



WAGENINGEN UR
For quality of life

Wageningen IMARES

Optimalisatie van een nursery systeem voor de kweek van mosselbroed en een algenkweek systeem t.b.v. deze nursery

Frank Peene

Rapport nr. 06.008
7 juli 2006



Wageningen IMARES is een
samenwerkingsverband tussen
Wageningen UR en TNO



Wageningen IMARES

Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies

Vestiging IJmuiden
Postbus 68
1970 AB IJmuiden
Tel.: 0255 564646
Fax: 0255 564644

Vestiging Yerseke
Postbus 77
4400 AB Yerseke
Tel.: 0113 672300
Fax: 0113 573477

Vestiging Texel
Postbus 167
1790 AD Den Burg Texel
Tel.: 0222 369700
Fax: 0222 329235

Internet: www.wageningenimares.wur.nl
E-mail: imares@wur.nl

Intern rapport

Nummer: 06.008

Optimalisatie van een nursery systeem voor de kweek van mosselbroed en een algenkweek systeem t.b.v. deze nursery.

Auteur: Frank Peene
Project nummer: Blue Seed 3031220021
Datum: 7 juli 2006

Dit rapport is gerealiseerd in samenwerking met:



Aantal exemplaren:	9
Aantal pagina's:	70
Aantal tabellen:	14
Aantal figuren:	37
Aantal bijlagen:	6

Wageningen IMARES is een samenwerkingsverband tussen Wageningen UR en TNO. Wij zijn geregistreerd in het Handelsregister Amsterdam nr. 34135929 BTW nr. NL 811383696B04



De Directie van Wageningen IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, alsmede voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van Wageningen IMARES; opdrachtgever vrijwaart Wageningen IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets van dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

Voorwoord

Dit interne rapport is het afstudeerrapport over het onderzoek gedurende mijn stage bij Wageningen IMARES, vestiging Yerseke. Het rapport is geschreven in het kader van het afstuderen aan de Hogeschool Zeeland, opleiding Aquatische Ecotechnologie. De studie die tijdens deze periode (stage 2) uitgevoerd is, is een literatuurstudie naar systemen voor de nursery van mosselen en systemen voor grootschalige algenkweek ten behoeve van deze nursery. Ook zijn experimenten uitgevoerd ter optimalisatie van een nursery systeem en een algenkweek systeem (afstudeerperiode). Deze experimenten komen ook in dit rapport aan bod.

Hogeschool Zeeland, IMARES vestiging Yerseke en Roem van Yerseke B.V. hebben mij de mogelijkheid geboden dit onderzoek uit te voeren. In het bijzonder wil ik mijn bedrijfsmentor Pauline Kamermans en mijn stagebegeleider Jouke Heringa bedanken voor hun inzet. Deze stage was zonder deze begeleiding nooit zo'n succes geworden.

Frank Peene

Samenvatting

Omdat het jaarlijkse natuurlijke aanbod van mosselzaad sterk fluctueert en de visserij op mosselzaad in de Waddenzee en Oosterschelde gelimiteerd is, is er behoefte aan nieuwe technieken om aan de vraag van mosselzaad te kunnen blijven voldoen. Om het tekort aan mosselzaad op te vullen en niet geheel afhankelijk te zijn van het natuurlijke aanbod is Roem van Yerseke B.V. te Yerseke een zogenaamde hatchery (broedhuis) en nursery (kinderkamer) begonnen voor een gecontroleerde productie van mosselzaad.

De nursery fase is de stap tussen de volledig gecontroleerde hatchery van de larve en het opgroeien in het wild. Het doel van deze nursery is de broedjes uit de hatchery op te laten groeien tot zaad van 10 mm in lengte, in een zo kort mogelijke tijd, bij een zo hoog mogelijke dichtheid en bij minimale kosten. Naast de ongecontroleerde nursery in het veld zijn er in de loop der tijd verschillende systemen ontwikkeld voor de gecontroleerde nursery op het land. Een vergelijking tussen de meest gebruikte systemen, het opwelling systeem, het downwelling systeem en de flupsy (Floating Upwelling System), leert ons dat de flupsy in staat is de hoogste dichtheid broed te kunnen herbergen waardoor de omvang van dit systeem klein is. De andere twee systemen gaan uit van een lagere dichtheid van het broed waardoor ze groter zijn in omvang. De flupsy heeft echter wel een grote waterstroom nodig om de broedjes van voldoende voedsel te voorzien. De elektriciteitskosten zijn dan ook hoger. De onderhoudskosten van het flupsy- en opwelling systeem zijn nagenoeg gelijk terwijl de onderhoudskosten van het downwelling systeem veel hoger zijn. De onderhoudskosten vormen bij alle systemen een groot deel (zo'n 95%) van de totale kosten per jaar. Mede doordat het opwelling systeem veel langer mee gaat dan de flupsy, kunnen we concluderen dat het opwelling systeem het meest geschikte systeem is voor de nursery van mosselbroed.

Het meest geschikte systeem, het opwelling systeem, is vervolgens geoptimaliseerd door middel van een drietal experimenten. Uit deze experimenten blijkt dat opkweken van mosselbroed bij een lage dichtheid ($7,6 \text{ kg/m}^2$) beter is dan opkweken bij een hoge dichtheid (60 kg/m^2). Het broed groeit bij een lage dichtheid harder dan bij een hoge dichtheid bij een gelijke voedingsratio. Hierdoor kan het broed sneller de nursery verlaten en uitgezaaid worden op een perceel of gebruikt worden in de hangcultuur. Ook blijkt dat bij voeden met de algensoort *Dunaliella tertiolecta* met een voedingsratio van 0,48 de groei en conditie van het mosselbroed niet significant beter is dan bij een voedingsratio van 0,24. Omdat het broed dat gevoerd is met een voedingsratio van 0 niet significant gegroeid is, kunnen we concluderen dat het voeden met algen erg belangrijk is in de nursery fase. Tussen de groei en kwaliteit van het broed wanneer het is opgekweekt met de algensoorten *Dunaliella tertiolecta* of *Chaetoceros muelleri* zit geen significant verschil. Een combinatie van beide soorten zorgt echter voor de beste groei en de beste kwaliteit van het mosselbroed.

Voor het optimaliseren van deze nursery is een grootschalige algenkweek nodig als voer voor het mosselbroed. Voor deze algenkweek worden zowel open als gesloten systemen (fotobioreactoren) gebruikt. Voor de commerciële kweek van algen en de kweek van algen voor toepassing in de aquacultuur wordt voornamelijk gebruik gemaakt van open systemen. De reden hiervoor is dat open systemen veel goedkoper zijn dan gesloten systemen. Bovendien is voor gesloten systemen vaak een kunstmatige lichtbron nodig wat resulteert in hoge energiekosten terwijl bij open systemen gebruik wordt gemaakt van zonlicht. Uit de vergelijking van de algenkweek systemen kunnen we echter concluderen dat de fotobioreactor het meest geschikte systeem is voor de grootschalige algenkweek omdat dit systeem zorgt voor een uniforme mixing van de cultuur, het licht wordt zeer efficiënt gebruikt, de temperatuur is controleerbaar en doordat het een gesloten systeem is, is de kans op contaminatie met andere soorten klein. Dit resulteert in een hogere maximaal haalbare celconcentratie t.o.v. de andere systemen waardoor de omvang van het systeem kleiner is.

De kweek van de algensoort *Dunaliella tertiolecta* in een open tank is geoptimaliseerd door middel van een drietal experimenten. Uit deze experimenten blijkt dat bij het bereiken van de cultuur met 0,40 gram NH_4Cl en 0,045 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ per 20 liter de hoogste maximale celconcentratie optreedt. Verder blijkt dat maximale celconcentratie van de cultuur toeneemt bij een hogere temperatuur en bij meer zonneschijn. Beluchting van de cultuur heeft echter geen invloed op de maximale celconcentratie.

Abstract

Because the annual natural supply of musselseed fluctuates strongly and the fishery on musselseed in de Waddenzee and Oosterschelde (Netherlands) is limited, there is a need for new techniques to satisfy the demand for musselseed. Because of that Roem van Yerseke B.V. in Yerseke (The Netherlands) started a hatchery and nursery for a controlled production of musselseed as an additional supply.

The nursery phase is a step between the completely controlled hatchery of the larvae and grow out in the field. The goal of this nursery is to rear mussel spat to seed of 10 mm in length, in a short time, at a maximal density and with minimal costs. Beside the uncontrolled nursery outside, different systems are used for the controlled nursery indoors. A comparison between the different most used systems, the upwelling system, downwelling system and flupsy (floating upwelling system), shows that the flupsy is able to keep spat with a very high density. The size of this system is relatively small. The other systems are only capable to keep the spat at low densities which results in large systems. To provide the spat with enough food (algae) the flupsy needs a large water flow. Because of that, the electricity costs of this system are higher. The maintenance costs of the flupsy and upwelling system are almost the same, however the maintenance costs of the downwelling system are much higher. For all the systems, the maintenance costs are a very big part of the total costs (around 95%). Because the amortization of the upwelling system is much longer than the flupsy, we can conclude that the upwelling system is the most suitable system to rear mussel spat.

The most suitable system, an upwelling system is optimized by means of three experiments. Due to those experiments we can conclude that rearing mussel spat with a low density (7,6 kg/m²) is better than rearing mussel spat with a high density (60 kg/m²). The mussel spat grows faster at a low density than at a high density with an equal feeding rate. Because of this the mussel spat can leave the nursery faster to grow out on a bottom-culture or in a suspended culture. Another experiment shows that feeding with the algae *Dunaliella tertiolecta* with a feeding rate of 0,48 does not result in a better growth and condition of the mussel spat compared with a feeding rate of 0,24. Because the mussel spat which was fed with a feeding rate of 0 did not grow significantly, we can conclude that feeding the spat with algae is very important during the nursery phase. Between the growth and quality of the spat fed with the algae species *Dunaliella tertiolecta* or *Chaetoceros muelleri* no significant difference was noticed. A combination of those two species however results in the best growth and the best quality of the mussel spat.

To optimize the nursery, a large-scale algal culture is necessary as food for the spat. For this algal culture, open systems as well as closed systems (photobioreactors) are used. For the commercial algal culture and for application in aquaculture mostly open systems are used because those systems are cheaper than closed systems. Besides most of the closed systems need an artificial light source which results in high energy costs while open systems use sunlight. However, the light utilization efficiency is much higher in the photobioreactors than in the open systems. The chance of contamination with other species is much higher in open systems than in closed systems. We can conclude that the photobioreactor is the most suitable system for the large-scale production of algae because this system offers the best conditions for the optimal growth of the algae. Due to the high purchase-costs, those systems are not (yet) used very often in shellfish-hatcheries.

The culture of algae *Dunaliella tertiolecta* in an open tank is optimized by means of three experiments. Due to those experiments we can conclude that in the cultures which were enriched with 0,40 gram NH₄Cl en 0,045 gram NaH₂PO₄·2 H₂O per 20 liter, the highest maximum cellular concentration occurs. The temperature and sunshine both have a significant

positive effect on the maximum cellular concentration. On the other hand, the aeration of the culture has no effect on the maximum cellular concentration.

Inhoudsopgave

Voorwoord.....	2
Samenvatting.....	3
Abstract	5
Inhoudsopgave.....	7
1 Inleiding.....	10
1.1 Aanleiding	10
1.2 Blue Seed	10
1.3 Doelstelling	11
1.4 Onderzoeksvragen.....	11
2 Inventarisatie nursery systemen	13
2.1 Doelstelling	13
2.2 Methode	13
2.3 De mossel	13
2.4 Voeding en spijsvertering	13
2.5 Ademhaling	14
2.6 Levenscyclus	14
2.7 Hatchery, nursery en grow-out.....	15
2.8 Traditionele mosselweek	15
Bodemcultuur	15
Off-bottom	15
Hangcultuur	16
2.9 Nursery in het veld.....	16
Suspended-nursery.....	16
Flupsy	16
2.10 Nursery aan land	18
Raceways	18
Downwelling.....	18
Upwelling.....	19

2.11 Kostenberekening nursery systemen	20
2.12 Vergelijking van de nursery systemen	24
2.13 Discussie	25
2.14 Conclusie	25
3. Experimenten nursery systeem.....	27
3.1 Doelstelling	27
3.2 Materiaal en methode.....	27
3.3. Experimenten beschrijving	29
Experiment 1	29
Experiment 2	29
Experiment 3	30
3.4 Resultaten	30
3.5 Discussie	40
3.6 Conclusie	41
4. Inventarisatie algenkweek systemen	42
4.1 Doelstelling	42
4.2 Methode.....	42
4.3 Welke algen zijn geschikt?	42
4.4 Grootschalige algencultuur	43
4.5 Open systemen	43
Open tank of vijver.....	43
Open raceway	44
Open cilindrische tanks	45
4.6 Gesloten systemen	45
Fotobioreactoren.....	45
4.7 Vergelijking Algenkweek systemen	46
4.8 Discussie	46
4.9 Conclusie	47
5. Experimenten algenkweek.....	48
5.1 Doelstelling	48
5.2 Materiaal en methode.....	48

5.3 Resultaten.....	50
Experiment 1	50
Experiment 2	51
Experiment 3	52
5.4 Discussie	53
5.5 Conclusie	53
6. Aanbevelingen	54
7. Verwijzingen	55
Bijlage 1: Berekening omvang nursery	57
Bijlage 2: Methode van algenkweek in plastic zakken	58
Bijlage 3: Algen tellen m.b.v. een hematocytometer	61
Bijlage 4: Berekeningen voor nursery- experimenten	63
Bijlage 5: Drooggewicht bepaling van algen	64
Bijlage 6: Statistische analyses	65
Nursery experimenten	65
Experimenten algenkweek	70

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

De productie van de mossel (*Mytilus edulis*) is een belangrijke vorm van aquacultuur in de EU. De jaarlijkse productie van mosselen aan de Atlantische Oceaan bedroeg 300000 à 500000 metrische tonnen (MT) in de periode tussen 1990 en 2001. Ongeveer 50% van de mosselproductie komt uit de aquacultuur. Belangrijke landen in de mosselproductie zijn Spanje, Nederland, Denemarken, Frankrijk, Engeland, Ierland en Duitsland terwijl landen als Noorwegen en Zweden in opkomst zijn (Smaal, 2002). De totale waarde van de mosselproductie in de Europese Atlantische zone was in 2001 meer dan €300 miljoen (www.fao.org). In Nederland zijn zo'n 3500 mensen betrokken bij de schelpdierweek.

De Europese mosselproducenten komen echter voor problemen te staan. Het eerste probleem is dat het natuurlijke aanbod van mosselzaad sterk fluctueert. Dit zaad wordt voornamelijk opgevoerd van de zogenaamde mosselbanken of geoogst van de zogenaamde mosselzaadvang installaties (MZI's). Bedrijven zijn tot dusver volledig afhankelijk van dit natuurlijke aanbod. Het vissen op mosselzaad wordt bovendien meer en meer aan banden gelegd door verschillende wet- en regelgeving. Zo is de visserij op mosselzaad in de Waddenzee en Oosterschelde sterk gelimiteerd. Er is dus een sterke behoefte aan nieuwe technieken om aan de vraag van mosselzaad te kunnen blijven voldoen. Om het tekort aan mosselzaad op te vullen en niet geheel afhankelijk te zijn van het natuurlijke aanbod is Roem van Yerseke B.V. te Yerseke een zogenaamde hatchery (broedhuis) en nursery (kinderkamer) begonnen voor een gecontroleerde productie van mosselzaad. Deze hatchery/nursery techniek wordt voor de mossel nog maar sporadisch op commerciële schaal toegepast, dit pilot-project verkeert dus nog in een beginstadium.

1.2 Blue Seed

Omdat de hatchery/nursery van mosselen nog in de kinderschoenen staat, is er onder de noemer van 'Blue Seed' een onderzoek gestart naar de mogelijkheden voor het gecontroleerd opkweken van mosselzaad (zie ook www.blueseedproject.com). Er zijn echter nog veel onzekerheden en lacunes in kennis over de hatchery/nursery van mosselen. Blue Seed, het project waarbinnen mijn stage zal plaatsvinden, heeft dan ook als doel om de mosselhatchery/nursery te optimaliseren op praktijkschaal. De rol van IMARES is daarbij vooral de productie van larven terwijl Roem van Yerseke zal zorgen voor de nursery-fase, het opgroeien van het broed tot zaad van 10 mm. Verder speelt Hangcultuur Neeltje Jans een rol omdat broed uit de hatchery naar de hangcultuur van Neeltje Jans wordt gebracht om op te groeien. Het uiteindelijke doel van het project is het opzetten van een goed functionerende mossel hatchery/nursery die voor een aanvulling van mosselzaad zal zorgen onafhankelijk van de tijd van het jaar. Blue Seed is een internationaal project, de betrokken instanties zijn:

IMARES (voorheen Netherlands Institute for Fisheries Research (RIVO), the Netherlands
Grainocean, France
Neeltje Jans, the Netherlands
Deepdock Ltd, UK
Galician Mussel Producers Organisation (OPMEGA), Spain
Roem van Yerseke, the Netherlands
European Network for Training and Technology Transfer in
Aquaculture (AquaTT), Ireland
IFREMER, France
University of Wales (UWB), United Kingdom
Centro de Investigaciones Maríñas (CIMA), Spain



1.3 Doelstelling

Het doel van mijn stage is na te gaan welke technieken worden gebruikt voor de nursery (er is sprake van het laten opgroeien van de mosselen) van tweekleppigen, door middel van een literatuurstudie. Bovendien is het doel na te gaan wat het meest geschikte systeem is aan de hand van een kosten- en batenanalyse. Omdat het broed naarmate het groeit in de nursery steeds meer algen nodig heeft, is het van belang een grootschalige algenkweek op te zetten ten behoeve van deze nursery. Eerst is door middel van literatuuronderzoek nagegaan welke mogelijkheden er zijn voor de grootschalige productie van algen en welke algen geschikt zijn als voer voor het broed. Na deze literatuurstudies is het meest geschikte nursery systeem en een geschikt algenkweek systeem opgebouwd bij de hatchery van Roem van Yerseke B.V.. Door middel van verschillende experimenten is vervolgens het nursery- en algenkweek systeem geoptimaliseerd.

1.4 Onderzoeksvragen

De onderzoeksvragen die bij de literatuurstudie van stage 2 horen zijn:

- Welke systemen worden gebruikt voor de nursery van tweekleppigen en in het bijzonder voor mosselen?
- Welk systeem is het meest geschikt voor de nursery van mosselbroed (*Mytilus edulis*)? Om tot een antwoord te komen op deze vraag zijn de volgende subvragen van belang:
 - o Wat is de capaciteit van dit systeem en hoeveel ruimte neemt het in beslag?
 - o Wat zijn de aanschafkosten van dit systeem?
 - o Wat zijn de onderhoudskosten van het systeem?
 - o Wat zijn de elektriciteitskosten van het systeem?
 - o Hoeveel ruimte neemt het systeem in beslag?
 - o Voor welke afmetingen van broed is het systeem geschikt?
 - o Wat is de benodigde toestroom van vers zeewater?
- Welke algen zijn geschikt als voedsel voor mosselbroed?
- Welke systemen worden gebruikt voor de grootschalige kweek van algen ten behoeve van de kweek van broed in een nursery?
- Welk systeem is het meest geschikt voor de grootschalige productie van algen ten behoeve van de kweek van mosselbroed in een nursery? Hierbij spelen de volgende subvragen een rol:
 - o Wat is de capaciteit van dit systeem en hoeveel ruimte neemt het in beslag?
 - o Voor welke algensoorten is het systeem geschikt?
 - o Is de temperatuur controleerbaar?
 - o Zijn de soorten in de cultuur controleerbaar?

De onderzoeksvragen die bij de experimenten van de afstudeerperiode horen zijn:

- Kan mosselbroed worden opgekweekt met een grotere dichtheid dan 7.6 kg/m^2

(De lage dichtheid van $7,6 \text{ kg m}^{-2}$ is hierbij de optimale dichtheid volgens Helm et al. (2004). De hoge dichtheid van 60 kg m^{-2} is de helft van de dichtheid waarbij volgens Bishop Aquatic Technologies Inc. (www.fukuina.com)) schelpdierbroed kan worden gehouden)

- o Is er een verschil in lengte en gewicht tussen mosselbroed dat opgekweekt is bij een hoge- en lage dichtheid?

- o Is er een verschil in vleesgewicht tussen mosselbroed dat opgekweekt is bij een hoge- en lage dichtheid?
- o Is er een verschil in percentage organische stof tussen mosselbroed dat opgekweekt is bij een hoge- en lage dichtheid?
- o Is er een verschil in ratio vleesgewicht/schelpgewicht tussen mosselbroed dat opgekweekt is bij een hoge- en lage dichtheid?
- Groeit mosselbroed beter bij een voedingsratio van 0.1 of 0.2?

(Een voedingsratio van 0.4 zorgt volgens Helm et al. voor een goede groei van schelpdierbroed. De productie van algen die nodig is voor deze ratio was helaas niet haalbaar. Daarom is gekozen te voeren met de helft van deze ratio (0,2) en een kwart van deze ratio (0,1).)

- o Is er een verschil in lengte en gewicht tussen mosselbroed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2?
- o Is er een verschil in vleesgewicht tussen mosselbroed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2?
- o Is er een verschil in percentage organische stof tussen mosselbroed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2?
- o Is er een verschil in ratio vleesgewicht/schelpgewicht tussen mosselbroed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2?
- Welke algensoort is het meest geschikt als voer voor mosselbroed; *Dunaliella tertiolecta*, *Chaetoceros muelleri* of een combinatie van deze soorten? ?

*(Er is gekozen voor *Dunaliella tertiolecta* omdat deze soort domineerde in de algencultuur op basis van natuurlijk fytoplankton. *Chaetoceros muelleri* is gebruikt omdat bekend is dat deze algensoort geschikt is als voedsel voor mosselbroed.)*

- o Is er een verschil in lengte en gewicht tussen mosselbroed dat gevoerd is met de algensoorten *Dunaliella tertiolecta*, *Chaetoceros muelleri* of een combinatie van deze soorten?
- o Is er een verschil in vleesgewicht tussen mosselbroed dat gevoerd is met de algensoorten *Dunaliella tertiolecta*, *Chaetoceros muelleri* of een combinatie van deze soorten?
- o Is er een verschil in percentage organische stof tussen mosselbroed dat gevoerd is met de algensoorten *Dunaliella tertiolecta*, *Chaetoceros muelleri* of een combinatie van deze soorten?
- o Is er een verschil in ratio vleesgewicht/schelpgewicht tussen mosselbroed dat gevoerd is met de algensoorten *Dunaliella tertiolecta*, *Chaetoceros muelleri* of een combinatie van deze soorten?
- Is er een relatie tussen de temperatuur en de bereikte maximale celconcentraties?
- Is er een relatie tussen het aantal zonuren en de bereikte maximale celconcentraties?
- Zorgt beluchting voor een hogere (maximale) celconcentratie van de cultuur?
 - o Na hoeveel dagen wordt deze maximale celconcentratie bereikt?
- Is de hoeveelheid nutriënten van invloed op de maximale celconcentratie van de cultuur?
 - o Na hoeveel dagen wordt deze maximale celconcentratie bereikt?

