

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH (HB) in Kooperation mit der Stiftung Tierärztliche Hochschule (H)



## **Entwicklung von betriebs- und verfahrenstechnischen Lösungen für eine nachhaltige, Stickstoff-effiziente und tiergerechte Indoor-Garnelenproduktion auf Basis der Biofloc-Technologie (BFT)**

*Kurztitel: „KoMARE, Phase II“*

Abschlussbericht über ein Folgeprojekt von „KoMARE Phase I“,

Az: 34855/01-23

### **Bearbeitung:**

Dipl. Biol. Christina Pepler, Dipl. Ing. Stefan Bruns  
(Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH)

Felix Teitge, Dr. med. vet. Verena Jung-Schroers,  
Dr. rer. nat. Dieter Steinhagen

(Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover)

Laufzeit: 11.07.2019 - 31.03.2022 (Projektstart: 16.9.2019)

**Bremen, Januar 2023**

08/02		<b>Projektkennblatt</b> der <b>Deutschen Bundesstiftung Umwelt</b>			
Az	<b>34855/01</b>	Referat	<b>23</b>	Fördersumme	<b>230.797 €</b>
<b>Antragstitel</b>		<b>Entwicklung von betriebs- und verfahrenstechnischen Lösungen für eine nachhaltige, Stickstoff-effiziente und tiergerechte Indoor-Garnelenproduktion auf Basis der Biofloc-Technologie (BFT)</b>			
<b>Stichworte</b>		Aquakultur, Biofloc, Garnelen, Litopenaeus vannamei, Mikrobiom, Ressourceneffizienz, Tierwohl			
Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)		
<b>11.07.2019 - 31.03.2022</b>	<b>16.09.2019</b>	<b>31.03.2022</b>	<b>2</b>		
<b>Bewilligungsempfänger</b>		Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH Überseetor 14 28217 Bremen		Tel +49-421-17876-15 Fax +49-421-17876-19	
				Projektleitung Dipl. Biol. Christina Peppler	
				Bearbeiter	
<b>Kooperationspartner</b>		Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover Abteilung Fischkrankheiten und Fischhaltung Bünteweg 17, 30559 Hannover			
<b>Zielsetzung und Anlaß des Vorhabens</b>					
In diesem Vorhaben sollte in einer innovativen Indoor-Pilotanlage zur Garnelenproduktion geprüft werden, in wieweit mit dem dort umgesetzten ressourcenschonenden Ansatz der Biofloc-Technologie durch zu identifizierende Steuerungsmöglichkeiten und optimierte Betriebsführung folgende Ziele zu erreichen sind:					
<ul style="list-style-type: none"> <li>• die Reduzierung des Ressourcenverbrauchs</li> <li>• das Recycling wichtiger Nährstoffe und</li> <li>• die Verbesserung des Tierwohls in der Indoor-Garnelenproduktion</li> </ul>					
<b>Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden</b>					
In einem Beobachtungszeitraum von ca. 2 ½ Jahren wurde eine umfassende Datenerhebung in der kommerziellen BFT-Anlage Damm Aquakultur in Hessen durchgeführt. Dieses Monitoring umfasste u.a. Daten zur Wasserqualität, zur Entwicklung des Mikrobioms, zootecnische Daten und Daten zum Tierwohl. Zudem wurde der Ressourcenverbrauch zur Ermittlung spezifischer Kennzahlen erfasst und die Energie- und Ressourcen-Effizienz bewertet.					
Zur Analyse des Mikrobioms wurden Wasser, Garnelen und Biofilm beprobt. Nach molekularbiologischer Aufarbeitung wurde die Diversität und Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft ermittelt.					
Ein besonderer Fokus galt den Bioflocs, ihrem Vorkommen und ihren Eigenschaften. Quantitativ wurden Bioflocs als absetzbares Volumen bestimmt sowie mittels Laboranalyse des Gesamttrockenrückstands und abfiltrierbarer Stoffe von Wasserproben. Zur weiteren Charakterisierung dienten mikroskopische Untersuchungen, auch zur Einschätzung der Meiofauna, sowie Laboranalysen wichtiger Inhaltsstoffe.					
Die Anpassung der im DBU-Vorhaben KoMARE, Phase I (Az.30575/01) entwickelte Online-Datenbank Delta wurde als Tool zur sicheren Betriebsführung an die Erfordernisse der BFT-Anlage angepasst (Unterauftrag) und auch im Vorhaben eingesetzt, um die erhobenen Daten auszuwerten.					
In zwei weiteren Schwerpunkten wurden definierte Betriebszustände und deren mögliche Einflüsse auf o.g. Parameter untersucht. Ein Schwerpunkt war das Belüftungsmanagement.					
Da einige Fragestellungen aus dem Antrag aus verschiedenen Gründen umgewidmet werden mussten, konnten zusätzlich die neuen Möglichkeiten auch Besatztiere aus Europa und sogar erstmals aus Deutschland zu beziehen als Einflussgröße näher untersucht werden.					
Eine Risikoeinschätzung aufgrund der in BFT-Anlagen typischerweise erhöhten organischen Fracht wurde vorgenommen, basierend auf Sauerstoff- und Strömungsverhältnissen in der Grow-Out-Phase.					
Aufbauend auf den gewonnenen Erkenntnissen über Bioflocs und ihr Verhalten im untersuchten System wurden Steuerungsmöglichkeiten in der Betriebsführung, insbesondere mittels Anpassung von Umwälzraten, untersucht. Im Schwerpunkt ‚Tierwohl‘ wurde der Einsatz von Strukturen bzw. ‚Habitaten‘ als Rückzugsmöglichkeit für Garnelen untersucht. Zur Bewertung einer möglichen Verbesserung des Tierwohls wurden unter Berücksichtigung der Wasserqualität physiologische Stressreaktionen (Hämozytenanalyse und Expression von mit Stressreaktionen assoziierter Gene) sowie zootecnische Daten bestimmt.					
Deutsche Bundesstiftung Umwelt • An der Borsum 2 • 49090 Osnabrück • Tel. 0541/9633-0 • Fax. 0541/9633-190 • http://www.dbu.de					

### **Ergebnisse und Diskussion**

Das Vorhaben hat uns ermöglicht, in bereits erprobter guter Zusammenarbeit mit dem Partner TiHo und in 25 Besuchen in der Anlage Damm Aquakultur, tiefere Erkenntnisse über die bisher kaum in Indoor-Anlagen realisierte Biofloc-Technologie zu gewinnen und zentrale Risiken zu minimieren, wenn auch nicht alle Ziele erreicht werden konnten. So mussten im Projektverlauf einige geplante Arbeiten umgewidmet werden.

Schwierigkeiten durch externe, nicht beeinflussbare Faktoren behinderten alle Aufgabenbereiche in der Durchführung. Nur in stabilen Systemen können Steuerungsmöglichkeiten definiert werden. Der Zusammenhang zwischen Maßnahme und Reaktion des Systems muss eindeutig sein. Dies wurde im Projektverlauf allerdings durch zu viele und sich ändernde Variablen stark erschwert. Es fehlte im gesamten Beobachtungszeitraum eine längere stabile Phase unter Voll-Besatz der Anlage, in der gezielt einzelne Steuerungsmöglichkeiten zu identifizieren gewesen wären. Dennoch konnten einige wertvolle Ergebnisse generiert werden und bestimmte Zusammenhänge ließen sich erkennen:

- Bei niedrigen Biofloc-Volumina kam es aufgrund der dadurch verminderten Kapazitäten N-Verbindungen umzusetzen zu erhöhten Nitrit-N-Konzentrationen
- Schwankende N-Einträge können diese Kapazität ebenso begrenzen, beispielsweise in und auch eine Zeitlang nach Phasen sehr schwacher Anlagenauslastung
- Es wurden Bioflocs mit unterschiedlichem Phänotyp und Absetzverhalten beobachtet, ohne dass hierfür abschließend alle Einflussgrößen identifiziert und damit Steuerungsmöglichkeiten definiert werden konnten (ein Einflussfaktor für ein schlechteres Absetzverhalten konnte mit der Injektorbelüftung identifiziert werden)
- Ein erfolgreicher Ansatz zur Steuerung der Biofloc-Volumina lag in der Anpassung der Umwälzraten bzw. Volumenströme durch die Wasseraufbereitung, allerdings begrenzt auf Bioflocs mit gutem Absetzverhalten
- Die in der BFT-Literatur beschriebene Zudosierung der Kohlenstoffquelle Zucker hat sich vor allem in der PL-Phase zur Initiierung der Biofloc-Bildung bewährt
- In den GOB erwies sich die Zuckergabe als weniger praxistauglich und zudem konnten unerwünschte Nebeneffekte (Fadenbakterien) beobachtet werden

Der Einsatz der Habitate scheint das Stressniveau der Garnelen nicht zu beeinflussen. Einen Vorteil können die Strukturen aufgrund zusätzlicher Oberfläche für die Ansiedlung von Nitrifizierern bieten. Durch den Einsatz von Habitaten kann es zu eventuell unvorteilhaften Änderungen der Strömungsverhältnisse kommen. Dies sollte bei der Implementierung berücksichtigt werden.

Für die Produktqualität sind vornehmlich Betriebsfaktoren wie hochwertiges Futtermittel und die Einhaltung der möglichst optimalen Haltungsbedingungen entscheidend.

Die spezifischen Kennzahlen der im Projektzeitraum real erzielten Garnelenproduktionsmengen konnten nicht die Planziele erfüllen, bedingt durch verschiedene identifizierte Störfaktoren, die keine stabile Anlagenauslastung ermöglichten. Nach Projektabschluss seitens des Betreibers bereit gestellte Daten aus Kulturdurchgängen der inzwischen mit verbesserter Wasseraufbereitung auf Planniveau stabilisierten Produktion zeigen, dass die Garnelenproduktion unter diesen Bedingungen die wirtschaftlichen Zielvorgaben und auch die angestrebten Kennzahlen für den spezifischen Ressourcenverbrauch erfüllen kann.

### **Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation**

In Folge dieses Projektes sind gemeinsame wissenschaftliche Veröffentlichungen geplant. Weiterhin wurden bereits Teilergebnisse auf wissenschaftlichen Tagungen (EAFP 2022 in Hannover) vorgestellt und es sind weitere Präsentationen auf Fachtagungen vorgesehen.

### **Fazit**

Großes Optimierungspotenzial sehen die Projektpartner in einer Verbesserung der PL-Akklimatisierung und daraus zu erwartender erhöhter Überlebensrate. Auch die Verfügbarkeit und Qualität der Besatztiere ist hierbei wesentlich. Die Bedeutung der Bezugsquelle bzw. der jeweils eingesetzten genetischen Zuchtlinien sollte weiter untersucht werden.

Das Biofloc-Verfahren ist im Vergleich zu herkömmlicher RAS-Aquakultur komplexer und erfordert spezifisches Fachwissen des Betreuungsteams über Wechselwirkungen zwischen Biologie, Wasserchemie und Technik. Wir sind sehr zuversichtlich, dass wir mit der Zwitter-Lösung die positiven Aspekte beider Technologien vereinen. Mit der Datenbank Delta, als Bestandteil der umfassenderen Datenbank DANA 2.0 (s. DBU Az. 34916/01), steht uns ein wichtiges Mittel zur Betreuung und Echtzeit-Kontrolle zahlreicher Prozesse in den Betrieben zur Verfügung, das die Risiken für die Anlagenbetreiber minimieren kann.

Biofloc-basierte Aquakultur bietet vielfältige Vorteile, die in zahlreichen Studien belegt wurden und wird angesichts einer wachsenden Weltbevölkerung und begrenzter Ressourcen sicher noch weiterentwickelt, auch für den Einsatz in Indooranlagen.

# 1 Verzeichnisse

## 1.1 Inhaltsverzeichnis

### Inhalt

1	Verzeichnisse.....	4
1.1	Inhaltsverzeichnis.....	4
1.2	Tabellenverzeichnis.....	6
1.3	Abbildungsverzeichnis.....	8
1.4	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.....	15
2	Zusammenfassung.....	16
3	Einleitung.....	17
4	Verlauf und unerwartete Probleme in der Durchführung der Arbeiten.....	19
5	Arbeitspaket 1: Aspekte der Nachhaltigkeit in der Indoor-Garnelenproduktion: Monitoring, Kennzahlen und nachhaltige Betriebsführung in der Bioflock-Technologie (POLY-K).....	22
5.1	AP 1.1: Monitoring (Ressourcenverbrauch/ Wasserqualität/ Garnelenqualität und -produktion) in kommerziellen BFT-Anlagen und Anpassung der Datenbank Delta als Tool.....	22
5.1.1	AP 1.1.1: Umfassendes Monitoring in kommerzieller BFT-Anlage mit den Schwerpunkten: Belüftungsart, Entwicklung des Mikrobioms und Herkunft der Besatztiere.....	22
5.1.2	AP 1.1.2: Monitoring von Produktqualitäten in kommerzieller/n BFT-Anlage(n) (mit U-Auftrag externes Labor) 93	
5.1.3	AP 1.1.3: Anpassung und Weiterentwicklung der Datenbank Delta für den Einsatz in BFT-Anlagen (mit U-Auftrag Software-Firma).....	94
5.1.4	Fazit und Diskussion AP 1.1.....	97
5.2	AP 1.2: Entwicklung einer sicheren, effizienten und ressourcenschonenden Betriebsführung von BFT-Anlagen: Risikominimierung und Definition von SOP für eine nachhaltige Betriebsführung (Umweltentlastung, Effizienz der Produktion).....	104
5.2.1	AP 1.2.1: Risikoanalyse und -minimierung für BFT in Bezug auf Sauerstoffbedarf durch erhöhte TS-Fracht unter versch. Betriebsszenarien und Implikationen für Umwälzung und Belüftung.....	104
5.2.2	AP 1.2.2: Erarbeitung von spezifischen Betriebsanleitungen (SOP) für den effizienten Einsatz der Ressourcen (Energie/ Wasser/ Betriebsmittel) für BFT-Anlagen.....	110
5.3	AP 1.3: Auswertung AP1, mit Ermittlung der Kennzahlen, Bewertung der Ressourcen-Effizienz und Evaluierung in Bezug auf eine Zertifizierbarkeit des Produktionsverfahrens (POLY-K und TiHo).....	111
5.3.1	Ermittlung der Kennzahlen (spezifischer Verbrauch an Energie, Wasser und Futter).....	111
5.3.2	Frachten-Bilanzierung.....	118
5.3.3	Bewertung der Ressourcen-Effizienz, Zertifizierbarkeit.....	122
6	Arbeitspaket 2: Faktor Mikrobiozönose und Meiofauna und deren Steuerungsmöglichkeiten (TiHo).....	129
6.1	AP 2.1: Bestimmung der Mikrobiozönose (Garnelen, Bioflocs, Becken) in kommerz. BFT-Anlage(n).....	129
6.2	AP 2.2: Bestimmung der Meiofauna in kommerz. BFT-Anlage(n).....	130
6.3	AP 2.3: Auswertung AP2, mit Definierung von Steuerungsmöglichkeiten.....	132

7	Arbeitspaket 3: Faktor Bioflocke und deren Steuerungsmöglichkeiten .....	133
7.1	AP 3.1: Monitoring von Bioflocs (physikal.-techn. Eigenschaften) im Betrieb einer kommerziellen BFT-Anlage (POLY-K).....	133
7.1.1	Ergebnisse des Biofloc-Monitorings.....	134
7.2	Monitoring Nährwertanalyse der Bioflocs/ Schwebstoffe in BFT-Anlagen und Bestimmung des physiolog. Ernährungswerts im Vergleich zum eingesetzten Trockenfutter (TiHo) .....	144
7.3	Auswertung AP3, Definierung von Steuerungsmöglichkeiten (Implikationen für die Betriebsführung) (POLY-K)	146
8	Arbeitspaket 5: Faktor Tierwohl und dessen Verbesserung in der Indoor-Garnelenproduktion .....	149
8.1	AP 5.1. Versuche zum Tierwohl.....	149
8.1.1	AP 5.1.1: Vorversuche Stressreduktion durch Habitats, Labormaßstab (POLY-K).....	149
8.1.2	AP 5.1.2: begleitende Bestimmung der Mikrobiözönose (Schwebstoffe, Garnele, Becken) sowie der HSP im Habitatversuch Labormaßstab (TiHo) .....	159
8.1.3	AP 5.1.3: Praxistest Stressreduktion durch Habitats in kommerziellen Anlagen – <i>umgewidmet</i> : s. AP1: erweitertes Monitoring mit Schwerpunkt Bezugsquelle (POLY-K) .....	164
8.1.4	AP 5.1.4: begleitende Bestimmung der Mikrobiözönose (Schwebstoffe, Garnele, Becken) + HSP in kommerz. BFT-Anlage - <i>umgewidmet</i> in: physiologische Tierwohlaspekte unter verschiedenen Belüftungsbedingungen und im Schwerpunkt Bezugsquelle (TiHo) .....	164
8.1.5	Versuche mit Metall-bindendem Chitosan zur Reduktion von Metallkonzentrationen (am Beispiel von Cu und Zn): Vorversuche im U-Auftrag "Chipro" und Versuche im Labormaßstab unter Tierbesatz - <i>umgewidmet</i> (POLY-K) .....	173
8.1.6	AP 5.1.6: begleitende Verifizierung Stress-Minimierung durch Bestimmung der HSP in Garnelen im Laborversuch - <i>umgewidmet</i> (TiHo).....	173
8.2	AP 5.2: Entwicklung und Verifizierung eines Verfahrens zur tierschonenden und möglichst selektiven Ernte in großvolumigen Rundbecken.....	173
8.2.1	AP 5.2.1: Verfahrensentwicklung und Prototyp für ein tiergerechtes Ernteverfahren (POLY-K) .....	173
8.2.2	AP 5.2.2: Verifizierung der Durchführbarkeit von Ernteverfahren und Tiergerechtigkeit in der Praxis (1 oder 2) kommerzieller Farm(en) - <i>umgewidmet</i> (POLY-K) .....	174
8.2.3	AP 5.2.3: Verifizierung der Stress-Minimierung (z.B. durch Bestimmung der HSP) in den frisch mit unterschiedlichen Verfahren geernteten Garnelen - <i>umgewidmet</i> (TiHo).....	174
8.3	Auswertung AP 5, mit Definierung der optimalen Betriebsführung für ein hohes Tierwohl (POLY-K und TiHo)	175
9	Arbeitspaket 4: Gesamtauswertung AP 1-3: Bedeutung der Bioflocke und der Mikro- und Meio-Biozönose in BFT-Anlagen: Korrelationen und Zusammenhänge der erhobenen Daten (Wasserqualität/ Garnelen/ Bioflock-Eigenschaften); Definierung von Steuerungsmöglichkeiten und optimaler Betriebsführung für die Wasser- und Produktqualität sowie das Tierwohl (POLY-K und TiHo).....	178
10	Ausarbeitung und Implementierung Betriebshandbuch für Bioflock-Anlagen bzw. Fazit und Ausblick.....	180
11	Literatur .....	182
12	Anhang .....	184

## 1.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 5-1: Schwerpunkt Belüftungsart: Werte-Tabelle aus DeltA-Auswertung der Messgrößen ‚Sauerstoffkonzentration [mg/l]‘ und ‚Sauerstoff-Sättigung [%]‘ in den drei untersuchten Batches (mit Angaben zu Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte).....	26
Tabelle 5-2: Schwerpunkt Belüftungsart: Werte-Tabelle aus DeltA-Auswertung der Messgröße ‚absetzbare Stoffe [ml/l]‘ in den drei untersuchten Batches (mit Angaben zu Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte) .....	27
Tabelle 5-3: Ziel- und Toleranzkonzentrationen von Ca, Mg und K (nach Davis et al. 2004).....	32
Tabelle 5-4: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung über einen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen .....	34
Tabelle 5-5: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm aus Garnelenbecken mit unterschiedlicher Belüftung über einen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen .....	35
Tabelle 5-6: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung über einen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen .....	36
Tabelle 5-7: Vergleich der Beta-Diversität der mikrobiellen Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung mittels verschiedener nicht-parametrischer Testmethoden (Probennahme an Zeitpunkt t1 bzw. t2) .....	40
Tabelle 5-8: Belüftungsvarianten: Übersicht zootechnischer Daten, eingesetzter Futter- und Fangmengen, sowie FCR-Werte .....	47
Tabelle 5-9: parallel besetzte Kulturen aus drei Bezugsquellen: Transportmittel, -dauer [h] und -temperatur [°C].....	65
Tabelle 5-10: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben bei Besatz (Probennahme-Zeitpunkt: t0) .....	74
Tabelle 5-11: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf dem Carapax von Garnelen aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben während der Abwachsphase (Probennahme-Zeitpunkte: t1 und t2).....	74
Tabelle 5-12: Vergleich der Beta-Diversität der mikrobiellen Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Herkunft (DE, US, AT) mittels verschiedener nicht-parametrischer Testmethoden (Gruppe PL: t0)	75
Tabelle 5-13: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Transportwasser von Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben bei Besatz.....	76
Tabelle 5-14: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser vom Becken, in die Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben eingesetzt worden waren, während der Abwachsphase (Probennahme-Zeitpunkte: t1 und t2).....	77
Tabelle 5-15: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm vom Becken, in die Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben eingesetzt worden waren während der Abwachsphase (Zeitpunkte t1 und t2) .....	78
Tabelle 5-16: in den Jahren 2020 bis 2022 erzielte Produktionsmengen [kg], eingesetzte Futtermengen [kg] und ermittelte Futterumwandlungs- sowie Überlebensraten [%] (Einzelwerte in dieser Pivot-Auswertung als ‚Maximum‘ bzw. Minimum angegeben).....	113
Tabelle 5-17: Kennzahlen zum spezifischen Verbrauch (Strom, Wärme, Wasser, Salz) aus der Planung und aus dem Betrieb in den Jahren 2020 und 2021 für 2 Szenarien mit auf 1 Jahr (Faktor 12) hochskalierten Produktionsmengen aus a) der maximal erzielten Ernte und b) der im Mittel erzielten Erntemenge .....	117
Tabelle 5-18: Stickstoff-Eintrag am Beispiel von Batch # 13_DE, berechnet aus Mengen der einzelnen Futtermittel mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen (PL_1...4: PL-Futtersorten in PL-Phase, Grow-Out_1...4: Futtersorten im Grow-Out) .....	119
Tabelle 5-19: Theoretischer Stickstoff-Eintrag unter Voll-Last bei einer monatlichen Besatzfrequenz und Kulturdauer von 140 Tagen (angesetzte mittlere Proteinkonzentration: 39%).....	119
Tabelle 5-20: Stickstoff-Austrag am Beispiel von Batch # 13_DE, berechnet aus der Erntemenge [g] und dem Protein- sowie N-Gehalt der Garnelen [%] .....	120
Tabelle 5-21: Kennzahlen zum spezifischen Verbrauch von Strom, Wärme, Wasser und Salz, aus der Planung und aus dem Betrieb (auf 1 Jahr mit 12x Neubesatz hochskalierte mittlere Ernte aus 2020 und 2021 sowie Durchschnitt aus zwei Beispielernten aus 2022 und 2023 basierend auf den jeweils höheren ermittelten Verbräuchen der Jahre 2020 und 2021) .....	124

<i>Tabelle 5-22: Futtermengen [kg], Produktionsmengen [kg], ermittelte Futterumwandlungs- sowie Überlebensraten [%] pro Kultur im Zeitraum 2020 bis 2022, ergänzt um Daten von 2 als ‚neu‘ markierten Kulturen, die nach Projektabschluss (Ende 2022 bzw. Anfang 2023) abgefischt wurden (in Pivot sind Einzelwerte hier als Maximum bzw. Minimum dargestellt).....</i>	125
<i>Tabelle 7-1: Prozentualer Gehalt ausgewählter Nährstoffe an der Trockensubstanz der Bioflocs an 3 Zeitpunkten im Verlauf des Beobachtungszeitraums .....</i>	145
<i>Tabelle 7-2: Konzentrationen ausgewählter Nährstoffe der untersuchten Bioflocs in g/kg der Ursprungssubstanz (uS) im Verlauf des Beobachtungszeitraums .....</i>	145
<i>Tabelle 7-3: prozentualer Gehalt ausgewählter Nährstoffe in Futtermitteln, die in der Anlage Damm Aquakultur eingesetzt wurden (Herstellerangaben; k.A.: keine Angaben) .....</i>	146
<i>Tabelle 8-1: Statistisch untersuchte Parameter: Wasserqualität (Mittelwerte, n=3 pro Versuchsbecken, N-Formen per Schnelltest).....</i>	154
<i>Tabelle 8-2: Garnelenversuch zum Habitat-Einfluss (+ : mit Habitat, -: ohne Habitat-Einsatz): Übersicht der Mittelwerte aller erhobenen und berechneten zootechnischen Daten (helle Zeilen: n=120 bei Start, n=112 bis 116 bei Ende und für Messgrößen in grau unterlegten Zeilen: n=3 aus Mittelwerten pro Variante mit je 3 Versuchsbecken) .....</i>	155
<i>Tabelle 8-3: Habitatversuch: Fortsetzung: Habitatversuch: Übersicht der Mittelwerte zootechnischer Daten pro Versuchsbecken nach 4 Wo bei Versuchsende (Mittelwerte n= 36 bis 39) .....</i>	157
<i>Tabelle 8-4: Habitatversuch: Übersicht der Mittelwerte zootechnischer Daten pro Versuchsbecken nach 4 Wo bei Versuchsende (Mittelwerte n= 36 bis 39) .....</i>	158
<i>Tabelle 8-5: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm <b>auf dem Carapax von Garnelen</b> aus je drei Becken mit und ohne Habitatstrukturen (Varianten: Habitat 1...3 und Kontrolle ohne Habitat 1...3).....</i>	159
<i>Tabelle 8-6: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im <b>Biofilm von Becken</b> mit und ohne Habitatstrukturen.</i>	160
<i>Tabelle 8-7: Verteilung von Hämozyten in der Hämolymphe von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung (Angaben in %, Mittelwert und Standardabweichung von Zählungen aus 10 Garnelen).....</i>	165
<i>Tabelle 8-8: Verteilung von Hämozyten in der Hämolymphe von Garnelen aus unterschiedlichen Batches bzw. Chargen während der Wachstumsphase (Angaben in %, Mittelwert und Standardabweichung von Zählungen aus 10 Garnelen) .....</i>	168
<i>Tabelle 8-9: Verteilung von Hämozyten in der Hämolymphe von Garnelen aus unterschiedlichen Bezugsquellen während der Wachstumsphase (Angaben in %, Mittelwert und Standardabweichung von Zählungen aus 10 Garnelen. t1: Probenahme an Kulturtag 49, t2: an Kulturtag 84) .....</i>	170
<i>Tabelle 8-10: Vergleichsdaten aus de Moraes et al. (2020) für zwei Kulturen der Anlage Damm Aquakultur: erzielte Erträge [kg/m<sup>3</sup>] und Überlebensraten [%] für die jeweils erzielten Endgewichte in bestimmter Kulturdauer, sowie daraus berechnete Wachstumsraten [g/Woche] .....</i>	177

### 1.3 Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 4-1: Zeitleisten mit den wichtigsten Ereignissen seit Inbetriebnahme in 10/2018 (Ereignis/ Monat/ Jahresleiste) .....</i>	21
<i>Abbildung 5-1: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung von Sauerstoffkonzentration [mg/l] und Sauerstoff-Sättigung [%] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Referenz Standardbelüftung).....</i>	26
<i>Abbildung 5-2: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung von Sauerstoff-Sättigung [%] und Salinität [ppt] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Referenz Standardbelüftung, mit Werte-Tabelle für die drei untersuchten Batches (Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte)) .....</i>	26
<i>Abbildung 5-3: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung von Sauerstoffkonzentration [mg/l] und dem Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Referenz Standardbelüftung).....</i>	27
<i>Abbildung 5-4: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung der Konzentration von NH<sub>4</sub>-N [mg/l] (Füllkurve) und dem Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Standardbelüftung; mit Werte-Tabelle für die drei untersuchten Batches (Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte)) .....</i>	28
<i>Abbildung 5-5: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung der Konzentration von NO<sub>2</sub>-N [mg/l] (Füllkurve) und dem Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Standardbelüftung; mit Werte-Tabelle für die drei untersuchten Batches (Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte)) .....</i>	28
<i>Abbildung 5-6: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung der täglichen Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g]), pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf von Batch #7, Injektorbelüftung; mit Werte-Tabelle (Minimum, Maximum, Mittelwert und Futtersumme sowie Anzahl Werte).....</i>	29
<i>Abbildung 5-7: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung der täglichen Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g]), pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf von Batch #8, Sauerstoff; mit Werte-Tabelle (Minimum, Maximum, Mittelwert und Futtersumme sowie Anzahl Werte) .....</i>	29
<i>Abbildung 5-8: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung der täglichen Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g]), pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf von Batch #9, Standard_1; mit Werte-Tabelle (Minimum, Maximum, Mittelwert und Futtersumme sowie Anzahl Werte) .....</i>	30
<i>Abbildung 5-9: Belüftungs-Varianten: Konzentrationen gelöster Stickstoff-Formen (NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N und NO<sub>3</sub>-N [mg/l]), gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC, [mg/l]) sowie Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] und abfiltrierbarer Stoffe [mg/l] aus Beprobungen in 2019 und 2020 (an 2 bzw. 4 Terminen, n=1).....</i>	30
<i>Abbildung 5-10: Schwerpunkt Belüftungsart: Labordaten zu Konzentrationen der essentiellen Ionen Ca, Mg und K sowie der Schwermetall-Ionen Cu und Zn im Beobachtungszeitraum 11/2019 bis 05/2020 (Sauerstoff: Batch #8, Injektor: Batch #9, Standard 1: Batch #9, Standard 2: Batch #10; n=1; als Minimum bzw. Maximum dargestellt in Pivot-Auswertung)..</i>	31
<i>Abbildung 5-11: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser und im Biofilm im Becken und auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung. Dargestellt ist die Anzahl gemeinsamer Arten (core) und spezifischer Arten in Wasser (Wa), im Biofilm (Bf) und dem Carapax von Garnelen (Gi) an zwei Zeitpunkten (Tp1, Tp2) in Becken mit Standard-Belüftung (Ta1.3, Ta2.3), über Injektoren (T 1.1), oder über Sauerstoff (T3.3) .....</i>	37
<i>Abbildung 5-12: Relative Abundanz von Bakterien aus unterschiedlichen Bakterien-Phyla im Mikrobiom im Wasser und dem Biofilm von Beckenwänden sowie vom Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung an zwei Zeitpunkten(t1 und t2) .....</i>	38
<i>Abbildung 5-13: Relative Abundanz von Bakterien aus dem Stämmen Proteobacteria (oben), Bacteroidota (Mitte) und Actinobacteriota (unten) in der mikrobiellen Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus den Becken mit unterschiedlicher Belüftung (Datenpunkte sind ‚Ausreißer‘) .....</i>	39
<i>Abbildung 5-14: Screenshot aus Delta mit Darstellung der mittleren Körpergewichte im Verlauf der drei Vergleichskulturen aus dem Schwerpunkt „Belüftungsart“ (#7_US: (Luft-)Injektor, #8_US: technischer Sauerstoff, #9_US: Standardbelüftung über Ausströmer) sowie mit den Sollwerten nach Futtertabelle (2020), hier als Füllkurve für alle 3 Kulturen geltend .....</i>	41

Abbildung 5-15: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] im Kulturzyklus der Belüftungsvarianten: Injektor, Sauerstoff und Standard (3 Kulturen) mit Zielgewicht nach Futtertabelle (2019-2021, s. Linie) (n= 20 in PL-Phase, bis n=194; X-Achse: Zeitabstände 14 Tage) .....	42
Abbildung 5-16: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] im Kulturzyklus von Batch 7, 8 und 9 aus 08-2019 und 09-2019 und von zwei Referenzkulturen aus einer anderen BFT-Anlage (BFT_Batch 1 und BFT_Batch 2) aus demselben Zuchtbetrieb (USA) .....	43
Abbildung 5-17: Mittlere Wachstumsraten (W-Rate) ab Besatz sowie fortlaufend berechnet, mittleres Verhältnis von Antennenlänge (AL) - zu Körperlänge (KL) und mittlerer Korpulenzfaktor für Belüftung mittels Injektor (Batch 07_US: <b>blau</b> ), Sauerstoff (Batch 08_US: <b>rot</b> ) bzw. Standardbelüftung per Ausströmer (Batch 09_US bis 12_US: <b>grün</b> ).....	44
Abbildung 5-18: Belüftungsvarianten: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] und fortlaufende Wachstumsraten im Kulturzyklus von Batch #7: Injektor (oben), #8: Sauerstoff (Mitte) und der parallel besetzten Kulturen # 9 und # 10 unter Standardbelüftung (X-Achsen: variierende Zeitabstände, sekundäre Y-Achsen: MBW ab 20 g grün umrandet: vermarktbare Fanggewicht).....	45
Abbildung 5-19: Mittlere Antennen- und Körperlängen [cm] sowie mittleres Körpergewicht (MBW) [g] ab Kulturwoche 20 an den Belüftungsvarianten: Injektor-Belüftung (blau), sowie den Kulturen unter Standardbelüftung (grün): Batch #9, 10, 11 und 12 (n= 28 bis 51; x-Achse: variierende Zeitabstände) .....	46
Abbildung 5-20: Variante Injektorbelüftung (li) und Standardbelüftung (re): Garnelen mit langen Antennen (Batch # 7, Kulturwoche 29 bzw. Batch # 9, Woche 36).....	47
Abbildung 5-21: sensorische Profile von 2 parallel kultivierten Chargen Garnelen aus der Anlage Damm (Injektorbelüftung: blau, und Standardbelüftung: rot) im Vergleich zu 4 Referenz-Produkten: ein frisches Produkt aus deutscher Inlandproduktion und drei TK-Importprodukte unterschiedlicher Zertifizierungsstufen (ohne Label, mit ASC-Label und mit Bio-Label, jeweils nur Garnelenschwänze; Proben aus 02/2020).....	48
Abbildung 5-22: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur (Standardbelüftung, 1 Charge an 2 Kulturtagen: Tag 173, aus voriger Untersuchung, und Tag 249) im Vergleich zur Referenz aus deutscher Indoorproduktion und zur Referenz einer ASC-zertifizierten Import-TK-Ware .....	49
Abbildung 5-23: Sensorische Profile von zwei Chargen Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur (Standardbelüftung, bei überlanger Kulturdauer > 182 Tage; Daten zu Tag 249 von einer anderen Batch aus voriger Untersuchung) im Vergleich zur Referenz aus deutscher Indoorproduktion und zur Referenz einer nicht zertifizierten Import-TK-Ware ohne Kopf.....	50
Abbildung 5-24: Auswertung Delta: Verlauf der Parameter Salinität [ppt] (Füllkurve) und pH-Wert im Gesamt-Beobachtungszeitraum in den drei GOB von Modul 1 .....	51
Abbildung 5-25: Auswertung Delta: Verlauf der Parameter Salinität [ppt] (Füllkurve) und pH-Wert im Gesamt-Beobachtungszeitraum in den zwei erfassten GOB von Modul 2 (ohne M2B1) .....	52
Abbildung 5-26: Auswertung Delta: Verlauf der Parameter Salinität [ppt] (Füllkurve) und pH-Wert im Gesamt-Beobachtungszeitraum in den drei GOB von Modul 3 .....	52
Abbildung 5-27: Delta-Auswertung Modul 1: Verlauf der Konzentration von NH <sub>4</sub> -N und NO <sub>2</sub> -N in den drei zwischen September 2019 und März 2022 erfassten GOB (Y-Achse gilt auch für NO <sub>2</sub> -N [mg/l]) .....	53
Abbildung 5-28: Delta-Auswertung Modul 2: Verlauf der Konzentration von NH <sub>4</sub> -N und NO <sub>2</sub> -N in den zwei zwischen September 2019 und März 2022 erfassten GOB (ohne M2B1; Y-Achse gilt auch für NO <sub>2</sub> -N [mg/l]) .....	53
Abbildung 5-29: Delta-Auswertung Modul 3: Verlauf der Konzentration von NH <sub>4</sub> -N und NO <sub>2</sub> -N in den zwei zwischen September 2019 und März 2022 untersuchten GOB (ohne M3B1; Y-Achse gilt auch für NO <sub>2</sub> -N [mg/l]).....	54
Abbildung 5-30: mittlere Konzentrationen von Stickstoff gesamt und Nitrat-Stickstoff in der Beobachtungszeit von 03/2019 bis 03/2022 in Grow-Out Becken (GOB) und Sammelbecken (Laboranalysen, n= 1 bis 8) .....	55
Abbildung 5-31: Jahresverlauf 2020 für Konzentration Nitrat-Stickstoff [mg/l] in Hälterung und Wasseraufbereitung (Becken: Modul 1..3/Becken 1..3 = Hälterung, BioR: Bio-Reaktor), Pfeil: Konzentration im BioR gegenüber Hälterung verringert, x: Konzentration ähnlich wie in GOB).....	56
Abbildung 5-32: Konzentration von NH <sub>4</sub> -N, NO <sub>2</sub> -N und NO <sub>3</sub> -N in der neuen Wasseraufbereitung (Modul 2 der Anlage Damm Aquakultur) in den Monaten Februar und März 2022 (Trommel-F: Trommelfilter, BioF: Biofilter, M2: Modul 2) .	56

Abbildung 5-33: Verlauf Nitrat-Stickstoff, Phosphor (gesamt) und organischer Kohlenstoff (DOC und TOC) [mg/l] in Wasseraufbereitung und Hälterung (03/2019 bis 03/2022; BioR: Bio-Reaktor, GOB: Grow-Out-Becken, BioF: Bio-Filter neu; n=2 bis 8, wenige Einzelwerte)..... 57

Abbildung 5-34: Labordaten im Beobachtungszeitraum (Ende 2019 bis Anfang 2022): mittlere Konzentration [mg/l] von gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC), Nitrat-N und Orthophosphat (PO<sub>4</sub>-P) in untersuchten Hälterungsbecken der drei Module (n=1 bis 13) ..... 57

Abbildung 5-35: Labordaten Feststoffe in den GOB: als Gesamt-Trockenrückstand (auf Glasfaserfilter, gespült) bzw. als abfiltrierbare Stoffe (< 0,45 µm Membranfilter) im Beobachtungszeitraum der Jahre 2019 bis 2022 (n= 5 bis 25) ..... 58

Abbildung 5-36: Labordaten: Verlauf der Ionen-Konzentrationen Calcium (Ca), Magnesium (Mg) und Kalium (K) in [mg/l] über zwei Jahre im Beobachtungszeitraum (verschiedene GOB, n=3 bis 9 bzw. n=2 laut Diagramm) ..... 59

Abbildung 5-37: Labordaten: Verhältnis der wichtigsten Salzelemente im Beobachtungszeitraum 2019 bis 2022 und in verschiedenen Becken im Vergleich zu Referenzwerten aus der Salzanalyse (Ref\_Salzanalyse) und den Werten der Seewasser-Äquivalenten Relationen (Ref\_See-Äq) für eine Salinität von 15 ppt..... 59

Abbildung 5-38: Labordaten: Verhältnis der wichtigsten Salzelemente im Sammelbecken der Anlage Damm, im Vergleich zu Referenzwerten aus der Salzanalyse und den Seewasser-Äquivalenten Relationen ..... 60

Abbildung 5-39: Labordaten: Schwermetall-Konzentrationen für Kupfer (Cu) und Zink (Zn) [mg/l] in Wasserproben der Beckentypen GOB (n=8 bis 22), PL (n=1 bzw. 6) und im Sammelbecken der Anlage (n=1 bis 4) im Beobachtungszeitraum (hier: 11/2019 bis 02/2022) ..... 61

Abbildung 5-40: Labordaten: Verlauf der Cu-Konzentrationen in Sammelbecken (n=1) und GOB (n=1 bis 11, s. Angaben in Graphik) ..... 62

Abbildung 5-41: Labordaten: Verlauf der Zn-Konzentrationen in Sammelbecken (n=1) und GOB (n=2 bis 11, s. Angaben in Graphik) ..... 62

Abbildung 5-42: Labordaten: Cu- und Zn-Konzentrationen in Wasserproben aus PL-Becken (n=1; in Pivot dargestellt als Maximum)..... 63

Abbildung 5-43: PL aus drei Bezugsquellen an Kulturtag 20 (in gleich großen Schalen) ..... 66

Abbildung 5-44: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Sauerstoffkonzentration und -sättigung im Kulturverlauf (Delta-Auswertung) ..... 67

Abbildung 5-45: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Wassertemperatur, [°C], Salinität [ppt] und pH-Wert im Kulturverlauf (Delta-Auswertung)..... 67

Abbildung 5-46: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Ammonium-N-Konzentrationen und pH-Wert im Kulturverlauf (Delta-Auswertung) ..... 68

Abbildung 5-47: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Nitrit-N-Konzentrationen [mg/l] und pH-Wert im Kulturverlauf (Delta-Auswertung) ..... 69

Abbildung 5-48: Bezugsquelle Deutschland (Batch 13): Delta-Auswertung von eingesetzter Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g], pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l])..... 69

Abbildung 5-49: Bezugsquelle Österreich (1. Besatz): Delta-Auswertung von eingesetzter Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g], pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] ..... 70

Abbildung 5-50: Bezugsquelle USA (Batch 15\_US) Delta-Auswertung von eingesetzter Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g], pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] ..... 70

Abbildung 5-51: Labordaten Schwerpunkt Bezugsquelle, aus drei parallelen Kulturen der drei Herkunftsländer DE, AT und US: Konzentrationen gelöster Stickstoff-Formen (NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N und NO<sub>3</sub>-N [mg/l]), gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC, [mg/l]) und abfiltrierbarer Stoffe [mg/l] sowie Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] aus Beprobungen in 2020 und 2021 (an 3 bis 5 Terminen, n=1) ..... 71

Abbildung 5-52: Labordaten Schwerpunkt Bezugsquelle aus mehreren Kulturen und Beprobungen (Quartal 4/2020 bis 1/2022): Verlauf der Konzentrationen gelöster Stickstoff-Formen (NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N und NO<sub>3</sub>-N [mg/l]), gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC, [mg/l]) sowie abfiltrierbarer Stoffe [mg/l] (n=3 bis 4, wenn nicht anders angegeben).. 71

Abbildung 5-53: Labordaten Schwerpunkt Bezugsquelle, aus drei parallelen Kulturen der drei Herkunftsländer DE, AT und US: Konzentrationen der essentiellen Ionen Ca, Mg und K sowie der Schwermetall-Ionen Cu und Zn im Beobachtungszeitraum 10/2020 bis 04/2021 (n=1; Einzelwerte in dieser Pivot-Auswertung als Minimum bzw. Maximum dargestellt).....	72
Abbildung 5-54: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser und im Biofilm in den besetzten Becken und auf dem Carapax von Garnelen aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben.....	78
Abbildung 5-55: Relative Abundanz von Bakterien aus unterschiedlichen Bakterien-Phyla in der mikrobiellen Gemeinschaft im Wasser und dem Biofilm aus Becken und vom Carapax von Garnelen und Postlarven aus unterschiedlichen Herkunftsbetrieben (DE: Deutschland, AT: Österreich, US: USA; Probe 0: Transportwasser der Postlarven aus den Zuchtbetrieben, bei Ankunft).....	79
Abbildung 5-56: Vergleich der Bezugsquellen von parallel besetzten PL aus DE, AT und USA: Verteilung der vermessenen PL nach Körpergewicht und –länge an Tag 21 der Kultur.....	80
Abbildung 5-57: Vergleich der Bezugsquellen von parallel besetzten PL aus DE, AT und USA: Verteilung der vermessenen PL nach Körpergewicht und –länge an Tag 49 der Kultur.....	81
Abbildung 5-58: Delta-Auswertung zum Vergleich parallel besetzter Garnelen aus den Bezugsquellen DE, AT und USA : Verlauf des mittleren Körpergewichts (MBW) im Verhältnis zum Soll-Gewicht nach Futtertabelle (Füllkurve) in den unterschiedlichen langen Kulturzyklen.....	82
Abbildung 5-59: excel-Auswertung zum Vergleich parallel besetzter Garnelen aus den Bezugsquellen DE, AT und USA : Verlauf des mittleren Körpergewichts (MBW) in den unterschiedlichen langen Kulturzyklen(n=25 in Woche 3, ab Woche 7 n=31 bis 101; x-Achse: Zeitabstände variieren).....	82
Abbildung 5-60: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] im Kulturzyklus von Garnelen unterschiedlicher Herkunft (3 Batches aus DE, 4 aus AT, 6 aus USA, Referenz: Zielgewicht aus Futtertabelle A bis 2021, Zielgewicht B aus neuer Futtertabelle ab 2022; x-Achse: Zeitabstände 14 Tage).....	83
Abbildung 5-61: PL-Herkunft aus DE, AT und USA: Mittleres Körpergewicht (MBW) im Kulturverlauf, jeweils als Mittelwert aus mehreren Kulturdurchgängen (DE: 3x, AT: 4x , USA: 6x besetzt in 2019, 2020 und 2021 – ohne die zwei Kulturen mit abweichender Belüftungstechnik aus Schwerpunkt 1).....	83
Abbildung 5-62: PL-Herkunft aus DE, AT und USA: Wachstumsraten [g/Wo] ab Besatztermin berechnet über den Kulturverlauf, für 3, 4 bzw. 6 Kulturdurchgänge pro Land (Besatz zwischen Ende 2019 bis Ende 2021).....	84
Abbildung 5-63: PL-Bezugsquellen DE, AT und USA aus parallel besetzten Kulturen: mittleres Körpergewicht und daraus ermittelter Korpulenzfaktor (100xGewicht [g]/ Länge <sup>3</sup> [cm]) im Kulturverlauf (je eine Kultur/ Herkunft, n= 25 bis 60; x-Achse: Zeitabstände variieren).....	85
Abbildung 5-64: PL-Bezugsquelle DE, AT und USA: mittlere Körper- und Antennenlängen [cm] im Kulturverlauf (x-Achse: Zeitabstände variieren; Daten aus Vermessung von 1 bis 4 Kulturen pro angezeigter Kulturwoche: für DE aus bis zu 2 Kulturen pro Wert; für AT aus bis zu 4 und für USA aus bis zu 2 Kulturen; Fotos: Beispiele für hohe Varianz in Antennenlängen, Garnelen lebend fotografiert).....	86
Abbildung 5-65: PL-Bezugsquellenvergleich: mittlere Produktionsmengen und Überlebensraten von 15 Kulturen im Beobachtungszeitraum 2019 bis 2022 (DE: n=3 Kulturen, AT bzw. US: n= je 6 Kulturen).....	87
Abbildung 5-66: Sensorisches Profil von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur ( <b>Herkunft: DE, Batch 13, Kulturtag 117</b> ) im Vergleich zu Referenzprodukten aus Import-TK-Ware mit ASC-Label bzw. ohne Zertifikat (12/2020).....	88
Abbildung 5-67: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur ( <b>Herkunft: AT, Batch 14, Kulturtag 188</b> ) und einem Referenz-Produkt aus deutscher Indoorproduktion (frisches, regionales Produkt) sowie einer Import-TK-Ware mit ASC-Label (03/2021).....	89
Abbildung 5-68: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur ( <b>Herkunft: USA, Batch 15, Kulturtag 236</b> ) und einer Referenz aus deutscher Indoorproduktion (04/2021).....	90
Abbildung 5-69: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur: <b>oben: Herkunft: AT_2</b> (Batch 16, Kulturtag 189) mit einer Referenz aus deutscher Indoorproduktion sowie der Referenz Import-TK-Ware mit ASC-Zertifikat (10/2021), <b>unten: Herkunft: USA_2</b> (Batch 22, Kulturtag 132) mit einer Referenz aus deutscher Indoorproduktion sowie Import-TK-Ware mit ASC-Zertifikat (03/2022).....	91

*Abbildung 5-70: Sensorische Profile von: oben: Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur mit den Bezugsquellen DE, AT und USA und unten: Referenz-Produkt frische Garnelen aus regionaler Produktion (Untersuchungszeitraum 2021 und 2022).....* 92

*Abbildung 5-71: Hauptmenü der Datenbank DeltA für die 1. Aquakulturanlage „Die Landgarnele“, dem Betrieb von Damm Aquakultur GmbH & Co KG, mit Symbolen für (von li nach re): Dashboard, Standortdaten, Dateneingabe sowie der Datenanalyse.....* 94

*Abbildung 5-72: screenshot einer in der Datenanalyse von DeltA automatisch generierten Graphik zu Monitoring-Daten einer ausgewählten Garnelenbatch, die im Favoriten-Dashboard fortlaufend aktualisiert angezeigt wird .....* 94

*Abbildung 5-73: Funktion Futteraufteilung auf zwei Futtermittelarten an einem Kulturtag .....* 95

*Abbildung 5-74: aktuell eingerichtete Messprogramme in DeltA, die in Messgruppen zu jedem einzelnen Becken spezifiziert und in der manuellen Datenerfassung als Filter/Gruppierung fungieren. Neue Messprogramme sind jederzeit einzurichten .....* 96

*Abbildung 5-75: Eingabemaske zum Messprogramm „Manuelle Messungen“ zum Messpunkt „M1B1“ (Hälterungsbecken 1, Modul 1).....* 96

*Abbildung 5-76: Sauerstoffverhältnisse [mg/l] in einem der 9 GOB unter Belüftung durch Ausströmer, Messpunkt A: 1m vom Beckenrand, Messpunkt B: Mitte zwischen Beckenwand, Messpunkt C: direkt am zentralen Dom, der Lufthebepumpe.....* 105

*Abbildung 5-77: Strömungsgeschwindigkeiten [m/s] in einem der 9 GOB, Messpunkt A: 1m vom Beckenrand, Messpunkt B: Mitte zwischen Beckenwand und zentraler Lufthebepumpe (Airlift).....* 106

*Abbildung 5-78: Darstellung (horizontale Beckenschnitte) der Sauerstoffverteilung (rechts) nach 360 s sowie der vertikalen Strömungsgeschwindigkeiten (links) sowie die U Geschwindigkeiten (unten) und V Geschwindigkeiten (horizontale Beckenschnitte).....* 107

*Abbildung 5-79: Darstellung (horizontale Beckenschnitte) der Sauerstoffverteilung (rechts) nach 360 s sowie der vertikalen Strömungsgeschwindigkeiten (links) sowie die Umwälzungs-(U-)Geschwindigkeiten (unten) (horizontale Beckenschnitte) .....* 109

*Abbildung 5-80: Vergleich der - auf einen vollen Besatz skalierten – Produktionsmengen [kg] von 2020 bis 2022 und erreichtem maximalem MBW [g] unter Angabe der Kulturwoche (Erntemenge in 2021 für Batch 21 basierend auf Noternte durch Sauerstoffabfall, mit MBW von nur 3,6g).....* 111

*Abbildung 5-81: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, mit dem daraus resultierenden **spezifischen Stromverbrauch pro kg Garnele [kWh/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau).....* 114

*Abbildung 5-82: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert für jede der 6 Erntezyklen im Kalenderjahr 2020 und 2021, mit dem daraus resultierenden **spezifischen Wasserverbrauch pro kg Garnele [l/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau) .....* 115

*Abbildung 5-83: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert für jede der 6 Erntezyklen im Kalenderjahr 2020 und 2021, mit dem daraus resultierenden **spezifischen Wärme-Energieverbrauch pro kg Garnele [kWh/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau) .....* 116

*Abbildung 5-84: Vergleich der - auf einen vollen Besatz skalierten – Produktionsmengen [kg] von 2020 bis 2022 und erreichtem maximalem MBW [g] unter Angabe der Kulturwoche, ergänzt um 2 Kulturen nach Projektabschluss: Batch 31\_US und Batch 34\_US .....* 122

*Abbildung 5-85: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, ergänzt um Daten von 2 Kulturen, die nach Projektabschluss geerntet wurden, mit dem daraus resultierenden **spezifischen Stromverbrauch pro kg Garnele [kWh/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau).....* 123

*Abbildung 5-86: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, ergänzt um Daten von 2 Kulturen, die nach Projektabschluss geerntet wurden, mit dem daraus resultierenden **spezifischen Wasserverbrauch pro kg Garnele [L/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau) .....* 123

Abbildung 5-87: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, ergänzt um Daten von 2 Kulturen, die nach Projektabschluss geerntet wurden, mit dem daraus resultierenden spezifischen **Wärme-Energieverbrauch pro kg Garnelle [kWh/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz ..... 124

Abbildung 5-88: Wachstumsraten [g/Woche] ab Besatz für Kulturen mit Herkunft USA (aus 2 Zuchtbetrieben) im Projektzeitraum (Linien) und ergänzt um aktuellere Daten zu zwei Kulturen (Säulen): Batch #31 und Batch #34 (Kulturdauer 139 Tage = ca. 19 Wochen bzw. 118 Tage = ca. 16 Wochen) ..... 125

Abbildung 6-1: Bioflocs: Beispiel einer kompakteren Struktur (Neubauer Kammer, 400x Vergrößerung) ..... 131

Abbildung 6-2: Meiofauna Vergleich: logarithmische Darstellung der Mittelwerte der in den Flockenproben nachgewiesenen Tierklassen und -ordnungen im Vergleich von vier untersuchten Kulturen (Mittelwerte pro ml Anlagenwasser) ..... 132

Abbildung 7-1: mittleres Volumen absetzbarer Stoffe (Imhoff-Volumen) [ml/l] und mittlere Feststoff-Konzentrationen [mg/l] in **Bioreaktoren** der drei Module der Wasseraufbereitung (Feststoffkonzentrationen als 1. Ges-TrR= Gesamt-Trockenrückstand: Glasfaser-filtriert und gespült, 2. abfiltr. Stoffe= abfiltrierbare Stoffe: <0,2 µm, membran-filtriert); Daten aus 2019 und 2020 (n=3, 6 bzw. nur 2 für Modul 3) ..... 134

Abbildung 7-2: Screenshot aus Delta mit dem kulturbezogenen Verlauf der Menge absetzbarer Stoffe (Imhoff-Trichter, in ml/l) in den drei Varianten der Belüftungsarten (Batch #7: ‚Injektor‘; Batch #8: ‚Sauerstoff‘, Batch #9: ‚Standard‘), Anfangsphase Biofloc-Steuerung ..... 135

Abbildung 7-3: Auswertung aus Delta: Anteile absetzbarer Stoffe [ml/l] in Becken mit Garnelenbesatz, im Zeitraum 1.9.2019 bis 6.3.2020 (Becken im Belüftungsschwerpunkt: M1B1 Variante Injektoren, M1B3 und M2B3 Standard, M3B3: Variante Sauerstoff) ..... 136

Abbildung 7-4: Auswertung aus Delta im anschließenden Zeitraum 7.3.2020 bis 31.3.2022: Anteile absetzbarer Stoffe [ml/l] in Becken mit Garnelenbesatz ..... 136

Abbildung 7-5: Absetzbare Stoffe aus den GOB unter drei Belüftungs-Szenarien mit kleineren und länger schwebenden Bioflocs in Variante „Injektorbelüftung“ (li) gegenüber den Varianten „Sauerstoff-“ (Mitte) bzw. „Standardbelüftung“ (re) ..... 137

Abbildung 7-6: Tests zum Absetzverhalten von Bioflocs nach a. 4h Standzeit in einem 30L-Sedimentationszylinder (aus Plexiglas) und b. nach 12h Standzeit in Imhoff-Trichtern: Bioflocs ‚stehen‘ in der Wassersäule und bilden erst nach Erschütterung des Behälters größere absinkende Aggregate ..... 138

Abbildung 7-7: Beobachtung schwer absetzbarer, voluminöser Flocken in einem Imhoff-Trichter (li) und unter einem Stereomikroskop (re) ..... 138

Abbildung 7-8: Feststoff-Konzentrationen als ‚abfiltrierbare Stoffe‘ [mg/l] und ‚Gesamt-Trockenrückstand‘ (TrR bzw. TSS) als mittlere Konzentrationen in den Hälterungsbecken in den Jahren 2019 bis 2022 (2019: n=5, 2020: n=25, 2021: n=11, 2022; n=12) ..... 139

Abbildung 7-9: Feststoff-Konzentrationen als ‚abfiltrierbare Stoffe‘ [mg/l] und ‚Gesamt-Trockenrückstand‘ (TrR bzw. TSS) mit mittleren Konzentrationen in den Bioreaktoren in den Jahren 2019 bis 2022 (2019: n=3, 2020: n=8) ..... 140

Abbildung 7-10: Gesamt-Trockenrückstand [mg/l] und dessen Glührückstand [%] in Wasserproben aus der Hälterung (Beckentyp GOB) und aus Bioreaktoren (BioR) als Mittelwert pro Jahr im Beobachtungszeitraum 2019 bis 2022 (Anzahl ‚n‘ wie angegeben) ..... 140

Abbildung 7-11: Analysen von absetzbaren Feststoffen aus Bioreaktoren und einem Hälterungsbecken (M1B3) der Anlage Damm Aquakultur (n=1 bzw. 1 bis 2 für BioR): TOC, N-gesamt-N und P-gesamt-P, sowie der Glührückstand (2. Y-Achse) in % des Trockenrückstands, mit Referenzdaten TOC [%] und Nges-N [%] aus 11/2015 (Schlamm aus Aquakulturlabor der Polyplan GmbH) ..... 141

Abbildung 7-12: Analysen von Schlammproben aus Bio-Reaktoren (BioR: n=1 bzw. n= 2 in Januar, März u. Juni) und von Bioflocs aus M1B3 (n=1): Konzentrationen von Cu und Zn [mg/kg] sowie für BioR Ges-P [%] des Trockenrückstands .... 143

Abbildung 8-1: Versuchsaufbau Habitatversuch: Versuchsbecken im Schnitt, mit Platzierung einer Strömungspumpe zur Verhinderung von Sedimentation von Schwebstoffen ..... 149

Abbildung 8-2: Habitatversuch: Röhrenstrukturen in einem der sechs Versuchsbecken, rechts: im Testbetrieb blieben die Habitate auch bei eingeschalteter Strömungspumpe ruhig ..... 150

<i>Abbildung 8-3: Habitatversuch: mit einem Netz abgedecktes Versuchsbecken bei Versuchsstart, rechts: Aufstellung Becken 4, 5, 6</i> .....	150
<i>Abbildung 8-4: Habitatversuch : Verlauf der Parameter Sauerstoff (O<sub>2</sub> [mg/l]), pH-Wert, Salinität [ppt] sowie Wassertemperatur (Temp. [°C]) in der 4-wöchigen Versuchsphase, pro Woche und Versuchsbecken (n= 3 bis 5)</i> .....	152
<i>Abbildung 8-5: Habitatversuch: Verlauf der Anteile absetzbarer Stoffe [ml/l] pro Versuchsbecken in der 4-wöchigen Versuchsphase</i> .....	153
<i>Abbildung 8-6: Habitatversuch: Verlauf der Parameter Ammonium-N (NH<sub>4</sub>-N [mg/l]), Nitrit-N (NO<sub>2</sub>-N [mg/l]) und pH-Wert, Mittelwerte pro Woche in der 4-wöchigen Versuchsphase, pro Versuchsbecken (n= 3 bzw. 5 für pH, sonst n= 3 in Wo 1 und 4 bzw. n=2)</i> .....	153
<i>Abbildung 8-7: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0: ohne Habitat-Einsatz): Wachstumsrate, Überlebensrate, Biomasse- und Besatzdichten bei Versuchsende (n=3)</i> .....	155
<i>Abbildung 8-8: Habitatversuch: mittleres Körpergewicht und mittlerer Korpulenzfaktor in den einzelnen Versuchsbecken bei Versuchsstart und -Ende</i> .....	156
<i>Abbildung 8-9: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0: ohne Habitat-Einsatz): mittlere Antennenlängen links und rechts [cm] bei Versuchsstart und -ende (Start: n=120 und Ende: n=114 bzw. 112)</i> .....	156
<i>Abbildung 8-10: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0: ohne Habitat-Einsatz): mittlere Antennenlängen (beide) [cm] bei Versuchsstart und -ende (Start: n=120 und Ende: n=114 bzw. 112 für Variante ,+')</i> .....	156
<i>Abbildung 8-11: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0-: ohne Habitat-Einsatz): Mittelwerte für das Verhältnis der Antennen- zur Körperlänge der Garnelen sowie für den Korpulenzfaktor (Start: n=120 und Ende: n=114 bzw. 112 für Variante ,+')</i> .....	157
<i>Abbildung 8-12: Mikrobiologische Probenahme an Garnelen aus dem Habitatversuch</i> .....	159
<i>Abbildung 8-13 Relative Abundanz von Bakterien aus unterschiedlichen Bakterien-Phyla in der mikrobiellen Gemeinschaft im Biofilm an Beckenwänden und vom Carapax von Garnelen aus je drei Becken mit Habitatstrukturen als Rückzugsmöglichkeit für die Garnele (Habitat) und ohne solche Strukturen (Kontrolle), mit Darstellung der Mittelwerte pro Variante (untere zwei Balken, n=3)</i> .....	160
<i>Abbildung 8-14: Expression von HSP60 (oben) und HSP70 (unten) im Hepatopankreas von Garnelen in Becken mit Habitaten (H) als Rückzugsmöglichkeit und ohne Habitate (K= Kontrolle), Daten aus M1B1 als Referenzwerte der Population im Grow-Out Becken</i> .....	162
<i>Abbildung 8-15: Expression des Crustacean hypoglycaemic hormone codierenden Gens (chh) im Augienstiel von Garnelen in Becken mit Habitaten (H) als Rückzugsmöglichkeit und ohne Habitate (K= Kontrolle), Daten aus M1B1 als Referenzwerte der Population im Grow-Out Becken</i> .....	163
<i>Abbildung 8-16: Verteilung von Hämocytenpopulationen in der Hämolymphe von Garnelen nach Aufzucht in Becken mit unterschiedlicher Belüftung: 1: Injektoren, 2: Sauerstoff, 3 u. 4: Standard- Belüftung. HC: Hyaline Cells, LGC: Large Granule Cells, SGC: Small Granule Cells, ND: Nicht determiniert (n=10)</i> .....	165
<i>Abbildung 8-17: Expression von HSP60 (oben) und HSP70 (unten) im Hepatopankreas von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung (Becken 1.1: Injektoren, 1.3 und 2.3: Standard- Belüftung, 1.3: Sauerstoff; n=6)</i> .....	166
<i>Abbildung 8-18: Expression des Crustacean hypoglycaemic hormone codierenden Gens (chh) im Augienstiel von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung (n=6)</i> .....	167
<i>Abbildung 8-19: Verteilung von Hämocytenpopulationen in der Hämolymphe von Garnelen in unterschiedlichen Chargen im Laufe der Wachstumsperiode. HC: Hyaline Cells, LGC: Large Granule Cells, SGC: Small Granule Cells, ND: Nicht determiniert. Dargestellt sind die Mittelwerte von jeweils 10 Individuen</i> .....	169
<i>Abbildung 8-20: Verteilung von Hämocytenpopulationen in der Hämolymphe von Garnelen aus unterschiedlichen Herkunftten im Laufe der Wachstumsperiode. Links: Probennahme an Kulturtag 49, rechts: Probennahme an Tag 84. HC: Hyaline Cells, LGC: Large Granule Cells, SGC: Small Granule Cells, ND: Nicht determiniert (n=10)</i> .....	171
<i>Abbildung 8-21: Expression von HSP60 (oben) und HSP70 (unten) im Hepatopankreas von Garnelen aus drei unterschiedlichen Zuchtbetrieben. Becken M1B1 (1.1) mit Postlarven des Zuchtbetriebes DE, Becken M2B3 (2.3) mit Postlarven eines Zuchtbetriebes US und Becken M3B3 (3.3) mit Postlarven des Zuchtbetriebes AT</i> .....	172

*Abbildung 8-22: Expression des Crustacean hypoglycaemic hormone codierenden Gens (chh) im Augenstiel von Garnelen aus drei unterschiedlichen Zuchtbetrieben. Becken M1B1 (1.1) mit Postlarven des Zuchtbetriebes DE, Becken M2B3 (2.3) mit Postlarven eines Zuchtbetriebes US und Becken M3B3 (3.3) mit Postlarven des Zuchtbetriebes AT ..... 173*

Abbildung 8-23: Prototyp eines Erntemoduls in Betrieb (Anlage Damm Aquakultur) ..... 174

Abbildung 8-24: Graphik aus Futtertabelle 2022 mit becken-bezogener Auswertung für einen Vollbesatz (80.000 PL): Biomasse pro Becken [kg], dem mittleren Körpergewicht der Garnelen (MBW [g]) und der Biomassedichte[kg/m<sup>3</sup>] im Kulturverlauf ..... 176

*Abbildung 8-25: Biomassedichten [kg/m<sup>3</sup>] an Beispiel-Kulturen aus Anlage Damm Aquakultur, mit Erntemengen [kg], die aus 1 bzw. wie angegeben 2 GOB abgefischt wurden, meist innerhalb von 1 bis 7 Tagen (Batch 16\_AT: 14 Tage) ..... 177*

Abbildung 10-1: Kommunikation zwischen Polyplan-Kreikenbaum Mitarbeitern und Herrn Damm, vor Ort in der Anlage Damm Aquakultur ..... 181

#### 1.4 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Batch	englisch, hier als Synonym für eine Kultur (daher ‚die‘ Batch) bzw. eine Charge/ Kohorte
BioR	Bio-Reaktor (nach dem CreveTec-Design zur Denitrifizierung mit Schlamm als C-Quelle)
Bio-F	Biofilter
C-Quelle	Kohlenstoff-Quelle
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoff-Dioxid
DENI	Denitrifikation
DOC	Dissolved Organic Carbon (gelöster organischer Kohlenstoff)
FCR	Feed Conversion Ratio (Futterumwandlungsrate)
GOB	Grow-Out Becken
KI	Künstliche Intelligenz
PL	Postlarven
MIBI	Mikrobiologie
NH <sub>4</sub> -N	Ammonium-Stickstoff
NO <sub>2</sub> -N	Nitrit-Strickstoff
NO <sub>3</sub> -N	Nitrat-Stickstoff
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
PL	Postlarven
POLY-K	Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH
SVI	Schlamm-Volumen-Index
SWOT	englisches Akronym für Strengths, Weaknesses, Opportunities und Threats (Stärken – Schwächen – Chancen – Risiken)
TiHo	Stiftung tierärztliche Hochschule Hannover
TOC	Total Organic Carbon (Gesamt-organischer Kohlenstoff)
TR	Trockenrückstand
TSS	Total Suspended Solids (bzw. Gesamt-Trockenrückstand)

## 2 Zusammenfassung

In diesem Vorhaben wurde eine kommerzielle Biofloc-Anlage zur Garnelenproduktion über einen Beobachtungszeitraum von ca. 2,5 Jahren näher untersucht. Im Fokus stand das Identifizieren von Steuerungsmöglichkeiten für einen möglichst nachhaltigen Betrieb. Dafür wurden im laufenden Betrieb Daten zu Wasserqualität, der Mikrobiözönose und den zootecnischen Daten erhoben und Kennzahlen der spezifischen Verbräuche (Energie/ Wasser/ Futtermittel) abgeleitet. Dabei wurden auch unterschiedliche Betriebsszenarien genauer beleuchtet. Im Projektverlauf mussten einige geplante Arbeiten umgewidmet werden. Schwierigkeiten durch externe, nicht beeinflussbare Faktoren behinderten alle Aufgabenbereiche in der Durchführung.

Nur in stabilen Systemen können Steuerungsmöglichkeiten definiert werden. Der Zusammenhang zwischen Maßnahme und Reaktion des Systems muss eindeutig sein. Dies wurde im Projektverlauf allerdings durch zu viele und sich ändernde Variablen stark erschwert. Es fehlte im gesamten Beobachtungszeitraum eine längere stabile Phase unter Voll-Besatz der Anlage, in der gezielt einzelne Steuerungsmöglichkeiten zu identifizieren gewesen wären. Dennoch konnten einige wertvolle Ergebnisse generiert werden und bestimmte Zusammenhänge ließen sich erkennen:

- Bei niedrigen Biofloc-Volumina kam es aufgrund der dadurch verminderten Kapazitäten N-Verbindungen umzusetzen zu erhöhten Nitrit-N-Konzentrationen
- Schwankende N-Einträge können diese Kapazität ebenso begrenzen, beispielsweise in und auch eine Zeitlang nach Phasen sehr schwacher Anlagenauslastung
- Es wurden Bioflocs mit unterschiedlichem Phänotyp und Absetzverhalten beobachtet, ohne dass hierfür abschließend alle Einflussgrößen identifiziert und damit Steuerungsmöglichkeiten definiert werden konnten (ein Einflussfaktor für ein schlechteres Absetzverhalten konnte mit der Injektorbelüftung identifiziert werden)
- Ein erfolgreicher Ansatz zur Steuerung der Biofloc-Volumina lag in der Anpassung der Umwälzraten bzw. Volumenströme durch die Wasseraufbereitung, allerdings begrenzt auf Bioflocs mit gutem Absetzverhalten
- Die in der BFT-Literatur beschriebene Zudosierung der Kohlenstoffquelle Zucker hat sich vor allem in der PL-Phase zur Initiierung der Biofloc-Bildung bewährt
- In den GOB erwies sich die Zuckergabe als weniger praxistauglich und zudem konnten unerwünschte Nebeneffekte (Fadenbakterien) beobachtet werden

Maßnahmen zur Verbesserung des Tierwohls wurden im Vorhaben in Form des Angebots von Habitaten als Versteck- und Rückzugsmöglichkeit untersucht. Der Einsatz der Strukturen scheint das Stressniveau der Garnelen nicht zu beeinflussen. Einen Vorteil können die Strukturen aufgrund zusätzlicher Oberfläche für die Ansiedlung von Nitrifizierern bieten. Durch den Einsatz von Habitaten kann es zu eventuell unvorteilhaften Änderungen der Strömungsverhältnisse kommen. Dies sollte bei der Implementierung berücksichtigt werden.

Für die Produktqualität sind vornehmlich Betriebsfaktoren wie hochwertige Futtermittel und die Einhaltung der möglichst optimalen Haltungsbedingungen entscheidend.

Großes Optimierungspotenzial sehen die Projektpartner in einer Verbesserung der PL-Akklimatisierung und daraus zu erwartender erhöhter Überlebensrate. Auch die Verfügbarkeit und Qualität der Besatztiere ist hierbei wesentlich. Die Bedeutung der Bezugsquelle bzw. der jeweils eingesetzten genetischen Zuchtlinien sollte weiter untersucht werden.

Das Biofloc-Verfahren ist im Vergleich zu herkömmlicher RAS-Aquakultur komplexer und erfordert spezifisches Fachwissen des Betreuungsteams über Wechselwirkungen zwischen Biologie, Wasserchemie und Technik. Wir sind sehr zuversichtlich, dass wir mit der ‚Zwitter‘-Lösung die positiven Aspekte beider Technologien vereinen. Mit der Datenbank Delta, als Bestandteil der umfassenderen Datenbank DANA 2.0, steht uns ein wichtiges Mittel zur Betreuung und Echtzeit-Kontrolle zahlreicher Prozesse in den Betrieben zur Verfügung und so minimieren wir die Risiken für die Anlagenbetreiber. Biofloc-basierte Aquakultur bietet vielfältige Vorteile, die in zahlreichen Studien belegt wurden und wird angesichts einer wachsenden Weltbevölkerung und begrenzter Ressourcen sicher noch weiterentwickelt, auch für den Einsatz in Indooranlagen.

### **3 Einleitung**

Zielsetzung (Zitat aus dem Projektantrag, s. Kap. 5 Zielsetzung des Vorhabens)

*Der Gegenstand des Projektes ist die Indoor-Aquakultur von Großgarnelen der wirtschaftlich wichtigsten und am besten erforschten Spezies *Litopenaeus vannamei*, die in den Indoor-Aquakulturanlagen der westlichen Hemisphäre am weitesten verbreitet ist.*

Übergeordnete Ziele sind:

- *die Reduzierung des Ressourcenverbrauchs*
- *das Recycling wichtiger Nährstoffe und*
- *die Verbesserung des Tierwohls in der Indoor-Garnelenproduktion*

*Unser Ansatz zum Erreichen dieser Ziele besteht darin, die in den USA und Israel entwickelte Biofloc-Technologie (BFT), die bisher in Europa weniger verbreitet und kommerziell genutzt wird, in Kreislaufanlagen zur Garnelenzucht in Europa zu implementieren. Dazu sollen anhand von Datenerhebungen in kommerziellen Anlagen wichtige Parameter zum Management der Bioflocs und ihrer Eigenschaften erhoben werden, um die Zielvorgaben einer erhöhten Biosicherheit, Tiergerechtigkeit und Nachhaltigkeit dieser Anlagen zu erreichen und durch Entwicklung neuer Verfahren und Anleitungen zur Betriebsführung diese Technologie weiter zu entwickeln.*

*Handlungs- bzw. Forschungsbedarf besteht darin, Aquakulturanlagen mit Biofloc-Technologie in Bezug auf die Entwicklung der mikrobiellen Gemeinschaft und der Meiofauna in Bioflocs und im Hinblick auf die Entwicklung des Gesamtsystems besser zu verstehen (AVNIMELECH 2015; BENTZON-TILLA et al. 2016). Durch Erfassung der wichtigsten Kennzahlen im laufenden Betrieb kommerzieller Anlagen sollen relevante Daten zur Entwicklung der Bioflocs, zur Abbauleistung der Bioflocs und ihrem Nährstoffgehalt für Garnelen erhoben werden, um die Zielvorgaben einer erhöhten Nachhaltigkeit und damit einhergehender Biosicherheit zu verifizieren. Diese Gesamtbetrachtung soll dazu beitragen eine nachhaltige Indoor-Aquakultur von Großgarnelen (*Litopenaeus vannamei*) etablieren zu können.*

*Weitere, mit der angestrebten Nachhaltigkeit einhergehende Ziele, betreffen das Tierwohl und die Prävention von Erkrankungen bei Garnelen.*

*Es liegen zahlreiche Studien vor, die die gesundheits- und vitalitätssteigernde Wirkung von Bioflocs auf Garnelen belegen und auf komplexe Wechselwirkungen zwischen Organismus und Bioflocs hindeuten. So wurde in einer Studie von EKASARI et al. (2014b) nach einem Challenge-Test mit dem „Infectious Myonecrosis Virus“ (IMNV) an Garnelen in den Versuchskreisläufen, die mit Bioflocs betrieben wurden, eine verbesserte Immunabwehr gemessen und die Überlebensraten waren im Vergleich zum Kontrollkreislauf ohne Bioflocs höher. Aus diesem Grund kann grundsätzlich von einer verbesserten Vitalität der Garnelen ausgegangen werden, die in Biofloc-Anlagen gehalten werden. Dieses Vorhaben soll neue Erkenntnisse bringen über die Bedeutung von Biofloc-Menge und Qualität (mikrobiologische und Nährstoff-Zusammensetzung) für die Vitalität der Garnelen unter den Bedingungen einer kommerziellen Anlage.*

*Zur weiteren Untermauerung der Erkenntnisse wird eine nähere Beschreibung der Diversität und insbesondere eine Untersuchung möglicher Verschiebungen in der mikrobiellen Gemeinschaft in Bioflocs und auf dem Exoskelett der Garnelen folgen, um den Einfluss der Bioflocs auf die Mikrobiologie in den Garnelen-Anlagen zu ermitteln.*

*Die Frage nach einer positiven Beeinflussung der Mikrobiologie in Garnelen-Kreislaufanlagen ist weiterhin relevant und soll in diesem Vorhaben durch ein Anlagen-Monitoring in Anlagen mit Bioflocs durch die TiHo realisiert werden. Insbesondere sollen aus dem Vergleich von Daten aus mindestens einer Anlage mit Biofloc-Technologie und den aus Förderphase I verfügbaren Daten aus herkömmlichen Kreislaufanlagen Erkenntnisse gewonnen werden, die in die Planung nachhaltig produzierender Aquakulturanlagen einfließen sollen.*

*Geplant ist zudem mit folgenden Maßnahmen einen hohen Standard an Tierwohl zu gewährleisten:*

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

1. *Durch den Einsatz von Strukturen im Becken sollen Rückzugsmöglichkeiten für Garnelen geschaffen werden, um bei höheren Besatzdichten den Stress zu minimieren und eine tiergerechte Haltung zu ermöglichen. Zudem soll untersucht werden, ob diese Strukturen als Aufwuchsflächen für Mikroorganismen zu einem weiteren Recycling von Nährstoffen beitragen.*
2. *Desweiteren soll durch die Entwicklung eines spezifischen Ernteverfahrens für Garnelen der Stress durch den Erntevorgang verringert werden.*

*Als Indikatoren für den Grad des Tierwohls, den Vitalitätszustand und die Gesundheit der Garnelen sollen folgende Parameter dienen:*

1. *Zootechnische und biometrische Daten (Überlebens- und Wachstumsraten, Antennenlänge, Index von Körperlänge zu Körpergewicht)*
2. *Aktivität der Immunparameter Phenoloxydase Aktivität (PO) und ‚Sauerstoff-Radikalbildung‘ (respiratory burst, RB) der Hämocyten*
3. *Konzentration an Hitzeschock-Proteinen als Stressindikatoren.*

*Eine verbesserte Wasserqualität soll ebenso zu einem höheren Tierwohlstandard beitragen: Ziel ist die Konzentration der sich in BFT-Systemen akkumulierenden Schwermetalle (Cu, Zn), insbesondere der gelösten und daher biologisch verfügbaren Schwermetallfraktion, durch den zu prüfenden Einsatz von organischen, nicht-toxischen und daher in der Lebensmittelproduktion unschädlichen Chelatoren zu senken. Chitosan ist dank seiner polykationischen Natur ein wirksames Flockungsmittel, das auch schon erfolgreich in der Aquakultur zur Senkung der Algenfracht in Teichanlagen getestet wurde (LERTSUTTHIWONG et al 2009). Aufgrund seiner Eigenschaften als Chelator kann Chitosan auch als ‚Fänger‘ von Schwermetallen wirken (DUTTA et al. 2004). Mit Hilfe von Chitosan soll die Ausfällung 2-wertiger Schwermetalle, wie Kupfer erzielt werden, die als organisch gebundener Komplex in der Feststoff-Fraktion mit der Sedimentation das System verlassen können.*

*Die in diesem Vorhaben gewonnenen Erkenntnisse mit den wesentlichen Elementen zur Steuerung der Biofloc-Technologie sollen -aufbauend auf dem in Phase I erarbeiteten Betriebshandbuch in ein Betriebshandbuch für BFT-Anlagen zur Garnelenproduktion eingearbeitet werden, sowie in die in der ersten Förderphase entwickelte Datenbank Delta übertragen werden. Als wichtiges Instrument der Datendokumentation und -verarbeitung muss die Datenbank Delta an die neue Verfahrenstechnik einer Biofloc-Anlage angepasst werden.*

*Betriebshandbuch und Datenbank sollen um die Komponente Tierwohl erweitert werden und die in der hier beantragten Förderphase gewonnenen Erkenntnisse sollen in die Praxis von kommerziellen BFT-Betrieben umgesetzt werden. ...*

*Die wesentlichen Werkzeuge zum Erreichen der genannten Ziele sind:*

1. *die Anpassung und Weiterentwicklung der Management-Datenbank Delta (Polyplan)*
2. *Monitoring aller für die Erhebung von Kennzahlen zum Ressourcenverbrauch und zur Bewertung der Wasserqualität wesentlicher Parameter in kommerziellen Garnelenfarmen und Datenauswertung mittels Delta (Polyplan)*
3. *Untersuchungen zur Mikrobiologie, zur Mikrobiozönose und zur Meiofauna in BFT-Anlagen (TiHo)*
4. *Monitoring des Volumens, der Zusammensetzung, der Nährstoffzusammensetzung der Bioflocs und ihren Anteil am Stickstoff - Recycling in den Anlagen (TiHo + Polyplan).*
5. *Monitoring von Parametern, die das Tierwohl kennzeichnen, in kommerziellen BFT-Anlagen sowie in Versuchen zur Stressreduktion/ Verbesserung des Tierwohls (TiHo + Polyplan).*
6. *Untersuchungen zur Stressbelastung der Garnelen in vivo im Betrieb einer kommerziellen Garnelenfarm sowie in Versuchen zur Stressreduktion/Verbesserung des Tierwohls (TiHo + Polyplan)*

## 4 Verlauf und unerwartete Probleme in der Durchführung der Arbeiten

Das Vorhaben hat uns ermöglicht, in bereits erprobter guter Zusammenarbeit mit dem Partner TiHo und in 25 Besuchen in der Anlage Damm Aquakultur, tiefere Erkenntnisse über die bisher kaum in Indoor-Anlagen realisierte Biofloc-Technologie zu gewinnen und zentrale Risiken zu minimieren, wenn auch nicht alle Ziele erreicht werden konnten.

Schwierigkeiten durch externe, nicht beeinflussbare Faktoren behinderten alle Aufgabenbereiche in der Durchführung.

Hier ist übergeordnet die Covid-19-Pandemie zu nennen, die schlichtweg einen Einbruch in der Produktion der Garnelen mit sich brachte, bedingt durch Lieferausfälle bei Besetztieren (AG NASTAQ 2020<sup>1</sup>) und auch durch bewusst ausgesetzten Neubesatz wegen der geringen Nachfrage durch geschlossene Restaurants. Für eine kontinuierliche Ernte von Garnelen müssen die Becken in regelmäßigen, möglichst monatlichen Abständen mit Postlarven besetzt werden.

So konnten in 2020 nur 1 ½ Kulturen im Sommer besetzt werden, statt der geplanten 12. Hierbei handelte es sich um 3 parallel besetzte (halbe) Chargen aus verschiedenen Bezugsquellen. Erstmals konnte neben Zuchtbetrieben in den USA ein Betrieb in Deutschland und ein Betrieb in Österreich Postlarven liefern. Für die Chance, den Einfluss der Transportdauer und der Bezugsquelle mit vermutlich abweichendem Mikrobiom zu untersuchen, wurde eine Anpassung in Arbeitsplan, Unterauftrag und bei den Sachmitteln beantragt und bewilligt (s. Kap. 5.1.1.4).

Begründung für die Anpassung war, dass bei einem Besatz mit Postlarven aus Europa bzw. Deutschland wesentliche Verbesserungen bei Überlebensrate, der Homogenität und Kondition zu erwarten seien und folglich auch der weiteren Entwicklung der Garnelen. Außerdem kann durch den Besatz aus europäischen Quellen Transport-Verkehr vermieden und die Versorgungssicherheit der Garnelenzucht erhöht werden.

Zugunsten dieses neuen Schwerpunktes wurden Abstriche gemacht in der Fragestellung zur Schwermetallbindung durch Chitosan, da die dafür als Unterauftragnehmer bewilligte Firma ihren Unterauftrag absagen musste (s.u.), sowie in der Fragestellung zu den Habitaten im Praxistest der Großbecken.

In 2021 konnte erst ab April wieder neu besetzt werden, als sich die Aussichten auf eine Erholung der Nachfrage besserten. Dennoch blieb der Besatz im Jahr deutlich unter dem Zielbesatz und erreichte nur ca. 60%. Eine etwa monatliche Besatzfrequenz wurde erst in der 2. Jahreshälfte erreicht, sodass mit der Ernte dieser Chargen im Folgejahr zu rechnen war. Das Vorhaben sollte im September 2021 enden und damit wären diese Chargen nicht mehr im Beobachtungszeitraum erfasst worden.

Die Beobachtungszeit konnte nach der Bewilligung einer Verlängerung der Projektlaufzeit bis in den März 2022 verlängert werden.

Weitere Störfaktoren lagen im unerwartet zu bewerkstellenden Wechsel und der Absage von Firmen, die im Unterauftrag eingeplant waren. Dies betraf:

- Suche nach einer Softwarefirma für die Datenbankentwicklung → dies verursachte den späteren Projektstart
- Eine Firma, die im Rahmen eines Unterauftrages das schwermetallbindende Potenzial verschiedener Formen von Chitosan prüfen sollte: Absage mangels Personal
- Ende der Kooperation mit der Firma, nach deren Konzept die Anlage Damm Aquakultur geplant und gebaut worden war und deren Pilotanlage in Belgien als Referenzanlage dienen sollte: Die Zusammenarbeit zwischen CreveTec und Polyplan-Kreikenbaum wurde in 2021 aus unüberbrückbaren Differenzen beendet, u.a. in der Einschätzung der Ursachen für eine mangelhafte Denitrifikation, die zu einer Nitrat-Akkumulation führte.

---

<sup>1</sup> Der ‚Nationale Strategieplan Aquakultur für Deutschland 2021 – 2030‘ bestätigt weitgehende Unterbrechungen in Lieferketten für Setzlinge bei Fisch und Garnele ([https://www.portal-fischerei.de/fileadmin/SITE\\_MASTER/content/Dokumente/Bund/Aquakultur/NASTAQ\\_2021-2030.pdf](https://www.portal-fischerei.de/fileadmin/SITE_MASTER/content/Dokumente/Bund/Aquakultur/NASTAQ_2021-2030.pdf))

Es gab auch technische und betriebliche Schwierigkeiten, besonders im Jahr 1 des Betriebs (2019):

- Auftreten einer Trübung, die mit unerwünschten Schlammablagerungen im Sedimentationsbecken zusammenhing und mit zunehmender Biofloc-Fracht auftrat. Dies erforderte die Optimierung der Becken.
- Probleme traten auf bei bestimmten Futtermitteln, die instabil waren und zu erhöhter Schaum- und Schlammbildung und sinkenden pH-Werten führten, sowie zu Verlusten. Der Schlamm akkumulierte in den Bioreaktoren und es bildete sich dort eine Blähschlamm-Schicht, die manuell entfernt werden musste.
- im Rahmen des Schwerpunktes „Belüftungsarten“ kam es in der Variante „Sauerstoff“ nach vorherigen Problemen durch instabiles Futtermittel, nach der Umstellung auf ein stabileres Futtermittel, zu schwer nachvollziehbaren Verlusten. Für einige Tage war der pH-Wert auf ca. 7 abgesunken, aber es gab keine erhöhten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen (<10 mg/l) und auch die Ammonium-N und Nitrit-N-Werte lagen im unkritischen Bereich. Es kam hier zu einer deutlich verringerten Erntemenge.
- Die ursprünglich in den Hälterungsbecken installierte Belüftung über perforierte PU-Rohr-Diffusoren wurde ausgetauscht gegen Membran-Diffusoren, die dauerhaft ein feineres Blasenbild erzeugten. Hierdurch konnten die Wartungs- und Reinigungsintervalle auf 30% reduziert werden. Die damit verbundenen Umbauzeiten reduzierten wiederum die Beckenverfügbarkeit und somit die Neubesatz-Frequenz.
- Gerade, als die Besatzfrequenz sich wieder, dank verbesserter PL-Verfügbarkeit, in der 2. Jahreshälfte 2021 normalisieren ließ, kam es zu einem Verdichterausfall, der zu einem rapiden Abfall der Sauerstoffversorgung führte, der leider von der einsetzenden Notbelüftung nicht über einen ausreichend langen Zeitraum kompensiert werden konnte. Es wurden Kulturen, die kurz vor der Erntereife standen, geerntet, um größeren Schaden abzuwenden. Es stellte sich heraus, dass die internet-gebundene Alarmmeldung verspätet den Empfänger erreichte, da dieser sich außerhalb des Mobilfunknetzes aufhielt. Aufgrund dieser Erfahrung wurde ein Longe-Range (LORAWAN-)System entwickelt und installiert, welches unabhängig von Internet und Telefonie den Alarm direkt von der Anlage in das Wohnhaus des Anlagenbetreibers über eine Sirene weiterleitet. Dieses System funktioniert auch bei Stromausfall auf einer oder beiden Seiten. Dieses System ist Akku-betrieben und funktioniert auch bei Stromausfall.
- Zuletzt, Anfang 2022 wurde die Anlage erstmals seit Betriebsstart aufgesalzen mit Mg, Ca und Na auf 25 g/l, um eine sich entwickelnde Ionen-Imbalance (K erhöht gegenüber Na) auszugleichen. Ursache hierfür ist die im Futter enthaltene Kaliumfracht, die in Anlagen mit so niedriger Wassererneuerung mit der Zeit zu einer Aufkonzentrierung von Kalium führt. Die Ionen-Imbalance kann zu Häutungsschwierigkeiten führen, die bereits vereinzelt beobachtet werden konnten. Das halbjährliche Monitoring der essentiellen Elemente mit Berechnung des Kalium-Natrium-Verhältnisses ist seitdem fester Bestandteil der Qualitätskontrolle für den laufenden Produktionsbetrieb.

In 2022, ab Januar, wurde begonnen, modulweise das System umzustellen vom Biofloc-Konzept der CreveTec auf ein neues, gemeinsam mit Herrn Damm entwickeltes Design, das einem sog. „semi-floc System“<sup>2</sup> nahe kommt: Ziel ist ein niedrigerer und technisch besser zu kontrollierender Gehalt an Bioflocs durch die Integration eines Trommelfilters und Eiweißabschäumers bei geringer Durchflussrate und eine besser zu kontrollierende Denitrifikation durch den Einbau eines 2-stufigen Biofilters mit integrierter Denitrifikationsstufe.

Dieses neue Design wurde nach Projektabschluss, noch im Frühjahr 2022, in der Anlage Damm Aquakultur realisiert und soll als Grundlage für weitere Planungen von Garnelenproduktionsanlagen dienen.

Die oben genannten Störfaktoren erschweren die Auswertung bzw. Aussagekraft der Ergebnisse sehr, sowohl betreffend der Schwerpunkte Belüftung und Bezugsquelle, als auch betreffend einer grundsätzlichen Bewertung des Betriebs dieser Biofloc-Anlage in Bezug auf Nachhaltigkeit und Wirtschaftlichkeit.

Trotz aller Hemmnisse sehen wir in der umfangreichen Datenbasis einen wertvollen Beitrag zum besseren Verständnis dieser grundsätzlich nützlichen und ressourcenschonenden Technologie.

---

<sup>2</sup> <https://thefishsite.com/articles/how-to-use-probiotics-in-shrimp-farming-with-synbiotics-biofloc-semi-floc>

Bedeutung der Farben in den folgenden Zeitleisten der Ereignisse:

Betriebsstatus, Infos
Anpassung Betrieb/ Technik
positives Ereignis/ Ergebnis
Notfall/ Störung

Inbetriebnahme und Befüllung	Erstbesatz		Befüllung komplett		Auftreten einer Trübung, Ursache: Schlamm in Becken der Wasseraufbereitung	Korrektur Wasseraufbereitung		Wasser-Temperatur in Nursery und GOB erhöht	Optimierung Wasserabzug aus GOB		Einbau Luft-Injektor in M1B1 und System für O2 in M3B3; in allen GOB Beginn Ersatz der Luft-Ausströmer durch effizientere Diffusoren	Futter instabil --> Wachstum verringert, Schlamm akkumuliert in BioR Schlammmentnahme, Einbau Eiweißabschäumer im Nebenstrom, Futterumstellung	schwimmende Schlammschicht in BioR Entnahme Schlamm, Verbesserung Mixer in BioR	kurzzeitig sichtbare Verluste in M3B3, Belüftungsvariante "Sauerstoff" (NH4-N <0,3 mg/l, NO2-N <0,7 mg/l)
10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>2018: Betriebsstart</b>		<b>2019: Ausfälle durch Umbaumaßnahmen und geringe Futtermittel-Qualität; Projektstart KoMARE II in 09/2019</b>												

Geringere Ernte in Variante "Sauerstoff"; Ausfall 1. PL-Lieferung aus USA	<b>Pandemiebedingt keine PL-Verfügbarkeit</b>				keine PL-Verfügbarkeit; erneut Problem mit Futter aus einer Quelle; deutlicher Nitrat-Anstieg		<b>1. und einziger Neubesatz in 2020: 3 Kulturen parallel besetzt, je 1 aus USA und erstmals aus D und AT</b>		BioR-Test im 48h Mixing: NO3 wird unzureichend abgebaut		Vollernte Batch aus D: in 4 Monaten 24g MBW
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>2020: durch Pandemiebedingte Ausfälle nur ein Bruchteil des Jahresbesatzes und Ertrages; Denitrifikation unzureichend</b>											

Sensorik: oftaste (schlammig: Batch aus D) - nur laut Labor-Sensorikbericht		Sensorik: erneut oftaste lt. Labor	<b>1. Neubesatz 2021 (PL aus AT)</b>	<b>2. Besatz mit PL aus DE und 3. mit PL aus AT</b>	Batches aus 2020 abgeerntet, Anlage unterbesetzt		1/2 Batch PL verloren (Spurenelemente statt Salz, da unbeschriftet geliefert)		Verdichterausfall: Noternten, da O2 schnell absank	PL aus USA (Besatz 7 in 2021)	2x Besatz aus AT: 9x Neubesatz statt 12x	Umbau Modul 2: neuer Biofilter, Trommelfilter und Abschäumer; Aufsalzung (ohne K)	Anstieg Nitritwerte, neuer Biofilter noch nicht stabil	<b>ENDE Projekt KoMARE 2 - ab 04/2022 zunehmend höhere Ernten und stabile Verhältnisse</b>
keine Beanstandungen seitens Kunden	2	nur + Feedback von Kunden	4	Reaktor (fettbasierte Quelle) im Nebenstrom	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
<b>2021: 1. Jahreshälfte deutlich unter Vollast, 2. Jahreshälfte mit Noternten durch Verdichterausfall</b>												<b>2022: Umbau Wasseraufbereitung</b>		

Abbildung 4-1: Zeitleisten mit den wichtigsten Ereignissen seit Inbetriebnahme in 10/2018 (Ereignis/ Monat/ Jahresleiste)

## **5 Arbeitspaket 1: Aspekte der Nachhaltigkeit in der Indoor-Garnelenproduktion: Monitoring, Kennzahlen und nachhaltige Betriebsführung in der Bioflock-Technologie (POLY-K)**

5.1 AP 1.1: Monitoring (Ressourcenverbrauch/ Wasserqualität/ Garnelenqualität und -produktion) in kommerziellen BFT-Anlagen und Anpassung der Datenbank DeltA als Tool

5.1.1 AP 1.1.1: Umfassendes Monitoring in kommerzieller BFT-Anlage mit den Schwerpunkten: Belüftungsart, Entwicklung des Mikrobioms und Herkunft der Besatztiere

### **Monitoring-Ansatz und Schwerpunkte**

Datenbasis:

- reguläres Monitoring und Protokolle des Betreibers (Futtermanagement, Parameter der Wasserqualität)
- eigene Messkampagnen (z.B. Einzelwiegung und Vermessung von Garnelen)
- beauftragte Laboranalysen von Wasser- und Schlammproben sowie sensorisches Profil von Garnelen
- begleitende mikrobiologische Datenerhebungen des Kooperationspartners TiHo
- weitergehende Untersuchungen der TiHo zu Tierwohlaspekten (s. Kap. 8)

Die Bedeutung der Belüftung in einem System wie dem Biofloc-System, das durch erhöhte Frachten an organischer Substanz charakterisiert ist und eine wirtschaftliche Produktion von Garnelen ermöglichen soll, ist der entscheidende Faktor für den Erfolg.

Mit Beginn des Vorhabens wurde daher in Konsens mit dem Betreiber und dem Kooperationspartner TiHo die **Belüftungsart als 1. Schwerpunkt** gewählt.

Ein **2. Schwerpunkt** sollte die **Entwicklung des Mikrobioms** in der noch jungen Biofloc-Anlage verfolgen, nach ihrem 1. Betriebsjahr. Indoor-BFT-Anlagen waren und sind noch selten und zu wenig ist bekannt über die Frage welche Mikroorganismen das Mikrobiom und die gewünschten Funktionen der Nitrifizierung innerhalb der Bioflocs prägen und wie dies vorteilhaft zu steuern wäre. Dazu müssen zunächst Bestandserhebungen vorgenommen werden und parallel die zentralen Parameter der möglichen Umweltfaktoren über mehrere Monate im Kulturzyklus erfasst werden.

Als **3. Schwerpunkt** konnte die **Bezugsquelle der Besatztiere** hinzugenommen werden, dank der damals erstmals in wirtschaftlichem Umfang gelungenen Nachzucht von Garnelen der Spezies *L. vannamei* durch Betriebe in Deutschland und Österreich. Hintergrund war die in europäischen Aquakulturkreisen verbreitete Annahme, dass die langen Transportwege aus den USA ein potentiell hohes Risiko darstellen für die Vitalität der empfindlichen Postlarven und damit für die erzielbaren Wachstums- und Überlebensraten.

Grundsätzlich ist anzumerken, dass die Vergleichbarkeit verschiedener Kulturdurchgänge bzw. sog. ‚Batches‘ bereits ab Besatz etwas eingeschränkt sein kann, da die Besatzzahlen variieren können. So kann es beim Transport zu Verlusten kommen, die manche Zuchtbetriebe aus Kulanz vorab ausgleichen, indem sie mehr Postlarven liefern als bestellt wurden. In den Schwerpunkten Belüftungsart und Bezugsquelle wurde für die zu vergleichenden Batches jeweils die gleiche Anzahl an Postlarven bestellt.

#### 5.1.1.1 *Mikrobiom: Untersuchungsmethoden Wasser und Biofilm*

Zur Untersuchung der Meiofauna und zur mikrobiellen Gemeinschaft wurden den Garnelenbecken Wasserproben und Abstrichproben des Biofilms entnommen. Für die Analyse der mikrobiellen Gemeinschaft wurden die Wasserproben bei  $-80^{\circ}\text{C}$  bis zur weiteren Verwendung eingefroren. Die Tupfer mit den Abstrichproben der Beckenwand sowie vom Carapax der Garnelen (siehe unten) wurden in ein Reaktionsgefäß mit RNA-Later überführt und ebenfalls bei  $-80^{\circ}\text{C}$  bis zur weiteren Verwendung gelagert.

