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 Den Helder
Postbus 57
1780 AB Den Helder
Tel.: 022 363 88 00
Fax: 022 363 06 87

Vestiging Texel
Postbus 167
1790 AD Den Burg Texel
Tel.: 0222 369700
Fax: 0222 319235

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

Intern rapport
Nummer: 07.009

Optimaal en efficiënt voeren van mosselbroed in een nursery

Auteur: Tony van der Hiele

Projectnummer: 4394100701
Datum: 4 juni 2007

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 rapport is geschreven als resultaat van mijn afstudeerstage voor de opleiding Aquatische Ecotechnologie aan de Hogeschool Zeeland. In de loop van deze vierjarige opleiding is mijn interesse in aquacultuur en schelpdieren erg gegroeid en vandaar ook dat ik graag wilde afstuderen bij de afdeling Aquacultuur van Wageningen IMARES.

In de mosselsector wordt gezocht naar oplossingen en vernieuwingen. Nederlands grootste mosselkweker verwoordt dit op de volgende manier: “De rijksoverheid wil dat de mosselsector vernieuwt, verduurzaamt én voert tegelijkertijd een beleid waardoor het moeilijker wordt natuurlijk mosselzaad op te vissen”. Een oplossing voor dit probleem zou het produceren van mosselzaad in een hatchery/nursery aan land kunnen zijn: een oplossing en een vernieuwing. Veel onderzoek is hiervoor noodzakelijk en ik heb daar tijdens deze afstudeerstage een heel klein deel aan bij mogen dragen.

Gedurende een periode van vijf maanden heb ik bij de IMARES vestiging in Yerseke onderzoek gedaan naar het voeren van mosselbroed. Met behulp van verschillende experimenten en achtergrondstudie in de literatuur heb ik geprobeerd om een beeld te krijgen hoe er optimaal en efficiënt gevoerd kan worden in een nursery. De opdracht is uitgevoerd van 5 februari tot 4 juni 2007.

Veel mensen hebben een bijdrage geleverd bij het opzetten van de experimenten en het tot stand komen van dit rapport. In het bijzonder wil ik Pauline Kamermans bedanken voor de goede sturing, begeleiding en feedback gedurende deze vijf maanden. Aan Johan Jol en Emiel Brummelhuis ben ik dank verschuldigd voor het praktisch meedenken en hun hulp bij het opzetten van de experimenten. Van Ainhoa Blanco heb ik nuttige tips gekregen en dankzij haar kon ik snel mijn weg vinden in de nursery van IMARES en zo mijn onderzoek tot een goed einde brengen.

Tony van der Hiele

Yerseke, 4 juni 2007

Samenvatting

De blauwe mossel (*Mytilus edulis*) is in Nederland een van de schelpdieren die op grote schaal geproduceerd wordt. Mosselproducenten zijn voor hun productie afhankelijk van natuurlijke zaadval. Regelgeving legt echter het opvissen van mosselzaad sterk aan banden. Nieuwe technieken zijn daarom nodig om in de toekomst aan de vraag van mosselzaad te kunnen blijven voldoen.
Een nieuwe techniek is de productie van mosselzaad in een hatchery (broedhuis) en nursery (kinderkamer). In het kader van het BLUE SEED project (www.blueseedproject.com) wordt onderzoek gedaan om hatchery en nurserytechnieken zoveel mogelijk te optimaliseren. Deze kennis kan in de toekomst worden gebruikt door de mosselsector.

In de nursery wordt het mosselbroed dat geproduceerd is in de hatchery opgekweekt tot ze voldoende groot zijn om uitgehangen of uitgezaaid te worden. Het doel van de nursery is om het broed (0.25-10mm schelplengte)dat zo snel mogelijk op te laten groeien tot zaad (10-25mm schelplengte) van goede kwaliteit. De hoeveelheid voedsel (algen) is de belangrijkste factor voor snelle groei.
Met behulp van verschillende experimenten is geprobeerd om de optimale hoeveelheid en celconcentratie van algen voor mosselbroed in een nursery vast te stellen. Hierbij is gebruik gemaakt van drie gangbare algensoorten voor de nursery: *Phaeodactylum tricornutum, Skeletonema costatum* en *Chaetoceros muelleri.*

Een teveel aan algencellen overbelast het spijsverteringssysteem en het teveel wordt dan als pseudofaeces naar buiten gebracht. Hierbij worden de algen wel uit het water gefilterd door de kieuwen maar niet naar het spijsverteringssysteem getransporteerd. Het voeren van algen in te grote dichtheden (waarbij pseudofaecesproductie plaatsvindt) veroorzaakt remming van de groei.

Als eerste experiment is de pseudofeacesdrempel in cellen.ml^{-1} onderzocht. Iedere algensoort blijkt een andere pseudofaecesdrempel te hebben. Daarnaast bestaat er een significant positief lineair verband tussen schelplengte en pseudofaecesdrempel.
Het daarop aansluitende experiment had betrekking op de opname en de filtreersnelheid van mosselbroed. Uit dit experiment bleek dat broed van 6-7mm schelplengte een grotere filtratiesnelheid heeft (0.88 l.h^{-1}.g natgewicht) dan broed van 10-11mm (0.69 l.h^{-1}.gram natgewicht). Voeren met de maximum celconcentratie die geen pseudofaecesproductie tot gevolg heeft (pseudofaecesdrempel) geeft de grootste opname. Celconcentraties onder de pseudofaecesdrempel (80 en 90% van de pfdrempel) geven een significant mindere opname, zowel bij broed van 6-7mm schelplengte als broed van 10-11mm schelplengte. Broed van grootteklasse 6-7mm nam de alg *Phaeodactylum tricornutum* het beste op, broed van 10-11mm schelplengte nam *Chaetoceros muelleri* het beste op.
Het derde en laatste experiment onderzocht aan de hand van de resultaten van de voorgaande experimenten de groei van mosselbroed op de algensoorten *S. costatum* en *C. muelleri.* Broed van de grootteklasse 6-7mm lengte groeide significant beter op een dieet van *Chaetoceros muelleri*. Daarbij groeide het broed gevoerd onder de pseudofaecesdrempel sneller dan broed gevoerd boven de pseudofaecesdrempel. De maximum gevonden groei was 2.7mm na 17 dagen.

De beste manier om mosselbroed in een nursery te voeren is door de algen toe te dienen in concentraties die gelijk zijn aan de pseudofaecesdrempel. Voeren in concentraties boven de pseudofaecesdrempel is verspilling van kostbaar gekweekte algen en draagt niet bij tot een snellere groei. Dit rapport laat zien dat *Chaetoceros spp*. een betere groei geeft dan *Skeletonema costatum*. Experimenten met andere algensoorten en combinaties van algensoorten moeten uitwijzen welke soort of mix de beste groei geeft.

Abstract

The blue mussel (*Mytilus edulis*) is a bivalve which is cultivated in large quantities in the Netherlands. Dredging wild seed beds is the traditional source of mussel seed, but the last few years authorities reduced the quota for collecting seed. To secure a reliable seed supply in the future, new techniques are needed.
A new technique is the production of mussel seed in hatcheries and nurseries. An EU project called BLUE SEED (www.blueseedproject.com) is doing research to develop and optimize these hatchery/nursery techniques for mussels. This knowledge can be used for the mussel farmers in the future.

Recently settled larvae from the hatchery, called spat, are reared in the nursery until they reach a size large enough for grow-out on ropes or bottom culture. The main goal of the nursery is for spat (0.25-10mm shell length) to grow as fast as possible to high quality seed (10-25mm shell length). The amount of food (algae) given is the most important factor for fast growth.
To determine the optimum amount and cell concentration to feed mussel spat in a nursery, three experiments have been done with different algae species. The algae species used are: *Phaeodactylum tricornutum, Skeletonema costatum* and *Chaetoceros muelleri.*

A large concentration of algae cells overloads the digestion system and the remainder is rejected as pseudofaeces (the algae are filtered on the gills but instead of going for digestion, they are rejected through the inhalent siphon). When feeding above the thresholdlevel for pseudofaeces production, the growth rate decreases.

The first experiment was to determine the threshold for pseudofaeces production for different size classes of mussel spat and the different algae species. It turns out that every algae species has a different threshold, the threshold found for *Phaeodactylum tricornutum* is much higher than found in literature. The threshold is also dependent on the size of spat. A significant linear regression has been found between shell length and the maximum concentration at which no pseudofaeces was produced.
A filtration experiment has been done to determine which of the algae species had the best uptake by spat and to determine the clearance rate of mussel spat. The experiment showed that spat of the size class 6-7mm had a relatively larger clearance rate (0.88 $l.h^{-1}$.g wet weight) than mussel spat of the size class 10-11mm (0.69 $l.h^{-1}$.g wet weight). Feeding with a cell concentration equal to the pseudofaeces threshold achieved the best uptake in both size classes (6-7 and 10-11mm). Spat from the size class 6-7mm had the best uptake when fed on *Phaeodactylum tricornutum* and spat from the size class 10-11mm had the best uptake when fed on *Chaetoceros muelleri*.
The third and last experiment was to determine growth of mussel spat (6-7mm) with the algae species *S. costatum* and *C. muelleri/calcitrans,* both tested in concentrations at the pseudo-faeces threshold and above. Spat fed on *Chaetoceros muelleri/calcitrans* had a significant better growth. There was also a significant better growth of spat fed below the threshold of pseudofaeces production with *Chaetoceros m/c.* The maximum found growth was 2.7mm after 17 days.

The best way for nurseries to feed mussel spat is to feed the algae in a concentration equal to the pseudofaeces threshold. Feeding above the threshold is a waste of valuable algae and does not contribute to a faster growth rate. This report shows also that *Chaetoceros spp*. achieves a faster growth than *Skeletonema costatum*. Experiments with other algae species and combination of species must show which species or mix achieves the fastest growth.

Inhoudsopgave

Voorwoord....2

Samenvatting....3

Abstract....4

Inhoudsopgave....5

1. Inleiding....7

1.1 Aquacultuur....7

1.2 Voeding en groei van mosselbroed....7

1.3 Doelstelling & experimenten....8

1.4 Opbouw rapport....8

2. Literatuurverkenning....9

2.1 Inleiding....9

2.2 Werkwijze....9

2.3 Mosselteelt in Nederland....9
2.3.1 Hatchery....9
2.3.2 Nursery....10

2.4 Voeding in een nursery....10
2.4.1 Algensoorten....10
2.4.2 Algenkweek....11
2.4.3 Kunstmatig voer....11

2.5 Filtratie....12
2.5.1 Factoren die filtratie beïnvloeden....12
2.5.2 Regulatie van filtratie....13
2.5.3 Filtratiesnelheid....13

2.6 Kieuwen en spijsvertering....14
2.6.1 Werking van de kieuwen....14
2.6.2 Mondlappen....14
2.6.3 Spijsvertering....14
2.6.4 Pseudofaeces....15

2.7 Groei van mosselbroed....16
2.7.1 Factoren die groei beïnvloeden....16
2.7.2 Groei onder natuurlijke omstandigheden....17

3. Pseudofaecesdrempel bij mosselbroed....18

3.1 Inleiding....18

3.2 Methode 18

3.3 Resultaten 19
3.3.1 Pseudofaecesdrempel 19
3.3.2 Diatomeeën 20

3.4 Discussie & conclusie 21
3.4.1 Discussie 21
3.4.2 Conclusie 22

4. Optimale opname van algen door mosselbroed 23

4.1 Inleiding 23

4.2 Methode 23

4.3 Resultaten 25
4.3.1 Opname 25
4.3.2 Filtratiesnelheid 26

4.4 Discussie & conclusie 27
4.4.1 Discussie 27
4.4.2 Conclusie 27

5. Groei van mosselbroed op diatomeeën 28

5.1 Inleiding 28

5.2 Methode 28

5.3 Resultaten 30

5.4 Discussie & conclusie 32
5.4.1 Discussie 32
5.4.2 Conclusie 33

6. Algemene conclusie 34

7. Aanbevelingen 35

8. Verklarende woordenlijst 36

Bijlage 1. Drooggewicht bepaling van algen 40

Bijlage 2. Drooggewicht bepaling van mosselbroed 40

Bijlage 3. Tellen van algen m.b.v. hematocytometer 41

Bijlage 4. Controle doorstroomsysteem 42

Bijlage 5. Toelichting op het recirculatiesysteem 43

Bijlage 6. Statistische analyse 44
B6.1 Experiment pseudofaecesdrempel 44
B6.2 Experiment opname 45
B6.3 Experiment groei 48

1. Inleiding

1.1 Aquacultuur

Wereldwijd is er een stijgende vraag naar zeevoedsel: schelpdieren nemen naast vis en schaaldieren een belangrijke plaats in (FAO, 2007). Om aan deze vraag te voldoen in de toekomst, is het van belang dat de productie wordt verhoogd. Er wordt door de verschillende overheden naar gestreefd dat de aquacultuur hier een groot aandeel in kan bijdragen. Aquacultuur wordt gedefinieerd als het proces waarbij vis, schelp- en schaaldieren kunstmatig en gecontroleerd opgekweekt worden.
In vergelijking met de veehouderij en landbouw loopt de Nederlandse aquacultuur qua ontwikkeling ver achter. Veehouderij en landbouw zijn immers al eeuwen bezig met productverbeteringen en productieverhoging. De stap van visserij naar aquacultuur is echter pas in de jaren '50 van de vorige eeuw gemaakt is. De aquacultuur is nu aan een inhaalslag bezig om zijn producten en technieken te verbeteren. Hierbij wordt er naar gestreefd om duurzaam te werken en niet de fouten te maken zoals gemaakt worden in de bio-industrie. Verschillende (onderzoeks) instellingen werken hieraan. De afdeling Aquacultuur bij IMARES Yerseke draagt hieraan bij en richt zich momenteel vooral op de mosselteelt.

Mosselteelt

De blauwe mossel (*Mytilus edulis*) is in Nederland een van de schelpdieren die op grote schaal geproduceerd wordt. Deze tak van aquacultuur concentreert zich voornamelijk in de Waddenzee en in de Oosterschelde, jaarlijks wordt er in Nederland gemiddeld 70.000 ton mosselen geoogst (Productschap Vis, 2006).
Mosselproducenten zijn voor hun productie afhankelijk van natuurlijke zaadval. Mosselzaad wordt in het voor- en najaar opgevist in de Waddenzee en vervolgens uitgezaaid op kweekpercelen. Hier groeien ze uit tot consumptierijpe mosselen. Regelgeving legt echter het opvissen van mosselzaad sterk aan banden, omdat dit de natuur te veel beschadigd. Nieuwe technieken zijn daarom nodig om in de toekomst aan de vraag van mosselzaad te kunnen blijven voldoen.
Een nieuwe techniek is de productie van mosselzaad in een hatchery/nursery. Hierbij worden in de hatchery (broedhuis) mosselen op een kunstmatige manier aangezet tot paaien en worden eicellen en zaadcellen gecontroleerd samengebracht. De ontstane mossellarven worden opgekweekt tot broed. In de daaropvolgende nurseryfase (kinderkamer) wordt het broed verder opgekweekt tot zaad dat geschikt is voor kweek in hangculturen of op bodempercelen. Deze productie van zaad is momenteel nog in de experimentele fase en wordt daarom vrijwel niet op commerciële schaal toegepast. Toch zou dit een van de oplossingen kunnen zijn die in de toekomst de mosselsector voor een deel van zaad kan voorzien. Een groot voordeel van de hatchery/nursery is dat zaad het gehele jaar door geproduceerd kan worden en door gecontroleerde productie kan de kwaliteit van het product worden verbeterd (Kamermans, 2006).
In dit kader is in november 2005 het BLUE SEED project gestart. BLUE SEED is een internationaal project wat er op gericht is om de technieken van hatchery en nursery te optimaliseren op praktijkschaal. Hieraan doen zowel onderzoeksinstellingen als mosselproducenten aan mee. De doelstelling is het verwerven van kennis die uiteindelijk in de toekomst gebruikt kan worden door de mosselsector (www.blueseedproject.com).

1.2 Voeding en groei van mosselbroed

Een van de onderwerpen voor het optimaliseren van hatchery en nursery is het verbeteren van het voeren van mosselbroed om een zo groot mogelijke groeisnelheid te bereiken. Mosselbroed zijn juveniele mosselen van gemiddeld 0.25 tot 10mm groot en groeien op in de nursery. Vanaf een schelplengte van 10mm wordt er gesproken van mosselzaad.
Het mosselbroed in de nursery voedt zich net als een volwassen mossel, door water op te nemen in de schelp en daaruit de algencellen te filteren m.b.v. de kieuwen. Geschikt materiaal

wordt verteerd in het spijsverteringssysteem en resten worden als faeces uitgescheiden. Bij de opname van algencellen door het mosselbroed is de dichtheid waarmee algen zich in het water bevinden van belang. Een teveel aan algencellen overbelast het spijsverteringssysteem en het teveel wordt dan als pseudofaeces naar buiten gebracht. Hierbij worden de algen wel uit het water gefilterd door de kieuwen maar niet naar het spijsverteringssysteem getransporteerd. Onderzoek heeft vastgesteld dat voeren in te grote dichtheden waarbij pseudofaecesproductie plaatsvindt remming van de groei veroorzaakt (Frechette & Grant, 1991).

1.3 Doelstelling & experimenten

Tijdens deze afstudeerstage is er met behulp van verschillende experimenten geprobeerd om optimale en efficiënte voeding voor mosselbroed in een nursery vast te stellen. Hierbij is gebruik gemaakt van drie gangbare algensoorten voor de nursery: *Phaeodactylum tricornutum, Skeletonema costatum* en *Chaetoceros muelleri.*

Het eerste experiment dat hiervoor uitgevoerd is, is het onderzoeken van de pseudofaecesdrempel. De pseudofaecesdrempel is de maximum concentratie aan algen in het water waarbij het mosselbroed geen pseudofaeces produceert. De bijbehorende onderzoeksvragen:
- Wat is de pseudofaecesdrempel voor de algen *P. tricornutum, C. muelleri* en *S. costatum?*
- Is de pseudofaecesdrempel voor de verschillende grootteklassen broed gelijk?

Het daarop aansluitende experiment betreft de opname en de filtratiesnelheid van mosselbroed. De pseudofaecesdrempel geeft weliswaar de maximale celconcentratie waarop mosselbroed kan filtreren zonder extra energie te verliezen, maar dat wil nog niet zeggen dat de opname door het broed daarbij optimaal is. Daarnaast is de filtratiesnelheid van mosselbroed bepaald, een belangrijk gegeven om optimaal te kunnen voeren in een nursery. Onderzoeksvragen:
- Wat is de opname van klein (6-7mm) en groot (10-11mm) mosselbroed op de algensoorten *P. tricornutum, S. costatum* en *C. muelleri* bij celconcentraties van 80, 90 en 100% van de pseudofaecesdrempel ?
- Wat is de daaruit af te leiden filtratiesnelheid voor klein en groot mosselbroed?
- Welke algensoort wordt het best uit het water gefiltreerd door het mosselbroed?

Het derde en laatste experiment onderzocht aan de hand van de resultaten van de voorgaande experimenten de groei van mosselbroed op de twee algensoorten met de grootste voedingswaarde: *S. costatum* en *C. muelleri* (Helm et al. 2004). Hierbij is tevens getest of voeren boven de pseudofaecesdrempel inderdaad ten koste gaat van de groeisnelheid. De bijbehorende onderzoeksvragen:
- Groeit mosselbroed beter op een dieet van *S. costatum* of op een dieet van *C. muelleri*?
- Gaat het voeren boven de pseudofaecesdrempel ten koste van de groeisnelheid van mosselbroed?

De resultaten en conclusies van deze experimenten kunnen bijdragen aan het efficiënter voeren van mosselbroed in een nursery.

