

Algenkweek met natuurlijk water en water uit het visbassin

M.C. Quist

Intern RIVO rapport nr. 03.021
28 november 2003

Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV

Postbus 68

1970 AB IJmuiden

Tel.: 0255 564646

Fax.: 0255 564644

Internet: postkamer@rivo.wag-ur.nl

Postbus 77

4400 AB Yerseke

Tel.: 0113 672300

Fax.: 0113 573477

Intern RIVO rapport

Nummer: 03021

Algenkweek met natuurlijk water en water uit een visbassin

Auteur

Functie

M.C. Quist

Stagiair

Datum:

28 november 2003

Aantal exemplaren:	08
Aantal pagina's:	55
Aantal tabellen:	15
Aantal figuren:	04
Aantal bijlagen:	09

Dit rapport mag niet geciteerd worden.

Inhoudsopgave:

Inleiding rapport	4
Inhoudelijk deel.....	6
Samenvatting	6
Nederlands	6
Engels	7
Inleiding	8
Materiaal.....	10
Onderzoek 1 natuurlijk water.....	10
Onderzoek 2 water uit het visbassin.....	10
Methode	11
Onderzoek 1 natuurlijk water.....	11
Werkwijze.....	13
Onderzoek 2 water uit het visbassin.....	14
Deel 1: Bepaling maximaal aantal cellen met chemisch voedingsmedium.	14
Deel 2: Bepaling maximaal aantal cellen met water uit het visbassin	14
Werkwijze.....	16
Deel 1: Bepaling maximaal aantal cellen met chemisch voedingsmedium.	16
Deel 2: Bepaling maximaal aantal cellen met water uit het visbassin	17
Resultaten.....	18
Onderzoek 1 natuurlijk water.....	18
Experiment 1.1	18
Experiment 1.2	19
Experiment 1.3	20
Onderzoek 2 water uit het visbassin.....	21
Experiment 2.1	21
Experiment 2.2	21
Experiment 2.3.....	22
Experiment 2.4	23
Conclusie en discussie	24
Onderzoek 1 natuurlijk water.....	24
Onderzoek 2 water uit het visbassin.....	25
Aanbevelingen	27
Onderzoek 1 natuurlijk water.....	27
Onderzoek 2 water uit het visbassin.....	27
Tabellen en figuren	28
Onderzoek 1 natuurlijk water.....	28
Experiment 1.1	28
Experiment 1.2	33
Experiment 1.3	36
Eindresultaat	40
Onderzoek 2 water uit het visbassin.....	41
Experiment 2.1	41
Experiment 2.2.....	41
Experiment 2.3.....	42
Experiment 2.4	43
Referentielijst	44

Bijlage 1: Foto's <i>Skeletonema costatum</i> natuurlijk water experiment	45
Bijlage 2: Foto's algensoorten experiment met water uit het visbassin.....	46
Bijlage 3: Proefopstelling natuurlijk water	47
Bijlage 4: Algenlijst.....	48
Bijlage 5: Tekening algen.....	50
Bijlage 6: Proefopstelling experiment met water uit het visbassin.....	51
Bijlage 7: <i>Skeletonema costatum</i> in de Oosterschelde.....	52
Bijlage 8: Tabellen experiment met water uit het visbassin	53
Bijlage 9: Begrippenlijst.....	55

Inleiding rapport

Het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek is onderdeel van de Animal Sciences Group. De Animal Sciences Group is op haar beurt weer een onderdeel van Wageningen Universiteit & Researchcentrum (zie figuur 1).

Wageningen Universiteit & Researchcentrum voert in opdracht van de overheid een aantal taken uit ter ondersteuning van wet- en regelgeving. De Animal Sciences Group is in Nederland de organisatie waar men terecht kan voor kennis over dieren, de dierlijke productieketen en een verantwoorde inzet van dieren. Deze organisatie is onderverdeeld in vier andere organisaties waar het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek er één van is.

Binnen het Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek zijn vijf onderzoeksafdelingen, waaronder het Centrum voor Schelpdier Onderzoek. Het CSO is gevestigd in Yerseke. Deze organisatie bestaat uit een kleine groep mensen die onder leiding staat van een afdelingshoofd. Binnen de organisatie zijn 4 projectteams. De projectteams zijn: Kwaliteit onder leiding van M. Poelman, Duurzame Visserij onder leiding van T. Bult, Survey's onder leiding van J. Craeymeersch en Cultuur Technologie/Ocean Farming onder leiding van M. Verdegem/P. Kamermans. Binnen de organisatie zijn zo'n 20 mensen werkzaam. Het werk van het CSO is onder andere geconcentreerd op de productie gebieden van mosselen in de Nederlandse kustgebieden.

Er is niet echt sprake van een stageafdeling binnen de organisatie van het CSO. Een stagiair komt binnen een projectteam te werken. Binnen het projectteam heeft de stagiair een begeleider. Andere werknemers binnen het team zijn ook beschikbaar voor vragen en hulp bij het project van de stagiair.

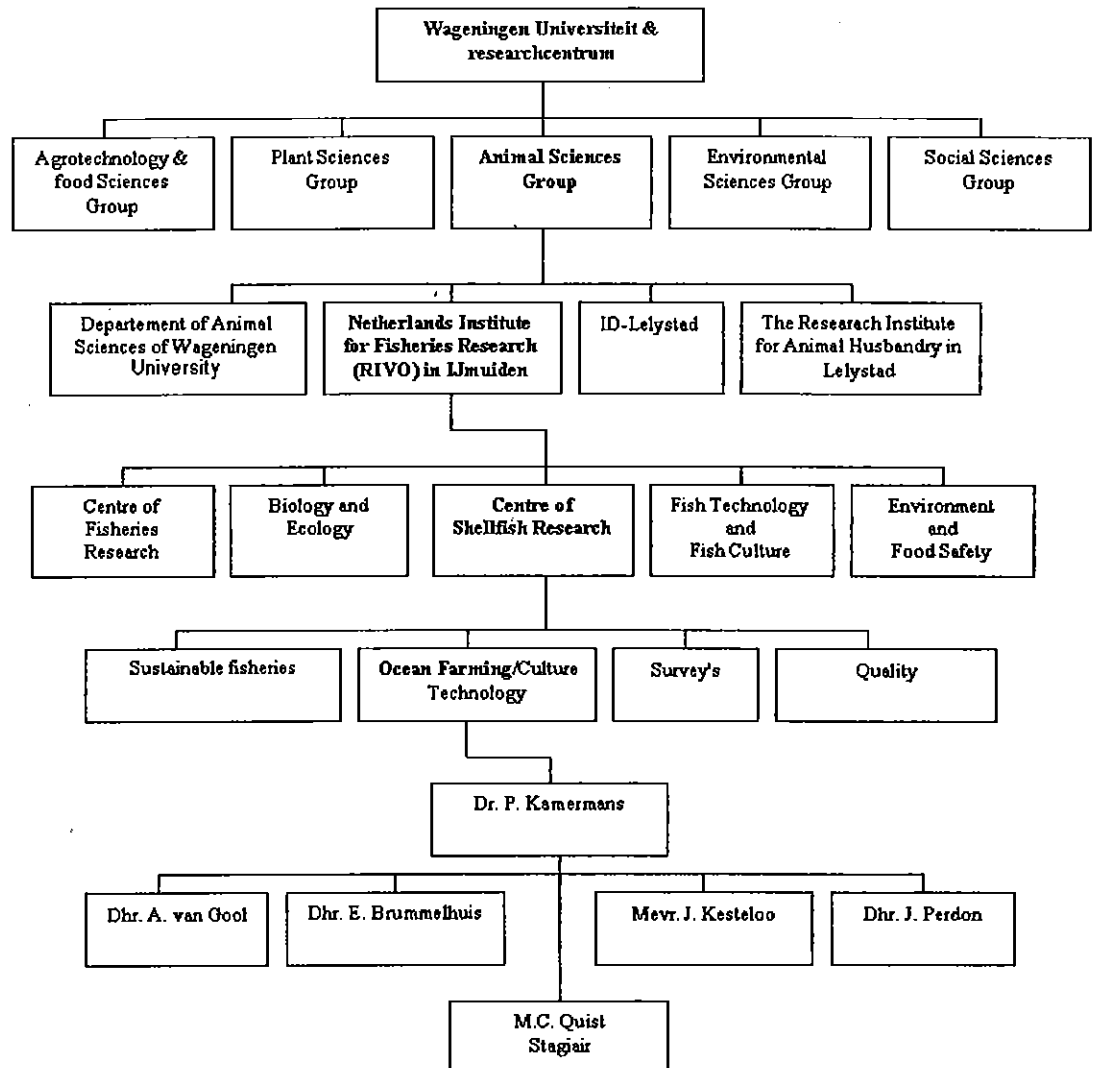
Een nieuw recentelijk gestart project van het CSO, onder leiding van Dr. P. Kamermans, is het opzetten van een kleine mossel- en oesterzaad hatchery. Binnen dit project zijn door het samengestelde team (hatchteam) twee vragen geselecteerd voor de stagiair. In de eerste plaats wil het team weten of het mogelijk is om vanuit natuurlijk water met een bepaald voedingsmedium (door Hussenot en Brossard (1995), tabel 1a) de diatomee *Skeletonema costatum* (zie bijlage 1) als overheersend algensoort te verkrijgen. Ook wil het team graag weten of het mogelijk is om het water uit het visbassin van de tarbotkwekerij (ook gelegen op het industrieterrein in Yerseke) te gebruiken als voedingsmedium voor de algensoorten *Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* (zie bijlage 2). Door middel van experimenten wordt getracht de volgende probleemstellingen te beantwoorden.

Probleemstelling 1 natuurlijk water:

Wat wordt de overheersende algensoort als je natuurlijk water verrijkt met een bepaald voedingsmedium?

Probleemstelling 2 afvalwater tarbotkwekerij:

Is het mogelijk om water uit het visbassin van een tarbotkwekerij te gebruiken als voedingsmedium voor de kweek van de algensoorten die het CSO gebruikt?



Figuur 1: Beknopte organogram organisaties en afdelingen

Inhoudelijk deel

Samenvatting

Nederlands

Het Centrum voor Schelpdier Onderzoek wil het mogelijk maken om op kleine schaal mossel- en oesterzaad te kweken in de vorm van een kleine hatchery. Als onder andere, andere afnemers van mossel- en oesterzaad zien dat het op kleine schaal mogelijk is om in Nederland zaad te kweken, verwacht het CSO dat er meer vraag naar onderzoek op dit gebied komt.

Om een functionerende hatchery op te zetten moeten er ten eerste algenculturen gekweekt worden. Ten tweede moeten er mossel- en oesterlarven verkregen worden. Er wordt nu met vier gekozen algen soorten gekweekt om de larven te gaan voeden (*Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* en *Chaetoceros gracilis*). Het CSO wil echter weten of je bij toevoeging van nutriënten (een vooraf bepaalde samenstelling) aan natuurlijk water de soort *Skeletonema costatum* gaat domineren. Het broed, de fase die na de larven komt, eet namelijk dan ook grotere algen dan de soorten die aan de larven werden gevoed en daar is *Skeletonema costatum* een belangrijke kandidaat voor. Daarnaast is het CSO geïnteresseerd in het gebruik van water uit het visbassin van een tarbotkwekerij als mogelijk voedingsmedium voor het kweken van de algenculturen. Als blijkt dat het water uit het visbassin ook geschikt is als voedingsmedium en minder tijd kost dan het maken van de chemische samenstelling kan worden overwogen om dit water te gaan gebruiken.

Om antwoord te krijgen op deze twee vragen zijn er een tweetal onderzoeken bedacht die meer duidelijkheid moeten gaan scheppen. Om te kijken of je vanuit natuurlijk water met toevoeging van een vooraf bepaald voedingsmedium de soort *Skeletonema costatum* kan verkrijgen zijn verschillende experimenten ingezet onder verscheidene condities. De proefopstellingen zijn in duplo ingezet en met een blanco proefopstelling in duplo. Binnen zijn bollen en zakken voor een verlichtingsbalk weggezet, waarbij de bollen werden belucht en de zakken niet. Buiten zijn zakken op de grond gezet en zijn er zakken in het bassin gehangen. Om te kijken of je water uit het visbassin als voedingsmedium kan gebruiken zijn er experimenten ingezet onder verscheidene condities. Bij dit onderzoek is gewerkt met drie algensoorten namelijk *Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana*. De proefopstellingen zijn in duplo gedaan en met een blanco proefopstelling in duplo. Voor de proefopstellingen is het water uit het visbassin gefiltreerd met een 5µ filter. In het eerste experiment (voor alle drie de soorten) en in het derde experiment (alleen voor de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana*), is het water uit het visbassin ook nog met een 2µ filter gefilterd. Bij de niet blanco proefopstellingen is aan het water uit het visbassin een spore metalen mix (TMX) en vitamine B12 toegevoegd. Alle opstellingen bestonden uit bollen met beluchting en stonden voor een verlichtingsbalk. Het onderzoek met natuurlijk water is drie keer ingezet. Alle drie de experimenten brachten andere overheersende algensoorten voort dan de soort *Skeletonema costatum*. Hierbij zit ook een diatomee die in bepaalde proefopstellingen alle drie de keren terug kwam als overheersende soort. Deze diatomee zou mogelijk als voedsel kunnen dienen voor de larven in de hatchery. Het onderzoek met het water uit het visbassin is ook drie keer ingezet. Uit de experimenten blijkt dat de algenculturen na bepaalde behandelingen van het water uit het visbassin even goed kunnen groeien als met het chemisch voedingsmedium. Het water uit het visbassin is in de laatste fase van de algenkweek in de hatchery dan ook goed inzetbaar.

Engels

The Centre of Shellfish Research wants to produce mussel and oyster seed on a small scale in the form of a small hatchery. When buyers of mussel and oyster seed will see that the CSO is capable of cultivating mussel and oyster seed on a small scale on the shore, the CSO expects that they will ask for more research on this subject.

To create a functional hatchery you need to cultivate in the first place algae. Secondly mussel and oyster larvae have to be cultivated. The CSO cultivates four species of algae to feed the obtained larvae, which are *Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros gracilis*. The CSO wants to know if the species *Skeletonema costatum* will dominate when seawater is enriched with a known substance of nutrients. This because the brood, the phase after the larvae, also eats larger algae than the present algae species and *Skeletonema costatum* is a species that is an important candidate. Beside that the CSO also wants to know if it is possible to use water from the fish basin of the fish farm near the company as potential food supply for the algae cultures. If it points out to be that the water from the fish basin is a suitable food supply and it takes less time than a chemical food supply it can be considered to start using this water.

