebnis	Ergebnis	Ergebnis	Ergebnis		
	1	3	2	6	4	5			
Summe von Futter/Tag [g]	146,7	146,65	293,35	143,2	143,55	286,75	144,65	145,6	290,25
Summe von Wasserverbrauch/Tag [l]	130,2	139,15	269,35	123,9	129	252,9	131,5	137,2	268,7
Mittelwert von WW [%/Tag]	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%
Summe von Salzverbrauch/Tag [kg]	1,7	1,7	3,4	1,7	1,6	3,3	1,6	1,6	3,3
Summe von Verbrauch NaHCO ₃ /Tag [kg]	0,05	0,04	0,09	0,05	0,05	0,09	0,04	0,04	0,08
Summe von Entnahme TR gesamt [g]	1,20	1,91	3,11	1,10	1,89	2,99	1,68	1,61	3,29

Die Futtergaben wurden an die leicht abweichenden besetzten Lebendbiomassen in den Becken angepasst. Die Variation im Wasserverbrauch war bedingt durch leichte Unterschiede in den Verdunstungsverlusten. Die im Versuchszeitraum mit dem Feststoff-Filter entnommenen Mengen Trockenrückstand waren insgesamt niedrig (<2g pro Testkreislauf) und zeigten auch innerhalb einer Versuchsvariante relativ hohe Abweichungen.

7.2.2.2 Daten Wasserqualität

Die im Versuchszeitraum täglich bestimmten Werte für die kritischen Parameter Wassertemperatur, Sauerstoffkonzentration, pH-Wert und Salinität blieben bei allen Versuchsvarianten und in allen Testkreisläufen innerhalb der Toleranzbereiche der Spezies *L. vannamei* bzw. sogar im Optimumbereich (s. Tabelle 12-4 im Anhang, Kap. 12.4.1) .

Im Versuchszeitraum von 43 Tagen konnte der pH-Wert in allen sechs Kreisläufen stabil auf $\text{pH } 7,9 \pm 0,08$ und die Salinität auf $15,0 \pm 0,25$ g/l eingestellt werden. Die Wassertemperatur lag konstant zwischen $28,3 \pm 0,32^\circ\text{C}$ (TK 2) bis $28,8 \pm 0,54^\circ\text{C}$ (TK 6). Die Sauerstoffkonzentrationen lagen im Mittel bei $8 \pm 0,23$ mg/l und damit im optimalen Bereich.

Die Konzentrationen von $\text{NH}_4\text{-N}$ und $\text{NO}_2\text{-N}$ lagen weit unter der Toleranzgrenze von 1 mg/l (s. **Abbildung 7-2**).

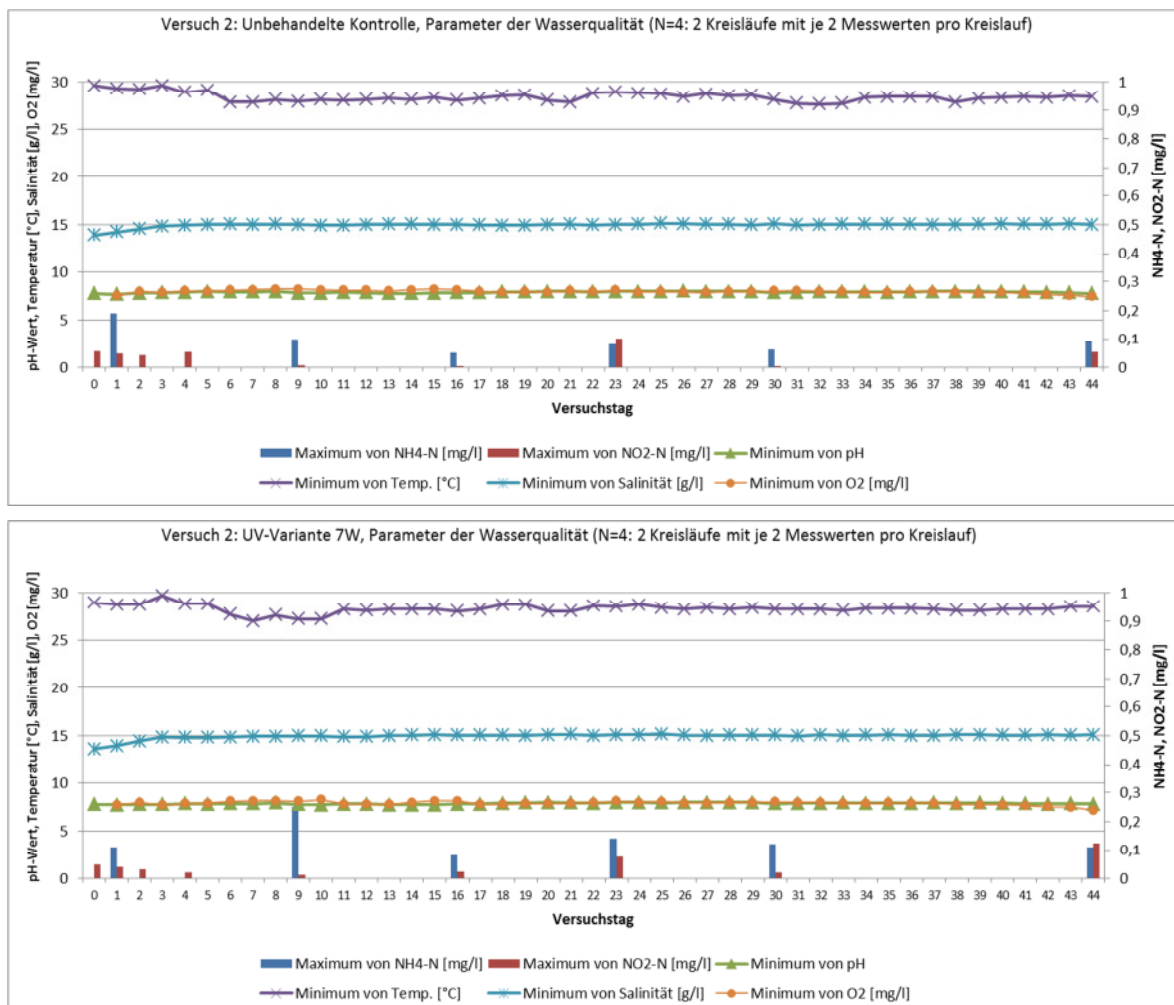


Abbildung 7-1: Versuch 2, Varianten „Kontrolle“ (oben) und „UV“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler $\text{NH}_4\text{-N}$ - und $\text{NO}_2\text{-N}$ -Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l]

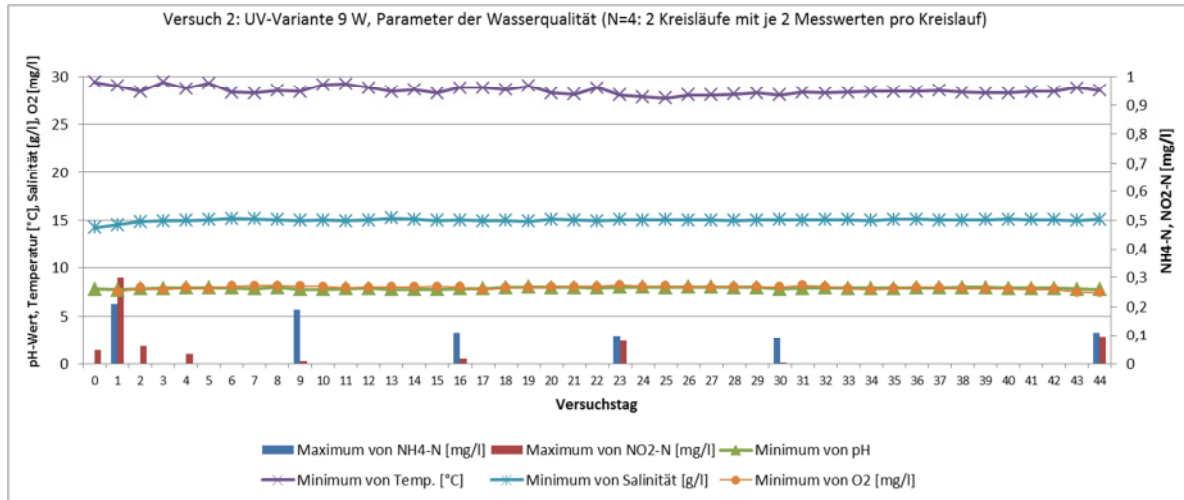


Abbildung 7-2: Versuch 2, Variante „Ozon“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler NH₄-N- und NO₂-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l]

Die Ergebnisse der Laboranalysen basieren auf einer geringeren Probenanzahl (N=8 für PO₄-P, sonst N=12), die wie beschrieben zu unterschiedlichen Versuchszeitpunkten entnommen wurden.

Mittelwerte über den Versuchszeitraum sind im Anhang tabellarisch aufgeführt (s. **Tabelle 12-4**)

Auffallend ist die besonders hohe Schwankung der Werte für den Parameter "abfiltrierbare Stoffe" als Maß der suspendierten Feststoffe, auch innerhalb einer Behandlungs-Variante. Die aus den zwei identisch behandelten Kreislaufanlagen aus jeweils zwei Becken erhaltenen mittleren Konzentrationen lagen zwischen 63,5 mg/l (TK1, Kontrolle) und 92,7 mg/l (TK4, UV_9W) ±8,73 mg/l bzw. 15,34 mg/l. Die höchsten Abweichungen (±24 bzw. 26,5 mg/l) gab es bei den Testkreisläufen Nr. 2 und 6, beide in der UV-7W-Variante.

Stickstoff-Gesamt und Nitrat-Stickstoff sind in allen Testkreisläufen auf einem relativ und ähnlich niedrigen Niveau von <20 mg/l, da sich in dem wenige Monate umfassenden Zeitraum ab Inbetriebnahme noch keine nennenswerten Nitrat-N-Konzentrationen aufbauen konnten. Alle Messwerte liegen sehr nah beieinander und lassen keinen Einfluss der Behandlung mit UV-Strahlung erkennen. Allerdings sind die Abweichungen der Konzentrationen in den UV-Varianten etwas höher gegenüber der unbehandelten Kontrolle.

Gelöster Kohlenstoff (DOC) erreicht in der unbehandelten Kontrolle die höchste Konzentration von 10,2 mg/l ±1,73, und liegt etwas niedriger in den UV-Varianten (7W: 8,4 mg/L ±1,78 bzw. 9W: 7,9 mg/l ±2,6); jedoch sind auch hier die Abweichungen sehr hoch, sodass keine verlässliche Aussage hinsichtlich der Bedeutung der UV-Strahlung getroffen werden kann.

Für den Parameter gelöstes Phosphat (PO₄-P) verhält es sich ähnlich: in der unbehandelten Kontrolle sind die höheren Konzentrationen gemessen worden (13,8 mg/l ±2,7) gegenüber 11,3 mg/l ±3,7 bzw. 12,6 mg/l ±2,7), jedoch sind auch hier die Abweichungen zu hoch, um eindeutige Schlüsse in Bezug auf die Behandlung mit UV-Strahlung ziehen zu können.

Fazit: Die Ergebnisse zeigen keine Hinweise auf einen Einfluss der UV-Strahlung auf die Stoffumsetzung der Bakterienpopulation.

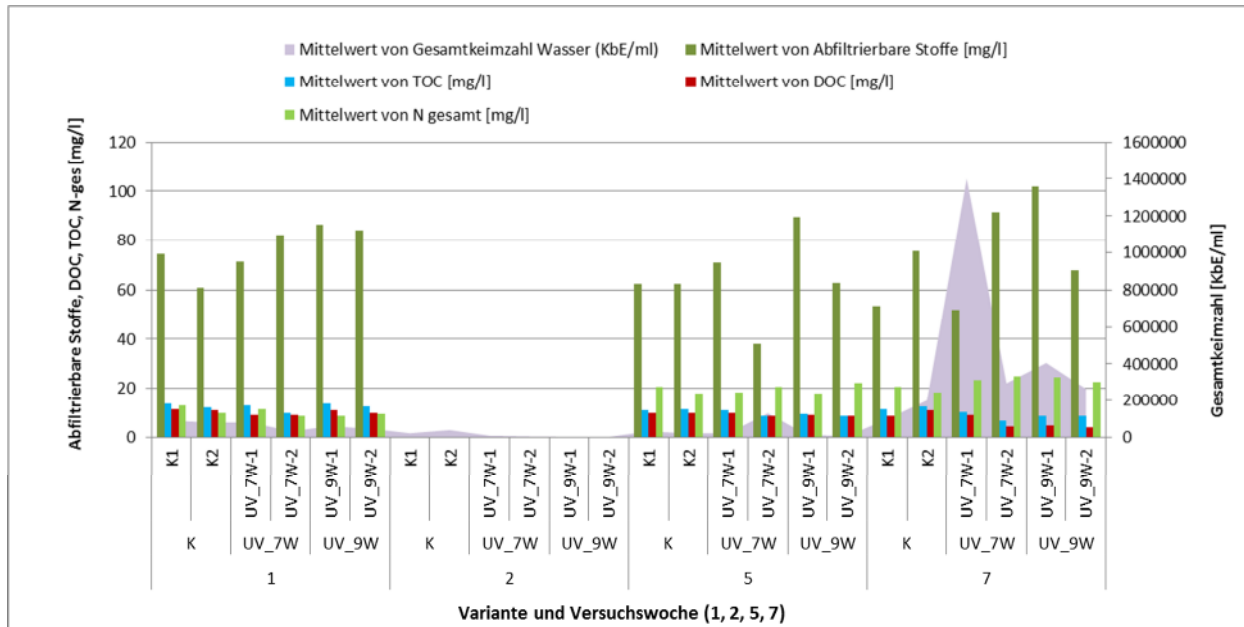


Abbildung 7-3: Versuch 2: Gesamtkeimzahl, gelöster und gesamt-organischer Kohlenstoff (DOC, TOC) sowie Gesamtstickstoff (Nges) im Versuchsverlauf (N=2,- bzw. N=3 für den Parameter Gesamtkeimzahl)

Die mittlere Konzentration an Kupfer und Zink übersteigt bei allen Varianten den Zielwert für optimale Bedingungen der Spezies *L. vannamei* (Abbildung 7-4). Für Kupfer wird z.T. auch die in der Literatur angegebene Toleranzgrenze von 0,01 bis 0,025 mg/l überschritten. Der Zinkgehalt liegt bei fast allen untersuchten Proben über der Toleranzgrenze von 0,05 bis 0,1 mg/l (s. Anhang, **Kap. 12.1**). Die Konzentrationen der essenziellen Ionen Calcium, Magnesium und Kalium liegen dagegen im Optimumbereich (>100 mg/l).

Die Ursache der erhöhten Kupferkonzentrationen kann in einer erhöhten Kupferzufuhr über das Wasser oder das Futter liegen. Da in der Versuchsanlage Kupferwasserleitungen vorhanden sind, wurde, um eine Erhöhung des Wertes durch Managementmaßnahmen zu vermeiden, nur kaltes Leitungswasser verwendet. Zudem wurde das in den Leitungen stehende Wasser zunächst abfließen lassen.

In Versuchswoche 5 fallen niedrigere Zink-Konzentrationen in allen Varianten sowie eine niedrigere Kupfer-Konzentration in einer UV-Variante auf (UV_9W). Die Abweichungen innerhalb der Behandlungsgruppen sind jedoch hoch.

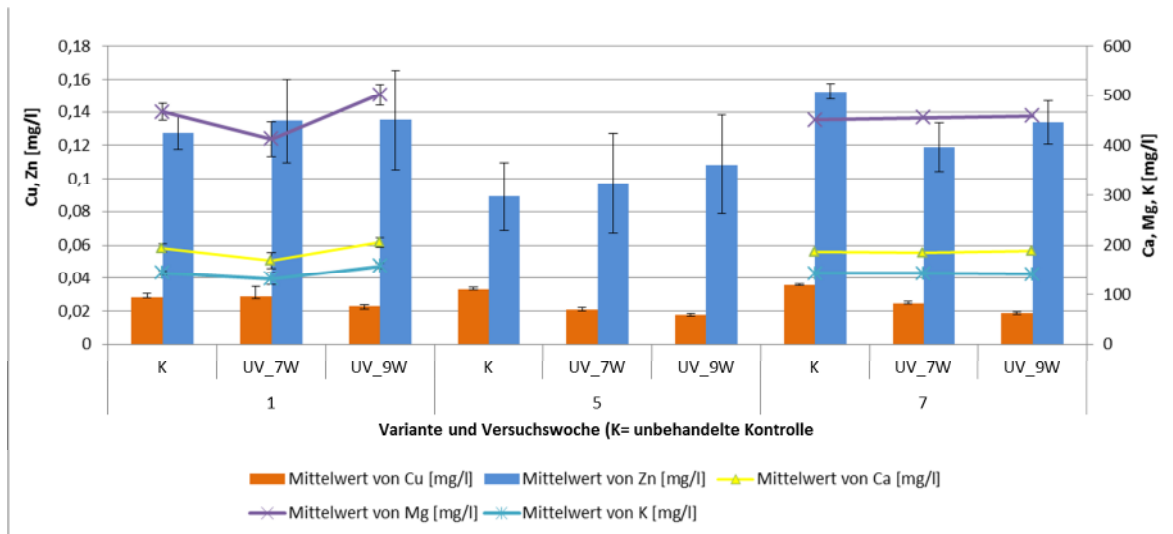


Abbildung 7-4: Versuch 2: Konzentrationen an Metallionen und essenziellen Ionen (Ca, Mg, K) im Versuchsverlauf (Daten aus je 2 Kreisläufen mit je 2 Becken; N=4)

7.2.2.3 Daten Garnelen

Am Tag des Besatzes wurden alle Garnelen einzeln gewogen und in der Körperlänge vermessen. Die Ergebnisse und die Anzahl der Garnelen wurden für jedes Becken protokolliert. Aufgrund der geringen Größe der eingesetzten Garnelen, die eine mittlere Körperlänge von ca. 3 cm aufwiesen, war die Vermessung der filigranen Antennen problematisch. Diese Daten wurden zur Schonung der Garnelen nur für das erste besetzte Becken erhoben (in TK 1). Die Mittelwerte der Messwerte und berechneten Parameter sind im Anhang einzusehen (s. Tabelle 12-5).

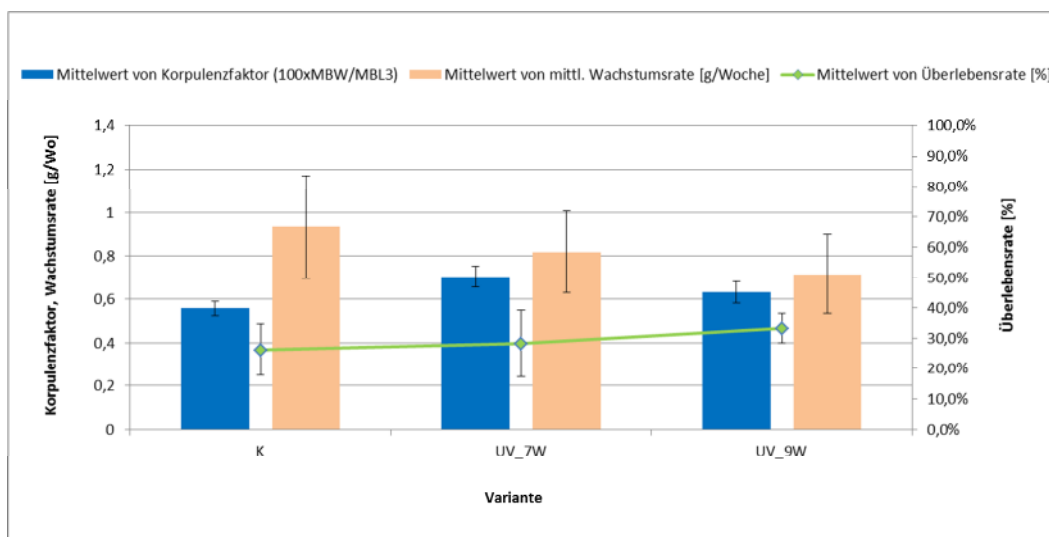


Abbildung 7-5: Versuch 2: Überlebensrate [%], Korpulenzfaktor (Versuchsende) sowie mittlere Wachstumsrate [g/Woche] (N=4)

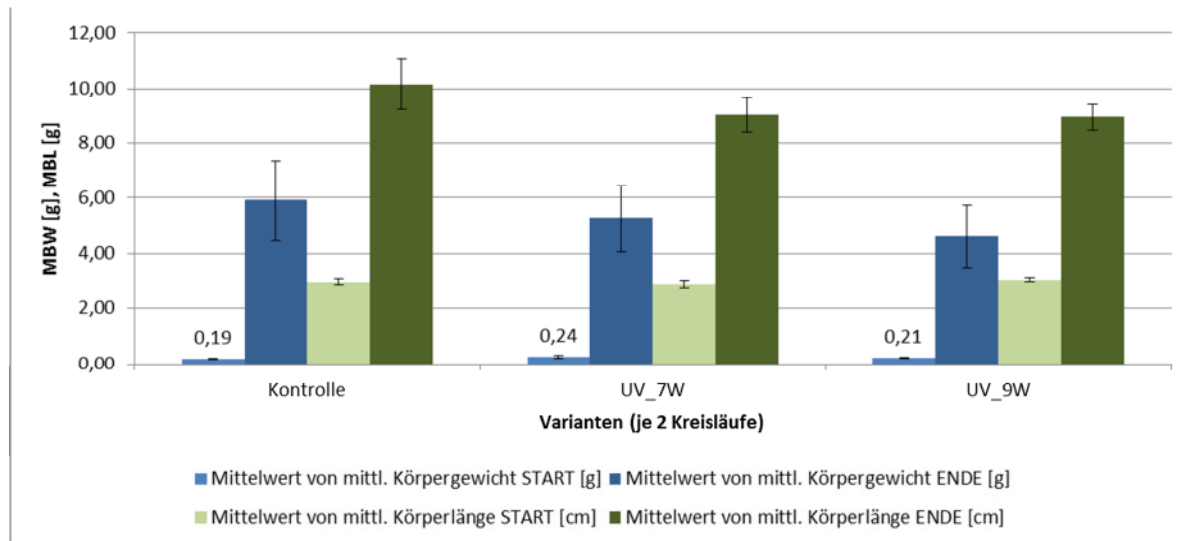


Abbildung 7-6: Versuch 2: Garnelendaten zu Versuchsstart und -ende aus je zwei Kreisläufen als unbehandelte Kontrolle und mit Einsatz von UV (mittl. Körpergewicht und mittl. Körperlänge; N=4)

Die Überlebensraten waren in allen Testkreisläufen und Varianten sehr niedrig mit Werten zwischen 19% und 35%. Eine Erklärung dafür könnte in der insgesamt schwächeren Konstitution dieser Batch liegen, u.U. mitverursacht durch die anfangs noch zu schnelle Absenkung der Salinität über die ersten 10 Tage ab Besatz. Als Maß für die Vitalität der Garnelen zeigt der Korpulenzfaktor in der Kontrollgruppe die niedrigsten Werte (0,56 gegenüber 0,7 bzw. 0,63), obwohl hier etwas höhere mittlere Wachstumsraten in Gramm pro Woche erzielt wurden als in den UV-Varianten (0,9 g/Wo – 0,8 g/Wo – 0,7 g/Wo). Die Abweichungen bei den Wachstumsraten sind jedoch hoch.

7.2.2.4 Kennzahlen Versuch 2

Der Wasser-, Salz- und Puffermittelverbrauch wurde für jeden Testkreislauf als Summe im Versuchszeitraum auf das bei Versuchsende in den besetzten Becken ermittelte Gesamt-Garnelenleibendgewicht bezogen.

Tabelle 7-2: Kennzahlen Versuch 2 mit den Varianten „Kontrolle“ und „UV_7W“ bzw. „UV_9W“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-6; N=2 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf, N=1 für spezifischen Verbrauch)

Werte	K		UV_7		UV_7W		UV_9		UV_9W
	1	3	2	6	4	5	Ergebnis	Ergebnis	
Mittelwert von Überlebensrate [%]	19%	33%	26%	35%	22%	28%	33%	33%	33%
Mittelwert von FCR/Becken	4,2	2,9	3,5	3,0	4,3	3,6	3,0	3,3	3,1
Maximum von spez. Wasserverbrauch/ kg Garnelen	2677	2430	2677	2235	2933	2933	2212	2665	2665
Maximum von spez. Salzverbrauch/ kg Garnele	34,7	30,0	34,7	30,1	37,0	37,0	28,0	32,3	32,3
Maximum von spez. NaHCO ₃ -Verbrauch/ Futter [g/g]	0,315	0,277	0,315	0,323	0,332	0,332	0,300	0,274	0,300

Die niedrigen Überlebensraten in allen Varianten führten zu einem geringen Zuwachs an Lebendbiomasse und bei konstanter Futtergabe daher zu einem ungünstigen Futterumwandlungsquotienten sowie zu einem extrem hohen Wasserverbrauch pro kg Garnele bei Versuchsende.

7.2.2.5 Bakteriologische Untersuchungen

Analog zur Datenerhebung nach Einsatz von Peressigsäure wurden Proben des Wassers, des Biofilms sowie der Garnelen auf den Gehalt und die Zusammensetzung der enthaltenen Bakterien untersucht. Dabei wurde die bakterielle Gemeinschaft insgesamt betrachtet, nicht jedoch das Vorkommen spezifischer Pathogene. Proben wurden vor Beginn der UV Exposition sowie 7, 28 und 42 Tage nach Beginn der UV-Exposition entnommen.

Im Wasser konnte anfänglich sowohl in beiden mit UV-Licht behandelten Gruppen als auch in der Kontrollgruppe ein leichter Rückgang der Gesamtkeimzahlen beobachtet werden. 28 Tage nach Versuchsbeginn wurden in allen Versuchsgruppen ähnliche Keimzahlen wie bei Versuchsstart ermittelt. Zum Versuchsende stiegen die Gesamtkeimzahlen in beiden mit UV-Licht behandelten Becken stark an. Der Effekt war bei Behandlung mit einer UV-Dosis von 9 Watt insgesamt am stärksten ausgeprägt, wobei die Gesamtkeimzahlen zwischen den einzelnen Becken, die mit 7 Watt UV-Licht behandelt wurden, stark schwankten. Die Gesamtkeimzahl in der Kontrollgruppe hingegen zeigte keinen derart starken Anstieg und blieb über den gesamten Versuchsverlauf relativ stabil (**Abbildung 7-7**).