2 Inventarisatie nursery systemen

2.1 Doelstelling

De hatchery/nursery techniek wordt voor de mossel nog maar sporadisch op commerciële schaal toegepast. Een commerciële hatchery voor mosselen bestaat nog niet in Europa. Er is dus ook nog niets bekend over welk systeem het meest geschikt is voor het opkweken van mosselbroed in een nursery. Het doel van deze literatuurstudie is te inventariseren welke systemen worden de nursery van ander schelpdierbroed.

2.2 Methode

De methode of beter gezegd werkwijze die ik heb gebruikt voor het beantwoorden van mijn onderzoeksvragen omtrent de inventarisatie van systemen voor de nursery van mosselbroed is het doen van een literatuurstudie. Daarbij heb zowel gebruik gemaakt van artikelen die ik gevonden heb op het internet als artikelen en boeken uit de bibliotheek van IMARES Yerseke. Voor het zoeken naar informatie op internet heb ik gebruik gemaakt van zoekmachines (www.google.nl en www.altavista.com) en de database van sciencedirect (www.sciencedirect.com). Voor het zoeken van informatie in de bibliotheek van IMARES Yerseke heb ik gebruik gemaakt van het programma Endnote. Allereerst is informatie gezocht over systemen die gebruikt worden voor de nursery van schelpdieren. Vervolgens zijn deze systemen met elkaar vergeleken. Daarvoor heb ik o.a. de aanschaffkosten, onderhoudskosten en benodigde ruimte berekend. Bovendien heb ik gekeken naar andere voor- en nadelen zoals de benodigde toestroom van water en voor welke grootte broed het systeem geschikt is.

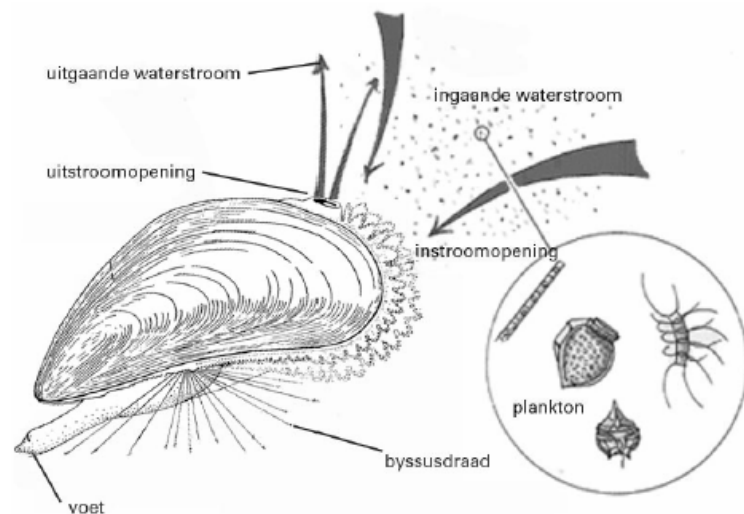
Stam: Weekdieren Klasse: Tweekleppigen Subklasse: Pteriomorpha Orde: Mytiloida Familie: Mytilidae Genus: Mytilus

2.3 De mossel

Om te kunnen nagaan welk systeem het meest geschikt is voor de nursery van mosselen is het goed stil te staan bij de bouw en levensfuncties van een mossel, zodat kan worden getoetst of aan de ideale leefomstandigheden van de mossel wordt voldaan. De mossel (*Mytilus edulis*) is een weekdier of mollusk en behoort tot de klasse van tweekleppigen of bivalven. Het weke lichaam van de mossel wordt omsloten door twee symmetrische schelpen. Mosselen leven vooral in het intertidaal¹ en komen overal ter wereld voor in gematigde zeeën. In de Oosterschelde en Waddenzee komt de mossel in grote aantallen voor (Cahen, 2005).

2.4 Voeding en spijsvertering

Mosselen hechten zich vast aan het substraat door middel van byssusdraden. Wanneer de mossel zich onder water bevindt, bijvoorbeeld bij hoog water, opent de schelp zich en kan water de mantelholte binnenstromen. Het water stroomt de mossel binnen via de instroomopening of ventrale sifo en verlaat de mossel via de uitstroomopening of dorsale sifo (zie



¹ Getijdenzone tussen de laag- en hoogwaterlijn.

Figuur 2.1.: Voedselopname door *Mytilus edulis* (Cahen, 2005).

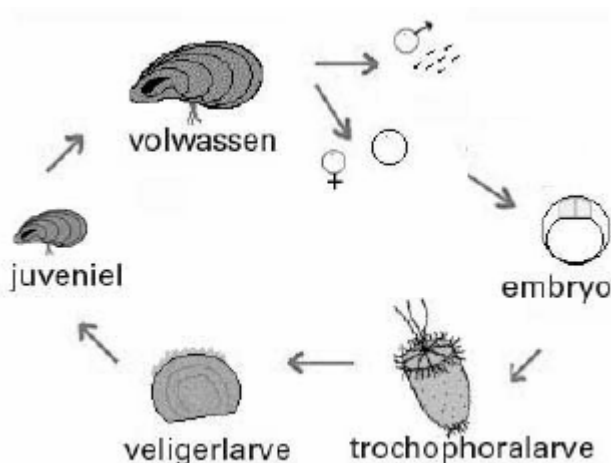
figuur 2.1). Deze waterstroom wordt veroorzaakt door het gecombineerde effect van de vele trilhaartjes (cilia) op de kieuwen. De mossel filtreert voedsel uit het binnenkomende water doordat kleine voedselpartikels (seston) worden vastgehouden door het slijm (mucus) waarmee de kieuwen bedekt zijn. De cilia voeren de partikels af naar een groeve onderaan de kieuwen en vandaar naar de mond. De vier mondlappen rondom de mond sorteren het voedsel op grootte, gewicht en concentratie. Het geschikte materiaal, veelal fytoplankton¹, wordt opgenomen en verteerd in het spijsverteringssysteem waarna het wordt uitgescheiden als faeces². De ongeschikte of te grote deeltjes worden meteen uitgescheiden als pseudo-faeces (Cahen, 2005).

2.5 Ademhaling

Wanneer de mossel zich onder water bevindt, wordt er zuurstof opgenomen door middel van kieuwen. Iedere kieuw bestaat uit doorbloede kieuwlamellen die U-vormig geplooid zijn. De trilharen op de kieuwlamellen zorgen ervoor dat het water vanuit de instroomopening over de kieuwen stroomt. Zodra de mossel boven water komt, sluit ze haar schelp en gaat ze over op anaërobe respiratie³ (Cahen, 2005).

2.6 Levenscyclus

Mosselen zijn van een gescheiden geslacht. De voortplanting vindt in de natuur plaats in de periode tussen de lente en de zomer waarbij duizenden mosselen tegelijkertijd hun eicellen of spermacellen uitstoten. Enkele uren na de bevruchting ontstaat de trochophoralarve (zie figuur 2.2). Een paar dagen na de bevruchting ontwikkelt zich een veligerlarve met een schelpje. Omdat de larve eruit ziet als een hoofdletter D worden deze larven ook wel D-larven genoemd. Het is dan ongeveer 100 µm groot. De D-larve ontwikkelt dan ook een velum, een zwem- en filtreerorgaan, waarmee hij zich kan voortbewegen door het water en geschikt fytoplankton uit het water kan filteren. Na twee tot vier weken ondervindt de larve een ware metamorfose, het velum verdwijnt en er ontstaat een voetje waarmee de larve zich kan vasthechten op substraat. Vanaf dit moment spreekt men van mosselbroed. Het broed zal vervolgens verder opgroeien tot zaad (10 mm) en uiteindelijk tot volwassen mossel (na 2 jaar) en zal zelf deelnemen aan de voortplanting (Bayne, 1976; Vlasblom, 1963).



Figuur 2.2.: Levenscyclus van de mossel. (Cahen, 2005)

¹ Plantaardig plankton, voedsel voor o.a. mosselbroed

² Ontlasting, onverteerbare resten van het voedsel.

³ Ademhaling zonder zuurstof.

2.7 Hatchery, nursery en grow-out

In de hatchery (broedhuis) worden ouderdieren in 4-8 weken in bakken geconditioneerd door het voedselaanbod en de temperatuur te manipuleren. Vervolgens worden de dieren met een temperatuurschok tot paaïen aanzet. Eicellen en zaadcellen worden samengebracht en de bevruchting vindt plaats. De bevruchte eicellen ontwikkelen zich tot larven in grote containers met gefiltreerd zeewater en worden dagelijks gevoed met geschikte algensoorten (zie paragraaf 4.3). De larven blijven in de containers tot de metamorfose tot broed plaats vindt (Kamermans et al., 2006). In de nursery (kinderkamer) zal het broed verder worden opgekweekt. De nursery is de stap tussen de volledig gecontroleerde hatchery van de larve en het opgroeien in het wild (grow-out). Het doel van deze nursery is de broedjes uit de hatchery op te laten groeien tot zaad van 10 mm in lengte, in een zo kort mogelijke tijd, bij een zo hoog mogelijke dichtheid en bij minimale kosten. Als de broedjes uit de hatchery meteen in het veld worden geplaatst treedt een hoge mortaliteit op. Daarom wordt veelal gekozen voor het opgroeien van broedjes onder de gecontroleerde condities in een nursery (Claus et al., 1981). Na deze nursery-fase volgt de zogenaamde 'grow-out' fase, de uitgroei van het mosselzaad in het wild, in een hangcultuur of op bodempercelen, tot mosselen van consumptieformaat.

2.8 Traditionele mosselkweek

De traditionele mosselkweek maakt gebruik van mosselzaad (vanaf ongeveer 1cm) welke onder zo gunstig mogelijke omstandigheden verder wordt gekweekt. Omdat het mosselzaad de 'grondstof' voor deze kweek is, worden de hatchery- en nursery fase overgeslagen. Er is enkel nog sprake van een grow-out fase, het opkweken van mosselzaad tot mosselen van consumptie formaat.

Bodemcultuur

De oorspronkelijke bodemcultuur berust op het principe dat mosselzaad dat zich gesetteld heeft met een hoge dichtheid wordt verplaatst naar een andere locatie waar ze wordt verspreid over de zeebodem zodat ze in een lagere dichtheid versneld verder kunnen groeien. Deze methode is ontwikkeld in Nederland en is nog steeds de meest toegepaste methode in de mosselcultuur. Ook kan nursery plaatsvinden op de bodem. Ondiepe getijdengebieden of laagliggende intergetijdengebieden zijn geschikt voor verschillende types bodem cultuur. Vaak wordt het broed gehouden in kratten of op rekken die direct op de bodem geplaatst worden, desnoods gestapeld. De houten of plastic kratten met aan de buitenkant gaas bieden een goede bescherming tegen predators. Wel is regelmatig onderhoud nodig om een goede waterstroom door de kratten te behouden, zeker in gebieden waar verzilting of algengroei optreedt (Manzi et al, 1989). Deze technieken worden gebruikt voor de nursery van kamschelpen, over het toepassen van deze systemen voor mosselen is niets bekend.

Off-bottom

Een andere methode is de zogenaamde Off-bottom methode. Bij deze methode kan een groot scala aan mogelijke methodes worden ondergebracht. De meest gebruikte methode is het opkweken van mosselen aan palen. Deze manier wordt de 'bouchot' cultuur genoemd en is ontwikkeld in Frankrijk (zie figuur 2.3). Aan rijen (bouchots) van palen die in het zeebed zijn gestoken kunnen mosselen gemakkelijk opgroeien in vergelijking tot de bodemcultuur omdat er minder verlies is door predatie¹ van benthische²



¹ Consumptie door een ander organisme.

² Op of in de bodem levende organismen.

Figuur 2.3.: Bouchot cultuur in Frankrijk.

soorten. Het mosselzaad wordt in een netten sok om de paal gewonden. Het nadeel van deze manier van opkweken is dat het erg gevoelig is voor schade door bijvoorbeeld storm. Bovendien is het bevestigen en oogsten van de mosselen erg arbeidsintensief (Gosling, 1992).

Hangcultuur

Deze methode berust op het opgroeien van broed uit het wild aan touwen welke zijn bevestigd aan een vlot of aan verschillende drijvers. Dit kan op kleine schaal zijn, maar ook op zeer grote schaal zoals toegepast wordt in het noorden van Spanje (Gosling, 1992). Een ander systeem is de longline-cultuur die gebaseerd is op de technologie die gebruikt wordt voor de cultuur van kammosselen en oesters in Japan (Imai, 1977). Hierbij wordt gebruik gemaakt van een serie drijvers die met elkaar in verbinding staan door een horizontale lijn. Aan deze lijn zijn touwen of netten sokken bevestigd waarin de mosselen groeien. Deze longlines zijn over het algemeen goedkoper, gemakkelijker aan te leggen, onderhoudsvriendelijker en geven een betere groei van de mossel dan wanneer gebruik wordt gemaakt van vloten (Gosling, 1992). Hangcultuur wordt vooral toegepast in een nutriënt rijke en beschermde omgeving. Bovendien is deze methode toepasbaar bij een grote waterdiepte, waar bodemcultuur niet mogelijk is. Zelfs in Nederland, bekend om zijn bodemcultuur, wordt ook gebruik gemaakt van deze hangcultuur.

2.9 Nursery in het veld

In de loop der tijd zijn er verschillende nursery technieken ontwikkeld voor het opkweken van de broedjes. Daarbij kan onderscheid gemaakt worden tussen de nursery in het veld en nursery aan land. Bij de nursery in het veld wordt het broed meteen vanuit de hatchery het veld ingebracht. Vaak vindt deze nursery plaats op beschutte plaatsen waar het broed relatief beschermd kan opgroeien.

Suspended-nursery

Het principe van de suspended-nursery berust op het houden van broed van schelpdieren in hogere waterlagen van de waterkolom omdat daar de concentratie fytoplankton (het voedsel voor de broedjes) groter is. Bovendien heeft het broed daar geen last van gesuspendeerd silt en benthische predators. Een logische ontwikkeling op het kweken aan palen is het bevestigen van touwen aan deze palen en het kweken van mosselen aan deze touwen. De palen dienen in dit geval alleen voor de structuur. Ook bij deze zogenaamde fixed suspended nursery is de variëteit aan verschillende systemen groot. Bijna alle systemen zijn opgebouwd uit palen waartussen, waarlangs of waaronder touwen hangen met daaraan het mosselbroed. Naast de fixed suspended nursery waarbij gebruik wordt gemaakt van palen, wordt ook veel gebruik gemaakt van drijvende constructies (floating suspended nursery). Dit heeft als voordeel dat de kweek ook in dieper water (met bij voorkeur een hoge concentratie fytoplankton) kan plaatsvinden terwijl de fixed suspended nursery alleen in ondiepe (intergetijde) water kan plaatsvinden. Het meest gebruikte floating suspended nursery systeem is dat waarbij gebruik wordt gemaakt van een vlot met daaraan touwen.

Flupsy

Een ander systeem dat toegepast kan worden voor de nursery in het veld is de zogenaamde flupsy (Floating Upwelling System) (zie figuur 2.4). Dit systeem maakt gebruik van een opwaartse waterstroom door de laag broed. Het voordeel van een flupsy is dat ze over het algemeen een grote capaciteit hebben. Daarnaast hebben ze het voordeel dat ze gemakkelijk verplaatst kunnen worden naar bijvoorbeeld nutriënt rijke gebieden. Ook kan het systeem verplaatst worden naar de gebieden waar de mosselen na de nursery fase zullen opgroeien zodat ze alvast kunnen wennen aan de daar geldende omstandigheden. Het bedrijf Bishop Aquatic Technologies Inc. (www.fukuina.com) heeft een flupsy in het assortiment opgenomen

dat na verschillende tests ontwikkeld is. De flupsy bestaat uit een grote centrale container waarin de afvoer vanuit broed houdende tanks uitkomt. Een propellerpomp of een pomp met schoepen voert vervolgens het water vanuit de tank af naar het water waarin de flupsy drijft. Hierdoor ontstaat een niveau-verschil tussen de container en het water in de omgeving waardoor een opwaartse stroom door de laag broedjes ontstaat. Als het systeem op locatie met een hoge fytoplanktonconcentratie wordt geplaatst voorziet een waterstroom van 10 tot 20 l per minuut per kg het broed van voldoende voedingsstoffen. De capaciteit is daarbij 120 kg broed per tank met een bodem van 1 m². Daarvoor is dus wel een waterstroom nodig van minimaal 1200 l per minuut. Als er geen stroomvoorziening is ter plaatse van het nursery systeem kan worden gekozen voor het gebruik van de getijdenstroom als aandrijfkracht van het upwelling systeem. Daarvoor is een getijdenstroom van 50 tot 100 cm per seconde vereist (Helm et al., 2004).



Figuur 2.4.: Flupsy systeem van Bishop Aquatic Technologies Inc. met links en rechts de tanks met daarin het broed en in het midden de goot waaruit het water wordt afgevoerd.

Het nadeel van deze systemen in het veld is dat ze erg gevoelig zijn voor stormschade, dat de bereikbaarheid moeilijk is en dat de controle over de groei van de broedjes minimaal is. Daarnaast is er veel onderhoud nodig en is bescherming vereist tegen predators (Manzi & Castagna, 1989 ; Lovatelli, 1990). De voedselvoorziening is bij deze systemen puur natuurlijk, het broed moet het doen met de algen die beschikbaar zijn in het zeewater waarin ze zijn geplaatst.

2.10 Nursery aan land

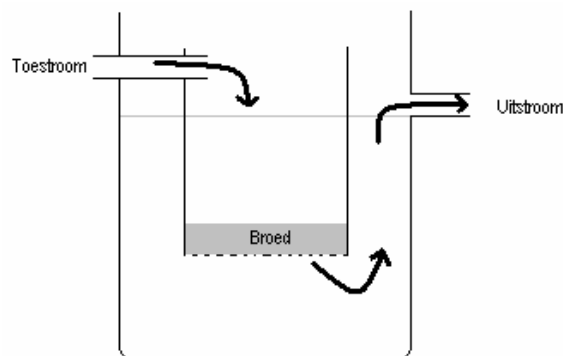
Voor het optimaliseren van de groei is het beter om de broedjes extra algen toe te dienen omdat ze daarvan sneller gaan groeien en dus sneller de gewenste lengte hebben bereikt. Omdat deze vorm van nursery veel meer controle vraagt, vindt deze nursery meestal plaats op het land.

Raceways

Raceways worden als nursery systeem voor tweekleppigen gebruikt in allerlei soorten en maten. Normaal gesproken zijn het lange ondiepe tanks (zie figuur 2.5). Zeewater, opgepompt uit een nabijgelegen bron, stroomt aan de ene kant de raceway binnen en stroomt horizontaal over een dunne laag broed dat verspreid is over de bodem van de tank. Aan de andere zijde wordt het water afgevoerd. In diepere raceways wordt vaak gebruik gemaakt van rekken waarop het broed in verschillende lagen geplaatst wordt. Door het gebruik van een groter oppervlak heeft dit systeem een grotere capaciteit. Voor klein broed is dit systeem zeer geschikt, voor groter broed zal de water stroom echter niet voldoende zijn (Manzi & Castagna, 1989). Onderhoud is ook een probleem bij het gebruik van rekken met daarop lagen broed. Dit maakt het minder praktisch bij een nursery op commerciële schaal. Een nadeel van een raceway is dat het effectieve debiet (de hoeveelheid vers water dat beschikbaar is voor het broed) afhankelijk is van de afstand van het zaad tot het punt waar het verse water wordt ingelaten. Uit onderzoek is gebleken dat bij een toenemende afstand tot de bron, de groeisnelheid van het broed afneemt (Hadley & Manzi, 1984). Hierdoor krijg je broed met een grote variëteit in lengte, groeisnelheid etc. Een ander nadeel is dat in een raceway alle uitgescheiden materiaal (faeces en pseudo-faeces) in het systeem achterblijft. Over het gebruik van raceways voor de nursery van mosselen is niets bekend, wel wordt dit systeem veelvuldig gebruikt voor de nursery van andere tweekleppigen zoals bijvoorbeeld de kamschelp (Manzi & Castagna, 1989).



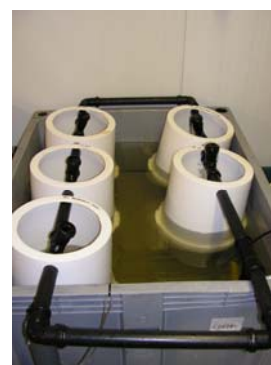
Figuur 2.5.: Raceway systeem. (Whetstone et al., 2005)



Figuur 2.6.: Downwelling systeem.

Downwelling

Een veel toegepast systeem voor de nursery van schelpdieren is het zogenaamde downwelling systeem. Er is sprake van een verticale waterstroom waarbij schoon zeewater (voorzien van extra algen) van boven naar beneden door het bed van broedjes stroomt. Het systeem bestaat uit een een krat of cylinder met een bodem van gaas waarop de broedjes worden gehouden (zie figuur 2.6 en 2.7). De cylinders zijn half ondergedoken in een grotere 'holding' tank. Als deze holding tank niet van voldoende grootte is, zal deze in verbinding staan met een reservoir met een groot volume. Het water met de algen wordt door middel van een elektrische pomp of een air-lift systeem

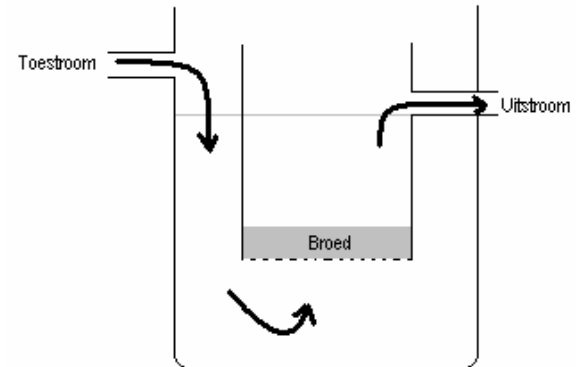


Figuur 2.7.: Downwelling systeem bij Roem van Yerseke.

vanuit de holding tank in de cylinders met de broedjes gepompt. Het water stroomt door het bed van broed terug in de holding tank. Het downweller systeem wordt vooral gebruikt voor kleine broedjes. De capaciteit van een downweller is afhankelijk van het totale volume van het systeem en is 0,2 kg broed m^{-3} of 7,6 kg broed m^{-2} zeefoppervlak. Het totale volume van het systeem moet daarbij twee a drie keer per week moeten worden vervangen voor een gewenste groei (Helm et al., 2004).

