

Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV

Postbus 68
1970 AB IJmuiden
Tel.: 0255 564646
Fax.: 0255 564644
Internet: postkamer@rivo.wag-ur.nl

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

Intern RIVO rapport

Nummer: 04.015

Het kweken van eencellige algen met behulp van water uit een visbassin van een tarbotkwekerij ten behoeve van schelpdierlarven

Auteur M. H. C. de Kort
Functie Stagiair

Datum: 29 juni 2004

Aantal exemplaren: 05
Aantal pagina's: 48
Aantal tabellen: 08
Aantal figuren: 29
Aantal bijlagen: 03

Dit rapport mag niet geciteerd worden.

Samenvatting

Het Centrum voor Schelpdier Onderzoek, afgekort CSO, houdt zich bezig met onderzoek dat gericht is op de schelpdiervisserij en kweek. Deze vorm van visserij heeft te kampen met fluctuaties in het aanbod. De vraag blijft echter hetzelfde of wordt zelfs groter. Het spreekt dus voor zich, dat er vanuit de commercie grote interesse is in het kweken van mossel- en oesterzaad in een daarvoor bestemde kwekerij op het land.

Met haar beschikbare kennis en faciliteiten is het CSO te Yerseke de geschikte instelling om zich te verdiepen in dit onderzoek. Het is de bedoeling, dat het CSO de techniek om een kwekerij op te starten (en draaiende te houden) onder de knie krijgt om deze vervolgens aan de verschillende gegadigden te verkopen.

Om een kwekerij te laten functioneren moet men bovenal schelpdierlarven hebben. Deze schelpdierlarven verkrijgt men door ouderdieren te laten spawnen of door import elders. Vervolgens dient men deze schelpdierlarven te voorzien van voedsel in de vorm van algen. Momenteel kweekt men de algen met behulp van natuurlijk zeewater waaraan een bepaald mengsel van meststoffen wordt toegevoegd om de groei te optimaliseren.

Het CSO heeft grote interesse in het kweken van algen met behulp van water waarin tarbotten (*Scophthalmus maximus*) zijn gekweekt. Dit zou de kosten geweldig drukken, want het toevoegen van dure meststoffen raakt immers overbodig. Het kweekwater bevat een overmaat aan nutriënten die door de algen kunnen worden opgenomen.

M. C. Quist heeft reeds onderzoek verricht naar de mogelijkheid om algen te kweken met behulp van het kweekwater van een tarbotkwekerij en zij heeft aangetoond, dat het kweekwater goed bruikbaar is als voedingsmedium. Naast het onderzoek van M. C. Quist heb ik in mijn tweede stage reeds onderzoek verricht aangaande dit onderwerp. Het resulterende rapport (de Kort, 2004) toont de resultaten van de zoektocht naar bruikbare informatie uit de literatuur met betrekking tot het kweken van algen met behulp van het (afval)water van een (vis)kwekerij.

Het rapport dat voor u ligt, is de verslaglegging van de vervolgstudie die ik heb uitgevoerd op het pionierswerk van M. C. Quist. Door middel van een tweede experiment met kweekwater uit een visbassin van de tarbotkwekerij werd getracht inzicht te krijgen in het verband tussen de nutriëntensamenstelling van het kweekwater en de eventuele ontwikkeling van (on)bekende algensoorten. Tevens bestond er grote interesse naar de afmetingen van eventuele onbekende algensoorten en of deze mogelijkerwijze als voedingsbron voor schelpdierlarven zouden kunnen dienen.

Summary

The Center for Shellfish Research is occupied with research which is focused on the shellfish fishery and culture. This form of fishery and culture has to deal with fluctuations in supply. However, the request is the same or even growing. It speaks for itself that the commerce has great interest in the cultivation of mussel- and oysterspat in a hatchery/nursery.

With her knowledge and facilities available, the Center for Shellfish Research In Yerseke is the right institute to dive into this research. The intention is that the Center for Shellfish Research will be able to control the technology to start (and run) a hatchery/nursery en to sell this to several interested parties.

To let a hatchery/nursery function one needs shellfishlarvae above all. One obtains these shellfishlarvae by letting the adult animals spawn or by import from some distant location. Next these larvae need to be provided with food in the form of algae. At the moment these algae are cultivated with the use of natural seawater to which a mixture of fertilizers is being added to optimize the growth.

The Center for Shellfish Research has great interest in the cultivation of algae with the use of water which has been used to cultivate turbot (*Scophthalmus maximus*) in. This would be a great financial relieve because the addition of expensive fertilizers becomes redundant. The fish-farm water contains an excess of nutrients which can be absorbed by the algae.

M. C. Quist has already done research into the possibility to cultivate algae with the use of water of a turbot nursery and she has proved that the water can be used as a food-supply. Besides the research of M. C. Quist I have already conducted research to this subject. The resulting report (de Kort, 2004) shows the results of the search in the literature for useful information in relation to the cultivation of algae with the use of fish-farm water or effluent.

The report in front of you, is the result of a study which continues the pioneer work of M. C. Quist. By means of a second experiment with the water out of a basin of a turbot nursery one has tried to get insight into the relation between the composition of nutrients in de fish-farm water en the possible development of (un)known species of algae. There was also a great interest in the size of possible unknown species of algae en the possibility to serve as a source of nutrition for the larvae of shellfish.

Inhoudsopgave:

Samenvatting	2
Summary	3
1. Inhoudsopgave	4
1. Inleiding	6
2. Gehanteerde methode.....	8
3. Resultaten.....	9
3.1. Artikelen	9
3.2. Antwoorden.....	14
4. Discussie	17
5. Aanbevelingen	18
6. Achtergrondinformatie.....	19
6.1. Algengroei (Hoff en Snell, 2001)	19
6.2. Algensoorten	21
6.2.1. <i>Chaetoceros gracilis</i> (Hoff en Snell, 2001)	21
6.2.2. <i>Pavlova lutheri</i>	22
6.3. Schelpdieren	23
6.3.1. <i>Mytilus edulis</i>	23
6.3.2. <i>Crassostrea gigas</i> en <i>Crassostrea edulis</i>	23
6.4. Zeeland Vis Yerseke	24
6.5. Stikstofcyclus.....	26
7. Materiaal en methode	27

8. Resultaten	32
8.1. Beschrijving	32
8.2. Visualisatie.....	34
9. Discussie	42
10. Aanbevelingen.....	44
11. Literatuurlijst	45
Bijlage 1 Copepoda	46
Bijlage 2. Begrippenlijst	47
Bijlage 3. Overzicht ter verklaring van de x-assen.....	48

1. Inleiding

Het CSO is een onderdeel van het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek. Binnen het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek treft men naast de onderzoeksafdelingen ook zogenaamde afdelingoverschrijdende MRG's aan. MRG staat voor Markt Research Gebied.

Zo bestaat er een MRG Zeecultuur. Deze richt zich op de teelt van mariene organismen voor verschillende doeleinden. Het scala van organismen beslaat schelpdieren en vissen voor humane consumptie, algen en rotiferen als voedselorganismen voor larvale stadia van vissen en schelpdieren en andere mariene organismen zoals holtedieren en wieren, voor de productie van biochemisch actieve stoffen. Binnen het MRG Zeecultuur houdt men zich bezig met de kweek van mariene organismen in de kustzone en de open zee, kweek van mariene organismen op het land en de analyse van mariene organismen op biologisch en economisch interessante componenten.

Een recent opgestart project binnen de MRG Zeecultuur op het CSO in Yerseke is het opzetten van een kleinschalige mossel- en oesterzaadkwekerij. Dit project staat onder leiding van Dr. P. Kamermans. In een zogenaamde "broedkamer" worden schelpdieren gekweekt, beginnende met de ouderdieren, die garant moeten staan voor larven. In de bijbehorende "kinderkamer" worden de larven verder opgekweekt tot zaad (het uitgangsmateriaal voor de opkweek in het veld). Op den duur is het de bedoeling, dat een recirculatiesysteem wordt opgezet. Men moet zich hierbij voorstellen, dat het mengsel van gekweekte algen en kweekwater wordt toegediend aan de schelpdierlarven, waarna het effluent van de larven over een biofilter (bijvoorbeeld zeesla (*Ulva*)) wordt geleid, zodat het water weer bruikbaar is als influent voor de viskwekerij. In de CSO kwekerij wordt technologie ontwikkeld, die kan worden toegepast in een commerciële kwekerij (regelmatige aanvoer van zaad, verbetering van product, in kweek brengen nieuwe soorten).

Onderdeel van de mossel- en oesterzaadkwekerij is de kweek van algen ten behoeve van de ouderdieren en de larven. Deze algen zullen namelijk dienst doen als voedingsbron voor de schelpdieren. Momenteel worden de algen gekweekt met behulp van natuurlijk zeewater waaraan bepaalde meststoffen worden toegevoegd. Het aanschaffen en de aanmaak van een dergelijk voedingsmedium is financieel erg onaantrekkelijk en graag zou men deze stap in het kweekproces vervangen door een goedkoper alternatief. Men kan zich voorstellen dat water van een kwekerij van mariene soorten reeds bepaalde meststoffen (nutriënten) bevat die noodzakelijk zijn voor de groei van algen. De bedoeling is dan ook dat dit water gaat fungeren als voedingsmedium voor de kweek van eencellige algen, die op hun beurt weer als voedsel kunnen dienen voor de larvale stadia van mosselen en oesters. Zo verkrijgt men een kringloopsysteem. Men werkt tijdens dit project samen met een tarbotkwekerij die eveneens gevestigd is in Yerseke. In de huidige situatie moet de viskwekerij het afvalwater eerst zuiveren alvorens men het kan lozen op de Oosterschelde. De vloeibare fase van het effluent van de viskwekerij zuivert men met behulp van een biofilter voorzien van denitrificerende bacteriën en de vaste fase van het effluent, de mest, rijdt men in de huidige situatie uit over een aardappelveld.

Het CSO heeft de kennis in huis om dit onderzoek te kunnen verrichten. Wanneer het onderzoek leidt tot een technologie die het mogelijk maakt om de larven van mossels en oesters te voeden met algen, die zijn grootgebracht met behulp van afvalwater van een viskwekerij als voedingsmedium en om deze larven vervolgens op te kweken tot zaaigoed, dan zal men deze techniek proberen te verkopen aan de geïnteresseerden.

Het CSO zal dus in de toekomst geen larven gaan verkopen en ook geen zaaigoed, maar alleen de techniek. De opdracht die mij werd gegeven door het CSO is voortgevloeid uit de verrichte arbeid van medestudente Aquatische Ecotechnologie M.C. Quist. Zij heeft haar oriënterende

stage van 3 maanden gelopen bij het CSO te Yerseke en heeft zich gedurende deze periode bezig gehouden met het kweken van algenculturen in natuurlijk water en in water afkomstig uit een visbassin. Voor een gedetailleerd verslag met de resultaten wordt verwezen naar het stageverslag "*Algenkweek met natuurlijk water en water uit het visbassin*" (Quist, 2003).

Mijn opdracht sloot direct aan op het pionierswerk van Quist (2003). Was de studie van Quist (2003) meer gericht op het uittesten van verschillende methoden, mijn studie richtte zich meer op het verband tussen de nutriëntensamenstelling van het voedingsmedium en de algengroei. Echter op enkele gebieden diende nog wat pionierswerk verricht te worden. Zo heeft Quist (2003) weinig of geen aandacht kunnen besteden aan het meten van de nutriëntenconcentraties in de verschillende algenkweken. Tevens diende men de techniek om deze nutriënten te meten onder de knie te krijgen.

Het eerste gedeelte van mijn stage-/afstudeerperiode bij het CSO, ofwel de tweede stage, stond in het teken van een literatuurstudie met betrekking tot de kweek van eencellige algen als voedsel voor schelpdieren met water uit een visbassin. Deze literatuurstudie moest meer inzicht verschaffen in het onderzoek dat reeds verricht is op dit gebied en moest voorkomen, dat het spreekwoordelijke wiel opnieuw moest worden uitgevonden en tevens kreeg de student zo de mogelijkheid om zich te verdiepen in de theorie.

In tegenstelling tot mijn verwachtingen werden in plaats van artikelen over in de praktijk uitgewerkte experimenten met kringloopsystemen alleen maar theorieën en modellen over mogelijke technieken gevonden, die nog niet in de praktijk zijn getoetst. Het betrof in de regel ook artikelen die op zijn hoogst raakvlakken vertoonden met het opzetten van een kringloopstelsel met behulp van kweekwater van een viskwekerij.

In het tweede gedeelte van mijn afstudeeropdracht stond vooral het optimaliseren van de kweekmethode van eencellige algen met behulp van water uit het visbassin van de tarbotkwekerij als voedingsmedium centraal.

