

CONCEPT WERKPROGRAMMA.

De invloed van lage zuurstofconcentraties en oververzadiging
op de overleving en levensfuncties van vissen.

Een terreinverkenning voor een experimenteel onderzoek.

door
J.C.H. Peeters.

Afd. Hydrobiologie.

van het
Rijksinstituut voor Natuurbeheer.

Vertrouwelijk rapport.

september 1972.

CONCEPT WERKPROGRAMMA.

De invloed van lage zuurstofconcentraties en oververzadiging
op de overleving en levensfuncties van vissen.

Een terreinverkenning voor een experimenteel onderzoek.

door

J.C.H. Peeters.

Afd. Hydrobiologie.

van het

Rijksinstituut voor Natuurbeheer.

Vertrouwelijk rapport.

september 1972.

INHOUD.

Hoofdstuk I. Inleiding.

- 1.1. Algemene opmerkingen.
- 1.2. Indeling en begrenzing van het veld van onderzoek.
- 1.3. Aansluiting bij ander onderzoek.
- 1.4. Samenvatting.

Hoofdstuk II. Gewenste experimenten.

- 2.1. Algemene motivering.
- 2.2. Te meten responses.
- 2.3. De gewenste factoren.
- 2.4. Lijst van gewenste experimenten.
- 2.5. Samenvatting.

Hoofdstuk III. Technische aspecten.

- 3.1. Algemeen.
- 3.2. Ruimte.
- 3.3. Waterkwaliteit.
- 3.4. Contrôle waterkwaliteit.
- 3.5. Recirculatie.
- 3.6. Suppletie.
- 3.7. Reduktie van de zuurstofconcentratie.
- 3.8. Het verkrijgen van oververzadigd water.
- 3.9. Regeling van de zuurstofconcentratie.
- 3.10. Ammoniumdosering en pH-bewaking.
- 3.11. Thermostatisering.
- 3.12. Algemene hydraulische aspecten.
- 3.13. Automatische voeding.
- 3.14. Samenvatting.

Hoofdstuk IV. Keuze van het proefdier.

Hoofdstuk V. De keuze van de experimenten.

Hoofdstuk VI. De opstelling.

Hoofdstuk VII. Statistische aspekten van de proefopzetten.

Hoofdstuk VIII. Literatuur.

I. Inleiding.

1.1. Algemene opmerkingen.

De visfauna is bijna altijd een zeer belangrijk bestanddeel van een aquatische biocoenose. Talloos zijn de voorbeelden van de grote invloed van vissoorten op de samenstelling van de biocoenose.

Natuurbeheerders willen daarnaast een rijke visfauna in hun wateren, waarbij de kwantitatieve aspecten relatief onbelangrijk zijn.

Kwantitatieve aspecten, dus o.a. produktie worden wel belangrijk als de vissen zelf of de biocoenose waartoe ze behoren niet het belangrijkste zijn. Deze situatie geldt daar waar populaties van zeldzame vis-predatoren bevorderd moeten worden.

De zuurstofconcentratie is een belangrijke milieufactor voor allerlei waterdieren waaronder vissen. Daar onze kennis zowel van de zuurstofhuishouding als van de invloed van zuurstofconcentraties op vissen nog vrij gebrekkig is, is onderzoek naar beide onderwerpen van groot belang. Het eerste type onderzoek zou ons inzicht moeten verschaffen hoe de situatie in allerlei watertypen is, en het laatste zou moeten resulteren in criteria. Pas door combinatie van deze kennisgebieden kunnen we oordelen en adviseren inzake effecten van zuurstofconcentraties op vis.

1.2. Indeling en begrenzing van het veld van onderzoek.

Zuurstofgebrek kan voor vissen de dood tot gevolg hebben, maar ook kunnen sublethale effecten optreden, die zeer ongunstig kunnen zijn voor het voortbestaan van een populatie.

Ook oververzadiging van water met zuurstof kan dodelijk zijn, hoewel het hier geen specifiek effect van zuurstof betreft, maar een te grote gasdruk in het water ten opzichte van de hydrostatische druk.

Hiermee zijn al enkele hoofdcriteria gegeven voor een indeling van het veld van onderzoek, nl. lethale en sublethale effecten en onderverzadiging en oververzadiging. Alle vier zijn van groot belang voor de praktijk:

watervervuiling met zuurstofgebrek,

eutrofiëring met oververzadiging,

vissterften,

verdwijnen van vissoorten door niet-lethale effecten.

Verder kan men fundamenteel, diepergravend onderzoek aan één soort verrichten of vergelijkend onderzoek tussen meerdere soorten.

Als laatste klassifikatie-kriterium kan hier genoemd worden de vergelijking van gevoeligheid van de levensstadia van een soort.

Combinatie van deze indelingscriteria levert een enorm aantal mogelijke experimenten. Hierbij moet dan een keuze gemaakt worden waarbij de behoefte aan bepaalde informatie, als wel de technische als financiële uitvoerbaarheid de doorslag geven. De praktijk heeft behoefte aan criteria die toepasbaar zijn in het buitenwater. Dit vraagt om experimenten die de werkelijkheid enigszins simuleren. De reeds bestaande informatie voldoet vaak niet aan deze eis (er zijn b.v. talloze onderzoeken gedaan naar de lethale drempelwaarden van lage zuurstofconcentraties . Op een enkele uitzondering zijn deze experimenten echter in gesloten vaten uitgevoerd, waarbij de vis in tegenstelling tot natuurlijke omstandigheden geen gelegenheid heeft om lucht te happen). Belangrijke lacunes zijn verder het ontbreken van inzicht in de interactie van factoren zoals temperatuur, ammoniumconcentratie, de voedingstoestand van de vis, etc..

Dit alles vraagt om proefopzetten waarbij meerdere factoren tegelijkertijd gevarieerd kunnen worden. Het is wel noodzakelijk te stellen dat zuurstof voorlopig de hoofdfactor moet blijven. Hierbij aansluitend moet ook de voorwaarde worden genoemd, dat gewerkt wordt op het biologisch integratieniveau van het individu of de populatie en dat er geen fysiologisch of biochemisch onderzoek wordt verricht. Dit laatste neemt niet weg dat er geen aansluitend onderzoek in die richting gestimuleerd moet worden bij anderen.

1.3. Aansluiting bij het onderzoek van anderen.

Van groot belang is het dat er, zoals reeds genoemd, onderzoek gedaan wordt naar de zuurstofhuishouding in wateren. Zowel fundamenteel (kwantitatief onderzoek naar de basisprocessen), als vergelijkend onderzoek in verschillende watertypen is noodzakelijk. Ten dele zou dit in de toekomst op de afdeling Hydrobiologie kunnen gebeuren. In het kader van het Kromme Rijn-project werd meegewerkt aan een onderzoek naar de zuurstofhuishouding van het water in het Kromme Rijngebied. Bij dit onderzoek zijn mathematische modellen ontwikkeld die de fluctuatie in zuurstofconcentraties beschrijven.

- Methodologisch -

Methodologisch zijn er veel raakvlakken met het onderzoek van de invloed van gierlozingen op macrofauna in beken door Higler. Ook het eventuele onderzoek naar neveneffecten van herbicidengebruik heeft veel overeenkomst met het hier beschreven onderzoek. Buiten het Instituut wordt in Nederland weinig onderzoek gedaan naar de invloed van zuurstofconcentraties op vissen. De Heer Smit van het Zoölogisch Laboratorium te Leiden doet fysiologisch onderzoek naar de adaptatie van vissen aan lage zuurstofconcentraties. De Heer Fond van het NIOZ doet onderzoek naar het metabolisme van zeegronkels. In het kader van een algemeen oecologisch onderzoek naar deze groep. De Heer Huisman van de O.V.B. onderzoekt in semipraktijk-omstandigheden de invloed van waterkwaliteit op de produkties van karpers.

1.4. Samenvatting.

Vissen zijn een belangrijk natuurbeheersobject. Vanwege hun grote belang in een aquatische biocoenose, als voedsel voor vispredatoren en natuurlijk uit het oogpunt van het behoud van een gevarieerde visfauna zelf.

Er is zowel onderzoek nodig naar de zuurstofhuishouding in oppervlaktewater als naar effecten van de zuurstofconcentratie op allerlei levensfuncties van vissen.

Belangrijke indelingscriteria zijn lethaal of sublethale effecten, onderverzadiging en oververzadiging van zuurstof, fundamenteel onderzoek aan een soort of vergelijkend onderzoek aan meerdere soorten, onderzoek aan in één stadium in de levenscyclus of onderzoek aan meerdere stadia in de levenscyclus.

Het onderzoek zal verder bepaald worden door de oecologische relevantie van de vraagstellingen, waarbij de interaktie van milieufactoren een grote rol speelt. Bij het onderzoek moet voorlopig zuurstof de hoofdfactor blijven en verder zal het onderzoek zich vooral op het biologisch integratieniveau van het individu of de populatie moeten bewegen. Dit laatste houdt in dat er geen fysiologisch of histologisch of biochemisch onderzoek wordt verricht.

II. Gewenste experimenten.

2.1. Algemene motivering.

Voor het opstellen van criteria is eigenlijk alleen onderzoek naar ^{sub}lethale effecten nodig omdat criteria "veilig" moeten zijn. Lethaliteitsexperimenten zijn voor het vinden van criteria dus onnodig. Toch wil dit niet zeggen dat er om andere reden niet meer inzicht over het zuurstof cq. gasgehalte van water waarbij sterfte optreedt, nodig is. Ook in water waar de visstand bijna het hele jaar gunstige zuurstofcondities heeft kan af en toe door natuurlijke of menselijke invloeden vissterfte optreden.