To find an answer to these questions two tests have been set up to create more clarity. To see if we can get the species *Skeletonema costatum* out of seawater with enrichment of a known substance of nutrients, we set up different experiments under diverse circumstances. The experiments were set up in duplo with also a duplo control. Inside we used bottles and plastic bags in front of a light brays. The bottles were connected to an air pump. Outside we used plastic bags on the ground and plastic bags which were hanging in the water basin. To see if we can use water from the fish basin as food supply for the algae cultures we have set up experiments under diverse circumstances. With this test we worked with three kinds of algae species which are *Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri* and *Isochrysis galbana*. The experiments were set up in duplo with also a duplo control. For the experiments the water from the fish basin went through a filtration with a 5µ filter. At the first experiment (for all three the species) and the second experiment (for *Pavlova lutheri* and *Isochrysis galbana*), the water from the fish basin also went through a filtration with a 2µ filter. For the non control experiments we put in extra nutrients in the form of TMX and vitamin B12. All experiments were in bottles which were standing in front of light brays and connected to an air pump.

The test with seawater has been carried out three times. All three the experiments showed different dominating alga species than *Skeletonema costatum*. Under these species was also a diatom that in all three the experiments, in particular parts, ended up to be the dominating alga species. This diatom can be able to serve as possible food for the larvae in the hatchery. The test with water from the fish basin has also been set in three times. The experiments show that the alga cultures can grow well after fixed treatments of the water from the fish basin. There for the water from the fish basin can do well in the last phase of cultivating the alga species within the hatchery.

Inleiding

In hatcheries worden natuurlijke omstandigheden kunstmatig nagebootst om onder andere de schelpdieren (mosselen en oester) te laten paaien. In de natuur laten schelpdieren in het voorjaar grote hoeveelheden ei- en zaadcellen vrij doordat de temperatuur van het water stijgt. De eicellen van de vrouwelijke schelpdieren en de zaadcellen van de mannelijke schelpdieren vinden elkaar en vormen in het water zwevende larven. Tussen drie en zes weken veranderen de larven in kleine schelpdieren, ook wel het broed genoemd. Het broed zakt naar beneden en vestigt zich op harde oppervlakten, zoals paaltjes en steentjes, de zogenaamde broedval. (Kamermans & Brummelhuis, 2002)

In hatcheries worden de seizoenen veel korter op elkaar nagebootst, zodat de scheldieren meerdere keren per jaar kunnen paaien. Op deze manier ontstaat er een continu lopende productie van schelpdierzaad.

In de natuur worden de vrijgekomen larven gevoed door de aanwezige algen in het stromend zeewater. In hatcheries worden de larven in bakken gekweekt. In deze bakken is geen continue toevoer van stromend water en dus geen continue toevoer van voedsel. Om de larven te voeden worden er in hatcheries dus ook algenculturen gekweekt. In de praktijk worden hiervoor vier soorten gebruikt die gelden als een ideale mix voor het voeden van larven, omdat ze alle benodigde onverzadigde vetzuren bevatten. Deze vier soorten zijn *Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri*, *Isochrysis galbana* en *Chaetoceros calcitrans*. De eerste drie soorten zijn flagellaten en de laatste soort is een diatomee.

Zoals de larven in de natuur worden gevoed door de aanwezige algen in het zeewater, worden de algen in de natuur gevoed door de aanwezige nutriënten in het zeewater. In hatcheries worden echter de geselecteerde algen in grote hoeveelheden en zo snel mogelijk gekweekt. Om snel en in grote hoeveelheden algen te kweken zullen er kunstmatig nutriënten in een juiste verhouding aan de te kweken algencultuur moeten worden toegevoegd.

De hatchery van het CSO is opgezet door en wordt onderhouden door het hatchteam (P. Kamermans, E. Brummelhuis, A. van Gool, J. Perdon, J. Kesteloo en tijdelijk (stagiair) M.C. Quist). In deze hatchery worden drie soorten flagellaten gekweekt (*Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana*) en één diatomee (*Chaetoceros gracilis*).

Binnen dit project spelen zich verscheidene processen af. Het gaat hierbij om de algenkweek, paaien van mosselen en oesters en het voeden van de verkregen larven met de gekweekte algenculturen. Bij het algenkweken worden de hierboven genoemde algensoorten in een monocultuur opgekweekt. Deze monoculturen worden als voedsel gegeven aan de pas verkregen mossel en oesterlarven. Deze drie soorten algen zijn relatief klein en zodoende geschikt voor de kleine larven. Echter als de larven groter worden hebben ze meer voedsel nodig, dus meer algen. Aangezien de algensoorten klein zijn moeten er veel algenculturen gekweekt worden. In dit stadium, dus als de larven zich hebben ontwikkeld tot broed, zou het makkelijker zijn om grotere algensoorten te hebben om als voedsel te geven. Een belangrijke kandidaat hiervoor is de diatomee *Skeletonema costatum*. Deze algensoort komt voor in natuurlijk water. Door Hussenot en Brossard (1995) is er een voedingsmedium bepaald (zie tabel 1a) die bij toevoeging aan natuurlijk water zou moeten leiden tot de diatomee *Skeletonema costatum* als overheersende algensoort.

De monoculturen worden gevoed met een voedingsmedium. Dit voedingsmedium bestaat uit een chemische samenstelling die in het laboratorium is bereid (zie tabel 2). Vlakbij het CSO zit een tarbotkwekerij. In het water van het visbassin zitten bepaalde nutriënten die ook in het chemisch bereide voedingsmedium zitten. Het maken van een voedingsmedium kost tijd en geld. Het water uit het visbassin kost niets en hoeft alleen gehaald te worden. Enkele behandelingen van het water uit het visbassin zullen echter noodzakelijk zijn om het bruikbaar(der) te maken. Dit maakt het water uit het visbassin tot een potentieel voedingsmedium voor de monoculturen.

Probleemstelling 1:

Wat wordt de overheersende algensoort als je natuurlijk water verrijkt met een bepaald voedingsmedium?

Probleemstelling 2:

Is het mogelijk om water uit het visbassin van een tarbotkwekerij te gebruiken als voedingsmedium voor de kweek van de algensoorten die het CSO gebruikt?

Ten aanzien van beide probleemstellingen zijn er onder verschillende condities experimenten meerdere keren ingezet. Het gaat hierbij onder andere om beluchting, voedingsmedium en temperatuur. De ontwikkelingen in deze experimenten zijn regelmatig bijgehouden. De resultaten hiervan zijn verwerkt en bij elkaar gevoegd in tabellen en grafieken. Het inhoudelijk deel bestaat naast deze inleiding nog uit zes andere delen namelijk methode, materiaal, resultaten, conclusie & discussie, aanbevelingen en referentielijst. Beide onderzoeken worden zo van begin tot eind doorlopen.

Materiaal

Onderzoek 1 natuurlijk water

- 4 bollen
- 12 zakken
- Luchtpomp
- Slangen met tussenstukjes
- Licht (TL-balken) met tijdschakelaar
- Voedingsmedium voor 32 liter algencultuur
- 64 liter zeewater
- Lekkage bak(ken)
- Microscoop
- Cuvetten
- Pipetten
- Algenlijst (bijlage 4)
- Tekening algen (bijlage 5)

Onderzoek 2 water uit het visbassin

- 15 bollen (+ extra voor doorenting)
- Stock van de 3 algensoorten (minimaal 35 ml per soort)
- Autoclaaf
- Broedstoof
- Flessen (voor 7 liter) voor in de autoclaaf
- Ethanol
- Aluminiumfolie
- 7 liter zeewater
- Jerrycans
- Luchtpomp
- Slangen met tussenstukjes
- Licht (TL-balken) met tijdschakelaar
- 750 ml algencultuur van iedere soort
- 48 liter afvalwater
- Hachkit
- Filter van 5 μ (eventueel met pomp)
- Filter van 2 μ met pomp
- Voedingsmedium (zie tabel 3)
- Microscoop
- Gebufferde formaline (4%)
- Cuvetten
- Pipetten
- Formule om aantal cellen per ml te berekenen

Methode

Onderzoek 1 natuurlijk water

Er wordt zowel binnen als buiten gekweekt (zie bijlage 3). Binnen kunnen namelijk bepaalde limiterende factoren kunstmatig beïnvloed worden terwijl buiten alles afhankelijk is van natuurlijke factoren. Binnen wordt gekweekt in plastic zakken en bollen. Het werken met zakken werkt sneller op korte termijn, terwijl het werken met bollen meer tijd vergt, maar wel degelijker is en ook meer geschikt voor langere termijn. Bollen moeten namelijk schoongemaakt worden en zakken zijn meteen bruikbaar. In de bollen circuleert het water door middel van een aansluiting op een pomp. De zakken worden zonder aansluiting op een pomp weggezet. In de zakken kan het water namelijk niet goed rond circuleren zoals dat in de bollen wel gebeurt. De periode van licht en donker wordt met een tijdschakelaar geregeld. De verhouding is 10 uur licht en 14 uur donker per dag. Buiten wordt alleen gekweekt in plastic zakken. Hierbij worden plastic zakken op de grond gelegd en worden er zakken in het bassin net onder het wateroppervlak gehangen, dit om te zien wat voor invloed temperatuurschommelingen hebben op de overheersende algensoort(en).

Alle proefopstellingen worden in duplo uitgevoerd, dus ook de blanco. In de blanco proefopstellingen zal geen voedingsmedium worden toegevoegd en wordt er gekeken wat daarvan het resultaat is. Om de algen in de niet blanco te laten groeien wordt er een voedingsmedium toegevoegd. Het voedingsmedium wordt in een bestaande verhouding gebruikt. Deze gegevens staan in tabel 1a. Het voedingsmedium voor dit onderzoek wordt gemaakt vanuit andere chemicaliën dan is voorgeschreven in tabel 1a. In tabel 1b staan de chemicaliën vernoemd die in dit onderzoek gebruikt worden en hoeveel daarvan nodig is om het gewenste voedingsmedium te verkrijgen. Het voedingsmedium van Hussenot en Brossard (1995) is echter een samenstelling voor 100 kuub algencultuur en wordt per dag toegevoegd.

Dit onderzoek wordt veel kleinschaliger. In de experimenten wordt gewerkt met proefopstellingen van vier liter waarmee minimaal twee weken wordt gekweekt. De samenstelling voor het benodigde voedingsmedium staat in tabel 1c.

De experimenten worden drie maal uitgevoerd. Meerdere keren is noodzakelijk om betrouwbaardere resultaten te verkrijgen voor het onderzoek en zo een nauwkeurigere conclusie te kunnen trekken.

Tabel 1a: Nutriënten aanvoer voor een 100 m³ algencultuur. (Hussonot en Brossard, 1995)

Nutriënten	Naam	Dagelijkse toevoeging (voor 100 m ³) (mg)	Concentratie (mg/l)
N-NH ₄ Cl	Ammoniumchloride	808	150
P-PO ₄	Trifosfaat	240	15
silicium	Silicaat	1591	60
Fe-FeCl ₃	IJzerchloride	41	3
Mn-MnSO ₄	Mangaansulfaat	27	1,5

Tabel 1b: Benodigde hoeveelheid chemicaliën voor onderzoek natuurlijk water.

Chemicaliën	Mol stof nodig	Mol chemicaliën	Gram chemicaliën
NaH ₂ PO ₄	157.9	157.9	21.79
NaNO ₃	280.43	280.43	23,83
Silicium			60
C ₆ H ₈ O ₇ * Fe * NH ₃	18.496	18.496	4.90
MnCl ₂	9.94	9.94	1.97

Tabel 1c: Nutriëntenaanvoer voor onderzoek natuurlijk water.

Nutriënten	Mg/L/dag	Mg/4L/dag	Mg/experiment (12 dagen)	Conc. (mg/l)	MI toevoegen	Nodig per experiment (ml)
N	8.1	32.4	388.8	15000	25.9	207.4
P	2.4	9.6	115.2	15000	7.7	61.4
Silicium	16	64	768	60000	12.8	102.4
Fe	0.41	1.64	19.68	3000	6.6	52.5
Mn	0.27	1.08	12.96	1500	8.6	69.1

Werkwijze

- Neem 4 bollen
 - 4 bollen om binnen te zetten
 - één duplo behandeling
 - één duplo blanco
- Neem 12 zakken
 - 4 zakken om binnen te zetten
 - één duplo behandeling
 - één duplo blanco
 - 4 zakken om buiten te zetten
 - één duplo behandeling
 - één duplo blanco
 - 4 zakken om in het water te hangen, net onder het wateroppervlak
 - één duplo behandeling
 - één duplo blanco
- Zet voor de bollen het luchtsysteem klaar door de slangen en de tussenstukjes in elkaar te zetten
- Zet voor het binnen project het licht en de tijdschakelaar klaar
- Maak voor 32 liter algencultuur voedingsmedium op basis van tabel 1b en 1c.
- Haal 64 liter zeewater
- Vul alle bollen en zakken met 4 liter zeewater
- Voeg aan alle niet blanco bollen en zakken het benodigde voedingsmedium toe
- Zet de bollen voor de verlichtingsbalken en sluit het pompsysteem aan
- Zet de zakken voor de verlichtingsbalken en in een bak voor eventuele lekkage
- Zet de zakken buiten weg
- Hang de zakken in het bassin
- Laat alles minimaal 2 weken staan (tot het benodigde resultaat behaald is)
- Bekijk regelmatig onder de microscoop (met bijlagen 4 en 5) wat de dominerende algensoort(en) is(zijn)
- Verwerk de gegevens in een logboek en tabel
- Begin het experiment weer opnieuw

Onderzoek 2 water uit het visbassin

Deel 1: Bepaling maximaal aantal cellen met chemisch voedingsmedium.

Voor de start van de experimenten met water uit het visbassin wordt eerst het maximaal aantal cellen per ml per algensoort (*Tetraselmis suecica*, *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana*) gedurende een periode van vijftien dagen bepaald met het chemisch voedingsmedium (tabel 2). Ten opzichte van het bepaalde maximum met dit voedingsmedium kan worden gekeken hoe het groeiproces met behulp van water uit het visbassin verloopt. Om beide delen te kunnen bepalen moeten er eerst algenculturen worden gekweekt.