#### **Untersuchungsmethoden Garnelen**

Entnahme der Garnelen aus den Haltungsbecken und Probennahme:

Die Garnelen wurden jeweils einzeln mittels Kescher aus den Haltungsbecken entnommen und anschließend wurde sofort mit einem Wattetupfer eine Abstrichprobe zur mikrobiologischen Untersuchung vom Carapax der Garnele entnommen (Foto rechts). Anschließend wurden die Garnelen in Eiswasser gesetzt, um sie so schnell wie möglich zu betäuben und zu töten. Nach 10 Minuten im Eiswasser wurden die Garnelen entnommen und es wurde von der getöteten Garnele mit einer Spritze Hämolymphe aus dem ventralen Sinus zur Analyse der Hämozyten gewonnen. Anschließend wurden die Garnelen vermessen (Bestimmen von Körperlänge, Antennenlänge und Körpergewicht), mit einem scharfen Skalpell gespalten und es wurde Hepatopankreasgewebe und Kiemengewebe sowie Gewebe des Augenstiels entnommen und in RNA-Later überführt, um per PCR die Expression von Hitzeschockproteinen und des „Crustacean hyperglycaemic hormone“ (chh), die auf eine Stressbelastung hindeuten können, zu untersuchen.



Alle Versuche erfolgten unter Beachtung der internationalen und nationalen Vorschriften zur Durchführung und zum Schutz von Tieren in Tierversuchen nach vorheriger Genehmigung durch die zuständige Behörde, das Regierungspräsidium Kassel unter dem Aktenzeichen 2020/191026

#### **Molekularbiologische Methoden**

##### *Extraktion von DNA, RNA und Konstruktion von cDNA*

Von Wasser und Biofilmproben der Beckenwand und vom Carapax der Garnelen wurde genomische DNA mit Hilfe QIAamp DNA Mini-Kits (Qiagen, Deutschland) nach Angaben des Herstellers extrahiert. Nach Extraktion der DNA wurde sie auf  $50\text{ ng }\mu\text{l}^{-1}$  verdünnt und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  bis zur weiteren Analyse aufbewahrt. Von Gewebeproben wurde Gesamt-RNA mit Hilfe des Tri-Reagenzes (Sigma) nach Angaben des Herstellers extrahiert. In der extrahierten Probe verbleibende DNA wurde durch einen Verdau mit 2 E DNase I (Thermo Fisher Scientific) entsprechend der Angaben des Herstellers abgebaut. Die Synthese von cDNA erfolgte von 300 ng Gesamt-RNA unter Verwendung des Maxima First Strand cDNA Synthesis Kits (Thermo Fisher Scientific). Dabei wurde als Kontrolle eine Probe ohne reverse Transkriptase für jede Probe mitgeführt. Synthetisierte cDNA wurde 1:20 mit nukleasefreiem Wasser verdünnt, bevor sie in RT-qPCR-Analysen eingesetzt wurde.

##### RT PCR und RT-qPCR-Analysen

Die Quantifizierung der Bakterienlast auf den Kiemen von Garnelen in den unterschiedlichen Versuchsansätzen sowie Transkripte der Hitzeschock-Proteine 60 und 70 sowie des „Crustacean hypoglycaemic hormone“ (chh) codierenden Gens erfolgte mittel Sybr-Green-basierender RT qPCR. Die Reaktionen wurden als Duplikate unter Verwendung des Maxima SYBR Green 2x Master Mix (Thermo Fisher Scientific) in einem ABI StepOnePlus Thermozykler (Thermo Fisher Scientific) durchgeführt. Das Reaktionsgemisch war folgendermaßen zusammengesetzt: 1x Maxima SYBR Green Master Mix (mit 10 nM ROX), 0,2  $\mu\text{M}$  jeder Startsequenz, 2  $\mu\text{l}$  der 20x verdünnten cDNA und nuklease-freies Wasser bis zu einem Endvolumen von 20 $\mu\text{l}$ .

Zur Analyse der mikrobiellen Gemeinschaft in den genannten Proben wurden hypervariable Regionen des Gens, das die 16S ribosomale RNA codiert, in einer PCR Analyse amplifiziert und nach erfolgter Qualitätskontrolle der Amplifikate die Nucleotid-Sequenzen dieses Genfragments mittels einer verbesserten Illumina-Plattform sequenziert (Novogen). Die erhaltenen Sequenzen wurden gefiltert, Chimären wurden entfernt und es erfolgte eine Zuordnung zu operativen taxonomischen Einheiten („Operational Taxonomic Units“, OTU). Anhand der Ergebnisse der OTU-Clustering-Analyse wurde eine repräsentative Sequenz jeder OTU einem Taxon zugeordnet, um die entsprechenden Taxa-Informationen und die taxa-basierte Häufigkeitsverteilung zu erhalten. Gleichzeitig wurden die OTUs für die Alpha-Diversitätsanalyse, die Beta-Diversitätsanalyse, die Erstellung eines Venn-Diagramms und eines Blumendiagramms verwendet, um Informationen über die Spezies-Diversität und die Gleichmäßigkeit der Speziesverteilung in den Proben sowie über gemeinsame und einzigartige OTUs in verschiedenen Proben oder Gruppen zu erhalten.

**Alpha-Diversität** ist definiert als Diversität der Spezies (OTU) in einem Habitat. In der vorliegenden Studie wurden folgende Maßzahlen zur Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft in den einzelnen Probenarten bestimmt:

Anzahl an Arten: Angabe über die Anzahl unterschiedlicher OTU pro Probe/ Habitat.

Shannon-Index: Der Shannon Index bestimmt die Wahrscheinlichkeit, mit der vorhergesagt werden kann, welche Spezies in der nächsten Unterprobe zu finden ist.

Simpson-Index: Der Simpson-Index ist eine Maßzahl zur Bestimmung der Konzentration von Spezies in einer Probe. Er bestimmt die Wahrscheinlichkeit, dass zwei zufällig gezogenen Unterproben die gleichen Spezies enthalten.

Chao 1 Index: Der Chao 1-Index ist ein Schätzer, der auf der Häufigkeit von Spezies, die zu einer Klasse gehören, in der Probe beruht. ACE-Index: Der „Abundance-based coverage estimators“ (ACE)-Index ist Schätzwert der Diversität, die mit Hilfe eines festgelegten Schwellenwertes die Anzahl häufiger und seltener Taxa in der Probe bestimmt.

Good's Coverage Index ist ein Indikator für Diversität, in dem die Anzahl an Einzel-OTU im Verhältnis zur Gesamtzahl der OTU bestimmt wird.

P D Whole tree ist ein Maß für die phylogenetische Diversität in der Probe.

#### 5.1.1.2 *Schwerpunkt Betriebsszenario: Belüftungsart*

Verfahren: in drei der insgesamt neun Becken für die Grow-Out-Phase (Grow-Out-Becken mit je 100 m<sup>3</sup>) wurden zu diesem Zweck durch den Betreiber drei verschiedene Systeme installiert:

1. **Belüftung per Injektoren**, die Umgebungsluft mit hohem Druck in das Wasser einbringen, wodurch als positiver Nebeneffekt eine laterale Strömung erzeugt wird, die die Durchmischung im Becken verbessert und ein Absetzen organischer Partikel am Boden zusätzlich minimieren kann. Bei dem System handelt es sich um eine in BFT-Anlagen erprobte Technologie aus den USA (Becken: M1B1 mit Population bzw. Batch #7 aus 08/2019)
2. **Belüftung mittels technischem Sauerstoff**, umgesetzt mit einem erprobten System einer renommierten Firma aus Deutschland (Becken M3B3 mit Batch #8, aus 08/2019)
3. **Referenz: Standard-Belüftung mittels verdichteter Luft, die über Ausströmer (Diffusoren)** in das Becken eingebracht wird - dieses System ist in allen anderen Becken installiert und wurde hier beispielhaft untersucht an:
  - a. Becken M2B3 mit Batch #9, die ca. 4 Wochen jünger war als die der anderen beiden Belüftungsvarianten, aus 09/2019
  - b. als zweite Referenz diente Becken M1B3 (Batch # 10, die parallel zu Batch #9 besetzt worden war)

Die Beobachtungsperiode sollte, sofern realisierbar, die gesamte Kulturperiode der jeweiligen Garnelenpopulationen umfassen. Dies war für die Untersuchungen des Mikrobioms nicht immer umsetzbar, zumal für die ersten Untersuchungen (zur Belüftungsart), die an Bestandspopulationen nach 2 bzw. 3 Monaten in Kultur durchgeführt wurden.

Bei den beobachteten Populationen wurden alle verfügbaren Daten herangezogen, auch aus der Nursery-Phase in den sog. Postlarvenbecken, in denen der Neubesatz die ersten drei Wochen gehalten wird.

### Verlauf der Arbeiten

Die zu vergleichenden Populationen waren innerhalb von ca. 4 Wochen besetzt worden. Herkunft war ein und derselbe Zuchtbetrieb aus den USA, ein renommierter und für den Export in die EU zertifizierter Betrieb.

Jeder Besatz bestand – auf dem Papier und gemäß Bestellung- aus 90.000 PL. Die zu vergleichenden Kulturen erhielten dasselbe Futtermittel.

In Abstimmung mit der TiHo wurden folgende Probenahmen durchgeführt, um das Mikrobiom zu bestimmen und ausgewählte Parameter der Wasserqualität durch ein Labor bestimmen zu lassen:

- zu Beginn von Monat 4 bzw. 3 der Kultur sowie
- 6 Wochen später, in Monat 5 bzw. 4 der Kultur.

Die Kulturdauer variierte stark: so wurde ein Besatz relativ früh abgefischt (um Tag 160 in der Variante ‚technischer Sauerstoff‘) und die Kultur der anderen beiden Populationen musste mangels PL-Verfügbarkeit deutlich gestreckt werden auf 210 Kulturstage (Variante ‚Injektor‘) bzw. 272 Kulturstage (Referenz Standard-Belüftung).

**Besondere Vorkommnisse:** Die Kultur zur Variante ‚technischer Sauerstoff‘ hatte sich zunächst, in den ersten ca. 3 Monaten, in Bezug auf die Biomassedichte sehr gut entwickelt. Kescherzüge zeigten zunächst eine höhere Dichte an im Vergleich zu den anderen Varianten, dann eine abnehmende Dichte und das Wachstum verlangsamte sich. Daher wurde diese Kultur früher vom Betreiber abgefischt als geplant und so schnell konnten wir keinen Termin für eine sensorische Prüfung dieser Garnelen bekommen. Auch fehlen Daten zu den Einzelvermessungen am Ende der Kultur. In der Kultur hatte es offensichtlich Verluste gegeben, die jedoch nicht eindeutig zugeordnet werden konnten (s. Diskussion in Kap. 5.1.4).

### Ergebnisse

Die Ergebnisse werden in folgender Reihenfolge dargestellt:

1. Daten zur Charakterisierung der Wasserqualität, z.T. mit Datenanalyse aus Delta
2. Daten aus der begleitenden Untersuchung des Mikrobioms (TiHo)
3. Zootechnische Daten und Produktionsmengen
4. Daten zur Sensorik des Produkts Garnele (nicht für die Variante „Sauerstoff“ verfügbar)

#### 5.1.1.2.1 *Daten zur Charakterisierung der Wasserqualität*

Die Auswertung in Delta von mehr als jeweils hundert Messdaten zur **Sauerstoffkonzentration** zeigt eine unkritische Versorgung der beobachteten Kulturen mit Sauerstoff an, mit Minimalwerten von 5,9 bis 6,1 mg/l. Maximalwerte von ca. 9 mg/l wurden kurzzeitig in den mit Injektoren und mit Sauerstoff belüfteten Becken erzielt. Die Sauerstoffsättigung blieb bei allen drei Kulturen über den gesamten Kulturverlauf im sicheren Bereich von mindestens 80%, wie die Datenanalyse aus Delta zeigt ([Abbildung 5-1](#) und [Tabelle 5-1](#)).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

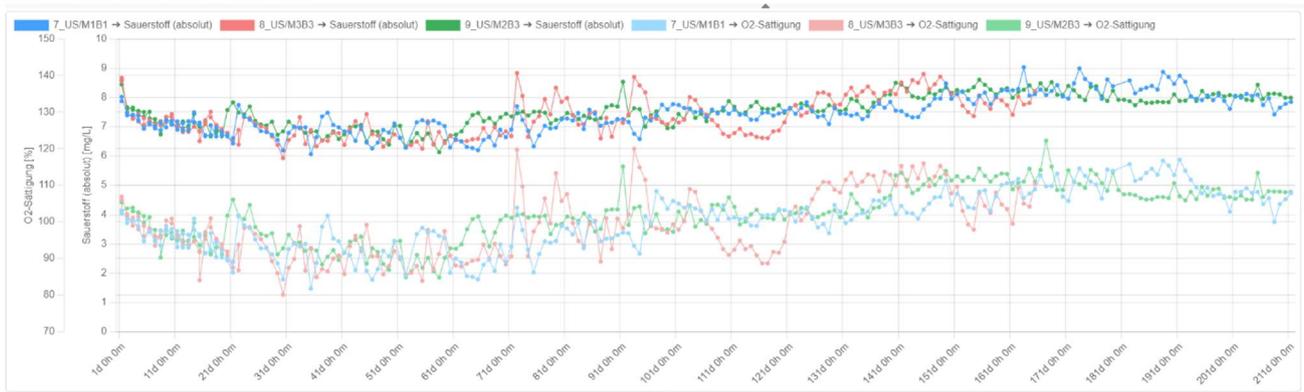


Abbildung 5-1: Schwerpunkt Belüftungsart: DeltaA-Auswertung von Sauerstoffkonzentration [mg/l] und Sauerstoff-Sättigung [%] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Referenz Standardbelüftung)

Tabelle 5-1: Schwerpunkt Belüftungsart: Werte-Tabelle aus DeltaA-Auswertung der Messgrößen ‚Sauerstoffkonzentration [mg/l]‘ und ‚Sauerstoff-Sättigung [%]‘ in den drei untersuchten Batches (mit Angaben zu Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte)

	min	max	Ø	#<	#>	#
7_US/M1B1 → Sauerstoff (absolut) [mg/L]	6,06 mg/L	9,03 mg/L	7,411 mg/L			229
8_US/M3B3 → Sauerstoff (absolut) [mg/L]	5,93 mg/L	8,83 mg/L	7,282 mg/L			187
9_US/M2B3 → Sauerstoff (absolut) [mg/L]	6,13 mg/L	8,6 mg/L	7,536 mg/L			230
7_US/M1B1 → O2-Sättigung [%]	81,8 %	117 %	100,142 %			229
8_US/M3B3 → O2-Sättigung [%]	80,1 %	120 %	98,485 %			187
9_US/M2B3 → O2-Sättigung [%]	84,8 %	122,2 %	101,94 %			229



	min	max	Ø	#<	#>	#
7_US/M1B1 → Salinität [ppt]	14,69 ppt	32,4 ppt	18,677 ppt			73
8_US/M3B3 → Salinität [ppt]	14,85 ppt	33,5 ppt	21,173 ppt			63
9_US/M2B3 → Salinität [ppt]	14,96 ppt	32,7 ppt	19,775 ppt			56
7_US/M1B1 → O2-Sättigung [%]	81,8 %	117 %	100,142 %			229
8_US/M3B3 → O2-Sättigung [%]	80,1 %	120 %	98,485 %			187
9_US/M2B3 → O2-Sättigung [%]	84,8 %	122,2 %	101,94 %			229

Abbildung 5-2: Schwerpunkt Belüftungsart: DeltaA-Auswertung von Sauerstoff-Sättigung [%] und Salinität [ppt] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Referenz Standardbelüftung, mit Werte-Tabelle für die drei untersuchten Batches (Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte))

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Die Salinität war bei Empfang der PL auf Werte um 30 bis 33 ppt eingestellt, entsprechend der Bedingungen im Transportwasser. Bei Anschluss der PL-Becken an die Wasseraufbereitung kann die niedrigere Salinität des Systems über den regelbaren Volumenstrom eingestellt werden.

### Sauerstoffkonzentration und Volumen absetzbarer Stoffe:

Das Volumen absetzbarer Stoffe wird mittels Imhoff-Trichter in Milliliter pro Liter bestimmt und dient der Verfolgung der Biofloc-Entwicklung.

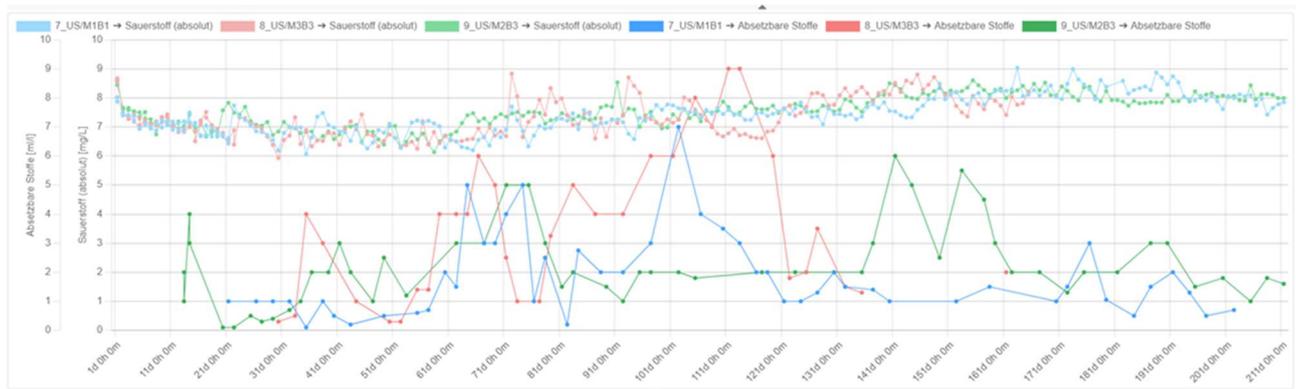


Abbildung 5-3: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung von Sauerstoffkonzentration [mg/l] und dem Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Referenz Standardbelüftung)

Tabelle 5-2: Schwerpunkt Belüftungsart: Werte-Tabelle aus Delta-Auswertung der Messgröße ‚absetzbare Stoffe [ml/l]‘ in den drei untersuchten Batches (mit Angaben zu Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte)

	min	max	Ø	#<	#>	#
7_US/M1B1 → Absetzbare Stoffe [ml/l]	0,1 ml/l	7 ml/l	1,816 ml/l			50
8_US/M3B3 → Absetzbare Stoffe [ml/l]	0,3 ml/l	9 ml/l	3,501 ml/l			34
9_US/M2B3 → Absetzbare Stoffe [ml/l]	0,1 ml/l	6 ml/l	2,224 ml/l			54

In allen drei Kulturen variierten die Werte für absetzbare Stoffe sehr stark, mit Maxima zwischen 6 bzw. 9 ml/l und Minima von 0,1 bzw. 0,3 ml/l. Höchstwerte und eine länger anhaltende Phase mit Werten > 4ml/l treten bei Batch #8, unter Sauerstoff-Belüftung, auf. Auffallend sind die z.T. von einem auf den anderen Tag sprunghaft an- bzw. absteigenden Werte, die schwer erklärbar sind. In Phasen der Häutung ist häufig die Futteraufnahme verringert und bis dies bemerkt werden kann, können sich schon Futterreste gebildet haben, die Material für eine Flockenbildung liefern (s. auch [Abbildung 5-6](#) bis [Abbildung 5-8](#)).

Die Datenanalysen in Delta zeigen, dass der Gehalt an absetzbaren Stoffen, als Maß für Bioflocs, in der untersuchten Anlage keinen durchschlagenden Einfluss auf Sauerstoffgehalt oder -sättigung hatte. Zu beobachten ist andersherum, dass die Volumina der absetzbaren Stoffe in der Variante mit reiner Sauerstoffbelüftung (Batch # 8, rote Linie) im Durchschnitt und auch im Maximum etwas höhere Werte erreichen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

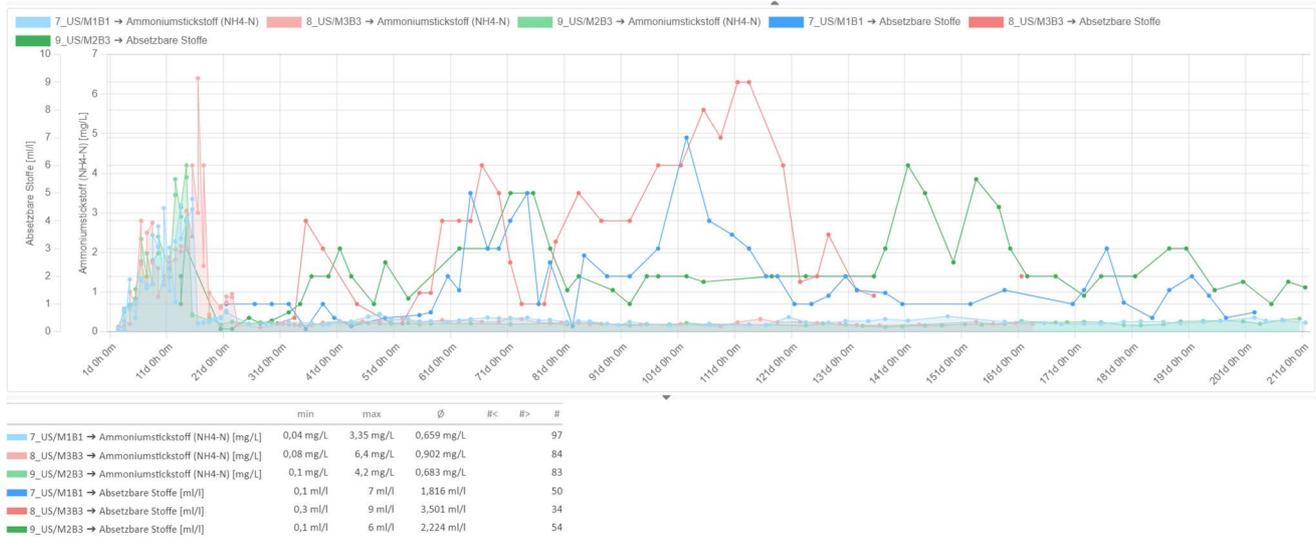


Abbildung 5-4: Schwerpunkt Belüftungsart: DeltaA-Auswertung der Konzentration von  $NH_4-N$  [mg/l] (Füllkurve) und dem Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Standardbelüftung; mit Werte-Tabelle für die drei untersuchten Batches (Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte))

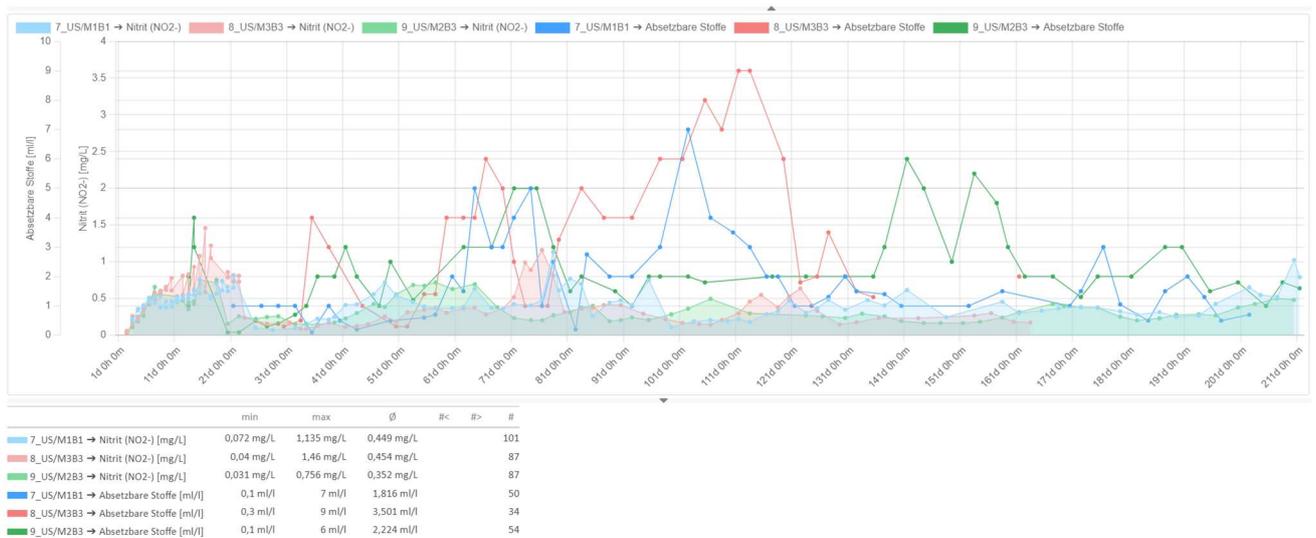


Abbildung 5-5: Schwerpunkt Belüftungsart: DeltaA-Auswertung der Konzentration von  $NO_2-N$  [mg/l] (Füllkurve) und dem Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf der 3 untersuchten Batches (#7: Injektorbelüftung, #8: Sauerstoff und #9: Standardbelüftung; mit Werte-Tabelle für die drei untersuchten Batches (Minimum, Maximum, Mittelwert und Anzahl Werte))

Auch in Bezug auf die Konzentrationen von Ammonium- und Nitrit-Sickstoff sind keine Zusammenhänge mit dem Gehalt absetzbarer Stoffe sichtbar. Höhere Konzentrationen an Ammonium-N mit regelrechten Peaks mit Maxima von > 3 mg/l (Injektor), 6 mg/l (Sauerstoff) und 4 mg/l (Standard) treten nur in der Nursery-Phase in den PL-Becken auf. Dieser ungünstige Effekt kam aufgrund der sehr langsamen Akklimatisierung an den höheren Salzgehalt zustande, die den Anschluss der PL-Becken an die Wasseraufbereitung der Anlage erst nach zwei Wochen vorsah. Das Verfahren der PL-Akklimatisierung wurde umgestellt und nach kürzerer Zeit der Wasseraustausch mit der Anlage gestartet, bereits nach ca. einer Woche statt nach mehr als zwei Wochen. Die Konzentrationen von Nitrit-N sind sowohl im Verlauf der PL-Phase als auch in der anschließenden Grow-Out-Phase unkritisch, mit Maxima von 1,1 mg/l (Injektor), 1,5 mg/l (Sauerstoff) und 0,8 mg/l (Standard).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Da die Futtermittelgabe variiert und dies erheblich die Wasserqualität beeinflusst, wird im Folgenden pro Kultur bzw. Variante der parallele Verlauf der Futtermittelgabe und der Verlauf der Parameter ‚pH-Wert‘ sowie ‚absetzbare Stoffe‘ [ml/l] dargestellt.

Der pH-Wert startet mit >8 im frisch angesetzten Salzwasser der PL-Becken mit Salinitäten über 30 ppt sehr hoch und bewegt sich im Grow-Out in dem für BFT-Anlagen charakteristischem Rahmen zwischen Minima um pH 7 und Maxima, die selten pH 7,5 überschreiten. Mit zunehmenden Futtermengen sind in den Wasserproben der drei Kulturen etwas zeitversetzt Peaks für ‚absetzbare Stoffe‘ zu sehen, die im weiteren Kulturverlauf abklingen, als Folge der Steuerung der Volumenströme, die durch die Wasseraufbereitung geleitet werden.

Zum Thema Bioflocs wird auf Kap. 7 verwiesen.

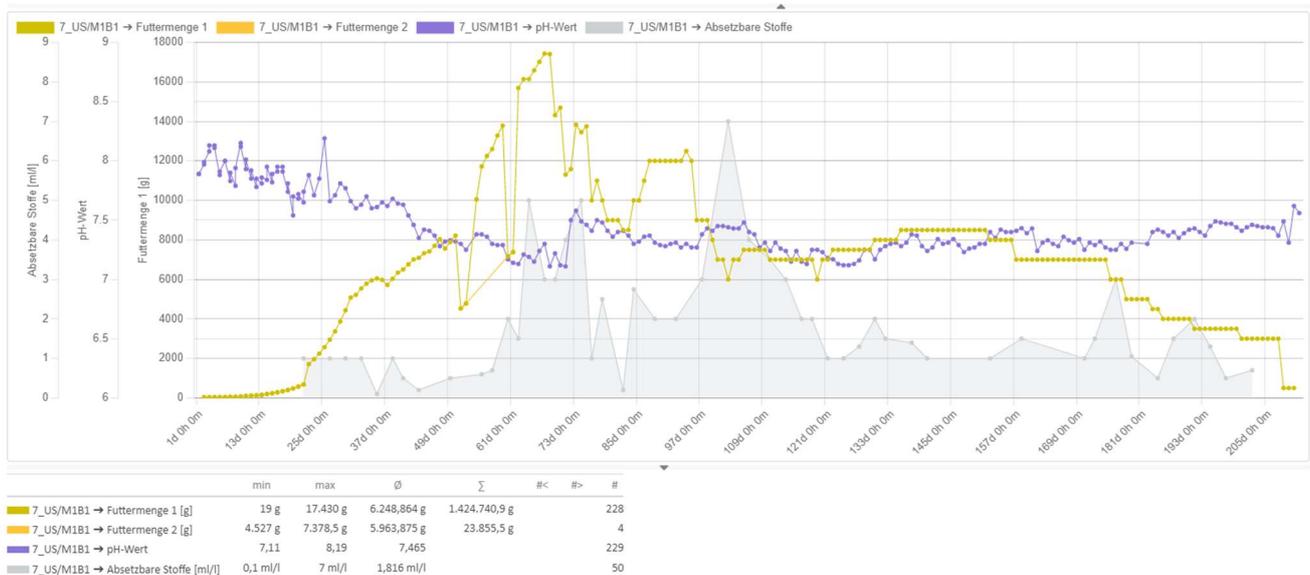


Abbildung 5-6: Schwerpunkt Belüftungsart: DeltaA-Auswertung der täglichen Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g]), pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf von Batch #7 ‚Injektorbelfüftung‘; mit Werte-Tabelle (Minimum, Maximum, Mittelwert und Futtersumme sowie Anzahl Werte)

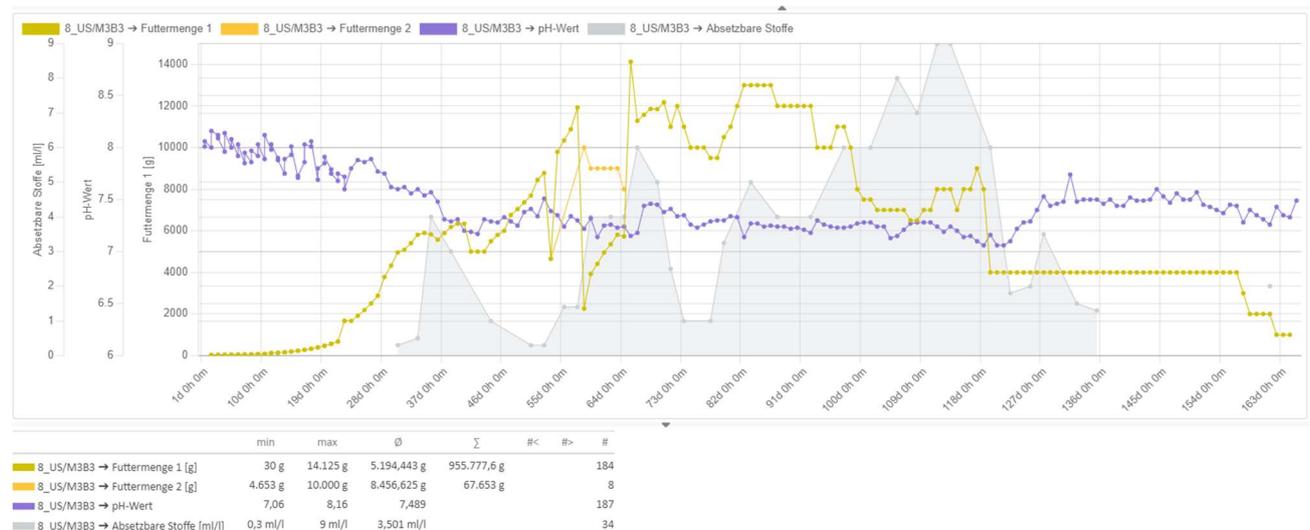


Abbildung 5-7: Schwerpunkt Belüftungsart: DeltaA-Auswertung der täglichen Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g]), pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf von Batch #8 ‚Sauerstoff‘; mit Werte-Tabelle (Minimum, Maximum, Mittelwert und Futtersumme sowie Anzahl Werte)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

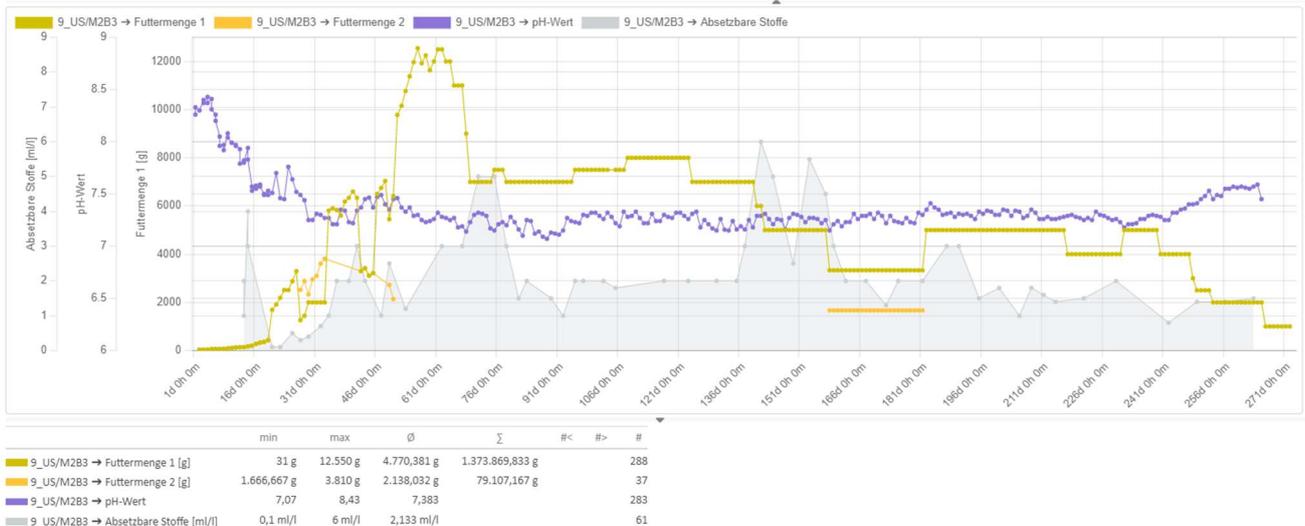


Abbildung 5-8: Schwerpunkt Belüftungsart: Delta-Auswertung der täglichen Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g]), pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] im Kulturverlauf von Batch #9, Standard\_1'; mit Werte-Tabelle (Minimum, Maximum, Mittelwert und Futtersumme sowie Anzahl Werte)

### Labordaten Schwerpunkt Belüftung

Proben für Laboranalysen wurden in den untersuchten Becken bzw. Varianten an denselben Tagen entnommen. Eine Auswertung von Labordaten, die an Einzelproben zu verschiedenen Tagen im Kulturverlauf bestimmt wurden und u.a. auch auf  $\text{NH}_4\text{-N}$  und  $\text{NO}_2\text{-N}$  sowie  $\text{NO}_3\text{-N}$  analysiert wurden, ergab ein heterogenes Bild, aber ebenfalls grundsätzlich Konzentrationen im Toleranzbereich der Garnelen. Die Daten sind tabellarisch im Anhang (Kap. 12) aufgeführt.

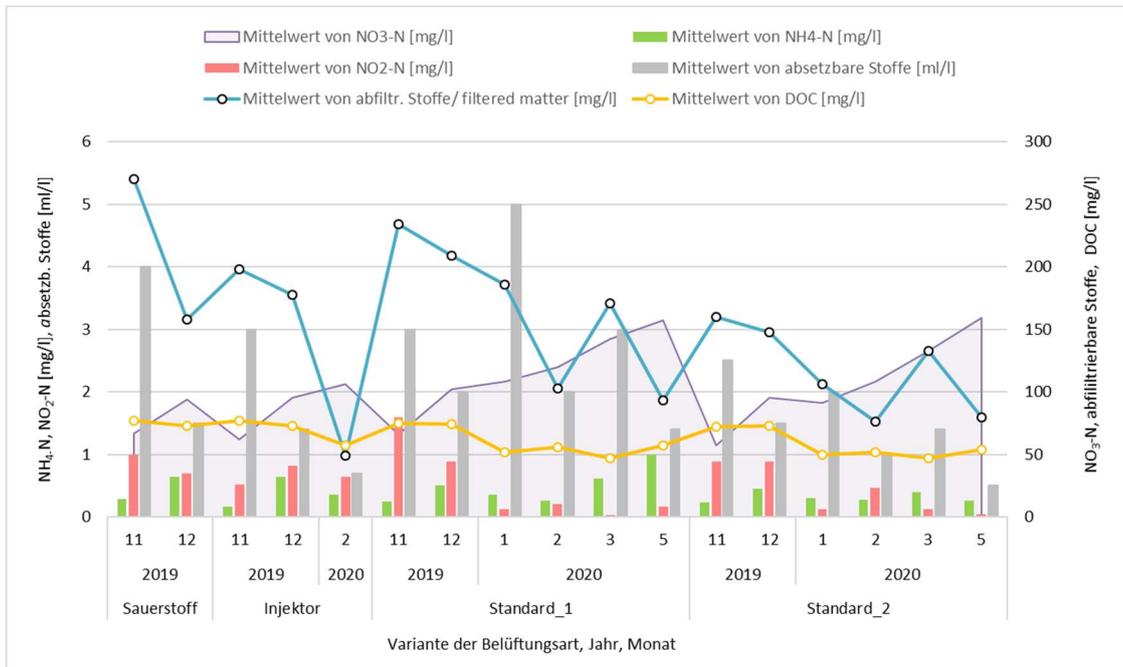


Abbildung 5-9: Belüftungs-Varianten: Konzentrationen gelöster Stickstoff-Formen ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  und  $\text{NO}_3\text{-N}$  [mg/l]), gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC, [mg/l]) sowie Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] und abfiltrierbarer Stoffe [mg/l] aus Beprobungen in 2019 und 2020 (an 2 bzw. 4 Terminen, n=1)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Die Nitrit-N-Konzentrationen gingen im Beobachtungszeitraum ab November 2019 bis Februar 2020 (Injektor) bzw. Mai 2020 (Standardbelüftung) zurück, Ammonium-N war uneinheitlich im Verlauf, und stieg bei der Belüftung mit Sauerstoff und einem Becken mit Standardbelüftung an, blieb aber im tolerablen Bereich (max. 1 mg/l). Deutlich ist der Anstieg der Nitrat-Konzentration im Zeitverlauf zu sehen, von anfangs um 60 mg/l auf zuletzt fast 160 mg/l, sechs Monate später (s. *Abbildung 5-9*). Die Feststoffe sind hier als absetzbare Stoffe in ml/l und als abfiltrierbare Stoffe in mg/l dargestellt (letztere wurden im beauftragten Analytiklabor durch Filtration über Membranfilter geeigneter Porengröße bestimmt; die absetzbaren Stoffe wurden am Tag der Probenahme vor Ort bestimmt. Kap. 7.1 geht tiefer auf das Thema Feststoffe im Zusammenhang mit Bioflocs ein).

Die absetzbaren Stoffe gingen tendenziell ab Beobachtungsstart in 11/2019 bis zum Abfischen der Garnelen zwischen 12/2019 bzw. maximal 05/2020 zurück, von 2,5 bis 4 ml/l auf 0,5 bis 1,5 ml/l. Ein Rückgang zeigt sich auch bei den als Trockenrückstand bestimmten abfiltrierbaren Stoffen, die zwischen den Varianten an gleichen Tagen stark variieren können. Beide Parameter zeigen einen Zwischen-Peak in 03/2020, obwohl ab Januar 2020 kein neuer PL-Besatz mehr erfolgte und der Gesamtbestand an Garnelen zurückging, damit auch die Biomasse, der Futtereintrag und das Aufkommen an Faeces.

Ein Zwischen-Peak fehlt beim Parameter gelöster organischer Kohlenstoff (engl.: DOC). Die Konzentrationen sinken ab Januar 2020 von 70-80 mg/l auf ca. 50 mg/l, sowohl in den Varianten mit Standardbelüftung, als auch in der Variante mit der Injektorbelüftung.

### Essentielle Elemente und Schwermetalle

Bei allen beauftragten Laboruntersuchungen wurden die drei essentiellen Elemente Calcium (Ca), Magnesium (Mg) und Kalium (K) erfasst, da diese unter Kulturbedingungen mit niedrigeren Salinitäten besonders zu beachten sind. Schwermetalle wie Kupfer (Cu) und Zink (Zn) können sich unter dem in der Bioflock-Technologie besonders geringen bzw. „Zero“ Wasseraustausch anreichern und wurden daher exemplarisch in das Monitoring aufgenommen.

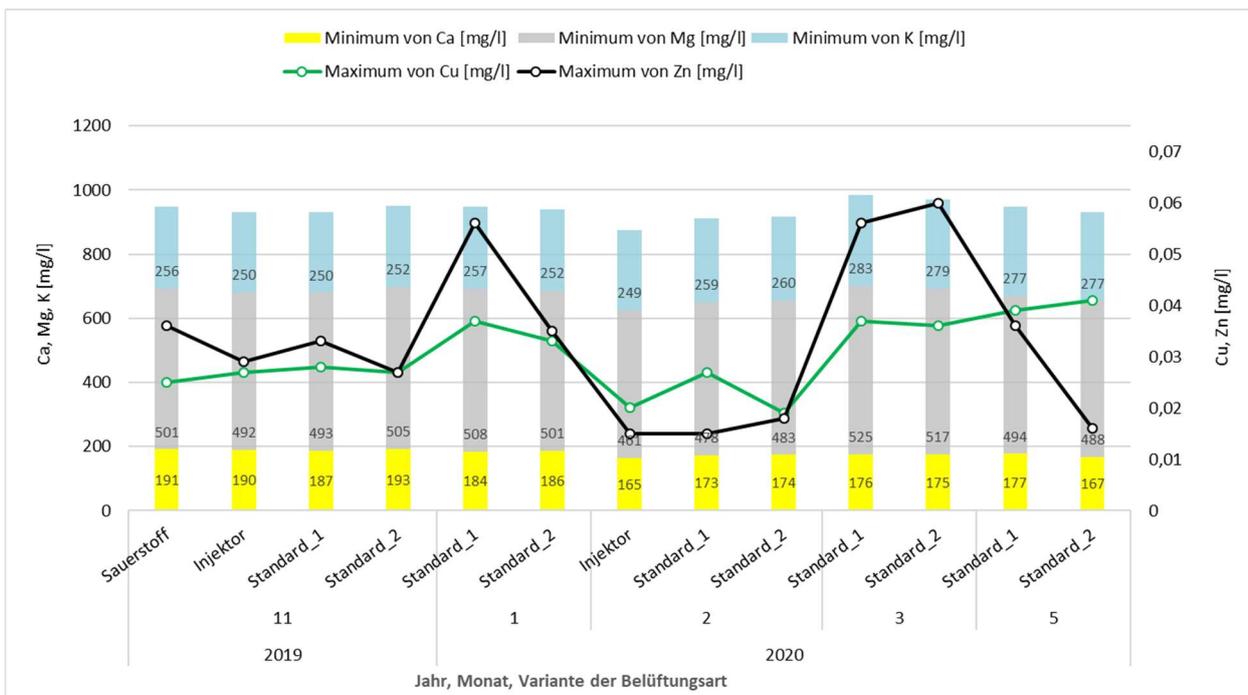


Abbildung 5-10: Schwerpunkt Belüftung: Labordaten zu Konzentrationen der essentiellen Ionen Ca, Mg und K sowie der Schwermetall-Ionen Cu und Zn im Beobachtungszeitraum 11/2019 bis 05/2020 (Sauerstoff: Batch #8, Injektor: Batch #9, Standard 1: Batch #9, Standard 2: Batch #10; n=1; als Minimum bzw. Maximum dargestellt in Pivot-Auswertung)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Bei den essentiellen Elementen ist für Calcium eine Abnahme der Konzentration ab 02/2020 zu sehen, für Magnesium-Konzentrationen ist eine Abnahme nur bei den Varianten „Injektor“ und „Standard\_2“ und ebenfalls nur in 2020 erkennbar und bei Kalium nehmen Konzentrationen insgesamt zu, aber erst ab 03/2020 deutlicher: von anfangs ca. 250 mg/l auf dann um 280 mg/l.

Die beobachtete Anreicherung ist bedingt durch den Kaliumgehalt im Futtermittel und kann sich in Systemen ohne nennenswerten Wasseraustausch entsprechend bemerkbar machen. Alle Werte liegen im Toleranz-Bereich für Garnelen, den Boyd (2001) für diese drei Elemente in einem Spektrum ab 100 mg/l angibt, mit unterschiedlichen Maxima, die hier schon aufgrund der niedrigeren Salinität nicht erreicht werden. Die Ionenverhältnisse werden in [Kap. 5.1.1.3.1](#) näher beschrieben.

Tabelle 5-3: Ziel- und Toleranzkonzentrationen von Ca, Mg und K (nach Davis et al. 2004)

Salinität:		15 ppt	
Ion	Faktor	Ziel-Konzentration [mg/l]	Toleranz-Bereich [mg/l]
Ca	11,6	174	100 - 500
Mg	39,1	586,5	100 - 1500
K	10,7	160,5	100 - 400

Nach Davis et al. (2004) können die optimalen Ionen-Konzentrationen für eine bestimmte Salinität als Seewasser-Äquivalente Konzentrationen über Ionen-spezifische Faktoren ermittelt werden, s. nebenstehende Liste. In der Anlage Damm Aquakultur lag die Salinität im Beobachtungszeitraum bei ca. 15 g/l bzw. ppt.

Danach liegen die „Ist“-Konzentrationen für Calcium vorwiegend im Optimum-Bereich, mit nur einer Ausnahme (167 mg/l in 05/2020 für Standard\_2-Variante). Magnesium liegt allerdings unterhalb der berechneten Ziel-Konzentration von 586,5 mg/l und Kalium von Beginn an darüber.

Die Konzentrationen von Cu und Zn verlaufen in einem ähnlichen auf und ab. Auffallend sind die Peaks von Cu und besonders deutlich von Zn in Januar und März 2020 bei den dann noch in Kultur verbliebenen Varianten Standard 1 und 2. Grund dafür kann theoretisch der Einsatz eines anderen Futtermittels sein, dass jedoch bei allen Varianten vom selben, zertifizierten Hersteller kam und bei beiden Standard-Varianten wurde nur für 3 bis 4 Wochen im Februar 2020 eine andere Pelletgröße gegeben. Es ist nicht auszuschließen, dass eine geringfügige Kontamination diese Peaks verursacht hat, entweder bei der Probenahme oder danach. Ein weiterer Faktor ist der Zeitpunkt der Probenahme in Bezug auf ein Fütterungsereignis, der sich zwischen den Probenahmen unterscheiden kann. Eine Abstimmung auf eine konstante Zeitdifferenz zwischen Fütterung und Probenahme ist jedoch nicht zu leisten bei der begrenzten Zeit, die bei mehreren zu beprobenden Becken zur Verfügung stand.

### Fazit aus den Daten zur Wasserqualität

Die Daten aus dem Routine-Monitoring und die Labordaten zeigen, dass die Kulturen unter vergleichbaren und für die Garnelen grundsätzlich verträglichen Bedingungen gehalten wurden.

Im Rahmen der hier realisierten Sauerstoff-Werte (gute Sauerstoffsättigung) scheint die Belüftungsart keinen Einfluss auf die im Monitoring untersuchten chemischen Parameter zu haben zu haben.

Die höchsten Volumina Bioflocs traten in der Variante „Sauerstoff“ auf, mit Werten bis 9 ml/l, gefolgt von der Injektorbelüftung mit ca. 7 ml/l und der Standardbelüftung mit ca. 6 ml/l im Maximum (s. [Abbildung 5-7](#), Darstellung der Tages-Messwerte aus Delta). In allen Varianten war der Verlauf sehr schwankend, bedingt durch die Notwendigkeit auf zu hohe Biofloc-Volumina zu reagieren, indem die Volumenströme durch die Wasseraufbereitung angepasst wurden (s. [Kap. 7](#)).

Der laufende Betrieb wird hauptsächlich durch Anlagenbetreiber und Mitarbeiter gesteuert. Hier kann es auch zu kurzfristigen Anpassungen der Umwälzraten kommen, die sich auf die Betriebsbedingungen auswirken und nicht zu 100% von den FuE-Partnern zu kontrollieren sind.

#### 5.1.1.2.2 *Daten der begleitenden Untersuchung des Mikrobioms (Schwerpunkt Belüftungsart)*

Um den Einfluss einer unterschiedlichen Belüftung auf die mikrobielle Gemeinschaft im Wasser und in den Biofilmen des Haltungsbeckens und auf dem Carapax von Garnelen aus den Becken zu beurteilen, wurden an zwei Zeitpunkten im Abstand von 4 Wochen jeweils Wasserproben und Biofilmproben untersucht. Das Becken M1B1 wurde über Injektoren belüftet, das Becken M3B3 wurde über technischen Sauerstoff belüftet und die Becken M1B3 und M2B3 hatten eine Standardbelüftung über Ausströmer.

Im Wasser wurden zwischen 356 und 668 unterschiedliche Bakterientaxa gefunden. Davon kamen 183 Taxa, also etwa ein Drittel bis die Hälfte, in allen Wasserproben vor, und zwischen 28 und 92 Taxa waren jeweils für eine Wasserprobe spezifisch (*Abbildung 5-11*). Die Anzahl der Bakterientaxa und die Diversität der mikrobiellen Gemeinschaften waren in den unterschiedlich belüfteten Becken nicht signifikant verschieden (*Tabelle 5-4*). Die Gemeinschaften wurden in allen Becken vor allem von Bakterien aus den Stämmen Bacteriodes, Proteobacteria und Actinobacteriodes dominiert (*Abbildung 5-12* und *Abbildung 5-13*). Am häufigsten kamen in allen Wasserproben Bakterien der Gattung Flavobacterium und Rheinheimera vor.

Bakterien der Gattung Vibrio, die auch Bakterien angehören, die für Garnelen pathogen werden können, stellten am ersten Probenstag, nach 3-4 Monaten Kultur, etwa 1-6 % der Bakteriengemeinschaft, und nach weiteren 6 Wochen war der Anteil in den Referenzbecken mit Belüftung über Ausströmer auf 12-22 Prozent angestiegen, während sie im Becken mit Sauerstoff-Belüftung nur einen Anteil von 1 % ausmachten. Die Gemeinschaft im mit flüssigen Sauerstoff belüfteten Becken schloss am ersten Probenzeitpunkt Mikroorganismen über einen größeren systematischen Bereich (PD-whole-tree) ein, als in den anderen Becken.

Die bakterielle Gemeinschaft im Biofilm der Becken wurde von 520 bis 770 Bakterientaxa gebildet, von denen 230 Bakterientaxa einen gemeinsamen Kern bildeten (*Abbildung 5-11*). In den Gemeinschaften kamen neben Bakterien aus den Stämmen Proteobacteria und Bacteriodes in einigen Becken Bakterien aus den Stämmen Nitrospirales und Crenarchaeota zu einem erheblichen Anteil vor (*Abbildung 5-12*). So gehörten im Biofilm Bakterien der Gattung Nitrospira und Candidatus Nitrosopimilus zu den am häufigsten nachgewiesenen Taxa. Diese Bakterien stellen eine wichtige Komponente der nitrifizierenden Bakteriengemeinschaft dar und oxidieren Ammonium-Stickstoff bzw. Nitrit-Stickstoff. Die Anzahl der Bakterientaxa und die Diversität der mikrobiellen Gemeinschaften in den Biofilmen von Becken mit unterschiedlicher Belüftung waren nicht signifikant unterschiedlich (*Tabelle 5-5*).

Auf dem Carapax von Garnelen aus diesen Becken siedelte eine Gemeinschaft von 458 bis 953 Bakterientaxa (*Tabelle 5-6*). Der Kern der Gemeinschaft wurde von 437 gemeinsamen Taxa gebildet und 139 bis 516 Taxa kamen nur auf Garnelen aus einzelnen Becken vor (*Abbildung 5-11*). Die Gemeinschaft wurde von Bakterien aus den Stämmen Bacteriodes, Proteobacteria und Verrucomicrobiota, aber in vielen Proben auch von Bakterien aus anderen Stämmen dominiert (*Abbildung 5-12*). *Abbildung 5-13* zeigt den Anteil Arten aus den Stämmen Proteobacteria, Bacteriodes und Actinobacteriotes an der Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus den unterschiedlichen Untersuchungsbecken. Die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft variierte stark zwischen den Individuen, auch aus einem Becken. Insbesondere der Anteil der möglicherweise pathogenen Bakterien aus den Gattungen *Vibrio* und *Photobacterium* variierte zwischen Garnelen aus einem Becken sowie aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung sehr stark und schwankte zwischen ca. 1 % und 13 %, unabhängig von der Belüftungsart des Beckens. Eine Analyse der Beta-Diversität der mikrobiellen Gemeinschaften auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung mit Hilfe von nicht-parametrischen Verfahren zeigte, dass die Gemeinschaft in den Becken mit unterschiedlicher Belüftung und an den beiden Untersuchungszeiträumen eine statistisch signifikant unterschiedliche Artenzusammensetzung aufwies (*Tabelle 5-7*).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Table 5-4: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung über einen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen

Wasser aus Becken	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Index	Chao1	ACE	Goods Coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
<b>Injektor, t1</b>	356	3,175	0,652	634.722	641.202	0,984	80.886
<b>Standard 1, t1</b>	600	4,739	0,797	883.454	889.332	0,978	150.625
<b>Standard 2, t1</b>	543	4,337	0,781	838.554	816.800	0,980	134.295
<b>Sauerstoff, t1</b>	579	4,786	0,832	883.725	876.557	0,978	148.591
<b>Injektor, t2</b>	668	5,696	0,915	929.458	975.447	0,977	143.762
<b>Standard 1, t2</b>	570	4,978	0,871	918.045	911.880	0,977	104.542
<b>Standard 2, t2</b>	661	5,587	0,924	997.346	1.000.373	0,976	131.631
<b>Sauerstoff, t2</b>	507	4,030	0,768	871.479	843.940	0,979	141.321

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes in Becken mit Standard-Belüftung, Belüftung über Injektoren und über technischen Sauerstoff an zwei Probenzeitpunkten t1 und t2 vier Wochen später.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Tabelle 5-5: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm aus Garnelenbecken mit unterschiedlicher Belüftung über einen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen

Biofilm aus Becken	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Indes	Chao1	ACE	Goods_coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
<b>Injektor, t1</b>	643	5,643	0,918	918.104	909.200	0,978	138.824
<b>Standard 1, t1</b>	774	7,123	0,981	1.019.870	1.056.111	0,976	189.136
<b>Standard 2, t1</b>	686	5,404	0,879	1.029.128	1.032.460	0,975	129.566
<b>Sauerstoff, t1</b>	726	5,563	0,885	1.014.214	1.030.280	0,975	143.596
<b>Injektor, t2</b>	519	4,749	0,809	712.269	769.374	0,982	93.288
<b>Standard 1, t2</b>	713	5,512	0,865	1.026.033	1.067.354	0,975	144.350
<b>Standard 2, t2</b>	674	5,343	0,893	923.008	935.355	0,977	127.479
<b>Sauerstoff, t2</b>	693	5,905	0,928	938.008	959.646	0,977	153.886

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes in Becken mit Standard-Belüftung, Belüftung über Injektoren und über Sauerstoff an zwei Probenzeitpunkten t1 und t2 vier Wochen später.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Tabelle 5-6: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung über einen Beobachtungszeitraum von 4 Wochen

Biofilm Carapax Garnele	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Indes	Chao1	ACE	Goods_coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
Injektor, t1	565	5,404	0,911	768	784	0,981	231.382
Standard 1, t1	485	3,937	0,685	715.671	737.450	0,982	234.810
Standard 2, t1	458	4,347	0,802	612.011	632.744	0,985	291.560
Sauerstoff, t1	552	5,704	0,933	759.479	773.358	0,982	421.507
Injektor, t2	665	6,851	0,979	971.958	951.093	0,978	522.785
Standard 1, t2	489	4,325	0,771	753.684	770.771	0,981	412.238
Standard 2, t2	631	6,429	0,962	824.099	818.617	0,982	429.503
Sauerstoff, t2	605	7,080	0,973	788.375	760.349	0,985	390.491

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes in Becken mit Standard-Belüftung, Belüftung über Injektoren und über Sauerstoff an zwei Probenzeitpunkten t1 und t2 vier Wochen später.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

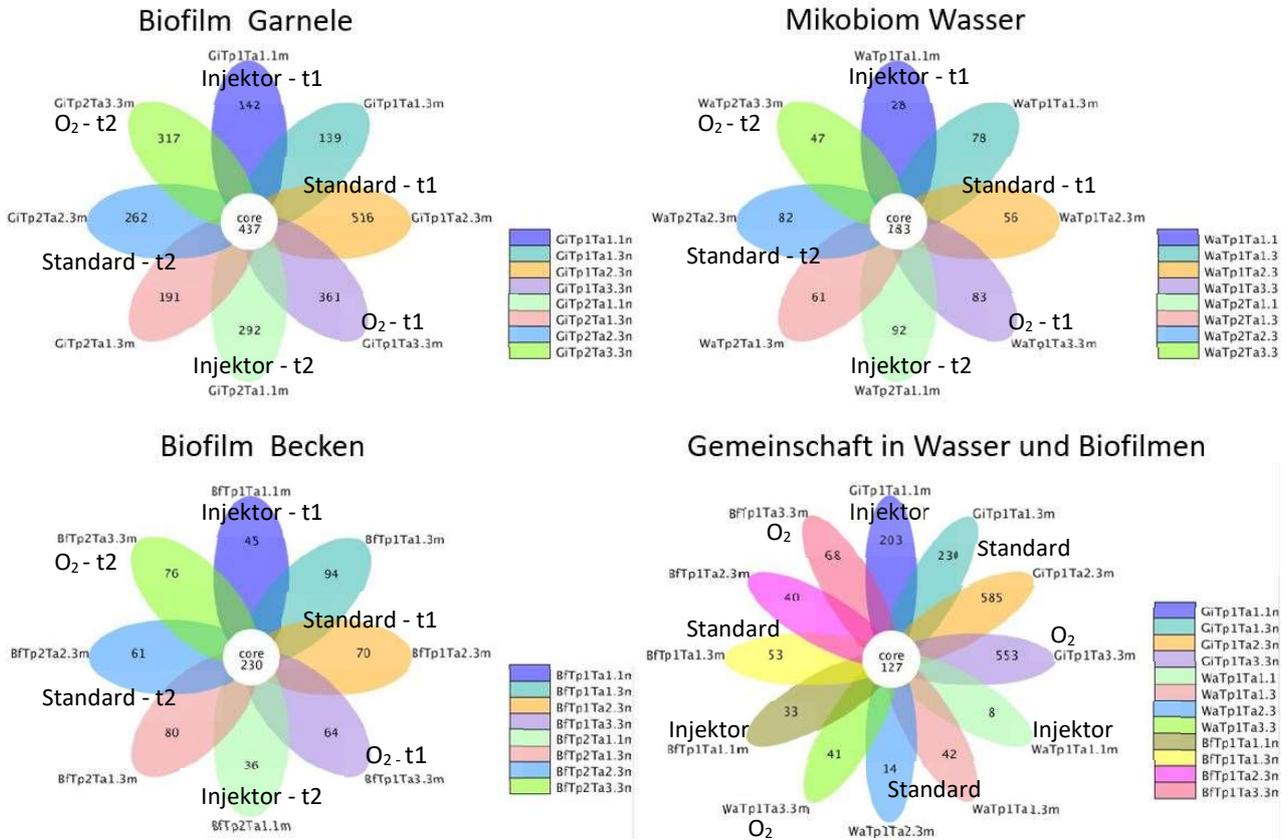


Abbildung 5-11: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser und im Biofilm im Becken und auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung. Dargestellt ist die Anzahl gemeinsamer Arten (core) und spezifischer Arten in Wasser (Wa), im Biofilm (Bf) und dem Carapax von Garnelen (Gi) an zwei Zeitpunkten (Tp1, Tp2) in Becken mit Standard-Belüftung (Ta1.3, Ta2.3), über Injektoren (T 1.1), oder über Sauerstoff (T3.3)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

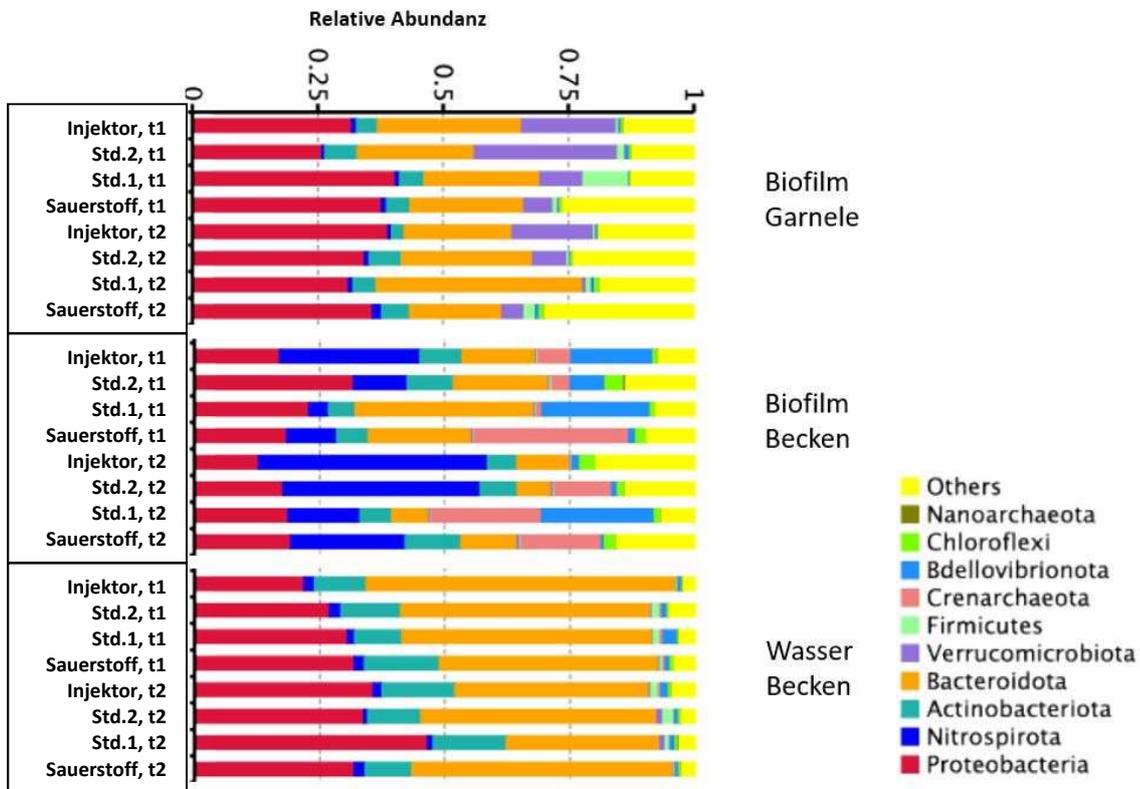


Abbildung 5-12: Relative Abundanz von Bakterien aus unterschiedlichen Bakterien-Phyla im Mikrobiom im Wasser und dem Biofilm von Beckenwänden sowie vom Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung an zwei Zeitpunkten(t1 und t2)

Dargestellt ist die Zusammensetzung der bakteriellen Gemeinschaft in Probe t1 und Probe t2, nach 4 Wochen Betrieb.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

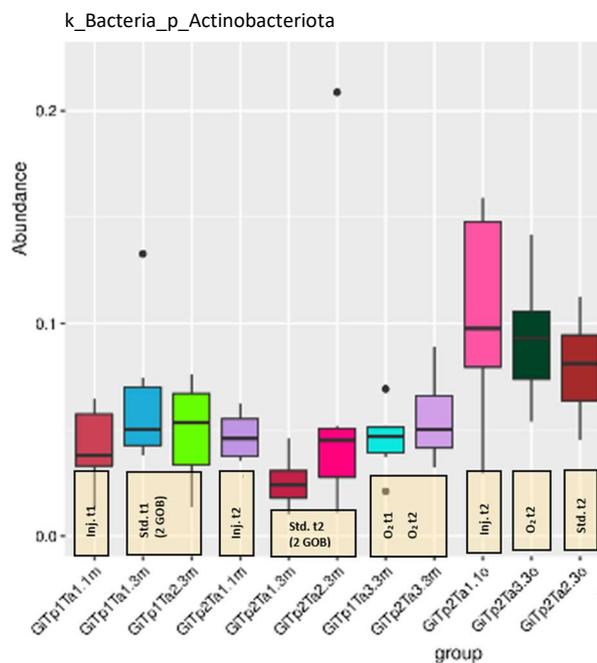
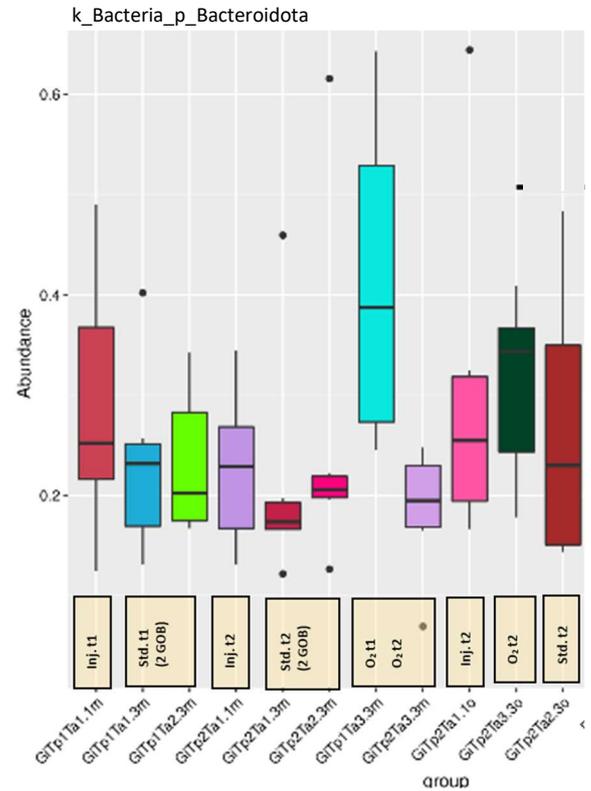
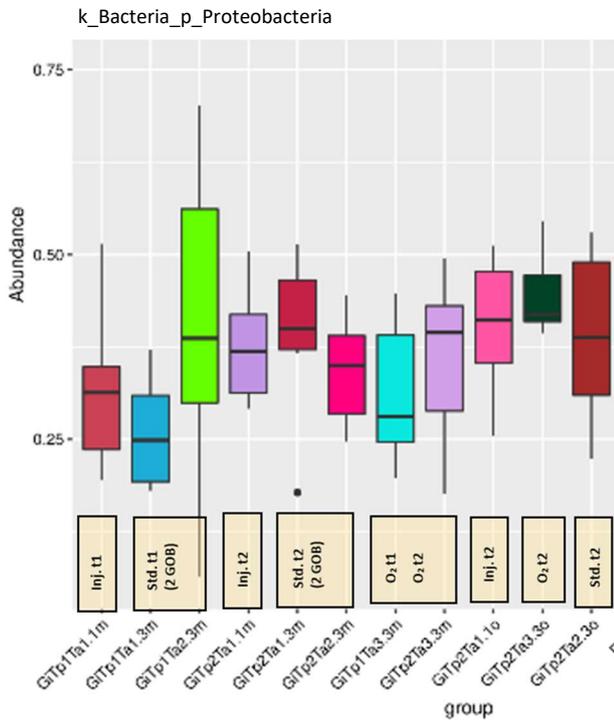


Abbildung 5-13: Relative Abundanz von Bakterien aus dem Stämmen Proteobacteria (oben), Bacteroidota (Mitte) und Actinobacteriota (unten) in der mikrobiellen Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus den Becken mit unterschiedlicher Belüftung (Datenpunkte sind ‚Ausreißer‘)

Tabelle 5-7: Vergleich der Beta-Diversität der mikrobiellen Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung mittels verschiedener nicht-parametrischer Testmethoden (Probennahme an Zeitpunkt t1 bzw. t2)

Vergleich Gruppen		Testmethode		
		ANOSIM	MRPP	Adonis
<b>Injektor t1</b>	Standard 1, t1	n.s.	n.s.	x
<b>Injektor, t1</b>	Standard 2, t1	x	x	x
<b>Injektor t1</b>	Sauerstoff t1	x	x	x
<b>Standard 1, t1</b>	Standard 2, t1	n.s.	x	x
<b>Standard 1, t1</b>	Sauerstoff t1	x	x	x
<b>Standard 2, t1</b>	Sauerstoff t1	x	n.s.	x
<b>Injektor t1</b>	Injektor t2	x	x	x
<b>Standard 1, t1</b>	Standard 1, t2	x	x	x
<b>Standard 2, t1</b>	Standard 2, t2	x	x	x
<b>Sauerstoff t1</b>	Sauerstoff t2	x	x	n.s.
<b>Injektor, t2</b>	Standard 1, t2	x	n.s.	x
<b>Injektor, t2</b>	Standard 2, t2	x	n.s.	x
<b>Injektor t2</b>	Sauerstoff t2	x	n.s.	x
<b>Standard 1, t2</b>	Standard 2, t2	x	n.s.	x
<b>Standard 1, t2</b>	Sauerstoff t2	x	x	x
<b>Standard 2, t2</b>	Sauerstoff t2	x	x	x

Verglichen wurde das Mikrobiom auf dem Carapax von n=6 Garnelen aus Becken mit Standard-Belüftung, Belüftung über Injektoren und über Sauerstoff an zwei Probenzeitpunkten TP1 und TP2 mittels „Analysis of Similarity, ANOSIM“, Multi response permutation procedure (MRPP)-Analyse und ADONIS Analyse. „X“ zeigt an, dass die Varianz zwischen Gruppen größer ist als innerhalb der Gruppen und sich somit die Gemeinschaften signifikant unterscheiden.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### 5.1.1.2.3 Zootechnische Daten und erzielte Produktionsmengen (Schwerpunkt Belüftungsart)

Eine umfassendere Übersicht mit allen zootechnischen Daten der in diesem Schwerpunkt beobachteten insgesamt sechs Kulturen gibt eine Tabelle im Anhang (s. Kap. 12).

Das Wachstum der zunächst drei zu vergleichenden Populationen wurde an 9 bis 15 Terminen erfasst, vorwiegend in Gruppenwiegungen, aber auch in Einzelwiegungen. Der Verlauf des Wachstums, auch in Bezug auf das Sollgewicht (aus der Futtertabelle) ist in der folgenden Abbildung aus Delta dargestellt.

Die Garnelen aus der Variante „Sauerstoff“ (Batch 8) wurden wegen zuletzt ungenügender Entwicklung und bei guter Nachfrage aus Gründen der Wirtschaftlichkeit frühzeitig abgefischt (s. Kap. 5.1.1.2, Verlauf der Arbeiten). Da dies relativ kurzfristig geschah, konnten keine Vermessungen und Einzeltierwiegungen und auch keine sensorische Profiluntersuchung mehr durchgeführt werden.

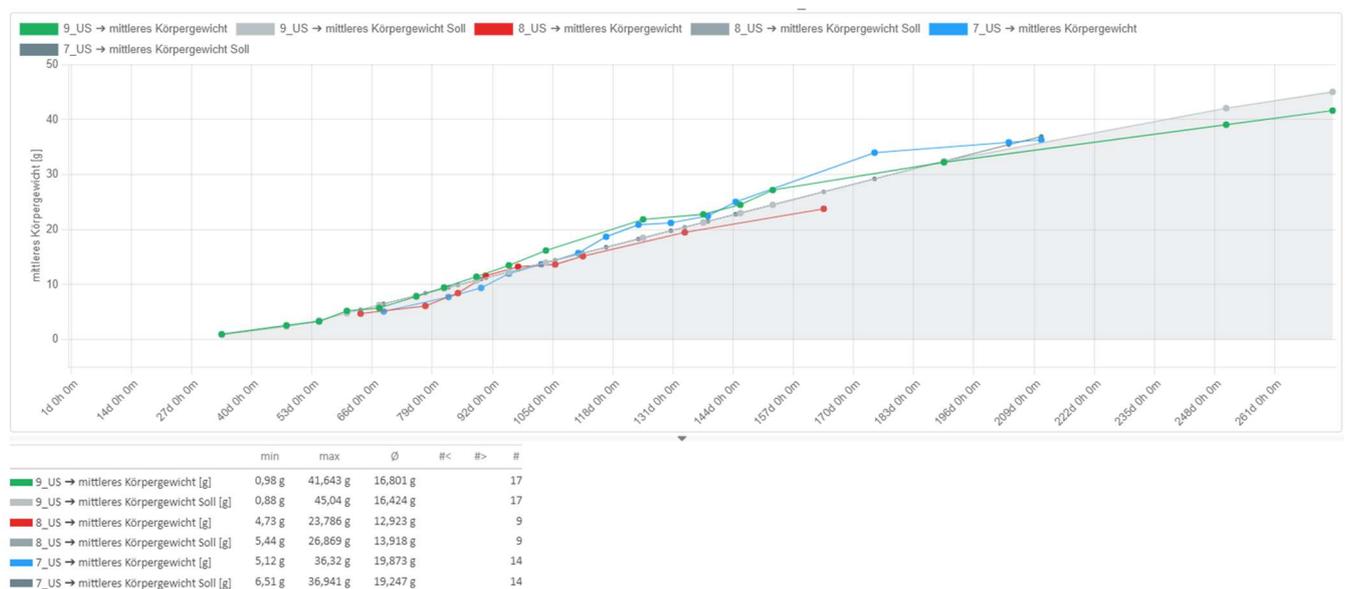


Abbildung 5-14: Screenshot aus Delta mit Darstellung der mittleren Körpergewichte im Verlauf der drei Vergleichskulturen aus dem Schwerpunkt „Belüftungsart“ (#7\_US: (Luft-)Injektor, #8\_US: technischer Sauerstoff, #9\_US: Standardbelüftung über Ausströmer) sowie mit den Sollwerten nach Futtertabelle (2020), hier als Füllkurve für alle 3 Kulturen geltend

Die Belüftungsvarianten „Injektor“ und „Standard“ als Referenz zeigten einen Verlauf des mittleren Körpergewichts, der den Zielwerten und planungsmäßigen Annahmen aus der hinterlegten Futtertabelle entsprach und deren Prognose sogar zwischenzeitlich übertraf. Dagegen blieb die Variante „Sauerstoff“ größtenteils unter der Zielgröße (graue Fülllinie).

Die Datenbank Delta leistet damit eine einfach zu generierende Auswertung der eingegebenen Daten, die dem Betreiber eine erste Orientierung bietet.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Deutlich wird dieser Trend auch in der graphischen Darstellung aus einer excel-Auswertung der Daten, unter Einbeziehung weiterer Referenz-Kulturen der Anlage (Kulturen unter Standardbelüftung):

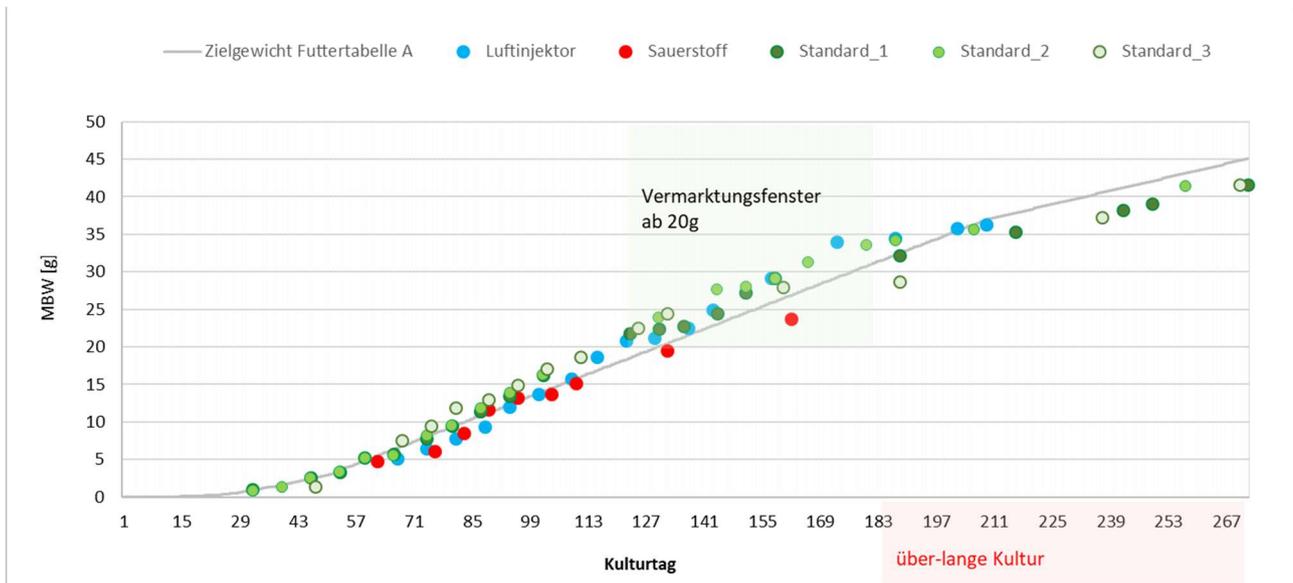


Abbildung 5-15: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] im Kulturzyklus der Belüftungsvarianten: Injektor, Sauerstoff und Standard (3 Kulturen) mit Zielgewicht nach Futtertabelle (2019-2021, s. Linie) (n= 20 in PL-Phase, bis n=194; X-Achse: Zeitabstände 14 Tage)

Im Vergleich zu der nach eingesetzter Futtertabelle erwarteten Gewichtsentwicklung liegen die mittleren Körpergewichte der Garnelen unter den Belüftungsvarianten Injektor (blau) und Sauerstoff (rot) bis ca. Kulturtag 100 eher unter den Zielwerten, während die Garnelen unter Standardbelüftung Werte auf oder einige Gramm darüber erreichen.

Nach Tag 100 erholt sich das Wachstum der Garnelen aus der Injektor-Variante und erzielt zeitweise Körpergewichte über der Ziellinie der Futtertabelle. Leider steht nach Kulturtag 100 nur eine weitere Messung der Garnelen aus der frühzeitig abgefischten Sauerstoff-Variante zur Verfügung, mit einem mittleren Körpergewicht knapp unterhalb des Zielwertes. Die Körpergewichte an identischen oder nahe gelegenen Kulturtagen können zwischen den Varianten um mehrere Gramm abweichen, variieren aber auch stark in den drei verschiedenen Kulturen unter Standardbelüftung, sichtbar an der Streuung der Datenpunkte in grün (Standardbelüftung in 3 Kulturdurchgängen).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Als Referenz haben wir zwei Datensätze aus einer anderen BFT-Anlage, von Garnelenkulturen, die parallel zu der Batch 7 bzw. 8 in August 2019 besetzt wurden. Diese Vergleichskulturen waren im Wachstumsverlauf bis Tag 132 deutlich schwächer:

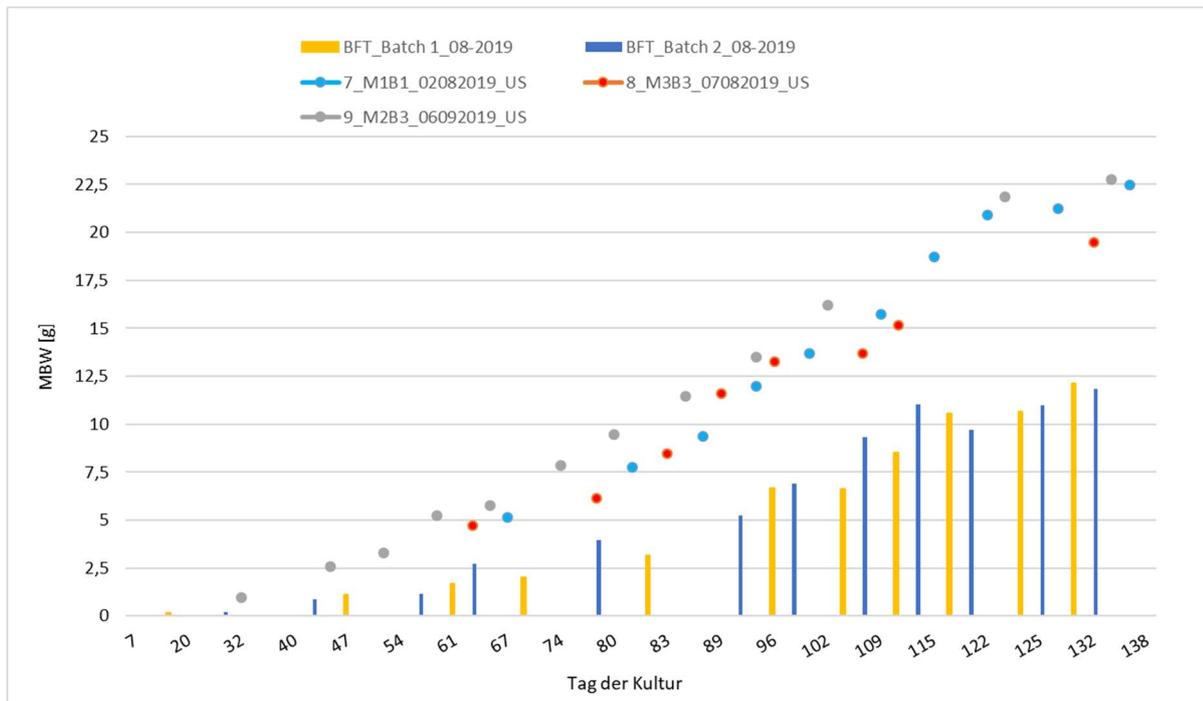


Abbildung 5-16: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] im Kulturzyklus von Batch 7, 8 und 9 aus 08-2019 und 09-2019 und von zwei Referenzkulturen aus einer anderen BFT-Anlage (BFT\_Batch 1 und BFT\_Batch 2) aus demselben Zuchtbetrieb (USA)

Insgesamt zeigen die Kulturen auch innerhalb einer Belüftungsart Abweichungen im Wachstumsverlauf und zeigen nach Überschreiten der ursprünglich geplanten Soll-Kulturdauer von 183 Tagen ein mehr oder weniger deutliches Abschwächen der Gewichtszunahme. Die Zunahme des Körpergewichts schwächt sich für die Variante Sauerstoff ab Tag 100 deutlich ab.

Der schwankende Wachstumsverlauf kann auch sehr gut mit der fortlaufenden Wachstumsrate dargestellt werden, die sich auf Kulturzeiträume zwischen zwei Monitoring-Terminen bezieht und nicht auf die gesamte Kulturdauer.

Die **fortlaufende Wachstumsrate** in [g/Woche] bezeichnet demnach die Zunahme in Gramm Körpergewicht pro Woche zwischen zwei aufeinanderfolgenden Mess-Zeitpunkten im Kulturverlauf:

$$\text{Wachstum} \left[ \frac{g}{\text{Woche}} \right] = \frac{\Delta g \text{ Zunahme Körpergewicht}}{(\Delta \text{Anzahl Tage im Zeitraum} / 7)}$$

Die Zeiträume zwischen den Datenerhebungen variieren, umfassen aber mindestens eine Woche. Im Vergleich zur gemittelten Wachstumsrate über den gesamten Kulturzyklus sind sehr viel höhere und auch niedrige Werte z.T. aufeinanderfolgend zu sehen. Ein Teil der Schwankungen ist sicher dem Problem geschuldet eine repräsentative Unterprobe an Garnelen zu erfassen, da Körpergewichte innerhalb einer Population stark abweichen können.

Der sog. **Korpulenzfaktor** oder Body-Mass-Index wird aus dem Verhältnis von Körpergewicht (KG) zu Körperlänge (KL) nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{100 \times KG}{KL^3}$$

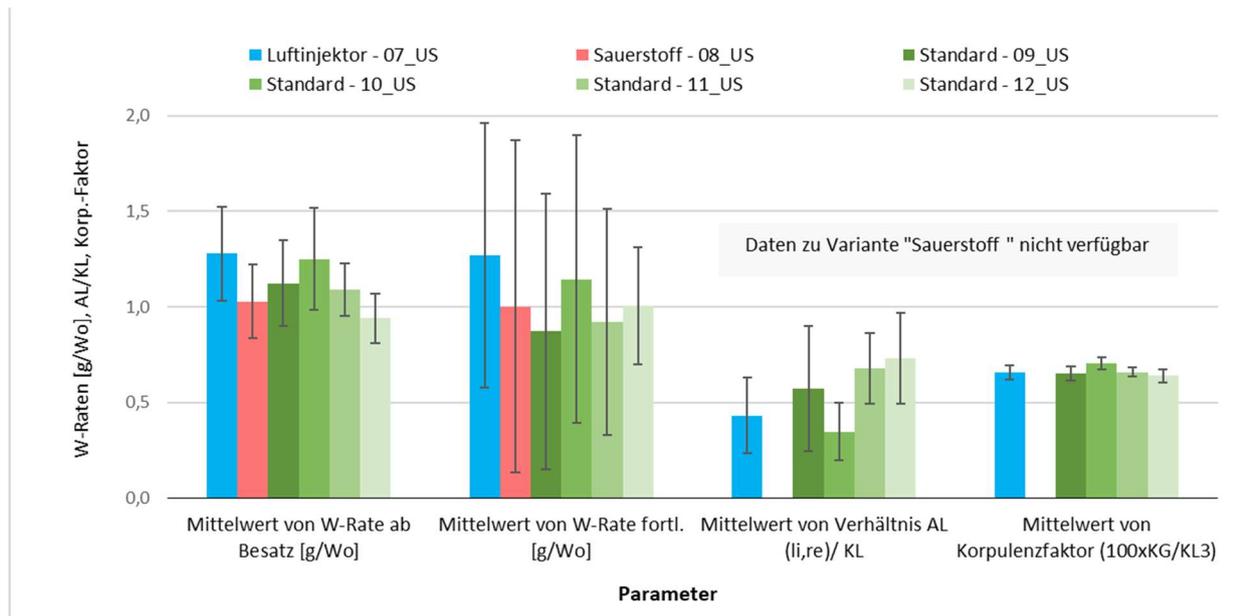


Abbildung 5-17: Mittlere Wachstumsraten (W-Rate) ab Besatz sowie fortlaufend berechnet, mittleres Verhältnis von Antennenlänge (AL) - zu Körperlänge (KL) und mittlerer Korpulenzfaktor für Belüftung mittels Injektor (Batch 07\_US: **blau**), Sauerstoff (Batch 08\_US: **rot**) bzw. Standardbelüftung per Ausströmer (Batch 09\_US bis 12\_US: **grün**)

In dieser Auswertung (Abbildung 5-17) wurden neben der Referenz-Batch unter Standardbelüftung, die weitgehend parallel zu den Kulturen der anderen Belüftungsvarianten kultiviert worden war, drei weitere Kulturen unter Standardbelüftung einbezogen, mit derselben Herkunft aus den USA wie die Referenz-Batch (die parallele Batch 10, sowie die 2-3 Monate später besetzten Batches Nr. 11 und 12). Die mittleren Wachstumsraten ab Besatz liegen im Kulturverlauf mit Standardabweichungen um  $\pm 0,2$  g/Woche zwischen ca. 1g/Woche bis 1,28 g/Woche, die in der Variante Injektor erreicht wurde (Batch # 7), aber auch nahezu von einer der Kulturen unter Standardbelüftung (Batch # 10 mit 1,25 g/Woche). Die vier untersuchten Batches unter Standardbelüftung variieren untereinander in allen Parametern in einem Maße wie im Vergleich mit den anderen Belüftungsarten Injektor bzw. Sauerstoff, sodass keine Rückschlüsse auf einen Einfluss der Belüftungsart zu ziehen sind. Besonders hohe Standardabweichungen innerhalb einer Kultur zeigen die fortlaufende Wachstumsrate sowie das Verhältnis der (gemittelten) Antennenlängen zur Körperlänge. An der hohen Variabilität im Verhältnis von Antennen- zu Körperlängen auch innerhalb der Variante Standardbelüftung wird deutlich, dass die Belüftungsart die Unterschiede in den untersuchten Parametern nicht erklären kann.

Der sog. Korpulenzfaktor unterscheidet sich marginal zwischen Garnelen aus der Belüftungsart Injektor und den vier untersuchten Kulturen unter Standardbelüftung mit Werten zwischen 0,64 und 7.

Das mittlere Körpergewicht sowie fortlaufende Wachstumsraten im Kulturverlauf und ab Besatzdatum sind für die Kulturen mit unterschiedlicher Belüftungsart in den folgenden Abbildungen dargestellt.

Die im Kulturverlauf zwischen zwei Zeitpunkten erhobenen fortlaufenden Wachstumsraten erreichen Maximalwerte von 2,4 bis 3 g/Woche und nehmen zum Kulturrende hin ab. Sehr deutlich ist die Abnahme bei den über-langen Kulturen zu sehen, mit Werten deutlich  $<1$  g/Woche und unterhalb der Wachstumsrate ab Besatztermin.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

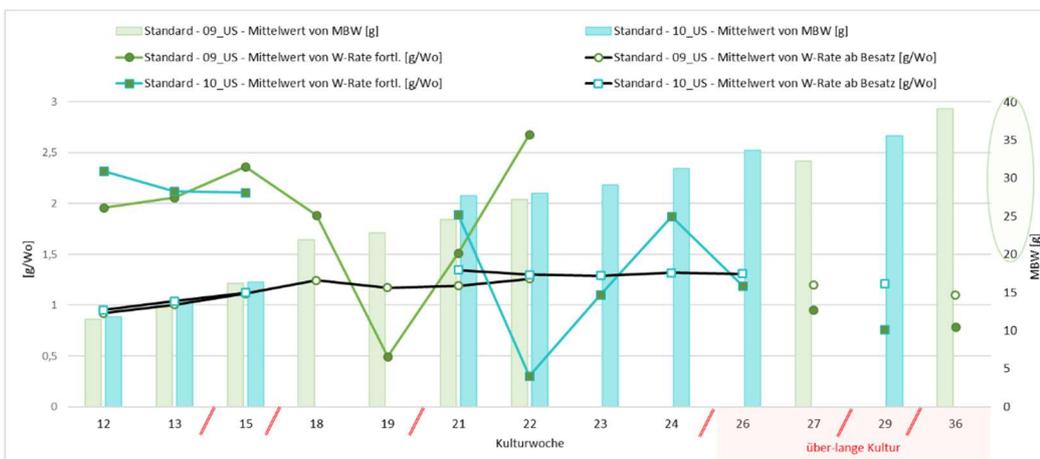
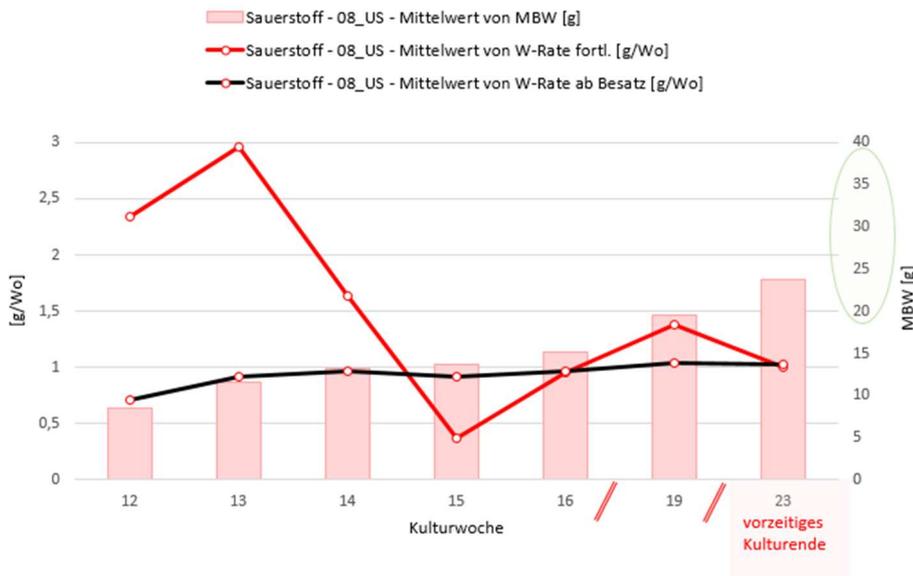
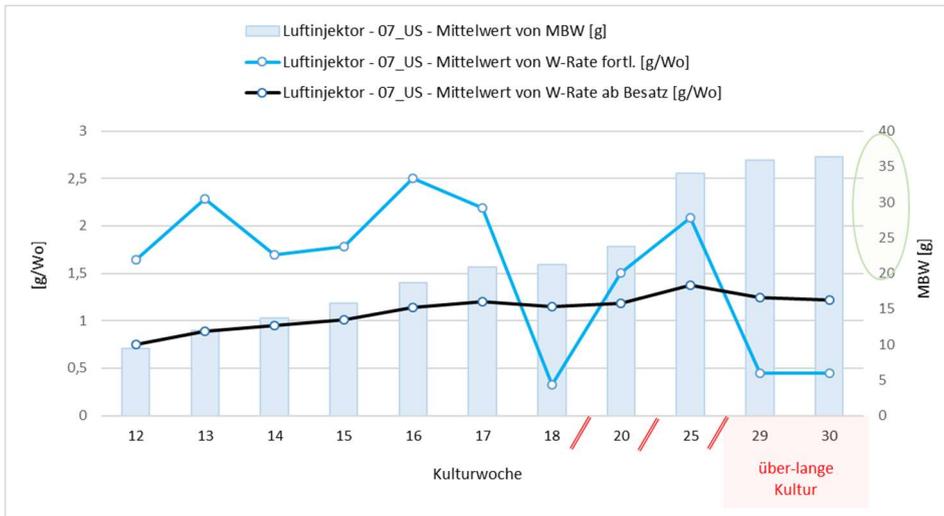


Abbildung 5-18: Belüftungsvarianten: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] und fortlaufende Wachstumsraten im Kulturzyklus von Batch #7: Injektor (oben), #8: Sauerstoff (Mitte) und der parallel besetzten Kulturen # 9 und # 10 unter Standardbelüftung (X-Achsen: variierende Zeitabstände, sekundäre Y-Achsen: MBW ab 20 g grün umrandet: vermarktbare Fanggewicht)

### Daten aus Einzelvermessungen der Garnelen gegen Kulturende

Für Garnelen aus der Variante „Sauerstoff“ (Batch 8), die frühzeitig abgefischt wurden, liegen keine Daten vor aus Vermessungen und Einzeltierwiegungen und auch keine sensorische Profilvermessung.

In 2020 war vollkommen unsicher, ob und wann ein neuer Besatz wieder verfügbar sein würde. Vor diesem Hintergrund wurde entschieden die bisher beobachteten Bestandspopulationen weiter zu untersuchen und deren Entwicklung auch über die verlängerte Kulturdauer zu verfolgen. Garnelen aus den Kulturen der Belüftungsvarianten „Injektor“ und „Standard“ wurden an mehreren Kulturtagen zum Kulturende hin einzeln nach Körper- und Antennenlängen vermessen.

Die Garnelen der Kultur unter Injektor-Belüftung wurden bereits in Woche 20 und dann erneut in Woche 25 und 29 vermessen, dann jedoch früher abgefischt als die Referenz unter Standardbelüftung - daher fehlen hierzu Vergleichsdaten an den späteren Terminen.

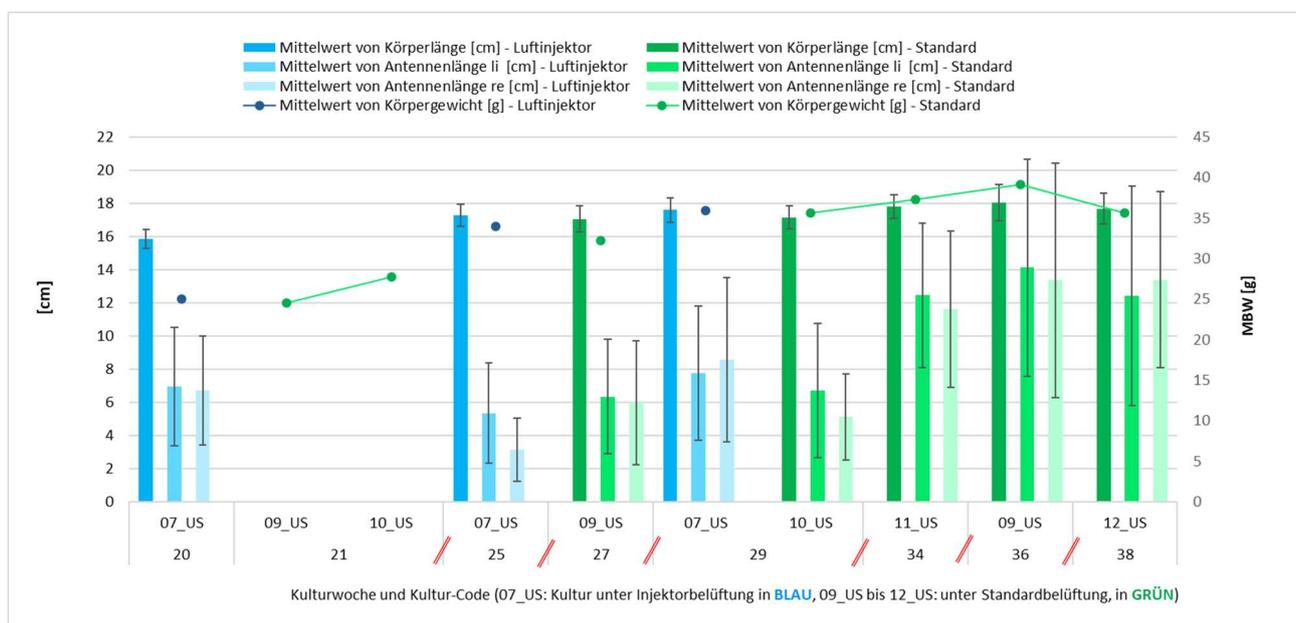


Abbildung 5-19: Mittlere Antennen- und Körperlängen [cm] sowie mittleres Körpergewicht (MBW) [g] ab Kulturwoche 20 an den Belüftungsvarianten: Injektor-Belüftung (blau), sowie den Kulturen unter Standardbelüftung (grün): Batch #9, 10, 11 und 12 (n= 28 bis 51; x-Achse: variierende Zeitabstände)

In der obigen Abbildung sind zur Orientierung auch die mittleren Körpergewichte auf der 2. Y-Achse abgebildet. Bei Batch 07\_US in der Injektor-Variante der Belüftung ist das vermarktare Gewicht von ca. 25g bereits bei der ersten Einzelvermessung in Woche 20 erreicht worden. Bei den Referenz-Kulturen (9\_US und 10\_US) unter Standardbelüftung wurden mittlere Körpergewichte von 25g bzw. ca. 28g eine Woche später erreicht. In Kulturwoche 29 zeigen die parallel untersuchten Varianten Injektor- und Standardbelüftung ebenfalls keine deutlichen Unterschiede in den dargestellten Parametern.

