

Hoe giftig is nitraat voor Afrikaanse meerval?

Edward Schram¹, Jonathan A.C. Roques¹, Wout Abbink¹, Yanick Yokohama², Tom Spanings², Pepijn de Vries¹, Stijn Bierman¹, Hans van de Vis¹ en Gert Flik²

¹) IMARES, Wageningen Aquacultuur*, IJmuiden.

²) Department of Animal Physiology, Institute for Water and Wetland Research, Faculty of Science, Radboud Universiteit Nijmegen.

*) Wageningen Aquacultuur is een consortium van IMARES Aquacultuur en AFI (Aquaculture and Fisheries Group, Wageningen university), beide onderdeel van Wageningen UR.

In een recirculatiesysteem kan de nitraatconcentratie hoog oplopen. Hoe hoog mag de nitraatconcentratie worden zonder dat dit negatieve effecten heeft op de vissen? IMARES onderzocht dit in samenwerking met de Radboud universiteit Nijmegen voor Afrikaanse meerval. Conclusie: nitraat is niet ongevaarlijk. Tot 140 mg nitraatstikstof per liter lijken meervallen weinig hinder te ondervinden. Wordt de concentratie hoger dan daalt de voeropname en groei behoorlijk.

Achtergrond

Vissen produceren ammonia als eindproduct van het eiwitmetabolisme en scheiden dit via de kieuwen uit naar het water. Omdat ammonia giftig is voor vissen moet het uit het kweekwater verwijderd worden. In recirculatiesystemen wordt ammonia in biologische filters door bacteriën omgezet in het veel minder giftige nitraat (nitrificatie). Nitraat hoopt zich hierdoor op in het kweekwater. Hoe hoog de nitraatconcentratie wordt, is van meerdere factoren afhankelijk, zoals de pH, de mate van verversing van het kweekwater en de eventuele omzetting van nitraat in stikstofgas (denitrificatie). De nitraatconcentraties waaraan vissen in recirculatiesystemen worden blootgesteld liggen over het algemeen tussen de 50 en 200 mg nitraatstikstof /l. Nitraat is volgens weten-

schappelijke literatuur wel degelijk giftig voor vissen. Echter de nitraatconcentraties waarbij negatieve effecten optreden bij vissen zijn door gebrek aan onderzoek nauwelijks bekend. We weten daarom niet of de chronische blootstelling van vissen aan hoge nitraatconcentraties in recirculatiesystemen slecht is voor het welzijn en de productie. IMARES onderzocht daarom in opdracht van het ministerie van EL&I de effecten van hoge nitraatconcentraties op Afrikaanse meerval. Het onderzoek moest de praktische vraag beantwoorden hoe hoog de nitraatconcentratie in het kweekwater mag worden zonder dat dit negatieve effecten heeft op de groei en het welzijn van de vissen. Om deze vraag te kunnen beantwoorden, moesten we ook meer te weten komen over wat er nu precies met een vis gebeurt als deze wordt blootge-

steld aan hoge nitraatconcentraties. We hebben daarom niet alleen naar voeropname, groei en voederconversie gekeken, maar ook naar stressfysiologie, ionen in het bloedplasma, osmoregulatie en kieuwhistologie. Op deze manier wordt een concrete, praktische vraag beantwoord en leren we tegelijkertijd ook nog het een en ander over de fysiologie van deze vis.

Het experiment

Het experiment maakte gebruik van 14 groepen van 13 meervallen met een gemiddeld gewicht van 155 gram. Elke groep werd gehuisvest in een aquarium van 30 liter. Twee groepen werden op de eerste dag van het experiment bemonsterd om uitgangswaarden vast te stellen. Op de andere 12 groepen werd een van zes behandelingen toegepast (twee groepen per behandeling). Vijf van de zes behandelin-

gen betroffen de blootstelling aan nitraat in de concentraties 6, 20, 59, 136 of 380 mg nitraatstikstof per liter. De zesde behandeling betrof blootstelling aan een hoge nitraatconcentratie (315 mg nitraatstikstof/l) in aanwezigheid van natriumchloride (2,4 g/l) om een mogelijk effect van chloride op nitraatgiftigheid te onderzoeken. De vissen werden bij de start en het einde van het experiment gewogen. De vissen werden tweemaal per dag met de hand gevoerd tot de maximale voeropname was bereikt. Het experiment werd na 42 dagen gestopt. Van alle vissen in het experiment zijn na de proef bloedmonsters, bloedplasma-monsters en kieuwmonsters genomen.