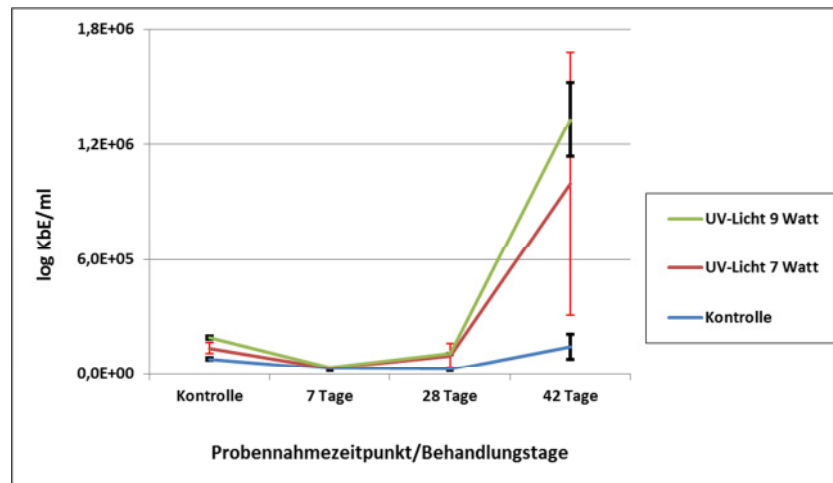


Abbildung 7-7: Gesamtkeimzahl im Prozesswasser der Garnelenhaltungen unter UV-Behandlung.

Die Diversität der Bakterienisolate in den Wasserproben stieg im Verlauf des Versuchs an, war jedoch zwischen den einzelnen Versuchsgruppen kaum unterschiedlich.

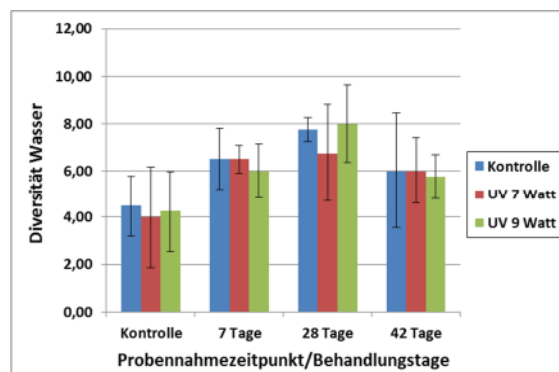


Abbildung 7-8: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Prozesswasser der Garnelenhaltung unter UV-Behandlung des Wassers. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa

In der Beprobung des Biofilms bereiteten zu Versuchsbeginn sehr stark schwärmend wachsende Bakterien, die andere Bakterienkolonien sehr schnell überwucherten, Probleme. Im weiteren Versuchsverlauf nahm der Anteil dieser schwärmend wachsenden Isolate ab, so dass auch hier ein leichter Anstieg der Diversität beobachtet werden konnte, der in der Kontrollgruppe am stärksten ausgeprägt war.

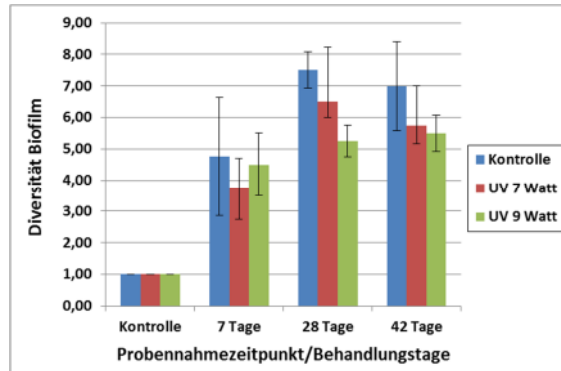


Abbildung 7-9: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm von Becken aus der Garnelenhaltung unter UV-Behandlung des Wassers. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa

Die Diversität der Bakterienisolate aus der Beprobung der Garnelen entwickelte sich über die gesamte Versuchsdauer gleichmäßig und blieb auf einem Niveau.

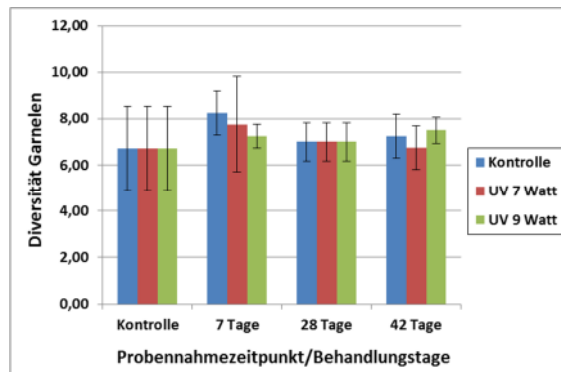


Abbildung 7-10: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf dem Karapax von Garnelen aus Haltungen unter UV-Behandlung des Prozesswassers. Angeben ist die Anzahl isolierter Taxa

Insgesamt erschien der Einsatz von UV-Licht, sowohl von 7 als auch von 9 Watt, nicht geeignet, um dauerhaft die Gesamtkeimzahlen in den Systemen zu senken. Insbesondere bei UV-Licht von 9 Watt schien jedoch die Diversität im Biofilm im Vergleich zur Kontrollgruppe verringert zu sein, was auf eine weniger stabile Mikroflora hindeuten könnte.

7.3 Versuch 3: Einsatz von Ozon unter Besatz von juvenilen-adulten Garnelen

7.3.1 Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung

Versuch 3 wurde im Polyplan-Aquakulturlabor über einen Zeitraum von ca. 7 Wochen (40 Tage) durchgeführt. Es wurden vier Testkreislaufanlagen genutzt, von denen zwei mit einem Ozongenerator ausgestattet wurden und zwei als unbehandelte Kontrolle dienten. In diesem Versuch wurden alle drei Becken eines Kreislaufs mit Garnelen besetzt, die ein mittleres Körpergewicht von 5,6 g erreicht hatten. Die genaue Zuordnung der Versuchsvarianten sowie die Versuchsbedingungen sind der Tabelle 12-2 zu entnehmen. Auch in diesem Versuch erfolgte die Untersuchung der bakteriellen Mikroflora durch die TiHo. Der Einsatz der Ozongeneratoren startete eine Woche nach Tierbesatz. Die Ozonatoren waren an einen Eiweißabschäumer angeschlossen, der in einem dem Biofilter vorgelagerten Absetzbereich im selben Becken angebracht war. Über eine mit Gaze abgedeckte Öffnung gelangte das Wasser in den Bereich mit dem Trägermaterial. Zur Vermeidung von Ozoneintrag in diesen sensiblen Bereich wurde eine Aktivkohle-Packung vor den Durchlass angebracht, die vom Wasserstrom passiert werden musste.

Die Versuchsdauer betrug 40 Tage.

Datenerhebung:

Physikalisch-chemische Parameter der Wasserqualität wurden mindestens im wöchentlichen Rhythmus erhoben (NH₄-N und NO₂-N, sowie O₂-Konzentrationen) bzw. mindestens im 2-Tage-Intervall für pH-Wert, Wassertemperatur und Salinität. Die Probenahme und Messungen vor Ort erfolgten wie bei Versuch 1 beschrieben, abweichend wurden hier nicht an allen Versuchstagen beckenspezifische Proben, sondern an mehreren Tagen *Mischproben* aus den Hälterungsbecken untersucht. Zusätzliche Parameter, die vor Ort gemessen wurden, waren die Redoxspannung (mittels Handsonde) und die Absorbanz bei 430 nm als Indikator für sog. „Gelbstoffe“ (Sammelbegriff für refraktäre organische Verbindungen, u.a. Huminstoffe). Wasserproben zur Analyse durch ein externes Labor wurden nach dem Besatz, zum Start des Ozoneinsatzes, nach einer weiteren Woche sowie zum Versuchsende als beckenspezifische Probe entnommen. Proben zur Analyse der Gesamtkeimzahl und zur Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft im Haltungswasser, im Biofilm der Haltungsbecken und auf dem Carapax von Garnelen wurden an 4 Zeitpunkten entnommen. Außerdem wurde die bakterielle Besiedlung der Gewebe von Garnelen zu Beginn des Versuches und bei der letzten Probenahme bestimmt.

7.3.2 Ergebnisse aus Versuch 3

7.3.2.1 Verbrauch an Betriebsmitteln

In diesem Versuch wurde ein erhöhter Wasserwechsel durchgeführt, da NO₃-N-Messwerte (TiHo) erhöht waren. Das Risiko den Versuch bei einer nicht ausreichenden Wasserqualität durchzuführen sollte auf diese Weise verringert werden. Die nachträglich verfügbaren Analysedaten des Labors

ergaben allerdings für den Versuchsstart eine Nitrat-N-Konzentration von 56-68 mg/l, die noch im Toleranzbereich der Spezies liegt.

Tabelle 7-3: Versuch 3: Übersicht Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) pro Testkreislauf im Versuchszeitraum (26.06.2015 – 05.08.2015) für die Varianten „Kontrolle“ und „Ozon“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-4)

Werte	K		K		Ozon	
	1	3	Ergebnis	Ergebnis	2	4
Summe von Futter/Tag [g]	430,5	430,5	861,0	430,5	430,5	861,0
Summe von Wasserverbrauch/Tag [l]	214,0	229,0	443,0	201,5	216,0	417,5
Mittelwert von WW [%/Tag]	1,8%	1,8%	1,8%	1,8%	1,8%	1,8%
Summe von Salzverbrauch/Tag [kg]	2,6	2,7	5,3	2,6	2,7	5,4
Summe von Verbrauch NaHCO ₃ /Tag [kg]	0,05	0,06	0,11	0,06	0,05	0,11
Summe von Entnahme TR gesamt [g]	16,3	5,2	21,6	10,3	9,8	20,1

Es wurde konstant mit der gleichen Menge Futter gefüttert. Der Wasserverbrauch variierte zwischen den Testkreisläufen infolge unterschiedlicher Verdunstungsverluste und geringfügig aufgrund variierender Wasserwechselraten. Die Entnahme von Feststoffen variierte sehr stark innerhalb der Kontrollgruppe, mit einem Maximum von 16,3 g in TK 1 und einem Minimum von 5,2 g in TK3.

7.3.2.2 Daten Wasserqualität

Die im Versuchszeitraum mit einer Ausnahme täglich bestimmten Werte für die kritischen Parameter Wassertemperatur, Sauerstoffkonzentration, pH-Wert und Salinität blieben bei allen Versuchsvarianten und in allen Testkreisläufen innerhalb der Toleranzbereiche der Spezies *L. vannamei* bzw. sogar im optimalen Bereich (s. **Tabelle 12-4** im Anhang, Kap. 12.4.1).

Der pH-Wert in den vier Testkreisläufen konnte stabil auf pH 7,8±0,12 und die Salinität auf 15,1±0,21 g/l eingestellt werden. Die Wassertemperatur lag zwischen 29,0±0,57 °C (TK 3 und 4) und 29,1±0,65°C (TK 1 und 2). Die Sauerstoffkonzentrationen lagen mit Werten von > 7mg/l im optimalen Bereich. Dabei betragen die mittleren Sauerstoffkonzentrationen der unbehandelten Kontrolle 7,5±0,25 mg/l und die der mit Ozon behandelten Gruppe 7,6±0,2mg/l.

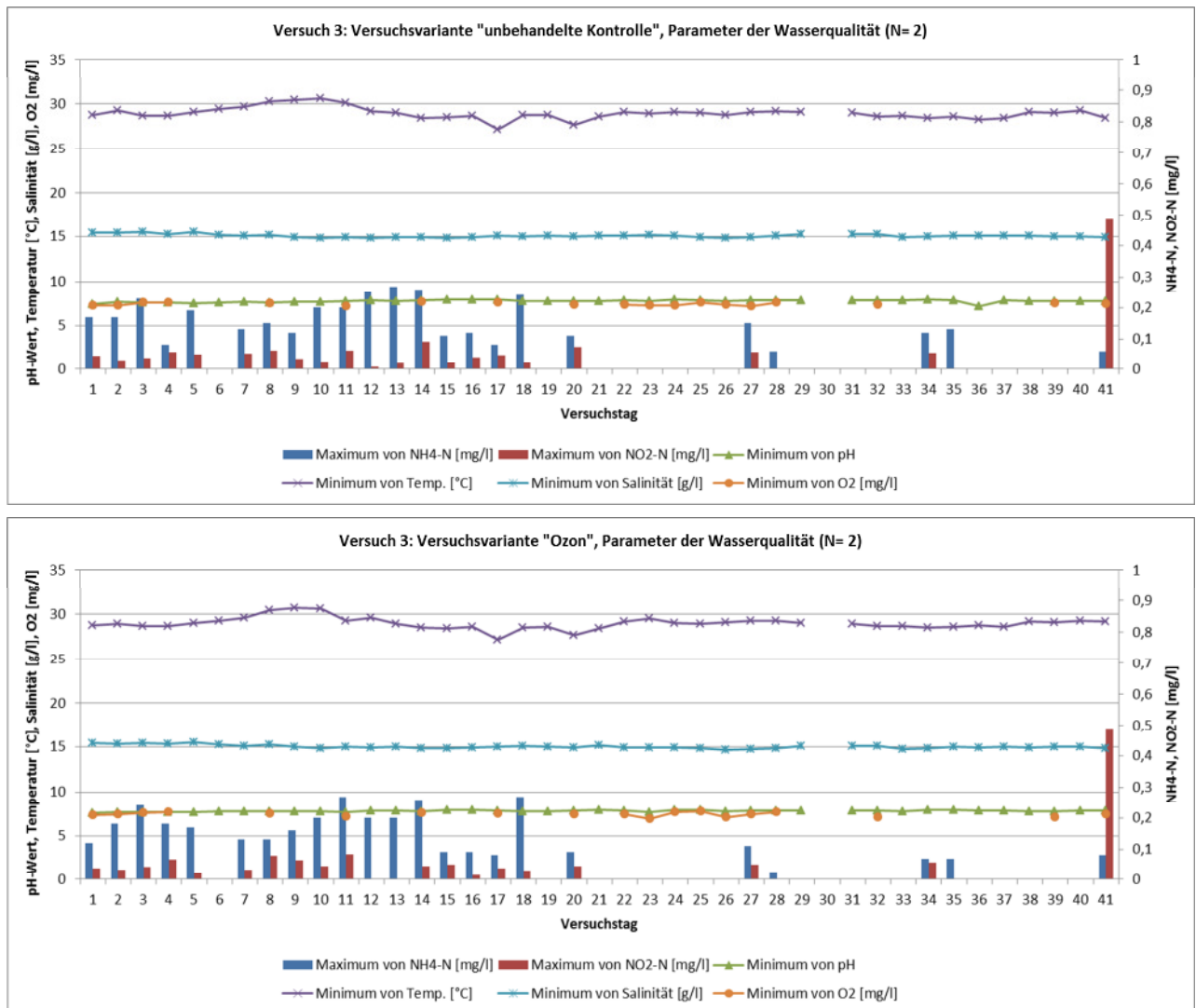


Abbildung 7-11: Versuch 3: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum): maximaler NH4-N- und NO2-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2)

Die Redoxwerte bei der unbehandelten Kontrolle und der Ozon-behandelten Variante lassen keinen Einfluss des Ozoneinsatzes erkennen. In beiden Versuchsgruppen zeichnet sich ein leichter Anstieg des Redoxwertes zum Versuchsende hin ab. Die Absorbanzwerte für den Indikator der Trübung, „Gelbstoffe“, hingegen sind deutlich niedriger in den Varianten, die mit Ozon behandelt wurden (s. Abbildung 7-12).

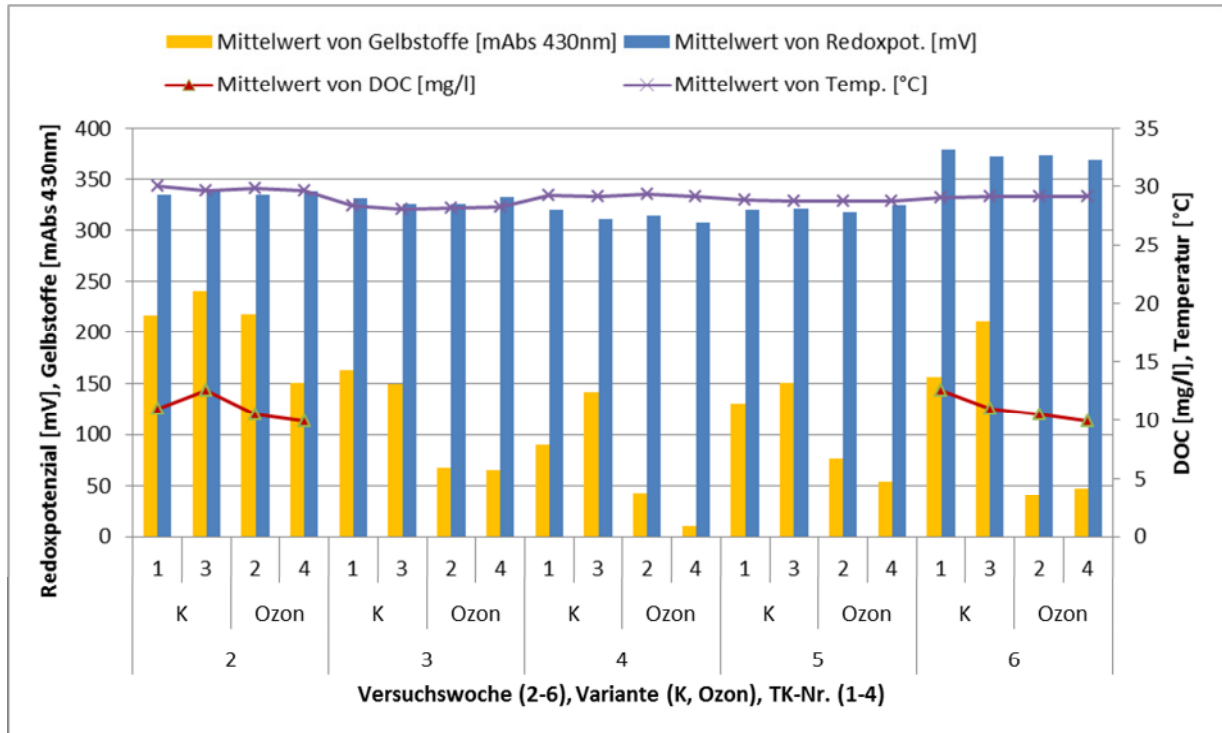


Abbildung 7-12: Versuch 3: Redoxpotenzial [mV] und Gelbstoffabsorbanz [mAbs 430nm] (N=2-8), gelöster organ. Kohlenstoff (DOC) [mg/l] (N=2) und Wassertemperatur [°C] (N=10-16) im Versuchsverlauf bzw. zu Beginn des Ozoneinsatzes und am Versuchsende

Ergebnisse der Laboranalysen (Mittelwerte s. **Tabelle 12-6** im Anhang):

Der Mittelwert für den Parameter abfiltrierbare Stoffe (N=12) beträgt in der unbehandelten Kontrolle $76,5 \pm 21,42$ mg/l und liegt damit höher als in der Ozon-Variante mit $57,1 \pm 10,12$ mg/l. Auch in diesem Versuch ist jedoch die Abweichung innerhalb eines Testkreislaufs zwischen den zeitlich über den Versuchszeitraum verteilten Beprobungen, relativ hoch, besonders in der unbehandelten Kontrolle: die Abweichung beträgt nur ca. ± 9 bzw. ± 11 in den Kreisläufen mit Ozonbehandlung und ca. ± 15 bzw. ± 26 in den Kreisläufen der unbehandelten Kontrolle.

Stickstoff-Gesamt und Nitrat-Stickstoff stiegen in allen Testkreisläufen im Zeitraum von ca. 3 Monaten (seit dem Abschluss von Versuch 2) von < 20 mg/l auf $50 - 61$ mg/l für Gesamt-Stickstoff und 46 bis 49 mg/l für Nitrat-Stickstoff an. Diese Werte zeigen eine Akkumulation von Nitrat an, die jedoch noch als unbedenklich zu bewerten ist.

Alle Messwerte liegen auch in diesem Versuch sehr nah beieinander und lassen keinen Einfluss der Behandlung mit Ozon erkennen. Allerdings sind die Abweichungen der Konzentrationen in den Ozon-Varianten hier sogar deutlich höher gegenüber der unbehandelten Kontrolle.

Gelöster Kohlenstoff (DOC) erreicht in der unbehandelten Kontrolle die höchste Konzentration von $11,8 \pm 0,83$ mg/l, und liegt etwas niedriger in den Ozon-Varianten (TK2: $10,5 \pm 0,53$ mg/L bzw TK4: $9,9 \pm 0,0$ mg/l). Die Abweichungen vom Mittelwert sind geringer als im Versuch zum UV-Einsatz. Insgesamt sind die DOC-Konzentrationen in den Ozon-Varianten etwas niedriger. Dies lässt sich

durch eine Ozon-induzierte Aufspaltung komplexer organischer Verbindungen erklären, wodurch die Verfügbarkeit des darin gebundenen Kohlenstoffs für Bakterien, die kohlenstoffhaltige Verbindungen abbauen, erhöht wird.

Für den Parameter gelöstes Phosphat (PO₄-P) verhält es sich ähnlich, wie auch in Versuch 2 beobachtet: in der unbehandelten Kontrolle sind mit 18,6±3,97mg/l die höheren Konzentrationen gemessen worden, jedoch sind auch hier die Abweichungen zu hoch, um eindeutige Schlüsse in Bezug auf die Behandlung mit Ozon ziehen zu können.

Fazit: Es wurden Unterschiede bei den Messwerten, besonders in der Konzentration des gelösten organischen Kohlenstoffs beobachtet. Die Unterschiede sind jedoch zu gering, um eine verlässliche Aussage hinsichtlich der Bedeutung der Ozonbehandlung für die untersuchten Parameter zu treffen.

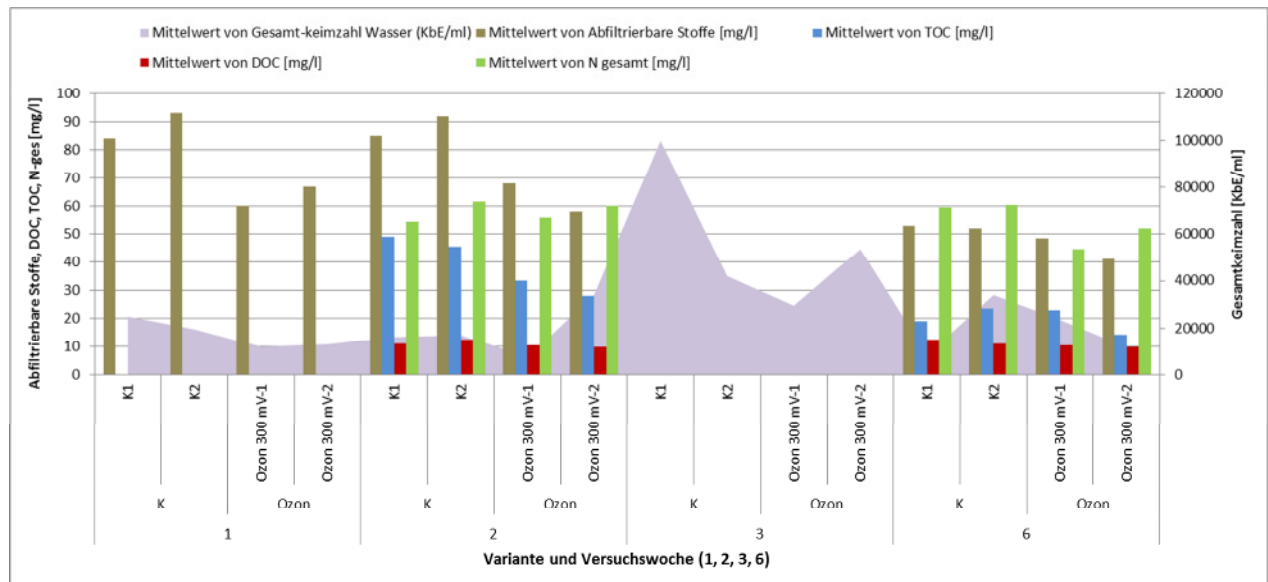


Abbildung 7-13: Versuch 3: Gesamtkeimzahl, gelöster und gesamt-organischer Kohlenstoff (DOC, TOC) sowie Gesamtstickstoff (Nges) im Versuchsverlauf (N=2, bzw. N=3 für den Parameter Gesamtkeimzahl)

Die mittlere Konzentration an Kupfer und Zink übersteigt bei allen Varianten den Zielwert für optimale Bedingungen der Spezies *L. vannamei*. Für Kupfer wird z.T. auch die in der Literatur angegebene Toleranzgrenze von 0,01 bis 0,025 mg/l überschritten, für Zink jedoch nicht (Toleranzlimit 0,05 bis 0,1 mg/l; s. Anhang, Kap. 12.1). In der Variante „Ozon“ ist eine sinkende Tendenz der Kupfer-Konzentration im Versuchsverlauf zu erkennen. Eine Erklärung dafür ist die bevorzugte Bindung von Kupfer an organische Verbindungen, die mit dem Einsatz von Ozon vermehrt über den Eiweißabschäumer aus dem System entnommen werden können. Allerdings

wurde hier keine vermehrte Entnahme von Feststoffen in der Ozon-Variante bestimmt (s. **Tabelle 7-3**).

Die relativ hohen Kupferkonzentrationen traten auf, obwohl in diesem Versuch und bereits in den Monaten zuvor, nur kaltes Leitungswasser nach dem Ablaufen des Wassers aus der Leitung eingesetzt worden war.