2.2. Te meten responses.

De te meten respons is bij de lethaliteitsexperimenten: overlevingsduur van een bepaald percentage van de groep bij bepaalde omstandigheden.

Er kunnen zeer veel sublethale effecten aan alle levensstadia van vissen gemeten worden, zoals ontwikkelingsgedrag, voedselopname en groei, snelheid van ei ontwikkeling, verandering van ontwikkelingspercentage van de eieren, ^{Spieractiviteit} uithoudingsvermogen, het aantal nakomelingen per wijfje etc. Deze zullen bij de bespreking van de afzonderlijke experimenten ter sprake komen.

2.3. De gewenste factoren.

De aard van de factoren wordt zoals bij de begrenzing van het veld van onderzoek al genoemd is bepaald door oecologische relevantie en door het aansluiten bij het andere werk in de afdeling Hydrobiologie.

Daar in deze afdeling vooral indicatorwaarden voor organische vervuiling van allerlei organismen onderzocht wordt, worden als factoren alleen die milieufactoren gekozen die hiermee samenhangen. Dit zijn voorlopig ammoniumconcentratie en temperatuur. Andere ten dele biologische factoren zijn open of gesloten wateroppervlakte, de conditie van de vissen, voedselopnamevlak voor het experiment, stadium in de levenscyclus, acclimatisatie aan lage zuurstofconcentraties. Zie verder de onderstaande tabellen.

abiotische factoren.

Faktor.	Oorzaak.	Effect.
1. zuurstofgebrek.	afvalwaterlozing e.a.	vissterfte, sublethale effecten.
2. oververzadiging.	algenbloei.	idem.
3. lage temperatuur.	weersomstandigheden	wintersterfte i.v.m. 1.
4. hoge temperatuur.	lozing koelwater.	vissterfte, sublethale effecten.
5. hoge ammoniakconcentratie.	afvalwaterlozing, gierlozingen.	vissterfte, weefselbeschadiging e.a. sublethale effecten.
6. open of gesloten wateroppervlakten.	ijsbedekking, laboratorium-experimenten.	verhoging lethale zuurstofconcentratie.

biologische factoren.

Faktor.	Opmerkingen.
1. Stadium levenscyclus.	mogelijke en ten dele al aangetoonde verschillen in gevoeligheid of de mogelijkheid van het benutten van bepaalde milieuomstandigheden.
2. Conditie.	Eenmaal is experimenteel vastgelegd dat vissen die in een zeer goede conditie/ ^{verkeren} sterven bij zuurstofconcentraties die hoger waren dan bij vissen die in matige conditie verkeren.
3. Voedingstoestand.	Voedselopname en spijsvertering doen het zuurstofverbruik toenemen. Mogelijk heeft het ook invloed op de lethale zuurstofconcentratie.
4. Acclimatisatie aan lage zuurstofconcentratie.	Acclimatisatie verhoogt de weerstand tegen lage zuurstofconcentraties.

2.4. Lijst van gewenste experimenten.

I. Overleving.

a. onderverzadiging

- percentage overleving in relatie tot de tijd bij de lage zuurstofconcentraties. De tijdsduur van dit experiment is ongeveer 1 week.

Statistische opzet: Randomized blocks.

Motivering: het is nog niet goed bekend hoeveel tijd voldoende is om lethaliteitsexperimenten uit te voeren en welke concentratiereeksen nodig zijn.

2. Invloed van zuurstofconcentratie, temperatuur, gesloten of open wateroppervlak en acclimatisatie op het percentage overleving in de tijd.

Statistische opzet: compleet factorieel.

Motivering: Soms kan watervervuiling van zo tijdelijke aard zijn, dat vissen niet aan de daarmee gepaard gaande verschijnselen geacclimatiseerd zijn. Situaties waarbij vissen permanent aan lage zuurstofconcentratie zijn blootgesteld, komen natuurlijk ook voor.

Veel experimenten zijn in gesloten vaten uitgevoerd. In natuurlijke omstandigheden hebben vissen echter behalve bij ijsbedekking, gelegenheid om lucht te happen. Vanwege de simulatie van ijsbedekking en ter vergelijking met onderzoek in gesloten vaten moeten ook verschillende temperaturen in het experiment betrokken worden. De temperatuur van ± 4 tot 30° geeft ongeveer de extremen aan die in ons oppervlaktewater kunnen optreden.

3. De invloed van leeftijd of lichaamsgrootte op de gevoeligheid van lage zuurstofconcentratie in relatie met de gelegenheid om lucht te happen aan het wateroppervlakte.

Statistische opzet: factorieel experiment. Het onderzoek zal in gedeelten uitgevoerd moeten worden omdat niet alle levensstadia tegelijkertijd voorhanden zijn.

Motivering: Er zijn vermoede en ten dele al aangetoonde verschillen in gevoeligheid van verschillende levensstadia van vissen voor zuurstofgebrek. Dit probleem wordt in het oppervlaktewater gecompliceerd doordat jonge vis mogelijk beter gebruik kan maken van het met zuurstof verzadigde oppervlaktevlies.

4. Invloed van conditie en voedselopname op de gevoeligheid voor lage zuurstofconcentraties.

Statistische opzet: factorieel experiment.

Motivering: het is reeds eenmaal aangetoond dat vissen die in een zeer goede conditie verkeren bij een hogere zuurstofconcentratie sterven dan vissen die in een matige conditie verkeren. Voedselopname verhoogt het zuurstofgebruik bij vissen. Mogelijk heeft ook deze voedselopname een verhogend effect op de lethale zuurstofconcentratie. Combinaties van deze factoren zullen relatief vaak voorkomen.

5. De invloed van temperatuur **en** voedselopname op de lethale zuurstofconcentratie.

Statistische opzet: Factorieel experiment.

Motivering: (zie ook 4): Daar bij vissen de scope for metabolic expenditure bij hogere temperatuur meestal afneemt t.o.v. het totale metabolisme zal er mogelijk een sterkere verhoging van de lethale zuurstofconcentratie kunnen optreden dan op grond van de temperatuur alleen verwacht zou worden.

6. Overleving in de tijd onder invloed van het ammoniakgehalte.

Langdurig experiment ($\pm$ 1 maand).

Statistische opzet: randomized blocks.

Motivering: inleiding tot factoriële experimenten waarbij het ammoniakgehalte als faktor meespeelt.

7. Invloed van weefselbeschadigingen door **verblijf** in ammoniakhoudend water op de lethale zuurstofconcentratie.

Statistische opzet: factorieel experiment.

Motivering: ammoniakvergiftiging gepaard met beschadigingen aan kieuwen, erythrocyten en andere weefsels. Mogelijk veranderd hiermee ook de lethale zuurstofconcentratie.

b. Oververzadiging.

1. Percentage overlevenden in relatie tot de tijd als gevolg van oververzadiging met lucht.

Statistische opzet: randomized blocks.

Motivering: oververzadiging van water met zuurstof of lucht kan vissterfte veroorzaken. De kwantitatieve drempelwaarden zijn niet bekend.

2. Invloed van oververzadiging en temperatuur op het percentage overleving in de tijd.

Statistische opzet: factorieel experiment.

Motivering: als hierboven. Er is niets bekend over een eventuele invloed van de temperatuur.

3. Invloed van oververzadiging en ammoniakgehalte op het percentage overleving in de tijd.

Statistische opzet: factoneel experiment.

Motivering: door algenbloei kan niet alleen oververzadiging ontstaan, maar in hard water kan ook de pH hoog worden. Dit kan weer tot gevolg hebben dat er hoge gehalten aan vrije ammoniak optreden. Oververzadiging en hoge ammoniakgehalten zullen dus vaak naast elkaar voorkomen. Er is nog niets bekend over interacties tussen deze beide factoren.

II. De ontwikkeling van viseieren en larven.

a. onderverzadiging.

1. Het ontwikkelingspercentage en het percentage normale ontwikkeling van viseieren en larven onder invloed van lage zuurstofconcentratie.
2. Idem onder invloed van relatief hoge ammoniakgehalten.
3. Idem onder invloed van lage zuurstofconcentratie en hoge ammoniakgehalten.

b. oververzadiging.

1. Het ontwikkelingspercentage en het percentage normale ontwikkeling van viseieren en larven onder invloed van oververzadiging.
2. Idem onder invloed van oververzadiging en hoge ammoniakgehalten.

Algemene motivering van II: er is vrij veel onderzoek gedaan naar de invloed van lage zuurstofconcentratie op de ontwikkeling van viseieren. Er is weinig bekend over de invloed van het ammoniakgehalte en de gecombineerde invloeden van lage zuurstofconcentraties en hoge ammoniakgehalten op de ontwikkeling van viseieren en larven. Er is m.i. niets bekend van oververzadiging op de ontwikkeling van viskuit en larven.

III. Sublethale effecten door zuurstofgebrek en oververzadiging.

1. Het effect van lage zuurstofconcentraties op de groei van vissen.

Statistische uitvoering: randomized blocks.

Motivering: dit experiment is vooral van belang als inleidend experiment, zowel voor de techniek als voor het onderwerp zelf.

2. Het effect van lage zuurstofconcentraties en de temperatuur op groei van vissen.

Statistische opzet: factorieel experiment.

Motivering: Er is nog geen informatie bekend over het gecombineerde effect van lage zuurstofconcentraties en temperatuur op de groei van vissen.