Nieuwe kweken werden ingezet om de volgende deelvragen te kunnen beantwoorden:

- 1. Welke soorten algen ontwikkelen zich in het kweekwater uit het visbassin van de tarbotkwekerij van Kees Kloet exclusief ent⁽¹⁾ en nemen de toegevoegde algen/diatomeeën in dichtheid toe of af nadat zij zijn toegevoegd aan het alternatieve voedingsmedium?*
- 2. Hebben de onbekende algensoorten, die zich mogelijk ontwikkelen in het kweekwater uit het visbassin van de tarbotkwekerij van Kees Kloet, afmetingen die overeen komen met de afmetingen van algensoorten die momenteel dienen als voedingsbron voor schelpdierlarven?*
- 3. Welk(e) verband(en) tussen de soorten, die worden bedoeld in onderzoeksvraag 1, en de nutriëntensamenstelling wordt/worden zichtbaar nadat men de verschillende mengvaten (met inhoud) gemonitord heeft voor een bepaalde periode tot het moment van instorten van de algenkweek?*

⁽¹⁾ Zie Bijlage 2. Begrippenlijst

2. Gehanteerde methode

Om de doelstelling van deze literatuurstudie te bereiken zijn de deelvragen die staan geformuleerd in paragraaf 3.2 beantwoord. De antwoorden werden gevonden in wetenschappelijke artikelen, die staan vermeld op internet. De gehanteerde zoekstrategie liep via van de digitale bibliotheek van de Wageningen Universiteit & Researchcentrum. Het volgende stappenplan werd aangehouden:

- <http://www.wur.nl/>
- [Bibliotheek](#)
- [Wageningen Desktop Library](#)
- [Animal Sciences](#)
- [Aquaculture and Fisheries](#)

Met behulp van een zoekmachine werd in de aanwezige elektronische tijdschriftencollectie van Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts naar informatie gezocht. Het invoeren van (keywords) trefwoorden en combinaties van verschillende trefwoorden leverde een grote hoeveelheid aan artikelen op. Uit de opbrengst werd een keuze gemaakt op basis van titels en het bestuderen van de samenvatting (abstract) van zo'n artikel.

De volgende keywords (of combinaties van deze keywords) werden gehanteerd: Effluent, recirculation, aquaculture, oysters, microalgae, fish farm, integrated systems, biofilter.

De hieronder opgestelde deelvragen dienen als hulpmiddel om de doelstelling van de literatuurstudie te bereiken.

1. *Is het water van een viskwekerij al eens gebruikt als voedingsmedium voor de groei van microalgen?*
2. *Zo ja, welk water werd dan gebruikt? Direct uit het bassin of het effluent?*
3. *Wat was de nutriëntenconcentratie van dit water?*
4. *Wat was de dichtheid van de vispopulatie?*
5. *Hoe vaak werd er water toegevoegd? Continu? Met welke snelheid? Hoe vaak werd het water ververst?*
6. *Zijn de microalgen vervolgens als voer gebruikt?*
7. *Zo ja, welke dieren werden ermee gevoerd?*
8. *Wat was de productiesnelheid van microalgen en de eventuele dieren die ermee gevoerd werden?*

3. Resultaten

3.1. Artikelen

In deze paragraaf is een overzicht gegeven van de zes gevonden Engelstalige artikelen die betrekking hebben op het onderwerp. Eerst wordt de titel van het betreffende artikel weergegeven met daaronder de verwijzing naar de literatuur gevolgd door een Nederlandse samenvatting. Nadat alle samenvattingen de revue zijn gepasseerd, wordt elke deelvraag beantwoord aan de hand van de gevonden artikelen.

Artikel 1:

"Conceptual design of a microalgae-based recirculating oyster and shrimp system"

(Aquacultural Engineering, Volume 28, Issues 1-2, June 2003, Pages 37-46, Jaw-Kai Wang)

Samenvatting

*De behoefte om de consumptie van water te reduceren in de aquacultuur wordt al lange tijd ingezien en er wordt dan ook een hoop tijd en energie ingestopt in het onderzoek naar de ontwikkeling van recirculatiesystemen. Helaas focust men zich in het huidige vooral op systemen die zijn gebaseerd op bacteriën terwijl systemen die gebaseerd zijn op microalgen verwaarloosd worden. Bacteriën verwijderen echter alleen maar de nutriënten uit het water en het benodigde kapitaal om deze systemen te realiseren maken het niet echt tot een commercieel succes. In tegenstelling tot recirculatiesystemen gebaseerd op microalgen. Microalgen kunnen namelijk op hun beurt weer als voedsel dienen voor ander organismen, die op hun beurt weer verkocht kunnen worden en het systeem op deze manier rendabel maken. Het belangrijkste obstakel dat men tegenkomt in het ontwikkelen van recirculatiesystemen gebaseerd op microalgen is het niet in staat zijn om de gewenste algensoort te behouden. De universiteit van Hawaii heeft dit probleem echter opgelost. Deze doorbraak geeft ons de kans om een recirculatiesysteem te ontwikkelen waarbij het effluent een waardevolle bron wordt. Het kiezelwier *Chaetoceros* staat centraal in deze methode.*

Artikel 2:

"Pacific oyster (Crassostrea gigas) feeding responses to a fish-farm effluent"

(Aquaculture, Volume 187, Issues 1-2, 5 July 2000, Pages 185-198, Sébastien Lefebvre, Laurent Barillé and Muriel Clerc)

Samenvatting

Tweekleppigen zijn vaak gebruikt in de geïntegreerde viskweek om de economische waarde van bijproducten op te krikken en/of de waterkwaliteit te verbeteren. Echter, geen fysiologische studies zijn tot op heden gewijd aan welke bijdrage de 2 belangrijkste bronnen van organisch materiaal, die potentieel aanwezig zijn in het effluent van een viskwekerij, eigenlijk leveren. Er wordt hier bedoeld op levende cellen van fytoplankton en detritus. Deze studie evalueert het gedrag van de Pacifische oesters (Crassostrea gigas), die voorzien werden van een effluent afkomstig van een viskwekerij (hoofdzakelijk detritus) op het land en vergelijkt dit met Crassostrea gigas die werden voorzien van een voedingsmedium bestaande uit diatomeeën (Skeletonema costatum).

Artikel 3:

"Hatchery cultivation of Pacific oyster juveniles using algae produced in outdoor bloom-tanks"

(Aquaculture International, 6, 1998, Pages 303-315, Ian Laing and Ren-Mou Chang)

Samenvatting

*Algen werden gekweekt in batch culturen door meststoffen toe te voegen aan natuurlijk zeewater in buitenbassins van 500 l., tussen mid-juni en mid-augustus gedurende een periode van 2 jaar. In het eerste jaar van het experiment werden de gekweekte algen gevoerd aan jonge individuen van de soort *Crassostrea gigas* variërend van 0,06 tot 1,63 g (organisch gewicht van algen) g^{-1} (levend gewicht van het broed). Vanaf 0,5 g^{-1} week⁻¹ of hoger waren de groeisnelheden van de oestertjes (97%) gelijk aan die van de oestertjes die een gecontroleerd dieet voorgeschoteld kregen van gecultiveerde *Tetraselmis suecica* en *Chaetoceros calcitrans* (0,3 g^{-1} week⁻¹). In het tweede jaar voerde men de gekweekte algen in de verhouding 0,5 g^{-1} week⁻¹ tijdens alle experimenten en dit gaf groeisnelheden van 70-98% (85,6%) vergeleken met het gecontroleerde dieet. Het gedeelte (gewicht) wat geconsumeerd werd door de jonge oestertjes lag op 70% voor het gecontroleerde dieet en op 78% voor de gekweekte algen. Het totale vetgehalte en het gehalte vetzuren van de gekweekte algen was gelijk aan en het koolwaterstofgehalte was lager dan gepubliceerde waarden voor intensief gecultiveerde algensoorten om te voederen.*

Artikel 4:

"Emerging effluent management strategies in marine fish-culture farms located in European coastal wetlands"

(Aquaculture, Volume 226, Issues 1-4, 31 October 2003, Pages 113-128, Jérôme M. E. Hussenot)

Samenvatting

Wetlands aan de kust zijn bruikbare terreinen voor viskwekerijen op het land in vijvers en bassins maar de richtlijnen voor het behoud van het milieu met betrekking tot de lozing van effluent zijn voor deze gebieden streng. Om de hoeveelheid te lozen effluent te reduceren zijn verschillende technieken voorgesteld en worden langzamerhand toegepast door aquaculturisten. Aan de Atlantische kust van Europa (Frankrijk, Portugal, Spanje, etc.) treft men vaak (uitgroei)kwekerijen voor zeebaars, zeebrasem en tarbot aan op de plaats waar vroeger zoutmeren waren gelokaliseerd. Benedenstrooms van de achterste vijvers worden sedimentatievijvers gebruikt om het gehalte zwevende deeltjes te reduceren. De continue massale kweek van microalgen zijn het onderwerp geweest van experimenten waarin ammonia en fosfaten omgezet worden in diatomeeën met de systematische additie van de benodigde beperkende nutriënten zoals silicaat (Si) en fosfor (P). Nieuwe behandelingen kunnen worden toegevoegd als (gedeeltelijke) recirculatiesystemen toegepast gaan worden. Geïntegreerde systemen zijn opkomende technieken die de vervuiling door middel van het lozen van effluent reduceren zonder extra kosten te maken en daarnaast zal de productie van algen ook het een en ander opleveren.

Artikel 5:

"Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study"

(Aquaculture, Volume 193, Issues 1-2, 1 February 2001, Pages 155-178, A. B. Jones, W. C. Dennison and N. P. Preston)

Samenvatting

*Vooral het afvalwater (effluent) van een garnalenkwekerij bevat verhoogde concentraties van opgeloste nutriënten en gesuspendeerde deeltjes in vergelijking tot influent. Pogingen om de kwaliteit van dit effluent te verbeteren door gebruik te maken van tweekleppigen (filter feeders) en macroalgen om de concentratie nutriënten te verminderen zijn voorheen mislukt door de hoge concentratie kleideeltjes die kenmerkend zijn voor dit onbehandelde effluent. Deze deeltjes verhinderen de voedselopname van tweekleppigen en verminderen de fotosynthese in macroalgen door verhoging van de troebelheid. In een kleinschalige laboratoriumstudie werd de effectiviteit van een driedelig effluent behandelingsstelsel onderzocht. In het eerste gedeelte wordt de concentratie zwevende deeltjes gereduceerd door het natuurlijke proces van sedimentatie. In het tweede gedeelte werd de concentratie gesuspendeerde deeltjes, inclusief anorganische deeltjes, fytoplankton, bacteriën en hun geassocieerde nutriënten, gereduceerd. In het laatste gedeelte werden de opgeloste nutriënten geabsorbeerd door de macroalg *Gracilaria edulis* (Gmelin) Silva. Het effluent was afkomstig van een commerciële garnalenkwekerij (*Penaeus japonicus*) en werd overgebracht naar het instituut alwaar het 24 uur met rust gelaten werd zodat er bezinking kon optreden. Submonsters van het water werden getransfereerd naar tanks in het laboratorium die voorzien waren van een voorraad oesters voor de duur van 24 uur. Vervolgens werd het water overgebracht in tanks die macroalgen bevatten voor nog eens 24 uur. Het totale gehalte vaste deeltjes in suspensie (TSS), chlorophyll a, totaal stikstof (N), totaal fosfor (P), NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} , en het aantal bacteriën werden vergeleken met de cijfers voor de behandeling (t = 0 uur), na behandeling 1 (24 uur bezinken, t = 24 uur), na behandeling 2 (24 uur gefilterd door oesters, t = 48 uur) en na behandeling 3 (24 uur absorptie door macroalgen, t = 72 uur). Het gecombineerde effect van de trapsgewijze bewerking resulteerde in een significante reductie van de concentratie van alle gemeten parameters. In de controletanks, die geen oesters dan wel algen bevatten, trof men een hoge graad van nutriëntenregeneratie aan. De totale verbetering in waterkwaliteit was als volgt:*

<i>Totale gehalte aan vaste deeltjes in suspensie (TSS)</i>	<i>: 12 %</i>
<i>Chlorophyll a</i>	<i>: 0,7 %</i>
<i>Totaal stikstof (N)</i>	<i>: 28 %</i>
<i>Totaal fosfor (P)</i>	<i>: 14 %</i>
<i>NH_4^+</i>	<i>: 76 %</i>
<i>NO_3^-</i>	<i>: 30 %</i>
<i>PO_4^{3-}</i>	<i>: 35 %</i>
<i>Bacteriën</i>	<i>: 30 %</i>

Ondanks de mogelijkheid dat er behoorlijke verschillen in sedimentatie, filtratie en nutriëntenopname op kunnen treden wanneer men opschaaft naar kwekerijafmetingen tonen deze resultaten aan dat geïntegreerde behandeling de potentie heeft om de waterkwaliteit van een garnalenkwekerij significant te verbeteren.

Artikel 6:

"Relative growth and growth efficiency of Ostrea edulis spat fed various algal diets"

(Aquaculture, Volume 54, Issue 4, 15 June 1986, Pages 245-262, I. Laing and P. F. Millican)

Samenvatting

Pas gevestigde broedjes van Ostrea edulis bracht men groot in een recirculatiesysteem van 50 l. bestaande uit buizen waarin water omhoog welde. Vijf verschillende mariene soorten microalgen werden afzonderlijk van elkaar en in verschillende mixen ter consumptie aangeboden. De grootste groei werd veroorzaakt door Chaetoceros calcitrans als eenzijdig dieet.

De voedingswaarde van de andere eenzijdige diëten was als volgt:

Chroomonas salina > Isochrysis galbana > Skeletonema costatum > Tetraselmis suecica.

De gemixte diëten met de hoogste voedingswaarde:

30% Chaetoceros calcitrans / 70% Tetraselmis suecica >

50% Chaetoceros calcitrans / 50% Skeletonema costatum >

50% Tetraselmis suecica / 50% Skeletonema costatum

Het bestandsdeel algen in procenten per mengsel is gebaseerd op het organische gewicht van de cellen. De mogelijke verklaringen voor het verschil in voedingswaarde per algensoort worden onderzocht en besproken. Het organische stofgehalte, afhankelijk van de grootte, was hoger en de verwerking van voedingscellen lager voor broedjes die van diëten waren voorzien die garant stonden voor hogere groeisnelheden. Afname van de verwerking van voedingscellen werd geassocieerd met een lagere metabolisme. De netto en totale efficiëntie van het groeien was groter bij de diëten met een hogere voedingswaarde

De groeipotential van de broedjes hing af van de hoeveelheid aan vetreserves in de larven op het tijdstip van vestigen evenals het post-larvale dieet. Sneller groeiende broedjes bouwden grotere vetreserves op, die op hun beurt weer geassocieerd werden met een relatief hogere groeisnelheid wanneer de broedjes naar zee worden getransfereerd.