Die Konzentrationen der essenziellen Ionen Calcium, Magnesium und Kalium liegen meist oberhalb der Mindestkonzentration von 100 mg/l – mit Ausnahme der Varianten K-2 (Testkreislauf 2) sowie Ozon-2 (Testkreislauf 4) vom letzten Versuchstag.

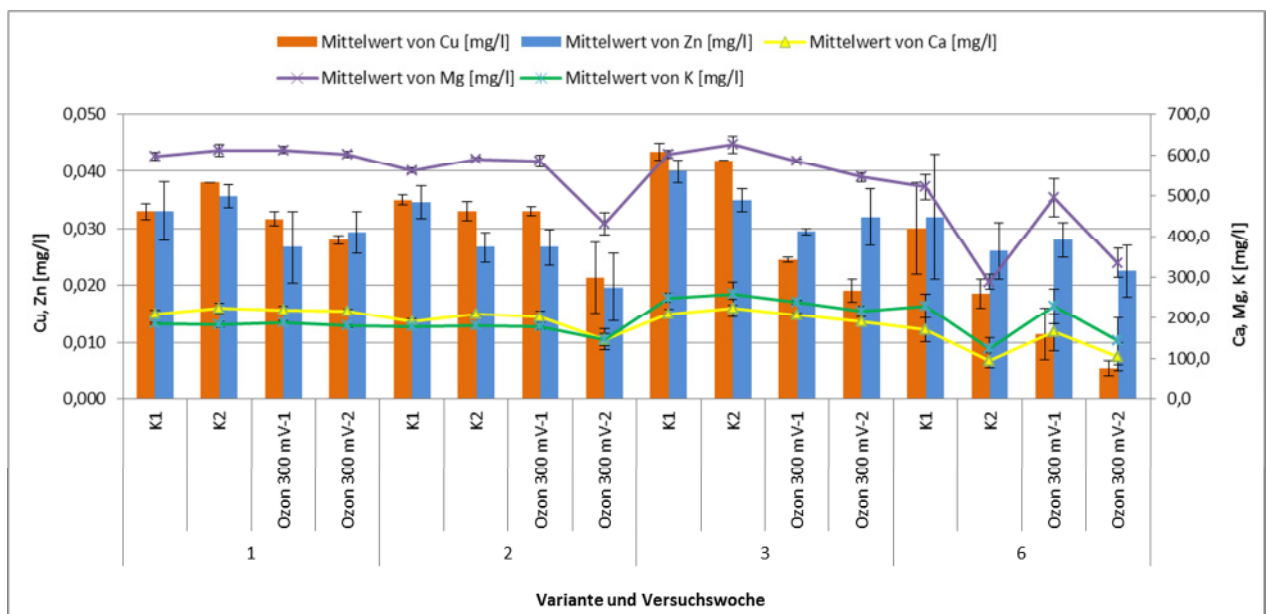


Abbildung 7-14: Versuch 3: Konzentrationen an Metallionen und essenziellen Ionen (Ca, Mg, K) im Versuchsverlauf (N=3 in Woche 1 und 2, N=2 in Woche 3 und 6)

7.3.2.3 Daten Garnelen

Für die Mittelwerte zu den erhobenen Parametern verweisen wir auf Tabelle **12-7** im Anhang.

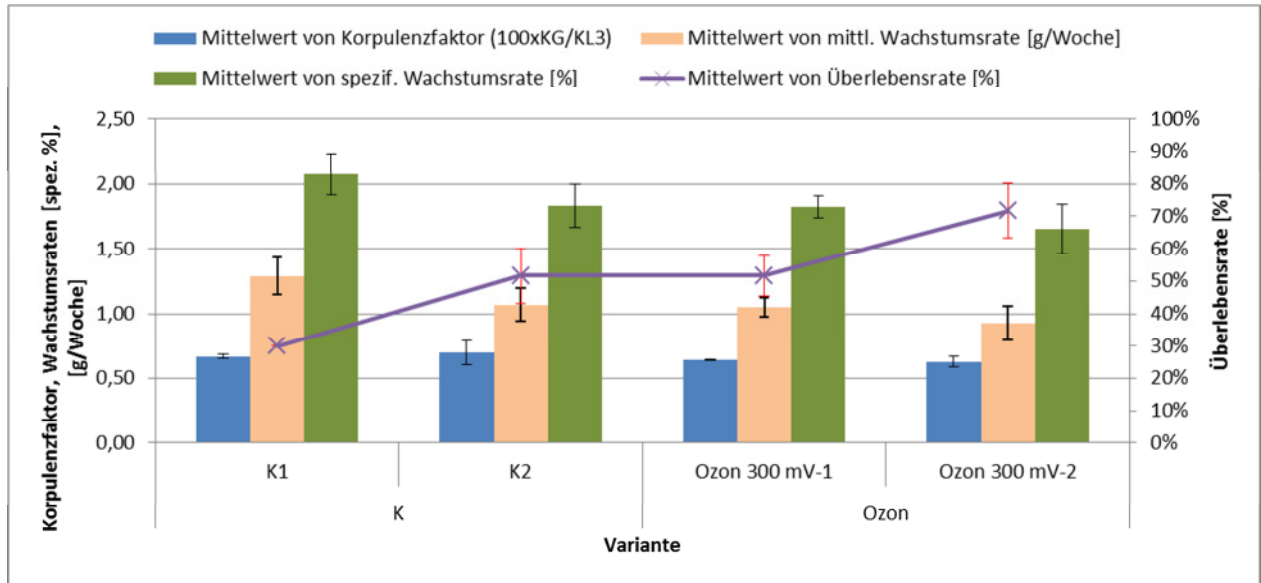


Abbildung 7-15: Versuch 3: Überlebensrate [%], Korpulenzfaktor (Versuchsende), mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3)

Die mittlere Futterumwandlungsrate (FCR) konnte nicht bestimmt werden, da 1 Wert von 3 Werten negativ war, bedingt durch eine Abnahme der Lebendbiomasse im Versuchszeitraum.

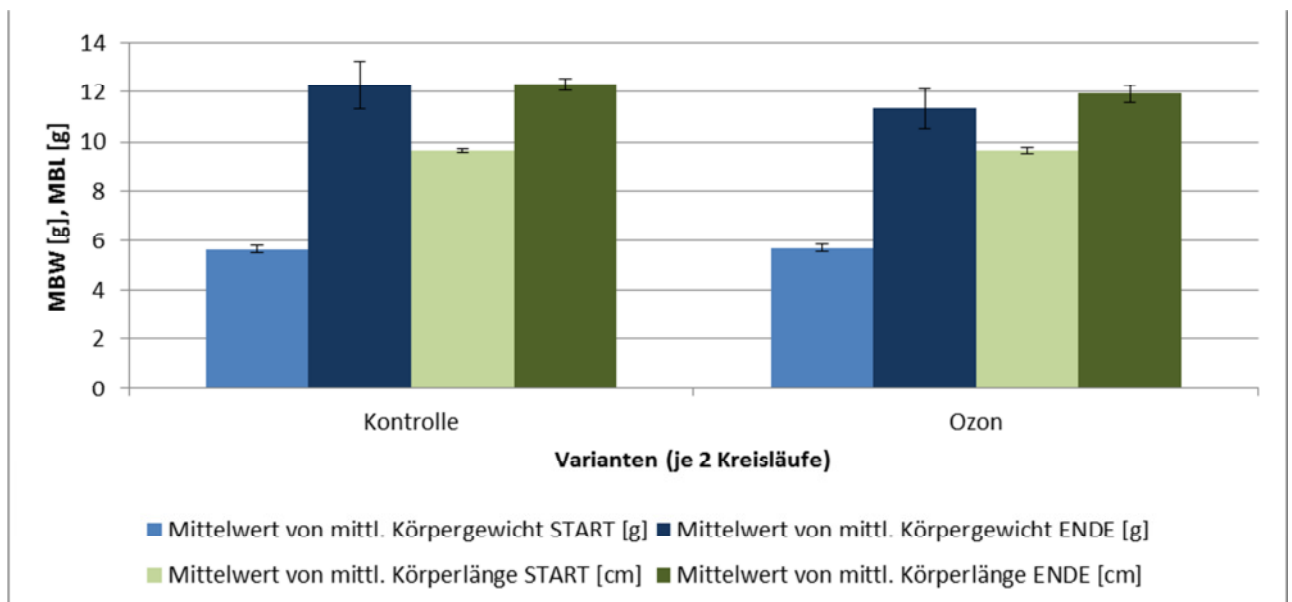


Abbildung 7-16: Versuch 3: Garnelendaten zu Versuchsstart und -ende aus je zwei Kreisläufen als unbehandelte Kontrolle und mit Einsatz von Ozon (mittl. Körpergewicht und mittl. Körperlänge; N=6)

In diesem Versuch waren die Garnelen groß genug, um auch die Antennenlängen zu vermessen. Ein Indikator für vitale Garnelen sind intakte und möglichst lange Antennen, die sogar die Körperlänge übertreffen können und ein Längenverhältnis >1 erreichen (Kuhn et al. 2010).

In dieser Hinsicht sind die hier eingesetzten Versuchstiere, die ein Verhältnis von nur 0,3 bis 0,4 erreichen, als nicht besonders vital einzustufen. Dies ist vermutlich der relativ hohen Besatzdichte in der vorangegangenen Vorhalterung zuzuschreiben (s. **Kap. 7.7**).

Die Überlebensraten lagen in diesem Versuch zwischen 30% und 71,7%, jedoch uneinheitlich über die zwei Versuchsgruppen verteilt. Die Garnelen in der Kontrollgruppe erreichten mittlere Wachstumsraten von maximal 1,3g/Woche und im Mittel beider Testkreisläufe 1,2 g/Woche. In der Ozon-Variante wurde ein mittleres Wachstum von 1,0 g/Woche erzielt.

7.3.2.4 Kennzahlen Versuch 3

Tabelle 7-4: Kennzahlen Versuch 2 mit den Varianten „Kontrolle“ und „Ozon“ (TK-Nr. s. Ziffer 1-4; N=3 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf; N=1 für spezifischen Verbrauch;)

Werte	K		K		Ozon	
	1	3	2	4	1	2
Mittelwert von Überlebensrate [%]	30%	52%	41%	52%	72%	62%
Mittelwert von FCR/Becken	-4,2	2,2	-1,0	8,1	3,9	6,0
Maximum von spez. Wasserverbrauch/ kg Garnelen	784,5	527,2	784,5	478,9	387,3	478,9
Maximum von spez. Salzverbrauch/ kg Garnele	10,4	6,9	10,4	6,8	5,4	6,8
Maximum von spez. NaHCO ₃ -Verbrauch/ Futter [g/g]	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

In Kreislauf 1, einer unbehandelten Kontrolle, kam es zu einem negativen Futterumwandlungsquotienten, bedingt durch die geringe Überlebensrate. Der Futtereinsatz war in allen Testkreisläufen homogen gehalten worden, um für die Mikrobiologie der Kreisläufe vergleichbare Bedingungen zu gewährleisten.

7.3.2.5 Bakteriologische Untersuchungen (TiHo)

Analog zur Datenerhebung nach Einsatz von Peressigsäure wurden Proben des Wassers, des Biofilms sowie der Garnelen auf den Gehalt und die Zusammensetzung der enthaltenen Bakterien untersucht. Dabei wurde die bakterielle Gemeinschaft insgesamt betrachtet, nicht jedoch das Vorkommen spezifischer Pathogene. Proben wurden vor Beginn der Ozonexposition sowie 2, 9 und 30 Tage nach Beginn der Ozonexposition entnommen.

Waren die Gesamtkeimzahlen zu Beginn innerhalb der gleich behandelten Versuchsgruppen noch gleichmäßig verteilt, so konnten trotz identischer Beckenpflege und Behandlung im weiteren Verlauf erhebliche Abweichung festgestellt werden. Dieses Phänomen war sowohl in den Kontrollgruppen, sowie auch in den mit Ozon behandelten Kreisläufen zu beobachten.

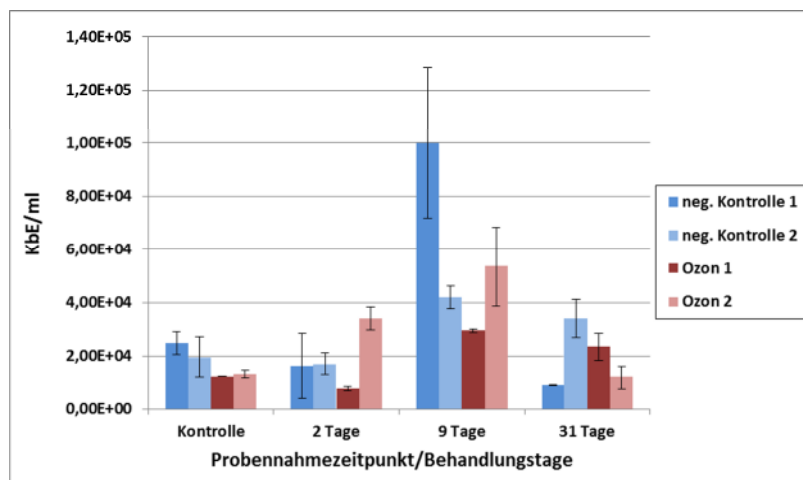


Abbildung 7-17: Gesamtkeimzahl im Prozesswasser von Garnelenanlagen unter Ozonbehandlung des Wassers.

Die Diversität der Bakteriengemeinschaft zeigte weder in den Wasserproben noch in den Proben des Biofilms und der Garnelen deutliche Unterschiede zwischen den Kontrollgruppen und den mit Ozon behandelten Versuchsgruppen. Einzig zwei Tage nach Beginn der Ozonexposition wies die bakterielle Gemeinschaft im Biofilm der Ozon behandelten Becken eine höhere Diversität auf. Insgesamt konnten über den Verlauf des Versuchs eine leichte Erhöhung der Diversität in allen Versuchsgruppen beobachtet werden (**Abbildung 7-18**). Die errechneten Shannon-Wiener Indices für die Proben der Garnelen ergaben ebenfalls keine Unterschiede.

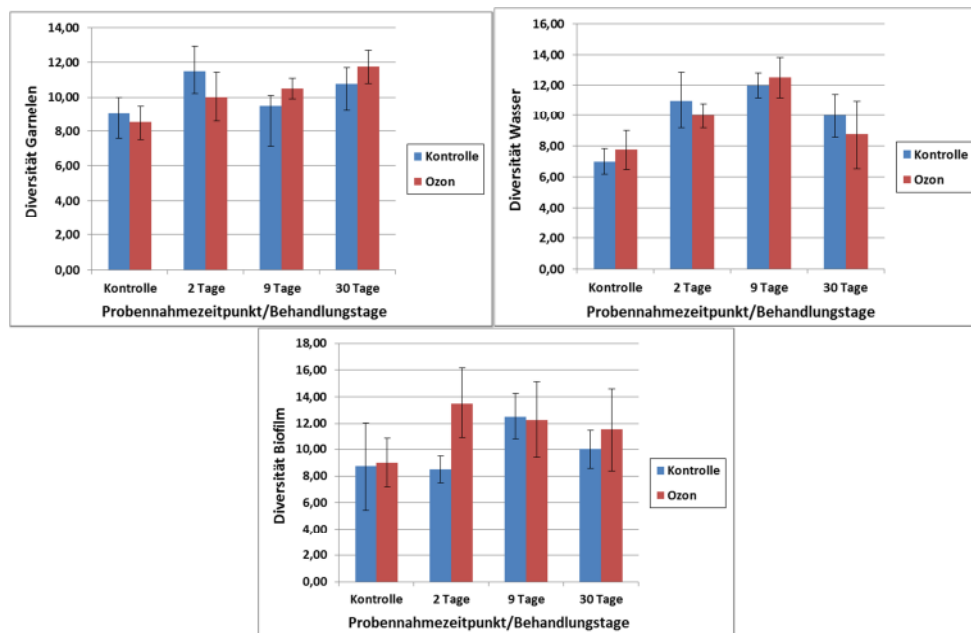


Abbildung 7-18: Bakterielle Gemeinschaft (Anzahl isolierter Taxa) auf Garnelen, im Prozesswasser und im Biofilm der Becken von Kreislaufanlagen unter Ozon-Behandlung des Prozesswassers.

Die Auswirkungen einer Ozonbehandlung auf die Gesamtkeimzahl des Wassers kann auf Grund der hohen Variabilität der Daten nicht eindeutig beurteilt werden. Auf die Diversität der Mikroflora in den behandelten Systemen scheint Ozon einen nur geringen Einfluss zu haben.

7.4 Versuch 4: Einsatz von UV und Ozon an juvenilen und adulten Garnelen

7.4.1 Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung

Der Einsatz von Ozon und UV-Licht sollte unter vergleichbaren Verhältnissen in parallel betriebenen Testkreisläufen untersucht werden, um die Ergebnisse aus den vorangegangenen Versuchen zu verifizieren. Im Versuch 2 mit UV-Einsatz waren juvenile Garnelen mit einem mittleren Körpergewicht < 1g eingesetzt worden, während in Versuch 3 das mittlere Körpergewicht der Garnelen bei 5-6g lag. Da das Körpergewicht von Lebewesen einen Einfluss auf die Sensibilität gegenüber Umweltfaktoren haben kann, wurde entschieden den Versuch parallel an kleineren und größeren Garnelen derselben Charge durchzuführen. Die Besatzzahl wurde nach Größe der Besatztiere angepasst und jeweils 20 kleinere Garnelen bzw. 14 größere Garnelen wurden eingesetzt. Die Lebendbiomasse pro Becken und Testkreislauf lag in den Kreisläufen mit größeren Tieren

etwas höher. Die Versuchsbedingungen sind in **Tabelle 12-2** im Anhang zusammengefasst.

Die Versuchsdauer betrug 30 Tage. Direkt im Anschluss an diesen Versuch wurde mit denselben Garnelen Versuch 5 als Fortsetzung zur Klärung möglicher längerfristiger Effekte angeschlossen.

Datenerhebung:

Physikalisch-chemische Parameter der Wasserqualität wurden mindestens im wöchentlichen Rhythmus erhoben (NH₄-N und NO₂-N, sowie O₂-Konzentrationen) bzw. im 2-Tage-Intervall für die Parameter pH-Wert, Wassertemperatur und Salinität. Die Probenahme und Messungen vor Ort erfolgten wie für Versuch 2 beschrieben, hier wurden abweichend auch Mischproben aus den Hälterungsbecken beprobt. Wasserproben zur Analyse durch ein externes Labor wurden zum Start des Versuchs als Mischprobe aus 3 Becken sowie zum Versuchsende als beckenspezifische Probe entnommen.

7.4.2 Ergebnisse aus Versuch 4

7.4.2.1 Verbrauch an Betriebsmitteln

Tabelle 7-5: Versuch 4: Übersicht Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) pro Testkreislauf (Ziffer 1-6) im Versuchszeitraum 15.09.2015 – 15.10.2015

Werte	K		K Ergebnis		Ozon		Ozon Ergebnis		UV Ergebnis	
	1	3	2	4	5	6	5	6	5	6
Summe von Futter/Tag [g]	179,8	260,4	440,2	260,4	179,8	440,2	176,7	263,5	440,2	
Summe von Wasserverbrauch/Tag [l]	108,8	107,0	215,8	99,0	104,0	203,0	104,8	101,9	206,7	
Mittelwert von WW [%/Tag]	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%	1,0%
Summe von Salzverbrauch/Tag [kg]	1,3	1,4	2,7	1,3	1,3	2,7	1,3	1,3	2,6	
Summe von Verbrauch NaHCO ₃ /Tag [kg]	0,02	0,02	0,03	0,02	0,01	0,03	0,01	0,02	0,04	
Summe von Entnahme TR gesamt [g]	5,1	16,3	21,4	12,4	11,4	23,8	8,5	10,7	19,2	

Die eingesetzten Futtermengen variierten, da jeweils in einem von zwei parallel behandelten Kreisläufen kleine und in den anderen größere Garnelen besetzt worden waren. Die Entnahme von Feststoffen variierte hier, wie auch in Versuch 3 beobachtet, stark innerhalb der Kontrollgruppe. Anders als in Versuch 3 wurden jedoch hier in TK 3 die meisten Feststoffe entnommen und in TK 1 die wenigsten.

7.4.2.2 Daten Wasserqualität

Eine Übersicht der Daten zur Wasserqualität gibt **Abbildung 7-20** (Messwerte s. Anhang mit **Tabelle 12-8**).

Im Versuchszeitraum von 30 Tagen wurden in den sechs Testkreisläufen pH-Werte zwischen 7,9 und 8,1 (SD $\pm 0,16$ bis $0,23$) gemessen, die damit im Toleranzbereich der Spezies *L. vannamei* liegen.

Die Salinität lag im Mittel der TK 1-4 zwischen $15,0 \pm 0,17$ g/l und in TK 5 und 6 bei $15,3 \pm 0,23$ g/l. Die Wassertemperatur lag zwischen $29,1 \pm 0,13^\circ\text{C}$ (TK 4) und $29,3 \pm 0,31^\circ\text{C}$ (TK 5 und 6). Die Sauerstoffkonzentrationen waren im Optimumbereich bei Werten > 7 mg/l, wobei die mittlere Sauerstoffkonzentration der unbehandelten Kontrolle $7,9 \pm 0,24$ mg/l betrug, die der mit Ozon behandelten Kreisläufe $7,8 \pm 0,3$ mg/l und die der mit UV behandelten Kreisläufe $7,5 \pm 0,4$ mg/l.

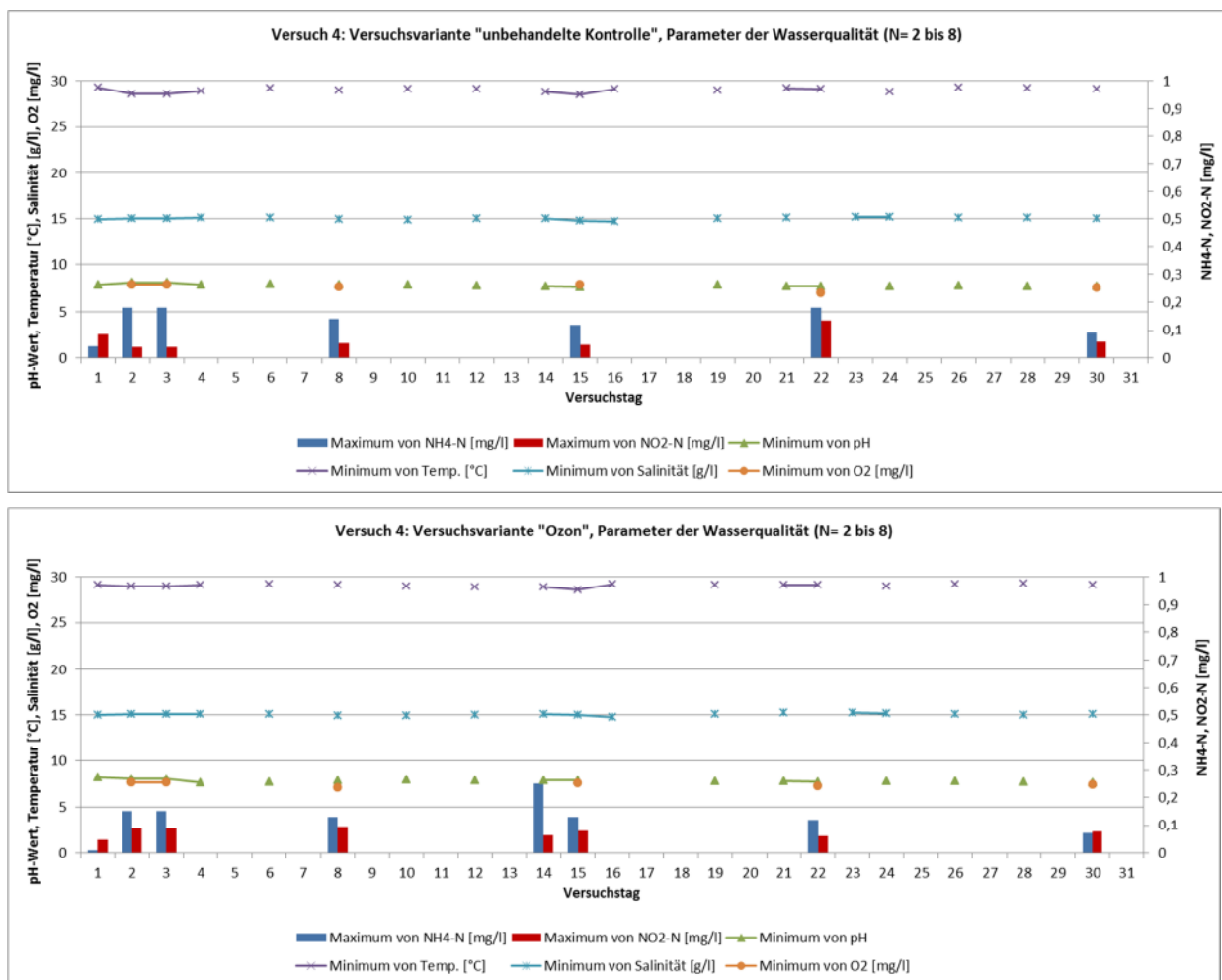


Abbildung 7-19: Versuch 4, Versuchsvariante „unbehandelte Kontrolle“ (oben) und „Ozon“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler NH4-N- und NO2-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter)

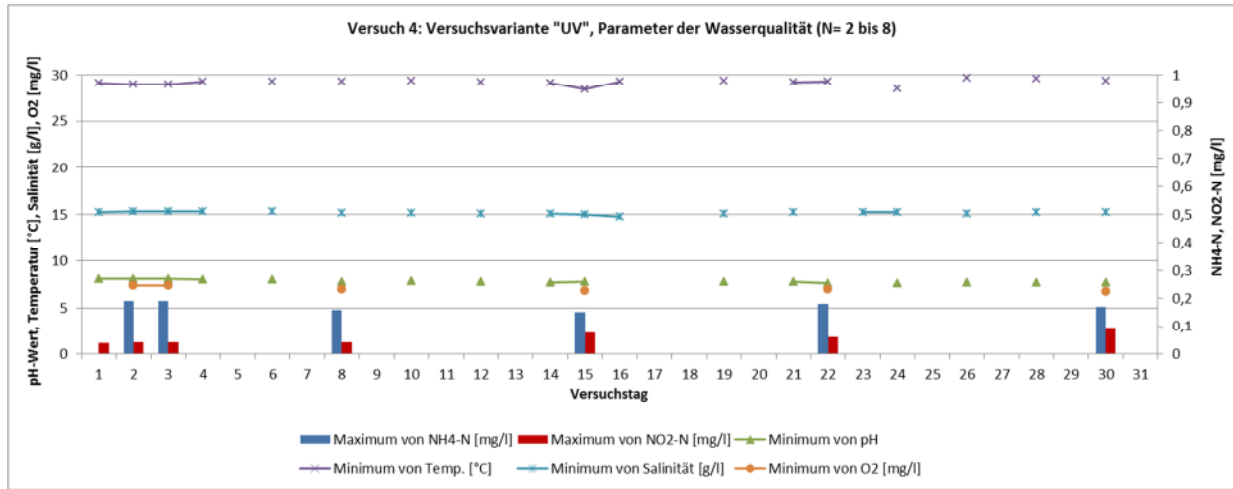


Abbildung 7-20: Versuch 4, Versuchsvariante „UV“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum: maximaler NH4-N- und NO2-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter)

Der Mittelwert für den Parameter abfiltrierbare Stoffe ist in der unbehandelten Kontrolle wie in den Versuchen 2 und 3 gegenüber den anderen Varianten erhöht, aber auch die Abweichungen vom Mittelwert sind erhöht: 56,5 mg/l ($\pm 31,73$) gemittelt über mehrere Probenahmen aus den zwei Kreisläufen der Kontrolle im Vergleich zu der Ozon-Variante mit 37,9 mg/l ($\pm 17,07$) und der UV-Variante mit 24,9 mg/l ($\pm 10,88$).