Uit de Oosterschelde wordt zeewater gehaald. Dit water wordt gefiltreerd met een 2µ filter om zoveel mogelijk deeltjes uit het water te filteren. Na het filtreren gaat het zeewater in geschikte glazen flessen (voor in de autoclaaf) de autoclaaf in om alle nog aanwezige levende deeltjes te doden. Nu is het zeewater steriel en kan het gebruikt worden voor het medium. De bollen die gebruikt gaan worden voor het kweken van de culturen moeten ook steriel zijn. De bollen worden schoongemaakt met ethanol en gaan daarna in de broedstoof. De bollen worden daarna afgedekt met aluminiumfolie. Om de algenculturen te kweken is er een voedingsmedium nodig. In tabel 2 (stock g/l) staat hoe dit voedingsmedium wordt gemaakt. Met de verkregen stock (van het NIOO) van de drie algensoorten kan de kweek van de algenculturen zo steriel mogelijk worden opgezet. Per soort wordt 35 ml stock in de steriele bollen gedaan. Hieraan wordt 350 ml van het steriele zeewater toegevoegd met het in juiste verhouding staande voedingsmedium (berekend vanuit tabel 2). De deksels die op de bollen worden geplaatst worden ook eerst schoongemaakt met ethanol. De bollen worden voor een verlichtingsbalk gezet en aangesloten op een beluchtingpomp. Na ongeveer een week kunnen de culturen zo steriel mogelijk worden aangelengd met een factor 10 (van 350 naar 3500 ml) met steriel zeewater en het in de juiste verhouding daarbij behorende voedingsmedium (berekend vanuit tabel 2). Nu kan voor vijftien dagen de groei van de algenculturen worden bepaald en daaruit het maximum aantal cellen per ml. De algenculturen worden op dezelfde wijze door geënt als dat het in het beginstadium werd aangelengd om voldoende algencultuur te verkrijgen voor het experiment met water uit het visbassin.

Deel 2: Bepaling maximaal aantal cellen met water uit het visbassin

Vanuit het visbassin wordt water gehaald. Indien mogelijk wordt op de eerste dag de samenstelling van N en P in het water uit het visbassin bepaald. Het water wordt eerst gefiltreerd door een 5 µ filter om de grotere aanwezige algen en andere grotere deeltjes er uit te filteren. Daarna gaat het water door een 2µ filter om zoveel mogelijk van de overgebleven kleinere algen en andere kleinere deeltjes uit het water te filteren en zo de concurrentie voor de toe te voegen algenculturen zo veel mogelijk te beperken.

Alle experimenten worden in duplo uitgevoerd, dus ook de blanco proefopstelling. Aan de blanco proefopstellingen zal geen extra voedingsmedium worden toegevoegd en wordt er gekeken wat daarvan het resultaat is. Van het water uit het visbassin wordt vier liter in de bollen gedaan. Aan de bollen met de niet blanco worden voedingsstoffen toegevoegd in de vorm van een spore metalen mix (TMX) en vitamine B12 (zie tabel 3 en 4). Dit om het effect van de spore elementen te bepalen op de groei van de drie algensoorten. Aan alle bollen wordt daarna de benodigde algencultuur toegevoegd. De bollen worden binnen weggezet voor een lichtbalk met tijdschakelaar (zie bijlage 6). De verhouding van licht en donker is 10 uur licht zijn en 14 uur donker. Bovendien worden alle bollen aangesloten op een beluchtingpomp.

De experimenten worden drie maal uitgevoerd. Meerdere keren is noodzakelijk om betrouwbaardere resultaten te verkrijgen voor het onderzoek en zo een nauwkeurigere conclusie te kunnen trekken.

Tabel 2: Chemisch medium voor flagellaten

Chemisch media			
Chemicaliën	Stock g/l	MI stock/5000ml medium	Conc. Medium
$\text{Na}_3\text{-citrate}/\text{Na}_2\text{-EDTA}$	3/0,5	5	0,003/0,0005
NaNO_3	150	25	0,75
Trace Metal Mix (A5+Co, zie tabel 6)		5	
$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}/\text{Na}_2\text{CO}_3$	20/20	5	0,02/0,02
$\text{Fe-NH}_4\text{-citrate}$	3	5	0,003
Vitamine B12 (cyanocobalamin)	0,02	5	0,00002

Tabel 3: Media voor flagellaten voor het onderzoek met water uit het visbassin

Toevoeging aan niet blanco van het onderzoek		
Chemicaliën	Stock g/l	MI stock/ 5000 ml medium
TMX (A5+Co, zie tabel 4)		5
Vitamine B12 (Cyanocobalamin)	0,02	5

Tabel 4: Samenstelling TMX A5+Co

Trace Metal Mix A5 + Co	
	Stock in g/l
H_3BO_3	2,86
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,222
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,39
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,079
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0494

Werkwijze

Deel 1: Bepaling maximaal aantal cellen met chemisch voedingsmedium.

- Haal 7 liter zeewater
- Filter 7 liter zeewater met de 2µ filter
- Doe het gefiltreerd zeewater in de flessen voor de autoclaaf
- Zet de flessen in de autoclaaf
- Maak de 3 bollen schoon met ethanol
- Plaats de bollen in de broedstoom
- Sluit de bollen af met aluminiumfolie
- Maak voor 1050 ml algencultuur voedingsmedium (zie tabel 2)
- Zet voor de bollen het luchtsysteem klaar door de slangen en de tussenstukjes in elkaar te zetten
- Zet het licht en de tijdschakelaar klaar
- Doe van iedere stock 35 ml in een bol
- Voeg aan iedere bol 350 ml steriel zeewater + het bijbehorend voedingsmedium toe
- Maak voordat de bol afgesloten wordt, het deksel met ethanol schoon
- Plaats de bollen voor de verlichtingsbalken en sluit de beluchtingpomp aan
- Leng na ongeveer een week de culturen aan met een factor 10 (35 naar 350 ml)
- Bepaal gedurende 15 dagen, dagelijks met de microscoop het aantal algen per ml
 - Pak 1 ml algencultuur met behulp van een (automatische)pipet
 - Doe 1 ml algencultuur in de cuvet
 - Voeg 1 á 2 druppels formaline toe
 - Laat de cuvet 20 á 30 minuten staan
 - Plaats de cuvet onder de microscoop bij een vergroting van 6,3 x 40
 - Tel het aantal cellen in het lensvakje (0,06 mm²) van de microscoop
 - Reken het aantal getelde cellen per 0,06 mm² om naar cellen per ml
 - Aantal cellen per 0,06 mm² x 8343 = aantal cellen per ml
- Ent de algenculturen door tot er voldoende aanwezig is om het experiment met water uit het visbassin te starten

Deel 2: Bepaling maximaal aantal cellen met water uit het visbassin

- Haal water uit het visbassin
- Filter het water door een 5 μ en daarna door een 2 μ filter
- Neem 12 bollen
 - 4 bollen voor de *Tetraselmis suecica*
 - 2 bollen voor aangevuld water uit het visbassin
 - 2 bollen voor blanco experiment
 - 4 bollen voor de *Pavlova lutheri*
 - 2 bollen voor aangevuld water uit het visbassin
 - 2 bollen voor blanco experiment
 - 4 bollen voor de *Isochrysis galbana*
 - 2 bollen voor aangevuld water uit het visbassin
 - 2 bollen voor blanco experiment
- Zet het licht met de tijdschakelaar klaar
- Zet voor de bollen het luchtsysteem klaar door de slangen en de tussenstukjes in elkaar te zetten
- Maak voor 24 liter algencultuur voedingsmedium (zie tabel 3)
- Neem per algensoort 2 liter algencultuur van dezelfde ent
- Neem per bol 500 ml algencultuur
- Vul iedere bol van de duplo niet blanco experimenten aan met 4 liter water uit het visbassin + de extra voedingsstoffen
- Vul iedere bol van de duplo blanco experimenten aan met 4 liter water uit het visbassin
- Plaats de bollen voor de verlichtingsbalken en sluit de beluchtingpomp aan
- Meet in het overgebleven water uit het visbassin de concentraties van N en P (met de hachkit)
- Bepaal gedurende 15 dagen, dagelijks met de microscoop het aantal algen per ml, op dezelfde wijze als in deel 1
- Verwerk de gegevens in een logboek en Excel bestand
- Begin het experiment met water uit het visbassin weer opnieuw

Resultaten

Onderzoek 1 natuurlijk water

Experiment 1.1

Experiment gestart op: 15-09-2003
Experiment beëindigd op: 16-10-2003
Duur van experiment: 32 dagen

In dit experiment hebben de binnenopstellingen niet voor een lichtbalk gestaan. Tijdens dit experiment hebben de opstellingen namelijk veel in het zonlicht gestaan. Alleen aan het begin is er voedingsmedium toegevoegd voor 12 dagen aan de niet blanco experimenten. Het experiment is na 32 dagen afgebroken omdat er geen verdere ontwikkeling van algen zichtbaar was.

Uit de resultaten (zie tabel 5) blijkt dat bij toevoeging van het bepaalde medium aan het zeewater uit de Oosterschelde, in de maanden half september tot half oktober, de soort *Skeletonema costatum* niet verkregen is als overheersende algensoort. *Skeletonema costatum* is zelfs helemaal niet waargenomen tijdens dit experiment. De proefopstellingen buiten zijn heel kwetsbaar. De zakken gingen vrij snel kapot.

Het verschil tussen de niet blanco's en blanco's viel meteen op. De blanco experimenten bleven helder zoals de proefopstellingen ingezet worden. De niet blanco's kleurden vrij snel bruin en troebelachtig. Ook viel het verschil tussen de beluchte niet blanco's en overige niet blanco's meteen op. De beluchte niet blanco's hadden een donker bruine dikke zwevende algenmassa in de bol, terwijl de overige niet blanco's een lichte bruin/gele troebeling in de zakken hadden. Het verschil tussen de buitenopstellingen was vrij klein. Over het algemeen ontwikkelden zich dezelfde algensoorten in de grond- en bassinopstellingen. De overheersende algensoort in zowel de grond- als bassinopstelling van de niet blanco's was A13 (*Nitzschia*). Daarnaast kwamen ook enkele overige algensoorten in redelijke aantallen voor. Het verschil tussen de binnenopstellingen zat ook niet zo zeer in de algensoorten die zich ontwikkelden. Over het algemeen ontwikkelden zich dezelfde algensoorten. Het verschil zat duidelijk in de aantallen (zie tabel 8). Bij de beluchte niet blanco experimenten ontwikkelde zich duidelijk een overige algensoort tot overheersende soort, vast gesteld als *Navicula*. Bij de niet beluchte niet blanco was dit onder andere A13 (*Nitzschia*). Verder kwamen er ook enkele overige soorten vrij veel in aantal voor.

In de blanco experimenten ontwikkelden zich ook enkele algensoorten in beperkte aantallen. Echter lang niet zo nadrukkelijk als in de niet blanco's, maar wel dezelfde algensoorten. De duplo's vormden ook lang niet altijd dezelfde overeenkomsten.

Experiment 1.2

Experiment gestart op: 08-10-2003

Experiment beëindigd op: 27-10-2003

Duur van het experiment: 19 dagen

In dit experiment hebben de binnenopstellingen wel meteen voor een lichtbalk gestaan. De laatste paar dagen echter niet meer wegens gebrek aan lichtbalken (waren benodigd voor andere experimenten). Alleen aan het begin is er voedingsmedium toegevoegd voor 12 dagen aan de niet blanco experimenten. Het experiment is na 19 dagen afgebroken omdat er geen verdere ontwikkeling van algen zichtbaar was.

Uit de resultaten (zie tabel 6) blijkt dat bij toevoeging van het bepaalde medium aan het zeewater uit de Oosterschelde, van begin tot eind oktober, de soort *Skeletonema costatum* wederom niet verkregen is als overheersende algensoort. *Skeletonema costatum* is in tegenstelling tot het eerste experiment wel een aantal malen waargenomen. De proefopstellingen buiten waren weer vrij kwetsbaar. De zakken gingen vrij snel kapot. Het verschil tussen de niet blanco's en blanco's viel, net als in het eerste experiment, weer meteen op. De blanco experimenten bleven helder zoals de proefopstellingen ingezet worden. De niet blanco's kleurden vrij snel bruin en troebelachtig. Ook viel het verschil tussen de beluchte niet blanco's en overige niet blanco's weer op. In dit experiment had echter maar één beluchte niet blanco een donker bruine dikke zwevende algenmassa in de bol, zoals in het eerste experiment ook het geval was. De andere beluchte niet blanco had een groene zwevende massa in de bol. De overige niet blanco's hadden een lichte bruin/gele troebeling in de zakken.

Een concreet verschil met het eerste experiment is de duidelijke aanwezigheid van *Tetraselmis*. Deze soort kwam in meerdere proefopstellingen voor dan in het eerste experiment en was ook in grotere aantallen aanwezig. In één van de beluchte niet blanco's was dit zelfs de overheersende algensoort. In de andere beluchte niet blanco was dit net als in het eerste onderzoek een overige algensoort, vast gesteld als *Navicula*.

Het verschil tussen de buitenopstellingen was wederom vrij klein. Over het algemeen ontwikkelden zich dezelfde algensoorten in de grond- en bassinopstellingen. In de bassinopstellingen kwam echter *Tetraselmis* veel nadrukkelijker voor. De overheersende algensoorten voor zover daar sprake van was in zowel de grond- als bassinopstelling van de niet blanco's waren voornamelijk overige algensoorten. Behalve dus in de bassinopstellingen want daar kwam ook vrij veel *Tetraselmis* voor. Vergeleken met het eerste experiment ontwikkelden de algensoorten in de buitenopstellingen zich een stuk minder in aantal (zie tabel 8).

Het verschil tussen de binnenopstellingen zat wederom niet zo zeer in de algensoorten die zich ontwikkelden. Over het algemeen ontwikkelden zich dezelfde algensoorten. Het verschil zat duidelijk in de aantallen. Bij de beluchte niet blanco proefopstellingen ontwikkelde zich duidelijk *Tetraselmis* in één van de bollen tot overheersende algensoort. In de andere bol was dit een overige algensoort, vast gesteld als *Navicula*. Bij de niet beluchte niet blanco was dit onder andere A13 (*Nitzschia*). Verder kwamen er ook enkele overige soorten veel in aantal voor. In de blanco experimenten ontwikkelden zich ook enkele algensoorten in beperkte aantallen. Echter lang niet zo nadrukkelijk als in de niet blanco's, maar wel dezelfde algensoorten. De duplo's vormden dus echter ook lang niet altijd dezelfde overeenkomsten.

Experiment 1.3

Experiment gestart op: 28-10-2003

Experiment beëindigd op: 19-11-2003

Duur van het experiment: 23 dagen

In dit experiment hebben de binnenopstellingen niet voor een lichtbalk gestaan (dit wegens gebrek aan lichtbalken). Een uitzondering is het extra experiment, dat heeft wel voor een lichtbalk gestaan. Het extra experiment bestaat uit een duplo ingezette proefopstelling waarbij aan het gebruikte zeewater alleen silicaat is toegevoegd. Tevens is in dit experiment op dag 11 extra silicaat toegevoegd aan alle niet blanco's (behalve in het bassin). Het experiment is na 23 dagen afgebroken omdat er geen verdere ontwikkeling van algen zichtbaar was.