3. Het effect van lage zuurstofconcentraties op de groei, rijping en vruchtbaarheid van vissen.

Opmerking: voor onderzoek naar deze effecten zijn onze inheemse vissoorten zeer moeilijk bruikbaar, omdat de meeste laat geslachtsrijp zijn en zich maar één keer per jaar voortplanten. Bovendien is hun voortplanting sterk afhankelijk van het licht regiem en temperatuurregiem. Om toch inzicht in deze materie te krijgen, zouden voor dit speciale geval kleine tropische vissoorten gebruikt kunnen worden die zich makkelijk voortplanten en waarbij de generatie-opvolging vrij snel is. Ook andere organismen dan vissen zouden gebruikt kunnen worden, zoals de inheemse Gammarus of Asellus.

Motivering: Er is nog zeer weinig bekend over de invloed van lage zuurstofconcentratie op het voortplantingssucces.

4. Het effect van ammoniakgehalte op de groei van vissen.

Statistische opzet: randomized blocks.

Motivering: inleiding tot onderzoek naar gecombineerde effecten van zuurstof- en ammoniakgehalten.

5. Effect van lage zuurstofconcentraties en het ammoniakgehalte op de groei van vissen.

Statistische opzet: factoriële experimenten.

Motivering: Het is bekend dat lage zuurstofconcentraties de lethale drempelwaarden van het ammoniakgehalte verlagen. Over het gecombineerde effect van lage zuurstofconcentraties en het ammoniakgehalte op de groei van vissen is niets met zekerheid bekend.

6. Het effect van oververzadiging met lucht op de groei van vissen.

Statistische opzet: randomized blocks.

Motivering: Er is nog geen informatie bekend over de invloed van sub-lethale oververzadigingswaarden op de groei van vissen.

7. Het effect van oververzadiging en temperatuur op de groei van vissen.

Statistische opzet: factorieel experiment.

Motivering: Als hierboven.

8. Het effect van oververzadiging en het ammoniakgehalte op de groei van vissen.

Statistische opzet: Als hierboven.

Motivering: Als hierboven.

9. Ontwikings- en keuzegedrag van vissen voor oververzadigd water.

Statistische opzet: Ten dele uit te voeren als randomized blocks (keuze van de groepen vissen). Verder kan de nauwkeurigheid opgevoerd worden door de plaats van de diverse verzadigingswaarden in opstelling te veranderen en om ze bij elke verandering ook te loten.

Motivering: Er is nog geen informatie bekend over ontwikkelingsgedrag van vissen voor oververzadigd water. Deze informatie is van groot belang om veldgegevens te kunnen interpreteren.

10. Het effect van etmaalsfluctuaties van zuurstof (van oververzadiging tot onderverzadiging) op de groei van vissen.

Statistische opzet: factorieel experiment.

Motivering: Er zijn twee experimenten bekend waarbij de groei van vissen werd gemeten onder invloed van zuurstofluctuaties. Bij deze experimenten was de totale gasdruk in het water echter nooit groter dan de hydrostatische druk.

IV. Vereenvoudigd vergelijkend onderzoek tussen soorten.

De problematiek van het vergelijkend onderzoek is als volgt samen te vatten.

1. Het is zeer moeilijk uniforme grote groepen van de verschillende soorten te krijgen.
2. Langdurige vergelijkende experimenten zijn onmogelijk.
3. Vergelijkend onderzoek naar de ontwikkeling van eieren en larven wordt moeilijk omdat vele soorten ongeveer tegelijkertijd paaien.

Eigenlijk zijn dus alleen overlevingsexperimenten geschikt om soorten te vergelijken. Dit zijn met kleine wijzingen uitgezonderd dezelfde experimenten als onder I weergegeven.

III. Technische aspecten.

3.1. Algemeen.

Het is duidelijk dat al deze experimenten niet allemaal uitgevoerd kunnen worden. Welke selectie het zal worden hangt van meerdere factoren af. Enkele belangrijke zijn:

1. maatschappelijke urgentie,
2. technische mogelijkheden,
3. financiële mogelijkheden,
4. proefdier.

Punt 3 is voornamelijk afhankelijk van 2 en het is dan ook belangrijk eerst de technische mogelijkheden te **bezien**.

3.2. Ruimte.

Er is ruimte nodig voor de volgende voorzieningen.

1. ruimte om grote aantallen vissen in voorraad te kunnen houden of om ze te kunnen kweken.
2. acclimatisatieruimten om vissen aan een bepaalde temperatuur of zuurstofconcentratie te wennen.
3. de eigenlijke proefruimte.

Het is van groot belang de ruimte zo intensief mogelijk te gebruiken om de kosten van thermostatisering, zuurstofconcentratieregeling laag te houden.

3.3. Waterkwaliteit.

Daar van leidingwater gebruik zal moeten worden gemaakt, zal dit

1. geen koper mogen bevatten (leidingen en kranen van P.V.C.),
2. geen chloor mogen bevatten (langdurig beluchten of door actief koolfilter leiden),
3. de ammoniumconcentratie moet kleiner dan 0,1 ml. per liter zijn,
4. het water mag niet te veel vrij koolzuur bevatten,
5. wanneer gebruik gemaakt gaat worden van tropische soorten zal in bepaalde gevallen het water niet te hard mogen zijn.

3.4. Contrôle van de waterkwaliteit.

Recirculatie impliceert waterzuivering. In deze waterzuivering zijn de volgende stappen nodig:

1. verwijdering van organische stoffen
 - a. makkelijk afbreekbare,
 - b. moeilijk afbreekbare organische stoffen.

2. Verwijdering van ammonium.

3. Sterilisatie.

1a en 2 kunnen verwijderd worden met biologische filters bestaande uit een laag fijn grind, geklopte lava, aquariumkool, schelpgrit of antraciet. Het duurt vrij lang voordat deze filters effectief zijn. Ze moeten geconditioneerd worden door de vuilconcentratie langzaam op te voeren. In deze filters treedt soms ook denitrifikatie op. Deze is echter niet zo belangrijk omdat het nitraatniveau met een geringe suppletie van leidingwater al voldoende laag blijft. Schelpengrit is nodig in de filters als buffer tegen de zuurvorming (koolzuur, salpeterzuur).

Er zijn formules ontwikkeld om de dimensie van filters te berekenen bij bepaalde bezettingsdichtheden. (Spotte, 1970).

Nitrifikatie verloopt optimaal bij $\pm 30^{\circ}\text{C}$. Volgens vele zuiveringsdeskundigen stopt ze bij $\pm 10^{\circ}\text{C}$. Volgens Spotte treedt er echter ook bij zeer lage temperaturen ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) nog nitrifikatie op in gesloten aquariumsystemen. Lage zuurstofconcentraties remmen de nitrifikatie eveneens. De hoogste concentratie die genoemd wordt in de literatuur zijn ± 3 mg. zuurstof per liter, de laagste 0.5 - 0.7 mg/l.

1 mg/l zuurstof behoort algemeen als de benedengrens voor nitrifikatie beschouwd. Mogelijk kan men door acclimatisatie de cultuur aan lage zuurstofconcentraties wennen. Het lijkt voorlopig haalbaar om bij zuurstofgehalten van 1.6 - 2 mg/l. nitrifikatie te krijgen.

Bij lage zuurstofconcentraties en lage temperaturen (waarbij een geringe nitrifikatie te verwachten is), is ook de voedselopname van vissen klein en daarmee hun ammoniumproductie.

Wanneer de nitrifikatie in het systeem niet voldoende blijkt te zijn, kan door toevoeging van zuurstofrijk water in het filter en door toevoeging van zuurstof/^{-arm}water daarna in zo'n verhouding dat er naast de concentratieregeling met zuurstofrijk water een waterstroom met de gewenste concentratie ontstaat.

Een andere minder gewenste mogelijkheid is het gebruik van ionenwisselaars. Deze ionenwisselaars verwijderen weliswaar ammonium-ionen zeer goed maar daarbij worden ook andere ionen verwijderd die men later weer toe moet voegen. Sommige natuurlijke ionenwisselaars schijnen tamelijk specifiek voor ammonium te zijn. (zeolieten).

- 1b. Met goede geactiveerde korrelkool kunnen zeer veel organische stoffen verwijderd worden. De kool moet regelmatig vervangen worden.

Hoe vaak men dit moet doen, moet empirisch bepaald worden.

3. Sterilisatie schijnt met UV-lampen vrij goed uitvoerbaar te zijn (Spotte, 1970, Krachtwerktuigen 1972). Volgens Burrows en Combs, 1960 werken UV-lampen ook in zalmkwekerijen ook erg goed, maar moet het water wel voorgefilterd worden door een snel zandfilter. Dit niet alleen om de turbiditeit te verminderen, maar ook omdat organismen groter dan 15 micrometer niet voldoende gedood worden.

De toplaag van het filter zal regelmatig van een overmaat aan detritus ontdaan moeten worden. Het drukverval in het biologisch filter is dan te verwaarlozen. In het schone snelle zandfilter zal een drukverlies van minimaal 20 cm. waterkolom optreden bij een filtersnelheid van 25 cm per minuut. Als het filter vuil is, zal dit veel meer zijn. De terugspoelsnelheid van het zandfilter moet groter dan 15 m. per uur zijn. Dit is dus groter dan 25 cm. per minuut.

De efficiëntste zandfilters bestaan uit de zogenaamde grof-fijnfiltraties.

Bij neerwaartse filtraties passeert het water eerst het grofste en soortelijk lichtste materiaal van het filter en daarna pas het fijnere en soortelijk zwaardere. Dit heeft de volgende voordelen:

de looptijd van het filter is langer, de filtreersnelheid is groter en er worden fijnere deeltjes weggevangen. Van groot belang van dit systeem is, dat de korrelgrootte van het filtermateriaal erg uniform is. De verschillen in korrelgrootte tussen de antraciet en het zand mogen ook niet te groot zijn om menging bij terugspoeling te voorkomen.