In diesem Versuch liegen die mittleren Konzentrationen von Stickstoff-Gesamt und geringfügig auch Nitrat-Stickstoff in der unbehandelten Kontrolle etwas höher gegenüber den Varianten "Ozon" und "UV". Zudem ist seit dem Abschluss von Versuch 3 Gesamt-N zwar gestiegen, aber nicht Nitrat-N. Dies kann mit der erhöhten Wasserwechselrate in diesem Versuch zusammenhängen, die aufgrund erhöhter Nitratwerte vor Versuchsbeginn als notwendig erachtet wurde (s. Kap. Tabelle 7-3). Gesamt-Stickstoff erreicht in der Kontrolle 79,9 mg/l ($\pm 5,44$), in der Ozon-Variante 69,5 mg/l ($\pm 21,62$) und in der UV-Variante 60 mg/l ($\pm 14,16$). Die Abweichung der Messwerte ist in der Ozon-Variante besonders hoch. Nitrat-Stickstoff nimmt in diesem Versuch einen geringeren Anteil des Gesamt-N ein und liegt in mittleren Konzentrationen von 35,1 mg/l ($\pm 19,69$) für die Variante "UV", 40,7 mg/l ($\pm 26,99$) für die Variante "Ozon" und 43,1 mg/l ($\pm 24,12$) in der unbehandelten Kontrolle vor, bei ähnlich hohen Abweichungen in allen Varianten.

Die Nitratwerte sind insgesamt unbedenklich.

Für Gesamt-N sind in diesem Versuch etwas erhöhte Konzentrationen in der unbehandelten Kontrolle zu beobachten. Allerdings sind die Abweichungen der Konzentrationen in den Ozon-Varianten hier erneut deutlich höher gegenüber der unbehandelten Kontrolle.

Gelöster Kohlenstoff (DOC) erreicht in der unbehandelten Kontrolle die höchste Konzentration (34,9 mg/l \pm 14,79) es folgt die Ozon-Variante (30,1 mg/l \pm 7,62) und die UV-Variante (24,1 \pm 5,04). Die Abweichungen vom Mittelwert sind in diesem Versuch in allen Varianten deutlich höher als in den vorangegangenen Versuchen.

Für den Parameter gelöstes Phosphat (PO₄-P) ist, wie für Nges-N, ein Anstieg seit dem Abschluss des vorangegangenen Versuchs zu sehen, jedoch sind nicht nur in der unbehandelten Kontrolle, sondern auch in der Ozon-Variante höhere Konzentrationen gemessen worden (35,88 mg/l \pm 2,8 bzw. 35,1 mg/l \pm 9,0) gegenüber 23,3 mg/l \pm 5,5 in der UV-Variante. Auffallend hoch sind die Abweichungen in der Ozon-Variante.

Die häufig hohen Abweichungen erlauben keine Schlussfolgerungen in Bezug auf die Behandlung mit Ozon bzw. UV, stellen aber für sich genommen ein Indiz dafür dar, dass eine Behandlung mit Ozon einen Einfluss auf die Stoffumsetzungen in einer Anlage darstellen kann.

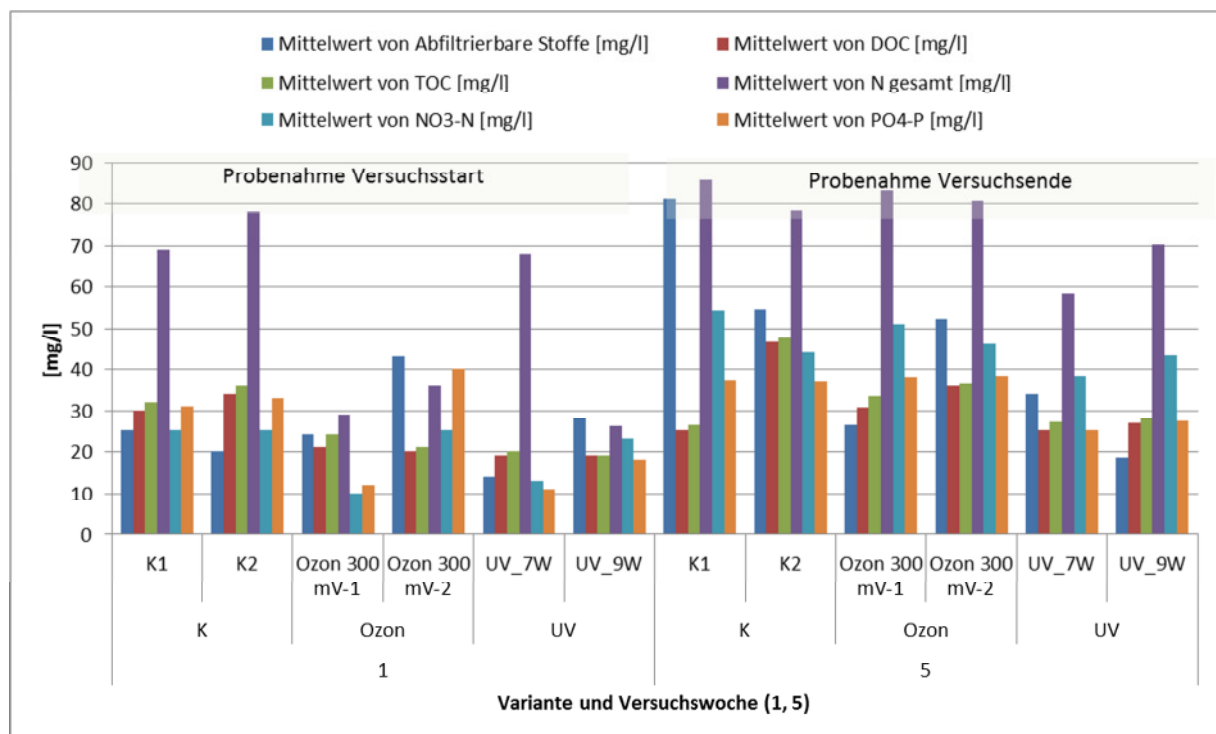


Abbildung 7-21: Versuch 4: abfiltrierbare Stoffe, gelöster und gesamt-organischer Kohlenstoff (DOC, TOC), Gesamt- und Nitrat-Stickstoff (Nges, NO₃-N) sowie Orthophosphat (PO₄-P) zu Versuchsstart (Mischprobe aus 3 Becken, N=1) und zum Ende (N=3)

Die Konzentrationen von Kupfer (gesamt) übertraf nur bei einer Variante in Versuchswoche 5 leicht die Toleranzgrenze von 0,025 mg/l. Zink-Konzentrationen blieben im Rahmen der Toleranzgrenze von 0,1 mg/l (s. Anhang, **Kap. 12.2**). Bei der Variante „Kontrolle“ und „UV“ sind Kupfer- und

Zink-Konzentrationen im Versuchsverlauf angestiegen, bei der Variante „Ozon“ gesunken, allerdings ist hier die Abweichung bei den Werten für Zink sehr hoch. Der Rückgang der Kupferkonzentration in der Ozon-Variante wurde auch in Versuch 3 beobachtet (s. Kap. 7.3.2.2).

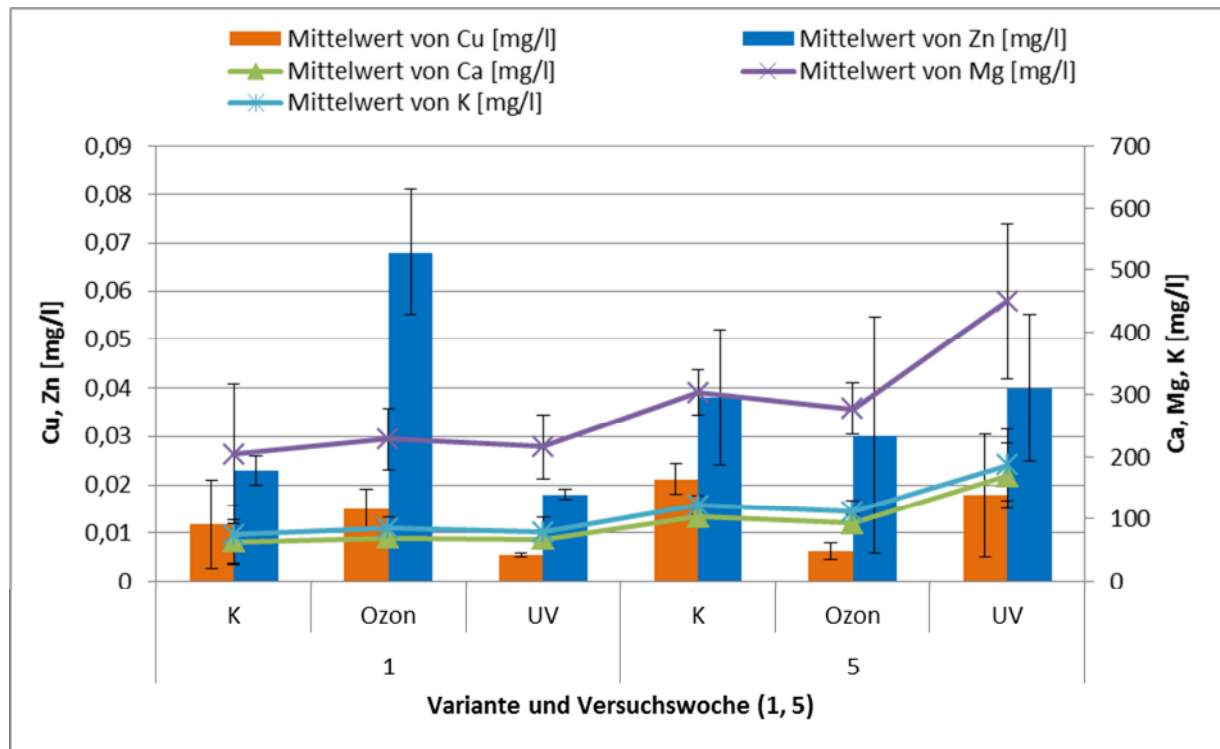


Abbildung 7-22: Versuch 4: Konzentrationen an Metallionen und essenziellen Ionen (Ca, Mg, K) im Versuchsverlauf (N=2 in Woche 1, N=6 in Woche 5)

7.4.2.3 Daten Garnelen

Die kleineren Garnelen waren in den Testkreisläufen Nr. 1 (Kontrolle), Nr. 4 (Ozon) und Nr. 5 (UV) eingesetzt worden. Die Antennen wurden hier aufgrund der geringen Größe der Tiere nicht zu Versuchsstart vermessen, daher liegen keine Werte vor für den Parameter „Verhältnis Antennen-/Körperlänge“.

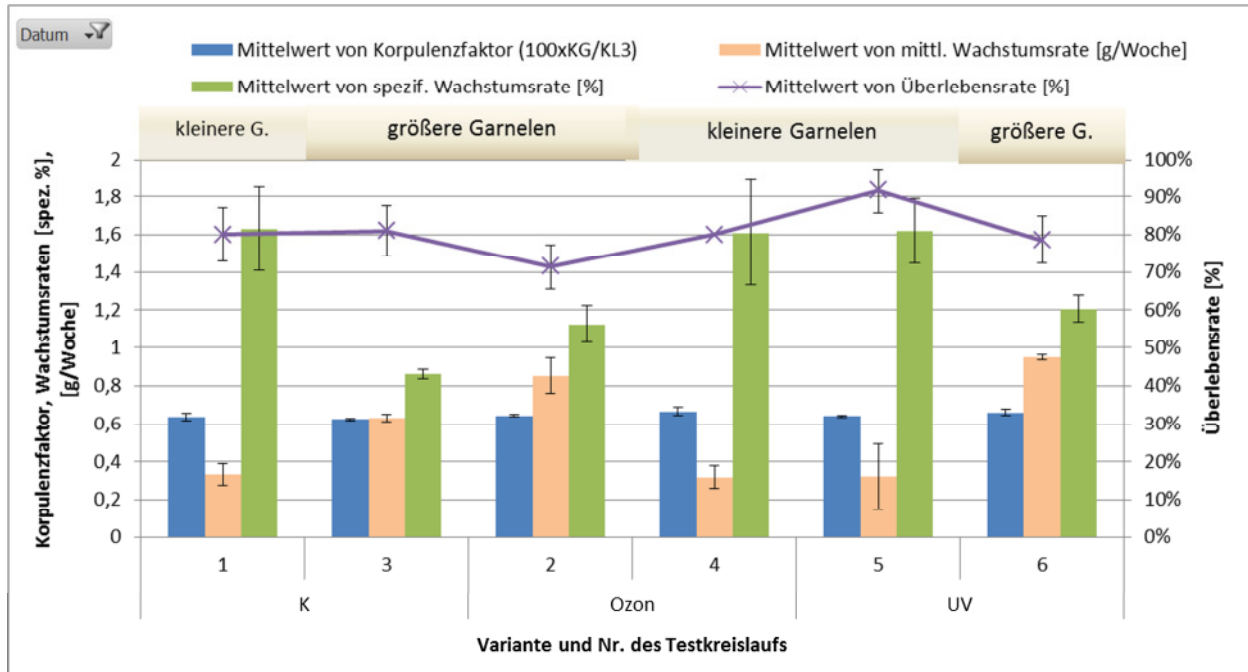


Abbildung 7-23: Versuch 4: Überlebensrate [%], Korpulenzfaktor (Versuchsende), mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) an kleineren und größeren Garnelen

In diesem Versuch wurden mit Überlebensraten zwischen 71% und 91% deutlich bessere Ergebnisse erzielt als in den zwei vorangegangenen Versuchen. Die mittleren Wachstumsraten in Gramm pro Woche sind bei den kleineren Garnelen-Gruppen niedriger, die spezifischen Wachstumsraten gemäß der prozentualen Zunahme höher als bei den größeren Garnelen.

7.4.2.4 Kennzahlen Versuch 4

Tabelle 7-6: Kennzahlen Versuch 4 (N=3 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf; N=1 für spezifischen Verbrauch)

Werte	K		Ozon		UV		UV		UV Ergebnis
	Ergebnis		Ergebnis		Ergebnis		Ergebnis		
	K1	K2	Ozon 300 mV-1	Ozon 300 mV-2	UV 7W	UV 9W	UV 7W	UV 9W	
Mittelwert von Überlebensrate [%]	80,0%	81,0%	80,5%	71,4%	80,0%	75,7%	78,6%	91,7%	85,1%
Mittelwert von FCR/Becken	4,76	1,15	2,95	9,98	4,43	7,20	5,61	2,91	4,26
Maximum von spez. Wasserverbrauch [l]/ kg Garnelen	616,8	264,4	616,8	260,0	596,2	596,2	232,5	533,2	533,2
Maximum von spez. Salzverbrauch [kg]/ kg Garnele	7,6	3,3	7,6	3,5	7,6	7,6	3,0	6,7	6,7
Maximum von spez. NaHCO ₃ -Verbrauch/ Futter [g/g]	0,1	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,1

Die Differenzen im spezifischen Wasserverbrauch sind durch den Einsatz der zwei Größenklassen an Garnelen bedingt. Im Verhältnis zur erzielten Produktionsmenge wird für die kleineren Garnelen

ein höherer Wasserverbrauch benötigt. Der sehr niedrige FCR-Wert in der 2. Kontrollgruppe (TK3) ist bedingt durch einen negativen FCR für Garnelen aus einem der Becken.

7.5 Versuch 5 - in Verlängerung von Versuch 4: Einsatz von UV und Ozon an juvenilen und adulten Garnelen

7.5.1 Besonderheiten in Versuchsaufbau und Datenerhebung

Die relativ guten Überlebensraten erlaubten eine Verlängerung des Versuchs, um einen möglichen längerfristig wirkenden Effekt auf die erhobenen Parameter erfassen zu können. Die Gesamt-Versuchsperiode von Versuch 3 und Versuch 4 umfasste 71 Tage.

Die Garnelen wurden nach dem Wiegen und Vermessen direkt wieder in ihre Versuchsbecken gesetzt.

Hier sollen die Ergebnisse aus dem Gesamtzeitraum zusammen mit den Ergebnissen aus Versuch 4 dargestellt werden. Die Diagramme zu den Ergebnissen wurden zur besseren Übersichtlichkeit separat für die einzelnen Versuchsvarianten erstellt.

Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 12-2 im Anhang zusammengefasst.

Datenerhebung:

Physikalisch-chemische Parameter der Wasserqualität wurden mindestens im wöchentlichen Rhythmus erhoben (NH₄-N und NO₂-N, sowie O₂-Konzentrationen) bzw. im 2-Tage-Intervall für die Parameter pH-Wert, Wassertemperatur und Salinität. Die Probenahme und Messungen vor Ort erfolgten wie für Versuch 2 beschrieben, hier wurden abweichend auch Mischproben aus den Hälterungsbecken beprobt.

7.5.2 Ergebnisse aus Versuch 5 und im Gesamtversuchszeitraum Versuch 4 + Versuch 5

7.5.2.1 Verbrauch an Betriebsmitteln

Tabelle 7-7: Übersicht Gesamtverbrauch Betriebsmittel und Entnahme von Feststoffen (TR) pro Testkreislauf **a**) im Versuchszeitraum Versuch 5 (15.10.2015 – 25.11.2015)

Werte	K		Ozon		Ozon		UV		Gesamtergebnis	
	Ergebnis		Ergebnis		Ergebnis		Ergebnis			
	1	3	2	4	5	6	5	6		
Summe von Futter/Tag [g]	237,8	344,4	582,2	344,4	237,8	582,2	233,7	348,5	582,2	1746,6
Summe von Wasserverbrauch/Tag [l]	167,5	145,5	313,0	142,5	157,5	300,0	149,5	144,5	294,0	907,0
Summe von Salzverbrauch/Tag [kg]	1,8	1,9	3,7	1,9	2,0	3,9	1,8	1,8	3,7	11,3
Summe von Verbrauch NaHCO ₃ /Tag [kg]	0,09	0,06	0,15	0,06	0,07	0,14	0,09	0,07	0,15	0,44
Summe von Entnahme TR gesamt [g]	8,2	13,2	21,4	22,7	16,3	39,0	22,7	52,4	75,1	135,6

b) im Gesamtzeitraum Versuch 4+5 (15.09.2015 – 25.11.2015)

Werte	K		Ozon		Ozon		UV		Gesamtergebnis	
	Ergebnis		Ergebnis		Ergebnis		Ergebnis			
	1	3	2	4	5	6	5	6		
Summe von Futter/Tag [g]	417,6	604,8	1022,4	604,8	417,6	1022,4	410,4	612,0	1022,4	3067,2
Summe von Wasserverbrauch/Tag [l]	276,3	252,5	528,8	241,5	261,5	503,0	254,3	246,4	500,7	1532,5
Summe von Salzverbrauch/Tag [kg]	3,1	3,3	6,4	3,2	3,3	6,5	3,2	3,2	6,3	19,3
Summe von Verbrauch NaHCO ₃ /Tag [kg]	0,11	0,08	0,18	0,08	0,08	0,16	0,10	0,09	0,19	0,53
Summe von Entnahme TR gesamt [g]	13,3	29,5	42,8	35,2	27,7	62,9	31,2	63,1	94,3	200,0

In Versuch 5 sind die Feststoff-Entnahmen in Testkreislauf 6 (UV-Variante) etwa doppelt so hoch wie in den anderen Varianten.

7.5.2.2 Daten Wasserqualität

Die Daten zur Wasserqualität sind tabellarisch im Anhang zusammengestellt (s. Tabelle **12-10**).

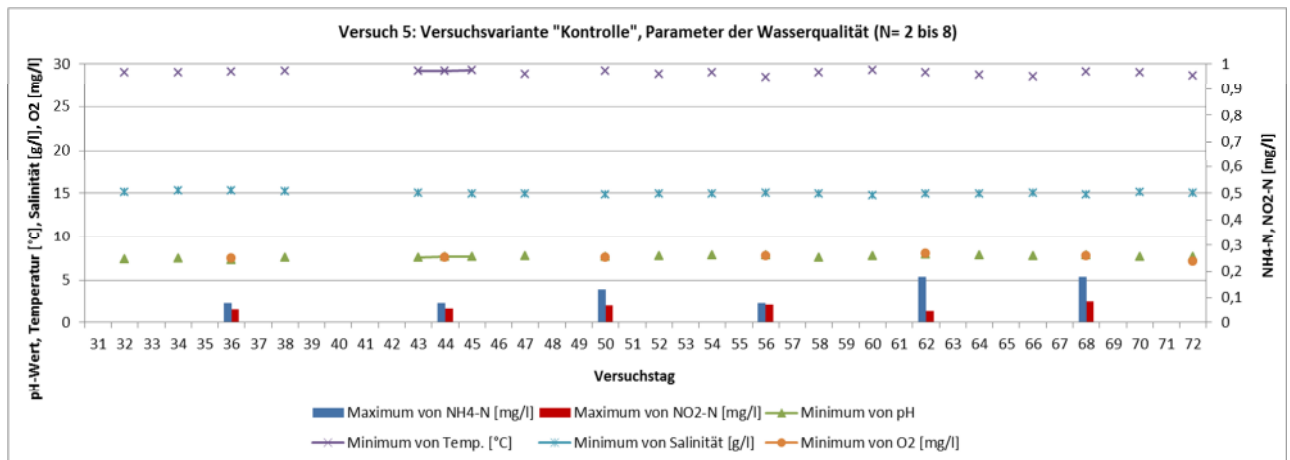


Abbildung 7-24: Versuch 5, Versuchsvariante „Kontrolle“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum, anschließend an Versuch 4: maximaler NH₄-N- und NO₂-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter)

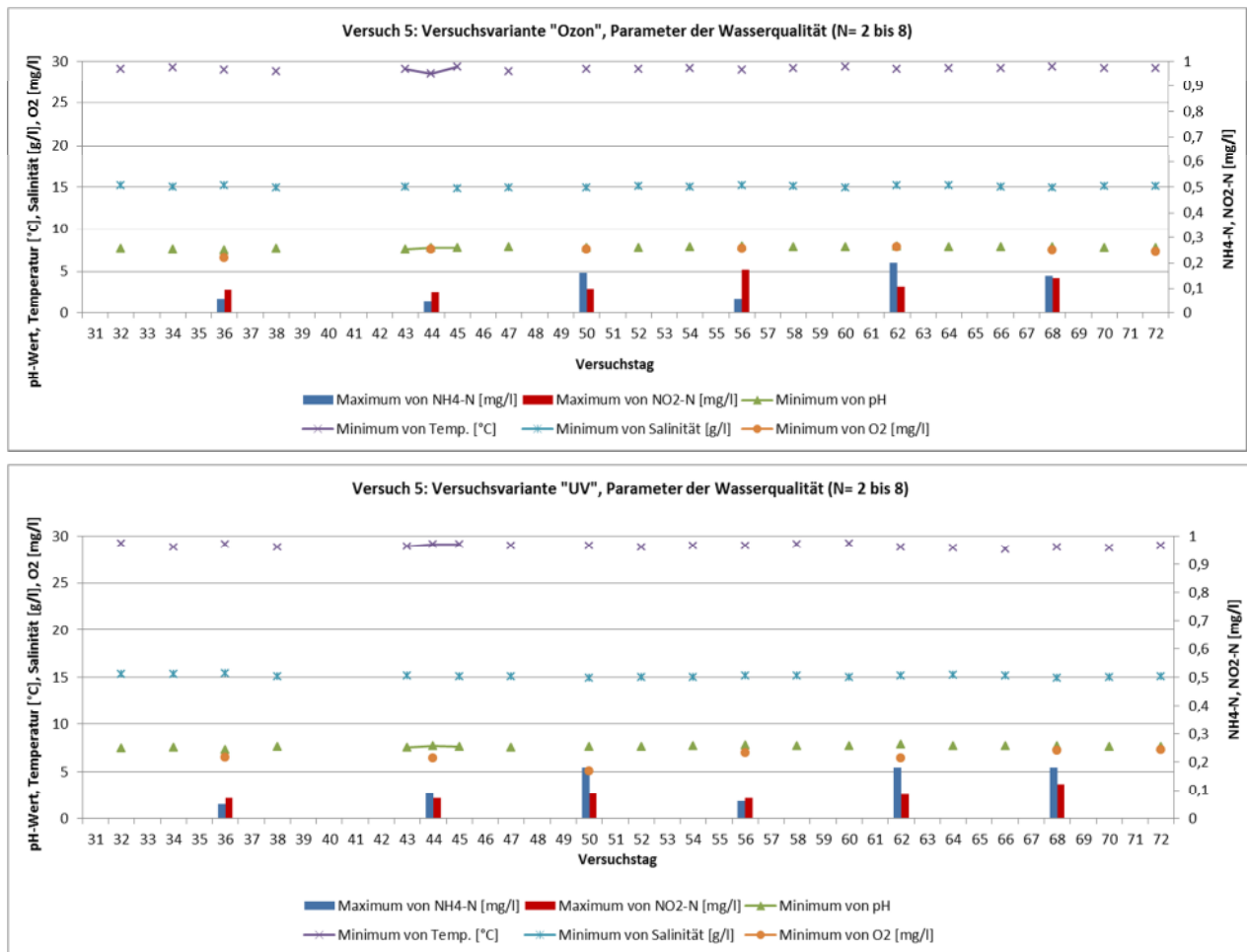


Abbildung 7-25: Versuch 5, Versuchsvariante „Ozon“ (oben) und „UV“: Verlauf der kritischen Wasserparameter im Versuchszeitraum, anschließend an Versuch 4: maximaler NH4-N- und NO2-N-Gehalt [mg/l] sowie minimale Messwerte für pH-Wert, Sauerstoffgehalt [mg/l] und Salinität [g/l] (N= 2 bzw. 2-8 für physikal. Parameter)

7.5.2.3 Daten Garnelen

Die kleineren Garnelen waren gemäß Versuch 3 in den Testkreisläufen Nr. 1 (Kontrolle), Nr. 4 (Ozon) und Nr. 5 (UV) verblieben. Die Antennen wurden hier aufgrund der geringen Größe der Tiere nicht zu Versuchsstart vermessen, daher liegen keine Werte vor für den Parameter „Verhältnis Antennen-/ Körperlänge“.