Upwelling

Het tegenovergestelde van het downwelling systeem is het upwelling systeem, hierbij wordt gebruik gemaakt van een opwaartse waterstroom. Bij het upwelling systeem kan onderscheid gemaakt worden tussen active (forced) flow en passive flow. Bij active-flow wordt het water geforceerd door de laag broed geleid terwijl bij passive flow het water door de laag broed wordt 'getrokken'. Actieve systemen zijn gemaakt van een gesloten cylinder met een watertoevoer (onder druk) op of bij de bodem. De laag met broed bevindt zich boven de watertoevoer op een scherm van fijn gaas. Het water stroomt dus omhoog door de laag broedjes waarna het met een buis wordt afgevoerd (Helm et al., 2004; Manzi & Castagna, 1987). Passieve systemen bestaan uit een cylinder of container zonder bodem, half verzonken in een groot reservoir. Een scherm van fijn gaas vormt daarbij de bodem van de cylinder, daarbovenop worden de broedjes gehouden (zie figuur 2.8). Water dat in het reservoir stroomt, kan alleen worden afgevoerd door de afvoer-buizen die zich bevinden aan de bovenkant van elke cylinder. Daardoor ontstaat in elke cylinder een opwaartse waterstroom door de laag broedjes (zie figuur 2.9). Upwelling zorgt voor een gelijke stroom van voeding door het bed van schelpdierbroed. Gebruikelijk wordt upwelling toegepast met broed van ten minste 1,5 à 3 mm. Als er kleiner broed wordt gebruikt, kan door de stroming in het water, de schelpdieren losraken waarna ze verloren gaan door de afvoer, bovenin de tank. De oplossing is om voor deze kleine broedjes een downweller te gebruiken. De capaciteit (optimale dichtheid) van een upwelling systeem is 0,2 kg broed per m^3 van het totale volume (reservoir en de cylinders met broed bij elkaar opgeteld) (Helm et al., 2004). Daarbij moet dan wel twee a drie keer per week het totale volume aan water worden vervangen. Als het totale volume eens per 24 uur wordt vervangen kan de biomassa van het broed verdubbeld worden. Er is dan echter ook twee keer zoveel voedsel nodig. Uit onderzoek van het RIVO is gebleken dat het zo'n 160 dagen duurt voordat de larven opgekweekt zijn tot zaad van 10 mm (Kamermans et al., 2006). De nursery fase (van 3mm broed tot zaad van 10mm) neemt daarbij zo'n 120 dagen in beslag (Kamermans et al., 2006). Per jaar kunnen dus in elke cylinder drie cycli worden doorlopen.



Figuur 2.8.: Upwelling systeem (passive flow).



Figuur 2.9.: Upwelling systeem bij Seasalter Shellfish.

Naast deze drie systemen die uitsluitend aan land kunnen worden gebruikt kan de flupsy die normaal gesproken in het veld wordt gebruikt, ook aan land worden gebruikt. Denk hierbij bijvoorbeeld aan de oesterputten te Yerseke waar een flupsy uitstekend zou kunnen worden gebruikt. Bovendien worden flupsy's veel gebruikt in jachthavens, dit is niet zozeer aan land maar wel dichtbij land.

2.11 Kostenberekening nursery systemen

De berekening van de kosten zijn uitgevoerd voor drie nursery systemen; het upwelling- en downwelling systeem op het land en het flupsy systeem in het veld. Ik heb gekozen voor deze systemen omdat het doel van de hatchery/nursery bij Roem van Yerseke is een gecontroleerde productie van mosselzaad te hebben. De systemen aan land zorgen voor een grotere controle over de groei van het broed en zijn bovendien minder gevoelig voor (storm) schade. De flupsy is ook meegenomen in deze berekening omdat dit systeem uitstekend zou kunnen worden gebruikt voor de nursery van mosselbroed in de oesterputten van Yerseke waar de groei ook controleerbaar is de kans op schade klein is. Het raceway systeem is in de berekening weggelaten omdat er weinig bekend is over de toepassing van dit systeem voor de nursery van mosselen.

Voor het dimensioneren van het upwelling- en downwelling systeem is het upwelling systeem dat succesvol gebruikt wordt bij Seasalter Shellfish te Walney, Engeland (www.seasaltershellfish.co.uk/) als voorbeeld genomen. De berekeningen zijn gebaseerd op het produceren van 10 miljoen zaadjes van 10mm per maand (120 miljoen per jaar). Omdat elke maand nieuwe broedjes (van ca. 1mm) de nursery binnenkomen en het ongeveer 4 maanden duurt voordat de broedjes een lengte van 10 mm hebben bereikt, zal in de nursery 4 klassen broedjes worden gehouden met een totaal gewicht van 3055 kg. Wat de optimale dichtheid is voor het opkweken van mosselbroed is nog onbekend. Voor het berekenen van de omvang en kosten van de upwelling en downwelling systemen is ervan uitgegaan dat 7,6 kg broed per m² optimaal is. Dit is slechts een aanname die gebaseerd is op gegevens uit Helm et al. (2004). Deze dichtheid geldt voor broed van tweekleppigen en dus niet specifiek voor de mossel.

Bij een optimale dichtheid van 7,6 kg broed per m² moeten de zeven van het nursery systeem een totale oppervlakte hebben van 402 m². Bij het gebruik van de PVC tanks met een opp. van 0,312m² (ø630mm) zijn 1288 broedtanks nodig. Deze tanks worden verdeeld over 8 bakken met een lengte van 50m en een breedte van 2 meter. De wanden van de bak zijn 1 meter hoog en 0,2 meter dik. Ze zijn gemaakt van beton en beton multiplex (de bovenste 20 cm) dit om de afvoer vanuit de tanks met broedjes te kunnen realiseren. In elke bak bevinden zich 2 rijen van 160 cylinders. De ruimte tussen de tanks is 0,5 meter en dient als afvoergoot. De tanks hebben een totale inhoud van 16000 m³. Dit is voldoende want voor 3055 kg is (200g/m³) 15275 m³ nodig (zie bijlage 1). Bij upwelling moet het totale volume moet 2 keer per week worden vervangen. Dit komt neer op een verversing van 3,17 m³ per minuut. Bij downwelling (3 keer per week vervangen) is een verversing nodig van 4,75 m³ per minuut.

De flupsy van Bishop Aquatic Technologies is een vlot van 2,44m x 6,1 m. Dit vlot bestaat uit een centraal gelegen polyester bak van 0,61 x 0,61 x 2,44 meter met aan de buitenkant van die bak 8 tanks van 0.61 x 0.61 x 0.61 m waarin het broed wordt gehouden. In de polyester bak bevindt zich een pomp welke een capaciteit van 3 m³ per minuut heeft. Het totale oppervlakte van deze tanks is dus 2,97m². Om 10 miljoen broedjes per maand te kunnen produceren (3054 kg) is een oppervlakte nodig van 25,45m² (120kg/m²). Dit houdt dus in dat er 9 van deze flupsy's nodig zijn voor de productie van 10 miljoen zaadjes van 10mm per maand.

Tabel 2.1.: Kostenberekening Opwelling systeem

Aanschafkosten Opwelling				
	Specificatie	Aantal	Prijs	Totaal
<i>Wand nursery systeem</i>				
• Betonnen wand	2m x 1m x 0.2m 50m x 0.8m x 0.2m	16	€120 per m ³	€ 16130
• Beton multiplex	50m x 0,20m	16	€13 per m ²	€ 2080
<i>Broed tanks</i>				
• Polyester bak		1288	€100 per stuk	€ 60540
Polyethyleen bak		1288	€66 per stuk	
PVC Ø 630mm	600mm hoog	1288	€47 per stuk	
• Gaas	4 verschillende maaswijdtes	92	€80 per rol van 5 meter	€ 7360
• PVC buis Ø100mm	250 mm	1288	€4.35 per meter	€ 1400
<i>Pomp</i>	3 m ³ per minuut	1	€ 450 per stuk	€ 450
Totaal				€ 87960
<i>Vaste kosten (per jaar)</i>				
<i>Onderhoud</i>	1 keer per week, 5 minuten per tank, 1288 tanks	107 uur/week	€15 per uur (Pers. Med. Adriaan Leys, RvY)	€ 83460
<i>Pomp</i>	550 W	1	€0,08 per kWh	€ 385
Totaal				€ 83845
<i>Afschrijving</i>		20 jaar		€ 4398
Totaal kosten per jaar				€ 88243
Kosten per zaadje van 10 mm				€ 0,00074
Kosten per kg zaad van 10mm	1 zaadje van 10mm = 150 mg			€ 4,93

Tabel 2.2.: Kostenberekening Downwelling systeem

Aanschafkosten Downwelling				
	Specificatie	Aantal	Prijs	Totaal
<i>Wand nursery systeem</i>				
• Betonnen wand	2m x 1m x 0.2m 50m x 0.8m x 0.2m	16	€120 per m ³	€ 16130
• Beton multiplex	50m x 0,20m	16	€13 per m ²	€ 2080
<i>Broed tanks</i>				
• Polyester bak		1288	€100 per stuk	€ 60540
Polyethyleen bak		1288	€66 per stuk	
PVC Ø 630mm	600mm hoog	1288	€47 per stuk	
• Gaas	4 verschillende maaswijdtes	92	€80 per rol van 5 meter	€ 7360
• PVC buis Ø100mm	250 mm	1288	€4.35 per meter	€ 1400
<i>Pomp</i>				
	3 m ³ per minuut	2	€ 450 per stuk	€ 900
Totaal				
				€ 88410
Vaste kosten (per jaar)				
<i>Onderhoud</i>	2 keer per week, 5 minuten per tank, 1288 tanks	214 uur/week	€15 per uur (Pers. Med. Adriaan Leys, RvY)	€ 166920
<i>Pomp</i>				
	550 W	2	€0,08 per kWh	€ 770
Totaal				
				€ 167690
Afschrijving				
		20 jaar		€ 4420
Totaal kosten per jaar				
				€ 172110
Kosten per zaadje van 10 mm				
				€ 0,0014
Kosten per kg zaad van 10mm				
	1 zaadje van 10mm = 150 mg			€ 9,56

Tabel 2.3.: Kostenberekening flupsy syteem

Aanschafkosten Flupsy				
	Specificatie	Aantal	Prijs	Totaal
<i>Polyester bak</i>	1,040 m ³	9	€316 per stuk	€ 2844
<i>Broed tanks</i>				
• PVC Ø 630mm	0,6 m hoog	72	€47 per stuk	€ 5328
Polyester bak		72	€100 per stuk	
Polyethyleen bak		72	€66 per stuk	
• Gaas	4 verschillende maaswijdtes	36	€80 per rol van 5 meter	€ 2880
• PVC buis Ø100mm	0,25 m hoog	72	€4,35 per meter	€ 78
<i>Pomp</i>	3 m ³ per minuut	9	€ 450 per stuk	€ 4050
<i>Drijvers</i>				
• <i>Jet float</i>	0,1 m ³	162	€ 59	€ 9560
• <i>Polyethyleen RF</i>	0,336m ³	54	€ 215	
Totaal				€ 24740
<i>Vaste kosten (per jaar)</i>				
<i>Onderhoud</i>	9 x 1,5 dag per week	108 uur/week	€15 per uur (Pers. Med. Adriaan Leys, RvY)	€ 84240
<i>Pomp</i>	550 W	9	€0,08 per kWh	€ 3470
Totaal				€ 87710
<i>Afschrijving</i>		10 jaar		€ 2474
Totaal kosten per jaar				€ 90184
Kosten per zaadje van 10 mm				€ 0,00075
Kosten per kg zaad van 10mm	1 zaadje van 10mm = 150 mg			€ 5,01

2.12 Vergelijking van de nursery systemen

Om na te gaan welk systeem het meest geschikt is voor de nursery van mosselen heb ik een vergelijking gemaakt tussen de verschillende gecontroleerde nursery systemen aan land. Ook is de flupsy in deze vergelijking meegenomen omdat dit systeem toegepast zou kunnen worden in de oesterput en er dus ook sprake is van een gecontroleerde nursery. De raceway is in deze vergelijking weggelaten omdat dit systeem zorgt voor een grote variëteit in grootte en kwaliteit van het broed en dus niet geschikt is om een constante productie met een constante kwaliteit te kunnen garanderen.

Tabel 2.4.: Vergelijking van het downwelling-, upwelling- en flupsy systeem.

	<i>Downwelling</i>	<i>Upwelling</i>	<i>Flupsy</i>
<i>Soort stroming</i>	Naar beneden	opwaarts	opwaarts
<i>Geschikt voor</i>	Broed tot 3 mm (minder geschikt voor groter broed)	Broed vanaf 3mm	Broed vanaf 2-3mm
<i>Onderhoud</i>	Hoog (gaas slibt dicht), 2 a 3 keer per week schoonmaken.	Minder hoog (gaas spoelt schoon) eens per week schoonmaken.	Minder hoog (gaas spoelt schoon) (1,5 dag per week)
<i>Water verversen</i>	Het totale volume moet 2 a 3 keer per week worden vervangen.	Het totale volume moet 2 keer per week worden vervangen.	Flupsy voert constant schoon water aan.
<i>Filter</i>	1 of 2 µm voor klein broed en zandfilter voor groter broed	10 of 20 µm cartridge filter of zandfilter	Ruw zeewater
<i>Benodigde waterstroom</i>	4,5 m ³ min ⁻¹ (bij 3 keer totale vervanging)	3,0 m ³ min ⁻¹ (bij 2 keer totale vervanging)	30,5 m ³ min ⁻¹ (10 l/min/kg broed)
<i>Capaciteit</i>	0,2 kg broed m ⁻³ 7,6 kg broed m ⁻²	0,2 kg broed m ⁻³ 7,6 kg broed m ⁻²	120 kg broed m ⁻²
<i>Ruimte</i>	Voor 10 miljoen zaadjes per maand is een systeem nodig van 1000m ²	Voor 10 miljoen zaadjes per maand is een systeem nodig van 1000m ²	9 flupsy's nodig van in totaal 134 m ²
<i>Aanschaf kosten</i>	€88410	€87960	€ 24740
<i>Onderhoudskosten (per jaar)</i>	€167690	€ 83460	€ 84240
<i>Elektriciteitskosten pomp (per jaar)</i>	€770 per jaar	€385 per jaar	€3470 per jaar
<i>Totale kosten (per jaar)</i>	€ 172110	€ 88243	€ 90184
<i>Afschrijving</i>	20 jaar	20 jaar	8-10 jaar
<i>Kosten per zaadje van 10 mm</i>	€ 0,0014	€ 0,00074	€ 0,00075
<i>Kosten per kg zaad van 10 mm</i>	€ 9,56	€ 4,93	€ 5,01

2.13 Discussie

Voor het berekenen van de omvang en kosten van de upwelling en downwelling systemen is ervan uitgegaan dat 7,6 kg broed per m² optimaal is. Dit is slechts een aanname die gebaseerd is op gegevens uit Helm et al. (2004). Deze dichtheid geldt voor broed van tweekleppigen en dus niet specifiek voor de mossel. Het kan dus best zijn dat de optimale dichtheid van mosselbroed veel hoger ligt, dan de aangenomen optimale dichtheid. Doordat de broedjes wellicht bij een veel hogere dichtheid gehouden kunnen worden, zijn de berekende omvang- en kosten van het nursery systeem misschien te hoog. Stel dat er twee keer zoveel broed per m² kan worden gehouden, dan hoeft het nursery systeem ook maar half zo groot te zijn.

De onderhoudskosten van het systeem vormen een heel groot deel (zo'n 95%) van de totale kosten per jaar. Deze onderhoudskosten zijn gebaseerd op aannames over de hoeveelheid arbeid die nodig is om het nursery systeem schoon te maken en te onderhouden. Omdat deze technieken nog niet worden toegepast voor de nursery van mosselbroed is het ook nog onbekend hoeveel werk het onderhoud met zich meebrengt. Voor het upwelling- en downwelling systeem is daarom een aanname gemaakt dat de cylinders resp. 1 en 2 keer per week moeten worden schoongemaakt en dat het schoonmaken per cylinder 5 minuten kost. Voor de flupsy is gebruik gemaakt gegevens van Bishop Aquatic Technologies t.w. 1,5 persoon per dag per flupsy. Door de schoonmaak van de cylinders te automatiseren kunnen de cylinders wellicht veel sneller schoongemaakt worden waardoor de schoonmaakkosten aanmerkelijk minder zullen zijn.

Voor berekenen van de kosten van het upwelling en downwelling systeem geen rekening gehouden met de kosten van de daarbij komende algenkweek. Omdat de kosten van deze algenkweek sterk afhangen van het soort systeem dat wordt gebruikt, de omvang ervan en de maximale celconcentratie is het moeilijk een inschatting te maken van de kosten. Omdat algenkweek wel noodzakelijk is voor het slagen van het upwelling en downwelling systeem zullen de kosten per kg zaad hoger uitkomen dan de berekende kosten.

2.14 Conclusie

Naast de veel toegepaste vorm van nursery in het veld, zijn er verschillende systemen die geschikt zijn voor de nursery van schelpdierbroed aan land. Van deze systemen (downwelling, upwelling, en raceway) is over de raceway heel weinig bekend over toepassing voor de nursery van mosselbroed, wel wordt dit systeem gebruikt voor andere tweekleppigen. De vergelijking van het downwelling systeem, het upwelling systeem en de flupsy leert ons dat de flupsy een veel grotere waterstroom vereist dan de andere systemen. Doordat de dichtheid van het broed veel hoger is en de algenconcentratie in het water normaliter lager is, is een grotere waterstroom nodig om het broed te voorzien van voldoende voedsel. Doordat in de flupsy de broedjes met een hogere dichtheid worden gehouden, is de omvang van het systeem veel kleiner dan de andere systemen. De aanschafkosten van het upwelling en downwelling systeem zijn mede door de grotere omvang, hoger dan de aanschafkosten van de flupsy.

De onderhoudskosten van het upwelling systeem en de flupsy zijn nagenoeg gelijk, het downwelling systeem vergt meer onderhoud. Deze onderhoudskosten vormen een groot deel van de totale kosten van de nursery fase (zo'n 95%). Door het onderhoud (schoonmaak) te automatiseren kunnen de kosten wellicht sterk verminderd worden waardoor ook de kostprijs per kg mosselbroed sterk afneemt.

De elektriciteitskosten van de flupsy zijn veel groter dan de elektriciteitskosten van de upwelling- en downwelling systemen. Dit is te verklaren doordat bij een flupsy een grotere waterstroom nodig is en dus ook een zwaardere pomp of meerdere pompen. Doordat de flupsy

veel gevoeliger is voor schade (stormschade, vandalisme) is de afschrijving van de flupsy 8-10 jaar terwijl de andere systemen 20 jaar mee moeten gaan. Als we kijken naar de kosten per kg zaad van 10 mm kunnen we concluderen dat het opwelling systeem het goedkoopste is, kort gevolgd door de flupsy. De kosten voor het opkweken van 1 kg zaad in een downwelling systeem kost, mede door de hoge onderhoudskosten, veel meer. We kunnen dus concluderen dat het opwelling systeem het meest geschikt is voor de nursery van mosselbroed. Wat we bovendien kunnen concluderen is dat de kostprijs voor een kg mosselzaad (min. € 4,93) uit de nursery vele malen hoger is dan de kostprijs van een kg mosselzaad uit het wild (ca. € 0,80) (Pers. med. Pauline Kamermans). De nursery van mosselbroed is op deze relatief kleine schaal dus niet kostenefficiënt.

3. Experimenten nursery systeem

3.1 Doelstelling

Na het uitvoeren van de literatuurstudie is bij de hatchery van Roem van Yerseke B.V. het meest geschikte nursery systeem, een opwelling systeem, gebouwd. Omdat het nog onduidelijk is wat de optimale omstandigheden zijn voor het opkweken van mosselbroed in een opwelling systeem, zijn een drietal experimenten uitgevoerd:

Experiment 1 heeft als doel te onderzoeken of er verschil is in groei van het broed wanneer het bij een hoge of lage dichtheid wordt opgekweekt. De lage dichtheid van 7,6 kg m² is hierbij de optimale dichtheid volgens Helm et al. (2004). De hoge dichtheid van 60 kg m² is de helft van de dichtheid waarbij volgens Bishop Aquatic Technologies Inc. (www.fukuina.com), schelpdierbroed kan worden gehouden.

Het doel van experiment 2 is na te gaan of er verschil is in groei van het broed, wanneer er met een voedingsratio van 0.1 of met een voedingsratio van 0.2 algen wordt gevoerd. Een voedingsratio van 0.4 zorgt volgens Helm et al. voor een goede groei van schelpdierbroed. De productie van algen die nodig is voor deze ratio was helaas niet haalbaar. Daarom is gekozen te voeren met de helft van deze ratio (0,2) en een kwart van deze ratio (0.1).

Het doel van experiment 3 is na te gaan of er verschil groei is in groei van het broed wanneer wordt gevoerd met de algensoorten *Dunaliella tertiolecta* (flagellaat), *Chaetoceros muelleri* (diatomee) of een combinatie van deze soorten. Er is gekozen voor *Dunaliella tertiolecta* omdat deze soort domineerde in de algencultuur op basis van natuurlijk fytoplankton. *Chaetoceros muelleri* is gebruikt omdat bekend is dat deze algensoort geschikt is als voedsel voor schelpdierbroed.

3.2 Materiaal en methode

Als nursery systeem is het (volgens de voorafgaande literatuurstudie) meest geschikte opwelling systeem gebruikt. Deze kleinschalige systemen bestaan uit een grijze bak (35x52x30) met daarin een emmer (Ø 0,33 m en h= 0,35 m) (zie figuur 3.1). In deze emmer bevinden zich twee/drie pvc cylinders (Ø 90 mm) met een bodem van gaas (200 µm) waarop het broed wordt geplaatst. Aan de bovenkant van de cylinder zorgt een buisje (Ø 30 mm) voor de waterafvoer. Zeewater (gefilterd over een zandfilter en 50 µm lamellenfilter) en algen worden toegediend in de emmer waarna het water opwaarts door de laag met broed stroomt en via het pijpje afgevoert worden naar de grijze bak. Er wordt continu zeewater toegevoegd om te voorkomen dat de algenconcentratie boven de zogenaamde pseudo-faeces drempel van 40.000 cellen ml⁻¹ (Pers. med. Carter Newell) komt. De berekening van de hoeveelheid toe te dienen algen en zeewater is gemaakt in excel. Voor een voorbeeld zie bijlage 4. Er is daarbij uitgegaan van een



Figuur 3.1.: Gebruikt opwelling systeem.

drooggewicht van *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* van respectievelijk 9,9 pg.cell⁻¹ en 30 pg.cell⁻¹ (Helm et al., 2004). Ook is het werkelijke drooggewicht van de algensoorten bepaald (zie bijlage 5).

Een air-lift zorgt vervolgens voor recirculatie van het water vanuit de grijze bak in de emmer. Op deze manier wordt het water (en algen) gerecirculeerd en bovendien zorgt deze air-lift voor voldoende zuurstof in het water. Vanuit de grijze bak wordt het water via een stroomgoot afgevoerd naar het riool. De toegediende algen zijn opgekweekt in 5 ronde bakken van 2,13 m³ en 2 rechthoekige bakken van 5 m³ op het terrein achter de hatchery. De algenkweek is begin april opgestart door een bak met 800 liter 5µm gefilterd zeewater (uit de Oosterschelde) te verrijken met stikstof en fosfaat in de verhouding volgens het F2 medium t.w. 16,25 gram NH₄Cl en 1,8 gram NaH₂PO₄·2 H₂O per 800 liter (Kamermans et al., 2005). In deze bak is een algenbloei ontstaan waarbij de algensoort *Dunaliella tertiolecta* domineerde. Met deze cultuur is vervolgens verder gekweekt door de andere bakken telkens te vullen met 800 l 1 µm en uv gefilterd zeewater uit de hatchery en te verrijken met bovenstaande hoeveelheid nutriënten en te enten met ca. 50 liter van een volgroeide cultuur. Na 5 á 7 dagen (afhankelijk van de temperatuur en lichtintensiteit) bereikt de cultuur een optimale celconcentratie. Deze celconcentratie wordt bepaald doormiddel van een microscoop en een hematocytometer (zie bijlage 2). Wanneer de cultuur de optimale celconcentratie heeft bereikt, wordt deze overgepompt in een grote bak van 1 m³ en naar binnen getransporteerd (met heftruck of pompkar). De algen zijn vervolgens aan het broed gevoerd door middel van een slangenpomp of dompelpomp.