Als materialen voor een dergelijk filter komen in aanmerking anthraciet en zand, eventueel nog actieve kool.

Koolzuurverwijdering.

Bij hoge zuurstofverbruiken in het systeem wordt er ook veel koolzuur gevormd, hoewel een aanzienlijk deel van het zuurstofverbruik door de nitrifikatie veroorzaakt wordt. Bij een hoog zuurstofverbruik is ook de suppletiesnelheid met verzadigd water via het regelsysteem groot. Hierdoor zal de koolzuurconcentratie slechts weinig stijgen.

Ook bij een laag zuurstofgebruik zal het koolzuurgehalte niet erg stijgen, zij het wel iets meer dan bij hoog zuurstofgebruik.

Door het toepassen van buffermaterialen zal het vrije koolzuur bovendien kalk of magnesium oplossen waardoor het gehalte aan vrij koolzuur nog sterker afneemt.

3.5. Recirculatie.

Bij een elektronische zuurstofconcentratie-regeling zal de recirculatiesnelheid bepaald worden door het toelaatbare ammoniumgehalte. (zie II.).

Huisman geeft enkele gegevens over NH_4^+ produktie snelheden van karpers.

Bij 23°C produceren jonge karpers maximaal $\pm 200 \text{ mg. NH}_4^+/\text{kg./u.}$

Theoretisch zal deze produktie parallel lopen aan het zuurstofverbruik bij verschillende temperaturen e.a. omstandigheden. Bij 30°C zou men met een Q_{10} van 2 op $\pm 400 \text{ mg. NH}_4^+/\text{kg./u.}$ komen

Bij een max. toelaatbare NH_4^+ conc. van $0,1 \text{ mg/l.}$ vraagt dit een verversings- of recirculatiesnelheid van 4000 l/kg./u. Voor een experimentele eenheid van 10 visjes van 2 gr. zou de recirculatiesnelheid 80 l/u. moeten zijn.

Hierbij is verondersteld, dat de nitrifikatie zich in een filtratie voltrekt.

3.6. Suppletie.

Burrows and Combs, 1968 adviseren een suppletiesnelheid van 2 tot 10% per rondgang van het water, om de concentratie van nitraten en eventuele pheromonen laag te houden.

Zij geven als maximale dichtheden bij 18°C , voor zalmpjes van 2 gram per stuk, $4 \text{ pounds/gallon/min.}$ Met deze waterhoeveelheid wordt het recirculatie-water bedoeld. Bij 18°C wordt dit omgerekend in grammen per liter per uur 9 g/l/u. Bij een recirculatiesnelheid van 300 l. per uur zouden er dus 2700 gram aan visjes gehouden kunnen worden. In een systeem met lage zuurstofconcentraties zou men bij deze recirculatiesnelheid ± 100 visjes van 2 gr. kunnen houden. Bij 2 tot 10% suppletie van de recirculatiehoeveelheden zou er 6 tot 30 liter per uur vers water nodig zijn. Voor een experiment met 20 visjes van 2 gram is er dan $1.2-6 \text{ l/u}$ nodig. Hieraan wordt door de suppletie via de zuurstofregeling voldaan ($2-10 \text{ l/u}$).

3.7. De reductie van de zuurstofconcentratie.

De reductie van de zuurstofconcentratie kan met de volgende methoden gerealiseerd worden:

1. door de vissen en micro-organismen zelf de zuurstofconcentratie omlaag te laten brengen.
2. Door water met stikstof te doorborrelen of water fijn te verdelen in een stikstofatmosfeer.

3. Door vacuümontgassing toe te passen.
4. Met chemicaliën zoals hydrazine en natriumsulfiet.

Hydrazine is zeer giftig en komt daarom niet in aanmerking.

Natriumsulfiet met kobaltkatalisator is waarschijnlijk wel toepasbaar, omdat zowel de kobaltconcentratie als de natriumsulfietconcentratie ver beneden de toxische dosis kunnen blijven.

Alle vier genoemde systemen hebben hun voor- en nadelen. Het eerste systeem vraagt om een elektronische zuurstofbewaking. Daarnaast moet de ammonium verwijderd kunnen worden. De investering voor een zuurstofconcentratie-regeling bedraagt $\pm$ 4000 tot 6000 gulden.

Bij het tweede systeem is de investering vrij laag maar het stikstofverbruik en de daarmee lopende kosten zeer hoog. De totale kosten aan stikstof zullen bepaald worden door de verversingssnelheid van het water en de duur van de experimenten. Het derde systeem is qua investering duur, waarschijnlijk meer dan 10.000 gulden, maar de dagelijkse kosten zijn waarschijnlijk vrij klein. Een ontgassingsinstallatie is zeer geschikt voor continu bedrijf door zijn bedrijfszekerheid en de concentratie van het afgeleverde water kan zeer constant zijn. Bij de vierde methode moeten er zeer nauwkeurige stroommeters aangeschaft worden die de kosten vrij hoog zullen doen zijn. Verder zal het moeilijk zijn om zonder overmaat aan natriumsulfiet de zuurstofconcentratie precies nul te krijgen.

3.3. Het verkrijgen van oververzadigd water.

Daar het bekende lethale effect van oververzadiging op vissen, namelijk gasblazenziekte, in principe door elk gas kan worden veroorzaakt, hoeft er geen gebruik gemaakt te worden van zuurstof. Het makkelijkst lijkt de produktie van oververzadigd water te realiseren door een mengsel van water en lucht in een drukketel met drukregelaar te pompen. Het mengsel kan men verkrijgen door aan de zuigzijde een venturi met een luchtaanzuigbuisje te plaatsen (te vergelijken met een waterstraalpomp). De luchthoeveelheid kan men regelen met een kraan. Afhankelijk van de druk en luchttoevoer kan men water met zeer hoge oververzadigingen krijgen. Met het zuurstofregelsysteem en de juiste meetrange van de zuurstofmeter kan men door menging met 100% verzadigd water een geschikte concentratiereeks instellen voor de experimenten. Wanneer men aanneemt dat het stikstofgehalte in water bij oververzadiging met zuurstof door algenbloei niet afneemt dan kan men voor de diverse zuurstofoververzadigings-percentages de gasdruk berekenen.

Deze zijn respectievelijk voor 100, 150, 200, 300 en 400% verzadiging, respectievelijk 1, 1,1, 1,2, 1,4 en 1,6 atmosfeer. Wanneer men de lucht plus water in de ketel onder een druk van ± 6 atmosfeer brengt dan kan men met 1 liter water met een gasdruk van 6 atmosfeer 7 liter water met 1,6 atmosfeer gasdruk maken.

De suppletie van het sterk oververzadigde water zal afhankelijk zijn van de respiratie en de de-aeratie.

3.9. De regeling van de zuurstofconcentratie.

Er zijn twee principieel verschillende methoden om de zuurstofconcentratie min of meer constant te houden:

1. door regeling van de zuurstofconcentratie, dus een afname laten volgen door een toename.
2. door het doorstroomgebied zo groot te maken dat variatie in de respiratie van de vissen slechts geringe invloed heeft op de zuurstofconcentratie. Deze methode vergt hoge kosten voor zuurstofreduktie en waarschijnlijk ook hoge thermostatiserings- en waterkosten. Zij komt om deze redenen dan ook verder niet meer ter sprake.

Daar zoals hiervoor al genoemd gelijktijdig zuurstofconcentratiesreeksen nodig zijn, moet er regeling in meerdere bakken tegelijkertijd nodig zijn. Dit kan door meerdere elektroden via een schakeling op een zuurstofmeter aan te sluiten, waarbij zo geschakeld wordt, dat bij iedere elektrode een bepaalde instelwaarde hoort en een bepaalde regeluitgang.

Van belang voor de fluktuaties die ook bij deze zuurstofconcentratieregeling zullen optreden, zijn:

1. het totale zuurstofverbruik per tijdseenheid in het systeem.
2. het volume van het systeem.
3. de compensatie voor het minimale zuurstofverbruik en
4. het aantal mogelijke regelingen per tijdseenheid.

De punten 1, 2 en 3 bepalen de verandering in zuurstofconcentratie per tijdseenheid. Wanneer de concentratieverandering per tijdseenheid groot is, dan zijn er ook veel regelingen per tijdseenheid nodig, wil de variatie van de concentratie niet te groot worden. Het aantal nodige regelingen per tijdseenheid is te schatten uit het te verwachten zuurstofverbruik in het systeem, uit het volume van het systeem en de toegestane variatie van de ingestelde concentratie. Hoe kleiner het zuurstofverbruik per volume-eenheid en hoe groter het aantal mogelijke regelingen per tijdseenheid des te

kleiner zal de variatie van de ingestelde zuurstofconcentratie zijn.

Het aantal mogelijke regelingen per tijdseenheid hangt af:

1. de tijd die het meetsysteem nodig heeft voordat het signaal de werkelijke toestand van het systeem weergeeft. (Griepink, 1971)
2. de tijd nodig om zuurstofrijk water aan te voeren en goed te mengen met het systeemwater.

Bij de dimensionering van het systeem moet men uitgaan van het maximaal verwachte zuurstofverbruik van vissen en micro-organismen. Dit maximale zuurstofverbruik zal echter niet zo vaak optreden. Ook zal het maximale zuurstofverbruik van de vissen meestal niet samenvallen met dat van de micro-organismen, omdat er allerlei traagheden in het systeem zitten ingebouwd.

