

CONCEPT 2 april 2011

Rapportage 2010 Zeeuwse Tong Werkpakket 2 Schelpdieren

2.1 Lab- en mesocosmos experimenten: overzicht voedingswaarde geselecteerde algen

2.2 Lab- en mesocosmos experimenten: aanbevelingen voor algenkweek met hoge voedingswaarde

2.3 Experimenten in mesocosms en meten respons schelpdieren in de schelpdierpilots: vijverteelt van schelpdieren

Deelprojectleider: P. Kamermans

Achtergrond:

Binnendijkse teelt van schelpdieren is nieuw voor Zeeland en succesvolle voorbeelden ontbreken nog. Een belangrijk knelpunt is de garantie van een stabiele productie van algen van hoge kwaliteit op grote schaal. Daarvoor is het nodig kwaliteit van algen te definiëren, snel meetbaar te maken en vast te stellen hoe kwalitatief hoogwaardige algen geteeld kunnen worden in vijvers.

Doel:

1. Voeding van schelpdieren in vijverteelt: Inzicht in de voedselbronnen die schelpdieren in vijverteelten (kunnen) benutten voor een snelle groei.

Specifieke doelstellingen hiervan zijn:

- Identificeren van factoren in gekweekte algen die de voedingswaarde voor schelpdieren bepalen en nagaan in hoeverre hierin soortspecifieke verschillen optreden zowel mbt de algen als de schelpdieren. Als modelorganisme is de kokkel gekozen
- Identificeren van kweekcondities van algen die de voedingswaarde voor schelpdieren verhogen zoals menging, verblijftijd, beënting en samenstelling nutriënten aanbod

2. Groei en gedrag van schelpdieren in vijverteelt: analyse van knelpunten zoals gesignaleerd in schelpdierpilots, identificatie van oplossingsrichtingen en experimentele beoordeling van oplossingen.

Specifieke doelstellingen hiervan zijn:

- Ontwikkeling van een testkit voor het meten van de respons van schelpdieren op voedsel met verschillende voedingswaarden c.q. gekweekt onder verschillende condities.
- Bepalen van condities in vijverteelt op massabalans, groei, overleving en kwaliteit van schelpdieren.
- Bijdragen aan een ontwerp voor geïntegreerde teelt vis-voer-algen-schelpdieren-planten.

2.1. Lab- en mesocosmos experimenten: overzicht voedingswaarde geselecteerde algen (aio project)

Isabel Batista

Doel: Identificeren factoren die voedingswaarde bepalen

Zeven verschillende algensoorten (marine diatomeen *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Chaetoceros muelleri* en *Phaeodactylum tricornutum* en marine flagellaten *Pyramimonas parkae*, *Brachiomonas submarina* en *Tetraselmis suecica*) zijn gekweekt en chemisch geanalyseerd (Tabel 1). De resultaten van de chemische analyses van zijn gebruikt in multiple goal linear programming (MGLP) (Castrodeza et al., 2005; Peña et al., 2007). Hierbij zijn drie diëten geformuleerd waarbij (1) EPA en DHA gebalanceerd worden aangeboden, (2) de gehalten aan EPA en DHA laag zijn en (3) de gehalten aan ARA laag zijn, terwijl de gehalten aan eiwitten, vetten binnen vooraf gestelde grenzen blijven (Tabel 2).

De door het programma geselecteerde soorten zijn *Chaetoceros* en *Pyramimonas* voor het gebalanceerde dieet, *Tetraselmis* en *Brachiomonas* voor het lage EPA en DHA dieet en *Pyramimonas* en *Phaeodactylum* voor het lage ARA dieet (Tabel 3).

De pseudofeces drempel van de verschillende diëten is vastgesteld voor de kokkels en er zijn twee groei-experimenten met kokkels uitgevoerd. Drie verschillende diëten zijn getest: Balanced dieet: *Pyramimonas parkae* en *Chaetoceros muelleri* (veel EPA, DHA en ARA) Low ω -3: *Brachiomonas submarina* en *Tetraselmis suecica* (weinig EPA, DHA en ARA). High ω -3: *Pyramimonas parkae* en *Phaeodactylum tricornutum* (veel EPA, DHA en weinig ARA)

Het eerste experiment is uitgevoerd met kokkels uit de hatchery van de Roem. De beste groei werd gevonden met *Pyramimonas parkae* en *Chaetoceros muelleri*, of *Pyramimonas parkae* en *Phaeodactylum tricornutum* en vrijwel geen groei bij *Brachiomonas submarina* en *Tetraselmis suecica* (Fig. 1a,b). De sterfte was echter hoog in alle behandelingen (Fig. 1c).

Het experiment is herhaald met kokkelbroed uit het veld. Ook nu werd de beste groei gevonden met *Pyramimonas parkae* en *Chaetoceros muelleri*, of *Pyramimonas parkae* en *Phaeodactylum tricornutum* en vrijwel geen groei bij *Brachiomonas submarina* en *Tetraselmis suecica* (Fig. 2a,b).

De sterfte was echter laag voor *Pyramimonas parkae* en *Chaetoceros muelleri*, of *Pyramimonas parkae* en *Phaeodactylum tricornutum*, maar hoog voor *Brachiomonas submarina* en *Tetraselmis suecica* (Fig. 2c).

Het low ω -3 dieet (*Brachiomonas submarina* en *Tetraselmis suecica*) gaf een significant lagere groei en hogere mortaliteit (ANOVA, $P < 0.05$).

Uit de experimenten blijkt dat een hoog gehalte aan ARA niet noodzakelijk is voor goede groei van kokkels. Hoge gehalten aan EPA en DHA in het dieet zijn ook terug te zien in de kokkels (Fig. 3). Opvallend is dat de kokkels in experiment 1 een lage EPA beginwaarde vertoonden (Fig. 3a). Bij deze groei is vooral het EPA gehalte toegenomen, terwijl bij experiment 2 EPA aan het begin al hoog was en juist DHA is toegenomen (Fig. 3b).

Naast vetzuren is ook het gehalte aan aminozuren bepaald (Fig. 4). Momenteel wordt de analyse van totaal vet, eiwit en koolhydraten uitgevoerd.

Table 1: Description of the different microalgae cultures of *Skeletonema costatum* (SC), *Thalassiosira pseudonana* (TP), *Chaetoceros muelleri* (CM), *Phaeodacylum tricornutum* (PT), *Pyramimonas parkae* (PP), *Brachiomonas submarina* (BS) and *Tetraselmis suecica* (TS). The values presented are the average values of X to X samples and standard error for each parameter, cellular concentration (CellConc, cells/mL), proteins, lipids, ash, eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), arachidonic acid (ARA) and the ratio between the total *n6* and *n3* fatty acids (*n6/n3*) (mg g⁻¹ of dry weight), dry weight (g/mL), price factor of the medium, time (number of days taken to reach the maximum cellular concentration) and the production effort (sum of the *time* with the product of the price factor for the medium and the volume of culture (*Vol*, mL), necessary to produce 1 g of dry weight)

	SC	TP	CM	PT	PP	BS	TS
CellConc	11.1*10 ⁵ ± 2.3*10 ⁵	8.3*10 ⁵ ± 1.4*10 ⁵	28.6*10 ⁵ ±3.7*10 ⁵	89.0*10 ⁵ ± 7.5*10 ⁵	3.2*10 ⁵ ± 0.3*10 ⁵	3.5*10 ⁵ ± 0.4*10 ⁵	7.6 *10 ⁵ ± 3.5*10 ⁵
Lipids	9.73 ± 4.01	11.48 ± 2.84	27.82 ± 10.85	36.86 ± 16.03	6.79 ± 2.20	17.41 ± 3.26	13.08 ± 8.34
Proteins	42.17 ± 5.79	43.98 ± 14.79	96.46 ± 19.47	144.46 ± 51.15	40.60 ± 14.36	102.99 ± 32.14	29.82 ± 15.85
Ash	587.62 ± 68.11	524.72 ± 84.94	429.45 ± 52.77	433.09 ± 57.73	482.53 ± 68.17	434.53 ± 44.04	349.87 ± 40.50
EPA	0.22 ± 0.10	2.31 ± 1.09	4.25 ± 1.19	7.37 ± 4.34	0.04 ± 0.02	0.90 ± 0.44	0.47 ± 0.32
DHA	0.25 ± 0.12	0.56 ± 0.24	1.10 ± 0.30	2.43 ± 1.27	1.70 ± 0.40	0.26 ± 0.23	0.00 ± 0.00
ARA	0.01 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.93 ± 0.35	0.13 ± 0.07	0.002 ± 0.002	1.10 ± 0.27	0.04 ± 0.03
<i>n6/n3</i>	0.46 ± 0.07	0.10 ± 0.03	1.00 ± 0.22	0.69 ± 0.15	0.17 ± 0.01	0.46 ± 0.09	0.08 ± 0.03
Dry weight	1.7*10 ⁻⁴ ±4.0*10 ⁻⁵	2.0*10 ⁻⁴ ±4.3*10 ⁻⁵	1.6*10 ⁻⁴ ±2.8*10 ⁻⁵	1.8*10 ⁻⁴ ±2.5*10 ⁻⁵	2.0*10 ⁻⁴ ±3.3*10 ⁻⁵	1.4*10 ⁻⁴ ±2.3*10 ⁻⁵	1.7*10 ⁻⁴ ±3.0*10 ⁻⁵
Price factor	1.1	1.1	1.1	1.1	1	1	1
Time	7	9	11	13	13	12	11
Production effort	6322	5378	6876	6034	4925	6936	6030

Table 2: Constrains used in the formulation of the three diets (Balanced, High *n*-3 and Low *n*-3). Proteins, Lipids, arachidonic acid (ARA), eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA) and the ratio between the total *n*6 and *n*3 fatty acids are expressed in mg g⁻¹ of dry weigh.

	Proteins	Lipids	Ash	ARA	EPA	DHA	<i>n</i> 6/ <i>n</i> 3
Balanced	58.5< <i>x</i> <71.5	15< <i>x</i> <18	<470	0.5< <i>x</i> <0.6	>2	>1	0.15< <i>x</i> <0.5
Low ARA	58.5< <i>x</i> <71.5	15< <i>x</i> <18	<470	<0.3	>2	>1	0.15< <i>x</i> <0.5
Low ω -3	58.5< <i>x</i> <71.5	15< <i>x</i> <18	<470	0.5< <i>x</i> <0.6	>0.5	>0.1	0.15< <i>x</i> <0.5

Tabel 3. Fracties van *Chaetoceros muelleri* (CM), *Pyramimonas parkae* (PP), *Tetraselmis suecica* (TS), *Brachiomonas submarina* (BS) en *Phaeodactylum tricornutum* (PT) in de drie diëten.

balanced			Low EPA, DHA		Low ARA	
CM	0.535		TS	0.533	PP	0.727
PP	0.465		BS	0.467	PT	0.273

