

# Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

## Institut für Biowissenschaften

**Fachgebiet:** Mikrobiologie

Betreuer: Prof. Dr. Harry W. Palm

(e-mail: [harry.palm@uni-rostock.de](mailto:harry.palm@uni-rostock.de))

## **Titel: Microbial communities and its pathogens in open and freshwater aquaculture systems in Northern Germany**

### **Abstract (English Zusammenfassung)**

Aquaculture industry in Germany has been shifting over the last decades due to increased global product demands, and increased economic and legislative pressures arising from a changing society. Traditional aquaculture systems experience difficulties to reach a sustainable production due to several constrains. In parallel, the interest in recirculating aquaculture systems (RAS) has been increasing, in particular with fish species (p.e. African catfish) that better tolerate the intensive rearing conditions. Understanding microbial dynamics in all German aquaculture systems is essential to optimize system performance, prevent disease, and ensure animal welfare.

The understanding on how different environmental conditions, operational designs and management strategies influence the microbial community was the main aim of this research. The final aim was to investigate environmentally friendly strategies to prevent disease and improve water quality in RAS. This led to the experimentation with microbes from the system, which have characteristics that are beneficial for the system.

Classical bacteriology methods were used for isolating and phenotypically or genetically characterizing the bacteria from the aquaculture systems. Molecular methods, in particular the sequencing of 16S rRNA gene, were used to taxonomically describe water microbiomes. The microbiome communities' studies took place at three freshwater aquaculture systems in northern Germany, including two open systems (one pond and one flow-through system) and one Recirculating Aquaculture System (RAS).

The results from 16s rRNA sequencing demonstrated that external conditions (water source, climatology, water quality) and variables (system design, fish species reared and management strategies) strongly influence the composition of microbial communities. In general, the water microbiomes had two to three core bacterial phyla, but differed in many other phyla that were not dominating the community. At the open aquaculture systems, differences in the microbiomes between

the inflowing and discharge water were noted, although not statistically significant. These differences indicated a promotion of heterotrophic microbial groups within the aquaculture system. Available research showed that the identified heterotrophic bacteria could degrade compounds that typically are produced due to aquaculture activities, such as organic or N compounds. Part of heterotrophs were known as potential fish pathogens, and increased in abundance at the discharge water. The study from the flow-through system using bacteriology methods confirmed the increased presence of such bacteria during the most intensive production phase in summer. Some were the causative agents of fish infections that appeared during the investigated time period.

The comparison between three different African catfish RAS examined the influence that fish biomass has on the microbiome community. Results showed that fish biomass significantly affected microbial diversity, and differential abundance of species across different systems. Communities also differed across different compartments of the system (inflow, outflow, and sediment water). Despite these differences, all systems shared the most dominant species (i.e., a core microbiome). For instance, *Mycobacterium* sp. was the most abundant pathogen detected at all RAS, especially in the high fish biomass system. Fish biomass was a factor that strongly influenced the structure of the microbiome, probably due to modifications in the water physico-chemical conditions. In addition, fish species and the source of water potentially contributes to the microbial succession in RAS.

Freshwater microbial communities in German aquaculture are determined by manifold factors, including system design, management practices and production intensity. These findings have a direct implication for preventive health management in German aquaculture. They support the proactive microbial and environmental monitoring of the systems, which could substitute other disease preventive methods, such as chemical treatments, that harm the natural ecosystems. The work emphasizes the need to integrate microbial monitoring as an essential part for aquaculture management. Useful monitoring tools include molecular techniques and bacteriological methods, which should be chosen depending on the scope and purpose of the monitoring strategy. The acumen of these studies provides further knowledge into microbial communities' dynamics and the occurrence of pathogens in the freshwater aquaculture systems typically used in Germany. By doing so, the thesis contributes to the development of more sustainable aquaculture practices in Germany, and suggests environmentally friendly practices to prevent fish disease.

## Deutsche Zusammenfassung

Die Aquakultur in Deutschland befindet sich seit mehreren Jahrzehnten im Wandel, bedingt durch eine steigende globale Nachfrage nach Fischprodukten sowie zunehmende ökonomische und gesetzliche Anforderungen einer sich verändernden Gesellschaft. Traditionelle Aquakultursysteme stehen dabei vor erheblichen Herausforderungen hinsichtlich einer nachhaltigen Produktion, unter anderem aufgrund begrenzter Ressourcen, Umweltauflagen und gesundheitsbezogener Risiken. Parallel dazu hat das Interesse an Kreislaufanlagen (Recirculating Aquaculture Systems, RAS) zugenommen, insbesondere für Fischarten wie den Afrikanischen Wels (*Clarias gariepinus*), die intensive Haltungsbedingungen vergleichsweise gut tolerieren. Ein umfassendes Verständnis der mikrobiellen Dynamiken in deutschen Aquakultursystemen ist daher essenziell, um die Systemleistung zu optimieren, Krankheiten vorzubeugen und das Tierwohl sicherzustellen.

Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, wie unterschiedliche Umweltbedingungen, technische Systemausführungen und Managementstrategien die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften beeinflussen. Darüber hinaus sollte analysiert werden, inwiefern umweltfreundliche Strategien zur Krankheitsprävention und Verbesserung der Wasserqualität in RAS entwickelt werden können. Dies führte zur experimentellen Nutzung systemeigener Mikroorganismen mit potenziell positiven Eigenschaften für die Stabilität und Funktionalität der Anlagen.

Zur Isolierung sowie phänotypischen und genetischen Charakterisierung von Bakterien aus Aquakultursystemen wurden klassische bakteriologische Methoden eingesetzt. Molekularbiologische Verfahren, insbesondere die Sequenzierung des 16S-rRNA-Gens, dienten der taxonomischen Beschreibung der Wassermikrobiome. Die Untersuchungen der mikrobiellen Gemeinschaften erfolgten in drei Süßwasser-Aquakultursystemen in Norddeutschland, darunter zwei offene Systeme (ein Teich- und ein Durchflusssystem) sowie eine Kreislaufanlage (RAS).

Die Ergebnisse der 16S-rRNA-Sequenzierung zeigten, dass externe Faktoren wie Wasserquelle, klimatische Bedingungen und Wasserqualität sowie systeminterne Variablen wie Anlagendesign, gezüchtete Fischart und Managementstrategien die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften maßgeblich beeinflussen. Generell wiesen die Wassermikrobiome zwei bis drei dominante bakterielle Phyla auf, unterschieden sich jedoch in zahlreichen weiteren, nicht dominanten Phyla. In den offenen Systemen wurden Unterschiede zwischen Zulauf- und Ablaufwasser festgestellt, wenngleich diese statistisch nicht signifikant waren. Die beobachteten Verschiebungen deuteten auf eine Förderung heterotropher mikrobieller Gruppen innerhalb der Aquakultursysteme hin. Literaturgestützte Analysen zeigten, dass diese heterotrophen Bakterien in der Lage sind, organische Substanzen und Stickstoffverbindungen abzubauen, die typischerweise im Rahmen aquakultureller

Produktionsprozesse entstehen. Ein Teil dieser heterotrophen Bakterien ist jedoch auch als potenziell fischpathogen bekannt und nahm im Ablaufwasser an Häufigkeit zu. Die bakteriologischen Untersuchungen im Durchflusssystem bestätigten eine erhöhte Präsenz solcher Bakterien während der intensivsten Produktionsphase im Sommer, wobei einige als Erreger der im Untersuchungszeitraum aufgetretenen Fischinfektionen identifiziert wurden.

Der Vergleich von drei RAS zur Haltung des Afrikanischen Welses untersuchte den Einfluss der Fischbiomasse auf die Zusammensetzung des Mikrobioms. Die Ergebnisse zeigten, dass die Fischbiomasse die mikrobielle Diversität sowie die differentielle Häufigkeit einzelner Taxa signifikant beeinflusste. Zudem unterschieden sich die mikrobiellen Gemeinschaften zwischen verschiedenen Systemkompartimenten (Zulauf, Ablauf und Sedimentationsbecken). Trotz dieser Unterschiede teilten alle Systeme einige dominante Arten im Sinne eines Kernmikrobioms. Beispielsweise wurde *Mycobacterium* sp. als häufigster potenzieller Krankheitserreger in allen RAS nachgewiesen, insbesondere in Systemen mit hoher Fischbiomasse. Die Fischbiomasse stellte somit einen zentralen Einflussfaktor auf die Struktur des Mikrobioms dar, vermutlich durch Veränderungen physikochemischer Wasserparameter. Darüber hinaus trugen die gezüchtete Fischart sowie die Wasserquelle zur mikrobiellen Sukzession in RAS bei.

Insgesamt wird deutlich, dass die mikrobiellen Gemeinschaften in der deutschen Süßwasseraquakultur durch eine Vielzahl von Faktoren bestimmt werden, darunter Systemdesign, Managementpraktiken und Produktionsintensität. Diese Ergebnisse haben unmittelbare Bedeutung für ein präventives Gesundheitsmanagement in der deutschen Aquakultur. Sie unterstützen die Etablierung eines proaktiven mikrobiellen und umweltbezogenen Monitorings, das potenziell andere Präventivmaßnahmen gegen Krankheiten mit negativen Umweltauswirkungen, wie den Einsatz von Chemikalien, reduzieren kann. Die Arbeit unterstreicht die Notwendigkeit, mikrobielles Monitoring als integralen Bestandteil des Aquakulturmanagements zu etablieren. Geeignete Instrumente umfassen sowohl molekularbiologische als auch klassische bakteriologische Methoden, die je nach Zielsetzung kombiniert eingesetzt werden sollten. Die vorliegende Arbeit erweitert das Verständnis der Dynamik mikrobieller Gemeinschaften sowie des Auftretens potenzieller Pathogene in Deutschlands typischen Süßwasser-Aquakultursystemen. Damit leistet sie einen Beitrag zur Entwicklung nachhaltigerer Aquakulturpraktiken und zur Etablierung umweltfreundlicher Strategien zur Prävention von Fischkrankheiten in Deutschland.