Bijv.: voedselopname en spijsvertering verhogen het zuurstofverbruik van vissen. Dit zuurstofverbruik neemt langzaam af en tijdens deze afname komen de uitscheidingsprodukten van de vissen vrij die dan nog afgebroken moeten worden door de micro-organismen. Hierdoor zal een zekere spreiding in het zuurstofverbruik optreden. Dit kan men zelf ook nog bevorderen door de vissen in een groot aantal kleine porties te voederen.

Bij lage zuurstofconcentraties gebruiken vissen minder zuurstof, eten minder en produceren ook minder afbraakprodukten, zodat de maximale respiratie in het systeem lager zal zijn dan bij hoge zuurstofconcentraties.

De nauwkeurigheid van het regelsysteem kan bevorderd worden door:

1. Gevoelige snelle elektroden te kiezen. Volgens Teal en Klekowski in Edmundson en Winberg, varieert de responstijd bij zuurstofelektroden tussen 1 en 60 seconden. De zg. kwikdruppel-elektroden geven direkt een juiste zuurstofwaarde, maar ze vragen voldoende geleidbaarheid van het water, ze kunnen niet in het systeem zelf toegepast worden en ze zijn gevoelig voor colloïden.
2. De mengtijd kan sterk verkort worden door het instromende zuurstofrijke water via talrijke buisjes fijn over het systeem te verdelen (ook in de filters). Als de recirculatiesnelheid relatief groot is, zal ook dit de menging bevorderen.
3. Bij de elektroden een zeer goed mengsysteem aanbrengen, zodat de gewenste toestand hier sneller bereikt wordt dan in het systeem zelf. Dit kan men realiseren door met een circulatiepompje water langs de zuurstofelektroden te pompen, dat op verschillende plaatsen in de proefbak is aangezogen.

4. Door "snelle" en nauwkeurige regelapparatuur toe te passen (Andrews, 1972). Proportional flow apparatuur bijv. regelt de watertoevoer door vergelijking van de meetwaarden met de ingestelde waarden.
5. Het is waarschijnlijk mogelijk de lage ingestelde concentraties vaker te regelen dan de hogere. Dit is gewenst omdat de hogere zuurstofconcentratie een grotere absolute variatie mogen vertonen dan de lagere concentraties. Als er bijv. 60 regelingen per uur mogelijk zijn met vier elektroden, dan kan het aantal regelingen resp. 4, 8, 16 en 32 per uur bedragen voor een aflopende zuurstofconcentratiereeks.
Het is statistisch zeer gewenst, wanneer naast zuurstof nog een andere factor gewenst is, deze gelijktijdig te kunnen variëren (de zgn. faktoriële experimenten). Het is om deze statistische reden zelfs toelaatbaar dat de ingestelde zuurstofwaarde minder nauwkeurig wordt geregeld.
Men kan ook zonder veel bezwaar met minder vissen werken (waardoor het zuurstofverbruik per volume-eenheid afneemt en dus minder vaak regelingen nodig zijn).

De concentratieregeling bij zeer lage zuurstofconcentraties brengt speciale problemen met zich mee.

1. Door de zeer lage concentraties die bewaakt moeten worden, veroorzaken kleine variaties in de concentratie grote procentuele fouten. Ook de onnauwkeurigheid van het meetsysteem gaat hier een grote rol spelen.
2. Het zuurstofverbruik in het systeem neemt tijdens het experiment af (vissen sterven). Men kan dus niet compenseren voor een basiszuurstofgebruik.
3. Bij experimenten met vrije wateroppervlakken zal een aanzienlijke diffusie optreden.

Deze problemen zouden als volgt opgeheven kunnen worden:

1. door het gebruik van snelle en nauwkeurige elektroden.
2. door het toepassen van een proportional flow regelsysteem.
3. door doorstroming met water van de gewenste zuurstofconcentratie.

4. Slechts een eenheid of in ieder geval weinig eenheden tegelijkertijd afwerken.
5. Alleen als het voor het experiment nodig is, met vrije wateroppervlakken werken (geen diffusie).

Eisen die aan de zuurstofmeter gesteld moeten worden zijn:

1. De nauwkeurigheid moet plus of min 1% of beter van de volle schaal zijn bij een constante temperatuur.
2. De elektroden moeten altijd gepolariseerd zijn.
3. De volgende meetranges zijn nodig: 0-3, 0-10, en 0-30 mg/l.
4. Het hele meetsysteem moet zeer snel een stabiel signaal geven.
5. De elektroden moeten een eigen nulpunts-instelling hebben en ze moeten afzonderlijk geijkt kunnen worden.

3.10. Ammoniumdosering.

In de eventuele experimenten waarbij ammonium als factor gebruikt wordt, zal deze stof gedoseerd moeten worden.

Omdat de toxiciteit van vrije dus ongedissocieerde ammoniak zeer groot en die van ammoniumionen zeer gering is, moet men bij experimenten met deze stof de eerste constant kunnen houden. De dissociatiegraad is afhankelijk van pH en temperatuur. Deze twee parameters moeten dus ook constant gehouden moeten worden wil men de vrije ammoniakconcentratie constant houden.

Verder moet men bij de dosering rekening houden met de ammoniakproduktie van de proefdieren zelf.

De pH heeft een zeer grote invloed op het dissociatiepercentage van ammonium, groter dan die van de temperatuur. Een verschil in pH van 0,1 eenheid kan al een toe- of afname van 20% van de dissociatiegraad veroorzaken.

Een nauwkeurige pH-bewaking is zelfs essentiëler dan een nauwkeurige dosering van de oplossing (nauwkeurigheid maximaal $\pm 2\%$ van van de ingestelde waarde) of thermostatisering (1°C geeft een verschil van $\pm 6\%$ van de dissociatiegraad, nauwkeurigheid plus minus $0.3-0.5^{\circ}\text{C}$).

pH-bewaking vraagt om toevoeging van zuur en loog, zodat men hiervan bij eventuele/-toepassing/sophisticated regelsystemen nodig heeft.

Het effect van de eigen ammoniakproduktie is te verzachten door:

1. een doorstroomsysteem toe te passen met een relatief groot debiet.
2. door bij een vrij lage pH te werken, zodat er slechts weinig ongedissocieerd ammoniak bestaat. Het ammoniakgehalte van de doseeroplossing moet dan wel hoog zijn.

De pH-waarde-instelling moet een nauwkeurigheid hebben van $\pm 0.01-0.03$ pH-eenheden.

Wanneer de uiteindelijke concentratieregeling niet zo nauwkeurig gerealiseerd kan worden (bijv. door de kosten), dan moet men een concentratiereeks kiezen waarvan de instelwaarden zover uiteen liggen, dat de variatiebreedte van deze elkaar niet raken.

3.11. Thermostatisering.

Er moeten zowel hoge (tot 40°C) als lage temperaturen (1°C) ingesteld kunnen worden. Tijdens de experimenten moeten groepen vissen aan de vier temperaturen geacclimatiseerd kunnen worden voor de herhalingen van het experiment.

De toegestane variatie van de ingestelde temperatuur wordt bepaald door het effect van temperatuurverhoging op het metabolisme van waterdieren.

Een temperatuurverhoging van 1°C geeft een metabolismeverhoging van $\pm 10\%$.

De toegestane variatie moet hier dus aanzienlijk onder liggen.

Gewenst lijkt voorlopig $0.2-0.3^{\circ}\text{C}$.

De grootte van de waterbaden en de capaciteit van de koeling en verwarming hangt af van:

1. het aantal eenheden per bak.
2. de grootte van de eenheden.
3. het aantal baden dat men tegelijkertijd op extreme temperaturen wil houden.
4. de ruimte nodig voor opstellingen van collega's.

Per thermostaatbak zullen 10 proefbakken met een doorsnede van 40 cm. geplaatst moeten kunnen worden.

Het is niet de bedoeling meer dan een thermostaatbad op een extreme temperatuur te houden. Thermostaatbaden met een oppervlak van 3.10×1.10 m. binnenwerks en een diepte van 1 m. voldoen aan deze wensen.

3.12. Algemene hydraulische aspecten.

1. Om drukverlies te bewerken is het gewenst, dat bochten in leidingen flauw zijn, vernauwingen geleidelijk optreden (1:3), vertakkingen niet loodrecht op de oorspronkelijke stroomrichting staan etc.
2. Voor biologische filters is het belangrijk dat de hydraulische belasting laag is per oppervlakte-eenheid, om abrasie van de bacteriepopulaties te beperken. (snelheid ± 4 cm./minuut)
3. Om een goede menging te verkrijgen bij de regelprocessen moeten er zo min mogelijk dode hoeken in de proefbakken aanwezig zijn. De bakken moeten dus rond zijn.

4. Gebroken grind of ~~zand~~ heeft een groter oppervlak dan natuurlijke ronde zandkorrels. Dit heeft een groot effect op de zuiveringsefficiëntie van het filter. Verder is het van groot belang dat de korreldiameter uniform is.

3.13. Automatische voeding.

In principe zijn drie systemen mogelijk voor automatische voeding namelijk zelfvoeding, automatische voeding van bepaalde rantsoenen op bepaalde tijdstippen en continue toevoer van voedsel.

In de visteelt maken op dit ogenblik zelfvoederingsautomaten grote opgang. Vissen leren deze automaten snel te bedienen. Ze zijn eenvoudig te construeren, goedkoop en bedrijfszeker. Voederautomaten die vaste rantsoenen op vaste tijden leveren, zijn ook al geruime tijd bekend. Een bekend type is een lopende band waarop een bepaalde hoeveelheid voer wordt uitgestrooid. Continu werkende automatische voedersystemen bestaan vooral voor het toedienen van kleine levende dieren zoals infusoriën, artemia e.a.