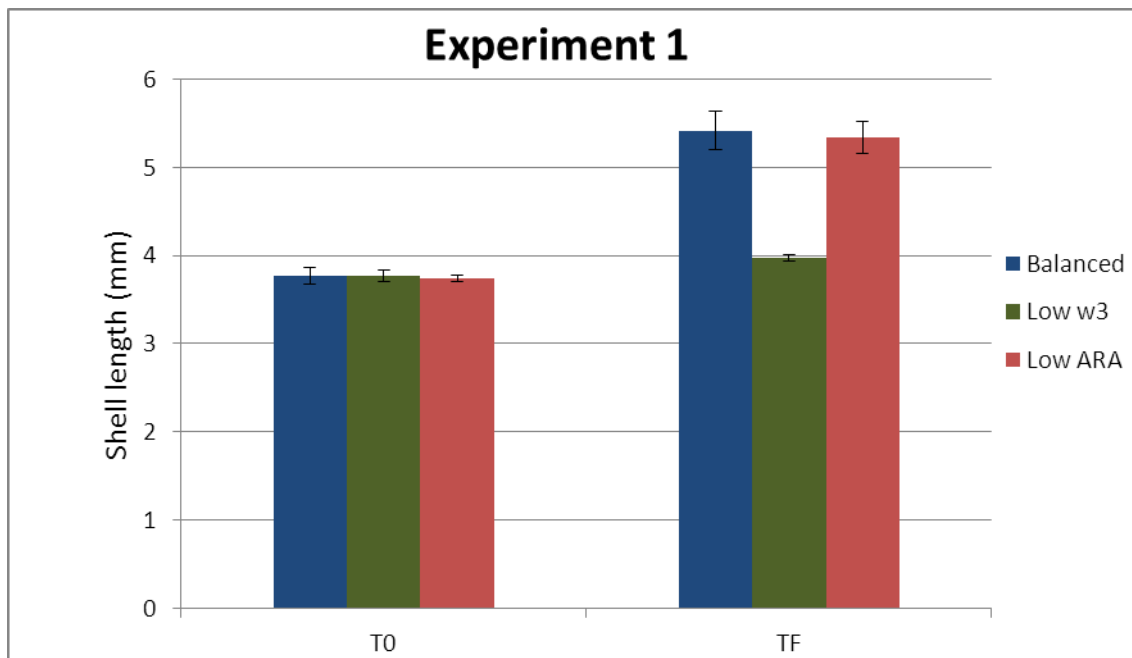


Figure 1a: Average shell length (mm) of the cockles at the beginning (T0) and after 21 days (TF) of exposure to the different diets (Balanced, Low w3 and LowARA) in Experiment 1. Error bars represent the standard deviation (n=3).

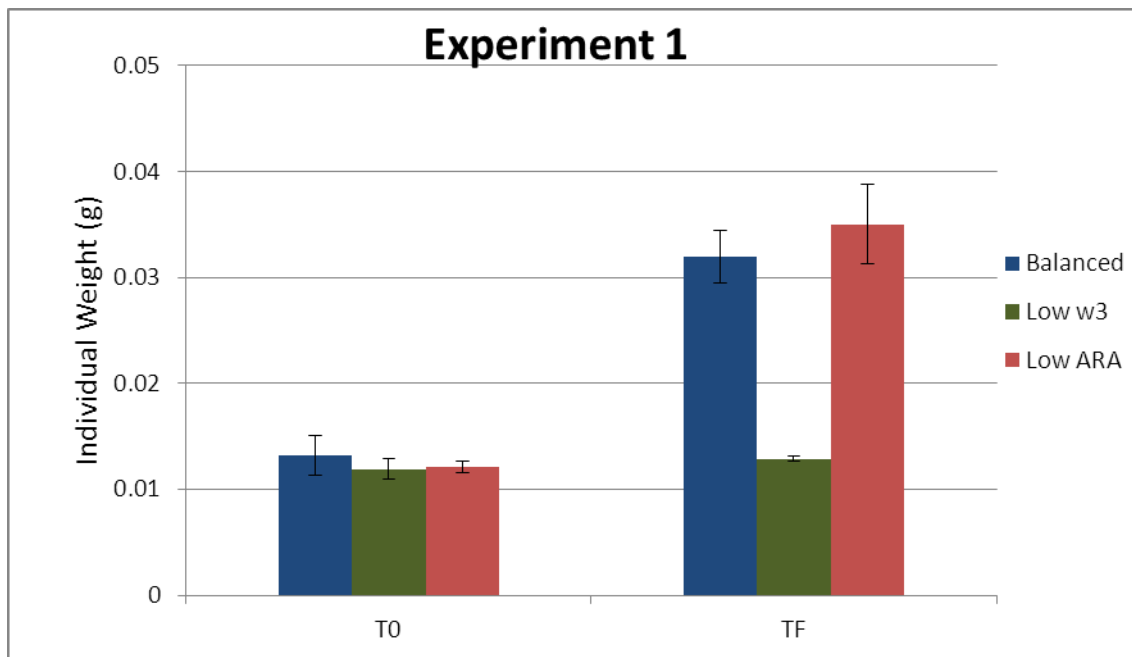


Figure 1b: Average individual weight (g) of the cockles at the beginning (T0) and after 21 days (TF) of exposure to the different diets (Balanced, Low w3 and LowARA) in Experiment 1. Error bars represent the standard deviation (n=3).

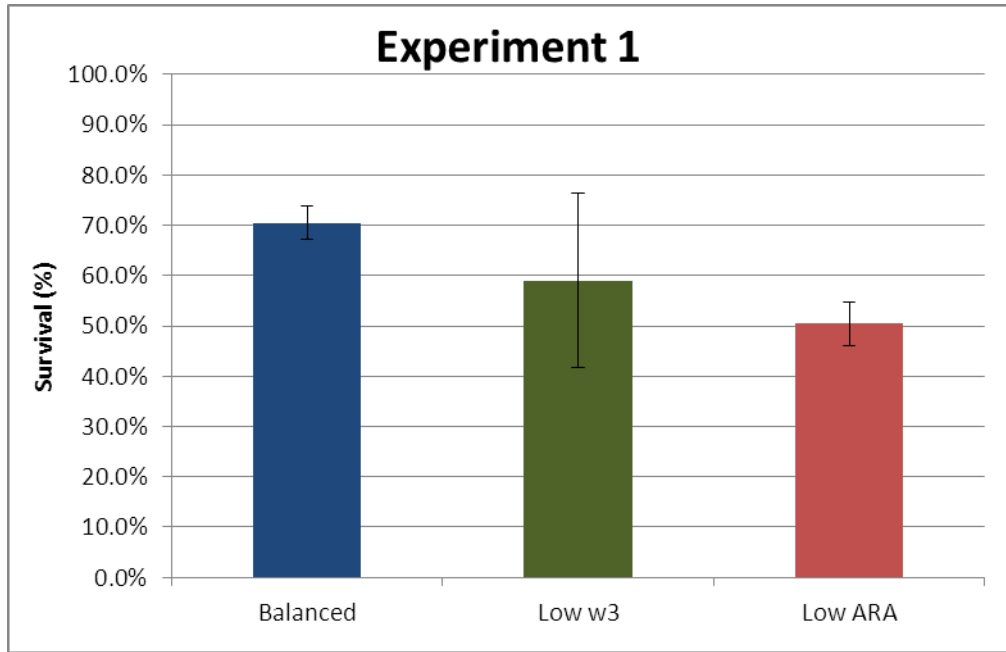


Figure 1c: Total survival (in percentage) of the cockles fed with 3 different diets (Balanced, Low w3 and Low ARA) during the experimental period (21 days) in Experiment 1. Error bars represent the standard deviation (n=3).

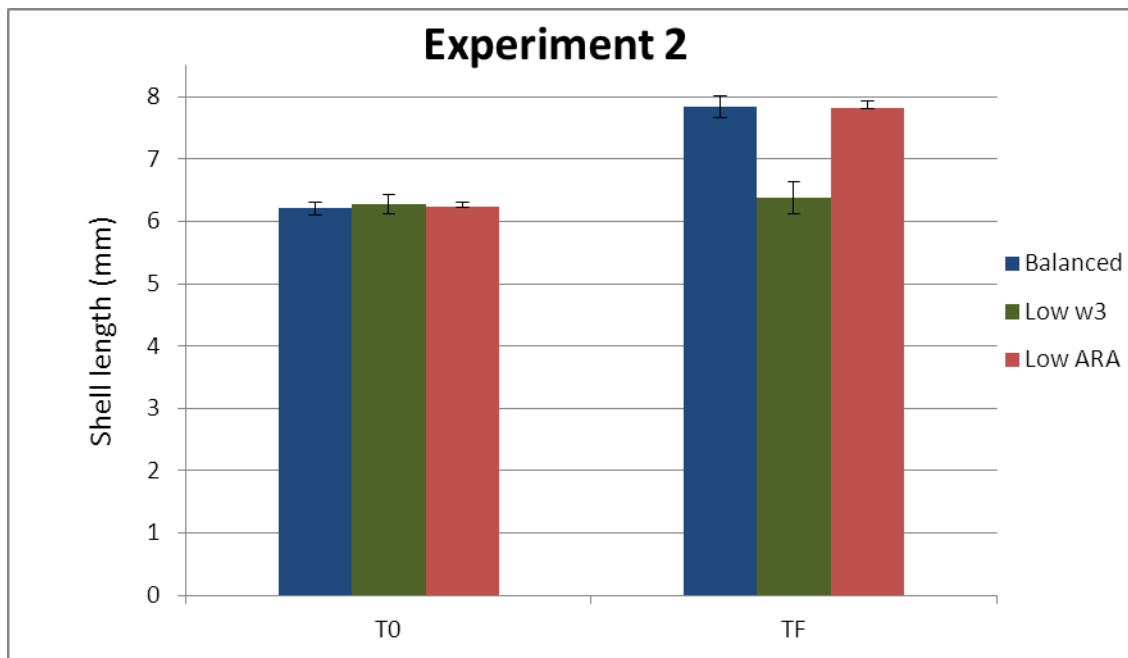


Figure 2a: Average shell length (mm) of the cockles at the beginning (T0) and after 21 days (TF) of exposure to the different diets (Balanced, Low w3 and LowARA) in Experiment 2. Error bars represent the standard deviation (n=3).

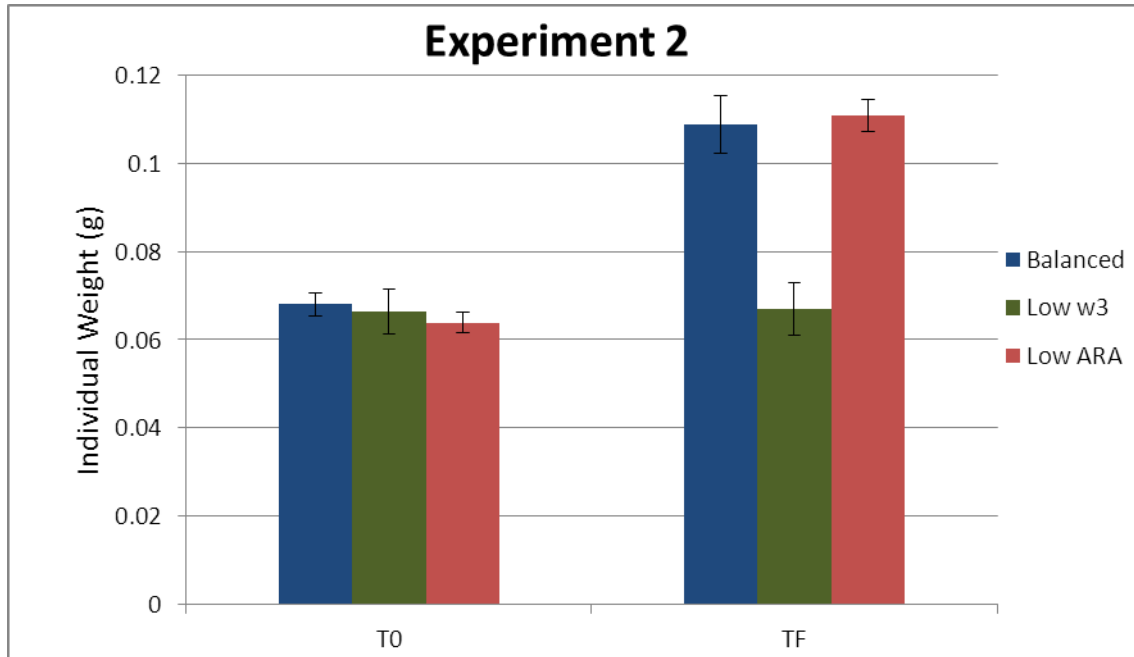


Figure 2b: Average individual weight (g) of the cockles at the beginning (T0) and after 21 days (TF) of exposure to the different diets (Balanced, Low w3 and LowARA) in Experiment 2. Error bars represent the standard deviation (n=3).