3.2. Antwoorden

1. Is het water van een viskwekerij al eens gebruikt als voedingsmedium voor de groei van microalgen?

In Wang (2003) en Jones et al (2001) wordt een beschrijving gegeven van een experiment waar bij het water van een garnalenkwekerij zou kunnen dienen als voedingsmedium voor de groei van planten, respectievelijk diatomeeën (*Chaetoceros*) en macroalgen (*Gracilaria edulis*).

In Laing en Chang (1998) wordt beschreven hoe men ongefilterd zeewater gebruikt als voedingsmedium voor algen door het te verrijken met meststoffen. Het water was afkomstig uit het Cowny estuarium en werd gedurende hoogwater ingelaten (door een filter) in betonnen opslagtanks alwaar het kon bezinken.

In Lefebvre et al (2000) wordt het water van een zeebaars-, zeebrasem- en tarbotkwekerij rechtstreeks gebruikt als voedingsmedium voor tweekleppigen. Het water bevat grote hoeveelheden levend fytoplankton en detritus en dient als directe voeding voor tweekleppigen. Hussenot (2003) beschrijft de methode waarbij men het effluent van een viskwekerij eerst heeft laten bezinken waarna microalgen gebruikt werden om nutriënten om te zetten in diatomeeën (met toevoeging van beperkende nutriënten zoals silicaat).

(Laing en Millican, 1986) beschrijven in hun artikel dat de algenculturen werden behouden in een Erdschreiber medium dat werd verrijkt met een bepaalde meststof.

2. Zo ja, welk water werd dan gebruikt? Direct uit het bassin of het effluent?

In de beschreven experimenten waarbij een kwekerij centraal stond, werd steeds gebruik gemaakt van het effluent. (Wang, 2003; Jones et al, 2001; Lefebvre et al, 2000)

3. Wat was de nutriëntenconcentratie van dit water?

In het experiment waarbij het effluent direct dienst doet als voedsel voor *Crassostrea gigas* (Lefebvre et al, 2000) is de gemiddelde concentratie aan organisch materiaal in het effluent gelijk aan 32 mg/l.

In de methode waarbij natuurlijk zeewater verrijkt werd met nutriënten (Laing en Chang, 1998) maakte men gebruik van de volgende meststoffen;

- natriummetasilicaat	$\text{Na}_2\text{SiONH}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	[10,6 g m ⁻³]
- difosforpentaoxide	P_2O_5	[1,56 g m ⁻³]
- ureum	NH_2CONH_2	[1,50 g m ⁻³]

De nutriëntensamenstelling verhoudt zich in Jones et al (2001) op onderstaande wijze;

Tabel 1. Nutriëntensamenstelling (* = Total Suspended Solid)

Parameter	Concentratie vóór behandeling <i>t</i> = 0 uur	Concentratie na sedimentatie <i>t</i> = 24 uur	Concentratie na filtratie (door oesters) <i>t</i> = 48 uur	Concentratie na absorptie (door macroalgen) <i>t</i> = 72 uur
TSS*	0,60 g l ⁻¹	0,17 g l ⁻¹	0,02 g l ⁻¹	0,02 g l ⁻¹
Chlorophyll <i>a</i>	180 µg l ⁻¹	130 µg l ⁻¹	11 µg l ⁻¹	1,5 µg l ⁻¹
Totaal N	290 µM	205 µM	138 µM	8 µM
Totaal P	21 µM	9,7 µM	6,1 µM	2,9 µM
NH ₄ ⁺	1,7 µM	18 µM	51 µM	1,3 µM
NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻	1,0 µM	1,0 µM	13 µM	0,3 µM
PO ₄ ³⁻	0,5 µM	0,5 µM	3,3 µM	0,16 µM
Bacteriën	19 x 10 ¹⁰ l ⁻¹	19 x 10 ¹⁰ l ⁻¹	6 x 10 ¹⁰ l ⁻¹	6 x 10 ¹⁰ l ⁻¹

Laing en Millican (1986) beschrijven in hun artikel dat het (Erdschreiber) medium werd verrijkt met natriummetasilicaat [40 mg/l]

4. Wat was de dichtheid van de vispopulatie?

Het model over de garnalenkwekerij uit Wang (2003) omvat 2 x 16 tanks waarbij elke tank individuen van een bepaalde gewichtsklasse bevat. Tank nummer 1 bevat de lichtste (1,5 g) en dus ook de meeste garnalen. Oplopend naar boven bevat de laatste tank (nr. 16) de garnalen met de zwaarste gewichten (25 g). Iedere tank bevat ongeveer 4000 garnalen. De gemiddelde dichtheid van de garnalenpopulatie bedraagt 65 garnalen/m².

In Jones et al (2001) bedroeg de dichtheid van de populatie garnalen (*Peneaus japonicus*) 3 t ha⁻¹. Ofwel 3000 kg per 10.000 m².

5. Hoe vaak werd er water toegevoegd? Continu? Met welke snelheid? Hoe vaak werd het water ververs?

Slecht in twee artikelen wordt beschreven welke verversingsgraad men toepaste;

- een verversingsgraad van 400% (hier wordt bedoeld dat de vijvers 4 x per dag in zijn geheel ververs werden) (Lefebvre et al, 2000)
- een verversingsgraad van 10-24 per dag (het totale volume wordt 10 tot 24 x per dag ververs) (Hussenot, 2003)

6. Zijn de microalgen vervolgens als voer gebruikt?

Wang, 2003; Laing en Chang, 1998; Laing en Millican, 1986 → Ja

Lefebvre et al, 2000; Hussenot, 2003 Jones et al, 2001 → Nee

7. Zo ja, welke dieren werden ermee gevoerd?

Crassostrea virginica, de Amerikaans oester (Wang, 2003)

Crassostrea gigas, de Japanse oester (Lefebvre et al, 2000) en (Laing en Chang, 1998)

8. Wat was de productiesnelheid van de microalgen en de eventuele dieren die ermee gevoerd werden?

In de artikelen werd geen informatie gevonden met betrekking tot de productiesnelheid van de microalgen.

Het model gebaseerd op het principe van recirculatie met behulp van microalgen zou binnen 6-12 maanden oesters op moeten leveren die geschikt zijn voor de markt (Wang, 2003).

4. Discussie

Gedurende 3 maanden heb ik me bezig gehouden met het opstellen van een literatuurstudie met als doel meer inzicht te krijgen in wat er reeds aan onderzoek is verricht aan het opzetten van een kringloopsysteem waarbij het kweekwater van een viskwekerij dienst doet als voedingsmedium voor algen, die op hun beurt weer als voedsel dienen voor de larven van schelpdieren. Aquacultuur op zich is natuurlijk al een sector die nog in de kinderschoenen staat maar wanneer men zich toespitst op recirculatietechnieken en alles wat daarmee te maken heeft, kan men concluderen dat dit voor het mariene milieu nog een weinig ontgonnen gebied is.

In tegenstelling tot mijn verwachtingen werden in plaats van artikelen over in de praktijk uitgewerkte experimenten met kringloopsystemen alleen maar theorieën en modellen over mogelijke technieken gevonden, die nog niet in de praktijk zijn getoetst. Het betrof in de regel ook artikelen die op zijn hoogst raakvlakken vertoonden met het opzetten van een kringloopsysteem met behulp van kweekwater van een viskwekerij.

In de meeste gevallen werd het effluent (afvalwater) van een kwekerij gebruikt terwijl in onze opzet kweekwater wordt gebruikt. In ons geval wordt het effluent van de tarbotkwekerij namelijk op een dusdanige manier bewerkt dat het onbruikbaar is als voedingsmedium. Er wordt namelijk een ijzerhoudende verbinding aan het afvalwater toegevoegd wat de nutriënten bindt en neer doet slaan. Vandaar dat het CSO kweekwater (uit de bassins) gebruikt wat deze zuiveringsstap nog niet heeft ondergaan.

In het geval van het CSO te Yerseke ligt het voor de hand dat gebruik wordt gemaakt van het kweekwater van een tarbotkwekerij, die eveneens in Yerseke is gelegen. In principe kan eigenlijk elke kwekerij dienst doen als leverancier van het kweekwater mits het mariene soorten betreft. In de artikelen worden garnalenkwekerijen genoemd en kwekerijen van vissoorten anders dan tarbot.

In de artikelen waarin algen ter sprake komen is het niet vanzelfsprekend dat de algen ook dienst doen als voedsel zoals in ons kringloopsysteem de bedoeling is. De algen doen in sommige gevallen dienst als voedsel voor organismen (Japanse en Amerikaanse oester worden genoemd) maar niet zelden worden ze alleen gebruikt als zuiveringsmechanisme.

Wanneer men de resultaten analyseert, moet men concluderen dat er reeds onderzoek is verricht naar het gebruik van water afkomstig van een kwekerij voor mariene soorten maar dat dit onderzoek geen nieuw licht werpt op het verdere verloop van mijn afstudeerstage. De resultaten van de literatuurstudie zullen echter wel dienen als vergelijkingsmateriaal. Wanneer mijn verdere onderzoek straks resultaten heeft opgeleverd, zullen deze worden vergeleken met de resultaten zoals die zijn beschreven in de artikelen. Voor de afstudeerstage zal worden verder geborduurd op hetgeen M. C. Quist reeds heeft bewerkstelligd. Zij heeft positieve resultaten geboekt met haar resultaten en wanneer deze weg wordt ingeslagen, weet men in ieder geval zeker dat men de veilige weg bewandeld.

5. Aanbevelingen

Vooralsnog werd alleen in de zogenaamde "witte" literatuur gezocht naar informatie met betrekking tot het onderwerp van deze literatuurstudie. Door te zoeken in de digitale bibliotheek van Wageningen Universiteit & Researchcentrum onder Aquaculture and fisheries (Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts) bakent men een groot terrein af. Als er informatie met betrekking tot het onderwerp is zal het onder deze noemer vallen. Andere keywords en andere combinaties van deze keywords hadden mogelijk nog andere resultaten geboekt maar daar was de beschikbare tijd niet afdoende.

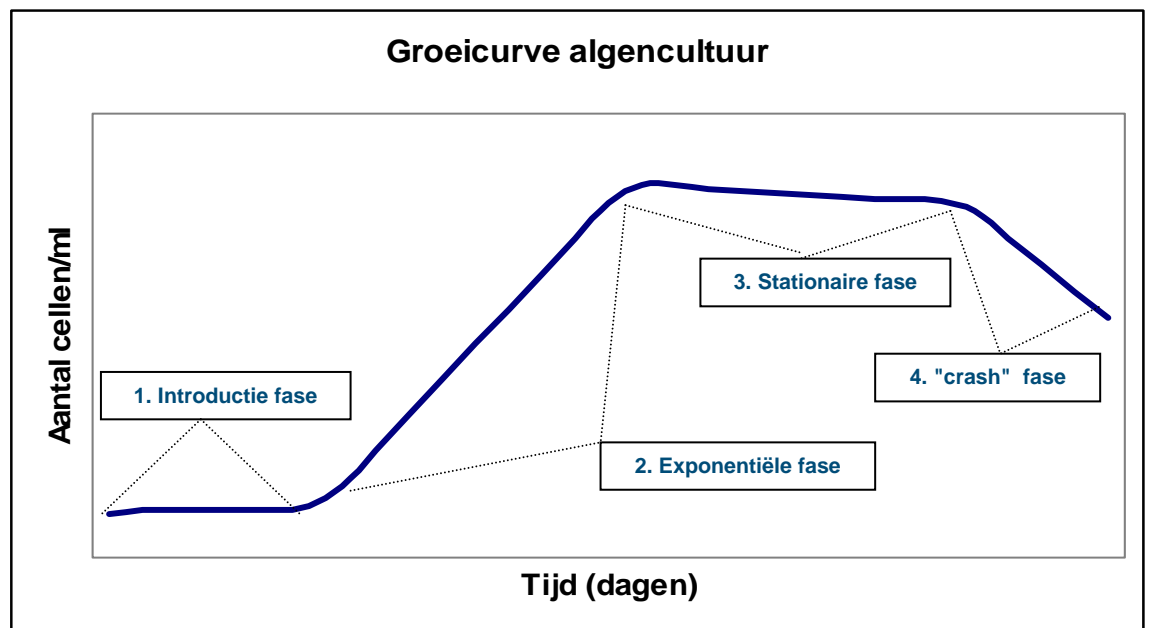
Dan bestaat er ook nog zoiets als "grijze" literatuur. Dit is literatuur die voor iedereen toegankelijk is. Dit is interne literatuur die zich in een instelling bevindt en niet openbaar is gemaakt of literatuur die voor bepaalde opdrachtgevers bestemd is. De informatie die in deze literatuur staat vermeld en betrekking heeft op het onderwerp zal nooit bekend worden omdat men het bestaan er simpelweg niet van afweet.

Voor een mogelijk vervolg op deze literatuurstudie is het misschien interessant om ook de "zoete" aspecten van recirculatietechnieken te onderzoeken. In deze studie werd de nadruk gelegd op mariene soorten en zoute omstandigheden maar men kan zich voorstellen dat er op het gebied van zoet water reeds interessante methodes zijn ontwikkeld die mogelijk ook toegepast kunnen worden op het zoute milieu.

6. Achtergrondinformatie (Inleiding op praktijkgedeelte)

6.1 Algen groei (*Hoff en Snell, 2001*)

In het groeipatroon van een algencultuur kan men enkele fases herkennen. In figuur 1. wordt de bijbehorende groeicurve weergegeven en aansluitend worden de verschillende fases besproken.