Abweichungen in den mittleren Körperlängen sind durchgehend bei allen Kulturen und Messungen deutlich niedriger als die Abweichungen in den Antennenlängen. Hier ist nur anzumerken, dass tendenziell vor allem bei der Variante Standardbelüftung eine Zunahme der Antennenlängen zum Ende der sehr langen Kulturdauer hin zu erkennen ist. Eine Erklärung kann die hier länger andauernde Ausdünnung der Population durch Abfischen sein, die den Garnelen bei weniger potentiell ‚riskanten‘ Begegnungen gleichzeitig mehr Zeit zum Wachstum der Antennen geben konnte.



Abbildung 5-20: Variante Injektorbelüftung (li) und Standardbelüftung (re): Garnelen mit langen Antennen (Batch # 7, Kulturwoche 29 bzw. Batch # 9, Woche 36)

### Erntemengen und Überlebensraten

Die Kulturen wurden in 2020, wie erwähnt, sehr viel länger kultiviert als die geplante Dauer von maximal 6 Monaten bzw. 26 Wochen oder 182 Tagen, um die fehlende PL-Verfügbarkeit im 1. Pandemie-Jahr auszugleichen. Die Variante mit Injektorbelüftung wurde nach 209 Tagen abgefischt. Für eine Wiederholung an einer neuen Kultur stand im Anschluss leider kein neuer Besatz mehr zur Verfügung und die zuletzt bezogene Batch war bereits in einem fortgeschrittenen Kulturstadium (Tag 84).

In der Variante ‚Sauerstoff‘ wurde der niedrigste Ertrag und die schlechteste Überlebensrate bestimmt. Das notwendige frühzeitige Ende der Kultur bedeutet eine verkürzte Beobachtungsphase. In 2020 musste sich das Monitoring nur noch auf die Kulturen unter Standardbelüftung beschränken. Diese 4 Kulturen wurden extrem lange in Kultur gehalten, bis zu 278 Tage, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

Tabelle 5-8: Belüftungsvarianten: Übersicht zootechnischer Daten, eingesetzter Futter- und Fangmengen, sowie FCR-Werte

Messgröße	Kultur-Code, Variante					
	07_US	08_US	09_US	10_US	11_US	12_US
	Luftinjektor	Sauerstoff	Standard	Standard	Standard	Standard
Maximum von Tag in Kultur	209	162	272	257	270	278
Mittelwert von Überlebensrate	11,9%	9,0%	9,9%	12,7%	9,4%	10,3%
Mittelwert von W-Rate ab Besatz [g/Wo]	1,3	1,0	1,1	1,3	1,1	0,9
Summe von Futtermenge gesamt [kg]	1805	1283	2213	1178	1813	1748
Summe von Erntemenge [kg]	346	185	317	215	288	287
Mittelwert von FCR	5,2	6,9	7,0	5,5	6,3	6,1

Die Ermittlung der Überlebensraten ist zwar bei langer Erntedauer nicht sehr exakt und mit Varianzen verbunden, dennoch stimmt die ermittelte Größenordnung.

**Fazit:** Das Wachstum erreichte meist die nicht sehr anspruchsvollen Wachstumsraten der damals eingesetzten Futtertabelle (um 1g/Woche). Die Variante ‚Injektor‘ und eine der Referenzkulturen (Batch #10) erzielten über die gesamte, hier sehr lange Kulturperiode eine Rate von 1,3g/Woche. In allen Kulturen war die Überlebensrate extrem niedrig, mit Werten zwischen 9 und ca. 12%. Entsprechend konnten die geplanten Erträge nicht erzielt werden und die Futterumwandlungsraten fielen bei allen Kulturen schwach aus.

#### 5.1.1.2.4 Produktqualität von Garnelen aus Belüftungsvarianten: Sensorische Prüfung

Zur Erläuterung der Methodik s. Kap. 5.1.2.

Sensorische Prüfungen wurden im Unterauftrag durch das Labor Eurofins durchgeführt. Es konnten nur Garnelen aus zwei von drei Varianten der Belüftungsarten untersucht werden, da der Besatz aus der Variante „Sauerstoff-System“ wie einleitend beschrieben, kurzfristig abgefischt werden musste und so spontan keine Untersuchung beauftragt werden konnte. Der Vergleich der Sensorikprofile bezieht sich daher auf Proben der Belüftungsvariante „Injektoren“ und Referenzproben der Belüftungsart „Standard“, mittels Ausströmer-System.

Die Injektoren waren nur in einem Becken installiert und es kam nach dem Abfischen der Population mangels PL-Verfügbarkeit, bedingt durch die Pandemie, über ca. 6 Monate nicht zu einem Neubesatz. Daher stehen nur die Daten eines Kulturdurchganges unter Injektorbelüftung zur Verfügung. Garnelen aus der Referenz standen länger zur Verfügung, da in 2020 die Kulturdauer der restlichen Bestandspopulationen gestreckt wurde. Es wurde eine sensorische Prüfung im Mai an einer Batch wiederholt und im August 2020 an einer weiteren Batch aus einem Becken mit Standardbelüftung durchgeführt. Diese wiederholten Untersuchungen wurden einerseits aus Unsicherheit bezüglich der weiteren Entwicklung beauftragt, und zudem als Chance gesehen, da hiermit die überlange Kulturdauer als ein Einflussfaktor miterfasst werden konnte.

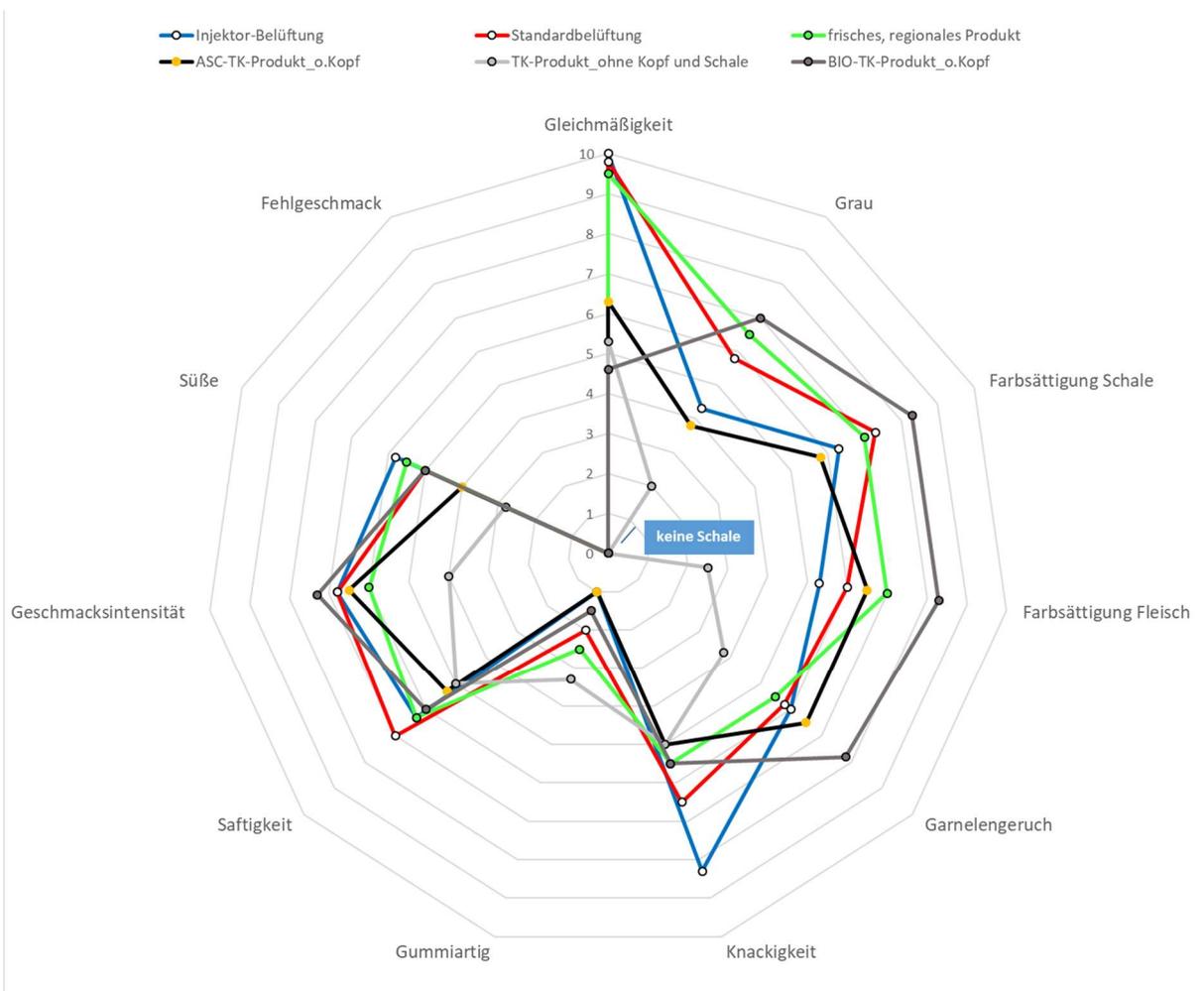


Abbildung 5-21: sensorische Profile von 2 parallel kultivierten Chargen Garnelen aus der Anlage Damm (Injektorbelüftung: blau, und Standardbelüftung: rot) im Vergleich zu 4 Referenz-Produkten: ein frisches Produkt aus deutscher Inlandproduktion und drei TK-Importprodukte unterschiedlicher Zertifizierungsstufen (ohne Label, mit ASC-Label und mit Bio-Label, jeweils nur Garnelenschwänze; Proben aus 02/2020)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

In den Ergebnissen der ersten Untersuchung ([Abbildung 5-21](#)) fallen große Abweichungen zwischen den Garnelen-Produkten auf, auch zwischen den beiden Produkten aus der Anlage Damm Aquakultur. Am schlechtesten schnitt eine Supermarkt-TK-Ware ohne Bio-Zertifikat ab, die zudem ohne Schale angeboten wurde. Dieses Produkt wurde nicht weiter eingesetzt. In der ersten Profil-Bestimmung sollten die Prüfer eine möglichst vielseitige Produktqualität zur Bewertung erhalten.

Keines der Produkte hatte die als Mangel zu bewertende Eigenschaft „Fehlgeschmack“. Im Parameter „Gleichmäßigkeit“ lag die Bewertung der Produkte des Betriebs Damm Aquakultur (blau und rot) und der Referenz aus regionaler Produktion (grün) nahe beieinander mit hoher = guter Punktzahl. Weit darunter liegt das ASC-zertifizierte TK-Produkt, gefolgt vom nicht zertifizierten (ohne Schale und Kopfteil) und erst dann vom Bio-zertifizierten TK-Produkt (ohne Kopfteil). In den anderen Parametern ist eine Streuung der Punktzahlen zu sehen. Das Bio-TK-Produkt schnitt bei einigen Parametern am besten ab (Farbsättigung Schale und Fleisch- sowie Geschmacksintensität). Das frische, regionale Referenzprodukt erreichte bei der Farbsättigung des Fleisches die zweitbeste Bewertung, vor den Produkten aus dem Betrieb Damm Aquakultur.

Die beiden Garnelenproben aus dem Betrieb Damm Aquakultur erzielten den 2. Platz bei der „Geschmacksintensität“ und die Variante ‚Injektorbelüftung‘ erhielt die höchste Punktzahl bei „Knackigkeit“ und „Süße“ und war am wenigsten „gummiartig“ (ebenso wie das ASC-TK-Produkt). Die Garnelen aus der Variante ‚Standardbelüftung‘ erhielten bei „Saftigkeit“ die höchste Bewertung im Vergleich zu den anderen Produkten.

#### Faktor Kulturdauer und das sensorische Profil:

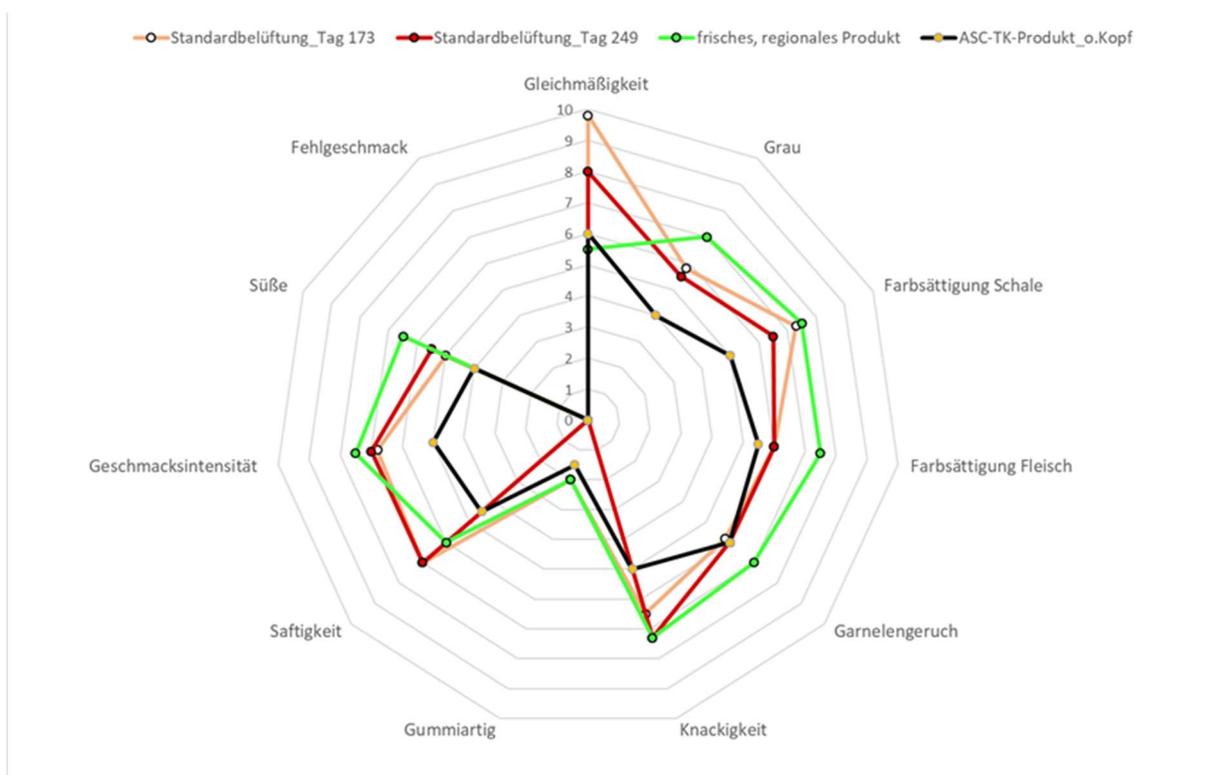


Abbildung 5-22: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur (Standardbelüftung, 1 Charge an 2 Kulturtagen: Tag 173, aus voriger Untersuchung, und Tag 249) im Vergleich zur Referenz aus deutscher Indoorproduktion und zur Referenz einer ASC-zertifizierten Import-TK-Ware

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Auch der Kulturtag kann ein Einflussfaktor sein, der aber nicht eindeutig zu beurteilen ist: so werden Farbsättigung (Schale) und der Parameter ‚Gleichmäßigkeit‘ an einer Charge (Standardbelüftung) nach 173 Kulturtagen höher bewertet als nach 249 Kulturtagen, aber die älteren Garnelen wurden bei ‚Knackigkeit‘ und ‚Süße‘ etwas besser beurteilt und waren deutlich weniger ‚gummiartig‘, eine unerwünschte Eigenschaft (Abbildung 5-22).

An einer weiteren Charge wurde das Sensorikprofil nach 245 Tagen in Kultur ebenfalls bei der Farbsättigung der Schale niedriger bewertet, wie das folgende Netzdiagramm zeigt (Abbildung 5-23, zum Vergleich das Profil zu Kulturtag 249 aus voriger Darstellung) - aber die Gleichmäßigkeit erzielte wie die nur bis Tag 173 kultivierten Garnelen eine gute Bewertung (9,5 zu 9,8) und bei allen drei Untersuchungen lagen Werte von ‚Farbinsensitivität Fleisch‘, ‚Saftigkeit‘ und ‚Intensität des Geschmacks‘ sehr nahe beieinander. Alle hier untersuchten frischen, regionalen Garnelen wurden in allen Parametern außer der ‚Saftigkeit‘ sehr viel besser bewertet als das TK-Produkt. Das ASC-zertifizierte Garnelenprodukt war bei dieser Untersuchung nicht als Referenz verfügbar.

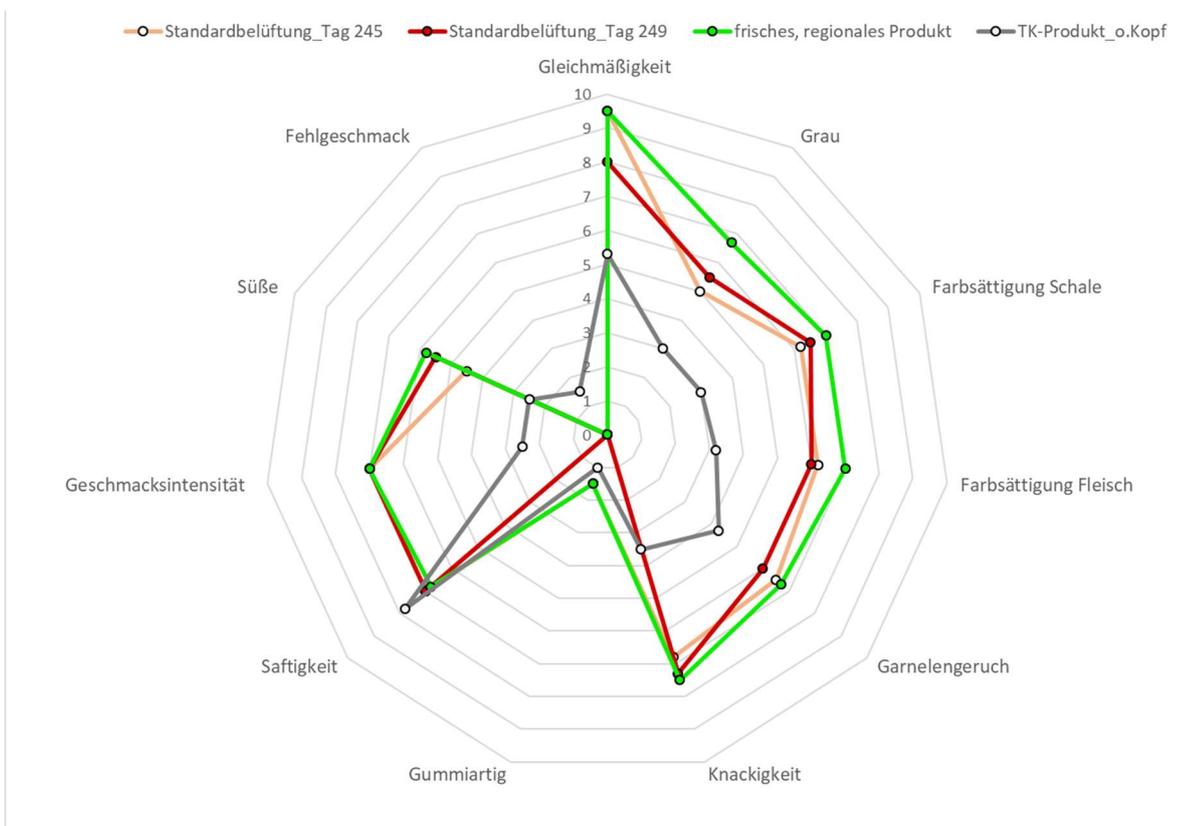


Abbildung 5-23: Sensorische Profile von zwei Chargen Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur (Standardbelüftung, bei überlanger Kulturdauer > 182 Tage; Daten zu Tag 249 von einer anderen Batch aus voriger Untersuchung) im Vergleich zur Referenz aus deutscher Indoorproduktion und zur Referenz einer nicht zertifizierten Import-TK-Ware ohne Kopf

**Fazit:** Die sensorischen Eigenschaften der Garnelen können innerhalb einer Herkunft (hier: Garnelen aus dem untersuchten Betrieb Damm Aquakultur), auch unabhängig von Faktoren wie Belüftungsart oder Kulturdauer variieren und auch zwischen Garnelen, die aus regionaler Produktion verschiedener Betriebe stammen. TK-Ware wird meist weniger gut bewertet im Vergleich zu den frischen Produkten. Hier kann aber differenziert werden, da das TK-Bioprodukt aus der ersten sensorischen Prüfung und das ASC-zertifizierte TK-Produkt in vielen Eigenschaften die unsertifizierte TK-Ware übertreffen konnten.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

**5.1.1.3 Schwerpunkt 2: Entwicklungen zentraler Parameter der Wasserqualität und der Mikrobiologie im Kulturverlauf und im Beobachtungszeitraum**

**5.1.1.3.1 Entwicklung zentraler Wasserparameter**

Übersichtstabellen mit den wichtigsten Messgrößen s. Anhang (Kap. 12).

In der folgenden Auswertung aus Delta sind die Verläufe von **Salinität und pH-Wert** in den meist drei erfassten GOB pro Modul im Untersuchungszeitraum zwischen 1.9.2019 und 31.3.2022 dargestellt.

Hohe pH-Werte bis maximal 7,9 wurden regelmäßig nur in den ersten Tagen bis zu zwei Wochen in den neu besetzten GOB gemessen. Das Minimum des pH lag kurzzeitig bei knapp unter pH 7.

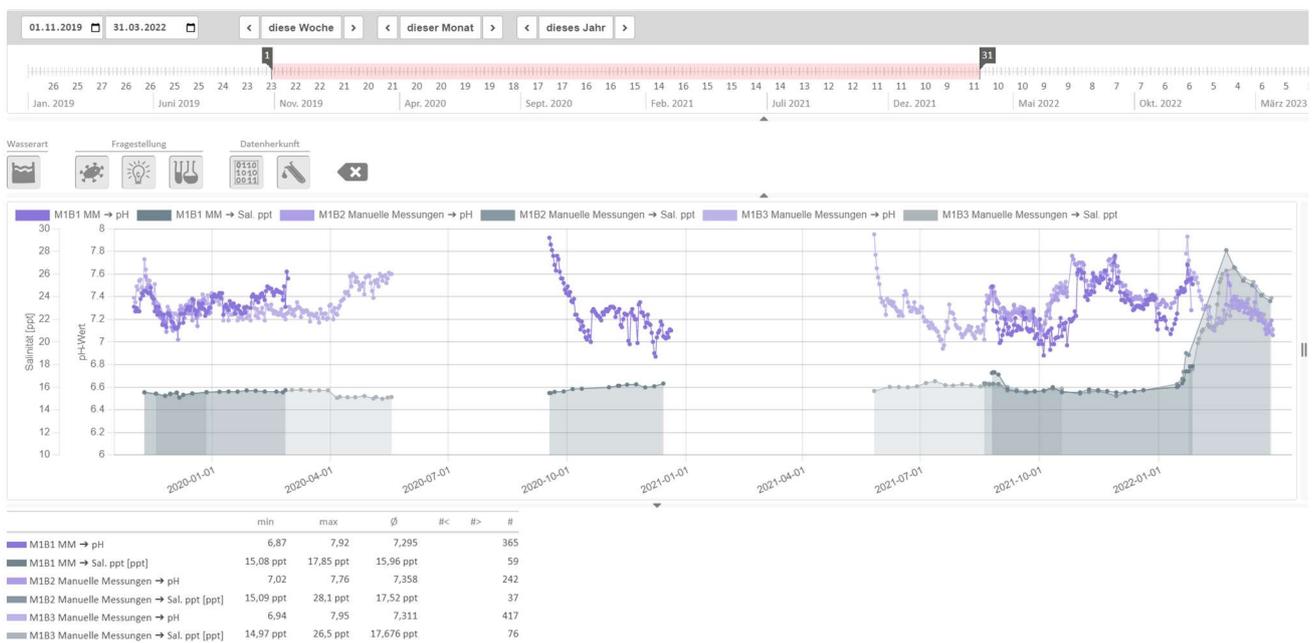


Abbildung 5-24: Auswertung Delta: Verlauf der Parameter Salinität [ppt] (Füllkurve) und pH-Wert im Gesamt-Beobachtungszeitraum in den drei GOB von Modul 1

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

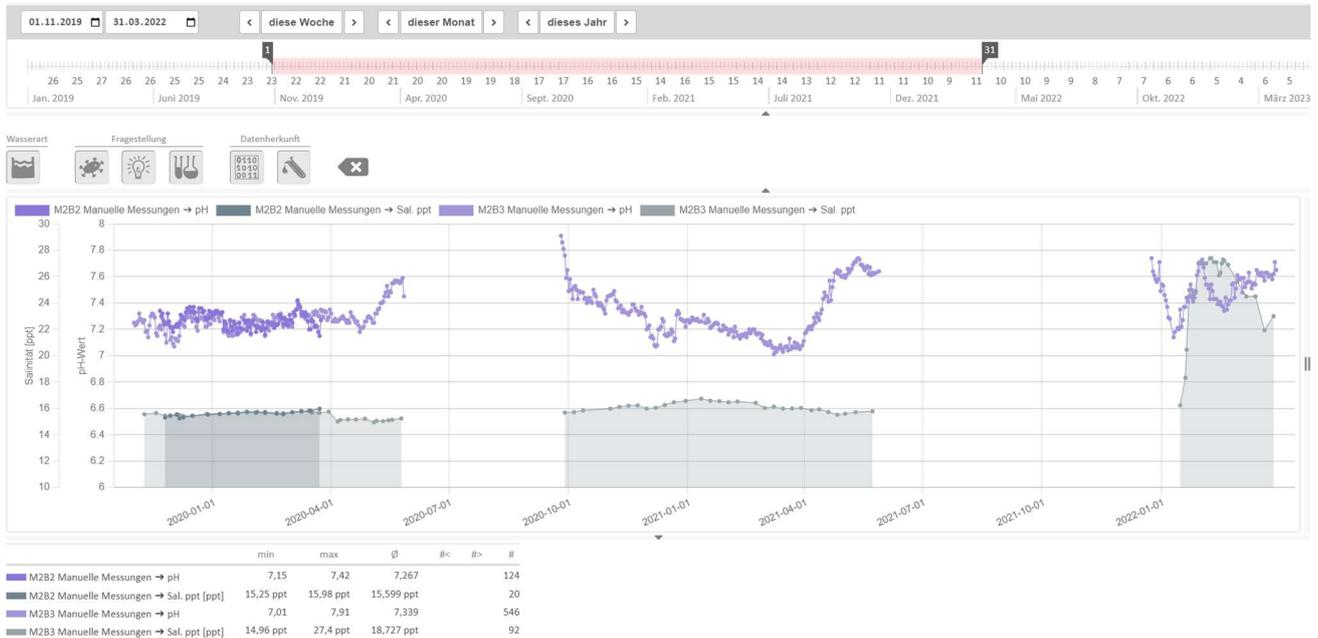


Abbildung 5-25: Auswertung Delta: Verlauf der Parameter Salinität [ppt] (Füllkurve) und pH-Wert im Gesamt-Beobachtungszeitraum in den zwei erfassten GOB von Modul 2 (ohne M2B1)

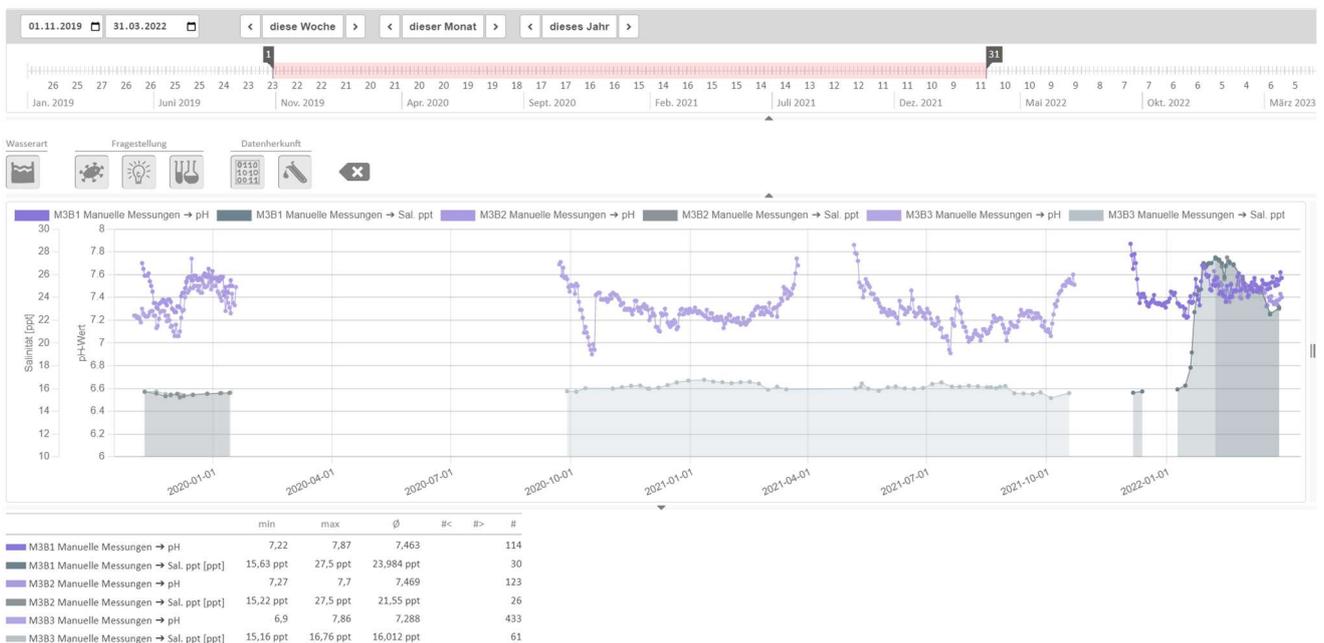


Abbildung 5-26: Auswertung Delta: Verlauf der Parameter Salinität [ppt] (Füllkurve) und pH-Wert im Gesamt-Beobachtungszeitraum in den drei GOB von Modul 3

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### Ammonium- und Nitrit-Stickstoff

Die folgenden Auswertungen aus Delta zeigen die Verläufe von Ammonium-N- und Nitrit-N-Konzentrationen pro Modul im Untersuchungszeitraum zwischen 1.9.2019 und 31.3.2022, bis Projektende.



Abbildung 5-27: Delta-Auswertung Modul 1: Verlauf der Konzentration von  $NH_4-N$  und  $NO_2-N$  in den drei zwischen September 2019 und März 2022 erfassten GOB (Y-Achse gilt auch für  $NO_2-N$  [mg/l])



Abbildung 5-28: Delta-Auswertung Modul 2: Verlauf der Konzentration von  $NH_4-N$  und  $NO_2-N$  in den zwei zwischen September 2019 und März 2022 erfassten GOB (ohne M2B1; Y-Achse gilt auch für  $NO_2-N$  [mg/l])

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH



Abbildung 5-29: Delta-Auswertung Modul 3: Verlauf der Konzentration von NH<sub>4</sub>-N und NO<sub>2</sub>-N in den zwei zwischen September 2019 und März 2022 untersuchten GOB (ohne M3B1; Y-Achse gilt auch für NO<sub>2</sub>-N [mg/l])

**Delta-Auswertung zu Ammonium-Stickstoff:** in den GOB von Modul 1 liegen die Konzentrationen in den drei Becken des Moduls durchgehend unter 1 mg/l, mit kurzfristigen Maxima von ca. 0,8 mg/l (M1B1) bzw. ca. 0,7 mg/l (M1B3) und überwiegend auch unter 0,5 mg/l.

In den GOB von Modul 2 blieben die Konzentrationen meist unter 0,5 mg/l. Im 2. Zeitabschnitt, Ende 09/2020, mit dem Start einer neuen Kultur kurz nach deren Umsetzen aus den PL-Becken, tritt kurzzeitig ein Peak von > 1 mg/l auf, in dessen Folge auch die Nitrit-N-Konzentrationen anstiegen. Der Verlauf der NH<sub>4</sub>-N-Konzentration bleibt anschließend unauffällig.

Modul 3 zeigt eine längere Datenlücke in 2020 und fehlende Daten ab 10/2021. Die Datenlücken sind einerseits bedingt durch den mangelnden Neubesatz in 2020, und auch, weil zwei Kulturen (Batch 11 und Batch 18) aus diesem Modul nicht im intensiven Monitoring aufgenommen waren und die Daten entsprechend nicht in Delta importiert wurden.

Ammonium-Stickstoff in den GOB von Modul 3: die Konzentration verläuft, ähnlich wie in Modul 1 und 2, eher unauffällig, mit Werten innerhalb der Toleranzgrenze und mit wenigen Ausnahmen <0,5 mg/l. Nur ein Peak von 1,48 mg/l tritt im Mai 2021 mit dem Umsetzen einer Batch in M3B3 auf, in dessen Folge die Nitrit-N-Konzentrationen ansteigen.

**Delta-Auswertung zu Nitrit-Stickstoff:** in Modul 1 liegen die Konzentrationen in 2019 und bis zum Sommer 2020 vorwiegend unter 1 mg/l, mit wenigen Ausreißern knapp darüber. Spitzenkonzentrationen um 4 mg/l treten erst später auf: ab Ende 2020 in M1B1 und nach Besatz-Pause erneut in den Sommermonaten 2021, häufiger treten auch Konzentrationen zwischen 1 und 2 mg/l auf. Zum Ende des erfassten Zeitraums, noch in 2021, sinken die Konzentrationen bis <1 mg/l ab

In Modul 2: analog zu Modul 1 sind deutliche Unterschiede zwischen den Zeiträumen 2019 bis Sommer 2020 und dem Zeitraum ab 10/2020 zu sehen, mit anfangs niedrigeren Konzentrationen von maximal ca. 1mg/l und ab Ende 2020 mit einem insgesamt erhöhten Konzentrationsniveau > 1 mg/l, mit Spitzen zwischen 3 und 4 mg/l.

Modul 3: im ersten Zeitabschnitt, der hier relativ kurz ausfällt mit Daten (von 09/2019 bis Anfang 2020), liegen die Konzentrationen vorwiegend <1 mg/l, mit einem Peak von ca. 1,2 mg/l. Im folgenden Zeitfenster ab etwa Oktober 2020

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

unterliegen die Konzentrationen größeren Schwankungen zwischen 1 mg/l und 4 mg/l, und erreichen zweimal Werte über der Toleranzgrenze von 4 mg/l, einmal auch mitten in der Kultur. Im letzten Zeitfenster, ab Mai 2021, mit den Werten nur einer Batch, ist ein abrupter Anstieg der Nitrit-Konzentration auf >3 mg/l nach dem Umsetzen in das GOB M3B3 zu sehen. In den folgenden zwei Wochen sinken die Werte auf 2 mg/l und mit kurzzeitigen Ausreißern nach oben, weiter auf <1 mg/l.

### Nitrat, Phosphor und organischem Kohlenstoff (Pivotauswertungen)

**Nitrat-Stickstoff:** Labordaten aus dem Frühjahr 2019, kurz nach Inbetriebnahme, konnte Herr Damm uns freundlicherweise zur Verfügung stellen, sodass diese Daten aus dem 1. Betriebsjahr hier mit dargestellt werden können.

Der Parameter ‚Stickstoff gesamt‘ [mg/l] wurde z.T. auch analysiert, hier gab es aber z.T. große, schwer zu erklärende Abweichungen zwischen der Summe der gelösten N-Formen (NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N und NO<sub>3</sub>-N) und N<sub>gesamt</sub> [mg/l].

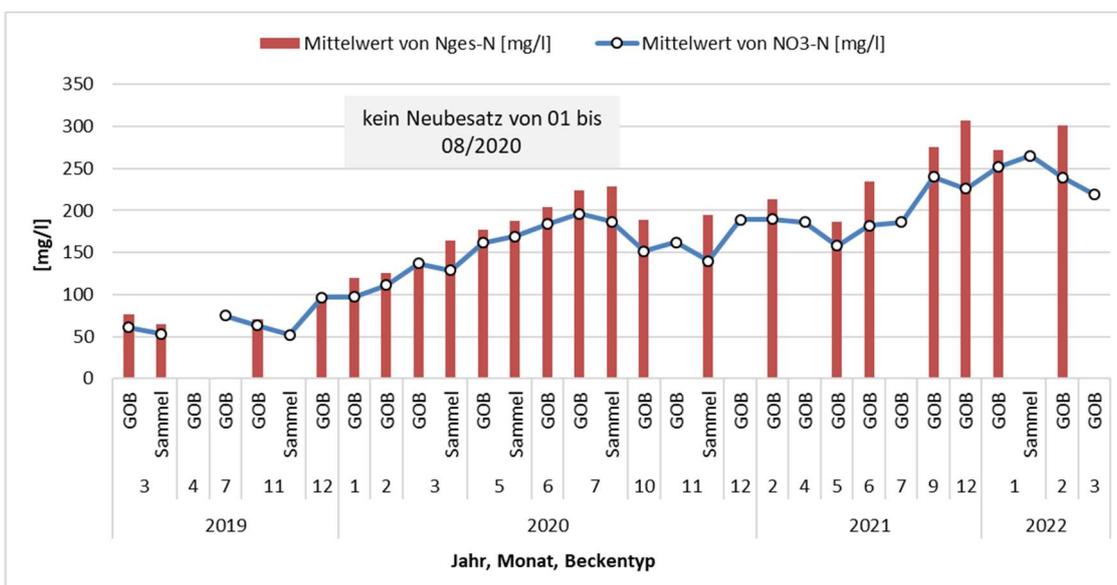


Abbildung 5-30: mittlere Konzentrationen von Stickstoff gesamt und Nitrat-Stickstoff in der Beobachtungszeit von 03/2019 bis 03/2022 in Grow-Out Becken (GOB) und Sammelbecken (Laboranalysen, n= 1 bis 8)

Ein deutlicher Anstieg der **Nitrat-Stickstoff-Konzentration** in allen Modulen und Becken der Anlage ist ab 2020 erkennbar. Zwischen der Beprobung im Juli und im Oktober 2020, dem Jahr mit dem niedrigsten Besatz in der Anlage, ist ein leichtes Absinken der Nitrat-Stickstoff-Konzentrationen zu sehen, was sich aber nicht fortsetzt. Die Konzentration steigt noch in 2020 leicht, schwankt im Mai 2021 nochmals nach unten, um bis September 2021 deutlich zu steigen, auf kritische 250 mg/l.

Niedrigere Nitrat-Konzentrationen in Oktober und November 2020 sind vermutlich eine Folge der geringen Auslastung der Anlage mangels ausreichenden Neubesatzes in 2020. Die schon in 2020 nachlassende Wirkung des Bioreaktors in seiner Funktion die Nitrat-Konzentration zu verringern, wird auch im folgenden Diagramm deutlich.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

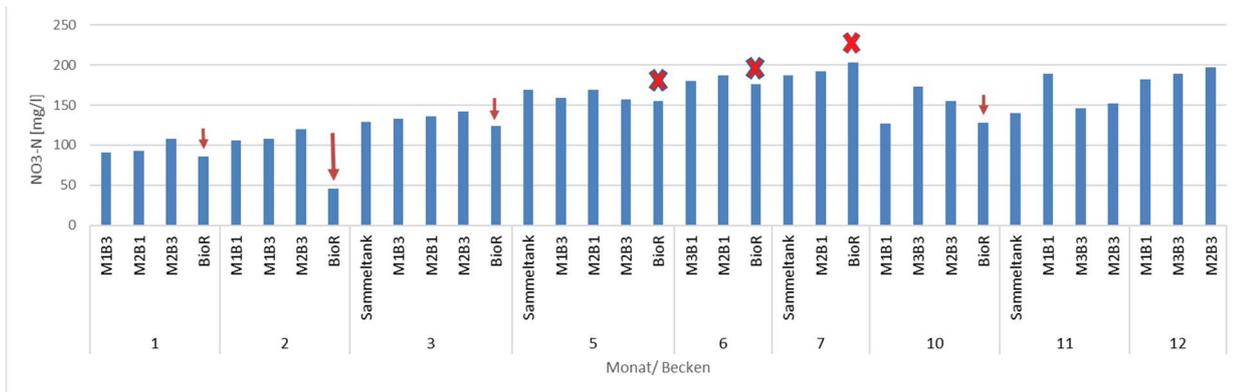


Abbildung 5-31: Jahresverlauf 2020 für Konzentration Nitrat-Stickstoff [mg/l] in Hälterung und Wasseraufbereitung (Becken: Modul 1..3/Becken 1...3 = Hälterung, BioR: Bio-Reaktor), Pfeil: Konzentration im BioR gegenüber Hälterung verringert, x: Konzentration ähnlich wie in GOB)

Es liegen auch erste Labordaten vor zu Konzentrationen von Stickstoff-Formen in Zu- und Ablauf der neuen Module der Wasseraufbereitung (Abbildung 5-32).

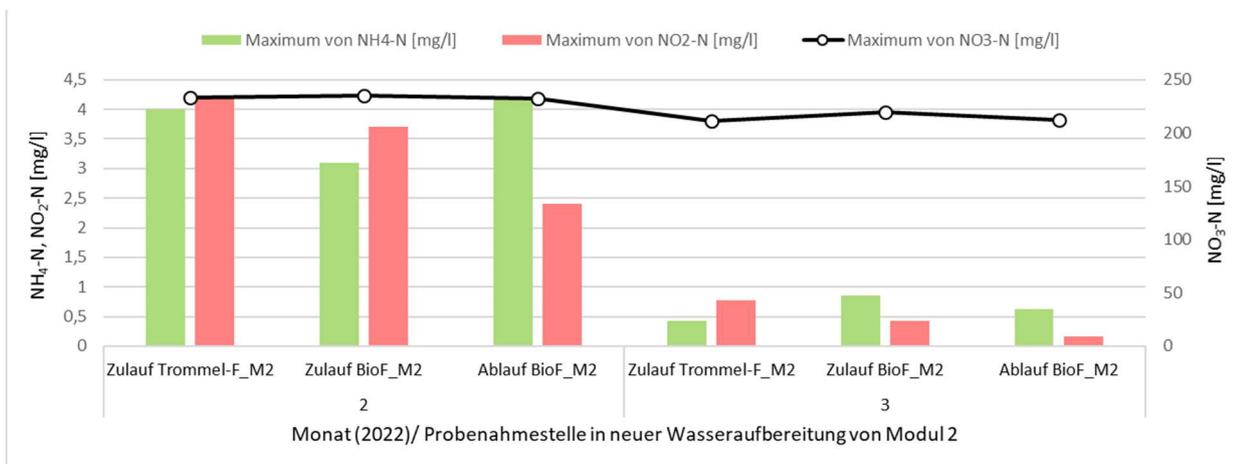


Abbildung 5-32: Konzentration von NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>2</sub>-N und NO<sub>3</sub>-N in der neuen Wasseraufbereitung (Modul 2 der Anlage Damm Aquakultur) in den Monaten Februar und März 2022 (Trommel-F: Trommelfilter, BioF: Biofilter, M2: Modul 2)

Die Labordaten aus 2022 sind aus der Zeit des Umbaus der Wasseraufbereitung mit einer ersten Beprobung des neuen Biofilters (BioF) aus dem ersten von drei umzubauenden Modulen. Der Biofilter war mit Sicherheit noch nicht eingefahren.

Der Parameter ‚organischer Kohlenstoff‘ [mg/l] wurde in gelöster Form als DOC und in der Gesamtprobe als TOC analysiert. In 2020 kam es vermutlich durch zeitliche Überschneidungen mit Zuckergaben in die Bioreaktoren zu extrem erhöhten Werten in der TOC-Konzentration. Die Konzentration des gelösten organischen Kohlenstoffs variierte meist um 50 mg/l, mit steigender Tendenz zum Ende der Beobachtungsperiode auf Werte >75 mg/l.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

**Phosphor** wurde seltener analysiert, da dieser Nährstoff für Garnelen kein so kritischer Faktor ist und mit stabileren Konzentrationen gerechnet wurde. Die Konzentration für ‚Phosphor gesamt‘ [mg/l] zeigt in der Zeitschiene eher eine abnehmende Tendenz.

In der folgenden Abbildung sind die Daten pro Beckentyp (BioR, GOB, BioF) chronologisch dargestellt.

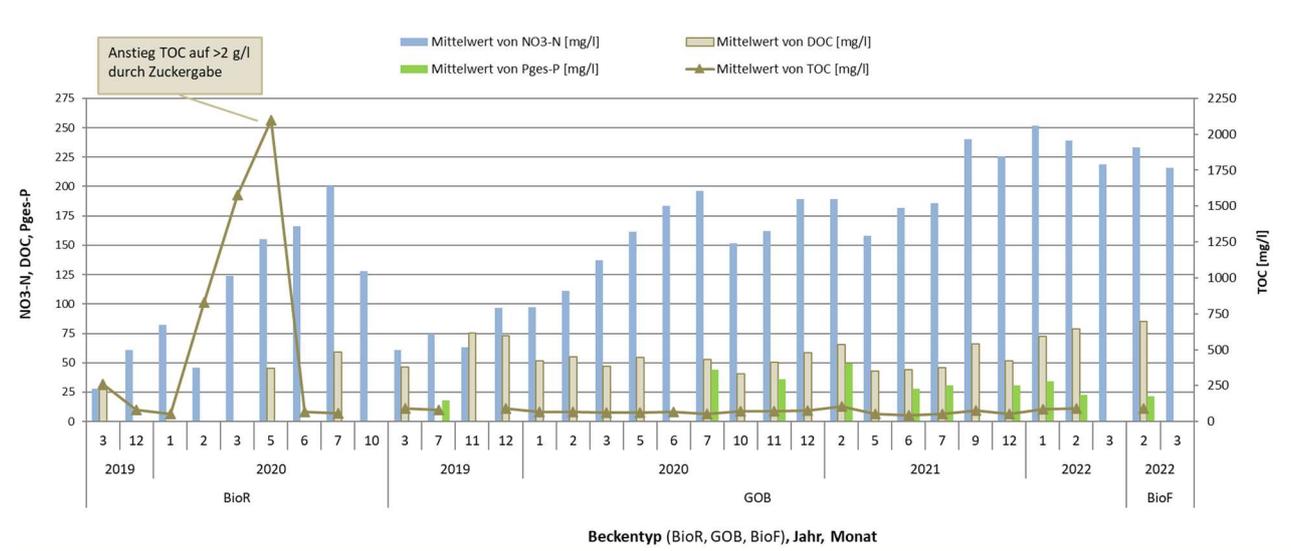


Abbildung 5-33: Verlauf Nitrat-Stickstoff, Phosphor (gesamt) und organischer Kohlenstoff (DOC und TOC) [mg/l] in Wasseraufbereitung und Hälterung (03/2019 bis 03/2022; BioR: Bio-Reaktor, GOB: Grow-Out-Becken, BioF: Bio-Filter neu; n=2 bis 8, wenige Einzelwerte)

Trotz hoher Konzentrationen an TOC in den Monaten Februar bis Mai 2020 ließ die Denitrifikationsleistung der Bioreaktoren nach (s. [Abbildung 5-33](#)). In 2021 wurden die Bioreaktoren nicht mehr näher untersucht, da andere Schwerpunkte gelegt wurden und sich nach Tests mit verschiedenen Zuckergaben u.a. Maßnahmen durch den Betreiber heraus kristallisierte, dass eine andere Denitrifikationstechnologie gefunden werden sollte.

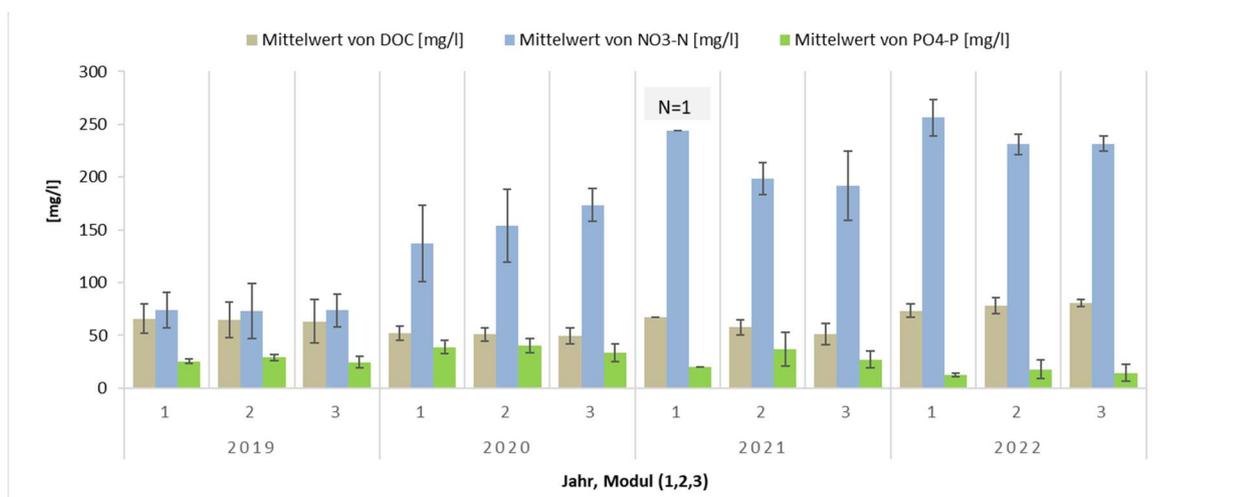


Abbildung 5-34: Laboraten im Beobachtungszeitraum (Ende 2019 bis Anfang 2022): mittlere Konzentration [mg/l] von gelöstem organischen Kohlenstoff (DOC), Nitrat-N und Orthophosphat (PO<sub>4</sub>-P) in untersuchten Hälterungsbecken der drei Module (n=1 bis 13)

Das Verhältnis von Kohlenstoff (DOC [mg/l]) zu Stickstoff (hier als Nitrat-N [mg/l]) verkleinert sich deutlich in dem Maße, wie Nitrat-N zunimmt.

### Feststoffgehalt des Hälterungswassers im Beobachtungszeitraum

Der Gesamttrockenrückstand und die abfiltrierbaren Stoffe wurden als zentrale Messgrößen mit Indikatorfunktion für den Biofloc-Gehalt im Rahmen des Unterauftrages durch ein Analyselabor bestimmt. Der Gesamttrockenrückstand (Ges-TrR [mg/l]) wurde nach Filtration der Wasserproben über einen Glasfaserfilter und Spülung zur Entfernung von Salzen ermittelt, die abfiltrierbaren Stoffe als Filtrerrückstand auf einem Membranfilter (<0,45 µm Porengröße). Die beiden Parameter zeigen stark voneinander abweichende Werte, die Größenordnungen auseinanderliegen: der Gesamt-Trockenrückstand liegt im zweistelligen Grammbereich, während die Konzentrationen abfiltrierbarer Stoffe im 2-3-stelligen Milligramm-Bereich liegen (ca. 75 bis ca. 200 mg/l). Verbliebene Salzrückstände können dies nicht allein erklären, da die Diskrepanz zwischen den Werten dieser beiden Parameter bei Wasserproben aus den Bioreaktoren nur einen einstelligen Faktor (<10) beträgt.

Das Thema wird in Kap. 7.1.1.1 vertieft.

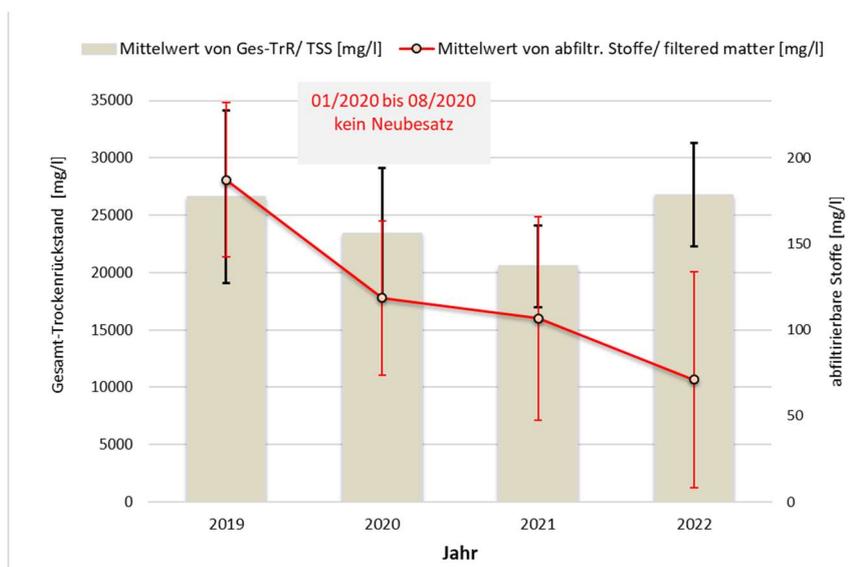


Abbildung 5-35: Labordaten Feststoffe in den GOB: als Gesamt-Trockenrückstand (auf Glasfaserfilter, gespült) bzw. als abfiltrierbare Stoffe (< 0,45 µm Membranfilter) im Beobachtungszeitraum der Jahre 2019 bis 2022 (n= 5 bis 25)

**Fazit:** Die Denitrifikationsleistung der Bioreaktoren aus dem ursprünglichen Anlagendesign ist nicht ausreichend, wie die Akkumulation von Nitrat-Stickstoff anzeigt.

Bei der reinen BFT-Anlage, ohne zusätzliche Module der Wasseraufbereitung, wird immer eine hohe Zugabe von Kohlenstoff benötigt, um empfohlene C/N-Verhältnisse von zwischen 12:1 bis 20:1 in der Anfahrphase und 6:1 im weiteren Verlauf zu erhalten (Emerenciano et al. 2017).

Das Konzept den Schlamm als C-Quelle bei der DENI zu nutzen hat in dieser Anlage nicht zu den gewünschten Resultaten geführt. Die Daten der Schlammanalysen zeigen, dass die Feststoffe eine zu stark variierende, nicht steuerbare Zusammensetzung aufweisen (s. Kap. 7.1). Daher wurden vom Betreiber auch andere Konzepte für Denitrifikation geprüft und in einem Teilstrom bzw. in Testphasen umgesetzt, was sich aber größtenteils nicht in dieser Anlage bewähren konnte.

**Verlauf der Konzentration essentieller Salzkomponenten und der Salinität im Beobachtungszeitraum**

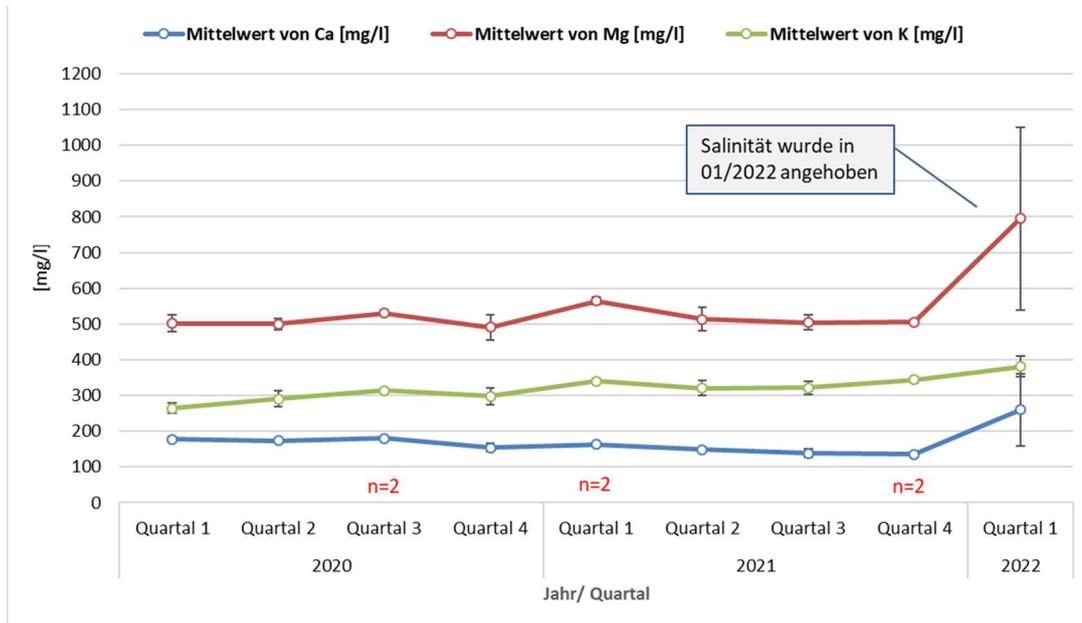


Abbildung 5-36: Labordaten: Verlauf der Ionen-Konzentrationen Calcium (Ca), Magnesium (Mg) und Kalium (K) in [mg/l] über zwei Jahre im Beobachtungszeitraum (verschiedene GOB, n=3 bis 9 bzw. n=2 laut Diagramm)

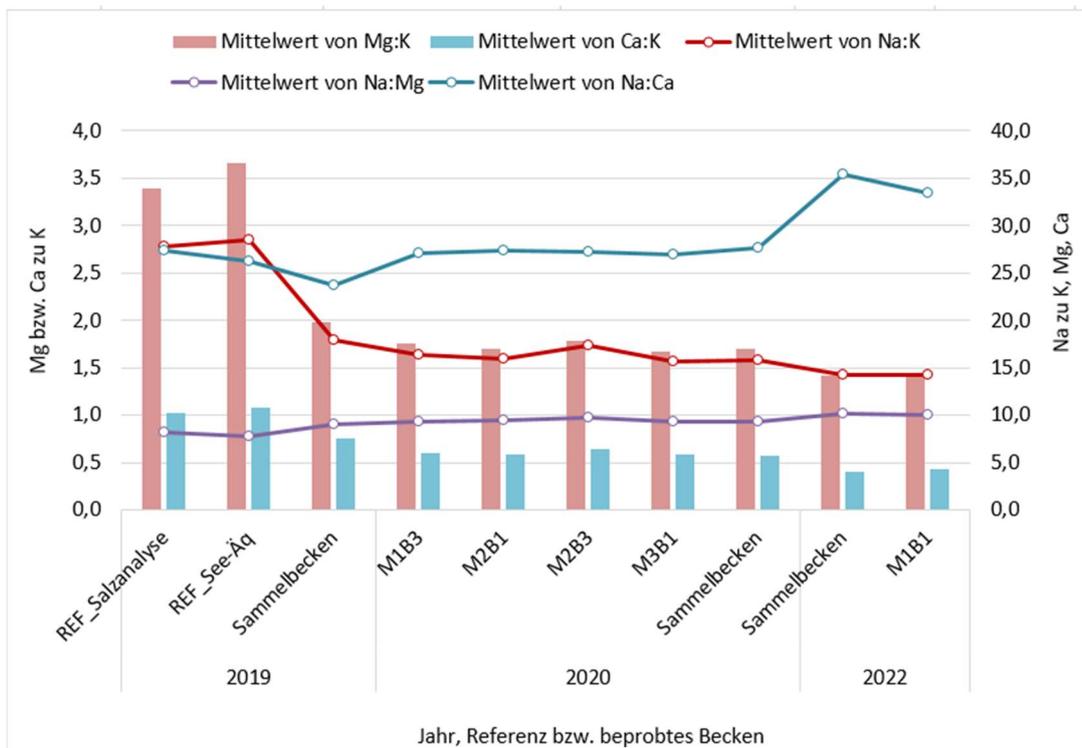


Abbildung 5-37: Labordaten: Verhältnis der wichtigsten Salzelemente im Beobachtungszeitraum 2019 bis 2022 und in verschiedenen Becken im Vergleich zu Referenzwerten aus der Salzanalyse (Ref\_Salzanalyse) und den Werten der Seewasser-Äquivalenten Relationen (Ref\_See-Äq) für eine Salinität von 15 ppt

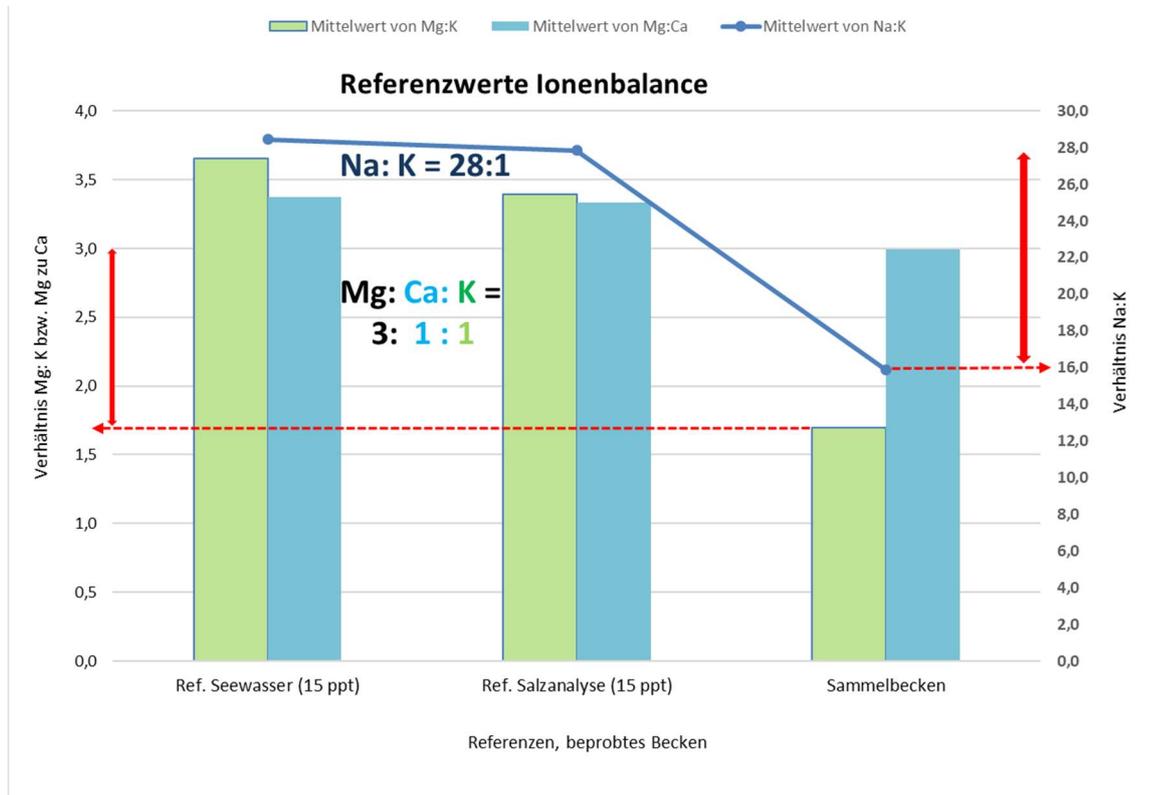


Abbildung 5-38: Labordaten: Verhältnis der wichtigsten Salzelemente im Sammelbecken der Anlage Damm, im Vergleich zu Referenzwerten aus der Salzanalyse und den Seewasser-Äquivalenten Relationen

**Fazit:** Die Konzentrationen essentieller Ionen (Mg, Ca, K) lag zwar mit > 100 mg/l im empfohlenen Bereich für Garnelen (Boyd 2001), die Ionenverhältnisse zueinander und das Verhältnis von Natrium zu den essentiellen Ionen im Anlagenwasser lag allerdings nicht im Optimum.

**Schwermetall-Ionen Kupfer und Zink: Verlauf im gesamten Beobachtungszeitraum**

Die Konzentrationen von Kupfer und Zink in Wasserproben und in einigen Feststoffproben aus Bioreaktoren wurden durch ein beauftragtes AnalySELabor im Rahmen des Vorhabens bestimmt.

Die Ergebnisse der Feststoffanalysen werden in Kap. 7.1.1.2 vorgestellt.

Beprobungen für die Wasseranalysen fanden vorwiegend in den GOB statt, in denen die Garnelen den größten Teil ihres Kulturzyklus verbringen. In den Pivot-Auswertungen der Cu- und Zn-Konzentrationen (s. *Abbildung 5-39* und *Abbildung 5-40*) sind auch Analysedaten von Hälterungswasser aus den PL-Becken dargestellt. Die Beprobung in den PL-Becken wurde meist zum Ende der Nursery durchgeführt, an Tag 21, einmalig auch an Tag 13 der Kultur, bevor die Wasseraufbereitung und damit die Wasserqualität der Hälterung in den Großbecken einen Einfluss auf die Wasserzusammensetzung in den PL-Becken ausüben konnte.

Im Beobachtungszeitraum zeigt Kupfer, mit anfangs deutlich <0,03 mg/l, in den Jahren 2020 und 2021 eine zunehmende Tendenz, sinkt in 2022 aber etwas ab, zumindest in den mehrfach beprobten GOB. Der Wert aus dem Sammelbecken war aus einer Beprobung im Januar 2022, noch vor dem Umbau der Wasseraufbereitung. Die Daten aus den Grow-Out Becken (GOB) stammen aus zwei Beprobungen im Januar 2022 und einer in Februar 2022, als bereits ein Modul umgebaut war.

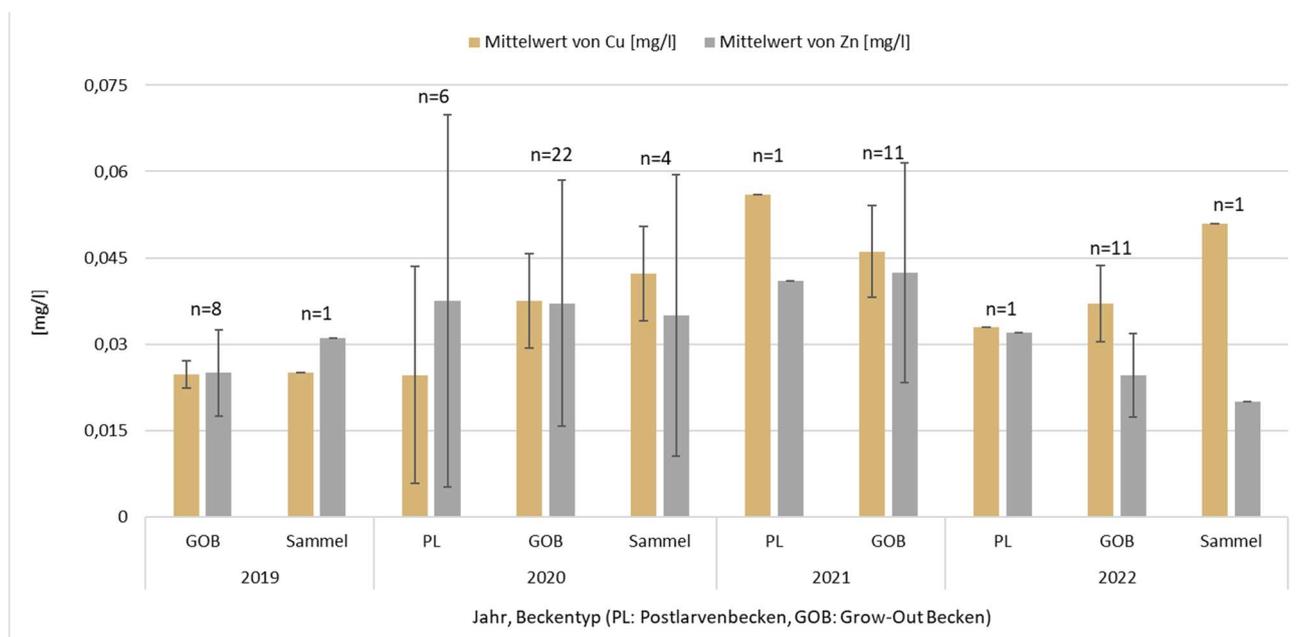


Abbildung 5-39: Laboraten: Schwermetall-Konzentrationen für Kupfer (Cu) und Zink (Zn) [mg/l] in Wasserproben der Beckentypen GOB (n=8 bis 22), PL (n=1 bzw. 6) und im Sammelbecken der Anlage (n=1 bis 4) im Beobachtungszeitraum (hier: 11/2019 bis 02/2022)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Der Verlauf der Cu-Konzentration in den GOB und dem Sammelbecken ist in der folgenden Abbildung pro Jahr und Quartal dargestellt:



Abbildung 5-40: Labordaten: Verlauf der Cu-Konzentrationen in Sammelbecken (n=1) und GOB (n=1 bis 11, s. Angaben in Graphik)

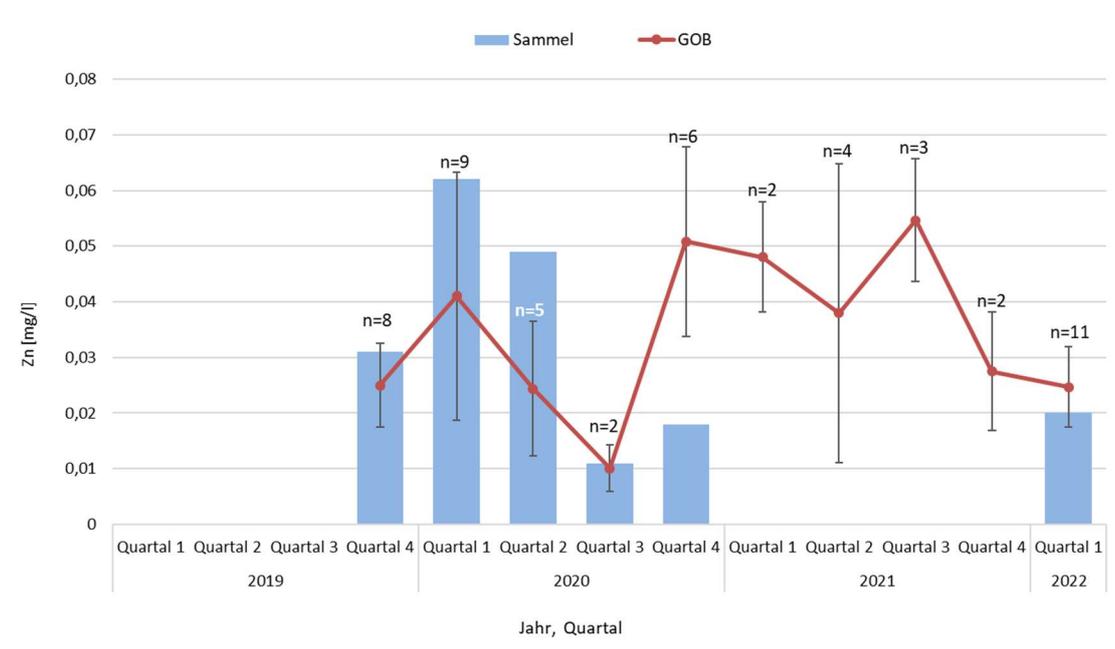


Abbildung 5-41: Labordaten: Verlauf der Zn-Konzentrationen in Sammelbecken (n=1) und GOB (n=2 bis 11, s. Angaben in Graphik)

Der Verlauf der Zink-Konzentrationen ist unruhiger und zeigt keinen so deutlichen Trend: es zeichnet sich in den GOB bis 2021 ein Anstieg der (mittleren) Konzentrationen ab, allerdings mit sehr hoher Standardabweichung in den mehrfach beprobten Becken und mit zuletzt wieder niedrigeren Werten in 2022. Das nicht in 2021 beprobte Sammelbecken weist jedoch auch in den beiden letzten Quartalen von 2020 sehr niedrige Zink-Konzentrationen auf, was nur im 3. Quartal 2020 auch mit den Werten in den zwei beprobten GOB relativ gut übereinstimmt.

**Schwermetallkonzentrationen in den PL-Becken:**

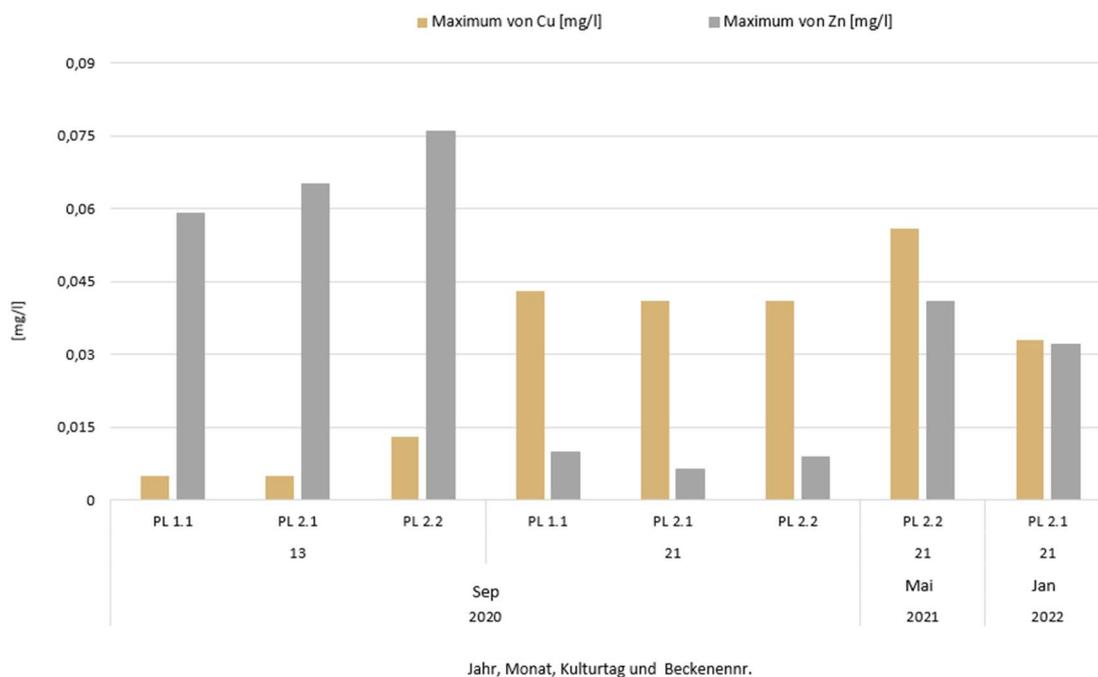


Abbildung 5-42: Labordaten: Cu- und Zn-Konzentrationen in Wasserproben aus PL-Becken (n=1; in Pivot dargestellt als Maximum)

Auffallend ist, dass in 09/2020 zwischen Kulturtag 13 und 21 in den jeweils drei beprobten PL-Becken die Cu-Konzentrationen ansteigen und parallel die Zn-Konzentrationen sinken. Dies spricht für eine relativ hohe Zinkfracht des Füllwassers, die aus dem Brunnenwasser stammen müsste<sup>3</sup>, allerdings wurde die Anlage in 2018 auch mit Wasser aus dieser Quelle befüllt. Nach Anschluss der PL-Becken an die Wasseraufbereitung können die Zn-Konzentrationen mit dem geringer belasteten Anlagenwasser verdünnt werden. Eine höhere Zink-Konzentration an Kulturtag 13 gegenüber Tag 21 trifft auch für die späteren Analysedaten aus den Jahren 2021 und 2022 zu, jeweils nach Anschluss der beprobten PL-Becken an die Wasseraufbereitung, hier jedoch mit kleinerer Differenz. Wenn die Zinkfracht ursprünglich, bei der Erstbefüllung ebenso hoch war, muss es eine Zinksenke geben, z.B. über die entnommenen Feststoffe, deren Zinkgehalt bestimmt wurde (s. Kap. 7.1.1). Bei Kupfer verhält es sich genau andersherum: die Konzentration nimmt bereits innerhalb einer Woche in den PL-Becken deutlich um ca. 0,03 mg/l bzw. 30 µg/l zu (s. Werte aus 09/2020). Eine gewisse Anreicherung im Hälterungswasser kommt langfristig auch bei Zink zum Tragen, wie an den gegenüber 2020 in den Folgejahren jeweils an Tag 21 gemessenen höheren Konzentrationen abzulesen ist, nach dem Anschluss an die Wasseraufbereitung.

<sup>3</sup> Brunnenwasser für die Anlage in Niedenstein wurde nicht auf Zink analysiert, aber auf Kupfer (<0,005 mg/l) und weitere toxische Schwermetalle (Blei, Cadmium, Chrom, Eisen und Quecksilber): alle Werte lagen unter der jeweiligen Nachweisgrenze

#### 5.1.1.3.2 *Entwicklung des Mikrobioms im Kulturverlauf (TiHo)*

Ein Einfluss der Kulturdauer auf die Entwicklung der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser, im Biofilm auf den Beckenwänden sowie auf dem Carapax von Garnelen wurde in insgesamt 4 Becken mit unterschiedlicher Belüftung untersucht. Verglichen wurden Gemeinschaften nach 3- 4 Monaten Kultur mit den Gemeinschaften aus den gleichen Becken nach weiteren 4 Wochen Kultur. Die bakterielle Gemeinschaft im Wasser wurde am ersten Probenstag von 356 bis 600 Taxa gebildet und wies einen Shannon-Wiener-Index von 3,17 bis 4,86 auf. Mit weiterer Kultur veränderte sich die Diversität nur leicht.

Die Anzahl der Arten erhöhte sich geringfügig auf 507 bis 668 OTU und der Shannon-Wiener Index von 4,07 bis 5,69. Dabei entwickelte sich die Diversität in den Becken, auch da, wo gleiche Belüftungsverfahren angewandt wurden, unterschiedlich. So kam es in Becken M1B1 (Injektor-Belüftung) zu einer deutlichen Zunahme der Diversität, in Becken M1B3 (Referenz-Becken, Standardbelüftung über Diffusoren) zu einer leichten Verringerung der Anzahl Arten von 600 auf 570, aber zu einer geringfügigen Zunahme des Wertes für den Shannon-Wiener Index von 4,73 auf 4,97 (Tabelle 5-4). Zum Zeitpunkt der ersten Probenahme wurden die Gemeinschaften von einem hohen Anteil an Flavobacterium, die 40-60 % der Bakterien stellten, dominiert. Der Anteil dieser Bakterien verringerte sich nach 4 Wochen Kultur auf 18-37 % der Gemeinschaft, wobei insbesondere der Anteil der *Vibrio*-Spezies von ca. 1-2 % in der ersten Probe auf nunmehr 8-22 % der Gemeinschaft zunahm.

Im Biofilm auf den Beckenwänden war nur eine geringe Änderung in der Diversität der Gemeinschaft im Laufe der Kultur zu beobachten und die Änderungen erfolgten wie im Wasser in den Becken unterschiedlich (Tabelle 5-5). Auch verliefen die Änderungen in der Biodiversität im Wasser und im Biofilm der Becken nicht in gleicher Weise. So nahm in Becken M1B1, in dem eine Zunahme der Anzahl Arten im Wasser erfolgte, die Anzahl Arten im Biofilm von 643 auf 519 Arten ab. In der Gemeinschaft im Biofilm stellen nitrifizierende Bakterien aus der Gattung *Nitrospira* sowie *Candidatus Nitrosopumilus* in der ersten Probe einen Anteil von 5 bis 41 %, wobei sie in 3 von 4 Becken einen signifikanten Anteil von über 30 % der Bakterien bildeten. Der Anteil der Nitrifizierer hatte sich nach weiteren 4 Wochen Kultur weiter erhöht und stellte im Biofilm in allen Becken ca. 40 % der Bakterien in der Gemeinschaft. Dieses lässt auf eine Stabilisierung der nitrifizierenden Gemeinschaft im Laufe der Kultur schließen. Flavobakterien und Vibrionen waren im Biofilm kaum vertreten und bildeten zwischen 0,1 und 2 % der Gemeinschaft.

Die bakterielle Gemeinschaft im Biofilm auf dem Carapax der Garnelen variierte sehr stark zwischen den Individuen aus unterschiedlichen Becken. Insgesamt wurde die Gemeinschaft von 579 bis 953 Taxa gebildet, von denen 437 Taxa auf allen Garnelen vertreten waren (s. Abbildung 5-11). Die Artenzahl und auch die Diversität der Gemeinschaft erhöhten sich im Laufe der Kultur (s. Tabelle 5-6), jedoch nicht signifikant. Bei der Mehrzahl der Garnelen wurde die Gemeinschaft zum ersten Probenzeitpunkt von nicht motilen Arten dominiert, die sowohl aus dem Süßwasser (*Taeseokella*) als auch aus marinen Habitaten (*Rubritalea*) beschrieben wurden. Daneben war in der Gemeinschaft in unterschiedlichem Anteil das Fadenbakterium *Thiothrix* vertreten, das fädige Kolonien bildet und in Proben mit hoher Schlammbelastung vermehrt auftritt.

Nach weiteren 4 Wochen Kultur war die Abundanz der oben genannten Arten deutlich zurückgegangen und die Gemeinschaften waren durch eine hohe Zahl von Arten geprägt, die in einer Abundanz von weniger als 5 % in der Gemeinschaft vorkamen. Bakterien der Familie *Vibrionaceae* mit für Garnelen pathogenen Arten der Gattungen *Vibrio* und *Photobacterium* wurden am zweiten Probenstag häufiger als am ersten Probenstag nachgewiesen und stellten etwa einen Anteil von 10 bis 20 % der Gemeinschaft auf den Garnelen.

#### 5.1.1.4 Schwerpunkt Bezugsquelle

##### Verlauf der Arbeiten

Ein erster Kontakt zu Initiativen, die eine zeitnahe Umsetzung von Reproduktion plantan, kam durch die Teilnahme am Euroshrimp-Workshop auf der EAS-Konferenz Berlin 2019<sup>4</sup> zustande. Diese Kontakte wurden auch durch Herrn Damm als Betreiber gepflegt und ab Sommer 2020 standen Besatztiere aus deutscher und österreichischer Produktion zur Verfügung. Ein Glücksfall war, dass gleichzeitig Postlarven aus den USA, mit deutlich längerem Transportweg, verfügbar waren.

Bis zum Ausbruch der Pandemie konnten Postlarven in kommerziellen Stückzahlen als PL12 relativ zuverlässig aus den USA bezogen werden. Mit dem Import sind jedoch lange Transportzeiten verbunden, die für die Postlarven in diesem jungen Stadium eine erhebliche Belastung darstellen. Homogenität und Entwicklungsstand dieser Postlarven schwankten auffällig, was sich erheblich auf die weitere Entwicklung eines Besatzes auswirkt, sowohl in Bezug auf Wachstumsraten als auch und vor allem bezogen auf die Überlebensrate.

Aufgrund der Bedeutung, die dem Transportweg zugesprochen wurde, haben die Kooperationspartner bei der DBU beantragt, den Fokus zugunsten dieses neuen Schwerpunktes zu verlagern und die Fragen zur Wirkung von Habitaten und die Wirkung von Chitosan auf die potentiell akkumulierenden Schwermetalle zurückzustellen. Es gelang allerdings nur in 2020 parallel 3 Besätze durchzuführen mit Postlarven aus den USA als Referenz, womit hier die beste Vergleichbarkeit der Kulturdurchgänge erzielt werden konnten. Diese ideale Situation hat sich leider nicht wiederholen lassen, sodass die Vergleichbarkeit weiterer Neubesätze aus den drei Bezugsquellen leider etwas eingeschränkt ist. In 2020 gab es keinen weiteren Neubesatz mehr.

Erst ab April 2021 konnte wieder neu besetzt werden: viermal aus Österreich, zweimal aus Deutschland und zweimal aus den USA, wobei eine der US-Kulturen beim Ausfall des Verdichters zu früh notgeerntet werden musste. Postlarven aus den USA wurden im Beobachtungszeitraum bis 03/2022 ab 2021 bei zwei verschiedenen Zuchtbetrieben bestellt, da die Verfügbarkeit von Besatztieren aus den USA oft eingeschränkt war. Dieser zusätzliche Faktor schränkt leider die Vergleichbarkeit der PL aus den USA ein, wie sich später an den Ergebnissen bestätigen sollte.

Der Fokus lag auf den drei parallel besetzten Populationen aus August 2020, die jeweils mit einer halben Besatzzahl bezogen wurden und somit im gesamten Kulturverlauf in einem GOB verbleiben konnten, ohne Zuschaltung eines zweiten Hälterungsbeckens.

Tabelle 5-9: parallel besetzte Kulturen aus drei Bezugsquellen: Transportmittel, -dauer [h] und -temperatur [°C]

Bezugsquelle	Batch-Nr.	Becken-Nr.	Transportmittel	Transportdauer [h]	Transporttemperatur [°]
Deutschland (DE)	#13_DE	M1B1	Kfz	ca. 4	20 - 24
Österreich (AT)	#14_AT	M3B3	Kfz	ca. 8	20 - 24
USA (US)	#15_US	M2B3	Flugzeug + Kfz	ca. 36	18 - 20

Temperaturverläufe während des PL-Transports aus den USA, die im Rahmen der Betreuung einer anderen Garnelenproduktion in Deutschland mittels Datalogger aufgezeichnet wurden, zeigten, dass im Winter für die Postlarven kritische Temperaturen knapp über 16°C im Transportwasser auftreten können. Auch der pH-Wert kann bei niedrigen Werten <7 Stress ausüben. Werte, die durchaus bei Transporten dieser langen Dauer von 36h eintreten können.

Bis zum Projektende in März 2022 wurden weitere Chargen aus diesen drei Ländern untersucht, um eine größere Datenbasis zu erhalten und beobachtete Unterschiede verifizieren zu können. Da aus den USA nur noch *eine* weitere Batch mit dem Kulturzyklus in den Beobachtungszeitraum fiel, wurden - zumindest für die zootechnischen Daten - auch

<sup>4</sup> <https://www.euroshrimp.net/euroshrimp-eas-berlin-10-2019/>

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

ältere Populationen (vor Batch #15), die aus den USA stammten, in die Auswertungen mit einbezogen. Es wurden hierbei nur Kulturen aus Becken mit Standardbelüftung berücksichtigt, die als Referenz im Schwerpunkt Belüftung mit untersucht worden waren.

Es wurden Daten von bis zu 15 Kulturen ausgewertet. Dies waren, nach Herkunftsland sortiert und mit Angabe der Kultur- bzw. Batch-Nummer sowie Becken-Nummer (Batch #\_Land/ GOB-Nr.; *Ältere Batch aus Schwerpunkt Belüftung kursiv*):

Land	Batch-Nr./ Becken-Nr.					
DE	#13_DE/ M1B1	#17_DE/ M1B3	#20_DE/ M1B1			
AT	#14_AT/ M3B3	#16_AT/ M3B3	#18_AT/ M2B3	#19_AT/ M3B1	#23_AT/ M2B3	#24_AT/ M1B3
US	# 15_US/ M2B3	# 22_US/ M3B1	# 9_US/M2B3	# 10_US/M1B3	# 11_US/M3B1	# 12_US/M2B1

Die Ergebnisse werden in folgender Reihenfolge dargestellt:

1. Daten zur Wasserqualität, z.T. mit Datenanalyse aus Delta
2. Daten aus der begleitenden Untersuchung des Mikrobioms (TiHo)
3. Zootechnische Daten und Produktionsmengen
4. Daten zur Sensorik (*für Batch 13 (DE), 14 (AT), 15 und 22 (USA)*)



DE



AT



US

Abbildung 5-43: PL aus drei Bezugsquellen an Kulturtag 20 (in gleich großen Schalen)

#### 5.1.1.4.1 Verlauf zentraler Parameter der Wasserqualität, Schwerpunkt Bezugsquelle

Die folgenden Daten stammen aus den Protokollen des Betreibers, die ab Betriebsstart der Datenbank in Delta importiert werden konnten. Es folgen Auswertungen der Daten aus Delta.

Farben in Graphen: DE=ROT, AT= GRÜN, US= BLAU

Die kritischen Parameter Sauerstoff-Konzentration und –sättigung verliefen in allen drei Kulturen mit Schwankungen innerhalb der Toleranzgrenzen (5,3 bis 8,8 mg/l bzw. 71-116 %), wie in der folgenden Auswertung aus Delta dargestellt. Zu erkennen sind besonders starke Ausschläge in der PL-Phase (bis Tag 21) und in den ersten Tagen nach dem Transfer in ein Grow-Out Becken ([Abbildung 5-44](#)).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

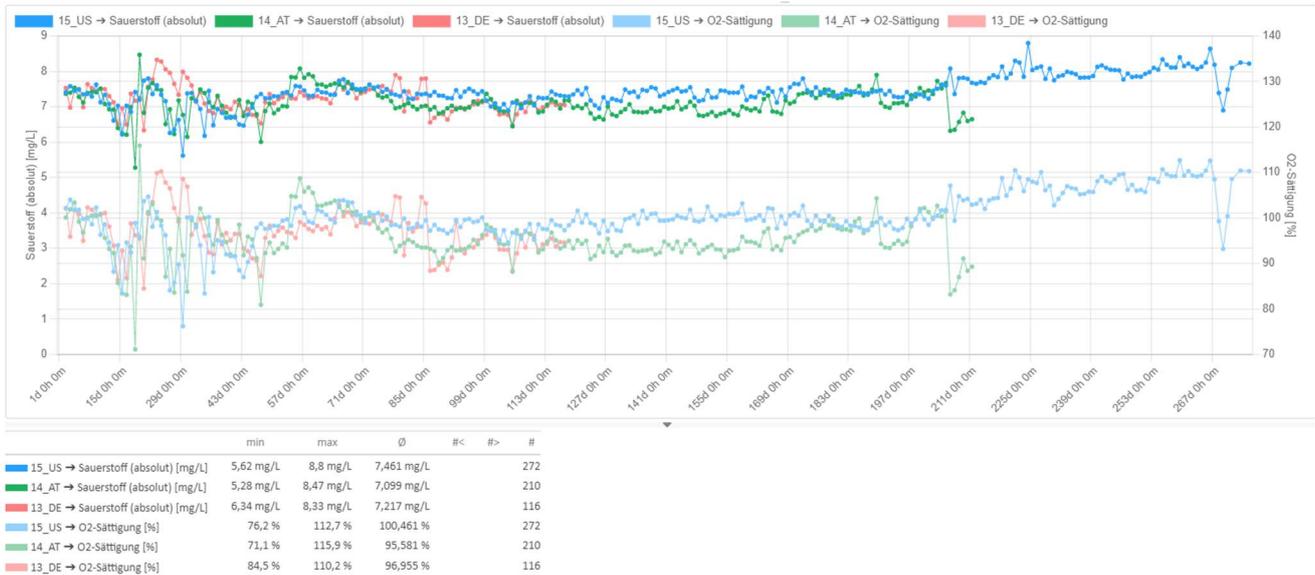


Abbildung 5-44: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Sauerstoffkonzentration und -sättigung im Kulturverlauf (Delta-Auswertung)



Abbildung 5-45: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Wassertemperatur, [°C], Salinität [ppt] und pH-Wert im Kulturverlauf (Delta-Auswertung)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

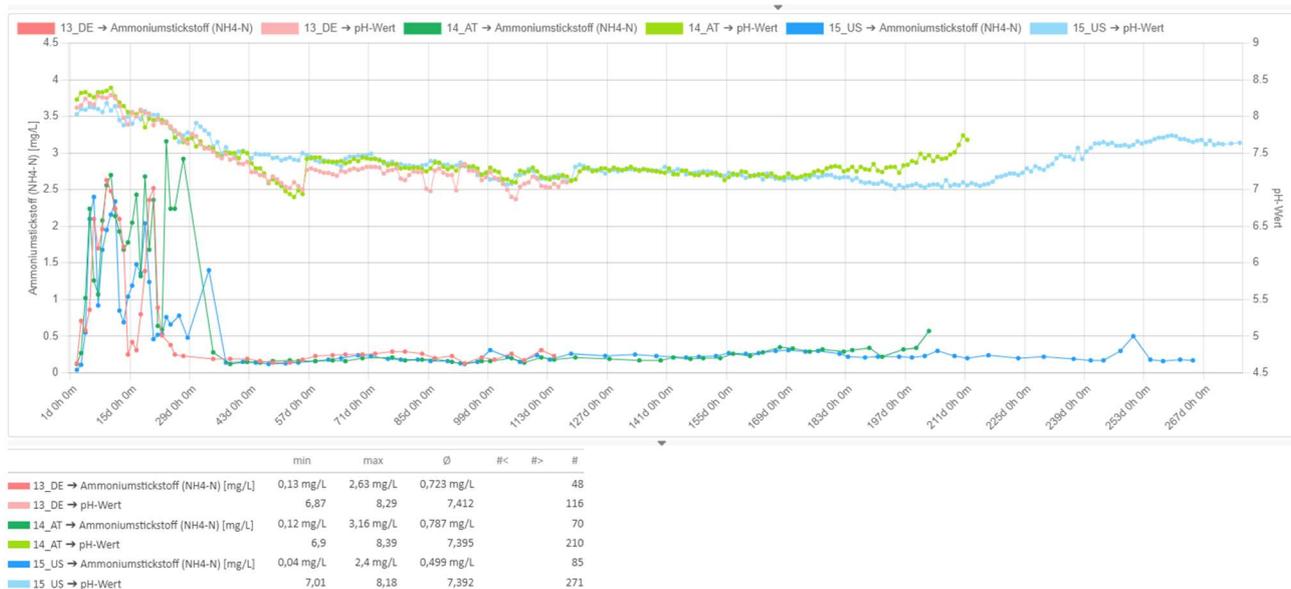


Abbildung 5-46: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Ammonium-N-Konzentrationen und pH-Wert im Kulturverlauf (Delta-Auswertung)

Im Verlauf der Kulturperiode sind hohe Ammonium-N-Konzentrationen, >1 mg/l bis etwas über 3 mg/l, ausschließlich in den PL-Becken zu beobachten, in der sog. „Nursery“-Phase, in den ersten 3-4 Wochen nach Besatz. Die PL-Becken wurden in der ersten Woche auf niedrigem Wasserstand ohne Wasseraufbereitung betrieben, um die Salinität langsam herunter zu fahren. Ab Woche zwei wurden die Becken langsam aufgefüllt, wodurch sich die Konzentration an Ammonium kurzfristig verringerte, um mit der steigenden Futtergabe erneut anzusteigen. In allen Becken wurde als Gegenmaßnahme Zucker dosiert, insgesamt pro Becken ca. 3,5 kg bis zum Transfer in eines der zugewiesenen GOB an Kulturtag 21 (Batch 13), 26 (Batch 14) bzw. 28 (Batch 15), gemäß erreichtem Entwicklungsstand.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

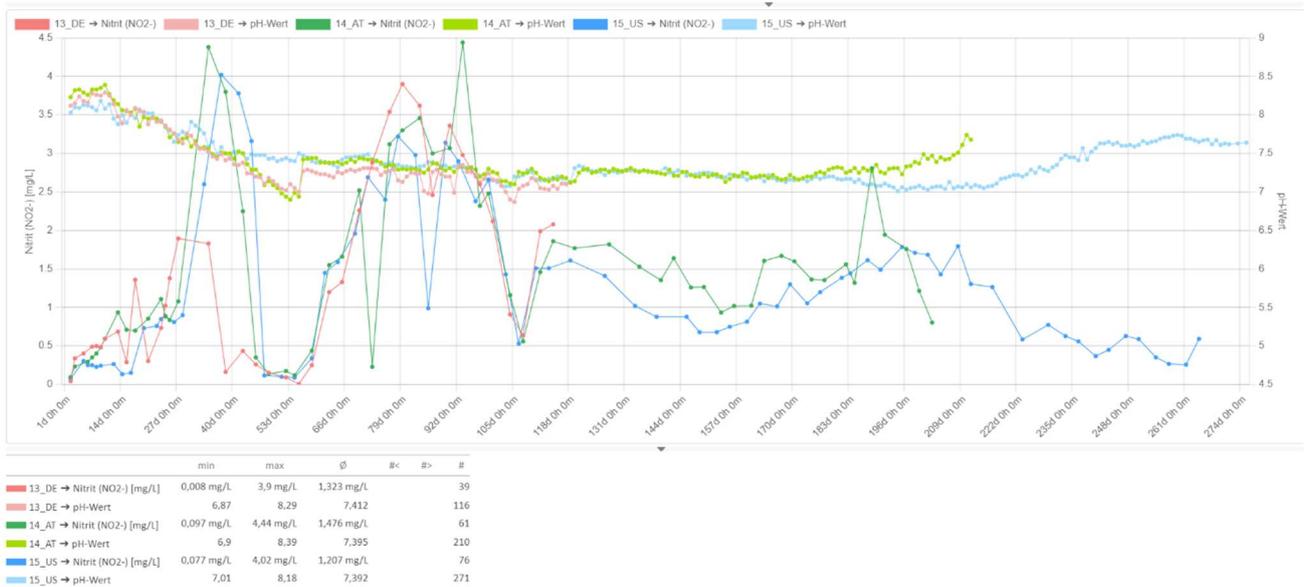


Abbildung 5-47: Bezugsquellen-Vergleich der drei parallelen Kulturen mit Batch 13\_DE, 14\_AT und 15\_US: Nitrit-N-Konzentrationen [mg/l] und pH-Wert im Kulturverlauf (Delta-Auswertung)

Die Nitrit-N-Konzentrationen steigen zeitversetzt an und bleiben in den PL-Becken noch unter 1,5 mg/l. Peaks bis zu kritischen ca. 4,5 mg/l treten erst in der Grow-Out-Phase, nach dem Umsetzen in den zuvor länger nicht besetzten GOB auf und erneut, in allen drei Kulturen nahezu parallel, ca. ab Tag 70 bis etwa Tag 100 der Kultur (entspricht November 2020). In dieser Zeitspanne lag in allen drei Kulturen der Anteil der absetzbaren Stoffe mit wenigen Ausnahmen unterhalb von 1 ml/l. Diese Beobachtung unterstreicht die Bedeutung der Bioflocs für die Nitrifizierungsleistung, vor allem für die Nitrit-Oxidierer.