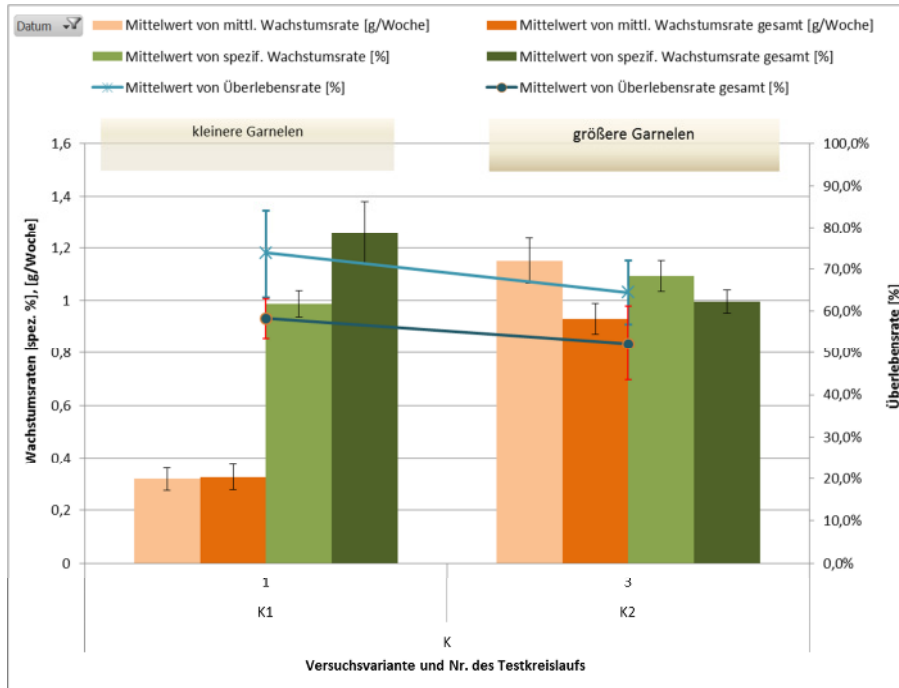


Abbildung 7-26: Versuch 5 und 4+5, unbehandelte Kontrolle: Überlebensrate [%], mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) im Gesamt-Versuchszeitraum von Versuch 4 und 5 („gesamt“), sowie in Versuch 5

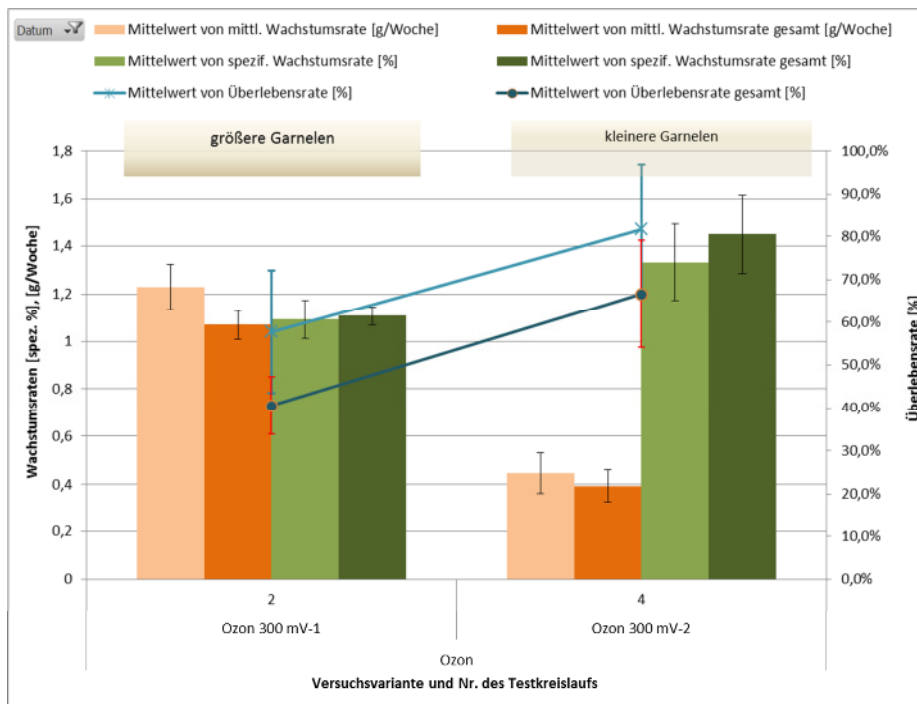


Abbildung 7-27: Versuch 5 und 4+5, Ozon-Variante: Überlebensrate [%], mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) im Gesamt-Versuchszeitraum von Versuch 4 und 5 („gesamt“), sowie in Versuch 5

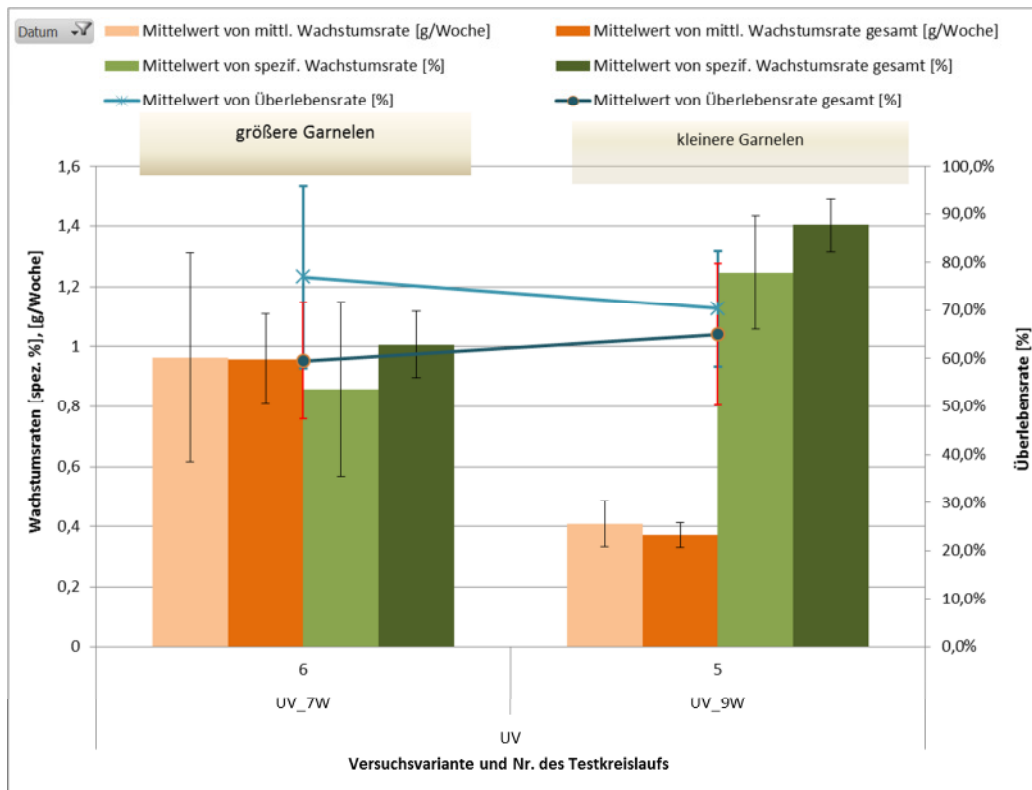


Abbildung 7-28: Versuch 5 und 4+5, UV-Variante: Überlebensrate [%], mittlere Wachstumsrate [g/Wo] sowie spezifische Wachstumsrate [%/Tag] (N=3) im Gesamt-Versuchszeitraum von Versuch 4 und 5 („gesamt“), sowie in Versuch 5

Über den Gesamtzeitraum von 71 Tagen wurden in den 18 separaten Hälterungsbecken Überlebensraten zwischen 36% und 85% ermittelt, die mittleren Überlebensraten pro Testkreislauf lagen zwischen 40% (TK2, Ozon) und 67% (TK4, Ozon). Die mittleren Wachstumsraten in Gramm pro Woche sind bei den kleineren Garnelen-Gruppen auch hier niedriger, variieren jedoch insgesamt über alle Testkreisläufe stark, zwischen einer mittleren Wachstumsrate von 0,3g/ Woche bis 1,3g/Woche.

7.5.2.4 Kennzahlen Versuch 5

Tabelle 7-8: Kennzahlen Versuch 5 (N=3 für Überlebensrate und FCR pro Kreislauf; N=1 für spezifischen Verbrauch)

Werte	K		K Ergebnis		Ozon		Ozon Ergebnis		UV
	1	3	2	4	5	6	UV Ergebnis		
Mittelwert von Überlebensrate [%]	73,7%	64,4%	69,1%	57,7%	81,6%	69,7%	70,4%	77,0%	73,7%
Mittelwert von FCR/Becken	0,90	-7,65	-3,38	-0,49	4,44	1,98	50,72	1,43	26,08
Maximum von spez. Wasserverbrauch [l]/ kg Garnelen	861,63	355,92	861,6	422,22	649,35	649,4	652,55	309,54	652,6
Maximum von spez. Salzverbrauch [kg]/ kg Garnele	9,13	4,77	9,1	5,66	8,11	8,1	8,03	3,96	8,0
Maximum von spez. NaHCO ₃ -Verbrauch/ Futter [g/g]	0,45	0,15	0,4	0,19	0,30	0,3	0,38	0,14	0,4

7.6 Zusammenfassung ausgewählter biologischer Kenngrößen aus den Versuchen Nr. 2 bis 5

Tabelle 7-9: Ergebnisse zu Überlebens- und Wachstumsraten in den Versuchen Nr. 2 - 5

Versuch Nr.:		Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4		Versuch 5	
Behandlung	Dauer [Tage]	43	40	30		41	
	MBW [g] START	0,21	5,56	2,22	9,18	3,61	12,66
unbehandelte Kontrolle	Überlebensrate [%]/Tag	98,3%	98,5%	99,3%	99,4%	99,4%	99,1%
	spezif. Wachstumsrate [%]/Tag	8,0%	2,0%	1,6%	0,9%	1,0%	1,1%
	Korpulenzfaktor (ENDE)	0,56	0,68	0,64	0,63	0,65	0,67
UV 7W	Überlebensrate [%]/Tag	98,3%			99,3%		99,4%
	spezif. Wachstumsrate [%]/Tag	7,1%			1,2%		0,9%
	Korpulenzfaktor	0,70			0,66		0,68
UV 9W	Überlebensrate [%]/Tag	98,4		99,7		99,3	
	spezif. Wachstumsrate [%]/Tag	7,1%		1,6%		1,2%	
	Korpulenzfaktor (ENDE)	0,63		0,64		0,63	
Ozon	Überlebensrate [%]/Tag		98,9%	99,4%	99,0%	99,6%	99,0%
	spezif. Wachstumsrate []/Tag		1,7%	1,6%	1,1%	1,3%	1,1%
	Korpulenzfaktor (ENDE)		0,64	0,66	0,64	0,65	0,66

In Versuch 2 war die Überlebensrate in allen Varianten sehr niedrig, die spezifische Wachstumsrate jedoch am größten. Die hohe spezifische Wachstumsrate erklärt sich aus dem Einsatz sehr kleiner Garnelen mit einem Startgewicht von im Mittel nur 0,21 g. In den folgenden Versuchen unter Einsatz größerer Garnelen wurden zwar z.T. deutlich bessere Überlebensraten erzielt, diese blieben aber hinter den zu erwartenden Wachstumsraten zurück.

Referenzzahlen zu Überlebensraten liegen aus Veröffentlichungen der Federal University of Rio Grande (Krummenauer et al. 2011) sowie der Texas A&M University (Lingenfelter et al. 2012) und des Oceanic Institute of Hawaii (Otohi et al. 2009 und Moss et al. 2002), USA, vor. Beide US-Institute sind Forschungseinrichtungen des Marine Shrimp Farming Projects der USA. Die spezifischen Überlebensraten pro Tag werden mit 99,76% bis 99,93%/Tag angegeben. Der Futtermittelhersteller CreveTec setzt eine Überlebensrate von 99,8% an.

Polyplan hat im Rahmen eines anderen FuE-Vorhabens („Sabina Shrimps“ Projektträger AiF, Förderkennzeichen KU2197801FO9) in 2011 an Postlarven (ab PL18) Fütterungsversuche mit Algen als Futtermittel-Substitut in separaten Hälterungsbecken durchgeführt, die an den Wasserkreislauf der Produktionsbecken im „Garnelenhof Schäfer“ angeschlossen waren. Die Besatzdichte betrug 1120 PL/m². Nach 28 Tagen wurden spezifischen Überlebensraten von 99,64%/Tag bzw. 99,65%/Tag bestimmt.

Als negative Einflussgröße kommt in Versuch 2 die gemessene erhöhte Kupferkonzentration in Frage.

7.7 Ergebnisse des Monitoring in der Vorhälterung des Aquakulturlabors Polyplan (Bremen)

7.7.1 Datenerhebung

Die Datenerhebung in der Vorhälterung begann ab Inbetriebnahme des Kreislaufsystems im August 2015 zunächst in einer täglichen Frequenz. Mit Stabilisierung der Nitrifikationsleistung des Biofilters wurden bestimmte Parameter, wie NH₄-N und NO₂-N-Konzentrationen noch im 2-Tages- und später im Wochenrhythmus bestimmt und dokumentiert. Eine Aufnahme in die Datenbank Delta erfolgte für die Daten der wichtigsten Parameter aus dem Zeitraum 1.3.2015 bis 29.2.2016, dies beinhaltet folgende Parameter:

Parametergruppe	Parameter	Frequenz der Datenerhebung
Betriebsmittel	<ol style="list-style-type: none"> 1. Futtermittel (pro Becken) 2. Wasserverbrauch (für Wasserwechsel + Verdunstungsausgleich, pro Kreislauf) 3. Puffermittel (pro Kreislauf) 4. Salzverbrauch (berechnet aus Salinität des Wassers für Wasserwechsel, pro Kreislauf) 	Täglich bzw. bei Bedarf
Wasserqualität, Vor-Ort-Bestimmung	Physikalisch-chemische Parameter	Täglich (Sondenparameter) bis wöchentlich (NH ₄ -N und NO ₂ -N)
Wasserqualität und Feststoff-Charakterisierung, Laboranalyse	<ol style="list-style-type: none"> 1. Stickstoff gesamt 2. Ammonium-N 3. Nitrit-N 4. Nitrat-N 5. Gesamt organ. Kohlenstoff (TOC) 6. Gelöster organ. Kohlenstoff (DOC) 7. Abfiltrierbare Stoffe 8. Trockenrückstand absetzbarer Stoffe 9. Stickstoffgehalt in Feststoffen (TR) 10. Kohlenstoff-Gehalt in Feststoffen (TR) 	Stichproben an mehreren Tagen der Kultur (in den Monaten 04, 05 und 07-2015)
Garnelen	<ol style="list-style-type: none"> 1. Anzahl Tiere 2. Körpergewicht 3. Körperlänge 4. Antennenlänge (links und rechts) – nur bei Tieren ab einer Mindestgröße von 4-5 cm 	Stichproben an mehreren Tagen der Kultur
Mikrobiologie von Anlagen und Garnelen (TiHo)	Gesamtkeimzahl im Wasser der Hälterungsbecken [KbE/ml]	Stichprobe (Datum: 4.2.2015)

7.7.1.1 Daten Wasserqualität

Der Verlauf der kritischen Parameter Wassertemperatur, pH-Wert, Salinität, Sauerstoffkonzentration sowie Konzentrationen der toxischen Stickstoffverbindungen Ammonium-N und Nitrit-N sind in

Abbildung 7-29 dargestellt, die aus Delta extrahiert wurde. Der Beobachtungszeitraum deckt ein Jahr der Kultur mit Besatz im März 2015 ab. Die Salinität war schonend über einen Zeitraum von

mehreren Wochen auf ein Niveau von 15-18 g/l abgesenkt worden. Der pH-Wert, und die Konzentrationen an NH₄-N und NO₂-N liegen im Toleranzbereich der Spezies *L. vannamei*. Die Sauerstoffkonzentration sank einmalig auf etwas unter 5 mg/l ab, dies geschah in einer Phase sehr hoher Biomassedichte, in der auch die Ammonium- und Nitritwerte anstiegen (Mai bis Juni 2015). Nach Entnahme einer größeren Zahl Garnelen für die Versuche im Juni und September blieben die Werte stabil im Toleranzbereich.

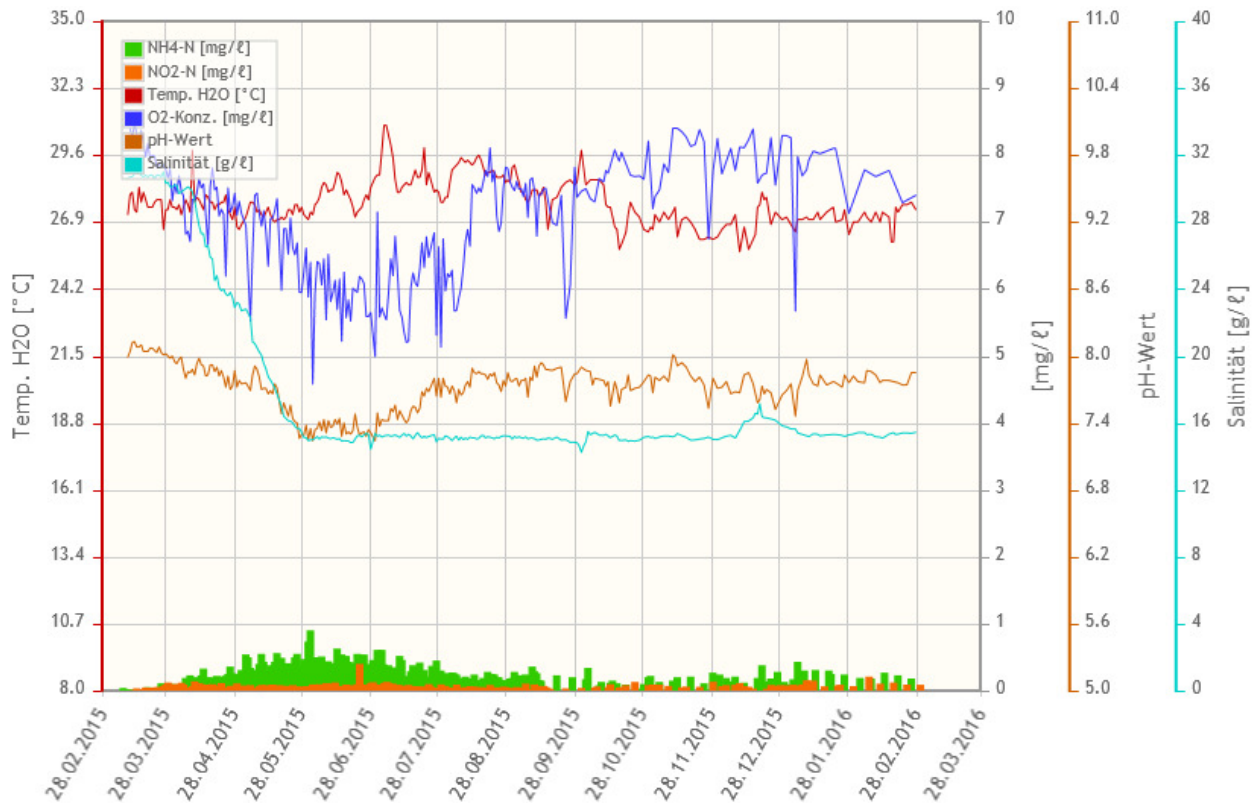


Abbildung 7-29: Jahresverlauf kritischer Wasserqualitätsparameter in der Vorhälterung Becken 1

Tabelle 7-10: Ergebnisse der Laboranalysen an Proben aus der Vorhälterung (N=5) für die Parameter: abfiltrierbare Stoffe, TOC, DOC, Nges-N, NO₃-N, PO₄-P, Pges-P sowie Schwermetalle (Cu, Zn gesamt) und essenzielle Ionen (Ca, Mg, K)

Werte		Werte		Werte	
Mittelwert von Abfiltrierbare Stoffe [mg/l]	117,6	Minimum von Abfiltrierbare Stoffe [mg/l]	43,00	Maximum von Abfiltrierbare Stoffe [mg/l]	256,00
Mittelwert von TOC [mg/l]	24,48	Minimum von TOC [mg/l]	8,40	Maximum von TOC [mg/l]	37,00
Mittelwert von DOC [mg/l]	12,72	Minimum von DOC [mg/l]	6,20	Maximum von DOC [mg/l]	17,00
Mittelwert von N gesamt [mg/l]	95	Minimum von N gesamt [mg/l]	33,00	Maximum von N gesamt [mg/l]	143,00
Mittelwert von NO ₃ -N [mg/l]	37,6	Minimum von NO ₃ -N [mg/l]	26,00	Maximum von NO ₃ -N [mg/l]	49,00
Mittelwert von PO ₄ -P [mg/l]	14,7	Minimum von PO ₄ -P [mg/l]	7,50	Maximum von PO ₄ -P [mg/l]	19,00
Mittelwert von Pges-P [mg/l]	8,734	Minimum von Pges-P [mg/l]	0,67	Maximum von Pges-P [mg/l]	15,00
Mittelwert von Alkalinität, HCO ₃ [mg/l]	234,8	Minimum von Alkalinität, HCO ₃ [mg/l]	182,00	Maximum von Alkalinität, HCO ₃ [mg/l]	296,00
Mittelwert von Cu [mg/l]	0,0422	Minimum von Cu [mg/l]	0,03	Maximum von Cu [mg/l]	0,06
Mittelwert von Zn [mg/l]	0,04	Minimum von Zn [mg/l]	0,02	Maximum von Zn [mg/l]	0,06
Mittelwert von Ca [mg/l]	223	Minimum von Ca [mg/l]	179,00	Maximum von Ca [mg/l]	284,00
Mittelwert von Mg [mg/l]	730,8	Minimum von Mg [mg/l]	624,00	Maximum von Mg [mg/l]	904,00
Mittelwert von K [mg/l]	209,2	Minimum von K [mg/l]	193,00	Maximum von K [mg/l]	235,00

Die untersuchten chemischen Messgrößen lagen größtenteils im Toleranzbereich der Spezies *L. vannamei*. Für Kupfer zeichnet sich jedoch eine Überschreitung der Toleranzgrenze ab, die für Kupfer (gesamt) mit < 0,01 mg/l bzw. <0,025 mg/l angegeben ist (Boyd 2000 bzw. Wyk & Scarpa 1999; s. Kapitel 12.1).

7.7.2 Daten Garnelen

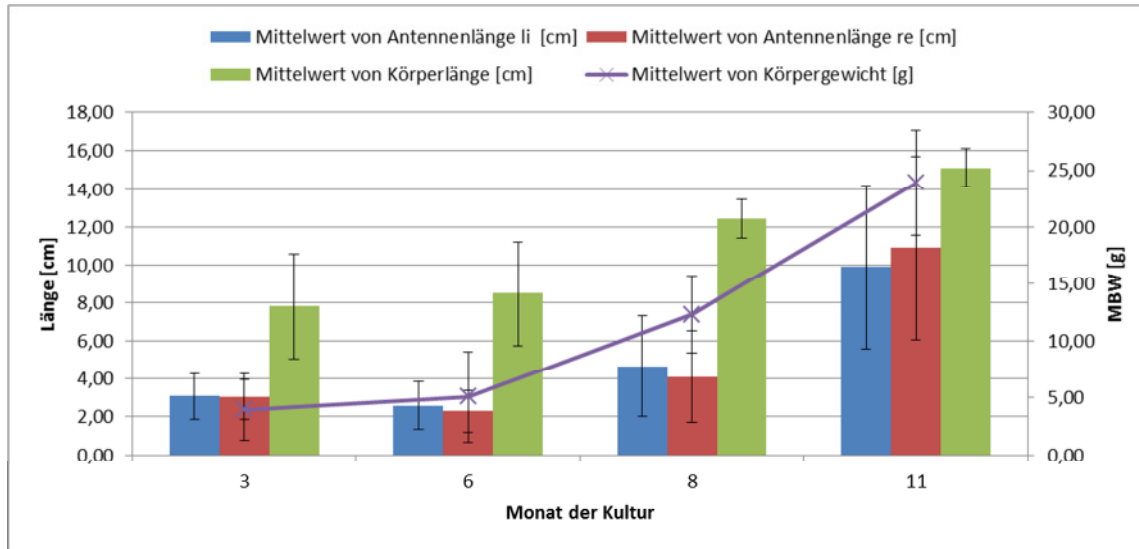


Abbildung 7-30: Mittlere Körpermaße und –gewichte von Garnelen in der Vorhälterung (N=83-390)

Die Garnelen aus Besatz 3, vom März 2015, zeigten bei verschiedenen Messkampagnen im Laufe der Kulturdauer von 11 Monaten ein inhomogenes und besonders in den ersten Monaten ab Besatz ein deutlich geringeres Wachstum als dies aus Erfahrungswerten im „Garnelenhof Schäfer“ und aus der Literatur zu erwarten war. Der Mittelwert der Daten von 8 Messungen ergab eine Wachstumsrate von 0,72 g/Woche, mit niedrigen Raten von nur 0,6 g/Woche in den ersten 6 Monaten und einer Wachstumsrate von 1,2 g/Woche ab dem 7. Monat. Das geringere Wachstum und die Erholung der Wachstumsrate nach dem ersten Halbjahr kann mit der Entwicklung der Besatzdichte erklärt werden, die in den ersten Monaten kontinuierlich angestiegen war auf sehr hohe Dichten bis zu ca. 800 Garnelen pro m² und ca. 8 kg/m³. Nach Entnahme größerer Zahlen an Garnelen für den Besatz in den Versuchen, die ab Ende Juni und Mitte September starteten, ging die Besatzdichte deutlich zurück. Eine negative Korrelation zwischen Wachstumsrate und Besatzdichte wurde u.a. von Williams et al. (1996) beschrieben. Im Polyplan-Konzept soll die Biomassedichte daher 5 kg/m³ nicht überschreiten.