Voederautomaten sparen veel werk en de meeste zijn relatief eenvoudig te construeren.

3.14. Samenvatting.

1. Er is ruimte nodig voor:

1. visvoorraad,
2. acclimatisatie,
3. experimenten.

2. Waterkwaliteit.

Het water mag:

1. geen koper bevatten,
2. geen chloor bevatten,
3. slechts 0.1 mg./l. ammonium bevatten,
4. slechts weinig CO₂ bevatten.

3. Waterzuivering is bij langdurige experimenten noodzakelijk om waterverbruik, thermostatiseringskosten en de kosten voor het verkrijgen van lage zuurstofconcentraties te beperken.

Biologische filters zijn onontbeerlijk voor oxydatie van organische stof en voor de nitrifikatie. Van groot belang is de nitrifikatie-efficiëntie bij lage zuurstofconcentraties. Waarschijnlijk zal er bij ± 2 mg. zuurstof per liter nog voldoende nitrifikatie optreden.

Met actieve koelfilters kan men moeilijk afbreekbare organische stoffen verwijderen.

Het recirculatiewater kan door bestraling met een UV-lamp voor een zeer groot gedeelte van haar bacteriën ontdaan worden.

4. De recirculatiesnelheid wordt bepaald door het toelaatbare ammoniumgehalte en de te verwachten ammoniumproduktie. Een recirculatiesnelheid van 4 cm per minuut is ruim voldoende.
5. De suppletie van vers water via het zuurstofregelsysteem is waarschijnlijk voldoende om het nitraatniveau en het niveau van andere onbekende organische stoffen laag te houden.
6. De reductie van de zuurstofconcentratie kan op verschillende manieren gerealiseerd worden:
 1. door het zuurstofgebruik van de waterdieren zelf en de micro-organismen.
 2. door uitdrijven van zuurstof met behulp van stikstof.
 3. door vacuumontgassing.
 4. door chemische zuurstofverwijdering met sulfiet.

De eerste methode is vrij goedkoop en voldoet ook over langere perioden.

7. Oververzadigd water kan waarschijnlijk geproduceerd worden door een mengsel van water en lucht onder druk over een groot uitwisselingsoppervlak te laten stromen. Door menging met normaal verzadigd water zou men dan de gewenste concentraties kunnen instellen. De regeling kan met het normale zuurstofregelsysteem verricht worden.
8. Een constante zuurstofconcentratie kan in principe op twee manieren bereikt worden:
 1. Door (elektronische) regeling,
 2. Door een grote doorstroming met water van de gewenste concentratie t.o.v. het zuurstofverbruik van de organismen.

Een elektronisch regelsysteem moet aan de volgende eisen voldoen:

1. De zuurstofregeling moet in meerdere bakken mogelijk zijn bij verschillende concentraties.
2. De regeling moet nauwkeurig zijn.

Beperkingen die hiermee samenhangen zijn:

1. traagheden van het meetsysteem, het mengsysteem en het regelsysteem.

Van belang zijn verder: het totale zuurstofverbruik in het systeem en de amplitude van de variaties daarin, de aanpassing van het zuurstofverbruik aan de zuurstofconcentratie, het totale volume van het systeem en het aantal mogelijke regelingen per tijdseenheid, die door de traagheden van meet-, meng- en regelsysteem bepaald worden.

De toegestane fluctuaties in het zuurstofgehalte moeten als percentage van de ingestelde zuurstofwaarden gekozen worden. De absoluut gezien nauwkeurigste regeling vragen de ^{laagste} ~~hoogste~~ concentraties.

De volgende voorzieningen zouden de regeling nauwkeuriger kunnen maken:

1. door gevoelige snelle elektroden toe te passen.
 2. door verkorting van de mengtijd, door fijne verdeling van het zuurstofrijk water over het systeem.
 3. intensivering van de menging door korte recirculatietijden.
 4. door bij de elektroden een zeer intensieve menging toe te passen.
 5. door demping van de fluctuaties van het zuurstofverbruik door een constante zuurstoftoevoer gelijk aan minimum zuurstofgebruik.
 6. Door toepassing van nauwkeurige en snelwerkende regelsystemen.
 7. Door te voederen in vele kleine porties.
 8. Door het volume van het systeem relatief groot te kiezen.
 9. Door de hogere concentraties uit de reeks minder vaak te regelen dan de lage.
9. Voor een nauwkeurige ammoniakdosering moet aan de volgende eisen voldaan worden:
1. de dosering van de ammoniumoplossing moet nauwkeurig zijn.
 2. de pH moet zeer nauwkeurig bewaakt worden.
 3. er moet gethermostatiseerd worden.
 4. om het effect van de ammoniumproduktie van de vissen te elimineren is een grote doorstroming nodig.
 5. de ingestelde pH moet ongeveer 7 bedragen.
10. De thermostatisering moet aan de volgende eisen voldoen:
1. er moeten 4 baden komen met een te koelen of te verwarmen volume van $\pm 2-2.5 \text{ m}^3$.
 2. de temperaturen moeten instelbaar zijn tussen $\pm 1-40^\circ\text{C}$.
 3. De gewenste nauwkeurigheid bedraagt $\pm 0.25^\circ\text{C}$.
11. Bij het ontwerp moet rekening gehouden worden met allerlei hydraulische aspecten, zoals energieverlies door scherpe bochten, plotselinge verwijdingen e.a.. De hydraulische belasting van de filters mag niet te hoog zijn, en het is gewenst dat het filtermateriaal een ruw oppervlak heeft. Verder moeten de proefbakken voor een goede menging rond zijn.
12. Voederautomaten besparen veel werk en zijn relatief eenvoudig te construeren.

IV. De keuze van het proefdier.

De keuze van het proefdier geeft veel problemen, omdat er aan een proefdier in het algemeen vele vaak tegenstrijdige eisen gesteld worden.

- A.1. De soort moet makkelijk tot voortplanting te brengen zijn en de jongen moeten makkelijk op te kweken zijn.
2. De soort moet liefst vrij klein zijn.
3. Het grootteverschil tussen pasgeboren en volwassen dieren moet zo klein mogelijk zijn.
4. De soort moet ongevoelig zijn voor laboratoriumomstandigheden.
5. De soort moet liefst gevoelig zijn voor de te onderzoeken factoren (duidelijke reacties).
6. Het is, om de situatie in ons oppervlaktewater te beoordelen, zeer gewenst dat het een belangrijke inlandse soort is.
7. Het hele jaar door moeten dieren van een bepaalde leeftijd beschikbaar zijn.
8. De soort mag fysiologisch of oecologisch geen buitenbeentje zijn.

B. Wanneer de soort het hele jaar door niet te kweken is, moet hij aan de volgende eisen voldoen:

1. De soort moet in grote aantallen uniforme jonge dieren te vangen zijn.
2. De soort moet gekweekt in de handel zijn.
3. De soort moet door kunstmatige teelt te kweken zijn.
4. Bij kleine soorten met niet te lang durende cycli moet het mogelijk zijn ze rond te kweken.

Aan de onder Hoofdstuk A genoemde criteria voldoet geen enkele inheemse vissoort, wel een aantal evertibraten (*Daphnia magna* en *Daphnia pulex*, *Gammarus pulex*, *Asellus aquaticus*).

Er zijn wel veel tropische vissoorten die aan de meeste van de hiergenoemde criteria voldoen. Dit zijn: *Poecilia reticulata*, het guppy, *Brachydanio rerio*, het zebrabarbeeltje, *Barbus nigrofasciatus*, de purperkop, *B. conchonicus*, de Indische prachtbarbeel, en waarschijnlijk nog veel meer soorten.

Het guppy is van deze genoemde soorten het makkelijkst te kweken.

De generatie-opvolging is snel (10 tot 12 weken) en de vruchtbaarheid per wijfje hoog. Bij de drie andere soorten is de generatieopvolging minder snel (6 tot 8 maanden) en ook het aantal worpen/paringen per tijdseenheid is minder dan bij de gup. Het aantal jongen per kweek kan vooral bij de Barbussoorten veel groter zijn (200 tot 750). De guppy's zijn twee tot vier cm. lang voor resp. mannetjes en vrouwtjes. De zebrabarbeeltjes zijn $\pm$ 4-5 cm. en de twee

- hiergenoemde -

hiergenoemde burbussoorten worden 6-7 cm. lang.

Bij alle vissoorten die men wil kweken is in de jongere leeftijdstadia levend voer nodig. Infusoriënkweken zijn daarvoor nodig. Volwassen vissen kunnen voor het grootste deel met droog voer gevoederd worden.

Aan B.1. voldoen: paling (glasaal), bot, zeelt, blankvoorn, rietvoorn, pos, baars, e.a.. Aan B.2. voldoen: beekforel, regenboogforel, karper, goudvis, kroeskarper (Duitsland), zeelt, (Duitsland), blankvoorn (België en Frankrijk), snoek, snoekbaars. Aan B.3. voldoen: blankvoorn, rietvoorn, snoek, forellen en waarschijnlijk vele andere soorten.