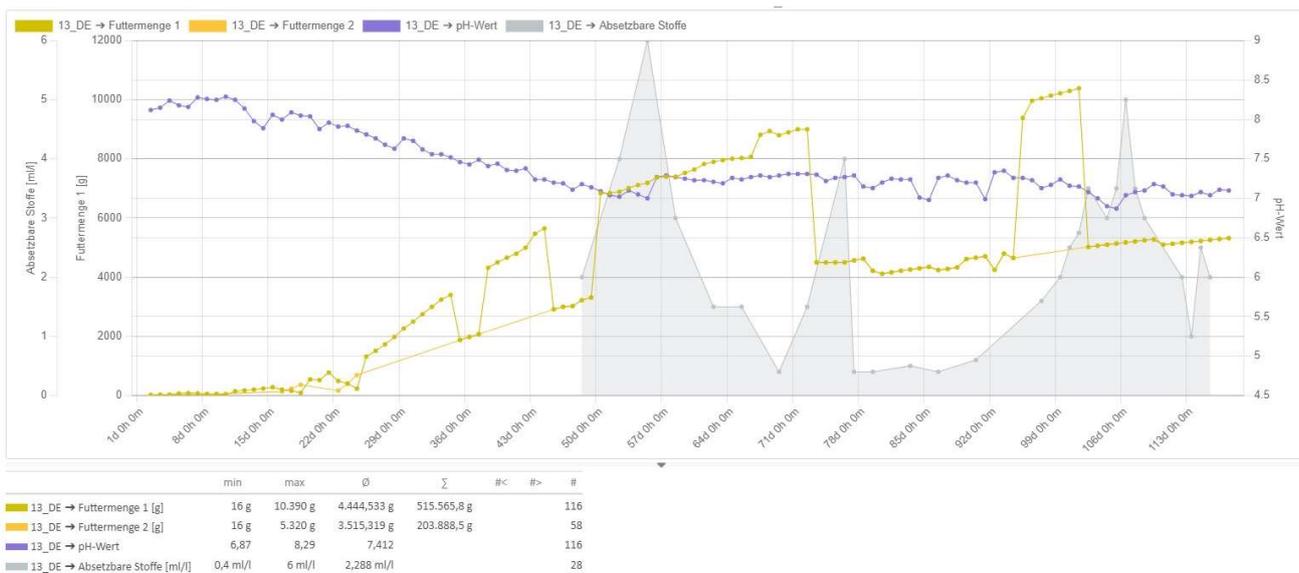


Abbildung 5-48: Bezugsquelle Deutschland (Batch 13): Delta-Auswertung von eingesetzter Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g], pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l])

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

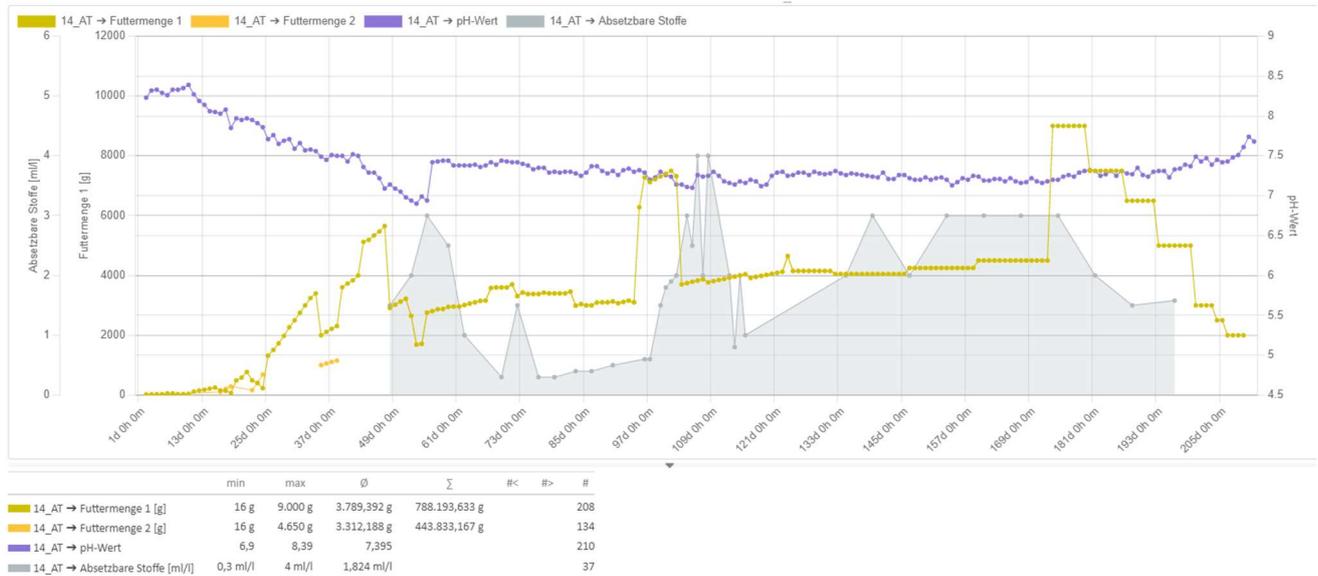


Abbildung 5-49: Bezugsquelle Österreich (1. Besatz): Delta-Auswertung von eingesetzter Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g], pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l])

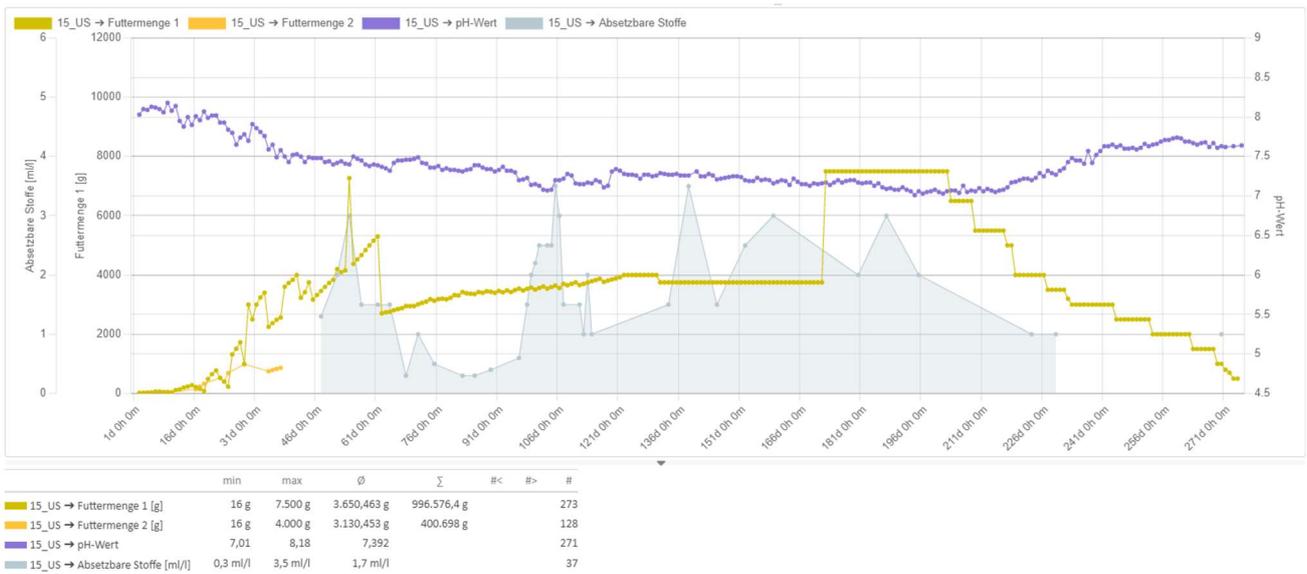


Abbildung 5-50: Bezugsquelle USA (Batch 15\_US) Delta-Auswertung von eingesetzter Futtermenge (Futterart 1 und 2 [g], pH-Wert und Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l])

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### Ergebnisse der Laboranalysen

Laboranalysen wurden auch für die Kulturen unterschiedlicher Herkunft in Auftrag gegeben, ohne einen Einfluss der Variable „Herkunft“ auf die Wasserqualität zu erwarten. Es ging auch hier vornehmlich darum, die Haltungsbedingungen, unter denen die Garnelen kultiviert wurden, zu kennen und vergleichen zu können.

Die Ergebnisse zu den Parametern Nitrat-N, Nitrit-N, Ammonium-N, abfiltrierbare Stoffe und DOC, ergänzt um vor Ort erhobene verfügbare Daten zu absetzbaren Stoffen, sind in den beiden folgenden Abbildungen dargestellt:

1. mit Bezug zu den drei parallel besetzten Kulturen aus den drei zu vergleichenden Herkunftsländern (DE, AT, US)
2. Chronologisch, unter Einbeziehung weiterer Daten aus Vergleichskulturen der entsprechenden Länder.

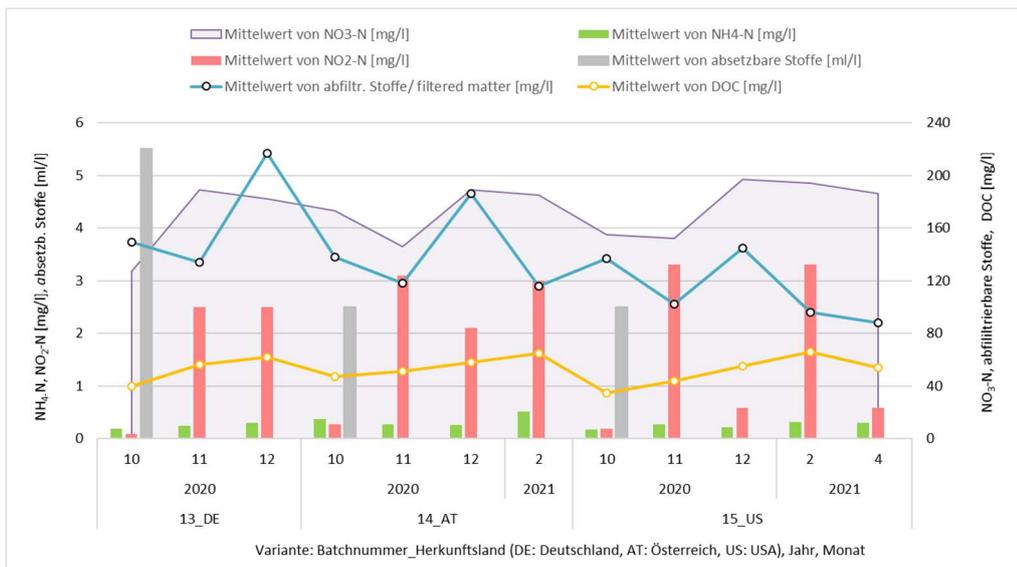


Abbildung 5-51: Labordaten Schwerpunkt Bezugsquelle, aus drei parallelen Kulturen der drei Herkunftsländer DE, AT und US: Konzentrationen gelöster Stickstoff-Formen ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  und  $\text{NO}_3\text{-N}$  [mg/l]), gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC, [mg/l]) und abfiltrierbarer Stoffe [mg/l] sowie Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] aus Beprobungen in 2020 und 2021 (an 3 bis 5 Terminen, n=1)

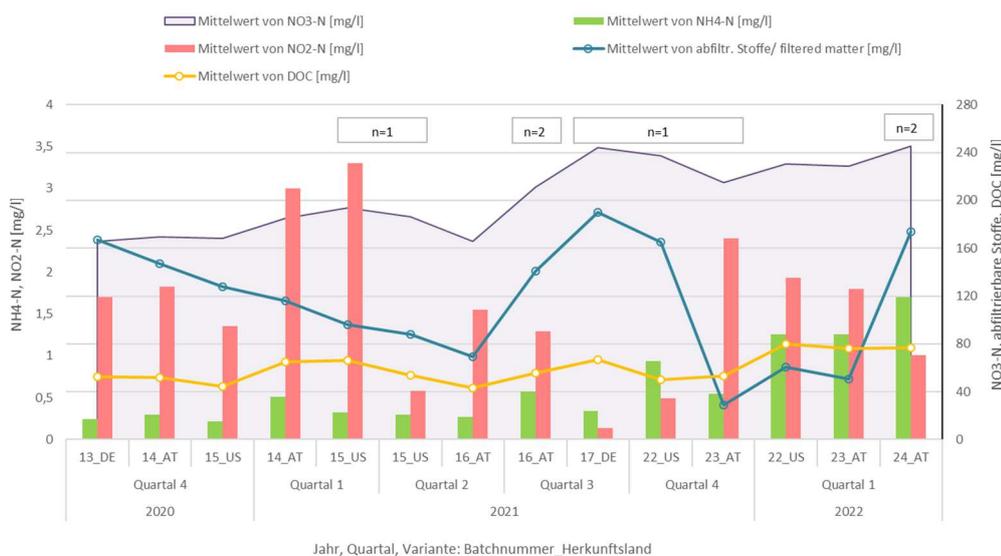


Abbildung 5-52: Labordaten Schwerpunkt Bezugsquelle aus mehreren Kulturen und Beprobungen (Quartal 4/2020 bis 1/2022): Verlauf der Konzentrationen gelöster Stickstoff-Formen ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$  und  $\text{NO}_3\text{-N}$  [mg/l]), gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC, [mg/l]) sowie abfiltrierbarer Stoffe [mg/l] (n=3 bis 4, wenn nicht anders angegeben)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Der weitere Anstieg der Nitrat-N-Konzentration erreichte ab dem 3. Quartal in 2021 bedenklich hohe Werte, denen mit dem Umbau der Wasseraufbereitung begegnet wurde (s. Kap. 4).

Auffallend ist der z.T. parallele Verlauf der Parameter Nitrat-N und abfiltrierbare Stoffe [mg/l], deren Zunahme mit dem Peak in Quartal 3 und 4 (2021) zusammen zu fallen scheint.

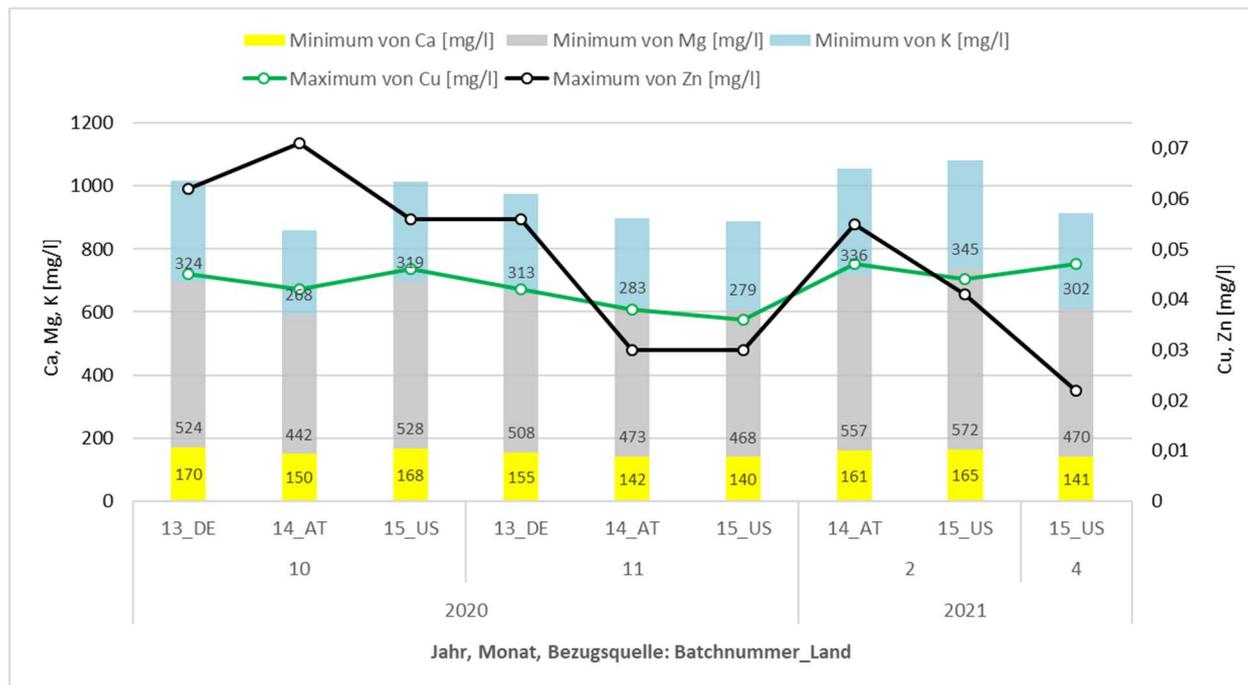


Abbildung 5-53: Labordaten Schwerpunkt Bezugsquelle, aus drei parallelen Kulturen der drei Herkunftsländer DE, AT und US: Konzentrationen der essentiellen Ionen Ca, Mg und K sowie der Schwermetall-Ionen Cu und Zn im Beobachtungszeitraum 10/2020 bis 04/2021 (n=1; Einzelwerte in dieser Pivot-Auswertung als Minimum bzw. Maximum dargestellt)

Die Hälterung der drei Vergleichskulturen verlief parallel in miteinander in Verbindung stehenden Becken und dennoch zeigen sich an gleichen Beprobungsterminen erhebliche Unterschiede in den Messwerten. So schwanken die Magnesium-Konzentrationen in 10/2020 um mehr als 80 mg/l zwischen den Kulturen 14\_At und 13\_DE, die in benachbarten Modulen waren. Auch weichen die im Labor ermittelten Zink-Konzentrationen sehr stark voneinander ab, um bis zu 30 µg/l – was schwer zu erklären ist, zumal die Kulturen dasselbe Futtermittel erhielten.

Abweichungen in Konzentrationen, die in den verschiedenen GOB von jeweils ca. 100 m<sup>3</sup> Volumen gemessen werden, können mit dem sehr niedrigen Volumenstrom im Gesamtsystem zusammenhängen.

Im Verhältnis zu Zink schwankten die Konzentrationen von Kupfer nur moderat.

Das Niveau beider Metall-Ionen ist als relativ hoch einzustufen, wobei Zink im Gesamtzeitraum eher eine abnehmende Tendenz zeigt.

#### 5.1.1.4.2 Mikrobielle Gemeinschaft in Becken von Garnelen aus unterschiedlichen Bezugsquellen

Im Schwerpunkt ‚Bezugsquelle‘ wurde bei Ankunft der Postlarven aus drei verschiedenen Zuchtbetrieben und anschließend zu zwei Zeitpunkten während der Abwachsphase in der Anlage Damm die Zusammensetzung des Mikrobioms im Wasser und im Biofilm der Haltungsbecken und auf dem Carapax von Garnelen untersucht. Zeitpunkt t1 war Kulturtag 50 und Zeitpunkt t2 war Kulturtag 85. Es lagen demnach 5 Wochen zwischen den Beprobungsterminen.

Postlarven-, Garnelen- und Wasserproben mit Kennung „DE“ repräsentieren die Variante „Bezugsquelle Deutschland“, die Kennung „US“ bezeichnet Proben aus der Variante „Bezugsquelle USA“ und die Kennung „AT“ steht für Proben aus der Variante „Bezugsquelle Österreich“.

Das Mikrobiom der Postlarven wurde von 503 bis 1037 Bakterientaxa gebildet ([Tabelle 5-10](#)), mit einem Kernbereich von 143 gemeinsamen und 134 bis 568 speziellen Taxa ([Abbildung 5-54](#)). Es wurden bei allen Postlarven überwiegend Bakterien aus dem Stamm Proteobacteria, die einen Anteil von ca. 75 % der Gemeinschaft ausmachten, und aus dem Stamm Bacteriodesa gefunden ([Abbildung 5-55](#)). Trotz der relativ hohen Artenzahl und der relativ großen Diversität der Gemeinschaft wurde sie bei Postlarven aus Deutschland durch Bakterien der Gattung *Vibrio* (Proteobacteria: Gammaproteobacteria) dominiert, die zwischen 43 und 50 % der Gemeinschaft bildeten. Bei Postlarven aus dem Betrieb in Österreich bildeten Bakterien der Familie Vibrionaceae, mit den Gattungen *Vibro* und *Photobacterium* lediglich einen Anteil von 14-40 % der Gemeinschaft, allerdings waren Photobakterien bei einigen Postlarven (4 von 6) in einem signifikanten Anteil von 4 bis 23 % vertreten. Im Biofilm der Postlarven aus dem Zuchtbetrieb in den USA waren Photobakterien in einem Anteil von weniger als 1 % vorhanden, aber auch bei diesen Postlarven dominierten Vibrionen die Gemeinschaft mit Anteilen von 28 bis 57 % der nachgewiesenen Taxa.

Die Anzahl Arten in der mikrobiellen Gemeinschaft war bei Postlarven aus allen drei Herkunftsorten signifikant geringer als während der Abwachsphase an den Zeitpunkten t1 und t2. Außerdem war die mikrobielle Gemeinschaft bei Postlarven aus allen drei Herkunftsorten von einer phylogenetisch geringeren Diversität als zu allen untersuchten Zeitpunkten der Abwachsphase. Ein Vergleich der Alpha-Diversität der Gemeinschaften ergab anhand der Indices Chao-1, ACE und Good's coverage, dass die Gemeinschaft auf Postlarven mit der Herkunft USA eine geringere Diversität aufwies, als die Gemeinschaft auf den Postlarven aus Deutschland bzw. Österreich. Auch ein Vergleich der Gemeinschaften mittels ANOSIM zeigte, dass die mikrobielle Gemeinschaft auf den Postlarven aus allen drei Zuchtbetrieben untereinander signifikant verschieden waren ([Tabelle 5-11](#)).

Während der Abwachsphase der Garnelen veränderte sich die mikrobielle Gemeinschaft auf dem Carapax signifikant. Der Anteil an Proteobacteria an der Gemeinschaft wurde geringer, der Anteil an Bacteriodesa, Actinobacteriota und aus anderen Stämmen nahm zu ([Abbildung 5-55](#)). So waren in der Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus deutscher Zucht Vibrionen nur noch zu 2 bis 5 % vertreten und es wurden mehrere bisher nicht klassifizierte Taxa aus unterschiedlichen Bakterienstämmen gefunden. Stattdessen wurden Bakterien aus den Gattungen *Taeseokella*, *Thiothrix* und *Thalassotalea* nachgewiesen. Vergleichbare Beobachtungen wurden auch für den Biofilm von Garnelen aus den anderen Herkunftsorten gemacht. Die Diversität entsprechend des Shannon-Indexes erhöhte sich geringfügig von 4,8 bis 6,1 bei Postlarven auf 4,9 bis 6,8 in der ersten Garnelenprobe und reduzierte sich im weiteren Verlauf auf 4,2 bis 6,5. Gleichzeitig nahm die phylogenetische Diversität von 141- 185 bei Postlarven zunächst erheblich auf 340 bis 565 zu und reduzierte sich dann nach 4 Wochen auf 202 bis 311 ([Tabelle 5-11](#)).

Zu diesem Zeitpunkt hatte der Anteil der Bakterien aus den Gattungen *Taeseokella* (Stamm *Bakterioidota*), *Thiothrix* und *Thalassotalea* erheblich zugenommen und bildete einen signifikanten Anteil an der bakteriellen Gemeinschaft auf dem Carapax, wie bei Garnelen aus den beiden anderen Schwerpunkt-Untersuchungen beobachtet (s. Kap. 5.1.1.2.2 und 5.1.1.3.2). Allerdings waren trotz dieser Angleichungen die Gemeinschaften auf dem Carapax der Garnelen auch während der Abwachsphase in allen Proben signifikant voneinander unterschiedlich ([Tabelle 5-12](#)). Vor allem unterschied sich die mikrobielle Gemeinschaft auf Postlarven signifikant von der Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen während der Abwachsphase, insbesondere in Hinblick auf den höheren Anteil an Proteobacteria und dem geringeren Gehalt an Bacteriodesa und Actinobacteriota ([Abbildung 5-55](#)).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Tabelle 5-10: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben bei Besatz (Probennahme-Zeitpunkt: t0)

Probe	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Index	Chao1	ACE	Goods coverage	Phylogenet. Distanz Gesamter Stammbaum
PL DE, t0	724	5,691	0,902	1.107.759	1.164.029	0,971	185.027
PL US, t0	503	4,890	0,891	825.296	832.030	0,979	141.493
PL AT, t0	1037	6,195	0,938	1.753.059	1.850.855	0,953	167.867

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes von Postlarven aus den Zuchtbetrieben DE, US, und AT bei Ankunft in der Garnelenfarm (t0).

Tabelle 5-11: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm auf dem Carapax von Garnelen aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben während der Abwachsphase (Probennahme-Zeitpunkte: t1 und t2)

Probe	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Index	Chao1	ACE	Goods_coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
DE t1	508	4,913	0,874	689.156	732.693	0,983	340.464
US t1	466	6,830	0,985	629.012	719.139	0,985	384.513
AT t1	707	6,380	0,957	992.339	1.004.929	0,976	565.159
DE t2	464	4,225	0,817	653.239	686.878	0,983	202.081
US t2	645	6,137	0,943	858.559	887.203	0,979	259.501
AT t2	651	6,537	0,964	856.579	893.389	0,980	311.126

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes von Postlarven aus den Zuchtbetrieben AT, DE, und US während der Abwachsphase zu den Probennahme Zeitpunkten t1 und t2.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Tabelle 5-12: Vergleich der Beta-Diversität der mikrobiellen Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Herkunft (DE, US, AT) mittels verschiedener nicht-parametrischer Testmethoden (Gruppe PL: t0)

Vergleich der Gruppen		Testmethode		
		ANOSIM	MRPP	Adonis
PL DE	PL US	x		x
PL DE	PL AT	x	x	x
PL US	PL AT	x	x	
PL DE	DE t1	x	x	
PL DE	DE t2	x	x	x
PL US	US t1	x	x	x
PLUS	US t2	x	x	x
PL AT	AT t1		x	x
PL AT	AT t2	x	x	x
DE t1	DE t2	x	x	x
US t1	US t2	x	x	
AT t1	AT t2	x	x	x
DE t1	US t1	x	x	
DE t1	AT t1	x	x	
US t1	AT t1		x	x
DE t2	US t2	x	x	x
DE t2	AT t2	x	x	x
US t2	AT t2	x		x

Verglichen wurde das Mikrobiom auf dem Carapax von n=6 Postlarven (PL) und daraus abwachsende Garnelen aus den Zuchtbetrieben DE (PL DE, Becken DE) US (PL US, Becken US) und AT (PL AT, Becken AT) an zwei Probenzeitpunkten t1 und t2 mittels „Analysis of Similarity, ANOSIM“, Multi response permutation procedure (MRPP)-Analyse und ADONIS Analyse. „X“ zeigt an, dass die Varianz zwischen Gruppen größer ist als innerhalb der Gruppen und sich somit die Gemeinschaften signifikant unterscheiden.

### Mikrobielle Gemeinschaft im Wasser

Die mikrobielle Gemeinschaft im Transportwasser der Postlarven aus den unterschiedlichen Zuchtbetrieben wurde von 533 bis 547 Bakterientaxa aus den Stämmen Proteobacteria, Bacteroida und Actinobactiota gebildet (*Tabelle 5-13*, *Abbildung 5-54*). Die Gemeinschaft wurde jeweils von unterschiedlichen Bakteriengattungen der Alphaproteobacteriodes dominiert, die im Seewasser beschrieben wurden, über deren Biologie jedoch wenig bekannt ist.

Vibrionen, die einen hohen Anteil der bakteriellen Gemeinschaft auf dem Carapax von Postlarven bildeten, wurden im Wasser zwar nachgewiesen, jedoch in einem Anteil von ca. 0,1 % an der Gemeinschaft. Im Wasser aus zwei Zuchtbetrieben waren auch Bakterien aus dem Stamm Nitrospirota vorhanden.

Nach dem Einsetzen der Postlarven in Becken des hier untersuchten Betriebs, während der Abwachsphase der Garnelen, veränderte sich die Anzahl Arten nur geringfügig, auch erhöhte sich die Diversität, ermittelt anhand des Shannon Indexes, nur in geringem Maße von 3,99-4,1 auf zunächst 4,4 bis 5,6 in der ersten Probe und lag in der zweiten Probe bei 3,8-4,9 (*Tabelle 5-13* und *Tabelle 5-14*). In der Gemeinschaft nahm in erster Linie der Anteil der Actinobactiota und zum Teil der Anteil der Bacteroida zu Lasten der Proteobacteria erheblich zu (s. *Abbildung 5-54* und *Abbildung 5-55*). Insbesondere PeM15\_Actinobactiota, Bakterien, die zuvor in Wasser mit höherem Salzgehalt nachgewiesen worden waren, dominierten die Gemeinschaften während der Abwachsphase. Ein Kernbereich von 92 Taxa kam in allen Wasserproben vor. Wasser, in denen die Postlarven geliefert wurden, enthielt jeweils 44 bis 59 spezifische Taxa. Während der Abwachsphase wurden in den einzelnen Wasserproben 13 bis 70 spezifische Bakterientaxa gefunden.

*Tabelle 5-13: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Transportwasser von Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben bei Besatz*

Wasser Postlaven	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Index	Chao1	ACE	Goods_coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
PL DE	547	4,187	0,775	803.963	862.306	0,978	110.183
PL US	533	3,946	0,780	797.443	822.505	0,979	110.234
PL AT	541	3,984	0,751	752.010	781.088	0,981	135.398

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes von Wasser mit Postlarven aus den Zuchtbetrieben Deutschland, Österreich und den USA.

Tabelle 5-14: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser vom Becken, in die Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben eingesetzt worden waren, während der Abwachsphase (Probennahme-Zeitpunkte: t1 und t2)

Wasser aus Becken	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Index	Chao1	ACE	Goods_coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
DE t1	467	4,476	0,866	668.495	712.155	0,982	155.305
US t1	469	4,982	0,914	721.577	746.559	0,982	104.585
AT t1	590	5,623	0,946	947.897	988.737	0,976	132.677
DE t2	365	3,806	0,755	633.552	698.565	0,984	157.773
US t2	506	4,498	0,827	735.901	805.416	0,980	91.808
AT t2	413	4,227	0,808	672.214	722.323	0,982	107.872

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes von Wasser aus Becken mit Postlarven aus den Zuchtbetrieben AT, DE und US während der Abwachsphase zu den Probennahme-Zeitpunkten t1 und t2.

Im Biofilm in den Grow-Out Becken wurden während der Abwachsphase zwischen 539 und 921 verschiedene Bakterientaxa gefunden. Zu Beginn der Abwachsphase bildeten PeM15\_Actinobactiota noch eine wichtige Komponente der Gemeinschaft und Bakterien aus dem Stamm Nitrospirota wurden in einem nennenswerten Anteil von ca. 15 % gefunden. Nach 4 Wochen hatte der Anteil an Proteobacteria, Actinobacteriota und Bacteroidota signifikant abgenommen und Bakterien aus dem Stamm Nitrospirota bildeten die Hauptkomponente der Gemeinschaft.

Dieses Ergebnis zeigt an, dass sich eine stabile nitrifizierende Gemeinschaft im Biofilm auf den Beckenwänden entwickelt hatte. Die Gemeinschaft im Biofilm hatte während der ersten Probennahme mit einem Shannon-Index von 6,9 bis 7,8 eine hohe Diversität, die im Vergleich dazu mit zu 3,0 bis 6,5 in der zweiten Probennahme 4 Wochen später an Diversität eingebüßt hatte (Tabelle 5-15). So wurden während der ersten Probennahme in den Becken zwischen 61 und 88 spezifische Taxa gefunden, in der zweiten Probennahme hatte sich das Spektrum auf 18-62 spezifische Taxa reduziert (s. Abbildung 5-55)

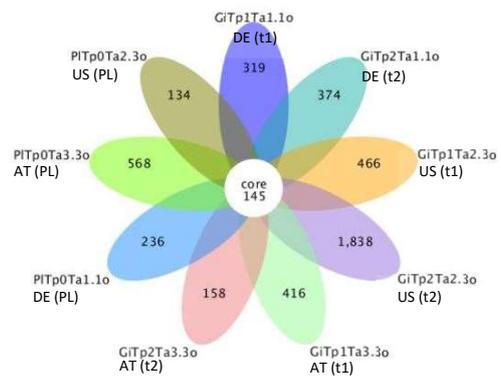
Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Tabelle 5-15: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm vom Becken, in die Postlarven aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben eingesetzt worden waren während der Abwachsphase (Zeitpunkte t1 und t2)

Biofilm aus Becken	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Index	Chao1	ACE	Goods_coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
DE t1	821	7,171	0,970	1.098.104	1.146.598	0,974	147.722
US t1	822	6,964	0,972	1.165.406	1.155.688	0,973	147.931
AT t1	921	7,886	0,989	1.272.212	1.235.890	0,972	154.424
DE t2	539	3,045	0,489	845.221	842.120	0,979	95.765
US t2	729	5,801	0,893	960.489	1.009.908	0,977	132.681
AT t2	760	6,555	0,955	1.027.008	1.052.010	0,976	125.102

Dargestellt ist die Anzahl Bakterientaxa sowie Diversitätsindizes von Wasser aus Becken mit Postlarven aus den Zuchtbetrieben AT, DE und US während der Abwachsphase zu den Probenahme Zeitpunkten t1 und t2.

**Bakterielle Gemeinschaft in:  
Biofilm auf Postlarven und Garnelen**



**Wasser und im Biofilm in Becken**

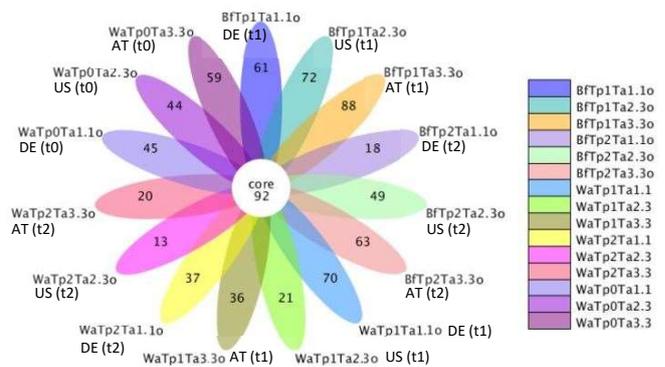


Abbildung 5-54: Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser und im Biofilm in den besetzten Becken und auf dem Carapax von Garnelen aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben

Dargestellt ist die Anzahl gemeinsamer Arten (core) und spezifischer Arten auf dem Carapax von Garnelen (Gi), linke Graphik, sowie in Wasser (Wa) und im Biofilm (Bf) in der rechten Graphik an zwei Zeitpunkten (t1, t2) jeweils für die Herkunft DE (Ta1.1), US (Ta2.3) und AT (Ta3.3). Außerdem ist zu Zeitpunkt t0 die Anzahl gemeinsamer und spezifischer Arten im Biofilm auf den Postlarven (PITp0) aus den Betrieben DE, US und AT (linke Graphik) sowie im Wasser der Postlarven aus Betrieb DE (WaTp0Ta1.1), US (WaTp0Ta2.3) und AT (WaTp0Ta3.3) in der rechten Graphik dargestellt.

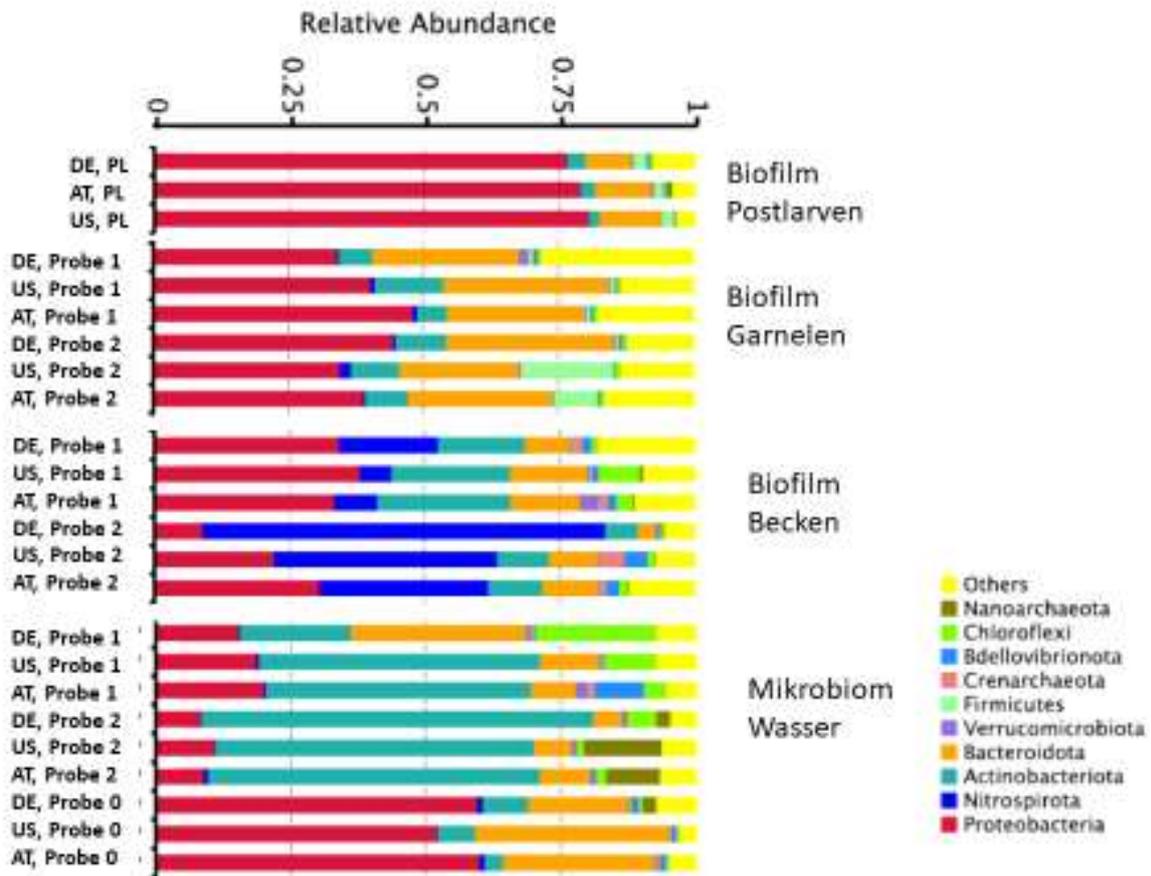


Abbildung 5-55: Relative Abundanz von Bakterien aus unterschiedlichen Bakterien-Phyla in der mikrobiellen Gemeinschaft im Wasser und dem Biofilm aus Becken und vom Carapax von Garnelen und Postlarven aus unterschiedlichen Herkunftsbetrieben (DE: Deutschland, AT: Österreich, US: USA; Probe 0: Transportwasser der Postlarven aus den Zuchtbetrieben, bei Ankunft)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

5.1.1.4.3 *Zootechnische Parameter*

In 2020 gelang es einmalig, parallel Postlarven aus den drei Herkunftsländern: Deutschland, Österreich und dem bis dahin einzigen, im Betrieb Damm Aquakultur relevanten Herkunftsland USA zu besetzen. Die Chargen konnten mit halber Besatzzahl über den gesamten Kulturdurchgang jeweils in einem Grow-Out-Becken verbleiben und mussten nicht auf ein zweites verteilt werden.

Am Ende der Nursery-Phase wurden jeweils mindestens 25 Postlarven vermessen und erwiesen sich als unterschiedlich.

Die PL aus deutscher Herkunft waren am weitesten entwickelt, dann folgten die PL aus Österreich und die PL aus den USA.

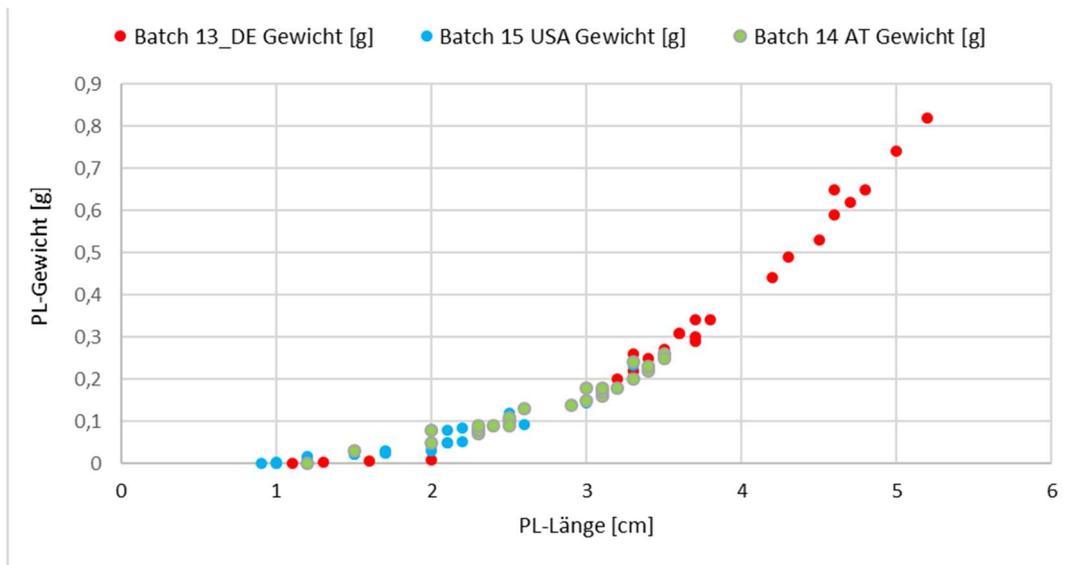


Abbildung 5-56: Vergleich der Bezugsquellen von parallel besetzten PL aus DE, AT und USA: Verteilung der vermessenen PL nach Körpergewicht und –länge an Tag 21 der Kultur

	Batch 13_DE		Batch 14_AT		Batch 15_USA	
	Länge [cm]	Gewicht [g]	Länge [cm]	Gewicht [g]	Länge [cm]	Gewicht [g]
Mittelwert	3,52	0,35	2,70	0,14	1,89	0,06
Std. Abw.	1,21	0,24	0,62	0,07	0,67	0,06
Median	3,7	0,31	2,75	0,135	2	0,03

Referenzgewicht aus Futtertabelle an Kulturtag 21:	<b>0,194 g (=100%)</b>
Abweichung des mittleren PL-Gewichts zum Referenzgewicht in %	
für PL aus DE	178%
für PL aus AT	71%
für PL aus USA	29%

An Tag 49 der Kultur wurde eine weitere Einzelvermessung durchgeführt, mit folgendem Ergebnis:

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

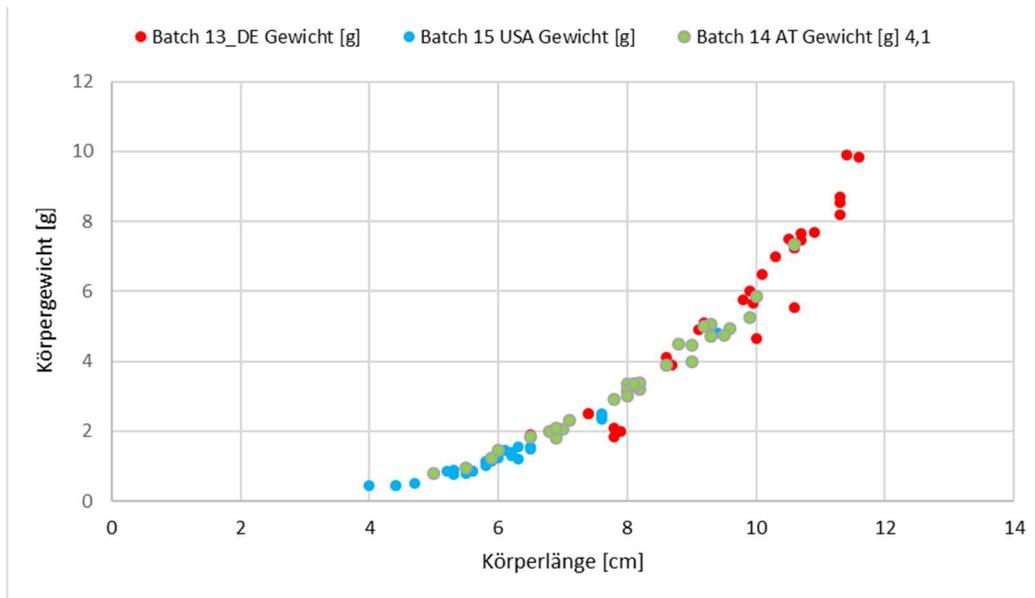


Abbildung 5-57: Vergleich der Bezugsquellen von parallel besetzten PL aus DE, AT und USA: Verteilung der vermessenen PL nach Körpergewicht und –länge an Tag 49 der Kultur

	Batch 13_DE		Batch 14_AT		Batch 15_USA	
	Länge [cm]	Gewicht [g]	Länge [cm]	Gewicht [g]	Länge [cm]	Gewicht [g]
Mittelwert	9,60	5,62	8,06	3,42	6,06	1,39
Std. Abw.	1,42	2,41	1,40	1,53	1,16	0,91
Median	9,95	5,65	8,1	3,35	5,9	1,15
Referenzgewicht aus Futtertabelle an Kulturtag:	49		2,8 g (=100%)			
Abweichung des mittleren PL-Gewichts zum Referenzgewicht in %						
für PL aus DE	201%					
für PL aus AT	122%					
für PL aus USA	50%					

Die drei parallel besetzten Kulturen zeigten auch im weiteren Kulturverlauf ausgeprägte Unterschiede im Wachstum (s. [Abbildung 5-58](#))

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

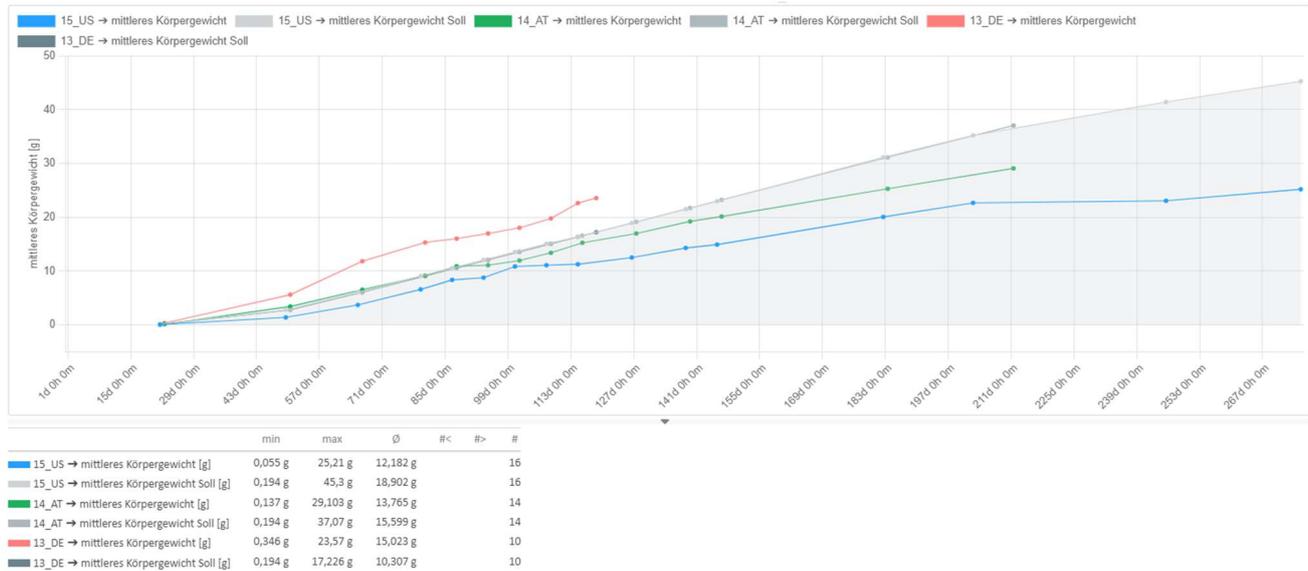


Abbildung 5-58: DeltaA-Auswertung zum Vergleich parallel besetzter Garnelen aus den Bezugsquellen DE, AT und USA : Verlauf des mittleren Körpergewichts (MBW) im Verhältnis zum Soll-Gewicht nach Futtertabelle (Füllkurve) in den unterschiedlichen langen Kulturzyklen

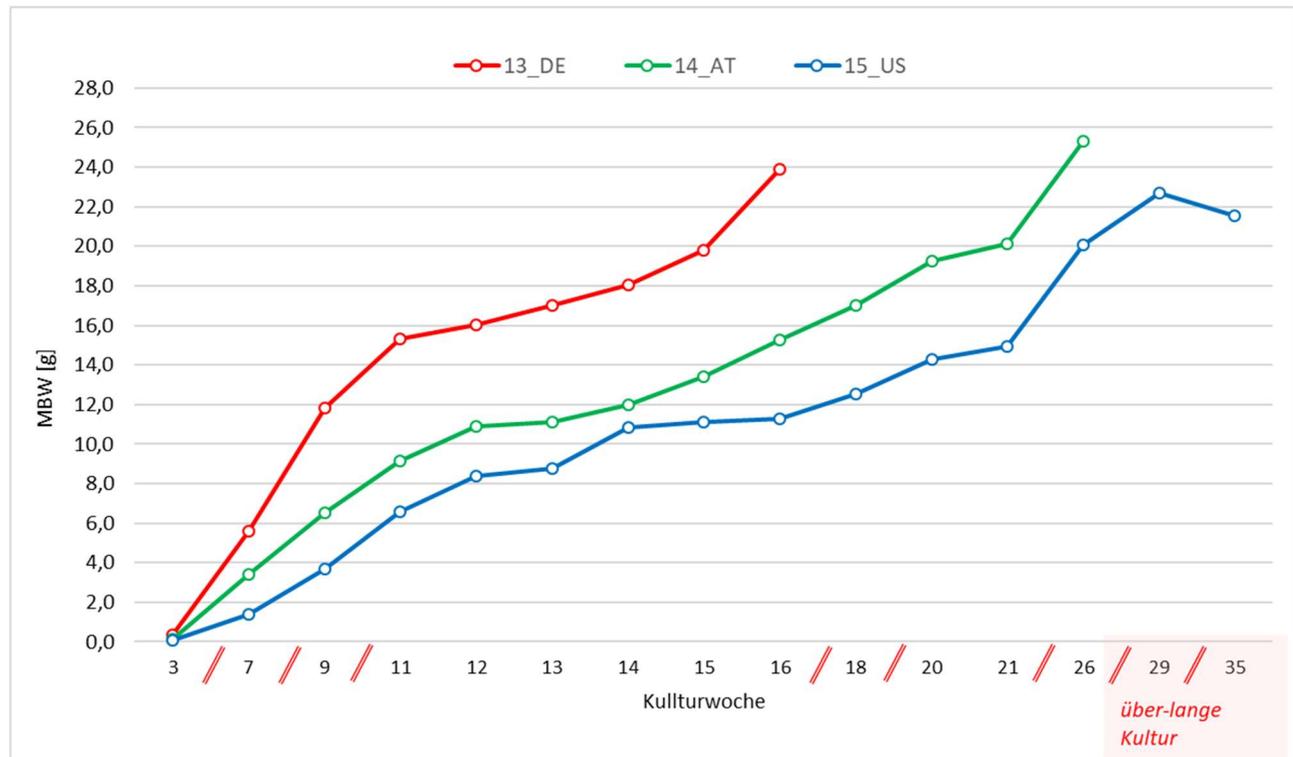


Abbildung 5-59: excel-Auswertung zum Vergleich parallel besetzter Garnelen aus den Bezugsquellen DE, AT und USA : Verlauf des mittleren Körpergewichts (MBW) in den unterschiedlichen langen Kulturzyklen (n=25 in Woche 3, ab Woche 7 n=31 bis 101; x-Achse: Zeitabstände variieren)

Postlarven aus Deutschland zeigten hier die besten Ergebnisse, gefolgt von Besetztieren aus Österreich und zuletzt von Postlarven aus den USA. Diese auf den ersten Blick eindeutigen Unterschiede relativieren sich jedoch, wenn weitere Kulturdurchgänge betrachtet werden.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

**Vergleich zootechnischer Daten der Kulturdurchgänge von Garnelen verschiedener Herkunft im Gesamt-Beobachtungszeitraum (Besatz ab 2019 bis 2021)**

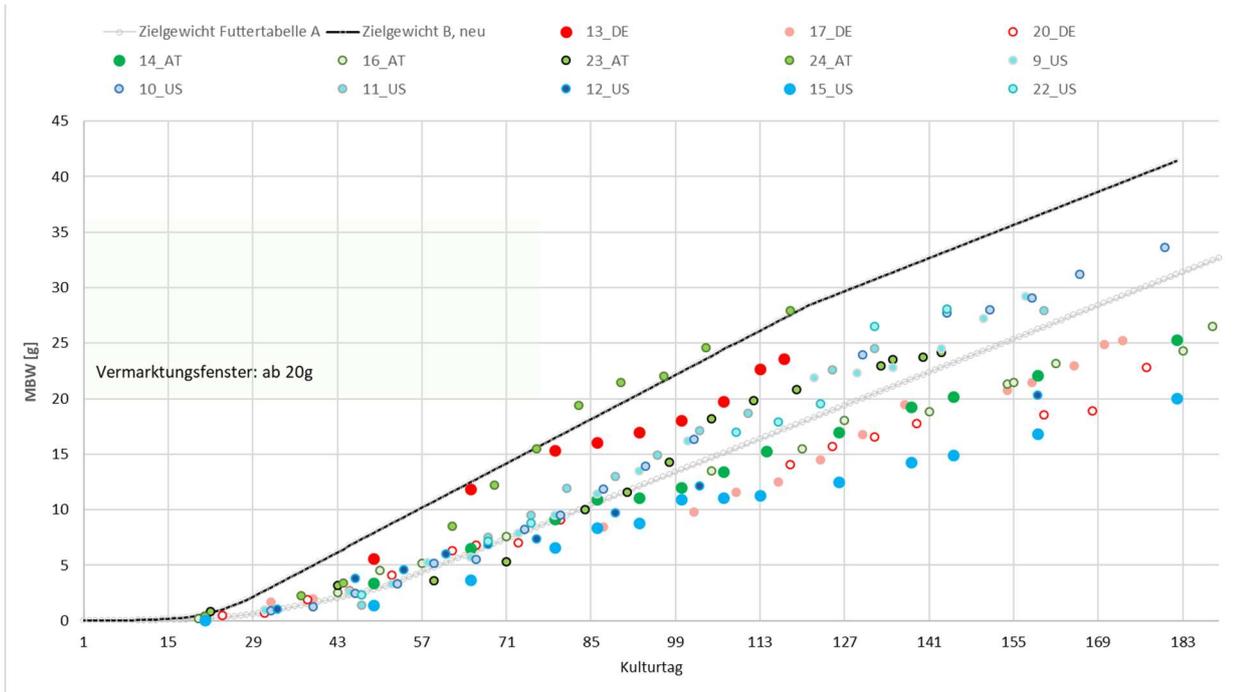


Abbildung 5-60: Mittleres Körpergewicht (MBW) [g] im Kulturzyklus von Garnelen unterschiedlicher Herkunft (3 Batches aus DE, 4 aus AT, 6 aus USA, Referenz: Zielgewicht aus Futtertabelle A bis 2021, Zielgewicht B aus neuer Futtertabelle ab 2022; x-Achse: Zeitabstände 14 Tage)

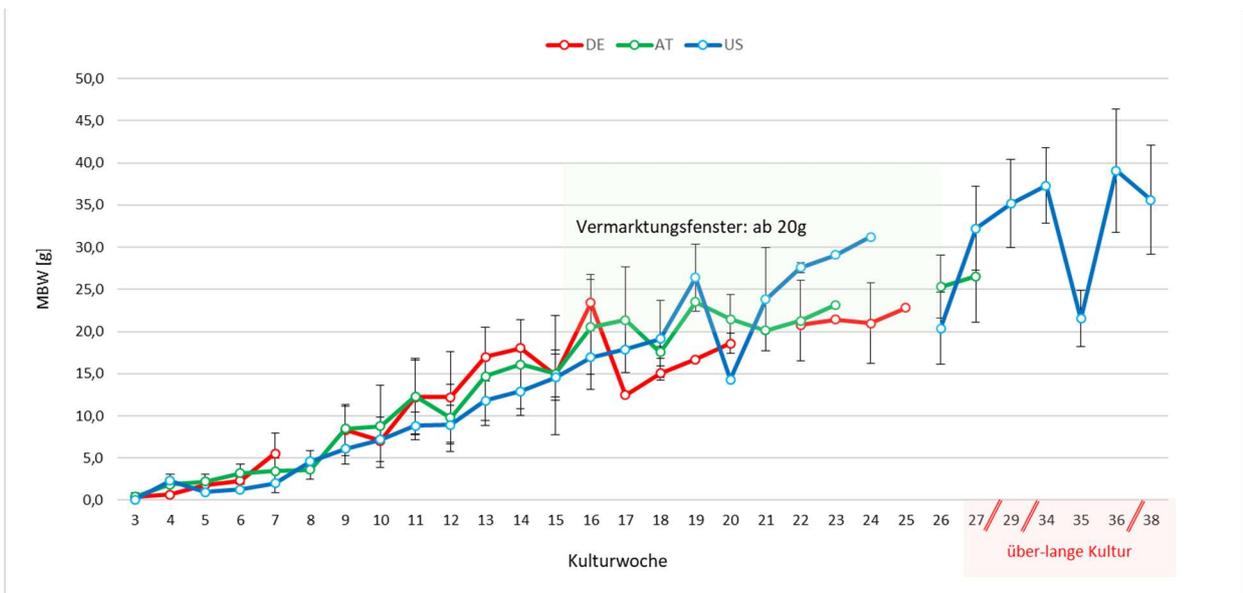
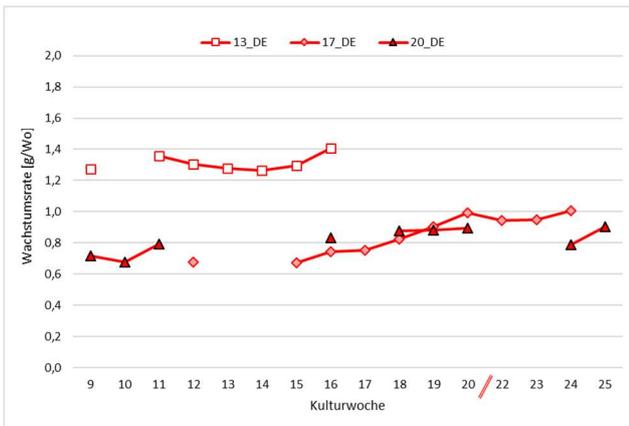


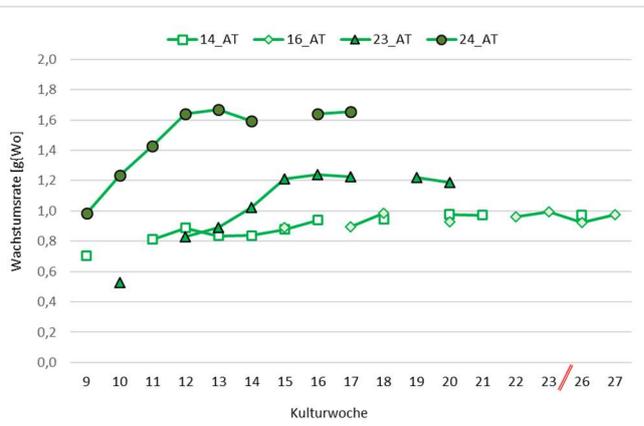
Abbildung 5-61: PL-Herkunft aus DE, AT und USA: Mittleres Körpergewicht (MBW) im Kulturverlauf, jeweils als Mittelwert aus mehreren Kulturdurchgängen (DE: 3x, AT: 4x, USA: 6x besetzt in 2019, 2020 und 2021 – ohne die zwei Kulturen mit abweichender Belüftungstechnik aus Schwerpunkt 1)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

PL-Herkunft: 1. Deutschland



2. Österreich



3. USA

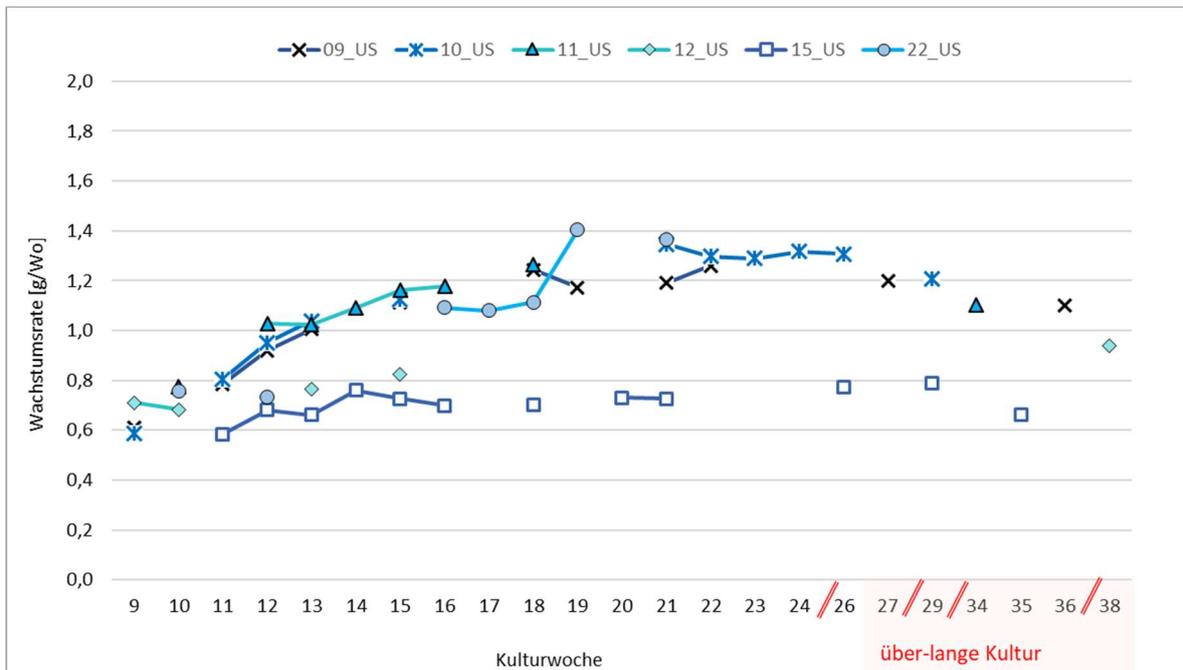


Abbildung 5-62: PL-Herkunft aus DE, AT und USA: Wachstumsraten [g/Wo] ab Besatztermin berechnet über den Kulturverlauf, für 3, 4 bzw. 6 Kulturdurchgänge pro Land (Besatz zwischen Ende 2019 bis Ende 2021)

Die Streuung der Wachstumsraten von Besatztieren aus den drei untersuchten Herkunftsländern ist sehr hoch, sodass kein eindeutiger Trend erkennbar ist.

Bei einigen der US-Chargen zeigen die letzten Werte im Bereich einer extrem langen Kulturdauer eine abnehmende Tendenz (Batch # 9, 10, 11 und 15).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### Zootechnische Daten aus Einzelmessungen

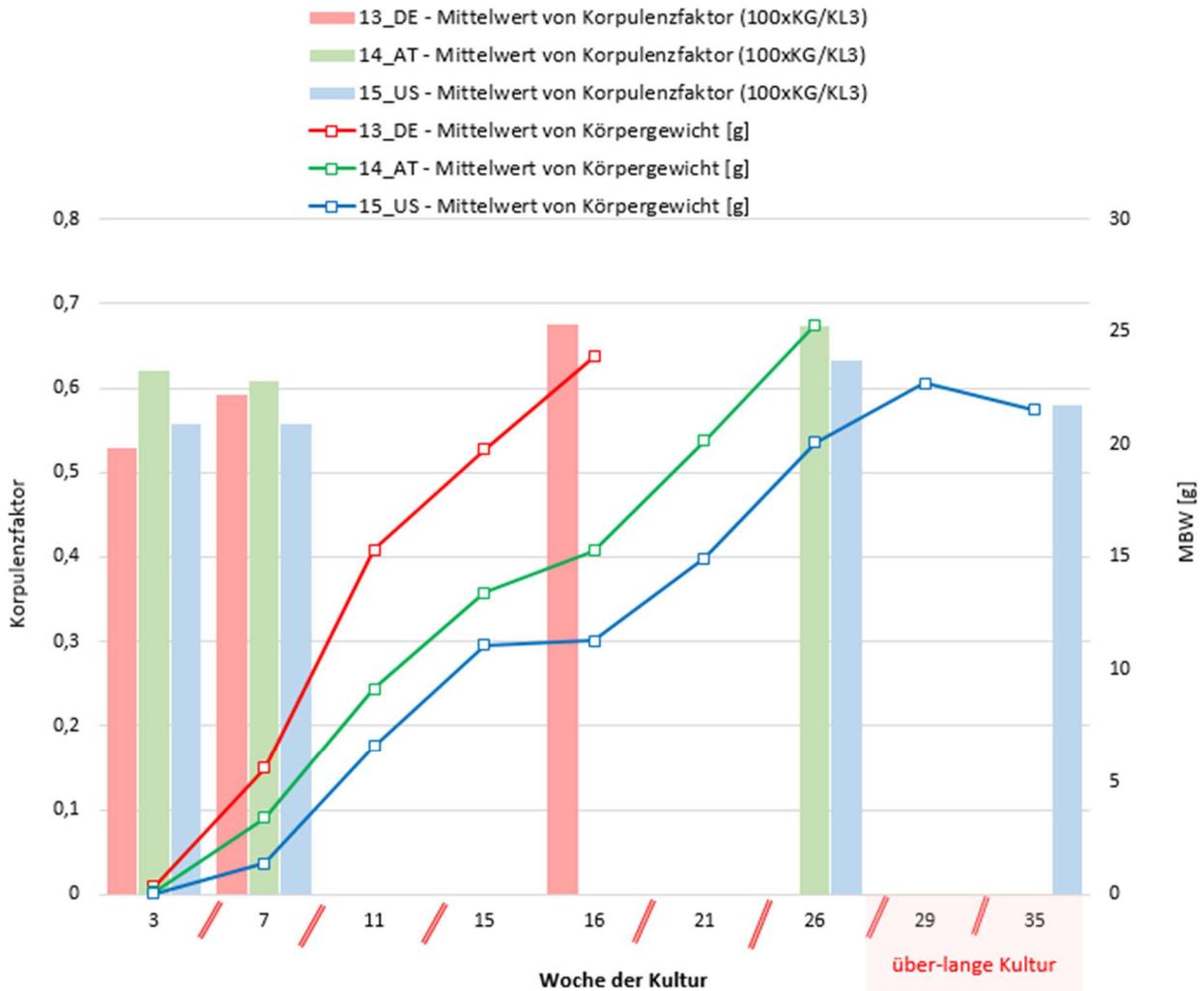


Abbildung 5-63: PL-Bezugsquellen DE, AT und USA aus parallel besetzten Kulturen: mittleres Körpergewicht und daraus ermittelter Korpulenzfaktor (100xGewicht [g]/ Länge<sup>3</sup> [cm]) im Kulturverlauf (je eine Kultur/ Herkunft, n= 25 bis 60; x-Achse: Zeitabstände variieren)

Die Werte für den Korpulenzfaktor steigen tendenziell mit dem Alter der Garnelen im Kulturverlauf an. Bei Batch 15 geht bei überlanger Kultur der Korpulenzfaktor etwas zurück.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

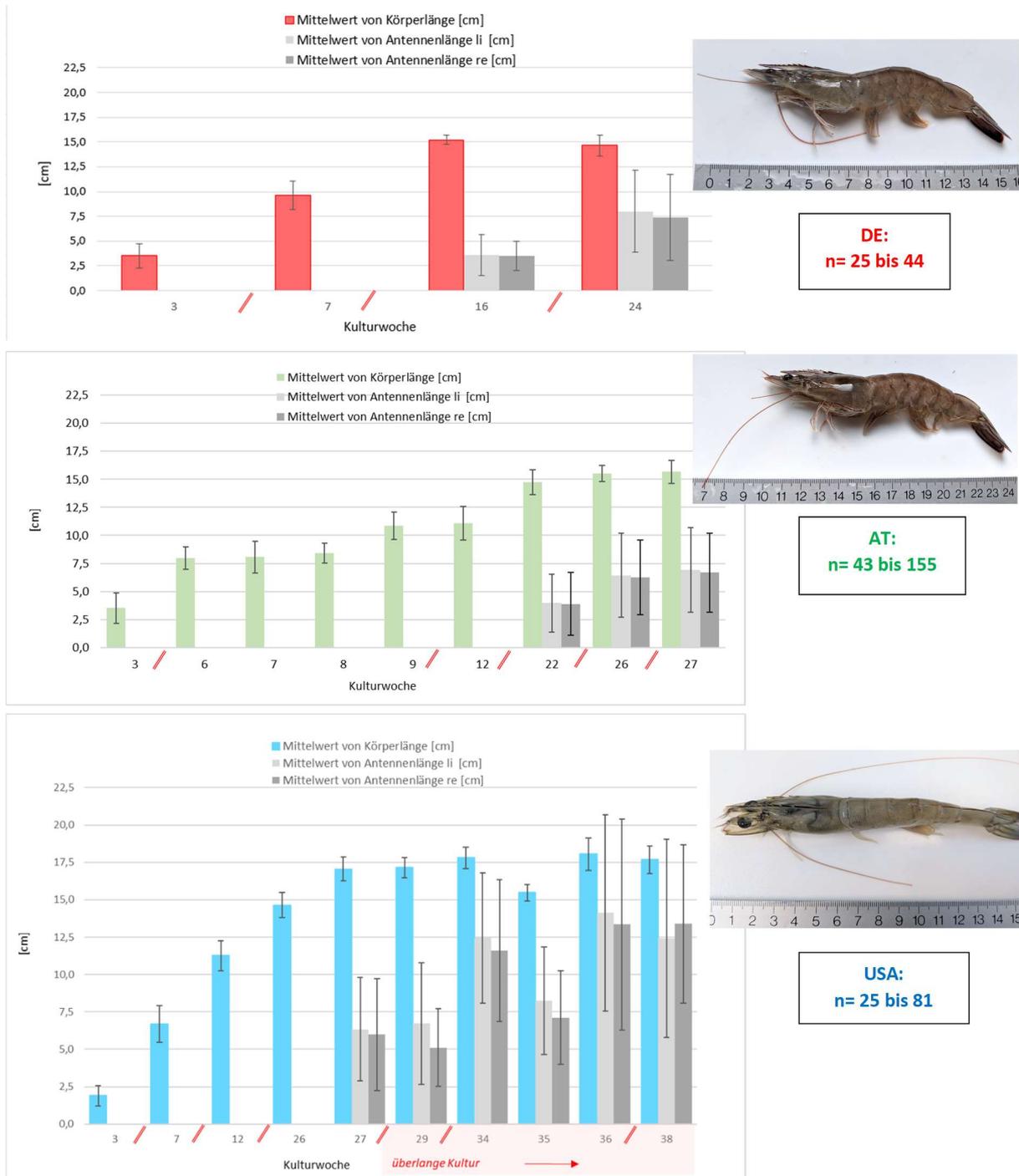


Abbildung 5-64: PL-Bezugsquelle **DE**, **AT** und **USA**: mittlere Körper- und Antennenlängen [cm] im Kulturverlauf (x-Achse: Zeitabstände variieren; Daten aus Vermessung von 1 bis 4 Kulturen pro angezeigter Kulturwoche: für DE aus bis zu 2 Kulturen pro Wert; für AT aus bis zu 4 und für USA aus bis zu 2 Kulturen; Fotos: Beispiele für hohe Varianz in Antennenlängen, Garnelen lebend fotografiert)

Für alle drei Herkunftsländer zeigt sich ein ähnliches Bild: die Körperlängen nehmen zum Kulturende hin tendenziell nicht mehr zu, aber bei allen untersuchten Kulturen fällt eine Zunahme der Antennenlängen zum Kulturende hin auf. Letzteres ist ein positives Zeichen, da die Antennen um so länger sein können, je weniger Stress die Garnelen ausgesetzt sind und je vitaler die Garnelen sind. Eine Verringerung des Stresslevels kann mit dem Rückgang in der Biomassedichte zum Kulturende erklärt werden, wenn kleinere Bestellungen an Garnelen schonend abgefischt werden. Ein Einflussfaktor auf die Antennenlänge ist jedoch auch das Keschern selbst, da es hier zu Schädigungen kommen kann.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Die Standardabweichung ist für die Antennenlängen jedoch deutlich höher im Vergleich zu der Abweichung in der Körperlänge. Die Stichprobe ist evtl. nicht groß genug, um Antennenlängen repräsentativ zu erfassen. Es wurden zwischen 30 und 50 Garnelen einzeln gewogen und die Längen vermessen, maximal waren es 60 Tiere pro Messung in einer Kultur, bis zu 155 Garnelen waren es bei den dargestellten Mittelwerten von Antennenlängen aus Messungen in gleichen Kulturwochen und mehr als einer Kultur pro Bezugsquelle.

### Erntemengen und Überlebensraten

Die produzierten Mengen an Garnelen schwankten im gesamten Beobachtungszeitraum sehr stark, dies ist bei allen Bezugsquellen gleichermaßen zu sehen. Es kam, wie eingangs beschrieben, zu Verlusten, die nicht allein mit der pandemie-bedingten sehr stark verlängerten Kulturdauer in 2020 und 2021 zu erklären sind. Da die Besatzzahlen der zu vergleichenden Kulturen voneinander abwichen, wurden die produzierten Mengen hochskaliert auf eine einheitliche Besatzzahl (volle Batch = 80.000 PL).

In der folgenden Abbildung sind Erntemengen und Überlebensraten als Mittelwert mit Standardabweichung aus den Daten von 3 bzw. 6 Kulturen dargestellt. Sowohl die produzierten Mengen als auch die Überlebensraten waren zwar besser als in den Kulturdurchgängen zuvor (s. Schwerpunkt 1, *Tabelle 5-8*), sind aber dennoch als unzureichend zu bewerten - und dies trifft weitgehend unabhängig von der Bezugsquelle zu.

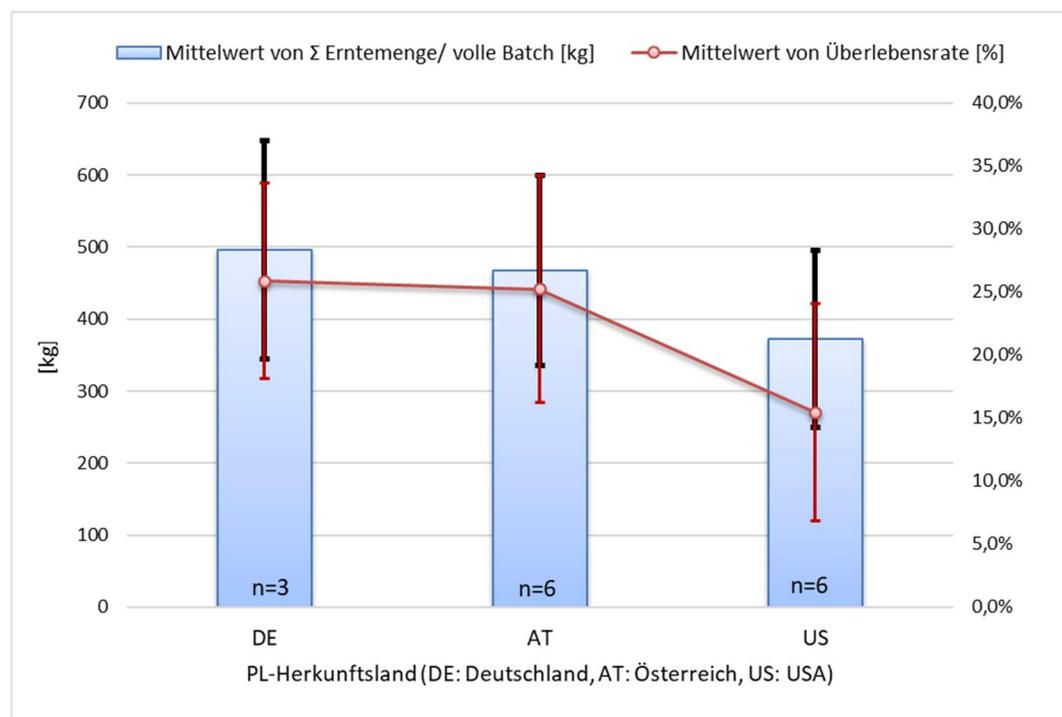


Abbildung 5-65: PL-Bezugsquellenvergleich: mittlere Produktionsmengen und Überlebensraten von 15 Kulturen im Beobachtungszeitraum 2019 bis 2022 (DE: n=3 Kulturen, AT bzw. US: n= je 6 Kulturen)

Zwar waren die besten Ergebnisse jeweils aus Kulturen deutscher bzw. österreichischer Herkunft, aber es gab auch bei Postlarven dieser beiden Bezugsquellen Kulturen mit niedrigeren Werten. Dies betraf vorwiegend die letzten Kulturen im Beobachtungszeitraum, die Anfang 2022 abgefischt wurden. Hier kann die Umstellung der Wasseraufbereitung und der Wechsel in der Salinität einen leider nicht quantifizierbaren Einfluss auf die Erträge ausgeübt haben. Die Umstellung war jedoch alternativlos. Die möglichen Auswirkungen der Salinitätsumstellung auf das Mikrobiom konnte aus Zeitgründen leider nicht mehr untersucht werden.

#### 5.1.1.4.4 Sensorische Prüfungen an Garnelen unterschiedlicher Herkunft

Garnelen aus dem Schwerpunkt Bezugsquelle wurden ebenfalls auf ihr Sensorik-Profil untersucht. Der erste Besatz aus Deutschland konnte bereits an Kulturtag 117 im Dezember 2020 vollständig für einen Großabnehmer abgefischt werden. Daraus ging eine Probe Garnelen an das beauftragte Labor. Leider kam die Probe am Folgetag mit einer Eingangstemperatur von 9,5°C im Labor an. Dies kann für die relativ schlechte Bewertung bei einigen Attributen verantwortlich sein (Garnelengeruch und Fehlgeschmack). Die Referenz aus regionaler Indoor-Produktion stand hier nicht zur Verfügung.

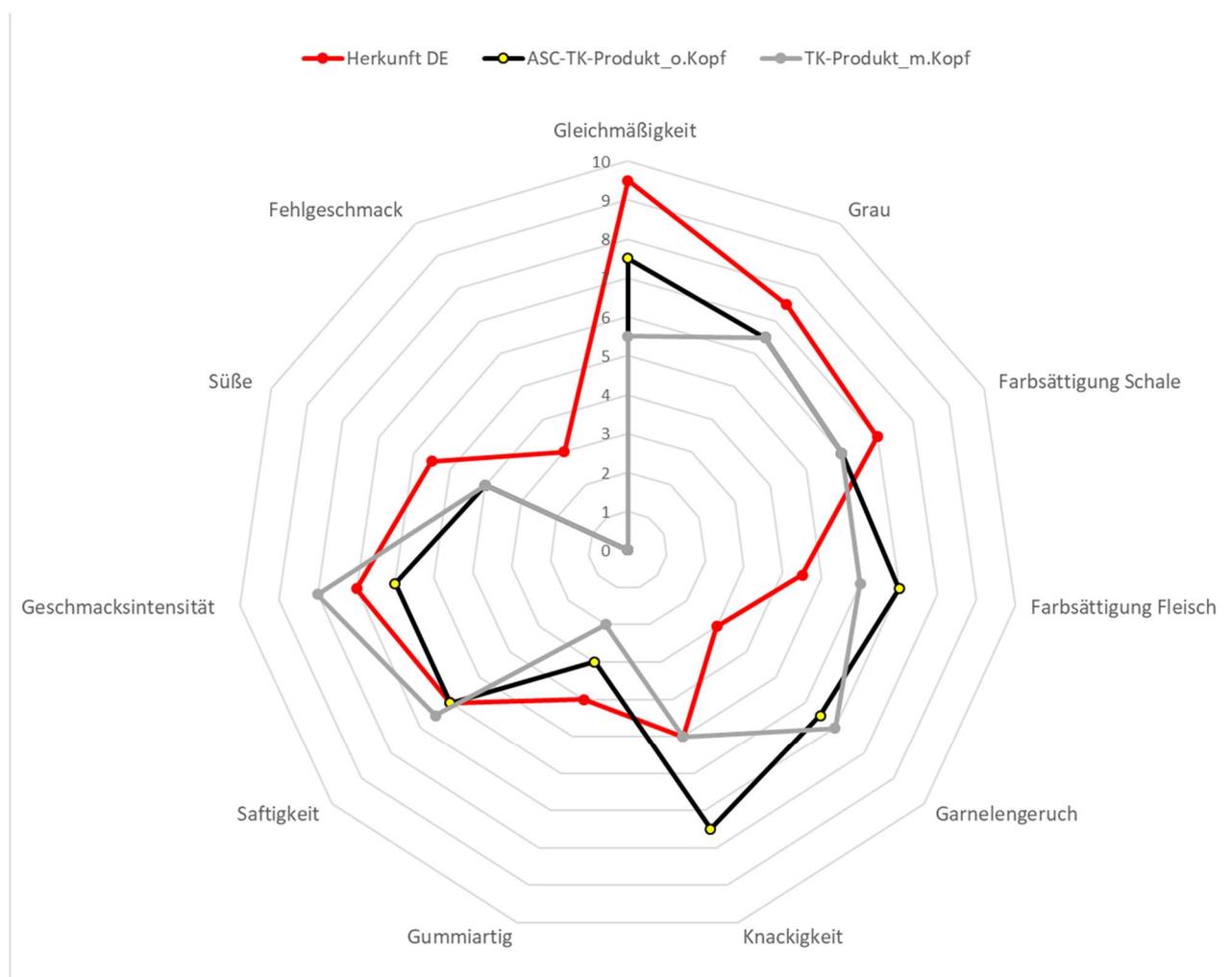


Abbildung 5-66: Sensorisches Profil von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur (**Herkunft: DE, Batch 13, Kulturtag 117**) im Vergleich zu Referenzprodukten aus Import-TK-Ware mit ASC-Label bzw. ohne Zertifikat (12/2020)

Nach Auskunft von Herrn Damm waren seine Kunden jedoch zu jedem Zeitpunkt mit dem Produkt ‚Landgarnele‘ sehr zufrieden und hatten keinen Nebengeschmack zurückgemeldet oder das Produkt deswegen reklamiert.

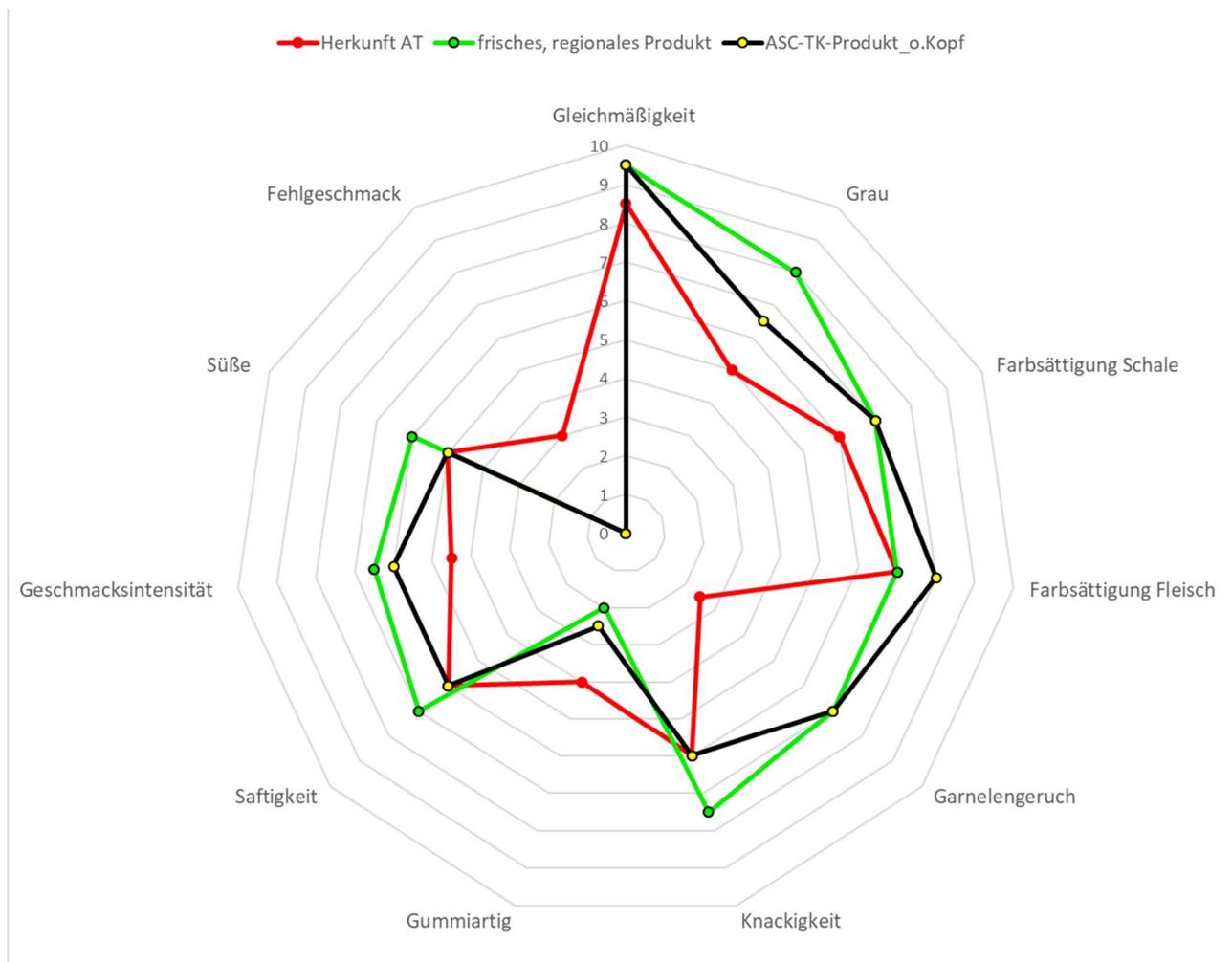


Abbildung 5-67: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur (**Herkunft: AT, Batch 14, Kulturtag 188**) und einem Referenz-Produkt aus deutscher Indoorproduktion (frisches, regionales Produkt) sowie einer Import-TK-Ware mit ASC-Label (03/2021)

Unerwartet niedrig waren die meisten der sensorischen Bewertungen für die Garnelen österreichischer Herkunft im Vergleich mit dem Referenzprodukt aus deutscher Indoorproduktion, mit dem nur bei der Farbsättigung des Fleisches Gleichstand erreicht wurde. Beide Produkte wurden in diesem Kriterium sogar übertroffen vom ASC-zertifizierten TK-Produkt, das erstaunlich oft besser oder ähnlich bewertet wurde als das Produkt „Herkunft AT“. Im Laborbericht wurde der mit „3“ als mäßig auffällig eingestufte Fehlgeschmack für dieses Produkt mit ‚schlammig, muffig/erdig‘ beschrieben.

Dieser Befund wurde jedoch auch hier nicht seitens der Kunden, darunter auch Restaurants, bestätigt. Im Gegenteil kam laut Herrn Damm nur positives Feedback zu den vermarkteten Garnelen.

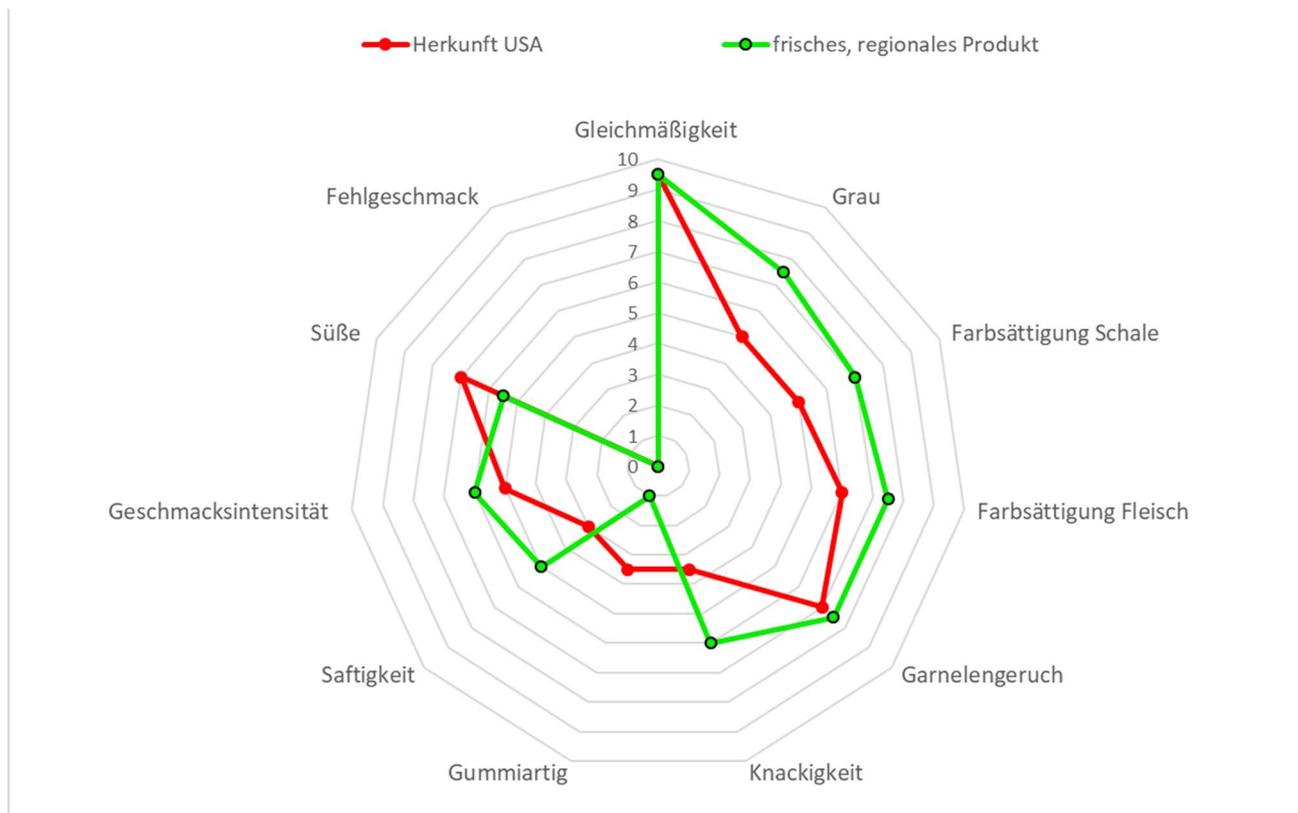


Abbildung 5-68: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur (**Herkunft: USA, Batch 15, Kulturtag 236**) und einer Referenz aus deutscher Indoorproduktion (04/2021)

Für diese Untersuchung konnte leider keines der bisher eingesetzten TK-Referenzprodukte beschafft werden.

Die an das Labor versandten Garnelen der PL-Herkunft USA wurden nur im Attribut „Süße“ besser bewertet als das frische Referenzprodukt aus regionaler Produktion. In der Gleichmäßigkeit wurden beide Produkte gleich hoch bewertet, mit fast voller Punktzahl von 10.

In den meisten der untersuchten Kriterien wurde hier die ‚Landgarnele‘ schlechter bewertet als das Referenzprodukt, aber ohne Befund eines Fehlgeschmacks. Die Eingangstemperatur der Garnelen war mit 3,9°C nicht optimal, sonst gab es keine Auffälligkeiten, auch nicht während der Kultur, die das schlechtere Ergebnis erklären könnten.

Weitere sensorische Prüfungen von Garnelen mit Herkunft Österreich sowie USA (s. ) unterscheiden sich wiederum deutlich von diesem Profil und untereinander.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

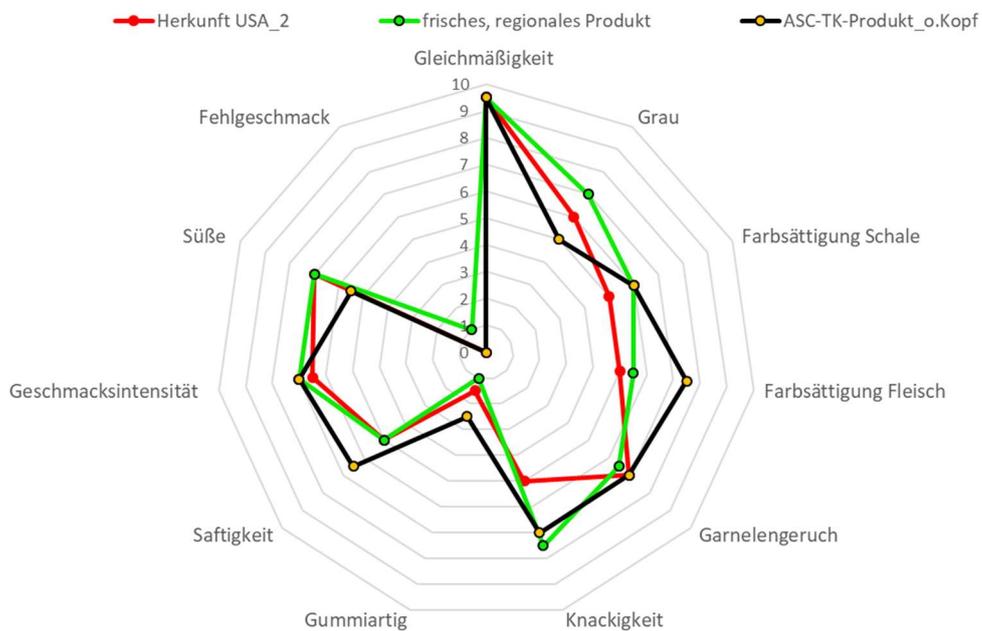
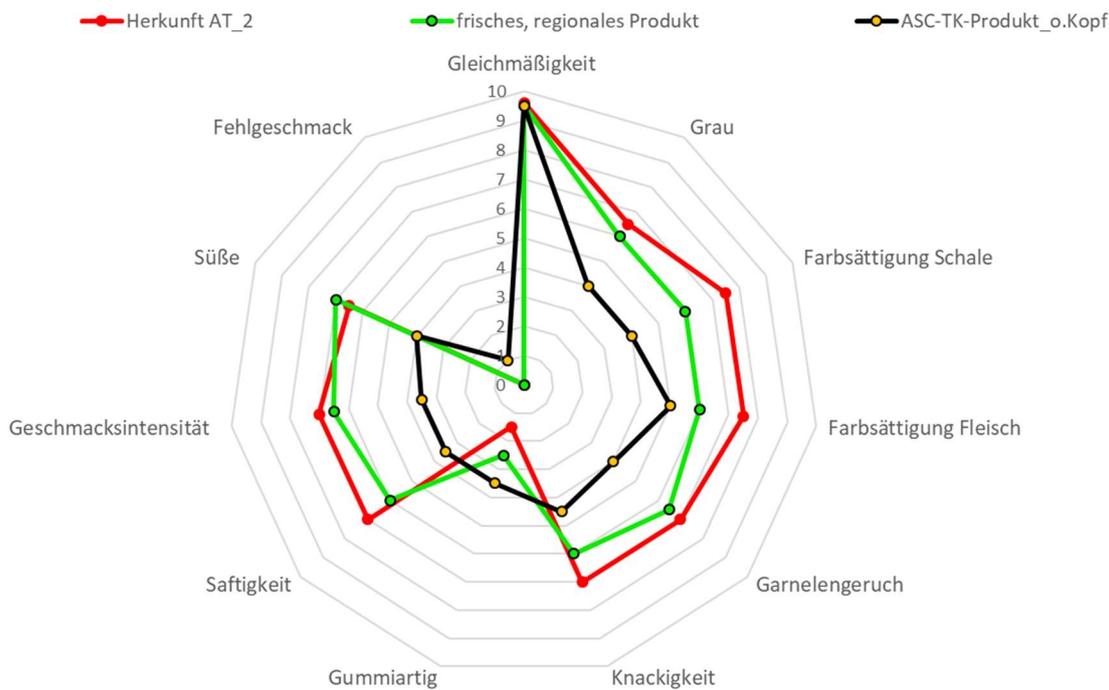


Abbildung 5-69: Sensorische Profile von Garnelen aus der Anlage Damms Aquakultur: **oben: Herkunft: AT\_2** (Batch 16, Kulturtag 189) mit einer Referenz aus deutscher Indoorproduktion sowie der Referenz Import-TK-Ware mit ASC-Zertifikat (10/2021), **unten: Herkunft: USA\_2** (Batch 22, Kulturtag 132) mit einer Referenz aus deutscher Indoorproduktion sowie Import-TK-Ware mit ASC-Zertifikat (03/2022)

Die Heterogenität in den Ergebnissen der sensorischen Prüfungen verdeutlichen die folgenden Diagramme, die alle 5 Garnelenchargen aus dem Schwerpunkt Bezugsquelle und alle vier Produktchargen aus ein und derselben Bezugsquelle für die Referenz „frisches, regionales Produkt“ zusammenfassend darstellen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

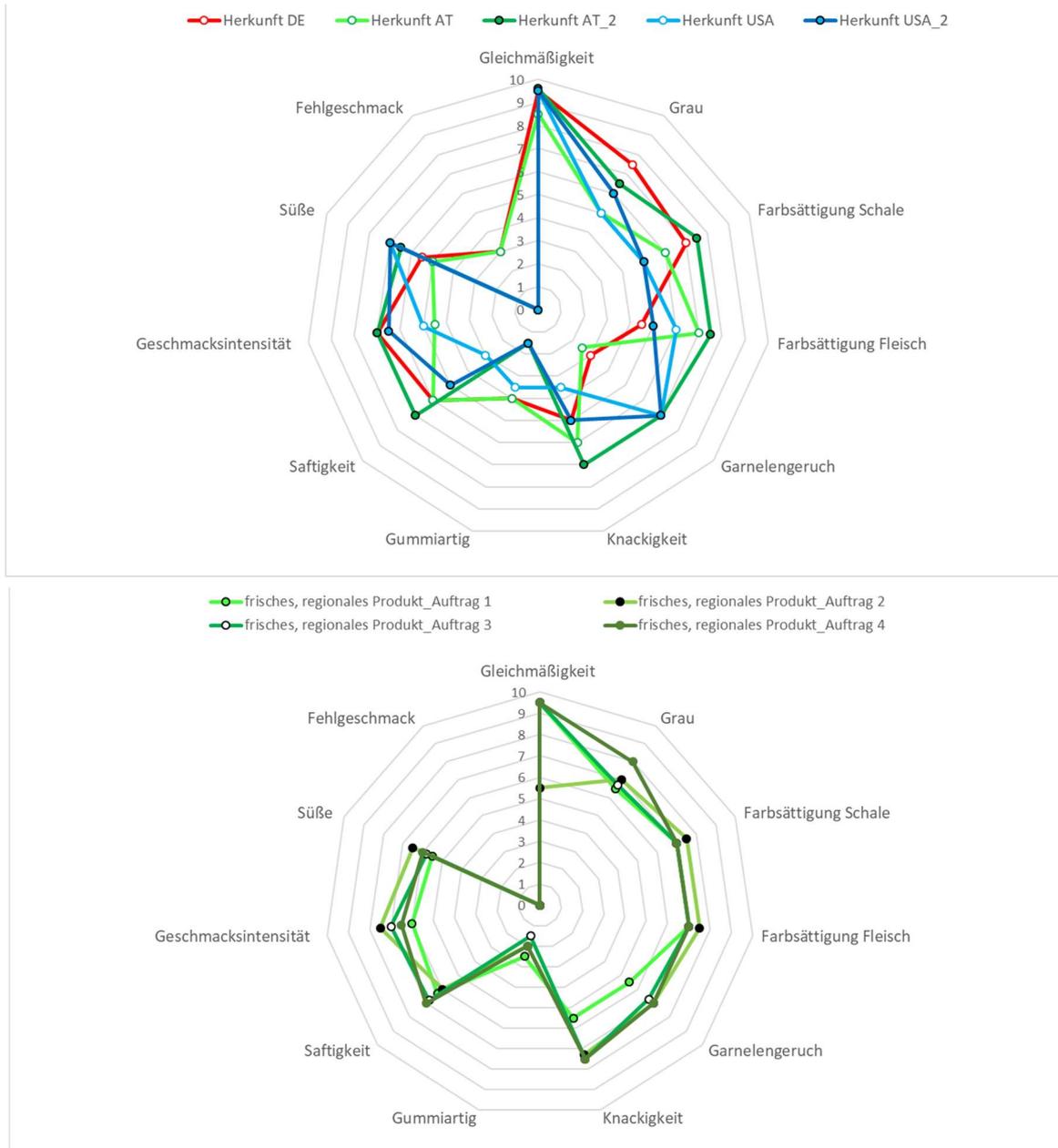


Abbildung 5-70: Sensorische Profile von: oben: Garnelen aus der Anlage Damm Aquakultur mit den Bezugsquellen DE, AT und USA und unten: Referenz-Produkt frische Garnelen aus regionaler Produktion (Untersuchungszeitraum 2021 und 2022)

Die Variabilität in den Attributen der Landgarnele ist höher als die des Referenzproduktes aus regionaler Produktion. Für die Landgarnele wurde die beste Bewertung im Produkt AT\_2 erzielt, eine der letzten untersuchten Chargen. Andererseits erzielten die ebenfalls später produzierten Garnelen US\_2 bei vielen Kriterien (außer der Süße und im fehlenden Fehlgeschmack) schlechtere Ergebnisse als diese Kultur.