Uit de resultaten (zie tabel 7) blijkt dat bij toevoeging van het bepaalde medium aan het zeewater uit de Oosterschelde, van eind oktober tot half november, de soort *Skeletonema costatum* weer niet verkregen is als overheersende algensoort. *Skeletonema costatum* is net als in het tweede experiment wel een aantal malen waargenomen. De proefopstellingen buiten waren in dit experiment, in tegenstelling tot het eerste en tweede, niet zo kwetsbaar.

Het verschil tussen de niet blanco's en blanco's viel, net als in het eerste en tweede experiment, weer meteen op. De blanco experimenten bleven helder zoals de proefopstellingen ingezet worden. De niet blanco's kleurden vrij snel bruin en troebelachtig. Ook viel het verschil tussen de beluchte niet blanco's en overige niet blanco's weer op. De beluchte niet blanco's hadden een donker bruine dikke zwevende algenmassa in de bol, terwijl de overige niet blanco's een lichte bruin/gele troebeling in de zakken hadden.

Een concreet verschil met het eerste experiment en in overeenstemming met het tweede experiment, was de duidelijke aanwezigheid van *Tetraselmis*. Deze soort kwam in vrijwel alle proefopstellingen voor, maar niet als enkele overheersende soort.

Het verschil tussen de buitenopstellingen was ook weer vrij klein. Over het algemeen ontwikkelden zich dezelfde algensoorten in de grond- en bassinopstellingen. Er was ook niet echt sprake van een concreet verschil in de overheersende algensoorten. In vergelijking met het eerste en tweede experiment waren er nu wel meerdere soorten die overheersten.

De overheersende algensoorten in zowel de grond- als bassinopstelling van de niet blanco's waren voornamelijk A16, *Navicula* en overige algensoorten. Naast deze soorten speelden *Tetraselmis* en A13 (*Nitzschia*) ook een rol in de totale hoeveelheid aanwezige algen.

Het verschil tussen de binnenopstellingen zat ook wederom weer niet zo zeer in de algensoorten die zich ontwikkelden. Over het algemeen ontwikkelden zich dezelfde algensoorten. Het verschil zat weer in de aantallen.

Bij de beluchte niet blanco proefopstellingen ontwikkelden zich, net als in het eerste en voor gedeeltelijk het tweede experiment, duidelijk *Navicula* tot overheersende algensoort. Voor de niet beluchte niet blanco waren dit voornamelijk A13 (*Nitzschia*), *Navicula* en overige algensoorten.

In de blanco experimenten ontwikkelden zich ook enkele algensoorten in beperkte aantallen. Echter lang niet zo nadrukkelijk als in de niet blanco's, maar wel dezelfde algensoorten.

De duplo's vormden in dit experiment een betere overeenkomst dan in het eerste en tweede experiment.

De extra proefopstelling bracht dezelfde algensoorten voort als de andere proefopstellingen. In vergelijking met de niet blanco's bleven de extra's vrij helder en was er geen bruin/gele kleur waar te nemen. Het verschil zat duidelijk in de aantallen. Er kwamen veel minder aantallen voor dan in de niet blanco's. De soorten die het meest voor kwamen waren *Tetraselmis*, *Navicula* en overige algensoorten.

Onderzoek 2 water uit het visbassin

Experiment 2.1

Voor *Tetraselmis suecica* blijkt de maximum grens te liggen tussen 2.500.000 – 2.750.000 cellen per ml. Voor *Pavlova lutheri* ligt deze grens tussen 1.700.000 – 1.800.000 cellen per ml. Dit maximum ligt een stuk lager dan bij *Tetraselmis suecica*. Voor *Isochrysis galbana* ligt het maximum aantal cellen, vergelijkbaar met *Tetraselmis suecica*, rond de 2.500.000 – 2.850.000 cellen per ml.
Zie tabel 9.

Experiment 2.2

In dit experiment is het water uit het visbassin van de blanco proefopstellingen alleen door een 5µ filter gegaan. Het water uit het visbassin van de niet blanco proefopstellingen is door een 2µ filter gegaan. Per bol is 250 ml algencultuur toegevoegd.

Uit de resultaten blijkt dat de algenculturen in dit geval de maxima aantal cellen vergeleken met het chemisch voedingsmedium niet haalt (zie tabel 9 en figuur 2.2). Vooral bij de soort *Pavlova lutheri* blijkt dat het water uit het visbassin een remmende invloed had op de groei. De blanco proefopstellingen hebben geen kans gehad om zich te ontwikkelen. Vanaf het begin was er een negatieve groei en binnen vijf dagen hadden andere algensoorten de *Pavlova lutheri* geheel weggeconcentreerd. Ook in de niet blanco proefopstellingen heeft *Pavlova lutheri* zich niet goed kunnen ontwikkelen. Na tien dagen was er wel een kleine groei van het aantal cellen van $5,0 \cdot 10^4$ naar $2,2 \cdot 10^5$ cellen per ml. Daarna was er alleen een negatieve groei tot uiteindelijk na veertien dagen *Pavlova lutheri* niet meer voor kwam.

De soort *Isochrysis galbana* met de niet blanco proefopstellingen leek het in een stadium van elf dagen redelijk goed te doen met een groei van $7,5 \cdot 10^4$ naar $1,1 \cdot 10^6$ cellen per ml. Echter na elf dagen stortte de cultuur volledig in tot er vrijwel geen cellen *Isochrysis galbana* meer over waren. De blanco proefopstellingen bleven voor 15 dagen tussen dezelfde concentratie schommelen, namelijk tussen de $2,5 \cdot 10^4$ en $8,3 \cdot 10^4$ cellen per ml tot na elf dagen de soort bijna weggeconcentreerd was door andere algensoorten.

De soort *Tetraselmis suecica* met de niet blanco proefopstellingen leek het in een stadium van elf dagen redelijk goed te doen met een groei van $9,2 \cdot 10^4$ naar $2,2 \cdot 10^6$ cellen per ml. Ook bij deze soort, net als *Isochrysis galbana*, lijkt de grens van elf dagen cruciaal te zijn omdat dan de cultuur ook instort en zich een sterke negatieve groei inzet van $2,2 \cdot 10^6$ naar $5,4 \cdot 10^5$ cellen per ml. De blanco proefopstellingen volgden eenzelfde patroon hetzij op een achterstand van 10 tot 30 % van de niet blanco proefopstellingen. Echter stort deze cultuur minder ver in dan de niet blanco proefopstellingen namelijk van $1,6 \cdot 10^6$ naar $1,1 \cdot 10^6$ cellen per ml.

Vooral de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* hadden veel concurrentie van andere algensoorten. Bij deze twee soorten kregen andere algensoorten ook de mogelijkheid om zich te vermenigvuldigen, hetgeen bij *Tetraselmis suecica* niet het geval was. Toevoeging van 250 ml algencultuur aan 4 liter water uit het visbassin geeft een te lage start concentratie aan algencellen om concurrentie met andere algensoorten tegen te gaan.

Het effect van de TMX en vitamine B12 is duidelijk aanwezig gezien het feit de blanco proefopstellingen minder cellen per ml tellen dan de niet blanco proefopstellingen.

Experiment 2.3

In dit experiment is het water uit het visbassin van de blanco proefopstellingen en niet blanco proefopstellingen door een 5µ filter gegaan. Per bol is 500 ml algencultuur toegevoegd. Uit de resultaten blijkt dat de algenculturen weldegelijk het maxima aantal cellen kunnen halen vergeleken met het chemisch voedingsmedium (zie tabel 9 en figuur 2.3). Echter geldt dit, in dit experiment alleen voor de algensoort *Tetraselmis suecica*. Deze soort ontwikkelde zich in een stadium van zeven dagen met de niet blanco proefopstellingen erg goed van $2,7 \cdot 10^5$ naar $2,6 \cdot 10^6$ cellen per ml. Dit valt ook binnen de maximum range van het chemisch voedingsmedium (zie tabel 9). De blanco proefopstellingen bleven variërend volgen op 3 tot 30 % achterstand. Echter beginnen beide cultuur na negen dagen in te storten en zet zich een sterke negatieve groei in. De niet blanco proefopstellingen gaan van $2,6 \cdot 10^6$ naar $4,8 \cdot 10^5$ cellen per ml en de blanco proefopstellingen van $2,6 \cdot 10^6$ naar $1,1 \cdot 10^5$ cellen per ml. Een opmerkelijk verschil is dat de cultuur al instort na negen dagen in vergelijking tot het eerste afvalwaterexperiment waarbij de cultuur na elf dagen instortte. Een belangrijk verschil hierbij is dat in dit experiment al na zes dagen het maximum aantal cellen van het eerste onderzoek met water uit het visbassin bereikt is, in plaats van elf dagen.

Pavlova lutheri leek het in de beginfase goed te doen met de niet blanco proefopstellingen, met een groei van $9,2 \cdot 10^4$ naar $9,0 \cdot 10^5$ cellen per ml in drie dagen. Echter zet zich daarna een negatieve groei in van $9,0 \cdot 10^5$ naar $1,3 \cdot 10^5$ cellen per ml, waarbij na een dag of zeven de cultuur redelijk constant blijft in een zeer lage concentratie tussen de $6,7 \cdot 10^4$ en $1,3 \cdot 10^5$ cellen per ml. Hetzelfde patroon geldt voor de blanco proefopstellingen, deze bleven de niet blanco proefopstellingen op zeer variërende achterstand volgen tussen de 5 en 70 %.

De soort *Isochrysis galbana* leek het in de begin fase met de niet blanco proefopstellingen, ook erg goed te doen met een groei van $1,4 \cdot 10^5$ naar $1,2 \cdot 10^6$ cellen/ml. In een tijdsbestek van drie dagen kon deze soort zelfs in de buurt komen van *Tetraselmis suecica*. De cultuur zakt daarna echter geleidelijk stukje voor stukje in van $1,2 \cdot 10^6$ naar $4,2 \cdot 10^4$ cellen per ml. Hetzelfde geldt voor de blanco proefopstellingen die hetzelfde patroon volgen als de niet blanco proefopstellingen. Hetzij wel op zeer variërende achterstand van 5 tot 70 %.

In de beginfase deden alle drie de soorten het beter dan in het eerste experiment met water uit het visbassin. De blanco proefopstellingen volgden in dit experiment in vergelijking met de niet blanco proefopstellingen, op een hogere concentratie dan in het eerste experiment. Echter voor de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* ook regelmatig op een lagere concentratie dan in het eerste experiment.

De verdubbeling van de toe te voegen algencultuur heeft geleid tot een betere groei van alle drie de soorten ten opzichte van het eerste experiment met water uit het visbassin.

Het effect van de TMX en vitamine B12 is duidelijk aanwezig gezien het feit dat de blanco proefopstellingen minder cellen per ml tellen dan de niet blanco proefopstellingen.

Experiment 2.4

In dit experiment is het water uit het visbassin van de blanco proefopstellingen en niet blanco proefopstellingen door een 5 μ en een 2 μ filter gegaan. Behalve bij *Tetraselmis suecica*. Hiervoor is het water uit het visbassin alleen door een 5 μ filter gegaan. Per bol is 500 ml algencultuur toegevoegd.

Voor dit experiment is ook op de eerste dag de samenstelling van N en P in het water uit het visbassin bepaald met de hachkit (zie tabel 10).

Uit de resultaten met het water uit het visbassin blijkt dat de algenculturen wederom het maxima aantal cellen kunnen halen vergeleken met het chemisch voedingsmedium (zie tabel 9 en figuur 2.4). In dit experiment geldt dat voornamelijk voor de algensoorten *Tetraselmis suecica* en *Pavlova lutheri*.

Vooraf de soort *Pavlova lutheri* deed het in dit experiment opmerkelijk goed. In een stadium van zes dagen groeide deze soort met de niet blanco proefopstellingen van $2,7 \cdot 10^5$ naar $1,6 \cdot 10^6$ cellen per ml. Dit valt echter net niet binnen de maximum range van het chemisch voedingsmedium (zie tabel 9). De cultuur blijft daarna voor enkele dagen redelijk constant met een daling van $1,6 \cdot 10^6$ naar $1,3 \cdot 10^6$ cellen per ml. Na negen dagen begint de cultuur echt in te storten met een daling van $1,3 \cdot 10^6$ naar $2,3 \cdot 10^5$ cellen per ml. De cultuur blijft daarna rond hetzelfde aantal cellen per ml schommelen tot na dag veertien nog maar enkele cellen aanwezig zijn. De blanco proefopstellingen bleven variërend volgen op 10 tot 35 % achterstand. *Tetraselmis suecica* groeide in dit experiment niet zo explosief als in het tweede experiment met water uit het visbassin. De soort groeide in dit experiment in etappes. In de eerste etappe was er in zes dagen een groei van $3,6 \cdot 10^5$ naar $2,0 \cdot 10^6$ cellen per ml. Daarna was er gedurende enkele dagen een kleine daling van $2,0 \cdot 10^6$ naar $1,8 \cdot 10^6$ cellen ml. In de tweede etappe was er van dag negen tot dag dertien weer een groei van $1,8 \cdot 10^6$ naar $2,6 \cdot 10^6$ cellen per ml. Dit valt ook binnen de maximum range van het chemisch voedingsmedium (zie tabel 9). Daarna zakt de cultuur langzaam iets in van $2,6 \cdot 10^6$ naar $2,4 \cdot 10^6$ cellen per ml. De blanco proefopstellingen bleven variërend volgen op 2 tot 15 % achterstand.

De soort *Isochrysis galbana* leek het in de beginfase met de niet blanco proefopstellingen, ook redelijk goed te doen met een groei in zeven dagen van $2,5 \cdot 10^5$ naar $1,8 \cdot 10^6$ cellen per ml. De cultuur zakt daarna echter een stukje in van $1,8 \cdot 10^6$ naar $1,3 \cdot 10^6$ cellen per ml en blijft dan voor enkele dagen rond die waarde schommelen. Echter stort de cultuur na dag dertien helemaal in van $1,2 \cdot 10^6$ naar $1,0 \cdot 10^5$ cellen per ml. Hetzelfde geldt voor de blanco proefopstellingen die hetzelfde patroon volgt als de niet blanco proefopstellingen. Hetzij wel op variërende achterstand van 2 tot 30 %.

In de beginfase deden alle drie de soorten, maar voornamelijk *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana*, het in vergelijking met het eerste en tweede experiment met water uit het visbassin erg goed. De verdubbeling van de toe te voegen algencultuur, ten opzichte van het eerste experiment, bleek in het tweede experiment al te leiden tot een betere groei van alle drie de algensoorten. Met daarnaast een filtering van het afvalwater met 2 μ voor de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* blijkt het water uit het visbassin voor een nog optimalere groei te zorgen. Voor *Tetraselmis suecica* is in het tweede experiment met water uit het visbassin al gebleken dat een filtering met 5 μ van het water beter is.