Figuur 1. Typische groeicurve van een algencultuur

1. De introductie fase

De introductiefase waarin de dichtheid van het aantal cellen niet of nauwelijks toeneemt. De algen hebben een korte periode nodig om te acclimatiseren en te wennen aan hun nieuwe omgeving alvorens ze doorgaan met groeien.

2. De exponentiële groeifase

Wanneer de introductie fase achter de rug is, belandt de cultuur in een exponentiële groeifase waarin de celdeling drastisch toeneemt in de vorm van een logaritmische functie. De cellen die men "oogst" gedurende de laatste momenten van deze fase zijn voedzaam en gewild. Door iedere dag $1/3 - 1/2$ van het volume van de cultuur te "oogsten" en aan te vullen met voedingsstoffen houdt men de cultuur in de exponentiële groeifase. Wanneer men wil opschalen, wordt aangeraden om vanuit de exponentiële groeifase door te kweken.

De duur van de exponentiële groeifase is afhankelijk van de hoeveelheid nutriënten, licht, koolstofdioxide (CO_2) en andere limiterende fysische en chemische factoren. Eén of meer van deze factoren zullen limiterend werken op de groei van de algencultuur.

Tegen het einde van de exponentiële fase vermindert de celdeling significant. De cellen die men nu "oogst" hebben het hoogtepunt qua voedingswaarde en dichtheid bereikt. Wanneer men batch culturen ⁽²⁾ gebruikt (CSO), is dit het moment om te "oogsten" ofwel om te voeren aan de schelpdierlarven.

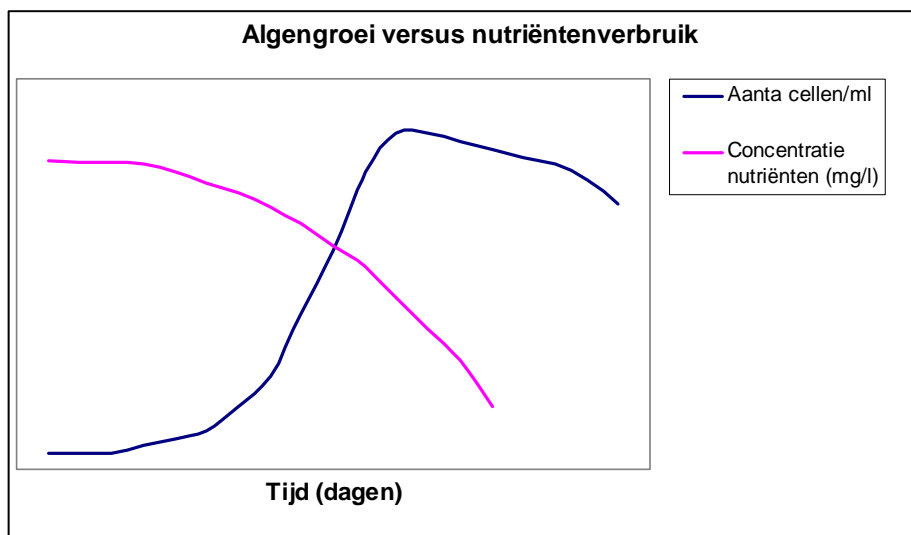
3. De stationaire fase

Wanneer de celdichtheid relatief constant blijft voor een langere periode spreekt men van de stationaire fase. Deze fase wordt gekenmerkt door afwisselende perioden van afname gevolgd door perioden van toename. In batch culturen worden nutriënten geconsumeerd zonder dat ze worden vervangen en de stationaire fase in zulke culturen kan heel kort zijn als de celdichtheid extreem hoog is. Cellen die gedurende deze fase "geogst" worden zijn minder voedzaam dan cellen die werden weggenomen uit de exponentiële groeifase.

4. De "crash" fase

Op een gegeven moment zal de waterkwaliteit afnemen, zullen cellen afsterven en de celdichtheid zal snel minder worden. Men spreekt dan van de "crash" fase. Er zijn verschillende oorzaken die een "crash" tot gevolg kunnen hebben. Uitputting van één of meerdere nutriënten, zuurstofgebrek, verschuiving van de pH zijn slechts enkele mogelijke oorzaken. Een "crash" kan zowel overdag als 's nachts plaatsvinden en dus is het belangrijk om een cultuur nauwgezet te monitoren om voortekenen van een mogelijke "crash" tijdig te ontdekken. Voorbeelden zijn vermindering van de celdichtheid en verandering van kleur van de cultuur. De voedingswaarde van "gecrashte" cellen is logischerwijs nihil.

Anders dan in een continue cultuur waar een constante in- en uitstroom plaatsvindt, is de nutriëntenvoorraad in een batch cultuur limiterend. Het ligt in de lijn der verwachtingen, dat de nutriëntconcentratie zich zal gedragen als in onderstaande figuur schematisch is weergegeven. Ter verduidelijking is de algengroei nogmaals afgebeeld in figuur 2.



Figuur 2. Algengroei versus nutriëntengebruik

6.2 Algensoorten

6.2.1. *Chaetoceros gracilis* (Hoff en Snell, 2001)

Chaetoceros behoren tot de groep der diatomeeën, een unieke groep binnen de algen met een celwand die is opgebouwd met behulp van silicaat (SiO_2). De celwand is geperforeerd en bestaat uit ontelbare openingen, wat deze organismen uitermate geschikt maakt om dienst te doen als zeef en de commercie past ze dan ook toe in verschillende zuiverings-mechanismen. *Chaetoceros* is een ééncellige soort, maar is in staat om meercellige ketens te vormen door cellen met elkaar te verbinden door middel van draden.

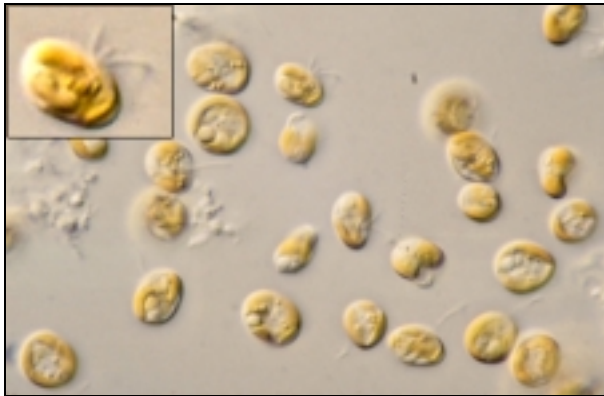
Het cellichaam van *Chaetoceros* heeft dezelfde vorm als die van een petri schaalpje. Vanaf de zijkant bekeken, blijken individuele cellen vierkant te zijn met afmetingen die variëren tussen de $3\ \mu\text{m}$ $7\ \mu\text{m}$ en met draden die voortkomen uit de hoekpunten. Cellen kunnen ketens vormen van 10-20 cellen en kunnen een lengte bereiken van $200\ \mu\text{m}$. Wanneer *Chaetoceros* gekweekt wordt onder sterke beluchting zullen zich geen kolonies vormen. Grote culturen vertonen een bruine kleur en individuele cellen zijn goudbruin van kleur omgeven door een doorzichtige celwand. *Chaetoceros* is een populaire voedingsbron voor rotiferen, mossels, oesters en larvale garnalen. De optimale groeitemperatuur voor *Chaetoceros* ligt bij $18\ ^\circ\text{C}$.



Figuur 3. *Chaetoceros gracilis*

6.2.2. *Pavlova lutheri*

Pavlova lutheri behoort in tegenstelling tot *Chaetoceros* niet tot de kiezelwieren, maar tot de flagellaten. Zij zijn dan ook niet afhankelijk van silicaat. *Pavlova* heeft eveneens een goudbruine kleur en kan goed dienst doen als voedingsbron voor oesters, kokkels en mosselen. De optimale temperatuur voor de groei van *Pavlova* ligt bij 18 °C.



Figuur 4. *Pavlova lutheri*

6.3. Schelpdieren

6.3.1. *Mytilus edulis*

<http://www.honing-vis.nl/vissoorten/mossel.html>

Mosselen zijn weekdieren, die vooral in de kustgebieden leven. In de Oosterschelde en de Waddenzee komen zij in grote aantallen voor. In het voorjaar en de zomer vindt de voortplanting plaats. Miljoenen larven komen dan vrij en zwemmen in de kustgebieden en zeearmen rond. Na ongeveer een maand begint de schelp zich te ontwikkelen en zinkt het zogenaamde mosselzaad onder het gewicht van hun schelp naar de bodem. Met behulp van byssusdraden (ook wel de baard genoemd) hechten zij zich vast aan de zeebodem, aan voorwerpen of aan elkaar. Het voedsel van de mossel bestaat uit planktonalgen, die zij bemachtigen door het langsstromende zeewater te filteren. Mosseltjes van ongeveer 1 centimeter groot noemt men mosselzaad. Wanneer de mosselen een lengte hebben van circa 4 cm worden ze zogenaamde 'halfwasmosselen' genoemd. Vanaf een grootte van 5.5 cm zijn de mosselen geschikt voor de verkoop als consumptiemossel. Het duurt ongeveer 1 à 2 jaar voor ze deze status bereikt hebben.

6.3.2. *Crassostrea gigas* en *Ostrea edulis*

http://www.tijdvoorvis.nl/vissoorten_oester.htm

Er staan twee soorten oesters centraal met betrekking tot de kweek: de Zeeuwse Oester (*Crassostrea gigas*) en de platte oester (*Ostrea edulis*). De soorten verschillen aanzienlijk van elkaar. Belangrijk is het enorme prijsverschil. De platte oester is zeldzaam, groeit traag en plant zich moeilijk voort. Na ongeveer 5 jaar is hij volgroeid. De Zeeuwse oester daarentegen komt in groten getale in de Oosterschelde voor en kan binnen twee jaar volwassen zijn. Oesters worden in de Oosterschelde en het Grevelingenmeer gekweekt, waar de natuurlijke omstandigheden gunstig zijn. In de maanden juni en juli planten oesters zich voort. Het 'zaad' zakt na een paar weken op de bodem, waar het zich vasthecht op lege uitgezaaide mosselschelpen. Daar groeit de oester verder. Tijdens het groeiproces verplaatst de kweker de oesters af en toe naar andere percelen, waar op dat moment de juiste omstandigheden heersen om verder te groeien. Alleen de platte oesters blijven continu op hetzelfde perceel liggen. Na het opvissen worden de oesters aan wal in oesterputten met vers Oosterscheldewater bewaard. De oesters zuiveren zichzelf van zand en slib. Na een paar dagen zijn ze schoon en worden ze verpakt. De kweek van de Zeeuwse oester is minder arbeidsintensief en beter bestand tegen ziektes dan de platte oester. Verder is de platte oester gelijkmatiger qua vorm dan de grillig gevormde Zeeuwse oester.

6.4. Zeeland Vis Yerseke

<http://www.schmidtzeervis.nl/html/kweektarbot.html>

Al van de oude Romeinen is bekend dat ze het eten van tarbot zeer waardeerden. Ze hielden de vissen levend in tanks in afwachting van grote evenementen en feesten. Tot op de dag van vandaag is tarbot een luxe visspecialiteit gebleven. Het blanke, stevige en sappige visvlees maakt de tarbot tot een gewilde consumptievis. De gelatinerijke botten geven de vis meer smaak en gelden als de beste basis voor een bouillon.

Europese tarbot *Scophthalmus maximus* (of *Psetta maxima*) wordt van oudsher als bijvangst aan land gebracht. Omdat de vis niet in scholen leeft, kan er niet doelgericht op worden gevist. De Nederlandse kotters zijn binnen Europa de belangrijkste aanvoerders van deze zeer gewaardeerde consumptievis. De Noordzee raakt echter leger. Al vele jaren is er minder wilde tarbot, wat zich vertaalt in het aanbod van steeds kleinere maten.

De kweek van tarbot heeft de afgelopen 15 jaar een belangrijke bijdrage geleverd om aan de stijgende vraag te voldoen. Jaarlijks bedraagt het aanbod gekweekte tarbot nu ongeveer 5.000 ton (ca. 40 procent van het totaal).

Het grootste deel van de kwekerijen is te vinden langs de Noord-Spaanse kust. In Noord-Europa zijn klimaat en zeewatertemperatuur niet ideaal. Zeeland Vis Yerseke maakt daarom, als één van de weinigen in de sector, gebruik van zogenaamde recirculatie-technieken. Het water in de kwekerij wordt intern rondgepompt en gezuiverd. Dit biedt een aantal belangrijke voordelen. De interne biologische waterzuivering in de kwekerij staat garant voor een continue optimale waterkwaliteit voor de vissen. Het leefklimaat is het gehele jaar door stabiel, wat de algehele conditie van de vis versterkt, inclusief de weerstand tegen ziekteverwekkers.

Nederland heeft jarenlang voorop gelopen wanneer het ging om productie- en efficiëntieverhoging in de agrarische sector. De viskweek is een jonge sector, die lering kan en moet trekken uit de opkomst van de intensieve veehouderij gedurende de jaren zeventig en tachtig, met alle negatieve aspecten die daaraan verbonden waren. Niemand zit te wachten op een nieuwe vorm van bio-industrie. Zeeland Vis richt zich dan ook nadrukkelijk op de kweek van vis waarbij rekening wordt gehouden met milieu en dierenwelzijn. Waterkwaliteit is daarbij van het grootste belang, maar ook de relatief lage dichtheden die worden gehanteerd benadrukken de diervriendelijke, maatschappelijk verantwoorde methoden die worden toegepast. Het voorkomen van ziekten met behulp van preventieve vaccins die de vissen in hun jongste levensstadia krijgen toegediend, is ook van groot belang voor het welzijn van de vissen.