Die Wasserqualität wurde kontinuierlich überwacht und es gab nur vereinzelt über das Beobachtungsjahr eine geringe Über- bzw. Unterschreitung von Zielwerten, die das Optimum an Umweltbedingungen darstellen.

Die Garnelen, die nach 11 Monaten in Kultur in der Vorhälterung vermessen und gewogen wurden, sahen vital und gesund aus mit Ausnahme der relativ kurzen Antennen (s. Abbildung 7-30 und Abbildung 7-31).



Abbildung 7-31: Garnelen aus Besatz 3, nach 11 Monaten in Kultur (Vorhälterung Becken 2)

Überlebensraten konnten auf Basis vollständig ausgezählter Bestände für eines der Becken ermittelt werden, dessen Verluste fortlaufend dokumentiert worden waren:

Im Zeitraum 11.5.2015 bis 30.11.2015 (=198 Kulturtage) betrug diese 31%, im nachfolgenden Zeitraum von 55 Tagen 88%.

Die Besatzdichten erreichten bis zu ca. 780 Garnelen/m² mit einer Lebendbiomasse von 7,8 kg/m³.

Tabelle 7-11: Kennzahlen aus 1 Jahr der Garnelenkultur: Überlebens-, und Wachstumsrate, Korpulenzfaktor und Besatzdichten in der Vorhälterung (Becken 2) (Spaltenköpfe: Monat der Kultur)

Werte	2	3	4	5	7	9	10	12
Mittelwert von Beobachtungszeitraum [Tage]						198		55
Mittelwert von Überlebensrate im Beob.- Zeitraum [%]						31%		88%
Mittelwert von mittl. Wachstumsrate [g/Woche]	0,2	0,5	0,7		0,5	1,0	1,9	0,7
Mittelwert von Korpulenz-faktor (100xKG/KL3)			0,62		0,62	0,63	0,61	0,69
Maximum von Besatzdichte Garnelen/m ²	759	778	777	622	615	516	76	67
Maximum von Biomassedichte [kg/m ³]	1,2	5,0	7,8	5,1	8,0	3,6	2,1	2,8

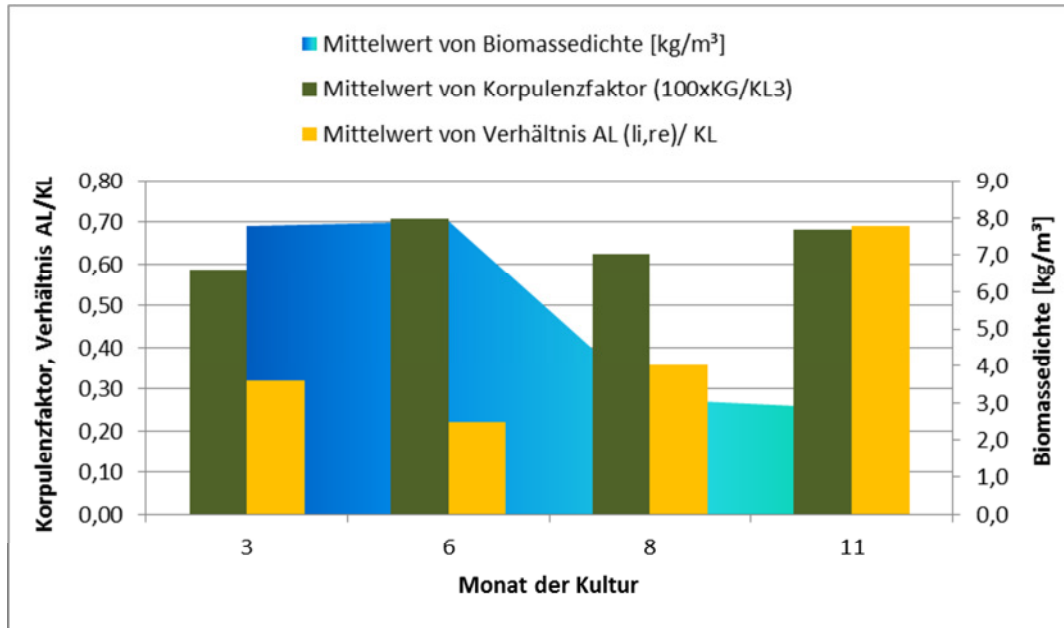


Abbildung 7-32: Biologische Kenngrößen im Verhältnis zur Biomassedichte [kg/m³] im Kulturverlauf

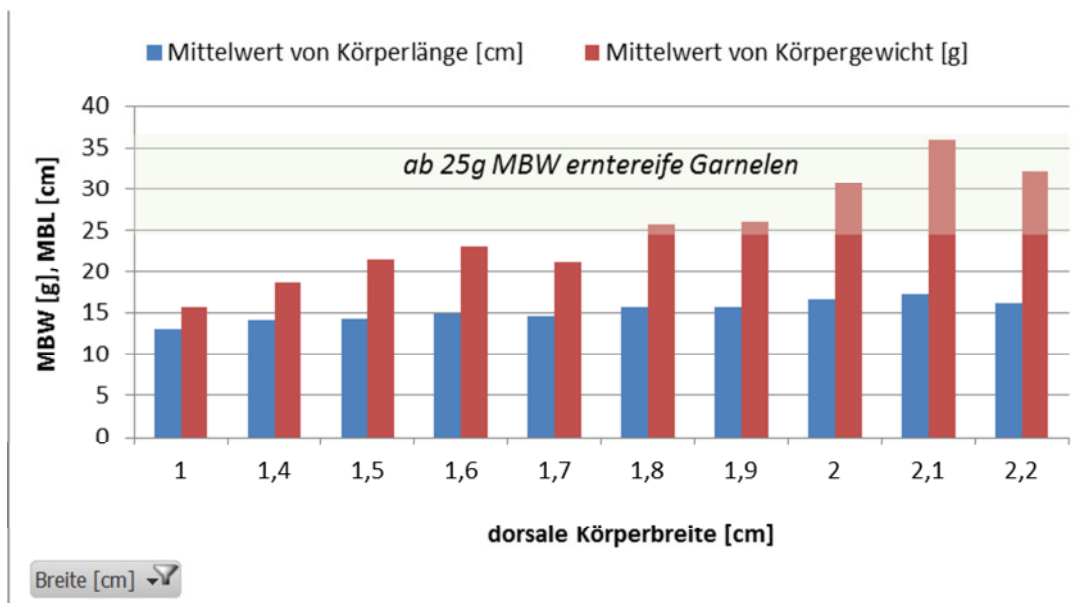


Abbildung 7-33: Besatz aus 03-2015: mittl. Körpergewicht und -länge im Verhältnis zur dorsalen Körperbreite am Cephalothorax (N=2-20)

Die dorsale Breite der Garnelen ist von Bedeutung für eine Selektion der erntereifen Garnelen noch im Kulturbecken. Garnelen ab einem Körpergewicht von 25g können als Frischware einen relativ hohen Preis erzielen. Die Selektion kann mit Hilfe eines Trenngitters oder einer Trennwand mit Stäben erfolgen, die in einem Rahmen befestigt stetig und langsam durch das Becken geführt wird. Die Abstände der Stäbe oder die Maschenweite müssen gerade so groß sein, dass die bevorzugte

Größe nicht mehr passieren kann. In Abbildung **7-33**, basierend auf den Garnelendaten der Batch 3 aus 11 Kulturmonaten, wäre die Trenngröße ein Abstand von 1,75 cm bis 1,8 cm.

Eigene Daten von Polyplan aus der Betreuung der Anlage in Strande, Firma Förde Garnele OHG, die im Rahmen eines anderen FuE-Vorhabens (Projektträger EurNorm) in 2013 erhoben wurden, kamen ebenfalls auf eine Trenngröße von 18mm. Der Korpulenzfaktor der damals untersuchten Garnelen war ebenfalls vergleichbar und lag im Mittelwert bei 0,53 (N=100)

8 Betriebshandbuch (AP 3) und Optimierung von Kreislaufanlagen (AP4)

8.1 Betriebshandbuch für die Aquakultur von Garnelen in Indoor-Kreislaufanlagen

Im Rahmen des Vorhabens hat Polyplan die Erfahrungen aus der Betreuung des Garnelenhof Schäfer sowie des Betriebs Förde Garnele und die Ergebnisse und Erfahrungen aus den Forschungsarbeiten ausgewertet, um ein Betreuungskonzept zu erarbeiten. Das vorliegende Betriebshandbuch ist als Sammlung kontinuierlich zu aktualisierender Handlungsanweisungen, Protokollvorlagen und Informationen zu verstehen, die eine Ergänzung zur Datenbank Delta darstellen. Ein erstes Handbuch zur Garnelenhaltung ist im Betrieb von Herrn Simon Mayer im Einsatz. Das Titelblatt und Inhaltsverzeichnis sind in 12.5 im Anhang abgebildet.

8.2 Optimierung von Kreislaufanlagen

Alle in diesem Vorhaben gewonnenen Erkenntnisse wurden in den Planungen weiterer Anlagen berücksichtigt. Dies betraf vor allem die Erfahrungen mit der Akklimatisierung der Postlarven, bei der auf eine langsame und nicht zu starke Absenkung der Salinität zu achten ist. Dieser Umstand erfordert, dass die Besatztierhaltung in einem separaten Kreislauf zu führen ist, mit einem eigenen Biofilter, der in den ersten 2-3 Wochen die Wasseraufbereitung gewährleistet. Die Salinität wird in diesem Zeitraum um maximal 15g/l abgesenkt, sodass das PL-Becken an den Hauptkreislauf mit einer um wenige g/l niedrigeren Salinität angeschlossen werden kann. Polyplan erhielt seit Antragstellung mehrere Planungsaufträge für Garnelen-Indoor-Produktionsanlagen, konnte aus den eingangs geschilderten Umständen (s. Kap. 4.1) jedoch nur 1 Auftrag umsetzen. In der Anlage Mayer Shrimps in der Schweiz wurde weitgehend auf eine Hygienisierung des Wassers verzichtet. In einem Nebenkreislauf, im Ablauf des Eiweißabschäumers, ist eine UV-Desinfektion installiert. Die Einhaltung allgemeiner Hygieneregeln, wie sie in der Lebensmittelproduktion Standard sind, sowie die möglichst stabile Steuerung der Wasserqualitätsparameter erfüllen wesentliche Voraussetzungen zur Erzielung einer vorteilhaften und für die Garnelen gesunden Mikroflora.

9 Darlegung von Maßnahmen zur Verbreitung der Vorhabensergebnisse

Erste Ergebnisse des Projektes wurden bereits bei zwei Tagungen vorgestellt, wobei es sich dabei um eine nationale und eine internationale Tagung handelte:

- Teitge, F, Jung-Schroers, V, Neffe, L, Peppler, C, Steinhagen, D (2015):
Poster: „Auswirkungen von Wasserhygienisierungsmaßnahmen auf die Mikroflora in Kreislaufanlagen für tropische Riesengarnelen (*Litopenaeus vannamei*)“. Deutscher Fischereitag 2015, Rostock, 25.-27.08.2015
- Teitge, F, Jung-Schroers, V, Neffe, L, Peppler, C, Steinhagen, D (2015):
Vortrag: "Influence of methods for water treatment on the microflora in closed seawater Recirculation systems for pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)". Aquaculture Europe 2015, organized by the European Aquaculture Society, Rotterdam, The Netherlands, 20.-23.10.2015

In Planung ist zudem eine Präsentation im Rahmen der Tagung der European Association of Fish Pathologists (EAFP) im Oktober 2016 in Graz, Österreich.

Neben Beiträgen bei Tagungen und Fortbildungsveranstaltungen, bei denen ein breites Publikum von Betreibern von Aquakulturanlagen über Wirtschaftsunternehmen der Aquakulturbranche bis hin zu Tierärzten und weiteren Interessierten erreicht wird, werden die gewonnenen Erkenntnisse in voraussichtlich vier wissenschaftlichen Publikationen veröffentlicht. Eine dieser Veröffentlichungen wird die Untersuchungen der an der TiHo betreuten Masterarbeit zum Vorkommen von Vibrionen zum Schwerpunkt haben, während die weiteren Veröffentlichungen im Rahmen einer kumulativen Dissertation erfolgen sollen.

10 Fazit

Entgegen der Erwartung, dass die überprüften Hygienisierungsmaßnahmen zu einer Reduzierung der Keimbelastung und womöglich der Kontrolle von Pathogenen in intensiven RAS beitragen könnten, zeigten sich nur sehr geringe, wenn nicht sogar negative Effekte auf die Gesamtkeimzahlentwicklung und die Diversität der bakteriellen Mikroflora. Bei der Anwendung hoher Konzentrationen von chemischen Umgebungsdesinfektionen ergeben sich darüber hinaus weitere Probleme. Zum einen wurde die biologische Wasseraufbereitung stark beeinflusst. Dies ist besonders kritisch in RAS-Systemen, zu deren Prinzipien der nachhaltige Betrieb mit geringer Wasseraustauschrate und damit dem Bedarf nach einer möglichst stabilen und leistungsstarken Wasseraufbereitung gehört. Weiterhin ist der entscheidende Einfluss externer Faktoren, sowohl in Bezug auf die mikrobielle Flora, als auch auf das Tierwohl und die Entwicklung der Garnelen im Verlauf der Haltung zu betonen.

Die z.T gemessenen erhöhten Kupfer- und auch Zink-Konzentrationen erfordern weitere Beachtung und die Untersuchung von Lösungsansätzen zur konstanten Reduzierung der schon in niedrigen Konzentrationen nachteilig wirkenden Metallionen. Die Ergebnisse aus Versuch 6 (unter Einsatz von Chitosan als Komplexbildner mit Metallionen), die hier nicht vorgestellt wurden, sollen noch auf diese Frage hin ausgewertet werden.

Wirtschaftliche Aspekte und Perspektiven (Polyplan): Der Einsatz von Ozonatoren oder UV-Strahlungseinheiten zur Hygienisierung des Wassers und zur Prävention vor potentiellen Pathogenen konnte in den hier durchgeführten Versuchen in sehr kleinen Kreislaufsystemen nicht belegt werden. In solchen Systemen kann daher der Einsatz von UV-Einheiten und Ozonatoren in Frage gestellt werden. Die Auswirkungen auf größere Systeme sollte überprüft werden. Unabhängig davon ist Ozon jedoch dort sinnvoll, wo eine sehr klare Wasserqualität erforderlich ist. Für die Garnelen-Aquakultur ist dies nicht der Fall. Neue Perspektiven für die Weiterentwicklung der Kreislaufanlagentechnologie bietet Polyplan der kürzlich abgeschlossene Kooperationsvertrag mit einem Entwickler und Anbieter von Biofloc-Anlagen im europäischen Ausland. Diese Kooperation ermöglicht es Polyplan auch Anlagen nach dem Biofloc-Prinzip anzubieten, sowie Schulungen in der Pilotanlage in Belgien. Diese in den USA sowohl als Teichkultur als auch als Indoor-Aquakultur stärker verbreitete Technologie basiert auf einem Ansatz, der die Entwicklung einer stabilen und vorteilhaften Mikroflora in den Vordergrund rückt und aus diesem Grund unseren Ergebnissen eher Rechnung tragen könnte als es die herkömmliche Kreislaufanlagentechnologie vermag (zum Stand der Technik der Biofloc-Technologie s. Avnimelech 2015). Zudem wird in der Biofloc-Methode weitaus weniger Abwasser abgeschlagen (Stichwort „0-water-exchange“), was eine Umweltentlastung bedeutet und die von uns aufgrund der hier gemachten Erfahrungen empfohlene höhere Salinität in der Garnelen-Aquakultur ohne höhere Umweltbelastung umsetzen ließe.

Polyplan hat zudem mit dem Ende 2015 in Betrieb gegangenen Garnelenbetrieb in der Schweiz eine Kooperationsvereinbarung abgeschlossen, die den Zugang zur Anlage und den Betriebsdaten sowie eine Betreuung regelt unter kostenfreiem „Piloteinsatz“ der Datenbank DeltA, dank derer Polyplan online die Wasserqualität und andere Betriebsgrößen einsehen kann. Diese Kooperation ist im gegenseitigen Interesse, um den Erfolg des Betriebs zu sichern und auch, um die Werkzeuge der Datenbank unter Praxisbedingungen anwenden und verfeinern zu können. Die Datenbank wird unter den Realbedingungen im Betrieb ‚Mayer Shrimps‘ weiter entwickelt und soll in alle neuen Vorhaben als Baustein der Betreuungsleistungen integriert werden.

Abweichend vom ursprünglichen Plan wurde das Betriebshandbuch umfangreicher und beinhaltet nun alle für die Garnelen-Aquakultur relevanten Aspekte, inklusive der Hinweise für eine wirksame Vorbeugung gegen opportunistische Pathogene und zur Aufrechterhaltung einer guten Hygienesituation.

Zur weiteren Untermauerung der Erkenntnisse wird eine nähere Beschäftigung mit der Diversität und insbesondere die Untersuchung möglicher Verschiebungen in der mikrobiellen Gemeinschaft folgen, die auf Grund der beschriebenen Verzögerungen zu Projektbeginn bisher noch nicht vollständig abgeschlossen werden konnte.

Die Frage nach der positiven Beeinflussung der Mikrobiologie in Garnelen-Kreislaufanlagen ist weiterhin relevant und soll durch ein nun realisierbares Anlagen-Monitoring sowie Versuche mit

Immunstimulanzen untersucht werden. Als neuer Ansatz soll die Durchführung von Challenge- bzw. Stress-Versuchen durch die TiHo aufgenommen werden. Insbesondere sollen aus dem Vergleich von Daten aus mindestens einer Anlage mit Biofloc-Technologie (CreveTec, Belgien) und einer Anlage der herkömmlichen Kreislauftechnologie (Mayer Shrimps, Schweiz) Erkenntnisse gewonnen werden, die in die Planung nachhaltig produzierender Aquakulturanlagen einfließen sollen.

11 Literaturverzeichnis

- Avnimelech, Y. (2015): Biofloc Technology – A Practical Guide Book, 3rd Edition. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA
- Boyd, Claude (2000): „Soil and water quality considerations in shrimp farming“
http://www.uhh.hawaii.edu/~pacrc/Mexico/files/manual/01_shrimp_farming_methods.pdf
- Davis, D.A., Saoud, I.P., McGraw, W.J., Rouse, D.B. 2002. "Considerations for Litopenaeus vannamei reared in inland low salinity waters". In: Cruz-Suárez, L.E., Richque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds.), Advances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de Setiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México, p. 73–90
- Ferreira, N.C.; Bonetti, C.; Seiffert, W.Q. (2011): "Hydrological and Water Quality Indexes as management tools in marine shrimp culture". Aquaculture, Vol. 318, Issues 3–4, 8 August 2011, Pages 425–433; doi: 10.1016/j.aquaculture.2011.05.045
- Gopalakrishnan, A.; Rajkumar, M.; Sun, J.; Martin G.G.; Parida, A. (2011): "Impact of mineral deposition on shrimp, Penaeus monodon in a high alkaline pond". Journal of Environmental Biology 32: 283-287; ISSN: 0254-8704
- Krummenauer, D. (2011): "Superintensive Culture of White Shrimp, Litopenaeus vannamei, in a Biofloc Technology System in Southern Brazil at Different Stocking Densities". Journal of the World Aquaculture Society 42, 726-733
- Kuhn, David .D.; Smith, Stephen A.; Boardman, Gregory D.; Angiera, Matthew W.; Marsha, Lori; Flick Jr., George J. (2010): Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, Litopenaeus vannamei: Impacts on survival, growth, antennae length, and pathology. Aquaculture, Volume 309, Issues 1–4, 109–114 (abstract: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848610006198>)
- Lingenfelter, B.A.; Lawrence, A.L.; Crocket, J.; Moeckel, J.L.; Patnaik, S.; Pollack, J.B. (2012): "Standard Operating Procedure for Litopenaeus vannamei Production in a Shallow Water Super-Intensive Stacked Raceway System". 9th International Conference on Recirculating Aquaculture (held in Roanoke, Virginia, USA): 58-62
- Moss, S.M.; Otoshi, C.A.; Montgomery, A.D.; Matsuda, E.M. (2002): "Recirculating Aquaculture Systems for the Production of Market-Sized Shrimp"; in: Proceedings of the 4th International Conference on Recirculating Aquaculture 2002; p. 245-254
- Otoshi, C.A., Moss, S.M., Moss, D.R., Tang, L.R. & Arce, S.M. (2009): "Performance of Pacific white shrimp penaeus (litopenaeus) vannamei, cultured in biosecure, super-intensive, recirculating aquaculture systems". In: The Rising Tide, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Farming: 220-230

- Perez-Velazquez, M.; Gonzalez-Felix, M.L.; Davis, D. A.; Roy, L.A.; Zhu, X. (2013): "Studies of the Thermal and Haline Influences on Growth and Survival of *Litopenaeus vannamei* and *Litopenaeus setiferus*". JOURNAL OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, Vol. 44, No. 2, April, 2013
- Williams, A.S.; Davis, D.A.; Arnold, C.R. (1996): Debsity dependent growth and survival of *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculation system. Journal of the World Aquaculture Society, Vol. 27 No. 107-112
- Whetstone, J.M.; Treece, G.D.; Browdy, C.L.; Stokes, A.D. (2002): "Opportunities and Constraints in Marine Shrimp Farming". SRAC Publication No. 2600; Southern Regional Aquaculture Center
- Wickins, J. F. (1976): "The tolerance of warm-water prawns to recirculated water". Aquaculture, 9:19-37
- Wyk, van P. and Scarpa, J. (1999): „Water Quality Requirements And Management“, Kap. 8 in: Van Wyk, P.; Davis-Hodgkins, M.; Laramore, R.; Main, K.L.; Mountain, J.; Scarpa, J.: "Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems", Harbour Branch Oceanographic Institute. (Florida Dep. of Agriculture and Consumer Services, Contract No. 4520; USA, 1999).

12 Anhang

12.1 Darstellungen zur Datenbank Delta

Delta Monitoring Stammdatenpflege

Becken: 4 Haltung 1
Name: HACCP Protokoll
Kurzbezeichnung: HACCP
NurAdmin:
WasserArt:
DefaultZeitpunkt: täglich
ZwischenmessungOK:
EingabeTabellarischFrei:
Entnahmestelle: Batch 19-04-2016, ertreife Garnelen
Reihenfolge: 5
Aktiv:
Kommentar: gesetzliche Anforderungen an Lebensmittelhygiene (Vorlage für Deutschland)

Eigensch...	Messverf...	Eigensch...	Abweich...	Kommen...	Reihenfol...	Aktiv	Ablage	Editier...
1 Salmon...				Ja/Nein...	2	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E
2 Vibrio spp				Ja/ Nei...	3	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E
3 Enterob...				quantit...	4	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E
4 Gesamt...				Einheit ...	5	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E
5 Bemerk...				beauftr...	6	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E
6 Maßnah...				geplant...	7	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E
7 Bakteri...					8	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E
x						<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	E

zuletzt geändert durch 'Christina.Peppler' 18.04.20 | teh | 0,01 s | delta.polyplan-gmbh.de | 27.04.16 16:21

Abbildung 12-1: Pflgetool zum einfügen neuer Aquakulturanlagen, Messprotokolle, Messpunkte Parameter und Übersetzungen

SPS-Importe

17.04.2016 SPS alle zeilen

Mayer Shrimps SPS1

Datum	# Alarm	von	bis	# Meldungen	
27.04.16 15:09	OK	0 27.04.16 12:10	27.04.16 14:40	6	<input type="button" value="Z"/> <input type="button" value="D"/> <input type="button" value="CSV"/>
27.04.16 12:11	OK	0 27.04.16 09:10	27.04.16 11:40	6	<input type="button" value="Z"/> <input type="button" value="D"/> <input type="button" value="CSV"/>
27.04.16 09:08	OK	0 27.04.16 04:10	27.04.16 08:40	10	<input type="button" value="Z"/> <input type="button" value="D"/> <input type="button" value="CSV"/>
27.04.16 04:05	OK	0 26.04.16 20:10	27.04.16 03:40	16	<input type="button" value="Z"/> <input type="button" value="D"/> <input type="button" value="CSV"/>
26.04.16 20:07	OK	0 26.04.16 15:10	26.04.16 19:40	10	<input type="button" value="Z"/> <input type="button" value="D"/> <input type="button" value="CSV"/>
26.04.16 15:09	OK	0 26.04.16 12:10	26.04.16 14:40	6	<input type="button" value="Z"/> <input type="button" value="D"/> <input type="button" value="CSV"/>

Stammdaten

Messdaten

Datenerfassung

Datenanzeige

Sie erhalten hier tabellarische und grafische Übersichten über Ihre Messdaten.