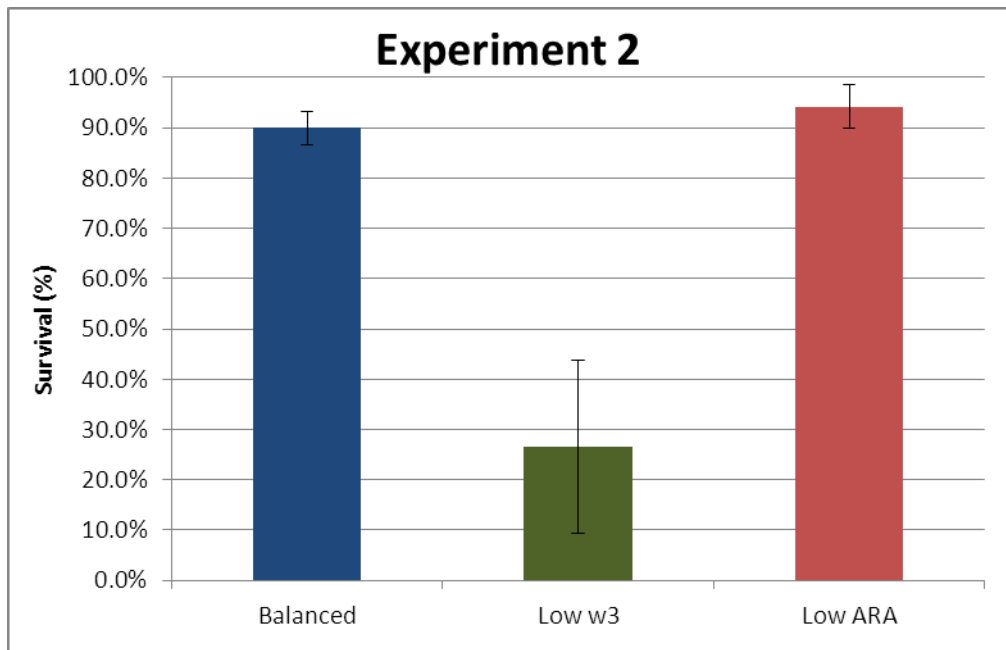


Figure 2c: Total survival (in percentage) of the cockles fed with 3 different diets (Balanced, Low w3 and Low ARA) during the experimental period (21 days) in experiment 2. Error bars represent the standard deviation (n=3).

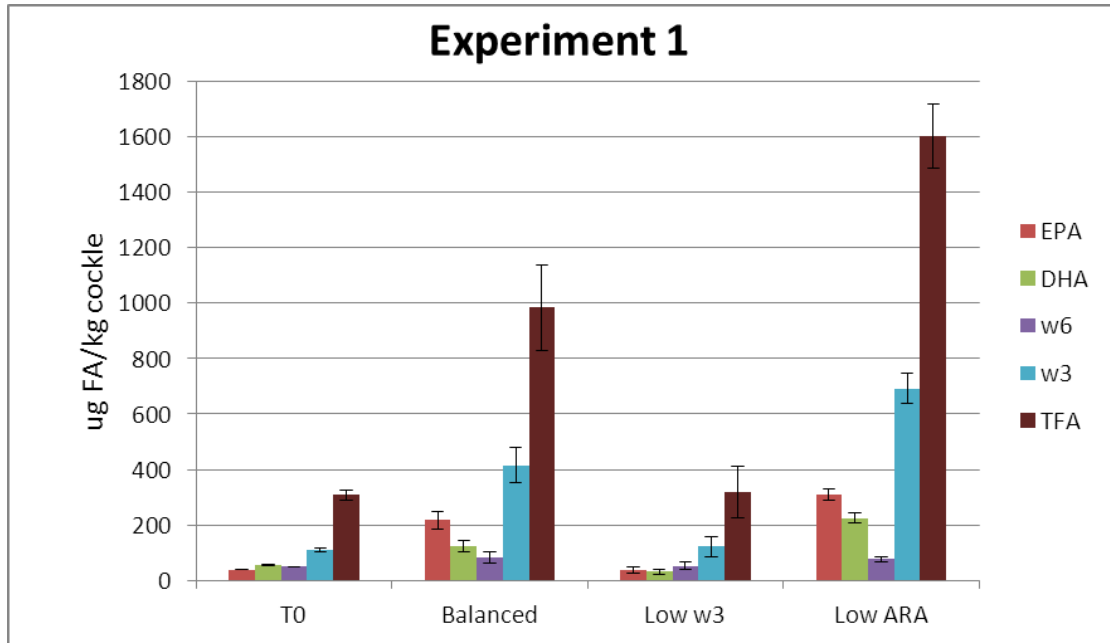


Figure 3a: Arachidonic acid (ARA), eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), ω 6 (w6) and ω 3 (w3) polyunsaturated fatty acids and total fatty acid (TFA) composition (μ g of fatty acid per kg of cockles) of the cockles at the beginning (T0) and after 21 days of feeding with different diets (Balanced, Low w3 and Low ARA) in Experiment 1. Error bars represent the standard deviation (n=3).

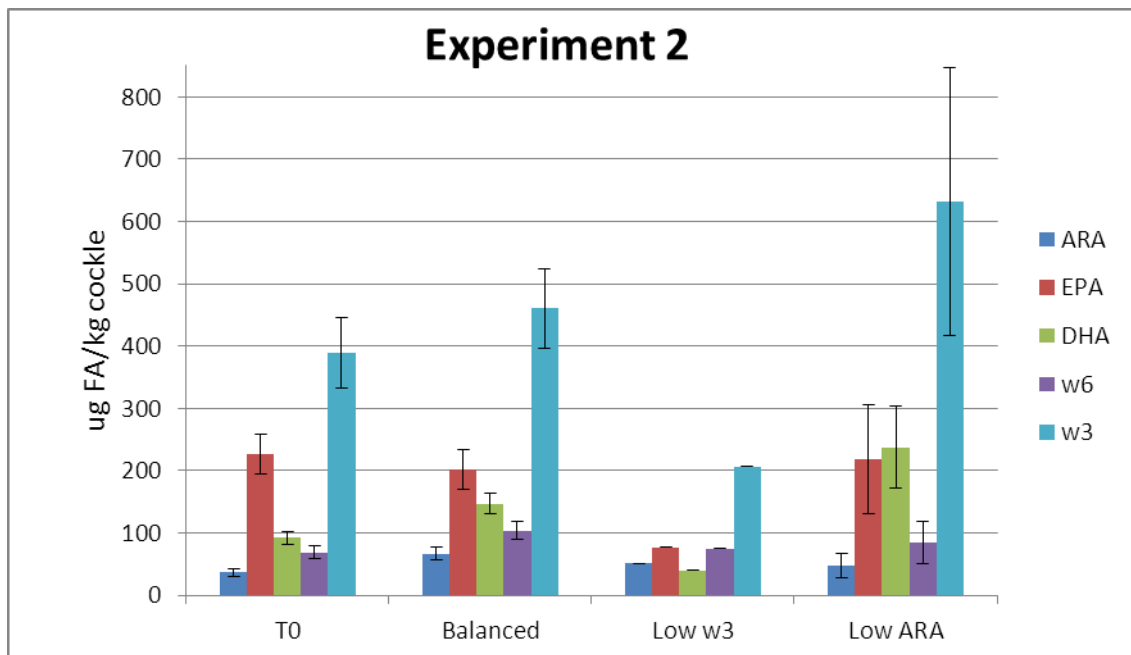


Figure 3b: Arachidonic acid (ARA), eicosapentaenoic acid (EPA), docosahexaenoic acid (DHA), ω 6 (w6) and ω 3 (w3) polyunsaturated fatty acids composition (μ g of fatty acid per kg of cockles) of the cockles at the beginning (T0) and after 21 days of feeding with different diets (Balanced, Low w3 and Low ARA) in Experiment 2. Error bars represent the standard deviation (n=3).

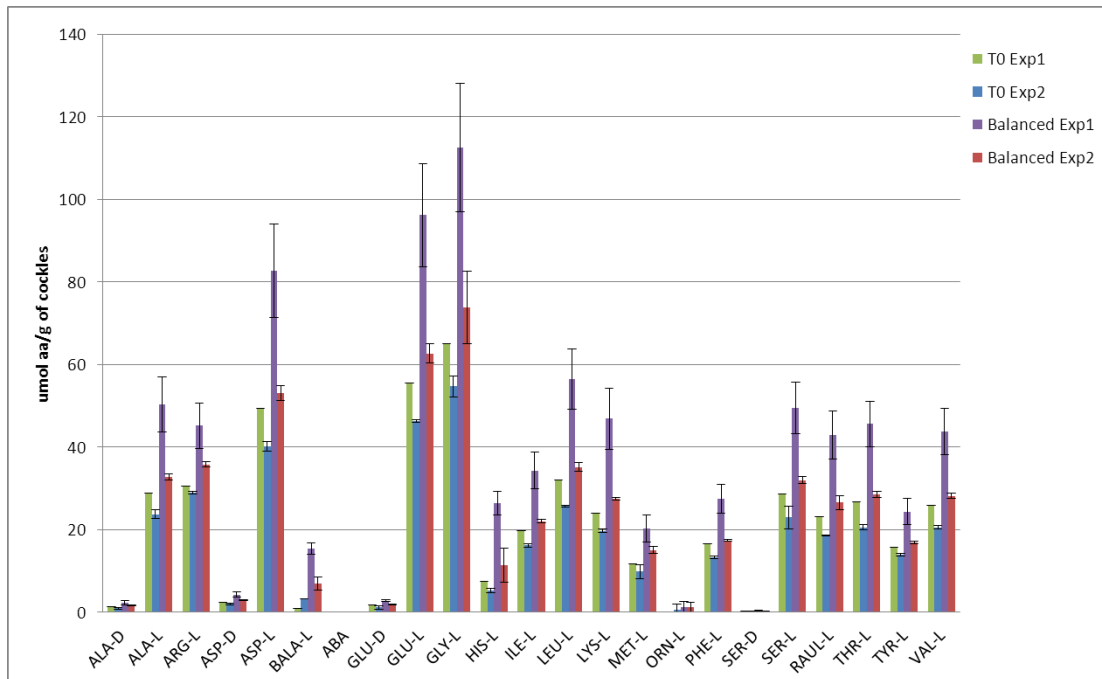


Figure 4a: Amino acid composition (μmol of amino acids per g of cockles) of the cockles at the beginning of experiment 1 (T0 Exp1) and experiment 2 (T0Exp2) and at the end of the experimental periods after being fed with the balanced diet. Error bars represent the standard deviation ($n=3$).