**Fazit:** Aussagen zum Einfluss der PL-Herkunft auf Unterschiede im sensorischen Profil sind nicht zu treffen. Ein modriger Fehlgeschmack, der nicht von den Kunden bemerkt oder beanstandet wurde, trat kurzzeitig in den ersten Untersuchungen in diesem Schwerpunkt (Bezugsquelle) auf und steht sehr wahrscheinlich in Zusammenhang mit der Schlammanreicherung in den Bioreaktoren, die inzwischen durch eine Wasseraufbereitung mittels Trommelfilter und Eiweißabschäumer ersetzt wurden.

### 5.1.2 AP 1.1.2: Monitoring von Produktqualitäten in kommerzieller/n BFT-Anlage(n) (mit U-Auftrag externes Labor)

Die Ergebnisse dieses Monitoring sind zu den thematischen Schwerpunkten des Monitoring aufgeführt (s. Kap. 5.1.1).

Die Produktqualität kann in Form des sensorischen Profils umfassend definiert werden. Dies wurde im Unterauftrag durch das Labor EuroFins GmbH, Hamburg ermittelt:

Nach der notwendigen Vorprüfung, in der die Prüfer anhand sehr unterschiedlicher Garnelen-Produktqualitäten trainiert wurden, wurden Garnelen aus 7 Kulturdurchgängen des Betriebs Damm Aquakultur (Die Landgarnele) am Ende der Kulturperiode auf ihr sensorisches Profil hin untersucht, eine der Batches zweimal - aufgrund der langen Kulturdauer und der Unsicherheit der PL-Verfügbarkeit in 2020. Die Referenzen sollten möglichst eine Garnele aus heimischer Indoor-Produktion beinhalten, die als direktes Konkurrenzprodukt anzusehen ist und eine TK-Ware aus nachhaltig zertifizierter Aquakultur, die von potentiellen Kunden ebenfalls als Alternative betrachtet werden kann.

Als direkt vergleichbare Referenz dienten bei den ersten 6 Untersuchungen frische Garnelen aus Indoor-Aufzucht in einem anderen Aquakulturbetrieb in Deutschland. Die letzte Untersuchung wurde mangels Verfügbarkeit mit einer **TK-Garnele** aus heimischer Erzeugung, jedoch aus einem anderen Betrieb, durchgeführt.

Eine 2. Referenz war ein höherwertiges Tiefkühlprodukt aus nachhaltiger Aquakultur, da dies auch als Konkurrenzprodukt in Frage kommen kann: „Deutsche See, Riesengarnelenschwänze easy peel, TK“ (ASC zertifiziert<sup>5</sup>). In der ersten Prüfung wurden zwei weitere Referenzproben getestet, eine Aldi-TK-Ware mit Schale, in Bioqualität (P. monodon) und eine weitere Aldi-TK-Ware als Garnelenschwänze.

Zu jeder Prüfung wurden drei Prüfer eingesetzt, die auf folgende Attribute trainiert waren:

<b>Farbe:</b>			
- Ungegart:	Deformierung	(Multiple Choice)	
	Gleichmäßigkeit	(10 er Skala + Auswahl zur Begründung)	
	Farbintensität Grau	(10 er Skala)	
	Weitere Farbrichtung	(Multiple Choice)	
- Gegart:	Schale Intensität orange/rot	(10 er Skala)	
	Fehler	(Multiple Choice)	
	Fleisch Intensität orange/rot	(10 er Skala)	
<b>Geruch:</b>			
- Ungegart:	Aroma Charakterisierung	(Multiple Choice)	
- Gegart:	Garnelenaroma	(10 er Skala)	
	Off-Flavour/ Fehler	(Multiple Choice)	
<b>Textur:</b>			
- Gegart:	Knackig	(10 er Skala)	
	Gummiartig	(10 er Skala)	
	Saftigkeit	(10 er Skala)	
	Weitere Anmerkungen	(Multiple Choice)	
<b>Geschmack:</b>			
- Gegart:	Aromaintensität	(10 er Skala)	
	Aroma Charakterisierung	(Multiple Choice)	
	Süße	(10 er Skala)	
	Off-Flavour	(10 er Skala)	
	Off-Flavour	(Multiple Choice)	



<sup>5</sup> <https://www.deutschesee.de/shop/riesengarnelenschwaenze-mittel-easy-peel-65491.html>

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### 5.1.3 AP 1.1.3: Anpassung und Weiterentwicklung der Datenbank Delta für den Einsatz in BFT-Anlagen (mit U-Auftrag Software-Firma)

Die Datenbank Delta basiert auf der Neu-Entwicklung der Datenbank DANA 2.0. Die Verzögerung im Vorhaben DANA 2.0 (Az: 34916/01) bedingte einen späteren Beginn der Arbeiten. Delta ist seit Juli 2022 einsatzbereit und wurde vom Betreiber Herrn Damm gleich nach Einführung in das Dateneingabesystems auch genutzt.



## Die Landgarnele Damm

Abbildung 5-71: Hauptmenü der Datenbank Delta für die 1. Aquakulturanlage „Die Landgarnele“, dem Betrieb von Damm Aquakultur GmbH & Co KG, mit Symbolen für (von li nach re): Dashboard, Standortdaten, Dateneingabe sowie der Datenanalyse

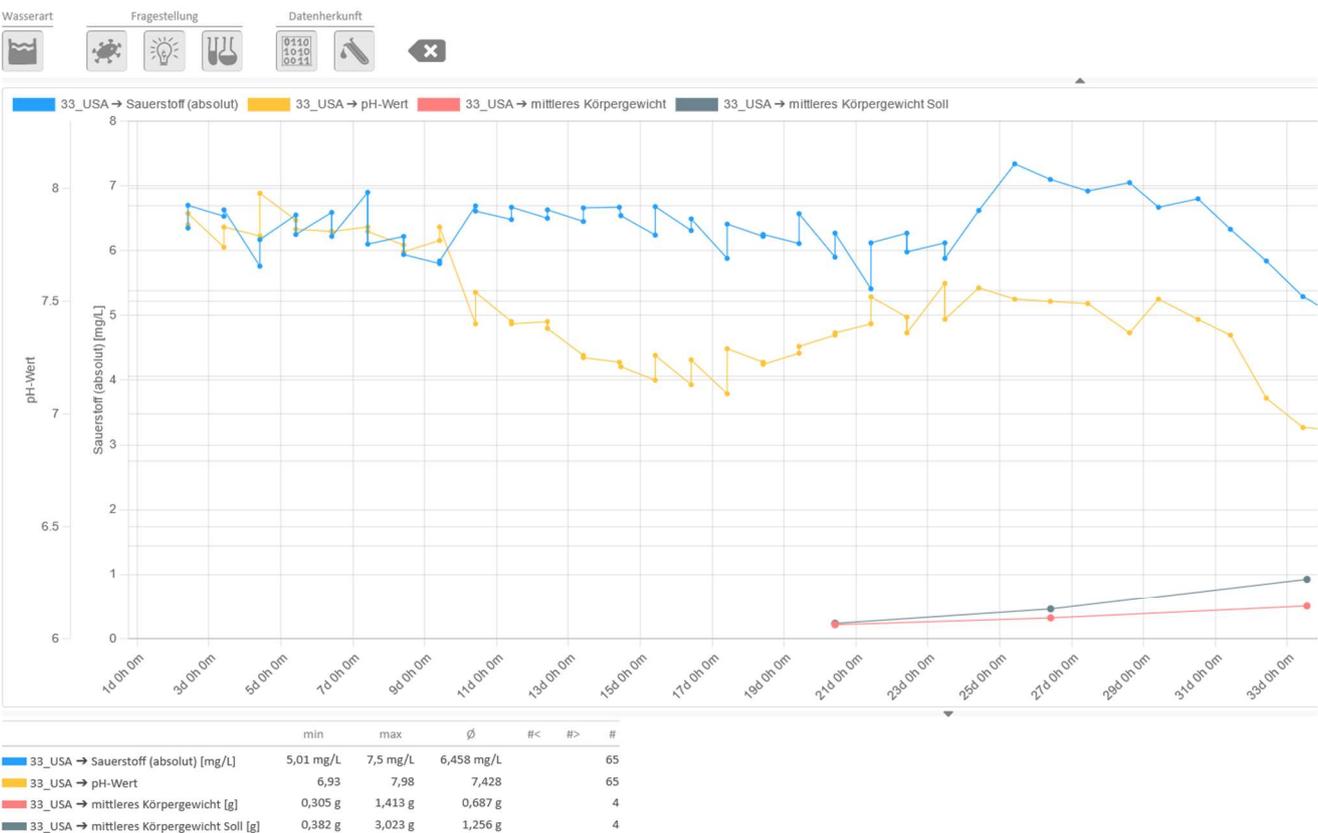


Abbildung 5-72: screenshot einer in der Datenanalyse von Delta automatisch generierten Graphik zu Monitoring-Daten einer ausgewählten Garnelenbatch, die im Favoriten-Dashboard fortlaufend aktualisiert angezeigt wird

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Verlauf der Arbeiten:

Basis der Datenbank ist DANA 2.0, die für das Monitoring in Naturfreibädern ausgelegt ist. Für die Anwendung in der Aquakultur mussten neben vielen kleineren auch einige weitreichende, größere Ergänzungen und Anpassungen durchgeführt werden, die Programmierleistungen beinhalteten. Die mit der Entwicklung von DANA 2.0 als Kooperationspartner verantwortliche Software-Firma Ravenworks GbR (Bremen) hat diese notwendigen Anpassungen im Rahmen eines Unterauftrages geleistet.

Diese Anpassungen der Datenbankstruktur erforderten eine enge Abstimmung zwischen uns als Antragsteller und dem Unterauftragnehmer, in die auch der Betreiber Herr Damm einbezogen wurde. In wöchentlichen Video-Konferenzen wurden alle Fragen erörtert, um den besonderen Anforderungen der Aquakultur Rechnung tragen zu können.

Für kleinere bis mittlere Ergänzungen wäre beispielhaft die automatische Berechnung von Durchschnittsgewichten bei der Datenerfassung der Körpergewichte der Garnelen anzuführen. Eine umfangreichere Anpassung war u.a. erforderlich für die Einrichtung von übergeordneten Bezügen der Daten zu einer konkreten Population, einem definierten Besatz: der sog. „Batch“. Dies erlaubt die aktuelle und umfassende Verfolgbarkeit von Parametern, die im Verlauf der Kultur erhoben wurden.

Über das Symbol einer Garnele  ist diese Analysemöglichkeit einfach anwählbar.

Delta bietet zudem die Option den Kulturverlauf gewählter Messgrößen zu verschiedenen Batches in einer Graphik abzubilden und zu vergleichen. Es besteht aber auch weiterhin die Möglichkeit Becken-spezifische Auswertungen vorzunehmen.

Eine weitere grundlegende Neuheit ist die Einrichtung des Moduls „Futtermanagement“, bestehend aus Angaben zu allen eingesetzten Futtermitteln und einer hinterlegten Futtertabelle, die zu jedem Kulturtag den Futterbedarf vorgibt, aus der einzutragenden Anzahl der Besatztiere, sowie Annahmen zu Wachstums- und Überlebensrate, der daraus berechneten Biomasse und der anzusetzenden Futterrate in % der Biomasse. Der so ermittelte Futterbedarf wird täglich und spezifisch für jede angelegte Batch im Protokoll bzw. Messprogramm für das ‚Futtermanagement‘ angezeigt. Für jede Batch kann zudem ein spezifischer Ab- oder Zuschlagsfaktor vorgegeben werden, entsprechend der Beobachtung von Minder- oder Mehrbedarf, z.B. bei geringerem/ sehr gutem Wachstum oder beobachteter schlechterer oder besserer Überlebensrate.

Auch kann ein 2. Futtermittel am selben Kulturtag angegeben werden und die Aufteilung in % zwischen beiden Futtermittelarten vorgegeben werden, um jeweils die konkrete Menge berechnen zu lassen.

Futteraufteilung: <input type="text" value="50"/> %				
(aktueller Offset: 0 %)				
Tag	Ø Gewicht	Futter	Futter 1	Futter 2

Abbildung 5-73: Funktion Futteraufteilung auf zwei Futtermittelarten an einem Kulturtag

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Für den Einsatzbereich Aquakultur wurden folgende Messprogramme eingerichtet:

Messprogramm	Beschreibung
Handmessungen morgens	Messgrößen und Beobachtungen beim täglichen, morgendlichen Rundgang (Einsatz einer Hand-Multisonde)
Vor-Ort Labormessungen	im eigenen Labor zu bestimmende Messgrößen mittels Schnelltests für NH4-N, NO2-N, Alkalität u.a.
Futtermanagement	Tägliche Angaben zu den an Kulturphasen angepassten Futterarten und -mengen
Garnelen wiegen	Wachstumskontrolle durch automatisierte Ermittlung des mittleren Körpergewichts (Gruppenwiegung oder Einzelwiegung)
Erntedaten	Erfassung von Qualität (3-Stufen) und Menge [kg] pro Batch und Erntevorgang
Labordaten extern	Eingabemöglichkeit für Daten aus beauftragten Analysen (z.B. DOC, PO <sub>4</sub> -P, Cu, Zn...)

Abbildung 5-74: aktuell eingerichtete Messprogramme in Delta, die in Messgruppen zu jedem einzelnen Becken spezifiziert und in der manuellen Datenerfassung als Filter/Gruppierung fungieren. Neue Messprogramme sind jederzeit einzurichten

← Zurück

Hand Messung (←) nächster Messpunkt →

**Messpunkt „M1B1 Manuelle Messungen“** ↻ ✓ ✕

(zugehörige Batch: 33\_M1B1\_28072022\_USA, Tag 51)

Routine-Monitoring, Messungen am Becken (Multisonde u.a.)

Messzeitpunkt 16.09.2022 um --:-- Uhr

Temperatur [°C] =  0 ▬ ▾

Sauerstoff (absolut) [mg/L] =  0 ▬ ▾

O2-Sättigung [Prozent] =  ▾

Salinität [ppt] =  0 ▬

pH-Wert =  0 ▬ ▾

Absetzbare Stoffe [ml/l] =  0 ▬

---

Bemerkung

Abbildung 5-75: Eingabemaske zum Messprogramm „Manuelle Messungen“ zum Messpunkt „M1B1“ (Hälterungsbecken 1, Modul 1)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Eine neue Delta-spezifische Funktion wurde programmiert: die Aufteilung in selbst zu definierende Messprogramme. Die Filterlogik dieser Programme ermöglicht, wie schon bei DANA 2.0, bei der Datenerfassung innerhalb eines Programms das direkte „Weiterspringen“ auf das nächste Becken, für Delta mit Anzeige des darin aktuellen Besatzes.

Für dieses Vorhaben wurden nachträglich die Hauptkulturdaten der in den Schwerpunkten untersuchten Batches aus den geführten excel-Protokollen über einen csv-Import in die Datenbank überführt, um schon vor dem Einsatz von Delta im Betrieb der Anlage mit realen Daten arbeiten zu können und die Auswertung der Schwerpunktthemen unter Nutzung der Datenanalyse-Funktionen vornehmen zu können (Auszüge der Auswertungen s. Kap. 5.1.1). Dieser Datenimport war, trotz teilweise möglicher automatisierter Umstrukturierung der excel-Vorlagen, mit einem wesentlich höheren Arbeitsumfang verbunden, als angenommen. Vieles musste manuell angepasst werden, um Kompatibilität und den gewünschten Import der Daten zu erzielen.

#### 5.1.4 Fazit und Diskussion AP 1.1

##### 5.1.4.1 Fazit zu Wasserqualität

Die Daten aus dem Routine-Monitoring und die Labordaten zeigen, dass die Kulturen unter vergleichbaren und für die Garnelen grundsätzlich verträglichen Bedingungen gehalten wurden, mit Ausnahme einiger Nitrit-N-Peaks in der PL-Phase. An der stark schwankenden Wasserqualität der PL-Becken kann beispielhaft sehr gut demonstriert werden, wie schwierig es ist das Biofloc-basierte System in dem frisch angesetzten Wasser zu aktivieren und die Nitrifizierungsleistung zu erhalten, die nötig ist.

Über den gesamten Beobachtungszeitraum zeigte sich, dass der pH-Wert Schwankungen unterlag, die durch Bikarbonatzugabe auszugleichen waren.

In der Betrachtung der gelösten Stickstoffverbindungen fällt auf, dass nach der längeren Besatzpause eine Re-Aktivierung der biologischen Umwandlungsprozesse erst wieder langsam erfolgte.

So ist für Nitrit-N in allen drei Modulen ein ausgeprägter Anstieg der Konzentrationen ab 10/2020 zu verzeichnen, mit Spitzen im kritischen Bereich zwischen 3 und 4 mg/l und einem länger anhaltendem hohen Niveau über 1mg/l, das sich nur langsam in 2021 absenkt, bei wieder normalisierter Besatzfrequenz. Ammonium-N-Spitzen sind niedriger und nur bei Start der Grow-Out-Phase in den frisch besetzten GOB zu sehen. Die höheren Konzentrationen dieser Verbindungen bedeuten eine verringerte Nitrifikationsleistung, insbesondere bei den Nitrit-Oxidierern (NOB).

Dieser Befund verdeutlicht, wie elementar eine kontinuierliche Anlagenauslastung ist. Im Vergleich dazu, hatte z.B. die Belüftungsart keinen Einfluss auf die im Monitoring untersuchten chemischen Parameter.

Im Weiteren gehen wir vertiefend auf einzelne Aspekte ein.

#### **Ammonium- und Nitrit-Stickstoff:**

**Ammoniumstickstoff:** die Konzentrationen blieben in den GOB meist <0,5 mg/l (s. [Abbildung 5-27](#) und folgende) und lagen damit nach Emerenciano et al. (2017) sogar im Idealbereich der Spezies (TAN: <1 mg/l). In den PL-Becken traten häufiger höhere Konzentrationen auf, im ersten Schwerpunkt ‚Belüftung‘ kam es zu Peaks zwischen 3 und 6,4 mg/l, bei hohen pH-Werten >8. Im Schwerpunkt ‚Bezugsquelle‘ traten noch Spitzenwerte zwischen 2 mg/l und um 3 mg/l auf, trotz der standardmäßigen Zuckergabe zur Förderung der Biofloc-Entwicklung in den PL-Becken. Daraufhin wurden als Gegenmaßnahmen eine Probiotika-Dosierung und ein früherer Anschluss an die Wasseraufbereitung vorgenommen, und es wurden seitdem NH<sub>4</sub>-N-Konzentrationen < 1mg/l eingehalten. Nach Wickens et al. (1976) entspricht eine unschädliche NH<sub>4</sub>-N-Konzentration einem Level von 0,1 mg/l un-ionisiertem Ammonium (NH<sub>3</sub>), ein Wert, der sich abhängig von pH, Salinität und Wassertemperatur einstellt. Danach sind bei pH 7,4, einer Wassertemperatur von 28°C und einer Salinität von 24 ppt noch 6,6 mg/l NH<sub>4</sub>-N unschädlich, bei pH 7,2 sogar >10 mg/l. In den PL-Becken herrschen in den ersten Tagen bis zu einer Woche in dieser Hinsicht unvorteilhaftere Bedingungen: pH-Werte >8 und Wassertemperaturen um 30°C. Hier sind NH<sub>4</sub>-N-Konzentrationen > 1mg/l bereits als kritisch einzustufen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Zu akuter Toxizität und den physiologischen Wirkungen von Ammonium auf Dekapoden haben Lin et al. (2023) ein Review veröffentlicht.

**Nitritstickstoff:** Es kam im Beobachtungszeitraum vermehrt und über längere Zeitspannen zu schon als kritisch zu bewertenden Nitrit-Spitzen in den GOB (bis 4 mg/l; s. [Abbildung 5-27](#)).

Die beobachtete niedrigere Nitrifizierungsleistung, besonders der NOB, ist erklärbar mit der niedrigeren Auslastung durch Lücken im Neubesatz in 2020, was sich auch in den Ergebnissen der mikrobiologischen Untersuchungen aus diesem Zeitraum bestätigte (s. Kap. 5.1.1.4.2).

Zucker wurde routinemäßig in der Hälterung eingesetzt, vor allem zur Initiierung der Flockenbildung in den mit frisch angesetztem Füllwasser betriebenen PL-Becken und geringfügig auch in den ersten Tagen nach Umsetzen der PL in ein GOB. Diese Maßnahme hatte nicht ausgereicht, um Nitrit-Peaks von mehreren Milligramm pro Liter zu verhindern, sehr wahrscheinlich mangels ausgereifter Mikrobiologie. Noch höhere, kritische Nitrit-N-Konzentrationen von ca. 14 mg/l traten bei Suita et al. (2015) unter Einsatz von Dextrose als C-Quelle auf. Emerenciano et al (2017) bezeichnen Nitrit als die schwieriger zu kontrollierende N-Form.

Für die Grow-Out Becken trifft zu, dass die höheren Konzentrationen von  $\text{NH}_4\text{-N}$  und  $\text{NO}_2\text{-N}$  in Phasen auftraten, in denen das Anlagenwasser mangels Besatz wenig biologisch aktiv und mikrobiologisch verarmt war, was sich ab Ende 2020 bis in das Folgejahr bemerkbar machte. Als Gegenmaßnahme wurde eine Inokulation durch frühzeitige Vermischung mit Wasser aus einem besetzten GOB eingeführt. Beobachtungen an den Biofilmen im Becken zeigen, dass sich die nitrifizierende Gemeinschaft sehr langsam entwickelt. Im Monitoring zu den unterschiedlichen Belüftungsregimen nahm der Anteil nitrifizierender Bakterien im Laufe der Kultur zu (s. Kap. 5.1.1.2.2) und Daten aus dem Herkunfts-Vergleich zeigen, dass sich nach ca. 4 Wochen Kultur erste nitrifizierende Bakterien angesiedelt haben, diese aber erst nach weiteren 4 Wochen Kultur zu den „Core Species“ (oder dominanten Spezies) der mikrobiellen Gemeinschaft gehören (s. Kap. 5.1.1.4.2). Für die Stabilität der nitrifizierenden Gemeinschaft ist ein stabiler Betrieb demnach wichtig.

**Nitrat-Akkumulation:** im hier untersuchten BFT-System sollten die Bioreaktoren (BioR) in erster Linie die Funktion der Denitrifizierung erfüllen. Gleichzeitig dienen sie als Sammelbecken für die Bioflocs, die mit dem regulierbaren Volumenstrom aus den GOB ausgetragen werden. Die organische Fracht in den akkumulierenden Bioflocs sollte die einzige Kohlenstoffquelle für die Denitrifikanten in den BioR bereitstellen. Nach Überprüfung anderer möglicher Einflussgrößen der Denitrifizierungsleistung, wie Sauerstoffkonzentration, Alkalität, pH- und Redox-Verhältnisse und nach Versuchen durch Modulationen an der Dauer bestimmter Phasen im BioR-Batchbetrieb die Leistung zu erhöhen, wurde deutlich, dass die C-Quelle in den Feststoffen nicht ausreichend war.

Daher wurden im ersten Halbjahr 2020 Zuckergaben (Haushaltszucker) in der Größenordnung von 1 kg pro ca. 20 m<sup>3</sup> BioR-Volumen testweise geprüft, die den TOC-Gehalt tatsächlich deutlich erhöhten auf Werte bis zu 2g/l ([Abbildung 5-33](#)): als Folge traten unerwünscht voluminöse Flocken auf (s. Kap. 7.1.1, [Abbildung 7-7](#), und als weitere negative Auswirkung zeigte sich im Mikrobiom die Entwicklung fädiger Bakterien. Daher wurde dieser Ansatz als zu riskant verworfen. Eine „Fütterung“ mit anorganischem Kohlenstoff (Bikarbonat) hatte nicht diese Nebenwirkungen und die Bioflocs blieben stabiler.

Auch der Zuckereinsatz in der Hälterung bewirkte eine kurzfristige Entwicklung von fadenförmigen Bakterien. Die unzureichende Denitrifizierung war der Hauptgrund für die Neukonzipierung der Wasseraufbereitung.

#### **Feststoffe bzw. Bioflocs**

Die zur Quantifizierung von Bioflocs gängige Messgröße „Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l]“ lag teilweise unter einem für BFT-Systeme typischen Bereich von 5 bis 25 ml/l (Emerenciano et al. 2017). Für den ebenfalls relevanten Parameter Gesamt-Trockenrückstand wurden extrem hohe Konzentrationen in der Größenordnung g/l beobachtet, bei sehr viel niedrigeren Konzentrationen abfiltrierbarer Stoffe (um 100 bis 200 mg/l, s. [Abbildung 5-35](#)). Wir gehen davon aus, dass bei der Bestimmung des TR im Labor die Salzrückstände vermutlich nicht vollständig ausgeschlossen werden konnten. Zum Schwerpunkt Bioflocs wird auf Kap. 7 mit Diskussionsteil verwiesen.

### Schwermetalle: Kupfer und Zink-Konzentrationen

Die Konzentrationen dieser Schwermetalle im Wasser sollten weiter beobachtet werden, haben zu diesem Zeitpunkt aber keine toxikologische Bedeutung und stellen kein Risiko für die Gesundheit und die Vitalität der Garnelen dar.

Theoretisch kann sich Zink auch aus Leitungen lösen, hier wäre dies die Leitung für das Brunnenwasser. Daher sollte die Aggressivität des Füllwassers in Bezug auf freie Kohlensäure untersucht werden.

In der Garnelen-Aquakultur grundsätzlich einzuhaltende Konzentrationen an Schwermetallen wie Kupfer und Zink, sind rar in der öffentlich zugänglichen Literatur. Es gibt eher allgemeine Empfehlungen, die sich nicht immer auf die Spezies *L. vannamei* beziehen und auch nicht auf die Indoor-Aquakultur, wobei letztere Einschränkung weniger bedeutsam ist, da es um den Organismus geht. Angaben finden sich z.B. in älteren Standardwerken (Wyk et al. 1999: Cu bis maximal 0,025 mg/l und Zn bis 0,1 mg/l; Boyd 2001: Cu gesamt bis 0,01 mg/l und Zn bis 0,05 mg/l). Nach Wyk et al. (1999) wären die hier gemessenen maximalen Zn-Konzentrationen noch im Toleranzbereich < 0,1 mg/l, nach Boyd (2001) jedoch schon zeitweise überschritten (wenn > 0,05 mg/l). Nach beiden Referenzen wären die hier gemessenen Cu-Konzentrationen schon kritisch, da die Messwerte überwiegend > 0,025 mg/l liegen (s. Kap. 5.1.1.3.1).

Für *Litopenaeus vannamei* haben Liang et al. (2022) zur Toxizität einer Zink-Exposition über 30 Tage bereits physiologische Effekte ab einer Konzentration von **0,01 mg/l** beschrieben: u.a. ein Wachstum des Hepatopankreas, Reduzierung bestimmter Enzymaktivitäten und Hinweise auf Hemmungen der Expression bestimmter Gene (deren Umfang mit höheren Zn-Konzentrationen anstieg). Eine Hemmung des Wachstums wurde erst bei einer extrem hohen Konzentration von 1 mg/l Zink beobachtet. In einer Studie zu Wirkungen von Cadmium und Zink auf den Hepatopankreas von *L. vannamei* haben Wu et al. (2008) beschrieben, dass bei einer Zn-Konzentration von 0,05 mg/l keine Veränderungen am Hepatopankreas und kein Anstieg der Zn-Konzentration in dem Organ zu beobachten war, aber die Exposition bei 0,2 mg/l nach 7 Tagen histopathologische Schäden und einen signifikant erhöhten Zink-Level im Hypatopankreas bewirkte. Diese negativen Effekte zeigten sich nicht mehr nach Woche zwei und vier des Versuchs, was der bei Krebstieren allgemein beobachteten Fähigkeit der Steuerung von Zink-Konzentrationen in diesem wichtigen Organ und einer Reparatur der Schäden zugeschrieben wurde. Die von der höheren Test-Konzentration von 0,6 mg/l verursachten histologischen Schäden waren deutlich größer und konnten nicht kompensiert werden.

Die in der untersuchten Anlage Damm Aquakultur gefundenen Zn-Konzentrationen (im Bereich bis zu ca. **0,06 mg/l**) sind als unkritisch einzustufen und es ist nicht mit Schäden am Hepatopankreas der Garnelen zu rechnen. Zudem ist bei erhöhten Konzentrationen nicht zwingend auf physiologische Effekte zu schließen, wie von Liang et al. (2022) ab 0,01 mg/l Zink beschrieben, da eine Wirkung auf den Organismus die Aufnahme und Bioverfügbarkeit des Zink voraussetzt.

Die Relevanz der Toxizität von Kupfer und Zink für aquatische Organismen ist schwer zu beantworten, da sie gleichzeitig auch essentielle Elemente sind und ihre Bioverfügbarkeit entscheidend von ihrer Bindungsform bestimmt wird, die wiederum von zahlreichen Faktoren beeinflusst wird, insbesondere von pH-Wert, Salinität und Konzentration an Komplexbildnern, wie gelösten organischen Verbindungen. Letztere liegen, gemessen als TOC und DOC-Konzentrationen, in der untersuchten Anlage auf einem höheren Niveau: in den GOB mit DOC-Werten von 35 bis 80 mg/l (n=57) bzw. TOC-Konzentrationen von 34 bis 130 mg/l (n=56)

So haben Ragnvaldsson et al. (2022) in natürlichem Brackwasser (0,25 psu bzw. 5,32 psu) vor der schwedischen Küste für Kupfer eine vollständige Bindung als organische Komplexe mit Fulvin- bzw. Huminsäuren bestimmt, eine Bindungsform, die nicht bioverfügbar ist. Zink, das weniger starke organische Komplexe bildet, lag bei 5,32 psu zu ca. 20% der gemessenen Zn-Konzentration als freies, bioverfügbares Ion vor, jedoch lagen bei der niedrigeren Salinität von 0,25 psu nur wenige Prozent des Zn als Ion vor. Dieser bisher nach den Autoren zu wenig beachtete Aspekt wird in dieser aktuellen Veröffentlichung in Bezug auf verschiedene Methoden, mathematische Modelle und Online-Tools zur Risikoermittlung der Cu- und Zn-Konzentrationen in Gewässern gemäß EU-Recht<sup>6</sup> diskutiert; bisher sind dies Verfahren, die für Süßwasser entwickelt wurden.

<sup>6</sup> EU Water Framework Directive (EU WFD)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Mit diesen mathematischen Modellen haben wir uns nicht beschäftigt, sicher wäre dieser Ansatz aber ein zukünftiges Feld zur Risikobewertung der Schwermetallkonzentrationen spezifisch in Aquakulturanlagen, idealerweise für unterschiedliche Salinitäten u.a. Bedingungen.

Insgesamt sind die Zink- und Kupferkonzentrationen noch in einem akzeptablen Bereich, sollten aber regelmäßig überwacht werden.

Bei der extrem niedrigen Wassererneuerungsrate in BFT-Anlagen allgemein und spezifisch in der untersuchten Anlage Damm Aquakultur können die natürlich entstehenden Huminstoffe eine wichtige Rolle als Komplexbildner für die sich anreichernden Schwermetalle spielen und das Risiko für toxische Auswirkungen auf die Garnelen minimieren. Ein klares Wasser ohne jegliche Braunfärbung, somit ohne sichtbaren Huminstoffanteil, ist vor diesem Hintergrund nicht anzustreben. Lieke et al. (2021) haben für Fische sogar eine Zugabe von Fulvinsäuren (löslichen, da kleineren Huminstoffen) empfohlen: als Immunstimulans-Bad in Süßwasser. Die Empfehlung basiert auf den Befunden vielfältiger positiver Wirkungen, u.a. stärkte die Aufnahme der Fulvinsäuren über die Kiemen das angeborene Immunsystem der Regenbogenforellen, ihr Wachstum verbesserte sich und die Stress-Toleranz stieg messbar an.

Es ist vermutlich nicht davon auszugehen, dass die Aufnahme niedermolekularer Fulvinsäuren durch Garnelen oder andere Aquakulturorganismen zu einer Freisetzung von daran komplexierten Kupfer- oder Zink-Ionen führt, die den Organismus schädigen könnten. Huminstoffe sind unverdaulich und eine Freisetzung der Schwermetalle im Verdauungstrakt der Garnelen unwahrscheinlich. Ein weiterer positiver Effekt von Huminstoffen, hier bezogen auf eine geringere Toxizität von Peressigsäure, wurde von Liu et al. (2021) an Zebrafischen nachgewiesen, unter sonst dafür kritischen Bedingungen niedriger Alkalität.

#### **Essentielle Ionen und Ionenverhältnisse**

Zum Ausgleich der beobachteten Ionen-Imbalance wurde Anfang 2022 nach mehr als 3 Jahren Betrieb das Gesamtvolumen der Anlage um ca. 10 ppt aufgesalzen auf eine Salinität von 26 bis 27 ppt und anschließend durch Zugabe von Brunnenwasser die Salinität wieder herunter geregelt (s. Kap. 4, Ereignisleiste). Da zuvor nie die geringen Wasserverluste durch Entnahme von Schlamm ausgeglichen worden waren, konnte die Verdünnung ohne Wasserabschlag vorgenommen werden. Diese Gegenmaßnahme wurde erst getroffen, als sich erste Anzeichen negativer Auswirkungen auf den Häutungsprozess der Garnelen zu zeigen begannen. Zuvor war dies trotz der Differenz zu den Seewasser-Äquivalenten Verhältnissen nicht beobachtet worden.

#### **5.1.4.2 Fazit zu den begleitenden Untersuchungen des Mikrobioms**

Die bakterielle Gemeinschaft wurde im Wasser mit Bioflocken, im Biofilm auf den Beckenwänden sowie auf dem Carapax von Garnelen mittels Hoch-Durchsatz Sequenzierung untersucht. In allen drei Lebensräumen war die Gemeinschaft sehr divers und wurde von über 350 bis etwa 950 unterschiedlichen Bakterientaxa gebildet. In allen Lebensräumen kamen Bakterien aus den Stämmen Bacteriodes und Proteobacteria vor, wobei die Mehrzahl der Taxa in sehr geringer Abundanz in der Gemeinschaft vertreten war und weniger als 1 % an der Gemeinschaft ausmachten, während in der Mehrzahl von Proben einige Taxa in hoher Abundanz von mehr als 20 bis 40 % der nachgewiesenen OTU vorlagen. Eine solche Verteilung der Taxa könnte in Anlehnung an die „Core and satellite species hypothesis“ der regionalen Verteilung von Arten nach Hanski (1982) die Taxa mit geringer Abundanz als „Satellite Taxa“ und die Taxa mit höherer Abundanz als „Core Taxa“ des Lebensraumes bezeichnen.

In den beiden untersuchten Fragestellungen dominierten jeweils unterschiedliche Core-Taxa die **bakterielle Gemeinschaft im Wasser**. Während in Wasserproben aus dem Herkunftsvergleich Proteobakterien, und Bacteriodota, die aus marinen Lebensräumen isoliert wurden und über deren Biologie wenig bekannt ist, als Core Taxa die Gemeinschaft dominierten, bildeten in der Studie zum Einfluss der Belüftung Flavobakterien (Stamm Bacteriodota) ein Core Taxon. In beiden Untersuchungsschwerpunkten kann vermutet werden, dass die Core Taxa über ein hohes Vermehrungspotential verfügten und somit ökologisch gesehen als r-Strategen betrachtet werden können. In allen untersuchten Becken war die Gemeinschaft im zeitlichen Verlauf Veränderungen unterworfen, wobei in einigen Becken

der Anteil von Core Taxa an der Gemeinschaft zunahm, in anderen Becken weitere Taxa als Core Taxa in Erscheinung traten. Ein Einfluss von Wasserparametern, wie die Schlammfracht, pH-Wert oder Stickstoff- Spezies war anhand der vorliegenden Daten nicht auszumachen.

Die **bakterielle Gemeinschaft in Biofilmen auf den Becken-Oberflächen** unterschied sich grundlegend von der bakteriellen Gemeinschaft im Wasser und es konnte im Laufe der Kultur eine eindeutige Entwicklung beobachtet werden. Diese Entwicklung wurden vor allem in den Proben aus dem Herkunftsvergleich sichtbar: hier wurden Biofilme nach 4 Wochen Kultur und nach etwa 8 Wochen Kultur untersucht. Während die bakterielle Gemeinschaft von etwa 4 Wochen alten Biofilmen eine große Anzahl von Taxa in relativ geringer Abundanz von 1-4 % enthielt, die aus verschiedenen marinen oder aquatischen Habitaten beschrieben wurden, nahmen in Biofilmen aus Becken mit älteren Garnelenkulturen Bakterien aus der nitrifizierenden Gemeinschaft aus dem Stamm Nitrospirota sowie nitrifizierende Archae die Rolle von Core Taxa ein und dominierten in allen Becken die Gemeinschaft. Diese Entwicklung setzte sich auch im Schwerpunkt „Belüftung“ weiter fort, so dass hier Bakterien der nitrifizierenden Gemeinschaft mehr als 40 % der bakteriellen Gemeinschaft stellten. Dieses unterstreicht die Bedeutung der Biofilme im Becken für die Nitrifizierung sowie die langsame Entwicklung dieser Gemeinschaft in marinen Habitaten. Die weitere Zunahme nitrifizierender Bakterien im Laufe der Kultur kann auch als Anpassung des Biofilms an höhere Ausscheidungsraten von Stickstoff-Metaboliten während des Wachstums der Garnelen in der Kultur interpretiert werden.

Die **bakterielle Gemeinschaft im Biofilm auf dem Carapax von Garnelen** unterschied sich ebenfalls grundlegend von den Gemeinschaften im Wasser sowie auf den Becken-Oberflächen. Auf dem Carapax siedelten Bakterien, die auch im Wasser vorkamen, aber in einer veränderten Abundanz. Zudem fiel auf, dass die Zusammensetzung der Gemeinschaft individuell sehr unterschiedlich war und sich auch von Garnelen aus dem gleichen Becken erheblich unterscheiden konnte. So waren bei Garnelen aus einem Becken bei einigen Individuen in der Gemeinschaft keine Taxa vertreten, die mehr als 6-7% der Gemeinschaft bildeten, während bei anderen Garnelen einzelne Taxa 25 bis 50 % der Gemeinschaft ausmachten. Hierbei handelte es sich zum Teil um Taxa, die aus marinen Habitaten beschrieben wurden, und deren Biologie wenig bekannt ist.

Bei einzelnen Garnelen aus unterschiedlichen Becken traten in der Gemeinschaft sowohl im Schwerpunkt „Belüftung“ als auch im „Herkunftsvergleich“ mit Vibrionen und Flavobakterien Bakterientaxa als Core Taxa in Erscheinung, aus denen auch für Garnelen pathogene Spezies beschrieben sind. Allerdings wurden in Becken mit diesen Garnelen keine erhöhten Krankheitsfälle oder Verluste beobachtet. Auch waren in der bakteriellen Gemeinschaft einiger Garnelen Fadenbakterien (Thiothrix) als Core Taxa vertreten. Diese Bakterien sind aus an Schwefel reichen Habitaten, wie marinen Sedimenten, oder Bioreaktoren zur Abwasserbehandlung beschrieben, wurden aber auch aus einem Aquakultur-System mit einer anaeroben Filterstufe zur Denitrifizierung beschrieben (Cytryn et al. 2005). Da das Wasser in der hier untersuchten Garnelenzucht ebenfalls mit einer Denitrifizierungsstufe behandelt wurde, kann die Anwesenheit von Thiothrix in z.T. hoher Abundanz auf dem Carapax von einigen Garnelen als Indikator für einen erhöhten Gehalt an Schwefel-Ionen im Wasser angesehen werden. Das Vorkommen von Schwefelverbindungen kann auf anaerobe Bereiche in der Kultur hindeuten.

Dieser Befund stammt aus der Zeit vor dem Umbau der Wasseraufbereitung, der u.a. als Reaktion darauf erfolgte. Zur Minimierung dieses Risikos ist vor allem entscheidend größere Schlammablagerungen und damit verbundene anaerobe Zonen in den Hälterungsbecken (hier im Grow-Out: GOB) zu vermeiden. Im Beobachtungszeitraum kam es nur zu Beginn (Ende 2019) infolge eines instabilen Futtermittels zu bedenklichem Schlammaufkommen in den Bioreaktoren, in den GOB gab es keine größeren Ablagerungen. Zum Faktor Strömungsverhältnisse s. Kap. 5.2.1.

Die Untersuchungen der bakteriellen Gemeinschaft zeigen, dass unterschiedliche Habitate in der Garnelenzucht von unterschiedlichen Gemeinschaften besiedelt werden. Die Gemeinschaften im Wasser werden von Bakterien mit hohem Vermehrungspotential dominiert, wobei allerdings keine Faktoren ausgemacht werden konnten, die eine Steuerung der Entwicklung dieser Gemeinschaft erlauben. In den Biofilmen auf der Beckenwand siedeln vor allem Bakterien der nitrifizierenden bakteriellen Gemeinschaft. Die Untersuchungen zeigen, dass die Etablierung und Entwicklung dieser Nitrifizierer eine stabile und längere Kultur benötigen.

### 5.1.4.3 *Fazit zu den zootechnischen Ergebnissen*

Die PL aus Deutschland und Österreich sind im Wachstum nicht schlechter als die aus den USA, von Zuchtbetrieben, die wesentlich mehr Erfahrung mit der Nachzucht haben. Keine der Bezugsquellen nach Land liefert in Bezug auf Wachstum und Ertrag bessere oder schlechtere PL. Die sog. zootechnische Performance hängt von anderen Faktoren ab, darunter spielt sicher auch das Futtermittel eine wichtige Rolle.

Es kann dennoch Unterschiede zwischen Zuchtbetrieben geben, die mit unterschiedlichen genetischen Linien arbeiten. So hat Herr Damm nach Abschluss des Projekts vermehrt eine besondere Zuchtlinie aus den USA bestellen können, die nach seiner Aussage ein extrem gutes Wachstum und auch gute Robustheit zeigte. Nur die letzte Kultur aus den USA kam aus diesem Zuchtbetrieb (Batch # 22) und zeigte tatsächlich im Vergleich zu den Kulturen aus Deutschland (Batch # 20) und Österreich (Batch # 23 und #24), die sehr schwach abgeschnitten haben, die besten Ergebnisse in mittlerem Endgewicht und in der Produktionsmenge.

Das Wachstum verlief bei den ausgewerteten Kulturen bis zur geplanten maximalen Kulturdauer von 182 Tagen gemäß und z.T. über der Prognose der damals eingesetzten Futtertabelle, mit Ausnahme der Belüftungsvariante „Sauerstoff“, die zuletzt bis zur finalen Ernte an Tag 162 ein verlangsamtes Wachstum zeigte. In den anderen Kulturen verlangsamte sich das Wachstum deutlich nach Überschreiten der Plandauer von 182 Tagen. Auch dies trägt zu einer geringeren Erntemenge bei und beide Faktoren, die überlange Kultur und das schwächere Wachstum, verschlechtern das Resultat der Futterumwandlungsrate erheblich. Die Wachstumsraten ab Besatztag lagen mit meist über 1g/Woche in einem akzeptablen Rahmen.

Eine verlängerte Kulturdauer bedeutet immer zunehmende Verluste, und bei sehr langer Kulturphase (wie im ersten Schwerpunkt pandemie-bedingt gegeben) genügt bereits eine leichte Erhöhung der Mortalitätsrate um größere Ertragsausfälle zu bewirken. Jedoch kann die längere Kulturdauer nicht die alleinige Ursache für maximal erzielte Überlebensraten von nur ca. 13% sein, zumal auch die Variante „Sauerstoff“ nach vergleichsweise kurzer Kulturdauer von 162 Tagen eine niedrige Überlebensrate (9%) zeigte. Im zeitlich anschließenden Schwerpunkt zum Einfluss der PL-Bezugsquelle wurden höhere Erträge und Überlebensraten bis ca. 35% erreicht, jedoch blieben auch hier die Kennzahlen unter den Planzielen (Näheres s. Kap. 5.3.3).

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung ergaben keinen eindeutigen Befund und konnten auch nicht die Verluste, die in Schwerpunkt 1 besonders hoch waren, erklären (s. Kap. 5.1.1.2.2): Die mikrobielle Gemeinschaft auf den Garnelen variierte sehr stark zwischen den Individuen. Es war hier kein besonderer Trend zu erkennen. Bei einigen Individuen war die Gemeinschaft sehr divers, mit nur geringen Anteilen der einzelnen Bakterienspezies, bei anderen Individuen wurde die Gemeinschaft von einzelnen Bakterien dominiert, die aber nicht als Pathogene beschrieben sind.

Mangelnde Sauerstoff-Versorgung kann hier, bei minimalen Konzentrationen von 5,93 mg/l, ebenfalls als Ursache der Verluste ausgeschlossen werden (Batch #8; s. [Abbildung 5-1](#)). Auch die Nitrit-N-Konzentrationen sind als unkritisch zu bewerten und lagen bei allen Kulturen konstant deutlich unter 2 mg/l (s. [Abbildung 5-5](#)).

Zu hohe CO<sub>2</sub>-Konzentrationen im Hälterungswasser lagen ebenfalls nicht vor und konnten auch für die mit technischem Sauerstoff belüftete Kultur (Batch #8) als Ursache ausgeschlossen werden. Theoretisch kann dieses Gas unzureichend durch den reinen Sauerstoff ausgetrieben worden sein. Die in allen Grow-Out Becken installierte Lufthebepumpe hat diese Entgasungsfunktion ausreichend erfüllt: gemessen wurden von der TiHo Werte zwischen 6-7 mg/l, unterhalb der von Boyd (2001) als akzeptabel eingestuften CO<sub>2</sub>-Konzentration von 10 mg/l. Für Anlagen mit Biofloc-Ansatz kann zur Minimierung dieses Risikos eine nachgeschaltete CO<sub>2</sub>-Strippung integriert werden oder auf eine andere Art der Belüftung gesetzt werden. Wie in Kap. 5.1.1.2 beschrieben, genügte in dieser Anlage die in allen Becken installierte Lufthebepumpe zur Entgasung des CO<sub>2</sub>. Die Airlift-Pumpe erzeugt zudem eine vertikale Strömung, die die Bioflocs in Schwebelage halten kann und die Feststoffe in Richtung der Entnahme lenkt, wo sie in die Wasseraufbereitung geleitet werden.

Wir haben versucht Ursachen zu finden und sehen Risikofaktoren bei Parametern der Wasser- und Futterqualität und der MIBI, aber keine einzelne Ursache, die die Verluste allein erklären würde. Es ist ein multifaktorielles Geschehen. Zu nennen sind folgende Auffälligkeiten, die einen Anteil an den ungünstigen Entwicklungen der Kulturen haben können:

- Peak-Konzentrationen von  $\text{NH}_4\text{-N}$  in der PL-Phase mit Maxima von 6,4 mg/l (in Batch #8 „Sauerstoff“) bzw. 4,2 mg/l (Batch #9 „Standard“) können bereits die PL geschwächt haben, zumal in dieser Kulturphase die Salinität hoch ist und dies die verträglichen  $\text{NH}_4\text{-N}$ -Konzentrationen herabsetzt. Hierauf wurde mit Anpassungen in der Betriebsführung und im technischen Bereich reagiert.
- das instabile Futtermittel, welches mitten in der Kulturphase zu erhöhtem Schlammaufkommen führte, das zwar in den Bioreaktoren und nicht in den GOB akkumulierte, dessen Abbau aber eine Belastung der Garnelen darstellen kann (in 10/2019, betroffen waren Batch #7, #8, sowie die Referenzkulturen #9 und #10). Daraufhin wurden systematisch alternative Futtermittel eingesetzt und geprüft, ein andauernder Prozess.
- Spezifisch bei Batch 8, der Variante ‚Sauerstoffbelüftung‘ wurde in den ersten drei Monaten eine sehr gute Bestandsentwicklung mit hoher Biomasse beobachtet, die sich jedoch nicht auf dem hohen Niveau halten konnte. Hier kann es ein Faktor sein, der mit der Biomassedichte zusammenhängt, die für das damals betriebene System eine hohe Anforderung darstellte.
- Nicht auszuschließen ist zudem der Faktor Genetik der Zuchtlinie: laut Betreiber stammten die hier eingesetzten Besatztiere alle aus ein und demselben Zuchtbetrieb (USA), mit dem im Laufe der Jahre nie ein gutes Ergebnis erzielt werden konnte, unabhängig von Faktoren wie Wasserqualität und Futtermittel. Inzwischen konnten wir, zusammen mit dem Betreiber Herrn Damm, eine andere Herkunft aus den USA identifizieren, die in der Anlage besonders gute Leistungsdaten hervorbringt. Weiterhin wird versucht mit europäischen Zuchtbetrieben zusammen zu arbeiten, die diese besonders erfolgversprechende genetische Zuchtlinie einsetzen.

Es ist problematisch Ursachen für Verluste einzugrenzen, wenn der genaue Zeitpunkt der Verluste kaum zu definieren ist. Es können größere Verluste zu bestimmten Zeitpunkten auftreten oder stetige geringere Verluste. In der Gesundheitsüberwachung sehen wir daher weiteren FuE-Bedarf für Verfahren, die es ermöglichen den Zeitpunkt der Verluste einzugrenzen und idealerweise in Echtzeit oder mindestens tagesgenau zu erfassen, wann die Lebendbiomasse bzw. Zahl der Garnelen zu sinken beginnt. Ansätze zur Erfassung der Lebendbiomasse in einem Becken gibt es, meist sind dies optische Systeme, die in dem gegenüber Klarwassersystem trüberem Wasser von BFT-Systemen schwieriger einzusetzen sind.

In einem gerade abgeschlossenen EU-Projekt<sup>7</sup> haben Polyplan-Kreikenbaum mit Partnern aus Forschung und Industrie an einem Verfahren zur Erkennung von Garnelen mit Hilfe von KI gearbeitet, das selbst in dem trüben Wasser der BFT-Anlage gut auswertbare Daten erzeugen konnte.

### Sensorikprofile

Die sensorischen Eigenschaften der Garnelen können innerhalb einer Herkunft (hier: Garnelen aus dem untersuchten Betrieb Damm Aquakultur), auch unabhängig von Faktoren wie Belüftungsart oder Kulturdauer variieren und auch zwischen Garnelen, die aus regionaler Produktion verschiedener Betriebe stammen. TK-Ware wird meist weniger gut bewertet im Vergleich zu den frischen Produkten. Hier kann aber differenziert werden, da das TK-Bioproduct aus der ersten sensorischen Prüfung und das ASC-zertifizierte TK-Produkt in vielen Eigenschaften die unsertifizierte TK-Ware übertreffen.

---

<sup>7</sup> Fostering DIHs for Embedding Interoperability in Cyber-Physical Systems of European SMEs (<http://www.dih4cps.eu>) grant agreement No 872548

## 5.2 AP 1.2: Entwicklung einer sicheren, effizienten und ressourcenschonenden Betriebsführung von BFT-Anlagen: Risikominimierung und Definition von SOP für eine nachhaltige Betriebsführung (Umweltentlastung, Effizienz der Produktion)

### 5.2.1 AP 1.2.1: Risikoanalyse und -minimierung für BFT in Bezug auf Sauerstoffbedarf durch erhöhte TS-Fracht unter versch. Betriebsszenarien und Implikationen für Umwälzung und Belüftung

Im Schwerpunkt Belüftungsart (s. Kap. 5.1.1) wurden als Betriebsszenarien die Belüftung mit Injektoren und die Belüftung mit technischem Sauerstoff getestet. Letzteres zeigte sich im Praxistest in dieser BFT-Anlage als problembehaftet. Die Kultur aus der Variante ‚Sauerstoff‘ musste vorzeitig abgefischt werden, als sich Anzeichen einer abnehmenden Biomasse zeigten (s. Kap. 5.1.4), deren Ursache nicht definiert werden konnte. Der reine Sauerstoff schien zunächst für die Entwicklung der Biomasse jedoch vorteilhaft zu sein, da diese sich in den ersten drei Monaten der Kultur sehr gut entwickelte. Ab einem bestimmten Punkt der Biomassedichte traten vermutlich negative Rückkopplungen auf, die zwar nicht zu einem Crash führten und auch nicht zu unzureichender Sauerstoffkonzentration oder zu erhöhten NH<sub>4</sub>-N- bzw. NO<sub>2</sub>-N-Konzentrationen, aber sich negativ auswirkten auf die Population. Probleme, die mit der erhöhten Biomasse zusammenhängen können sein:

- Konkurrenz um Futter, ggf. sogar Unterfütterung, wenn die Biomasse niedriger eingeschätzt wurde, als sie tatsächlich war
- Stress, der bei weiteren Belastungsfaktoren wie ungenügender Futtermenge zu erhöhtem Kannibalismus führen kann
- Nicht ausreichend Bodenfläche in Häutungsphasen und Stress-bedingt erhöhte Verluste in diesen Phasen

Der Einsatz von reinem Sauerstoff scheint also durchaus einen guten Effekt zu haben, muss aber auf das jeweilige System in Bezug auf dessen Tragekapazität abgestimmt werden. Die höhere Biomasse ging nicht mit einem besseren Wachstum im Vergleich mit den anderen Belüftungsvarianten einher, sodass hier eine positive Wirkung auf die Überlebensrate nahelegt, ein Effekt, der anzustreben ist.

Allerdings muss dabei betrachtet werden, dass bei Zufuhr von reinem O<sub>2</sub>, der Bedarf an Sauerstoff durch zusätzliches mikrobiell aufgeschlossenes organisches Material steigt. Wenn allerdings O<sub>2</sub> im Rahmen z.B. einer H<sub>2</sub>-Produktion ausreichend und kostengünstig verfügbar ist, spricht viel für dessen Einsatz. U.a. kann der Einsatz von Sauerstoff zu stabileren Kulturbedingungen und dadurch zu einer erheblichen Verbesserung für das Gesamtsystem führen.

Die **Injektorbelüftung** erwies sich als vergleichsweise ungünstig, da die starken Scherkräfte die Bioflocs zerfielen ließen und diese kleineren und leichteren Flocken sich schwerer absetzten in der Sedimentation (s. Kap. 5.1.1.2.1).

Es bleibt zu überprüfen, ob dieses Resultat auftrat, weil wir hier mit einem Vordruck auf der Wasserseite von 4 bar Überdruck arbeiten mussten. Rein physikalisch wäre ein Injektor-Betrieb mit anderer Dimension auch mit 0,6 bar Überdruck betreibbar, was deutlich geringere Scherkräfte verursachen würde. Ob dann eine ähnliche, negative Rückkoppelung auf die Bioflocs zu beobachten wäre, bleibt zu überprüfen.

#### **Strömungsverhältnisse**

Ein zentraler Faktor für eine ausreichende Sauerstoffversorgung sind die Strömungsverhältnisse im Hälterungsbecken. Die Strömungsgeschwindigkeit wurde in einem GOB an verschiedenen Messpunkten zwischen Oberfläche und Boden und in Richtung Beckenwand zum zentralen Dom gemessen und erreichte zwischen 1 und 20 cm/sec (s. [Abbildung 5-77](#)). Zur Belüftung wurden standardmäßig in den GOB besonders effektive Diffusoren eingesetzt, als notwendige Ergänzung zu der Leistung der Lufthebepumpe. Dieses Kombinationsverfahren erzielte eine gute Sauerstoff-Verteilung (s. [Abbildung 5-76](#)).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Die großen Hälterungsbecken wurden regelmäßig auf Ablagerungen von Feststoffen hin untersucht und auch der Ablauf wurde über eine kurzzeitige Öffnung des Ernteausgangs geprüft. Es zeigten sich keine Hinweise auf Ablagerungen.

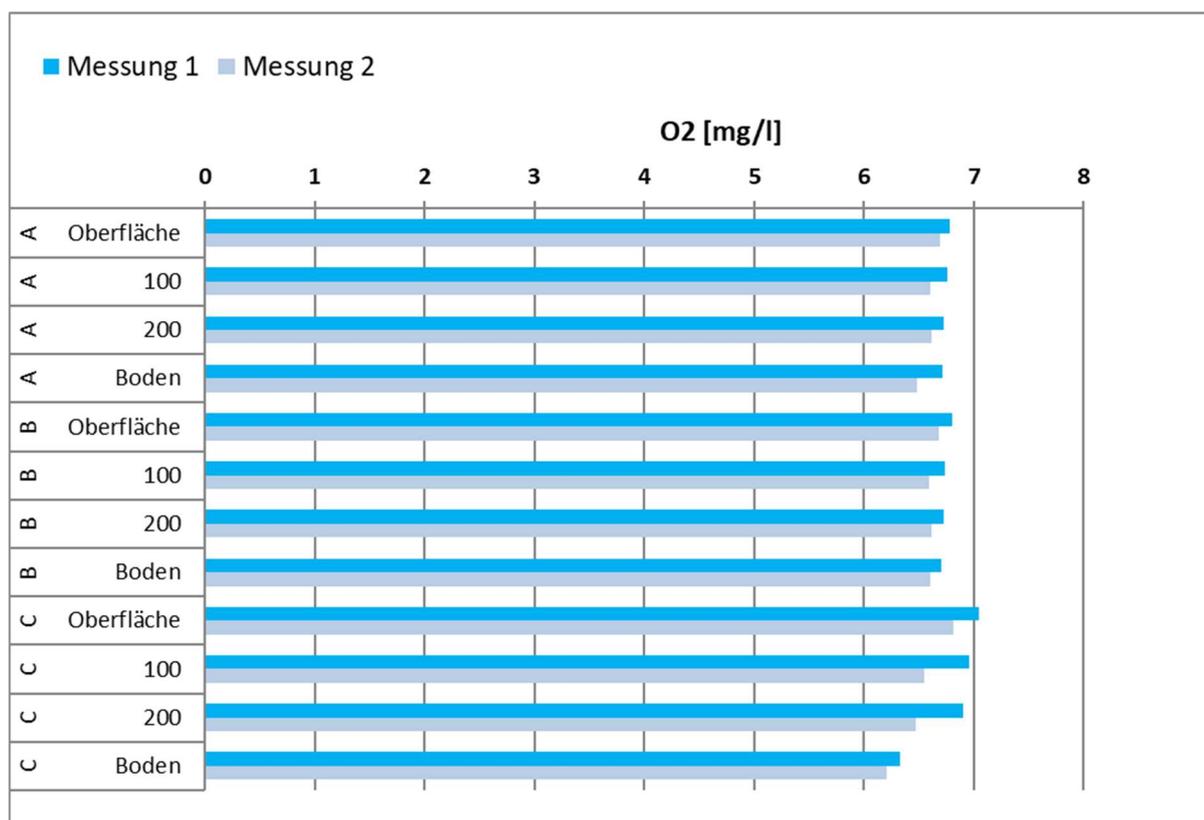
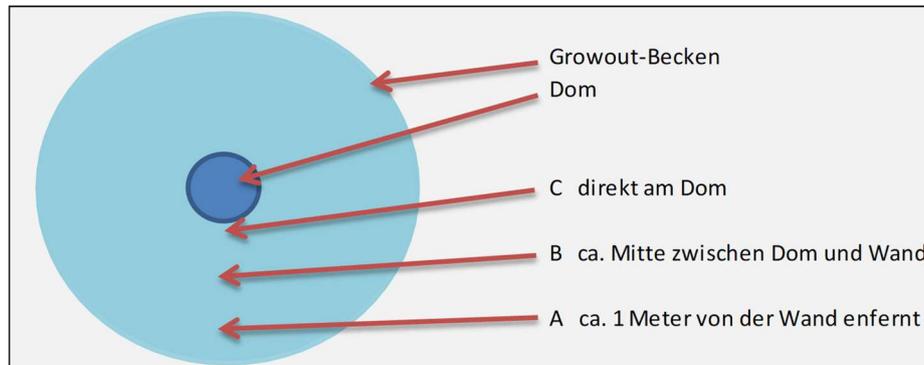


Abbildung 5-76: Sauerstoffverhältnisse [mg/l] in einem der 9 GOB unter Belüftung durch Ausströmer, Messpunkt A: 1m vom Beckenrand, Messpunkt B: Mitte zwischen Beckenwand, Messpunkt C: direkt am zentralen Dom, der Lufthebepumpe

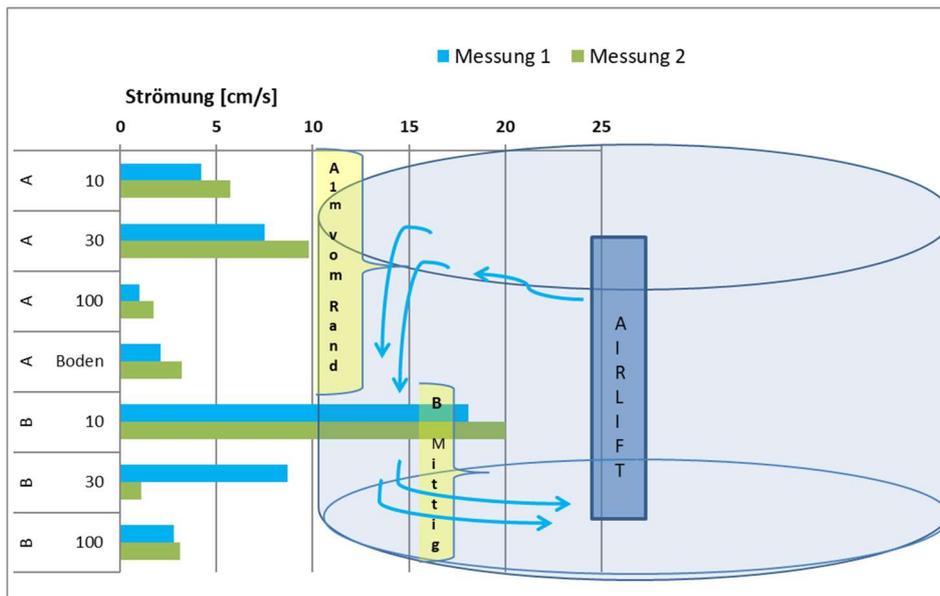


Abbildung 5-77: Strömungsgeschwindigkeiten [m/s] in einem der 9 GOB, Messpunkt A: 1m vom Beckenrand, Messpunkt B: Mitte zwischen Beckenwand und zentraler Lufthebepumpe (Airlift)

Es wurde eine Simulation der Sauerstoffverhältnisse in den GOB durchgeführt. Folgende Betriebszustände wurden berücksichtigt:

1. Lastzustand 1 Mitteldom. Mit einem Volumenstrom von 231,84 m<sup>3</sup>/h und einem Delta O<sub>2</sub> von 6 mg/l
2. **Lastzustand 2. Belüftung über Injektoren tangential angeordnet**
3. **Lastzustand 3. Wie Lastzustand 1, aber mit Habitaten**
4. Lastzustand 2 Hinzuschalten einer Propellerpumpe, um eine erhöhte Schleppspannung oberhalb der Boden- und Wandflächen erzeugen sollte.

### Ergebnisse aus dem Lastfall 2:

In Lastfall 2 wird die Strömung durch den Mitteldom und die tangential angeordneten Injektoren erzeugt.

Der Mitteldom und die Injektoren bewegen und belüften das Wasser gleichzeitig. Der Mitteldom erzeugt eine radiale Walze in dem mittig das Wasser über ein Airlift-System angehoben wird. Das geförderte, mit Sauerstoff angereicherte Wasser (6 mg/l) wird in der obersten Wasserschicht horizontal in das Becken zurückgeleitet. Die Ansaugung des Wasserstroms von 250 m<sup>3</sup>/h erfolgt in Bodennähe. Hierdurch wird eine radiale Wasserwalze erzeugt.

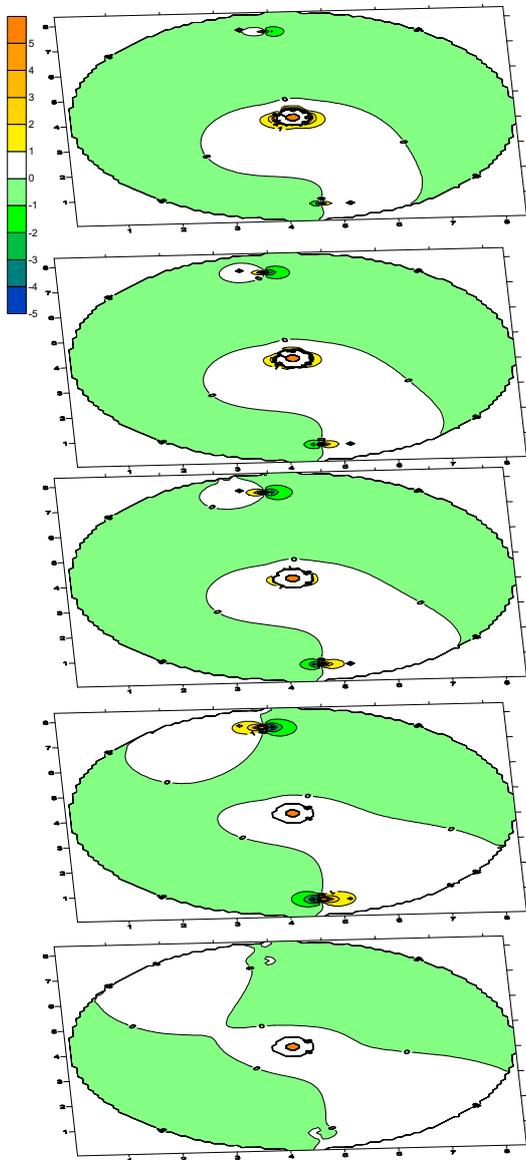
Die Injektoren bringen eine tangential Komponente in die Strömung hinein, da sie tangential an der Wand angebracht sind. Neben dem Impulsstrahl der Injektoren, der horizontal ausgerichtet ist, tritt hinter dem Injektor ein kleinräumiges, vertikales Geschwindigkeitsfeld durch den nachfolgenden Luftschleier (aufsteigende Luftblasen) der über den Injektor eingetragenen Luft auf.

Die Verteilung der Sauerstoffkonzentration ist relativ gleichmäßig. Im unteren Beckenbodenbereich treten Felder mit erhöhter Schubspannung auf, die Richtung Mitteldom gerichtet sind.

Es ist mit relativ geringen Ablagerungen in diesen Bereichen zu rechnen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

**Vertikale Strömung in cm/s**



0,15 m

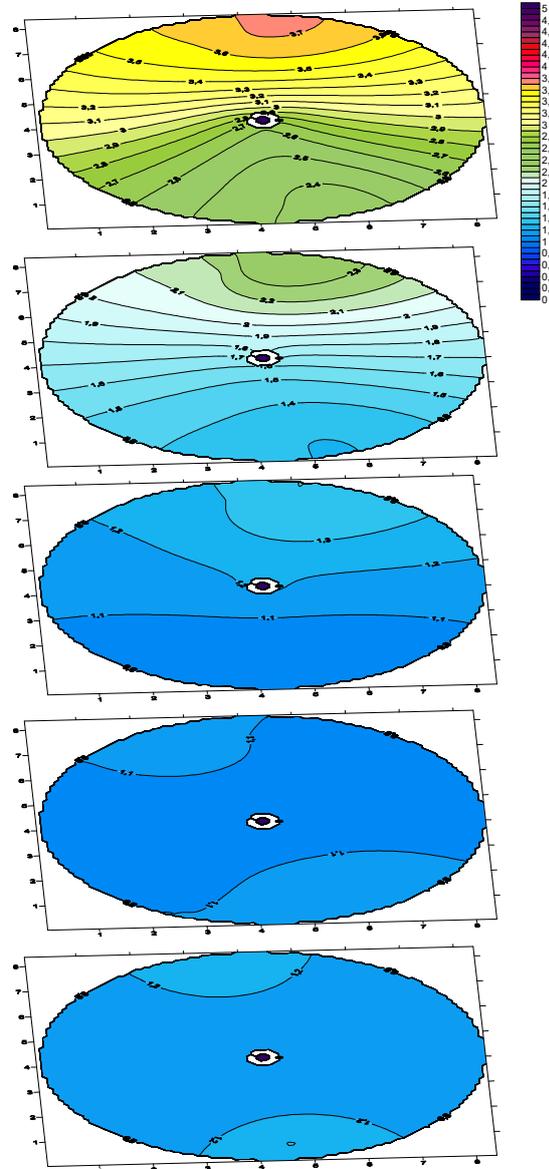
0,5 m

1,2 m

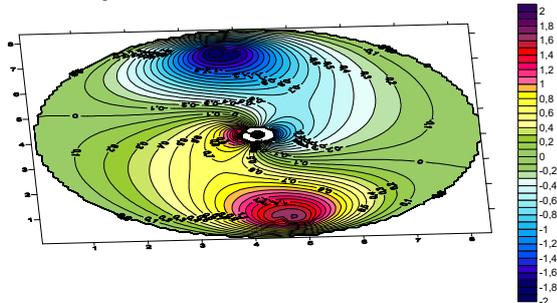
1,95 m

2,2 m

**Sauerstoffkonzentration nach 1 h Betriebszeit**



**Strömung U in cm/s, direkt über dem Boden**



**Strömung V in cm/s, direkt über dem Boden**

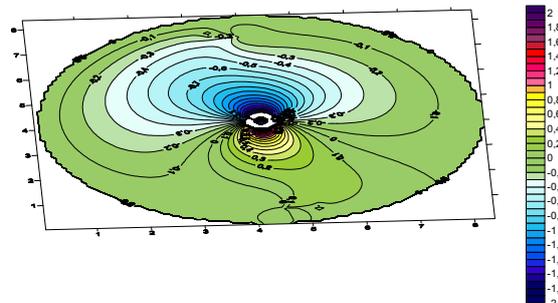


Abbildung 5-78: Darstellung (horizontale Beckenschritte) der Sauerstoffverteilung (rechts) nach 360 s sowie der vertikalen Strömungsgeschwindigkeiten (links) sowie die U Geschwindigkeiten (unten) und V Geschwindigkeiten (horizontale Beckenschritte)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### **Ergebnisse aus dem Lastfall 3:**

Trotz der hydrodynamischen Optimierung der Habitate zeigt sich eine Abnahme der vertikalen sowie horizontalen Strömungsgeschwindigkeiten in diesen Bereichen. Geringe Strömungsgeschwindigkeiten führen automatisch zu einer geringeren Versorgung mit Sauerstoff. Da auf der anderen Seite aufgrund der geringeren Geschwindigkeit mit höheren Akkumulationen zu rechnen ist, ist sogar zu erwarten, dass in diesen Bereichen die Zehrung von Sauerstoff gegenüber der Zehrung im sonstigen Becken deutlich erhöht ist. Dieser Sachverhalt würde die Situation im Bereich der Habitate rechnerisch nochmals verschlechtern.

Die Habitate sind trotz Optimierungen hinsichtlich der Vermeidung von anaeroben Zonen und trotz einer optimierten Anströmung daher in der Wirkung fragwürdig.

Die Anströmung der Beckenwände und Bodenflächen konnte in allen Lastfällen mit Einsatz des Mitteldomes sehr gleichmäßig mit ca. 2 cm/s realisiert werden.

Die hier modellierten Habitatstrukturen sind in der Struktur ähnlich aufgebaut wie die in dem Habitatversuch eingesetzten (s. Kap. 8.1.1).

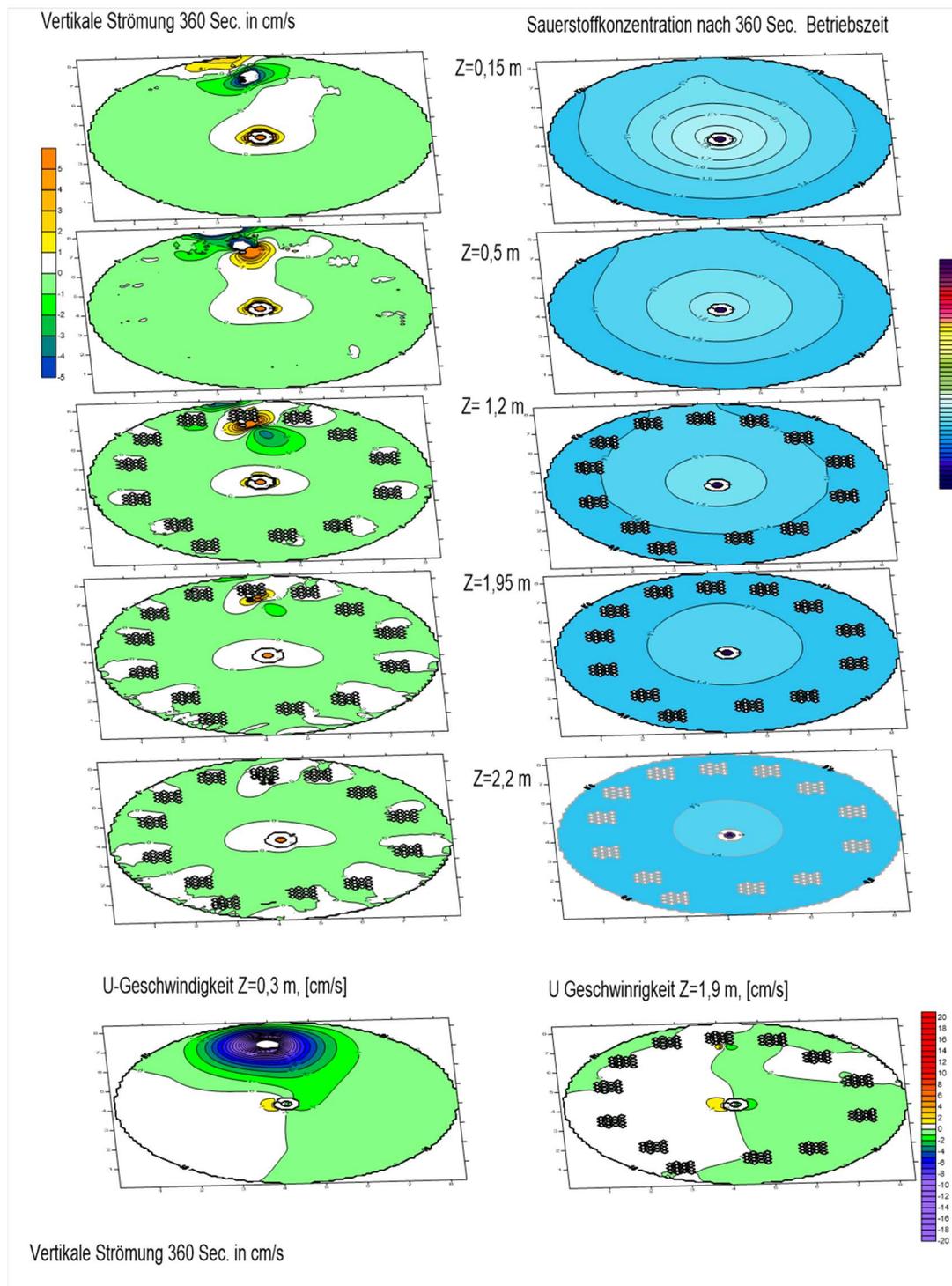


Abbildung 5-79: Darstellung (horizontale Beckenschritte) der Sauerstoffverteilung (rechts) nach 360 s sowie der vertikalen Strömungsgeschwindigkeiten (links) sowie die Umwälzungs-(U-)Geschwindigkeiten (unten) (horizontale Beckenschritte)

**Fazit:** Die Belüftung in BFT-Anlagen sollte mit Ausströmern bzw. Diffusoren umgesetzt werden, da hier ein sehr homogenes, 3-dimensionales Strömungsfeld erzeugt werden kann, was auch unter minimalem Energieaufwand betrieben werden kann, ohne Sedimentationsräume zu erzeugen. Eine zusätzliche Lufthebepumpe trägt zur Entgasung bei und erzeugt eine ausreichende vertikale Strömung, um Ablagerungen am Boden zu vermeiden.

## 5.2.2 AP 1.2.2: Erarbeitung von spezifischen Betriebsanleitungen (SOP) für den effizienten Einsatz der Ressourcen (Energie/ Wasser/ Betriebsmittel) für BFT-Anlagen

Die im Vorhaben KoMARE Phase I erarbeitete Betriebsanleitung war grundsätzlich umzustellen auf den Betrieb einer BFT-Anlage. Für die als Indoor-Verfahren junge und wenig erforschte BFT-Technologie wurden definierte Betriebsprozesse in enger Zusammenarbeit mit dem Betreiber abgestimmt und in der Praxis seiner Anlage geprüft.

Neue Verfahren kamen insbesondere bei dem Betrieb der auf dem BFT-Design der Firma CreveTec basierenden Wasseraufbereitung zur Umsetzung. Dieses Design bestand ursprünglich aus einer Sedimentationsstufe und dem sog. Bioreaktor, in dem sich die Denitrifizierung in einem batchweisen Betrieb in der Phase der Durchmischung entwickeln soll. Als Kohlenstoffquelle war der im Schlamm enthaltene organische Kohlenstoff vorgesehen. Für die Überwachung und Steuerung von Wasserständen und der Dauer der Betriebsphasen wurde eine auf dieses Anlagenkonzept ausgelegte SPS programmiert.

Abweichungen von der ursprünglichen, für RAS-Anlagen konzipierten Betriebsanleitung kamen u.a. auch bei folgenden Prozessen zum Tragen:

- PL-Akklimatisierung in der sog. Nursery-Phase, in der das neu angesetzte Salzwasser für die Besatztiere mit Zuckergaben und Probiotika auf Biofloc-haltiges Wasser eingestellt werden muss
- Das Zusammenschalten von zwei benachbarten GOB ist auch ein für diese Anlage konzipierter Prozess, der das Steuern des Wasserstandes in den Becken beinhaltet, um eine möglichst homogene Verteilung der juvenilen Garnelen in beiden Becken zu erzielen

Mit dem Umbau der Wasseraufbereitung Anfang 2022 mussten Steuerungsprozesse und Handhabung neu konzipiert werden, was zu 100% eigenfinanziert umgesetzt wurde. Die damit erzielten deutlich besseren Ergebnisse der Garnelenproduktion sind inhaltlich in diesem Bericht beschrieben.

Beibehalten wurde als BFT-spezifische Monitoringmaßnahme u.a. die regelmäßige Überwachung der Konzentration absetzbarer Stoffe in Imhofftrichtern, als Maß für den Volumenanteil von Bioflocs im Hälterungswasser. Der sog. Imhoffwert ist über die Umwälzungsraten durch die spezifische Wasseraufbereitung bei gutem Absetzverhalten der Bioflocs relativ gut quantitativ regelbar, wie gezeigt werden konnte (s. Kap. 7.1.1.1).

Es gab nach Projektabschluss laut Betreiber aber auch die Beobachtung, dass innerhalb eines Moduls, in benachbarten Becken, sehr unterschiedliche Biofloc-Strukturen auftreten konnten: von einer sehr lockeren Struktur mit langsameren Absetzverhalten, zu kompakterer Struktur, die schneller absank. In Becken mit kompakteren Bioflocs sollen sich die Garnelen besser entwickelt haben – eine Beobachtung, die wir nicht mehr untersuchen konnten.

Die Frage ob und mit welchen Maßnahmen die Qualität, z.B. Eigenschaften wie der Phänotyp (große, leichtere oder kleine, schwerere Strukturen), auch steuerbar ist, konnte innerhalb des Vorhabens nicht untersucht werden. Dafür war die Ausbeute an Bioflocs aus den GOB zu gering und vor allem gab es zu viele Variablen in den Betriebsbedingungen infolge erheblicher Inkonsistenz in der Auslastung des Betriebes (s. Kap. 4, Verlauf und unerwartete Probleme in der Durchführung der Arbeiten).

Die Fragestellung, durch welche Maßnahmen gezielt eine „Wunsch-Struktur“ und definierte Beschaffenheit der Bioflocs erzielbar wäre, kann idealerweise unter sehr kontrollierten Bedingungen in einer Versuchsanlage ermittelt werden. Das Versuchsdesign sollte dafür annähernd die Biomassedichten einer kommerziellen Anlage abbilden.

Das Ziel, spezifisch Verfahren für den effizienten Einsatz von Ressourcen zu entwickeln, war unter den gegebenen Betriebsbedingungen aus denselben Gründen nicht zu erreichen: es gab keinen längeren Zeitraum mit konstantem Besatz und konstanten Bedingungen und ein Vollastbetrieb wurde nie erreicht. Im Rückblick waren die angestrebten Biomassedichten von bis zu 5kg/m<sup>3</sup> mit der alten Wasseraufbereitung auch nicht zu erreichen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Die folgende Graphik bildet die Inkonsistenz der Auslastung im Betrieb ab 2020 deutlich ab.

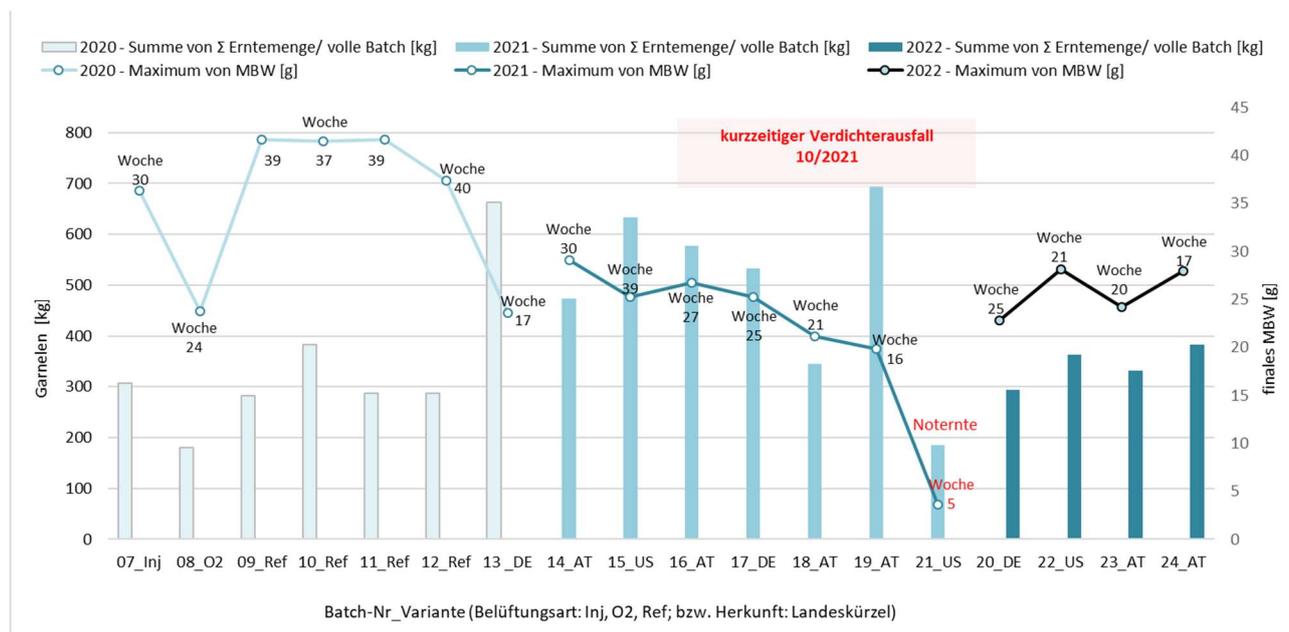


Abbildung 5-80: Vergleich der - auf einen vollen Besatz skalierten – Produktionsmengen [kg] von 2020 bis 2022 und erreichtem maximalem MBW [g] unter Angabe der Kulturwoche (Erntemenge in 2021 für Batch 21 basierend auf Noternte durch Sauerstoffabfall, mit MBW von nur 3,6g)

### 5.3 AP 1.3: Auswertung AP1, mit Ermittlung der Kennzahlen, Bewertung der Ressourcen-Effizienz und Evaluierung in Bezug auf eine Zertifizierbarkeit des Produktionsverfahrens (POLY-K und TiHo)

#### 5.3.1 Ermittlung der Kennzahlen (spezifischer Verbrauch an Energie, Wasser und Futter)

Die eingangs genannten externen Störungen beeinträchtigten den Produktionsplan, da nicht in der geplanten Frequenz neu besetzt werden konnte. So war in 2020 nur an einem Termin im Sommer ein Neubesatz realisierbar (damals 3 halbe Batches aus drei verschiedenen Bezugsquellen). Die letzten Chargen aus 2019 mussten daher sehr viel länger in Kultur gehalten werden, um den gewonnenen Kunden überhaupt noch Produkt anbieten zu können. Die Kulturdauer dieser Chargen im Beobachtungszeitraum ab August 2019 bis Herbst 2020 (ca. 400 Tage) lag im Mittel bei 241 Tagen, im Maximum betrug sie 278 Tage. Besatz ab 2021 (Start in 04/21) hatte eine Kulturdauer von 119 bis 192 Tagen – geplant waren maximal 182 Tage.

Aus deutlich verlängerten Kulturperioden ergeben sich sehr ungünstige Verbrauchs-Kennzahlen, die um ein Vielfaches erhöht sind gegenüber den Zielwerten. Zielwerte zum spezifischen Verbrauch können aus der geplanten Produktionsmenge einer Kultur nach der zugrundeliegenden Futtertabelle abgeleitet werden, die von einem Zielwachstum und einer angenommenen Überlebensrate bei einem daraus abgeleiteten Futtermiteinsatz ausgeht.

Auch auf das Jahr 2021 wirkten sich noch Lieferengpässe aus, da erst ab April wieder Neubesatz verfügbar war. Ab April konnte die Anlage noch an 9 Terminen besetzt werden, was der Frequenz nach Besatzplan entsprach.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Daten, die wir zur Ermittlung der Kennzahlen herangezogen haben sind, neben den Grunddaten zu Besatzzahl und Kulturdauer:

- Gesamterntemenge [kg] der betrachteten Kultur im Beobachtungszeitraum
- Verbrauch an Strom bzw. Wasser pro Kalendertag und Jahr (Strom jeweils für die Jahre 2020 bzw. 2021)
- sowie - für die Futterumwandlungsrate - der Gesamteinsatz an Futtermittel [kg] pro Kultur

Insgesamt liegen diese Daten zu 16 Kulturdurchgängen bzw. Batches vor, im Zeitraum von 08/2019 bis 03/2022.

Je nach Wahl des Beobachtungsfensters in diesem Zeitraum variieren die Kennzahlen, da, wie erläutert, die Kulturdauer sehr breit variierte und sich aus einer längeren Kulturdauer direkt ein höherer Verbrauch sowohl an Futter als auch an Energie und Wasser ergibt, ohne, dass die produzierte Menge entsprechend ansteigt.

Eine ideale Kulturdauer von nur 117 Tagen wurde bei einer Batch erzielt: dem 1. Besatz aus deutscher Herkunft. Die Kulturphase lag damit um 65 Tage bzw. mehr als 2 Monate vor dem geplanten Erntetermin. Diese kurze Kulturdauer wurde ermöglicht durch 1. ein extrem gutes Wachstum auf 24g in weniger als 4 Monaten ab Besatz und 2. durch die kurzfristige Abnahme der gesamten Produktionsmenge durch einen Großabnehmer.

Die Kennzahl Futterumwandlungsrate kann für einzelne Kulturdurchgänge berechnet werden. Dieser Ansatz ist unter den uns vorliegenden Bedingungen der BFT-Anlage nicht möglich für die Ermittlung der Kennzahlen zum Energie- und Wasserverbrauch, denn der Verbrauch an Energie und Wasser bezieht sich auf die gesamte Anlage und kann nicht spezifisch für ein Becken bzw. eine Batch ermittelt werden. Ein Verbrauch findet auch in Becken statt, die noch nicht im Beobachtungsfenster erntereif werden.

Aus diesen Gründen wurde für die energie- und wasserbezogenen Kennzahlen folgender methodischer Ansatz gewählt, mit zwei unterschiedlichen Bezugsgrößen für die „Jahres-Produktionsmenge“:

1. Die **real erzielte Gesamternte** der Kalenderjahre 2020 und 2021 wurde jeweils in Beziehung gesetzt zum Gesamtstromverbrauch bzw. Wasserverbrauch des Jahres.
2. Für jede real erzielte Produktionsmenge eines Kulturzyklus wurde die mit der Planzahl an Neubesatz pro Jahr **theoretisch erzielbare Produktionsmenge** ermittelt und als Grundlage der Kennzahlermittlung gesetzt. Dies wurde durchgeführt für eine realistische monatliche Besatzfrequenz von 12 Mal pro Jahr

Die aus dem Beckenbelegungsplan für das umgesetzte Modul-Design und der mit 182 Tagen angesetzten Kulturdauer ermittelte theoretisch mögliche maximale Zahl für Neubesatz beträgt 13,5 Mal pro Jahr. Diese Frequenz setzt eine stetige PL-Verfügbarkeit voraus und Lieferungen auf Abruf.

erzielbare Anzahl Neubesatz/ Jahr	theoret. Maximal-Ernte [kg] bei max. Anzahl Neubesatz [kg]	Zielernte [kg] bei monatl. Neubesatz [kg]
13,5	11000	
12		9800

#### Kennzahl Futterumwandlungs- und Überlebensraten:

Zur Ermittlung der Futterumwandlungsrate bzw. englisch FCR (Feed Conversion Ratio) wurde die für den gesamten Kulturzyklus real eingesetzte Futtermenge (Trockenfutter) durch die real erzielte Produktionsmenge an frischer Biomasse Garnelen geteilt. Die Überlebensraten wurden als Annäherungswerte ermittelt, basierend auf der von den Zuchtbetrieben übernommenen Besatzzahl als 100% und der Anzahl insgesamt abgefischter Garnelen, berechnet aus den Erntemengen und den mittleren Körpergewichten, die bei den Abfischvorgängen bestimmt wurden. Dieser Ansatz ist in größeren Produktionsmaßstäben praktikabel, es bestehen aber gewisse Unsicherheiten. Daher können die so erhaltenen Ergebnisse nicht als exakt gelten, erlauben aber einen Vergleich der Größenordnungen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

## Ergebnisse

Tabelle 5-16: in den Jahren 2020 bis 2022 erzielte Produktionsmengen [kg], eingesetzte Futtermengen [kg] und ermittelte Futterumwandlungs- sowie Überlebensraten [%] (Einzelwerte in dieser Pivot-Auswertung als ‚Maximum‘ bzw. ‚Minimum‘ angegeben)

Jahr - Batch	Summe von		Summe von		Minimum von Überlebensrate
	Maximum von Tag in Kütur	Futtermenge gesamt [kg]	Erntemenge [kg]	Maximum von FCR	
≙ 2020	278	10760	2011	6,97	9,4%
07_US	209	1805	346	5,22	11,9%
08_US	162	1283	202	6,35	9,8%
09_US	272	2213	317	6,97	9,9%
10_US	257	1178	215	5,48	12,7%
11_US	270	1813	288	6,30	9,4%
12_US	278	1748	287	6,09	10,3%
13_DE	117	720	356	2,02	35,1%
≙ 2021	274	8091	2275	4,73	20,5%
14_AT	210	1232	260	4,73	22,7%
15_US	274	1398	316	4,42	34,0%
16_AT	192	1224	433	2,83	28,5%
17_DE	173	1254	399	3,14	26,3%
18_AT	149	1719	432	3,98	20,5%
19_AT	114	1264	434	2,91	43,7%
≙ 2022	177	7818	1942	9,87	16,1%
20_DE	177	1816	184	9,87	16,1%
22_US	144	1565	453	3,45	16,3%
23_AT	143	837	187	4,48	17,3%
24_AT	118	1793	239	7,50	18,8%

### Kennzahlen Stromverbrauch:

1. Ansatz: Auf Basis des real verbrauchten Stromvolumens der Jahre 2020 und 2021 konnte der spezifische Stromverbrauch für die Produktionssumme der jeweils 6 Erntezyklen pro Jahr berechnet werden.

Diese Zahlen sind erwartungsgemäß deutlich unter den Zielzahlen, da die Produktion durch verschiedene Störfaktoren beeinträchtigt war. Die Produktion erreichte nur ca. 1/5 der Zielerntemenge.

Jahr	2020	2021
Jahresproduktion [kg]	2.001	2.275
Jahres-Stromverbrauch [kWh]	55.044	48.870
spez. Stromverbrauch [kWh/kg]	27,5	21,5
Planungszahl spez. Stromverbrauch [kWh/kg]	12	

2. Ansatz: Die real erzielten Produktionszahlen wurden auf ein Jahr hochskaliert und daraus exemplarisch die spezifischen Verbrauchszahlen berechnet. Da die Besatzzahlen der Kulturdurchgänge z.T. stark variierten (zwischen 40.000 PL und 120.000 PL), wurde für die Vergleichbarkeit die erzielte Produktion mit dem entsprechenden Faktor für die abweichende Besatzzahl der jeweiligen Kultur auf einen vollen Besatz berechnet, der ursprünglich mit 80.000 PL pro Kultur geplant war (s. Tabelle zu Kap. 5.3 im Anhang).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Der Stromverbrauch würde nicht signifikant steigen, wenn die Garnelenproduktion hochskaliert wird. Eine höhere Auslastung der Anlage wirkt sich positiv auf die Kennzahlen aus, da der Grundbedarf immer besteht: das Wasser zirkuliert, ob Becken besetzt sind oder nicht. Gewisse Einsparungen gibt es, so kann die Belüftung leicht reduziert werden.

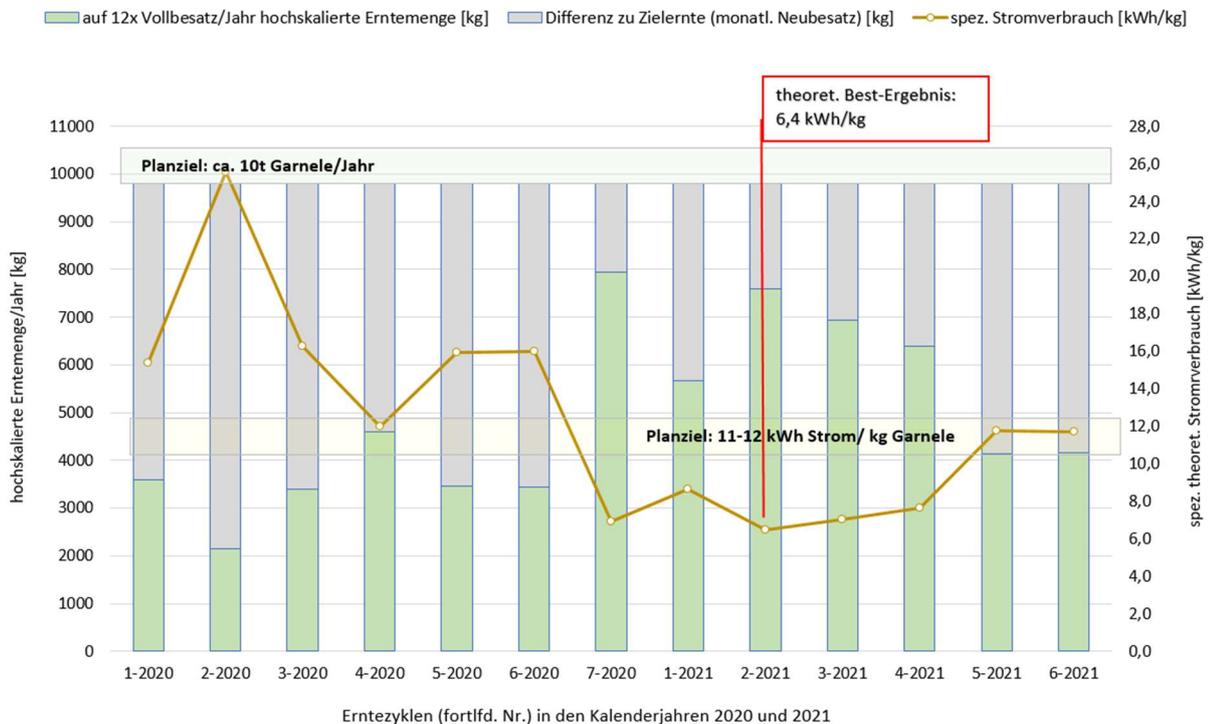


Abbildung 5-81: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, mit dem daraus resultierenden spezifischen Stromverbrauch pro kg Garnelle [kWh/kg] und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau)

### Kennzahlen Wasserverbrauch:

Nach demselben Ansatz wurden auch die Kennzahlen für den spezifischen Wasserverbrauch ermittelt.