Datenlage
01 Betriebsdok.
02 Wasseraufbereitung
Batch 20-04-2016
SPS-Daten

SPS1

Kombinierte Anzeige
Datendownloads

Abbildung 12-2: Übersicht über vergangene automatische Datenimporte aus der Anlagensteuerung inklusive Anzeige von aufgetretenen Alarmen

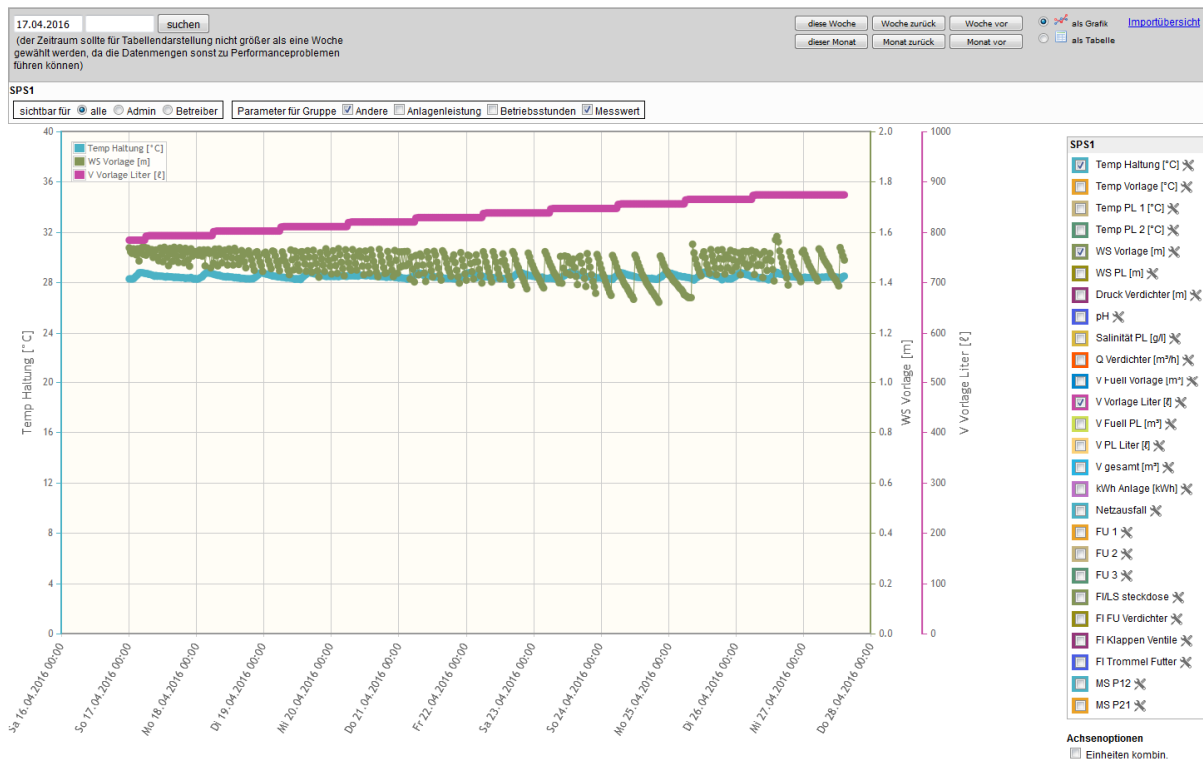


Abbildung 12-3: Grafische Auswertung einer Vielzahl automatisch erhobenen Prozesswerte für die Fehleranalyse und das technische Anlagenmonitoring

02 Wasseraufbereitung

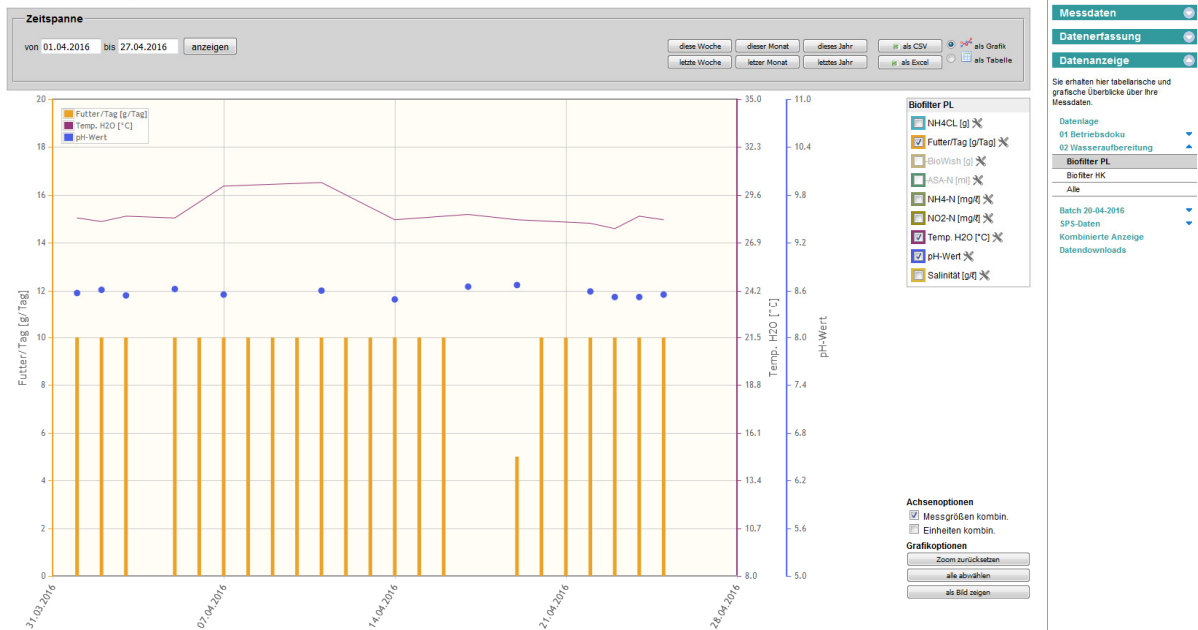


Abbildung 12-4: Grafische Auswertung einer Messstelle mit Anzeige verschiedener Messgrößen in einem Diagramm über einen ausgewählten Zeitraum

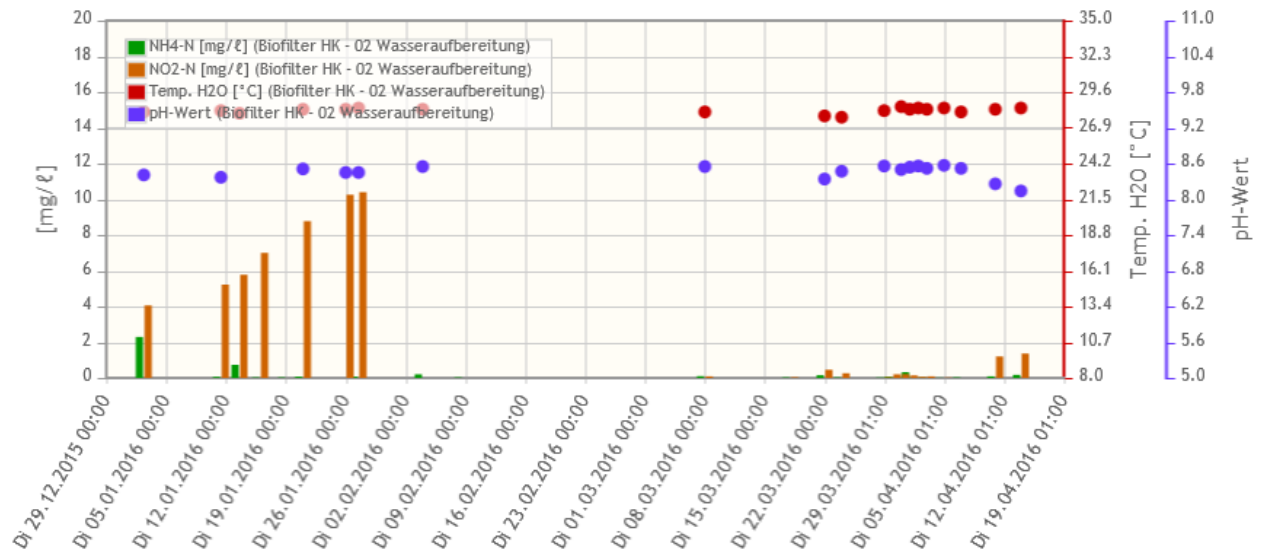


Abbildung 12-5: Daten aus Anlage „Mayer Shrimps“, Datenanzeige Parameter der Wasserqualität im Biofilter Hauptkreislauf (HK) als Grafik

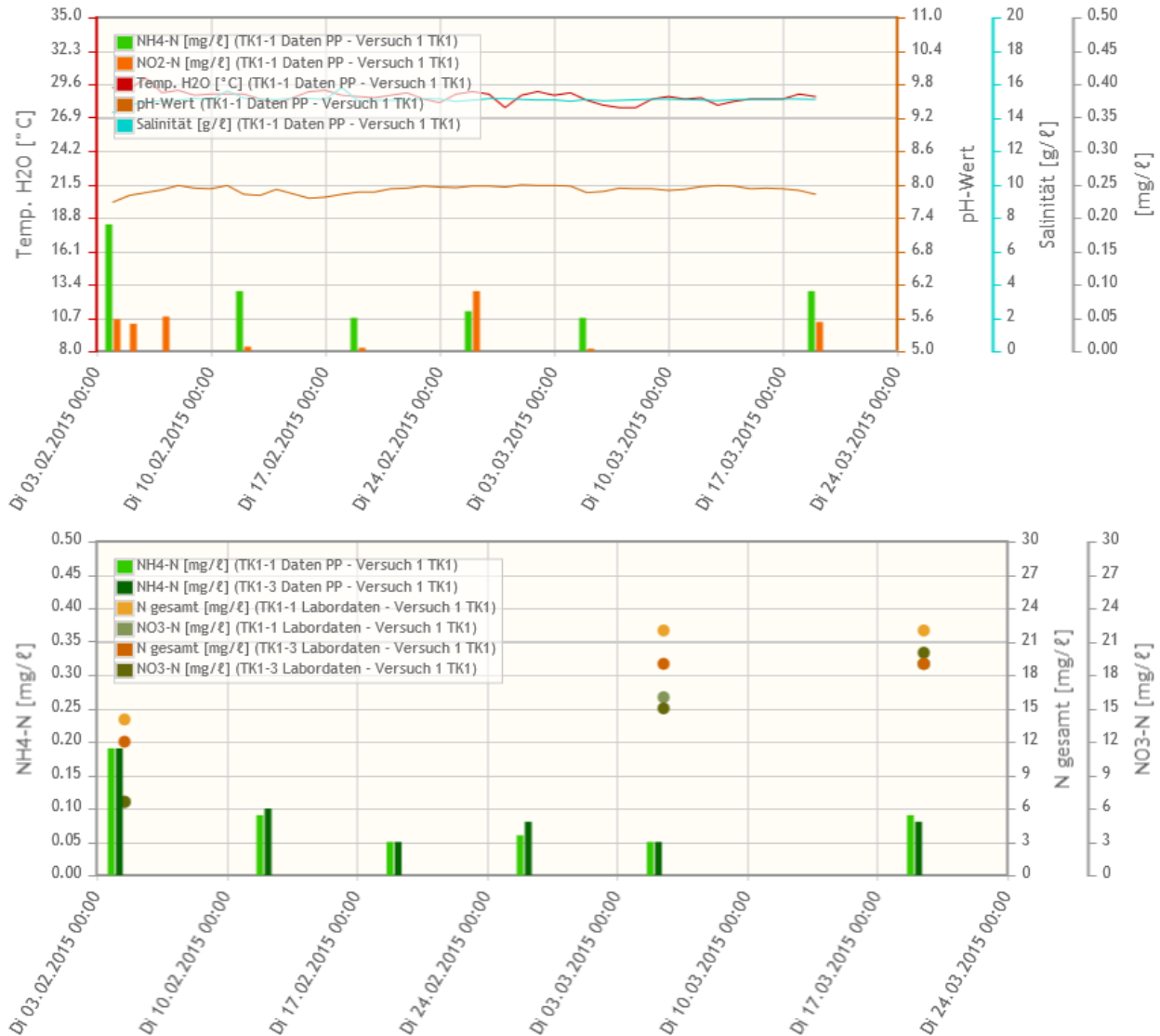


Abbildung 12-6: Versuch 2: Becken-spezifische Daten aus DeltaA (für TK1-Becken 1 oben) und kombinierte Anzeige von Daten aus eigenen Messungen („Daten-PP“) sowie Laboranalysen für Becken 1 und 2

Die Datenbank erlaubt das kombinierte Anzeigen von Daten aus verschiedenen Messgruppen („Daten-PP“ und „Labordaten“), sowie auch aus unterschiedlichen Mess-Stellen („TK1-1“ und „TK1-3“).

12.2 Grundlagen für die Bewertung der Messwerte zu Parametern der Wasserqualität

Der Großteil der Literatur zu den Ansprüchen und Toleranzgrenzen mariner Garnelen, wie *Litopenaeus vannamei*, in Bezug auf Parameter der Wasserqualität bezieht sich auf die Aquakultur

in Teichanlagen, die vielen nicht kontrollierbaren und im Tagesverlauf schwankenden Umweltbedingungen ausgesetzt sind. Diese Angaben können jedoch für Garnelen in Kreislaufanlagen als Orientierung dienen.

Tabelle 12-1: Anforderung und Toleranzen der Garnelen-Spezies *Litopenaeus vannamei* an Parameter der Wasserqualität

Parameter	Einheit	Optimum	Minimum bzw. Toleranzlimit	Literatur
Temperatur	°C	28 - 32	28 -32 (gutes Wachstum) > 15 < 35 (Überleben)	Wyk & Scarpa (1999) und Perez-Velasquez et al. (2013)
Salinität	ppt	10 - 25	0,5 - 35	Boyd (2000)
Sauerstoffgehalt	mg/l	≥ 5 - Sättigung	> 5 (gutes Wachstum) > 3 (Wachstums-Limit) > 2 (Überlebens-Limit)	Boyd (2000) und Whetstone et al. (2002) Ferreira et al. (2011)
pH-Wert		7,8	> 7 < 9 bzw. <8,3*	Whetstone (2002); Boyd (2000) bzw. *Gopalakrishnan et al. (2011)
Alkalinität (CaCO ₃)	mg/l	100*	75 - 300	Boyd (2000) bzw. *Ferreira et al. (2011); *Wyk & Scarpa (1999)
Kohlensäure (CO ₂)	mg/l	≤ 10 bzw. 5*	≤ 20* ≤ 60* (Überlebens-Limit)	Boyd (2000) bzw. *Wyk & Scarpa (1999)
Ammonium-N, ionisiert	mg/l	≤ 0,2	≤ 2 bzw. ≤ 1,5*	Boyd (2000) bzw. *Wickens (1976)
Ammonium-N, nicht- ionisiert	mg/l	0	< 0,1	Boyd (2000); Wickens (1976)
Nitrit-N	mg/l	< 0,23	≤ 1*	bzw. *Wyk & Scarpa (1999)
Nitrat-N	mg/l	< 100	< 200	Kuhn et al. (2010)
Eisen (Fe ²⁺)	mg/l	0	0	Boyd (2000); Whetstone (2002)
Eisen (gesamt)	mg/l	< 0,05	< 0,5 bzw. < 1*	Boyd (2000) bzw. *Wyk & Scarpa (1999)
Kupfer (Cu ²⁺)	mg/l	0	< 0,005	Boyd (2000)
Kupfer (gesamt)	mg/l	< 0,005	< 0,01 bzw. 0,025*	Boyd (2000) bzw. *Wyk & Scarpa (1999)
Zink (Zn ²⁺)	mg/l	0	< 0,01	Boyd (2000) bzw. *Wyk & Scarpa (1999)
Zink (gesamt)	mg/l	< 0,01	< 0,05 bzw. 0,1*	Boyd (2000) bzw. *Wyk & Scarpa (1999)
Calcium	mg/l	100-500		Boyd (2000) ; Whetstone (2002)
Magnesium	mg/l	100-1500		Boyd (2000); Whetstone (2002)
Kalium	mg/l	100-400		Boyd (2000); Whetstone (2002)

12.3 Versuchsaufbau und Datenerhebung in den Hygienisierungsversuchen mit Einsatz von UV und Ozon

Tabelle 12-2: Übersicht der Versuche, die in 2015 im Aquakulturlabor Polyplan unter Garnelenbesatz durchgeführt worden sind, mit Angabe der Versuchsbedingungen

Versuch Nr.	2	3	4		5		6	
Thema des Versuchs	physikal. Hygienisierung: UV	chem. Hygienisierung: Ozon	Wdh V1+V2 mit kleineren Garnelen	Wdh V1+V2 mit größeren Garnelen	Verlängerung V3 mit kl. Garnelen	Verlängerung V3 mit gr. Garnelen	Chitosan-zugabe+ UV+Ozon mit kl. Garnelen	Chitosanzugabe+ UV+Ozon mit gr. Garnelen
Versuchstiere aus Besatz vom	10.12.2014	11.03.2015	11.03.2015	11.03.2015	11.03.2015	11.03.2015	11.03.2015	
Versuchsdurchführung ab	04.02.2015	26.06.2015	15.09.2015		15.10.2015		25.11.2015	
- bis	19.03.2015	05.08.2015	15.10.2015		25.11.2015		23.12.2015	
Versuchsdauer [Anzahl Tage]	43	40	30		41		28	
Varianten inkl. Kontrolle	3	2	3	3	3	3	3	3
Anzahl Testkreisläufe	6	4	3	3	3	3	3	3
Grundfläche Hälterungsbecken [m ²]:	0,2							
Volumen Hälterungsbecken [l]	69							
mittl. Volumenstrom [l/min]	2,7	2,6	2,5	2,6	2,6	2,6		
Anzahl besetzte Garnelen-Becken/ Variante	2	3	3	3	3	3	3	3
max. Gesamtzahl Tiere pro Becken	19	20	20	14	17	11	15	8
Anzahl Tiere pro Testkreislauf	38	60	60	42	51	32	45	24
Gesamtzahl Tiere/Versuch	228	240	180	126	152	97	135	72
Besatzdichte Versuchsstart (Anzahl/m ²)	95	100	100	70	84	54	75	40
mittl. Körpergewicht Garnele bei Versuchsstart [g]	0,21	5,6	2,2	9,2	3,6	12,7	6,0	18,6
mittl. Biomasse/ Becken bei Versuchsstart [g]	4	111	44	128	61	136	90	149
Biomassedichte Versuchsstart [kg/m ²]	0,1	1,6	0,6	1,9	0,9	2,0	1,3	2,2

Tabelle 12-3: Schema der Datenerhebung in den Versuchen

Parametergruppe	Parameter	Frequenz der Datenerhebung/ Dokumentation	Zuständiger Partner
Betriebsmittel	<ol style="list-style-type: none"> 1. Futtermittel (pro Becken) 2. Wasserverbrauch (für Wasserwechsel + Verdunstungsausgleich, pro Kreislauf) 3. Puffermittel (pro Kreislauf) 4. Salzverbrauch (berechnet aus Salinität des Wassers für Wasserwechsel, pro Kreislauf) 	Täglich	PP
Wasserqualität, Vor-Ort-Bestimmung	Physikalisch-chemische Parameter	Täglich bis wöchentlich	PP
Wasserqualität, Laboranalyse	<ol style="list-style-type: none"> 1. Stickstoff gesamt 2. Ammonium-N 3. Nitrit-N 4. Nitrat-N 5. Gesamt organ. Kohlenstoff (TOC) 6. Gelöster organ. Kohlenstoff (DOC) 7. Abfiltrierbare Stoffe 	Versuchsstart und -ende	PP (Unterauftrag)
Garnelen	<ol style="list-style-type: none"> 1. Anzahl Tiere 2. Körpergewicht 3. Körperlänge 4. Antennenlänge (links und rechts) – nur bei Tieren ab einer Mindestgröße von 4-5 cm 	Versuchsstart und -ende	PP
Mikrobiologie von Anlagen und Garnelen	<ol style="list-style-type: none"> 1. Gesamtkeimzahl im Wasser der Hälterungsbecken [KbE/ml] 2. Bakterienisolate Wasser 3. Bakterienisolate Biofilm Tank 4. Bakterienisolate Biofilm Garnele 5. Bakterienisolate Gewebe Garnele 	Versuchsstart, in Woche 1 nach Start und zu Versuchsende	Probenahme und Analyse durch TiHo

12.4 Ergebnisse aus den Versuchen 2-5

12.4.1 Ergebnisse Versuch 2

Tabelle 12-4: Versuch 2: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den gesamten Versuchszeitraum (Tagesmesswerte aus je 2 Becken/ TK für die physikalischen Parameter und Stichproben an 2 bzw. 3 Messtagen für chemische Parameter zur Laboranalyse)

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von pH	SD	Mittelwert von O2 [mg/l]	SD	Mittelwert von Temp. [°C]	SD	Mittelwert von Salinität [g/l]	SD
K		7,9	0,07	8,0	0,18	28,6	0,47	15,0	0,19
K1	1	7,9	0,07	8,0	0,17	28,6	0,46	15,0	0,18
K2	3	7,9	0,08	8,0	0,20	28,6	0,48	15,0	0,19
UV_7W		7,9	0,08	8,0	0,23	28,6	0,50	15,0	0,22
UV_7W-1	2	7,9	0,06	8,0	0,23	28,3	0,42	15,0	0,25
UV_7W-2	6	7,9	0,08	7,9	0,21	28,8	0,47	15,1	0,16
UV_9W		7,9	0,08	8,0	0,18	28,7	0,44	15,0	0,12
UV_9W-1	4	7,9	0,08	8,0	0,19	28,7	0,54	15,0	0,13
UV_9W-2	5	7,9	0,08	8,0	0,16	28,6	0,32	15,0	0,11
pro Variante (=2 TK), N=		180		176		178		178	
pro TK, N=		90		88		89		89	

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von Abfiltrierbare Stoffe [mg/l]	SD	Mittelwert von N gesamt [mg/l]	SD	Mittelwert von NO3-N [mg/l]	SD	Mittelwert von DOC [mg/l]	SD	Mittelwert von PO4-P [mg/l]	SD
K		64,9	12,86	16,8	4,04	13,6	4,98	10,2	1,73	13,8	2,7
K1	1	63,5	8,73	18,0	3,79	13,9	5,41	9,9	1,42	14,8	1,6
K2	3	66,3	15,83	15,5	3,91	13,3	4,50	10,6	1,93	12,9	3,2
UV_7W		67,7	25,49	17,9	6,09	14,7	6,34	8,4	1,78	11,3	3,7
UV_7W-1	2	64,8	24,03	17,8	5,01	14,5	6,59	9,4	0,46	12,2	4,3
UV_7W-2	6	70,5	26,56	18,0	7,00	14,9	6,07	7,4	2,02	10,5	2,6
UV_9W		82,2	21,08	17,5	6,55	14,6	6,42	7,9	2,60	12,6	2,7
UV_9W-1	4	92,7	15,34	17,0	6,53	14,6	6,52	8,3	2,53	12,5	2,1
UV_9W-2	5	71,7	20,81	17,9	6,54	14,6	6,32	7,5	2,60	12,7	3,3
pro Variante (=2 TK), N=		12		12		12		12		8	
pro TK, N=		6		6		6		6		4	

Tabelle 12-5: Versuch 2: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen (N=2 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-6, und N=4 pro Versuchsvariante)

	Kontrolle		Kontrolle Ergebnis		UV_7W		UV_7W Ergebnis		UV_9W Ergebnis	
	1	3	2	6	4	5				
Mittelwert von mittl. Körpergewicht START [g]	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Mittelwert von mittl. Körpergewicht ENDE [g]	6,9	4,9	5,9	4,9	5,6	5,3	5,1	4,2	4,6	4,6
Mittelwert von mittl. Körperlänge START [cm]	3,0	2,9	2,9	2,8	3,0	2,9	3,0	3,0	3,0	3,0
Mittelwert von mittl. Körperlänge ENDE [cm]	10,7	9,6	10,2	8,7	9,3	9,0	9,1	8,8	8,9	8,9
Mittelwert von mittl. Korpulenzfaktor START	0,77	0,69	0,73	0,97	1,05	1,01	0,80	0,77	0,78	0,78
Mittelwert von mittl. Korpulenzfaktor ENDE	0,55	0,56	0,56	0,71	0,70	0,70	0,65	0,61	0,63	0,63
Mittelwert von Verhältnis Antennen-/ Körperlänge START	1,1		1,1							
Mittelwert von Verhältnis Antennen/ Körperlänge ENDE	1,0		1,0							
Mittelwert von Wachstumsrate [g/Woche]	1,1	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	0,8	0,6	0,7	0,7
Mittelwert von spezif. Wachstumsrate [%/Tag]	8,2	7,8	8,0	7,3	7,0	7,1	7,2	7,1	7,1	7,1
Mittelwert von Überlebensrate [%]	19,0%	33,3%	26,2%	34,8%	21,6%	28,2%	33,3%	33,2%	33,2%	33,2%
Mittelwert von Überlebensrate [%]/Tag	98,1%	98,4%	98,3%	98,5%	98,2%	98,3%	98,4%	98,4%	98,4%	98,4%
Mittelwert von Futtereinsatz/Becken [g]	73,4	73,3	73,3	71,6	71,8	71,7	72,3	72,8	72,6	72,6
Mittelwert von Zunahme Biomasse [g]	21,3	26,1	23,7	24,7	17,3	21,0	26,4	22,3	24,3	24,3
Mittelwert von FCR/ Becken	4,2	2,9	3,5	3,0	4,3	3,6	3,0	3,3	3,1	3,1

12.4.2 Ergebnisse Versuch 3

Tabelle 12-6: Versuch 3: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den gesamten Versuchszeitraum (Tages- und wöchentliche Messwerte aus mind. je 2 Becken/ Variante bzw. Mischproben aus 3 Becken/ Variante für die physikalischen Parameter und Stichproben an 2 bzw. 3 Messtagen für chemische Parameter zur Laboranalyse)