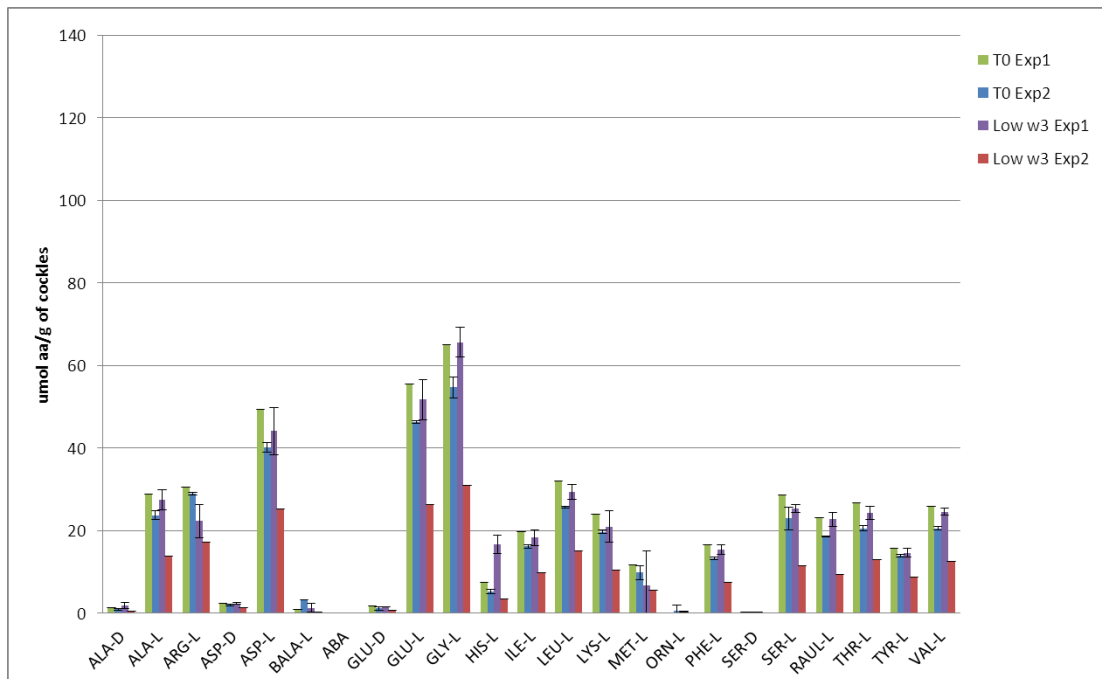


Figure 4b: Amino acid composition (μmol of amino acids per g of cockles) of the cockles at the beginning of experiment 1 (T0 Exp1) and experiment 2 (T0Exp2) and at the end of the experimental periods after being fed with the Low w3 diet. Error bars represent the standard deviation ($n=3$).

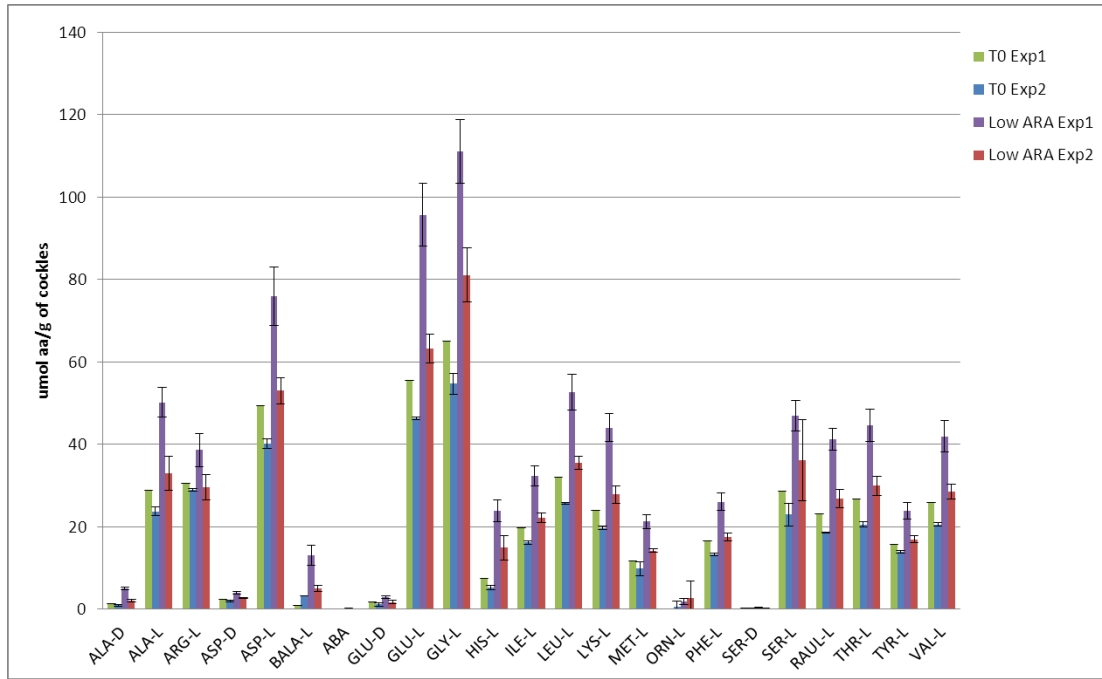


Figure4c: Amino acid composition (μmol of amino acids per g of cockles) of the cockles at the beginning of experiment 1 (T0 Exp1) and experiment 2 (T0Exp2) and at the end of the experimental periods after being fed with the Low ARA diet. Error bars represent the standard deviation ($n=3$).

Referenties

- Castrodeza, C., Lara, P., Peña, T., 2005. Multicriteria fractional model for feed formulation: economic, nutritional and environmental criteria. *Agricultural Systems* 86, 76-96.
- Peña, T., Castrodeza, C., Lara, P., 2007. Environmental Criteria in Pig Diet Formulation with Multi-Objective Fractional Programming, *Handbook Of Operations Research In Natural Resources*, pp. 53-68.

2.2. Lab- en mesocosmos experimenten: aanbevelingen voor algenkweek met hoge voedingswaarde

Pauline Kamermans, Ainhoa Blanco, Emiel Brummelhuis, Pim van Dalen, Ad van Gool, Angelo Hofman, Noortje Ros

Doelstelling gehele looptijd: Identificeren van kweekcondities van algen die de voedingswaarde voor schelpdieren verhogen zoals verblijftijd en samenstelling nutriënten aanbod.

Doelstelling 2010: Om vast te stellen wat de invloed is van kweekcondities, medium en buitenomstandigheden, op de productie van een batch cultuur, zijn experimenten uitgevoerd. De experimenten zijn er op gericht zo economisch mogelijke kweekcondities voor algenkweek onder buitenomstandigheden te vinden. Daarnaast zal met deze experimenten het algengroei model verder gevalideerd worden wat de toepasbaarheid van de resultaten onder andere omstandigheden mogelijk maakt. De experimenten zijn allereerst gericht op *Chaetoceros* vanwege de gunstige voedingswaarde en de koppeling met WP 3 (Teelt in fotobioreactor). Daarbij is de bruikbaarheid van diverse media getest, in vergelijking met Walne medium. (wellplate tests). Tevens is nagegaan wat de effecten zijn van doorstroming en beënting van de systemen met algen voor de productiviteit en de stabiliteit van de opbrengst (raceway tests).

Well plate tests

Teneinde een goedkoper medium voor de teelt van *Chaetoceros muelleri* en *Pyramimonas parkae* te vinden is de groei van deze algen op verschillende combinaties van nutriënten getest in well plates (Fig. 5).



Figuur 5. Well plate met cellen met een volume van 2 ml waarin de groei van algen op verschillende media getest zijn. Dagelijks werd de kleur van de cultuur gemeten met een quant microplate spectrophotometer. De verandering in meetwaarde is een indicatie voor de groei.

Costs of media

The costs of the different media are calculated for large scale production, 1000 L, (table 4). The media with NaNO_3 as Nitrogen source are very expensive; also the Walne medium is very costly. All the other media are compared to the Walne very cheap.

Table 4: Costs (€/1000L) of the different mediums tested for the flagellate *Pyramimonas parkae*. Please note that these are the final prices for all the medium, not only for the enrichment solutions

	Walne medium	N ² /P 25:1	N ² /P 25:1	N ² /P 10:1	N ² /P 16:1	C ³ /N ² /P 128:16:1	N ² /P+Fe 25:1	N ² /P +Mn 25:1	N ² /P+Vit 25:1	N ² /P+Fe+Mn 25:1
€/1000L	10.11	1.33	16.94	0.84	1.04	16.84	1.36	1.37	2.44	1.40

¹ NH₄Cl; ² NaNO₃; ³ NaHCO₃

Growth of *Pyramimonas parkae*

The growth (absorbance) of algae showed significant differences between the different media. The Walne medium showed the best growth in all inoculations. The Walne medium was not significantly different with all other media due to the test used to find the differences. This test (Kruskal-wallis test) uses ranks (the highest absorbance get the highest rank) and not the real absorbance to find significant differences.

The absorbance of the Walne medium was by far the biggest with 1.04375 absorbance in the first inoculation. The second best was N:P:Fe with 0.609 AU (figure 6).

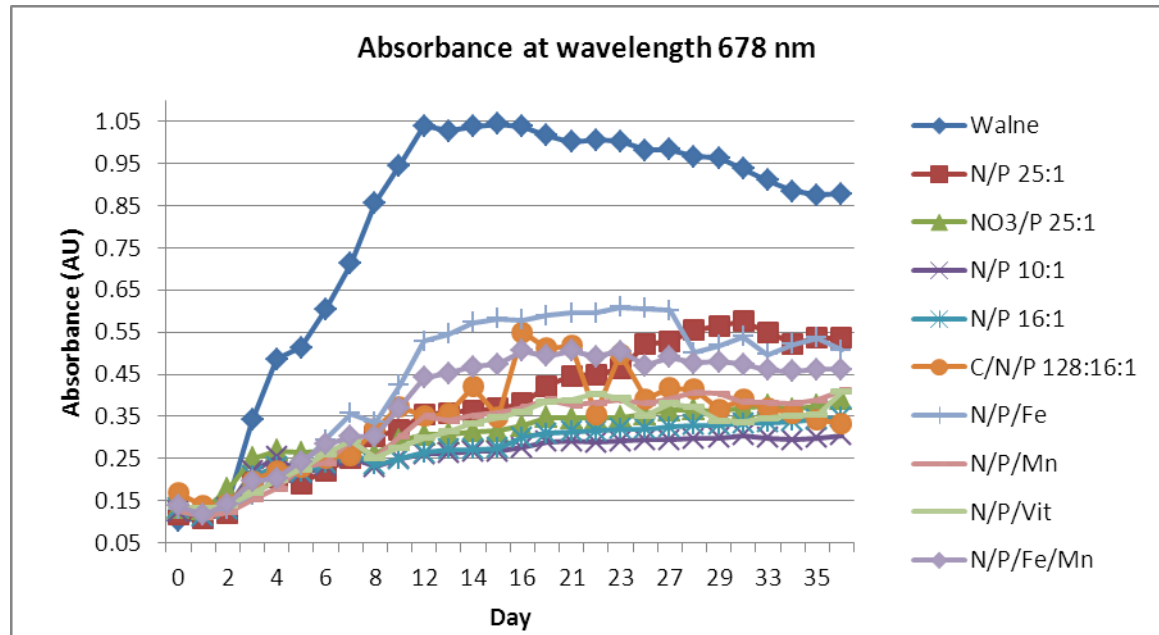


Figure 6. Growth of algae measured in absorbance. This is the first inoculation of the experiment. The experiment is done in quadruple and these are the average. Measured every day except Saturday and Sunday.

The differences between the Walne medium and the other mediums in the other inoculations are higher. The Walne had an absorbance of 1.4515 and N:P:Fe had a maximum absorbance of 0.45075 (figure 7) in the second inoculation.