1.4 Opbouw rapport

Het rapport begint met een literatuuroverzicht in hoofdstuk twee waarin de nodige achtergrond informatie over mosselen en mosselkweek wordt gegeven. De onderwerpen zijn de hatchery/ nurserycyclus, filtratie met werking van spijsverteringssysteem, pseudofaecesproductie en groei van mosselbroed. De hoofdstukken 3, 4 en 5 beschrijven de drie experimenten in het kader van het vinden van de optimale voeding met elk een korte inleiding, methode, resultaten, discussie en conclusie. Het zesde hoofdstuk geeft een overzicht van de belangrijkste conclusies en geeft antwoorden op de gestelde onderzoeksvragen in de inleiding. Hoofdstuk 7 beschrijft de aanbevelingen voor vervolgonderzoek. Het rapport eindigt met een verklarende woordenlijst in hoofdstuk 8, een overzicht van de gebruikte referenties in hoofdstuk 9 en een zestal bijlagen.

2. Literatuurverkenning

2.1 Inleiding

Vanaf het moment dat hatchery's en nursery's duidelijk wat bij konden dragen aan de aquacultuursector, dat is sinds de jaren '70, is er onderzoek gedaan naar verbetering van technieken en zijn er wetenschappelijke artikelen en rapporten over geschreven.
Dit hoofdstuk geeft een uiteenzetting van de onderwerpen in de literatuur die relevant zijn om de achtergronden van de experimenten die beschreven staan in de volgende hoofdstukken te begrijpen. De mosselteelt met behulp van hatchery en nursery komen aan bod, maar ook voeding, filtratie, werking van de kieuwen en groei van mosselbroed. Hoofdstuk 8 in dit rapport bevat een verklarende woordenlijst.

2.2 Werkwijze

Voor het vergaren van informatie is gebruik gemaakt van rapporten, boeken en artikelen binnen IMARES en van de Webbibliotheek van de Universiteit van Wageningen (Web of Science).
Daarnaast is internet met de zoekmachine Google en de wetenschappelijke websites www.springerlink.nl en www.scirus.com een belangrijk hulpmiddel geweest voor het zoeken van informatie en afbeeldingen.

2.3 Mosselteelt in Nederland

Nederlandse mosselen worden voornamelijk in de Oosterschelde en de Waddenzee gekweekt. Hier wordt mosselzaad (dit zijn juveniele mosselen van 1,0 tot 2,5 cm schelplengte) uitgezaaid op percelen die gepacht worden door de mosselkwekers. Omdat de Nederlandse mosselkwekers door o.a. regelgeving beperkt zijn in hun vangst van mosselzaad, wordt een deel op een andere manier vergaard. Momenteel wordt dit geïmporteerd uit het buitenland (Ierse Zee). Nieuwe technieken voor productie van mosselzaad zoals mosselzaadvanginstallaties (zgn. MZI's) en de hatchery/nursery techniek staan in de kinderschoenen. De hatchery en nursery is op dit moment nog in de experimentele fase, maar kan al wel gebruikt worden voor productverbetering. Een voorbeeld hiervan is de productie van de triploïde mossel, een mossel die als embryo een schokbehandeling heeft ondergaan en daardoor niet vruchtbaar is. Op deze manier raakt de mossel geen energie kwijt aan voortplanting, groeit daardoor sneller en is het hele jaar door voor consumptie geschikt (Brake et al. 2004).

2.3.1 Hatchery

In de hatchery, ook wel het broedhuis genoemd, worden adulte mosselen geconditioneerd (paairijp gemaakt) en met temperatuurschokken tot paaien gebracht. De eitjes en zaadcellen van de mosselen worden apart verzameld en later weer gecontroleerd bij elkaar gebracht. In het broedhuis worden de bevruchte embryo's opgekweekt tot larven. De larven hebben een velum, een orgaan voorzien van trilhaartjes, waarmee ze zich voeden met microalgen en vrij rond kunnen zwemmen. Na drie tot vier weken ondergaan deze larven een metamorfose en gaan ze zich vestigen op het substraat. Hierbij verliest de larve het velum en ontwikkelt een voet waarmee het zich m.b.v. byssusdraden op het substraat vast kan zetten. Dit substraat kan afhankelijk zijn van wat de kweker wil, variërend van de bodem tot mosseltouw voor de hangcultuur. Als de larve zich heeft gevestigd wordt het broed genoemd. Het kleinste mosselbroed heeft een schelplengte van ongeveer 0,225mm (Kamermans, 2006).

2.3.2 Nursery

Omdat broed wat net gevestigd is een groot risico op predatie loopt als het direct naar buiten in het open water wordt gebracht, is er een tussenstap nodig: de nursery, ook wel kinderkamer genoemd. Hier wordt het mosselbroed verder opgekweekt tot ze een schelplengte hebben van ongeveer 3-10mm en voldoende groot zijn om uitgehangen of uitgezaaid te worden. Het voordeel van een nursery op het land is dat de groei gecontroleerd en extra gestimuleerd kan worden. Het doel van de nursery is om het broed dat afkomstig is uit de hatchery zo snel mogelijk op te laten groeien tot zaad van goede kwaliteit.

2.4 Voeding in een nursery

In een nursery wordt het mosselbroed met microalgen bijgevoerd omdat zeewater onvoldoende natuurlijk plankton bevat. Bijkomend voordeel is dat er controle is op wat het mosselbroed binnenkrijgt aan voedsel. Diatomeeën en flagellaten zijn de microalgen die veel gebruikt worden voor nurserysystemen.
Diatomeeën (ook wel kiezelwieren genoemd) zijn microalgen met als kenmerk een celwand van silicaat. Veelgebruikte diatomeeënsoorten in nursery's zijn: *Chaetoceros muelleri, C. gracilis, C. calcitrans, Skeletonema costatum,Thalassiosira pseudonana* en *Phaeodactylum tricornutum.*
Flagellaten zijn microalgen met zweepharen waarmee ze zich door het water voortbewegen. Veel gebruikte flagellaten: *Tetraselmis suecica, Pavlova lutherii en Isochrysis galbana.* (Helm et al. 2004). Voor de kweek van deze algen kan gekozen worden voor extensieve kweek in grote tanks in de buitenlucht, of voor intensieve kweek in 25-, 50- of 100 liter zakken binnen bij TL-licht.

2.4.1 Algensoorten

In deze paragraaf wordt een korte toelichting gegeven op de algensoorten die gebruikt worden in de nurseryfase van Imares Yerseke. (Afbeeldingen afkomstig van Utex Imagebank).



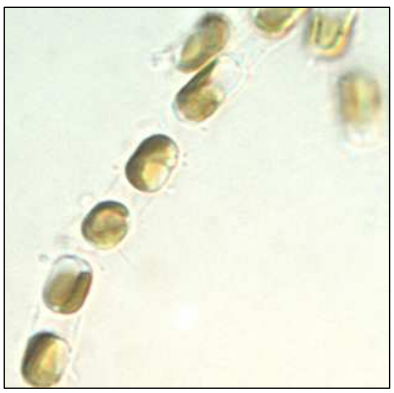
Figuur 2.1 ***Chaetoceros muelleri***

Chaetoceros muelleri & Chaetoceros gracilis

Chaetoceros zijn losse cellen met een rechthoekige vorm. Aan de hoeken bevinden zich sprieten. Deze diatomee kan kettingen vormen door de sprieten onderling met elkaar te verbinden. Bij sterke beluchting vindt er weinig tot geen kettingvorming plaats. De kleur van de cultuur is lichtbruin.

Tabel 2.1 Gegevens literatuur betreffende ***Chaetoceros spp.***

Lengte (µm)	AFDW (µg.10^{6}cellen)	Referentie:
12-14		Hoff & Snell, 1987
4-6		Ward & Shumway, 2004
	30	Helm et al. 2004
	58,46	Pina et al. 2005



Figuur 2.2 ***Skeletonema costatum***

Skeletonema costatum

Dit is een kettingvormend organisme met een ronde tot ovale celvorm. Ze zijn met elkaar verbonden door lange strengen van silicaat. Een ketting van 15-20 cellen kan tot 500 µm lang zijn. De kleur van de cultuur is bruin.

Tabel 2.2 Gegevens literatuur betreffende ***Skeletonema costatum***

Lengte (µm)	AFDW (µg.10^{6}cellen)	Referentie:
20-25		Hoff & Snell, 1987
9		Ward & Shumway, 2004
	29	Helm et al. 2004
	32	Laing & Millican, 1986



Figuur 2.3 *Phaeodactylum tricornutum*

Phaeodactylum tricornutum

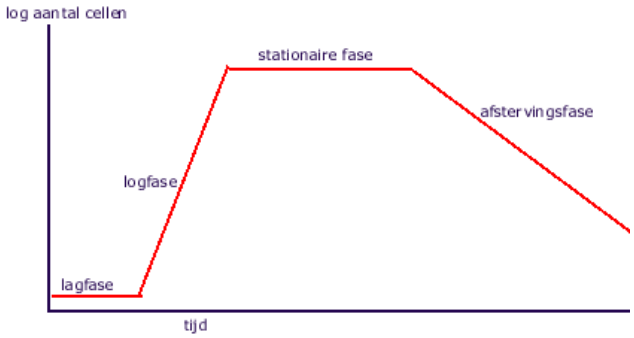
Deze diatomee heeft twee vormen: driehoekig of langwerpig. Het is een makkelijk te kweken alg en wordt daarom vaak in extensieve algenteelten gebruikt. De kleur van de cultuur is bruin (Hoff & Snell, 1987).

Tabel 2.3 Gegevens literatuur betreffende *Phaeodactylum tricornutum*

Lengte (µm)	AFDW (µg/ 10^6cellen)	Refentie:
12-25		Hoff & Snell, 1987
12-23		Ward & Shumway, 2004
29		Forster-Smith, 1975
	23	Helm et al. 2004
	17	Riisgard & Randlov, 1981

2.4.2 Algenkweek

Voor de opkweek van schelpdierbroed in commerciële nursery's is dagelijks een grote hoeveelheid levende algencellen nodig. Productie van deze hoeveelheden met de weinige algensoorten die goede groei van larven en broed kunnen realiseren kost veel energie en vormt een aanzienlijk deel van de kosten. Algen worden als volgt gekweekt: vanuit een stockcultuur of volgroeide cultuur wordt een bepaalde hoeveelheid algen toegevoegd aan gefiltreerd zeewater. Het zeewater is gefiltreerd om te voorkomen dat andere organismen de algencultuur besmetten. Er worden voedingsstoffen aan het water toegevoegd en zuurstof m.b.v. een luchtpomp. Vervolgens gaan de algen zich onder invloed van (TL) licht vermenigvuldigen, dit is de groeifase of logfase van de algenkweek (figuur 2.4). De algen groeien door tot een concentratie van ongeveer 10.10^6 cellen.ml^{-1} (afhankelijk van de algsoort en omstandigheden). Deze maximum concentratie vormt de stationaire fase en is het punt waarop de algen aan de schelpdieren gevoerd moeten worden. Na verloop van tijd sterven de algen door tekort aan voedingsstoffen af (afstervingsfase).



Figuur 2.4 Groeicurve van algen in een batchcultuur

2.4.3 Kunstmatig voer

Doordat algenkweek veel energie kost en er veel van nodig is, is het het grootste struikelblok wat de productie van mosselzaad op deze manier tegen kan houden. Een indicatie: er is ongeveer 40.000 liter algencultuur (2.10^6 cellen.ml^{-1}) nodig om 1 kg zaad van 10mm te produceren in een nursery (berekend met een voedingsratio van 0.4 volgens Helm et al., 2004). Een manier om dit te overkomen is de ontwikkeling van een betrouwbaar en goedkoop kunstmatig dieet om het dieet van levende algencellen geheel of gedeeltelijk te vervangen. Een variant voor algencellen zijn de zogenaamde algenpasta's, een algenconcentraat dat alleen verdund hoeft te worden met zeewater. Een liter algenconcentraat kan dezelfde hoeveelheid algen bevatten als 2000 liter levende algenkweek. Momenteel wordt hier veelvuldig onderzoek naar gedaan.

2.5 Filtratie

De mossel is een filter feeder. De schelp wordt hierbij een klein stukje geopend en via de instroom opening komt het water de mossel binnen. De instroomopening is voorzien van een waaiervormige rand waarmee het water naar binnen wordt gezogen. Vervolgens stroomt het water over de kieuwen. De kieuwen hebben in de mossel zowel een ademhalingsfunctie als een voedingsfunctie. De kieuwen filtreren deeltjes uit de waterstroom en deze worden verder getransporteerd naar de mond. De werking van de kieuwen wordt in de volgende paragraaf besproken. Het water verlaat de mossel via de uitstroomopening, deze is rond en kleiner dan de instroomopening. (Cahen, 2005 en Gosling, 2004). De filtratiesnelheid wordt gedefinieerd als het volume water wat volledig van deeltjes gefilterd wordt per tijdseenheid.



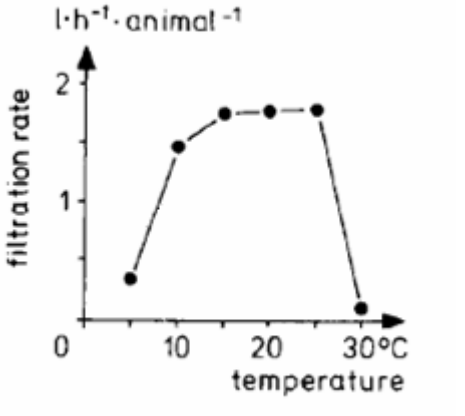
Figuur 2.5 Filtrerend mosselbroed van ongeveer 7mm lengte

2.5.1 Factoren die filtratie beïnvloeden

Er zijn een aantal factoren die de filtratie en filtratiesnelheid kunnen beïnvloeden. Onderstaande informatie geldt voor volwassen mosselen, maar er mag aangenomen worden dat dit ook voor juveniele mosselen (mosselbroed) geldt.

<u>Temperatuur</u>

Temperatuur heeft belangrijke invloed op de filtratiesnelheden van de mossel. Stijging van de temperatuur geeft een stijging van filtratiesnelheid totdat een optimum is bereikt (figuur 2.6). Sommige onderzoeken (Jorgensen, 1990) hebben gesuggereerd dat een stijgende temperatuur samengaat met een verlaging van de viscositeit van het water en dat daardoor de filtratiesnelheid van de mossel omhoog gaat. Uiteindelijk zorgt een te hoge watertemperatuur (25-30°C) voor een beperking in filtratie.



Figuur 2.6 Filtratiesnelheid als functie van de temperatuur, gevonden door Winter 1978 (bewerkt)

<u>Concentratie deeltjes</u>

De concentratie van de deeltjes in het water kan ook van invloed zijn op de filtratiesnelheid. Mosselen filtreren weinig tot niet als het water geen tot weinig deeltjes bevat. Ze gaan meer water filtreren als de concentratie hoger wordt: maximale filtratie bij 50.000-70.000 cellen.ml^{-1} voor de alg *Phaeodactylum tricornutum* (Foster-Smith, 1975). Resultaten van een meer recent onderzoek wijzen echter uit dat mosselen juist maximaal filtreren bij lagere concentraties: 3.000 -10.000 cellen.ml^{-1} (Riisgard, 1991). Ze verkleinen bij hogere concentraties de opening tussen de twee kleppen waardoor ze uiteindelijk minder water filtreren. Dit betekent dat de lage

groeisnelheden in laboratoriumstudies veroorzaakt kunnen worden door de onnatuurlijke hoge concentraties dat weer leidt tot verkleining van de opening tussen de kleppen.

Saliniteit

Mosselen kunnen overleven in saliniteitranges van 4-5 $g.l^{-1}$ tot volledig mariene condities. Maximale filtratiesnelheden liggen echter bij een zoutgehalte van 34 $g.l^{-1}$. Saliniteit heeft alleen een negatief effect op de filtratiesnelheid bij plotselinge en grote veranderingen in saliniteit (Gosling, 2003).

Stroomsnelheid

Verhoging van stroomsnelheid kan de filtratiesnelheid positief beïnvloeden. Japanse oesters die opgegroeid zijn in een hatchery werden bij een onderzoek blootgesteld aan verdubbeling van stroomsnelheid (van 50 naar 100 $ml.min^{-1}$), dit veroorzaakte een stijging van 50% van filtratiesnelheid (Walne, 1974).
In natuurlijke omstandigheden heeft getijdenwerking ook effect op filtratiesnelheid. Mosselen die hoog op de intergetijdenzone gevestigd zijn en relatief kort onder water zitten hebben een veel hogere filtratiesnelheid dan mosselen die het grootste deel van de tijd onder water zitten. Dit komt omdat beide mosselen dezelfde voedingsbehoefte hebben.

2.5.2 Regulatie van filtratie

De pompsnelheid en filtratie is afhankelijk van de opening tussen de schelphelften. Verkleining van de schelpopening in mosselen gaat gepaard met terugtrekking van de mantelranden en de uitstroomopening. De spieren van de mantel en de uitstroomopening staan in verbinding met de spieren die de kieuwen in beweging zetten. De kieuwen kunnen door verandering van hoek van de trilhaartjes de snelheid bepalen waarmee de waterstroom over de kieuwen gaat.
De meeste tweekleppigen kunnen deeltjes van 3-4µm diameter invangen met een efficiëntie van 100%. De efficiëntie waarmee deeltjes opgevangen worden is niet alleen afhankelijk van de grootte van het deeltje maar ook van de vorm, beweeglijkheid, dichtheid en stoffen die door algen uitgescheiden worden (Gosling, 2003).

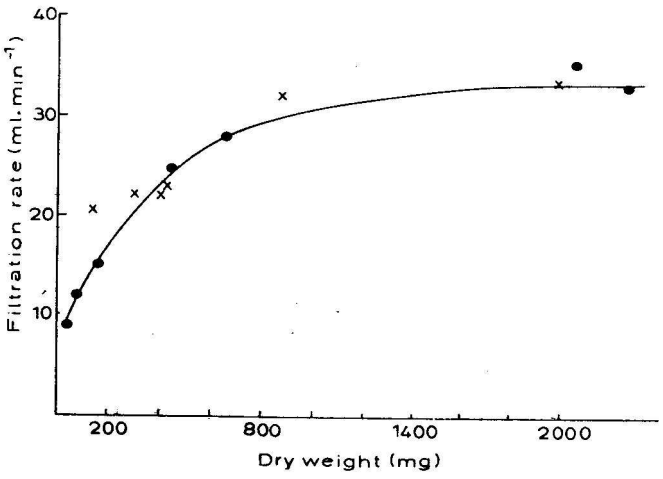
2.5.3 Filtratiesnelheid

Naast de invloeden van buitenaf die in § 2.5.1 beschreven zijn is de filtratiesnelheid in eerste instantie afhankelijk van lichaamsgrootte en -gewicht van de mossel. De relatie tussen filtratiesnelheid en lichaamsgewicht voor de mossel *Mytilus edulis* wordt beschreven in de formule:

$$Filtratiesnelheid = 7{,}45W^{0{,}66}$$

(Mohlenberg & Riisgard, 1979)

waarbij W het droog vleesgewicht in gram is en de filtratiesnelheid bepaald is in $liter.uur^{-1}$.



Figuur 2.7 De relatie tussen filtratiesnelheid en droog vleesgewicht gevonden door Thompson & Bayne, 1974.