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von pH	SD	Mittelwert von O2 [mg/l]	SD	Mittelwert von Temp. [°C]	SD	Mittelwert von Salinität [g/l]	SD	
K		7,8	0,12	7,7	0,25	29,1	0,64	15,1	0,17	
	K1	1	7,8	0,13	7,7	0,24	29,1	0,65	15,1	0,17
	K2	3	7,8	0,11	7,6	0,22	29,0	0,61	15,1	0,18
Ozon		7,8	0,09	7,6	0,20	29,0	0,61	15,0	0,19	
	Ozon 300 mV-1	2	7,8	0,07	7,5	0,21	29,1	0,64	15,1	0,16
	Ozon 300 mV-2	4	7,8	0,09	7,6	0,19	29,0	0,57	15,0	0,21
	pro Variante (=2 TK), N=	136		100		148		138		
	pro TK, N=	68		50		74		69		

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von Abfiltrierbare Stoffe [mg/l]	SD	Mittelwert von N gesamt [mg/l]	SD	Mittelwert von NO3-N [mg/l]	SD	Mittelwert von DOC [mg/l]	SD	Mittelwert von PO4-P [mg/l]	SD	
K		76,5	21,42	59,0	3,24	47,9	8,18	11,7	0,99	18,6	3,97	
	K1	1	74,0	15,08	57,0	3,08	49,3	4,80	11,8	0,83	20,0	3,54
	K2	3	79,0	26,04	61,0	1,87	46,5	10,35	11,7	1,13	17,3	3,90
Ozon		57,1	10,12	53,1	13,22	46,4	13,71	10,2	0,47	12,2	4,51	
	Ozon 300 mV-1	2	58,8	9,03	50,3	17,58	45,8	13,57	10,5	0,53	13,5	5,55
	Ozon 300 mV-2	4	55,3	10,83	56,0	4,90	47,0	13,83	9,9	0,00	10,8	2,47
	pro Variante (=2 TK), N=	12		8		20		8		8		
	pro TK, N=	6		4		10		4		4		

Tabelle 12-7: Versuch 3: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen bei Versuchsstart und -ende¹ (N=3 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-4)

Werte	Kontrolle		Kontrolle Ergebnis		Ozon Ergebnis	
	1	3	2	4	2	4
Mittelwert von mittl. Körpergewicht START [g]	5,7	5,6	5,7	5,6	5,6	5,6
Mittelwert von mittl. Körpergewicht ENDE [g]	13,0	11,8	12,4	11,6	10,9	11,2
Mittelwert von mittl. Körperlänge START [cm]	9,7	9,7	9,7	9,6	9,6	9,6
Mittelwert von mittl. Körperlänge ENDE [cm]	12,5	11,9	12,2	12,2	11,9	12,0
Mittelwert von Korpulenzfaktor START	0,63	0,62	0,62	0,63	0,64	0,63
Mittelwert von Korpulenzfaktor ENDE	0,67	0,70	0,68	0,64	0,64	0,64
Mittelwert von Verhältnis Antennen-/ Körperlänge START	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Mittelwert von Verhältnis Antennen-/ Körperlänge ENDE	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	0,4
Mittelwert von Wachstums-rate [g/Woche]	1,3	1,1	1,2	1,0	0,9	1,0
Mittelwert von spezif. Wachstumsrate [%/Tag]	2,1	1,8	2,0	1,8	1,7	1,7
Mittelwert von Überlebensrate [%]	30,0%	51,7%	40,8%	51,7%	71,7%	61,7%
Mittelwert von Überlebensrate [%]/Tag	98,3%	98,7%	98,5%	98,7%	99,1%	98,9%
Mittelwert von Futtereinsatz/Becken [g]	143,5	143,5	143,5	143,5	143,5	143,5
Mittelwert von Zunahme Biomasse [g]	-35,2	8,0	-13,6	8,6	43,1	25,8
Mittelwert von FCR/ Becken	-4,0	3,4	-0,3	10,1	3,9	7,0

¹ Die rot dargestellten Werte für den Futterumwandlungsquotienten basieren auf negativen Zunahmen in der Lebendbiomasse in 1-2 Becken pro Testkreislauf.

12.4.3 Ergebnisse Versuch 4

Tabelle 12-8: Versuch 4: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den gesamten Versuchszeitraum

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von pH	SD	Mittelwert von O2 [mg/l]	SD	Mittelwert von Temp. [°C]	SD	Mittelwert von Salinität [g/l]	SD
K		7,9	0,17	7,9	0,24	29,2	0,24	15,1	0,13
K1	1	7,9	0,18	8,0	0,17	29,2	0,28	15,1	0,17
K2	3	7,9	0,16	7,7	0,24	29,2	0,17	15,0	0,09
Ozon		8,0	0,20	7,8	0,30	29,2	0,16	15,1	0,10
Ozon 300 mV-1	2	7,9	0,16	7,6	0,20	29,2	0,15	15,1	0,10
Ozon 300 mV-2	4	8,1	0,19	7,9	0,25	29,1	0,13	15,1	0,09
UV		8,0	0,21	7,5	0,40	29,3	0,25	15,3	0,19
UV_7W	6	7,9	0,18	7,2	0,29	29,3	0,31	15,3	0,23
UV_9W	5	8,0	0,23	7,8	0,20	29,3	0,18	15,3	0,15
pro Variante (=2 TK), N=		44		36		50		52	
pro TK, N=		22		18		25		26	

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von Abfiltrierbare Stoffe [mg/l]	SD	Mittelwert von N gesamt [mg/l]	SD	Mittelwert von NO3-N [mg/l]	SD	Mittelwert von DOC [mg/l]	SD	Mittelwert von PO4-P [mg/l]	SD
K		56,5	31,73	79,9	5,44	43,1	24,12	34,9	14,79	35,88	2,8
K1	1	67,0	37,18	81,5	7,26	47,0	24,07	26,3	8,26	35,8	3,5
K2	3	46,0	20,29	78,3	1,09	39,3	23,53	43,5	14,84	36,0	1,9
Ozon		37,9	17,07	69,5	21,62	40,7	26,99	30,1	7,62	35,1	9,0
Ozon 300 mV-1	2	25,8	4,38	69,5	23,58	40,7	28,81	28,3	5,72	31,5	11,5
Ozon 300 mV-2	4	50,0	16,42	69,5	19,46	40,8	25,02	32,0	8,75	38,8	1,3
UV		24,9	10,88	60,0	14,16	35,1	19,69	24,1	5,04	23,3	5,5
UV_7W	6	29,0	9,19	60,8	4,32	32,0	17,31	23,5	4,50	21,5	6,2
UV_9W	5	20,9	10,92	59,3	19,52	38,3	21,37	24,8	5,45	25,0	4,1
pro Variante (=2 TK), N=		8		8		8		8		8	
pro TK, N=		4		4		4		4		4	

Tabelle 12-9: Versuch 4: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen bei Versuchstart und -ende (N=3 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-6)

Werte	Kontrolle		Kontrolle Ergebnis		Ozon Ergebnis		UV Ergebnis		
	1	3	2	4	5	6			
Mittelwert von mittl. Körpergewicht START [g]	2,26	9,19	5,73	9,07	2,20	5,63	2,20	9,27	5,73
Mittelwert von mittl. Körpergewicht ENDE [g]	3,70	11,91	7,80	12,72	3,57	8,14	3,57	13,34	8,46
Mittelwert von mittl. Körperlänge START [cm]	6,52	11,41	8,97	11,21	6,44	8,83	6,38	11,39	8,89
Mittelwert von mittl. Körperlänge ENDE [cm]	8,33	12,39	10,36	12,54	8,14	10,34	8,21	12,62	10,42
Mittelwert von Korpulenzfaktor START	0,82	0,62	0,72	0,64	0,82	0,73	0,85	0,63	0,74
Mittelwert von Korpulenzfaktor ENDE	0,64	0,63	0,63	0,64	0,66	0,65	0,64	0,66	0,65
Mittelwert von Verhältnis Antennen-/Körperlänge START		0,22	0,22	0,23		0,23		0,20	0,20
Mittelwert von Verhältnis Antennen-/Körperlänge ENDE		0,37	0,37	0,34		0,34		0,34	0,34
Mittelwert von Wachstums-rate [g/Woche]	0,33	0,63	0,48	0,85	0,32	0,59	0,32	0,95	0,64
Mittelwert von spezif. Wachstumsrate [%/Tag]	1,63	0,86	1,25	1,13	1,61	1,37	1,62	1,21	1,41
Mittelwert von Überlebensrate [%]	80,0%	81,0%	80,5%	71,4%	81,7%	76,5%	91,7%	78,6%	85,1%
Mittelwert von Überlebensrate [%]/Tag	99,3%	99,4%	99,3%	99,0%	99,4%	99,2%	99,7%	99,3%	99,5%
Mittelwert von Futtereinsatz/Becken [g]	59,93	86,80	73,37	86,80	59,93	73,37	58,93	87,83	73,38
Mittelwert von Zunahme Lebendbiomasse [g]	13,55	6,27	9,91	-0,07	14,22	7,08	21,60	16,33	18,97
Mittelwert von FCR/ Becken	4,76	1,15	2,95	9,98	4,42	7,20	2,91	5,61	4,26

Die rot dargestellten Werte für den Futterumwandlungsquotienten basieren auf negativen Zunahmen in der Lebendbiomasse in mindestens 1 Becken pro Testkreislauf.

12.4.4 Ergebnisse aus Versuch 5 (mit Gesamtzeitraum Versuch 4 und Versuch 5)

Tabelle 12-10: Versuch 5: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität über den Versuchszeitraum (15.10.2015 bis 25.11.2015)

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von pH	SD	Mittelwert von O2 [mg/l]	SD	Mittelwert von Temp. [°C]	SD	Mittelwert von Salinität [g/l]	SD
K		7,7	0,17	7,8	0,24	29,2	0,24	15,1	0,13
K1	1	7,7	0,18	7,9	0,17	29,3	0,28	15,2	0,17
K2	3	7,8	0,16	7,8	0,24	29,2	0,17	15,0	0,09
Ozon		7,8	0,20	7,8	0,30	29,3	0,16	15,1	0,10
Ozon 300 mV-1	2	7,8	0,16	7,6	0,20	29,3	0,15	15,1	0,10
Ozon 300 mV-2	4	7,8	0,19	8,0	0,25	29,3	0,13	15,1	0,09
UV		7,7	0,21	7,4	0,40	29,2	0,25	15,2	0,19
UV_7W	6	7,8	0,18	7,0	0,29	29,0	0,31	15,2	0,23
UV_9W	5	7,6	0,23	7,8	0,20	29,5	0,18	15,1	0,15
pro Variante (=2 TK), N=		44		36		50		52	
pro TK, N=		22		18		25		26	

Tabelle 12-11: Versuch 5: Ergebnisse Datenerhebung Garnelen bei Versuchsstart und -ende (N=3 pro Testkreislauf, s. Ziffer 1-6)

Werte	Kontrolle		Kontrolle Ergebnis		Ozon		Ozon Ergebnis		UV	
	1	3	2	4	5	6	5	6	6	6
Mittelwert von mittl. Körpergewicht START [g]	3,7	11,9	7,8	12,7	3,6	8,1	3,6	13,3	8,5	8,5
Mittelwert von mittl. Körpergewicht ENDE [g]	5,6	18,6	12,1	19,9	6,2	13,0	6,0	19,0	12,5	12,5
Mittelwert von mittl. Körperlänge START [cm]	8,3	12,4	10,4	12,5	8,1	10,3	8,2	12,6	10,4	10,4
Mittelwert von mittl. Körperlänge ENDE [cm]	9,5	14,1	11,8	14,5	9,8	12,1	9,8	14,1	12,0	12,0
Mittelwert von Korpulenzfaktor START	0,64	0,63	0,63	0,64	0,66	0,65	0,64	0,66	0,65	0,65
Mittelwert von Korpulenzfaktor ENDE	0,65	0,67	0,66	0,66	0,65	0,65	0,63	0,68	0,65	0,65
Mittelwert von Verhältnis Antennen-/ Körperlänge START	0,8	0,4	0,6	0,3	0,9	0,6	0,6	0,3	0,5	0,5
Mittelwert von Verhältnis Antennen/ Körperlänge ENDE	0,6	0,3	0,5	0,4	0,7	0,6	0,6	0,4	0,5	0,5
Mittelwert von Wachstums-rate [g/Woche]	0,3	1,2	0,7	1,2	0,4	0,8	0,4	1,0	0,7	0,7
Mittelwert von spezif. Wachstumsrate [%/Tag]	1,0	1,1	1,0	1,1	1,3	1,2	1,2	0,9	1,1	1,1
Mittelwert von Überlebensrate [%]	73,7%	64,4%	69,1%	57,7%	81,6%	69,7%	70,4%	77,0%	73,7%	73,7%
Mittelwert von Überlebensrate [%]/Tag	99,4%	99,1%	99,2%	99,0%	99,6%	99,3%	99,3%	99,4%	99,4%	99,4%
Mittelwert von Futtereinsatz/Becken [g]	79,3	114,8	97,0	114,8	79,3	97,0	77,9	116,2	97,0	97,0
Mittelwert von Zunahme Lebendbiomasse [g]	6,0	1,4	3,7	-14,4	22,7	4,1	10,9	9,5	10,2	10,2
Mittelwert von FCR/ Becken	0,9	-7,7	-3,4	-0,5	4,4	2,0	50,7	1,4	26,1	26,1

Die rot dargestellten Werte für den Futterumwandlungsquotienten basieren auf negativen Zunahmen in der Lebendbiomasse in mindestens 1 Becken pro Testkreislauf.

Tabelle 12-12: Mittelwerte von Messwerten zur Wasserqualität im gesamten Versuchszeitraum von Versuch 4 und Versuch 5 (15.11.2015 bis 25.11.2015)

Versuchsvariante	TK-Nr.	Mittelwert von pH	SD	Mittelwert von O ₂ [mg/l]	SD	Mittelwert von Temp. [°C]	SD	Mittelwert von Salinität [g/l]	SD
K		7,8	0,17	7,8	0,24	29,2	0,24	15,1	0,13
	K1 1	7,8	0,18	7,9	0,17	29,3	0,28	15,1	0,17
	K2 3	7,8	0,16	7,8	0,24	29,2	0,17	15,0	0,09
Ozon		7,9	0,20	7,8	0,30	29,2	0,16	15,1	0,10
	Ozon 300 mV-1 2	7,9	0,16	7,6	0,20	29,3	0,15	15,1	0,10
	Ozon 300 mV-2 4	7,9	0,19	7,9	0,25	29,2	0,13	15,1	0,09
UV		7,8	0,21	7,5	0,40	29,3	0,25	15,2	0,19
	UV_7W 6	7,9	0,18	7,1	0,29	29,1	0,31	15,3	0,23
	UV_9W 5	7,8	0,23	7,8	0,20	29,4	0,18	15,2	0,15
	pro Variante (=2 TK), N=	44		36		50		52	
	pro TK, N=	22		18		25		26	

12.5 Titelblatt und Inhaltsverzeichnis des Betriebshandbuchs zur Garnelen-Aquakultur in Indoor-Kreislaufanlagen



**Betriebsanleitung für Polyplan-Kreislaufanlage zur Produktion von
Garnelen (*Litopenaeus vannamei*)**

Teil II: Gesamtkonzept Tierhaltung und -fütterung

**Manual on Standard Operating Procedures for Polyplan-Recirculating
Water System for Production of Shrimp (*Litopenaeus vannamei*)**

Part II: Animal husbandry



Written by Polyplan GmbH
Übersetor 14
28217 Bremen

Stand - date 24.04.2016

Inhalt - Content

1	Einleitung Introduction	7
2	Postlarven-Handhabung Post larvae handling.....	7
2.1	Postlarven Akklimatisierung Acclimation procedure for post larvae.....	7
2.1.1	Akklimatisierung: - Acclimation:	10
2.2	Untersuchungen während der Akklimatisierung - Measurements during acclimation.....	10
2.2.1	Monitoring der Wasserqualität - Monitoring of water quality	10
2.2.2	Postlarven: Zählung und Überlebensrate - Post Larvae: Number and survival rate.....	11
2.2.3	Körpergewicht und -länge bestimmen - Determination of body weight and -size:.....	14
2.2.4	Postlarven- Vitalitäts- und Qualitätstests - Vitality and quality checks for post larvae.....	14
2.2.5	Optische Routine-Beurteilung des PL-Zustands - Optical routine assessment of PL condition.....	15
2.3	Stresstest für PL - stress test for PL.....	21
2.4	Fütterungsschema für Postlarven - feeding scheme for post larvae.....	22
3	Fütterungsmanagement und Fütterungsschema im Produktionszyklus - feeding management and scheme during grow-out cycle.....	24
3.1	Ermittlung des Futterbedarfs pro Jahr - Determination of the feed consumption per year ..	24
3.2	Ermittlung des Futtereinsatzes pro Tag - Determination of daily feed rate applied:.....	24
3.3	Dokumentation Futtermittel u.a. Agenzien - documentation of feedstuff and other agents .	28
3.3.1	Ermittlung und Protokollierung der Futtermengen - determination and recording of feed amount	28
4	Garnelenkultur im „Marella“-Konzept (Besatz- und Ernteschema, Monitoring) - Shrimp aquaculture in the „Marella“-concept (Stocking-, harvest scheme and monitoring).....	30
4.1	Besatz- und Ernteschema - Stocking and harvest scheme.....	30
4.2	Monitoring Tierwachstum u. -zustand im Produktionszyklus - monitoring of shrimp growth and condition during the grow-out cycle.....	33
4.2.1	Monitoring von Tierwachstum - Monitoring of animal growth	33
4.2.2	Weitere Datenerhebung: Qualitäts-Check vor der Ernte - Further monitoring: Pre-Harvest Quality Check.....	36
5	Transfer und Ernte von Garnelen - Transfer and harvest of shrimps	38
5.1	Transfer der lebenden Garnelen innerhalb der Kreislaufanlage - transfer of live shrimps within the recirc system	38
5.2	Ernte Harvest	39
5.3	Tötung	40
6	Lebensmittelproduktion: Gesetzliche Auflagen - Food production: legal requirements	41
7	Lebensmittelproduktion: HACCP-Konzept - Food production: HACCP concept.....	43
7.1	HACCP: Definition und Grundsätze - HACCP: definition and guideline	43
7.2	Weitergehende Gefahrenanalyse Garnelenproduktion im Salzwasserkreislauf - Further hazard assessment for shrimp production in a saltwater recirc system.....	44
7.2.1	Definition der (kritischen) Kontrollpunkte bzw. Grenzwerte, Kontroll- und Korrekturverfahren - definition of (critical) control points, limit values, control~ and corrective measures.....	44
7.2.2	Dokumentationspflichten für genehmigte Aquakulturbetriebe	46
8	ANHANG: Risiken und Gegenmaßnahmen (engl. translation upon pending).....	48

8.1	Risiko Lieferausfall bei Besetztierlieferungen aus den USA	48
8.2	Risiko Mangelhafte Qualität der Besetztiere und uneinheitliches Wachstum.....	49
8.3	Risiko Futtermittel und Fütterungsmanagement.....	49
8.4	Hygiene und Eintrag von Krankheitserregern, z.B. ‚White Spot Disease‘	50
8.5	Genehmigungstechnische Risiken.....	52
8.5.1	Baugenehmigung.....	52
9	ANHANG: Biologische Grundlagen zur Aquakultur von <i>Litopenaeus vannamei</i>	53
9.1	Biologische Daten zur tropischen Großgarnele <i>Litopenaeus vannamei</i>	53
9.2	Anforderungen und Toleranzen der Spezies <i>L. vannamei</i> an die Wasserqualität – requirements and tolerances of the species <i>L. vannamei</i> regarding water quality parameters.....	57
9.3	Produktionsfaktor Überlebens- und Wachstumsraten.....	61
9.3.1	Grundannahmen für Überlebensraten im ‚Marella‘-Konzept, mit Referenzen.....	61
9.3.2	Grundannahme für Wachstums- und Futterumwandlungsrate im ‚Marella‘-Konzept, mit Referenzen	64
10	Literatur	67

Tabellenverzeichnis – directory of tables

Tabelle 2-1:	PL-Empfangsprotokoll - PL-Arrival Protocol.....	9
Tabelle 2-2:	Beispiel eines Datenblatts PL-Akklimatisierung – Example for datasheet PL acclimation.	11
Tabelle 2-3:	Protokollvorlage zur Bestimmung der Überlebensrate von PL in der Akklimatisierungsphase – <i>protocol form for determination of survival rate of PL during acclimation phase</i>	13
Tabelle 2-4:	Protokollvorlage zur Bestimmung der Varianz in der Körperlänge – <i>protocol form for determination of variation in body length</i>	15
Tabelle 2-5:	Protokollvorlage für die visuelle Bewertung des PL-Zustands – <i>protocol form for the visual evaluation of PL condition</i>	19
Tabelle 2-6:	Protokollvorlage für die mikroskopische PL-Untersuchung – <i>protocol form for the microscopic PL evaluation</i>	20
Tabelle 2-7:	Lebendfutter für PL: Beispiel eines Artemien-Fütterungsplans - Live feed for PL: example for an Artemia feeding scheme	23
Tabelle 3-1:	Auszug aus der Futtertabelle aus dem ‚Marella‘-Konzept als Orientierung für Futtermenge und -art (basierend auf Prognosen zu Überlebens- und Wachstumsraten).....	27
Tabelle 3-2:	Auszug aus dem ‚Kulturprotokoll‘, mit den Einträgen zu Futterbedarf und -einsatz – <i>Section of the ‚culture protocol‘, including notes on feed demand and feed input</i>	29
Tabelle 4-1:	Mess- und Kontrollfrequenzen in einer ‚Marella‘-Garnelenproduktionsanlage.....	34
Tabelle 4-2:	Protokollvorlage Garnelenwachstum - <i>protocol form body weight record shrimp growth</i>	35
Tabelle 4-3:	Vorlage für die Bewertung der zur Ernte bestimmten Garnelen – <i>protocol form für the evaluation of shrimps designated for harvest</i>	37

Tabelle 7-1: Definition der (kritischen) Kontrollpunkte bzw. Grenzwerte, Kontroll- und Korrekturverfahren – <i>table continued: definition of (critical) control points, limit values, control- and corrective measures</i>	45
Tabelle 7-2: Definierte Kontrollpunkte mit Dokumentationspflichten für genehmigte Aquakulturbetriebe (gemäß HACCP-Konzept) – <i>obligatory documentation for approved aquaculture facilities</i>	46
Tabelle 7-3: Protokollvorlage aus einem HACCP-Konzept für eine Garnelenproduktionsanlage in Deutschland – <i>protocol form from a HACCP concept for a German shrimp production facility</i>	47
Tabelle 9-1: Ansprüche an die Wasserqualität – <i>requirements for water quality</i>	57

Abbildungsverzeichnis – directory of figures

Abbildung 1-1: Aufbau des „Marella“-Betriebshandbuches und der darin geregelten Datenerfassung...	6
Abbildung 2-1: Ablaufschema der PL-Akklimatisierung – <i>scheme for acclimation of PLVorbereitungen: Preparations</i> :	8
Abbildung 2-2: vitale PL 18-20 ohne und mit Algen im Darm – <i>vital PL 18-20 without and with having consumed algae</i>	18
Abbildung 3-1: Anpassung der Futterrate (in % der Biomasse) an den Wachstumsverlauf in einer Produktionsphase: Verlauf des mittleren Körpergewichts („Marella“-Konzept) und der Futterrate (in % der Biomasse an Tag x) als Vorgabe der Futtertabelle	25
Abbildung 4-1: Besatzschema mit monatlichem Besatz bei 3 PL-Becken für 6 Grow-Out-Becken und versetztem Besatz.....	32
Abbildung 5-1: Garnelen ‚fresh-dead‘ (25-30g g, nach 6 Monaten) – <i>shrimp ‚fresh-dead‘ (25-30g after 6 months)</i>	38
Abbildung 7-1: HACCP Grundsätze – <i>HACCP principles</i>	43
Abbildung 7-2: Betriebsbereiche und -abläufe in einer Garnelen-Aquakulturanlage (farbig unterlegt: die vom HACCP-Konzept betroffenen Bereiche) – <i>Zones and operations within a shrimp aquaculture facility (highlighted by colour: areas affected by the HACCP-concept)</i>	46
Abbildung 8-1: „Garnelenhof Schäfer“ Becken mit eigenem Biofilter zur ‚Vorrats‘-Hälterung von Postlarven bei niedrigeren Temperaturen zur Kompensation von Lieferausfällen im Winter (im Rahmen des FuE-Projektes „SaBinA-Shrimps“, Projektträger AiF*.....	48
Abbildung 8-2: Postlarven aus der Niedrig-Temperatur-Hälterung: 4 Wochen nach Besatz (li) und nach 6 Wochen (Mi und re), im Nov. 2011	48
Abbildung 9-1: natürliche Nahrung von <i>L. vannamei</i>	54
Abbildung 9-2: Lebenszyklus <i>L. vannamei</i>	55
Abbildung 9-3: Chitinhülle einer gehäuteten Garnele	55
Abbildung 9-4: Anatomie <i>L. vannamei</i> (FAO 2011) und Foto adulte <i>L. vannamei</i> Garnele.....	56
Abbildung 9-5: Baupläne von <i>Litopenaeus vannamei</i> : Organe (li) und Nerven (re).....	56

Abbildung 9-6: Gegenüberstellung biologischer Kenndaten für *Litopenaeus vannamei* in Kreislaufanlagen: Überlebensraten (gesamt und spezifisch pro Tag) sowie Kulturdauer und maximales Erntegewicht 63

Abbildung 9-7: Postlarven aus der Versuchsvariante „Lebendalgen“ nach 4 Wochen Versuchsdauer.. 64

Abbildung 9-8: Annahmen zum Wachstumsverlauf einer Kultur und Referenzdaten aus 2,5 Jahren Betrieb des „Garnelenhof Schäfer“ 65

Abbildung 9-9: Gegenüberstellung biologischer Kenndaten für *Litopenaeus vannamei* in Kreislaufanlagen 66