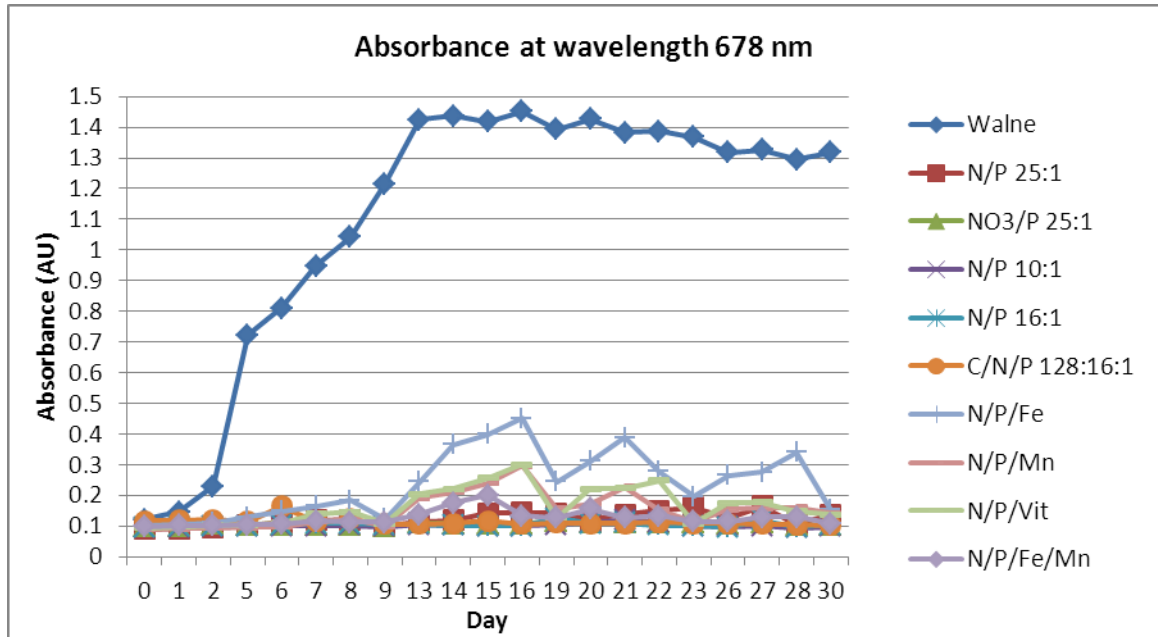


Figure 7. Growth of algae measured in absorbance. This is the second inoculation of the experiment. The experiment is done in quadruple and these are the average. Measured every day except Saturday and Sunday.

The maximum absorbance of the Walne medium in the third inoculation was 1.144. In the other media was almost no growth, with a maximum absorbance for N:P:Fe of 0.1595 (figure 8).

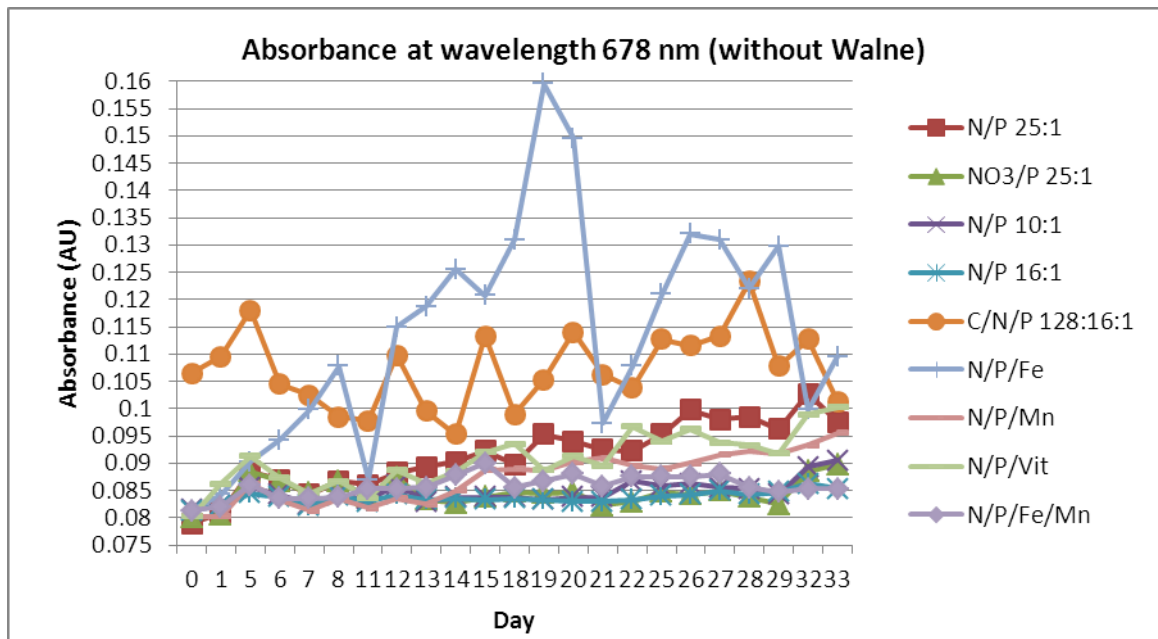


Figure 8. Growth of algae measured in absorbance. All media are shown in this figure except the Walne medium, because the difference was too big. This is the third inoculation of the experiment. The experiment is done in quadruple and these are the average. Measured every day except Saturday and Sunday.

In the fourth inoculation was almost no growth except in the Walne medium, which grew very well. The growth of algae in the different mediums from the fourth inoculation is shown in figure 9.

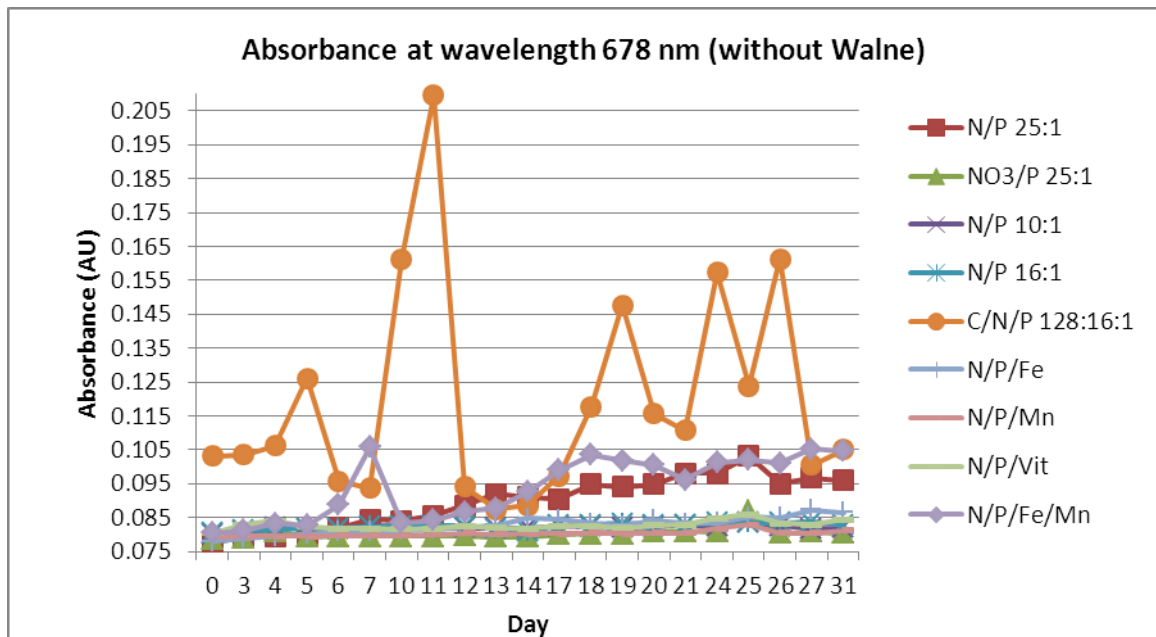


Figure 9. Growth of algae measured in absorbance. All media are shown in this figure except the Walne medium, because the difference was too big. This is the fourth inoculation of the experiment. The experiment is done in quadruple and these are the average. Measured every day except Saturday and Sunday.

After determining the significant differences between the mediums, a choice had to be made for the upscaling experiment. The first medium to be tested is the Walne medium, here was growth the best and this medium is a reference for the other mediums (control). The second medium is N:P:Fe, this media gave the second best growth. The other mediums are N:P:Fe:Mn and N:P, all three mediums will have a N:P ratio of 25:1, this ratio gave better growth then 16:1 and 10:1. The three mediums that will be tested will also get vitamins (in the same amount as the Walne medium), earlier research (A. Blanco) showed better growth with the addition of vitamins. 10-l scale cultures will be grown and fatty acid content of the cultures will be determined.

Groei van *Chaetoceros muelleri*

Er zijn twee well plate tests uit gevoerd. Tabel 5 geeft een overzicht van de geteste media.

Tabel 5. Groei van Chaetoceros muelleri in 24 well plates bij verschillende nutriënten combinaties

Nutriënten combinaties	Algen groei experiment 1	Algen groei experiment 2
Walne's medium	+++	+++
Walne's medium zonder vitaminen		++
Walne's medium zonder trace metals		+++
Walne's medium zonder vitaminen en trace metals		++
Ifremer's medium (Walne's medium variatie)		++
NH₄Cl , NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O (NPSi medium)	+	-
NH ₄ Cl, NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O+ H₃BO₃	+	
NH ₄ Cl, NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O+ Na-EDTA	+	
NH ₄ Cl, NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O+ MnCl₂*4H₂O	+	
NH ₄ Cl, NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O and NaSiO ₃ *5H ₂ O+ FeCl₃*6H₂O	++	
NH ₄ Cl, NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O+ Vitamine mix (vitamine B12; vitamine B1 and vitamin H)	+	
NH ₄ Cl, NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O+ FeCl₃*6H₂O+ MnCl₂*4H₂O		+
NaNO₃ , NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O	++	+
NaNO ₃ , NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O+ FeCl₃*6H₂O+ MnCl₂*4H₂O		+
(NH₂)₂CO (Urea) , NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O	++	-
(NH ₂) ₂ CO (Urea), NaH ₂ PO ₄ *2 H ₂ O en NaSiO ₃ *5H ₂ O+ FeCl₃*6H₂O+ MnCl₂*4H₂O		+
(NH ₂) ₂ CO (Urea)+ 3Ca(H ₂ PO ₄) ₂ + waterglass		-
NH ₄ Cl+(NH ₄) ₃ PO ₄ +waterglass		+

+++ : hoog groei
 ++ : medium groei
 + : laag groei
 - : geen groei

In experiment 1 werd de beste groei gevonden op het controle medium (Walne), maar gebruik van nitraat als stikstofbron ammonium, of toevoeging van ijzer gaven ook goede resultaten.

Bij de tweede experiment werden de beste resultaten met het volledige Walne medium en Walne zonder sporemetalen (medium 1 en 3) bereikt (Fig. 10). Zonder vitamines, of met een andere verhouding in de samenstelling is de groei beduidend minder (medium 2,4 en 11). De vereenvoudigde media laten veel minder groei zien dan het Walne medium (Fig. 10). Van deze vereenvoudigde media presteert het medium met ureum (9) het slechtst, gevolgd door het medium met NH_4Cl als stikstof bron P en Si (medium 5) . De beste media bevatten naast N, P en Si ook ijzer en mangaan (6 en 8). De resultaten zijn ook statistisch getest (Tabel 6). De volgende stap is het opschalen van de algen culturen op het beste twee media, NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + \text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O} + \text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Monsters worden genomen voor vetzuren, lipiden en koolhydraten.