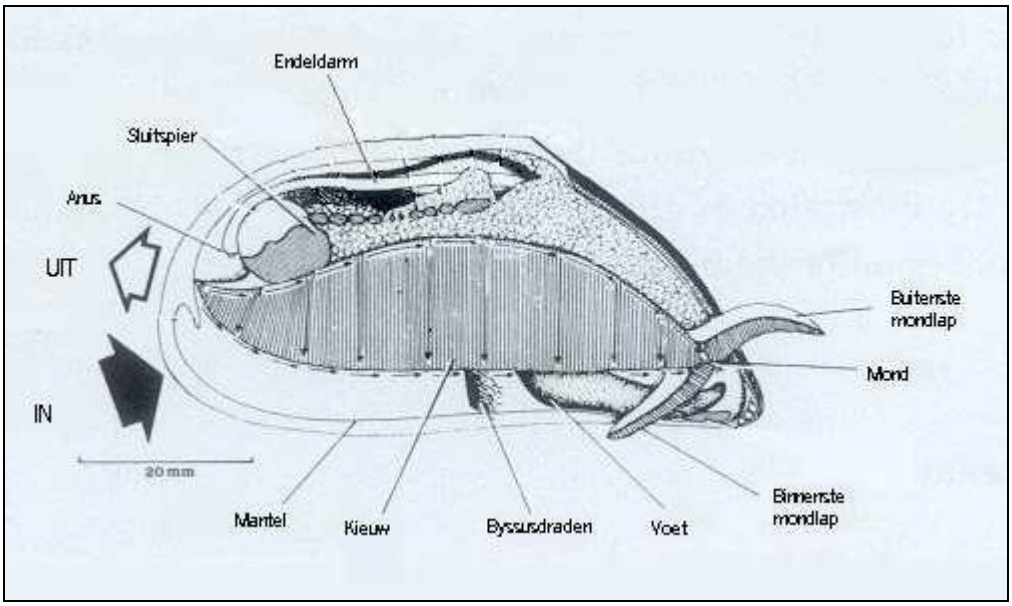
2.6 Kieuwen en spijsvertering

2.6.1 Werking van de kieuwen

De kieuwen nemen in de mossel een relatief grote plaats in, maar de kieuwstructuur en opbouw is in vergelijking met andere schelpdieren redelijk simpel. Trilhaartjes op de kieuwen onderhouden een waterstroom door de mantelruimte en langs de kieuwen (figuur 2.8). Het water wordt gefilterd van deeltjes bij de ingang van de interfilament ruimte, de ruimte tussen de afzonderlijke kieuwlamellen. Dit is een soort zeef die alle deeltjes groter dan 2 tot 5 µm met 100% efficiëntie invangt. De daar aanwezige trilhaartjes gooien de deeltjes op de oppervlakte van de filamenten. Daar wordt het materiaal opgenomen in strengen van slijm (zgn. mucus), die dan weer doorgetransporteerd worden naar de mondlappen.

2.6.2 Mondlappen

De mondlappen (fig. 2.8) zijn vier vleesachtige en bladvormige structuren aan beide kanten van de mond. De belangrijkste functie van de mondlappen is het continu transporteren van de voedseldeeltjes van de kieuwen naar de mond en voorkomen zo dat de kieuwen 'verstopt' raken als de concentratie aan deeltjes hoog is. De trilhaartjes op de mondlappen vangen de slijmstrengen met deeltjes op vanuit de kieuwen en brengen ze naar een goot waar de strengen worden omgezet in vlok materiaal. Deze vlokken worden verder getransporteerd naar de mond. Als het spijsverteringsysteem overbelast gaat raken wordt het materiaal naar de troggen van de mondlappen gebracht in plaats van naar de mond, vanwaar het weer terug naar buiten getransporteerd wordt als pseudofaeces (zie §2.6.4) (Beninger et al. 1995).



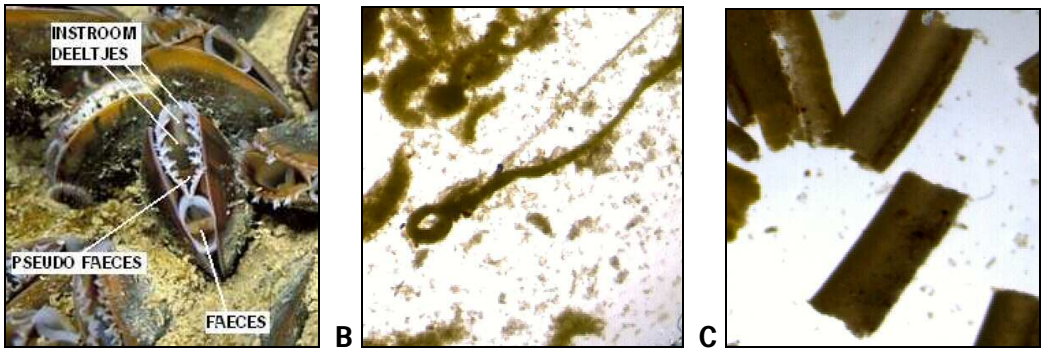
Figuur 2.8 Anatomie van de mossel. De pijlen geven de stroomrichting van het water aan (in en uitstroom en over de kieuw) (Gosling, 1992).

2.6.3 Spijsvertering

Vanuit de mondlappen komt het voedsel de mond binnen. De mond en slokdarm van de mossel bevatten slijmvliezen die zuren en polysachariden afscheiden om het voedsel te prepareren voor de maag. In de maag bevinden zich roterende kristallen die het voedsel voorzien van- en mengen met verteringsenzymen. Vanuit de maag gaat het voedsel naar het verteringsorgaan waar het opgesplitst wordt in bruikbare en onbruikbare bestanddelen. De bruikbare bestanddelen worden vandaar uit opgenomen in het lichaam en de onbruikbare bestanddelen gaan naar een darm dat uitmondt in de anus. Het afval verlaat het lichaam via de uitstroomopening in de vorm van faeces (figuur 2.8C) (Gosling, 2003).

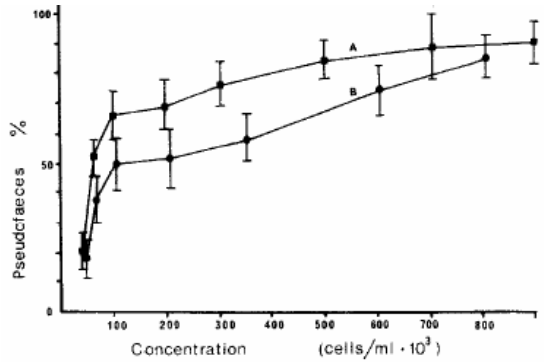
2.6.4 Pseudofaeces

Pseudofaeces is afvalmateriaal wat naar buiten komt zonder dat het door het spijsverteringskanaal is geweest. Tweekleppigen kunnen de deeltjes op voedingswaarde en grootte selecteren, ongeschikte en anorganische deeltjes worden als pseudofaeces naar buiten gebracht. De selectie hiervoor gebeurt bij de mossel op de kieuwen. Het naar buiten brengen van de pseudofaeces gaat via de mantelranden en komt via de rand van de instroomopening weer naar buiten en zorgt zo dat het niet in aanraking komt met het water wat de schelp instroomt. Daarnaast begint pseudofaecesproductie ook als de concentratie aan deeltjes in het water zo hoog is dat het spijsverteringsysteem het niet aankan.

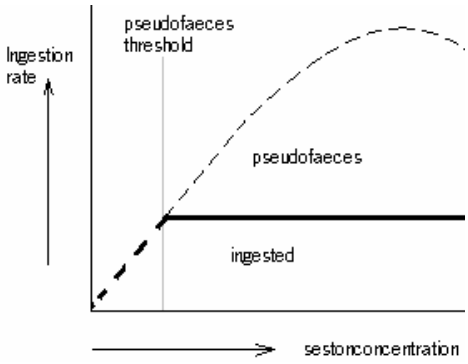


Figuur 2.9 A: Filtrerende mosselen, getoond wordt de instroomopening met de plaats waar de pseudofaeces (afbeelding B) naar buiten komen en de uitstroomopening waar de faeces (afbeelding C) naar buiten komen.

De pseudofaecesdrempel is de maximum celconcentratie van algen of deeltjes waarbij schelpdieren geen pseudofaeces produceren. Voor adulte mosselen bijvoorbeeld, gevoerd met *Phaeodactylum tricornutum* is de pseudofaecesdrempel 50.000 cellen.ml^{-1} (Forster-Smith, 1975). Bij lagere concentraties wordt geen pseudofaeces geproduceerd, zoals in figuur 2.10 te zien is. De minimum concentratie waarbij deze wel gevormd worden is afhankelijk van de samenstelling van de suspensie die gefiltreerd wordt en de grootte van de deeltjes. De celconcentratie waarbij maximale ingestie (opname) plaatsvindt bij mosselen wordt grotendeels gelijk gesteld aan de pseudofaecesdrempel. Maximale ingestie kan ook plaatsvinden boven de pseudofaecesdrempel, maar is niet efficiënt. Zie figuur 2.11.



Figuur 2.10 Percentage pseudofeacesproductie (van totale productie faeces + pseudofaeces) van *Mytilus edulis* bij A: *Phaeodactylum* B: *Isochrysis* (Foster-Smith, 1975)



Figuur 2.11 Relatie tussen ingestiesnelheid en sestonconcentratie. De pseudofaecesdrempel staat ook aangegeven (Widdows et al. 1979, bewerkt)

Pseudofaecesdrempels in de literatuur

Een overzicht van de gevonden waarden betreffende de pseudofaecesdrempel in de literatuur:

- Laing & Millican, 1986: 10 microgram.ml^{-1}, dit wordt gezien als de maximum concentratie voor efficiënte filtratie (broed platte oester).
- Newell, pers.med: pseudofaeces drempel van 40.000 cellen.ml^{-1} voor adulte mosselen
- Smaal, pers.med: 3-5 mg DW(deeltjes).liter^{-1} voor adulte mosselen
- Widdows et al, 1979: 4-5 mg DW(deeltjes).liter^{-1} voor adulte mosselen groter dan 5 cm.

Tabel 2.4 Relatie tussen schelplengte en de sestonconcentratie (asvrij drooggewicht) waarbij pseudofaecesproductie begint (Widdows et al. 1979)

Shell length (cm)	Seston concentration (mg.l^{-1})
1.7	2.6
3.5	4.3
5.5	4.6
7.0	5.0

2.7 Groei van mosselbroed

De groei van tweekleppigen wordt vaak gemeten door de toename in schelplengte of in vleesgewicht te bepalen. Bij de mossel (maar ook bij andere schelpdieren) is er geen vast verband tussen toename in schelplengte en toename in vleesgewicht. De schelp van de mossel groeit over het algemeen snel in het voorjaar en de zomer, terwijl het vleesgewicht afhankelijk is van de reproductiecyclus (Gosling, 2003).

2.7.1 Factoren die groei beïnvloeden

Er zijn verschillende factoren die de groei van mosselen beïnvloeden, de belangrijkste hiervan is de voedselbeschikbaarheid. Onder natuurlijke omstandigheden is de voedselbeschikbaarheid voor mosselbroed afhankelijk van factoren zoals temperatuur, plaats op het intergetijdengebied, waterdiepte en populatiedichtheid. In een nursery daarentegen wordt zoveel mogelijk gezorgd dat het mosselbroed genoeg voedsel krijgt en onder een optimale dichtheid opgroeit. In indoor-nursery's wordt ook de watertemperatuur constant op een optimale waarde gehouden.
De belangrijkste factor waar in een nursery op gelet moet worden is de kwaliteit van het voer, oftewel de voedingswaarde van de algen. Sommige algensoorten hebben een hogere voedingswaarde dan andere soorten.

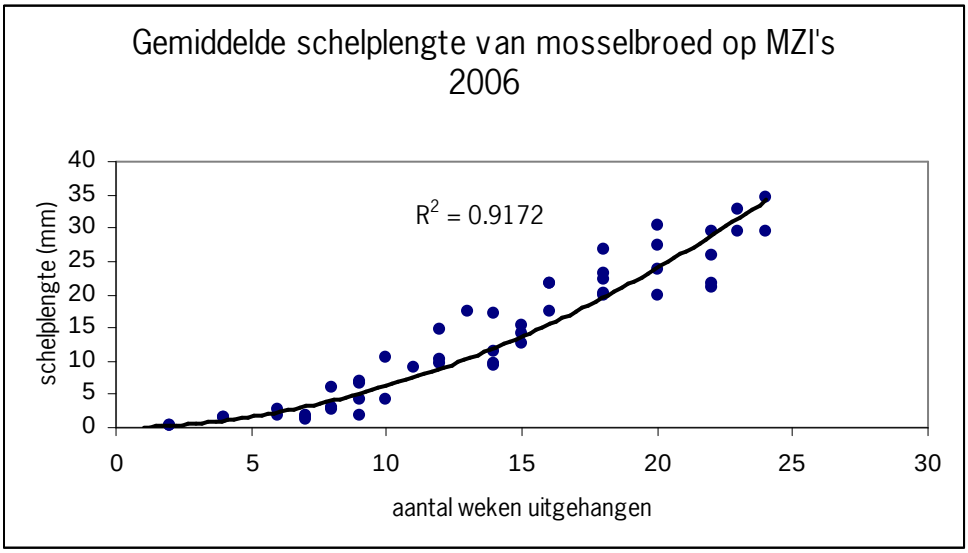
Ook de concentratie waarin het voedsel toegediend wordt is een belangrijke factor voor de groei. Voedsel toegediend in te hoge concentraties (40-50 mg.l^{-1}) geeft remming van groei, terwijl lage tot gematigde seston concentraties (1-25 mg.l^{-1}) juist groei bevorderen (Frechette & Grant, 1991). In het verleden is veel onderzoek gedaan naar de groei van mosselen afhankelijk van voedsel, voedselconcentratie en filtratiesnelheid. Tabel 2.5 geeft de groeiwaarden aan die gevonden zijn bij verschillende algenconcentraties in de verschillende literatuurbronnen.

Tabel 2.5 Overzicht van de groeisnelheid afhankelijk van verschillende algenconcentraties in de literatuur

Algsoort	Concentra-tie algen in mg.l^{-1}	AFDW vlees (0) in mg	AFDW vlees (eind) in mg	Periode in dagen	Groeisnelheid per dag (%)	Begin lengte (mm)	Referentie
Dunaliella marina	0.53	21.8	26.0	26	0.6776406	-	Winter & Langton, 1975
	1.07	21.8	31.2	26	1.3788774	-	
	2.13	21.8	36.5	26	1.9823165	-	
Phaeodactylum tricornutum	0.2	19.7	33.2	20	2.6096562	16-19	Kiorboe et al. 1981
	0.33	23.5	42.0	13	4.4666861	16-19	
Phaeodactylum tricornutum	0.051	45.9	80.5	47	1.1953023	16-20	Riisgard & Randlov, 1981
	0.44	45.9	130.2	47	2.2183119	16-20	

2.7.2 Groei onder natuurlijke omstandigheden

De groei van mosselen in natuurlijke omstandigheden is zoals eerder gesteld afhankelijk van het voedsel aanbod. Smaal en van Stralen (1990) hebben een duidelijk verband gevonden tussen chlorofyl-a gehalte en groei van mosselen in de Oosterschelde. De groei van mosselbroed is in 2006 door IMARES gemonitord op de mosselzaadinvang installaties (MZI's):



Figuur 2.12 De groei (in schelplengte) van mosselbroed op MZI's (mosselzaadinvangsystemen) in 2006 in de Waddenzee en Oosterschelde $y = 0.0714x^{1.942}$ (Kamermans et al (in prep.).

3. Pseudofaecesdrempel bij mosselbroed

3.1 Inleiding

In dit hoofdstuk wordt een experiment beschreven met als doel om de pseudofeacesdrempel voor mosselbroed te vinden. De bijbehorende onderzoeksvragen zijn als volgt geformuleerd:

- Is de pseudofaecesdrempel voor de verschillende grootteklassen broed gelijk?
- Wat is de pseudofaecesdrempel voor de algensoorten *Phaeodactylum tricornutum, Chaetoceros muelleri* en *Skeletonema costatum.*

3.2 Methode

Mosselbroed van verschillende schelplengten is geplaatst in petrischalen met een gemiddelde inhoud van 12 ml. Het gebruikte mosselbroed voor dit experiment varieerde in schelplengte tussen 5 en 18mm. Iedere petrischaal bevatte 4 tot 6 individuen van ongeveer dezelfde schelplengte (+/- 1 mm). Vooraf aan het experiment is gezorgd dat het spijsverteringssysteem van het gebruikte mosselbroed vol was, door toevoeging van een overdosis algen. Het volle spijsverteringssysteem was te zien aan het feit dat pseudofaecesproductie plaatsvond.

Van de diatomeeën *Phaeodactylum tricornutum, Chaetoceros muelleri* en *Skeletonema costatum* is de celdichtheid per ml in de algen cultuur vastgesteld door middel van een hematocytometer (zie bijlage B3). Aan de hand daarvan is per algensoort een serie verdunningen gemaakt met 1 µm gefiltreerd zeewater variërend van 20.000 cellen.ml^{-1} tot 120.000 cellen.ml^{-1}, hierbij zijn steeds stappen van 10.000 cellen.ml^{-1} genomen.
Deze verdunningen zijn toegevoegd aan het mosselbroed in de petrischalen. Iedere reeks is toegediend van hoge celdichtheid naar lage celdichtheid om ervan verzekerd te zijn dat het spijsverteringssysteem van het broed 'vol' was. Iedere petrischaal is bij iedere stap in de celdichtheid minimaal drie keer voorzien van dezelfde verdunning, zodat uitgesloten was dat pseudofaeces aanwezig in de schelp van de vorige verdunning naar buiten kwam bij de nieuwe verdunning en deze de resultaten beïnvloedde.
Monitoring van de pseudofaecesproductie vond plaats onder de binoculair. Pseudofaeces productie was binnen 10 minuten duidelijk te zien als slijmerige slierten die langzaam langs de rand van de instroomopening naar buiten kwamen (figuur 2.9C). Faeces daarentegen waren vaste 'pakketjes' die met de uitstroom naar buiten werden 'geschoten' (figuur 2.9B).
Indien er bij een bepaalde verdunning drie keer pseudofeacesproductie plaatvond werd een positieve score genoteerd. Andersom werd er een negatieve score genoteerd als er drie keer geen productie van pseudofaeces plaatsvond. De hoogste celconcentratie die geen pseudofaecesproductie tot gevolg had werd aangemerkt als de pseudofeacesdrempel die hoorde bij een bepaalde schelplengte of algsoort.

Chaetoceros muelleri en *Skeletonema costatum* waren afkomstig uit de kunstmatige algenkweek in de klimaatkamer van de experimentele hatchery van Imares. *Phaeodactylum tricornutum* is buiten gekweekt in open tanks (algenkweek volgens protocol Kamermans, 2006). Van de algen is m.b.v. een geijkte microscoop de lengte, breedte en vorm bepaald. Daarnaast is het asvrijdrooggewicht (AFDW) van de algen bepaald (zie bijlage B1).

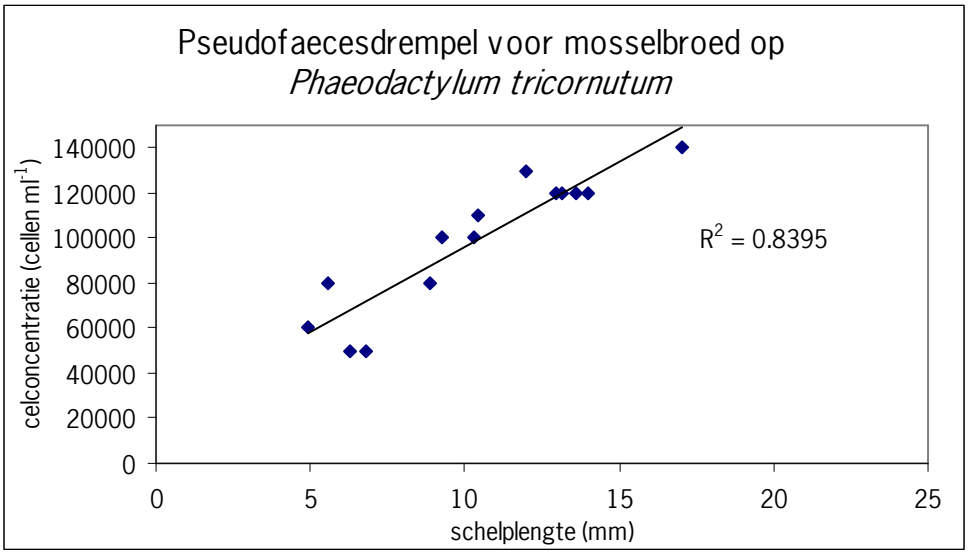
Tijdens het experiment varieerde de watertemperatuur van 17 tot 20°C, de saliniteit lag rond 28 g.l^{-1}. Het gebruikte mosselbroed was afkomstig uit de hatchery en op 26-5-2006 geproduceerd. Het experiment is uitgevoerd in de periode van 19 februari tot 2 maart 2007.