Door de enorme kennis die inmiddels is opgebouwd wordt een gegarandeerde en constante kwaliteit tarbot geleverd. De kwaliteit van tarbot uit de vrije natuur is meer variabel, omdat de vis afhankelijk is van het beschikbare voedsel en de natuurlijke omstandigheden, de leefomgeving en het moment van vangst. Er is weinig bekend van de levensloop van wilde tarbot en controle op het voedsel van de vis en de diergezondheid is niet of nauwelijks mogelijk.

De paaitijd van wilde tarbot duurt van april tot augustus. In deze periode is de tarbot kwalitatief minder. Kweektarbot heeft geen last van kwaliteitsverlies door kuitziekte, omdat het klimaat in de kwekerij altijd gelijk is, waardoor de vis niet of veel later geslachtsrijp wordt.

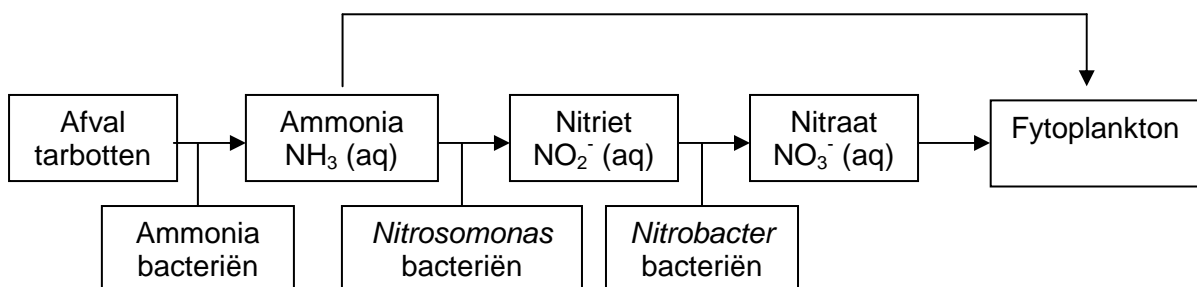
De tarbot maakt bijzonder efficiënt gebruik van diervoeder. Om 1 kg te groeien heeft een tarbot ongeveer 1,1 kg voer nodig. Omdat tarbotten roofvissen zijn, bestaat het voer voor het grootste gedeelte uit vismeel en visolie en wordt samengesteld uit vissoorten die normaal gesproken niet zijn bestemd voor menselijke consumptie. Samen met een andere tarbotkwekerij is Zeeland Vis verantwoordelijk voor de totale productie van deze zoutwatervis in Zeeland, zo'n 120 ton per jaar. Hiervan neemt Zeeland Vis 100 ton voor zijn rekening.

6.5. De stikstofcyclus

Om te begrijpen welke nutriënten zich bevinden in het kweekwater uit een visbassin dient men op de hoogte te zijn van de processen die zich afspelen in dit water. Het water in het bassin wordt vervuild door de ontlasting van de tarbotten en door voer dat niet geconsumeerd wordt en afzinkt naar de bodem van het bassin. Dit organische materiaal wordt door toedoen van ammoniabacteriën omgezet in ammonia. Ammonia is de opgeloste vorm van ammoniak in water en in water vindt de volgende reactie plaats waarbij ammonia wordt omgezet in ammonium:



Vervolgens wordt ammonium omgezet in nitriet als gevolg van microbiële omzetting door *nitrosomonas* bacteriën. Het ontstane nitriet wordt door toedoen van *nitrobacter* bacteriën verder omgezet in nitraat. Dit proces noemt men nitrificatie. Nitraat speelt een belangrijke rol als voedingsstof voor het aanwezige fytoplankton in het visbassin en is een belangrijke bouwsteen voor organismen (DNA, eiwitten).



Figuur 5. Flowschema stikstofcyclus visbassin tarbotkwekerij Zeeland Vis Yerseke

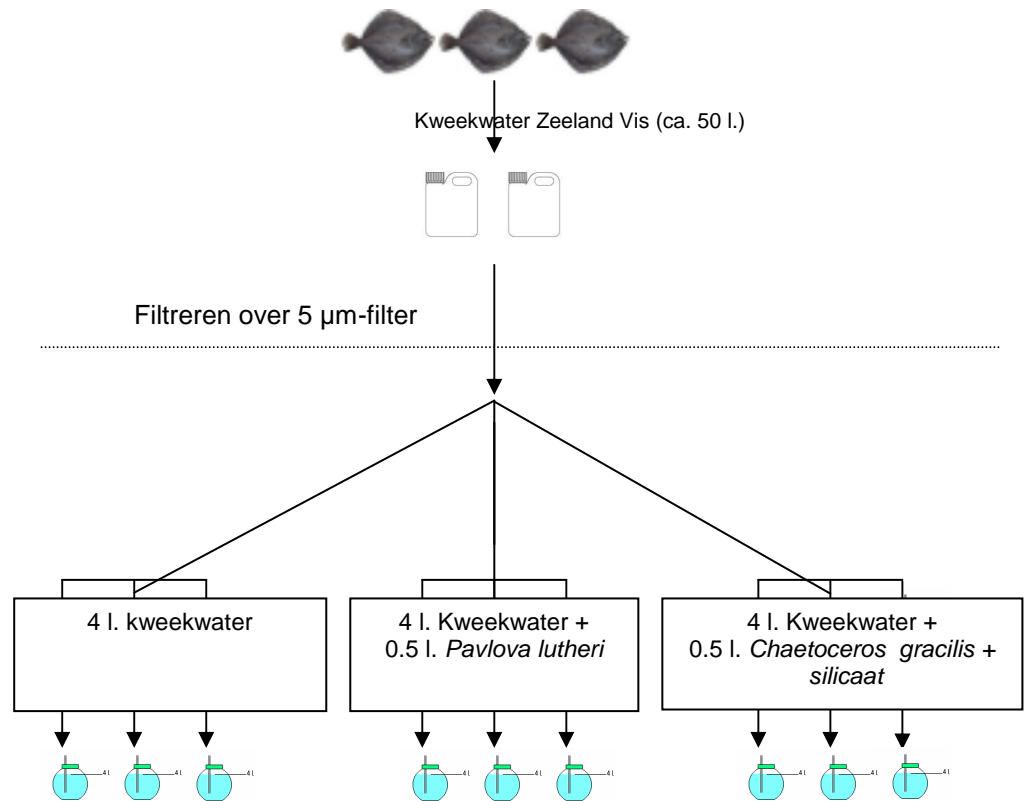
7. Materiaal en methode

Op 18 maart j.l. stond Zeeland Vis ca. 50 l. kweekwater af aan het CSO ten behoeve van mijn afstudeeropdracht. Het kweekwater was afkomstig uit hetzelfde visbassin als waar mijn voorganger M. C. Quist destijds water aan had onttrokken voor haar experimenten. 2 jerrycans met een inhoud van 25 l. werden gevuld met evenzoveel kweekwater en overgebracht naar het CSO.

Om te voorkomen dat te grote en daardoor niet interessante algensoorten de kweek zouden verontreinigen werd het kweekwater eerst gefiltreerd over een 5 µm filter.










Vervolgens werden 9 mengvaten voorzien van 4 liter kweekwater. Het aantal van 9 mengvaten is tot stand gekomen, nadat een power analyse was uitgevoerd met behulp van de eerste resultaten.

Uit een monocultuur van de diatomeeënsoort *Chaetoceros gracilis* werd een halve liter genomen en toegevoegd aan 3 van de 9 mengvaten. Ditzelfde werd gedaan voor de algensoort *Pavlova lutheri*. Deze beide soorten heeft men naast enkele andere soorten in monocultuur op voorraad bij het CSO te Yerseke. De 3 overgebleven mengvaten werden niet voorzien van een ent van welke soort dan ook. Omdat de soort *Chaetoceros gracilis* tot de diatomeeën ofwel kiezelwieren behoort, is het noodzakelijk dat er voldoende silicaat in het medium aanwezig is. Silicaat is onontbeerlijk voor kiezelwieren, omdat dat namelijk de bouwstof is voor hun skeletten. Aan de 3 mengvaten met *Chaetoceros* werd dan ook een overmaat Na_2SiO_3 -oplossing (21.3 g/l) toegevoegd van 9 ml. Deze hoeveelheid was gebaseerd op de silicaat concentratie in een kunstmatig voedingsmedium.








Figuur 6. Flowschema van het inzetten van het experiment

De mengvaten werden vervolgens in een rek geplaatst. Zij werden op een dussdanige manier opgesteld dat op elk schap van het rek één van de hierboven genoemde behandelingen was vertegenwoordigd. De mengvaten werden ingezet bij kamertemperatuur en belicht door TL buizen van het merk *Osram* met een vermogen van 36 W.

 kweekwater 1	 <i>Pavlova</i> 2	 <i>Chaetoceros</i> 3
 <i>Pavlova</i> 3	 <i>Chaetoceros</i> 1	 kweekwater 2
 <i>Chaetoceros</i> 2	 kweekwater 3	 <i>Pavlova</i> 1

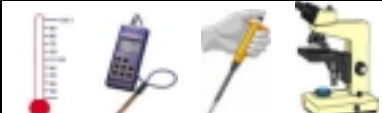






Figuur 7. Opstelling mengvaten

Het monitoren van het experiment bestond uit de volgende onderdelen:

	<p><i>Temperatuur</i></p> <p><i>Het meten van de temperatuur (continu) met behulp van een data-logger. Een mengvat werd gevuld met leidingwater. Dit mengvat was representatief voor de 9 mengvaten uit mijn experiment. Immers wanneer de temperatuur van de omgeving zou veranderen, dan zou dit niet alleen gelden voor dat ene mengvat, maar voor alle aanwezige mengvaten. Vervolgens werd een data-logger in het leidingwater geplaatst. Een data-logger meet niet alleen de temperatuur om het half uur, maar slaat deze data ook op. Wanneer het experiment afgelopen is, kan men het apparaat koppelen aan een computer, waarna men de data kan uitlezen.</i></p>
	<p><i>pH</i></p> <p><i>Het meten van de pH met behulp van de Portable pH/ISE Meter van HACH. Gedurende het experiment werd elke werkdag na de middagpauze de pH bepaald van de inhoud van de 9 mengvaten. Een gel-gevulde pH electrode van HACH werd in het medium geplaatst, waarna de pH werd afgelezen op de meter. De data werden onderzocht met behulp van ANOVA en uitgezet in Excel en zijn terug te vinden in de "Resultaten".</i></p>
	<p><i>Bemonsteren algen</i></p> <p><i>Het bemonsteren van de verschillende mengvaten ten behoeve van het determineren en tellen van de algen. Met behulp van een (automatische) pipet werd iedere werkdag 2 ml medium uit ieder mengvat genomen. Dit werd gefixeerd met 0,2 ml 40% formol en in de koelkast bewaard.</i></p>
	<p><i>Het determineren en tellen van de algen</i></p> <p><i>Voor dit onderdeel werd gebruik gemaakt van een microscoop van het merk Olympus (type BH2). Er werd gewerkt onder een vergroting van 312.5x. Voor het tellen van de algencellen werd 1 ml monster op een tetraampje gebracht dat uit 1000 hokjes bestond (1 hokje = 1 µl). Een minimaal aantal van 100 algencellen werd als richtlijn gekozen. Vervolgens werd bijgehouden hoeveel hokjes men telde alvorens er 100 cellen werden geteld. Delen door het aantal hokjes en vermenigvuldigen met 1000 leverde het aantal cellen per ml op.</i></p>
	<p><i>Het bepalen van de concentraties van de verschillende nutriënten</i></p> <p><i>Voor dit onderdeel werd gebruik gemaakt van de Hach-kit. Dit is gebaseerd op het principe van colorimetrie. Reagentia worden toegevoegd aan een monster waarna een reactie optreedt. De kleurverandering meet men met behulp van de Colorimeter DR/890</i></p> <p><i>Nitriet (Diazotization methode 8507, Low Range) (46/14)</i> <i>Nitraat (Cadmium Reduction methode 8039, High Range) (62/14)</i> <i>Fosfaat (Ascorbic Acid methode 8048, Reactive) (17/14)</i> <i>Ammonium (Salicylate methode 10023, Low Range Test 'N Tube) (95/31)</i> <i>Silicaat (Silicomolybdate methode 8185, High Range)</i></p> <p><i>De gemeten waarde diende vermenigvuldigd te worden met de omrekenfactor weergegeven achter het betreffende nutriënt.</i></p>

Figuur 8. Monitoring experiment, de verschillende onderdelen.

Onderstaand schema werd gehanteerd met betrekking tot de activiteiten die moesten worden ondernomen ten behoeve van de monitoring.

<i>dag</i>	<i>activiteiten</i>
<i>maandag</i>	
<i>dinsdag</i>	
<i>woensdag</i>	
<i>donderdag</i>	
<i>vrijdag</i>	
<i>zaterdag</i>	
<i>zondag</i>	

Figuur 9. Schema te ondernemen activiteiten ten behoeve van de monitoring

De data die voortkwamen uit de monitoring werden met behulp van het programma *Systat* geanalyseerd. Met behulp van box plots werd visueel onderzocht of men kon aannemen dat men met een normale verdeling te maken had. Analysis of variance ofwel ANOVA (Sokal en Rohlf, 1995) werd gehanteerd om onderzoek te doen naar het effect van tijd op het nutriëntengehalte, de pH en het aantal algencellen per ml. In alle onderzoeken werd een significantie niveau aangehouden van 5%. Dit houdt in dat wanneer de P-waarde kleiner was dan 0.05 men kon spreken van een significant effect (*P. Kamermans et al., 1999*).