De algensoort *Chaetoceros muelleri* welke werd gebruikt als voeding bij experiment 3 is getracht te kweken op de manier zoals hierboven is beschreven. Dit is echter niet gelukt. Voor experiment 3 is daarom *Chaetoceros muelleri* gekweekt in plastic zakken van 25 liter (zie bijlage 3).

Bij aanvang van elk experiment is per cylinder op 10 broedjes een merkje aangebracht (oranje kraaltje vastgelijmd met secundelijm). Deze broedjes werden bovendien gewogen (mét en zonder kraal) op een analytische balans (op de 1/1000 gram nauwkeurig) en gemeten met een elektronische schuifmaat waarmee tot op de honderdste millimeter nauwkeurig kan worden gemeten (zie figuur 3.2). De cylinders met daarin het broed werden 5x per week schoongemaakt om een goede doorstroming van het water te garanderen. De emmer en grijze bak werden wekelijks schoongemaakt. Wekelijks werden de broedjes uit de cylinders gehaald waarna de gemerkte broedjes werden geselecteerd en werden drooggedept met keukenpapier. Vervolgens werden de broedjes opgemeten en gewogen. Aan het eind van elk experiment is bovendien het drooggewicht en asvrijdrooggewicht van de broedjes bepaald door deze te openen en het vlees uit de schelp te halen. Het vlees is vervolgens gedroogd gedurende 48 uur bij 70°C. Na het bepalen van het drooggewicht is het vlees vervolgens verast op 520 °C gedurende 2 uur. Na afkoelen in de exicator is het asgewicht bepaald.



Figuur 3.2.: Het opmeten van het gemerkte broed met een elektronische schuifmaat.

Voor experiment 1 en 2 is gebruik gemaakt van 1-jarig mosselbroed uit het wild omdat onvoldoende broed uit de hatchery voorhanden was. Experiment 3 is wel uitgevoerd met broed uit de hatchery. De experimenten werden in duplo uitgevoerd. Dat wil zeggen dat twee emmers dezelfde behandeling kregen met per emmer 2 cylinders. Experiment drie is uitgevoerd met 3 cylinders per emmer.

Statistische analyse

De resultaten van de verschillende experimenten zijn statistisch geanalyseerd met behulp van het programma Systat. Er is gebruik gemaakt van een zogenaamde nested-ANOVA. Deze statistische toets wordt gebruikt om na te gaan of de populatiegemiddelden van twee of meer groepen van elkaar verschillen. Er is niet gebruik gemaakt van een normale ANOVA omdat bij het experiment twee of drie cylinders in één emmer zijn geplaatst. De cylinders zijn daardoor niet onafhankelijk van elkaar. Bij experiment 1 werd het effect van dichtheid en emmer getest op begingewicht, eindgewicht, beginlengte, eindlengte, asvrijdrooggewicht en ratio vleesgewicht/schelpgewicht. Bij experiment 2 werd het effect van voedingsratio en emmer getest op begingewicht, eindgewicht, beginlengte, eindlengte, asvrijdrooggewicht en ratio vleesgewicht/schelpgewicht. Bij experiment 3 werd het effect van de soort voeding en emmer getest op begingewicht, eindgewicht, beginlengte, eindlengte, asvrijdrooggewicht en ratio vleesgewicht/schelpgewicht. Wanneer er een significant verschil tussen verschillende behandelingen werd gevonden, werd er een Post Hoc test gedaan om te achterhalen tussen welke behandelingen er een significant verschil was en tussen welke behandelingen juist niet. Voor de resultaten van deze statistische analyses zie bijlage 6.

De resultaten zijn getoetst met een significantieniveau van 0,05, dat wil zeggen dat wanneer de kans (p) groter is dan 0,05% er geen significant verschil is en wanneer de kans kleiner is dan 0,05 er wel een significant verschil is tussen een bepaalde waarde.

3.3. Experimenten beschrijving

Experiment 1

Bij experiment 1 is gebruik gemaakt van broed uit het wild. Voor dit experiment is in 2 emmers (met 2 cylinders per emmer) broed gehouden bij een lage dichtheid ($7,6 \text{ kg m}^{-2}$) en in 2 emmers (met 2 cylinders per emmer) is broed gehouden met een hoge dichtheid (60 kg m^{-2}). Het broed is bij dit experiment gevoerd met *Dunaliella tertiolecta* met een gemiddelde voedingsratio van 0.06. In verhouding heeft het broed dus evenveel algen toegediend gekregen. Om te voorkomen dat de algenconcentratie boven de pseudo-faeces drempel zou komen, is afhankelijk van de celconcentratie $50 \mu\text{m}$ gefilterd zeewater toegediend. De dichtheid van het broed is gedurende het experiment constant gehouden door, indien de broedjes gegroeid waren, een aantal exemplaren uit de cylinder te verwijderen.

Experiment 2

Bij dit experiment was de dichtheid van de broedjes gelijk ($7,6 \text{ kg m}^{-2}$) en werd het broed in twee emmers (met 2 cylinders per emmer) gevoerd met een voedingsratio van 0.1 en werd het broed in 2 emmers (met 2 cylinders per emmer) gevoerd met een voedingsratio van 0.2. Ook werd aan 2 emmers (met 2 cylinders per emmer) alleen $50 \mu\text{m}$ gefilterd zeewater toegediend als blanco behandeling. Er is daarbij gebruik gemaakt van broed van experiment 1 dat is opgeweekt bij een hoge dichtheid. Om te voorkomen dat in de emmers waaraan algen zijn toegevoegd, de algenconcentratie boven de pseudo-faeces drempel zou komen, is afhankelijk van de celconcentratie $50 \mu\text{m}$ gefilterd zeewater toegediend. De voedingsratio (food ration) wordt vaak gebruikt om de hoeveelheid voedsel uit te drukken. De voedingratio is een ratio voor het drooggewicht van algen (mg) dat per mg broed (levend gewicht) per week wordt gevoerd. Een voedingsratio van bijvoorbeeld 0.2 houdt in dat 0.2 mg algen (drooggewicht) per mg broed per week wordt gevoerd.



Figuur 3.3.: De gebruikte algensoorten *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri*.

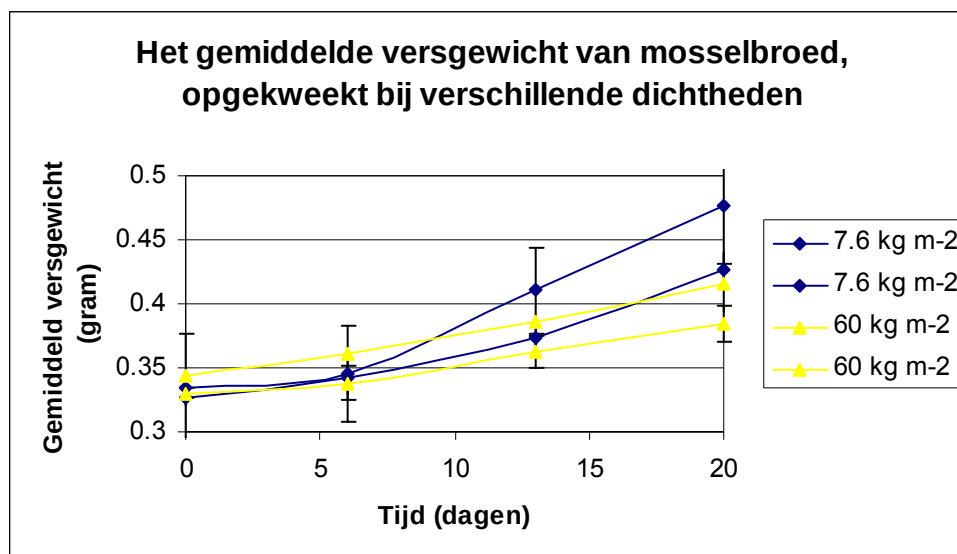
Experiment 3

Bij dit experiment is gebruik gemaakt van broedjes uit de hatchery. Twee emmers (met 3 cylinders per emmer) hebben *Dunaliella tertiolecta* toegedient gekregen, twee emmers (met 3 cylinders per emmer) *Chaetoceros muelleri*, twee emmers een combinatie (met 3 cylinders per emmer) van *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* en twee emmers (met 3 cylinders per emmer) alleen 50 µm gefilterd zeewater. De algen zijn gevoerd met een voedingsratio van 0.2, dat wil zeggen dat qua drooggewicht aan algen dezelfde hoeveelheid is gevoerd per emmer. Om te voorkomen dat de algenconcentratie boven de pseudo-faeces drempel zou komen, is afhankelijk van de celconcentratie 50 µm gefilterd zeewater toegediend.

3.4 Resultaten

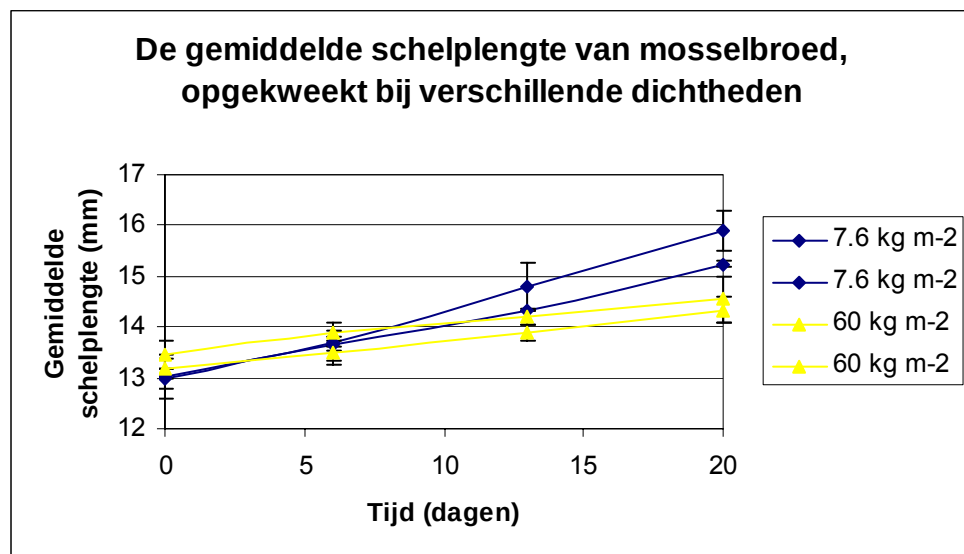
Experiment 1: Dichtheidsexperiment

Figuur 3.4 laat de gewichtstoename zien van mosselbroed dat bij verschillende dichtheden opgekweekt is in een upwelling systeem. Het experiment is uitgevoerd over een tijdsbestek van 20 dagen en in de loop der tijd is het broed zowel bij een lage als hoge dichtheid gegroeid. Een statistische analyse wijst bovendien uit dat op $t=0$ er geen significant verschil is ($p=0,681$). Tussen het gewicht van het broed bij de verschillende dichtheden terwijl er aan het eind van het experiment bijna een significant verschil is tussen het gewicht van het broed bij de verschillende dichtheden ($p=0,055$). In bijlage 6 zijn de resultaten van de verschillende statistische analyses te vinden.



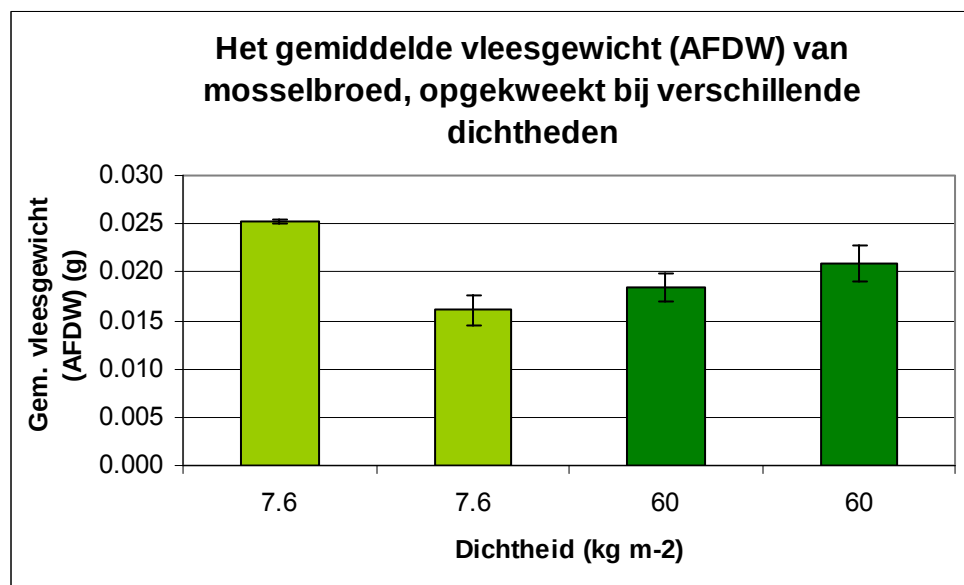
Figuur 3.4.: Het gemiddelde versgewicht van mosselbroed, opgekweekt bij verschillende dichtheden in een upwelling systeem.

Figuur 3.5 geeft de lengtetoe name weer van mosselbroed dat bij verschillende dichtheden is gehouden in een upwelling systeem. De lengte van het broed neemt bij beide dichtheden toe in de loop der tijd. Aan het begin van het experiment is er geen significant verschil tussen de lengte van het broed in de verschillende cylinders ($p=0,200$). Aan het eind van het experiment, na een tijdsbestek van 20 dagen, is er wel een significant verschil tussen de lengte van het broed dat is opgekweekt bij verschillende dichtheden ($p=0,008$).



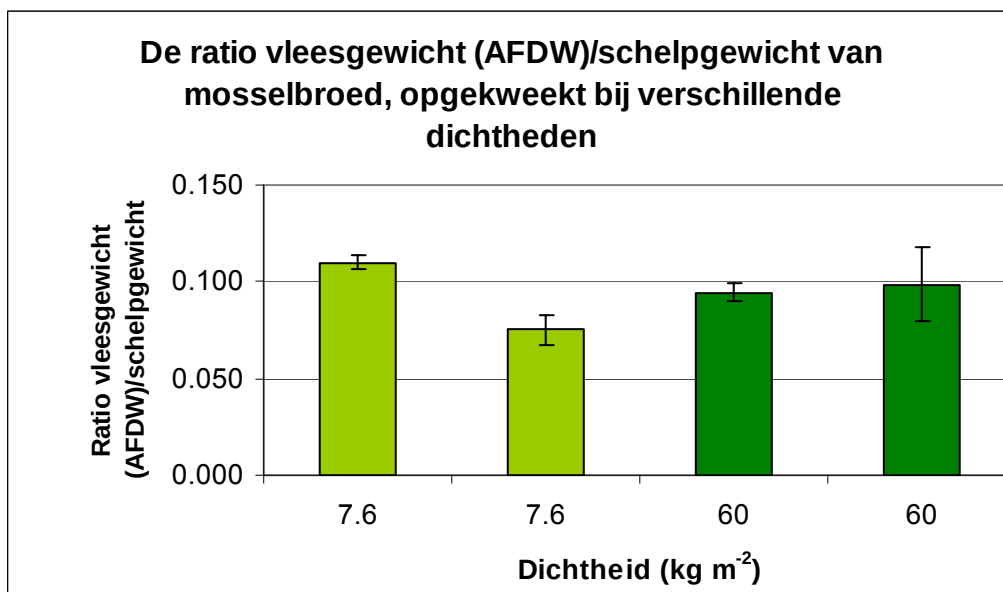
Figuur 3.5.: De gemiddelde schelpenlengte van mosselbroed, opgekweekt bij verschillende dichtheden in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=2.

Naast het wekelijks opmeten en wegen van het broed is aan het eind van het experiment ook het vleesgewicht bepaald. De resultaten daarvan zijn in figuur 3.6 weergegeven. Er is geen significant verschil tussen het vleesgewicht van het broed (AFDW) dat is opgekweekt bij verschillende dichtheden ($p=0,393$).



Figuur 3.6.: Het gemiddelde vleesgewicht (AFDW) van mosselbroed, opgekweekt bij verschillende dichtheden in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=2.

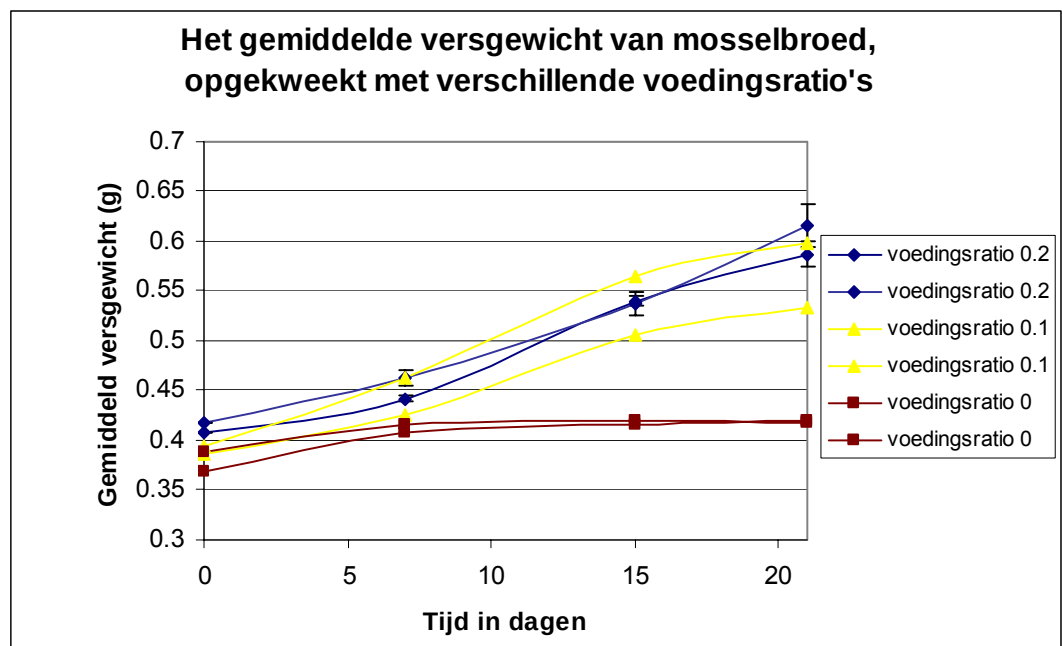
Om na te gaan of er verschil is in conditie tussen het mosselbroed dat is opgekweekt bij een hoge- en lage dichtheid, is de ratio vleesgewicht (AFDW)/schelpgewicht berekend. Figuur 3.7 laat de ratio vleesgewicht/schelpgewicht zien van mosselbroed dat is opgekweekt bij verschillende dichtheden. Uit de grafiek blijkt dat er geen significant verschil is tussen de ratio vleesgewicht/schelpgewicht bij het opkweken van mosselbroed bij een hoge- en lage dichtheid ($p=0,618$).



Figuur 3.7.: De ratio vleesgewicht (AFDW)/schelpgewicht van mosselbroed, opgekweekt bij verschillende dichtheden in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=2.

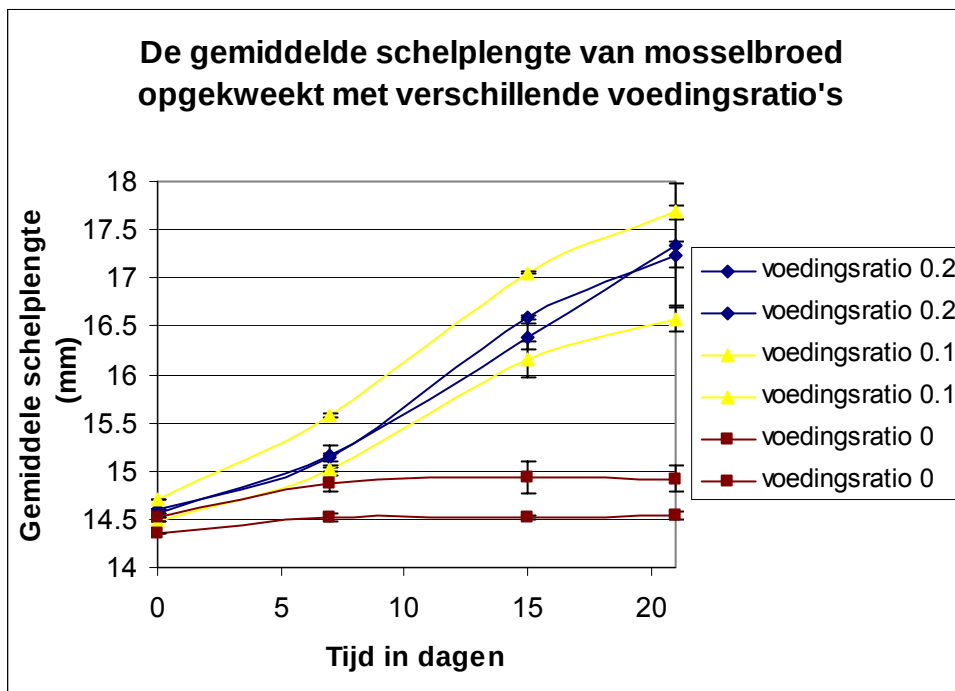
Experiment 2: Verschillende voedingsratio's

Figuur 3.8 laat het gemiddelde gewicht van mosselbroed, dat is opgekweekt met verschillende voedingsratio's zien. Het mosselbroed neemt in de loop der tijd in gewicht toe bij beide voedingsratio's. Op $t=0$ is er geen significant verschil in gewicht tussen de mosselbroedjes ($p=0,309$). Na drie weken gevoerd te zijn is er een significant verschil in gewicht tussen het broed dat gevoerd is met *Dunaliella tertiolecta* en het broed dat alleen gefilterd zeewater heeft gekregen ($p=0,000$). De Post Hoc test wijst uit dat er tussen het broed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0.1 en het broed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0.2 is na 21 dagen geen significant verschil in gewicht is ($p=0.559$). In bijlage 6 zijn de resultaten van de verschillende statistische analyses te vinden.



Figuur 3.8.: Het gemiddelde versgewicht van mosselbroed, opgekweekt met verschillende voedingsratio's in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, $n=2$.