De statistische analyses voor lineaire regressie zijn uitgevoerd met het programma SPSS. Hierbij zijn de resultaten getoetst met een significantieniveau van 0,05.

3.3 Resultaten

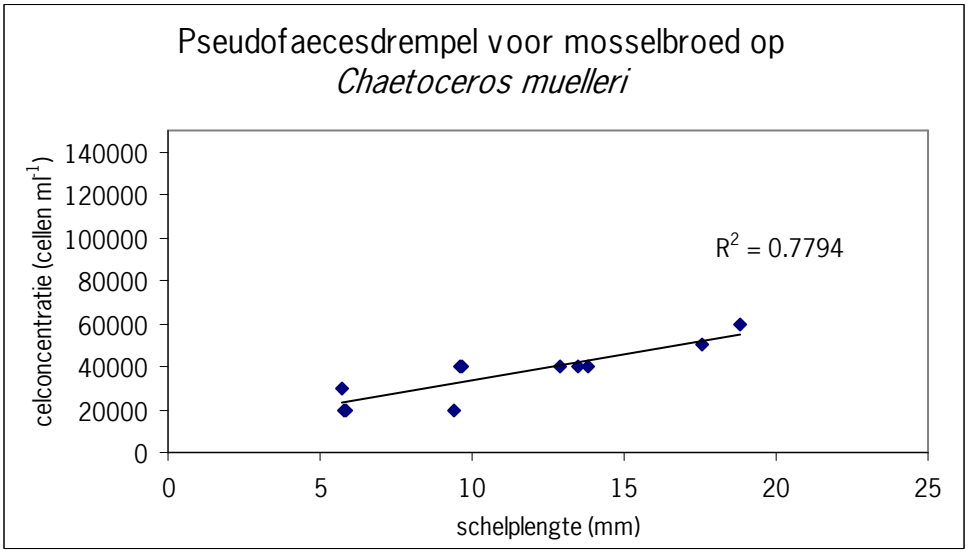
3.3.1 Pseudofaecesdrempel

De gevonden pseudofaecesdrempels voor de verschillende grootteklassen mosselbroed op de verschillende algensoorten zijn in onderstaande grafieken weergegeven. De statistische analyses staan in bijlage B6.1.



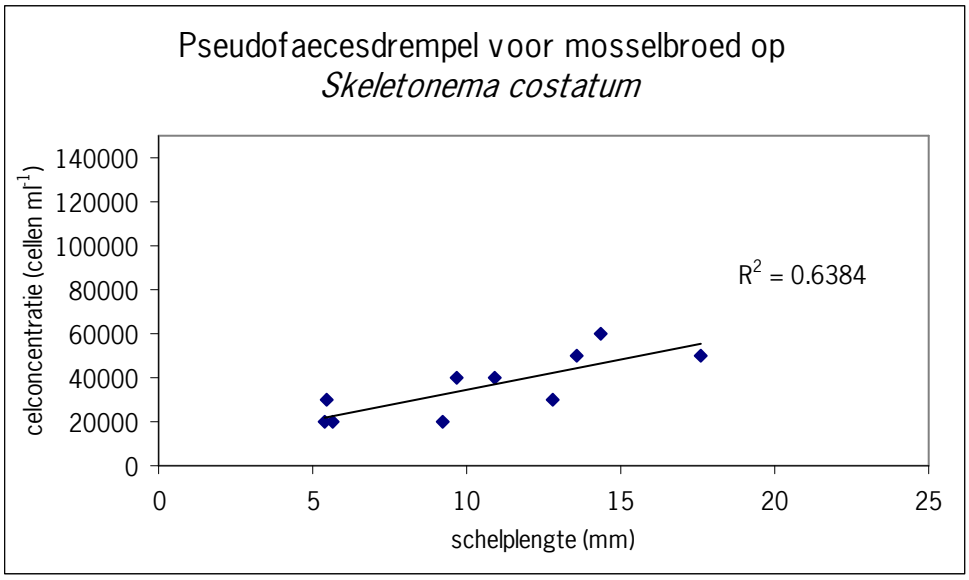
Figuur 3.1 De pseudofaecesdrempel van mosselbroed van verschillende schelplengten gevoerd met *Phaeodactylum tricornutum*. Het verband tussen celconcentratie en schelplengte: y=7559.3x+20144.

Figuur 3.1 geeft de verschillende punten weer die gevonden zijn voor de pseudofaecesdrempel bij *Phaeodactylum tricornutum*. Een statistische analyse wijst uit dat er een significant lineair verband bestaat tussen de schelplengte en de celconcentratie waarbij pseudofaecesproductie begint (p = 0.000, bijlage B6.1b).



Figuur 3.2 De pseudofaecesdrempel van mosselbroed van verschillende schelplengten gevoerd met *Chaetoceros muelleri*. Het verband tussen celconcentratie en schelplengte: y=2481.3x+8704.4.

In figuur 3.2 staan de verschillende pseudofaecesdrempels die gevonden zijn bij *Chaetoceros muelleri*. Er bestaat een significant lineair verband tussen schelplengte en celconcentratie waarbij pseudofaecesproductie begint (p = 0.000, bijlage B6.1d)



Figuur 3.3 De pseudofaecesdrempel van mosselbroed van verschillende schelplengten op Skeletonema costatum. Het verband tussen celconcentratie en schelplengte: y= 2738.2+7350.4, n = 3

Figuur 3.3 geeft de pseudofaecesdrempels weer voor de verschillende groottes mosselbroed gevoerd met *Skeletonema costatum*. Ook hier bestaat een significant lineair verband tussen de celconcentratie waarbij productie van pseudofaeces plaatsvindt en de schelplengte (p = 0.006, bijlage B6.1f).

3.3.2 Diatomeeën

Drooggewichten

In tabel 3.1 zijn de resultaten van de AFDW metingen van de gebruikte algensoorten te vinden.

Tabel 3.1 Resultaten van drooggewicht metingen diatomeeën (n=3)

	AFDW µg.10^6cellen^{-1}
Phaeodactylum tricornutum	42.37
Chaetoceros muelleri	77.81
Skeletonema costatum	93.38

Afmetingen

De gevonden afmetingen van de diatomeeën staan weergegeven in tabel 3.2.

Tabel 3.2 Resultaten van de afmetingen van de gebruikte diatomeeen (n=20)

	Gemiddelde grootte (µm)
Phaeodactylum tricornutum	20.30 ± 6.07
Chaetoceros muelleri	4.60 ± 1.26
Skeletonema costatum	6.20 ± 2.04

3.4 Discussie & conclusie

3.4.1 Discussie

Het lineaire verband dat gevonden is tussen de grootte van het mosselbroed en de pseudofaecesdrempel zal niet recht evenredig blijven toenemen. Verschillende literatuurbronnen geven aan dat volwassen mosselen een pseudofaecesdrempel hebben van rond de 40.000 – 50.000 cellen.ml^{-1} (pers.med. Newell en Foster-Smith, 1975) of 5 mg AFDW.liter^{-1} (Widdows et al. 1979) voor adulte mosselen. In het geval van *Phaeodactylum tricornutum* zit het mosselbroed in dit experiment daar al ver boven. Een verklaring hiervoor kan gezocht worden in het feit dat het gebruikte mosselbroed buitenom en voorafgaand aan het experiment standaard gevoerd werd met *Phaeodactylum tricornutum.* Het filtratie- en spijsverteringssysteem was zodanig gewend aan deze alg, dat het sneller en efficiënter gefiltreerd kon worden, waardoor pseudofaecesproductie langer uitbleef.

Vergelijking met literatuur

De gevonden pseudofaecesdrempels in cellen.ml^{-1} zijn met behulp van de gevonden AFDW (tabel 3.1) van de algen omgerekend naar mg.l^{-1} (tabel 3.3).

Tabel 3.3 Vergelijking van de gevonden pseudofaecesdrempel met waarden uit de literatuur

Gevonden waarden			Waarden in literatuur	
Alg	Range pseudo-faecesdrempel in cellen.ml^{-1}	Pseudofaeces-drempel in mg AFDW.l^{-1}	Pseudofaeces-drempel in mg AFDW.l^{-1} (§2.6.4)	Referentie
Phaeodactylum tricornutum	50000-140000 (fig 3.1)	2,11-5,93	2.6 (17mm schelplengte) 3-5 (adulte mosselen)	Widdows et al. (1979) Smaal (pers.med.)
Chaetoceros muelleri	20000-60000 (fig 3.2)	1,56 - 4,66		
Skeletonema costatum	20000-60000 (fig 3.3)	1,68 - 5,60		

De berekende waarden van de pseudofaecesdrempel aan de hand van de drooggewichten van de algen geven voor de drie gebruikte diatomeeënsoorten waarden die vallen binnen de range die in de literatuur (Smaal, pers.med. en Widdows et al, 1979) gevonden wordt.

De gevonden drooggewichten voor de gebruikte algensoorten wijken af van de drooggewichten die gevonden zijn in de verschillende literatuurbronnen (tabel 2.1 -2.3). Bij alle drie de algensoorten vallen ze hoger uit. Een verklaring hiervoor kan besmetting van de gebruikte algencultures zijn waarbij andere organismen of algensoorten zich in de cultuur bevonden en meegenomen zijn in de bepaling van het asvrij drooggewicht.

Vorm en afmeting

Foster-Smith (1975) stelde dat het effect van celconcentratie op pseudofaecesproductie en clearance rate afhankelijk is van het type alg. Het feit dat *Skeletonema costatum* snel kettingen vormt kan een van de redenen zijn dat het spijsverteringssysteem er langer over doet om dit te verwerken en daardoor sneller 'vol' is dan bij losse algencellen. De zelfde veronderstelling kan gemaakt worden voor *Chaetoceros muelleri*, de sprieten aan iedere hoek van de algencel kan ook van invloed zijn op de spijsvertering.

De gevonden afmetingen van de gebruikte algensoorten komen in het geval van *Phaeodactylum tricornutum* en *Chaetoceros muelleri* grotendeels overeen met wat in de literatuur wordt gesteld (tabellen 2.1 en 2.3). *Skeletonema costatum* heeft een kleiner formaat dan in de literatuur gevonden is. Deze cultuur groeide tijdens het experiment erg hard, hierdoor kan verondersteld worden dat de gebruikte algen nog in de groeifase (figuur 2.4) zaten en nog niet volledig waren volgroeid.

Ondanks nauwkeurig werken zijn handelingen zoals het tellen van de algen en het verdunnen tot een gewenste celconcentratie toch stappen in het experiment waar onnauwkeurigheden kunnen optreden. Dit verklaart de spreiding in de resultaten.

Evaluatie methode

Het vaststellen van de pseudofaecesdrempel is tijdens dit experiment gebeurd in een stilstaand systeem (petrischaal). Er zou verwacht worden dat de pseudofaecesdrempel lager uitvalt omdat door het filtreren van de mosselen de concentratie in de petrischaal daalt. Toch geven de resultaten een relatief hoge drempel aan, soms gelijk of hoger dan de drempel voor volwassen mosselen. Een betere manier om de pseudofaecesdrempel te bepalen zou in een door-stroomsysteem zijn, waarbij het mosselbroed continu in dezelfde celconcentratie zit. Ook zou dan gemonitord moeten worden in hoeverre het mosselbroed maximaal filtreert. Verkleining van de schelpopening kan namelijk leiden tot een verlaging van filtratiesnelheid en kan de pseudofaecesdrempel hoger laten lijken dan het geval zou zijn bij maximale filtratie.

3.4.2 Conclusie

De pseudofeacesdrempel voor de verschillende grootteklassen mosselbroed is niet gelijk. De grafieken onder § 3.3.1 geven een significant positief lineair verband aan tussen de grootte (gemeten in schelplengte) en de pseudofaecesdrempel.

De gevonden pseudofaecesdrempel voor de diatomee *Phaeodactylum tricornutum* ligt voor mosselbroed van 5-18mm hoger dan voor de diatomeeën *Skeletonema costatum* en *Chaetoceros muelleri.* De verschillen in pseudofaecesdrempel voor de verschillende diatomeeën kan verklaard worden door het verschil in vorm tussen de algensoorten.

4. Optimale opname van algen door mosselbroed

4.1 Inleiding

Aan de hand van de gevonden pseudofaecesdrempels in hoofdstuk 3, wordt in dit aansluitende hoofdstuk het experiment beschreven wat de optimale celdichtheid van algen voor mosselbroed aantoont. De pseudofaecesdrempel geeft weliswaar de maximale celconcentratie aan voor mosselbroed, maar dat wil nog niet zeggen dat de opname door het broed daarbij optimaal is. Het experiment heeft als doelstelling om te onderzoeken bij welke celconcentratie (3 geteste celdichtheden: 100%, 90% en 80% van de pseudofaecesdrempel) de opname door mosselbroed het grootst is. Aan de hand van de resultaten is ook de filtratiesnelheid bepaald en vastgesteld welke algensoort het best wordt opgenomen door mosselbroed.

4.2 Methode

Voor twee grootteklassen mosselbroed (A=6-7mm en B=10-11mm) is de dichtheid aan microalgen onderzocht waarbij de opname door het broed optimaal is. In tabel 4.1 is de celdichtheid per algsoort en grootteklasse aangegeven, berekend met behulp van de gevonden formules voor de pseudofaecesdrempel (zie hoofdstuk 3).

Tabel 4.1 Geteste celdichtheid per algsoort en grootteklasse a.d.h. van percentages van de pseudofaecesdrempel

	Phaeodactylum tricornutum		*Chaetoceros muelleri*		*Skeletonema costatum*	
% van pseudo-faecesdrempel	A (6-7mm) cellen.ml^{-1}	B (10-11mm) cellen.ml^{-1}	A cellen.ml^{-1}	B cellen.ml^{-1}	A cellen.ml^{-1}	B cellen.ml^{-1}
100	40.000	110.000	19.000	40.000	17000	40000
90	36.000	99.000	17.300	36.000	15400	36000
80	31.000	88.000	15.400	31.000	14000	31000

P. tricornutum is in de open lucht gekweekt in 5 m^3 tanks, *C. muelleri* en *S. costatum* zijn onder gecontroleerde omstandigheden gekweekt in 25 liter zakken (protocol Kamermans et al. 2006). De algen zijn voor aanvang van de metingen geteld m.b.v. een Burker hematocytometer (bijlage B3). Aan de hand van het gevonden aantal cellen per ml zijn de algen met 1 µm gefiltreerd zeewater verdund tot de celconcentratie genoemd in tabel 4.1.

Van grootteklasse A (6-7mm) zijn 25 individuen met een totaal natgewicht van ongeveer 0,6 gram in een doorstroomsysteem geplaatst. De instroom was gerealiseerd door met een slangenpomp (Watson Marlow 520*U*) een vast debiet (Q) van 16,5 ml.minuut^{-1} de algensuspensie met de celconcentraties genoemd in tabel 4.1 in het bakje te pompen. De uitstroom vond plaats door overloop en werd opgevangen in een bak (figuur 4.1). Het watervolume (V) in het doorstroombakje was 110 ml. Op deze manier was de retentietijd (V/Q) van de algensuspensie in het bakje gemiddeld 6,6 minuten. Na 30-40 minuten doorstroom zijn uit de opvangbak monsters genomen en op aanwezige deeltjes geteld met Z2™ Coulter Counter®.



Figuur 4.1 Opstelling voor bepaling van de optimale opname: drie door-stroomsystemen met broed, een blanco. Tevens monitoring van de temperatuur in het doorstroomsys-teem.

Ieder monster is hierbij 5 maal geteld om een zo betrouwbaar mogelijke indruk te krijgen van de concentratie.
De verschillende celconcentraties zijn in triplo getest en daarnaast is ter controle een blanco doorstroom-systeem zonder mosselbroed gemeten, omdat in een doorstroomsysteem de algen zich kunnen ophopen in bepaalde hoeken. De opname is aan de blanco uitstroom gerefereerd:

$$Opname = 100 - \left(\frac{C_{blanco}}{C_{uit}} \cdot 100\% \right)$$

De watertemperatuur lag tijdens het experiment binnen een range van 18 tot 21°C, de saliniteit was ongeveer 28 $g.l^{-1}$.

Aan de hand van de afmetingen van de algen gevonden in het experiment met de pseudofaeces (hoofdstuk 3) is de Coulter counter ingesteld (tabel 4.2) om er zeker van te zijn dat alle algen geteld werden:

Tabel 4.2 Range waarop de Coulter counter is ingesteld t.b.v. tellingen algen.

Algensoort	Coulter Counter ingesteld op:
Phaeodactylum tricornutum	4-14 en 14-24 µm
Chaetoceros muelleri	4-10 µm
Skeletonema costatum	4-14 en 12-22 µm

Van grootteklasse B (10-11mm) zijn 10 individuen genomen met een totaal natgewicht van ongeveer 0,91 gram en deze hebben dezelfde behandeling ondergaan.
Het gebruikte mosselbroed van grootteklasse A is gemeten m.b.v. een geijkte binoculair (Olympus SZ40), grootteklasse B is gemeten met een digitale schuifmaat (Sylvac IP20). Het mosselbroed was afkomstig uit de hatchery en op 26-5-2006 geproduceerd. Het experiment is uitgevoerd in de periode van 8 maart tot 3 april 2007.

De filtratiesnelheid is bepaald met de volgende formule:

$$CR = \frac{C_{blanco} - C_{uit}}{C_{blanco}} \cdot Q$$ (Petersen et al. 2004)

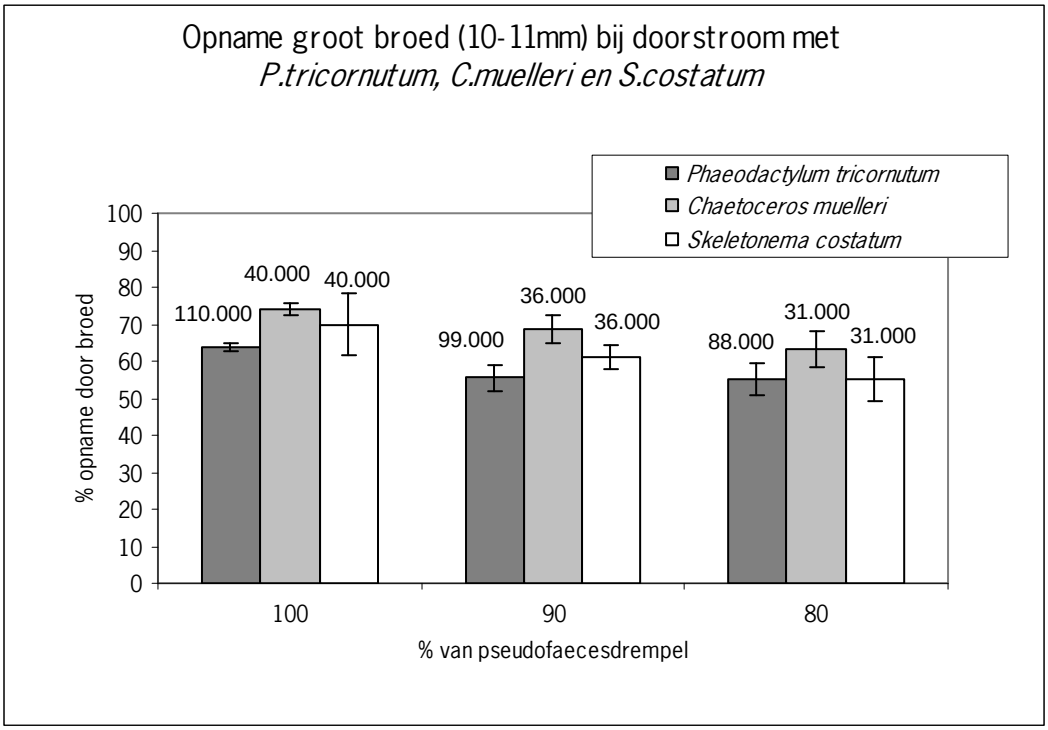
Waarin:
CR = clearance rate (filtratiesnelheid) $ml.min^{-1}$
C_{blanco} = celconcentratie uitstroom van de blanco als referentie voor de instroom
C_{uit} = celconcentratie uitstroom
Q = debiet van het doorstroomsysteem $ml.min^{-1}$

Voor de statistische analyse is gebruik gemaakt van het programma SPSS. De variantie analyse (ANOVA) is uitgevoerd met de SPSS test Univariate. Daarnaast is een Post hoc test (Bonferroni) uitgevoerd om de onderlinge verschillen tussen de verschillende behandelingen te testen. Voorafgaand aan de ANOVA werden de gegevens getest met een Fmax-test ter controle van homogeniteit van de variaties (Sokal & Rohlf, 1995). De aanname van normale verdeling werd gecontroleerd met een Q-Q plot. Aan deze voorwaarden voor gebruik van ANOVA is voldaan.