<http://www.euronet.nl/users/warnar/demostatistiek/meth/power6.htm>

Onder het begrip POWER verstaat men de kans (of waarschijnlijkheid) dat een NUL-hypothese terecht wordt verworpen. Men spreekt ook wel van onderscheidend vermogen van een test. Hierbij is het van belang dat men de nul-hypothese zodanig opstelt dat daarin wordt geformuleerd dat de te testen situatie NIET verschilt, er geen correlatie of associatie bestaat etc. Blijkt uit een statistische analyse met een bepaalde steekproef dat een test een power bezit van 90 %, dan betekent dit, dat de kans op een terecht significant aantoonbaar resultaat 90 % bedraagt en dat men hiermee een beslisfout maakt van maximaal 10 %. Deze beslisfout noemt men beta (β) De Power geeft de waarschijnlijkheid aan dat de beslissing ten gunste van de alternatieve hypothese correct is. Het risico dat deze beslissing niet correct is wordt uitgedrukt met beta (Zar, 1996).

8. Resultaten

8.1. Beschrijving

Power analyse

De power analyse wees uit dat er met 3 replica's 18% kans was op een beslisfout beta.

Temperatuur

Gezien de grafiek waarin de temperatuur uitgezet staat tegen de tijd kan men stellen dat de temperatuur gedurende het experiment fluctueerde tussen de 16 en 25 °C (grafiek 1).

pH

De zuurgraad of pH vertoonde gedurende het experiment zowel in "*Kweekwater*" als "*Pavlova*" een toename in de tijd (grafiek 2 en 4). In "*Chaetoceros*" kon men eerst een duidelijke toename in de tijd waarnemen waarna de pH afnam (grafiek 3). In alle drie de gevallen was het effect significant (tabel 1).

Nitriet

In "*Kweekwater*" is de concentratie nitriet afgenomen in de tijd (grafiek 5). Voor "*Chaetoceros*" en "*Pavlova*" geldt dat het lijkt alsof de concentratie is toegenomen in de tijd (grafiek 6 en 7). Echter het effect in "kweekwater" was significant in tegenstelling tot de andere gevallen (tabel 2).

Nitraat

Voor de concentratie nitraat kan men stellen dat er gedurende het experiment geen significant effect optrad voor zowel "*Kweekwater*" als "*Chaetoceros*" (tabel 3). Er is geen sprake van een duidelijke toe- of afname in de tijd (grafiek 8 en 9). "*Pavlova*" daarentegen laat een plotselinge significante toename in de tijd zien (grafiek 10).

Ammoniak

De concentratie ammoniak is zowel voor "*Kweekwater*" als "*Pavlova*" afgenomen gedurende het experiment (grafiek 11 en 13). "*Chaetoceros*" vertoonde op het einde echter een zeer explosieve toename in de tijd (grafiek 12). De effecten die optraden, waren in alle gevallen significant (tabel 4).

Fosfaat

Zowel "*Kweekwater*" als "*Chaetoceros*" als "*Pavlova*" vertoonde een toename van de concentratie fosfaat in de tijd (grafiek 14, 15 en 16). Het effect was in alle drie de gevallen significant (tabel 5).

Silicaat

De concentratie silicaat in zowel "*Kweekwater*" als "*Pavlova*" is gedurende het experiment significant afgenomen (grafiek 17 en 19). In tegenstelling tot "*Chaetoceros*" waar geen sprake was van een significant effect in de tijd (tabel 6).

Algentellingen

Daar de duur van de afstudeerstage het niet toeliet om de algengroei per behandeling in kaart te brengen, werd besloten om "*Kweekwater*" en "*Pavlova*" buiten beschouwing te laten. Argumenten die deze keuze ondersteunden, waren dat "*Pavlova*" weinig groei vertoonde en daarom minder interessant was om in kaart te brengen. "*Kweekwater*" vertoonde pas in de laatste dagen van het experiment een groene algencultuur, waardoor ook deze behandeling niet in aanmerking kwam om in kaart gebracht te worden.

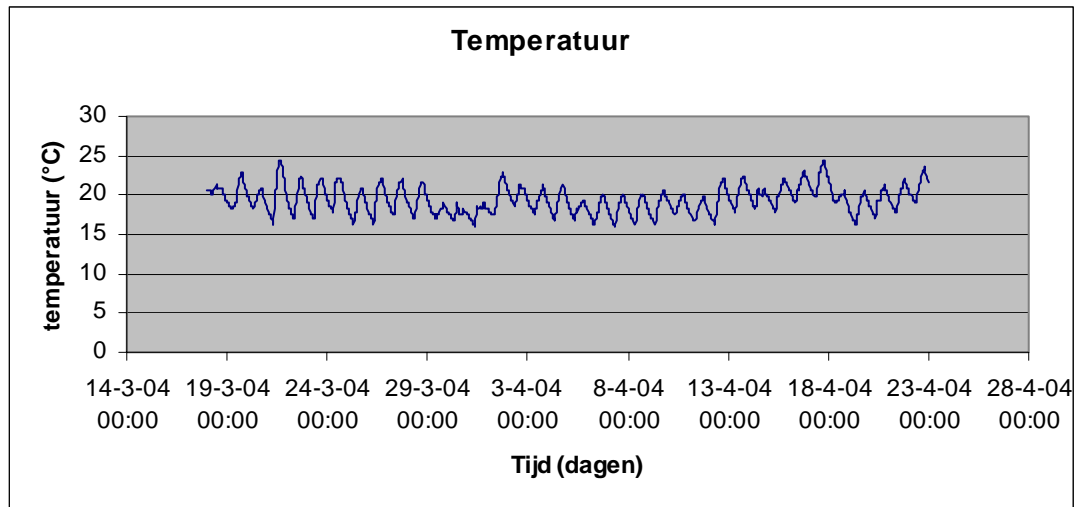
Determinatie van de groene cultuur bleek onmogelijk met behulp van de aanwezige apparatuur op het CSO, daar de afmetingen van de algensoort kleiner waren dan 4.7 μm . In het oculair van de sterkst vergrotende microscoop van het CSO is een schaalverdeling aangebracht. Eén streepje op de schaalverdeling kwam overeen met 4.7 μm . De cellen van de groene cultuur waren kleiner dan één streepje en het was dan ook alleen mogelijk om een schatting te geven van de afmetingen van deze soort, laat staan dat de soort gedetermineerd kon worden.

De replica's van "*Chaetoceros*" vertoonden een duidelijke groei en werden daarom boven de andere behandelingen verkozen om in kaart te brengen. Analyse met behulp van ANOVA heeft uitgewezen, dat het aantal algencellen van voor de maximale dichtheid significant is toegenomen per ml (grafiek 20). Na het moment van maximale concentratie werd geen significant effect waargenomen (tabel 7). Relevant om te vermelden is dat 2 van de 3 replica's reeds waren ingestort toen het experiment werd beëindigd. De niet ingestorte replica heeft er dus voor gezorgd, dat de grafiek na het moment van maximale dichtheid nog redelijke aantallen cellen vertoont.

Met zekerheid kan vermeld worden dat in replica 1 en 2 van "*Kweekwater*" copepoden (bijlage1) zijn aangetroffen. In replica's van andere behandelingen werden deze organismen niet aangetroffen.

8.2 Visualisatie

Temperatuur



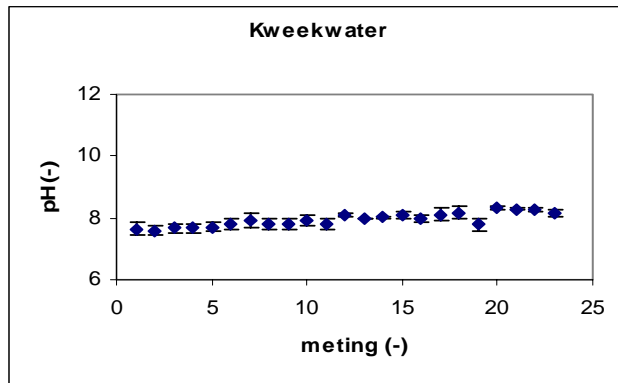
Grafiek 1. Temperatuur als functie van de tijd

pH

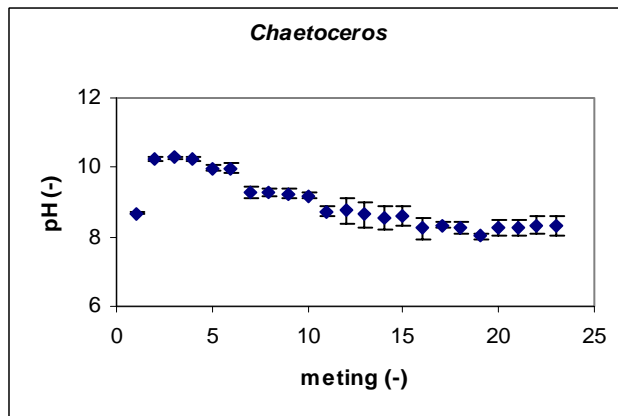
Tabel 1. P-waardes voor de pH

	P	significant
Kweekwater	0.000	✓
Chaetoceros	0.000	✓
Pavlova	0.000	✓

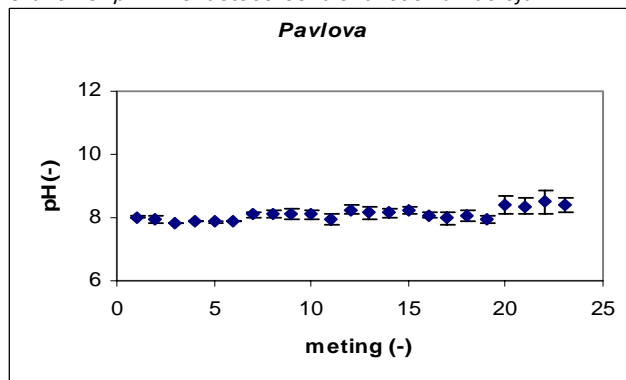
Elke grafiek is een gemiddelde van de 3 replica's per behandeling met standaarddeviatie.



Grafiek 2. pH in "Kweekwater" als functie van de tijd



Grafiek 3. pH in "Chaetoceros" als functie van de tijd



Grafiek 4. pH in "Pavlova" als functie van de tijd

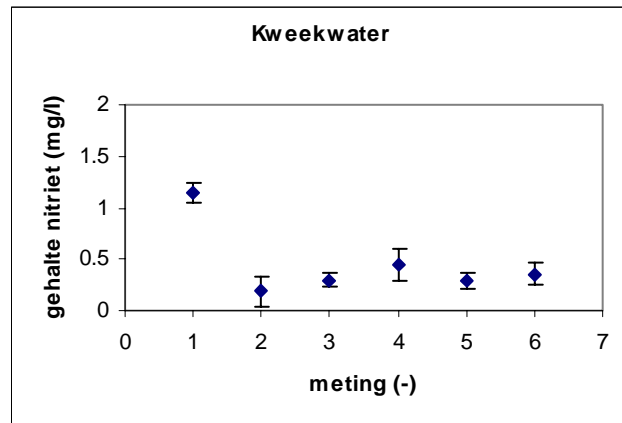
* verklaring x-as (Bijlage 3)

Nitriet

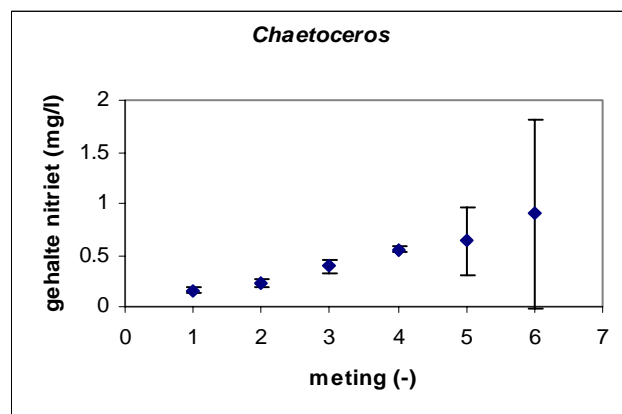
Tabel 2. P-waardes voor nitriet.

	P	significant
Kweekwater	0.000	V
<i>Chaetoceros</i>	0.282	Ø
<i>Pavlova</i>	0.119	Ø

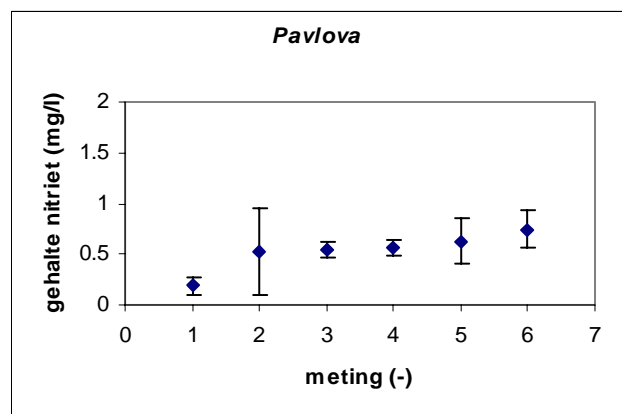
Elke grafiek is een gemiddelde van de 3 replica's per behandeling met standaarddeviatie.