Ansatz 1: auf Basis des real verbrauchten Wasservolumens ergaben sich folgende Kennzahlen:

Jahr	2020	2021
Jahresproduktion [kg]	2.001	2.275
Jahres-Wasserverbrauch [L]	503.329	
spez. Wasserverbrauch [L/kg]	252	221
Planungszahl spez. Wasserverbrauch [L/kg]	47	

Die Diskrepanz zu den Zielwerten ist hier noch gravierender im Vergleich zum spezifischen Stromverbrauch. Ein Großteil des Wasserverbrauchs ist dem Verdunstungsausgleich zuzuordnen, der unabhängig von der Auslastung der Hälterungsbecken anfällt. Auf die Bedingungen in der Anlage Damm bezogen würde sich ein noch größerer Wasserverbrauch ergeben, wenn nur **1% des Gesamtvolumens** von ca. 1000 m<sup>3</sup> pro Tag erneuert werden müsste: 10.000 L/Tag bzw. pro Jahr ein Verbrauch von 3650 m<sup>3</sup>. Auch bei Erreichen der Zielproduktion von ca. 10t pro Jahr ergeben sich dabei noch ca. **370 L Wasserverbrauch pro kg Produkt**.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Eine Wasser-Erneuerung bzw. ein Wasseraustausch im eigentlichen Sinne: Entnahme von Wasser und Ersatz durch Frischwasser (mit Salz angesetzt), erfolgt im angewandten Biofloc-Verfahren nur bei einem Neubesatz. Dafür werden die PL-Becken befüllt, die 10 m<sup>3</sup> fassen.

In Summe wurden auf diesem Weg von 2019 bis Juli 2022, folgende Wasservolumina ausgetauscht:

Wasserverbrauch/ Neubesatz [m <sup>3</sup> ]	10			
Jahr	2019	2020	2021	2022, bis 07
Anzahl Neubesatz	9	3	9	9
Wasserverbrauch/Jahr [m <sup>3</sup> ]	90	30	90	90

Von den ab 2020 pro Jahr verbrauchten ca. 500 m<sup>3</sup> gehen damit nur 30 m<sup>3</sup> (2020) bzw. 90 m<sup>3</sup> (2021) auf den Wasseraustausch. Erst Anfang 2022 wurde durch das Aufsalzen und nachträgliche langsamere Wieder-Verdünnen, ohne zusätzlichen Wasserabschlag (geringe laufende Verluste waren nicht kompensiert worden<sup>8</sup>) erstmals seit Ende 2018 zusätzlich Wasser erneuert (s. Kap. 5.1.1.3.1).

Ansatz 2: Die real erzielten Produktionszahlen wurden, wie für den Wasserverbrauch, jeweils auf einen Voll-Besatz und ein Jahr hochskaliert, um daraus exemplarisch die spezifischen Verbrauchszahlen zu berechnen (*Abbildung 5-82*).

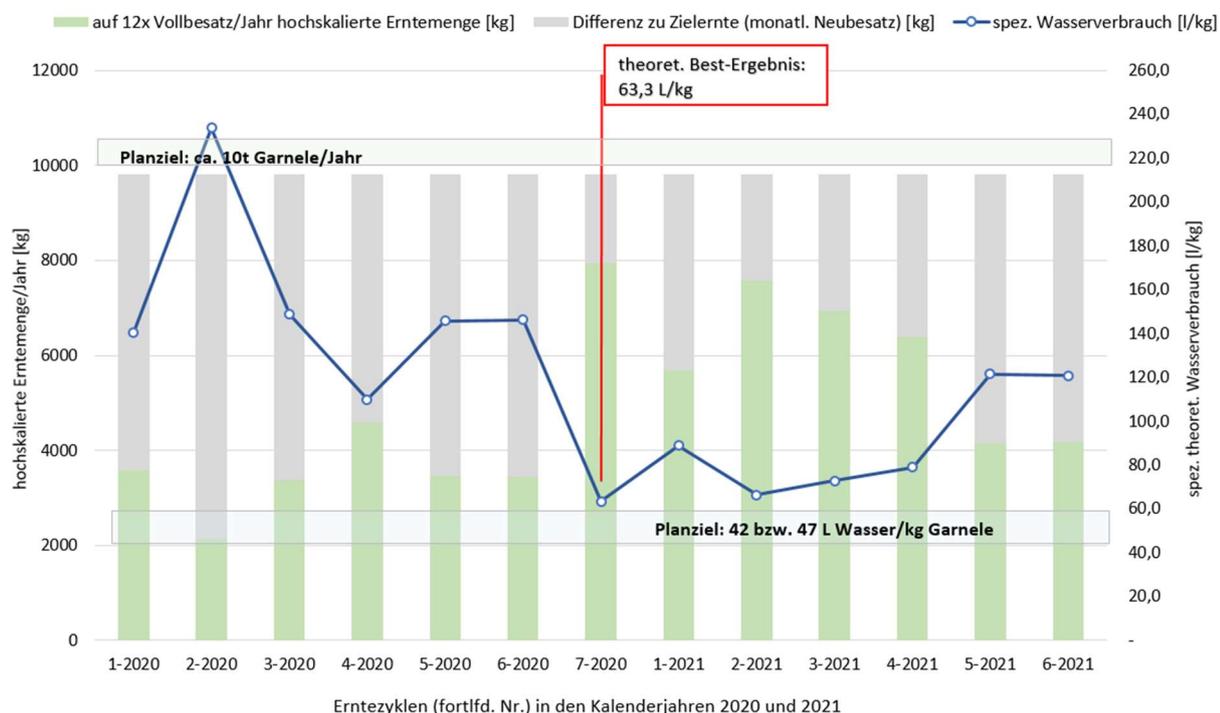


Abbildung 5-82: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert für jede der 6 Erntezyklen im Kalenderjahr 2020 und 2021, mit dem daraus resultierenden **spezifischen Wasserverbrauch pro kg Garnele [l/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau)

<sup>8</sup> Die Wasserverluste sind bedingt durch Schlammmentnahmen, bis 500L/Tag dürfen laut Genehmigung der Behörden auf landwirtschaftliche Nutzflächen verbracht werden

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

**Kennzahlen Wärme-Energieverbrauch:**

Ansatz 1: auf Basis der real verbrauchten Wärme-Energie und der real erzielten Produktionsmengen ergeben sich folgende Kennzahlen:

Jahr	2020	2021
Jahresproduktion [kg]	2.001	2.275
Jahres-Wärme-Energieverbrauch [kWh]	413.000	488.000
spez. Wärme-Energieverbrauch [kWh/kg]	206	215
Planungszahl spez. Wärme-Energieverbrauch [kWh/kg]	33	

Ansatz 2: Die real erzielten Produktionszahlen wurden, wie für den Stromverbrauch, jeweils auf einen Voll-Besatz und ein Jahr hochskaliert, um daraus exemplarisch die spezifischen Verbrauchszahlen zu berechnen (s. [Abbildung 5-83](#)).

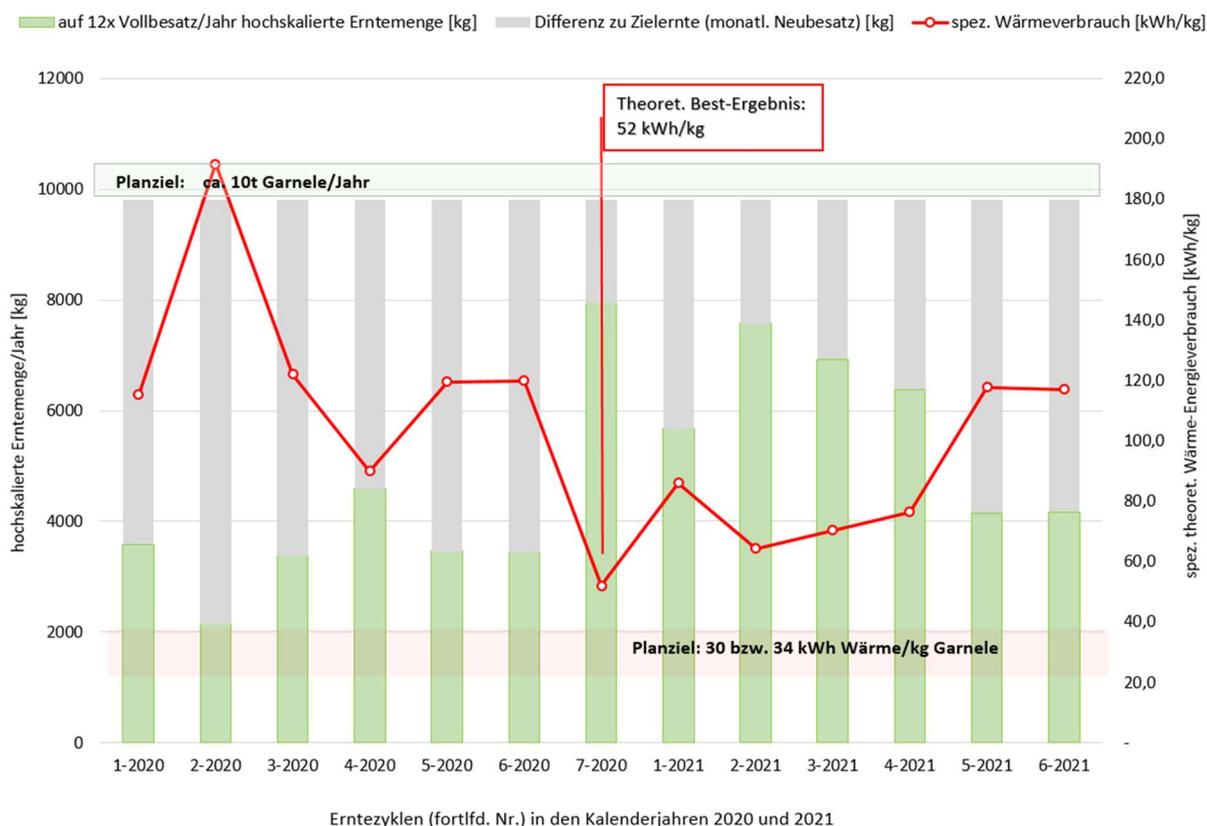


Abbildung 5-83: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert für jede der 6 Erntezyklen im Kalenderjahr 2020 und 2021, mit dem daraus resultierenden **spezifischen Wärme-Energieverbrauch pro kg Garnele [kWh/kg]** und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau)

Die Wärme im untersuchten Betrieb Damm Aquakultur stammt direkt aus der benachbarten Biogasanlage, die vorwiegend zur Verwertung von Gülle und in einer Betreibergesellschaft betrieben wird, in der auch Herr Damm vertreten ist. Der Vertrag liegt uns nicht vor und wir können keine Aussagen zu den Kosten für den Wärmeverbrauch machen. Da es sich um ungenutzte Abwärme handelt, liegen die Kosten unterhalb marktüblicher Preise und haben einen untergeordneten Stellenwert.

### Übersicht der Kennzahlen zu spezifischem Verbrauch:

Die theoretische Jahresproduktion wurde für einen monatlichen Besatz ermittelt und für diese Menge der spezifische Strom-, Wasser- und Wärme-Energieverbrauch berechnet (s. Anhang, Kap. 12). Die Übersicht in **Tabelle 5-17** stellt die Planungszahlen (2018) den erzielten Kennzahlen sowie den aus Produktionsszenarien abgeleiteten Kennzahlen gegenüber.

*Tabelle 5-17: Kennzahlen zum spezifischen Verbrauch (Strom, Wärme, Wasser, Salz) aus der Planung und aus dem Betrieb in den Jahren 2020 und 2021 für 2 Szenarien mit auf 1 Jahr (Faktor 12) hochskalierten Produktionsmengen aus a) der maximal erzielten Ernte und b) der im Mittel erzielten Erntemenge*

Kenngrößen	Planungszahlen (2018)		im Betrieb erzielte Zahlen/ Jahr		hochskalierte Zahlen/ Jahr, aus maximaler Ernte (bei realen Verbrauchszahlen)	hochskalierte Zahlen/ Jahr, aus Mittelwert Erntemenge
	bei monatl. Neubesatz	bei max. Anzahl Neubesatz (13,5x/Jahr)	reale Zahlen für 2020	reale Zahlen für 2021	Basis: Ernte in 12/2020, Verbrauch in 2020	Basis: Ernte-Mittelwert aus N=12 Ernten in 2020 und 2021, mittl. Verbrauch
Jahresproduktion [kg]	9.800	11.000	2.001	2.275	7948	4880
Jahres-Stromverbrauch [kWh]		118.500	55.044	48.870	55.044	51.957
<b>spez. Stromverbrauch [kWh/kg]</b>	<b>12</b>	<b>11</b>	<b>28</b>	<b>21</b>	<b>7</b>	<b>11</b>
Jahres-Wärmeverbrauch [kWh]		328.000	413.000	488.000	413.000	450.500
<b>spez. Wärmeverbrauch [kWh/kg]</b>	<b>33,5</b>	<b>29,8</b>	<b>206,4</b>	<b>214,5</b>	<b>52,0</b>	<b>92,3</b>
Jahres-Wasserverbrauch [l]		462.273	503.329	503.329	503.329	503.329
<b>spez. Wasserverbrauch [l/kg]</b>	<b>47</b>	<b>42</b>	<b>252</b>	<b>221</b>	<b>63</b>	<b>103</b>
Jahres-Salzverbrauch [kg]		4000	3000	4000	3.000	3.500
<b>spez. Salzverbrauch [kg/kg]</b>	<b>0,4</b>	<b>0,4</b>	<b>1,5</b>	<b>1,8</b>	<b>0,4</b>	<b>0,7</b>

Die in der Planung zugrunde gelegten Verbrauchszahlen für die auf 10 bis 11 t Jahresproduktion ausgelegte Anlage unterscheiden sich von den realen Verbrauchszahlen z.T. deutlich, mit Auswirkungen auf die daraus berechneten Kennzahlen:

- Der Jahresstromverbrauch aus der Planung ist ca. 2-fach erhöht gegenüber dem realen Stromverbrauch in den Jahren 2020 und 2021.
- Der geplante Wärme-Energieverbrauch pro Jahr macht für 2020 ca. 70% des realen Verbrauchs aus und für das Jahr 2021 ca. 80%.
- Der Wasserverbrauch nach Planung kommt dem realen Wasserverbrauch mit 92% am nächsten.

Zu den realen Verbrauchszahlen fällt auf, dass der Stromverbrauch in 2020 höher war als in 2021, die erzielte Produktion aber in 2020 niedriger ausfiel als in 2021. Beim Wärme-Energieverbrauch verhielt es sich genau anders herum: in 2021 war der Jahresverbrauch erhöht gegenüber 2020, vermutlich, weil 2020 nach dem Deutschen Wetterdienst (DWD<sup>9</sup>) eines der wärmeren Jahre war: in Hessen mit einer Jahresmitteltemperatur von 10,4°C gegenüber einer Jahresmitteltemperatur von 9°C in 2021 (DWD<sup>10</sup>).

In beiden Jahren war die Anlage weit unter ihrer Kapazität ausgelastet: Becken standen über Monate leer, die dennoch belüftet werden mussten und auch an die Wasseraufbereitung angeschlossen waren, sodass Pumpleistungen anfielen. Zudem musste die Halle beheizt und belüftet werden, woraus sich auch ein weiterhin notwendiger Verdunstungsausgleich ergab.

Der reale Jahresverbrauch wurde daher auch für die theoretischen Szenarien angesetzt und nicht an die hochskalierte Produktionsmenge angepasst.

<sup>9</sup> [https://www.dwd.de/DE/leistungen/besondereereignisse/temperatur/20210106\\_rueckblick\\_jahr\\_2020.html](https://www.dwd.de/DE/leistungen/besondereereignisse/temperatur/20210106_rueckblick_jahr_2020.html)

<sup>10</sup> [https://www.dwd.de/DE/leistungen/klimastatusbericht/publikationen/ksb\\_2021.html](https://www.dwd.de/DE/leistungen/klimastatusbericht/publikationen/ksb_2021.html)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Die ermittelten Kennzahlen aus den realen Produktionsmengen erreichen nicht die eigenen Planungsziele für den Betrieb der Anlage, aufgrund der verschiedenen genannten Störfaktoren und daraus resultierender Unter-Last der Produktionskapazität.

Für den spezifischen Wasser- und Wärme-Energieverbrauch liegen die Kennzahlen nach real erzielten Produktionsmengen in 2020 und 2021 um das ca. 7fache höher im Vergleich zu den Kennzahlen der Planung. Die Abweichung ist beim Stromverbrauch geringer, da dieser deutlich niedriger ausfiel als nach Planung erwartet, sogar um mehr als die Hälfte.

In den Szenarien der auf *ein Jahr hochskalierten* a) maximal erzielten Erntemenge und b) im Mittel aus beiden Jahren erzielten Menge errechnen sich günstigere Kennzahlen des spezifischen Verbrauchs:

- Diese liegen für Strom mit 7 bzw. 11 kWh/ kg sogar leicht unter bzw. bei dem Planungsziel von 11 bzw. 12 kWh/kg.
- Beim Parameter Wärme-Energie liegen die so abgeleiteten Kennzahlen noch deutlich unter dem Planungsziel, aber wie diese ebenfalls im zweistelligen Bereich und nicht mehr im dreistelligen.
- Auch die Kennzahlen für den Wasserverbrauch sind auf einem niedrigeren Niveau, unter 100 l/kg Garnele.

Der Salzverbrauch in absoluten Mengen, ohne den Bedarf für die Startbefüllung, stimmt gut in Realität und Planung überein. Der spezifische Verbrauch ist nur bei der maximal erzielten Ernte, hochskaliert auf 12fache Ernte in einem Jahr vergleichbar niedrig wie die Plan-Kennzahl.

Auf die neuere, positive Entwicklung des Anlagenbetriebs wird noch näher eingegangen (u.a. in Kap.5.3.3).

### 5.3.2 Frachten-Bilanzierung

**Stickstoff-Eintrag** über Futtermittel: es kam in den ersten 3 Betriebsjahren zu häufigerem Wechsel der Futtermittel, da einige Produkte nicht die Anforderungen an z.B. Wasserstabilität erfüllten und z.T. gravierende Probleme verursachten (s. Kap. 4). Mit anderen wurden keine zufriedenstellenden Wachstumsraten erzielt, sodass der Betreiber mit diversen Futtermittelproduzenten im Inland und europäischen Ausland Kontakte aufnahm.

Dies erschwert die genauere Analyse der eingetragenen N-Fracht, da für jedes einzelne der eingesetzten ca. 20 Futtermittel der Stickstoffgehalt und die entsprechend der exakten eingesetzten Menge berechnete N-Fracht ermittelt werden müsste. Überdies wäre das Ergebnis einer Jahresbilanz unter den gegebenen Bedingungen der Unter-Last nicht repräsentativ für einen Betrieb unter Voll-Last, d.h. bei einem Besatz nach Plan, mindestens in monatlichem Abstand.

Zum N-*Austrag* ist festzuhalten, dass einige N-Pfade nicht zu beziffern sind, vor allem die gasförmigen Frachten können nicht berechnet werden, da sich im Beobachtungszeitraum die Denitrifikation nie auf nennenswertem Niveau stabilisierte. Der N-Austrag über entnommenen Schlamm ist nicht präzise abzuschätzen, da der Betriebsablauf keine Messung der geringen abgeschlagenen Wasser-Schlamm-Gemische erlaubte. Dieser Umstand war bei Projektstart nicht abzusehen. Für eine Annäherung an praxisnahe Frachten konnten wir die für die landwirtschaftliche Nutzfläche dieses Betriebes maximal zulässige Abschlagsmenge für Schlamm bzw. Biofloc-Material in Höhe von 500l pro Tag ansetzen, unter Berücksichtigung des ermittelten SVI für Bioflocs (s. Kap. 7.1.1).

Grundsätzlich kann eine realistische Frachtenabschätzung nur bei ungestörtem, stabil hohem Betriebsniveau und gut funktionierender Denitrifikation aussagekräftig sein.

Dennoch soll hier als Annäherung an eine praxisnahe N-Fracht eine Abschätzung des N-Eintrags am Beispiel der erzielten maximalen Produktionsmenge eines Kulturdurchganges im Beobachtungszeitraum dargestellt werden:

**Stickstoff-Eintrag im Beobachtungszeitraum der Kulturperiode von Batch #13\_DE aus August 2020:**

Der Stickstoff-Eintrag wurde für jedes eingesetzte Futtermittel mit dem spezifischen Proteingehalt aus den gefütterten Mengen ermittelt (Grundlage Protein besteht zu 16,6% aus N).

*Tabelle 5-18: Stickstoff-Eintrag am Beispiel von Batch # 13\_DE, berechnet aus Mengen der einzelnen Futtermittel mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen (PL\_1...4: PL-Futtersorten in PL-Phase, Grow-Out\_1...4: Futtersorten im Grow-Out)*

Futtermittel	Einsatz [g]	Proteingehalt [%]	Menge Protein [g]	N-Input [g]
PL_1	61	51%	31	5
PL_2	398	59%	235	39
PL_3	1622	59%	957	159
PL_4	3690	59%	2177	361
PL-5	30874	59%	18216	3024
Grow-Out_1	186213	40%	74485	12365
Grow-Out_2	49879	43%	21448	3560
Grow-Out_3	94721	38%	35994	5975
Grow-Out_4	351997	36%	126719	21035
SUMME [g]	719454		280262	46523
<b>SUMME [kg]</b>	<b>719</b>		<b>280</b>	<b>47</b>

Der Gesamteintrag an Stickstoff nur für diese Kultur betrug ca. 47 kg, über einen Zeitraum von 117 Tagen und für eines der neun GOB in der Hälterung.

In einem 2. Ansatz kann der Stickstoff-Eintrag für ein Voll-Last-Szenario geschätzt werden, basierend auf der aktuell im Betrieb eingesetzten Futtertabelle und einem Besatzmanagement mit monatlichem Besatz und einer maximalen Kulturdauer von 140 Tagen, das aktuell der Praxis sehr nahe kommt. Daraus ergibt sich eine Futterfracht von 82 kg pro Tag.

Der mittlere Proteingehalt der eingesetzten Futtermittel entsprechend ihres jeweiligen Anteils am Gesamteintrag kann mit 39% angesetzt werden.

*Tabelle 5-19: Theoretischer Stickstoff-Eintrag unter Voll-Last bei einer monatlichen Besatzfrequenz und Kulturdauer von 140 Tagen (angesetzte mittlere Proteinkonzentration: 39%)*

Parameter	Wert	Einheit
Futterfracht am Spitzentag	82	kg/d
Proteingehalt Futter	39%	%
N-Gehalt im Protein	16	%
N-Gehalt im Futter	6,2%	%
N Gesamt-Fracht des Futters	5,1	kg/d

In diesem Szenario kann mit einem N-Eintrag von täglich ca. 5 kg gerechnet werden.

Der Stickstoffaustrag über die Garnelenernte kann über den Proteingehalt der Garnelen ermittelt werden. Nach eigenen Daten aus Laboranalysen betrug dieser 20%. Aus der erzielten Erntemenge ergibt sich ein Stickstoff-Export von ca. 11,4 kg über die Entnahme der Garnelen. Die Differenz aus dem Eintrag über die Futtermittel und dem so berechneten Austrag an Stickstoff kann über die Kulturdauer als N-Austrag pro Tag berechnet werden. Aus dieser einen Beispielkultur, die in der Projektlaufzeit noch eine der besten Ernten ergab (356 kg) ergeben sich als im System verbleibende N-Fracht 300g pro Tag, die über andere Pfade bzw. über die Denitrifikation der Wasseraufbereitung verarbeitet werden müssen. Ein N-Austrag über die Garnelenernte findet bei monatlichem Besatz- und Erntezyklus 1x pro Monat statt, idealerweise gleichmäßig über den Monat verteilt.

Tabelle 5-20: Stickstoff-Austrag am Beispiel von Batch # 13\_DE, berechnet aus der Erntemenge [g] und dem Protein- sowie N-Gehalt der Garnelen [%]

Erntemenge [g]	356000
Kulturdauer [Tage]	117
Proteingehalt Garnelen [%]	20%
N-Gehalt Protein [%]	16%
N-Gehalt Garnelen [%]	3%
N-Menge in Garnelenernte [g]	11392
Differenz N-input zu N-Output Garnele [g]	35131,42
<b>zu verarbeitende N-Fracht pro Tag [g/Tag]</b>	<b>300</b>

### N-Austrag über die Feststoffe bzw. Bioflocs

Es liegen keine präzisen Daten zum Austrag von Feststoffen aus der untersuchten Anlage vor, da die Entnahme von Schlamm nicht quantitativ erfasst werden konnte. Die Bedingungen in der spezifischen Anlage hätten diese Datenerhebung nur mit sehr hohem Aufwand erlaubt und dies war weder in den Tagesbetrieb zu integrieren noch durch die Projektteilnehmer realisierbar. Nur in den Bioreaktoren reicherten sich die Bioflocs bzw. Feststoffe an und wurden von dort dem System entnommen. Zur Analyse von Stickstoff war daher nur hier ausreichend Menge verfügbar (s. Kap.7.1.1.2). Die Werte lagen zwischen 1,5% und 3%, im Mittel bei 2,3% bzw. 230 g/kg TR (n=9), bei einem Trockenrückstand von durchschnittlich 3,6% (n=9)<sup>11</sup>.

Im Szenario eines Austrags von maximal 500 L/Tag und dem SVI von ca. 25g/ml ergeben sich 19 kg TR Schlamm mit einer Fracht von ca. 460g N, die das System über diesen Pfad maximal verlassen können.

Max. mögliche Entnahme absetzbare Stoffe pro Tag	500 L/Tag
SVI Bioreaktor-Bioflocs	25,07 [ml/g TR], n=6
Entnahme Bioflocs pro Tag	19946 [g TR /Tag]
mittlere N-Konzentration	23000 [mg/kg TR], n=9
N-Entnahme mit dem Schlamm	458,8 [g]

Bei Vergleich mit den oben abgeschätzten 300g verbleibender N-Fracht unter Berücksichtigung der Garnelenernten sollte es keine Stickstoff-Anreicherung im System geben, sogar ohne eine effektive DENI-Stufe. Jedoch wird nicht täglich, sogar nicht einmal wöchentlich das gesetzlich mögliche Schlamm-Volumen entnommen. Zudem können Erntemengen und der Parameter SVI variieren.

<sup>11</sup> Stickstoff liegt nicht nur als Protein vor in Feststoffproben (hier: aus dem BIOR), u.a. auch in Form von Huminstoffen. Daher kann aus der N-Konzentration nicht auf den Proteingehalt zurück gerechnet werden

**Da auch Daten zur Zink-Konzentration in Bioflocs vorliegen, folgt eine Abschätzung des theoretischen Verbleibs dieses Schwermetalls:**

Zur Beurteilung der potentiellen Senke Zinkphosphat (s. Kap. 5.1.1.3.1, *Abbildung 5-42*) wird eine grobe Schätzung der Zink-Fracht vorgenommen:

Ausgehend von einer Schlamm-Entnahme von maximal 500L/Tag, mit einem Schlamm-Volumen-Index von ca. 25 ml/g und einer Zinkkonzentration von mittleren 572 mg/kg TR verlassen täglich maximal ca. 11g Zink die Anlage über diesen Pfad.

Max. mögliche Entnahme absetzbare Stoffe pro Tag	500	L/Tag
<i>SVI Bioreaktor-Bioflocs</i>	25,07	[ml/g TR], n=6
Entnahme Bioflocs pro Tag	19946	[g TR /Tag]
mittlere Zn-Konzentration	572	[mg/kg TR], n=10
Zn-Entnahme mit dem Schlamm	11,4	[g]

Als Einträge kommt neben dem Füllwasser auch das Futter in Frage, das Zink als essentiellen Mikronährstoff enthält.

Bharadwaj et al. (2016) geben 24 mg/kg als Zink-Konzentration in Futtermittel an. Eigene Daten aus Laboranalysen ergaben 114 mg/kg und 185 mg/kg in Futtermitteln für Garnelen.

Bei einem Jahresverbrauch von 20t Futtermitteln bedeutet eine Zn-Konzentration von 24 mg/kg einen Eintrag von 480g Zn pro Jahr, der über die geschätzte Feststoffentnahme von 11,4g Zn pro Tag theoretisch in nur 42 Tagen entfernt werden könnte.

Für die höhere gemessene Zn-Konzentration von 185 mg/kg wären bei dem geschätzten Austrag von 11,4g pro Tag 325 Tage erforderlich, um den Eintrag rechnerisch über die Feststoffentnahme zu kompensieren. Es ist zudem anzunehmen, dass ein Teil des Zink über die Garnelen das System verlässt. Dieser Pfad wurde hier nicht untersucht, der Zink-Gehalt der Garnelen wurde nicht bestimmt.

### 5.3.3 Bewertung der Ressourcen-Effizienz, Zertifizierbarkeit

Die in Kap. 5.3.1 ermittelten Kennzahlen aus den *realen* Produktionsmengen liegen unter den eigenen Planungszielen bei der Auslegung der Anlage und sind als ungünstig zu bewerten. Die gesetzten Ziele konnten somit nicht erreicht werden, wobei die mangelnde Effizienz der Produktion auf die bereits genannten Störfaktoren (u.a. kein Voll-Lastbetrieb) sowie technisch notwendige Anpassungen im laufenden Betrieb zurück geführt werden kann, die keine stabile Produktion ermöglichten (s. Kap. 4). Diese Faktenlage schränkt somit auch die Zertifizierbarkeit des Endproduktes Garnele ein, bezogen auf den hier untersuchten Beobachtungszeitraum zwischen 09/2019 und 03/2022.

In 2022 hat sich nach Aussagen des Betreibers in Folge der vorgenommenen technischen Anpassungen die Auslastung auf Planniveau stabilisiert, auch dank verfügbaren Neubesatzes in ca. monatlichem Rhythmus und besserer Überlebens- und Wachstumsraten. Dadurch konnte die Kulturdauer gesenkt werden und liegt inzwischen deutlich unterhalb des ursprünglich anvisierten Planziels von 182 Tagen. So kann im Schnitt die Auslastung der einzelnen GOB um bis zu 1/3 erhöht werden und somit auch die Ressourcen-Effizienz.

Diese positive Entwicklung in der Produktion kann an zwei repräsentativen Kulturen nachvollzogen werden, die im Herbst 2022 und Januar 2023 geerntet wurden und in Bezug auf Kulturdauer, Produktionsmenge und erzieltm mittleren Körpergewicht im Plansoll liegen (*Abbildung 5-84*), sowie auch bessere spezifische Kennzahlen ergeben (dieses Kapitel).

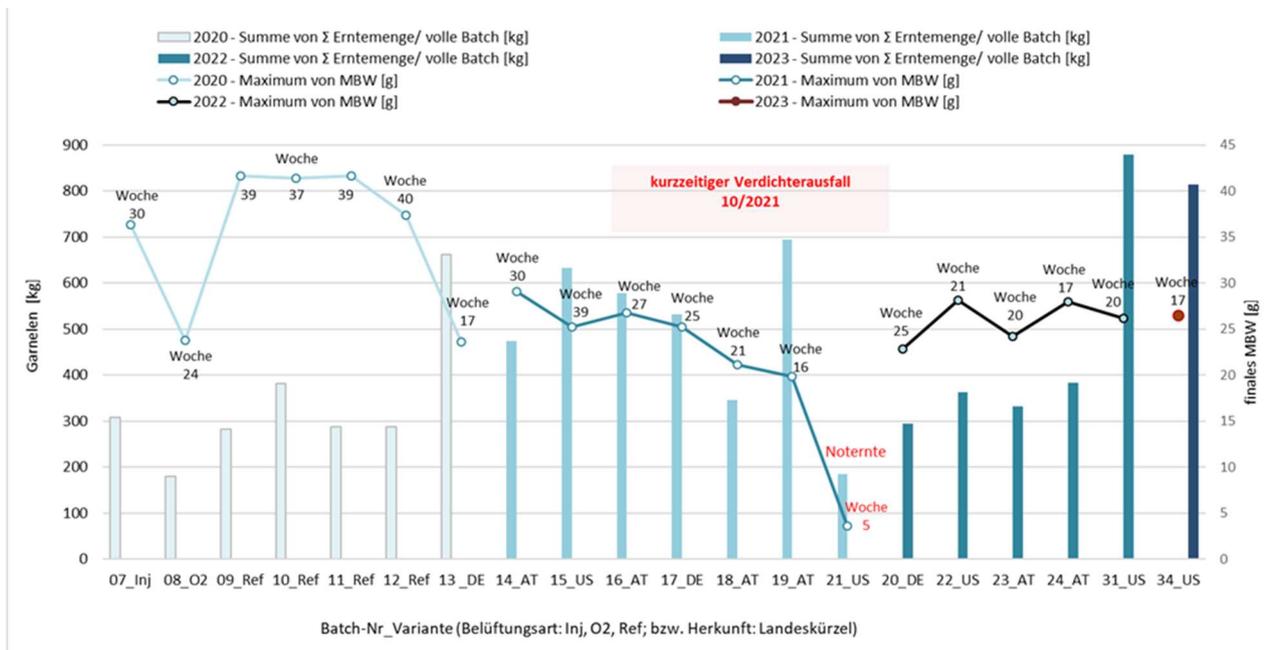


Abbildung 5-84: Vergleich der - auf einen vollen Besatz skalierten - Produktionsmengen [kg] von 2020 bis 2022 und erreichtem maximalem MBW [g] unter Angabe der Kulturwoche, ergänzt um 2 Kulturen nach Projektabschluss: Batch 31\_US und Batch 34\_US

Auch die Kennzahlen, die sich aus den aktuelleren Ergebnissen ermitteln lassen, sind erheblich besser und decken sich weitgehend mit den angenommenen Planzahlen: dies trifft zu für die spezifischen Verbrauchs-Kennzahlen für Strom und Wasser, sowie für die Futterumwandlungsrate. Die überregional erhöhten Preise für Energie werden sich weniger auf diesen Betrieb auswirken, zumindest die Strompreise betreffend, die ab 2023 in Hessen 0,382 bis 0,522 €/kWh für die Grundversorgung<sup>12</sup> betragen. Der Betreiber Herr Damm bezieht einen Teil des Stroms aus eigener Photovoltaik-Anlage und hat langfristige Verträge mit Lieferanten.

<sup>12</sup> <https://www.stromauskunft.de/stromversorger/hessen/> - Tarife für gewerbliche Abnehmer gibt es ab Jahresverbrauch von 100.000 kWh

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

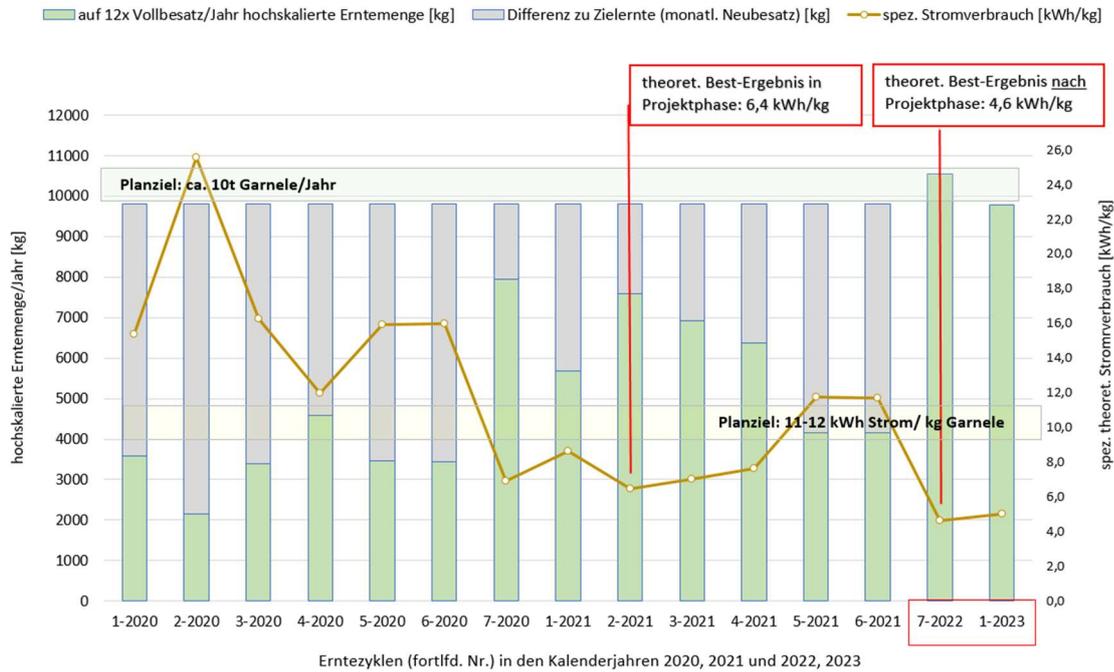


Abbildung 5-85: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, ergänzt um Daten von 2 Kulturen, die nach Projektabschluss geerntet wurden, mit dem daraus resultierenden spezifischen Stromverbrauch pro kg Garnele [kWh/kg] und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau)

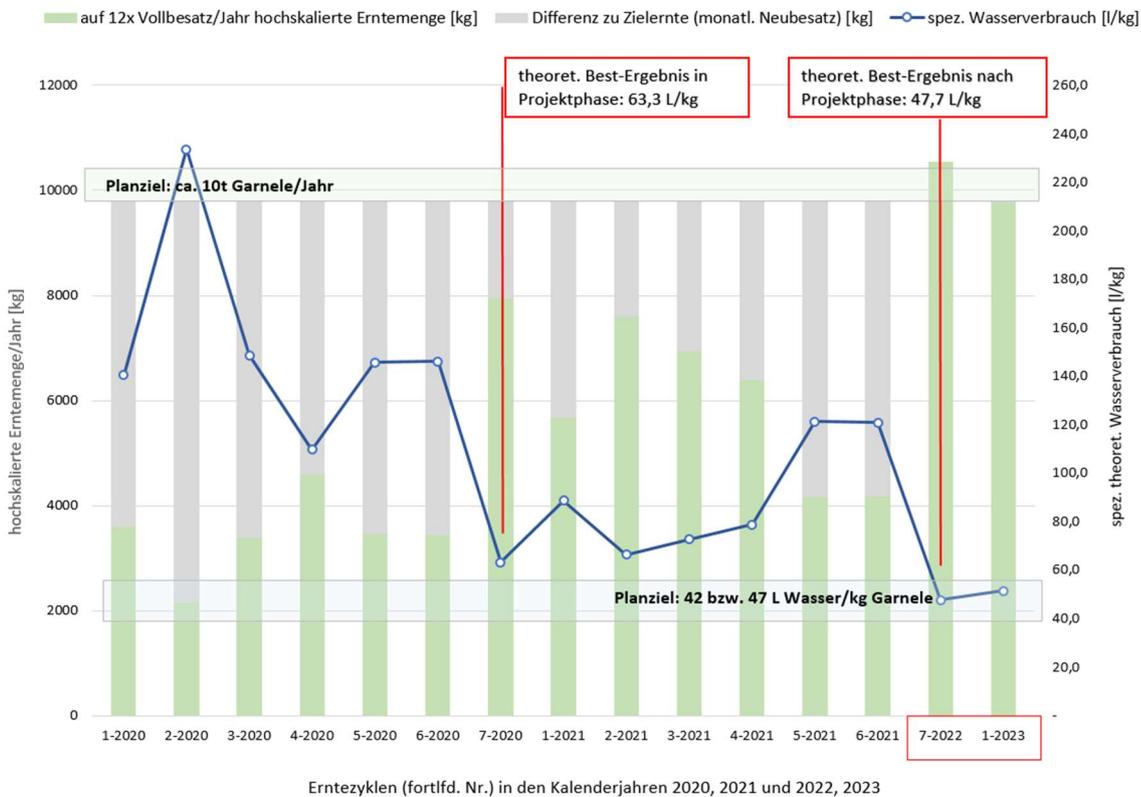
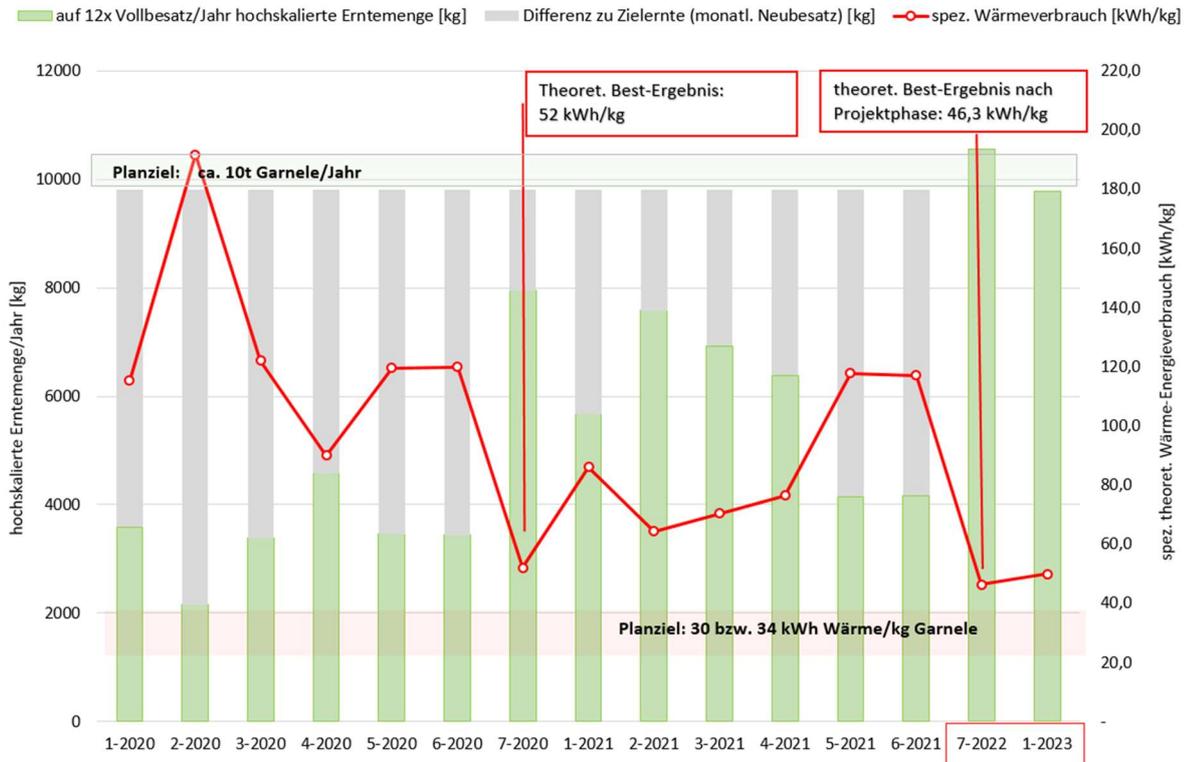


Abbildung 5-86: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, ergänzt um Daten von 2 Kulturen, die nach Projektabschluss geerntet wurden, mit dem daraus resultierenden spezifischen Wasserverbrauch pro kg Garnele [L/kg] und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz (Säule grau)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH



Erntezyklen (fortlfd. Nr.) in den Kalenderjahren 2020, 2021 und 2022, 2023

Abbildung 5-87: Theoretische Jahresproduktion (Säule grün) hochskaliert auf Vollbesatz für jeden Erntezyklus der Kalenderjahre 2020 und 2021, ergänzt um Daten von 2 Kulturen, die nach Projektabschluss geerntet wurden, mit dem daraus resultierenden spezifischen Wärme-Energieverbrauch pro kg Garnele [kWh/kg] und der Differenz zur geplanten Jahresernte bei monatlicher Besatzfrequenz

Tabelle 5-21: Kennzahlen zum spezifischen Verbrauch von Strom, Wärme, Wasser und Salz, aus der Planung und aus dem Betrieb (auf 1 Jahr mit 12x Neubesatz hochskalierte mittlere Ernte aus 2020 und 2021 sowie Durchschnitt aus zwei Beispielerten aus 2022 und 2023 basierend auf den jeweils höheren ermittelten Verbräuchen der Jahre 2020 und 2021)

Planungszahlen (2018)		im Betrieb erzielte Zahlen/ Jahr		hochskalierte Zahlen/ Jahr, aus maximaler Ernte (bei realen Verbrauchszahlen)	hochskalierte Zahlen/ Jahr, aus Mittelwert Erntemenge	Kennzahlen aus 2 Beispielerten (Nr. 7/2022 und Nr. 1/2023)
bei monatl. Neubesatz	bei max. Anzahl Neubesatz (13,5x/Jahr)	reale Zahlen für 2020	reale Zahlen für 2021	Basis: Ernte in 12/2020, Verbrauch in 2020	Basis: Ernte-Mittelwert aus N=12 Ernten in 2020 und	Basis: Strom bzw. Wärme jeweils max. Verbrauch aus 2020 bzw. 2021
9.800	11.000	2.001	2.275	7948	4880	10162
	118.500	55.044	48.870	55.044	51.957	55.044
12	11	28	21	7	11	5
	328.000	413.000	488.000	413.000	450.500	488.000
33,5	29,8	206,4	214,5	52,0	92,3	48,0
	462.273	503.329	503.329	503.329	503.329	503.329
47	42	252	221	63	103	50
	4000	3000	4000	3.000	3.500	4.000
0,4	0,4	1,5	1,8	0,4	0,7	0,4

Die aktuelleren Beispiel-Kulturen Batch #31 und #34 haben auch bei den Kenngrößen FCR und Überlebensrate deutlich bessere Ergebnisse erzielt als die früheren Kulturen, bei akzeptablen Wachstumsraten von 1,28 g/Wo bzw. 1,56 g/Wo und einer Kulturdauer, die mit 139 bzw. 118 Tagen deutlich kürzer ist als die in der Planungsgrundlage angesetzten 182 Tage (s. ergänzte Übersicht in [Tabelle 5-22](#) und [Abbildung 5-88](#)).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Tabelle 5-22: Futtermengen [kg], Produktionsmengen [kg], ermittelte Futterumwandlungs- sowie Überlebensraten [%] pro Kultur im Zeitraum 2020 bis 2022, ergänzt um Daten von 2 als ‚neu‘ markierten Kulturen, die nach Projektabschluss (Ende 2022 bzw. Anfang 2023) abgefischt wurden (in Pivot sind Einzelwerte hier als Maximum bzw. Minimum dargestellt)

Jahr - Batch	Maximum von Tag in Kultur	Summe von Futtermenge gesamt [kg]	Summe von Erntemenge [kg]	Maximum von FCR	Minimum von Überlebensrate
= 2020	278	10760	2011	6,97	9,4%
07_US	209	1805	346	5,22	11,9%
08_US	162	1283	202	6,35	9,8%
09_US	272	2213	317	6,97	9,9%
10_US	257	1178	215	5,48	12,7%
11_US	270	1813	288	6,30	9,4%
12_US	278	1748	287	6,09	10,3%
13_DE	117	720	356	2,02	35,1%
= 2021	274	8091	2275	4,73	20,5%
14_AT	210	1232	260	4,73	22,7%
15_US	274	1398	316	4,42	34,0%
16_AT	192	1224	433	2,83	28,5%
17_DE	173	1254	399	3,14	26,3%
18_AT	149	1719	432	3,98	20,5%
19_AT	114	1264	434	2,91	43,7%
= 2022	177	7818	1942	9,87	16,1%
20_DE	177	1816	184	9,87	16,1%
22_US	144	1565	453	3,45	16,3%
23_AT	143	837	187	4,48	17,3%
24_AT	118	1793	239	7,50	18,8%
31_US	139	1808	879	2,06	43,1%
= 2023	118	979	611	1,60	38,7%
34_US	118	979	611	1,60	38,7%

NEU

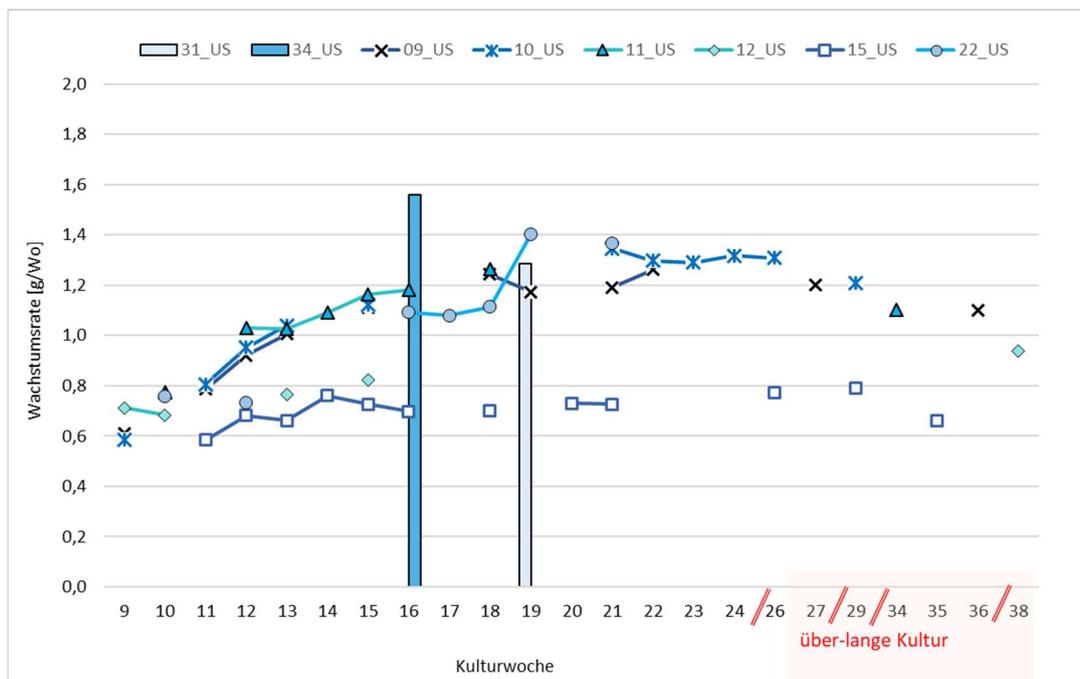


Abbildung 5-88: Wachstumsraten [g/Woche] ab Besatz für Kulturen mit Herkunft USA (aus 2 Zuchtbetrieben) im Projektzeitraum (Linien) und ergänzt um aktuellere Daten zu zwei Kulturen (Säulen): Batch #31 und Batch #34 (Kulturdauer 139 Tage = ca. 19 Wochen bzw. 118 Tage = ca. 16 Wochen)

### **Grundsätzliche Hindernisse und Rahmenbedingungen, die eine hohe Ressourcen-Effizienz einschränken:**

#### 1. Besatztiere:

- a) Die Verfügbarkeit von Postlarven der wirtschaftlich bedeutendsten kultivierten Garnelenspezies *Litopenaues vannamei* hat sich im Laufe der letzten Jahre zwar verbessert, ist aber immer noch mit Unsicherheiten behaftet und führt zu längeren erzwungenen Besatzpausen. Dies erschwert u.a. die Herstellung eines stabilen Betriebszustandes mit gleichmäßig hoher Biomasse-Auslastung und führt zu unproduktiven Leerständen von Becken.

Eine stabile Produktion erfordert eine möglichst termingenaue Anlieferung der benötigten Besatztieranzahl, um die Produktion zu verstetigen und die Hälterungsbecken optimal belegen zu können, ohne längeren ‚Leerlauf‘. Dies war im Beobachtungszeitraum ein großer Störfaktor, obwohl ab 2020 erstmals auch jeweils ein Zuchtbetrieb in Deutschland und Österreich an den Start gingen. Die meisten Kulturen wurden aus den USA bezogen, dem einzigen nach geltender EU-Verordnung gelisteten Drittland, aus dem Besatztiere dieser Spezies importiert werden dürfen.

Förderlich wäre eine Kooperation der Garnelenproduzenten, die als Einkaufsgemeinschaft evtl. bessere Versorgungssicherheit aushandeln könnten als jeder einzelne Betrieb für sich. Auch eine Förderung von FuE-Vorhaben von Instituten in Kooperation mit Partnern aus Zucht und Produktion kann die Versorgungssicherheit mit Besatztieren längerfristig erhöhen.

- b) Genetik der Besatztiere: im Schwerpunkt „Bezugsquelle“ stellte sich heraus, dass der Faktor Transportdauer, verbunden mit der Herkunft aus einem Land innerhalb oder außerhalb Europas, keinen nachweisbaren Einfluss auf die zootecnischen Ergebnisse hatte – anders verhielt es sich mit der Herkunft aus bestimmten Zuchtbetrieben, in dem Sinne, dass nur Besatztiere aus 1 Betrieb immer wieder die besten Ergebnisse zeigten und am robustesten erschienen. Eigenschaften, die sehr wahrscheinlich der spezifischen Zuchtlinie zu verdanken sind, mit der dieser Betrieb arbeitet.

Für die Indoor-Produktionsbetriebe für Garnelen in Deutschland bzw. Europa sind die Anforderungen an die Besatztiere andere, als die Anforderungen der Teich-Aquakulturbetriebe in den wärmeren Zonen. So sind Garnelen in Indoor-Betrieben auf die Nährstoffe angewiesen, die mit dem Futtermittel angeboten werden (sowie mit den Bioflocs). Nitratwerte sind meist deutlich erhöht in Kreislaufanlagen im Vergleich zu Teichanlagen, deren Wasser häufiger ausgetauscht wird. Die Besatzdichte ist aus ökonomischen und Nachhaltigkeitsgründen ebenfalls erhöht, um nur einige Unterschiede zu nennen. Eine genetische Ausstattung, die durch natürliche Zucht und sicher auch durch epigenetische Faktoren über Generationen an Elterntieren an diese Verhältnisse angepasst ist, würde die Produktion in geschlossenen Kreislaufanlagen sicher befördern, auch in Richtung Nachhaltigkeit.

#### 2. Futtermittel:

- a) Die Verfügbarkeit von spezies-gerechten Garnelenfuttermitteln erprobter Qualität ist europaweit eingeschränkt, wie der Betreiber Herr Damm immer wieder feststellen konnte. Ohne eine gleichbleibend hohe Qualität und Versorgungssicherheit bei diesem wichtigsten Betriebsmittel kann keine Garnelenproduktion ressourceneffizient werden.

Garnelen und die hier kultivierte Spezies *L. vannamei* haben spezifische ernährungsphysiologische Bedürfnisse und das Futtermittel muss attraktiv sein, um aufgenommen zu werden, sowie ausreichend wasserstabil, um nicht vor dem Verzehr zu zerfallen. Es ist offensichtlich, dass die Herstellung dieses Spezialfuttermittels in Europa und erst recht in Deutschland bei einem dort noch immer als Nischenmarkt zu bezeichnenden Abnehmerkreis von Garnelenproduzenten eingeschränkt ist.

Hier wäre die Förderung weiterer Anstrengungen bei der Entwicklung von Produktionsanlagen mit effizientem Energiekonzept zu wünschen.

- b) Rohstoffe und Formulierung: Die Verfütterung von wildgefangenem Fisch, der als Fischmehl und –öl vor allem für carnivore Fische und Garnelen essentiell ist, wird als einer der wichtigsten Kritikpunkte an der globalen Aquakultur angesehen (FAO 2020<sup>13</sup>). Der immer noch bestehende Einsatz dieser tierischen Rohstoffe schränkt ebenfalls die Ressourcen-Effizienz ein.

Die auf dem Markt verfügbaren (Garnelen- u.a.) -Futtermittel werden nicht nach dem Gehalt an fischhaltigen Rohstoffen deklariert. Es wäre ein erster Schritt die Deklaration gesetzlich auf EU-Ebene zu verankern. Für eine nachhaltige Garnelenproduktion hätte Garnelenfuttermittel ohne Fisch-Rohstoffe eine hohe Bedeutung und dies wäre technisch und aus ernährungsphysiologischer Sicht auch möglich (Stichworte: hochwertige Fettsäuren aus Algenbiomasse, geeignete Proteinquellen aus Hülsenfrüchten, proteinreichen Insekten<sup>14</sup> etc.).

Beides, die Formulierung und die Herstellung müssten auch wirtschaftlich nachhaltig sein und der Einsatz von Fischersatzprodukten auch hinreichend validiert sein. Hier sehen wir Bedarf an technischer Entwicklung hin zu kostengünstig herzustellenden Futtermitteln in Deutschland und in Europa und praxisnaher Erprobung zu Akzeptanz und Verträglichkeit sowie Leistungsfähigkeit der neuen Futterformulierungen.

3. Anlagentechnik: neben den vorherigen kritischen Aspekten sind auch das Anlagendesign und die Wasseraufbereitung als Hemmnis-Faktor zu nennen. Der Biofloc-Ansatz wird seit vielen Jahren und in zahlreichen Veröffentlichungen grundsätzlich als nachhaltig eingestuft, insbesondere aufgrund der zu vernachlässigenden Wassererneuerungsrate. Wir konnten in diesem Vorhaben, allerdings unter erschwerten Bedingungen, auch ‚drawbacks‘ bzw. Schwachstellen der hier realisierten technischen Variante sehen, insbesondere die mangelhafte Denitrifikation betreffend (s. Kap. 5.1.1.3.1).

In dem jüngeren Mix-Ansatz aus RAS-Technik und gleichzeitiger Nutzung der Vorteile von Bioflocs, bei Einstellung eines niedrigeren Biofloc-Levels, sehen wir eine nachhaltige Lösung.

Zu beachten ist auch, dass einige der BFT-Anlagen, die in den USA verbreiteter sind als hier, vor jedem Neubesatz das Wasser vollständig austauschen, wie aus Vorträgen auf Konferenzen der World Aquaculture Society hervorging und von dem emeritierten Professor Dr. Lawrence (ehemals Texas A&M University, †) persönlich bestätigt wurde. In diesem Fall bezieht sich das Konzept „0“-Wasseraustausch nur auf die Kulturperiode und ist damit nicht vergleichbar mit dem Konzept, das mit der Anlage Damm Aquakultur umgesetzt wurde und seit Inbetriebnahme Ende 2018 bis Frühjahr 2022 rechnerisch nicht einmal zur Hälfte vollständig ausgetauscht worden ist.

4. Überlebensraten: hier sollte das Augenmerk besonders auf die PL-Phase gerichtet werden, da in den kleinen Volumina mit vergleichbar überschaubarem Einsatz eine deutliche Verbesserung zu erzielen ist. Eine höhere Überlebensrate würde sich nicht nur positiv auf das Tierwohl, sondern auch positiv auf die Ressourceneffizienz auswirken.

In diesen Ansätzen sehen wir die Haupt-Stellschrauben für eine bessere Ressourcen-Effizienz der Garnelenproduktion.

### **Möglichkeiten der Zertifizierung von Garnelen aus Indoor-Aquakultur**

Eine Zertifizierung der Aquakulturproduktion in geschlossenen Kreislaufanlagen gemäß EU-Ökoverordnung war bis vor einigen Jahren noch mit vagen Bedenken und vorbehaltlich neuer Erkenntnisse ausgeschlossen (diese technisierte Produktion entspräche nicht den Erwartungen von Naturnähe seitens der Verbraucher und sei in Prüfung).

<sup>13</sup> The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA) 2022: <https://www.fao.org/publications/sofia/2022/en/>

<sup>14</sup> Die Insektenproduktion in Deutschland entwickelt sich, es gibt einige Firmen, z.B.: <https://madebymade.eu/>, <https://farminsect.eu/about/>; <https://www.illucens.com/de/home>

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Inzwischen ist die Frage entschieden und Indoor-Kreislaufanlagen sind mit wenigen Ausnahmen nach der neueren EU-Ökoverordnung (2018)<sup>15</sup> von der Öko-Zertifizierung ausgeschlossen bzw. verboten (s. Anhang II, DETAILLIERTE PRODUKTIONSVORSCHRIFTEN GEMÄß KAPITEL III, Kap. 3.1.5. Unterbringung und Haltungspraktiken).

Theoretisch anwendbare Zertifizierungen von Indoor-Kreislaufanlagen, außerhalb des Öko-Segments, sind u.a.<sup>16</sup>:

- das Label des Aquaculture Stewardship Council (ASC<sup>17</sup>)
- das GGN-Label<sup>18</sup>, basierend auf GlobalGAP<sup>19</sup>
- das Label von Friend of the Sea (FOS<sup>20</sup>)

Alle drei Zertifizierer verfolgen einen ganzheitlichen Ansatz und berücksichtigen neben dem Ziel der nachhaltigen, umweltschonenden Produktion auch Belange des Tierwohls und Anforderungen an soziale Aspekte, Lebensmittelsicherheit und das Futtermangement.

Vorteilhaft für die Bewertung der Nachhaltigkeit des Betriebes Damm Aquakultur wäre sicher die dort eingesetzte Bezugsquelle für Wärme, da diese aus einer Biogasanlage mit vorwiegender Verwertung eines Reststoffes aus der Tierhaltung stammt. Biogas aus Gülle und Bioabfall sei nach dem Umweltbundesamt noch ein zu wenig genutztes Potenzial, Zitat<sup>21</sup>:

„Aktuell werden nur rund 30 Prozent der in Deutschland anfallenden Wirtschaftsdünger Gülle und Mist sowie rund 35 Prozent des bereits getrennt erfassten Bioabfalls in Biogasanlagen zu Biogas vergoren. Und das obwohl diese Art der Bioenergie doppelten Vorteil hat: Treibhausgasemissionen der Güllelagerung bzw. Bioabfallbehandlung werden reduziert und es besteht keine Nutzungskonkurrenz um die Rohstoffe, da sie im Anschluss weiterhin als Dünger dienen...“ und „Im Gegensatz zur Biogasproduktion aus Mais besteht auch keine Flächenkonkurrenz zum Anbau von Lebensmitteln und es entsteht kein zusätzlicher Einsatz von Pestiziden und Treibstoffen für die Feldarbeit.“

Die Vorteile den Weg der Zertifizierung zu gehen, muss jeder Betrieb mit dem damit verbundenen Zeit- und Kostenaufwand abwägen. Für die Garnelenproduktion in Deutschland hat die Zertifizierung bislang keine große Bedeutung, wenn überhaupt einer der Betriebe bisher zertifiziert worden ist. In Spanien wirbt zumindest ein Betrieb von Noray Seafood S.L. in Villadolid mit ASC-zertifizierter, nachhaltiger Garnelenproduktion<sup>22</sup>.

Ein Grund für die Zurückhaltung ist wahrscheinlich, dass mit dem Label keine großen Vorteile auf dem Markt gesehen werden, solange die Nachfrage noch das überschaubare Angebot übersteigt.

Die Pandemie hat zwar Spuren hinterlassen, so ist der Konsum von Fischprodukten in 2021 um ca. 2 kg auf 12,7 kg pro Person in Deutschland zurückgegangen<sup>23</sup>, aber der Absatz der hochwertigen, frischen Garnelen stellt kein Problem dar, sodass wir von einer gesunden Entwicklung ausgehen.

<sup>15</sup> <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/HTML/?uri=CELEX:32018R0848&from=EN>

<sup>16</sup> Diese und weitere Zertifizierer aus dem Öko-Segment werden hier vorgestellt: <https://www.falstaff.de/nd/msc-asc-ggn-co-die-wichtigsten-fisch-guetesiegel/>

<sup>17</sup> <https://de.asc-aqua.org/asc-zertifizierung/>

<sup>18</sup> <https://aeon.ggn.org/About>

<sup>19</sup> <https://www.globalgap.org/de/for-producers/globalg.a.p/integrated-farm-assurance-ifa/aquaculture/>

<sup>20</sup> <https://friendofthesea.org/sustainable-standards-and-certifications/sustainable-aquaculture/>

<sup>21</sup> <https://www.umweltbundesamt.de/themen/biogasproduktion-aus-guelle-bioabfall-ausbauen>

<sup>22</sup> <https://norayseafood.es/en/sustainability/>

<sup>23</sup> <https://www.fischinfo.de/index.php/markt/92-datenfakten/5074-versorgung-und-verbrauch-2022>

## **6 Arbeitspaket 2: Faktor Mikrobiozönose und Meiofauna und deren Steuerungsmöglichkeiten (TiHo)**

### **6.1 AP 2.1: Bestimmung der Mikrobiozönose (Garnelen, Bioflocs, Becken) in kommerz. BFT-Anlage(n)**

Die bakterielle Mikroflora in den Bioflocken bzw. im Anlagenwasser sowie im Biofilm auf den Beckenwänden und auf dem Carapax von Garnelen in den Anlagen wurde in verschiedenen Durchläufen mittels Hoch-Durchsatz-Sequenzierung analysiert und ist im Wesentlichen bereits in der Beschreibung der Ergebnisse von AP 1 dargestellt (s. Kap.5.1.1.2.2, 5.1.1.3.2 sowie 5.1.1.4.2) .

**Im Wasser** sind die Gemeinschaften insgesamt sehr divers und werden aus einer großen Anzahl von Komponenten gebildet, die jedoch überwiegend in geringer Abundanz von weniger als 1 % in der Gemeinschaft vertreten sind und somit als Satellite Taxa eingestuft werden können. Die Gemeinschaft wird vor allem aus Bakterien der Stämme Bacteroidota, Proteobacteria und Actinobacteriota gebildet (siehe [Abbildung 5-55](#)). Unter den Satellite Taxa sind jedoch auch Angehörige aus anderen Bakterienstämmen oder der Archaea. Lediglich 4-6 Bakteriengattungen sind mit einer Abundanz von mehr als 5 % an der Gemeinschaft beteiligt und diese „dominanten“ Gattungen (oder Core Taxa) aus den oben genannten Bakterienstämmen wechseln zwischen den Kultur-Durchgängen und Beobachtungsschwerpunkten.

Unter den Core Taxa werden Bakterien aus Gattungen gefunden, die sowohl aus dem Süßwasser als auch aus marinen Habitaten beschrieben wurden, über deren Biologie aber wenig bekannt ist. Hier sind aus den Actinobacteriota Bakterien der Gattung PeM15 zu nennen, die in vielen Wasserproben 5 bis 20 % der Gemeinschaft bildeten, in einigen Batches jedoch bis zu 50 %. In einigen Batches dominierten Flavobakterien aus dem Stamm Bacteroidota die Gemeinschaft mit bis zu 50 %, während sie in anderen Batches nicht nachgewiesen wurden. Aus dem Stamm Proteobacteria sind in vielen Wasserproben Bakterien der Gattung *Rheinheimeria*, die aus dem Wasser der Ostsee beschrieben wurden, in einem Anteil von mehr als 5-10 % vorhanden.

Vibrionen, ebenfalls Bakterien aus dem Stamm der Proteobacteria sind nach längerer Kulturdauer, jeweils in der zweiten untersuchten Probe, in einem Anteil von 5 % oder mehr in der Gemeinschaft zu finden. Generell ist die Biozönose sehr divers und wird von „aquatischen Bakterien“ dominiert, über deren Biologie wenig bekannt ist. In der Gemeinschaft sind auch Bakterien vertreten, aus denen pathogene Organismen für Garnelen beschrieben wurden, wie *Vibrio*, *Photobacterium* oder *Pseudomonas*. Aus den vorliegenden Daten ist jedoch unklar, ob diese Organismen für Verluste bei Garnelen verantwortlich sind und welche Faktoren die Vermehrung dieser Organismen begünstigen könnten.

Aus der Untersuchung des Wassers in Becken mit Garnelen aus unterschiedlichen Bezugsquellen wird deutlich, dass zum einen bei PL-Besatz mit den Garnelen und dem Wasser Bakterien aus dem Herkunftsbetrieb in die Gemeinschaft eingetragen werden, sich jedoch nach einer Kultur von 4 bis 8 Wochen für die Anlage spezifische Bakterientaxa im Wasser durchsetzen. Einige Taxa aus dem Herkunftsbetrieb werden jedoch nicht verdrängt. Somit ergibt sich die Schlussfolgerung, dass die bakterielle Gemeinschaft im Wasser abhängig von Herkunft der Garnelen und von Ereignissen während der Aufzucht individuell beeinflusst wird.

**In der mikrobiellen Gemeinschaft des Biofilms** auf den Beckenwänden ist ebenfalls eine hohe Anzahl an Taxa zu finden (siehe [Tabelle 5-15](#)), von denen die überwiegende Mehrzahl in geringer Abundanz von weniger als 1 % vorhanden ist und somit ebenfalls als Satellite Taxa angesehen werden müssen. Unter den Core Taxa, die mehr als 5 % an der Gemeinschaft bilden, sind in erster Linie Bakterien der Gattung *Nitrospira* (Stamm Nitrospirota) zu nennen, die in allen Becken zu den Core Taxa gehören und, vor allem nach längerer Kultur bis zu 40 % der Gemeinschaft ausmachen können. Daneben sind in allen Becken auch Bakterien des Taxons *Candidatus Nitrosopimilus* (Stamm Archaea) zu finden, die in vielen Becken ebenfalls ein „Core Taxon“ bilden. Diese Organismen sind wichtige Komponenten der nitrifizierenden Gemeinschaft, so ist *Nitrospira* ein Schlüsselorganismus der Nitrit-Oxidation und für *Candidatus Nitrosopimilus* ist die Fähigkeit zur Oxidation von Ammoniak und von Nitrit nachgewiesen. Die Präsenz dieser Organismen und die Weiterentwicklung ihrer Population während der Kulturdauer zeigt, dass die Entwicklung der nitrifizierenden Gemeinschaft in den Biofilmen erfolgt, aber relativ lange Zeit in Anspruch nimmt. Als weitere

Komponente der Nitrifizierenden Gemeinschaft waren in allen Becken auch Bakterien der Gattung *Nitrosomonas* (Stamm *Proteobacteria*), jedoch in geringer Abundanz, vorhanden.

Bakterien aus den Core Taxa der mikrobiellen Gemeinschaft im *Wasser* waren in vielen Biofilmen ebenfalls vorhanden, dort jedoch nicht unter den Core Taxa. Dieses trifft insbesondere für Flavobakterien und für Vibrionen (*Vibrio* und *Photobacterium*) zu. Vibrionen waren in den Biofilmen kurz nach dem Besatz der Becken (nach 4 Wochen Kultur) noch in einer Abundanz von 3-4 % in den Biofilmen vorhanden, in Becken mit längerer Kultur jedoch in einer Abundanz von weniger als 1 %. Die Untersuchungen zeigen, dass der Biofilm in den Becken eine wichtige Funktion bei der Nitrifizierung übernimmt und, dass die Etablierung und Entwicklung der nitrifizierenden Gemeinschaft mehrere Wochen benötigt. In einem gut etablierten Biofilm sind Bakterien, die bei Garnelen Erkrankungen auslösen können, zwar vorhanden, spielen aber keine Rolle als „Core Taxon“.

**Die mikrobielle Gemeinschaft auf dem Carapax von Garnelen** unterscheidet sich grundlegend vom Biofilm auf den Beckenwänden. Auch die Gemeinschaft auf dem Carapax wird von einer hohen Anzahl von Satellite Taxa gebildet, die in einer geringen Abundanz von weniger als 2 % vorkommen. Während die Gemeinschaften im Wasser und im Biofilm auf den Beckenwänden neben einer großen Anzahl von Satellite Taxa von nur wenigen Core Taxa, die in hoher Abundanz vorkommen, dominiert wurden, ist die bakterielle Gemeinschaft auf dem Carapax dadurch gekennzeichnet, dass neben den Satellite Taxa bei vielen Garnelen etwa 5 bis 7 Taxa in einer Abundanz von ca. 2 bis 4 % („intermediate Taxa“) auftreten und etwa 3 bis 5 Taxa in einer Abundanz von mehr als 5 % vorkommen. Insgesamt ist die Gemeinschaft auf unterschiedlichen Individuen sehr verschieden, außerdem unterscheiden sich die Gemeinschaften zwischen den Kohorten in unterschiedlichen Becken. Unter den Core Taxa sind in erster Linie non-motile Bakterien, wie *Taeseokella* (Stamm *Bacteroidota*), *Rheinheimeria* (Stamm *Proteobacteria*) oder *Rubritalea* (Stamm *Verrucomicrobia*), aber auch nicht klassifizierte Bakterien aus den Stämmen *Bacteroidota* und *Proteobacteria* zu finden, über deren Biologie wenige oder keine Informationen vorliegen.

Auf dem Carapax einiger Garnelen sind Fadenbakterien aus der Gattung *Thiothrix* (Stamm *Proteobacteria*) in einer Abundanz von 3 bis 40 % vorhanden. Diese Bakterien werden in Anlagen der Lebensmittelindustrie bei hoher Schlamm-Belastung gefunden und scheinen somit bei hoher Abundanz eine hohe Feststofffracht anzuzeigen. Zudem sind bei einigen Garnelen Vibrionen (*Vibrio* und *Photobacterium*, Stamm *Proteobacteriota*) sowie Flavobakterien (Stamm *Bacteroidota*) unter den intermediate Taxa oder auch unter den Core Taxa im Biofilm zu finden. Allerdings bilden diese Organismen nicht bei allen Individuen aus einem Becken größere Populationen, so dass keine allgemeinen Schlussfolgerungen zum Vorkommen dieser Bakterien gezogen werden können. Auch geht ein häufigeres Vorkommen von Vibrionen oder Flavobakterien nicht mit einer höheren Abundanz von Fadenbakterien einher, was einen Einfluss einer höheren Schlammfracht anzeigen könnte. Es muss bei der Betrachtung der mikrobiellen Gemeinschaft auf Garnelen festgehalten werden, dass diese sehr individuell entwickelt ist und gegenwärtig keine Rückschlüsse auf Anlagenparameter gezogen werden können.

## 6.2 AP 2.2: Bestimmung der Meiofauna in kommerz. BFT-Anlage(n)

Die Bestimmung der Meiofauna in Bioflocken war durch den geringen Gehalt und insbesondere durch die geringe Größe der Bioflocken erschwert. Dadurch konnte durch Sedimentation nur eine geringe Menge an Flocken aus einem großen Wasservolumen erhalten werden.

Zur Charakterisierung der Bioflocken und der Beobachtung der Meiofauna wurde den Haltsbecken ein Liter Wasser entnommen und in einen Imhoff-Trichter gegeben. Neben der Bestimmung der absetzbaren Stoffe zum Zeitpunkt der Untersuchung wurde die absetzbare Fraktion in Probengefäßen so aufgefangen, dass möglichst wenig Wasserüberstand in der Probe enthalten war. Nach einer weiteren Absetzzeit wurde überschüssige Flüssigkeit entfernt, soweit dies ohne Flockenverlust möglich war. Zunächst wurden zur Charakterisierung der Bioflocken ca. 30 µl auf einem Objektträger verteilt und in einem Durchlichtmikroskop bei 40 – 100facher Vergrößerung beurteilt.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Für einen besseren Überblick in der Probe wurde dieser Vorgang für jede Probe mindestens dreimal wiederholt und ein Gesamtergebnis festgelegt. Die Beschaffenheit der Flocken wurden dabei in drei Scores eingeteilt:

Score 1: Flocken kräftig, kompakt, abgerundet ausgeformt und mit fester Struktur, schlecht lichtdurchlässig und kaum feinere Partikel

Score 2: Flocken unregelmäßiger mit lockerer Struktur, gut lichtdurchlässig und einige feine Partikel

Score 3: offene Flocken, keine erkennbaren Formen oder Strukturen, überall ungehindert lichtdurchlässig, viele feine Partikel

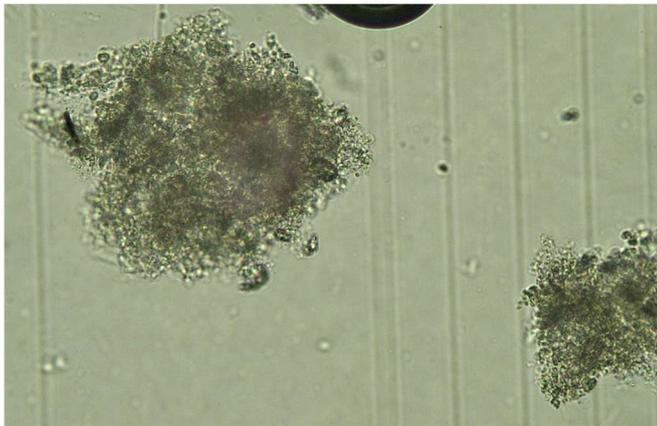


Abbildung 6-1: Bioflocs: Beispiel einer kompakteren Struktur (Neubauer Kammer, 400x Vergrößerung)

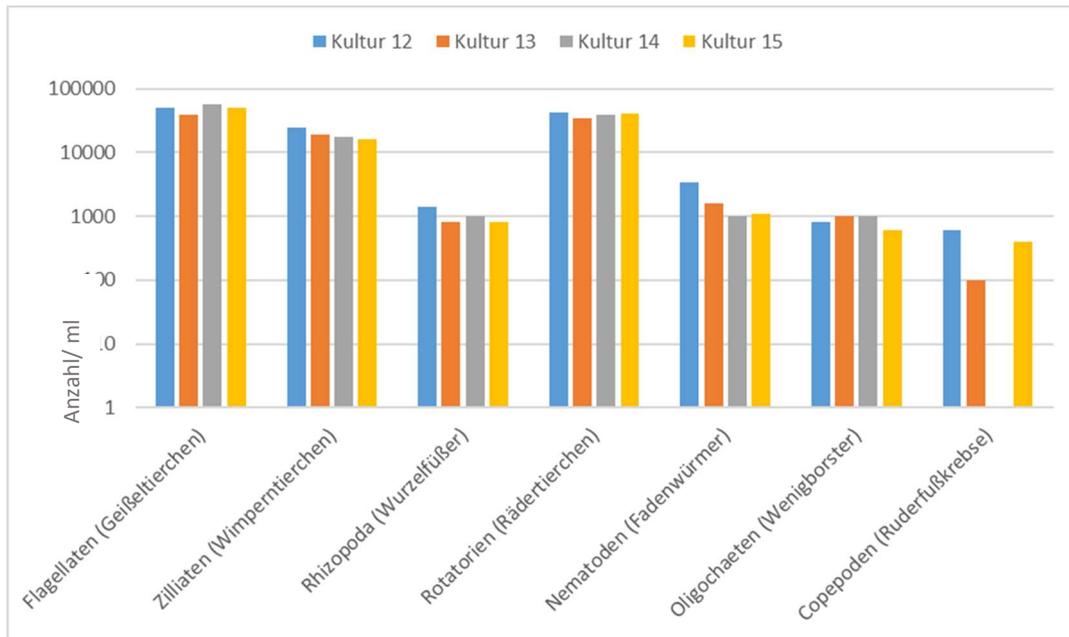
Neben der Beschaffenheit der Flocken wurden diese vermessen und in die Kategorien Score 1 „kleinere Flocken“ Durchmesser kleiner 150  $\mu\text{m}$ , Score 2 „mittlere Flocken“ Durchmesser 150 bis 500  $\mu\text{m}$  und Score 3 „große Flocken“ Durchmesser größer 500  $\mu\text{m}$  eingeteilt. Auch der Gehalt an freischwimmenden Bakterien sowie der Gehalt an Algen wurde semiquantitativ jeweils in drei Stufen eingeschätzt: geringgradiger, mittelgradiger und hochgradiger Gehalt.

In Kultur 12 wurden die Bioflocken beispielsweise aus jeweils ca. 2 ml (+/- 0,1 ml) absetzbaren Stoffen gewonnen. Diese wiesen eine mittlere Flockengröße auf und wurden als Score 1 eingestuft (kräftig, kompakt, abgerundet ausgeformt und mit fester Struktur, schlecht lichtdurchlässig und kaum feinere Partikel). Auch die Kultur 13, Kultur 14 und Kultur 15 wurden zu Beginn der Beobachtungen mit der Beschaffenheit Score 1 bewertet und zeigten eine mittlere Flockengröße. Obwohl im Verlauf der Beobachtungen die absetzbaren Stoffe zurückgingen, änderten sich Größe und Flockenbeschaffenheit kaum. Lediglich in Batch 14 war die Flockenbeschaffenheit bei späteren Untersuchungen als „unregelmäßiger mit lockerer Struktur, gut lichtdurchlässig und einige feine Partikel“ als Score 2 zu bewerten. In allen untersuchten Proben wurde dabei ein geringgradiger Algengehalt festgestellt, welcher sich auch im Verlauf der Untersuchungen nicht änderte. Der Gehalt an in den Flockenproben freischwimmenden Bakterien schwankte etwas. Während in den Kulturen 12 und 15 zu jedem Zeitpunkt ein mittelgradiger Gehalt beurteilt wurde, konnten in den Kulturen 13 und 14 im Verlauf jeweils ein leichter Anstieg von geringgradigem zu mittelgradigem Gehalt bzw. von mittelgradigem zu hochgradigem Gehalt beobachtet werden.

Zur Bestimmung der Meiofauna wurde den Proben unmittelbar vor der Zählung der Meiofauna 4 % gepuffertes Formalin zugefügt. Die Zählung erfolgte mit Hilfe einer verbesserten Neubauer Zählkammer im Lichtmikroskop bei 100facher Vergrößerung. Folgende Tierklassen und -ordnungen wurden in den Proben differenziert und ausgezählt. Geißeltierchen (Flagellata), Wimperntierchen (Ciliata) und Wurzelfüßer (Rhizopoda) bei den einzelligen Tieren (Protozoa), sowie Rädertierchen (Rotatoria), Fadenwürmer (Nematoda), Wenigborster (Oligochaeta) und Ruderfußkrebse (Copepoda) bei den mehrzelligen Organismen (Metazoa). Die Zählraten wurden anschließend rechnerisch immer auf einen Liter Anlagenwasser bezogen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

In den untersuchten Flockenproben konnten in vergleichbaren Gehalten vor allem Flagellaten und Rotatorien, sowie Ziliaten beobachtet werden. Wurzelfüßler, Oligochaeten und Nematoden konnten dagegen in allen Proben in deutlich geringerer Anzahl nachgewiesen werden. Vertreter der Gruppe der Copepoden hingegen konnten nicht in allen Flockenproben bzw. zu allen Untersuchungszeitpunkten nachgewiesen werden (*Abbildung 6-2*).



*Abbildung 6-2: Meiofauna Vergleich: logarithmische Darstellung der Mittelwerte der in den Flockenproben nachgewiesenen Tierklassen und –ordnungen im Vergleich von vier untersuchten Kulturen (Mittelwerte pro ml Anlagenwasser)*

Parallel zu der Abnahme der absetzbaren Stoffe war über alle untersuchten Proben auch eine leichte quantitative Abnahme der einzelnen nachgewiesenen Tierklassen und –ordnungen zu beobachten. Während bei den Flagellaten und Rotatorien nur ein sehr leichter Rückgang zu beobachten war, waren bei Ziliaten, Nematoden und Oligochaeten ein stärkerer Rückgang zu beobachten. In Kultur 14 war in der Gruppe der Wurzelfüßer ein deutlicher Rückgang zu beobachten, während hier in den Kulturen 13 und 15 gleichbleibende Zählraten erhoben wurden. Copepoden, die in Kultur 13 bei späteren Untersuchungen nicht mehr nachgewiesen wurden und in Kultur 15 deutlich zurückgingen, konnten in Kultur 14 gar nicht beobachtet werden.

Ungeachtet dieser Beobachtungen und Tendenzen war ein Erkennen von wiederkehrenden Mustern leider aufgrund der problematischen Probengewinnung nicht möglich.

### 6.3 AP 2.3: Auswertung AP2, mit Definierung von Steuerungsmöglichkeiten

Für eine Definierung von Steuerungsmöglichkeiten wäre ein stabiler Anlagenbetrieb unter praxisnahen Bedingungen erforderlich gewesen. Aus bereits genannten Gründen wurde dieser Zustand nicht bzw. nicht für einen ausreichend langen Zeitraum erreicht. So wirkten parallel immer diverse Einflussfaktoren auf das Mikrobiom, sodass nicht einzelne Faktoren zur Steuerung identifiziert werden konnten.

Es war uns bekannt, dass diese Fragestellungen in einer neu gebauten Anlage erst nach Erreichen eines routinemäßigen Regelbetriebes zuverlässig untersucht werden können. Die ersten Datenerhebungen in der Anlage Damm begannen daher auch erst 1 Jahr nach Betriebsstart. Unerwartet waren die vielen unterschiedlichen Störfaktoren, die zu einem beträchtlichen Anteil nicht mit der, wie sich herausstellen sollte, noch anzupassenden Anlagentechnik verbunden waren, sondern aus verschiedenen, außerhalb der Einfluss-Sphäre des Betreibers liegenden Bereichen auf den Betrieb einwirkten. Dies war vor allem der Bereich der Logistik (unzureichende Verfügbarkeit von geeignetem Futter und Besatztieren) und die von der Pandemie geprägte und belastete Wirtschaftslage (sinkende Nachfrage bei geschlossener Gastronomie), s. auch Kap. 4).

## 7 Arbeitspaket 3: Faktor Bioflocke und deren Steuerungsmöglichkeiten

### 7.1 AP 3.1: Monitoring von Bioflocs (physikal.-techn. Eigenschaften) im Betrieb einer kommerziellen BFT-Anlage (POLY-K)

Das Vorkommen an Bioflocs ist ein wesentlicher Faktor für den Stoffhaushalt und den für die Garnelen verfügbaren Sauerstoff. Die organischen Anteile der Flocken zehren Sauerstoff, ebenso wie die darauf und darin siedelnden Organismen und Mikroorganismen, darunter auch nitrifizierende Bakterien. Daher können Bioflocs in hohen Konzentrationen in Konkurrenz um Sauerstoff zu den Garnelen stehen.

**Quantitative Bestimmung der Bioflocs:** als Maß für das Vorkommen von Bioflocs diente das Volumen absetzbarer Stoffe in Imhoff-Trichtern. Dazu wird jeweils ein Liter Anlagenwasser aus dem zu beprobenden GOB entnommen und direkt am Becken in einen dort installierten Imhoff-Trichter gefüllt. Nach mindestens 30 Minuten Absetzzeit wird der Wert abgelesen. Als Datengrundlage dienen auch die Daten aus dem Belüftungsschwerpunkt (s. Kap. 5.1.1.2), nur in dieser Beobachtungsphase, bis Anfang 2020, traten noch relativ hohe Volumina absetzbarer Stoffe von phasenweise > 5 ml/l, bis zu 9 ml/l auf (s. [Abbildung 5-4](#)). Einen strikten Grenzwert gibt es nicht in der einschlägigen Fachliteratur, als Orientierung nennen Emerenciano et al. (2017) für Garnelen 5 bis 15 ml/l, höhere Volumina bedeuten einen zu hohen Verbrauch an gelöstem Sauerstoff und erhöhen das Risiko, die Kiemen zuzusetzen. Als Richtwert wurden in dieser Anlage mit dem Betreiber Herrn Damm hier 5 bis 8 ml/l festgelegt.

**Weitere Messgrößen mit Bezug zu Bioflocs:** Bei allen vorgenommenen Beprobungen von Wasser zur Laboranalyse wurden die Parameter Gesamttrockenrückstand und abfiltrierbare Stoffe der Wasserprobe bestimmt, da sich das Auftreten von Bioflocs auch auf diese Messgrößen auswirken kann:

- die Bestimmung der abfiltrierbaren Stoffe durch ein Labor erfolgt mit einem Membranfilter (hier: 0,2 µm Porengröße, grundsätzlich mindestens mit Porengröße 0,45 µm – als Definition für ‚gelöst‘ vorliegende Stoffe).

Mit diesem Parameter werden theoretisch Bioflocs vollständig erfasst, da diese > 1 µm und bis zu 500 µm messen. Aber auch andere Feststoffe, wie Futter- und Schalenreste können miterfasst werden, sofern die Probenahme nicht sorgfältig durchgeführt wurde.

- Der Gesamttrockenrückstand wird laut beauftragtem Labor nach Spülung des Gesamtrückstandes einer Probe über einen Glasfaserfilter bestimmt, der durchlässig für Salze sein soll.

Mit dem Parameter Gesamt-TR können ebenfalls andere Partikel (Schalen-, Futterreste) miterfasst werden.

#### Qualitative Bestimmungen an Bioflocs:

Die Dichte der absetzbaren Stoffe ist entscheidend für die Absetzbarkeit und wird in der Klärtechnologie auch als Schlamm-Volumen-Index (SVI) bezeichnet.

Zur Bestimmung des SVI werden aus einem definierten Volumen Wasserprobe folgende Parameter bestimmt:

1. Volumen der absetzbaren Stoffe bzw. Bioflocs in [ml/l]
2. absolute Menge an absetzbaren Stoffen in Gramm *Feuchtmasse* aus dem beprobten und zu dokumentierenden Gesamtvolumen (x Liter), bei Gesamtvolumina >1l umzurechnen auf [g/l]
3. Trockenrückstand in [%]
4. Aus Feuchtmasse in [g/l] und Trockenrückstand [%] Konzentration des TR in [g TR/l] berechnen
5. Das Volumen absetzbarer Stoffe [ml/l] dividiert durch den spezifischen Trockenrückstand [g TR/l] ergibt den SVI [ml/g TR]

Die Gesamt-Feuchtmasse der abgesetzten Bioflocs zu bestimmen gestaltet sich schwierig bei Sediment-Volumina von wenigen Millilitern in einem Imhoff-Trichter. Daher wurden mehrere Imhoff-Trichter parallel verwendet.

## Laboranalysen an Feststoffen bzw. Bioflocs

Nur aus den Bioreaktoren konnte effektiv ausreichend Material zur Laboranalyse gewonnen werden. Aufgrund der niedrigen Ausbeute an absetzbaren Stoffen in den GOB wurden daher vorwiegend Feststoff-Proben aus Bioreaktoren zur Laboranalyse entnommen.

### 7.1.1 Ergebnisse des Biofloc-Monitorings

Die Ergebnisse werden in der Reihenfolge dargestellt:

1. Quantitative Daten aus dem Biofloc-Monitoring, mit Verlauf und Steuerung der Biofloc-Volumina
2. Qualitative Daten aus dem Biofloc-Monitoring, mit Labordaten zur Charakterisierung der Feststoffe

#### 7.1.1.1 Verlauf und Steuerung des Biofloc-Volumens in Hälterungsbecken und Wasseraufbereitung

In den ersten Monaten des Untersuchungszeitraums wurde der Volumenstrom durch die Wasseraufbereitung variiert, um den Effekt auf die Biofloc-Volumina in den Grow-Out Becken (GOB) zu prüfen. Die Wirkung bzw. Effekthöhe einer veränderten Durchflussrate war zwar nicht exakt voraussehbar, jedoch konnte die Schwankungsbreite des Biofloc-Levels in den GOB deutlich eingegrenzt und somit dieser zentrale Parameter stabilisiert werden (Kap. 5.1.1.2.1).

Es wurde erwartungsgemäß festgestellt, dass sich bei erhöhtem Durchsatz das Volumen absetzbarer Stoffe in den GOB verringerte und in den Bioreaktoren anstieg, kurzfristig auf > 500 ml/l (530 ml/l in BioR Modul 2, 06/2020), s. [Abbildung 7-1](#). Daraus ist abzuleiten, dass die Sedimentation und dadurch erzielbare Entnahme von Feststoffen in diesem Zeitraum effektiv funktionierte.

Dieses Steuerungsverfahren setzt voraus, dass die Bioflocs gut absetzbar sind. Bei Auftreten der leichteren Bioflocs funktionierte dieses Verfahren nicht mehr, was den Anlass gab ein anderes Feststoffmanagement zu planen.

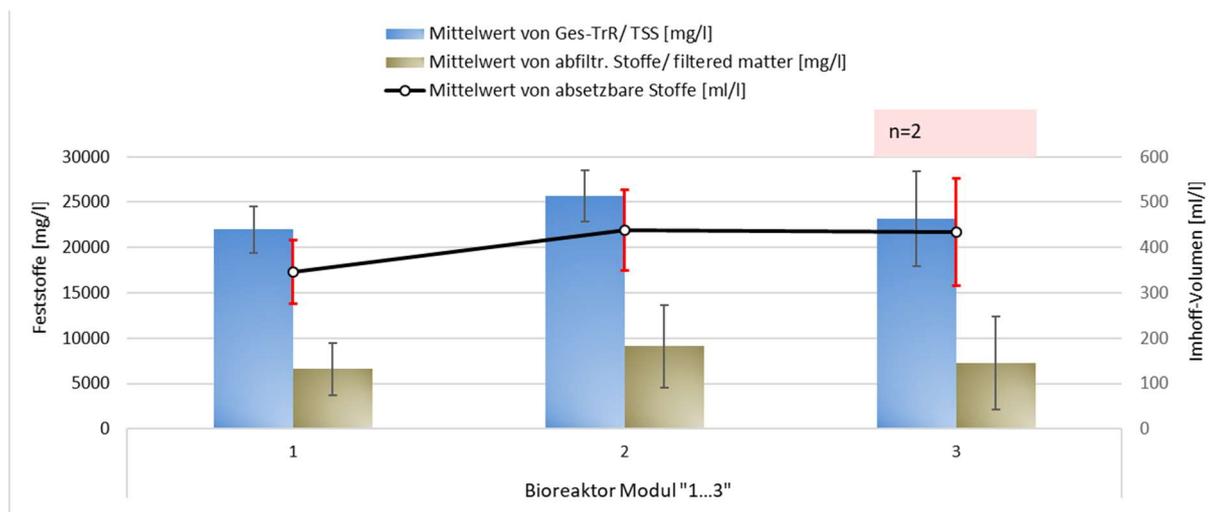


Abbildung 7-1: mittleres Volumen absetzbarer Stoffe (Imhoff-Volumen) [ml/l] und mittlere Feststoff-Konzentrationen [mg/l] in Bioreaktoren der drei Module der Wasseraufbereitung (Feststoffkonzentrationen als 1. Ges-TrR= Gesamt-Trockenrückstand: Glasfaser-filtrierte und gespült, 2. abfiltr. Stoffe= abfiltrierbare Stoffe: <0,2 µm, membran-filtrierte); Daten aus 2019 und 2020 (n=3, 6 bzw. nur 2 für Modul 3)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

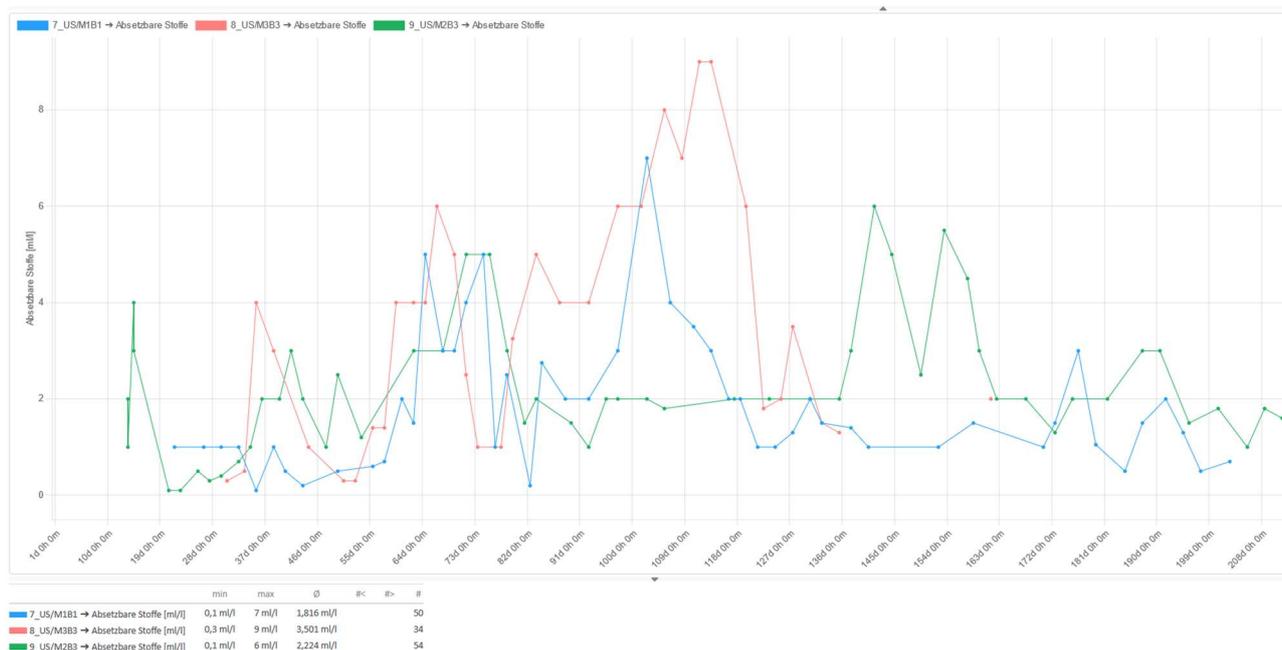


Abbildung 7-2: Screenshot aus Delta mit dem kulturbezogenen Verlauf der Menge absetzbarer Stoffe (Imhoff-Trichter, in ml/l) in den drei Varianten der Belüftungsarten (Batch #7: ‚Injektor‘; Batch #8: ‚Sauerstoff‘, Batch #9: ‚Standard‘), Anfangsphase Biofloc-Steuerung

Auffällig sind die hohen Schwankungen der Volumina absetzbarer Stoffe: z.T. von einem Tag auf den anderen kam es zu Differenzen von mehreren ml pro Liter Hälterungswasser. Es wäre bei der großvolumigen Anlage eine längere Reaktionszeit zu erwarten, da große Volumina grundsätzlich träge reagieren.

Die folgenden Auswertungen zu absetzbaren Stoffen aus Delta zeigen nach den anfangs hohen Schwankungen der Imhoff-Werte eine zeitweise Absenkung auf unter 2 ml/l und einen erneuten Anstieg auf maximal 6 ml/l Anfang 2020 (hier als Analyse der Daten pro Hälterungsbecken über einen definierten Zeitraum: bis 03/2020 in [Abbildung 7-3](#) und anschließender Beobachtungszeitraum bis Projektende in 03/2022 in [Abbildung 7-4](#)).