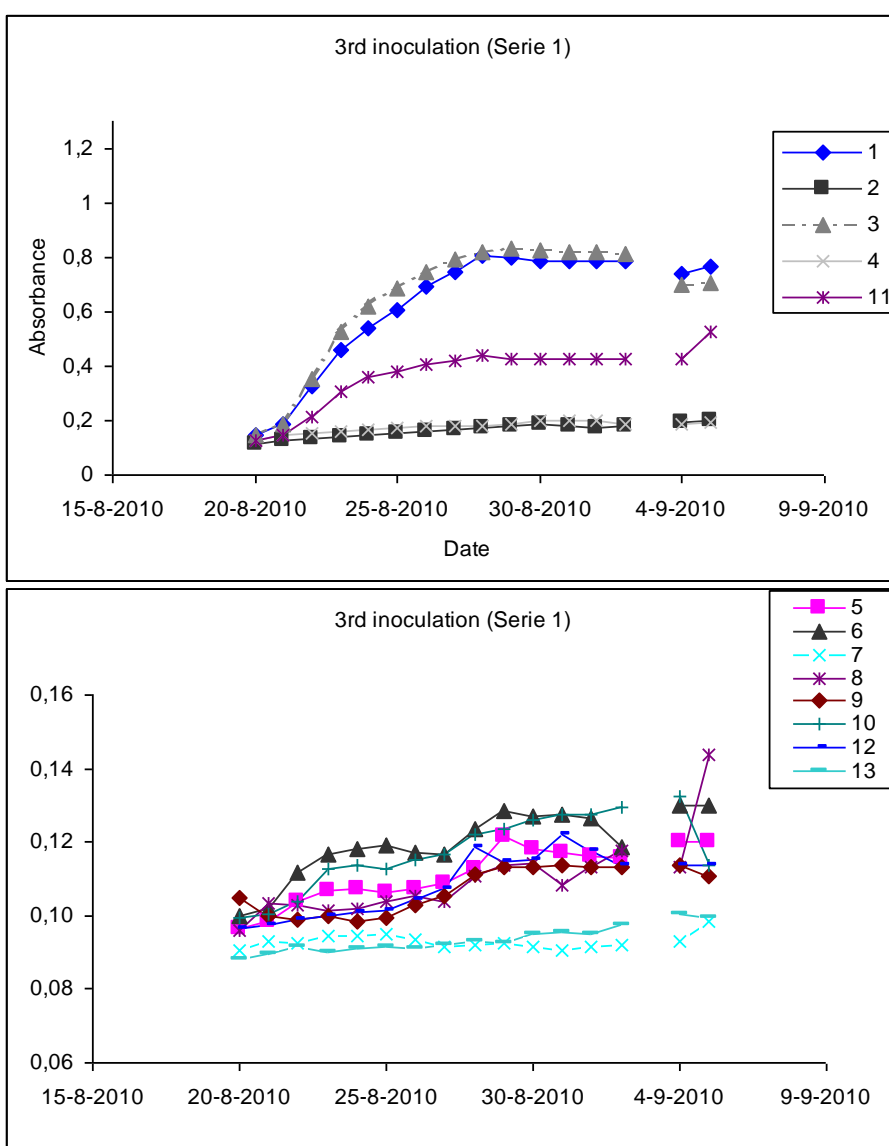


Fig. 10. Absorptie bij 440 nm van *Chaetoceros muelleri* gekweekt op de media uit tabel 1 na 3x over-enten, gemiddelde van n=4.

Tabel 6. P-waarden van post-hoc test van ANOVA voor well plate tests met *Chaetoceros muelleri*. Vetgedrukte getallen geven significante verschillen tussen media weer.

Experiment 1 (Walne en vereenvoudigde media)

medium	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2	0.000								
3	0.000	0.903							
4	0.000	1.000	0.910						
5	0.000	0.842	0.142	0.833					
6	0.000	1.000	0.994	1.000	0.544				
7	0.000	0.008	0.000	0.008	0.228	0.002			
8	0.000	0.988	0.376	0.987	1.000	0.867	0.075		
9	0.000	0.983	1.000	0.985	0.273	1.000	0.001	0.595	

Behandeling 1: Walne's medium

Behandeling 2: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (NPSi medium)

Behandeling 3: NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Behandeling 4: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{H}_3\text{BO}_3$

Behandeling 5: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{Na-EDTA}$

Behandeling 6: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Behandeling 7: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ and $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

Behandeling 8: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{Vitamine mix (B12;B1 and H)}$

Behandeling 9: $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (Urea), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Experiment 2 deel 1 (Walne's mediums)

medium	1	2	3	4	11
1					
2	0.000				
3	0.014	0.015			
4	0.000	0.448	0.321		
11	0.000	1.000	0.018	0.488	

Behandeling 1: Walne medium

Behandeling 2: Walne without vitamins

Behandeling 3: Walne without trace metals

Behandeling 4: Walne without vitamins and trace metals

Behandeling 11: Ifremer medium

Experiment 2 deel 2 (Vereenvoudigde media)

medium	5	6	7	8	9	10	12	13
5								
6	0.998							
7	1.000	0.999						
8	0.217	0.530	0.255					
9	0.723	0.359	0.666	0.006				
10	1.000	0.996	1.000	0.180	0.781			
12	0.642	0.935	0.700	0.992	0.040	0.577		
13	0.932	0.636	0.902	0.019	1.000	0.958	0.107	

- Behandeling 5: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ and $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ raceway's ratio
 Behandeling 6: NH_4Cl , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ and $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ raceway's ratio and FeCl_3 and $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 Behandeling 7: NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ and $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ Walne's ratio
 Behandeling 8: NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ and $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ Walne's ratio and FeCl_3 and $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 Behandeling 9: Urea, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ and $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
 Behandeling 10: Urea, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ and $\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ and FeCl_3 and $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 Behandeling 12: Ureum, 3-superphosphate and waterglas
 Behandeling 13: NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ and waterglas

Raceway tests

Methode

Er zijn vijf experimenten met uitgevoerd in de periode mei tot en met november 2010 (Tabel 7).

Tabel 7. Raceway experimenten in 2010.

Experiment	Periode	Innoculum	Medium	Behandeling
1	14 – 28 mei	geen	Walne	Geen
2	8 – 25 juni	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	N/P/Si	10% of 40% verversing
3	23 juli – 9 aug	<i>Chaetoceros muelleri</i>	Walne	10% of 40% verversing
4	27 aug – 26 sept	<i>Chaetoceros muelleri</i>	Walne	batch, 10% of 40% verversing
5	28 okt – 25 nov	<i>Chaetoceros muelleri</i>	Walne	10% verversing met of zonder extra beenting

Voor de proeven is gebruik gemaakt van speciaal geconstrueerde race-ways van 1800 liter. Dit zijn polyester bakken van 0.6 m diep voorzien van een schoepenrad voor beluchting en beweging (Fig. 11). Als waterbron is 5 μm gefiltreerd Oosterscheldewater gebruikt. Het entmateriaal (de begin hoeveelheid algen) was volgens een standaard protocol (Kamermans et al, 2006) opgekweekt in een klimaatkamer of was gekweekt in de raceway. Bij het enten van de raceway werd 180 liter volgroeide cultuur gebruikt. Als bron van nutriënten (medium) is gebruik gemaakt van chemische stoffen. Er zijn twee typen medium gebruikt. Een basis medium dat uitsluitend bestaat uit stikstof, fosfaat en silicaat (Tabel 8) en het Walne medium dat ook gebruikt wordt bij de kweek van het entmateriaal in de klimaatkamer (Tabel 9). Om over voldoende algencultuur te kunnen beschikken voor de experimenten in de 6 raceways werden de cultures eerst in 1 raceway gekweekt met het entmateriaal uit de klimaatkamer. Dit was een batch cultuur, d.w.z. groei zonder toevoeging van nieuw medium. Op het moment dat een dichtheid van 1 miljoen cellen per ml was bereikt is de inhoud van die ene raceway verdeeld over 6 raceways (300 liter per raceway). Dit werd aangevuld met gefiltreerd zeewater en medium, waarna de cultures weer in batch konden groeien tot 1 miljoen cellen per ml. Daarna werd de cultuur op doorstroom gezet, d.w.z. dat continu gefiltreerd zeewater met een bepaalde snelheid werd toegevoegd en een evenredige hoeveelheid medium werd bijgemengd.

Tabel 8. Hoeveelheden chemicaliën nodig voor N/P/Si medium voor 1800 liter zeewater.

Stof	Hoeveelheid
NH_4Cl	45.7 g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5.2 g
$\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	144 g

Tabel 9a. Hoeveelheid chemicaliën nodig voor 1 L oplossing Walne medium oplossing 1.

Stof	Hoeveelheid
Na ₂ EDTA	45 g
H ₃ BO ₃	33.6 g
NaNO ₃	100 g
NaH ₂ PO ₄ *2H ₂ O	20 g
MnCl ₃ *4H ₂ O	0.36 g
FeCl ₃ *6H ₂ O	1.30 g
Oplossing 2	1 ml

Tabel 9b. Hoeveelheid chemicaliën nodig voor 100 ml oplossing 2 Walne medium oplossing 2.

Stof	Hoeveelheid
ZnCl ₂	2.1 g
CoCl ₂ *6H ₂ O	2.0 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ *4H ₂ O	0.9 g
CuSO ₄ *5H ₂ O	2.0 g

Tabel 9c. Hoeveelheid chemicaliën nodig voor 100 ml Walne medium vitamine oplossing.

Stof	Hoeveelheid
Thiamine chlorhydraat (B ₁)	200 µg
Cyanocobalamine (B ₁₂)	10 mg
Biotin (H)	10 mg

Tabel 9d. Hoeveelheden chemicaliën nodig voor 1L NaSiO₃.5H₂O oplossing.

Stof	Hoeveelheid
NaSiO ₃ .5H ₂ O	20 g

Tabel 9e. Hoeveelheden oplossing nodig voor Walne medium voor 1800 liter zeewater.

Stof	Hoeveelheid
Walne oplossing	1.8 L
Vitamine oplossing (ml oplossing/l gefiltreerd zeewater)	0.18 L
NaSiO ₃ .5H ₂ O oplossing (ml oplossing/l gefiltreerd zeewater)	7.2 L

De volgende parameters zijn gemonitord:

- licht in PAR (photosynthetic active radiation) in µE m⁻² s⁻¹ met een LI-190SA sensor (om het uur op dak van NIOO-CEME)
- temperatuur een Hach HQd Field case (dagelijks)
- O₂ met een Hach HQd Field case (dagelijks)
- pH met een Hach HQd Field case (dagelijks)
- saliniteit met een Hach HQd Field case of refractometer (dagelijks)
- aantal algencellen per ml met een hematocytometer (dagelijks)
- absorptie bij 480 nm en 665 nm met een spectrofotometer (dagelijks)
- fotosynthese efficiëntie met een PAM (dagelijks)

De absorptie ratio (A480nm/A665nm) is een maat voor de conditie van de algen (Riegman & Rowe, 1994). Een ratio van rond de 2 wijst op nutriëntenlimitatie en van rond de 1 lichtlimitatie.



Fig. 11. Raceway 1 tot en met 3 op 26 juli met *Chaetoceros muelleri* in batch fase.

Resultaten

Licht

Figuur 12 geeft de hoeveelheid instraling gedurende de experimentele periode.

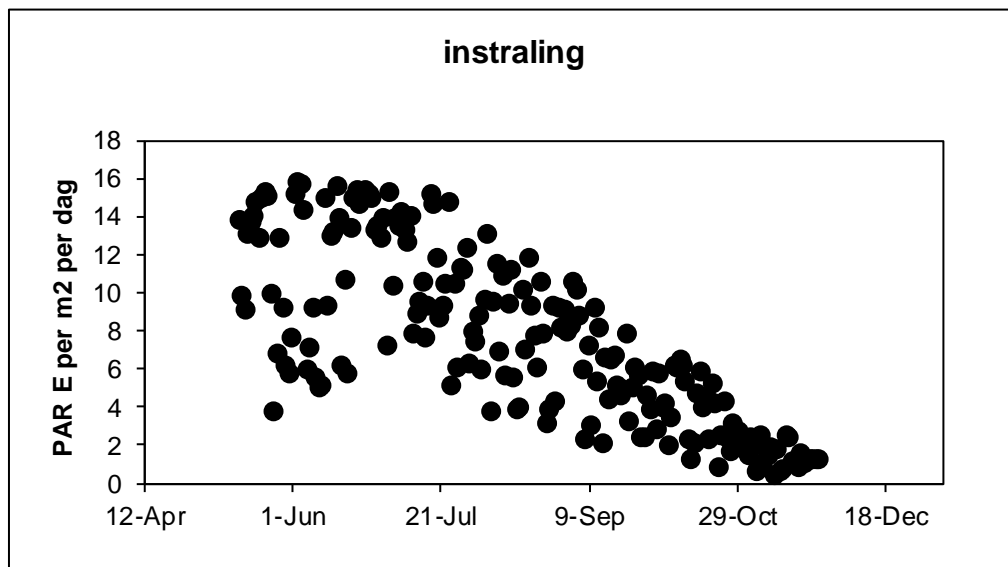


Fig. 12. Instralingsgegevens experimentele periode 2010.