Grafiek 5. Concentratie nitriet in "Kweekwater" als functie van de tijd



Grafiek 6. Concentratie nitriet in "Chaetoceros" als functie van de tijd



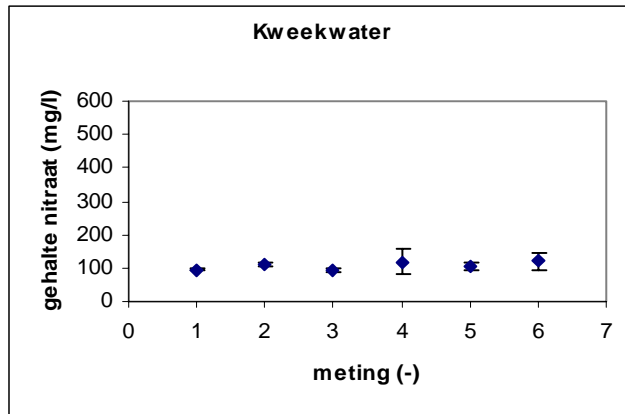
Grafiek 7. Concentratie nitriet in "Pavlova" als functie van de tijd

Nitraat

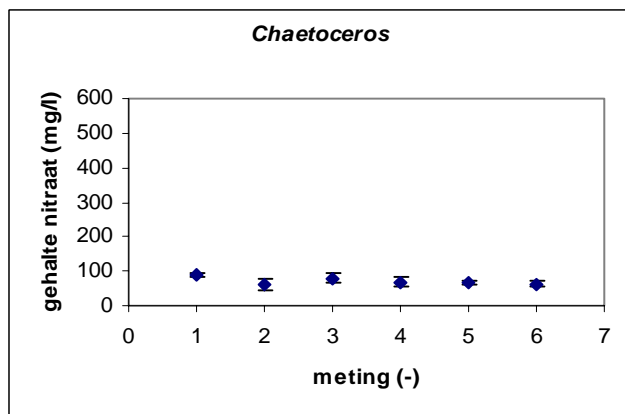
Tabel 3. P-waardes voor nitraat

	P	significant
Kweekwater	0.465	∅
<i>Chaetoceros</i>	0.085	∅
<i>Pavlova</i>	0.000	✓

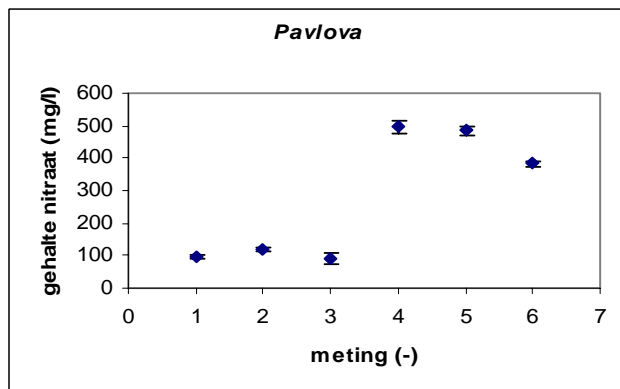
Elke grafiek is een gemiddelde van de 3 replica's per behandeling met standaarddeviatie.



Grafiek 8. Concentratie nitraat in "Kweekwater" als functie van de tijd



Grafiek 9. Concentratie nitraat in "Chaetoceros" als functie van de tijd



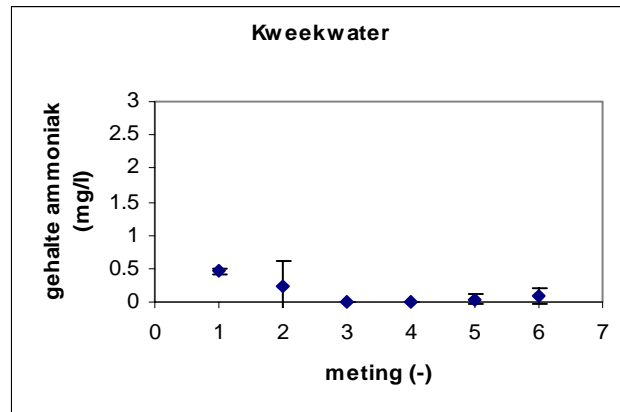
Grafiek 10. Concentratie nitraat in "Pavlova" als functie van de tijd

Ammoniak

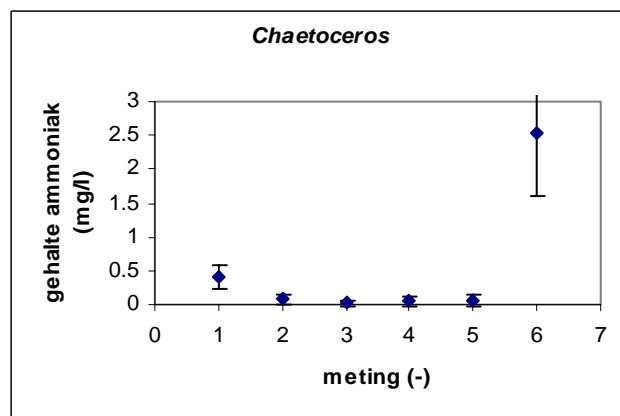
Tabel 4. P-waardes voor ammoniak

	P	significant
Kweekwater	0.039	V
<i>Chaetoceros</i>	0.000	V
<i>Pavlova</i>	0.004	V

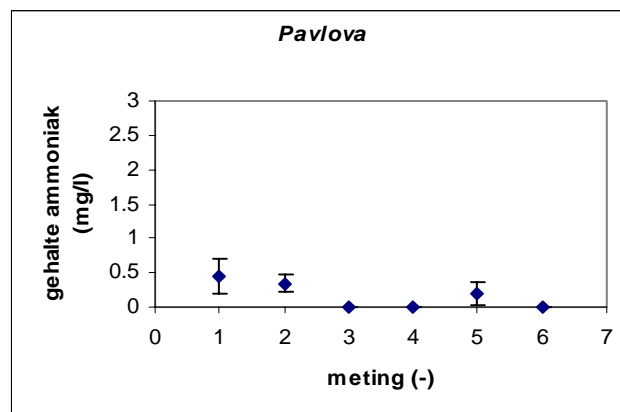
Elke grafiek is een gemiddelde van de 3 replica's per behandeling met standaarddeviatie.



Grafiek 11. Concentratie ammoniak in "Kweekwater" als functie van de tijd



Grafiek 12. Concentratie ammoniak in "Chaetoceros" als functie van de tijd



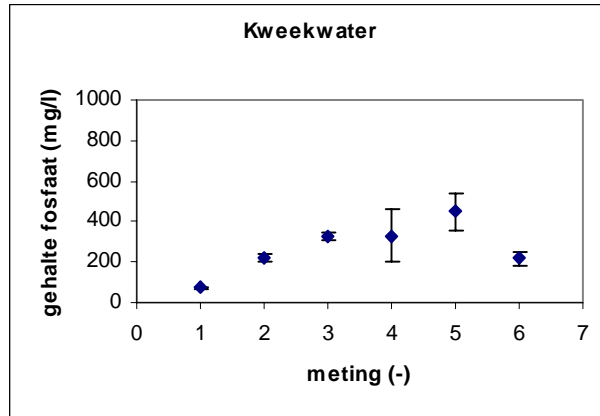
Grafiek 13. oncentratie ammoniak in "Pavlova" als functie van de tijd

Fosfaat

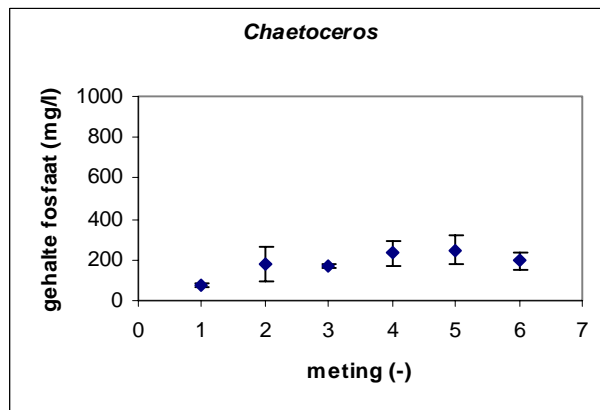
Tabel 5. P-waardes voor fosfaat

	P	significant
Kweekwater	0.000	✓
Chaetoceros	0.030	✓
Pavlova	0.000	✓

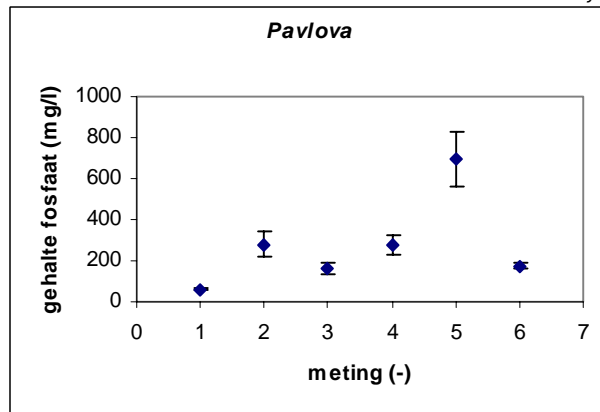
Elke grafiek is een gemiddelde van de 3 replica's per behandeling met standaarddeviatie.



Grafiek 14. Concentratie fosfaat in "Kweekwater" als functie van de tijd



Grafiek 15. Concentratie fosfaat in "Chaetoceros" als functie van de tijd



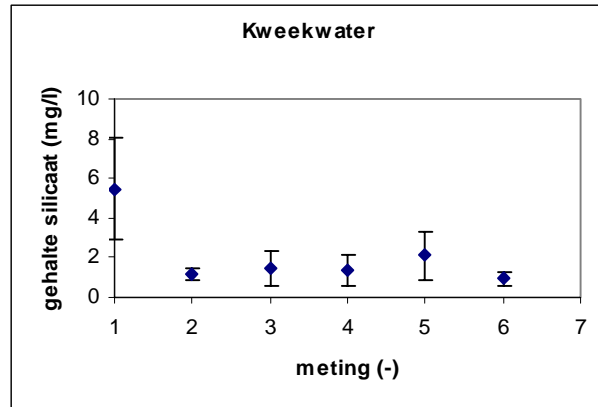
Grafiek 16. oncentratie fosfaat in "Pavlova" als functie van de tijd

Silicaat

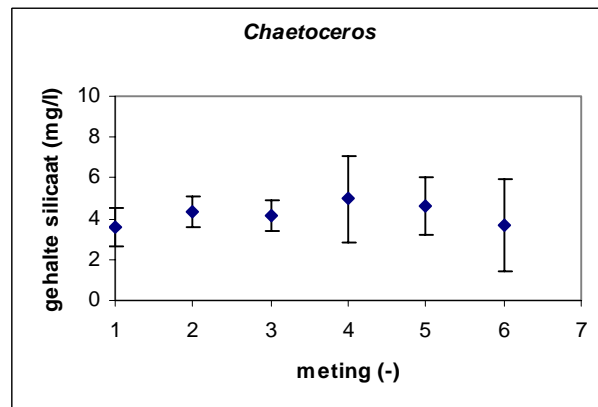
Tabel 6. P-waardes voor silicaat

	P	significant
Kweekwater	0.008	V
<i>Chaetoceros</i>	0.623	Ø
<i>Pavlova</i>	0.000	V

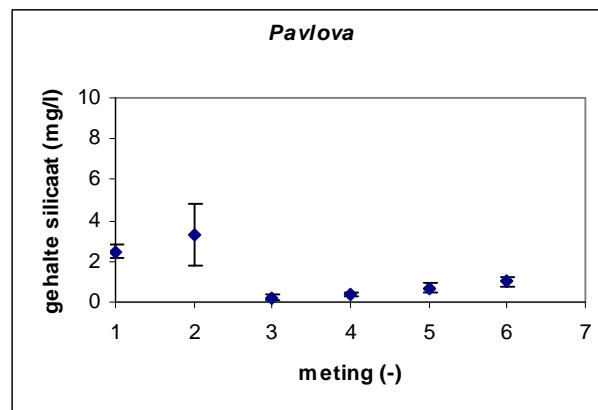
Elke grafiek is een gemiddelde van de 3 replica's per behandeling met standaarddeviatie.



Grafiek 17. Concentratie silicaat in "Kweekwater" als functie van de tijd



Grafiek 18. Concentratie silicaat in "Chaetoceros" als functie van de tijd



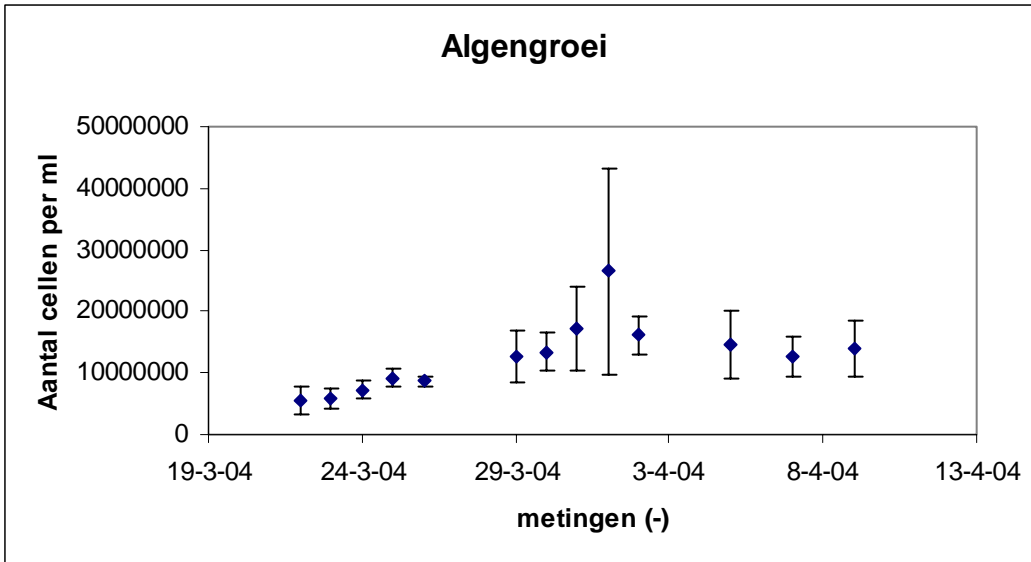
Grafiek 19. Concentratie silicaat in "Pavlova" als functie van de tijd

Algentellingen

Tabel 7. P-waardes voor algentellingen

	P	significant
<i>Chaetoceros tot maximale dichtheid</i>	0.008	V
<i>Chaetoceros na maximale dichtheid</i>	0.623	Ø

De grafiek is een gemiddelde van de 3 "Chaetoceros"-replica's met standaarddeviatie.