De blanco proefopstellingen volgden in dit experiment vergeleken met de niet blanco proefopstellingen, op een hogere concentratie dan in het eerste en tweede experiment. Het effect van de TMX en vitamine B12 is in dit experiment minder duidelijk aanwezig dan in het eerste en tweede experiment. Echter tonen de blanco proefopstellingen nog steeds minder cellen per ml dan de niet blanco proefopstellingen. De gemeten waarden van N en P in het water uit het visbassin zijn laag (zie tabel 10). De verhouding van N en P is $\pm 2:1$.

Conclusie en discussie

Onderzoek 1 natuurlijk water

Skeletonema costatum is tijdens het onderzoek slechts enkele malen waargenomen. Volgens metingen van rijkswaterstaat (zie bijlage 7) is het voorkomen van *Skeletonema costatum* in de Oosterschelde erg variërend per maand en zelfs per meting in dezelfde maand. In het najaar, de periode van het natuurlijk water onderzoek, komt *Skeletonema costatum* ook variërend in aantallen voor. Toch is vergeleken met de aantallen in bijlage 7, *Skeletonema costatum* in het natuurlijk water onderzoek erg weinig waargenomen. De metingen van rijkswaterstaat vonden plaats op andere locaties dan de locatie waarop het onderzoek met natuurlijk water heeft plaats gevonden. Uit bijlage 7 blijkt al dat *Skeletonema costatum* in het westelijk deel van de Oosterschelde meer voor komt dan in het Oostelijk deel. Daarnaast is het zo dat de piek van *Skeletonema costatum* plaats vindt in het voorjaar/zomer.

De zakken in de buitenopstellingen gingen vrij snel kapot. Waarschijnlijk speelt het mindere weer in deze periode zoals wind en regen hierin een zekere rol. Zodra de zakken wrijving ondervinden scheuren de naden op de hoeken kapot. De proefopstellingen in het derde experiment waren, in tegenstelling tot het eerste en tweede, niet zo kwetsbaar. Voor de grondopstellingen zijn de zakken in piepschuimbakjes geplaatst om de wrijving met de grond te verminderen. De zakken zijn nu niet kapot gegaan.

De duplo's in het experiment hadden lang niet altijd dezelfde overeenkomsten. Die verschillen zijn hoogstwaarschijnlijk te wijten aan het feit of bij het inzetten van het experiment die algensoorten wel of niet aanwezig zijn in het zeewater. Als de soorten niet aanwezig zijn kunnen ze zich ook niet ontwikkelen.

Vergeleken met het eerste experiment ontwikkelden de algensoorten in de buitenopstellingen van het tweede en derde experiment zich een stuk minder in aantal. Waarschijnlijk heeft dat met de temperatuursdaling te maken.

Over het algemeen was het eindresultaat van de drie experimenten hetzelfde. Het onderzoek wijst uit dat het verschil in de proefopstellingen zat in de dikte van de algenmassa (zie tabel 8). De bollen met beluchting leverde de dikste algenmassa op, waarbij één soort, *Navicula*, overheerste. In de andere proefopstellingen kwamen wel dezelfde algensoorten voor als in de bollen met beluchting. Echter was de algenmassa hierin dunner en waren er meerdere soorten die overheersten. Dit heeft waarschijnlijk in de eerste plaats met de beluchting te maken omdat de andere proefopstellingen niet belucht werden. Een andere reden kan de rol van het licht zijn. Binnen wordt het licht continue geregeld door een tijdschakelaar terwijl buiten het licht in de onderzoeksperiode beperkter werd.

Voor de start van het onderzoek was de volgende probleemstelling geformuleerd:

Wat wordt de overheersende algensoort als je natuurlijk water verrijkt met een bepaald voedingsmedium?

Er is niet één algensoort die in alle proefopstellingen als soort overheerst. Het onderzoek toont wel aan dat de diatomee *Navicula* in alle proefopstellingen voorkomt en in enkele proefopstellingen duidelijk de overheersende soort is.

Onderzoek 2 water uit het visbassin

Tijdens het eerste experiment met water uit het visbassin hadden de algenculturen, en dan met name *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana*, veel last van de concurrentie met andere algensoorten. Een oorzaak voor een te grote concurrentie kan zijn dat de algencultuur te zwak was. Bij het over enten naar het water uit het visbassin waren de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* al verzwakt en met 250 ml algencultuur op 4 liter water uit het visbassin was de concentratie aan cellen niet echt groot. *Tetraselmis Suecica* heeft echter veel minder last van concurrentie. In de eerste plaats waarschijnlijk omdat deze soort vrij snel groeit. Bovendien bestaat een deel van de algen die zorgen voor de concurrentie uit *Tetraselmis*. Toch stort de cultuur van *Tetraselmis suecica* en *Isochrysis galbana* na elf dagen in, maar zijn er ook nog steeds andere algen in de cultuur aanwezig. Waarschijnlijk dat de al dan niet aanwezige nutriënten of de verhoudingen aan nutriënten een limiterende rol gaan spelen.

Tijdens het tweede experiment met water uit het visbassin deden alle drie de soorten het in de beginfase beter dan in het eerste experiment. Dit kan te maken hebben met het feit dat de beginconcentratie veel hoger was doordat er in plaats van 250 ml algencultuur, 500 ml algencultuur aan 4 liter water uit het visbassin is toegevoegd. Echter is het wel zo dat de concurrentie met andere algen veel hoger was doordat het water uit het visbassin alleen door een 5µ filter is gegaan. Waarschijnlijk is dit na de beginfase voor *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* een limiterende factor geweest. Wat opvallend was tijdens dit onderzoek, was dat de soort *Tetraselmis suecica* heel lang in het onderzoek niet uitzakte. In het eerste experiment met water uit het visbassin en in de algenculturen met het chemisch voedingsmedium was dit weldegelijk het geval. Dit heeft dan ook hoogstwaarschijnlijk te maken met het feit dat het water uit het visbassin alleen door de 5µ filter is geweest. De cellen van *Tetraselmis suecica* hebben waarschijnlijk graag andere deeltjes om zich aan te hechten. Als andere deeltjes dus niet aanwezig zijn hechten ze zich aan elkaar.

De blanco proefopstellingen volgden in het tweede experiment in vergelijking met de niet blanco proefopstellingen, regelmatig op een hogere concentratie dan in het eerste experiment. Waarschijnlijk heeft dit te maken met het feit dat de startconcentratie aan cellen hoger was en zo de concurrentie met andere algen beter aan kon. Echter voor de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* ook regelmatig op lagere concentratie, vergeleken met de niet blanco proefopstellingen, dan in het eerste experiment. Dit was vooral aan het einde van het experiment. Waarschijnlijk dat de al dan niet aanwezige nutriënten of de verhoudingen aan nutriënten een limiterende rol gaan spelen.

Tijdens het derde experiment met water uit het visbassin deden alle drie de soorten het goed. Zeker de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* hebben het in de vorige twee experimenten niet zo goed gedaan als in dit experiment. Dit valt waarschijnlijk te wijten aan het feit dat, naast de verdubbeling van de algencultuur in vergelijking met het eerste experiment, het water uit het visbassin door de 2µ filter is gegaan. Voor *Tetraselmis suecica* is het water uit het visbassin alleen door de 5µ filter gegaan. De concurrentie door andere algen in de beginfase was nu voor *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* een stuk lager en de verdubbeling van de algencultuur zorgde net als in het tweede experiment al voor een hogere startconcentratie.

Tetraselmis suecica had in dit experiment een heel ander groeipatroon ten opzichte van het tweede experiment. Dit terwijl de proefopstelling op dezelfde wijze is ingezet en er zelf een hogere startconcentratie was dan in het tweede experiment. Waarschijnlijk heeft dit te maken met de conditie van de gebruikte algencultuur gezien het feit *Tetraselmis suecica* in het water uit het visbassin uiteindelijk wel de maximum range haalt.

De gebruikte algencultuur stond al vrij lang waardoor de cultuur over zijn maximum range zat. Waarschijnlijk hebben de cellen wat langer nodig gehad om weer in een goede conditie te komen.

Isochrysis galbana heeft in dit experiment niet de maximum range gehaald, terwijl de andere twee soorten deze wel hebben bereikt. De conditie van de gebruikte algencultuur was goed en de groei in de beginfase met het water uit het visbassin zag er ook goed uit. Waarschijnlijk dat de al dan niet aanwezige nutriënten of de verhoudingen aan nutriënten een limiterende rol zijn gaan spelen. Een andere verklaring kan zijn dat de cultuur alsnog teveel concurrentie had met andere algen in een latere fase, waardoor de cultuur instortte. *Pavlova lutheri* stort na het bereiken van de maximum range in, hetzij eerst geleidelijk. Waarschijnlijk dat de al dan niet aanwezige nutriënten of de verhoudingen aan nutriënten een limiterende rol zijn gaan spelen want van concurrentie met andere algen was vrijwel geen sprake.

De blanco proefopstellingen volgden in het derde experiment de niet blanco proefopstellingen op een hogere concentratie in vergelijking met het eerste en tweede experiment. Waarschijnlijk dat ook dit te maken heeft gehad met de verminderde concurrentie aan algen in de beginfase. Uit het onderzoek blijkt dat de startconcentratie aan cellen bepalend is voor de verdere groei. Verder blijkt dat voor de soorten *Pavlova lutheri* en *Isochrysis galbana* een filtering van het water uit het visbassin met een 2µ filter noodzakelijk is om de concurrentie met andere algen aan te kunnen. Voor *Tetraselmis suecica* is het juist beter om het water uit het visbassin alleen te filteren met een 5µ filter. Dit om uitzakking van de cellen te voorkomen. Het onderzoek wijst bovendien uit dat met het water uit het visbassin van de tarbotkwekerij het maximum aantal cellen voor *Tetraselmis suecica* en *Isochrysis galbana* (in vergelijking met het chemisch voedingsmedium) bereikt wordt.

Voor de start van het onderzoek was de volgende probleemstelling geformuleerd:

Is het mogelijk om water uit het visbassin van een tarbotkwekerij te gebruiken als voedingsmedium voor de kweek van de algensoorten die het CSO gebruikt?

Het water uit het visbassin is bruikbaar als voedingsmedium voor de kweek van de algensoorten van het CSO. Het is echter wel zo dat het water uit het visbassin alleen bruikbaar is in de laatste fase van de algenkweek binnen de hatchery. Op het moment dat de algenculturen moeten worden door geënt om als voedsel te dienen voor de larven is het water uit het visbassin inzetbaar. Uit de experimenten is gebleken dat het water uit het visbassin redelijk wat andere algen bevatten en dus (op langere termijn) voor concurrentie gaan zorgen. Voor het in stand houden van de monoculturen is het water uit het visbassin dan ook niet geschikt.

Aanbevelingen

Onderzoek 1 natuurlijk water

Bij dit onderzoek is het voedingsmedium afgeleid van het voorgeschreven voedingsmedium van Hussenot en Brossard (1995). Echter zitten in dit voedingsmedium, naast de vereiste elementen, andere elementen dan in het voorgeschreven voedingsmedium. Dit zou een bepalende factor kunnen zijn voor de ontwikkeling van *Skeletonema costatum*. Een aanbeveling is dan ook om alsnog het voedingsmedium te maken zoals voorgeschreven door Hussenot en Brossard (1995). Experimenten kunnen dan uitwijzen of de chemicaliën samenstelling inderdaad een bepalende factor is voor *Skeletonema costatum*.

Het gebruikte voedingsmedium is in dit onderzoek aan het begin toegevoegd voor twaalf dagen tegelijk. Echter hebben de proeven veel langer gestaan, maar geen nieuwe toevoer van het voedingsmedium gehad. Het kan zijn dat de nutriëntenstop een bepalende factor is geweest voor de ontwikkeling van *Skeletonema costatum*. Een aanbeveling is dan ook om tijdig de juiste hoeveelheid voedingsmedium toe te voegen.

Dit onderzoek heeft plaatsgevonden in het najaar. Misschien dat de aanwezigheid van *Skeletonema costatum* in natuurlijk water dan beperkt is. Een aanbeveling is om ook in andere seizoenen deze onderzoeken te doen, om vast te stellen of een bepaald seizoen een bepalende factor kan zijn.

Uit de experimenten blijkt dat de algensoort *Navicula* relatief makkelijk te verkrijgen is. Deze algensoort heeft een vergelijkbare grootte als *Tetraselmis suecica*. Een aanbeveling is om te testen of deze soort geschikt kan zijn als voedsel voor de larven.

Tijdens dit onderzoek zijn bollen met beluchting gebruikt en zakken zonder beluchting. Hierdoor ontstaan er een twee verschillende factoren die van belang kunnen zijn. Een bepalende factor kan het verschil tussen de bollen en de zakken zijn. Maar een bepalende factor kan ook zijn het wel of niet beluchten. Een aanbeveling is dan ook om een extra proefopstelling in te zetten met zakken die belucht worden.

Onderzoek 2 water uit het visbassin

Bij dit onderzoek is de verhouding N:P in het water uit het visbassin van de eerste twee experimenten niet bekend geweest. Deze verhouding is een bepalende factor voor de algengroei. Een aanbeveling is dan ook om bij de inzet van deze experimenten de verhouding N:P te bepalen.

Bij dit onderzoek is niet geheel op gelijke wijze de groei van de algenculturen met het chemisch voedingsmedium bepaald. Hieruit viel alleen het maximum aantal cellen per ml te bepalen. Een aanbeveling is dan ook om gelijktijdig met de inzet van het experiment met water uit het visbassin, een inzet te doen met het chemisch voedingsmedium vanuit dezelfde bol met algencultuur. Door middel van beide experimenten kan de groei gedurende vijftien dagen met elkaar worden vergeleken.

Tijdens dit onderzoek is gebleken dat *Skeletonema costatum* regelmatig voorkwam in de algencultuur met water uit het visbassin. Misschien is dit een eenvoudigere manier om *Skeletonema costatum* te kweken dan vanuit natuurlijk water. Een aanbeveling is dan ook om met het water uit het visbassin te gaan experimenteren om te kijken of *Skeletonema costatum* als overheersende soort gekweekt kan worden.