Fysiologische effecten van nitraat

Heel opvallend was dat de nitraatconcentratie in het bloedplasma toenam met de nitraatconcentratie in het water (Fig.

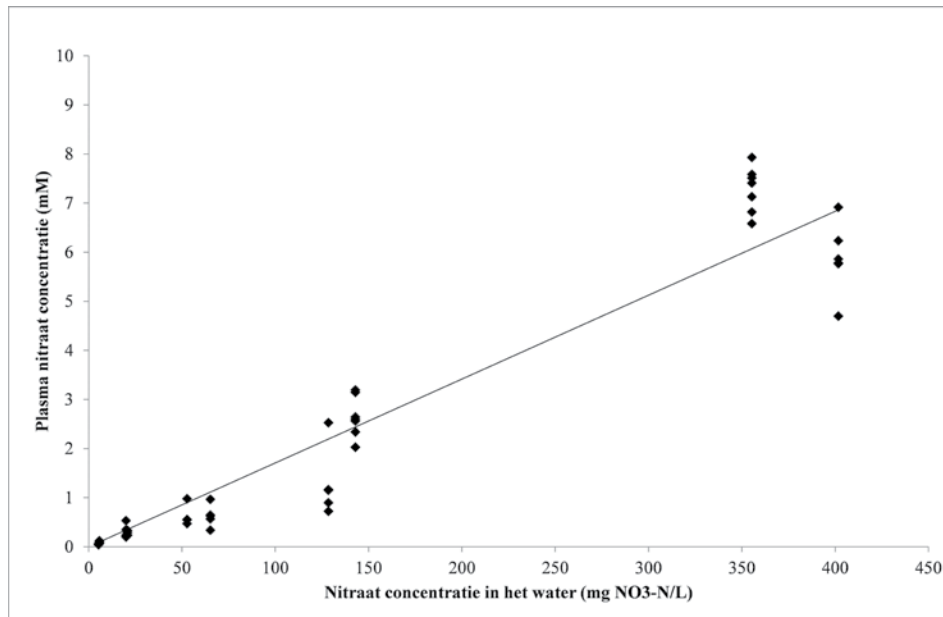


Fig. 1. De nitraatconcentratie in het bloedplasma van Afrikaanse meerval in relatie tot de nitraatconcentratie in het water.

1) zonder dat dit tot duidelijke fysiologische verstoringen in de meerval leidde. Toen we in een vorig experiment meerval blootstelden aan hoge ammoniac concentraties in het water (zie Aquacultuur 2012, nr. 1, blz 19) zagen we iets heel anders. De meerval hield de ammoniacconcentratie in het bloedplasma laag, waarschijnlijk door alle binnenkomende ammonia actief weer uit te scheiden. Blijkbaar is het dus voor de meerval in vergelijking met ammonia niet zo'n probleem als nitraat het lichaam binnen komt.

De osmolaliteit, een maat voor de totale hoeveelheid ionen, van het bloedplasma werd niet beïnvloed door de nitraatconcentratie in het water. Dit is opvallend, omdat de hoeveelheid nitraat, en nitraat is een ion, in het bloedplasma wel gestegen was door de hogere nitraatconcentratie in het water. Het lijkt er op dat de meerval de hoeveelheid ionen in het bloedplasma constant houdt door de hoeveelheid chloride-ionen in het bloedplasma te verlagen, zodra er veel nitraat de vis binnenkomt. De chlorideconcentratie in het bloedplasma werd namelijk lager als de nitraatconcentratie in het water en het plasma hoger werd.

Nitraat had ook geen effect op de kieuwen. In de eerder genoemde ammonia proef werden grote effecten op de morfologie van de kieuwen waargenomen. Die aanpassingen waren er waarschijnlijk op gericht de doorlaatbaarheid van de kieuwen voor ammonia te verlagen zodat ammonia minder makkelijk naar binnen kon komen. Voor nitraat zijn die aanpassingen blijkbaar niet nodig. Dit kan komen doordat nitraat veel minder giftig is dan ammonia of omdat nitraat toch al moeilijk via de kieuwen de vis in kan komen.