4.3 Resultaten

4.3.1 Opname

Uit de resultaten van hoofdstuk 3 bleek dat de verschillende diatomeeën een andere pseudofaecesdrempel hadden. Er werd aangenomen dat de ene soort makkelijker kon worden verwerkt in het spijsverteringssysteem dan de andere soort. Onderstaande figuren (4.2 en 4.3) geven een vergelijking in opname tussen de verschillende diatomeeën, bij respectievelijk groot en klein mosselbroed.

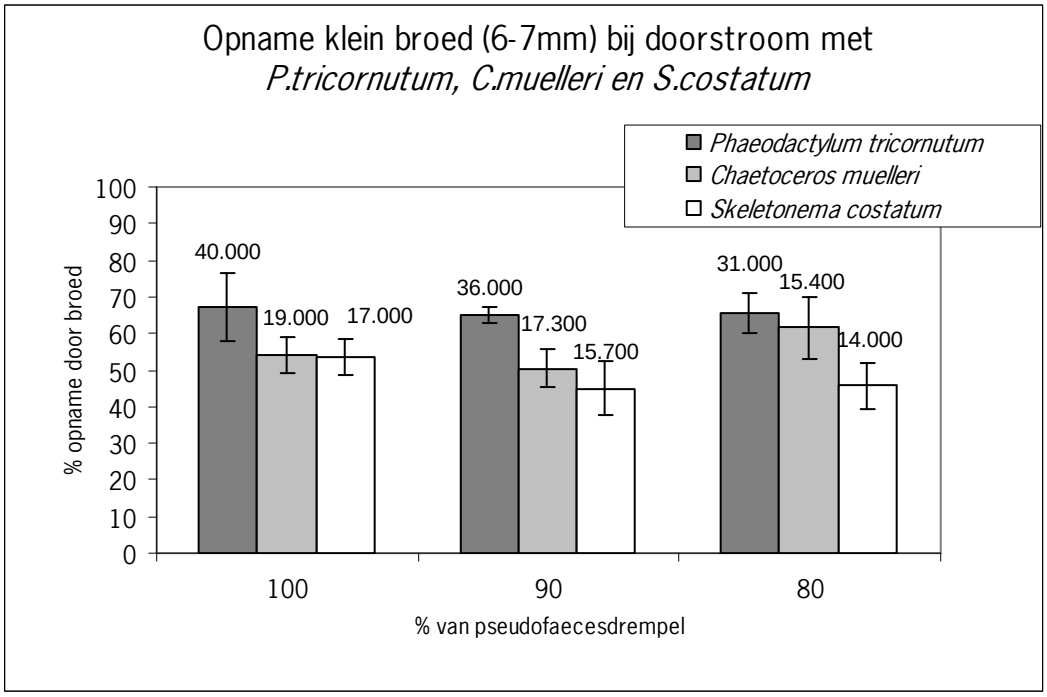


Figuur 4.2 De opname uitgedrukt in procenten door groot broed bij de drie gebruikte diatomeeën. De gebruikte celconcentraties staan boven de grafiekstaven. Stdev is aangegeven, n = 3.

Chaetoceros muelleri geeft daarbij de beste opname, deze is significant groter dan de opname van *Phaeodactylum tricornutum*: p = 0.007. Tussen *Skeletonema. costatum* en *C. muelleri* is geen significant verschil gevonden (bijlage B6.2g).

Bovenstaande grafiek geeft aan dat alle diatomeeën door groot broed het best worden opgenomen bij een celconcentratie die gelijk is aan de pseudofaecesdrempel, d.w.z. 100%. Dit is echter niet met een significant verschil aan te tonen (bijlage B6.2a tot B6.2c). Alleen bij de diatomee *Chaetoceros muelleri* bestaat er een significant verschil tussen de opname bij 100% en de opname bij 80% (bijlage B6.2b).

Onderstaande grafiek (4.3) geeft de opname van de drie diatomeeën weer voor klein broed. Afgezien van *Chaetoceros muelleri* is ook hier de trend te zien dat een celconcentratie gelijk aan de pseudofaecesdrempel (100%) een betere opname geeft. Dit is echter niet met significante verschillen te onderbouwen (bijlage B6.2d tot B6.2f).



Figuur 4.3 De opname uitgedrukt in procenten door klein broed bij de drie gebruikte diatomeeën, de gebruikte celconcentraties staan boven de grafiekstaven. Stdev is aangegeven, n = 3.

Phaeodactylum tricornutum wordt door klein broed het beste opgenomen. *Phaeodactylum tricornutum* heeft in dit geval een significant grotere opname dan *Chaetoceros muelleri* en *Skeletonema costatum* (resp. p = 0.007 en p = 0.000). Tussen *C. muelleri* en *S. costatum* onderling zit geen significant verschil (p = 0.093) (bijlage B6.2h).

4.3.2 Filtratiesnelheid

Tabel 4.3 De filtratiesnelheden voor twee verschillende grootteklassen broed op verschillende diatomeeënsoorten, n=9

	Filtratiesnelheid groot broed (10-11mm) $l.h^{-1}$ per gram nat (± stdev)	Filtratiesnelheid klein broed (6-7mm) $l.h^{-1}$ per gram nat (± stdev)	Filtratiesnelheid klein broed (6-7mm) $l.h^{-1}$ per gram droog (± stdev)
Phaeodactylum tricornutum	0.6279 ± 0.0052	1.0828 ± 0.1405	0.058472 ± 0.0076
Chaetoceros muelleri	0.7990 ± 0.0164	0.8856 ± 0.0801	0.047826 ± 0.0043
Skeletonema costatum	0.6649 ± 0.0911	0.6939 ± 0.0919	0.037473 ± 0.0049

De filtratiesnelheid van klein mosselbroed is in de gevallen van *Phaeodactylum tricornutum* en *Chaetoceros muelleri* significant groter dan de filtratiesnelheid van groot mosselbroed (p = 0.000 en p = 0.001, bijlage B6.2i en B6.2j). Tussen de filtratiesnelheid van groot en klein broed op *Skeletonema costatum* is geen significant verschil gevonden (p = 0.510 (bijlage B6.2k)).

4.4 Discussie & conclusie

4.4.1 Discussie

Opname van klein en groot broed

De resultaten van grafiek 4.2 (broed van 10-11mm) geven een grotere opname weer dan de resultaten van grafiek 4.3 (broed van 6-7mm). Dit komt omdat er gewerkt is met verschillende gewichten broed. Er kan dus geen absolute vergelijking gemaakt worden tussen deze twee grafieken. Tabel 4.3 geeft echter de opname* per gram nat aan en daaruit blijkt dat klein broed in vergelijking met groot broed significant meer opneemt, behalve bij de diatomee *S. costatum*.

Vergelijking met literatuur

Uit de resultaten blijkt dat een celconcentratie van 100% van de pseudofaecesdrempel de beste opname geeft. Dit komt overeen met wat er in Widdows et al. (1979) beschreven staat. Figuur 2.10 in de literatuurverkenning van hoofdstuk 2 geeft naast de relatie tussen celconcentratie en pseudofaecesproductie ook de maximale ingestie aan. Hierbij wordt echter bij de maximale ingestie nog wel uitgegaan van een klein gedeelte pseudofaecesproductie.

Evaluatie methode

De Coulter Counter is over het algemeen minder betrouwbaar om algenconcentraties te meten dan een hematocytometer omdat deze alle deeltjes telt, dus ook andere deeltjes dan algencellen, zoals anorganische. Omdat er echter gewerkt werd met minder dan 150.000 cellen per ml en dit te weinig is om m.b.v. een hematocytometer tot een betrouwbare telling te komen is toch gekozen voor de Coulter Counter. Dat er ook andere deeltjes dan algencellen meegenomen zijn hierbij is in dit onderzoek van ondergeschikt belang omdat het om een vergelijking gaat in opname en niet om de absoluut opgenomen algencellen.

Wat wel een discussiepunt is bij het gebruik van de Coulter Counter is dat een algenketting als één deeltje geteld wordt, terwijl het uit meerdere vastzittende cellen bestaat. De diatomee *Skeletonema costatum* vormt snel kettingen. Het kan daarom zijn dat de resultaten van de metingen met deze algensoort minder betrouwbaar zijn. Bij de berekening van de relatieve opname zal dit echter van weinig invloed zijn geweest omdat zowel de instroom als de uitstroom met ditzelfde probleem te maken heeft gehad.

Het gebruik van een debiet van 16,5 ml.min^{-1} is voldoende geweest om het ophopen van algen op verschillende plaatsen in het doorstroomsysteem zoveel mogelijk te voorkomen. Figuur B4.1 in bijlage B4 geeft de overeenkomst aan tussen concentratie van de instroom en de concentratie van de blanco uitstroom in het doorstroomsysteem.
Buitenom en voorafgaand aan het experiment is het mosselbroed standaard gevoerd met *Phaeodactylum tricornutum*. Dit kan mogelijk invloed hebben gehad op de resultaten omdat het broed aan deze algensoort 'gewend' was.

4.4.2 Conclusie

Uit de resultaten kan geconcludeerd worden dat een celdichtheid die het dichtst bij de pseudofaecesdrempel ligt de grootste opname geeft. Dit is tevens het punt van maximale ingestie. *Chaetoceros muelleri* geeft daarbij voor broed in de grootteklasse van 10-11mm een significant hogere opname dan *Phaeodactylum tricornutum*. Bij broed in de grootteklasse 6-7mm is dit precies andersom: *P. tricornutum* geeft hierbij juist een significant hogere opname dan *C. muelleri* en *S. costatum*.
Een andere conclusie die getrokken mag worden is dat broed van de grootteklasse 6-7mm een hogere filtratiesnelheid heeft dan broed van de grootteklasse 10-11mm.

* Opname is in dit geval gelijk aan de filtratiesnelheid omdat met concentraties gelijk aan of onder de pseudofaecesdrempel is gewerkt.

5. Groei van mosselbroed op diatomeeën

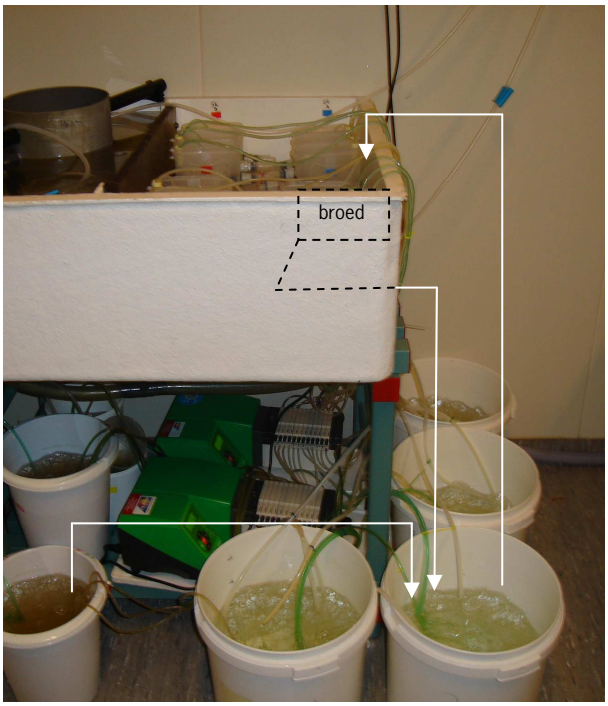
5.1 Inleiding

Het doel van een nursery is om mosselbroed zo snel mogelijk op te laten groeien tot een formaat dat groot genoeg is om uitgezaaid te worden. Het experiment dat in dit hoofdstuk beschreven wordt is een vervolg op de vorige experimenten. Nu de pseudofaecesdrempel en de opname bekend is voor de verschillende algensoorten, wordt de nadruk op de groei gelegd. Onderzoeksvragen:

- Op welke diatomee groeit mosselbroed beter: *Chaetoceros muelleri/calcitrans* of *Skeletonema costatum?*[*]
- Heeft voeren boven de pseudofaecesdrempel een negatieve invloed op de groei?

5.2 Methode

Uit de literatuur en uit de praktijk blijkt dat een upwellingsysteem het meest geschikte systeem is om broed op te kweken in een nursery. Op kleine schaal met een te lage stroming is het echter onzeker of iedere cilinder in een upwellingsysteem evenveel algen krijgt. Vanwege deze onbetrouwbaarheid is voor dit experiment gekozen voor een doorstroomsysteem met recirculatie. Er zijn 4 behandelingen getest: voeren op 100% van de pseudofaecesdrempel en voeren boven de pseudofaecesdrempel met de algensoorten *C.muelleri/calcitrans* en *S.costatum*. Per behandeling is in een voercontainer een algensuspensie gemaakt met de celconcentraties genoemd in tabel 5.1. M.b.v. een pomp wordt dit door de opstelling met broed gepompt. Het broed filtreert een bepaalde hoeveelheid algen uit het water. De uitstroom is onder vrij verval teruggeleid naar de voercontainer waar door toevoegen van nieuwe algen de concentratie gelijk wordt gehouden (figuur 5.1). Een uitgebreide toelichting op de werking en het gebruik van het recirculatiesysteem is te vinden in bijlage 5. Om ophoping van vervuiling te voorkomen is 2 maal in de week het gehele systeem verschoond. Omdat er voor alle behandelingen met het zelfde debiet gewerkt moest worden i.v.m de pomp, is er in het gewicht van het broed gevarieerd om de behandelingen hetzelfde voedingsratio te kunnen geven. Hierdoor is ook het aantal individuen per behandeling anders (zie tabel 5.1) Met de volgende formule is het volume algen per dag uitgerekend:



Figuur 5.1 Recirculatiesysteem voor het experiment: het water in de rechtse voercontainers wordt gerecirculeerd, links wordt algen toegevoegd om de concentratie in de voercontainer gelijk te houden.

$$V = \frac{Broed_{natgewicht} \cdot 0{,}4}{7 \cdot Alg_{AFDW} \cdot Conc._{alg}}$$

(Helm et al. 2004).

Een voedingsratio van in dit geval 0.4 houdt in dat er per gram nat mosselbroed 0.4 gram AFDW algen gevoerd wordt per week. Helm et al (2004) geeft aan dat een ratio van 0.4 zorgt voor een goede groei van schelpdierbroed. In ieder doorstroom-

[*] *Phaeodactylum tricornutum* wordt in dit experiment buiten beschouwing gelaten vanwege de lage voedingswaarde (Epifanio et al. 1981)

systeem zijn een aantal individuen mosselbroed van de grootteklasse 7mm geplaatst. Dit mosselbroed is afkomstig uit de hatchery en op 26-5-2006 geproduceerd. In onderstaande tabel (5.1) staan de waarden en aantallen die aangehouden zijn tijdens het experiment:

Tabel 5.1 Overzicht van het experiment met begingewicht, beginlengte en de aangehouden celconcentraties.

	Code	Gem. gram nat broed (dag 0)	Aantal indivi-duen	Gem. lengte in mm (dag 0)	Celconcentratie per ml in voercontainer
Skeletonema costatum - normaal gevoerd	Sk A	0.278	10	6.37	17000
Skeletonema costatum - boven pfdrempel gevoerd	Sk B	0.574	17	7.01	34000
Chaet. muelleri/calcitrans * - normaal gevoerd	Cm/c A	0.486	12	7.31	19000
Chaet. muelleri/calcitrans - boven pfdrempel gevoerd	Cm/c B	0.893	24	7.26	38000

Per systeem is bij aanvang de gemiddelde schelplengte bepaald. Daarna is wekelijks de schelplengte gemonitord m.b.v. een geijkte binoculair (Olympus SZ40) en het natgewicht bepaald met behulp van een analytische balans (Sartorius Basic op 10^{-4} g nauwkeurig).
Bij aanvang van het experiment is van een soortgelijke groep mosselbroed het asvrij drooggewicht (AFDW) bepaald als 0-meting. Aan het einde van het experiment is van alle daadwerkelijk geteste individuen het AFDW bepaald (zie bijlage B2 voor bepaling van AFDW).

Dit experiment is uitgevoerd van 20 april – 7 mei 2007 in een klimaatkamer (NIOO) bij een temperatuur van 17°C. Van de gebruikte algensoorten is bij aanvang en na afloop van het experiment het (asvrij)drooggewicht bepaald.
De vier behandelingen zijn allen in triplo getest op groei, hierbij werden per behandeling drie bakjes met hetzelfde aantal individuen gerecirculeerd met dezelfde algensoort en -concentratie (zie bijlage 5)

Gebruikte formules

Toename in schelplengte: $\Delta L = L_{eind} - L_0$

Gem. groeisnelheid per dag: $\mu = \ln\left(\frac{Wvlees_{t(eind)}}{Wvlees_{t(0)}}\right) \cdot t^{-1}$ (Frandsen & Dolmer, 2002)

Conditie mosselen als BMI**: $BMI = \frac{(AFDWvlees \cdot 1000)}{L^3}$ (Williams, 2002)

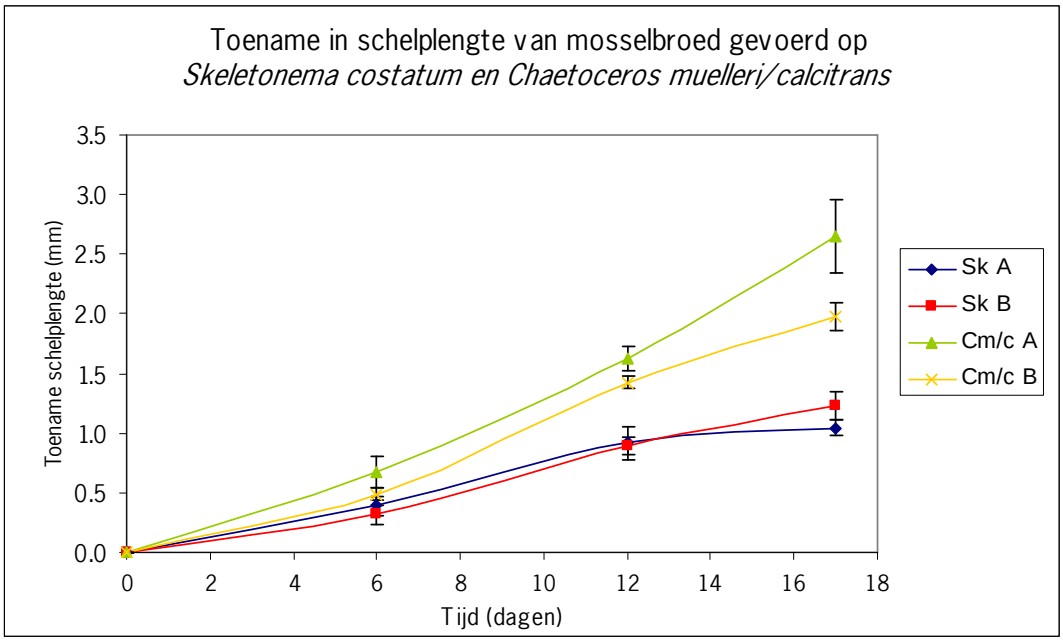
Waarin:
L = lengte mosselbroed in mm
Wvlees = natgewicht van het mosselvlees in gram
AFDWvlees = asvrij drooggewicht van het mosselvlees in gram
t = tijd in dagen

Voor de statistische analyse: zie § 4.2.