De soorten die aan B.4. min of meer voldoen zijn:

1. hondsvis - 7-8 cm., broedzorg, ongevoelig voor lage zuurstofconcentraties, in 1 jaar geslachtsrijp, levend voer.
2. vetje - 6-10 cm., na 1-2 jaar geslachtsrijp, broedzorg, levend voer, droog voer teer.
3. elrits - 9 cm., na 1 jaar geslachtsrijp, 200 tot 1000 eieren, levend voer, droog voer.
4. bittervoorn - 5-6 cm., max. 9 cm., na 1 ? -2 jaar geslachtsrijp, droog voer, plantaardig voer, schildersmossels nodig voor de voortplanting, 40 tot 100 eieren per wijfje.
5. biermpje - 8-12 cm., na 2-3 jaar paairijp, 50.000 eieren per wijfje, droog voer, levend voer.
6. kleine modderkruiper - 5-10 cm., na 2-3 jaar paairijp, 200-300 eieren, droog voer, levend voer.
7. rivierdonderpad - $\pm$ 10 cm., na 2 jaar paairijp, 100 eieren, broedzorg, levend voer, droog voer.
8. driedoornige stekelbaars - 5-8 cm., na 1 jaar geslachtsrijp, broedzorg, 100-400 eieren per wijfje, levend voer, vlees, lever.
9. tiendoornige stekelbaars - 5-7 cm., na 1 jaar geslachtsrijp, broedzorg, verder als driedoornige stekelbaars.

Elrits, vetje, driedoorn en tiendoorn lijken hiervan het makkelijkst te kweken. Door met de daglengte en de temperatuur te manipuleren kan men in ieder geval bij de driedoorn het broedseizoen uitrekken of kan men zelfs twee generaties per jaar kweken.

Samenvatting.

Voorlopig komen de volgende vissoorten in aanmerking als proefdier:

Guppy, zebra-barbeel en twee barbussoorten (*B. nigrofasciatus* en *B. conchonicus*).

Van de zelf te kweken inheemse soorten lijken vooral de stekelbaarsjes en ook elrits en vetje geschikt.

Bij de grotere vissoorten is er verder veel keus: forellen, snoek, karper, goudvis, blankvoorn, rietvoorn, snoekbaars e.a.

V. De keuze van de experimenten.

Uit de grote lijst van de gewenste experimenten moet een keus gemaakt worden. Lethaliteitsexperimenten voor lage zuurstofconcentratie vallen voorlopig af, omdat:

1. er al vrij veel onderzoek gedaan is op dit gebied.
2. goed uitgevoerde experimenten technisch moeilijk verwezenlijkbaar zijn.

Er is nog weinig experimenteel onderzoek gedaan naar de effecten van oververzadiging op vissen. Technisch lijken deze experimenten uitvoerbaar.

(Hulzebos en Kagei, 1966). De regeling van de concentraties kan met het telstelsel systeem uitgevoerd worden dat ook voor de lage zuurstofconcentraties gebruikt wordt.

Belangrijk is het onderzoek naar het effect van lage zuurstofconcentraties en oververzadiging op groei van vissen. Er is al enig onderzoek gedaan naar het effect van lage zuurstofconcentraties op de groei, maar er is vooral aanvullend onderzoek nodig naar interacties van factoren zoals temperatuur. Met tropische vissen wordt het praktisch haalbaar om ook onderzoek naar de effecten op de voortplanting, rijping, vruchtbaarheid en overleving van het kuit en broed te doen. Bijkomende voordelen van het gebruik van deze soorten zijn: de mogelijkheid om ingeteelde stammen te gebruiken, de experimenten onbeperkt te herhalen, men kan hele levenscycli vervolgen, de experimenten kunnen korter duren omdat kleine vissen sneller groeien dan grotere en men kan steeds over dieren van dezelfde leeftijd beschikken.

Voorlopig zullen de volgende experimenten op het programma staan.

Onderzoek naar de sublethale effecten van lage zuurstofconcentraties op:

Juveniele groei,

Ontwikkelingspercentage van eieren en percentage normale ontwikkeling van eieren,

Vruchtbaarheid, (aantal geproduceerde jongen of aantal geproduceerde eieren)

Larvale groei,

Voortplantingsgedrag,

Onderzoek naar de sublethale effecten van oververzadiging op levensfuncties van vissen (zie onder experimenten bij lage zuurstofconcentraties);

Onderzoek naar de sublethale effecten van fluktuaties van oververzadiging naar lage zuurstofconcentraties (als hierboven),

Onderzoek naar lethale effecten van oververzadiging.

VI. De proefopstelling.

De doorzichtige proefbak moet rond zijn met een trechtervormige bodem, waarboven een rooster van nylongaas is aangebracht. Aan de trechteruitloop zit een kraan en zit een stukje verbindingsslang waarmee de trechter met een slangpilaar in de bodem van het thermostaatbad, verbonden is.

Aan de onderzijde van het bad zit op deze (dubbele) slangpilaar weer een slang aangesloten die naar een eenvoudig perlon-wattenfilter gaat.

Vandaar is er een verbinding met het eigenlijk biologische filter (vierkante waterdichte doos met afvoer van het filtraat naar opzij). Van hier stroomt het water in opwaartse richting door een actief koolfilter (met een bescherming van perlonwatten), waarna het op dezelfde wijze als hierboven beschreven weer in het thermostaatbad komt. Hier stroomt het door een warmtewisselaar van glasbuis naar de ultravioletbestralingskamer en daarna weer in de proefbak. Het recirculatiewater wordt horizontaal in de proefbak teruggevoerd, zodat er een draaiende beweging in de bak ontstaat.

Om de temperatuur zo constant mogelijk te houden, moeten alle filters en buizen buiten het bad goed geïsoleerd zijn.

De pomp moet juist boven het actief koolfilter gemonteerd zijn en voldoende opvoerhoogtecapaciteiten hebben.

Het suppletiewater moet fijn verdeeld in het systeem worden ingebracht.

Dit is het belangrijkste in de proefbak (zuurstofconcentratieregeling), maar het is ook belangrijk in het biologische filter (nitrifikatie).

Het is minder belangrijk voor het koolfilter. De proefbakken moeten ± 25 cm. waterhoogte hebben vanaf het nylonrooster en moeten ± 40 cm. in doorsnede zijn. Het biologisch filter moet binnenwerks 40 x 40 cm. zijn. Onderin komt geperforeerde drainagebuis. Hierop komt de filtermassa (10 cm. hydro-anthraciet en 5 cm. gebroken schelpen).

Het actieve koolfilter moet verwisselbaar zijn i.v.m. het terugspoelen of vervangen van de kool. Het in het filter komend water stroomt eerst door 10 cm. perlonwatten, dan door het draagrooster, 40 cm. kool (R.O.W. 0.8 van Norit) en 10 cm. expansieruimte met een afsluiting van nylongaas.

De ultravioletbestralings-eenheid bestaat uit een plexiglasbuis waarin de U.V.lamp is opgesloten met daar omheen een buis van ongeveer 30 cm ϕ .

De lengte van het geheel is 40 cm.. De kleine en de grote buis zijn met elkaar verbonden door plexiglas tussenschotten, zo dat er 5 of 6 compartimenten ontstaan. Deze zijn aan voor- en achterkant afgesloten op de in- en uitstroombopeningen na.

Voor het kweken en houden van de proefvissen is het verantwoord een wat ingewikkelder opstelling toe te passen. Een groot voordeel is dat er in het kweekstelsel met verzadigd water gewerkt kan worden, waardoor de nitrifikatie geen problemen geeft. Verder hoeft het water van de kweekbakken niet afzonderlijk gezuiverd te worden, zodat met een grote installatie kan worden volstaan.

Een combinatie van een snelfilter met grof-fijnfiltratie (verwijdering van organisch slib), droogfilter (nitrifikatie en beluchting), actieve koolfiltratie (verwijdering van moeilijk afbreekbare organische stoffen) en U.V.bestraling kan grote hoeveelheden water in korte tijd verregaand zuiveren.

De thermostatisering van de kweekbakken vergt geen grote nauwkeurigheid.

Voor het kweken van de guppies en andere vissen zal ongeveer 1500 l. water nodig zijn. De recirculatiesnelheid moet ongeveer 1500 l./u. zijn en de suppletie $\pm$ 30 l. /u.

De filters moeten volgens onderstaande tabel gedimensioneerd worden.

	lin.snelh.	opp.	terugspoelen		lineair	in liter/u. en 5-10 min.
			lucht	water		
snel zandfilter	15 m/u.	10 dm ²	60 m/u	35 m/u	3500	300-600 l.
droogfilter	4 m/u.	37.5 dm ²	60 m/u	20 m/u	7500-9000	600-1000 l.
koolfilter	20 m/u.	7.5 dm ²	60 m/u	25 m/u	1875	160-300 l.

Aan terugspoelwater is dus minstens 600 l. nodig. Daar een waterleidingkraan slechts 600 l./u geeft, is er een reservoir nodig van 600-1000 l..

Voor de beluchting van bakken, droogfilter en voor het terugspoelen van de filter is een luchtpomp/compressor nodig met een capaciteit van 6 m³ olievrije lucht per uur.

Het is misschien nodig 2 of 3 parallel geplaatste droogfilters te nemen in plaats van een grote. Het terugspoelen vereist dan minder water en lucht en de nitrificerende bacteriën kan beter beheerd worden door de verschillende filters met ruime tijdsverschil terug te spoelen.

De ruimte voor het kweken van vis is zo gekozen, dat er voor een bepaalde proef 500-1000 visjes van dezelfde leeftijd beschikbaar zijn. Dit houdt een aanzienlijke overproductie in; dit broed wordt echter niet opgekweekt, maar opgevoerd aan de ouders.

Om ongewild kannibalisme te voorkomen moeten de ouderdieren direkt van eieren of jongen gescheiden worden. Door aquariumliefhebbers zijn hiervoor vele methoden ontwikkeld. Ze berusten op het principe dat eieren of jonge visjes door gaas van de ouders gescheiden worden of dat de afgezette eieren door de ouders moeilijk te vinden zijn tussen natuurlijke of kunstmatige substraten (Wickler, 1962).