Meerval blijkt ook niet gestrest te raken als er veel nitraat in het water zit. Wij zagen geen effecten op de concentraties in het bloedplasma van de stressindicatoren cortisol, glucose en lactaat.

Voeropname, groei en voederconversie

Dat we geen effecten van nitraat op de fysiologie hebben waargenomen, betekent niet dat nitraat helemaal geen effect heeft op meerval. We vonden wel degelijk grote effecten op de totale voeropname (TFI), specifieke groeisnelheid (SGR) groei en in mindere mate op de voederconversie (FCR). De resultaten worden weergegeven in Tabel 1. De SGR van de vissen die werden blootgesteld aan nitraatconcentraties

Tabel 1. Gemiddelde (SD) waarden per behandelingen (N = 2) voor het startgewicht, eindgewicht, totale voeropname (TFI), specifieke groeisnelheid (SGR) en voederconversie (FCR). Gemiddelde waarden met verschillende letters in superscript zijn significant verschillend van elkaar. SD = Standaard deviatie van de gemiddelde waarde per behandeling.

Behandeling	Water NO ₃	Startgewicht	Eindgewicht	TFI	SGR	FCR
	(mg NO ₃ -N/L)	(g)	(g)	(g/vis)	(%BW/d)	
1-Control	5.5	153.6 (9.0)	495.5 (5.6) ^a	262.4 (0.6) ^a	2.93 (0.18) ^a	0.77 (0.03) ^a
2	20	155.1 (12.4)	480.3 (12.8) ^a	251.4 (4.4) ^a	2.83 (0.13) ^a	0.77 (0.01) ^{ab}
3	59	157.2 (5.7)	483.3 (28.6) ^a	252.9 (17.9) ^a	2.81 (0.06) ^a	0.78 (0.00) ^{ab}
4	136	151.6 (7.2)	464.7 (48.9) ^a	246.9 (23.6) ^a	2.80 (0.14) ^a	0.79 (0.03) ^{ab}
5	380	149.4 (9.6)	303.5 (91.7) ^b	127.3 (60.8) ^b	1.72 (0.60) ^b	0.84 (0.05) ^b
6-Chloride	315	158.3 (13.4)	278.9 (31.6) ^b	111.4 (19.5) ^b	1.41 (0.07) ^b	0.92 (0.02) ^c

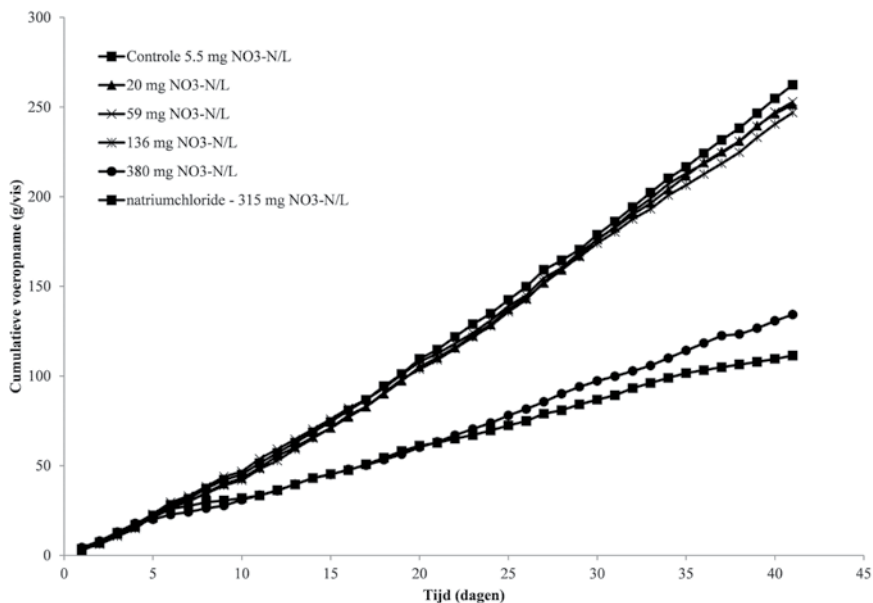


Fig. 2. De cumulatieve voeropname per vis voor de zes nitraatbehandelingen. In de eerste vijf dagen wordt de nitraatconcentratie in het water stap voor stap opgebouwd. Zodra de nitraatconcentratie boven de 136 mg NO₃-N/l komt, neemt de voeropname af.