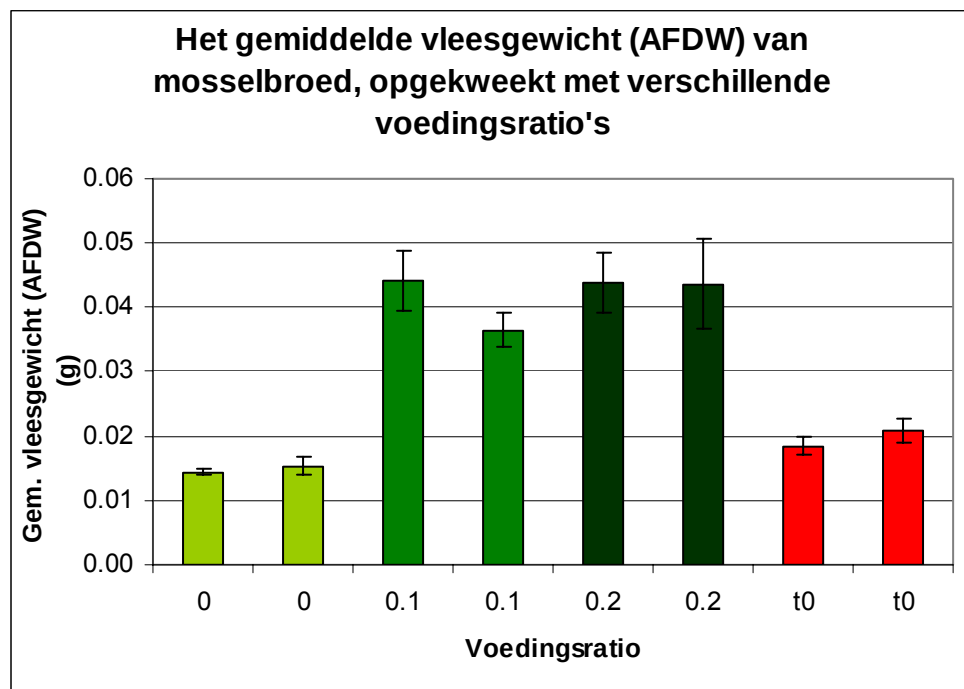
Figuur 3.9 toont de lengte van het mosselbroed dat opgekweekt is met verschillende voedingsratio's. Aan het begin van het experiment was er geen significant verschil tussen de lengte van de broedjes in de verschillende emmers ($p=0,842$). Aan het eind van het experiment, na 21 dagen, is er tussen het broed dat gevoerd is en het broed dat niet gevoerd is met algen, een significant verschil in lengte ($p=0,000$). De Post Hoc test wijst uit dat er tussen het broed dat gedurende het experiment gevoerd is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2, geen significant verschil in lengte is ($p=1,000$).



Figuur 3.9.: De gemiddelde schelp lengte van mosselbroed, opgekweekt met verschillende voedingsratio's in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=2.

In figuur 3.10 wordt het vleesgewicht van het broed na een behandeling van 21 dagen weergegeven. Ook is het vleesgewicht aan het begin van het experiment in de figuur opgenomen (t_0). Het vleesgewicht van het broed dat gedurende het experiment gevoerd is met algen (voedingsratio 0.1 en 0.2) is hoger dan het vleesgewicht aan het begin van het experiment. Het vleesgewicht van het broed dat bij het experiment geen algen heeft gekregen, is lager dan dat aan het begin van het experiment.

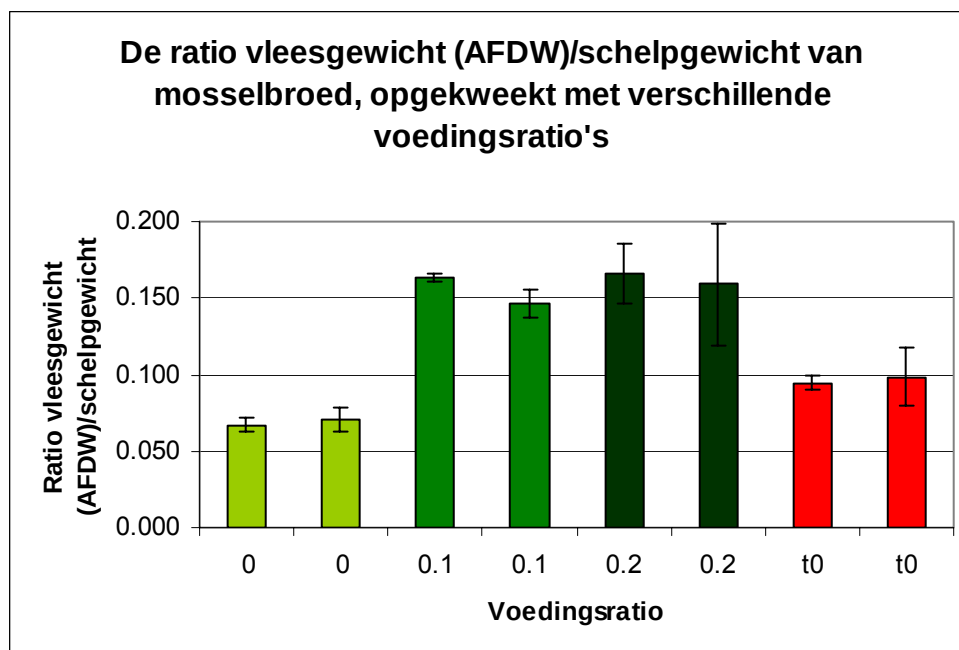
De Post Hoc test wijst uit dat er een significant verschil is tussen het vleesgewicht van het broed dat wél gevoerd is met algen en het broed dat alleen $50\mu\text{m}$ toegediend heeft gekregen ($p=0,000$). Tussen het broed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2 is er geen significant verschil in vleesgewicht ($p=1,000$). Tussen het vleesgewicht op t_0 en het vleesgewicht na opkweken met een voedingsratio van 0 is geen significant verschil ($p=0,601$). Tussen het vleesgewicht van het broed op t_0 en het broed dat gevoerd is met een voedingsratio van 0,1 en 0,2 is wel een significant verschil waargenomen ($p=0,000$).



Figuur 3.10.: Het gemiddelde vleesgewicht (AFDW) van mosselbroed, opgekweekt met verschillende voedingsratio's in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=2.

Figuur 3.11 laat de ratio vleesgewicht/schelpgewicht van het broed zien aan het begin- en eind van het experiment. De ratio vleesgewicht/schelpgewicht is bij het broed dat gedurende het experiment gevoerd is met algen, hoger dan de ratio vleesgewicht/schelpgewicht aan het begin van het experiment (t0). Van het broed dat niet gevoerd is met algen is de ratio vleesgewicht/schelpgewicht lager dan deze ratio aan het begin van het experiment.

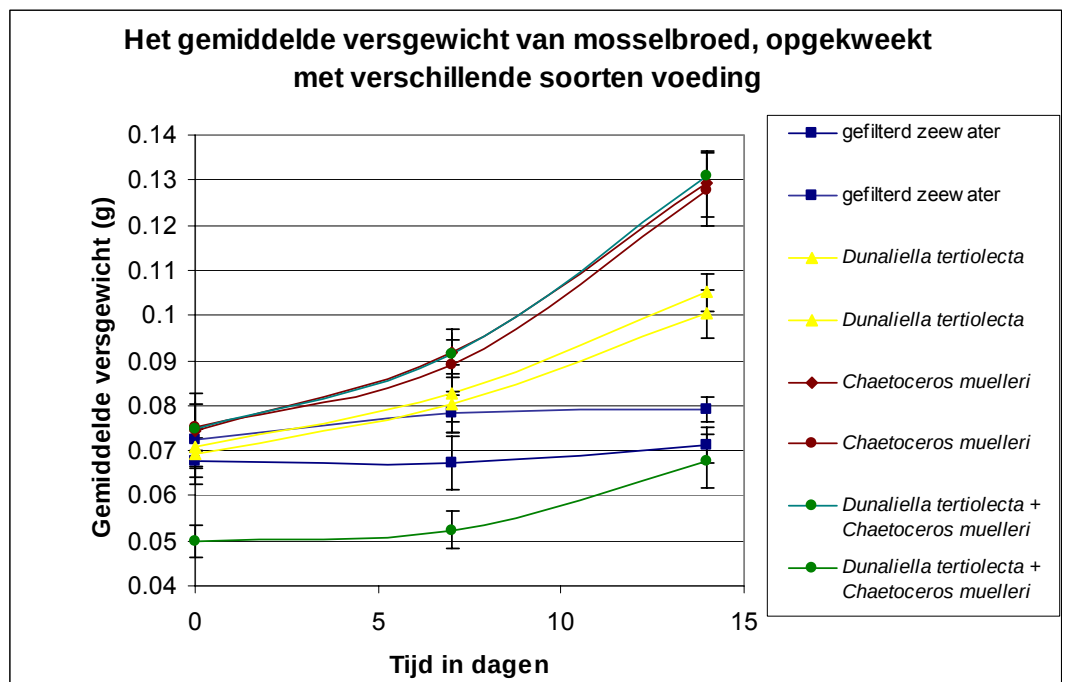
Er is een significant verschil in ratio vleesgewicht/schelpgewicht tussen het broed dat gevoerd is met algen en het broed dat geen algen toegediend heeft gekregen ($p=0,000$). Tussen het broed dat gevoerd is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2 is geen significant verschil in ratio vleesgewicht/schelpgewicht waargenomen ($p=1,000$). Er is een significant verschil tussen de ratio vleesgewicht/schelpgewicht op t0 en het vleesgewicht van broed dat gevoerd is met een voedingsratio van 0.1 en 0.2 ($p=$ resp. 0,001 en 0,000). Tussen de ratio vleesgewicht/schelpgewicht op t0 en het broed dat niet gevoerd is met algen zit geen significant verschil ($p=1,000$).



Figuur 3.11.: De ratio vleesgewicht (AFDW)/schelpgewicht van mosselbroed, opgekweekt met verschillende voedingsratio's in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=2.

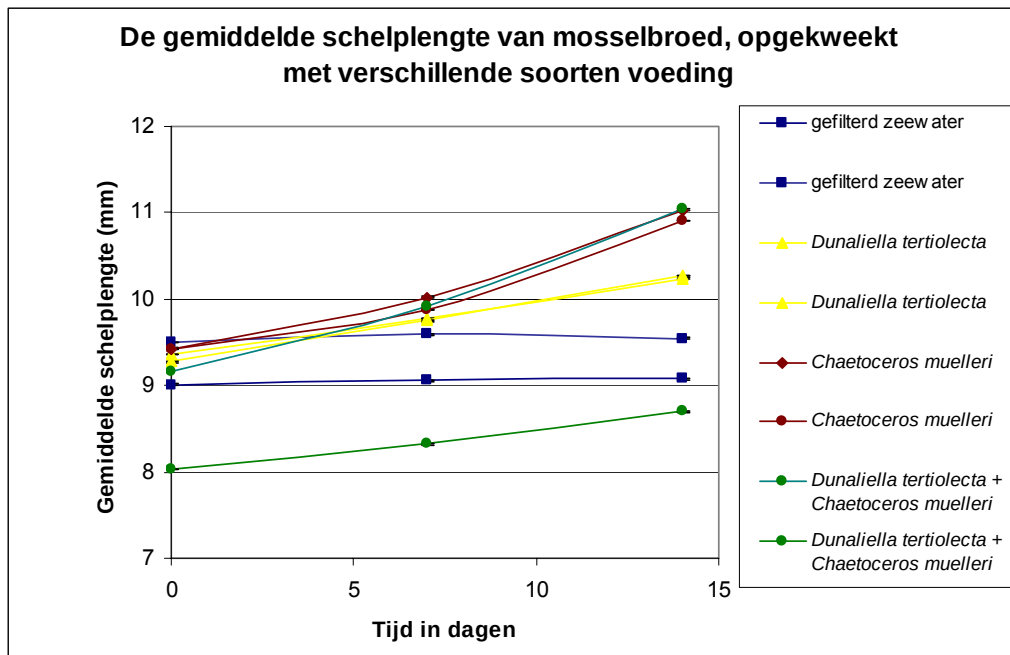
Experiment 3: Verschillende soorten algen

Figuur 3.12 geeft het gemiddelde gewicht van mosselbroed weer dat is opgekweekt met verschillende soorten voeding t.w. de algensoorten *Dunaliella tertiolecta*, *Chaetoceros muelleri*, een combinatie van *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* en gefilterd zeewater. Aan het begin van het experiment was er geen significant verschil in gewicht ($p=0,563$) terwijl aan het eind van het experiment wel een significant verschil in gewicht was ($p=0,000$). Eén behandeling met *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* is in de statistische analyse weggelaten omdat op het begin het gewicht van deze broedjes teveel afweek van de rest. Het broed dat gevoerd is met *Chaetoceros muelleri* is het meest toegenomen in gewicht (van gemiddeld 0,074 gram naar gemiddeld 0,128 gram). Ook het broed dat gevoerd is met een combinatie van *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* is flink in gewicht toegenomen. De Post Hoc test wijst uit dat er geen significant verschil is tussen het gewicht van het broed dat gevoerd is met deze combinatie en het broed dat gevoerd is met alleen *Chaetoceros muelleri* ($p=1,000$). Tussen de andere behandelingen is er onderling een significant verschil in eindgewicht waargenomen ($p=0,000$). In bijlage 6 zijn de resultaten van de verschillende statistische analyses te vinden.



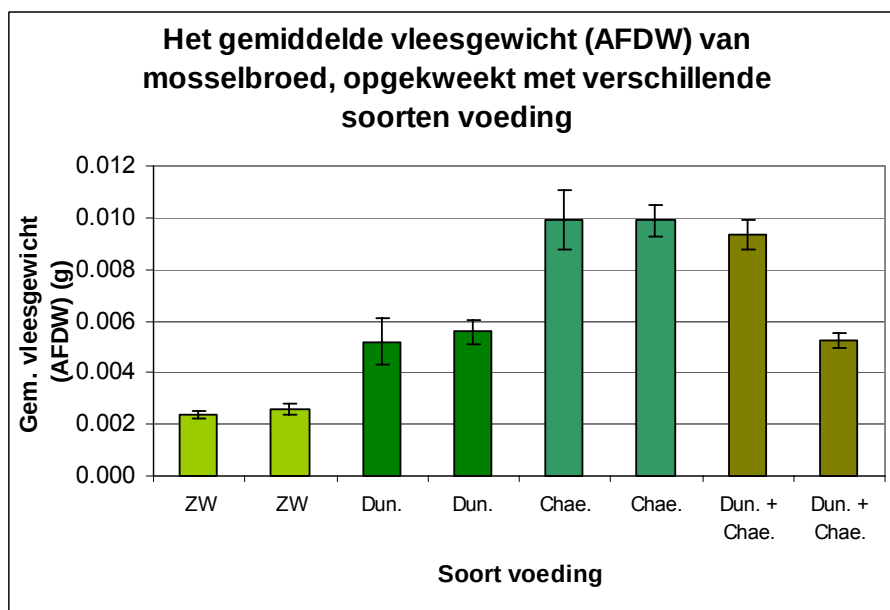
Figuur 3.12.: Het gemiddelde versgewicht van mosselbroed, opgekweekt met verschillende soorten voeding in een opwelling systeem. Sd is aangegeven, $n=3$.

Figuur 3.13 laat de gemiddelde lengte van het broed zien, dat opgekweekt is met verschillende soorten voeding. Ook hier is één behandeling met de combinatie van *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* weggelaten omdat deze in beginlengte teveel afweek. Aan het begin van het experiment was er geen significant verschil in lengte ($p=0,705$) terwijl er aan het eind van het experiment wel een significant verschil in lengte was ($p=0,000$). Ook hier zorgt *Chaetoceros muelleri* vergeleken met *Dunaliella tertiolecta* voor een beter groei. De Post Hoc test wijst echter uit dat er geen significant verschil in groei merkbaar tussen het broed dat gevoerd werd met de combinatie van soorten en alleen *Chaetoceros muelleri* ($p=1,000$). Tussen de andere behandelingen is onderling wel een significant in eindlengte waargenomen ($p=0,000$).



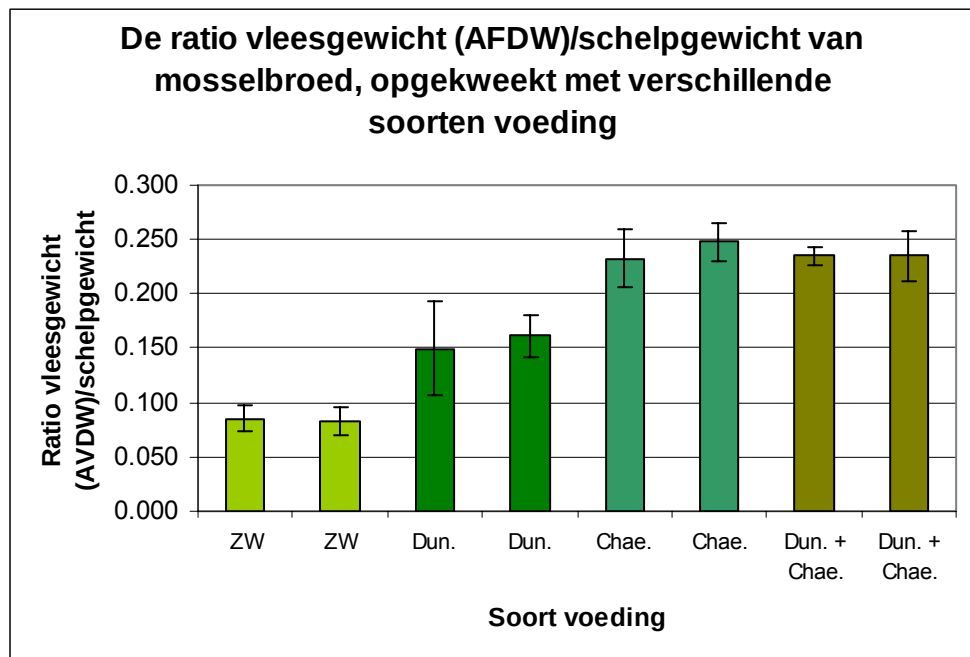
Figuur 3.13.: De gemiddelde schelpenlgte van mosselbroed, opgekweekt met verschillende soorten voeding in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=3.

In figuur 3.14 is het gemiddelde vleesgewicht (AFDW) van het mosselbroed, opgekweekt met verschillende soorten voeding, weergegeven. Er is een significant verschil in vleesgewicht tussen het broed dat is opgekweekt met de verschillende soorten voeding. De Post Hoc test wijst uit dat er geen significant verschil in vleesgewicht is tussen de behandeling met *Chaetoceros muelleri* en de combinatie van *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* ($p=1,000$). Tussen het vleesgewicht van het broed bij de andere behandelingen zit wel een significant verschil ($p=0,000$).



Figuur 3.14.: Het gemiddelde vleesgewicht (AFDW) van mosselbroed, opgekweekt met verschillende soorten voeding in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, n=3. (ZW=50 µm gefilterd zeewater, Dun. = *Dunaliella tertiolecta*, Chae = *Chaetoceros muelleri*, Dun. + Chae. = *Dunaliella tertiolecta* + *Chaetoceros muelleri*)

In figuur 3.15 is de ratio vleesgewicht/schelpgewicht van mosselbroed, opgekweekt met verschillende soorten voeding weergegeven. De figuur laat zien dat er een significant verschil in tussen de ratio vleesgewicht/schelpgewicht na behandeling met verschillende soorten voeding ($p=0,000$). De Post Hoc test wijst uit dat er tussen de ratio vleesgewicht/schelpgewicht van het broed dat gevoerd is met *Chaetoceros muelleri* en de combinatie van *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* zit geen significant verschil ($p=1,000$). De ratio vleesgewicht/schelpgewicht verschilt bij de andere behandelingen wel significant van elkaar ($p=0,000$).



Figuur 3.15.: De ratio vleesgewicht (AFDW)/schelpgewicht van mosselbroed, opgekweekt met verschillende soorten voeding in een upwelling systeem. Sd is aangegeven, $n=3$. (ZW=50 μm gefilterd zeewater, Dun. = *Dunaliella tertiolecta*, Chae = *Chaetoceros muelleri*, Dun. + Chae. = *Dunaliella tertiolecta* + *Chaetoceros muelleri*)

3.5 Discussie

Zoals eerder vermeld is het experiment uitgevoerd met 2 of 3 cylinders per emmer. De algen en het zeewater werden echter per emmer toegedient. Doordat de uitstroomopeningen aan de bovenkant van de cylinders mogelijk niet exact op dezelfde hoogte zaten kan een verschil in doorstroming door de laag broed zijn ontstaan waardoor het broed minder/meer algen heeft gekregen dan broed in een andere cylinder. Bij het ontwerpen van een grootschalig nursery systeem moet men daar rekening met houden.

Bovendien kan een verschil in groei optreden tussen het broed door de positie van het broed in de cylinder. Vooral bij een hoge dichtheid zal de algenconcentratie van het water onderin de cylinder hoger zijn dan bovenin de cylinder, doordat het broed de algen uit het water filtreert. Onderin de cylinder heeft het broed dus meer voedsel ter beschikking zodat het broed daar (waarschijnlijk) harder zal groeien.

Een ander discussiepunt is de manier van wegen van het broed. Omdat het natuurlijk niet mogelijk is om gedurende het experiment telkens van hetzelfde 'gemarke' broed het drooggewicht te bepalen is gekozen voor het bepalen van het versgewicht (natgewicht) van het broed. Dit is niet erg nauwkeurig omdat, ondanks het broed met keukenpapier drooggedept wordt, binnenin nog steeds behoorlijk wat zeewater bevat.

Het broed is bij aanvang van experiment 1 en 2 van merkjes (oranje kraaltje) voorzien. Doordat het zeewater de lijm aantast is gedurende deze experimenten meerdere malen een kraaltje losgeraakt. Vaak kon het broedje worden herkend aan de lijmresten op de schelp, het kwam echter ook voor dat een broedje niet meer terug gevonden werd. De gemiddelde lengte en het gemiddelde gewicht werd dan bepaald met minder dan 10 broedjes, dit kan een kleine fout veroorzaken in de resultaten.

Bij experiment 2 en experiment 3 is bij het berekenen van de hoeveelheid toe te voegen algen uit gegaan van waarden voor het drooggewicht van de algensoorten *Dunaliella tertiolecta* en *Chaetoceros muelleri* uit de literatuur. Deze waarden zijn respectievelijk $99,9 \text{ pg.cell}^{-1}$ en 30 pg.cell^{-1} (Helm et al., 2004). Na afloop van de experiment is ter controle van beide algensoorten het drooggewicht bepaald. Uit deze bepaling blijkt dat het drooggewicht van beide algensoorten hoger is dan de waarde uit de literatuur t.w. respectievelijk $242,7 \text{ pg.cell}^{-1}$ en $138,7 \text{ pg.cell}^{-1}$. Dit houdt in dat bij experiment 3 het broed dat gevoed is met *Dunaliella tertiolecta*, gevoed is met een voedingsratio van 0,49 en het broed dat gevoed is met *Chaetoceros muelleri* heeft een voedingsratio van 0,92 gekregen. Op basis van voedingsratio zou het broed dat gevoerd is met *Chaetoceros muelleri* dus 1,9 keer zo hard moeten groeien als broed dat gevoerd is met *Dunaliella tertiolecta*. Dit komt aardig overeen met de resultaten. Het verschil in de groei wordt dus niet veroorzaakt door de soort alg maar door de hoeveelheid algen.

Voor de experimenten 1 en 2 is gebruik gemaakt van broed uit het veld. Dit broed was langzaam gegroeid broed van een jaar oud. Deze langzame groei van het broed kan van invloed zijn op de groei die is waargenomen gedurende de experimenten, het broed uit de hatchery groeit wellicht harder omdat dit broed is gekweekt onder gunstigere omstandigheden. Ook was het formaat van dit broed (bij aanvang van het eerste experiment 13 à 14 mm) groter dan het formaat waarvoor de nursery eigenlijk bedoelt is (3mm tot 10 mm). Ook dit kan van invloed zijn op de resultaten.

Voor het bepalen van de ratio vleesgewicht/schelpgewicht van het mosselbroed is het vleesgewicht (AFDW) gedeeld door het schelpgewicht. Omdat er slechts 10 broedjes per cylinder werden gewogen was het niet mogelijk te corrigeren voor lengte bij de ratio vleesgewicht/schelpgewicht. Omdat de variatie in lengte minimaal was, zal de fout die hierdoor ontstaat niet erg groot zijn.