Grafiek 20. Algengroei in "Chaetoceros" als functie van de tijd

9. Discussie

In dit hoofdstuk worden de resultaten gekoppeld aan de deelvragen.

1. *Welke soorten algen ontwikkelen zich in het kweekwater uit het visbassin van de tarbotkwekerij van Kees Kloet exclusief ent⁽¹⁾ en nemen de toegevoegde algen / diatomeeën in dichtheid toe of af nadat zij zijn toegevoegd aan het alternatieve voedingsmedium?*
 - Uit de experimenten van M. C. Quist is reeds gebleken, dat er zich in het kweekwater een groot aantal onbekende algensoorten bevindt. Na verloop van tijd ontwikkelen deze zich goed en gaan zelfs overheersen. Met het inzetten van mijn experimenten wilde men bij het CSO de soortensamenstelling van het kweekwater van de tarbot-kwekerij uit de doeken doen en wilde men vaststellen of de onbekende soorten geschikte afmetingen hebben om te dienen als voedsel voor schelpdierlarven. Een verklaring voor het feit, dat er zich in het kweekwater exclusief ent pas zeer laat een groene cultuur ontwikkelde, is mogelijk gelegen in het feit dat 2 dagen voordat er kweekwater werd afgenomen van de tarbotkwekerij een routinematige behandeling van het water in het visbassin had plaatsgevonden. Medewerkers behandelen het kweekwater eens in de zoveel tijd met waterstofperoxide (H₂O₂) om de aanwezige algen te vernietigen, zodat deze bezinken en afgevoerd worden. Het kweekwater dat voor mijn experimenten werd gebruikt, bevatte dus een (zeer) lage concentratie van de algen die zich in het kweekwater ophouden.
 - De soort *Chaetoceros gracilis* heeft het uitstekend gedaan in het (verrijkte) kweekwater en hiermee dient dan ook zeker verder geëxperimenteerd te worden.
 - *Pavlova lutheri* heeft de hoge verwachtingen nooit waar kunnen maken. In de experimenten van M. C. Quist werden goede resultaten geboekt met deze soort. Grote aantallen cellen bevolkten het kweekwater. Dit was ook de reden dat voor deze soort werd gekozen om verder mee te experimenteren. Maar in mijn experiment sloeg de cultuur nooit aan en ook de monoculturen van collega Ad van Gool vertoonden weinig groei. De meest voor de hand liggende verklaring is gelegen in de temperatuur. M. C. Quist zette haar experiment in tijdens de warme maanden augustus en september. Mijn experiment vond plaats in het voorjaar (maart/april) en de omgevingstemperatuur was enkele graden lager dan het geval was bij M. C. Quist en dit heeft duidelijk een negatief effect gehad op de bloei van *Pavlova lutheri*. De mengvaten bevonden zich gedurende het experiment in een ongeconditioneerde ruimte. De temperatuur in de ruimte werd beïnvloed door de buitentemperatuur (voor en na werktijd) en gedurende werktijd werd de temperatuur beïnvloed door de centrale verwarming die de ruimte verwarmde tot op kamertemperatuur.
2. *Hebben de onbekende algensoorten, die zich mogelijk ontwikkelen in het kweekwater uit het visbassin van de tarbotkwekerij van Kees Kloet, afmetingen die overeen komen met de afmetingen van algensoorten die momenteel dienen als voedingsbron voor schelpdierlarven?*
 - Zoals reeds beschreven, blijkt dat de cellen van de groene cultuur in "Kweekwater" kleiner zijn dan 4.7 µm. Deze afmetingen komen overeen met die van de algensoorten die momenteel dienen als voedingsbron voor de schelpdierlarven en de kleinere cellen van de onbekende soort zijn zelfs kleiner dan de huidige voedingsbron. De groene cultuur zou wellicht een ongekend goed voer zijn voor schelpdierlarven gezien de afmetingen.

3. Welk(e) verband(en) tussen de soorten, die worden bedoeld in onderzoeksvraag 1, en de nutriëntensamenstelling wordt/worden zichtbaar nadat men de verschillende mengvaten (met inhoud) gemonitord heeft voor een bepaalde periode tot het moment van instorten van de algenkweek?
- Wanneer men de nutriëntensamenstelling nader onder de loep neemt, valt direct op dat er bijna geen verband is tussen de nutriëntenconcentraties per behandeling. Van de algen die centraal staan in dit experiment is bekend dat zij voor hun groei afhankelijk zijn van nitraten en fosfaten. Men zou dus verwachten dat beide nutriënten een afname zouden vertonen in de tijd. Nitraat vertoont alleen voor *Pavlova* een significante afname en fosfaat toont zelfs een significante toename in de tijd voor alle drie de behandelingen. Dit duidt erop, dat er zich in de mengvaten allerlei processen afspelen die tot op heden onbekend zijn. Men moet zich realiseren dat het kweekwater uit het visbassin van Zeeland Vis verre van steriel was. Het kweekwater bevatte mogelijk eiwitten afkomstig van vissen die mogelijk afbraken gedurende het experiment. Als gevolg van het filtreren met behulp van een 5 µm filter zijn er mogelijk eitjes van *copepoden* in de verschillende mengvaten terecht gekomen en in sommige gevallen tot ontwikkeling gekomen. Het "ontstaan" van de copepoden duidt erop, dat een mengvat gevuld met kweekwater als het ware als een mini-ecosysteem functioneert waarin zich allerlei processen afspelen die tot op heden onbekend zijn.
 - De toename van de pH in het begin van het experiment in "*Chaetoceros*" is te verklaren aan de hand van de overmaat silicaat die werd toegevoegd. SiO_3^{2-} is de geconjugeerde base van kiezelzuur en is een relatief sterke base ($\text{pK}_b = 4.1$) en was verantwoordelijk voor de sterke pH-stijging. Echter na verloop van tijd nam de pH weer de waarde aan die binnen de optimale range van 7.5 – 8.5 ligt (*Hoff en Snell, 2001*). De pH viel in alle mengvaten binnen de range en is dus gedurende het experiment niet limiterend geweest.

10. Aanbevelingen

"Het kweken van eencellige algen met behulp van water uit een visbassin van een tarbotkwekerij ten behoeve van schelpdierlarven" is als bron van inspiratie voor vervolgstudies nog verre van uitgeput.

In de toekomst dienen de volgende acties ondernomen te worden

- de resterende monsters "*Chaetoceros*" tellen en in kaart brengen
- de monsters "*Kweekwater*" en "*Pavlova*" tellen met als doel om alsnog het aantal cellen in de tijd in kaart te brengen, hetgeen gedurende mijn studie niet aan bod is gekomen wegens tijdgebrek.
- nieuw experiment inzetten met ent "*Kweekwater*" met als doel om de onbekende groene cultuur in kaart te brengen.
- meer onderzoek verrichten naar de processen die zich in het kweekwater afspelen, want met de huidige concentraties van bijvoorbeeld nitriet zullen de gekweekte algen in ieder geval nooit dienst kunnen doen als voer voor schelpdierlarven, omdat deze als het ware vergiftigd worden door de hoge concentraties.

11. Literatuurlijst

Hoff F. H., Snell T. W., "Plankton culture manual", 5^e dr., Florida, 2001. ISBN 0-9662960-0-1

Jérôme M., Hussenot J., "Emerging effluent management strategies in marine fish-culture farms located in European coastal wetlands", 2003 nr. 226, blz. 113-128.

Jones A., Dennison W., Preston N., "Integrated treatment of shrimp effluent by sedimentation, oyster filtration and macroalgal absorption: a laboratory scale study", 2001 nr. 193, blz. 155-178.

Kort, M. H. C. de, "Het kweken van eencellige algen met behulp van water uit een visbassin van een tarbotkwekerij", Yerseke, 2004.

Laing I., Chang R., "Hatchery cultivation of Pacific oyster juveniles using algae produced in outdoor bloom-tanks", *Aquaculture International*, 1998 nr. 6, blz. 303-315.

Laing I., Millican P., "Relative growth and growth efficiency of *Ostrea edulis* spat fed various algal diets", 1986 nr. 54, blz. 245-262.

Lefebvre S., Barillé L., Clerc M., "Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) feeding responses to a fish-farm effluent", *Aquaculture*, 2000 nr. 187, blz. 185-198.

Quist M. C., "Algenkweek met natuurlijk water en water uit het visbassin", Yerseke, 2003.

Ruppert E. E., Barnes B. D., *Invertebrate Zoology*, 6^e druk, 1991. ISBN 0-03-026668-8

Sokal R. R., Rohlf F. J., *Biometry, principles and practice of statistics in biological research*, 3^e dr., 1995. ISBN 0-7167-2411-1

Wang, J. K., "Conceptual design of a microalgae-based recirculating oyster and shrimp system", *Aquacultural Engineering*, 2003 nr. 28, blz. 37-46.

Zar J. H., *Biostatistical analysis*, 3^e druk, 1996. ISBN 0-13-086398-X

Bijlage 1: *Copepoda*

Klasse der *Copepoda* (*Ruppert en Barnes, 1991*)

De *Copepoda* (Roeipootkreeftjes) vertegenwoordigen de grootste klasse onder de kleine schaaldieren. Meer dan 8500 soorten zijn reeds beschreven. Het overgrote deel van de copepoden is zoutminnend, maar er zijn ook zoetwaterminnende soorten.

Dan zijn er nog de vele parasitische soorten

Copepoden vertonen een grote variëteit aan eetgewoonten, die voor een groot deel afhankelijk zijn van waar ze voorkomen. Planktonische copepoden zijn hoofdzakelijk suspensie-voeders en tevens zijn ze uitgerust met vangarmen om voedsel te verzamelen.

Het hoofdbestanddeel van het dieet van de meeste van de zich met suspensie voedende soorten is phytoplankton, maar sommige zijn eveneens sterk afhankelijk van detritus.

Onder natuurlijke omstandigheden voeden copepoden zich met het voedsel dat in de grootste hoeveelheden voorkomt. Niet alle planktonische copepoden zijn herbivoren, sommige zijn omnivoren en weer andere zijn predatoren.

Carnivorische soorten bewegen zich continu voort op zoek naar potentiële prooien.

Herbivorische soorten daarentegen wisselen voortbewegen af met het opnemen van voedsel.

Na een periode van fourageren, beweegt de copepod zich voort of laat zich afzinken naar een nieuwe positie voor de volgende voedselopname. Alhoewel de meeste planktonische copepoden in de bovenste 50 meter van de zee leven, komen vele soorten voor op grotere dieptes, zelfs in de diepzee.

Mannelijke copepoden zijn over het algemeen kleiner dan de vrouwelijke individuen en zijn meestal in de numerieke minderheid. Copepoden behoren tot de weinige kleine schaaldieren die zaadpakketjes vormen.

Bijlage 2: Begrippenlijst

1. ent: de overdracht van algencellen van een monocultuur naar een mengvat met kweekwater uit het visbassin van de tarbotkwekerij.
2. batch cultuur: anders dan in een continu cultuur vindt er bij een batch cultuur geen constante in- en uitstroom plaats, waardoor de nutriëntenvoorraad op den duur limiterend wordt bij een batch cultuur.

Bijlage 3: Overzicht ter verklaring van de verschillende x-assen

Tabel 8. Overzicht ter verklaring van de verschillende x-assen

t	Datum	pH	Algen	Nitriet	Nitraat	Ammoniak	Fosfaat	Silicaat
t = 0	18-3-2004				1	1		
t = 1	19-3-2004	1		1			1	1
t = 2	20-3-2004							
t = 3	21-3-2004							
t = 4	22-3-2004	2	1					
t = 5	23-3-2004	3	2					
t = 6	24-3-2004	4	3					
t = 7	25-3-2004	5	4		2	2		
t = 8	26-3-2004	6	5	2			2	2
t = 9	27-3-2004							
t = 10	28-3-2004							
t = 11	29-3-2004	7	6					
t = 12	30-3-2004	8	7					
t = 13	31-3-2004	9	8					
t = 14	1-4-2004	10	9		3	3		
t = 15	2-4-2004	11	10	3			3	3
t = 16	3-4-2004							
t = 17	4-4-2004							
t = 18	5-4-2004	12	11					
t = 19	6-4-2004	13						
t = 20	7-4-2004	14	12					
t = 21	8-4-2004	15			4	4		
t = 22	9-4-2004	16	13	4			4	4
t = 23	10-4-2004							
t = 24	11-4-2004							
t = 25	12-4-2004							
t = 26	13-4-2004	17						
t = 27	14-4-2004	18			5	5		
t = 28	15-4-2004	19		5			5	5
t = 29	16-4-2004							
t = 30	17-4-2004							
t = 31	18-4-2004							
t = 32	19-4-2004	20						
t = 33	20-4-2004	21						
t = 34	21-4-2004	22			6	6		
t = 35	22-4-2004	23		6			6	6

Het experiment heeft in totaal 35 dagen in gestaan ($t = 0$ t/m $t = 35$).

($t = 0$) kwam overeen met 18 maart 2004

($t = 35$) kwam overeen met 22 april 2004

De parameter pH	werd	23 x	bepaald.
De parameter nitriet	werd	6 x	bepaald.
De parameter nitraat	werd	6 x	bepaald.
De parameter ammoniak	werd	6 x	bepaald.
De parameter fosfaat	werd	6 x	bepaald.
De parameter silicaat	werd	6 x	bepaald.
Het aantal algencellen	werd	13 x	bepaald.

Voorbeeld: De 9^e pH-meting vond plaats na 13 dagen op 31 maart 2004.