Basis sind alle in Delta importierten Daten der untersuchten Kulturen. Lücken bedeuten, dass sich in den entsprechenden Becken zu dem Zeitpunkt keine der untersuchten Kulturen befand.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

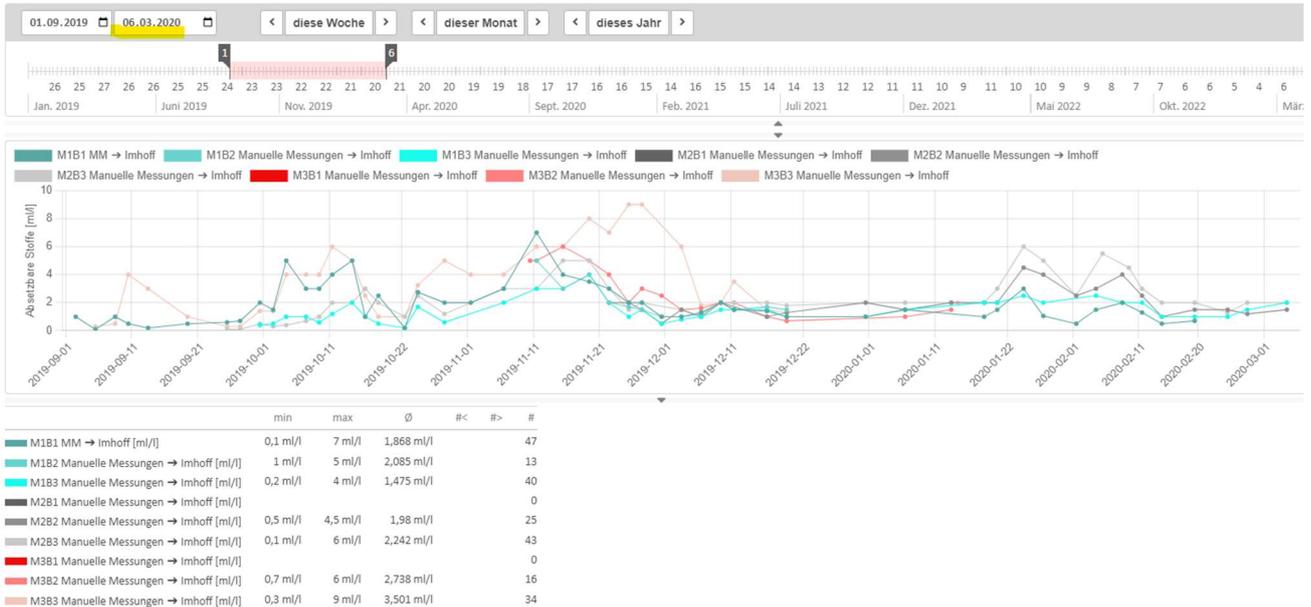


Abbildung 7-3: Auswertung aus Delta: Anteile absetzbarer Stoffe [ml/l] in Becken mit Garnelenbesatz, im Zeitraum 1.9.2019 bis 6.3.2020 (Becken im Belüftungsschwerpunkt: M1B1 Variante Injektoren, M1B3 und M2B3 Standard, M3B3: Variante Sauerstoff)

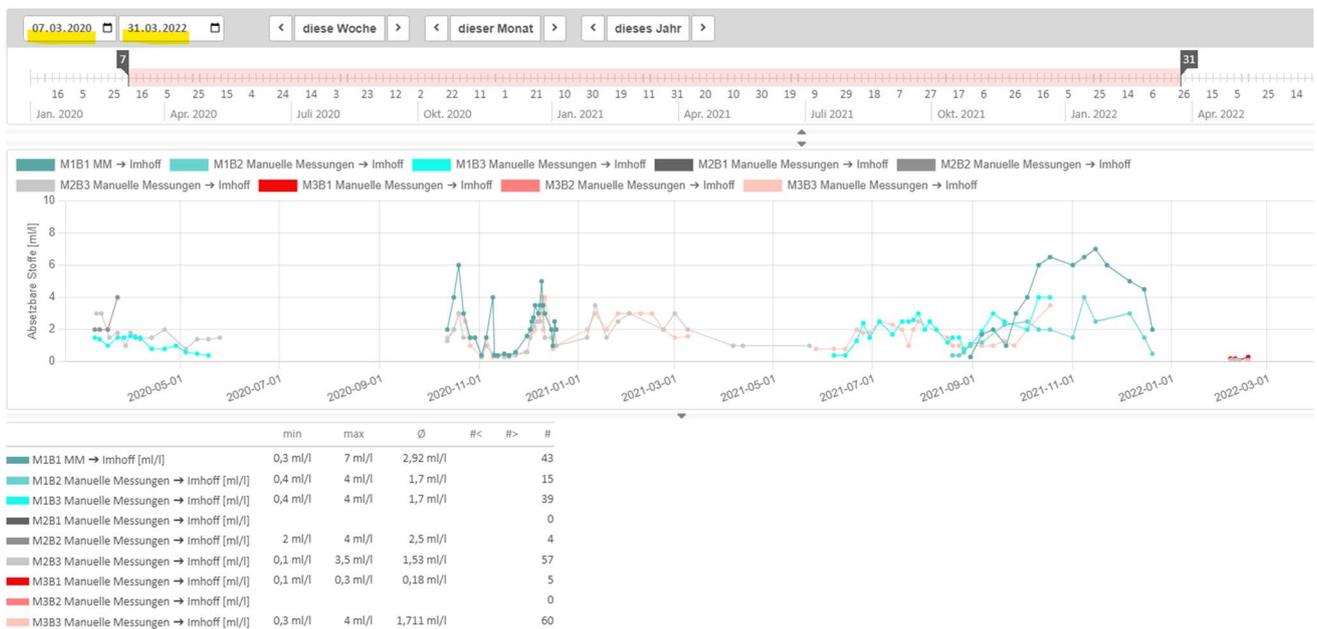
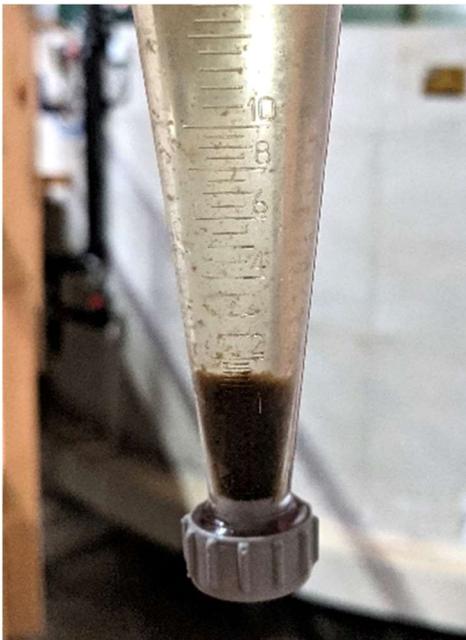


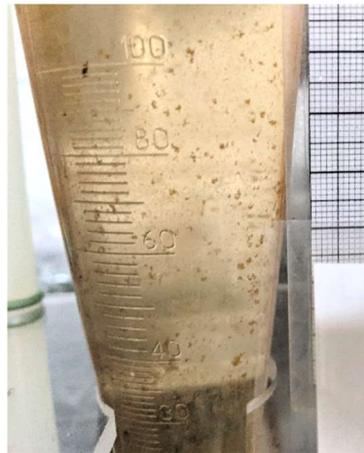
Abbildung 7-4: Auswertung aus Delta im anschließenden Zeitraum 7.3.2020 bis 31.3.2022: Anteile absetzbarer Stoffe [ml/l] in Becken mit Garnelenbesatz

## Beobachtungen

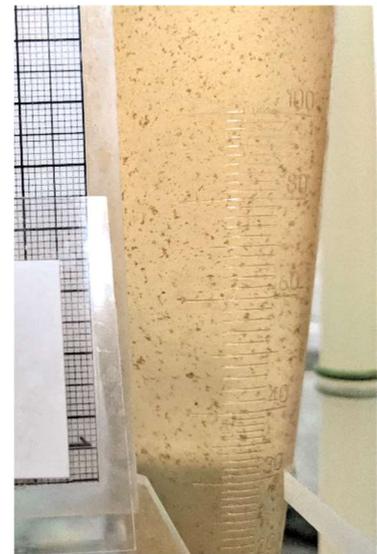
Im Schwerpunkt Belüftungsvarianten konnte eine interessante Beobachtung gemacht werden: die absetzbaren Stoffe aus dem Becken mit Injektorbelüftung waren kleiner und blieben länger in Schwebelage, d.h. die Bioflocs aus der Variante „Injektor“ setzten sich langsamer ab. In Sedimentationsversuchen blieb sogar nach einer Standzeit von bis zu 4h noch der Großteil der sichtbaren Bioflocs in Schwebelage.



Injektorbelüftung (M1B1)



Sauerstoffbelüftung (M3B3)



Referenz mit Standardbelüftung (M2B3)

*Abbildung 7-5: Absetzbare Stoffe aus den GOB unter drei Belüftungs-Szenarien mit kleineren und länger schwebenden Bioflocs in Variante „Injektorbelüftung“ (li) gegenüber den Varianten „Sauerstoff-“ (Mitte) bzw. „Standardbelüftung“ (re)*

Ein ähnliches Phänomen konnte etwa ab Mitte 2021 beobachtet werden. Hier trat ein verlangsamtetes Absetzen der Bioflocs jedoch auch in Becken mit Standardbelüftung auf.

In einem separaten 30L-Sedimentationsrohr, das für die Versuchsanlage eingesetzt wurde, blieb in einem Test (07/2021) nach 4h Absetzzeit noch der Großteil des Biofloc-Volumens in Schwebelage und setzte sich erst nach Erschütterung des Zylinders, nach physikalisch induzierter Aggregatbildung, langsam ab. Diese Beobachtung konnte auch in den 1L-Imhoff-Trichtern nachvollzogen werden, bei einer Absetzzeit von 12h (s. [Abbildung 7-6](#)).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

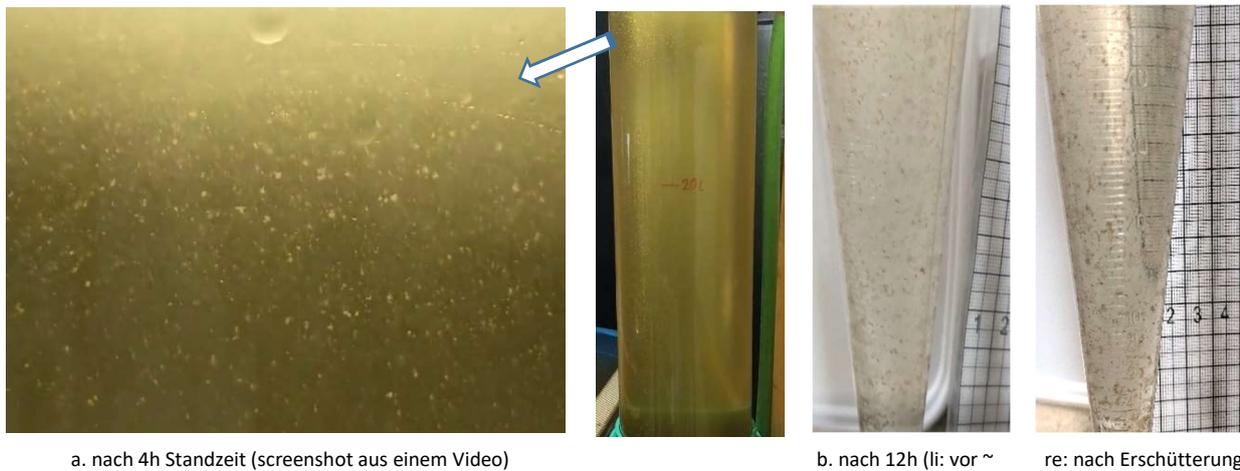


Abbildung 7-6: Tests zum Absetzverhalten von Bioflocs nach a. 4h Standzeit in einem 30L-Sedimentationszylinder (aus Plexiglas) und b. nach 12h Standzeit in Imhoff-Trichtern: Bioflocs ‚stehen‘ in der Wassersäule und bilden erst nach Erschütterung des Behälters größere absinkende Aggregate

Schwer absetzbare Bioflocs traten auch auf, wenn die Flocken nach hoher Zuckerdosierung extrem voluminöse Strukturen bildeten (s. [Abbildung 7-7](#)). Ein Beispiel für eine kompaktere Form ist in Kap. 6.2, [Abbildung 6-1](#) zu sehen.

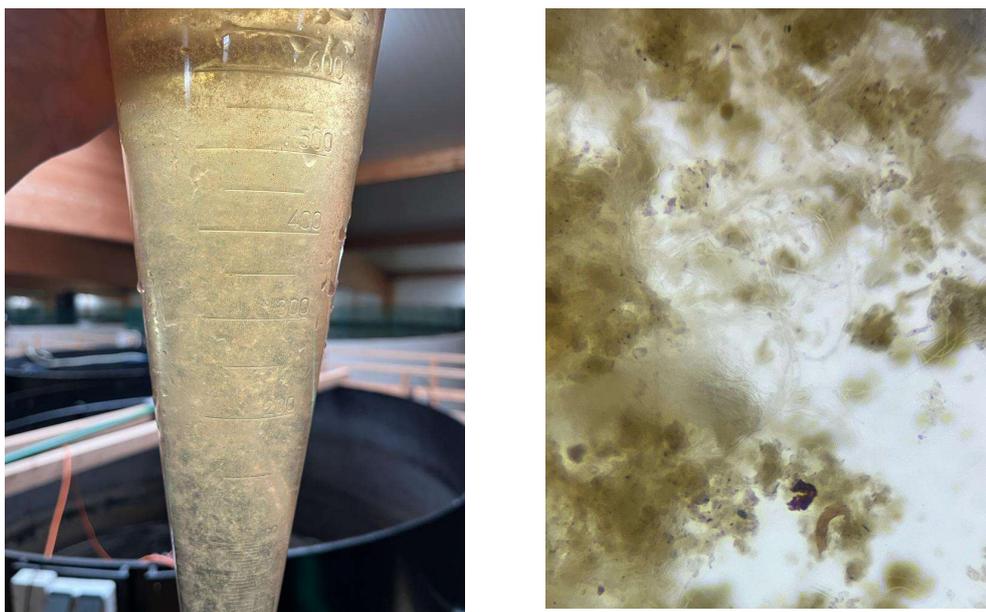


Abbildung 7-7: Beobachtung schwer absetzbarer, voluminöser Flocken in einem Imhoff-Trichter (li) und unter einem Stereomikroskop (re)

Beobachtet werden konnte allgemein, dass die Struktur der Bioflocs von kompakt bis eher locker variieren konnte, auch zwischen benachbarten GOB. Der Phänotyp der Bioflocs scheint daher eher beckenspezifisch zu sein. Die Ursachen können vielfältig sein.

### Biofloc-bezogene Messgrößen: Gesamt-Trockenrückstand und abfiltrierbare Stoffe

Die Konzentration an Gesamt-Trockenrückstand war im Vergleich zur Konzentration der abfiltrierbaren Stoffe in den Hälterungsbecken um das mehr als Hundertfache höher (Faktor 140 bis 380). In den Bioreaktoren war dieser Unterschied geringer und erreichte nur den Faktor 2-8. Die so unterschiedlichen Faktoren sind nicht mit einem Salzzrückstand zu erklären, der beim Parameter Gesamt-TR miterfasst worden sein kann. Zudem war nach Angabe des beauftragten Analyzelabors bei der Bestimmung des Gesamt-TR der Salzanteil der Wasserprobe durch Spülung der Probe über einen Glasfaserfilter minimiert.

Zu erklären wäre die Diskrepanz zwischen Gesamt-TR und Gehalt an abfiltrierbaren Stoffen mit einer kolloidalen Struktur der Feststoffe bzw. Bioflocs in den Wasserproben:

Eine Struktur, die sich zwar im Imhoff-Trichter absetzen und ablesen lässt, sich aber beim Filtrieren unter Druck durch die Membranporen ‚hindurchschlängeln‘ oder dabei zerschlagen werden kann und daher mit dieser Methode nicht erfasst werden kann.

In den Bioreaktoren akkumulieren die Feststoffe und werden weiter mineralisiert. Dadurch könnte die kolloidale Struktur aufgebrochen werden, was den Konzentrationsunterschied zwischen Gesamt-Trockenrückstand und abfiltrierbaren Stoffen verkleinern würde – wie beobachtet.

Das Vorkommen von kolloidalen Strukturen in den Feststoffen kann sich auch auf deren Absetzverhalten auswirken, indem es dieses verlängert. Die dafür verantwortlichen Strukturen können die komplexen und mit zahlreichen funktionellen Gruppen ausgestatteten Huminstoffe bilden, die sich aus organischen Abbauprodukten bilden und in BFT-Anlagen ohne Ozon- oder UV-Stufe für die bräunliche Färbung des Wassers verantwortlich sind und daher auch als Gelbstoffe<sup>24</sup> bezeichnet werden. Ein Indikator für das Vorkommen ist die photometrisch einfach zu bestimmende Extinktion im Gelbspektrum, hier bei 436nm<sup>25</sup> bestimmt (nach Filtration). Es wurden Werte zwischen 250 und 400 gemessen, in der ehemaligen Versuchsanlage von Polyplan (KoMARE, Phase 1<sup>26</sup>), die als RAS-Anlage ausgelegt war, lagen die Extinktionswerte zwischen 70 und 130.

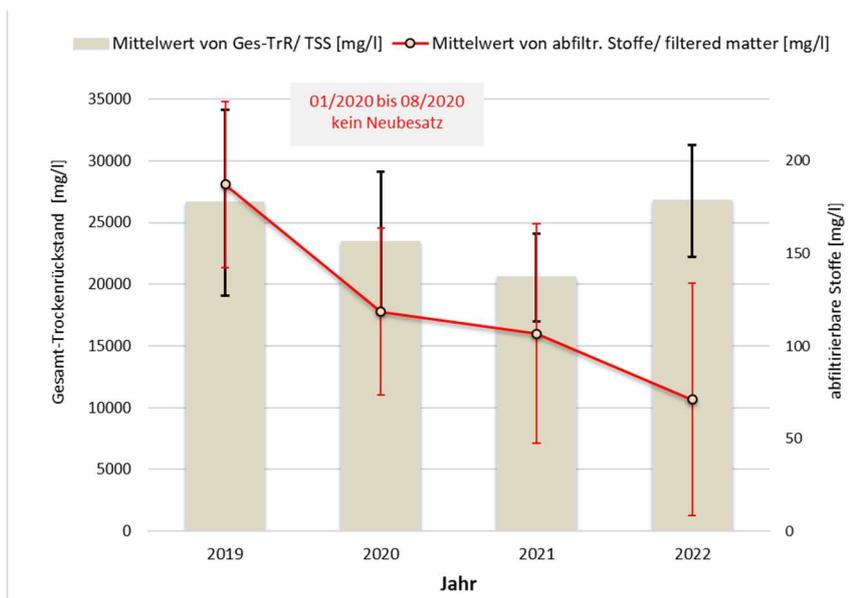


Abbildung 7-8: Feststoff-Konzentrationen als ‚abfiltrierbare Stoffe‘ [mg/l] und ‚Gesamt-Trockenrückstand‘ (TrR bzw. TSS) als mittlere Konzentrationen in den Hälterungsbecken in den Jahren 2019 bis 2022 (2019: n=5, 2020: n=25, 2021: n=11, 2022: n=12)

<sup>24</sup> <https://www.spektrum.de/lexikon/geowissenschaften/gelbstoffe/5527>

<sup>25</sup> Spektraler Absorptionskoeffizient SAK 436 (DIN EN ISO 7887: 2012-04)

<sup>26</sup> DBU Az.: 30575/01

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

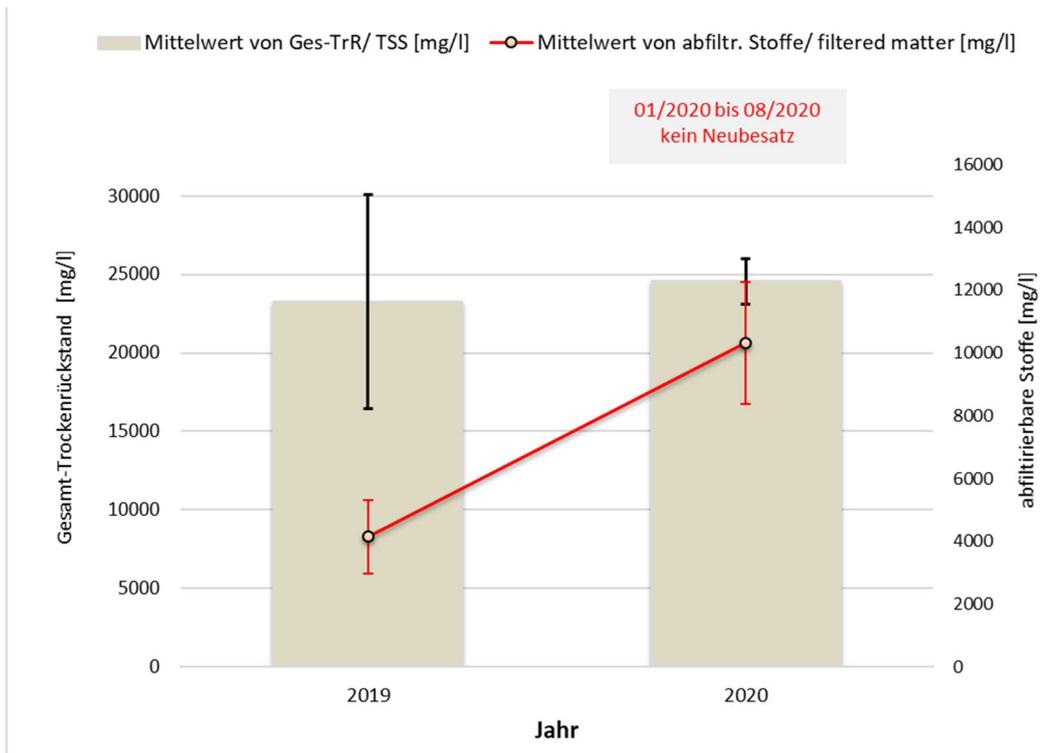


Abbildung 7-9: Feststoff-Konzentrationen als ‚abfiltrierbare Stoffe‘ [mg/l] und ‚Gesamt-Trockenrückstand‘ (TrR bzw. TSS) mit mittleren Konzentrationen in den Bioreaktoren in den Jahren 2019 bis 2022 (2019: n=3, 2020: n=8)

Der Gesamt-Trockenrückstand in Wasserproben der Bioreaktoren und GOB lag im Verlauf immer über 20g/l. Zweimal wurde auch der Glührückstand des Feststoffanteils bestimmt, in 2021 und 2022, an Proben aus Hälterungsbecken. Diese Werte waren mit >80% bis fast 90% sehr hoch für den Trockenrückstand, der hier zum Großteil aus den Bioflocs bestehen sollte – sofern nicht auch Salze miterfasst wurden.

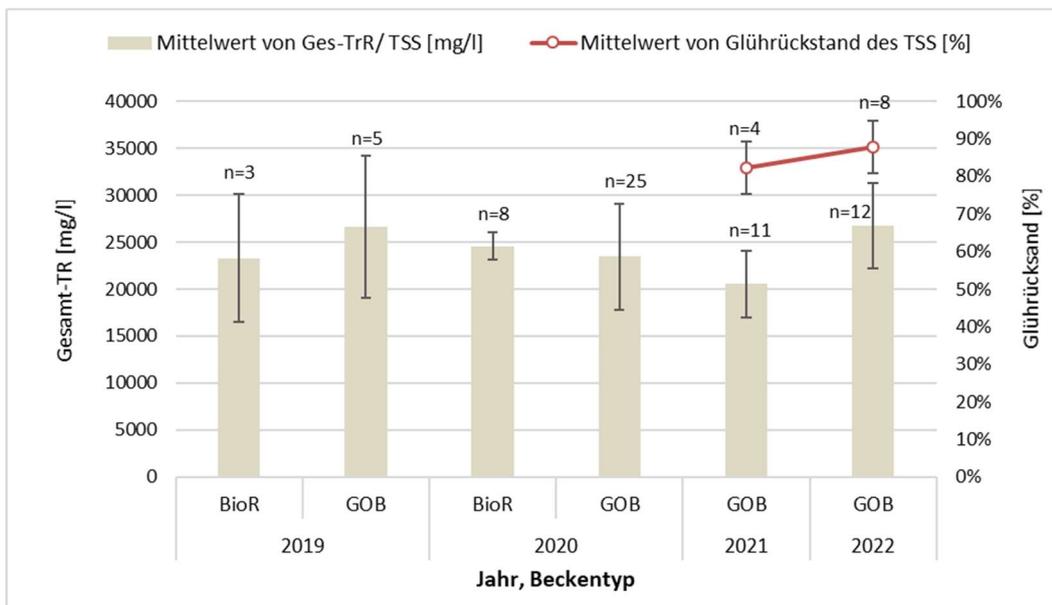


Abbildung 7-10: Gesamt-Trockenrückstand [mg/l] und dessen Glührückstand [%] in Wasserproben aus der Hälterung (Beckentyp GOB) und aus Bioreaktoren (BioR) als Mittelwert pro Jahr im Beobachtungszeitraum 2019 bis 2022 (Anzahl ‚n‘ wie angegeben)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### 7.1.1.2 Charakterisierung der Bioflocs

#### Laboranalysen an absetzbaren Stoffen:

Zur Charakterisierung der Bioflocs wurden die Feststoffe aus Wasserproben nach Absetzen in Imhoff-Trichtern entnommen und zur Laboranalyse versandt, um die folgenden Parameter zu bestimmen:

- Trockenrückstand [%]
- Glühverlust und Glührückstand [%]
- TOC (gesamt-org. Kohlenstoff) [mg/kg]
- Stickstoff ges. (Kjeldahl) [mg/kg] und [%]
- sowie nach Aufschluss: die Schwermetalle Cu und Zn [mg/kg] und Phosphor gesamt [mg/kg]

Laboranalysen an Feststoffen wurden vorwiegend an den absetzbaren Stoffen aus den Bioreaktoren vorgenommen, da nur diese in ausreichender Menge zu sammeln waren. Nur einmal wurden Analysen auch an Feststoffen aus einem Hälterungsbecken vorgenommen. Hier reichte die Trockensubstanz jedoch nicht aus, um eine Bestimmung von Stickstoff durchzuführen.

Sauerstoffzehrung der absetzbaren Stoffe bzw. Bioflocs: an absetzbaren Stoffen aus einem Bioreaktor wurde der biologische Sauerstoffbedarf (BSB<sub>5</sub>) mit 220 mg/l bestimmt. Dieser hohe Wert stellt kein Entsorgungsproblem dar, weil die absetzbaren Stoffe nicht in einen Vorfluter entsorgt werden, sondern die Genehmigung zur Ausbringung auf die landwirtschaftliche Nutzfläche besteht (bis 500L/Tag).

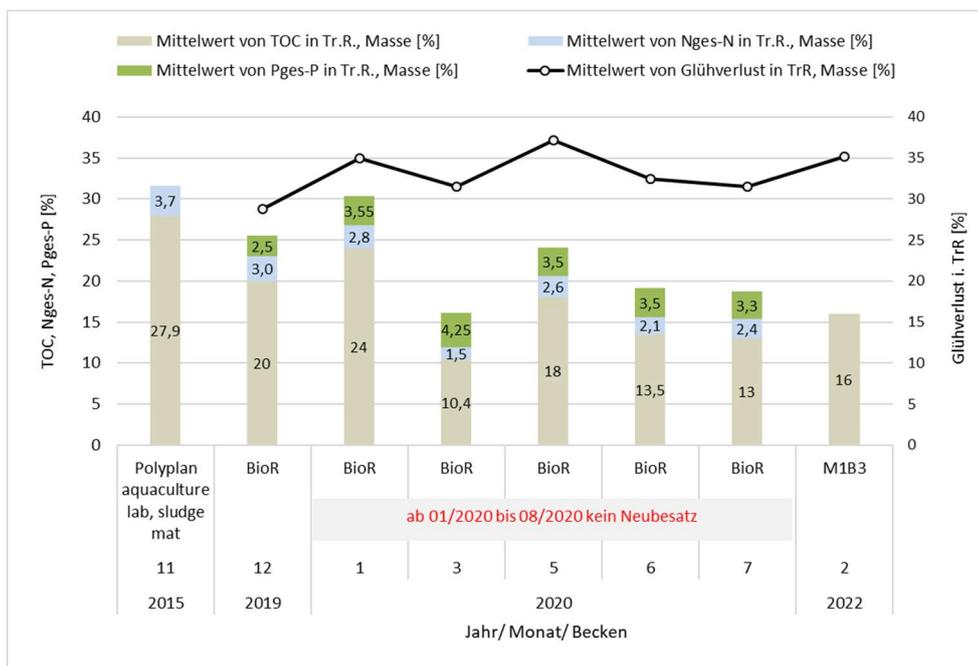


Abbildung 7-11: Analysen von absetzbaren Feststoffen aus Bioreaktoren und einem Hälterungsbecken (M1B3) der Anlage Damm Aquakultur (n=1 bzw. 1 bis 2 für BioR<sup>27</sup>): TOC, N-gesamt-N und P-gesamt-P, sowie der Glühverlust (2. Y-Achse) in % des Trockenrückstands, mit Referenzdaten TOC [%] und Nges-N [%] aus 11/2015 (Schlamm aus Aquakulturlabor der Polyplan GmbH<sup>28</sup>)

<sup>27</sup> Einzelwerte in Pivot nicht als solche darstellbar

<sup>28</sup> Daten aus KoMARE, Phase 1, Az. 30575/01

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

In [Abbildung 7-11](#) sind für den Kohlenstoffgehalt (TOC [%]) und den Stickstoffgehalt (Nges-N [%]) der Feststoffe Referenzwerte aus dem Vorhaben KoMARE, Phase I, dargestellt, die aus dem Schlammabscheider des von der Polyplan GmbH damals erst seit ca. 1 Jahr betriebenen Aquakulturlabors zur Durchführung der Garnelenversuche stammten.

Das junge Alter der Anlage und somit der Feststoffe mag ein Grund dafür sein, dass die Konzentrationen an organischem Kohlenstoff und Gesamt-Stickstoff höher sind als die anderen dargestellten Werte aus der Anlage Damm.

Feststoffproben aus Bioreaktoren wurden in 12/2019 und mehrfach im Laufe des Jahres 2020 analysiert. Zu Beginn der Projektlaufzeit Ende 2019 und bis Anfang 2020 fallen höhere Werte für den Gehalt an organischem Kohlenstoff (TOC mit 20% bzw. 24%) auf, die in der Phase mangelnden Neubesatzes in 2020 auf ca. 13% absinken. Die weitere, Anfang 2022 untersuchte Probe aus einem GOB lag mit 16% TOC-Gehalt in vergleichbar niedriger Höhe. Zwischen Januar und März 2020 sind sowohl der Kohlenstoffgehalt (TOC [%]) als auch der Stickstoffgehalt (Nges-N [%]) im Trockenrückstand um ca. 50% des Januarwertes gesunken, dagegen blieb der Glühverlust innerhalb der vorherigen Schwankung und der Phosphorgehalt stieg bis März um ca. 20% des Januarwertes an, blieb aber nicht dauerhaft erhöht.

Das Absinken der Konzentration für TOC und Nges-N in 2020 kann auf die reduzierte Auslastung der Anlage zurückzuführen sein, infolge einer stark verringerten Fracht an Futtereintrag und Lebendbiomasse.

Der Kohlenstoffgehalt der Feststoffe steigt zwar bis Mai 2020 wieder auf fast 20% an, um dann aber erneut zu sinken auf 13%, ein Wert unterhalb der Konzentration aus Dezember 2019. Der Stickstoffgehalt steigt ebenfalls deutlich bis Mai 2020 und fällt wieder ab unter das Niveau aus Dezember 2019. Im Monat Mai (2020) wurden die letzten noch in 2019 besetzten Kulturen abgefischt. Erst im August kam neuer Besatz in die Anlage. Dies kann den erneuten Rückgang von TOC und Nges-N verursacht haben.

Die Schwankungen des Kohlenstoffanteils spiegeln sich in einem parallel verlaufenden Auf und Ab des **Glühverlustes** wider, aber nicht im selben Umfang: der Glühverlust schwankt weniger stark und bleibt zuletzt (Juni/ Juli 2020) auf einem leicht höheren Niveau (bei ca. 32%) gegenüber Dezember 2019 (28%). Der Parameter ‚Glühverlust‘ dient in der Bodenkunde dazu den *organischen* Anteil des Trockenrückstands zu quantifizieren und sollte in etwa das 2fache des TOC-Gehaltes betragen, bei einem anzunehmendem Kohlenstoffanteil von 50% in organischem Material. Danach hätten die ersten beiden Werte für Glühverlust deutlich höher liegen müssen (für einen TOC von 24% wäre der zu erwartende Glühverlust 48% und für 20% TOC läge dieser bei 40%). Bei den folgenden, niedrigeren TOC-Konzentrationen wären wiederum niedrigere Werte für den Glühverlust zu erwarten gewesen. Der Glühverlust kann generell und besonders in den hier untersuchten Feststoffproben aus der Salzwasseraquakultur zu überhöhten Werten führen, wenn Karbonate vorhanden sind, die ebenfalls Verglühen können.

Auch Probenahme und –behandlung haben einen Einfluss auf diesen Parameter bzw. sein Pendant, den Glührückstand [%], der durch Miterfassung von Salzen erhöht sein kann: so zeigt [Abbildung 7-11](#) für die eine untersuchte Feststoff-Probe aus einem GOB einen Glühverlust von 35%, aber am Gesamt-Trockenrückstand der am selben Tag aus demselben GOB entnommenen Wasserprobe wurde ein sehr hoher Glührückstand von 89% bestimmt, einem niedrigen Glühverlust von nur 11% entsprechend (Glührückstand: Wert aus Laborbericht, sehr nah am Mittelwert von 90% aus n=8 GOB-Proben in [Abbildung 7-10](#)). Insofern ist hier der Parameter TOC aussagekräftiger.

Im Mittel lag der Glühverlust von neun untersuchten Biofloc-Proben bei 33% und der Glührückstand bei 67%. Die Biofloc-Probe aus dem GOB wies mit 35% bzw. 65% vergleichbare Werte auf. Im Gesamt-Trockenrückstand von Wasserproben aus verschiedenen GOB (n=12) wurden ab 04/2021 bis zum Projektende mit 1 Ausnahme höhere Werte für den Glührückstand von im Mittel 86% bestimmt (s. [Abbildung 7-10](#)). Die Differenz um ca. 20% kann bei dem Verfahren, den Gesamt-Trockenrückstand zu bestimmen, durch miterfasste Salze bedingt sein.

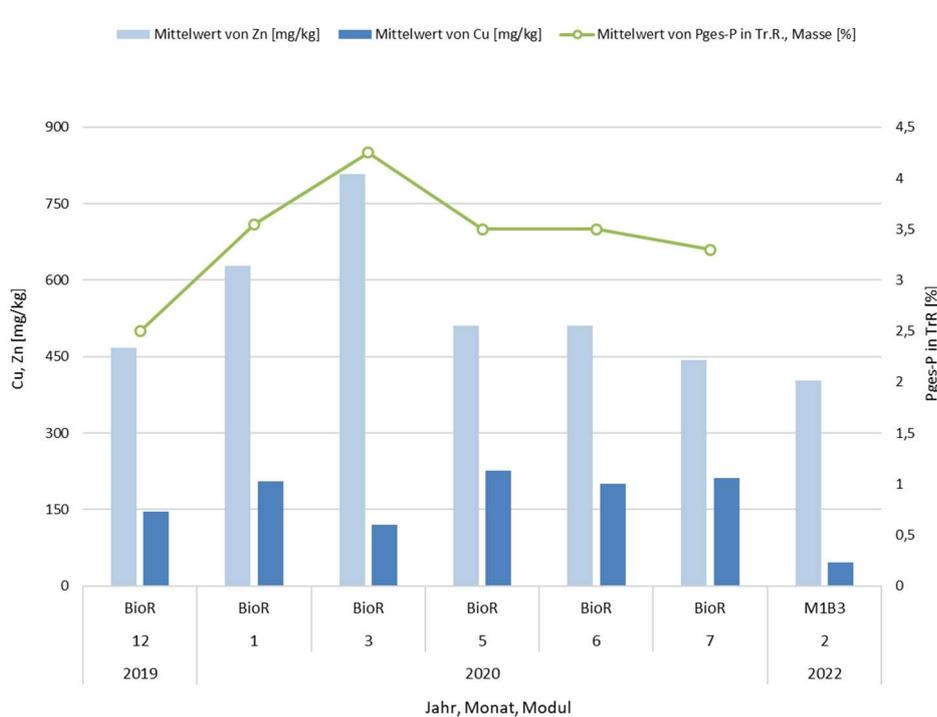


Abbildung 7-12: Analysen von Schlammproben aus Bio-Reaktoren (BioR: n=1 bzw. n= 2 in Januar, März u. Juni) und von Bioflocs aus M1B3 (n=1)<sup>29</sup>: Konzentrationen von Cu und Zn [mg/kg] sowie für BioR Ges-P [%] des Trockenrückstands

Die Konzentrationen von Zink (Zn) und Kupfer (Cu) [mg/kg] sind hier für die Proben aus Bioreaktoren mit dem Gehalt an Phosphor (Pges-P [%]) im Trockenrückstand dargestellt.

Der parallele Verlauf der zuerst ansteigenden und dann leicht absinkenden Konzentration von Zink und Pges-P deutet auf eine Bindung zwischen beiden Elementen in den Feststoffen hin. Zinkphosphat kann theoretisch als Zinksenke in diesem System fungieren (s. Kap. 5.1.1.3.1).

### Biofloc-Dichte in ml/g

Die Dichte der absetzbaren Stoffe ist entscheidend für deren Absetzbarkeit und wird zur Charakterisierung des Absetzverhaltens von Schlämmen in der Klärtechnologie auch als Schlamm-Volumen-Index (SVI) bezeichnet. Der SVI wird durch Dividieren des Volumens abgesetzter Stoffe [ml/l] durch die Konzentration des TR in [g/l] berechnet, mit der Einheit [ml/g] (Kalkulation oben beschrieben, s. S. 133 in diesem Kapitel).

Aus den Hälterungsbecken konnten zur Beprobung nicht ausreichend Bioflocs per Absetzen in einem Imhoff-Trichter gewonnen werden, da dies nur wenige Milliliter pro Liter ergab. Mit den Sedimentationsbehältern aus der Versuchsanlage (30L Fassungsvermögen) konnte zwar ein größeres Volumen beprobt werden, z.B. für die Untersuchungen des Mikrobioms. Die Form barg aber den Nachteil, dass sie nicht in einen Trichter mündete, sondern mit schrägem Boden in einen horizontalen Ablauf, aus dem die absetzbaren Stoffe schwer *quantitativ* zu beproben waren.

Für diese Fragestellung wurden daher mehrere 1L-Imhoff-Trichter eingesetzt, um ein ausreichendes Volumen Feuchtmasse absetzbarer Stoffe zu erhalten. Der wenn auch geringe Verlust an Feuchtmasse durch Anhaftung an die Gefäßwände addiert sich allerdings mit jedem zusätzlichen Behälter.

<sup>29</sup> Einzelwerte in Pivot nicht als solche darstellbar

**Ergebnis:** auf diese Weise gelang es aus 9L Wasserprobe eines GOB mit insgesamt 19,5 ml abgesetztem Volumen 26 g Biofloc-Feuchtmasse zu erhalten, mit einem absoluten Trockenrückstand von nur 0,16g.

An der Biofloc-Probe aus dem Grow-Out Becken wurde ein **SVI von 13,31 ml/g** berechnet. In Kläranlagen sind SVI-Werte zwischen 80 und 120 ml/g zu erwarten, Werte > 150 ml/g charakterisieren schwer absetzbaren Schlamm bzw. Blähschlamm<sup>30</sup> - im Vergleich ist dies somit ein sehr niedriger Wert, der für ein gutes Absetzverhalten stehen soll.

Der SVI an Schlammproben aus **Bioreaktoren** wurde ebenfalls bestimmt (n=6), noch in der Phase mit der originalen Wasseraufbereitung, zwischen März und Juli 2020. Im Mittel lagen die Werte bei **25 ml/g**, bei einem Glührückstand von ca. 33% bzw. einem Glührückstand von nur 67%.

## 7.2 Monitoring Nährwertanalyse der Bioflocs/ Schwebstoffe in BFT-Anlagen und Bestimmung des physiolog. Ernährungswerts im Vergleich zum eingesetzten Trockenfutter (TiHo)

Die Bestimmung des Nährwertes aus den Bioflocken gestaltete sich schwierig. Durch den geringen Gehalt und die geringe Größe der Bioflocken bzw. auch durch das bereits beschriebene Absetzverhalten und die stark variiierende Flockendichte, war die Gewinnung ausreichender Mengen an Bioflocken stark erschwert. Um genug Material zu sammeln, wurden statt der Imhoff-Trichter Sedimentationszylinder aus Plexiglas mit 30 Litern Fassungsvermögen mit Anlagenwasser gefüllt. In diesen Sedimentationszylindern ist lediglich eine Eingrenzung der Probe möglich, da der untere Teil dieser Zylinder nicht in Trichterform mündet. So mussten größere Volumina entnommen werden, um die absetzbaren Stoffe der Probe möglichst komplett zu beproben. Ein gewisser Verlust an Flockenmasse durch Anhaftungen im Sedimentationszylinder sind so allerdings nicht zu vermeiden gewesen. Die so eingegrenzten und aufgefangenen Proben wurden im Weiteren im Labor in Absetztrichtern aus Glas weiter eingegrenzt. Auch wenn die Eingrenzung der Proben im Labor zufriedenstellend funktionierte, konnte der Flüssiganteil der Proben nur bis zu einem gewissen Grad reduziert werden, damit es auch bei diesem Schritt nicht zu erneuten Flockenverlusten kam. Die gewonnenen Proben hatten folglich einen relativ niedrigen Trockensubstanz-Anteil zwischen 3,58 % und 4,32 %. Um dabei die für die geplante Analytik benötigten Stoffmengen von 6-10 g Trockensubstanz zu erreichen, war das Poolen von Proben erforderlich. Eine Probe wurde so schließlich aus insgesamt 90 Litern Anlagenwasser aus einem GOB gewonnen.

Die Nährwertanalysen der Bioflocken wurden durch das Institut für Tierernährung der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover durchgeführt. Um Vergleiche zu den eingesetzten Futtermitteln zu ziehen, wurden zunächst die Parameter, die verpflichtend auf Futtermitteln anzugeben sind, ermittelt. Zu diesen Pflichtangaben auf Futtermitteln zählen Trockensubstanz, Rohasche, Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Calcium, Phosphor und Natrium. Darüber hinaus wurden stickstofffreie Extraktstoffe, sowie Kupfer-, Zink-, Mangan- und Selengehalte der Bioflocken bestimmt. Die genauere Analyse der Fettsäuremuster musste leider aufgrund der Probenqualität und -menge verworfen werden.

Die Betrachtung der Nährwerte der Bioflocken im Verlauf einzelner Kulturen erfolgte über einen Zeitraum von 17 Wochen. Zwischen Zeitpunkt t1 und t2 lagen 12 Wochen und zwischen Zeitpunkt t2 und t3 5 Wochen. Zu beachten ist hier, dass aufgrund der Schwierigkeiten Besatztiere zu beziehen ein Zeitraum betrachtet wurde, vor und währenddessen die Anlage nicht voll besetzt war (2. Jahreshälfte 2020). Der Besatz der beobachteten Haltungseinheiten konnte erst im folgenden Jahr wieder langsam erhöht werden. Während der Beobachtungszeit sind insgesamt relativ gleichbleibende Nährstoffgehalte in den Bioflocs nachzuweisen. Lediglich bei den Rohproteinen ist eine leicht ansteigende Tendenz um ca. 2%, von 16,3% auf 18,4%, zu beobachten (*Tabelle 7-1*).

<sup>30</sup> [http://www.wasser-wissen.de/abwasserlexikon/s/schlammvolumenindex\\_svi.htm](http://www.wasser-wissen.de/abwasserlexikon/s/schlammvolumenindex_svi.htm)

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Tabelle 7-1: Prozentualer Gehalt ausgewählter Nährstoffe an der Trockensubstanz der Bioflocs an 3 Zeitpunkten im Verlauf des Beobachtungszeitraums

	Bioflocs t1	Bioflocs t2	Bioflocs t3
Rohasche (%)	66,0	69,4	61,5
Rohprotein (%)	16,3	17,1	18,4
Rohfett (%)	1,1	1,0	1,2
Rohfaser (%)	1,2	1,2	1,2
Calcium (%)	5,2	5,3	5,6
Phosphor (%)	3,0	3,4	3,2
Natrium (%)	13,4	13,6	13,5

Im Vergleich zu den untersuchten Futtermitteln (Tabelle 7-3) weisen die Bioflocken einen sehr hohen Anteil an Rohasche auf. Lag der Rohasche-Anteil bei den Futtermitteln zwischen 7,7 % und 14,5 %, wurde in den Bioflocken mit 61,5 % bis 69,4 % ein Vielfaches an Rohasche nachgewiesen.

Diese Werte korrespondieren mit den von POLY-K an Biofloc-Proben aus Bioreaktoren bestimmten Werten für den Parameter Glühverlust (Mittelwert 33% s. Abbildung 7-11, aus dem sich der Glührückstand aus der Differenz zu 100% ergibt und dort somit im Mittel bei 67% lag (n=6).

Der Rohfettgehalt der Bioflocken hingegen lag zwischen 1,0-1,2 % und damit deutlich unter den Gehalten der Futtermittel, die einen Rohfettgehalt zwischen 7 % und 15,0 % aufwiesen. Auch der Rohproteingehalt der untersuchten Bioflocken blieb hinter den Gehalten in den Futtermitteln, macht jedoch mit 16,3 % bis 18,4 % der Trockensubstanz der Bioflocken einen nennenswerten Anteil aus.

Der Phosphatgehalt der Bioflocken ist mit Nachweisen zwischen 3 % und 3,4 % gegenüber den Futtermitteln mit 1,0 % bis 2,3 % ebenfalls etwas höher. Auch diese Werte liegen im Rahmen der von POLY-K erhaltenen Konzentrationen in Biofloc-Material (s. Abbildung 7-12).

Bei den zusätzlich analysierten Parametern ist keine klare Entwicklung festzustellen. Die Werte für Kupfer, Zink und Mangan schwanken im niedrigen einstelligen Milligramm Bereich. Dies gilt ebenso für die stickstofffreien Extraktstoffe. Eine Veränderung des Selengehaltes konnte gar nicht beobachtet werden (Tabelle 7-2).

Tabelle 7-2: Konzentrationen ausgewählter Nährstoffe der untersuchten Bioflocs in g/kg der Ursprungssubstanz (uS) im Verlauf des Beobachtungszeitraums

	Bioflocs t1	Bioflocs t2	Bioflocs t3
NfE (stickstofffreie Extraktstoffe) [g/kg uS]	5,63 (154 g/kg TS)	4,80 (111 g/kg TS)	6,36 (177,65 g/kg TS)
Cu (Kupfer) [mg/kg uS]	6,53 (179 mg/kg TS)	7,78 (180 mg/kg TS)	6,52 (182 mg/kg TS)
Zn (Zink) [mg/kg uS]	16,4 (452 mg/kg TS)	18,7 (433 mg/kg TS)	15,6 (436 mg/kg TS)
Mn (Mangan) [mg/kg uS]	4,92 (135 mg/kg TS)	6,09 (141 mg/kg TS)	4,94 (138 mg/kg TS)
Se (Selen) [mg/kg uS]	0,1 (2,75 mg/kg TS)	0,1 (2,75 mg/kg TS)	0,1 (2,75 mg/kg TS)

Tabelle 7-3: prozentualer Gehalt ausgewählter Nährstoffe in Futtermitteln, die in der Anlage Damm Aquakultur eingesetzt wurden (Herstellerangaben; k.A.: keine Angaben)

	Futtermittel 1	Futtermittel 2	Futtermittel 3	Futtermittel 4	Futtermittel 5	Futtermittel 6
Trockensubstanz (%)	92,0	92,0	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Rohasche (%)	14,5	8,0	9,0	9,0	7,7	8,5
Rohprotein (%)	60,0	51,0	52,0	43,0	38,0	36,0
Rohfett (%)	15,0	13,6	10,0	9,0	7,0	7,0
Rohfaser (%)	1,7	3,5	0,7	1,5	2,2	2,2
Calcium (%)	2,2	0,5	k.A.	k.A.	1,5	1,5
Phosphor (%)	2,3	1,0	1,5	1,3	1,2	1,3
Natrium (%)	0,5	1,6	k.A.	k.A.	0,31	0,4

### 7.3 Auswertung AP3, Definierung von Steuerungsmöglichkeiten (Implikationen für die Betriebsführung) (POLY-K)

Das Konzentrationsniveau absetzbarer Stoffe in ml/l und das der abfiltrierbaren Stoffe in mg/l blieb für das untersuchte Biofloc-System im empfohlenen Rahmen von 5 bis 15 ml/l bzw. bis 500 mg TSS/l (Emerenciano et al. 2017).

Nur in stabilen Systemen können Steuerungsmöglichkeiten definiert werden, der Zusammenhang zwischen Maßnahme und Reaktion des Systems muss eindeutig sein und wird durch zu viele und sich ändernde Variablen stark erschwert. Es fehlte im gesamten Beobachtungszeitraum eine längere stabile Phase, in der gezielt einzelne Steuerungsmöglichkeiten in Bezug auf das Biofloc-Aufkommen zu identifizieren gewesen wären. Dies gilt u.a. für den Faktor Tierbesatzdichte: dieser Faktor schwankte stark, erreichte nicht oder sehr selten die Zielgröße, daher ist keine Aussage zu dessen Effekt auf die Biofloc-Steuerung möglich.

Zuckergaben, wie in den PL-Becken erfolgreich eingesetzt, fördern die gewünschte Flockenbildung und tragen so zur Kontrolle der toxischen Stickstoff-Formen bei, wenn dies auch nur über einige Tage effektiv funktioniert, solange, bis die PL-Becken an die Wasseraufbereitung angeschlossen werden können. Jedoch ist Zucker als C-Quelle im Grow-Out, zumindest in den großvolumigen Anlagen, ein zu bedenkender Kosten- und auch ein Risikofaktor (Begünstigung von Fadenbakterien) und wurde in der Anlage Damm daher nicht dauerhaft im Grow-Out eingesetzt.

Über die Regulierung des Wasservolumenstroms zwischen den GOB und der Wasseraufbereitung konnte in der Anfangsphase des Untersuchungszeitraums eine effektive Feststoff-Regulation auf stabilere Werte in den GOB erzielt werden. Dies funktionierte solange, wie die Bioflocs gut absetzbar waren und sich wie geplant in der Wasseraufbereitung ansammelten und nicht in den Hälterungsbecken. Mit den später auftretenden schwerer absetzbaren Bioflocs stieß das System an seine Grenzen und es reicherten sich leichtere Bioflocs an, die nicht mehr von der Sedimentationsstufe erfasst werden konnten.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### **Besondere Beobachtungen**

**Belüftungsart Injektor:** die Bioflocs wurden durch die hohen einwirkenden Kräfte zerschlagen, was zu dem unerwünschten Nebeneffekt einer längeren Verweildauer der Bioflocs im Wasserkörper und damit einem verzögerten Absetzen führte. Sehr lange Absetzzeiten erschweren grundsätzlich das Feststoffmanagement. Andere Belüftungsarten wie die Belüftung mit technischem Sauerstoff und die Standardbelüftung über Diffusoren hatten nicht diesen negativen Effekt und haben sich somit grundsätzlich als tauglich für die Anlage erwiesen. El-Sayed (2021) fasst in einem Review zur BFT zusammen, dass mit ‚diffused air systems‘ eine bessere Biofloc-Bildung und ein besseres Wachstum von *L. vannamei* erzielt wurden als mit Propeller oder vertikalen Pumpen; zudem würden Diffusoren eine stärkere Biofloc-Aggregation verursachen, wohingegen die anderen Belüftungsarten die Bioflocs auseinander brachen.

Erschwerend kam im Projektverlauf ein unerwarteter Einflussfaktor hinzu: das **unterschiedliche Futter**, das sich mal als stabil, aber zeitweise (so in 10/2019) als leicht zerfallendes Produkt erwies, was zu extrem hohem Schlammaufkommen in den Bioreaktoren führte, die manuell von dem Überschuss befreit werden mussten. Auf dem Markt in Deutschland und Europa stellt die mangelnde Verfügbarkeit von Futtersorten, die die Erfordernisse in Aquakulturanlagen zur Garnelenproduktion erfüllen können, für die Betreiber ein Problem dar.

Die Sedimentationszeiten von mehreren Stunden hatten im Laufe des Jahres 2021 nicht mehr ausgereicht, um effektiv auch leichtere Feststoffe entnehmen zu können. Bis dahin wurde die Feststoffentnahme dichte-abhängig über Sedimentationsstufen realisiert. Bei abnehmender Dichte der Bioflocs funktionierte dieses Verfahren nicht mehr ausreichend infolge geringerer Sinkgeschwindigkeit der Feststoffe. Die ab Anfang 2022 durchgeführte Umstellung der Wasseraufbereitung auf die neue Feststoffabscheidung mittels Trommelfilter war effektiver als die Entnahme über gekoppelte Sedimentation und den Bioreaktor. Durch die Umrüstung auf Trommelfilter zur Feststoffentnahme wurde auf eine größenabhängige Entnahme der Bioflocs umgestellt. Hierdurch konnte die mittlere Dichte der Bioflocs im System insgesamt deutlich vergrößert und stabilisiert werden. Auch dank der effektiveren Belüftung können inzwischen wieder höhere Biofloc-Aufkommen gefahren werden (5 bis 8 ml/l), wodurch eine bessere Kontrolle der Nitrit-N-Konzentrationen erreicht wird.

**Charakterisierung der Bioflocs:** der organische Anteil in Bioflocs bestehend aus Detritus, Bakterien, Einzellern, Algen und Kleinstorganismen, hat neben einem ernährungsphysiologischen Wert auch eine Bedeutung als Indikator für die Kapazität des Biofloc-Mikrobioms zur Nitrifizierung. Hochgradig mineralisierte Bioflocs mit entsprechend niedrigem organischen Anteil sind zudem schwerer und sinken schneller ab, sodass sie dem System bei Feststoffentnahme über Sedimentation schneller entzogen werden. Bioflocs zur Analyse auf TOC und Nges-N konnten, wie geschildert, nur aus den Bioreaktoren, in denen sich die Feststoffe sammelten, in ausreichendem Volumen mittels Imhoff-Verfahren gewonnen werden. Hier ist zu erwarten, dass die Bioflocs mit zunehmender Betriebsdauer und bei dem gegebenen seltenen Feststoffabschlag kontinuierlich weiter mineralisiert werden. Tatsächlich wiesen die untersuchten Feststoffproben bereits in 2020 nur noch TOC-Anteile von 13% auf, statt der zuvor maximal 24%. Die zuletzt, Anfang 2022 untersuchte Probe aus einem GOB erreichte mit 16% TOC-Gehalt allerdings auch nur eine relativ niedrige Höhe.

Ein erhöhter mineralischer Anteil an den Bioflocs erklärt die laut Betreiber zuletzt wieder verbesserte Absetzbarkeit, fördert aber nicht die Kapazität des Mikrobioms zur Nitrifizierung.

Der ermittelte sehr niedrige **SVI von Bioflocs** aus einem beprobten GOB und aus den Bioreaktoren ist wahrscheinlich nicht repräsentativ, da diese Messungen nicht häufiger durchgeführt werden konnten. Ein niedriger Schlammvolumen-Index und damit ein schnelleres Absinken der Bioflocs ist vor allem dann positiv, wenn die Wasseraufbereitung mit Sedimentationsstufen betrieben wird. Der Umbau der Wasseraufbereitung auf ein Feststoffmanagement mittels Trommelfilter macht die Anlage unabhängiger von der Absetzbarkeit der Bioflocs. Die hier untersuchte Probe aus einem besetzten Hälterungsbecken wurde am Ende der Beobachtungsperiode genommen, in einem Modul, das noch mit der alten Wasseraufbereitung betrieben wurde.

Ein Problem in der Bewertung dieser Daten ist, dass bei der Probennahme bereits verschieden gut absetzbare Fraktionen auffallen: demzufolge gibt es Fraktionen unterschiedlicher Dichte, die ggfls. durch die Probennahme bereits das Ergebnis der Absetzbarkeit bzw. des SVI beeinflussen können.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

**Schwermetalle:** Binalshikh-Abubkr et al. (2021) haben Bioflocs aus Tilapia- und Garnelenkulturen u.a. auf den Mineralstoffgehalt analysiert und für Bioflocs aus Garnelenkultur Werte gefunden, die unterhalb der hier gemessenen Werte liegen. Insbesondere die Cu-Konzentrationen, die dort <20 mg/kg betragen, hier jedoch >100 mg/kg.

Zink-Konzentrationen lagen in der zitierten Studie um 300 mg/kg, hier über 400 bis ca. 800 mg/kg (s.a. vergleichbare Analysedaten in Kap. 7.2). Phosphorkonzentrationen in der zitierten Untersuchung lagen <0,5% (bzw. ca. 4 mg/g), hier zwischen 2,5% und 4,3%, somit um ein Vielfaches höher. Auch in ersten Proben der Anlage Damm aus 2019 wurden Konzentrationen in dieser Größenordnung gefunden. In dem Artikel wird allerdings nichts über das Betriebsalter der beprobten Anlagen geschrieben, nur, dass es sich um jeweils sechs Indoor-Becken handelte. Es ist möglich, dass es sich um klein dimensionierte Versuchsanlagen mit wenigen Monaten Betriebsdauer handelt.

Zusammenfassend zeigten die Feststoffe eine Anreicherung von Kupfer und Zink gegenüber dem umgebenden Wasserkörper, in dem beide Schwermetalle nur im µg/l Bereich liegen.

#### **Nährwertanalyse der Bioflocs versus Futtermittel**

Die Bioflocken sind als ergänzende Proteinquelle geeignet, ihre Zusammensetzung deckt allerdings nicht das erforderliche Spektrum der benötigten Nährstoffe, Spurenelemente und des Energiebedarfs ab. Als vorteilhaft beschrieben sind dabei Anteile von Bioflocken an der Diät von 4 % und bis zu 50 % (Lee et al. 2017; Elangovan et al. 2018; Khatoon et al. 2016). Die erhobenen Daten der Nährwerte der Bioflocken decken sich weitgehend mit inzwischen veröffentlichten Daten aus der Shrimp-Aquakultur anderer Arbeitsgruppen (z.B. Binalshikh-Abubkr et al. 2021), obwohl der hier beobachtete Untersuchungszeitraum in die Phase mit extrem niedriger Auslastung mangels Besatztierversfügbarkeit fiel.

Die für reine Biofloc-Anlagen (u.a. von Serra et al. 2015) empfohlenen C: N-Verhältnisse im Anlagenwasser wurden hier nicht eingestellt, da 1. die Biofloc-Volumina moderat bleiben sollten und 2. dies einen extrem hohen Einsatz von Kohlenstoff für das gesamte Wasservolumen bedeutet hätte, der nicht wirtschaftlich darstellbar ist. In der Grow-Out Phase förderte der Einsatz von Kohlenstoffquellen, wie beispielsweise Zucker, kurzfristig nach der Gabe zum Beispiel die Entwicklung von Fadenbakterien und wurde folglich nicht dauerhaft eingesetzt. Weitere alternative Kohlenstoffquellen, auch zur Beeinflussung der Flockenbildung, werden in der Anlage von Herrn Damm auch weiter erprobt.

## 8 Arbeitspaket 5: Faktor Tierwohl und dessen Verbesserung in der Indoor-Garnelenproduktion

### 8.1 AP 5.1. Versuche zum Tierwohl

#### 8.1.1 AP 5.1.1: Vorversuche Stressreduktion durch Habitate, Labormaßstab (POLY-K)

##### 8.1.1.1 Versuchsansatz, -aufbau und Datenerhebung

Garnelen sind insbesondere während der Häutungsphase sensibel gegenüber Umwelteinflüssen und Artgenossen, da ungeschützt. Verschiedene Studien zeigen einen positiven Effekt von Strukturen auf die zotechnischen Messgrößen, wie Überlebens- und Wachstumsraten bei Garnelen. Durch den Einsatz von Strukturen in die Haltungsbecken sollten Rückzugsmöglichkeiten für Garnelen geschaffen werden, die möglichen Stress für die Garnelen minimieren und somit zu verbessertem Tierwohl beitragen könnten. Der Effekt der zu entwerfenden Strukturen sollte gemäß Antrag in einem ersten Schritt in einer Versuchsanlage untersucht werden, und in einem zweiten Schritt sollten bei positiven Wirkungen entsprechend ausgelegte Strukturen auch in ausgewählten Grow-Out Becken eingesetzt werden, um die gewünschten Effekte im größeren, ökonomisch relevanten Maßstab zu verifizieren. Aus aktuellem Anlass wurde in 2020 jedoch ein Antrag auf Umwidmung der mit Schritt zwei verbundenen Mittel auf eine neu zu erschließende Fragestellung beantragt und bewilligt: den Schwerpunkt „Bezugsquelle“ (s. Kap. 4, zum Verlauf der Arbeiten).

#### Versuchsaufbau zur Erfassung einer Wirkung von Habitat-Strukturen

Der Tierversuch wurde in sechs relativ großen Versuchsbecken mit je ca. 650 L Volumen durchgeführt. (s. [Abbildung 8-1](#) bis [Abbildung 8-3](#)).

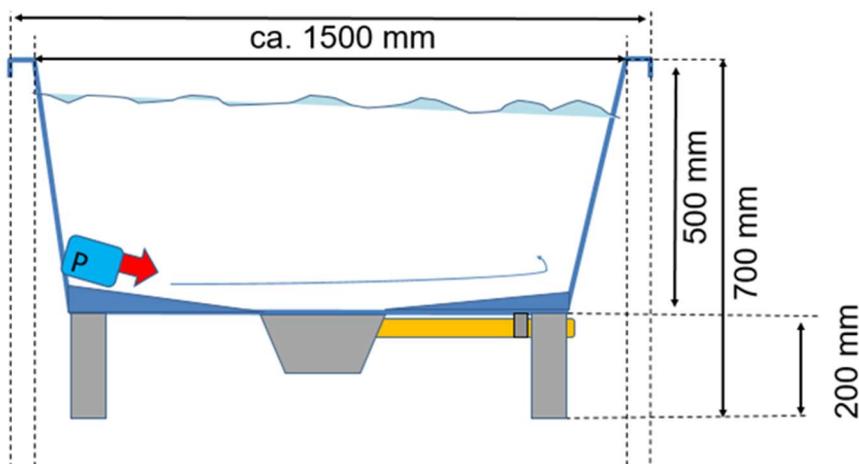


Abbildung 8-1: Versuchsaufbau Habitatversuch: Versuchsbecken im Schnitt, mit Platzierung einer Strömungspumpe zur Verhinderung von Sedimentation von Schwebstoffen

Als Habitatstrukturen dienen selbst gefertigte Röhren aus stabilem, mit Kunststoff ummanteltem Drahtgeflecht, die an einem Stab befestigt in 3 von 6 Versuchsbecken eingesetzt wurden (s. [Abbildung 8-2](#)).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH



Abbildung 8-2: Habitatversuch: Röhrenstrukturen in einem der sechs Versuchsbecken, rechts: im Testbetrieb blieben die Habitate auch bei eingeschalteter Strömungspumpe ruhig

Die Becken 1 bis 6 wurden den Varianten wie folgt zugeordnet:

1. Test-Variante: mit Habitat-Strukturen
2. 0-Kontrolle: ohne Habitat
3. Test-Variante: mit Habitat-Strukturen
4. Test-Variante: mit Habitat-Strukturen
5. 0-Kontrolle: ohne Habitat
6. 0-Kontrolle: ohne Habitat



Abbildung 8-3: Habitatversuch: mit einem Netz abgedecktes Versuchsbecken bei Versuchsstart, rechts: Aufstellung Becken 4, 5, 6

Die Garnelen wurden für den Versuch an Kulturtag 84 in Abstimmung mit dem Betreiber Herrn Damm aus der Batch 13 entnommen und nach dem Wiegen und Vermessen zu je 40 in die Versuchsbecken gesetzt.

### **Datenerhebung im Tierversuch mit adulten Garnelen:**

Zu Versuchsstart und -ende wurden alle relevanten zootechnischen Daten an den Garnelen erhoben (Tieranzahl, Körpergewichte und -maße) sowie Wasserproben an ein externes Labor zur Analyse versandt. Das Routine-Monitoring während der Versuchsdauer umfasste allgemeine Beobachtungen, sowie die zentralen Parameter zur Bestimmung der Wasserqualität, wie im Folgenden aufgeführt:

#### **I. Monitoring der Wasserqualität:**

1. vor Ort (2-5x/Woche): Wassertemperatur, pH-Wert, Sauerstoffkonzentration, absetzbare Stoffe (Imhoff-Trichter) sowie per Schnelltest die Parameter  $\text{NH}_4\text{-N}$  und  $\text{NO}_2\text{-N}$  [mg/l]
2. externes Labor (Versuchsstart und -Ende):  $\text{NO}_3\text{-N}$ , DOC (gelöster org. C),  $\text{PO}_4\text{-P}$  und Feststoffe [mg/l]

#### **II. Monitoring der zootechn. Parameter (Versuchsstart und -ende):**

1. Anzahl Garnelen an Start und Ende
2. Verletzungen/ Allgemeinzustand
3. Antennenlänge [cm], jeweils rechte und linke Antenne
4. Körperlänge [cm]
5. Körpergewicht [g]
6. Aus diesen Daten zu berechnen:
  - a. Wachstums- und Überlebensrate (im Gesamtzeitraum und pro Tag)
  - b. Körpermasse-Index bzw. Korpulenzfaktor<sup>31</sup>
  - c. Verhältnis Körperlänge zu Antennenlänge
  - d. Besatzdichte (Anzahl pro  $\text{m}^2$ ) und Biomasse-Dichte [ $\text{kg}/\text{m}^2$ ]
  - e. Biomassezunahme [kg]

Maßnahmen während der Versuchsdauer:

1. tägliche Neubefüllung der Futterautomaten
2. wöchentlicher Verdunstungsausgleich (ca. 15L/ Becken)
3. wöchentliche Entnahme von absetzbaren Feststoffen in Sedimentationsröhren, mit Rückführung des Wassers

### **Besonderheiten und Beobachtungen während der Durchführung**

Trotz der über den Becken angebrachten Netze gab es vereinzelt Verluste durch Springer. Diese wurden nur in den ersten drei Tagen ersetzt, durch gleich große Tiere aus derselben Kultur. Bei der Berechnung der Überlebensrate der Versuchstiere in den einzelnen Becken wurden die nicht ersetzten späteren Verluste durch Springer von der Besatzzahl abgezogen.

---

<sup>31</sup> Formel:  $100 \times \text{Körpergewicht} / \text{Körperlänge}^3$  (Körpergewicht [g], Körperlänge [cm])

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### 8.1.1.2 Habitatversuch: Ergebnisse

#### Wasserqualität

Physikalisch-chemische Parameter (Messungen vor Ort)

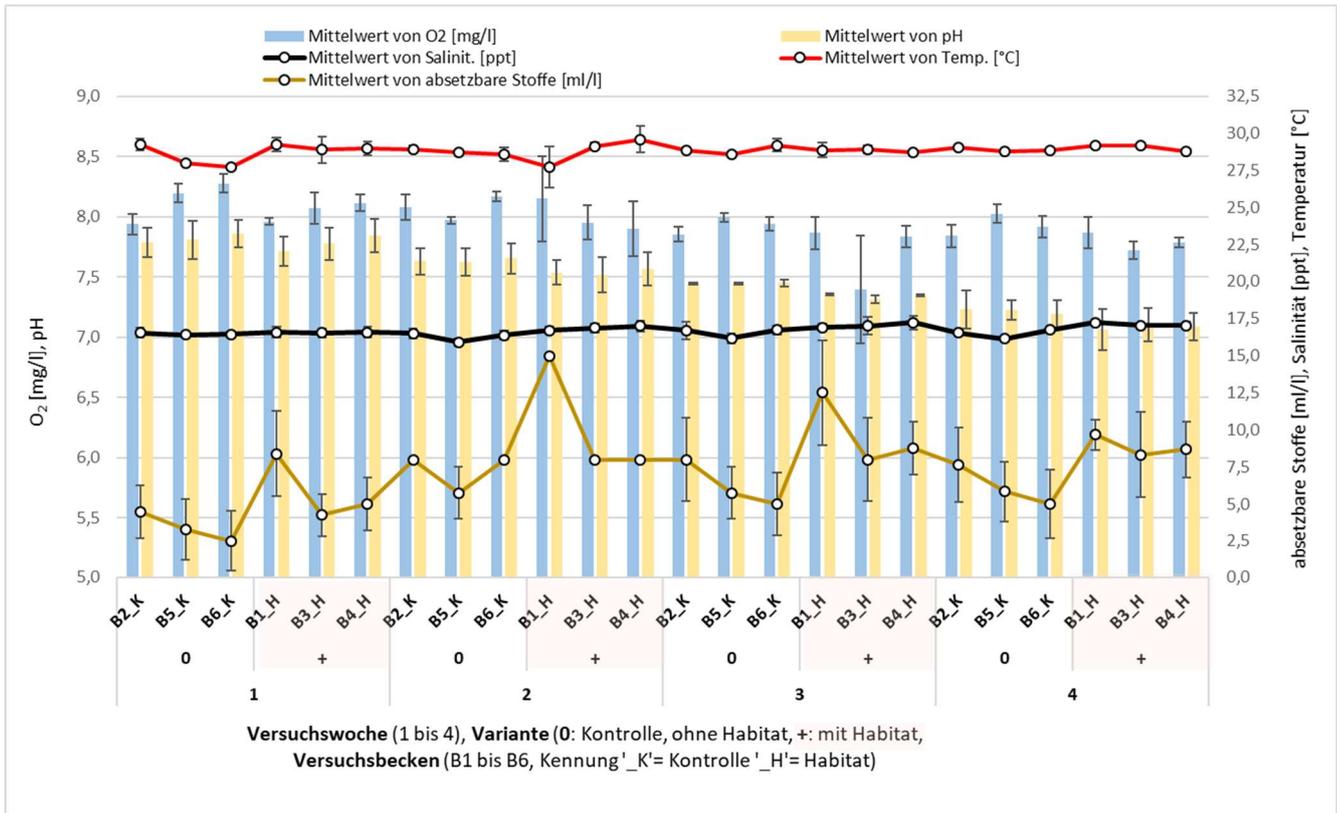


Abbildung 8-4: Habitatversuch : Verlauf der Parameter Sauerstoff (O<sub>2</sub> [mg/l]), pH-Wert, Salinität [ppt] sowie Wassertemperatur (Temp. [°C]) in der 4-wöchigen Versuchsphase, pro Woche und Versuchsbecken (n= 3 bis 5)

Die Sauerstoffkonzentrationen lagen im Versuchsverlauf durchgehend deutlich über 7 mg/l und überstiegen in der ersten und z.T. in der 2. Versuchswoche sogar 8 mg/l. Die Übersättigung blieb jedoch unter 110%.

Die Wassertemperatur schwankte anfangs, stabilisierte sich ab Woche 2 zunehmend und lag im Mittel bei 28,7°C.

Der pH-Wert zeigte eine deutlich abnehmende Tendenz im Versuchsverlauf, von 7,8 bis 7,95 sank der pH in Woche 4 auf Werte von 7,1 bis 7,2 ab.

Das Volumen absetzbarer Stoffe war in den Versuchsbecken unterschiedlich hoch, obwohl das Wasser für alle Becken an einem Tag per Pumpe aus einem Großbecken entnommen wurde. Becken 1 sticht heraus, wie an der [Abbildung 8-5](#) zu sehen ist. Feststoffe wurden zweimal im Versuchszeitraum aus einem Teilvolumen der Becken entnommen, indem ein 30L-Sedimentationsrohr befüllt und nach einer Absetzphase von mehreren Stunden die abgesetzten Stoffe entnommen wurden. Insgesamt wurden auf diese Weise 3500 ml absolutes Volumen der absetzbaren Stoffe entnommen, davon allein 1000 ml aus Becken 1.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

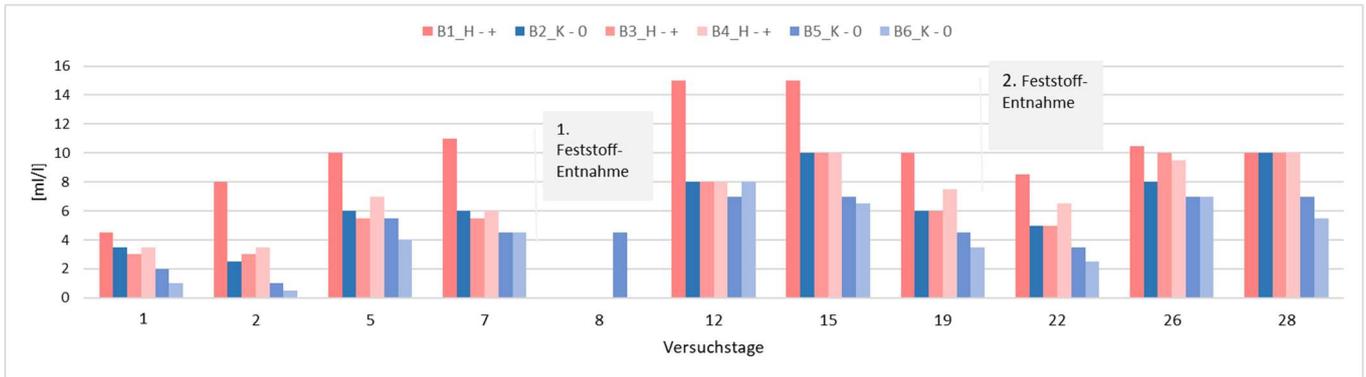


Abbildung 8-5: Habitatversuch: Verlauf der Anteile abetzbarer Stoffe [mg/l] pro Versuchsbecken in der 4-wöchigen Versuchsphase

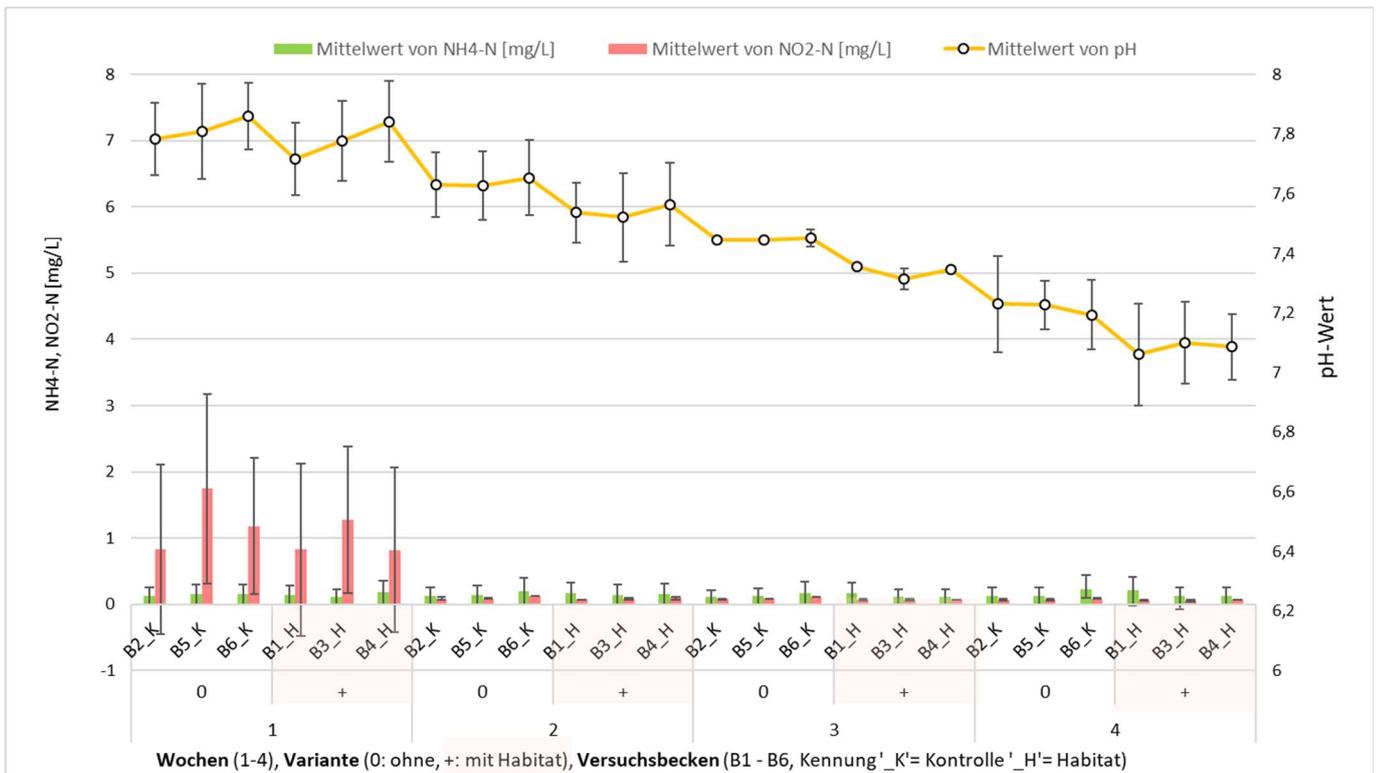


Abbildung 8-6: Habitatversuch: Verlauf der Parameter Ammonium-N ( $NH_4-N$  [mg/l]), Nitrit-N ( $NO_2-N$  [mg/l]) und pH-Wert, Mittelwerte pro Woche in der 4-wöchigen Versuchsphase, pro Versuchsbecken ( $n=3$  bzw. 5 für pH, sonst  $n=3$  in Wo 1 und 4 bzw.  $n=2$ )

Tabelle 8-1: Statistisch untersuchte Parameter: Wasserqualität (Mittelwerte, n=3 pro Versuchsbecken, N-Formen per Schnelltest)

Versuchsbecken	Variante	Versuchstag	NH <sub>4</sub> -N [mg/L]	NO <sub>2</sub> -N [mg/L]	absetzbare Stoffe [ml/l]
B1_H	+	28	0,20	0,06	9,67
B2_K	0	28	0,13	0,07	7,67
B3_H	+	28	0,13	0,05	8,33
B4_H	+	28	0,12	0,06	8,67
B5_K	0	28	0,13	0,07	5,83
B6_K	0	28	0,22	0,08	5,00
<b>1-Way Anova</b>					
			<b>F</b>	4,69	<b>9,5</b>
			<b>p-Wert</b>	0,096	<b>0,037</b>

Für die mittleren Konzentrationen an Ammonium-Stickstoff, Nitrit-Stickstoff sowie für die absetzbaren Stoffe wurde eine 1-way Anova-Analyse durchgeführt. Normalität und Varianz-Homogenität waren gegeben und es gab keine Ausreißer.

Der einzige signifikante Effekt, mit einem p-Wert von < 0,05, wurde gefunden für den Parameter:

- Mittlere Konzentration der absetzbaren Stoffe: F = 9,5, p = 0,037

Absetzbare Stoffe waren in der Variante mit Habitat erhöht und erreichten bei Versuchsende beinahe 10 ml/l – ein hoher Wert für das Biofloc-Volumen, der den in dieser Anlage gesetzten Richtwert etwas übersteigt (s. Kap. 7.1).

Für die mittleren NO<sub>2</sub>-N-Konzentrationen ergab sich nur ein schwacher statistisch erfassbarer Effekt, mit einem p-Wert ≥ 0,05:

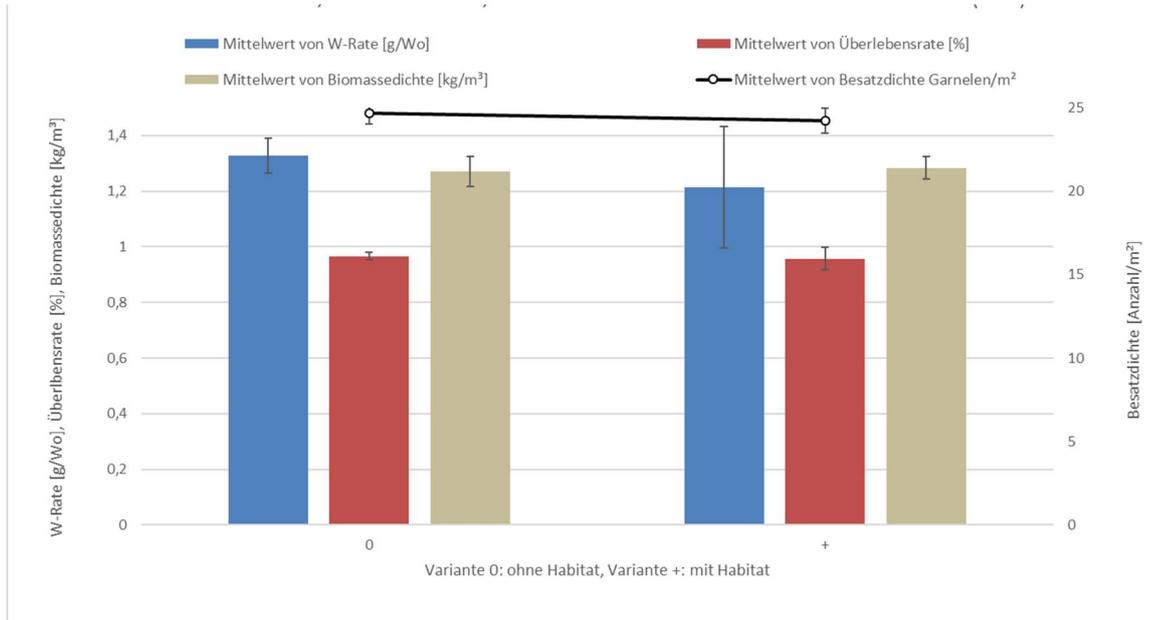
F = 4,69, p = 0,096.

In den Versuchsbecken mit Habitat wurden etwas niedrigere Nitrit-N-Konzentrationen gemessen gegenüber Becken ohne die zusätzlichen Strukturen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### Zootechnische Daten

Überlebens- und Wachstumsraten lagen in allen Versuchsbecken in einem akzeptablen Bereich, sodass die Versuchsergebnisse als valide betrachtet werden können (s. *Abbildung 8-7* und *Tabelle 8-2*).



*Abbildung 8-7: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0: ohne Habitat-Einsatz): Wachstumsrate, Überlebensrate, Biomasse- und Besatzdichten bei Versuchsende (n=3)*

*Tabelle 8-2: Garnelenversuch zum Habitat-Einfluss (+ : mit Habitat, -: ohne Habitat-Einsatz): Übersicht der Mittelwerte aller erhobenen und berechneten zootechnischen Daten (helle Zeilen: n=120 bei Start, n=112 bis 116 bei Ende und für Messgrößen in grau unterlegten Zeilen: n=3 aus Mittelwerten pro Variante mit je 3 Versuchsbecken)*

Messgrößen	Versuchsstart (Tag 1)		Versuchsende (Tag 28)	
	0	+	0	+
Mittel wert von Körpergewicht [g]	18,81	19,02	24,12	23,86
Mittel wert von Körperlänge [cm]	14,01	14,02	15,36	15,30
Mittel wert von Antennenlänge li [cm]	4,39	4,47	5,64	2,41
Mittel wert von Antennenlänge re [cm]	4,22	4,36	5,99	2,13
Mittel wert von mittl. Ant.Länge li+re [cm]	4,31	4,42	5,71	2,27
Mittel wert von Verhältnis AL (li,re)/ KL	0,31	0,32	0,37	0,15
Mittel wert von Korpulenzfaktor (100xKG/KL <sup>3</sup> )	0,68	0,69	0,66	0,66
Mittel wert von mittl. Längenwachstum [cm]			1,36	1,28
Mittel wert von W-Rate [g/Wo]			1,33	1,21
Mittel wert von spez. Wachstumsrate/Tag [%]			0,89%	0,81%
Mittel wert von Überlebensrate [%]			96,6%	95,8%
Mittel wert von spez. Überlebensrate/ Tag [%]			99,85%	99,85%
Mittel wert von Zuwachs Biomasse [kg]			0,19	0,19
Mittel wert von Biomassedichte [kg/m³]	1,01	1,02	1,27	1,28
Mittel wert von Besatzdichte Garnelen/m²	26	26	25	24

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

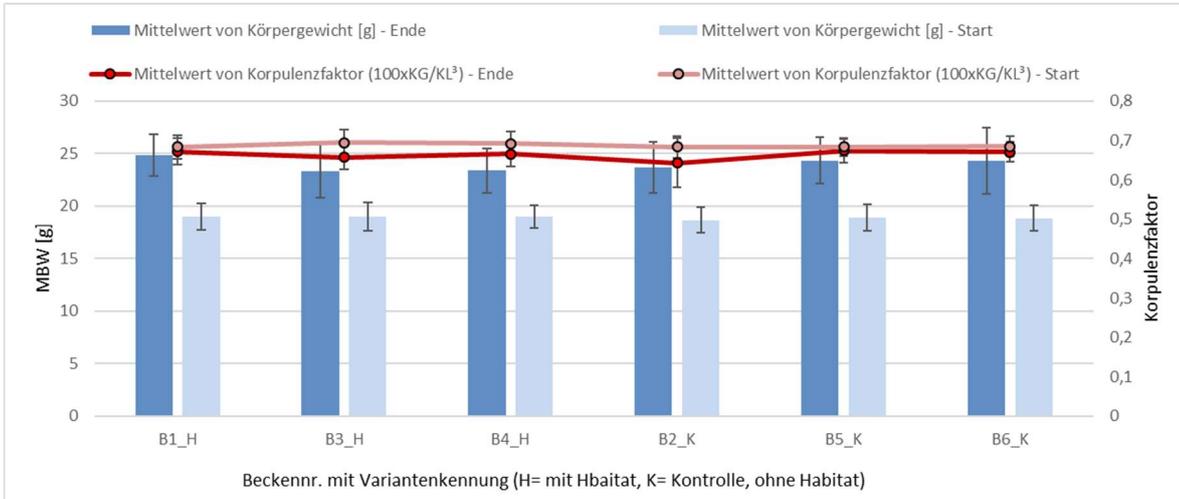


Abbildung 8-8: Habitatversuch: mittleres Körpergewicht und mittlerer Korpulenzfaktor in den einzelnen Versuchsbecken bei Versuchsstart und –Ende

Als ein Indikator für das Tierwohl diene die Antennenlänge. Dafür wurden rechte und linke Antennen an jedem Versuchstier bei Versuchsstart und –ende in der Länge vermessen und daraus die mittleren Antennenlängen pro Versuchstier und Becken bzw. Variante berechnet (.

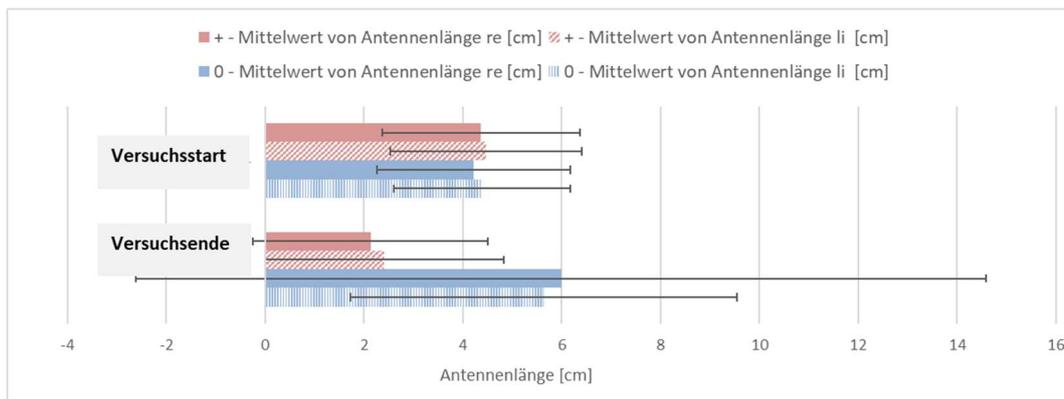


Abbildung 8-9: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0: ohne Habitat-Einsatz): mittlere Antennenlängen links und rechts [cm] bei Versuchsstart und -ende (Start: n=120 und Ende: n=114 bzw. 112)

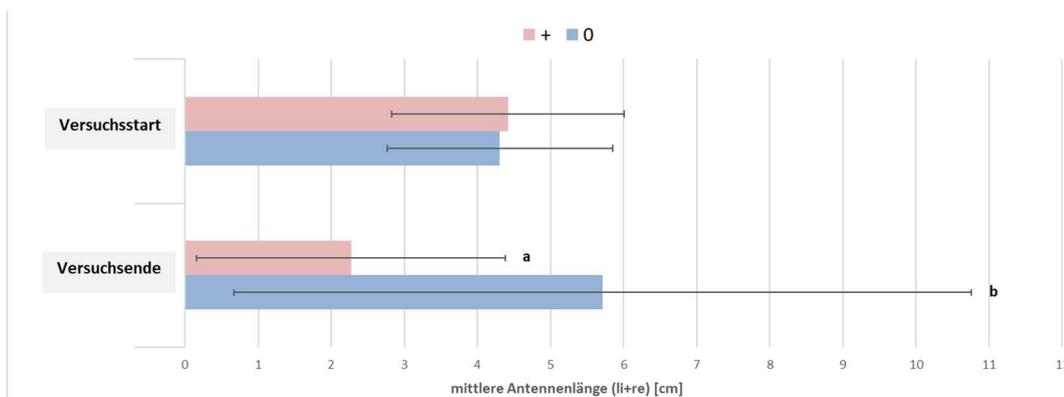


Abbildung 8-10: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0: ohne Habitat-Einsatz): mittlere Antennenlängen (beide) [cm] bei Versuchsstart und -ende (Start: n=120 und Ende: n=114 bzw. 112 für Variante ,+')

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Für das Tierwohl relevante Parameter sind auch der Korpulenzfaktor sowie das *Verhältnis* der Antennenlänge zur Körperlänge der Garnelen, das nahe 1 bzw. möglichst >1 erreichen sollte als Zeichen vitaler und wenig gestresster Garnelen. Die Werte für den Korpulenzfaktor lagen für alle Garnelen eng beieinander, zwischen 0,65 und 0,67 (s. [Tabelle 8-3](#) und folgende Abbildung).

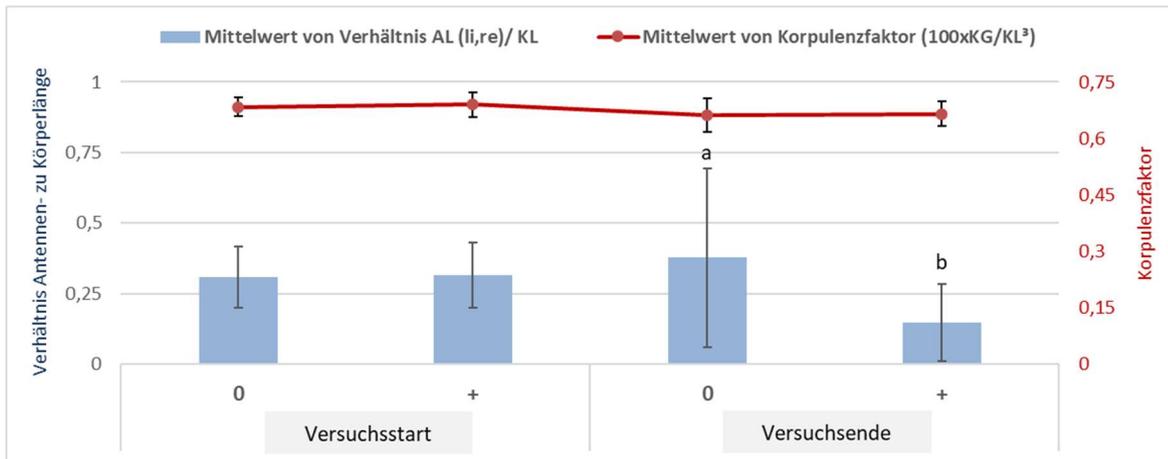


Abbildung 8-11: Habitatversuch (+ : mit Habitat, 0-: ohne Habitat-Einsatz): Mittelwerte für das Verhältnis der Antennen- zur Körperlänge der Garnelen sowie für den Korpulenzfaktor (Start: n=120 und Ende: n=114 bzw. 112 für Variante ,+')

Die mittleren Antennenlängen zeigen bei Versuchsende dagegen Unterschiede zwischen den Varianten, trotz einer deutlich erhöhten Standardabweichung für die Variante mit Habitat (+): Garnelen aus Becken mit Habitaten weisen im Mittel kürzere Antennen auf als die Garnelen aus der Kontrollgruppe (s. [Abbildung 8-10](#)). Die repräsentativen Mittelwerte der Antennenlängen der pro Versuchsbecken vermessenen Garnelen wurden statistisch untersucht und auch die Mittelwerte für das damit zusammenhängende Verhältnis von Antennen- zu Körperlänge. Die Bedingungen für Anova waren hier nicht gegeben, alternativ dafür wurde pro Parameter ein Kruskal-Wallis Test gemacht.

Danach gibt es signifikante Unterschiede mit  $p < 0,05$  für:

- Mittlere Antennenlänge: Statistik = 3,86,  $p = 0,0495$  – trotz hoher Standardabweichung in einer Variante
- Verhältnis der mittleren Antennenlänge zur mittleren Körperlänge: Statistik = 3,86,  $p = 0,0495$

Tabelle 8-3: Habitatversuch: Fortsetzung: Habitatversuch: Übersicht der Mittelwerte zootechnischer Daten pro Versuchsbecken nach 4 Wo bei Versuchsende (Mittelwerte n= 36 bis 39)

Versuchsbecken	Variante	Versuchstag	Körpergewicht [g]	Körperlänge [cm]	Korpulenzfaktor (100xKG/KL³)	mittl. Ant.-Länge li+re [cm]	Verhältnis AL (li,re)/ KL
B1_H	+	28	24,87	15,46	0,67	2,64	0,17
B2_K	0	28	23,57	15,413	0,65	6,32	0,41
B3_H	+	28	23,36	15,246	0,66	1,698	0,11
B4_H	+	28	23,39	15,195	0,67	2,5	0,16
B5_K	0	28	24,35	15,34	0,67	5,79	0,38
B6_K	0	28	24,32	15,34	0,67	5,35	0,35
<b>Kruskal-Wallis Test</b>							
						3,86	3,86
						0,0495	0,0495
				<b>Δ ohne Signifikanz</b>			

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Statistische Untersuchungen weiterer Parameter ergaben keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Angebot bzw. Fehlen von Habitatstrukturen (s. [Tabelle 8-4](#)).

*Tabelle 8-4: Habitatversuch: Übersicht der Mittelwerte zootechnischer Daten pro Versuchsbecken nach 4 Wo bei Versuchsende (Mittelwerte n= 36 bis 39)*

Versuchs- becken	Variante	Versuchstag	Längen- wachstum [cm]	Wachstums- Rate [g/Wo]	spezif. Wachstumsrate/ Tag [%]	Zunahme Biomasse [g]	FCR	Überlebensrate Garnelen [%]	Überlebensrate / Tag [%]
B1_H	+	28	1,40	1,47	0,96%	135,25	3,86	92,3%	99,6%
B2_K	0	28	1,44	1,23	0,83%	125,29	4,28	97,4%	99,9%
B3_H	+	28	1,25	1,09	0,74%	126,60	4,19	100,0%	100,0%
B4_H	+	28	1,18	1,09	0,74%	127,77	4,19	95,0%	99,8%
B5_K	0	28	1,30	1,36	0,90%	169,30	3,13	95,0%	99,8%
B6_K	0	28	1,32	1,37	0,91%	194,48	2,76	97,5%	99,9%
1-Way Anova									
F			Δ ohne Signifikanz						
p-Wert									

**Fazit:** Der Einbau von Strukturen (Variante „+“) war in dem vierwöchigen Versuch an adulten Garnelen verbunden mit signifikant kürzeren Antennen und einem niedrigeren Verhältnis der Antennen- zur Körperlänge und zeigte somit einen als negativ zu bewertenden Effekt auf die Garnelen.

Die Wasserqualität wurde in Bezug auf die Nitritkonzentration tendenziell durch Einbau der zusätzlichen Strukturen gefördert, allerdings konnte ein signifikant erhöhter Anteil absetzbarer Stoffe in den Becken mit Habitaten beobachtet werden, was einen Risikofaktor für eine ausreichende Sauerstoffversorgung darstellt.

**8.1.2 AP 5.1.2: begleitende Bestimmung der Mikrobiözönose (Schwebstoffe, Garnele, Becken) sowie der HSP im Habitatversuch Labormaßstab (TiHo)**

**8.1.2.1 Habitatversuch: Untersuchungen der Mikrobiözönose**

Die angewandten Untersuchungsmethoden zur Erfassung der Mikrobiözönose wurden bereits an anderer Stelle beschrieben (s. Kap. 5.1.1.1)

Beprobung im Garnelenversuch zum Einsatz von Strukturen in Becken als Rückzugsmöglichkeiten für Garnelen:

Zu Versuchsstart und am Versuchsende wurden jeweils 10 Garnelen zur Untersuchung der Stressparameter sowie mikrobiologische Proben jeweils von der Beckenwand, aus dem Wasser in den Versuchsbecken und von den Garnelen genommen. Zu Versuchsstart wurde die Nullprobe aus dem Haltungsbecken entnommen, aus dem auch der Besatz stammte (hier: aus GOB M1B1).