3.6 Conclusie

Mosselbroed kan opgekweekt worden bij een dichtheid van 60 kg/m^2 , er is namelijk géén of nauwelijks mortaliteit van het broed waargenomen. Opkweken van het broed bij een lagere dichtheid ($7,6 \text{ kg/m}^2$) is echter beter. Het broed groeit, zowel in lengte als in gewicht, bij een lage dichtheid harder dan bij een hoge dichtheid bij een gelijke voedingsratio. Hierdoor kan het broed sneller de nursery verlaten en uitgezaaid worden op een perceel of gebruikt worden in de hangcultuur.

In de conditie van het mosselbroed, opgekweekt bij een hoge- en lage dichtheid is echter geen verschil. Tussen zowel het vleesgewicht als de ratio vleesgewicht/schelpgewicht is geen significant verschil waargenomen.

Omdat de het werkelijke drooggewicht van de gevoerde algensoorten veel hoger is dan het aangenomen drooggewicht uit de literatuur, is er bij experiment 2 in werkelijkheid *Dunaliella tertiolecta* gevoerd met een voedingsratio van 0,243 i.p.v. 0,1 en met een voedingsratio van 0,486 i.p.v. 0,2. Aan de hand van experiment 1 kunnen we dus concluderen dat mosselbroed niet beter groeit bij een voedingsratio van 0,486 dan bij een voedingsratio van 0,243. Er is namelijk geen significant verschil in lengte, gewicht, vleesgewicht en ratio vleesgewicht/schelpgewicht tussen mosselbroed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0,243 en mosselbroed dat opgekweekt is met een voedingsratio van 0,486. Dit houdt in dat het, in tegenstelling tot de in de literatuur genoemde optimale voedingsratio van 0,4 (Helm et al., 2004), geen zin heeft het mosselbroed te voeden met een voedingsratio hoger dan 0,243.

In tegenstelling tot het mosselbroed dat wél gevoerd is met algen, is het broed dat geen algen heeft gekregen, niet of nauwelijks gegroeid. De conditie van het broed dat niet gevoerd is met algen is niet verbeterd of verslechterd; er is namelijk geen significant verschil tussen de ratio vleesgewicht/schelpgewicht aan het begin van het experiment en aan het eind van het experiment. Het mosselbroed dat gevoerd is met algen is gedurende het experiment in kwaliteit verbeterd; de ratio vleesgewicht/schelpgewicht is aan het eind van het experiment significant hoger. We kunnen dus concluderen dat voeden van mosselbroed met algen (in dit geval de algensoort *Dunaliella tertiolecta*) erg belangrijk is in de nursery fase.

Omdat *Chaetoceros muelleri* gevoerd is met een voedingsratio van 0,92 en *Dunaliella tertiolecta* met een voedingsratio van 0,49 zou het broed dat gevoerd is met *Chaetoceros muelleri* bijna twee keer zo hard moeten kunnen groeien op basis van voedingsratio. Dit komt aardig overeen met de resultaten en we kunnen concluderen dat beide soorten even geschikt zijn als voeding voor mosselbroed. Het broed dat gevoerd is met de combinatie van algensoorten heeft een voedingsratio van 0,70 gekregen. Dit houdt in dat het broed op basis van voedingsratio minder zou moeten groeien dan het broed dat gevoerd wordt met *Chaetoceros muelleri*. Er is echter geen significant verschil in lengte, gewicht, vleesgewicht en ratio vleesgewicht/schelpgewicht waargenomen tussen het broed dat gevoerd is met *Chaetoceros muelleri* en de combinatie van soorten. We kunnen dus concluderen dat de combinatie van soorten de meest geschikte voeding is. Dit komt overeen met wat in de literatuur wordt vermeldt; een combinatie van flagellaten en diatomeeën resulteert in de beste groei (Claus et al., 1981). Bovendien is het voeden met een combinatie van beide algensoorten het meest kostefficiënt omdat het kweken van *Dunaliella tertiolecta* minder arbeidsintensief is en dus minder kost.

4. Inventarisatie algenkweek systemen

4.1 Doelstelling

Mosselen voeden zich door het filtreren van natuurlijk zeewater. In het larvale stadium voor de hatchery van mosselen (*M. edulis*) worden de larven gevoed met algen van een geschikte soort. Omdat de voedselbehoefte van de larven klein is, is een kleinschalige kweek van algen in bijvoorbeeld plastic zakken voldoende. Nadat de larven zich hebben vastgezet en groter worden, wordt ook de behoefte aan algen groter en groter. Een D-larve heeft bijvoorbeeld 4000 cellen *Tetraselmis sp.* per dag nodig terwijl een broedje van 10 mm 34000 cellen per dag nodig heeft voor een optimale groei (Helm et al., 2004). De productiecapaciteit van de kleinschalige kweek in plastic zakken zoals bij de hatchery van Roem van Yerseke wordt gedaan, is niet voldoende om aan de vraag van de broedjes te voldoen. Een grootschalige en minder arbeidsintensieve algenkweek is daarom nodig. Omdat ook ruimtegebrek een rol zal spelen, zal deze algenkweek buiten gaan plaatsvinden. Het doel van deze literatuurstudie is dus na te gaan welke algenkweek systemen geschikt zijn voor de grootschalige algenkweek buiten, ten behoeve van de nursery.

Tabel 4.1.: Gebruik van algensoorten in de hatchery/nursery van tweekleppigen (Coutteau en Sorgeloos, 1992)

Algensoort	Frequentie van gebruik
<i>Isochrysis sp.</i>, clone T-Iso	31
<i>Chaetoceros gracilis</i>	23
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	16
<i>Tetraselmis suecica</i> *	15
<i>Thalassiosira pseudonana</i> , clone 3H *	14
<i>Pavlova lutheri</i> *	11
<i>Isochrysis galbana</i> *	8
<i>Skeletonema costatum</i> *	6
<i>Chroomonas salina</i>	5
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	4
<i>Chaetoceros simplex</i>	3
<i>Chaetoceros muelleri</i>	3
<i>Nannochloropsis sp.</i>	3
<i>Cyclotella sp.</i>	2
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> *	2
<i>Tetraselmis chui</i>	2
<i>Pavlova salina</i>	1
<i>Dicrateria sp.</i>	1
<i>Tetraselmis levis</i>	1
<i>Dunaliella perva</i>	1
<i>Thalassiosira weissfloggii</i>	1
<i>Chlamydomonas sp.</i>	1
<i>Chlorella sp.</i>	1
Totaal	43

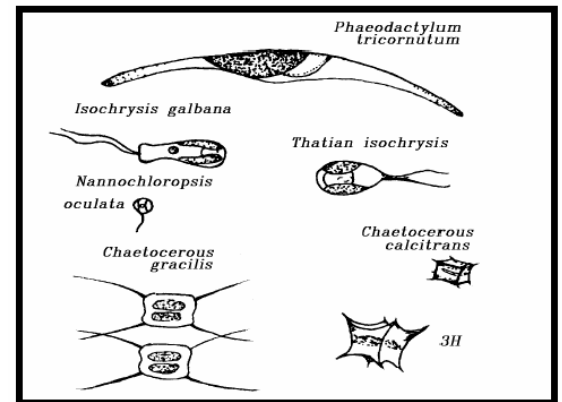
4.2 Methode

Voor het inventariseren van de geschikte algenkweek systemen is een literatuurstudie gedaan. Daarbij heb zowel gebruik gemaakt van artikelen die ik gevonden heb op het internet als artikelen en boeken uit de bibliotheek van IMARES Yerseke. Voor het zoeken naar informatie op internet heb ik gebruik gemaakt van zoekmachines (www.google.nl en www.altavista.com) en de database van sciencedirect (www.sciencedirect.com). Voor het zoeken van informatie in de bibliotheek van IMARES heb ik gebruik gemaakt van het programma Endnote. Omdat de beschikbare tijd beperkt was en de nadruk vooral lag op het vergelijken van de nursery-systemen, is voor het vergelijken van de algenkweek systemen gebruik gemaakt van een vergelijking gevonden in de literatuur.

4.3 Welke algen zijn geschikt?

Voor het optimaliseren van de nursery is het van belang te weten welke algensoorten geschikt zijn als voer voor mosselbroedjes en wat de voedingswaarde van deze soorten is. Daartoe hebben Coutteau en Sorgeloos (1992) onderzoek gedaan naar het gebruik van algensoorten in 43 verschillende hatcheries. Tabel 4.1 geeft een overzicht van de verschillende algensoorten die worden gebruikt in de hatchery en nursery van tweekleppigen. De algensoorten met een * zijn daadwerkelijk geschikt voor de hatchery/nursery van mosselen (Claus et al., 1981). De voor de hatchery en nursery bij Roem van Yerseke gekweekte algensoorten (*Isochrysis sp.* (T-Iso), *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros muelleri*, *Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros calcitrans* en *Skeletonema costatum*) zijn vetgedrukt weergegeven. Dit zijn stuk voor stuk soorten die veel gebruikt worden in de hatchery/nursery van tweekleppigen.

Uit onderzoek is gebleken dat een dieet van verschillende algensoorten de hoogste groeisnelheden en laagste mortaliteit opleverden (Claus et al., 1981). Er bestaat een sterk verband tussen de voedselconcentratie, de grootte van de partikels (algen) en het filter-feeding gedrag van de tweekleppige (Claus et al., 1981). De meeste tweekleppigen (waaronder de mossel) zijn in staat partikels kleiner dan 7 μm effectief op te nemen. De mossel is zelfs in staat partikels kleiner dan 2 μm effectief op te nemen (Claus et al., 1981). Bij een bepaalde (hoge) concentratie worden de geschikte algen niet meer opgenomen door de mossel maar uitgescheiden als pseudo-faeces. Deze 'pseudo-faeces drempel' ligt voor de mossel op 40.000 cellen/ml (Pers. med. Carter Newell).



Figuur 4.1.: Algensoorten die gebruikt worden in veel schelpdier hatcheries. (Cahen, 2005).

4.4 Grootschalige algencultuur

Voor de grootschalige cultuur van algen ten behoeve van de nursery kan onderscheid worden gemaakt tussen een monocultuur en een polycultuur. Bij een monocultuur wordt kunstmatig geïnoculeerd met één specifieke algensoort welke eerst opgekweekt is in kleinere volumes. Een monocultuur vraagt bovendien om een zorgvuldige behandeling en er is water nodig dat gefilterd is over 1 μm om contaminatie met een andere algensoort te voorkomen. Toch is het moeilijk om een besmetting met andere soorten tegen te gaan, wat tot het instorten van de cultuur kan zorgen. Daarom wordt veelal gekozen voor een polycultuur (cultuur van meerdere soorten) welke wordt geïnoculeerd met natuurlijk zeewater en de daarin ter plekke voorkomende algensoorten. Ondanks dat het zeewater wordt gefilterd over 5 μm (om predatie door zoöplankton te voorkomen) is er een slechte controle over de soortensamenstelling van de cultuur. De factoren die de bepalend zijn voor de soortensamenstelling zijn de nutriënten-ratio's (N:Si:P), de temperatuur, de saliniteit, de verblijftijd en de mate van beluchting. Een ander nadeel is dat er toxische soorten in de cultuur kunnen voorkomen (Claus et al., 1981).

4.5 Open systemen

Voor de commerciële kweek van algen en de kweek van algen voor toepassing in de aquacultuur wordt voornamelijk gebruik gemaakt van open systemen. De reden hiervoor is dat open systemen veel goedkoper zijn dan gesloten systemen en het is moeilijk gesloten systemen uit te breiden indien nodig. Bovendien is voor gesloten systemen vaak een kunstmatige lichtbron nodig wat resulteert in hoge energie kosten terwijl bij open systemen gebruik wordt gemaakt van zonlicht (Borowitzka, 1998). Daarentegen kan maar een klein aantal algensoorten succesvol worden gehouden in open systemen, vanwege contaminatie met andere soorten die gaan concurreren met de gewenste soort. Bovendien is het moeilijk om een belangrijke factor, de temperatuur, te controleren.

Open tank of vijver

Cultivatie van algen in open tanks of vijvers is een populaire methode bij veel hatcheries. De diepte van de tanks bedraagt vaak zo rond de 80 a 90 cm. Omdat een intensieve manier om de cultuur te mixen vaak ontbreekt, is het slechts geschikt voor een batchcultuur met een lage celconcentratie (een paar miljoen cellen/ml) dat wordt bereikt binnen 2 a 3 dagen na inoculatie. Een continue cultuur is ook mogelijk zolang de celconcentratie laag wordt

gehouden (door een hoge verdunning). Voor zulke lage concentraties is slechts een minimale mixing nodig voor de meeste soorten. Dit geldt ook voor *Chaetoceros sp.*, *Isochrysis sp.* en *Skeletonema sp.* welke veel worden gebruikt in de hatchery en nursery van mosselen (Richmond, 2004).



Figuur 4.2.: De kweek van algen in open tanks bij IFREMER, Frankrijk.

Open raceway

De open raceway is ontwikkeld in de jaren '50 tot een kosteffectieve manier voor de kweek van *Nannochloropsis sp.* voor gebruik in de aquacultuur. Deze soort wordt vaak gebruikt als voer bij de hatchery van tweekleppigen (zie tabel 7.1). Een voorbeeld van het gebruik is de commerciële aquacultuur in Eilat, Israël, welke gebruikt maakt van raceway's. De raceway's hebben een oppervlakte van 50 of 100 m² met een diepte tussen de 15 en 25 cm. De cultuur wordt gemixed door middel van een schoepenrad van 150 cm breed welke een stroomsnelheid veroorzaakt van 70 cm s⁻¹. Bovendien wordt 1-2 l CO₂ toegevoegd per 50 m² vijver. Dit wordt aangepast aan de pH en heeft als doel de pH te stabiliseren. Het inkomende water wordt met UV of Ozon behandeld en gefilterd over 5 µm. Met dit systeem kan een maximale dichtheid van 20×10^6 cellen ml⁻¹ worden verkregen, $10-12 \times 10^6$ cellen ml⁻¹ is echter optimaal. In de zomer, wanneer 25-30% van de cultuur wordt geoogst per dag, is de opbrengst 16 g (DW) m⁻² d⁻¹. In de winter (15% oogst) is dit gemiddeld 8 g (DW) m⁻² d⁻¹. De productiekosten van 1 kg (DW) *Nannochloropsis sp.* komen daarbij op ongeveer US\$40 = €34 (Richmond, 2004). Omdat het aantal zonuren en de lichtintensiteit in Nederland minder is dan in Israël, zal de opbrengst van dit systeem in Nederland lager zijn. In Nederland kweekt het bedrijf AquaCultura uit Barchem (www.aquacultura.nl) op commerciële schaal algen in open raceway's.



Figuur 4.3.: Commerciële algenproductie in een open raceway op zeer grote schaal bij Microbio in Calipatria, California.

Open cilindrische tanks

Een andere methode die wordt toegepast voor de productie van algen ten behoeve van aquacultuur is het kweek van algen in open, transparante, polyester cylinders. Daarbij moet worden gedacht aan een tank met een diameter van 30cm en 180cm hoog. Dit is een goed systeem omdat de contaminatie met andere ongewenste microalgen en zoöplankton-grazers minimaal is. Bovendien is dit systeem zeer geschikt voor de kweek van *Chaetoceros sp.* en *Skeletonema costatum* mits voldoende nutriënten worden toegevoegd (Harrison & Davis, 1979). Onder gunstige omstandigheden kan een semi-continue cultuur buiten met *Chaetoceros sp.* zelfs een celdichtheid van 7.8×10^6 cellen ml^{-1} bereiken met een dominantie van *Chaetoceros sp.* van 95% (Hering & Wang, 1996).



Figuur 4.4.: Algenkweek in open cilindrische tanks. (www.photolib.noaa.gov)

4.6 Gesloten systemen

Fotobioreactoren

Fotobioreactoren zijn systemen voor de kweek van algen waarbij een groot deel van het licht (>90%) niet direct op de oppervlakte van de cultuur komt maar door de transparante wanden van de reactor moet dringen om de cellen te bereiken. Daardoor is gasuitwisseling tussen de cultuur en de atmosfeer niet mogelijk, maar ook contaminanten kunnen de cultuur daardoor moeilijk bereiken. De verhouding oppervlakte : volume is bij deze reactors groot, er kan dus veel licht worden gebruikt voor fotosynthese waardoor een hoge algenconcentratie kan worden bereikt. Fotobioreactoren komen voor in allerlei soorten en maten. De zogenaamde 'serpentine' reactoren zijn gemaakt van lange, transparante buizen waardoor de algencultuur wordt gepompt. De buizen zijn door middel van u-bochten met elkaar verbonden.

Voedingsstoffen, zuurstof en CO₂ worden aan het begin het systeem toegevoegd, aan het eind van het systeem worden de algen geoogst. Een andere mogelijkheid is de zogenaamde 'manifold' reactor. Deze reactor bestaat uit lange (6 tot 85 m) transparante buizen die geplaatst zijn met een klein verval. De buizen komen uit in een verzamelleiding (=manifold) waarna het doormiddel van een pomp omhoog wordt gepompt en door middel van gravitatie weer naar beneden stroomt. Voor dit systeem is slechts 15% van de energie nodig die voor een serpentine reactor nodig is. Ook worden spiraalvormige fotobioreactoren gebruikt waarbij over het algemeen doorzichtige slangen om een rechtopstaande pilaar zijn gewonden. Een voorbeeld hiervan is de zogenaamde BIOCOIL reactor.



Figuur 4.5.: 1000 L Pilot-schaal Biocoil fotobioreactor bij Murdoch University, Western Australia.

Een andere fotobioreactor die wordt gebruikt voor het kweken van *Nannochloropsis sp.*, een soort die gebruikt wordt als voer voor tweekleppigen (zie tabel 4.1), is de flat plate reactor. De reactor bestaat uit twee glazen platen met een tussenruimte van 1 tot 10 cm waarin de algen worden gehouden. De cultuur wordt gemixed door toevoegen van lucht. De productie van dit systeem hangt sterk af van de breedte van de cultuur en kan oplopen tot 14 g *Nannochloropsis sp.* m² bij een breedte van de reactor van 10 cm. De kosten bij gebruik van een 2000 l reactor variëren van €55 tot €120 per kg dw. Ook *Chaetoceros muelleri* en *Isochrysis galbana* kunnen in een flat plate reactor worden gekweekt met een celconcentratie tot 28×10^6 cellen/ml en een opbrengst van 13-16 g m⁻² (Richmond, 2004).

4.7 Vergelijking Algenkweek systemen

Voor het maken van een vergelijking van de hierboven genoemde algenkweek systemen is gebruik gemaakt van een in de literatuur bestaande vergelijking (Borowitzka, 1998). Naast deze systemen is ook de cultuur in plastic zakken zoals momenteel bij Roem van Yerseke gedaan wordt meegenomen.

Tabel 4.2.: Vergelijking van algenkweek systemen (Borowitzka, 1998).

Type reactor	Mixing	Licht gebruik efficiëntie	Temperatuur controle	Gas uitwisseling	Hydrodynamische stress op algen	Soorten controle	Steriliteit
Ongemixte tank of vijver	Zeer slecht	Slecht	Geen	Slecht	Heel laag	Moeilijk	Geen
Open cilindrische tank	Redelijk	Redelijk goed	Geen	Slecht	Laag	Moeilijk	Geen
Raceway	Redelijk goed	Redelijk goed	Geen	Slecht	Laag	Moeilijk	Geen
Zakken cultuur	Variabel	Redelijk goed	Goed (binnen)	Matig	Laag	Gemakkelijk	Goed
Flat-plate	Uniform	Uitstekend	Goed	Hoog	Matig	Gemakkelijk	Redelijk
Serpentine	Uniform	Uitstekend	Goed	Laag-hoog	Laag-hoog	Gemakkelijk	Redelijk
Biocoil	Uniform	Uitstekend	Goed	Laag-hoog	Laag-hoog	Gemakkelijk	Redelijk

De omstandigheden in het meest eenvoudige algenkweek systeem, de ongemixte tank of vijver zijn niet gunstig voor de meeste algensoorten, bovendien kan slechts een lage celconcentratie worden bereikt. Bij de open cilindrische tank en de open raceway is de mixing van de cultuur beter en bovendien wordt het licht efficiënter gebruikt. Hierdoor kan een hogere celconcentratie worden bereikt. De fotobioreactoren bieden echter de gunstigste omstandigheden; de cultuur is uniform, het licht wordt zeer efficiënt gebruikt, de temperatuur is controleerbaar en bovendien is er een goede controle over de soorten in de cultuur.

4.8 Discussie

De gegevens over de verschillende algenkweek systemen is afkomstig uit verschillende bronnen. De gegevens over bijvoorbeeld de maximaal haalbare celconcentratie van een systeem, de productiecapaciteit en de kosten per kg algen zijn sterk afhankelijk van de locatie waar deze systemen operationeel zijn. De temperatuur en lichtintensiteit zijn namelijk van invloed op groei van de algencultuur (zie hoofdstuk 5.)

Omdat de beschikbare tijd beperkt was, is voor het vergelijken van de algenkweek systemen gebruik gemaakt van een vergelijking uit de literatuur. Voor deze vergelijking door Borowitzka

(1998) is weer gebruik gemaakt van verschillende bronnen over algenkweek technieken die over de gehele wereld verspreidt toegepast worden. Om een goede vergelijking te maken van verschillende algenkweek systemen, zou het goed zijn om op dezelfde plaats, onder dezelfde omstandigheden verschillende systemen te testen en met elkaar te vergelijken.

4.9 Conclusie

De algensoorten die worden gekweekt bij Roem van Yerseke (*Isochrysis sp. (T-Iso)*, *Pavlova lutheri*, *Chaetoceros muelleri*, *C. gracilis*, *C. calcitrans*, *Skeletonema costatum* en *Nannochloropsis sp.*) worden in veel hatcheries voor schelpdieren gebruikt.

Voor het kweken van deze algensoorten zijn in de loop der tijd veel verschillende systemen ontwikkeld, welke toegepast worden in schelpdierhatcheries. De open tank of vijver is daarbij een populaire methode omdat het een eenvoudige methode is. Uit de vergelijking van de algenkweek systemen kunnen we echter concluderen dat de fotobioreactor het meest geschikte systeem is voor de grootschalige algenkweek omdat dit systeem zorgt voor een uniforme mixing van de cultuur, het licht wordt zeer efficiënt gebruikt, de temperatuur is controleerbaar en doordat het een gesloten systeem is, is de kans op contaminatie met andere soorten klein. Dit resulteert in een hogere maximaal haalbare celconcentratie t.o.v. de andere systemen waardoor de omvang van het systeem kleiner is. De fotobioreactor is in ieder geval geschikt om *Nannochloropsis sp.*, *Chaetoceros muelleri* en *Isochrysis galbana* te kweken, dit zijn stuk voor stuk soorten die veel worden gebruikt in schelpdierhatcheries. Omdat fotobioreactoren erg duur zijn in aanschaf, worden ze echter niet veel gebruikt in schelpdierhatcheries.