[illegible]

[illegible]

Binnen: zakken 1, exp. 1

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	1	1				1											
4	2	2	1														
8	1	2				1		1									
10						2	2	2					3				
12	1	1										1	3				
15		1										2	3				
17												2	2				
19													2				1
22		1											2				2
24		1											3				3
25		1										1	2				3
29		1										1	2				3
31		1											2				3
32		1											2				3

Binnen: zakken 2, exp. 1

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
3	1	1															1
5	2	2					3										
9	1	1				3	3										
11		1		1								1				1	
16		1										2	2				2
18												1	2				3
23		1										1	2				3
24												1	3				3
25		1										1	2				3
30		2											2				3
32		1									1		3				2

Buiten: grond blanco 1, exp. 1

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	1	1															
4	1	2															
8	2	2															
10	1	1															
12	1	1															1
15						3											1
17																3	
19																2	
22																3	1

Zakken kapot

Buiten: grond blanco 2, exp. 1

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
3	1	1															
16		1														3	
18																3	
23																3	

Zakken kapot

Buiten: grond 1, exp. 1																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overlg
2	1	1				1	1										
4	1	2	1														
8	1	1					1										2
10	1	1											3				2
12													3				2
15		1					3						3				2
17													2				3
19													2				3
22		1											2				3

Buiten: grond 2, exp. 1																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
3	1	1															
5	2	2	1			3	3										1
9		2				3	3	1		1			3			1	
11		1										1	3			2	
16													3			2	2
18												1	2			3	2
23		2											2			3	2

Buiten: bassin blanco 1, exp. 1																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	1	1															
4	1	2															
8						2	2										
10		1		1												1	
12		1															1
15	1	1															
17																	1
19	1	1															
22		1										1					1

Buiten: bassin blanco 2, exp. 1																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
3	1	1															
16		1						1					1				
18		2															1
23	1	3															
Zakken kapot																	

Buiten: bassin 2, exp. 1																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
3	1	1															
5	2	2			1	3	3										
9		2				3	3	1									
11		1										1	3				
16		1											2				2
18													1				2
23		1											1				3

Experiment 1.2

Tabel 6: Experiment 1.2

Binnen: bollen met beluchting blanco 1, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	3	3				2	2										
6		1		1	1												1
8		2	1														1
9	1	2															
13	2	2													1		2
15		3						1					1	1	1		1
16	2	2			1								1	3	3	1	1
19		1															1

Binnen: bollen met beluchting blanco 2, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	3	3				2	2										
7	1	1		1	1												1
9	2	2	2														
13	2	2													1		2
15	1	1												1			2
19	1	3			1			1						3		1	1

Binnen: bollen met beluchting 1, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	3	3		1												1	
6	2	2					1	1					1			1	2
8		1						2					2			2	2
9	1	1						2					3			3	3
13		1			1								2			2	3
15	1	1														1	3
16		2														2	3
19		1														2	3

Binnen: bollen met beluchting 2, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	3	3		1													
7	1	1												1		3	1
9		2												3		3	
13	2	2											1	3		3	
15		1											1	1		3	
19		1											2			3	

Binnen: zakken blanco 1, exp. 2

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
6	1	2		1		3	3	1									
8	1	1	1					1									
9	1	3															
13	2	2															
15	2	2															1
16	2	2	1														1
19	1	1															1

Binnen: zakken blanco 2, exp. 2

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
7	1	1	1														1
9	2	2															
13	1	1															
15	2	2															1
19	2	2		1													

Binnen: zakken 1, exp. 2

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2		1													
6	2	2						2					2				2
8	1	1						3				3	3				
9	1	1						2				1	3			1	2
13		1											3				2
15		1											3			1	2
16	1	1											3			1	2
19		1											3			1	3

Binnen: zakken 2, exp. 2

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2		1													
7	1	1		1				2					2				1
9	1	1						2				2	3		3		3
13	2	2											3				2
15		2											3			1	2
19		1											3				3

Buiten: grond blanco 1, exp. 2

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	1	1		1		3	3										
6	1	1	1			3	3										
8	1	1															
9	1	1															
13	2	2															
15		1	1														1
19	2	2			1												1

Buiten: grond blanco 2, exp. 2

Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															

Zakken kapot

Buiten: grond 1, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
6	1	1	1	1		1	1										
8	3	3															1
9	2	2															2
13	2	2															2
15	1	1	1													1	2
19	1	1											1				2

Buiten: grond 2, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
Zakken kapot																	

Buiten: bassin blanco 1, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
6	2	2	1			3	3										
8	3	3															
9	1	1															
13	2	2															
15	2	2												1			
19	2	2											1			1	1

Buiten: bassin blanco 2, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
7		1	1	1													1
9	1	1															
13	2	2															2
15	2	2											1			1	2
Zakken kapot																	

Buiten: bassin 1, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
6		1															2
8		2														2	2
9		1											1			2	2
13	2	2															2
15	1	1											1		1		2
Zakken kapot																	

Buiten: bassin 2, exp. 2																	
Dag	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	Tetra	Overig
2	2	2															
7	1	1	1	1												2	1
9		1														2	2
13	2	2											1			2	2
19	1	1												1	1	2	2

Experiment 1.3

Tabel 7: Experiment 1.3

Binnen: bollen met beluchting blanco 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
														1			2	2	2
2																	2	2	3
3																	2	3	4
4																	2	2	7
7												2	2				2	1	9
9	1														1		1	2	14
14	1																1	1	15
15	1	1	1											1			1	1	16
16	1																1	1	18
18	1	1				1											1	1	23
23	1																1	1	

Binnen: bollen met beluchting blanco 2, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
												2	2				2	2	2
2																	2	3	4
4																	2	2	8
8																1	2	2	11
11																1	2	2	14
14														1			1	1	15
15	1				1												1	1	17
17	1	1															1	1	21
21	1			1													1	1	23
23	1													1			1	1	

Binnen: bollen met beluchting 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
														1			3	3	2
2																	2	2	3
3																	2	2	4
4	2																2	2	7
7	1																1	1	9
9	1					1										1	1	1	14
14	1		2			1											1	1	15
15	1	3	2			1											1	1	16
16	1	3	2			1											1	1	18
18	1	3	3			1											1	1	23
23		3	1			1											1	1	

Binnen: bollen met beluchting 2, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
2																	2	2	4
2	1																2	2	8
2	2	2	1			1								1	1		1	1	11
2	2	2	2			1											1	1	14
2	1	3	2			1											1	1	15
2	2	3	2			1											1	1	17
1	1	3	1			1											1	1	21
1	1	3	1			1											1	1	23

Binnen: zakken blanco 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
																	2	2	3
														1			2	2	4
																	2	2	7
1	1																1	1	9
1	1																1	1	14
														1			1	1	15
		1															1	1	16
																	1	1	18
			1											1			1	1	23

Binnen: zakken blanco 2, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
														1			3	3	4
1																	2	2	8
1														1	1	1	2	2	11
1																	1	1	14
	1	1															1	1	15
1	1	1	1														1	1	17
1	1																1	1	21
1			1														1	1	23

Binnen; zakken 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
																	2	2	3
1																	2	2	4
1	1																1	1	7
2															1	1	1	1	9
2	2	1	1			1								1			1	1	14
2	1	2				2											1	1	15
2	2	2	2			2											1	1	16
2	1	3	1			2											1	1	18
2	1	2	1			2											1	1	23

Binnen: zakken 2, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
1																	2	2	4
2																	2	2	8
1		1															1	1	11
2	1	1	1														1	1	14
2	1	2	2														1	1	15
2	2	2	2														1	1	17
2	2	3	1														1	1	21
2	1	2	1														1	1	23

Buiten: grond blanco 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
																	2	2	3
														1			2	2	4
														1			1	1	7
1														1		1	2	2	9
1														1			1	1	14
1																	1	1	15
1		1															1	1	16
1														1			1	1	18
1			2														1	1	23

Buiten: grond blanco 2, exp. 3																			
Ovenig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
1																	3	3	4
1														1			2	2	8
														1		1	2	2	11
1														1			2	2	14
			1														2	2	15
1														1			2	2	17
1	1	1															1	1	21
1																	1	1	23

Buiten: grond 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
														1			2	2	2
1														1		1	2	2	4
2														1		1	2	2	7
2														1		1	2	2	9
2	1	1	1													1	1	1	14
2	1	2	1														1	1	15
2	1	2	2														2	2	16
2	1	2	1											1			1	1	18
2	1	2	1														1	1	23

Buiten: grond 2, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
1												2	2				2	2	4
2														1		1	2	2	8
			2											1			1	1	11
1	1	1	1											1		1	1	1	14
	1	1	1			1								1			1	1	15
2	1	1	1														1	1	17
	1	2	2														1	1	21
2	1	2	2														1	1	23

Buiten: bassin blanco 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
																	2	2	3
2	1											1	1				2	2	4
												2	2				1	1	7
																	1	1	9
1																	2	2	14
Zakken kapot																			

Buiten: bassin blanco 2, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
1												2	2				2	2	4
1																	1	1	8
1			1														1	1	14
1			1											1			1	1	15
1																1	1	1	16
1																	1	1	17
1																	1	1	21
1																	1	1	23

Buiten: bassin 1, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
2												2	2				2	2	3
2	1																3	3	4
2	1													1		1	2	2	7
2						1											1	1	9
1	1	1	1			1								1			1	1	14
1	1	1	1											1			1	1	15
1	1	1	1														1	1	16
1	1	1	1														1	1	17
2	1	2	2			2											1	1	21
2	1	2	2			2											1	1	23

Buiten: bassin 2, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
																	2	2	2
2																	2	2	4
2	1																2	2	8
1						2											1	1	14
Zakken kapot																			

Extra 1: binnen, bollen met beluchting, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
1																	1	1	2
														2			2	2	3
														1			1	1	4
2						1											2	2	7
2																	2	2	8
2	1					1										1	2	2	9
2	1													1			1	1	11
2	1	1															1	1	14
2	2	1															1	1	15
2	1	1															1	1	16
2	1	1															1	1	18
1	2	1															1	1	23

Extra 2: binnen, bollen met beluchting, exp. 3																			
Overig	Tetra	Nav	A16	A15	A14	A13	A12	A11	A10	A9	A8	A7	A6	A5	A4	A3	A2	A1	Dag
1																	3	3	2
																	2	2	3
2																	3	3	4
2																	2	2	7
2												1	1	1			2	2	8
2	1															1	2	2	9
2	1	1															2	2	14
2	1	1				1											1	1	15
1	1	1	1											1			1	1	17
1	1	1	1														1	1	21
2	2	1															1	1	23

Eindresultaat

Schaal van 1 tot en met 6. Het hoogste cijfer (6) staat voor de dikste algenmassa. Het laagste cijfer (1) staat voor de dunste algenmassa.

Tabel 8: Eindresultaat van het natuurlijk water experiment.

Proefopstelling	Experiment 1	Experiment 2	Experiment 3
Bollen met beluchting	6	6	6
Zakken zonder beluchting	5	5	5
Zakken grond	4	3	3
Zakken bassin	2	1,5	1,5

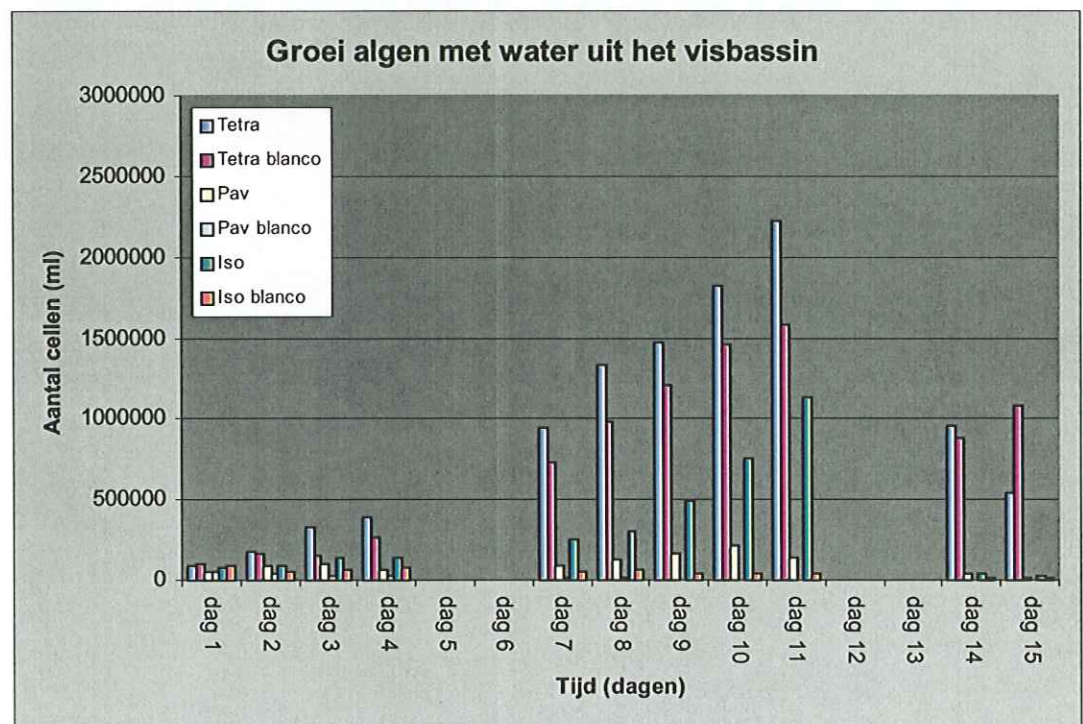
Onderzoek 2 water uit het visbassin

Experiment 2.1

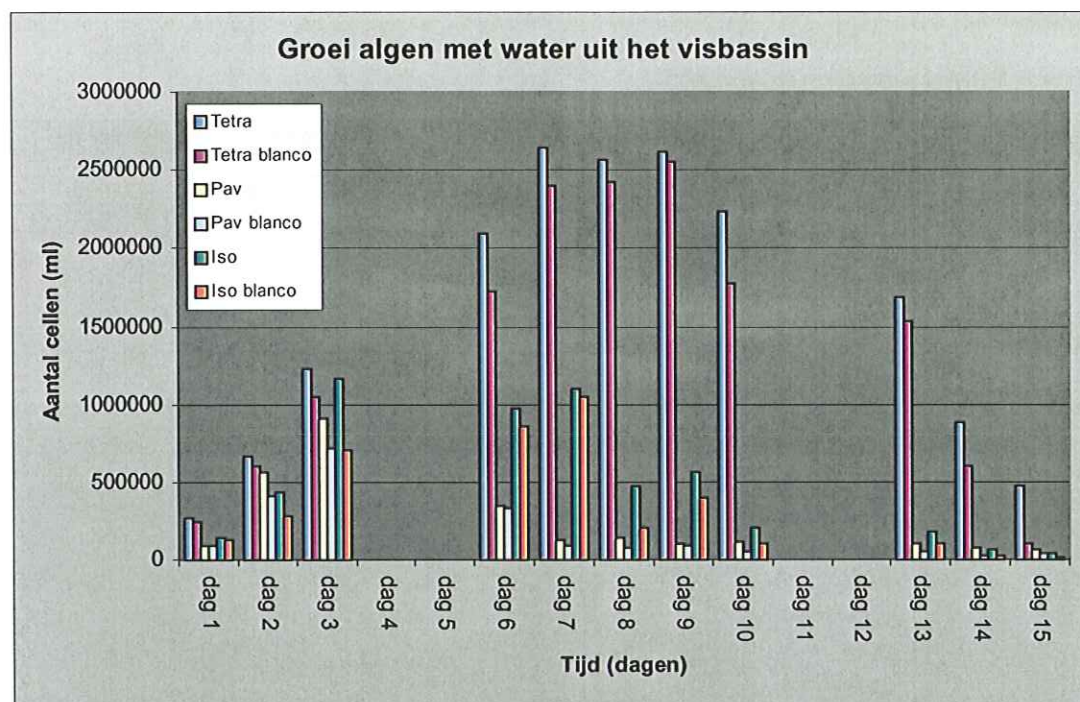
Tabel 9: Maximum aantal cellen per algensoort.