van 315 en 380 mg nitraatstikstof/l was ruim 35% lager dan de SGR van de vissen die werden blootgesteld aan nitraatconcentraties van 140 mg NO₃-N/l en lager. De vissen die werden blootgesteld aan een hoge nitraatconcentratie in combinatie met natriumchloride (2.4 g/l) hadden de hoogste voederconversie (0.92). Blijkbaar moesten de vissen door het zout in het water extra energie steken in osmoregulatie (het uitscheiden van extra chloride ionen om de osmolaliteit constant te houden bij hoge nitraatconcentraties kost meer energie als er meer chloride in het water zit) en gaat dit ten koste van groei.

De cumulatieve voeropname per vis wordt voor de verschillende behandelingen weergegeven in Figuur 2. Hierin is te zien dat in de eerste vier dagen van het ex-

periment waarin de nitraatconcentraties langzaam opgevoerd werden, de voeropname nog gelijk bleef bij alle behandelingen. Zodra op de vijfde dag de hoogste nitraatconcentratie bereikt werd, zagen we meteen een effect op de voeropname. Blijkbaar wordt tussen de een na hoogste (136 mg N/l) en de hoogste (380 mg N/l) een grens overschreden, waarboven de vissen meteen minder gaan eten. Dit effect op voeropname hield vervolgens het hele experiment aan, wat aantoonde dat de vissen zich niet kunnen herstellen en aanpassen aan de sterk verhoogde nitraatconcentraties.

Nitraatopname

De manier waarop nitraat vissen binnenkomt is nog niet geheel opgehelderd. Voor

regenboogforel is gesuggereerd dat nitraat alleen passief via de kieuwen de vis in kan komen. In de meerval zagen wij dezelfde verhouding tussen de nitraatconcentratie in het water en in het bloedplasma. Dit suggereert een vergelijkbaar proces van nitraatopname in beide vissoorten.

Volgens wetenschappelijke literatuur spelen de transportmechanismen voor chloride in de kieuwen van vissen nauwelijks een rol bij de opname van nitraat. Het toevoegen van chloride aan het water zou moeten leiden tot competitie tussen nitraat en chloride voor dezelfde transportmechanismen, waardoor minder nitraat opgenomen zou kunnen worden. Ons experiment laat zien dat deze theorie niet juist is voor Afrikaanse meerval. Het toevoegen van zout had geen enkel effect op de nitraatconcentraties in het bloedplasma en ook niet op de effecten van nitraat op de meerval. Het toevoegen van zout (natriumchloride) aan het water beschermt de vissen dan ook niet tegen nitraatvergiftiging.

In tegenstelling tot nitraat, komt nitriet wel via de transportmechanismen voor chloride in de kieuwen in het bloed van vissen terecht. Zout helpt daarom wel tegen nitrietvergiftiging.

Doordat nitriet vrij makkelijk in het bloed van vissen terecht komt, is het al giftig bij lage concentraties. In ons onderzoek zagen we dat de nitraatconcentratie in het bloedplasma weliswaar stijgt met toenemende nitraatconcentraties in het water, maar de concentratie in het bloedplasma bleef wel veel lager dan in het water. Blijkbaar komt nitraat vis niet zo makkelijk binnen, waardoor het pas giftig wordt bij veel hogere concentraties in het water dan nitriet.

Als de doorlaatbaarheid van de kieuwen voor nitraat laag is, spelen mogelijk andere opnameroutes een belangrijke rol. Opname van nitraat via het maag-darmkanaal zou belangrijk kunnen zijn als de vissen water drinken of water binnen krijgen tij-

dens het eten. Opname van nitraat via het maag-darmkanaal is nog niet onderzocht in vissen. Opname van nitraat via de darm zou kunnen verklaren waarom tarbot, een zoutwater vis en dus een water drinkende vis, relatief gevoelig is voor nitraat, zoals is gebleken uit recent Duits onderzoek. De lagere voeropname van meerval bij hoge nitraatconcentraties die wij hebben waargenomen past ook in dit beeld. Minder eten zou een gedragsaanpassing van de vis kunnen zijn om de blootstelling aan nitraat via ingeslikt water te verlagen.