* Het experiment is ingezet met *Chaetoceros muelleri*, maar deze algencultuur is na 10 dagen voeren ingestort. Het experiment is voortgezet met *Chaetoceros calcitrans*, een overeenkomstige diatomee wat vorm en afmeting betreft.
** Body Mass Index

5.3 Resultaten

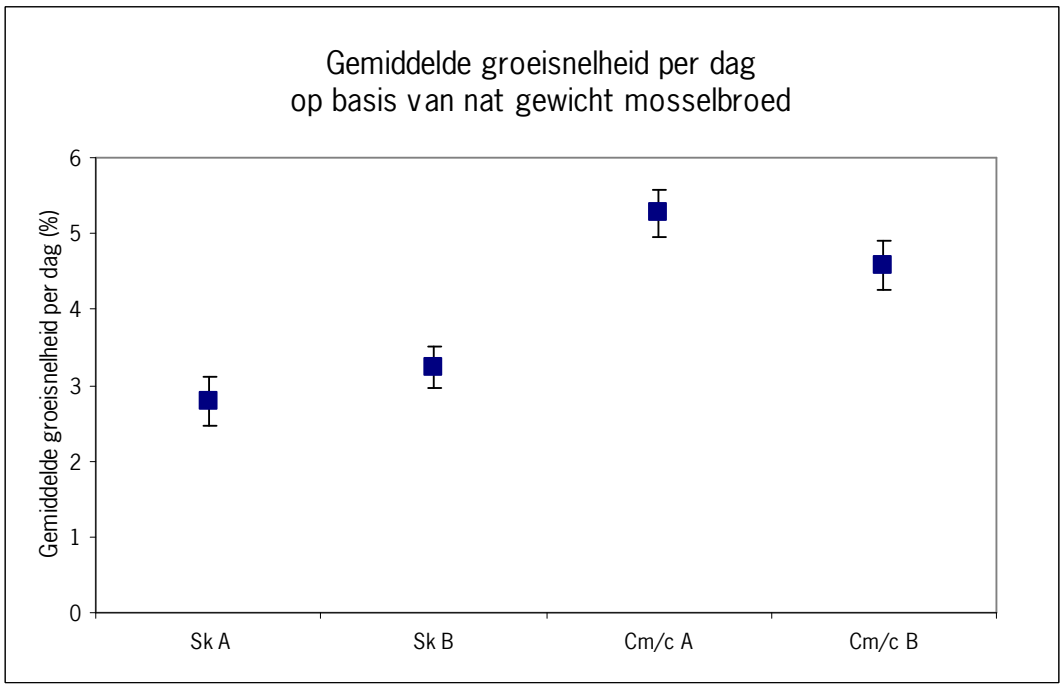
De groei van het mosselbroed is op drie verschillende manieren bepaald: a.d.h. van schelplengte, nat gewicht en asvrij drooggewicht. Onderstaande figuren geven de resultaten weer.



Figuur 5.2 De toename in schelplengte van het mosselbroed gevoerd op *Skeletonema costatum* (Sk) en *Chaetoceros muelleri/calcitrans* (Cm/c). A = normaal, B = gevoerd boven pseudofaecesdrempel. Stdev is aangegeven, n=3.

De toename in schelplengte op *Chaetoceros muelleri/calcitrans* is significant groter dan de toename op *Skeletonema costatum* (p = 0.000, bijlage B6.3b). Daarnaast is de groei van mosselbroed gevoerd boven de pseudofaecesdrempel met *Chaetoceros* significant kleiner (p = 0.000). Er is geen verschil gevonden tussen het broed dat gevoerd was boven en onder de pseudofaecesdrempel met *Skeletonema costatum* (p = 0.275, bijlage B6.3a)

A.d.h. van het nat gewicht is de dagelijkse gemiddelde groeisnelheid in procenten bepaald:



Figuur 5.2 De gemiddelde groeisnelheid uitgedrukt in procenten op basis van het nat gewicht van het mosselbroed. Sk = *Skeletonema costatum*, Cm/c = *Chaetoceros muelleri/calcitrans* (Cm/c), A = normaal en B = gevoerd boven pseudofaecesdrempel. Stdev is aangegeven, n=3.

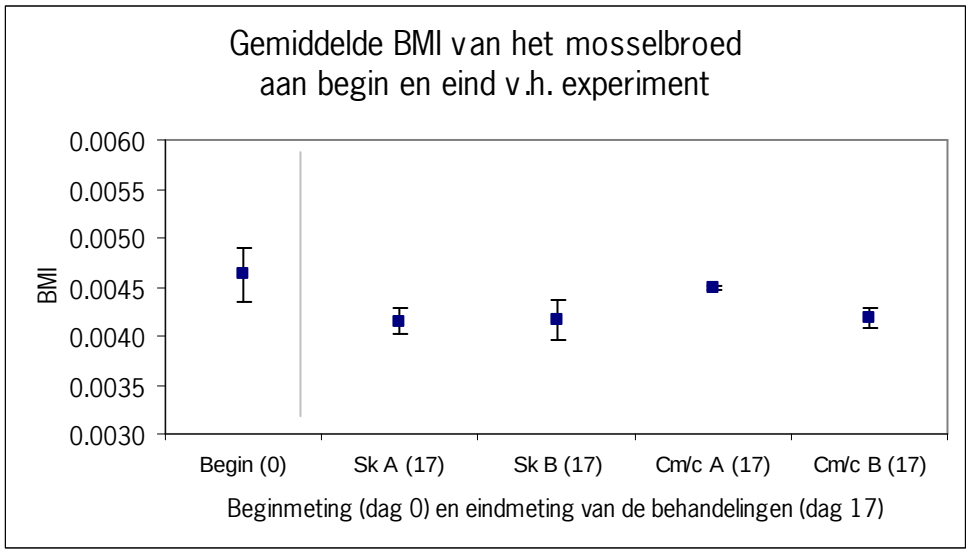
Figuur 5.2 geeft vergelijkbare resultaten met figuur 5.1: het broed dat gevoerd is met *Chaetoceros muelleri/calcitrans* heeft een significant hogere gemiddelde groeisnelheid dan het broed gevoerd met *Skeletonema costatum* (p = 0.000, bijlage B6.3c). Er is echter geen significant verschil te vinden tussen broed gevoerd boven de pseudofaecesdrempel en broed gevoerd onder de pseudofaecesdrempel (p = 0.150, bijlage B6.3d).

Ook aan de hand van het drooggewicht kan de gemiddelde groeisnelheid in procenten per dag bepaald worden (tabel 5.2). Tussen alle behandelingen bestaat hier een significant verschil* (bijlage B6.3e).

Tabel 5.2. De gemiddelde groeisnelheid per dag op basis van het asvrij droog-gewicht uitgedrukt in procenten (n = 3)

Behandeling	Gemiddelde groeisnelheid per dag (%) ± stdev
Sk A	0.332462 ± 0.001895*
Sk B	1.492563 ± 0.002841
Cm/c A	5.301827 ± 0.000316
Cm/c B	3.534738 ± 0.00149

Onderstaand figuur (5.3) geeft een weergave van de conditie van het mosselbroed (BMI) aan het begin van het experiment en aan het eind van het experiment.



Figuur 5.3 De conditie van het mosselbroed uitgedrukt als BMI aan het begin en aan het eind van het experiment. Sk = *Skeletonema costatum,* Cm/c = *Chaetoceros muelleri/calcitrans* (Cm/c), A = normaal en B = gevoerd boven pseudofaecesdrempel. Stdev is aangegeven, n=3.

Er is geen significant verschil tussen de BMI aan het begin van het experiment en de BMI aan het eind van het experiment (p = 0.000, bijlage B6.3f). De conditie van het mosselbroed is dus min of meer gelijk gebleven.

De gevoerde algensoorten zijn aan het begin en aan het eind van het experiment gemonitord door het drooggewicht te bepalen (tabel 5.3).

Tabel 5.3. Asvrij drooggewichten van de gebruikte diatomeeën bij aanvang en bij beëindiging van het experiment.

Diatomee	Aanvang AFDW µg.10^6 cellen^{-1}	Einde AFDW µg.10^6 cellen^{-1}
Skeletonema costatum	93.3	355.0
Chaetoceros muelleri	77.8	
Chaetoceros calcitrans		18.5

* De toename in AFDW voor de behandeling SkA (broed gevoerd met een normale celconcentratie *S. costatum*) is onbetrouwbaar. Tabel 5.1 en B6.3g laten zien dat de beginlengte van SkA significant verschilde van de beginlengte van de andere behandelingen en ook van de lengte van het broed dat gebruikt is voor de meting van het begin AFDW. Het eind AFDW van SkA kan dus niet vergeleken worden met het begin AFDW.

5.4 Discussie & conclusie

5.4.1 Discussie

Vergelijking met groei in literatuur

De resultaten (fig. 5.2) geven een maximale groei van 2,7 mm bij *Chaetoceros muelleri/ calcitrans* gevoerd onder de pseudofaecesdrempel. In natuurlijke omstandigheden zou broed van dezelfde initiële schelplengte gedurende een gelijke periode een groei vertonen van 3.5mm (afgeleid uit figuur 2.11, groei van mosselbroed op MZI's). De conditie van het mosselbroed is echter gedurende het experiment niet achteruit gegaan (zie figuur 5.3).

Resultaten uit een eerder onderzoek naar groei door IMARES (Peene, 2006) geeft in de nursery gedurende eenzelfde tijdsduur een groei van 2,5mm, de initiële schelplengte was hier echter al 14,5 mm. Kamermans et al (2006) geeft voor broed in een gelijke periode een groei van ongeveer 2mm.

De gemiddelde groeisnelheid op basis van het natgewicht van het mosselbroed geeft een waarde aan tussen 1,5 en 5,3% (tab. 5.2). Tabel 2.5 in de literatuurverkenning van hoofdstuk 2 geeft een overzicht van resultaten in de verschillende literatuurbronnen waarbij (weliswaar op basis van andere algensoorten) een gemiddelde groeisnelheid variërend van 0,6 tot 4,4% gevonden is. Toch geeft deze vergelijking een indicatie dat de gemiddelde groeisnelheid in dit experiment binnen de range van de normale groeisnelheid valt.

Gebruikte diatomeeën

In eerste instantie was het de bedoeling het gehele experiment uit te voeren met *Chaetoceros muelleri (*en *Skeletonema costatum)*, maar op dag 10 van het experiment is de algencultuur van *C. muelleri* ingestort en kon niet op tijd opnieuw in worden gezet. Het experiment is daarom voortgezet met *Chaetoceros calcitrans* die nog wel voldoende aanwezig was in het laboratorium. De beide soorten zijn van hetzelfde geslacht en ook qua vorm komen ze grotendeels overeen. Er zit een klein verschil in afmeting: *C. calcitrans* heeft cellen die gemiddeld 2-3µm kleiner zijn dan *C. muelleri* cellen, vandaar ook het verschil in drooggewicht (tabel 5.3). Dit heeft waarschijnlijk weinig invloed gehad op de resultaten, omdat de lijn van groei (fig. 5.2) gestaag verloopt en geen knik vertoont bij de meting van dag 12.

De cultuur van *Skeletonema costatum* is in de loop van het experiment in kwaliteit achteruit gegaan, na 12 dagen begonnen de algen grote clusters te vormen en de cultuur was niet meer steriel. Mede door de clustervorming bezonken deze algen na verloop van tijd, ondanks dat er beluchting plaatsvond in de voertanks. De drooggewichten op dag 0 en de drooggewichten op dag 15 geven dan ook een verdrievoudiging aan, waarbij het organisch deel (AFDW) relatief gestegen is. Dit wijst op de aanwezigheid van andere organismen dan alleen algencellen. De achteruitgang van deze cultuur heeft wellicht invloed gehad op de resultaten, maar figuur 5.2 laat zien dat *Skeletonema costatum* ook al een mindere groei gaf vóór dag 12.

Evaluatie methode

Doordat het mosselbroed zichzelf vastzet op een willekeurige plaats in het doorstroomsysteem kan het zijn dat het broed gevestigd bij de instroom meer voedsel tot zijn beschikking heeft gehad dan het broed bij de uitstroom van het systeem. Bovenstaande kan hebben gezorgd voor de gevonden spreiding in de metingen. Tijdens de metingen is het broed losgehaald en weer teruggezet, dit kan aan de ene kant stress tot gevolg hebben gehad, aan de andere kant heeft het ook gezorgd voor een willekeurige verspreiding van het broed in het systeem.

Doordat er niet gevarieerd kon worden in het toe te dienen volume algensuspensie (vanwege het vaste debiet van de pomp) is -om iedere behandeling hetzelfde voedingratio te kunnen geven- gevarieerd met het gewicht van het broed (zie formule voor volume algen op blz. 28). Hierdoor is het aantal individuen bij de verschillende behandelingen niet gelijk en is de dichtheid

ook een variabele geworden. Peene (2006) heeft in het onderzoek naar groei op verschillende dichtheden geen significante verschillen gevonden. Er mag dus aangenomen worden dat dichtheid geen effect heeft op groei.

De bepaling van het natgewicht van het broed is niet nauwkeurig. Het geeft een indicatie van de toename, maar door het droogdeppen kan de ene keer meer aanhangend water meegewogen worden dan de andere keer. De metingen van het asvrij drooggewicht zijn betrouwbaarder, en er is eerder een significant verschil te vinden. Het nadeel is dat hier de beginmeting niet dezelfde als de eindmeting: er is immers niet met dezelfde individuen gewerkt.

5.4.2 Conclusie

Op basis van de twee diatomeeënsoorten *Chaetoceros muelleri/calcitrans* en *Skeletonema costatum*, kan uit de resultaten geconcludeerd worden dat mosselbroed significant beter groeit op *Chaetoceros muelleri/calcitrans*. De maximum gevonden groei is 2.7mm in 17 dagen.

Uitgaande van de resultaten van de groei op *Chaetoceros muelleri/calcitrans* blijkt dat het voeren boven de pseudofaecesdrempel een negatief effect heeft op de groei.

Naast de gangbare systemen in nursery's zoals upwelling, downwelling en raceway's kan er ook van een simpel recirculatiesysteem gebruikt gemaakt worden. Dit heeft geen negatieve invloed op conditie of groei van het mosselbroed.

6. Algemene conclusie

Aan de hand van de experimenten beschreven onder hoofdstuk 3-5 kunnen de volgende conclusies bijdragen aan het efficiënter voeren van mosselbroed in een nursery.

Phaeodactylum tricornutum, Chaetoceros muelleri en *Skeletonema costatum* hebben allen een andere pseudofaecesdrempel. Hierbij ligt de drempel voor *Phaeodactylum tricornutum* erg hoog, zelfs hoger dan wat er gevonden is voor adulte mosselen. Ook is de pseudofaecesdrempel voor verschillende groottes mosselbroed (gemeten in schelplengte) verschillend. Er bestaat een positief lineair verband tussen de maximum celconcentratie waarbij geen pseudofaecesproductie plaatsvindt (pseudofaecesdrempel) en de schelplengte van het mosselbroed.
Een suspensie van diatomeeën waarbij de celconcentraties op de pseudofaecesdrempel liggen wordt het best opgenomen door mosselbroed. Dit geldt zowel voor mosselbroed van 6-7mm als voor mosselbroed van 10-11mm. De ingestie bij celconcentraties gelijk aan de pseudofaecesdrempel is maximaal. Klein broed (6-7mm) neemt echter *Phaeodactylum tricornutum* als beste op, terwijl groot broed (10-11mm) *Chaetoceros muelleri* het best opneemt.
Een bijkomende conclusie die uit de gegevens getrokken kan worden is dat het kleine broed een relatief hogere filtratiesnelheid heeft dan het grotere broed.
Mosselbroed groeit significant beter op *Chaetoceros spp.* dan op *Skeletonema costatum.* Daarbij kan geconcludeerd worden dat voeren met een celconcentratie boven de pseudofaecesdrempel weinig nut heeft.

De beste manier om mosselbroed in een nursery te voeren is door de algen toe te dienen in concentraties die gelijk zijn aan de pseudofaecesdrempel. Voeren in concentraties boven de pseudofaecesdrempel is verspilling van kostbaar gekweekte algen en draagt niet bij tot een duurzame techniek. Gebruik van een recirculatiesysteem in een nursery voor mosselbroed lijkt naar aanleiding van dit onderzoek goed te werken en dit gegeven kan in de toekomst misschien bijdragen aan verbetering van een duurzame techniek.

Zoals in de inleiding gesteld is, is een hatchery/nursery voor de productie van mosselzaad nog in de experimentele fase. Onderzoeken zoals de experimenten die genoemd staan in dit rapport dragen bij aan het vergroten van de kennis op dit gebied. Als in de toekomst blijkt dat deze techniek werkt, hebben verschillende partijen hier voordeel van:
In eerste instantie de natuur, omdat een vermindering van mosselzaadvisserij betekent dat de bodemfauna niet beschadigd wordt door korren en er voldoende voer overblijft voor verschillende vogels zoals de beschermde eidereend.
Ten tweede hebben de mosselproducenten meer controle op hun producten. Er kan in een hatchery/nursery een soort ‘fokprogramma’ opgesteld worden waarbij geselecteerd wordt op mosselen met het beste kwaliteit vlees, het snelst groeiend zijn en het minst vatbaar voor ziekten en bacteriën.

7. Aanbevelingen

Recirculatiesysteem

Het gebruikte doorstroom/recirculatiesysteem wat onder §5.2 en B5 beschreven staat heeft goede groei van mosselbroed tot resultaat. In het kader van duurzaamheid in de aquacultuur kan het verder uitwerken van een recirculatiesysteem voor mosselbroed (of andere schelpdiersoorten) in een nursery een aanbeveling zijn. In de intensieve viskweek wordt al gebruik gemaakt van geheel of gedeeltelijke recirculatiesystemen. Het water wordt hier m.b.v. biofilters (op basis van bacteriën) gezuiverd en weer hergebruikt in het systeem.
Tot nu toe wordt in nursery's voornamelijk gewerkt met upwelling en downwellingsystemen waarbij de uiteindelijke uitstroom afgevoerd wordt. Recirculatie van deze uitstroom zou twee voordelen hebben: aan de ene kant is er aan de inputzijde minder gefiltreerd zeewater nodig en aan de andere kant gaan er door recirculatie minder kostbaar gekweekte algen verloren. Aan beide kanten dus een grote energiebesparing. Onderzoek hiernaar zou moeten beginnen met het vaststellen van de NOEC (No Effect Concentration) van NH_4 en NO_2^- voor mosselen/schelpdieren. De toxische concentraties liggen voor mosselen op 0.5 $mg.l^{-1}$ NH_4 en 0.05 $mg.l^{-1}$ NO_2^- (pers.med. Kamermans). Experimenten met verschillende dichtheden mosselbroed zouden dan uit moeten wijzen hoe een recirculatiesysteem voor een nursery haalbaar kan worden gemaakt.

Afmeting mosselbroed

Een tweede aanbeveling zou zijn om de experimenten zoals deze beschreven staan in hoofdstuk 3 tm 5 uit te voeren met kleinere afmetingen mosselbroed. Uit de praktijk blijkt dat mosselbroed van 3mm in principe al naar buiten gebracht kan worden, zeker als het gaat om hangculturen. De nurseryfase zou in dit geval dan alleen de periode van 0,25 – 3 mm moeten overbruggen. Als het optimale dieet wat de grootste groei geeft voor deze schelplengte bekend is, dan zou de nursery voor mosselteelt hier weer een stap verder mee zijn.

Algensoorten en combinaties daarvan

Om een nog beter beeld te krijgen betreffende een optimaal dieet met maximale groei in een nursery kunnen de genoemde experimenten uitgevoerd worden met andere algensoorten. Voor larven is bekend dat een combinatie van flagellaten en diatomeeën een grotere en snellere groei veroorzaken dan een eenzijdig dieet. Dit zou ook kunnen opgaan voor mosselbroed. Geschikte soorten zijn o.a. te vinden in §2.4. Vooraf aan het groei experiment zou dan de pseudofaecesdrempel voor die betreffende algensoorten bepaald moeten worden.