Algensoort	Maximum aantal cellen per 0,06 mm ²	Maximum aantal cellen per ml
<i>Tetraselmis suecica</i>	300-330	2.500.000 – 2.750.000
<i>Pavlova lutheri</i>	200-215	1.700.000 – 1.800.000
<i>Isochrysis galbana</i>	300-340	2.500.000 – 2.850.000

Experiment 2.2



Figuur 2.2: Groeiproces algen met water uit het visbassin, experiment 2.

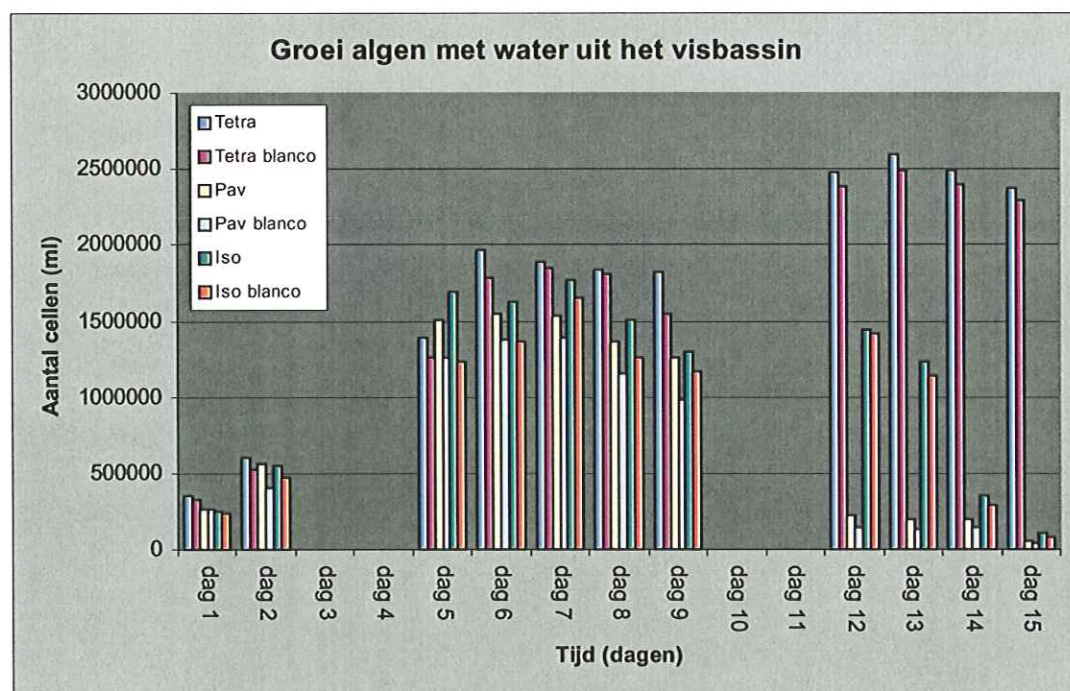
Experiment 2.3

Figuur 2.3: Groeiproces algen met water uit het visbassin, experiment 3.

Experiment 2.4

Tabel 10: Meting nutriënten water uit het visbassin (experiment 4).

Stof	Meting 1 (mg/l)	Meting 2 (mg/l)
$\text{NO}_3^{2-}\text{-N}$	4,00	3,00
$\text{NO}_2\text{-N}$	0,235	0,207
$\text{NH}_3\text{-N}$	0,650	0,610
PO_4^{3-}	2,21	1,85



Figuur 2.4: Groeiproces algen met water uit het visbassin, experiment 4.

Referentielijst

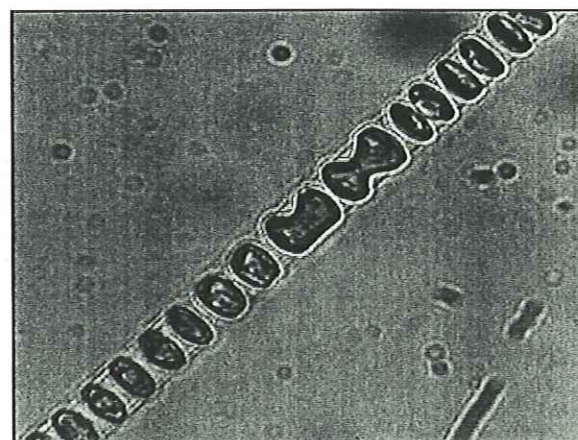
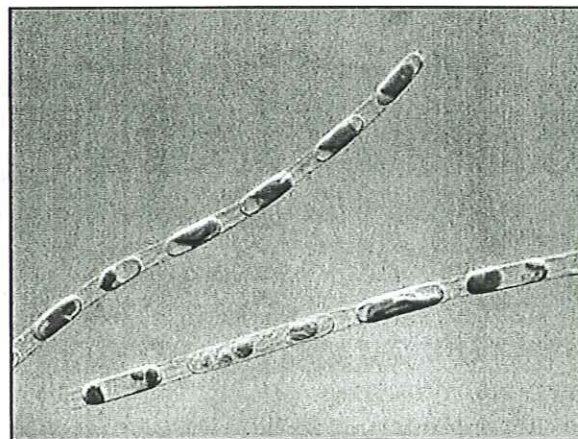
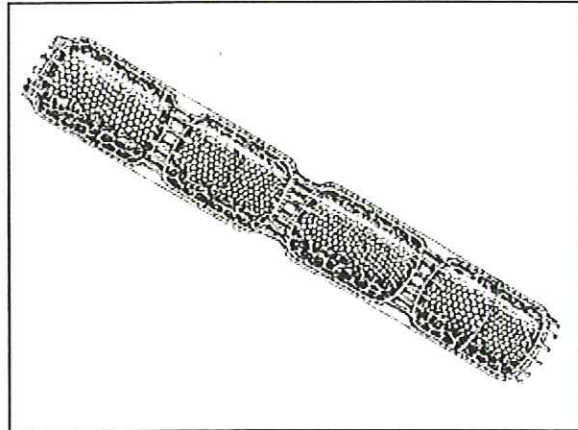
Kamermans, P., Brummelhuis E. (2002). Productie van mosselzaad met collectoren. RIVO rapport, nr C010/02.

Hussenot, J., Brossard, N., 1995. Premiers essais automnaux de culture de diatomées en masse (24 m³) sur eau de mer fertilisée (N/P/Si). Culture sans ensemencement et conditions limitantes. IFREMER, RIDRV-94.03-RA/CREMA-L'Houmeau, 26 pp.

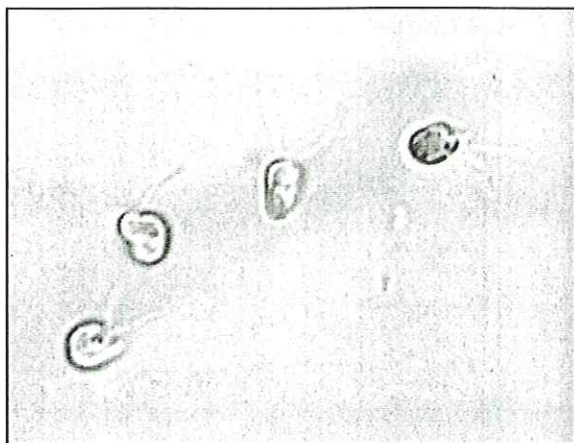
Drebes, G. (1974). Marines phytoplankton. Geor Thieme Verslag Stuttgart.

Rijkswaterstaat, Rijksinstituut voor Kust en Zee

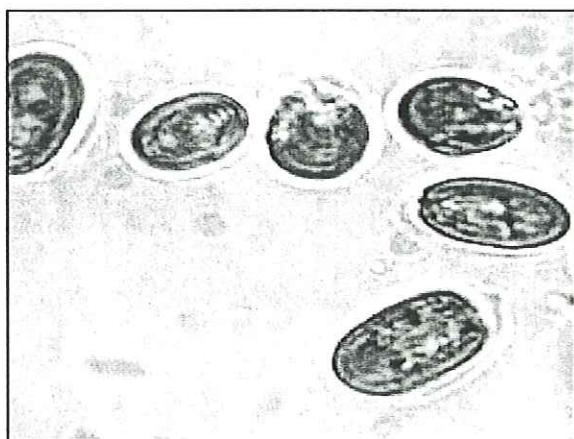
Bijlage 1: Foto's *Skeletonema costatum* natuurlijk water experiment



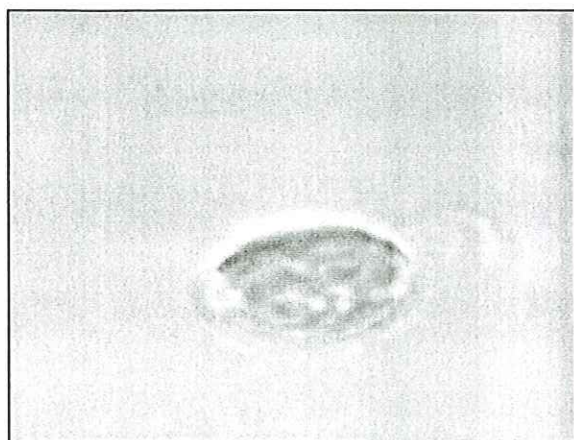
Bijlage 2: Foto's algensoorten experiment met water uit het visbassin



Isochrysis galbana



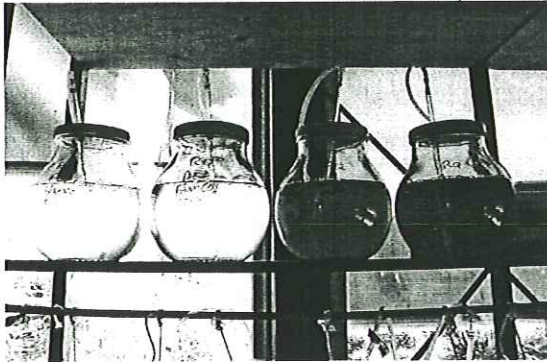
Tetraselmis suecica



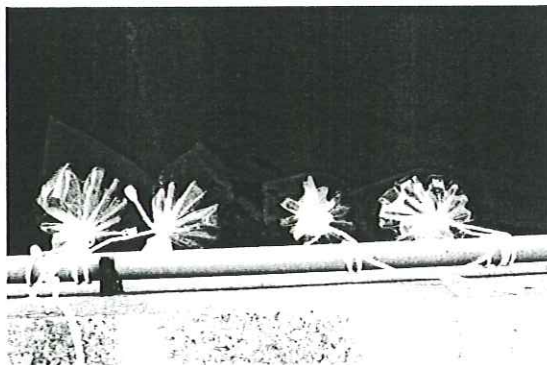
Pavlova lutheri

Bijlage 3: Proefopstelling natuurlijk water

Binnen beluchting



Buiten bassin



Binnen zonder beluchting



Buiten grond



Bijlage 4: Algenlijst

Algen 1 (A1):

Donkere strengen en onduidelijk patroon van binnen. Een vrij brede buitenwand die erg donker van kleur is. De breedte is ongeveer 0,019 mm. De lengte verschilt nog al maar is vrijwel altijd heel lang groter als het beeldvlak van de microscoop.

Algen 2 (A2):

Lichte strengen en een soort spiraalachtige draad er omheen. Een donkere buitenwand. Deze algen hebben veel overeenkomsten met A1. Deze is ook ongeveer 0,019 mm. De lengte verschilt nog al maar is vrijwel altijd heel lang groter als het beeldvlak van de microscoop.

Algen 3 (A3):

Deze algen zijn ook licht van kleur en is iets breder dan A1 en A2. De breedte is ongeveer 0,024 mm. Een donkere buitenwand en van binnen zitten er kleine ovaalachtige celletjes in. Deze algen zijn echter wel een stuk korter dan A1 en A2. De lengte varieert nog al sterk dus is moeilijk te zeggen.

Algen 4 (A4):

Deze algen zijn vergelijkbaar met A3. Echter heeft deze een heel andere vorm en varieert in grootte, misschien dat het uitgroeit tot A3.

Algen 5 ☐ *Dinophysis* (A5):

Dit is een hele grote algen soort. Heeft een opmerkelijke vorm en structuur van binnen. Heeft vaak de vorm van een vaas en vanbinnen zitten symmetrisch gelegen streepachtige cellen. Varieert soms in vorm (vierkant of rechthoekig) en grootte. De cel is zo rond de 0,14 mm breed en 0,31 mm lang. De buitenwand is vrij breed en donker. De cel van binnen is erg licht.

Algen 6 (A6):

Deze algen hebben een *Skeletonema* achtige structuur. De strengen zijn 0,009 a 0,014 mm breed en er zit ongeveer 0,057 mm tussen 2 cellen.

Algen 7 (A7):

Deze algen hebben een *Skeletonema* achtige structuur. Lange strengen met ongelijke bolletjes qua grootte. De strengen zijn ongeveer 0,019 mm breed en er zit ongeveer 0,005 mm tussen 2 cellen.

Algen 8 → *Melosira* (A8):

Deze algen hebben in vergelijking met A6 en A7 rechthoekige, grotere, donkere cellen. Er zit 0,024 mm tussen 2 cellen en is zo een 0,009 mm breed.

Algen 9 → *Biddulphia* (A9):

Deze algen zijn veel groter in vergelijking met A6, A7 en A8. Het heeft wel een soortgelijke structuur. Deze algen zijn 0,057 mm breed en er zit 0,12 mm tussen 2 cellen. De cellen zijn groen van binnen.

Algen 10 → *Skeletonema costata* (A10):

Deze algen hebben eivormige donkere cellen en heeft ook de structuur van *Skeletonema*.

Algen 11 (A11):

Deze algen zijn lang en fel groen. Ze zijn 0,024 mm breed en er zit 0,038 mm tussen 2 cellen. De cellen zijn aaneengesloten.

Algen 12 (A12):

Deze algen lijken vrij veel op A8. De cellen zijn wat korter en ronder van vorm. Cellen zijn ook iets donkerder.

Algen 13 □ *Nitzschia* (A13):

Deze algen komen in sommige monsters veel voor. Deze algen zijn pipet-vormig en in het middenlijf zitten er groene celletjes. De cellen zijn ongeveer 0,09 mm lang en 0,005 mm breed.