Abbildung 8-12: Mikrobiologische Probenahme an Garnelen aus dem Habitatversuch

**Ergebnisse**

Table 8-5: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm **auf dem Carapax von Garnelen** aus je drei Becken mit und ohne Habitatstrukturen (Varianten: Habitat 1...3 und Kontrolle ohne Habitat 1...3)

Probe: Biofilm Garnelen	Anzahl Arten	Shannon -Index	Simpson -Index	Chao1	ACE	Goods Coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
Habitat 1	701	6,504	0,946	952.579	955.929	0,978	552.481
Kontrolle 1	710	6,705	0,965	961.176	984.219	0,978	348.387
Habitat 2	716	7,097	0,980	978.193	1.001.148	0,978	376.006
Habitat 3	710	7,200	0,982	986.500	979.921	0,978	209.814
Kontrolle 2	718	6,885	0,975	994.124	1.039.808	0,976	397.880
Kontrolle 3	696	7,092	0,978	929.629	928.173	0,980	337.639

Tabelle 8-6: Alpha-Diversität der bakteriellen Gemeinschaft im **Biofilm von Becken** mit und ohne Habitatstrukturen

Probe: Biofilm aus Becken	Anzahl Arten	Shannon-Index	Simpson-Index	Chao1	ACE	Goods Coverage	Phylogenetische Distanz Gesamter Stammbaum
Habitat 1	1469	8,388	0,989	2.087.071	2.125.172	0,947	169.018
Kontrolle 1	824	6,252	0,898	1.276.407	1.333.099	0,968	115.886
Habitat 2	842	7,310	0,981	1.187.421	1.225.374	0,971	178.451
Habitat 3	857	7,152	0,978	1.409.165	1.443.008	0,966	162.226
Kontrolle 2	752	6,073	0,886	1.031.021	1.096.556	0,974	151.166
Kontrolle 3	586	7,006	0,986	894.812	976.256	0,978	106.964

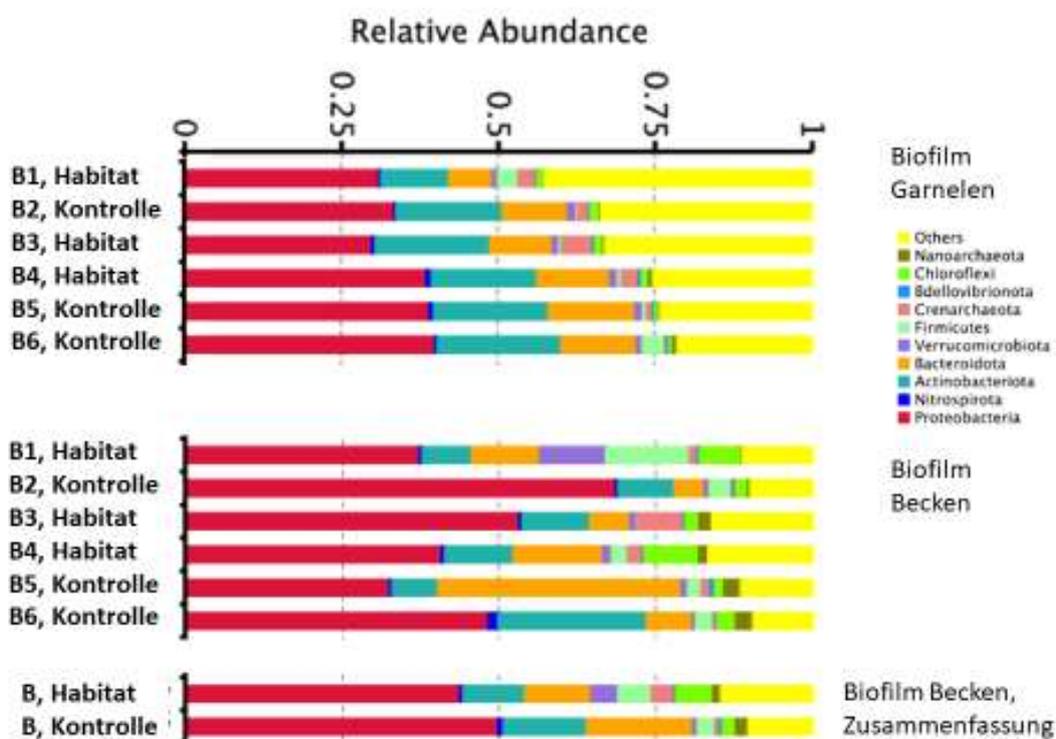


Abbildung 8-13 Relative Abundanz von Bakterien aus unterschiedlichen Bakterien-Phyla in der mikrobiellen Gemeinschaft im Biofilm an Beckenwänden und vom Carapax von Garnelen aus je drei Becken mit Habitatstrukturen als Rückzugsmöglichkeit für die Garnele (Habitat) und ohne solche Strukturen (Kontrolle), mit Darstellung der Mittelwerte pro Variante (untere zwei Balken, n=3)

Die bakterielle Gemeinschaft **auf dem Carapax von Garnelen** aus Becken mit und ohne Habitatstrukturen wurde von etwa 700 Bakterientaxa gebildet (Tabelle 8-5). Die Diversität der Gemeinschaft unterschied sich nicht zwischen Garnelen aus Becken mit oder ohne Habitaten und in der taxonomischen Zusammensetzung der Mikroflora ließ sich ebenfalls kein Einfluss der Habitats erkennen. Im Vergleich zur Gemeinschaft, die zu Beginn des Habitatversuches auf den Garnelen mit ca. 200 Taxa vorhanden war, hatte sich die Anzahl am Versuchsende um ca. 500 Taxa signifikant erhöht. Auch andere Indikatoren zeigten eine erhöhte Diversität nach der Kultur in den Versuchsbecken an. Der Shannon Wiener Index stieg von ca. 4,2 auf Werte von 6,5 bis 7,2.

In einigen Becken war die phylogenetische Distanz deutlich von zu Beginn 202 auf Werte von 340 bis 505 gestiegen. Die Gemeinschaft wurde überwiegend durch Bakterien aus den Proteobacteria, Actinobacteriota und Bacteroidota gebildet (*Abbildung 8-13*). Die Mehrzahl der Taxa kam in geringer Abundanz von weniger als 1 % in der mikrobiellen Gemeinschaft vor. Nur bei einigen Garnelen aus unterschiedlichen Versuchsbecken waren Bakterientaxa in einer Abundanz von 20% oder mehr zu finden. Hierbei handelte es sich überwiegend um Taxa, die aus marinen Habitaten beschrieben wurden, wie **Pseudoalteromonas** (Stamm Proteobacteria). Darüber hinaus stellen bei Garnelen aus allen Becken nicht näher bestimmte Taxa einen signifikanten Anteil der Mikroflora. Bakterien der Gattung *Tenacibaculum* (Stamm Bacteroidota), die als Pathogene von marinen Fischen bekannt sind, wurden bei Garnelen aus allen Becken in unterschiedlicher Abundanz gefunden. Bei der Mehrzahl der Garnelen stellten sie weniger als 1 % der Mikroflora, bei einigen Garnelen sowohl aus den Becken mit Habitaten als auch aus Kontrollbecken waren sie in einer Abundanz von 5 % und mehr vorhanden. Interessanterweise waren Fadenbakterien (*Thiothrix*), die in der bakteriellen Gemeinschaft auf dem Carapax der Garnelen in den Grow-out Becken regelmäßig in größerer Abundanz vorhanden waren, nur in einer Abundanz von ca. 0,1 % in der Mikroflora vertreten.

Der **Biofilm in den Becken** wurden von einer bakteriellen Gemeinschaft von 586 bis 1469 Bakterientaxa gebildet (*Tabelle 8-6*). Die Anzahl Taxa variierte unabhängig von den Habitaten sehr stark zwischen den einzelnen Becken, so dass hinsichtlich der Diversität kein Einfluss der Habitate festgestellt werden konnte. Auch die Diversität-Indices der bakteriellen Gemeinschaft im Biofilm in den Becken variierte zwischen einzelnen Becken, war jedoch zwischen Becken mit und ohne Habitaten nicht signifikant verschieden. In der Gemeinschaft wurden überwiegend Bakterien aus dem Stamm Proteobacteria gefunden, darüber hinaus waren auch hier Bakterien aus den Stämmen Actinobacteriota und Bacteroidota sehr häufig vertreten (*Abbildung 8-13*). Nitrifizierende Bakterien aus dem Stamm Nitrobiota oder aus den Archaea, die im Biofilm der Grow-out Becken zu den Core Taxa zählten, waren in nur sehr geringer Abundanz vorhanden. Sie stellten in allen Becken etwa 0,1 % der Mikroflora. Einen größeren Anteil an der bakteriellen Mikroflora stellen nitrifizierende Archaea mit etwa 1-7 % der Gemeinschaft in Becken mit Habitaten und ca. 0,4 bis 1 % in Kontrollbecken.

Somit ist zu vermuten, dass durch die Habitate die Entwicklung der nitrifizierenden Gemeinschaft begünstigt wird. Mögliche pathogene Bakterien, wie Vibrionen, aber auch Mycobakterien (nicht tuberkulöse Mykobakterien) waren in den Gemeinschaften vorhanden, stellten aber weniger als 1 % der bakteriellen Gemeinschaft.

#### 8.1.2.2 *Habitatversuch: Untersuchungen zu Stress-Indikatoren (HSP: Hitzeschock-Proteine)*

Die eingesetzten Untersuchungsmethoden sind im folgenden Kapitel zum Schwerpunkt Tierwohl beschrieben (s. Kap. 8.1.4.1)

Auch für diese Untersuchungen wurde eine Nullprobe aus dem Haltungsbecken bzw. von Garnelen aus dem Becken entnommen, aus denen die Versuchstiere für den Habitatversuch stammten, um diese Ergebnisse als Referenzwerte heranzuziehen.

#### **Ergebnisse**

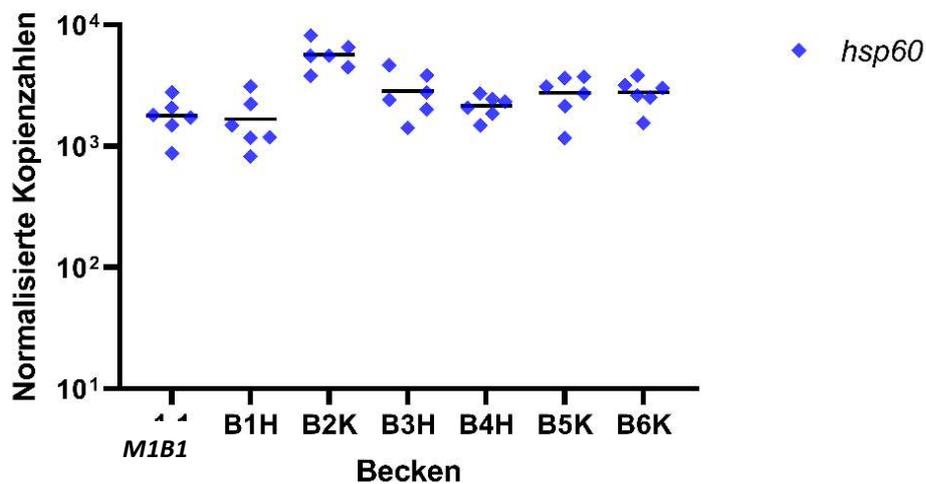
##### Expression stressrelevanter Gene im Hepatopankreas und Augentstiel

Im Hepatopankreas von Garnelen aus dem Grow-Out Becken M1B1, mit denen die Versuchsbecken besetzt wurden, lagen im Mittel 1.793 Transkripte von HSP60 vor. Nach 4 Wochen Haltung der Garnelen in den Versuchsbecken wurden im Mittel zwischen 1.670 und 5.700 HSP60-Transkripte bestimmt. Die Expression dieser Gene war bei Garnelen in Becken 2 (Kontrolle ohne Habitate) im Vergleich zu Garnelen aus den anderen Becken signifikant erhöht ( $p < 0,001$ ). Bei Garnelen aus den anderen Becken unterschied sich die Transkription von HSP60 nicht von der Transkriptionsrate zu Beginn des Versuchs ( $p=0,56$ ) und nicht zwischen den verschiedenen Becken ( $p=0,49-0,95$ ).

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Auch die Transkription von HSP70 war bei Garnelen aus Becken 2 (Kontrolle ohne Habitate) im Vergleich zur Expression dieses Gens zum Versuchsstart in Garnelen, aus denen der Besatz entnommen wurde, signifikant ( $p < 0,05$ ) erhöht, nicht jedoch im Vergleich zu den Garnelen aus den anderen Versuchsbecken. Bei Garnelen aus allen weiteren Versuchsbecken war die Transkription von HSP70 untereinander und im Vergleich zur Expression bei Besatz nicht verschieden (Abbildung 8-14).

### LiVa Hepatopankreas Habitatversuch *hsp60*-Genexpression



### LiVa Hepatopankreas Habitatversuch *hsp70*-Genexpression

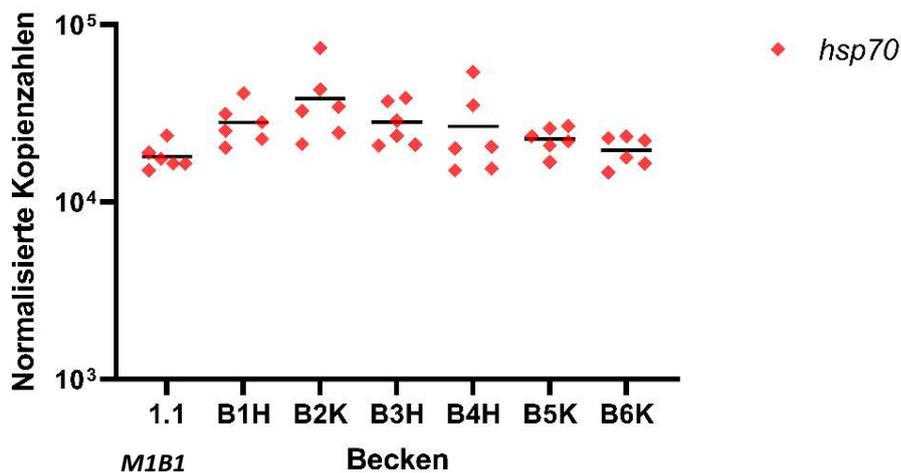


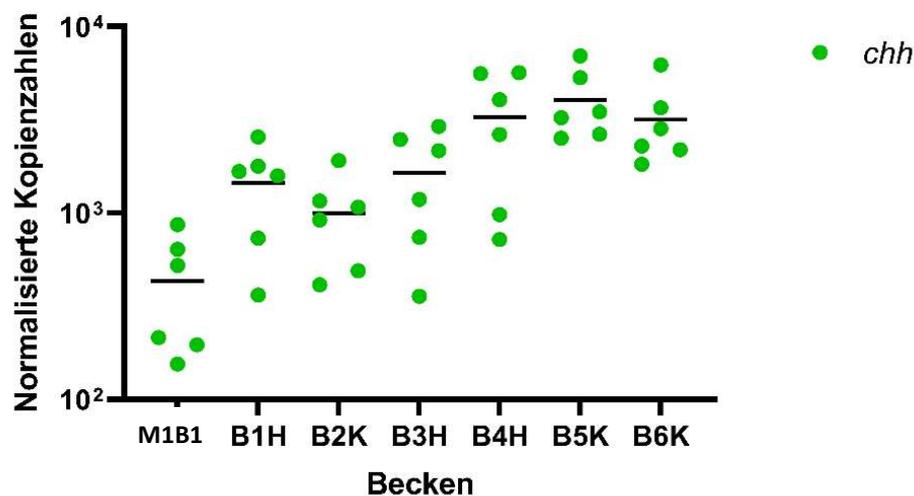
Abbildung 8-14: Expression von HSP60 (oben) und HSP70 (unten) im Hepatopankreas von Garnelen in Becken mit Habitaten (H) als Rückzugsmöglichkeit und ohne Habitate (K= Kontrolle), Daten aus M1B1 als Referenzwerte der Population im Grow-Out Becken

Die Versuchsbecken B1H, B3H und B4H waren mit Habitaten ausgestattet, die Becken B2K, B5K und B6K dienten als Kontrollen ohne Habitate. Dargestellt ist die Anzahl Gentranskripte pro 250 ng DNA normalisiert gegen  $1 \times 10^5$  Kopien des Elongationsfaktors (EF)1a codierenden Gens von  $n=6$  Garnelen bei Besatz (M1B1) sowie nach 4 Wochen Haltung als Einzelmessungen. Die horizontale Linie zeigt den Median der Messwerte an.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Die Expression des Gens für das Crustacean hypoglycaemic hormone war bei Garnelen aus den verschiedenen Versuchsbecken unterschiedlich ( $p < 0,001$ ). Zum einen war die Expression dieses Gens bei Garnelen aus dem Kontrollbecken B5K und B6K sowie aus den Becken B4H (mit Habitaten) im Vergleich zum Besatz signifikant erhöht. Allerdings war in Garnelen aus allen Becken die Transkriptionsrate dieses Gens individuell sehr unterschiedlich, so dass nach 4 Wochen Haltung in Becken mit Habitatstrukturen oder ohne solche Strukturen keine signifikanten Unterschiede beobachtet wurden (*Abbildung 8-15*).

### **LiVa Augenstiele Habitatversuch *chh*-Genexpression**



*Abbildung 8-15: Expression des Crustacean hypoglycaemic hormone codierenden Gens (*chh*) im Augenstiel von Garnelen in Becken mit Habitaten (H) als Rückzugsmöglichkeit und ohne Habitats (K= Kontrolle), Daten aus M1B1 als Referenzwerte der Population im Grow-Out Becken*

Dargestellt ist die Anzahl Gentranskripte pro 250 ng DNA normalisiert gegen  $1 \times 10^5$  Kopien des Elongationsfaktors (EF)1a codierenden Gens von  $n=6$  Garnelen bei Besatz (1.1) sowie nach 4 Wochen Haltung als Einzelmessungen. Die horizontale Linie zeigt den Median der Messwerte an.

**Fazit:**

Die Expression der Hitzeschockproteine HSP60 und HSP70 bleibt über die Haltung von 4 Wochen in etwa konstant und das Angebot von Habitatstrukturen im Becken hatte keinen Einfluss auf die Expression dieser Gene. Die signifikant erhöhte Transkriptionsrate in einem der Kontrollbecken (Becken 2) ohne Habitats ist aufgrund der Ergebnisse als isolierter Beckeneffekt, für den retrospektiv keine Ursache bestimmt werden konnte, zu werten und ist nicht auf den untersuchten Faktor Habitat zurückzuführen.

Auch konnte anhand des Parameters ‚*chh*‘ kein Einfluss der Habitatstrukturen auf das Stressniveau der Garnelen festgestellt werden

**8.1.3 AP 5.1.3: Praxistest Stressreduktion durch Habitate in kommerziellen Anlagen – *umgewidmet*: s. AP1: erweitertes Monitoring mit Schwerpunkt Bezugsquelle (POLY-K)**

Dieses Unter-Arbeitspaket wurde umgewidmet zugunsten der neuen Fragestellung zu den Bezugsquellen (s. Kap. 5.1.1.4).

**8.1.4 AP 5.1.4: begleitende Bestimmung der Mikrobiözönose (Schwebstoffe, Garnele, Becken) + HSP in kommerz. BFT-Anlage - *umgewidmet* in: physiologische Tierwohlaspekte unter verschiedenen Belüftungsbedingungen und im Schwerpunkt Bezugsquelle (TiHo)**

Die ursprünglich geplanten begleitenden Untersuchungen des Partners TiHo zu den nicht durchgeführten Praxistests zur Stressreduktion mittels Habitaten wurden umgewidmet und ersetzt durch das Monitoring mit Schwerpunkt Bezugsquelle. Hier sollen auch die Ergebnisse aus dem Monitoring der Tierwohlaspekte zu den eingangs beschriebenen Belüftungsvarianten vorgestellt werden. Zugehörige Daten zum Monitoring der Mikrobiözönose s. Kap. 5.1.1.2.2 bzw. Kap. 5.1.1.4.2.

Neben einer verbesserten Nutzung von Nährstoffen durch die Biofloc-Technologie sollte untersucht werden, welchen Einfluss die Technologie auf das Tierwohl und auf die Prävention von Erkrankungen hat. Hierfür dienen zum einen als Immun-Parameter die Zusammensetzung der Hämozyten in der Hämolymphe der Garnelen als wichtige Abwehr-Zellen, sowie als Stressindikatoren die Transkription der Gene, die die Hitzeschock-Proteine HSP60 und HSP70 sowie das „Crustacean hyperglycaemic hormone“ (chh) codieren.

**8.1.4.1 *Untersuchungsmethoden: Hämozyten in der Hämolymphe und Gen-Expression von Hitzeschock-Proteinen HSP60 und HSP70 sowie „Crustacean hyperglycaemic hormone“ (chh) als Stressindikatoren***

**Bestimmen der Hämozytenpopulationen in der Hämolymphe**

Nach Entnahme der Hämolymphe aus dem ventralen Sinus der Garnelen wurde ein Tropfen der Hämolymphe auf einen Objektträger gegeben, mit Hilfe eines Deckglases dünn ausgestrichen und an der Luft getrocknet. Die luftgetrockneten Ausstriche wurden im Labor mit Methanol fixiert und die Zellen nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt (Romeis 1968). Hämozyten wurden differenziert in die Zelltypen Hyaline Zellen (HC) nahezu ohne Granula, „Small granule cells“ (SGC) mit kleinen Granula und „Large granule cells (LGC) mit großen Granula (siehe Estrada et al. 2016). Insbesondere die Zellen mit Granula sind an Immunreaktionen von Krebsen, vor allem an Phagozytose-Aktivitäten beteiligt. Die Ausstriche wurden am Mikroskop mäanderförmig durchgemustert und pro Objektträger wurden 100 Zellen differenziert.

**Bestimmen der Transkription stressrelevanter Genprodukte**

Die Bestimmung und Quantifizierung der Transkription der Gene, die die Hitzeschock-Proteine 60 und 70 sowie des Crustacean hypoglycaemic hormone codieren, wurde wie oben beschrieben durchgeführt.

**Statistische Analyse der Daten**

Die Daten wurden mit Hilfe des Computer-Programms Sigma Plot 12 (Systat Software) entsprechend des Software-Handbuches statistisch ausgewertet. Normalverteilte Daten wurden mit einer Varianzanalyse und nachfolgenden multiplen Mittelwertsvergleichen mit der Methode nach Holm-Sidak auf Unterschiede geprüft. Bei nicht normalverteilten Daten wurden eine ANOVA on ranks nach Kruskal Wallis mit einem nachfolgenden multiplen Vergleich der Gruppen nach Tuckey durchgeführt. Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen wurden bei  $p < 0,05$  als statistisch signifikant eingestuft.

### 8.1.4.2 Tierwohl-Aspekte unter unterschiedlichen Belüftungs-Bedingungen

Der Einfluss eines unterschiedlichen Belüftungs-Managements auf den Gesundheitszustand und die Transkription stressrelevanter Gene wurden in Becken der Produktionsanlage untersucht. Hierfür wurde am 05.11. und am 17.12. 2019 aus den Becken M1B1 (Belüftung über Injektoren), den Becken M1B3 und M2B3 (Referenz mit Standard-Belüftung über Diffusoren) und dem Becken M3B3 (Belüftung über technischen Sauerstoff) in Geweben von jeweils 6 Garnelen die Expression von stressrelevanten Genen untersucht und am 17.12. 2019 in der Hämolymphe von 10 Garnelen die Verteilung der Hämozytenpopulationen bestimmt. Die Kulturen waren nicht alle parallel besetzt, die entsprechenden Kulturtage an den Beprobungsterminen waren:

Beprobungstermin	Variante 1 „Injektor“ in M1B1	Variante 2 „Sauerstoff“ in M3B3	Variante 3 „Standard“ in M2B3 und M1B3 (parallel)
1: am 5.11.2019	Tag 95	Tag 90	Tag 60
2: am 17.12.2019	Tag 137	Tag 132	Tag 102

### Ergebnisse: Hämozyten

Die Zusammensetzung der Hämozyten-Populationen wurde in der Hämolymphe von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung am 17.12. 2019 bestimmt. In der Hämolymphe von Garnelen aus Becken mit normaler Belüftung waren  $3,2 \pm 3,5$  bis  $5,5 \pm 3,6$  % der Zellen Hyaline Cells,  $65,8 \pm 6,6$  bis  $68,5 \pm 10,2$  % der Hämozyten „Small Granule Cells“ und  $25,5 \pm 7,7$  bis  $29,2 \pm 6,9$  % der Hämozyten „Large Granule Cells“. Bei Garnelen aus mit technischem Sauerstoff belüfteten Becken waren  $6,7 \pm 5,4$  % der Hämozyten HC,  $67,2 \pm 7,9$  % SGC und  $24,3 \pm 8,1$  % der Hämozyten LGC. In der Hämolymphe von Garnelen aus Becken durch Belüftung mit Luft-Injektoren wurden  $4,0 \pm 4,5$  % HC,  $60,8 \pm 6,2$  % SGC und  $34,7 \pm 4,2$  % LGC bestimmt (Tabelle 8-7, Abbildung 8-16). Eine signifikant unterschiedliche Verteilung der Hämozytenpopulationen wurde in der Hämolymphe von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung nicht festgestellt.

Tabelle 8-7: Verteilung von Hämozyten in der Hämolymphe von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung (Angaben in %, Mittelwert und Standardabweichung von Zählungen aus 10 Garnelen)

Becken	Hyaline Cells	Small Granule Cells	Large Granule Cells	Nicht determiniert
Injektor	$4,0 \pm 4,5$	$60,8 \pm 6,2$	$34,7 \pm 4,2$	$0,5 \pm 0,8$
Sauerstoff	$6,7 \pm 5,4$	$67,2 \pm 7,9$	$24,3 \pm 8,1$	$0,3 \pm 0,8$
Standard 1	$5,5 \pm 3,6$	$68,5 \pm 10,2$	$25,5 \pm 7,7$	$0,5 \pm 1,2$
Standard 2	$3,2 \pm 3,5$	$65,8 \pm 6,6$	$29,2 \pm 6,9$	$1,8 \pm 1,9$

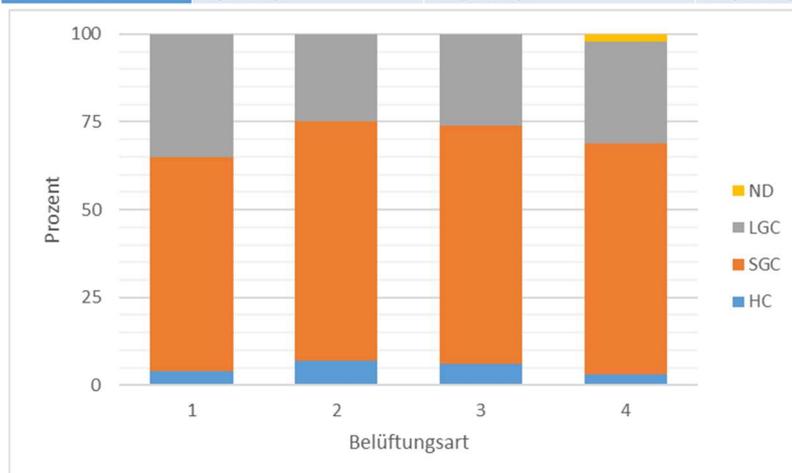


Abbildung 8-16: Verteilung von Hämozytenpopulationen in der Hämolymphe von Garnelen nach Aufzucht in Becken mit unterschiedlicher Belüftung: 1: Injektoren, 2: Sauerstoff, 3 u. 4: Standard- Belüftung. HC: Hyaline Cells, LGC: Large Granule Cells, SGC: Small Granule Cells, ND: Nicht determiniert (n=10)

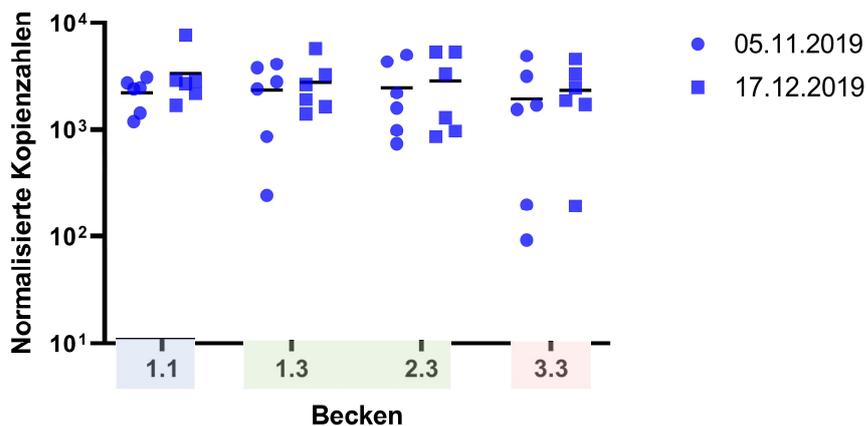
Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

### Expression stressrelevanter Gene im Hepatopankreas und Augenstiel

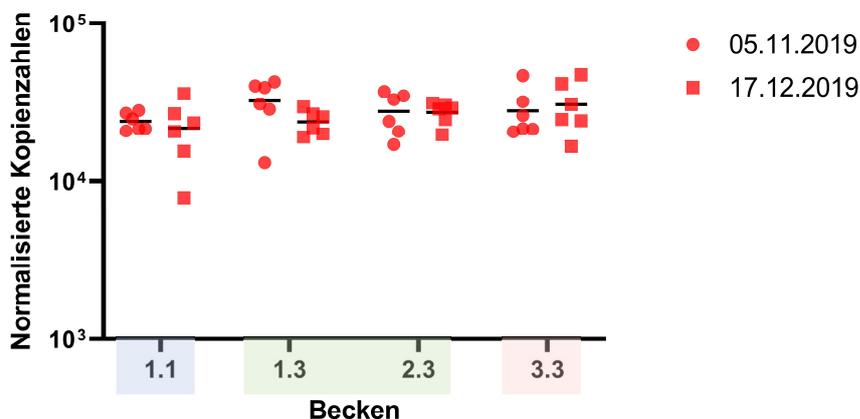
Transkripte des HSP60 wurden im Hepatopankreas der Garnelen aus allen Becken in einer Abundanz von 92 bis 7.600 normalisierte Kopien bestimmt, wobei in der Mehrzahl der Proben zwischen 1.000 und 10.000 Kopien vorlagen. Wie aus *Abbildung 8-17* ersichtlich, wurden am zweiten Probenstag in allen Becken im Mittel geringfügig höhere Gehalte an Gentranskripten beobachtet, dieser Anstieg ist allerdings statistisch nicht signifikant. Auch konnte zwischen Becken mit unterschiedlicher Belüftung keine signifikant unterschiedliche Transkriptionsrate des HSP60 beobachtet werden ( $p=0,94$ ).

Transkripte des HSP70 wurden in einer Abundanz von 7.800 bis 47.000 normalisierte Kopien bestimmt, wobei die Expression in der Mehrzahl der Garnelen über 10.000 Kopien lag. Auch die Expression des HSP70 war sowohl an den beiden Untersuchungstagen als auch bei Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung nicht signifikant verschieden ( $p=0,36$ ) (*Abbildung 8-17*).

#### LiVa Hepatopankreas Management-/Belüftungsversuch *hsp60*-Genexpression



#### LiVa Hepatopankreas Management-/Belüftungsversuch *hsp70*-Genexpression



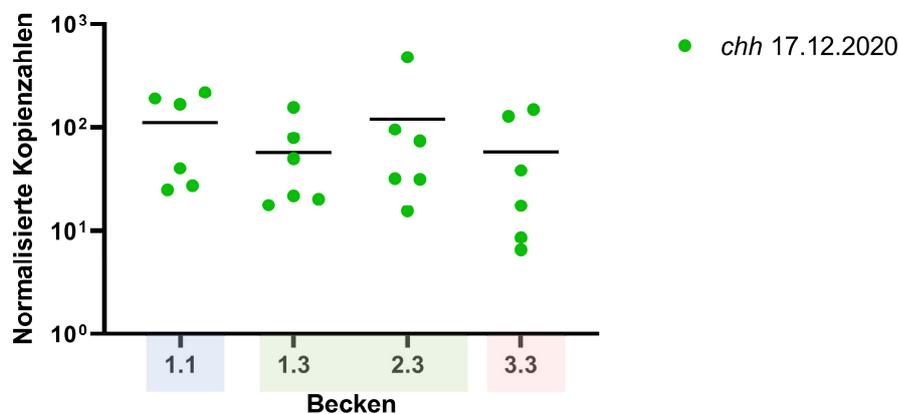
*Abbildung 8-17: Expression von HSP60 (oben) und HSP70 (unten) im Hepatopankreas von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung (Becken 1.1: Injektoren, 1.3 und 2.3: Standard- Belüftung, 1.3: Sauerstoff; n=6)*

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Dargestellt ist die Anzahl Gentranskripte pro 250 ng DNA normalisiert gegen  $1 \times 10^5$  Kopien des Elongationsfaktors (EF)1a codierenden Gens von  $n=6$  Einzelmessungen. Die horizontale Linie zeigt den Median der Messwerte an.

Des Weiteren wurde die Transkription des Crustacean hypoglycaemic hormone (chh) im Augenstiel von Garnelen untersucht. Dabei wurden Transkripte in einer Abundanz von etwa 6 bis 860 normalisierte Kopien bestimmt, wobei aus allen Becken Garnelen untersucht wurden mit einer geringen Transkription dieses Gens von weniger als 100 Genkopien und einige Garnelen mit einer Transkriptionsrate von mehr als 100 Genkopien (*Abbildung 8-18*). Insgesamt war jedoch die Expression des Gens für „chh“ in Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung nicht signifikant unterschiedlich ( $p=0,40$ ) (*Abbildung 8-18*).

### LiVa Augenstiele Management-/Belüftungsversuch *chh*-Genexpression



*Abbildung 8-18: Expression des Crustacean hypoglycaemic hormone codierenden Gens (chh) im Augenstiel von Garnelen aus Becken mit unterschiedlicher Belüftung (n=6)*

Dargestellt ist die Anzahl Gentranskripte pro 250 ng DNA normalisiert gegen  $1 \times 10^5$  Kopien des Elongationsfaktors (EF)1a codierenden Gens von  $n=6$  Einzelmessungen. Die horizontale Linie zeigt den Median der Messwerte an.

### Monitoring der Hämozyten-Zusammensetzung bei Garnelen im Verlauf der Abwachsphase, Vergleich von verschiedenen Garnelenchargen

Bei insgesamt drei Garnelenchargen wurde zu vier identischen Zeitpunkten in mehrwöchigen Abständen die Zusammensetzung der Hämozytenpopulationen als Indikator für Gesundheitszustand und Stress in der Hämolymphe bestimmt und miteinander verglichen.

Dieses erfolgte in den parallel laufenden Kulturen der Charge 9 und 10 immer an denselben Terminen zu den Kulturtagen 102, 144, 186 und 249. Garnelen aus der Charge 12, die 3 Monate später besetzt worden waren, wurden am 2. und 3. Beprobungstermin an gleichen Terminen beprobt wie die Chargen 9 und 10, sowie zusätzlich an einem späteren Termin an Kulturtag 230, als die beiden anderen Kulturen bereits abgefischt waren.

Die Ergebnisse sind in [Tabelle 8-8](#) und [Abbildung 8-19](#) dargestellt.

*Tabelle 8-8: Verteilung von Hämozyten in der Hämolymphe von Garnelen aus unterschiedlichen Batches bzw. Chargen während der Wachstumsphase (Angaben in %, Mittelwert und Standardabweichung von Zählungen aus 10 Garnelen)*

Kulturtag	Hyaline Cells	Small Granule Cells	Large Granule Cells	Nicht determiniert
<b>Charge 9</b>				
102	5,5 ± 3,6	68,5 ± 10,2	25,5 ± 7,7	0,5 ± 1,2
144	8,8 ± 3,6	66,3 ± 4,3	24,8 ± 1,3	0,0 ± 0,0
186	33,0 ± 4,6	45,7 ± 6,6	18,7 ± 4,3	2,7 ± 2,3
249	15,8 ± 7,7	58,3 ± 13,0	20,8 ± 6,1	5,0 ± 11,3
<b>Charge 10</b>				
102	3,2 ± 3,5	65,8 ± 6,6	29,2 ± 6,9	1,8 ± 1,9
144	0,0 ± 0,0	75,2 ± 4,7	25,8 ± 4,7	0,0 ± 0,0
186	28,0 ± 5,2	45,7 ± 10,7	24,7 ± 5,0	1,7 ± 1,6
249	10,5 ± 6,4	59,0 ± 11,1	29,8 ± 11,4	0,7 ± 1,6
<b>Charge 12</b>				
54	1,0 ± 2,0	70,0 ± 6,7	29,0 ± 7,9	0,0 ± 0,0
96	20,8 ± 6,2	54,2 ± 4,9	21,8 ± 9,2	3,2 ± 1,6
159	13,8 ± 3,5	56,0 ± 13,3	16,2 ± 6,7	14,0 ± 12,2
230	11,7 ± 4,2	56,8 ± 8,3	19,5 ± 6,1	12,0 ± 6,7

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

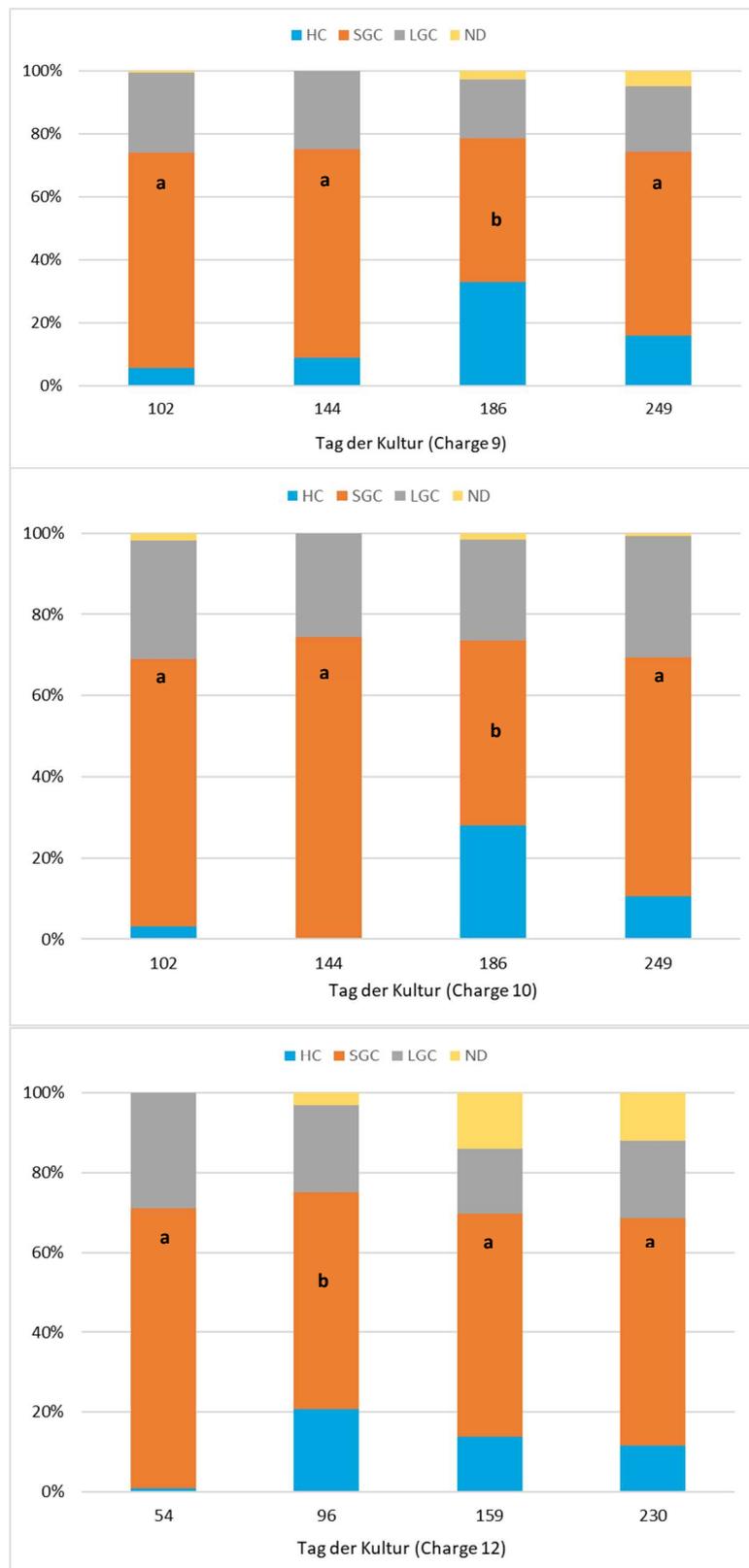


Abbildung 8-19: Verteilung von Hämozytenpopulationen in der Hämolymphe von Garnelen in unterschiedlichen Chargen im Laufe der Wachstumsperiode. HC: Hyaline Cells, LGC: Large Granule Cells, SGC: Small Granule Cells, ND: Nicht determiniert. Dargestellt sind die Mittelwerte von jeweils 10 Individuen

Garnelen aus allen Chargen hatten am Beprobungstermin zu Kulturtag 186 (Charge 9 und 10) bzw. Tag 96 (Charge 12) einen signifikant erhöhten Anteil an hyalinen Zellen und einen signifikant geringeren Anteil an „Small Granule Cells“ in ihrer Hämolymphe. In der Charge 9 war an Kulturtag 144 im Vergleich zu Garnelen aus den Chargen 10 (mit demselben Kulturtag) und 12 (an Kulturtag 54) am selben Kalendertag der Anteil der HC erhöht und der Anteil der SGC geringer.

### 8.1.4.3 Tierwohl-Aspekte im Zusammenhang mit der Bezugsquelle

#### Vergleich von Garnelen aus verschiedenen Zuchtbetrieben

Während der Projektlaufzeit wurden Garnelen aus verschiedenen Zuchtbetrieben in die Becken der Garnelenproduktion eingesetzt. Es wurden Postlarven aus drei verschiedenen Herkunftsländern verwendet, bei denen sich Transportwege und die Transportdauer für die Postlarven erheblich unterschieden (s. Kap. 5.1.1.4). Im Folgenden wurden die Gesundheits- und Stressparameter in Garnelen aus unterschiedlichen Zuchtbetrieben während der Abwachsphase an Kulturtag 50 (t1) und Kulturtag 85 (t2) untersucht und verglichen.

#### Hämozyten

1. In der Hämolymphe von Garnelen aus Deutschland (DE) wurden  $2,4 \pm 2,2$  bis  $5,5 \pm 5,0$  hyaline Zellen,  $64,0 \pm 7,4$  bis  $67,6 \pm 14,1$  SGC sowie  $19,9 \pm 10$  bis  $33,4 \pm 7,9$  LGC bestimmt
2. in der Hämolymphe von Garnelen aus den USA (US):  $5,6 \pm 6,9$  bis  $9,7 \pm 6,2$  HC,  $67,8 \pm 13,2$  bis  $69,0 \pm 11,2$  SGC und  $18,0 \pm 5,9$  bis  $24,9 \pm 12,8$  LGC, sowie
3. in der Hämolymphe von Garnelen aus Österreich (AT):  $1,5 \pm 2,5$  bis  $6,4 \pm 6,7$  HC,  $60,7 \pm 14,9$  bis  $69,0 \pm 8,4$  SGC und  $27,4 \pm 11,5$  bis  $28,8 \pm 15,8$  LGC.

An den beiden Probezeitpunkten war die Verteilung der Hämozyten in der Hämolymphe von Garnelen aus unterschiedlichen Bezugsquellen nicht signifikant unterschiedlich. Allerdings war der Anteil von HC in der Hämolymphe von Garnelen aus DE und AT zum Zeitpunkt der Probennahme 1 signifikant geringer als in der Hämolymphe von Garnelen aus US zum Zeitpunkt der Probennahme 2 (Tabelle 8-9 und Abbildung 8-20).

Tabelle 8-9: Verteilung von Hämozyten in der Hämolymphe von Garnelen aus unterschiedlichen Bezugsquellen während der Wachstumsphase (Angaben in %, Mittelwert und Standardabweichung von Zählungen aus 10 Garnelen. t1: Probennahme an Kulturtag 49, t2: an Kulturtag 84)

Herkunft, t1	Hyaline Cells	Small Granule Cells	Large Granule Cells	Nicht auswert.
DE	$2,4 \pm 2,2$	$64,0 \pm 7,4$	$33,4 \pm 7,9$	$0,2 \pm 0,6$
US	$5,6 \pm 6,9$	$67,8 \pm 13,2$	$24,9 \pm 12,8$	$1,7 \pm 2,9$
AT	$1,5 \pm 2,5$	$69,0 \pm 8,4$	$27,4 \pm 11,5$	$2,1 \pm 5,4$
Herkunft, t2				
DE	$5,5 \pm 5,0$	$67,6 \pm 14,1$	$19,9 \pm 10,0$	$7,0 \pm 16,5$
US	$9,7 \pm 6,2$	$69,0 \pm 11,2$	$18,0 \pm 5,9$	$3,3 \pm 7,7$
AT	$6,4 \pm 6,7$	$60,7 \pm 14,9$	$28,8 \pm 15,8$	$4,1 \pm 7,9$

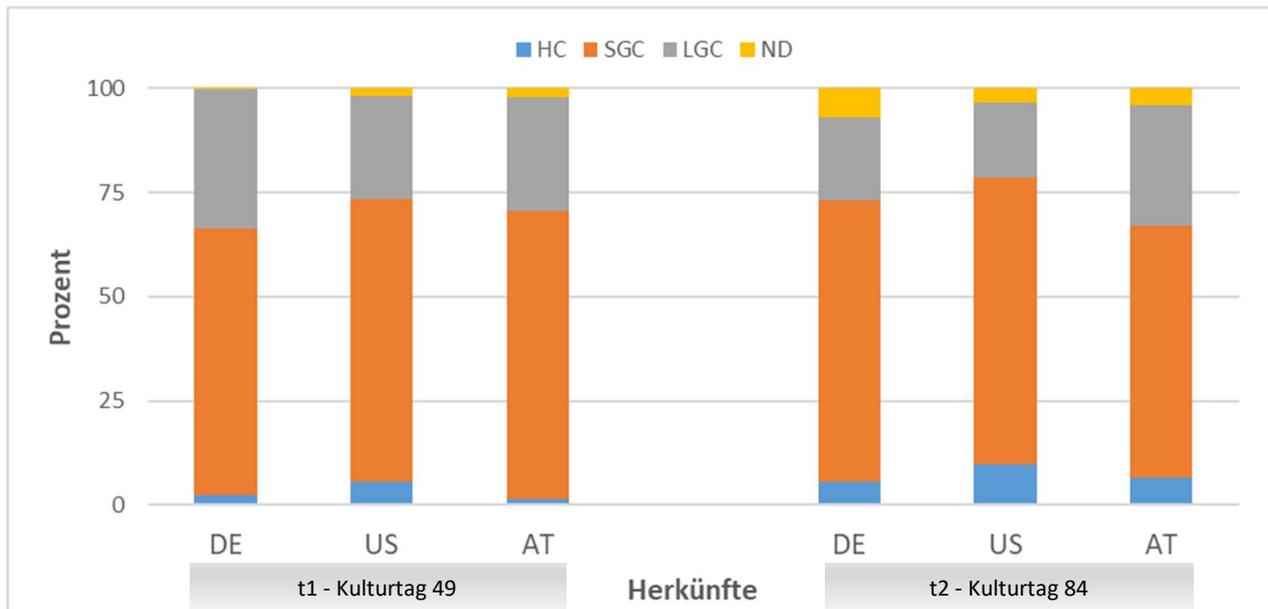


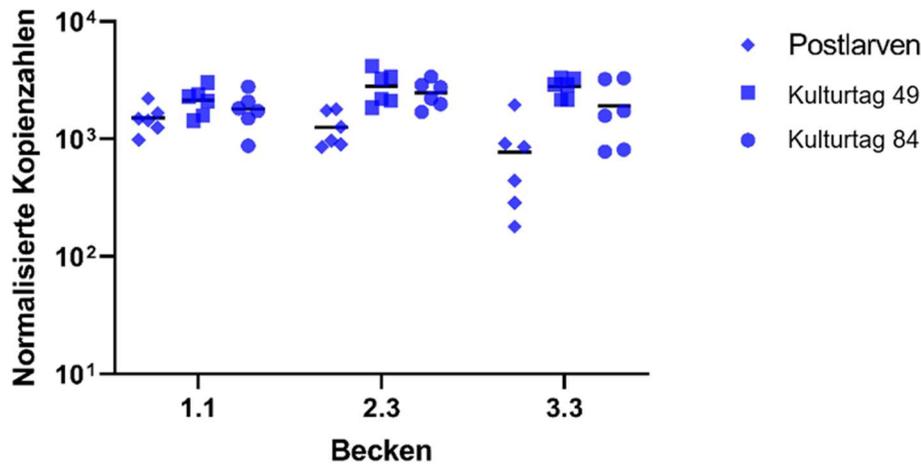
Abbildung 8-20: Verteilung von Hämozytenpopulationen in der Hämolymphe von Garnelen aus unterschiedlichen Herkünften im Laufe der Wachstumsperiode. Links: Probenahme an Kulturtag 49, rechts: Probenahme an Tag 84. HC: Hyaline Cells, LGC: Large Granule Cells, SGC: Small Granule Cells, ND: Nicht determiniert (n=10)

### Expression stressrelevanter Gene im Hepatopankreas und Augenstiel

Trotz unterschiedlicher Transportdauer war die Expression der Gene, die die Hitzeschock-Proteine HSP60 und HSP70 codieren, in Postlarven aus Zuchtbetrieben in drei unterschiedlichen Herkunftsländern bei Ankunft in der Garnelenzucht weitgehend vergleichbar. In Postlarven aus DE (M1B1) und US (M2B3) wurden etwa  $10^3$  Transkripte des HSP60 bestimmt, während Postlarven aus AT (M3B3) von 180 bis 1.900 normalisierte Transkripte aufwiesen. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant ( $p=0,756$  bzw.  $p=0,946$ ).

Im Laufe der weiteren Aufzucht, über einen Zeitraum von 3 Monaten wurden in den Garnelen aus den unterschiedlichen Zuchtbetrieben Transkripte des HSP60 in gleicher Abundanz gefunden. Transkripte von HSP70 lagen sowohl in den Postlarven aus allen 3 Zuchtbetrieben als auch während der nachfolgenden Aufzuchtphase in Garnelen aus den unterschiedlichen Zuchtbetrieben in gleicher Größenordnung vor. Ein signifikanter Unterschied zwischen Garnelen aus den verschiedenen Zuchtbetrieben wurde nicht festgestellt ( $p=0,91$ ).

**LiVa Hepatopankreas Herkunftsversuch**  
***hsp60*-Genexpression**



**LiVa Hepatopankreas Herkunftsversuch**  
***hsp70*-Genexpression**

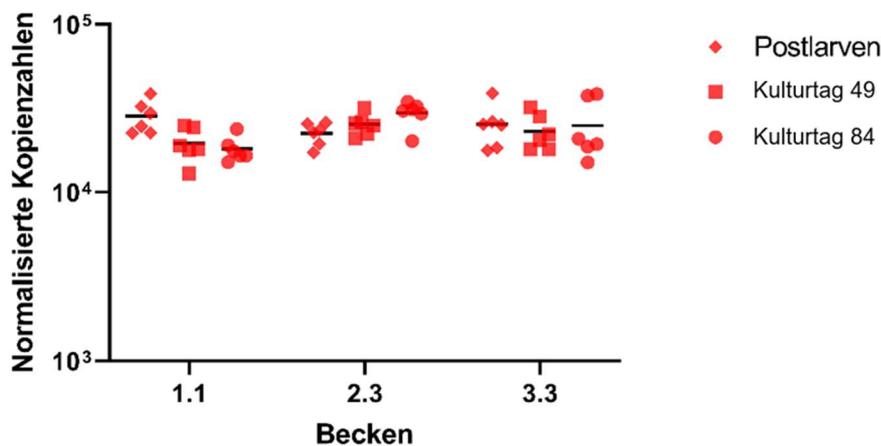


Abbildung 8-21: Expression von HSP60 (oben) und HSP70 (unten) im Hepatopankreas von Garnelen aus drei unterschiedlichen Zuchtbetrieben. Becken M1B1 (1.1) mit Postlarven des Zuchtbetriebes DE, Becken M2B3 (2.3) mit Postlarven eines Zuchtbetriebes US und Becken M3B3 (3.3) mit Postlarven des Zuchtbetriebes AT

Dargestellt ist die Anzahl Gentranskripte pro 250 ng DNA normalisiert gegen  $1 \times 10^5$  Kopien des Elongationsfaktors (EF)1a codierenden Gens von  $n=6$  Postlarven bei Ankunft in der Garnelenzucht und während der Aufzucht an Kulturtag 49 sowie Kulturtag 84 als Einzelmessungen. Die horizontale Linie zeigt den Median der Messwerte an. Auch die Transkription des Gens für „chh“ war in Postlarven aus den unterschiedlichen Zuchtbetrieben und den daraus abwachsenden Garnelen nicht signifikant verschieden ( $p=0,55$ ) (Abbildung 8-22).

### LiVa Augenstiele Herkunftsversuch *chh*-Genexpression

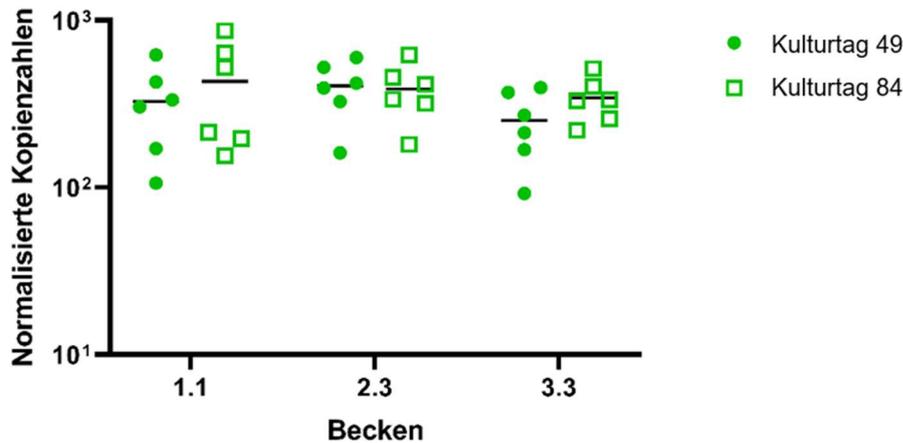


Abbildung 8-22: Expression des Crustacean hypoglycaemic hormone codierenden Gens (*chh*) im Augenstiel von Garnelen aus drei unterschiedlichen Zuchtbetrieben. Becken M1B1 (1.1) mit Postlarven des Zuchtbetriebes DE, Becken M2B3 (2.3) mit Postlarven eines Zuchtbetriebes US und Becken M3B3 (3.3) mit Postlarven des Zuchtbetriebes AT

Dargestellt ist die Anzahl Gentranskripte pro 250 ng DNA normalisiert gegen  $1 \times 10^5$  Kopien des Elongationsfaktors (EF)1a codierenden Gens von  $n=6$  Postlarven bei Ankunft in der Garnelenzucht und während der Aufzucht an Kulturtag 49 sowie 84 als Einzelmessungen. Die horizontale Linie zeigt den Median der Messwerte an.

#### 8.1.5 Versuche mit Metall-bindendem Chitosan zur Reduktion von Metallkonzentrationen (am Beispiel von Cu und Zn): Vorversuche im U-Auftrag "Chipro" und Versuche im Labormaßstab unter Tierbesatz - *umgewidmet* (POLY-K)

Dieses Unter-Arbeitspaket wurde umgewidmet zugunsten der neuen Fragestellung zu den Bezugsquellen.

#### 8.1.6 AP 5.1.6: begleitende Verifizierung Stress-Minimierung durch Bestimmung der HSP in Garnelen im Laborversuch - *umgewidmet* (TiHo)

Ebenso betrifft dies die begleitende Untersuchung durch die TiHo.

### 8.2 AP 5.2: Entwicklung und Verifizierung eines Verfahrens zur tierschonenden und möglichst selektiven Ernte in großvolumigen Rundbecken

#### 8.2.1 AP 5.2.1: Verfahrensentwicklung und Prototyp für ein tiergerechtes Ernteverfahren (POLY-K)

Für die großvolumigen Becken mit ca. 2m Wassertiefe ist der Fang per Kescher nur zu Beginn der Abfisch-Phase sinnvoll, sowie auch bei Nachfrage kleinerer Mengen, möglichst aber nur bei einem Besatz, der in kurzer Zeit den Kescher füllen lässt, auch im Sinne des Tierwohls.

Die Dauer der Erntephase richtet sich nach der Nachfrage, die zeitweise eingebrochen war, wie eingangs dargestellt (Kap. 4). Bei planmäßiger Besatz-Frequenz in monatlichen Abständen würde die Erntephase maximal 4 Wochen betragen.

Kescherzüge überwiegen daher in den ersten 2-3 Wochen, aber bei Nachfrage größerer Mengen und zum Abfischen des Beckens bei zuletzt niedrigerem Wasserstand kommt das Erntemodul zum Einsatz.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Dafür wurde ein Prototyp gebaut, der an den hohen Wasserdruck im sog. Grow-Out-Becken mit ca. 100 m<sup>3</sup> Füllvolumen angepasst ist und eine dosierte Entnahme von lebenden Garnelen erlaubt. Eine einfache Förderpumpe führt das Wasser direkt zurück in das Becken.

Dieses Modul kommt zum Einsatz, wie in den folgenden Abbildungen dargestellt.



Abbildung 8-23: Prototyp eines Erntemoduls in Betrieb (Anlage Damm Aquakultur)

Dieses Ernte-Modul wird zum Abfischen der Restbestände bis heute eingesetzt.

Auf der Suche nach alternativen Ernteverfahren fanden wir Anbieter von Fisch- bzw. Garnelenpumpen, z.B. von einer Firma aus den USA, die einen ‚Mikro-Harvester‘ spezifisch für Garnelen anbieten. Diese Vorrichtungen sind jedoch für die Entleerung von Teichanlagen dimensioniert, mit Leistungen von 10t/Minute.

Leider konnten keine Garnelen auf Stressparameter untersucht werden, da eine Probenahme nicht mit dem doch sehr spontanen Betriebsablauf des Abfischens vereinbar war.

#### 8.2.2 AP 5.2.2: Verifizierung der Durchführbarkeit von Ernteverfahren und Tiergerechtigkeit in der Praxis (1 oder 2) kommerzieller Farm(en) - *umgewidmet* (POLY-K)

Dieses Unter-Arbeitspaket zur Durchführbarkeit und Tiergerechtigkeit des entwickelten Verfahrens wurde umgewidmet zugunsten der neuen Fragestellung zu den Bezugsquellen.

#### 8.2.3 AP 5.2.3: Verifizierung der Stress-Minimierung (z.B. durch Bestimmung der HSP) in den frisch mit unterschiedlichen Verfahren geernteten Garnelen - *umgewidmet* (TiHo)

Ebenso betrifft dies die begleitende Untersuchung durch die TiHo.

### 8.3 Auswertung AP 5, mit Definierung der optimalen Betriebsführung für ein hohes Tierwohl (POLY-K und TiHo)

In dem 4-wöchigen Habitat-Versuch konnte nicht gezeigt werden, dass das Angebot von Rückzugsmöglichkeiten in den sog. „Habitaten“ mit einem positiven Effekt auf das Tierwohl verbunden ist. Es wurden keine statistisch relevanten Zusammenhänge mit den erhobenen zootechnischen Daten gefunden, nur ein eher als negativ zu bewertender positiver Zusammenhang zwischen dem Einsatz der Habitate und dem Parameter absetzbare Stoffe, dessen Wert auf kritische 10 ml/l kletterte. Eine schwache Korrelation trat bei Nitrit-N auf, dessen Konzentration in der Variante mit Habitatstrukturen etwas niedriger waren.

Das Einbringen von Habitaten für die Garnelen wirkt sich nach Auswertung der mikrobiologischen und physiologischen Untersuchungen in erster Linie positiv auf die Entwicklung der nitrifizierenden Bakteriengemeinschaft im Biofilm auf Beckenwand und Habitat-Strukturen aus. Die Entwicklung einer nitrifizierenden Gemeinschaft benötigt in marinen Habitaten einen deutlich längeren Zeitraum als in Süßwasser und durch das Einbringen der Habitate scheint sich die Ansiedlung von nitrifizierenden Bakterien zu beschleunigen.

Diese Beobachtung wird, wenn auch mit schwacher Signifikanz, durch die etwas niedrigeren Nitrit-N-Konzentrationen in den 3 Varianten mit Habitatstrukturen unterstützt. Eine ähnliche und sogar eindeutiger positive Wirkung zusätzlicher Oberflächen auf die NO<sub>2</sub>-N-Konzentration fanden u.a. Rodrigues et al. (2021), in einem 60-Tage Versuch mit künstlichem Nylongewebe, dass die besiedelbare Oberfläche in den Versuchsbecken um 200% bzw. 400% erhöhte und dies mit signifikant niedrigeren NO<sub>2</sub>-N-Konzentrationen einherging. Das dort eingesetzte Nylongewebe hat zudem die Feststoffkonzentrationen im Wasser verringert, ist jedoch mit Blick auf das Mikroplastik, besonders, wenn im großen Maßstab eingesetzt, keine umweltschonende und zu empfehlende Maßnahme.

Bedeutsamer als das Habitat-Angebot ist hier sicherlich, dass die Wasserqualität und insbesondere der Sauerstoffgehalt dem physiologischen Bedarf der Garnelen entsprechen. Faktoren, die die Entwicklung von möglichen pathogenen Bakterien, wie Tenacibaculum, Vibrio oder Mycobacterium, begünstigen könnten, ließen sich nicht identifizieren. Allerdings scheint eine hohe Feststoff-Fracht das Wachstum von Fadenbakterien (Thiothrix) auf dem Carapax von Garnelen zu begünstigen, was zu Belastungen führen könnte. Die Variante mit Habitaten hatte signifikant höhere Volumina an absetzbaren Stoffen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, dass anhand der hier untersuchten physiologischen Parameter eine Beeinflussung des Stress-Niveaus der Garnelen durch das Einbringen von Habitaten in die Versuchsbecken nicht beobachtet werden konnte. Sowohl die Verteilung der Hämocyten-Populationen als auch die Expression von Genen aus der Stress-Reaktionskaskade bei Garnelen waren nicht unterschiedlich zwischen Garnelen aus Kontrollbecken und aus Becken mit Habitaten. Ebenso wenig ließ sich ein Einfluss der Belüftung während der Abwachsphase in den GOB auf das Stressniveau erkennen. Bedeutsam ist hier sicherlich, dass in allen Becken, unabhängig von der Belüftungsart, eine vergleichbare Sauerstoffsättigung erreicht wurde.

Bemerkenswert erscheint weiterhin die Beobachtung, dass die hier untersuchten physiologischen Parameter auch keine Unterschiede im Stressniveau bei Garnelen unterschiedlicher Herkunft erkennen lassen. Die vorliegenden Untersuchungen erlauben es allerdings *nicht* eine Aussage zu dem Einfluss der unterschiedlichen Transportbedingungen, wie der sehr verschieden langen Transportdauer der Besatztiere aus den drei Herkunftsländern abzuleiten, da sich die sehr kleinen Postlarven nicht für eine Untersuchung direkt nach der Ankunft eigneten. Daten liegen erst vor zu Kulturwoche 4 und 8 und spiegeln das jeweils aktuelle Stressniveau zum Zeitpunkt der Probennahme wider. Da die Garnelen unter vergleichbaren Bedingungen gehalten wurden, ist es somit plausibel, dass ein vergleichbares Stressniveau erfasst werden konnte.

Die Ergebnisse aus den Schwerpunkten Belüftungsmanagement und Herkunfts-Vergleich lassen einen vergleichbaren Schluss in Bezug auf die Entwicklung des Mikrobioms zu:

die Entwicklung einer stabilen nitrifizierenden Bakteriengemeinschaft benötigt einen relativ langen Zeitraum. Für eine effektive Funktionalität sollten deshalb die Biofilme im Becken und im Biofilter ausreichend Zeit zur Etablierung erhalten und im Betrieb „geschont“ werden. In nicht stabilisierten Biofilmen wurden hohe Gehalte an Vibrionen und Flavobakterien gefunden, unter denen auch potentiell pathogene bzw. fakultativ pathogene Keime für Garnelen zu finden sind. Diese Bakterien stellen in Biofilmen mit etablierter nitrifizierender Gemeinschaft keinen erhöhten Anteil an der bakteriellen Mikroflora. Zudem scheint ein erhöhtes Schlammvolumen zur Entwicklung von Fadenbakterien auf dem Carapax von Garnelen zu führen - ein weiterer Grund darauf zu achten, dass sich in den Becken kein nennenswertes Schlammvolumen ansammelt.

Die Frage, ob Habitate Vorteile für die Garnelen darstellen kann nicht negiert aber auch nicht positiv beantwortet werden. Ein indirekter Vorteil über die größere von Biofilm besiedelbare Fläche und deren evtl. erhöhtes Nitrifizierungspotential kann gegeben sein.

Die Simulation der Strömungsverhältnisse in einem Modell eines GOB mit integrierten Habitat-Modulen ergab, dass diese den Stofftransport im Becken einschränken (s. Kap. 5.2.1). Dieser Faktor müsste bei der Entscheidung zusätzliche Strukturen in ein Becken zu integrieren beachtet werden.

Für das Tierwohl wird immer wieder die Tierdichte bzw. **Biomassedichte** als ein zu limitierender Faktor angeführt, der bei der Zertifizierung vieler Label eine zentrale Rolle spielt.

In der untersuchten Anlage können zu den Biomassedichten in kg pro m<sup>3</sup> folgende Angaben gemacht werden:

a) basierend auf der eingesetzten Futtertabelle mit prognostizierten Überlebens- und Wachstumsraten werden maximal 6,4 kg/m<sup>3</sup> Biomasse in der PL-Phase erreicht. Ein weiterer Peak von 5,7 kg/m<sup>3</sup> wird in den großen Becken (GOB) erreicht, aber wieder durch Vergrößerung des Beckenvolumens ausgeglichen ([Abbildung 8-24](#)).

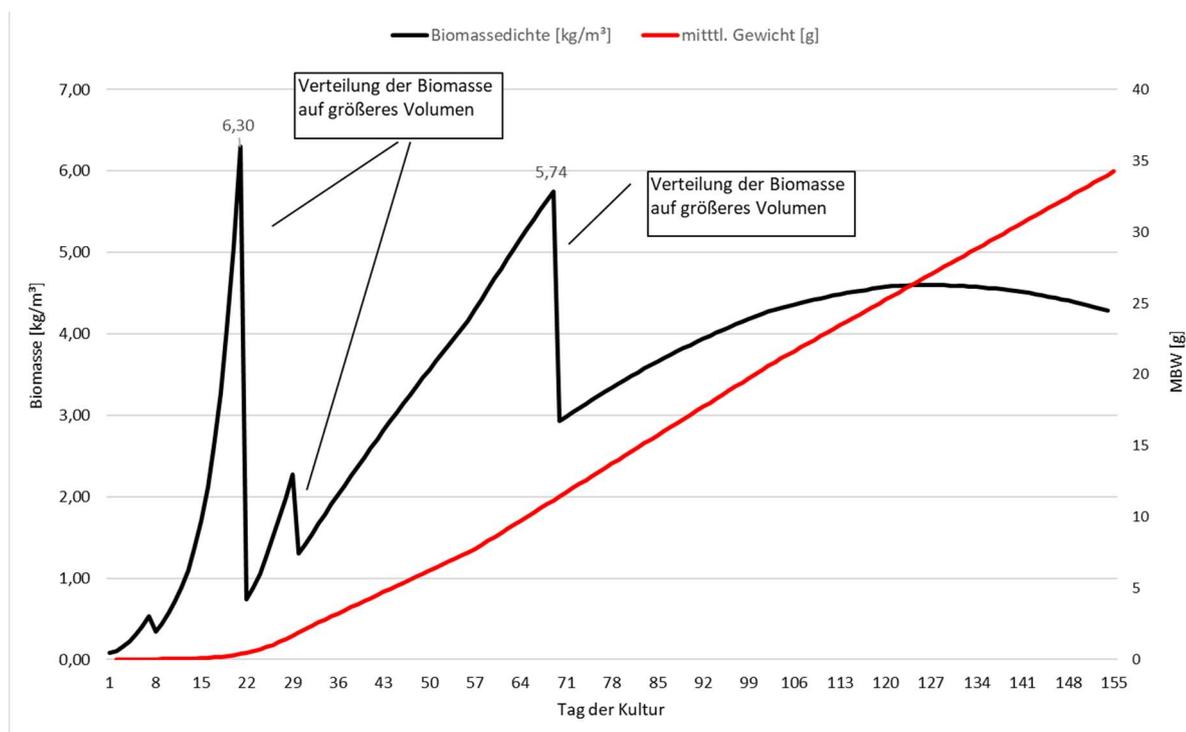


Abbildung 8-24: Graphik aus Futtertabelle 2022 mit becken-bezogener Auswertung für einen Vollbesatz (80.000 PL): Biomasse pro Becken [kg], dem mittleren Körpergewicht der Garnelen (MBW [g]) und der Biomassedichte[kg/m<sup>3</sup>] im Kulturverlauf

b) aus den real erzielten Mengen an abgefischten Garnelen [kg], in Relation zu dem dabei verfügbaren Beckenvolumen ergeben sich unterschiedliche Biomassedichten zwischen ca. 2 und 4,5 kg/m<sup>3</sup>, hier nur berechnet für Kulturen, die innerhalb von mindestens 14 Tagen geerntet worden waren (s. [Abbildung 8-25](#)).

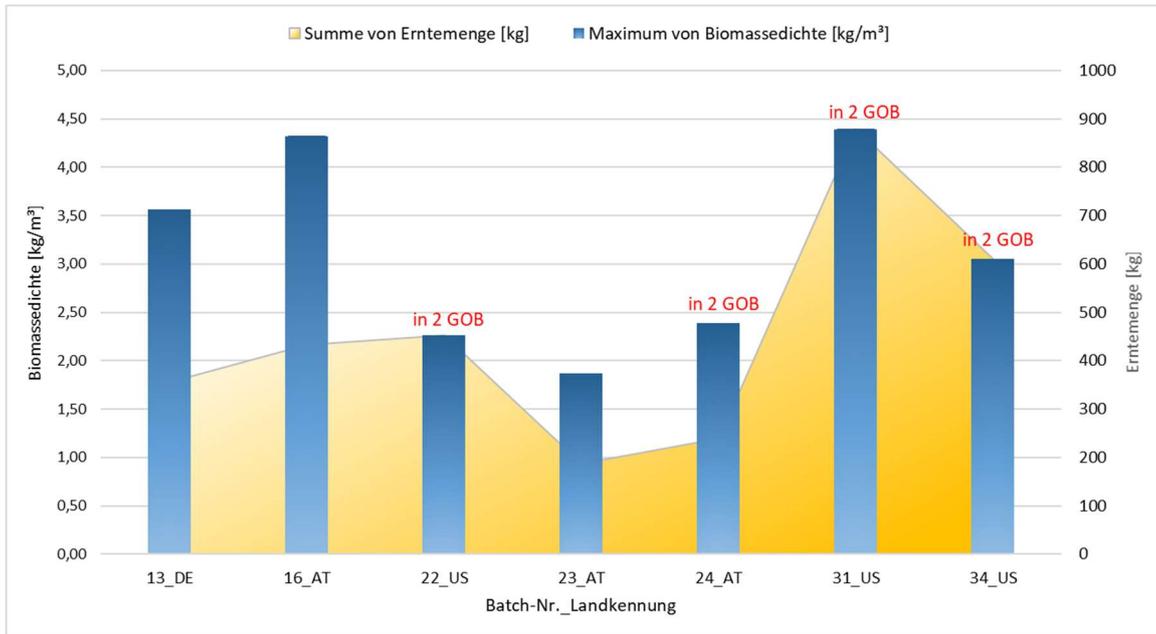


Abbildung 8-25: Biomassedichten [kg/m<sup>3</sup>] an Beispiel-Kulturen aus Anlage Damm Aquakultur, mit Erntemengen [kg], die aus 1 bzw. wie angegeben 2 GOB abgefischt wurden, meist innerhalb von 1 bis 7 Tagen (Batch 16\_AT: 14 Tage)

Die Garnelendichte hat bislang noch nicht den Maximalwert von 6,3 kg/m<sup>3</sup> nach neuer Futtertabelle erzielt und blieb noch unter 4,5 kg/m<sup>3</sup>. Auch mit dieser Dichte lassen sich bei Nutzung von 2 GOB pro Kultur bei moderatem Wachstum und einer Kulturdauer von maximal 140 Tagen bis zu ca. 900 kg Garnelen erwirtschaften, wie neuere Daten aus der Anlage Damm Aquakultur zeigen konnten.

De Moraes et al. (2020) haben Erträge für verschiedene BFT-Varianten aus zahlreichen Veröffentlichungen recherchiert. Für die der hier untersuchten BFT-Form am nächsten kommenden ‚photoheterotrophic systems‘ werden für Garnelen der Spezies *L. vannamei* folgende Ergebnisse für Garnelenkulturen mit Endgewichten von 10, 13 und 14,5 g angegeben:

Tabelle 8-10: Vergleichsdaten aus de Moraes et al. (2020) für zwei Kulturen der Anlage Damm Aquakultur: erzielte Erträge [kg/m<sup>3</sup>] und Überlebensraten [%] für die jeweils erzielten Endgewichte in bestimmter Kulturdauer, sowie daraus berechnete Wachstumsraten [g/Woche]

Quelle	Ertrag [kg/m <sup>3</sup> ]	Überlebensrate [%]	Endgewicht [g]	Kulturdauer [Tage]	Wachstumsrate [g/Woche]
Moraes et al. (2020)	3,22	89,2	14,47	49	2,07
	0,32	63	13,3	210	0,44
	2,8	95,5	9,99	42	1,67
Damm Aquakultur #31	4,4	43,1	25,5	139	1,28
Damm Aquakultur #34	3	38,7	26,3	118	1,56

Die Zahlen der beiden Kulturen aus der untersuchten BFT-Anlage sind in Ertrag und Wachstumsrate in etwa vergleichbar mit zwei Ergebnissen aus der Literaturquelle, übertreffen den Ertrag sogar einmal, liegen nur bei den Überlebensraten unterhalb der Referenzdaten. Die Vergleichbarkeit der Daten konnte jedoch nicht geprüft werden. Unabhängig davon ist eine höhere Überlebensrate anzustreben, auch im Sinne des Tierwohls.

## **9 Arbeitspaket 4: Gesamtauswertung AP 1-3: Bedeutung der Bioflocke und der Mikro- und Meio-Biozönose in BFT-Anlagen: Korrelationen und Zusammenhänge der erhobenen Daten (Wasserqualität/ Garnelen/ Bioflock-Eigenschaften); Definierung von Steuerungsmöglichkeiten und optimaler Betriebsführung für die Wasser- und Produktqualität sowie das Tierwohl (POLY-K und TiHo)**

Nur in stabilen Systemen können Steuerungsmöglichkeiten definiert werden. Der Zusammenhang zwischen Maßnahme und Reaktion des Systems muss eindeutig sein. Dies wurde im Projektverlauf allerdings durch zu viele und sich ändernde Variablen stark erschwert. Es fehlte im gesamten Beobachtungszeitraum eine längere stabile Phase, in der gezielt einzelne Steuerungsmöglichkeiten zu identifizieren gewesen wären.

Bestimmte Zusammenhänge ließen sich dennoch erkennen:

- Bei niedrigen Biofloc-Volumina kam es aufgrund der dadurch verminderten Kapazitäten N-Verbindungen umzusetzen zu erhöhten Nitrit-N-Konzentrationen
- Schwankende N-Einträge können diese Kapazität ebenso begrenzen, beispielsweise in und auch eine Zeitlang nach Phasen sehr schwacher Anlagenauslastung
- Es wurden Bioflocs mit unterschiedlichem Phänotyp und Absetzverhalten beobachtet, ohne dass hierfür abschließend alle Einflussgrößen identifiziert und damit Steuerungsmöglichkeiten definiert werden konnten (ein Einflussfaktor für ein schlechteres Absetzverhalten konnte mit der Injektorbelüftung identifiziert werden)
- Ein erfolgreicher Ansatz zur Steuerung der Biofloc-Volumina lag in der Anpassung der Umwälzraten bzw. Volumenströme durch die Wasseraufbereitung, allerdings begrenzt auf Bioflocs mit gutem Absetzverhalten
- Die in der BFT-Literatur beschriebene Zudosierung der Kohlenstoffquelle Zucker hat sich vor allem in der PL-Phase zur Initiierung der Biofloc-Bildung bewährt
- In den GOB erwies sich die Zuckergabe als weniger praxistauglich und zudem konnten unerwünschte Nebeneffekte (Fadenbakterien) beobachtet werden

Unsere Beobachtungen bestätigen, dass in einer Biofloc-basierten Anlage, wie der hier untersuchten, den Bioflocs eine wichtige Funktion in der Nitrifikationsleistung zukommt. Überdies belegen die Nährwertanalysen, dass die Bioflocs als ergänzende Proteinquelle dienen können.

Dabei spielt das Mikrobiom auf den Garnelen und in der Anlage eine entscheidende Rolle für die Gesundheit der Garnelen und auch für die Funktionalität der Anlage. Im Wasser und im Bioreaktor einer Garnelen-Aquakultur übernehmen Bakterien wichtige Aufgaben in Stoffkreislauf, insbesondere bei der Entgiftung von für die Garnelen schädlichen Stickstoffmetaboliten, wie Ammoniak und Nitrit. Garnelen werden, wie die Wände der Zuchtbecken von Bakterien aus dem Wasser besiedelt, so dass das Mikrobiom im Wasser die bakterielle Gemeinschaft der Garnelen und auch die der Becken beeinflusst.

In allen Lebensräumen kamen auch nicht zu bestimmende Bakterien vor und es traten Bakterien auf, über deren Biologie in der Literatur keine Informationen vorlagen. Dies trat insbesondere in Proben aus dem Wasser mit Bioflocken sowie Proben vom Panzer der Garnelen auf.

Es war zu beobachten, dass die Anzahl nitrifizierender Bakterien im Verlauf der Beobachtungsperioden zunahm. In späteren Kulturen dominierten diese Bakterien die Gemeinschaft, was die Bedeutung der Beckenwände und Aufwuchsflächen für die Nitrifizierung unterstreicht. Dieses wurde auch im Habitatversuch deutlich, in dem sich die nitrifizierende Gemeinschaft früher in Becken mit Habitaten etablieren konnte, als in den Kontrollbecken ohne Habitats. In der mikrobiellen Gemeinschaft im Wasser mit Bioflocken waren ebenfalls nitrifizierende Bakterien vorhanden, jedoch in sehr geringer relativer Abundanz.

Bakterien aus der Familie Flavobacteriaceae und auch Vibrionen waren im Anlagenwasser mit Bioflocs in größerer Abundanz vorhanden. In diesen Familien sind auch potentiell pathogene Bakterien vertreten. Diese Gruppen stellten aber nicht, wie von Tepasorndech et al. (2020) beschrieben, 90 % der Bakterien in Bioflocs. In einer Studie von Xu et al. (2022) nahm die Abundanz von Vibrionen mit längerer Kulturdauer ab. Vergleichbare Beobachtungen konnten auch in unserer Studie gemacht werden. Zu Beginn der Kultur konnten größere relative Abundanzen festgestellt werden als zu späteren Zeitpunkten. Darüber hinaus können auch unter den heterotrophen Bakterien potentielle Pathogene vorkommen und bei Garnelen Erkrankungen verursachen.

Die Untersuchungen zum Herkunfts-Vergleich zeigen deutlich, dass die bakterielle Gemeinschaft von Postlarven vom Herkunftsbetrieb (Zuchtbetrieb) beeinflusst ist. Allerdings gleicht sich die bakterielle Gemeinschaft mit fortschreitender Kulturdauer immer weiter dem Mikrobiom der Garnelenhaltung an und wird schließlich von diesem dominiert. Die Kulturdauer übt dabei im Vergleich zu Wasserparametern einen stärkeren Einfluss auf die bakterielle Gemeinschaft aus.

### **Empfehlungen zur Betriebsführung**

Ein stabiler Betrieb mit möglichst konstanter Auslastung ist anzustreben. Dadurch wird die Ausbildung einer stabilen Mikroflora gefördert. Diese ist durch die Besetzung aller ökologischen Nischen einer der wichtigsten Faktoren, um die unkontrollierte Vermehrung pathogener und fakultativ pathogener Bakterien zu vermeiden. Damit verringert sich das Risiko des Auftretens bakterieller Erkrankungen.

Eine stabile Mikroflora trägt weiterhin entscheidend dazu bei, dass der kontinuierliche N-Eintrag umgewandelt werden kann und ist somit wichtig zur Erhaltung einer optimalen Wasserqualität.

Konstante Bedingungen sind auch Voraussetzung für die Ausbildung eines günstigen Biofloc-Aufkommens, was wiederum eine Besiedlungsfläche für die Mikroflora darstellt und zudem eine ergänzende natürliche Proteinquelle für die Garnelen bietet. Zu erwarten sind hierdurch eine verbesserte Futterverwertungsrate und die effizientere Nutzung der im System vorhandenen Nährstoffe (N und P).

Aus diesen Gründen ist ein stabiler Anlagenbetrieb entscheidend für eine nachhaltige Garnelenproduktion.

Maßnahmen zur Verbesserung des Tierwohls wurden im Vorhaben in Form des Angebots von Habitaten als Versteck- und Rückzugsmöglichkeit untersucht. Der Einsatz der Strukturen scheint das Stressniveau der Garnelen nicht zu beeinflussen. Einen Vorteil können die Strukturen aufgrund zusätzlicher Oberfläche für die Ansiedlung von Nitrifizierern bieten. Durch den Einsatz von Habitaten kann es zu eventuell unvorteilhaften Änderungen der Strömungsverhältnisse kommen. Zudem ist mit einer potentiell erhöhten Fracht an absetzbaren Stoffen zu rechnen. Diese Faktoren sollten bei der Implementierung zusätzlicher Strukturen in Haltebecken berücksichtigt werden.

Für die Produktqualität sind vornehmlich Betriebsfaktoren wie hochwertige Futtermittel und die Einhaltung der möglichst optimalen Haltebedingungen entscheidend. Hier haben sich keine Steuerungsmöglichkeiten in Bezug auf die untersuchten Management-Maßnahmen definieren lassen.

## **10 Ausarbeitung und Implementierung Betriebshandbuch für Bioflock-Anlagen bzw. Fazit und Ausblick**

Die Ausarbeitung eines detaillierten Betriebshandbuchs für BFT-Anlagen musste verschoben werden, nachdem gemeinsam mit dem Betreiber der Entschluss gefasst worden war, das Konzept der Wasseraufbereitung anzupassen und die Anlage im laufenden Betrieb umzubauen.

Der Anfang 2022 begonnene Umbau wurde erst nach Projektende, Mitte 2022, abgeschlossen. Die Details der Betriebsabläufe und die Feinregelung der neuen Komponenten, die in Kombination mit einer nach so niedriger Wassererneuerungsrate ausgelegten Anlage noch kein Stand der Technik sind, befinden sich in kontinuierlicher Optimierung. Mit der aufgebauten Datenbank DeltaA steht jedoch für den Betreiber ein wichtiges Werkzeug für die Betriebsüberwachung bereit.

Im Untersuchungszeitraum kam es aufgrund verschiedener Störfaktoren nicht zu einem stabilen Anlagenbetrieb, sodass keine Steuerungsverfahren erarbeitet werden konnten. Einige sensible Stellschrauben im Betrieb der prototypischen Anlage konnten identifiziert werden (Nitrifikation und DENI, sowie das Management der Bioflocs) und einige aufgetretene und hier beschriebene Probleme konnten gelöst werden: die Wasserqualität und die Erträge sind heute deutlich besser als vor einem Jahr und vor allem auf einem stabilisierten Niveau.

Das neue Konzept mit Parallelen zur Semi-Floc-Technologie, wurde in 2 von 3 Modulen umgesetzt und es zeigte sich, dass die Nitrat-Akkumulation gestoppt und die Konzentration von Nitrat bereits verringert werden konnte. Eine dritte Umbaustufe ist zur Zeit nicht geplant, da sich die Wasserqualität mit den beiden realisierten Stufen sehr gut einstellen lässt, bestätigt Herr Damm. So werden inzwischen durchgehend niedrig angesetzte maximale Konzentrationen für Ammonium- und Nitrit-Stickstoff unterschritten (0,5 mg/l bzw. 1 mg/l).

Die neueren Daten aus Kulturdurchgängen nach dem Umbau belegen, dass die Garnelenproduktion wirtschaftliche Zielvorgaben und - mit leichter Einschränkung beim Wärmeverbrauch - auch die angestrebten Kennzahlen der spezifischen Verbräuche erfüllen kann (s. Kap. 5.3.3 Bewertung der Ressourcen-Effizienz, Zertifizierbarkeit).

Im Rückblick haben sich zwar einige Schwachstellen der Biofloc-Technologie zumindest zeitweise gezeigt (Nitrit-Peaks), diese konnten durch die mit dem Betreiber vorgenommenen Anpassungen jedoch überwunden werden.

Von z.B. Jamal et al. (2020) beschriebene Negativaspekte, wie ein hoher Energiebedarf (für Belüftung und Wasserumwälzung), treffen in der untersuchten Anlage nach der technischen Optimierung und bei bestehender guter PL-Verfügbarkeit nicht zu (s. Kap. 5.3.3).

Auch das Risiko des für BFT-Systeme typischen höheren Sauerstoffverbrauchs und der damit verbundenen sehr kurzen Reaktionszeit zur Behebung eines technischen Mangels konnte minimiert werden.

### **Ausblick:**

Biofloc-basierte Aquakultur bietet vielfältige Vorteile, die in zahlreichen Studien belegt wurden (u.a. Review von Emerenciano et al. 2017, Jamal et al. 2020 und El-Sayed 2021) und wird angesichts einer wachsenden Weltbevölkerung und begrenzter Ressourcen sicher noch weiterentwickelt, auch für den Einsatz in Indooranlagen.

Großes Optimierungspotenzial sehen die Projektpartner in einer Verbesserung der PL-Akklimatisierung und daraus zu erwartender erhöhter Überlebensrate. Auch die Verfügbarkeit und Qualität der Besatztiere ist hierbei wesentlich. Die Bedeutung der Bezugsquelle bzw. der jeweils eingesetzten genetischen Zuchtlinien sollte weiter untersucht werden.

Für den Erfolg und die Nachhaltigkeit der Indoor-Garnelenproduktion ist es weiterhin essentiell, dass qualitativ hochwertige, an den Organismus und das Produktionssystem angepasste und ressourcenschonende Futtermittel zuverlässig zur Verfügung stehen.

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

Zum Thema Tierwohl gibt es für die Fisch-Aquakultur interessante Verfahren, die helfen den aktuellen Tierwohl-Zustand genauer zu erfassen und zu bewerten: Dr. Andreas Müller-Belecke (Institut für Binnenfischerei e.V.) hat für die Zander-Aufzucht ein Analyseinstrument für mehr Tierwohl entwickelt<sup>32</sup>, das eine Bewertung des Tierwohls ermöglicht. In einer Pressemitteilung des BLE zum Thema heißt es<sup>33</sup>: Mithilfe einer Excel-Anwendung können Fischhalter künftig betriebsindividuell einen Tierwohlinde mit Indikatoren wie Ernährungszustand, Schwimmverhalten oder Sauerstoffgehalt im Wasser ermitteln. Anwendbar ist das neue Instrument für die Regenbogenforelle und den europäischen Zander. Hier wäre auch eine spezifisch für die Garnelen-Aquakultur zu entwickelnde Software-Lösung wünschenswert.

Ob mit oder ohne Label: eine verantwortungsvolle Produktion unter effizientem Ressourceneinsatz ist notwendig. So hat eine Studie zu den globalen Phosphor-Kreislaufströmen ergeben, dass über die P-Frachten aus Aquakulturfuttermitteln eine Umkehrung der P-Ströme, die zuvor durch Fischerei aus dem Meer an Land gingen, inzwischen ins Meer gerichtet sind (s. Spiegel Wissenschaft<sup>34</sup> und Originalstudie: Huang et al. (2020): The shift of phosphorus transfers in global fisheries and aquaculture<sup>35</sup>).

Die Biofloc-Technologie kann für geeignete Aquakulturorganismen einen Ansatz bieten dem entgegen zu wirken, erfordert aber noch auf verschiedenen Ebenen Verbesserungen: insbesondere an die Indoor-Haltung angepasste Besatztiere und Futtermittel, weitere bedarfsorientierte Softwarelösungen und eine auf wachsender Erfahrung gegründete verbesserte Betriebsführung - Optimierungen, die nicht zuletzt einem verbesserten Tierwohl zugute kommen können.

Das Biofloc-Verfahren ist im Vergleich zu herkömmlicher RAS-Aquakultur komplexer und erfordert spezifisches Fachwissen des Betreuungsteams über Wechselwirkungen zwischen Biologie, Wasserchemie und Technik. Wir sind sehr zuversichtlich, dass wir mit der Zwitter-Lösung die positiven Aspekte beider Technologien vereinen.

Mit der Datenbank Delta, als Bestandteil der umfassenderen Datenbank DANA 2.0, steht uns ein wichtiges Mittel zur Betreuung und Echtzeit-Kontrolle zahlreicher Prozesse in den Betrieben zur Verfügung, mit dem wir die Risiken für die Anlagenbetreiber minimieren. Und darüber hinaus sehen wir in einer nach Inbetriebnahme fortgeführten, auf Respekt und Vertrauen basierenden Zusammenarbeit zwischen beratendem Planer und verantwortlichem Betreiber eine Voraussetzung für einen erfolgreichen und nachhaltigen Betrieb.



Abbildung 10-1: Kommunikation zwischen Polyplan-Kreikenbaum Mitarbeitern und Herrn Damm, vor Ort in der Anlage Damm Aquakultur

<sup>32</sup> <https://www.ifb-potsdam.de/seite/514107/referenzprojekte.html> (mit download-Option des excel-Tools)

<sup>33</sup> [https://www.ble.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/DE/2019/191015\\_Aquakultur.html](https://www.ble.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/DE/2019/191015_Aquakultur.html)

<sup>34</sup> Spiegel: <https://www.spiegel.de/wissenschaft/natur/fischzucht-kann-wegen-hohen-phosphorverbrauchs-die-nahrungssicherheit-gefaehrden-a-9bc61f57-d60b-4c1c-9a37-4809d1275056>

<sup>35</sup> <https://www.nature.com/articles/s41467-019-14242-7>

## 11 Literatur

- AG NASTAQ (2020). Nationaler Strategieplan Aquakultur 2021-2030 für Deutschland; [https://www.portal-fischerei.de/fileadmin/SITE\\_MASTER/content/Dokumente/Bund/Aquakultur/NASTAQ\\_2021-2030.pdf](https://www.portal-fischerei.de/fileadmin/SITE_MASTER/content/Dokumente/Bund/Aquakultur/NASTAQ_2021-2030.pdf)
- Bharadwaj AS, Patnaik S, Browdy CL, Lawrence AL (2016): Availability of dietary zinc sources and effects on performance of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *International Journal of Recirculating Aquaculture* Volume 13: 1-10
- Binalshikh-Abubkr T, Hanafiah MM, Das SK (2021): „Proximate Chemical Composition of Dried Shrimp and Tilapia Waste Bioflocs Produced by Two Drying Methods“. *Journal of Marine Science and Engineering*. 2021; 9(2):193. <https://doi.org/10.3390/jmse9020193>
- Boyd CE (2001): „Soil and water quality considerations in shrimp farming“, in: Haws MC and Boyd CE (eds.) *Methods for Improving Shrimp Farming in Central America*. In Central American University Press; 2001. p17-20.
- Bundesministerium für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus (Österreich): SWOT-Analyse EMFAF 2021 – 2027, Analyse der Stärken, Schwächen, Chancen und Risiken des österreichischen Aquakultur- und Fischereisektors; [https://info.bml.gv.at/themen/landwirtschaft/eu-fischereipolitik/emfaf-2021-2027/SWOT-Entwurf\\_EMFAF.html](https://info.bml.gv.at/themen/landwirtschaft/eu-fischereipolitik/emfaf-2021-2027/SWOT-Entwurf_EMFAF.html)
- Cytryn E, Minz D, Gieseke A, van Rijn J (2006): Transient development of filamentous *Thiothrix* species in a marine sulfide oxidizing, denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiol Lett* 256 (2006) 22–29
- Davis, D.A.; Samocha, T.M.; Boyd, C.E. (2004): “Acclimating Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to Inland, Low-Salinity Waters”. SRAC Publication No. 2601; Southern Regional Aquaculture Center (8 pages)
- Elangovan P, Rajagopalsamy Cbt, Ahilan B, Jeevagan JMA, Renuhadevi M (2018): Effect of dietary supplementation of biofloc meal on growth and survival of GIFT tilapia. *Indian Journal of Fisheries* 65(1):65-70, DOI: 10.21077/ijf.2018.65.1.72074-11
- El-Sayed A-F M (2021): Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a comprehensive review, with emphasis on the last decade; *Reviews in Aquaculture* (2021) 13, 676–705
- Emerenciano MGC, Martínez-Córdova LR, Martínez-Porchas M, Miranda-Baeza A (2017): Biofloc Technology (BFT): A Tool for Water Quality Management in Aquaculture; In book: *Water Quality*, Chapter: 5, Publisher: INTECH, Editors: Hlanganani Tutu; DOI 10.5772/66416.FAO. 2022. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Estrada N, Velázquez E, Rodríguez-Jaramillo C, Ascencio F (2016): Carbohydrate Moieties and Cytoenzymatic Characterization of Hemocytes in Whiteleg Shrimp *Litopenaeus vannamei*. *International Journal of Cell Biology*, vol. 2016, Article ID 9032181, 9 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9032181>
- Hanski I (1982): Dynamic of regional distribution: the core and satellite species hypothesis. *Oikos* 38: 210-222, Copenhagen 1982
- Jamal MT, Broom M, Al-Mur BA, AL Harbi M, Ghandourah M, Otaibi AA and Fazlul Haque MD (2020): Biofloc Technology: Emerging Microbial Biotechnology for the Improvement of Aquaculture Productivity; *Polish Journal of Microbiology*, 2020, Vol. 69, No 4, 401–409, <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-049>
- Khatoon H, Banerjee S, Tan Guan Yuan G, Haris N, Ikhwanuddin M, Azmi Ambak M, Endut A (2016): Biofloc as a potential natural feed for shrimp postlarvae, *International Biodeterioration & Biodegradation*, Volume 113, 2016, Pages 304-309, ISSN 0964-8305, <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.04.006>

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

- Lee C, Kim S, Lim SJ. et al. (2017): Supplemental effects of biofloc powder on growth performance, innate immunity, and disease resistance of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish Aquatic Sci* 20, 15 (2017). <https://doi.org/10.1186/s41240-017-0059-7>
- Lieke T, Steinberg CEW, Pan B, Perminova IV, Meinelt T, Knopf K, Kloas W (2021): Phenol-rich fulvic acid as a water additive enhances growth, reduces stress, and stimulates the immune system of fish in aquaculture; *Scientific Reports Nature Research*, [www.nature.com/scientificreports](http://www.nature.com/scientificreports)
- Liang, Zhi and Chen, Tianci and Yang, Furong and Li, ShuHong and Guo, Hui (2022): Toxicity of Chronic Waterborne Zinc Exposure in Pacific White Shrimp *Litopenaeus Vannamei*. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4146252> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4146252>
- Lin W, Luo H, Wu J, Hung T-C, Cao B, Liu X, Yang J, Yang P (2023): A Review of the Emerging Risks of Acute Ammonia Nitrogen Toxicity to Aquatic Decapod Crustaceans. *Water* 2023, 15, 27. <https://doi.org/10.3390/w15010027>
- Liu D, Marrodán Pellicer A, Brüggmann A, Meinelt T, Kiggen M, Behrens S, Good C, Strauss D.L. (2021): Effect of water hardness/alkalinity and humic substances on the toxicity of peracetic acid to zebrafish embryos and pathogenic isolates; November 2021; *Aquaculture Reports* 21:100900; DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100900
- Rodrigues de Lara G, Poersch LH, Wasielesky Jr. W: (2021): The quantity of artificial substrates influences the nitrogen cycle in the biofloc culture system of *Litopenaeus vannamei*; *Aquacultural Engineering* 94 (2021) 102171
- Romeis, B., 1968. *Mikroskopische Technik*. 16. Aufl. München Wien, R. Oldenbourg-Verlag München
- Serra FP, Gaona CAP, Furtado PS, Poersch LH, Wasielesky Jr. W (2015): Use of different carbon sources for the biofloc system adopted during the nursery and grow-out culture of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult Int* 23, 1325–1339 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10499-015-9887-6>
- Tepaamorndech S, Nookaew I, Higdon SM, Santiyanont P, Phromson M, Chantarasakha K, Mhuantong W, Plengvidhya V, Visessanguan W (2020): Metagenomics in bioflocs and their effects on gut microbiome and immune responses in Pacific white shrimp. *Fish & shellfish immunology* 106 (2020): 733-741.
- VERORDNUNG (EU) 2018/848 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 30. Mai 2018 über die ökologische/biologische Produktion und die Kennzeichnung von ökologischen/biologischen Erzeugnissen sowie zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 834/2007 des Rates
- Wickins, J. F. (1976): "The tolerance of warm-water prawns to recirculated water". *Aquaculture*, 9:19–37
- Wua J-P, Chen H-C, Huang D-J (2008): Histopathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium and zinc in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*; *Chemosphere* 73 (2008) 1019–1026
- 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)
- Xu W, Wen G, Su H, Xu Y, Hu X, Cao Y (2022): Effect of Input C/N Ratio on Bacterial Community of Water Biofloc and Shrimp Gut in a Commercial Zero-Exchange System with Intensive Production of *Penaeus vannamei*. *Microorganisms* 2022, 10, 1060. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10051060>

Polyplan-Kreikenbaum Gruppe GmbH

## **12 Anhang**

Inhalte s. separates Dokument „ANHANG“