5. Experimenten algenkweek

5.1 Doelstelling

Na het uitvoeren van de literatuurstudie is op het terrein achter de hatchery van Roem van Yerseke B.V. een algenkweek opgestart in grote polyester bakken ten behoeve van de nursery experimenten (zie hoofdstuk 3). Er is gekozen voor het kweken van algen in open tanks omdat dit een veel gebruikte methode is bij veel schelpdierhatcheries. Bovendien kon ik gebruik maken van materialen (bakken) van IMARES Yerseke zodat er geen nieuwe materialen aangeschaft moesten worden. Naast het gebruik van de algen voor de nursery experimenten hebben deze cultures als doel aan te tonen of er een verband bestaat tussen de lichtintensiteit en temperatuur op de maximale celconcentratie (experiment 1).

Naast de kweek van algen (*Dunaliella tertiolecta*) in deze grote bakken, zijn er ook twee experimenten uitgevoerd om deze algenkweek te optimaliseren. Het doel van experiment twee is aan te tonen of beluchting van de cultuur van invloed is op de groei en maximaal haalbare celconcentratie. Het doel van het derde experiment is te achterhalen bij welke hoeveelheid toegevoegde nutriënten de maximale celconcentratie het hoogst is en of de hoeveelheid nutriënten van invloed is op de groei.



Figuur 5.1.: De kweek van *Dunaliella tertiolecta* in open bakken bij de hatchery van Roem van Yerseke.

5.2 Materiaal en methode

Experiment 1

Experiment 1 heeft plaatsgevonden van 26 April t/m 26 Juni 2006. Er is voor dit experiment gebruik gemaakt van 5 ronde polyester bakken van 2,13 m³ op het terrein achter de hatchery van Roem van Yerseke B.V. (zie figuur 5.1). De algenkweek is begin april opgestart door een bak met 800 liter 5µm gefilterd zeewater (uit de Oosterschelde) te verrijken met stikstof en fosfaat in de verhouding volgens het F2 medium t.w. 16,25 gram NH₄Cl en 1,8 gram NaH₂PO₄·2 H₂O per 800 liter (Kamermans et al., 2005). In deze bak is een algenbloei ontstaan waarbij de algensoort *Dunaliella tertiolecta* domineerde. Met deze cultuur is vervolgens verder gekweekt door de andere bakken telkens te vullen met 800 l 1 µm en uv gefilterd zeewater uit de hatchery en te verrijken met bovenstaande hoeveelheid nutriënten en te enten met ca. 50 liter van een volgroeide cultuur. Van de vijf bakken werd vijf maal per week de algenconcentratie bepaald met behulp van een hematocytometer (zie bijlage 3). Voor gegevens over de temperatuur en zonneshij is gebruik gemaakt van gegevens van het knmi (www.knmi.nl). De gemiddelde temperatuur en het gemiddelde aantal uren zonneshij is vervolgens berekend over de periode dat een bepaalde cultuur heeft ingestaan. Deze gegevens zijn verzameld op het meetstation in Vlissingen. Wanneer een cultuur zijn maximale celconcentratie bereikte (na 5 à 7 dagen) werd deze gebruikt als voeding bij de nursery experimenten. De bak werd dan schoongemaakt, opnieuw gevuld met verrijkt zeewater en geënt met ca. 50 liter van een andere bak.

Experiment 2

Experiment 2 heeft plaatsgevonden van 1 t/m 8 juni 2006. De gemiddelde temperatuur van de cultuur bedroeg in deze periode 12,7 °C met een gemiddelde zonneshijn van 8,5 uur per dag. Voor dit experiment is gebruik gemaakt van zes 25 liter emmers (ø 0,33 m en h= 0,35 m). Deze emmers zijn gevuld met 20 liter 1µm gefilterd zeewater uit de hatchery en verrijkt met stikstof en fosfaat in de verhouding volgens het F2 medium t.w. 0,40 gram NH₄Cl en 0,045 gram NaH₂PO₄·2 H₂O per 20 liter (Kamermans et al., 2005). De emmers zijn vervolgens geënt met 2 liter *Dunaliella tertiolecta*, met een celconcentratie van 275.000 cellen/ml, afkomstig uit een grote algencultuur. Drie emmers zijn gedurende het experiment belucht m.b.v. een zuurstofpompje, de andere drie emmers zijn niet belucht (zie figuur 5.2). Tijdens het experiment is vier keer de celconcentratie van de verschillende emmers geteld met behulp van een hematocytometer (bijlage 3).



Figuur 5.2.: De opstelling van experiment 1 met links de emmers met beluchting en rechts de emmers zonder beluchting

Experiment 3

Experiment 3 heeft plaatsgevonden van 23 t/m 30 juni 2006. De gemiddelde temperatuur van de cultuur bedroeg in deze periode 16,6 °C met gemiddeld 8,4 uren zonneshijn per dag. Voor dit experiment is ook gebruik gemaakt van zes 25 liter

emmers (ø 0,33 m en h= 0,35 m). Deze emmers zijn gevuld met 20 liter 1µm gefilterd zeewater uit de hatchery en verrijkt met stikstof en fosfaat in de verhouding volgens het F2 medium (Kamermans et al., 2005), maar met verschillende hoeveelheden. In tabel 5.1 staan de toegevoegde hoeveelheden nutriënten weergegeven. Gedurende het experiment is vier keer de celconcentratie van de verschillende emmers geteld met behulp van een hematocytometer (bijlage 3).

Tabel 5.1.: De hoeveelheid toegevoegde nutriënten bij experiment 2.

Emmer	NH ₄ Cl (gram)	NaH ₂ PO ₄ ·2 H ₂ O (gram)
A	0,20	0,0225
B	0,20	0,0225
C	0,40	0,045
D	0,40	0,045
E	0,80	0,09
F	0,80	0,09

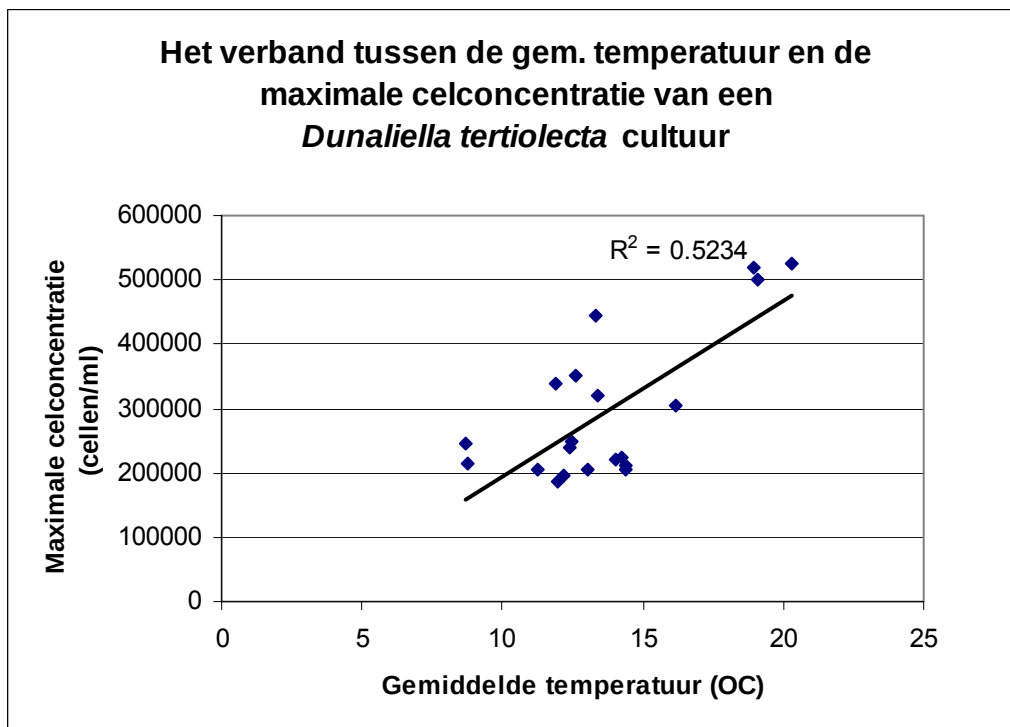
Statistische analyse

De resultaten van de verschillende experimenten zijn statistisch geanalyseerd met behulp van het programma Systat. Voor experiment 1 is gebruik gemaakt van een analyse voor Lineaire Regressie. Voor de experimenten 2 en 3 is gebruik gemaakt van een ANOVA met Post Hoc test. Deze statistische toets wordt gebruikt om na te gaan of de populatiegemiddelden van twee of meer groepen van elkaar verschillen. Bij experiment 1 werd het effect van gemiddelde temperatuur en gemiddelde aantal uren zonneshijn getest op de maximale celconcentratie. Bij experiment 2 werd het effect van beluchting getest op de maximale celconcentratie en bij experiment 3 werd het effect van de hoeveelheid nutriënten getest op de maximale celconcentratie. De resultaten zijn getoetst met een significantieniveau van 0,05. Voor de resultaten van deze statistische analyses zie bijlage 6.

5.3 Resultaten

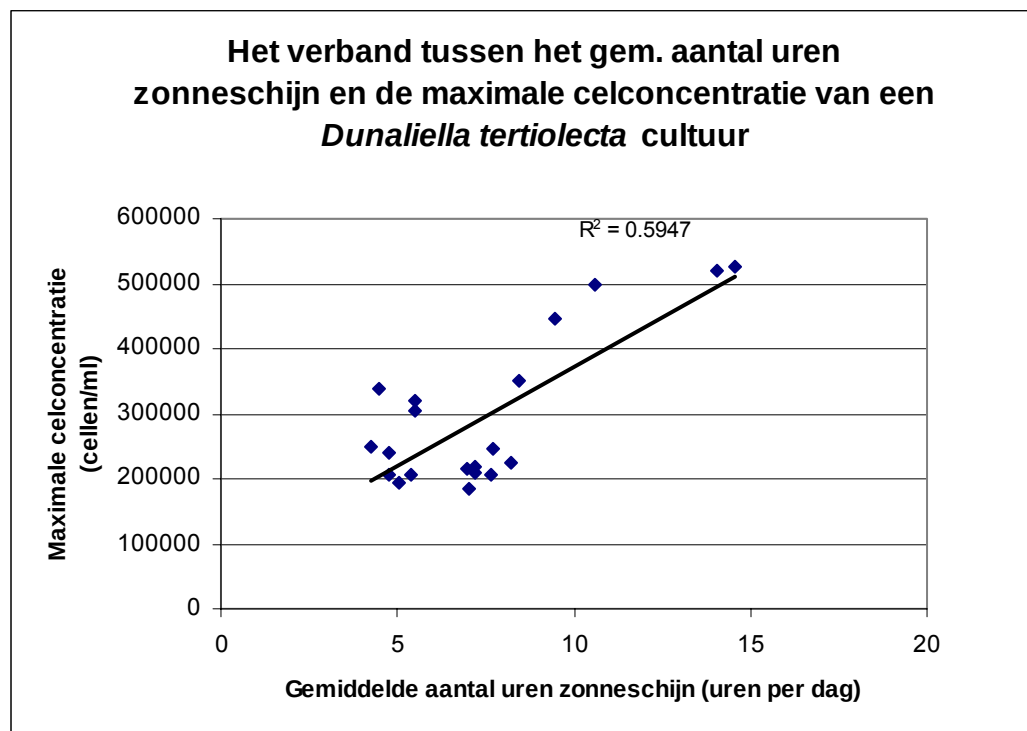
Experiment 1

Figuur 5.3 laat het verband zien tussen de gemiddelde temperatuur en de maximale celconcentratie van een *Dunaliella tertiolecta* cultuur. Er is een toename in maximale concentratie te zien bij een toenemende gemiddelde temperatuur. Een statistische analyse van de regressie wijst uit dat er een significant lineair verband is tussen de gemiddelde temperatuur en de maximale concentratie van de *Dunaliella tertiolecta* cultuur ($p=0,000$). Voor de statistische analyses zie bijlage 6.



Figuur 5.3.: Het verband tussen de gemiddelde temperatuur en de maximale celconcentratie van een *Dunaliella tertiolecta* cultuur in een open tank.

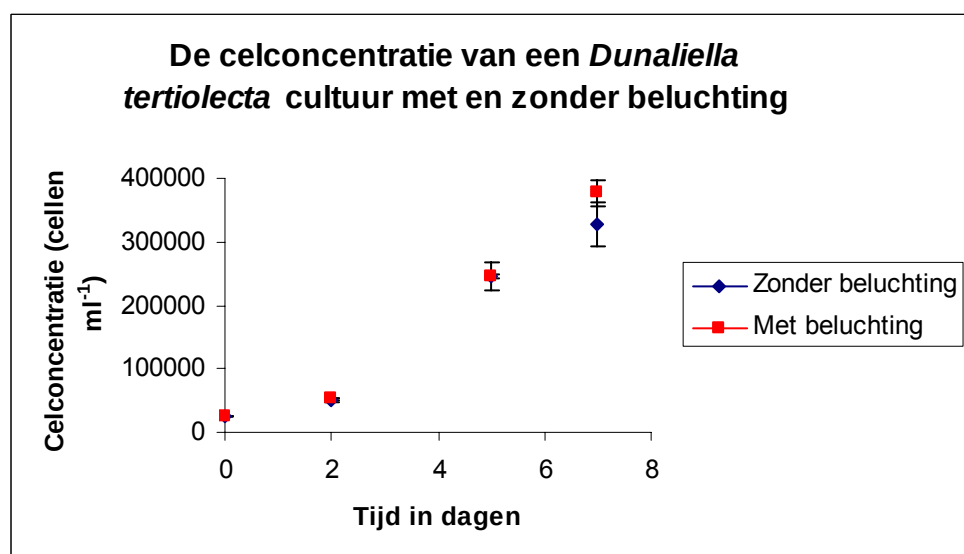
Figuur 5.4 geeft het verband tussen het gemiddelde aantal uren zonneshijns en de maximale celconcentratie van de *Dunaliella tertiolecta* cultuur weer. De maximale celconcentratie neemt toe naarmate het gemiddelde aantal uren zonneshijns toeneemt. Een statistische analyse van de regressie wijst bovendien uit dat er een significant lineair verband bestaat tussen het gemiddelde aantal uren zonneshijns en de maximale celconcentratie ($p=0,000$).



Figuur 5.4.: Het verband tussen de gemiddelde aantal uren zonneshijn en de maximale celconcentratie van een *Dunaliella tertiolecta* cultuur in een open tank.

Experiment 2

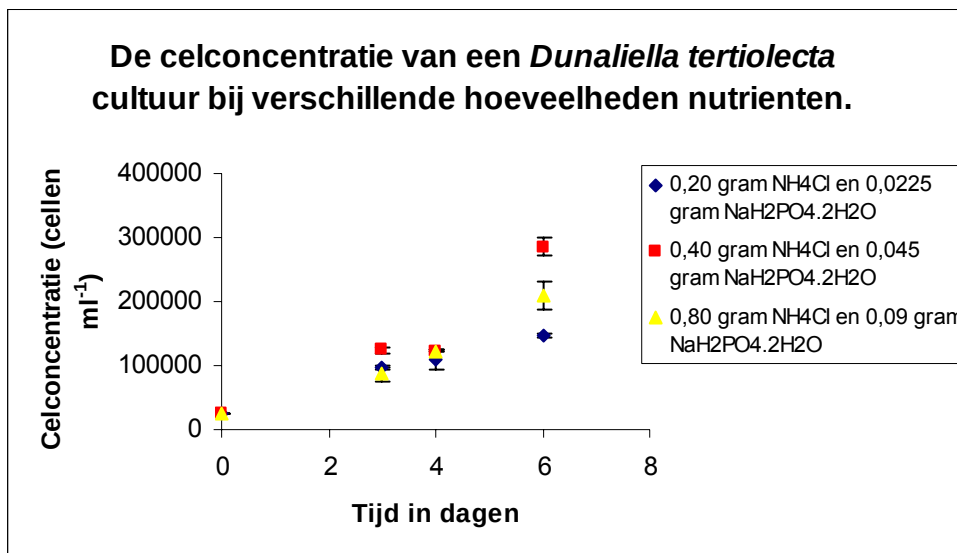
Figuur 5.5 geeft de gemiddelde celconcentratie van een *Dunaliella tertiolecta* cultuur weer die gekweekt is mét en zonder beluchting. Zowel bij de cultuur met beluchting als de cultuur zonder beluchting werd de maximale celconcentratie bereikt na zeven dagen. Na 11 dagen waren de cultures ingestort zodat het onmogelijk was de algenconcentratie te tellen. De maximale celconcentratie voor de cultuur met beluchting was 377.000 ± 20.800 cellen ml^{-1} terwijl de maximale celconcentratie van de cultuur zonder beluchting 327.000 ± 35.100 cellen ml^{-1} bedroeg. Er is geen significant verschil tussen het kweken van *Dunaliella tertiolecta* met beluchting of zonder beluchting ($p=0,101$). Er is bovendien geen verschil in groeisnelheid waargenomen, de maximale celconcentratie werd in beide gevallen na 7 dagen bereikt.



Figuur 5.5.: De celconcentratie van een *Dunaliella tertiolecta* cultuur met en zonder beluchting. Sd is aangegeven, $n=3$.

Experiment 3

Figuur 5.6 laat de celconcentratie van een *Dunaliella tertiolecta* cultuur zien die opgekweekt is met verschillende hoeveelheden nutriënten (tabel 5.1). De maximale celconcentratie werd in alle drie de gevallen bereikt binnen 6 dagen. Daarna waren de cultures ingestort en was het onmogelijk de celconcentratie te bepalen. Na 6 dagen is er een significant verschil in celconcentratie tussen de algencultures die zijn verreikt met verschillende hoeveelheden nutriënten ($p=0,006$). De cultuur waarbij 0,40 gram NH_4Cl en 0,045 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ is toegevoegd, zorgt voor de hoogste maximale celconcentraties. De Post Hoc test wijst bovendien uit dat er een verschil in maximale concentratie is tussen de algencultuur waaraan 0,40 gram NH_4Cl en 0,045 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ is toegevoegd en de cultuur waaraan 0,20 gram NH_4Cl en 0,0225 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ is toegevoegd ($p=0,008$). Ook is er een significant verschil tussen de cultuur waaraan 0,20 gram NH_4Cl en 0,0225 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ is toegevoegd en de cultuur waaraan 0,80 gram NH_4Cl en 0,09 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ is toegevoegd ($p=0,045$).



Figuur 5.6.: De celconcentratie van een *Dunaliella tertiolecta* cultuur bij verschillende hoeveelheden nutriënten. Sd is aangegeven, $n=2$.

5.4 Discussie

Voor experiment 1 is gebruik gemaakt van gegevens over de gemiddelde temperatuur en gemiddeld aantal zonuren van het KNMI. Deze gegevens zijn verzameld op het meetstation in Vlissingen. Tussen de temperatuur en het aantal uren zonneschijn in Vlissingen en Yerseke zal waarschijnlijk een klein verschil zitten. Bovendien is gebruik gemaakt van de luchttemperatuur i.p.v. de watertemperatuur.

De experimenten 2 en 3 zijn uitgevoerd met behulp van kleine algencultures (22 liter) terwijl de algenkweek ter behoefte van de nursery van mosselbroed zal worden opgezet in veel grotere systemen. Doordat de verhouding oppervlakte: inhoud in de gebruikte kleine systemen groter is dan in grootschale systemen, zal de variatie in temperatuur groter zijn. Dit kan van invloed zijn op de groei van de algencultuur en de maximale celconcentratie.

De maximale celconcentratie van experiment 3 is mogelijk hoger geweest. Na 10 dagen was de cultuur echter ingestort en was het dus onmogelijk de celconcentratie te tellen. Tussen $t=7$ en $t=10$ is de celconcentratie mogelijk nog toegenomen t.o.v. $t=7$.

Experiment 3 is slechts in duplo uitgevoerd i.p.v. in triplo. Waarschijnlijk is er hierdoor geen significant verschil in maximale concentratie gevonden tussen toevoegen van 0,40 gram NH_4Cl en 0,045 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en toevoegen van 0,80 gram NH_4Cl en 0,09 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ is toegevoegd. Het is aan te raden in het vervolg bij het uitvoeren van experimenten de proef minimaal in triplo uit te voeren.

5.5 Conclusie

Er is een significant lineair verband tussen de temperatuur en het aantal zonuren op de maximaal bereikte celconcentratie van de *Dunaliella tertiolecta* cultuur. Naarmate de temperatuur toeneemt, neemt de maximale celconcentratie significant toe. De temperatuur zal op den duur (bij een nog hogere waarde) de groei van de algencultuur gaan remmen, deze temperatuur is niet bereikt. Naarmate het aantal zonuren toeneemt, neemt de maximale celconcentratie ook significant toe.

Beluchting van de algencultuur (*Dunaliella tertiolecta*) resulteert niet in een hogere maximale celconcentratie. Er is geen significant verschil in bereikte maximale concentratie. Beluchting van de cultuur zorgt bovendien niet voor een snellere groei van de algencultuur. De maximale celconcentratie wordt in beide gevallen na 7 dagen bereikt.

De hoeveelheid nutriënten die aan de algencultuur toegevoegd wordt, is van invloed op de maximale celconcentratie. De cultuur waarbij 0,40 gram NH_4Cl en 0,045 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ is toegevoegd, zorgt voor de hoogste maximale celconcentraties. Deze maximale celconcentratie werd na 6 dagen bereikt. Dezelfde hoeveelheid nutriënten is gedurende de nursery experimenten, ook aan de grote bakken toegevoegd. Een mogelijke verklaring waarom er bij toevoegen van 0,80 gram NH_4Cl en 0,090 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ geen hogere celconcentratie wordt bereikt is dat door gebruik van NH_4 de pH sterk verlaagd kan worden tijdens de groei van de algencultuur (Richmond, 2004). Omdat de pH range voor veel algensoorten tussen de 7 en de 9 ligt (Lavens en Sorgeloos, 1996), kan een verlaagde pH van invloed zijn op de groei van *Dunaliella tertiolecta*. De pH is echter niet gemeten dus of de pH werkelijk laag is geweest, valt niet te achterhalen.

6. Aanbevelingen

- Opwelling systeem gebruiken voor de nursery fase van mosselbroed. Uit de literatuurstudie is gebleken dat dit het meest geschikte systeem om mosselbroed op te kweken in een nursery.
- Fotobioreactor gebruiken voor de algenkweek. De literatuurstudie toont aan dat dit systeem het meest geschikt is algen te kweken ten behoeve van de hatchery en nursery.
- Experimenten doen of het mogelijk is om bij een lagere voedingsratio dan 0,24 het mosselbroed succesvol op te kweken. Wanneer blijkt dat de groei van het broed daardoor niet afneemt, hoeven minder algen gekweekt te worden om hetzelfde resultaat te bereiken.
- Experimenten doen met meer verschillende algensoorten en combinaties van algensoorten op de groei van mosselbroed in de nursery. Dit kan ervoor zorgen dat een betere combinatie wordt gevonden dan de combinatie van *Dunaliella tertiolecta* met *Chaetoceros muelleri* waardoor de nursery nog kostenefficiënter kan worden.
- Wanneer experimenten uitgevoerd worden met verschillende algensoorten of met verschillende voedingsratio's is het aan te raden vooraf het drooggewicht van de desbetreffende algensoorten te bepalen. Hierdoor wordt het effect van algensoort of voedingsratio op de groei van het mosselbroed 'eerlijk' getest.
- Bij het uitvoeren van vervolg experimenten is aan te bevelen deze experimenten minimaal in triplo uit te voeren. Hierdoor kunnen de resultaten statistisch gezien beter onderbouwd worden.
- Bij algenkweek altijd de temperatuur en pH meten. Deze zijn van invloed op de groei van de algencultuur. Wanneer de cultuur instort, kan worden nagegaan wat de oorzaak hiervan is.