Algen 14 → *Chaetoceros* (A14):

Deze algen hebben grote groene ovaal tot rechthoekige cellen. De cellen worden omsloten in een rechthoekige balk. De cellen zijn 0,019 mm breed en er zit 0,033 tot 0,038 mm tussen 2 cellen.

Algen 15 → *Skeletonema costatum* (A15):

Deze algen hebben rechthoekige afgeronde cellen. Het lijkt veel op A8 maar de cellen zijn wat korter en er zit wat meer ruimte tussen de cellen. De cellen zijn ook wat lichter van kleur dan A8. Tussen de cellen zijn een soort draadjes gespannen. De cellen zijn 0,009 mm breed en er zit 0,024 mm tussen 2 cellen.

Algen 16 → *Chaetoceros* (A16):

Deze algen hebben een donkergroene langgerekte cellenketen. De cellen zijn 0,009 mm breed er zit 0,033 mm tussen 2 cellen.

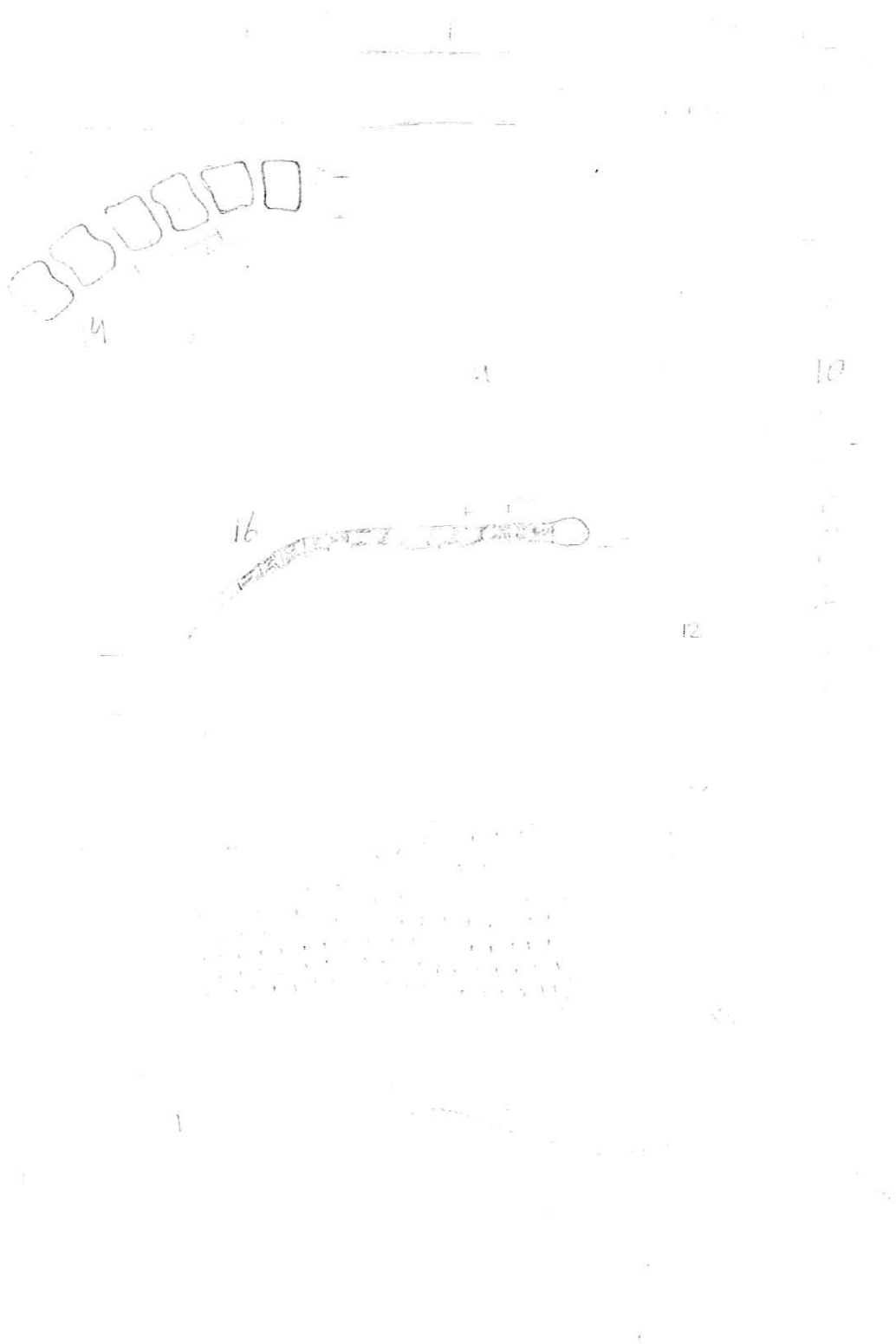
***Tetraselmis*.**

Één van deze algensoort (*Tetraselmis suecica*) wordt ook in de monoculturen gekweekt.

Overig:

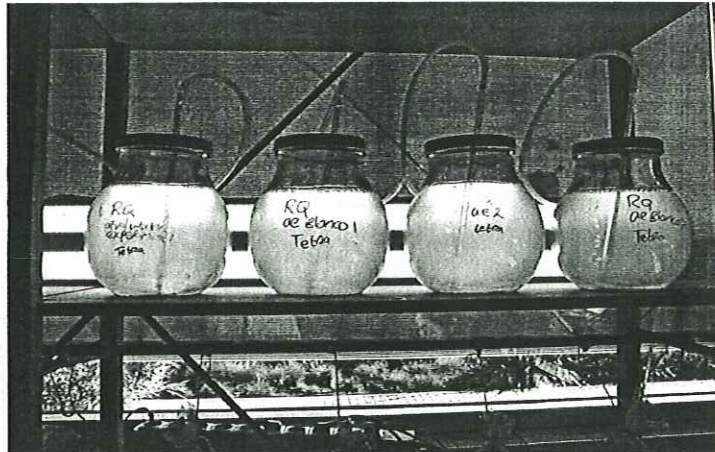
Deze algensoorten lijken niet op de hierboven genoemde soorten en vallen voor het gemak onder één naam. Indien mogelijk wordt/worden eventuele overheersende soort/soorten bij naam genoemd.

Bijlage 5: Tekening algen



Bijlage 6: Proefopstelling experiment met water uit het visbassin

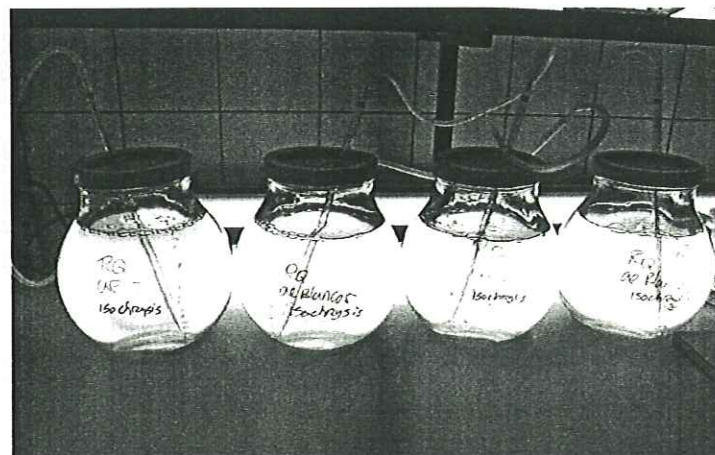
*Tetraselmis
suecica*



*Pavlova
lutheri*



*Isochrysis
galbana*



Bijlage 7: *Skeletonema costatum* in de Oosterschelde

Tabel 15: voorkomen van *Skeletonema costatum* in de Oosterschelde over de seizoenen

Diatomee	Locatie	Datum	Aantal/L
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	25-2-98	720
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	11-3-98	18574
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	24-3-98	51405
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	8-4-98	28245
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	22-4-98	12489
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	7-5-98	1868
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	19-5-98	2526
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	4-6-98	432396
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	16-6-98	9934
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	15-7-98	795
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	4-8-98	305221
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	8-3-99	2420
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	18-5-99	8032
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	15-6-99	53213
<i>Skeletonema costatum</i>	Hammen oost	19-10-99	6756

Diatomee	Locatie	Datum	Aantal/L
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	11-2-98	946
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	24-3-98	683
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	8-4-98	22160
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	22-4-98	2771
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	16-6-98	20080
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	4-8-98	28543
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	18-8-98	2042
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	16-9-98	1723
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	8-12-98	564
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	6-4-99	11886
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	19-4-99	101740
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	15-6-99	152610
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	30-6-99	5020
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	20-7-99	33632
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	14-9-99	11239
<i>Skeletonema costatum</i>	Lodijkse Gat	19-10-99	766

Bijlage 8: Tabellen experiment met water uit het visbassin

Tabel 11: Groeiproses algen met voedingsmedium , experiment 2.1

Aantal dagen	Iso per 0.06 mm ²	Tetra per 0.06 mm ²	Pav per 0.06 mm ²	Iso per ml	Tetra per ml	Pav per ml
Dag 1	8	44	4	66747	367109	33374
Dag 2						
Dag 3						
Dag 4	14	71	11	116807	592380	91777
Dag 5	19	100	16	158524	834338	133494
Dag 6	16	194	15	133494	1618617	125151
Dag 7	26	334	26	216928	2786690	216928
Dag 8	41	330	37	342079	2753317	308705
Dag 9						
Dag 10						
Dag 11	100	329	103	834338	2744974	859369
Dag 12	166	252	146	1385002	2102533	1218134
Dag 13	315	269	205	2628166	2244370	1710394
Dag 14	300	280	209	2503015	2336148	1743767
Dag 15	336	275	213	2803377	2294431	1777141

Tabel 12: Groeiproses algen met water uit het visbassin, experiment 2.2

Aantal dagen	Iso per 0.06 mm ²	Iso blanco per 0.06 mm ²	Tetra per 0.06 mm ²	Tetra blanco per 0.06 mm ²	Pav per 0.06 mm ²	Pav blanco per 0.06 mm ²	Iso per ml	Iso blanco per ml	Tetra per ml	Tetra blanco per ml	Pav per ml	Pav blanco per ml
Dag 1	9	10	11	12	6	6	75090	83434	91777	100121	50060	50060
Dag 2	11	6	21	19	10	4	91777	50060	175211	158524	83434	33374
Dag 3	17	8	39	18	12	3	141838	66747	325392	150181	100121	25030
Dag 4	16	9	46	32	7	3	133494	75090	383796	266988	58404	25030
Dag 5												
Dag 6												
Dag 7	30	6	113	88	10	2	250302	50060	942802	734218	83434	16687
Dag 8	36	7	159	117	15	1	300362	58404	1326598	976176	125151	8343
Dag 9	59	5	176	144	20	0	492260	41717	1468436	1201447	166868	0
Dag 10	91	4	218	175	26	0	759248	33374	1818858	1460092	216928	0
Dag 11	135	4	267	189	17	0	1126357	33374	2227684	1576900	141838	0
Dag 12												
Dag 13												
Dag 14	5	2	114	106	5	0	41717	16687	951146	884399	41717	0
Dag 15	3	2	65	130	1	0	25030	16687	542320	1084640	8343	0

Tabel 13: Groeiproses algen met water uit het visbassin, experiment 2.3

Aantal dagen	Iso per 0.06 mm ²	Iso blanco per 0.06 mm ²	Tetra per 0.06 mm ²	Tetra blanco per 0.06 mm ²	Pav per 0.06 mm ²	Pav blanco per 0.06 mm ²	Iso per ml	Iso blanco per ml	Tetra per ml	Tetra blanco per ml	Pav per ml	Pav blanco per ml
Dag 1	17	16	32	29	11	10	141838	133494	266988	241958	91777	83434
Dag 2	52	34	80	72	67	49	433856	283675	667471	600724	559007	408826
Dag 3	140	84	147	125	108	85	1168074	700844	1226478	1042923	901086	709188
Dag 4												
Dag 5												
Dag 6	116	102	251	207	42	40	967833	851025	2094190	1727081	350422	333735
Dag 7	132	125	317	287	16	11	1101327	1042923	2644853	2394551	133494	91777
Dag 8	57	24	308	290	17	9	475573	200241	2569762	2419582	141838	75090
Dag 9	67	48	313	306	13	10	559007	400482	2611479	2553076	108464	83434
Dag 10	25	13	267	213	14	6	208585	108464	2227684	1777141	116807	50060
Dag 11												
Dag 12												
Dag 13	21	12	202	183	12	6	175211	100121	1685364	1526839	100121	50060
Dag 14	8	3	106	72	9	3	66747	25030	884399	600724	75090	25030
Dag 15	5	2	57	13	8	4	41717	16687	475573	108464	66747	33374

Tabel 14: Groeiproses algen met water uit het visbassin, experiment 2.4

Aantal dagen	Iso per 0.06 mm ²	Iso blanco per 0.06 mm ²	Tetra per 0.06 mm ²	Tetra blanco per 0.06 mm ²	Pav per 0.06 mm ²	Pav blanco per 0.06 mm ²	Iso per ml	Iso blanco per ml	Tetra per ml	Tetra blanco per ml	Pav per ml	Pav blanco per ml
Dag 1	30	29	43	39	32	32	250302	241958	358766	325392	266988	266988
Dag 2	66	56	72	63	67	49	550663	467230	600724	525633	559007	408826
Dag 3												
Dag 4												
Dag 5	203	148	166	150	181	150	1693707	1234821	1385002	1251508	1510153	1251508
Dag 6	194	163	236	214	186	165	1618617	1359972	1969039	1785484	1551870	1376658
Dag 7	212	198	226	221	183	166	1768798	1651990	1885605	1843888	1526839	1385002
Dag 8	181	151	220	216	163	138	1510153	1259851	1835545	1802171	1359972	1151387
Dag 9	155	140	218	186	150	117	1293225	1168074	1818858	1551870	1251508	976176
Dag 10												
Dag 11												
Dag 12	173	169	296	285	27	18	1443406	1410032	2469642	2377865	225271	150181
Dag 13	148	137	311	298	23	15	1234821	1143044	2594793	2486329	191898	125151
Dag 14	42	35	298	287	24	17	350422	292018	2486329	2394551	200241	141838
Dag 15	12	10	284	275	6	5	100121	83434	2369521	2294431	50060	41717

Bijlage 9: Begrippenlijst

(Schelpdier)broed:

Larven die zich settelen worden broed genoemd

Hatchery:

Een plek waar eitjes worden gekweekt en gebroed.

Flagellaten:

Pantserwieren

Monocultuur:

Algencultuur met één algensoort

Diatomeeën:

Kiezelwieren

Natuurlijk water:

Zeewater (uit de Oosterschelde)

Paaien:

Loslaten van eicellen en zaadcellen (van de mosselen en oesters)