Experiment 1

Op 14 mei is een raceway gevuld met 5 μm gefiltreerd zeewater met Walne medium, maar zonder algen inoculum. Na een week (op 21 mei) was een cultuur ontwikkeld die gedomineerd werd door *Thalassiosira* sp. en *Navicula* sp. Op 25 mei is deze cultuur verdeeld over 6 raceways en aangevuld met 5 μm gefiltreerd zeewater met Walne medium. Op 28 mei was de gemiddelde dichtheid in de raceways 250.000 cellen per ml. Het doel was deze batch

cultures op 31 mei op doorstroom te zetten, maar de algen waren klonten gaan vormen, waardoor de cultures niet meer in goede conditie waren.

Experiment 2

Op 31 mei is een raceway gevuld met 5 μm gefiltreerd zeewater, 200 liter *Phaeodactylum tricornutum* inoculum en NPSi medium (Tabel 8). Op 4 juni is deze cultuur verdeeld over 6 raceways en aangevuld met 5 μm gefiltreerd zeewater met NPSi medium. Op 7 juni is het doorstroom experiment gestart waarbij drie raceways een verversing van 10% per dag en drie raceways een verversing van 40% per dag kregen (Fig. 13). Op een volume van 1800 liter is dit 7.5 liter per uur voor 10% en 30 liter per uur voor 40%. Met zes raceways is de totale productie 2700 liter per dag. De celconcentraties liggen hoger bij 10% per dag verversing, maar de concentraties bij 40% zijn niet een kwart van die bij 10% (Fig. 4a). Dit laat zien dat de productiviteit (concentratie x flow) hoger ligt bij 40%. De productie was gemiddeld 57 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ bij 40% verversing per dag en 43 $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ bij 10% verversing per dag. De cultuur bij 40% liet na dag 9 direct een afname in concentratie terwijl de cultuur bij 10% na 9 dagen een redelijk stabiel evenwicht bereikt had gedurende 6 dagen, tot 21 juni. Op 21 en 22 juni was er geen watertoevoer door een verstopte filter. Daarna zijn de concentraties in alle raceways afgenomen. Aan het eind van het experiment traden grote verschillen op tussen raceways met dezelfde behandeling. Dit is te zien aan de grote standaard deviaties (sd).

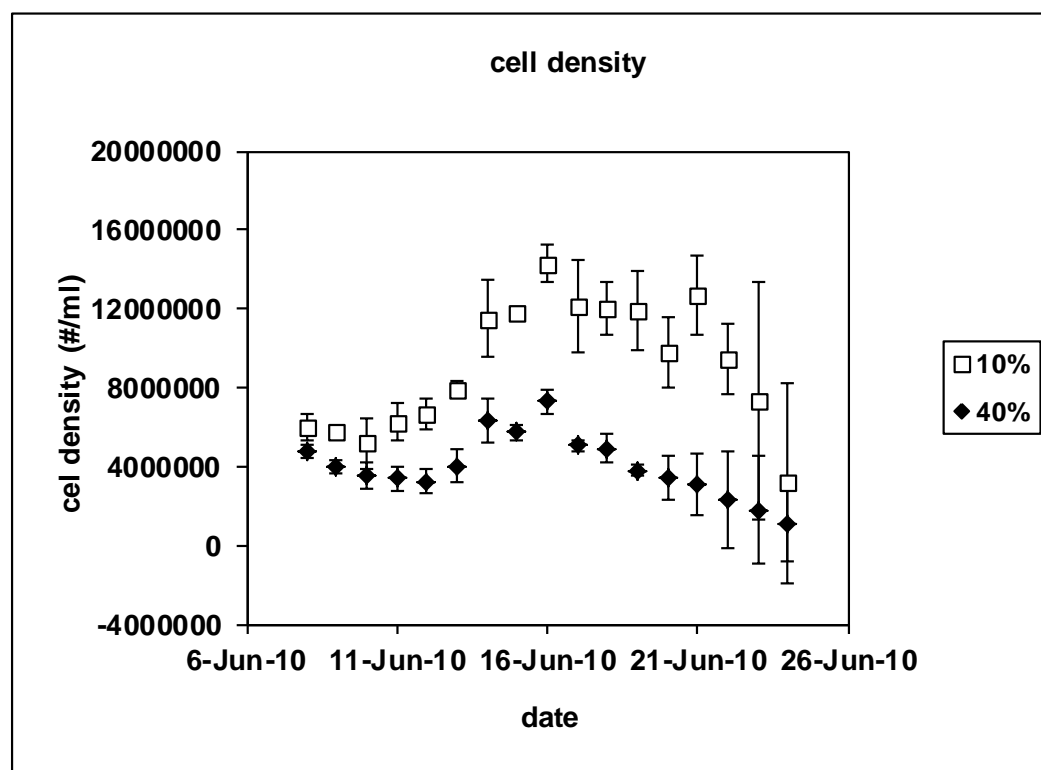


Fig. 13a. Experiment 2: Celconcentratie *Phaeodactylum tricornutum* (#/ml) bij twee verschillende verversingspercentages (10% en 40% per dag). Gemiddelde van $n=3$ is weergegeven met sd.

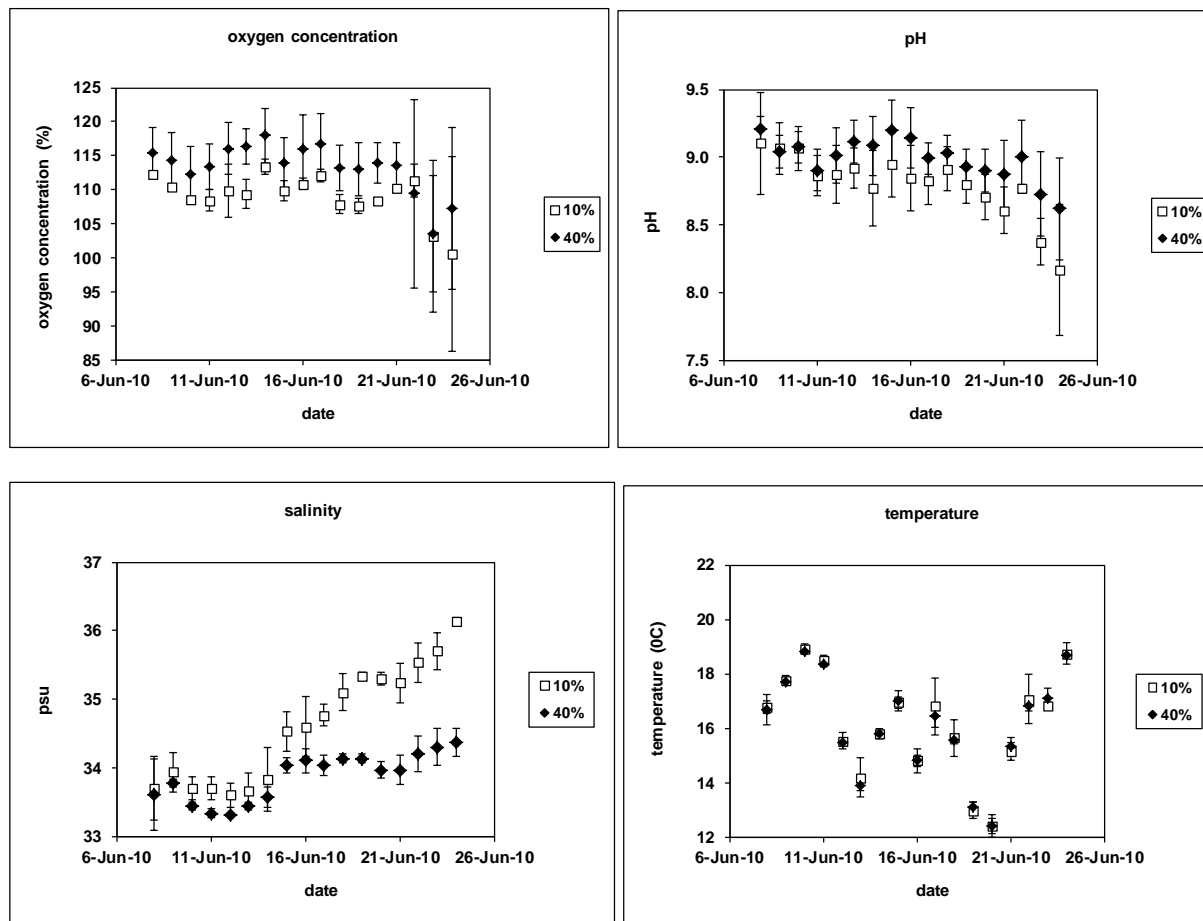


Fig. 13b. Experiment 2: Zuurstofconcentratie (%), pH, zoutgehalte met een niet goed gekalibreerde meter (psu) en temperatuur ($^{\circ}\text{C}$) van het water bij twee verschillende verversingspercentages (10% en 40% per dag). Gemiddelde van $n=3$ is weergegeven met *sd*.

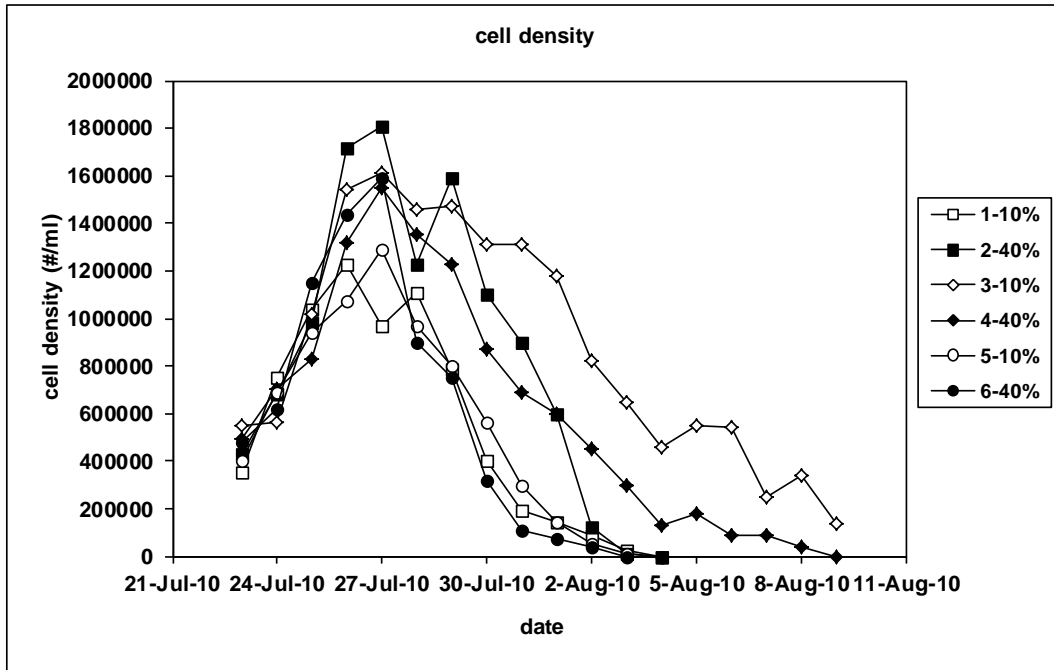


Fig. 14a. Experiment 3: Celconcentratie *Chaetoceros mulleri* (#/ml) bij twee verschillende verversingspercentages (10% en 40% per dag).