7. Verwijzingen

- Bayne, B.L. (1976) Marine mussels, their ecology and physiology. International Biological Programme 10. Cambridge
- Borowitzka, M.A. (1998) Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology* 70, 313-321
- Cahen, D. (2005) Didactisch dossier Mosselen natuur.
(http://www.natuurwetenschappen.be/educa/pdf/dossiers/nl/didactisch_dossier_mosselen.pdf)
- Claus, C., De Pauw, N., Jaspers, E. (1981) Nursery culturing of bivalve molluscs. European Mariculture Society, Special Publication N^o 7.
- Coutteau, P. and Sorgeloos, P. (1992) The requirement for live algae and their replacement by artificial diets in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *J. Shellfish Res.*, 11(2): 467-476.
- Gosling, E. (1992) The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture. *Developments in aquaculture and fisheries science*, volume 25.
- Hadley, N.H. and Manzi, J.J. (1984) Growth of seed clams, *Mercenaria mercenaria* at various densities in a commercial scale nursery system. *Aquaculture* 36: 369-378
- Harrison, P.J. & Davis, C.O. (1979) The use of outdoor phytoplankton continuous cultures to analyze factors influencing species selection. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 41: 9-23
- Helm, M. and Bourne, N. (2004) Hatchery culture of bivalves: A practical manual, FAO Fisheries Technical Paper 471.
- Hering, T.D. and J. Wang. (1996) Achieving *Chaetoceros* sp. Domination of Open Culture. *Proceedings of "Aquacultural Engineering and Waste Management."* Washington, D.C. pp. 167-186.
- Imai, T. (1977) *Aquaculture in shallow seas: progress in shallow sea culture.* Amerind Publishing Company, New Delhi, 615 pp.
- Kamermans, P., Blanco, A., Nevejan, N. (2006) Operationaliseren Schelpdierhatchery/nursery bij de Roem van Yerseke. Rivo Rapport C021/06
- Kamermans, P., Brummelhuis, E., Van Gool, A., Jol, J., Kesteloo, J., Perdon, J., Blanco, A. (2005) CSO hatchery/nursery 2002-2004, Intern rapport.
- Lavens, P. and Sorgeloos, P. (1996) Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO FISHERIES TECHNICAL PAPER 361

- Lovatelli, A. (1990) Artificial propagation of bivalves: Techniques and methods. UNDP/FAO Regional Seafarming Development and Demonstration Project.(RAS/90/002) National Inland Fisheries Institute Kasetsart University Campus Bangkhen, Bangkok, Thailand
- Manzi, J.J. and Castagna, M. (1989) Clam Mariculture in North Amercia. Developments in Aquaculture and Fisheries science, volume 19.
- Richmond, A. (2004) Handbook of Microalgal Culture, Biotechnology and Applied Phycology, Oxford
- Smaal, A.C. (2002). European mussel cultivation along the Atlantic coast: production, status, problems and perspectives. Hydrobiologia 484: 89-98.
- Vlasblom, A.G. (1963) Het scheldierlarvenonderzoek in het laboratorium te Wemeldinge.
- Whetstone, J.M., Sturmer, L.N., and Oesterling, M.J.(2005) Biology and Culture of the Hard Clam (*Mercenaria mercenaria*). SRAC Publication No. 433

Bijlage 1: Berekening omvang nursery

Deze berekening is gemaakt om na te gaan wat de omvang van het nursery systeem moet zijn om 10 miljoen zaaadjjes per maand op te kweken. Uit de hatchery komt elke maand een bepaalde hoeveelheid mosselbroed de nursery binnen terwijl ook een bepaalde hoeveelheid maandelijks de nursery verlaat om uit te groeien in het veld.

Om uiteindelijk 10 miljoen zaaadjjes te verkrijgen van 10 mm, zijn bij aanvang van de nursery fase ruim 14 miljoen broedjes nodig. Voor het berekenen van deze overleving en het gewicht van de broedjes is gebruik gemaakt van data uit onderzoek van IMARES (Kamermans et al., 2006).

De dichtheid van 120 kg/m² is de dichtheid waarbij volgens Bishop Aquatic Technologies Inc. (www.fukuina.com) schelpdierbroed kan worden gehouden in een flupsy systeem. De dichtheid van 7,6 kg/m² is de optimale dichtheid waarbij volgens Helm et al. (2004) schelpdierbroed kan worden gehouden in een opwelling- of downwelling systeem. De dichtheid van 0,2 kg/m³ is ook afkomstig uit Helm et al. (2004) en geeft aan wat het volume van het totale systeem moet zijn voor het optimaal opkweken van schelpdierbroed in een nursery.

					Dichtheid 120 kg/m ²	Dichtheid 7,6 kg/m ²	Dichtheid 0,2 kg/m ³
Dagen na bevruchting	Dagen nursery	Aantal broedjes	Gewicht (mg/broedje)	Gewicht (kg)	Ruimte (m ²)	Ruimte (m ²)	Ruimte (m ³)
0							
30	0	14285714	0.40	5.68	0.05	0.75	28.42
60	30	13214286	0.72	9.57	0.08	1.26	47.87
90	60	12142857	10.82	131.37	1.09	17.28	656.83
120	90	11071429	66.89	740.61	6.17	97.45	3703.06
150	120	10000000	216.70	2166.99	18.06	285.13	10834.96
				3054.23	25.45	401.87	15271.14

Bijlage 2: Methode van algenkweek in plastic zakken

Benodigdheden

Plastic zakken

Gefiltreerd en UV-licht bestraald zeewater

Bleekwater

Natrium hypochloriet oplossing

Natrium thiosulfaat

Chloor test

Pasteur pipetten

Silicone slangen

Pastic clips

Peroxide+peracetic acid oplossing

De cultuur op grote schaal wordt in een andere kamer gehouden dan de preculturen. Deze kamer heeft een temperatuur van ongeveer 20-22°C. Plastic zakken van 25 en 50 L worden gebruikt om de batch cultuur te houden.

1. De plastic zakken worden gevuld met gefiltreerd zeewater (1 µm, UV-licht bestraald) en de chemische sterilisatie vindt plaats met 0.5 ml 15% natrium hypochloriet oplossing per liter gefiltreerd zeewater.

2. 24 uur na chloreren wordt de rest van natrium hypochloriet geneutraliseerd met thiosulfaat (50 mg per liter gefiltreerd zeewater).

3. De beluchting wordt hierna toegevoegd aan de zakken en na een korte tijd wordt er een chloor test uitgevoerd om zeker te zijn van de afwezigheid van chloor.

4. De oppervlakte die in aanraking komt met het materiaal dat gebruikt wordt gedurende de inoculatie wordt, ontsmet met detol. De handen worden ontsmet met ethanol.

5. De nutriënten worden toegevoegd in de hoeveelheden zoals vermeld wordt in tabel 5.

6. Een grote startcultuur (minimaal 50.000 cellen per ml), meestal 14 dagen oud, wordt toegevoegd. De kwaliteit van de algen word altijd voorafgaand aan inoculatie bepaald onder de microscoop (x40 en x100 vergroting).

7. De materialen gebruikt voor de inoculatie worden gewassen met een peroxide+peracetic acid oplossing en hierna afgespoeld met water.

Tabel 1. Hoeveelheid chemicaliën nodig voor 1 L oplossing Walne medium

Stof	Hoeveelheid
Na ₂ EDTA	45 g
H ₃ BO ₃	33.6 g
NaNO ₃ (KNO ₃)	100 g (116 g)
NaH ₂ PO ₄ *2H ₂ O	20 g
MnCl ₃ *4H ₂ O	0.36 g
FeCl ₃ *6H ₂ O	1.30 g
Oplossing 2	1 ml

Met deze oplossing kan 1000 liter medium gemaakt worden.

Oplossing 2

Schenk de volgende nutriënten in een schone geautoclaveerde fles met 100 ml demiwater. Voeg 1 ml HCl 36% toe om alles op te lossen. Bewaar de oplossing in de koelkast bij 4 °C.

Tabel 2. Hoeveelheid chemicaliën nodig voor 100 ml oplossing 2 Walne medium

Stof	Hoeveelheid
ZnCl ₂	2.1 g
CoCl ₂ *6H ₂ O	2.0 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ *4H ₂ O	0.9 g
CuSO ₄ *5H ₂ O	2.0 g

Tabel 3. Hoeveelheid chemicaliën nodig voor 100 ml Vitamine oplossing Walne medium

Stof	Hoeveelheid
Thiamine chlorhydraat	200 mg
Cyanocobalamine	10 mg

Breng deze oplossing over in 10 ml buizen door de oplossing te filtreren door een 0.45 µm membraan filter. De vitamine oplossing moet bewaard blijven bij -18 °C.

Met elke 10 ml buis kan 100 L medium bereid worden.

Tabel 4. Hoeveelheden chemicaliën nodig voor extra diatomeeën oplossing

Stof	Hoeveelheid
Natrium metasilicaat	20 g
Kalium nitraat	100 g

Met deze oplossing kan 250 L medium gemaakt worden.

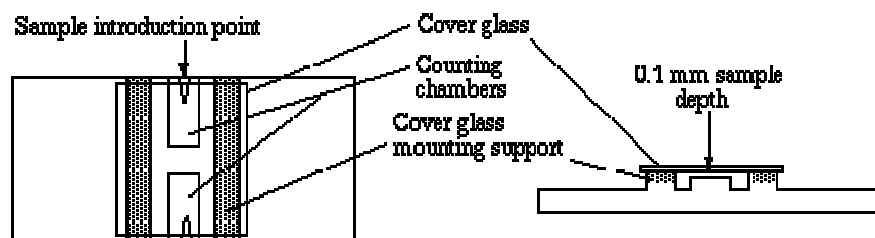
Tabel 5. Volume van de chemicaliën oplossing nodig per liter gefiltreerde zeewater.

	Algen soorten	
	Flagellaten	<i>Diatomeeën</i>
Walne oplossing (ml oplossing/l gefiltreerd zeewater)	1	1
Vitamine oplossing (ml oplossing/l gefiltreerd zeewater)	0.1	0.1
Silicaat (ml oplossing/l gefiltreerd zeewater)	-	4

Bijlage 3: Algen tellen m.b.v. een hematocytometer

(Bron: Kamermans et al., 2006)

Een hematocytometer (figuur 16) is een dik preparaat glaasje met twee tel kamers op de oppervlakte, iedere kamer is 1*1 mm. Een speciaal dekglas wordt over deze twee kamers geplaatst die een diepte van 0.1 mm geeft zodat het totale volume van elke kamer 0.1 mm³ wordt.



Figuur B3.1.: Hematocytometer.

1. De eerste stap in het tellen van algen is het nemen van een klein volume van onze algen cultuur. Indien nodig is het gemakkelijk om de cellen voor het tellen te doden met de volgende procedure: - plaats 10 ml cultuur monster in een maatcilinder

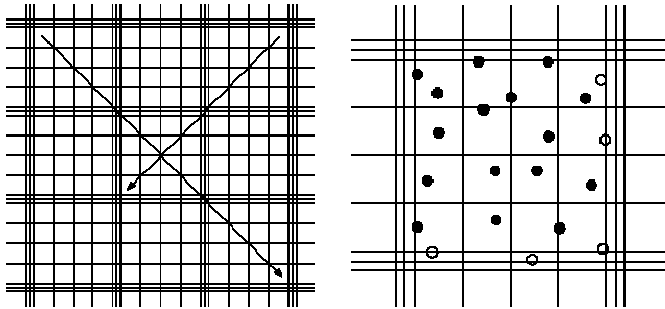
- voeg enkele druppels lugol of 2 druppels 4% formol toen en meng goed

Als de culture te dicht is, kan verdunning nodig zijn.

2. Het dekglas wordt geplaatst over de hematocytometer door de opstaande rand eerst met spuug te bevochtigen en daarna het dekglas goed aan te drukken. Als het goed vast zit zijn op die plaats de kleuren van de regenboog te zien. Hierna worden één of twee druppels van de algen monsters in de tel kamer gepipetteerd met een Pasteur pipet.

3. De celdichtheid wordt als volgt geschat: het centrale rooster van elk kamer is onderverdeeld in 144 vakken. Het aantal cellen in 25 vakken (de twee diagonalen plus een vak, figuur 17a) worden geteld. Op elk vak worden de cellen in het midden en op twee grenzen geteld (figuur 17b). Dezelfde procedure wordt gevolgd bij de tweede tel kamer.

4. Het gemiddelde wordt uitgerekend. Dit geeft het aantal algen cellen per 1/10 µl. Om te weten hoeveel cellen er per ml aanwezig zijn in onze algencultuur wordt dit aantal vermenigvuldigd met 10000.



Figuur B3.1a) Het diagonaal tellen van algencellen in de vierkantjes. b) Tellen van de algencellen in het centrum en twee randen van het vierkantje (de zwarte bolletjes).

Bijlage 4: Berekeningen voor nursery- experimenten

Emmer	Cylinder	Dichtheid (kg/m ³)	Broed per cilinder (g)	Voedingsratio	Algen per dag (mg dw)	Algensoort	Drooggewicht (mg/1 milj. Cel)	Algenconcentratie (1/dl)	Toe te voegen algen (l/d)	Water (l/min)
1 A		7.6	54	0.06	461	Dunaliella s	0.1	230000	20	0.014
1 B		7.6	54	0.06	461	Dunaliella s	0.1	230000	20	0.014
2 A		7.6	54	0.06	461	Dunaliella s	0.1	230000	20	0.014
2 B		7.6	54	0.06	461	Dunaliella s	0.1	230000	20	0.014
3 A		60	425	0.06	3641	Dunaliella s	0.1	230000	158	0.110
3 B		60	425	0.06	3641	Dunaliella s	0.1	230000	158	0.110
4 A		60	425	0.06	3641	Dunaliella s	0.1	230000	158	0.110
4 B		60	425	0.06	3641	Dunaliella s	0.1	230000	158	0.110
			1914		16409				713	0.495

Dit is een voorbeeld berekening voor nursery experiment 1 (hoofdstuk 3). Dezelfde berekening is gebruikt voor de andere experimenten. Daarbij is uitgegaan van een drooggewicht van *Dunaliella tertiolecta* van 99,9 pg.cell⁻¹ en *Chaetoceros muelleri* 30 pg.cell⁻¹ (Helm et al., 2004). Aan de hand van de dichtheid waarmee het mosselbroed in de cylinders is gehouden is de hoeveelheid broed per cylinder berekend (in gram). Vervolgens is met behulp van de formule $F = (S \times R) / 7$ (Helm et al., 2004) de hoeveelheid algen per dag (mg drooggewicht) bepaald. F is daarbij het drooggewicht aan algen per dag, S is het versgewicht van het broed en R is de voedingsratio (mg drooggewicht aan algen per mg broed per week). Met de formule $V = F / (W \times C)$ (Helm et al., 2004) kan vervolgens het volume berekend worden wat per dag gevoerd moet worden. W is hierbij het drooggewicht van de algen (mg/1milj cellen) en C is de concentratie van de algencultuur.

Om te voorkomen dat de algenconcentratie boven de zogenaamde pseudo-faeces drempel van 40.000 cellen ml⁻¹ (Pers. med. Carter Newell) komt, wordt aan de emmers ook continu zeewater toegevoegd. Deze hoeveelheid zeewater (l/min) is berekend door de algenconcentratie die toegevoegd wordt, te delen door 40.000 en te vermenigvuldigen met de hoeveelheid algen die per min wordt toegevoegd.

Voorbeeldberekening voor Emmer 1, Cylinder A:

Dichtheid: 7,6 kg/m³

Oppervlakte cylinder: $\pi \times 0,0475^2 = 0,00709$

Broed per cylinder = Opp cylinder * dichtheid = 0,00709 * 7600 = 54 gram

$F = (54 \times 0,06) / 7 = 0,461$ gram algen (DW) = 461 mg algen (DW)

$V = 461 / ((0.0999 \times 1000000) \times (230000 \times 1000)) = 20,0$ liter algen per dag

20,0 liter algen per dag komt neer op 0,014 liter per minuut.

Hoeveelheid zeewater = $230000 / 40000 \times 0,014 = 0,08$ liter per minuut.

Bijlage 5: Drooggewicht bepaling van algen

Het drooggewicht van algencellen kan bepaald worden door een monster van een algencultuur met een bekende celconcentratie te filteren en te drogen. Daarvoor geldt de volgende werkwijze:

- Bepaal nauwkeurig (in triplo) de concentratie van de algencultuur (d.m.v. een hematocytometer).
- Filter een exact volume van de cultuur over een geprepareerde Wattman filter (1µm poriën grootte) met een Büchner opstelling verbonden met een vacuum pomp (in triplo). Was de filters met een oplossing van ammonium formate (0,5 M) om het zout te verwijderen.
- Volg dezelfde procedure met controle filters over welke een gelijk volume aan 0,22 µm gefilterd zeewater wordt gefilterd (triplo).
- Droog de filters op 100°C voor 4 uur.
- Weeg de filters met een analytische balans.
- Bereken het drooggewicht per algencel met de volgende formule:

$$DW(g.cell^{-1}) = (DW_A - DW_C) \cdot (N \cdot V)^{-1}$$

Met DW_A = gemiddelde drooggewicht dat op de filters met algen achter is gebleven

DW_C = gemiddelde drooggewicht dat op de controle filters is achtergebleven

N = algenconcentratie (cellen.ml⁻¹)

V = gefilterde volume

Bron: <http://www.aquaculture.ugent.be/coursemat/faoman/mcd/mirco/>

Bijlage 6: Statistische analyses

Nursery experimenten

Experiment 1:

Begingewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
DICHTHEID	0.000	1	0.000	0.195	0.681
EMMER(DICHTHEID)	0.000	2	0.000	0.242	0.796

Eindgewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
DICHTHEID	0.005	1	0.005	7.183	0.055
EMMER(DICHTHEID)	0.003	2	0.002	2.432	0.204

Beginlengte

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
DICHTHEID	0.203	1	0.203	2.353	0.200
EMMER(DICHTHEID)	0.065	2	0.033	0.379	0.707

Eindlengte

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
DICHTHEID	2.559	1	2.559	23.615	0.008
EMMER(DICHTHEID)	0.468	2	0.234	2.157	0.231

Asvrijdrooggewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
DICHTHEID	0.000	1	0.000	0.916	0.393
EMMER(DICHTHEID)	0.000	2	0.000	22.449	0.007

Ratio vleesgewicht/schelpgewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
DICHTHEID	0.000	1	0.000	0.292	0.618
EMMER(DICHTHEID)	0.001	2	0.001	5.532	0.071

Experiment 2:

Begingewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
VOEDINGSRATI EMMER	0.002	2	0.001	1.436	0.309
(VOEDINGSRATI)	0.001	3	0.000	0.205	0.889

Eindgewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
VOEDINGSRATI EMMER	0.075	2	0.038	36.038	0.000
(VOEDINGSRATI)	0.005	3	0.002	1.675	0.270

Beginlengte

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
VOEDINGSRATI EMMER	0.060	2	0.030	0.177	0.842
(VOEDINGSRATI)	0.082	3	0.027	0.162	0.918

Eindlengte

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
VOEDINGSRATI EMMER	16.427	2	8.213	65.760	0.000
(VOEDINGSRATI)	1.376	3	0.459	3.672	0.082

Asvrijdrooggewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
VOEDINGSRATI EMMER	0.002	2	0.001	58.642	0.000
(VOEDINGSRATI)	0.000	3	0.000	1.187	0.391

Ratio vleesgewicht/schelpgewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
VOEDINGSRATI EMMER	0.022	2	0.011	30.071	0.001
(VOEDINGSRATI)	0.000	3	0.000	0.319	0.812

Post Hoc test Eindlengte

1 0
2 0.1
3 0.2

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3
1	1.000		
2	0.000	1.000	
3	0.000	1.000	1.000

Post Hoc test Eindgewicht

1 0
2 0.1
3 0.2

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3
1	1.000		
2	0.001	1.000	
3	0.000	0.559	1.000

Post Hoc test Asvrij drooggewicht

1 0.000
2 0.100
3 0.200
4 t0

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3	4
1	1.000			
2	0.000	1.000		
3	0.000	1.000	1.000	
4	0.601	0.000	0.000	1.000

Post Hoc test Ratio vleesgewicht/schelpgewicht

1 0.000
2 0.100
3 0.200
4 t0

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3	4
1	1.000			
2	0.000	1.000		
3	0.000	1.000	1.000	
4	0.158	0.001	0.000	1.000

Experiment 3:

Begingewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Model	0.000	5	0.000	0.806	0.563
Error	0.000	15	0.000		

Eindgewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Model	0.011	5	0.002	62.964	0.000
Error	0.001	15	0.000		

Beginglengte

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Model	0.169	5	0.034	0.594	0.705
Error	0.855	15	0.057		

Eindlengte

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Model	10.294	5	2.059	31.810	0.000
Error	0.971	15	0.065		

Asvrij drooggewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Model	0.000	5	0.000	94.591	0.000
Error	0.000	15	0.000		

Ratio vleesgewicht/schelpgewicht

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Model	0.089	5	0.018	36.367	0.000
Error	0.007	15	0.000		

Post Hoc test Eindgewicht

- 1 chae
- 2 dun
- 3 dunchae
- 4 zeewater

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3	4
1	1.000			
2	0.000	1.000		
3	1.000	0.000	1.000	
4	0.000	0.000	0.000	1.000

Post Hoc test Eindlengte

- 1 chae
- 2 dun
- 3 dunchae
- 4 zeewater

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3	4
1	1.000			
2	0.001	1.000		
3	1.000	0.001	1.000	
4	0.000	0.000	0.000	1.000

Post Hoc test Asvrij drooggewicht

- 1 chae
- 2 dun
- 3 dunchae
- 4 zeewater

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3	4
1	1.000			
2	0.000	1.000		
3	1.000	0.000	1.000	
4	0.000	0.000	0.000	1.000

Post Hoc test Ratio vleesgewicht/schelpgewicht

- 1 chae
- 2 dun
- 3 dunchae
- 4 zeewater

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3	4
1	1.000			
2	0.000	1.000		
3	1.000	0.000	1.000	
4	0.000	0.000	0.000	1.000

Experimenten algenkweek

Algenexperiment 1:

Temperatuur

Dep Var: CONCENTRATIE N: 20 Multiple R: 0.723 Squared multiple R: 0.523

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Regression	1.31848E+11	1	1.31848E+11	19.765	0.000
Residual	1.20076E+11	18	6.67088E+09		

Zonuren

Analysis of Variance

Dep Var: CONCENTRATIE N: 20 Multiple R: 0.771 Squared multiple R: 0.595

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
Regression	1.49828E+11	1	1.49828E+11	26.416	0.000
Residual	1.02096E+11	18	5.67197E+09		

Algenexperiment 2:

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
BELUCHTING\$	3.75000E+09	1	3.75000E+09	4.500	0.101

Algenexperiment 3

Analysis of Variance

Source	Sum-of-Squares	df	Mean-Square	F-ratio	P
NUTRIENTEN	1.89583E+10	2	9.47917E+09	42.925	0.006

Post Hoc test

1 0.200
2 0.400
3 0.800

Bonferroni Adjustment.

Matrix of pairwise comparison probabilities:

	1	2	3
1	1.000		
2	0.008	1.000	
3	0.074	0.045	1.000