Uit arbeidsoverwegingen zal zoveel mogelijk met droogvoer gewerkt worden. Voor het visbroed zal verder *Paramecium* gekweekt moeten worden. Ver komen in aanmerking gekookte lever, gekookt ei, ingevroeren watervlooien e.d.

VII. Statistische aspecten van de proefopzetten.

Hoewel het te vroeg is om nu al statistische proefopzetten uit te werken, zijn er toch een aantal opmerkingen over dit onderwerp te maken.

Veel milieufactoren vertonen interacties met de zuurstofconcentratie in een waterig milieu. Zoals in hoofdstuk 2 al opgemerkt kan worden, komen voor onderzoek naar deze interacties vooral zgn. faktoriële experimenten in aanmerking. Ze hebben als voordeel, dat: 1. grotere precisie dan met reeksen "lineaire" experimenten. 2. interacties kunnen onderzocht worden. 3. de geldigheid van de uitkomsten neemt toe. De nadelen zijn echter:

1. de opzet wordt ingewikkelder en daarom duurder.

2. niet-faktoriële experimenten geven vaak voldoende informatie.

Dit laatste is vooral van belang als er over een bepaalde faktor nog weinig bekend is.

Belangrijke proefopzetten zijn de zgn. randomized blocks, latijnse vierkanten, e.a.. Deze komen vooral in aanmerking, als er slechts een faktor gevarieerd wordt. Soms ook is er geen gespecialiseerde proefopzet mogelijk, bijv. als er geen herhalingen uitgevoerd kunnen worden. Toch kan men ook hier door loten van de proefdieren over de bakken en door loting van de plaats van deze bakken t.o.v. bijv. een lichtbron, systematische fouten vermijden. Daar faktoriële experimenten vrij ingewikkeld en duur zijn, is het niet de bedoeling daarmee te beginnen. Door eenvoudig te beginnen kunnen niet alleen de technieken goed geleerd worden, maar kunnen ook de investeringen gespreid worden.

Bij faktoriële experimenten zal weleens moeten worden toegegeven op de nauwkeurigheid van de ingestelde zuurstofconcentratie. Dit zal i.h.a. niet ernstig zijn mede omdat de precisie bij faktoriële experimenten groot kan zijn.

VIII. Literatuur.

- Andrews, J.F., 1972 -- Control systems for wastewater treatment plants. Water Research 6, 575-582.
- Het Aquarium. Diverse jaargangen.
- Barth, E.F., 1972 - Design of treatment facilities for the control of nitrogenous material. Water Research 6, 481-483.
- Bennett, G.W., 1971 - Management of lakes and ponds. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Boes, A., 1963 - Grof - naar - fijnfiltratie. Water 52, (9), 587-591.
- Börner, H., 1969 - De toepassing van anthraciet als filtermateriaal ten behoeve van waterzuiveringsinstallaties. H₂O, (2), 7, 160-161 (165).
- Buchner, E., 1969 - Möglichkeiten der Entsäuerung von Wasser unter Einsatz chemisch reagierendes Filtermaterialien. H₂O (2), nr. 7, 162-165.
- Burg, L. van der, 1970 - Kool en Ozon. H₂O, (3), 14, 331-340.
- Burrows, R.E. and B.D.Combs, 1968 - Controlled Environments for salmon propagation. Progress. Fish. Cult. july 1968, 123-126.
- Cox, D.R., 1953 - Planning of experiments. Wiley International New York, London, Sydney.
- Doudoroff, P. and D.L.Shumway, 1970 - Dissolved Oxygen requirements of freshwater fishes. F.A.O. Fisheries Technical Paper, no. 36.
- Edmundson, W.T. and G.G. Winberg, 1971 - A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters. I.B.P. Handbook no. 17. Blackwell Scient. Pub., Oxford, Edinburgh.
- F.A.O./E.I.F.A.C./U.S.D.I./B.S.F.W., 1970 - Report on the 1970 workshop on fish feed technology and nutrition.

- Griepink, B., 1971
- Hopf, W., 1969,
- * Huisman, L., 1967
- Hulzebos, W. en E.Kagei, 1966
- Krachtwerktuigen, 1972
- Liebmann, H., 1960
- Matsché, N., 1972
- Minaur, J., 1971,
- Mount, D.I., 1961,
- Mount, D.I., 1964,
- Nikolski, G.W., 1957,
- Norit, 1972?
- Nortier, J.W. en
H. van der Velde, 1961,
- * Huisman, E.A., 1969
- Automatisering in de chemische analyse.
Stencil Anal. Chem. Lab. van de R.U. Utrecht.
- Aktivkohle in der Wasseraufbereitung.
H₂O (2), nr. 12, 286-291.
- Algemene inleiding betreffende de techniek
van de snelfiltratie.
Water 51, pp. 341-346, 358-364.
- Indikking van actiefslib met overdruk flotatie.
Water 50, 3, 115-116.
- Water. Handleiding voor het gebruik van water
in de industrie.
Kluwer, Deventer.
- Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie.
Bnd. II. München. R. Oldenbourg.
- The elimination of nitrogen in the treatment
plant of Vienna Blumental.
Water Research 6, 485-486.
- A simple electrically-operated feeder for use
in salmon rearing.
J.Fish Biol. 3, 413-415.
- Development of a system for controlling
dissolved oxygen content of water.
Trans.Am.Fish. Soc. 90 (3) 323-327.
- Additional information on a system for con-
trolling the dissolved oxygen content of water.
Trans.Am.Fish. Soc. 93, 1, 100-103.
- Spezielle Fishkunde.
Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin.
- Norit Aktieve kool.
Toepassing bij waterzuivering.
Bulletin no. VA 5/12 pp. 33.
- Hydraulica voor waterbouwkundigen.
Technische Uitgeverij H.Stam N.V. Culemborg,
Keulen.
- Een onderzoek naar de kweekmogelijkheid van
de karper in doorstroombekkens.
Jaarverslag O.V.B. 1968-1969.

- Prosser, C.L. en F.A. Brown, 1961 - Comparative Animal Physiology.
W.B.Saunders Company, Philadelphia, London.
- Regier, H.A., and W.H.Swallow, 1960 - An aquarium temperature control system for
field stations.
The Progress. Fish. Cult. 33, 43-46.
- Ryder, R.A., 1972 - Dissolved oxygen control of activated
sludge aeration. Water Research 6,
441-445.
- Spotte, S.H., 1970 - Fish and Invertebrate Culture Water
Management in closed systems.
Wiley and Sons, New York, London, Sydney.
- Stoeller, W.F.G.L., 1969 - Filtratie door loskorrelige bedden in de
richting afnemende korreldiameter.
H₂O (2), 17, 154-155 (159).
- Sweeris, S., 1969 - Meting van het zuurstoftoevoer-vermogen.
H₂O, (2), 25, 610-642 (649).
- Vaillant, C.J., 1970 - Nafiltratie.
H₂O, (3), 14, 309-317.
- Wickler, W., 1962 - Het kweken van aquariumvissen.
Thieme, Zutphen.
- Zajic, J.E., 1971 - Water pollution. Disposal and Reuse. Vol. 1.
Marcel Dekker Inc. New York.
- Zoeteman, B.C.J., 1970 - Zuiveringsmethoden van zoet grondwater voor
de drinkwatervoorziening in Nederland.
Grondslagen Basisplannen 7.
H₂O, (3), 44-53.
- Zoeteman, B.C.J., 1970 - De zuivering van zoet oppervlaktewater
voor de drinkwatervoorziening van Nederland.
Grondslagen Basisplannen 8.
H₂O, (3), 25, 664-671.

Aanvulling op het concept werkprogramma

(4,3)

Uit onderstaande litteratuur blijkt dat het mogelijk is in ieder geval een groot deel van het jaar over geslachtsrijpe stekelbaarzen te beschikken. Men kan bijv. in januari rijping induceren door een lange dag en een hoge temperatuur in te stellen. Omgekeerd kan men de rijping remmen door lage temperaturen en korte dagen, tot bijv. in juni. Op deze wijze zou men misschien wel tot eind augustus over geslachtsrijpe stekelbaarzen kunnen beschikken. Voortplanting komt plaatselijk ook in de natuur tot laat in de zomer voor. (2) Door de grote eiproduktie per ♀ en de snelle opeenvolging der broedsels is (3) de driedoorn een vrijwel ideaal proefdier. Minder gunstig is dat hij geen droogvoer accepteert (4). Hij eet echter wel rauw vlees en gekookte lever (4). Automatisering van de voeding zal waarschijnlijk moeilijk zijn. Het opkweken van de jongen is relatief eenvoudig (2) met infusoriën, Artemia en Daphnia.

1. P.J. van Mullem en J.C. van der Vlugt, 1964-On the age, growth and migration of the anadromous stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. investigated in mixed populations. Arch. Neerl. Zool., Tome XVI, 1, 111-139

2. P.J. van Mullem, 1967-On synchronization in the reproduction of the stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L. forma *leiura* Cuv.). Arch. Neerl. Zool. XVII, 2, 258-274.

3. A.C.A. Sevenster-Bol, 1962-On the causation drive reduction after a consummatory act (in *Gasterosteus aculeatus* L.). Arch. Neerl. Zool., Tome XV, 2, 175-236.

4. B. Baggerman, 1957-An experimental study on the timing of breeding and migration in the three-spined stickleback. Arch. Neerl. Zool., XII, 2, 105-317.