Aanbevelingen betreffende methode

- Vooraf aan de experimenten kan het mosselbroed beter gedurende een lange periode (minimaal een week) geacclimatiseerd worden op de te testen algensoorten. Hierdoor kan uitgesloten worden dat wisselende resultaten ontstaan omdat de mosselen door gewenning een andere opname of pseudofaecesdrempel krijgen, dan eigenlijk het geval zou zijn zonder acclimatisering.

- Een batchcultuur van algen heeft verschillende fasen: een groeifase, stationaire fase en een afstervende fase (zie fig 2.4). De drooggewichten en kwaliteit van deze verschillende fasen kunnen anders zijn en mogelijk van invloed op de groei. Regelmatige monitoring van algenkwaliteit gedurende het gehele experiment is een aanbeveling die noodzakelijk is om groeiresultaten van mosselbroed zo betrouwbaar mogelijk neer te kunnen zetten en of te kunnen verklaren.

- Het bepalen van de pseudofaecesdrempel kan betrouwbaarder worden gemaakt als er gemeten wordt in een doorstroomsysteem in plaats van in een stagnant systeem. Hierdoor wordt uitgesloten dat door filtratie van de mosselen de celconcentratie in het systeem achteruit gaat, waardoor de pseudofaecesdrempel hoger kan uitvallen dan eigenlijk het geval is.

8. Verklarende woordenlijst

AFDW	Asvrijdrooggewicht: DW – AW, dit is het organisch deel
Algencultuur	Water met een dichte concentratie gekweekte algen, die groeien o.i.v. licht en nutriënten
Aquacultuur	Proces waarbij vis, schelp- en schaaldieren kunstmatig en gecontroleerd opgekweekt worden
AW	Asgewicht: DW na 4 uur in de asoven op 540°C, dit is het anorganisch deel
Bodemperceel	Gedeelten in rijkswateren met een groot voedselaanbod (plankton) die gepacht worden door mosselproducenten die hier mosselen op de bodem kweken
BMI	Body Mass Index, conditie index voor mosselen gebaseerd op lengte en gewicht
Broed	Juveniele mosselen van 0,25 tot 10mm die metamorfose ondergaan hebben en gevestigd zijn op het substraat
Broedstock	Ouderdieren die gebruikt worden voor de voortplanting (productie ei-/zaadcellen)
Byssusdraden	Draden –gevormd door de byssusklier- waarmee de mossel zich vastzet
Cilia	Zweephaartjes die voor het voortbewegen van/of in het water zorgen
Conditioneren	Paairijp maken van broedstock: veel voeren bij lage temperaturen
Diatomeeën	Kiezelwieren, een klasse van eencellige wieren met een extern skelet van siliciumdioxide
DW	Drooggewicht: na 48 uur op 70°C in de droogstoof
Faeces	Uitwerpselen van de mossel uitgestoten via uitstroomopening
Filtratiesnelheid	Het volume water wat volledig van deeltjes gefilterd wordt per tijdseenheid
Flagellaten	Eencellige organismen die gekenmerkt worden door een of meer zweepstaarten waarmee ze zich voortbewegen
Hatchery	Broedhuis voor schelpdieren met gecontroleerde condities
Hematocytometer	Telkamer voor onder de microscoop waarmee celconcentratie vastgesteld wordt
Ingestie	Opname: de hoeveelheid voedsel die bij de mossel in het verteringssysteem terecht komt
Interfilament	Ruimte tussen de afzonderlijke lamellen van de kieuwen
Korren	Bodemvisserij: sleepnetten schrapen hierbij over de bodem, om organismen op de bodem te kunnen vangen
Larven	Mossel van 3 tot 25 dagen oud, vrij zwemmend in de waterkolom
Mantel	Vleesachtige bekleding van de binnenkant van de schelphelften
Metamorfose	Verandering van larve naar juveniel
Mondlappen	Orgaan dat zorgt voor transport van voedsel vanuit de kieuwen naar de mond of, indien pseudofaeces, weer terug naar buiten
Nat gewicht	Gewicht van de mossel inclusief schelp en evt. aanhangend water
Nursery	Kinderkamer voor schelpdierbroed
Paairijpheid	Staat waarin de geslachtsorganen zodanig goed ontwikkeld zijn dat paaien kan plaatsvinden
Plankton	Microscopisch kleine organismen in het water
Pseudofaeces	Onbruikbare en/of overtollige deeltjes die op de kieuwen komen en worden uitgestoten via instroom opening
Pseudofaecesdrempel	Maximum concentratie waarbij de mossel kan filtreren zonder pseudofaeces te produceren
Retentietijd	Verblijftijd van het water in een systeem
Saliniteit	Zoutgehalte van het water
Substraat	Ondergrond of oppervlakte
Stockcultuur	Geheel steriele en reine cultuur van algen, vaak een kleine hoeveelheid
Triploïdie	Tijdens de bevruchting wordt voorkomen dat de eicel meiose ondergaat, waardoor een 2n eicel wordt bevrucht met een 1n zaadcel, resultaat: 3n en onvruchtbaar
Velum	Orgaan voorzien v. trilhaartjes waarmee een larve zich voortbeweegt en voedt
Vleesgewicht	Gewicht van de mossel zonder schelp
Zaad	Juveniele mosselen van 10 tot 25mm, groot genoeg om uitgezaaid te worden op percelen

9. Referenties

Bayne, B.L. (1976) Marine mussels, their ecology and physiology. International Biology Programme 10, Cambridge. 506 pp.

Beninger, P.G. et al. (1995) Labial palps of the blue mussel *Mytilus edulis* (Bivalvia: Mytilidae). Marine Biology 123, pp 293-303.

Brake, J., Davidson, J., and Paris, J. (2004) Field observations on growth gametogenesis and sexratio of triploid and diploid *Mytilus edulis*. Aquaculture Vol. 236, pp 179 -192.

Cahen, D. (2005) Didactisch dossier Mosselen natuur. Te vinden op: www.natuurwetenschappen.be/educa/pdf/dossiers/nl/didactisch_dossier_mosselen.pdf

Epifanio, C.E. et al. (1981) A comparison of *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana* as foods for the oyster *Crassostrea virginica*. Aquaculture Vol. 23, pp 247- 253.

Foster-Smith, R.L. (1975) The effect of concentration of suspension on the filtration rates and pseudofaecal production for *Mytilus edulis* L., *Cerastoderma edule* L. and *Venerupis pullastra* (Montagu). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. Vol. 17, pp. 1–22.

Famme, P., Riisgard, H.U. & Jorgensen, C.B. (1986) On direct measurement of pumping rates in the mussel *Mytilus edulis*, Marine Biology Vol. 92, pp 323-327.

Frandsen, R.P. & Dolmer, P. (2002) Effects of substrate type on growth and mortality of blue mussels (*Mytilus edulis*) exposed to the predator *Carcinus maenas*. Marine Biology Vol. 141, pp 253–262

Frechette, M. & Grant, J. (1991) An insitu estimation of the effect of wind-driven resuspension on the growth of the mussel *Mytilus edulis* L. Journal of experimental Marine Biology and Ecology Vol. 148, pp 201-213.

Gosling, E. (1992) The mussel *Mytilus*: Ecology, Physiology, Genetics and Culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science 25, 589 pp.

Gosling, E. (2003) Bivalve molluscs: Biology, Ecology and Culture. Fishing News Books, Blackwell Publishing, 443 pp.

Helm, M., Bourne, N & Loviatelli, A.(2004) Hatchery culture of bivalves: a practical manual, FAO Fisheries (Food and agriculture organisation) Technical Paper 471.

Hoff, F.H. & Snell, T.W. (1987) Plankton Culture Manual. Florida Aqua Farms, Inc. 162 pp.

Jorgensen, C.B. (1990) Bivalve Filter Feeding. Olsen & Olsen, Fredensborg, Denemarken.

Kamermans, P. et al (in prep). Ruimtelijke variatie in zaadinvang. PRODUS 1c Rapportage

Kamermans, P. Blanco, A., Nevejan, N., Geijsen, P. (2006) Operationaliseren Schelpdierhatchery/nursery bij de Roem van Yerseke. RIVO Rapport C021/06

Kiorboe, T., Mohlenberg, F. en Nohr, O. (1981) Effect of suspended bottom material on growth and energetics in *Mytilus edulis*. Marine Biology Vol. 61, pp 283-288.

Laing, I. & Millican, P.F. (1986) Relative growth and growth efficiency of *Ostrea edulis* spat fed various algal diets. Aquaculture Vol. 54, pp 245-262.

Mohlenberg, F. & Riisgard, H.U. (1979) Filtration rate, using a new indirect technique, in thirteen species of suspension-feeding bivalves. Marine Biology Vol. 54, pp 143-148.

Peene, F. (2006) Optimalisatie van een nursery systeem voor de kweek van mosselbroed en een algenkweek systeem ten behoeve van deze nursery. Imares intern rapport 06.008

Petersen, J.K. et al. (2004) Intercalibration of mussel *Mytilus edulis* clearance measurements. Marine Ecology Progress Series Vol. 267, pp 187-194.

Pfeiffer, T.J. & Rush, K.A. (2000) An intergrated system for microalgal and nursery seed clam culture. Aquaculture Engeneering Vol. 24, pp 15-31.

Pinã, P. et al. (2005) Survival, development and growth of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* protozoea larvae, fed with monoalgal and mixed diets. Aquaculture Vol. 253, pp 523– 530

Riisgard, H.U. & Randlov, A. (1981) Energy budgets, Growth and Filtration Rates in *Mytilus edulis* at Different Algal Concentrations. Marine Biology Vol. 61, pp 227-234.

Riisgard, H.U. (1991) Filtration rate and growth in the blue mussel, *Mytilus edulis* Linneaus 1758: dependence on algal concentration. Journal of Shellfish Research Vol. 10, pp 29-35.

Smaal, A.C. & van Stralen, M.R. (1990) Average annual growth and condition of mussels as a function of food source. In: D.S. McClusky, V.N. de Jonge & J. Pomfret, North Sea – Estuaries Interactions. Hydrobiologia Vol. 195, pp 179-188.

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995) Biometry, the principles and practice of statistics in biological research, 887 pp.

Thompson, R.J. & Bayne, B.L. (1974) Some Relationships between Growth, Metabolism and Food in the Mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology Vol. 27, pp 317-326.

Walne P.R. (1974) Culture of Bivalves Molluscs: 50 years Experience at Conwy. Fishing News Books Ltd., Oxford.

Ward, J.E. & Shumway, S.E. (2004) Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology Vol. 300, pp 83– 130.

Widdows, J., Fieth, P. and Worral, C.M., (1979) Relationships between seston, available food and feeding activity in the common mussel *Mytilus edulis*. Marine Biology Vol. 50, pp. 195–207.

Williams (2002) The many ways to determine the weight of shellfish or their parts: an attempt to determine conversion factors. Intern alterra report, pp 3-19.

Winter, J.E. (1978) Fundamental knowledge of suspension-feeding in lamellibrachiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems. Aquaculture Vol. 13, pp 1-33.

Winter, J.E & Langton, R.W. (1975) Feeding experiments with Mytilus edulis L. at small laboratory scale. I. The influence of the total amount of food ingested and food concentration on growth. In : Proc. 10th Eur. Symp. Mar. Biol., Ostend, Belgium, Sept. 17-23, pp 565-581.

Websites

Zoekmachine algemeen	www.google.com
Wetenschappelijke zoekmachine	www.scirus.com
Productschap Vis	www.pvis.nl/mosselkantoor
Blue Seed	www.blueseedproject.com
Wageningen Imares	www.wageningenimares.wur.nl
Wageningen digitale bibliotheek	library.wur.nl
FAO (food agricultural organization)	www.fao.org
Utex Image bank	www.utex.org

Bijlage 1. Drooggewicht bepaling van algen

Een bekend volume uit de algencultuur is in triplo gefiltreerd over een voorgedroogd en voorgewogen Whatman GF/C filter m.b.v van een Büchner opstelling verbonden aan een vacuümpomp. De nominale maaswijdte van een Whatman GF/C filter is 1,2 µm. De filters zijn nagespoeld met een oplossing van Ammonium Formate (0,5M) om het zout te verwijderen.
Als blanco is (ook in triplo) het water gefiltreerd dat gebruikt werd als basis voor de algencultuur. Voor *Skeletonema costatum* en *Chaetoceros muelleri* was dit 0,2 µm gefiltreerd zeewater en voor *Phaeodactylum tricornutum* ongefiltreerd zeewater.

De filters zijn gedurende 48 uur gedroogd op 70°C in de droogstoof. Nadien zijn ze gewogen op de analytische balans (Sartorius Basic op 10^{-4} g nauwkeurig).

Berekening drooggewicht (DW):

$$DW_{alg} = \frac{DW_A - DW_C}{N \cdot V}$$

Waarbij:
DW_{alg} = drooggewicht g.cel^{-1}
DW_A = gemiddelde drooggewicht dat op de filters met algen achter is gebleven
DW_C = gemiddelde drooggewicht dat op de blanco (controle)filters is achter gebleven
N = algenconcentratie cellen.ml^{-1}
V = gefiltreerde volume in ml

Het filter is nadien nog 4 uur verast bij een temperatuur van 450°C en na afkoeling is wederom op de analytische balans het asgewicht bepaald.

$$AFDW = DW - AW$$

DW = gemiddelde gewicht (g) dat op de filters is achter gebleven na 48h in de droogstoof
AW = gemiddelde gewicht dat (g) op de filters is achtergebleven na 4 uur verassen

Het asvrij drooggewicht is op dezelfde wijze berekend als het drooggewicht:

$$AFDW_{alg} = \frac{AFDW_A - AFDW_C}{N \cdot V}$$

Bijlage 2. Drooggewicht bepaling van mosselbroed

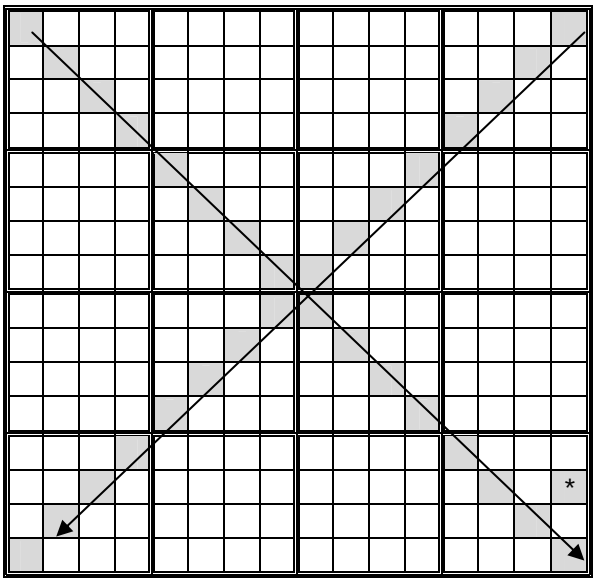
Per groep van 10 individuen is het mosselbroed gedurende 5 minuten gekookt om het vlees makkelijk uit de schelp te kunnen verwijderen. Het vlees is in voorgewogen aluminium bakjes in de stoof op 70°C gedurende 48 uur gedroogd. Nadien is het drooggewicht bepaald op de analytische balans. Vervolgens is het vlees voor 4 uur verast bij 540°C voor 4 uur en na afkoeling is het asgewicht bepaald.

Berekening van het asvrij drooggewicht:

$$AFDW = DW - AW$$

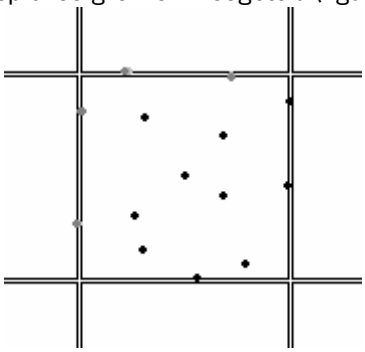
Bijlage 3. Tellen van algen m.b.v. hematocytometer

Een hematocytometer is een dik preparaatglaasje met twee telkamers (fig. B.3.1) op de oppervlakte, met een dekglaasje wordt dit afgedekt zodat iedere kamer een inhoud heeft van 0,1mm^3.



Figuur B3.1 Een van de twee telkamers zoals deze eruit ziet onder de microscoop.

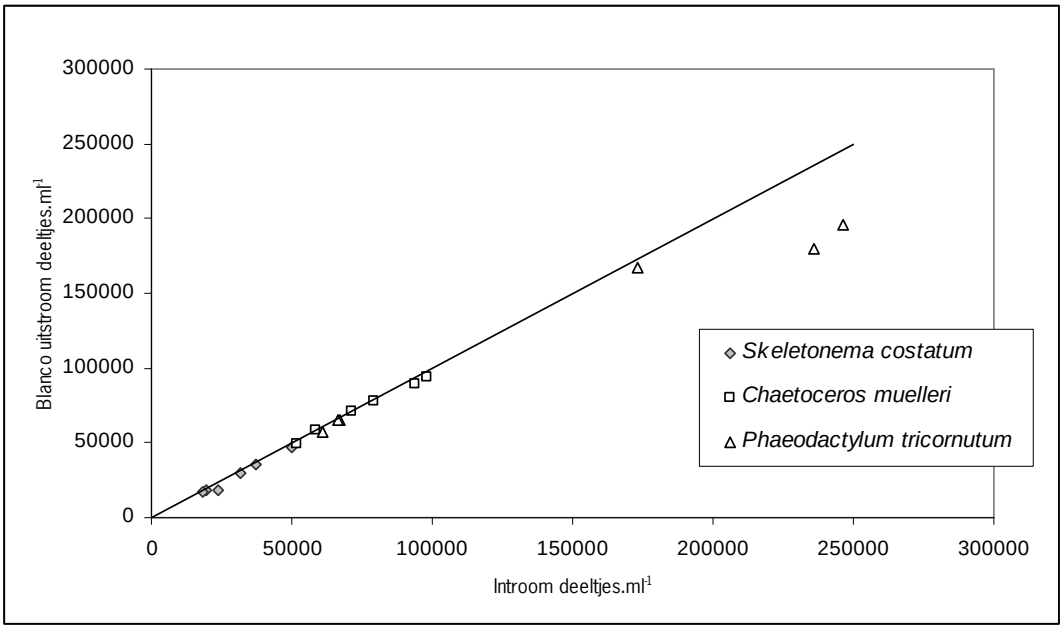
Een klein volume van de algencultuur is m.b.v. een pipet onder het dekglaasje in de telkamers gebracht. (Indien de algencultuur te dicht was is deze eerst verdund). Van de 144 vakken zijn er 25 geteld: twee diagonalen van 12 vakken plus 1 vak (figuur B3.1). In elk vak zijn de cellen op twee grenzen meegeteld (figuur B3.2)



Figuur B3.2 De zwarte bolletjes worden in het midden geteld en op twee grenzen van het vak.

Het totaal van de 25 vakken geeft het aantal algencellen per 0,1 µl. De telling is nogmaals herhaald in de tweede telkamer, zodat in duplo geteld is. Van beide tellingen is het gemiddelde genomen en vermenigvuldigd met 10.000 om het aantal cellen per ml te bepalen.

Bijlage 4. Controle doorstroomsysteem

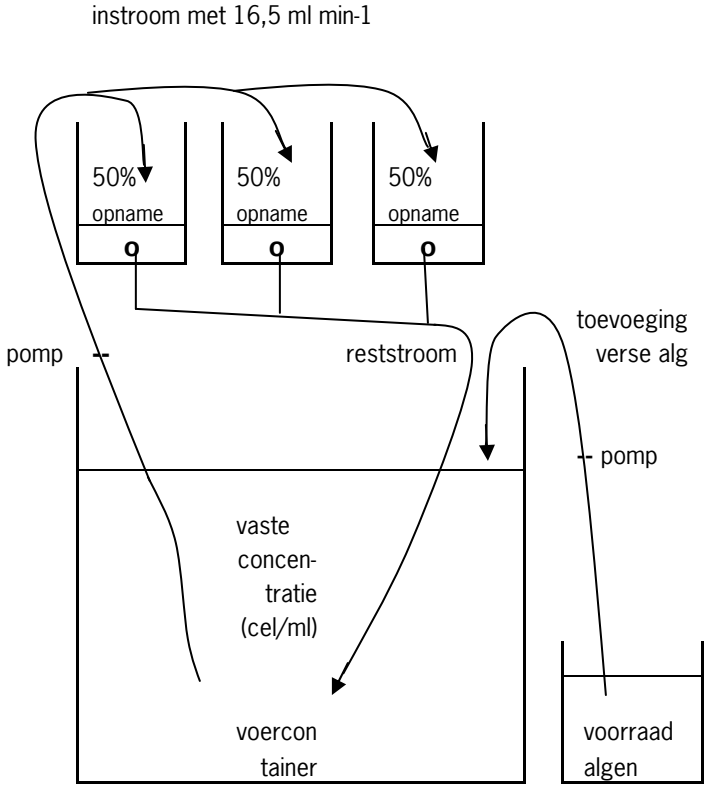


Figuur B4.1 Overeenkomst tussen de instroomwaarden en de blanco uitstroomwaarden van het opname experiment.