De giftigheid van nitraat

De giftigheid van nitraat zou net als die van nitriet veroorzaakt worden doordat in het bloed het eiwit hemoglobine omgezet wordt in methemoglobine. Hemoglobine bindt en transporteert zuurstof. Methemoglobine bindt geen zuurstof, waardoor de vorming van methemoglobine in het bloed leidt tot een lagere capaciteit om zuurstof te transporteren. Nitriet en mogelijk dus ook nitraat, veroorzaakt dus zuurstofgebrek. Bij een acute vergiftiging (een snelle en sterke vorming van methemoglobine) kunnen vissen zelfs dood gaan door zuurstofgebrek. Of het ook echt zo werkt is nog maar de vraag. Veel bewijs is daar namelijk niet voor. Ook is wel gesuggereerd dat nitraat eerst omgezet moet worden in nitriet voordat het giftig wordt, en het is niet bekend of deze omzetting wel of niet plaatsvindt in vis. Helaas is het ons niet gelukt de methemoglobineconcentratie te meten in het bloed. Toch wijzen onze onderzoeksresultaten er ook op dat nitraat niet rechtstreeks hemoglobine omzet in methemoglobine en dat de giftigheid van nitraat dus anders werkt. De hoogste nitraatconcentratie in het bloedplasma die wij gemeten hebben in de Afrikaanse meerval is namelijk vrijwel gelijk aan de LC₅₀ voor nitriet (de concentratie in het plasma waarbij de helft van de blootgestelde vissen dood

gaat) in Channel catfish en zalmachtigen, zonder dat een van onze meervallen dood ging. Hieruit concluderen we dat het erg onwaarschijnlijk is dat nitraat een groot deel van het hemoglobine omzette in methemoglobine. Ook zagen we geen effect op het hematocriet gehalte (de hoeveelheid rode bloedcellen) in de meerval, terwijl in forel en karper de omzetting van hemoglobine door nitriet juist tot een lager hematocriet gehalte leidde.

Advies aan meervalkwekers

Bij hoogste nitraatconcentratie in dit experiment (380 mg NO₃-N/l) hebben wij geen ernstige fysiologische verstoringen waargenomen. De groei en voeropname waren beide echter wel flink afgenomen bij 380 mg NO₃-N/l. De hoogste nitraatconcentratie in het experiment waarbij nog geen effect werd waargenomen op voeropname en groei was 140 mg NO₃-N/l. We hebben ook waargenomen dat meervallen meteen

reageren op een te hoge nitraatconcentratie door minder te gaan eten. Wij adviseren meervalkwekers daarom de nitraatconcentratie nooit hoger te laten worden dan 140 mg NO₃-N/l. Het toevoegen van zout (natriumchloride) aan het water beschermt de vissen niet tegen nitraat.

Dit Beleidsondersteunend onderzoek is uitgevoerd in samenwerking met de Radboud universiteit Nijmegen in opdracht van het ministerie van economische zaken, landbouw en innovatie.

Ten behoeve van de leesbaarheid zijn in dit artikel literatuurreferenties weggelaten. Dit artikel is een samenvatting van "The impact of elevated water nitrate concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish Clarias gariepinus (Burchell 1822)" dat wordt gepubliceerd in Aquaculture Research.

AQUACULTUUR AGENDA

Conferenties en Beurzen

- **18-27 januari 2013** Internationale Grüne Woche, Berlin, Duitsland
Informatie: www.gruenewoche.com of 070-3114153 of e-mail naar t.keni@dnhk.org
- **31 januari 2013** "Sustainable Food Supply, Processing & Products" Brussel.
Conferentie over samenwerking, consumentengedrag en de best beschikbare technologie.
Mail: info@healthclaims.eu • Website: www.sustainablefoods.eu
Tel. +32 57466446 (Koen Descheermaeker) of +32 51311274 (Ignace Debruyne)
- **14 en 15 februari 2013** Vakbeurs Agri & Aqua in Goes
- **6 februari 2013**, Denemarken, Marel Salmon Showhow
Norresundby, tel: +4598921511, fax: +4598921101,
e-mail: salmonshowhowmarel.com, www.salmonshowhow@marel.com