Aangetoond wordt in bovenstaand figuur dat het verschil tussen de instroom en de blanco uitstroom in het experiment betreffende opname (beschreven in hoofdstuk 4) minimaal is. Hiermee kan geconcludeerd worden dat een pompsnelheid van 16,5 $ml.min^{-1}$ voldoende was om te voorkomen dat algen zich ophopen op de bodem of in hoeken van het doorstroom-systeem.

Bijlage 5. Toelichting op het recirculatiesysteem

Het recirculatiesysteem zoals dit gebruikt is tijdens het experiment waarbij de groei op verschillende concentraties en verschillende diatomeeën werd onderzocht:



Figuur B5.1 Schematische overzicht per behandeling van het recirculatiesysteem gebruikt bij het experiment voor de groei op verschillende concentraties en verschillende diatomeeën soorten.

In de voercontainer zit een suspensie van 1µm gefiltreerd zeewater met een vaste concentratie algen. Vanuit de voercontainer wordt m.b.v. een slangenpomp een vast debiet (16,5 ml.min^{-1}) naar het mosselbroed gepompt. Het mosselbroed neemt een deel van de algen op uit het water. In het voorbeeld (fig B5.1) is een opname van 50% genoemd. Deze opname was voor de verschillende behandelingen anders en is berekend m.b.v. de filtratiesnelheden op de verschillende algensoorten die gevonden zijn voor mosselbroed van 6-7mm in hoofdstuk 4. De reststroom (het water met de algen die niet opgenomen zijn) wordt door vrij verval (dus ook met 16,5 ml.min^{-1}) teruggeleidt naar de voercontainer. Door toevoeging van algen wordt de concentratie in de voercontainer gelijk gehouden. Dit is als volgt gedaan:

Doordat berekend is hoeveel opname er plaatsvindt is ook de celconcentratie in de reststroom bekend. Aan de hand hiervan kan de hoeveelheid algencellen berekend worden die toegevoegd moet worden om de concentratie in de voercontainer gelijk te houden.
De voorraad algen is dagelijks gevuld met algen uit de gekweekte algencultuur, nadat de cultuur geteld is op aantal cellen.ml^{-1}. Aan de hand van deze celconcentratie is het debiet van de pomp ingesteld die de voercontainer moet aanvullen.

De voercontainer met het gerecirculeerde water is 2 maal in de week ververst om ophoping van toxische concentraties van stoffen als nitriet en ammonium te vermijden.

Bijlage 6. Statistische analyse

B6.1 Experiment pseudofaecesdrempel

Phaeodactylum tricornutum

Tabel B6.1a Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.916(a)	.839	.826	1.50807

a Predictors: (Constant), Pf_drempel

Tabel B6.1b ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	142.698	1	142.698	62.745	.000(a)
	Residual	27.291	12	2.274		
	Total	169.990	13			

a Predictors: (Constant), Pf_drempel
b Dependent Variable: Lengte_broed

Chaetoceros muelleri

Tabel B6.1c Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.883(a)	.779	.755	2.26599

a Predictors: (Constant), Pf_drempel

Tabel B6.1d ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	163.234	1	163.234	31.790	.000(a)
	Residual	46.212	9	5.135		
	Total	209.447	10			

a Predictors: (Constant), Pf_drempel
b Dependent Variable: Lengte_broed

Skeletonema costatum

Tabel B6.1e Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.799(a)	.638	.593	2.66104

a Predictors: (Constant), Pf_drempel

Tabel B6.2f ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	100.032	1	100.032	14.127	.006(a)
	Residual	56.649	8	7.081		
	Total	156.681	9			

a Predictors: (Constant), Pf_drempel
b Dependent Variable: Lengte_broed

B6.2 Experiment opname

Tabel B6.2a Multiple Comparisons
Dependent Variable: Opname groot broed Phaeodactylum
Bonferroni Post Hoc

(I) Perc_pfdrempel	(J) Perc_pfdrempel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
80	90	-.40308973	2.721648567	1.000	-9.35038734	8.54420789
	100	-8.67567270	2.721648567	.057	-17.62297031	.27162492
90	80	.40308973	2.721648567	1.000	-8.54420789	9.35038734
	100	-8.27258297	2.721648567	.068	-17.21988059	.67471465
100	80	8.67567270	2.721648567	.057	-.27162492	17.62297031
	90	8.27258297	2.721648567	.068	-.67471465	17.21988059

Tabel B6.2b Multiple Comparisons
Dependent Variable: Opname groot broed Chaetoceros
Bonferroni Post Hoc

(I) Perc_pfdrempel	(J) Perc_pfdrempel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
80	90	-5.40466667	2.972089949	.357	-15.17527910	4.36594576
	100	-10.72700000(*)	2.972089949	.034	-20.49761243	-.95638757
90	80	5.40466667	2.972089949	.357	-4.36594576	15.17527910
	100	-5.32233333	2.972089949	.371	-15.09294576	4.44827910
100	80	10.72700000(*)	2.972089949	.034	.95638757	20.49761243
	90	5.32233333	2.972089949	.371	-4.44827910	15.09294576

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel B6.2c Multiple Comprisons
Dependent Variable: Opname groot broed Skeletonema
Bonferroni Post Hoc

(I) Perc_pfdrempel	(J) Perc_pfdrempel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
80	90	-5.76571667	5.136888991	.914	-22.65300887	11.12157554
	100	-14.62753000	5.136888991	.088	-31.51482221	2.25976221
90	80	5.76571667	5.136888991	.914	-11.12157554	22.65300887
	100	-8.86181333	5.136888991	.406	-25.74910554	8.02547887
100	80	14.62753000	5.136888991	.088	-2.25976221	31.51482221
	90	8.86181333	5.136888991	.406	-8.02547887	25.74910554

Tabel B6.2d Multiple Comparisons
Dependent Variable: Opname klein broed Phaeodactylum
Bonferroni Post Hoc

(I) Perc_pfdrempel	(J) Perc_pfdrempel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
80	90	.35825000	5.125015496	1.000	-16.49000862	17.20650862
	100	-1.71598333	5.125015496	1.000	-18.56424196	15.13227529
90	80	-.35825000	5.125015496	1.000	-17.20650862	16.49000862
	100	-2.07423333	5.125015496	1.000	-18.92249196	14.77402529
100	80	1.71598333	5.125015496	1.000	-15.13227529	18.56424196
	90	2.07423333	5.125015496	1.000	-14.77402529	18.92249196

Tabel B6.2e Multiple Comparisons
Dependent Variable: Opname klein broed Chaetoceros
Bonferroni Post Hoc

(I) Perc_pfdrempel	(J) Perc_pfdrempel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
80	90	11.09348333	5.221462642	.233	-6.07184096	28.25880762
	100	7.61749000	5.221462642	.585	-9.54783429	24.78281429
90	80	-11.09348333	5.221462642	.233	-28.25880762	6.07184096
	100	-3.47599333	5.221462642	1.000	-20.64131762	13.68933096
100	80	-7.61749000	5.221462642	.585	-24.78281429	9.54783429
	90	3.47599333	5.221462642	1.000	-13.68933096	20.64131762

Tabel B6.2f Multiple Comparisons
Dependent Variable: Opname klein broed Skeletonema
Bonferroni Post Hoc

(I) Perc_pfdrempel	(J) Perc_pfdrempel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
80	90	.58921000	5.049302137	1.000	-16.01014435	17.18856435
	100	-8.09281333	5.049302137	.480	-24.69216768	8.50654102
90	80	-.58921000	5.049302137	1.000	-17.18856435	16.01014435
	100	-8.68202333	5.049302137	.409	-25.28137768	7.91733102
100	80	8.09281333	5.049302137	.480	-8.50654102	24.69216768
	90	8.68202333	5.049302137	.409	-7.91733102	25.28137768

Tabel B6.2g Multiple Comparisons
Dependent Variable: Opname groot broed
Bonferroni Post Hoc

(I) Algsoort	(J) Algsoort	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Chaet	Phaeo	10.49301667(*)	3.082006365	.007	2.56103867	18.42499466
	Skele	6.63707000	3.082006365	.125	-1.29490800	14.56904800
Phaeo	Chaet	-10.49301667(*)	3.082006365	.007	-18.42499466	-2.56103867
	Skele	-3.85594667	3.082006365	.669	-11.78792466	4.07603133
Skele	Chaet	-6.63707000	3.082006365	.125	-14.56904800	1.29490800
	Phaeo	3.85594667	3.082006365	.669	-4.07603133	11.78792466

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel B6.2h Multiple Comparisons
Dependent Variable: Opname klein broed
Bonferroni Post Hoc

(I) Algsoort	(J) Algsoort	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Chaet	Phaeo	-10.64425556(*)	3.122487048	.007	-18.68041630	-2.60809481
	Skele	7.15119444	3.122487048	.093	-.88496630	15.18735519
Phaeo	Chaet	10.64425556(*)	3.122487048	.007	2.60809481	18.68041630
	Skele	17.79545000(*)	3.122487048	.000	9.75928926	25.83161074
Skele	Chaet	-7.15119444	3.122487048	.093	-15.18735519	.88496630
	Phaeo	-17.79545000(*)	3.122487048	.000	-25.83161074	-9.75928926

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel B6.2i Tests of Between-Subjects Effects
Dependent Variable: CRpergramnat Phaeodactylum

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.931(a)	1	.931	183.614	.000
Intercept	13.171	1	13.171	2598.045	.000
Lengte_broed	.931	1	.931	183.614	.000
Error	.081	16	.005		
Total	14.183	18			
Corrected Total	1.012	17			

a R Squared = .920 (Adjusted R Squared = .915)

Tabel B6.2j Tests of Between-Subjects Effects
Dependent Variable: CRpergramnat Chaetoceros

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.124(a)	1	.124	15.170	.001
Intercept	12.232	1	12.232	1493.286	.000
Lengte_broed	.124	1	.124	15.170	.001
Error	.131	16	.008		
Total	12.488	18			
Corrected Total	.255	17			

a R Squared = .487 (Adjusted R Squared = .455)

Tabel B6.2k Tests of Between-Subjects Effects
Dependent Variable: CRpergramnat Skeletonema

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.004(a)	1	.004	.453	.510
Intercept	8.309	1	8.309	993.303	.000
Lengte_broed	.004	1	.004	.453	.510
Error	.134	16	.008		
Total	8.447	18			
Corrected Total	.138	17			

Tabel B6.2L Multiple Comparisons
Dependent Variable: CRpergramnat
Bonferroni Post Hoc

(I) Algsoort	(J) Algsoort	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Chaet	Phaeo	-.031040	.0553257	1.000	-.167999	.105920
	Skele	.144941(*)	.0553257	.035	.007982	.281901
Phaeo	Chaet	.031040	.0553257	1.000	-.105920	.167999
	Skele	.175981(*)	.0553257	.007	.039021	.312940
Skele	Chaet	-.144941(*)	.0553257	.035	-.281901	-.007982
	Phaeo	-.175981(*)	.0553257	.007	-.312940	-.039021

* The mean difference is significant at the .05 level.

B6.3 Experiment groei

Groei in lengte

Tabel B6.3a Multiple Comparisons
Dependent Variable: Toename_lengte op dag 17
Bonferroni Post Hoc

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CmA	CmB	.6756(*)	.07893	.000	.4651	.8860
	SkA	1.6025(*)	.09559	.000	1.3476	1.8574
	SkB	1.4237(*)	.08417	.000	1.1992	1.6482
CmB	CmA	-.6756(*)	.07893	.000	-.8860	-.4651
	SkA	.9269(*)	.08402	.000	.7029	1.1510
	SkB	.7481(*)	.07077	.000	.5594	.9369
SkA	CmA	-1.6025(*)	.09559	.000	-1.8574	-1.3476
	CmB	-.9269(*)	.08402	.000	-1.1510	-.7029
	SkB	-.1788	.08897	.275	-.4161	.0584
SkB	CmA	-1.4237(*)	.08417	.000	-1.6482	-1.1992
	CmB	-.7481(*)	.07077	.000	-.9369	-.5594
	SkA	.1788	.08897	.275	-.0584	.4161

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel B6.3b Tests of Between-Subjects Effects
Dependent Variable: Toename_lengte voor de verschillende algsoorten

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	50.018(a)	1	50.018	238.507	.000
Intercept	521.943	1	521.943	2488.844	.000
Alg	50.018	1	50.018	238.507	.000
Error	39.216	187	.210		
Total	670.219	189			
Corrected Total	89.234	188			

a R Squared = .561 (Adjusted R Squared = .558)

Groei in nat gewicht

Tabel B6.3c Tests of Between-Subjects Effects
Dependent Variable: Growth_rate voor de verschillende algsoorten

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.001(a)	1	.001	61.822	.000
Intercept	.019	1	.019	1063.878	.000
Alg	.001	1	.001	61.822	.000
Error	.000	10	1.775E-05		
Total	.020	12			
Corrected Total	.001	11			

a R Squared = .861 (Adjusted R Squared = .847)

Tabel B6.3d Multiple Comparisons
Dependent Variable: Growth_rate voor de verschillende behandelingen
Bonferroni Post Hoc

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CmA	CmB	.00688183	.002501014	.150	-.00181889	.01558256
	SkA	.02485797(*)	.002501014	.000	.01615725	.03355870
	SkB	.02027938(*)	.002501014	.000	.01157866	.02898011
CmB	CmA	-.00688183	.002501014	.150	-.01558256	.00181889
	SkA	.01797614(*)	.002501014	.001	.00927541	.02667687
	SkB	.01339755(*)	.002501014	.004	.00469682	.02209828
SkA	CmA	-.02485797(*)	.002501014	.000	-.03355870	-.01615725
	CmB	-.01797614(*)	.002501014	.001	-.02667687	-.00927541
	SkB	-.00457859	.002501014	.627	-.01327932	.00412214
SkB	CmA	-.02027938(*)	.002501014	.000	-.02898011	-.01157866
	CmB	-.01339755(*)	.002501014	.004	-.02209828	-.00469682
	SkA	.00457859	.002501014	.627	-.00412214	.01327932

Based on observed means.
* The mean difference is significant at the .05 level.

Groei in droog gewicht

Tabel B6.3e Multiple Comparisons
Dependent Variable: Growth_rate_AFDW
Bonferroni Post Hoc

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
CmA	CmB	.01767089(*)	.001821343	.000	.01104884	.02429294
	SkA	.04969366(*)	.001821343	.000	.04307160	.05631571
	SkB	.03809264(*)	.001821343	.000	.03147059	.04471470
CmB	CmA	-.01767089(*)	.001821343	.000	-.02429294	-.01104884
	SkA	.03202277(*)	.001629059	.000	.02609982	.03794571
	SkB	.02042175(*)	.001629059	.000	.01449881	.02634470
SkA	CmA	-.04969366(*)	.001821343	.000	-.05631571	-.04307160
	CmB	-.03202277(*)	.001629059	.000	-.03794571	-.02609982
	SkB	-.01160101(*)	.001629059	.001	-.01752396	-.00567807
SkB	CmA	-.03809264(*)	.001821343	.000	-.04471470	-.03147059
	CmB	-.02042175(*)	.001629059	.000	-.02634470	-.01449881
	SkA	.01160101(*)	.001629059	.001	.00567807	.01752396

* The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel B6.3f Multiple Comparisons
Dependent Variable: BMI
Bonferroni Post Hoc

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Begin	CmA	.00013375	.000165520	1.000	-.00047696	.00074447
	CmB	.00044709	.000148046	.145	-.00009915	.00099333
	SkA	.00047251	.000148046	.110	-.00007373	.00101875
	SkB	.00046092	.000148046	.125	-.00008532	.00100716
CmA	Begin	-.00013375	.000165520	1.000	-.00074447	.00047696
	CmB	.00031334	.000165520	.909	-.00029737	.00092405
	SkA	.00033876	.000165520	.710	-.00027196	.00094947
	SkB	.00032716	.000165520	.795	-.00028355	.00093788
CmB	Begin	-.00044709	.000148046	.145	-.00099333	.00009915
	CmA	-.00031334	.000165520	.909	-.00092405	.00029737
	SkA	.00002542	.000148046	1.000	-.00052082	.00057166
	SkB	.00001382	.000148046	1.000	-.00053242	.00056006
SkA	Begin	-.00047251	.000148046	.110	-.00101875	.00007373
	CmA	-.00033876	.000165520	.710	-.00094947	.00027196
	CmB	-.00002542	.000148046	1.000	-.00057166	.00052082
	SkB	-.00001159	.000148046	1.000	-.00055783	.00053465
SkB	Begin	-.00046092	.000148046	.125	-.00100716	.00008532
	CmA	-.00032716	.000165520	.795	-.00093788	.00028355
	CmB	-.00001382	.000148046	1.000	-.00056006	.00053242
	SkA	.00001159	.000148046	1.000	-.00053465	.00055783

Based on observed means.

Tabel B6.3g Multiple Comparisons
Dependent Variable: Lengte op dag 0
Bonferroni Post Hoc

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
BeginAFD	CmA	-.0050	.12217	1.000	-.3515	.3415
	CmB	.0478	.10739	1.000	-.2568	.3524
	SkA	.9333(*)	.12760	.000	.5714	1.2953
	SkB	.2975	.11371	.095	-.0251	.6200
CmA	BeginAFD	.0050	.12217	1.000	-.3415	.3515
	CmB	.0528	.10088	1.000	-.2334	.3389
	SkA	.9383(*)	.12217	.000	.5918	1.2849
	SkB	.3025	.10758	.054	-.0027	.6076
CmB	BeginAFD	-.0478	.10739	1.000	-.3524	.2568
	CmA	-.0528	.10088	1.000	-.3389	.2334
	SkA	.8856(*)	.10739	.000	.5809	1.1902
	SkB	.2497	.09045	.063	-.0069	.5062
SkA	BeginAFD	-.9333(*)	.12760	.000	-1.2953	-.5714
	CmA	-.9383(*)	.12217	.000	-1.2849	-.5918
	CmB	-.8856(*)	.10739	.000	-1.1902	-.5809
	SkB	-.6359(*)	.11371	.000	-.9584	-.3134
SkB	BeginAFD	-.2975	.11371	.095	-.6200	.0251
	CmA	-.3025	.10758	.054	-.6076	.0027
	CmB	-.2497	.09045	.063	-.5062	.0069
	SkA	.6359(*)	.11371	.000	.3134	.9584

Based on observed means.
* The mean difference is significant at the .05 level.

Verantwoording

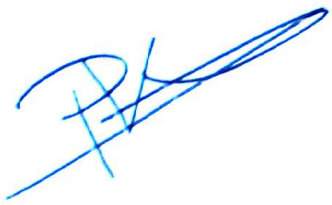
Dit rapport voor

Opdrachtgever: Wageningen IMARES
Afdeling Aquacultuur
Korringaweg 5
Postbus 77
4400 AB Yerseke

Projectnummer: 4394100701

is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door de stagebegeleider.

Akkoord: Dr. P. Kamermans
Senioronderzoeker Aquacultuur



Handtekening: _____

Datum: 4 juni 2007

Aantal exemplaren: 10
Aantal pagina's: 51
Aantal tabellen: 24
Aantal figuren: 28
Aantal bijlagen: 6