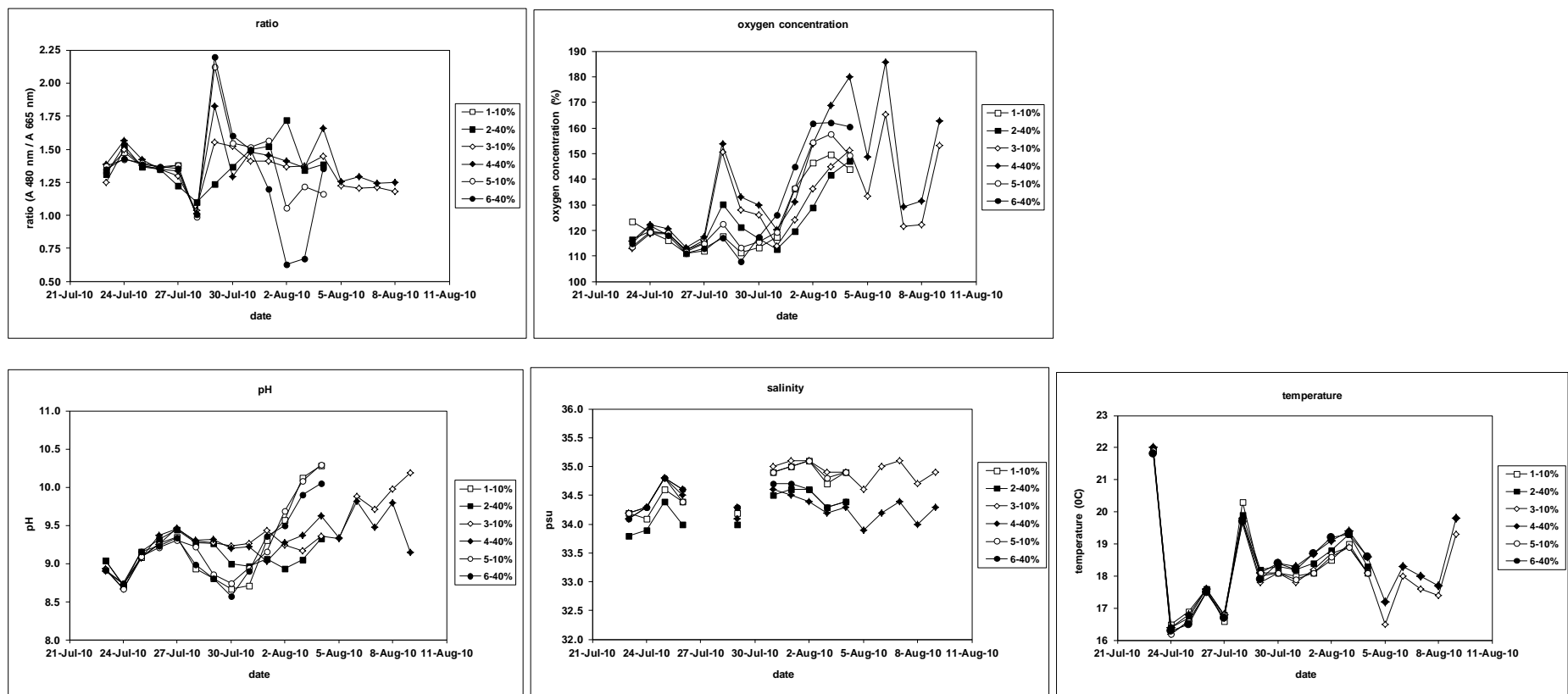


Fig. 14b. Experiment 3: Absorptie ratio (A480nm/A665nm), zuurstofconcentratie (%), pH, zoutgehalte met een niet goed gekalibreerde meter (psu) en temperatuur ($^{\circ}$ C) van het water bij twee verschillende verversingspercentages (10% en 40% per dag).

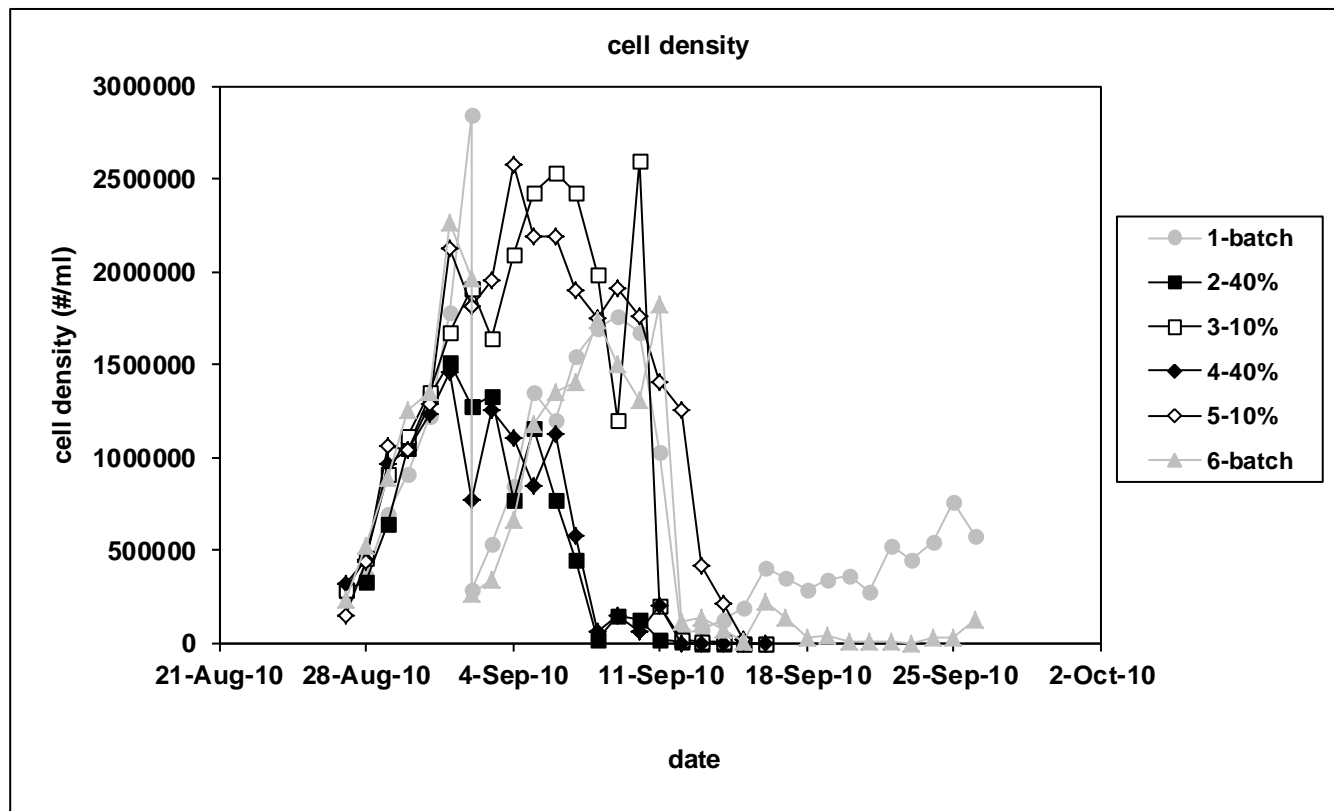


Fig. 15a. Experiment 4: Celconcentratie *Chaetoceros mulleri* (#/ml) bij twee verschillende verversingspercentages (10% en 40% per dag) en een batch cultuur.

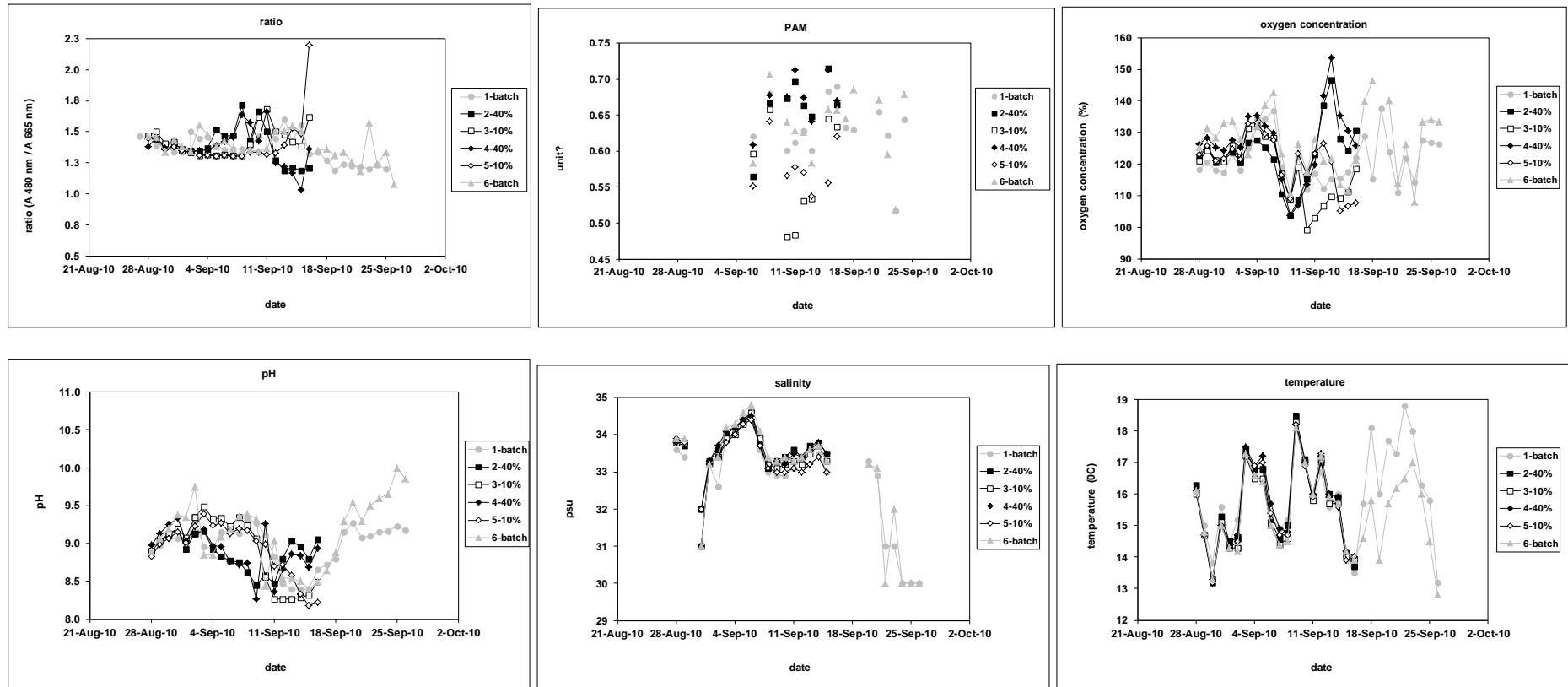


Fig. 15b. Experiment 4: Absorptie ratio (A480nm/A665nm), fotosynthese efficiëntie, zuurstofconcentratie (%), pH, zoutgehalte met een niet goed gekalibreerde meter (psu) en temperatuur (°C) van het water bij twee verschillende verversingspercentages (10% en 40% per dag) en een batch cultuur.

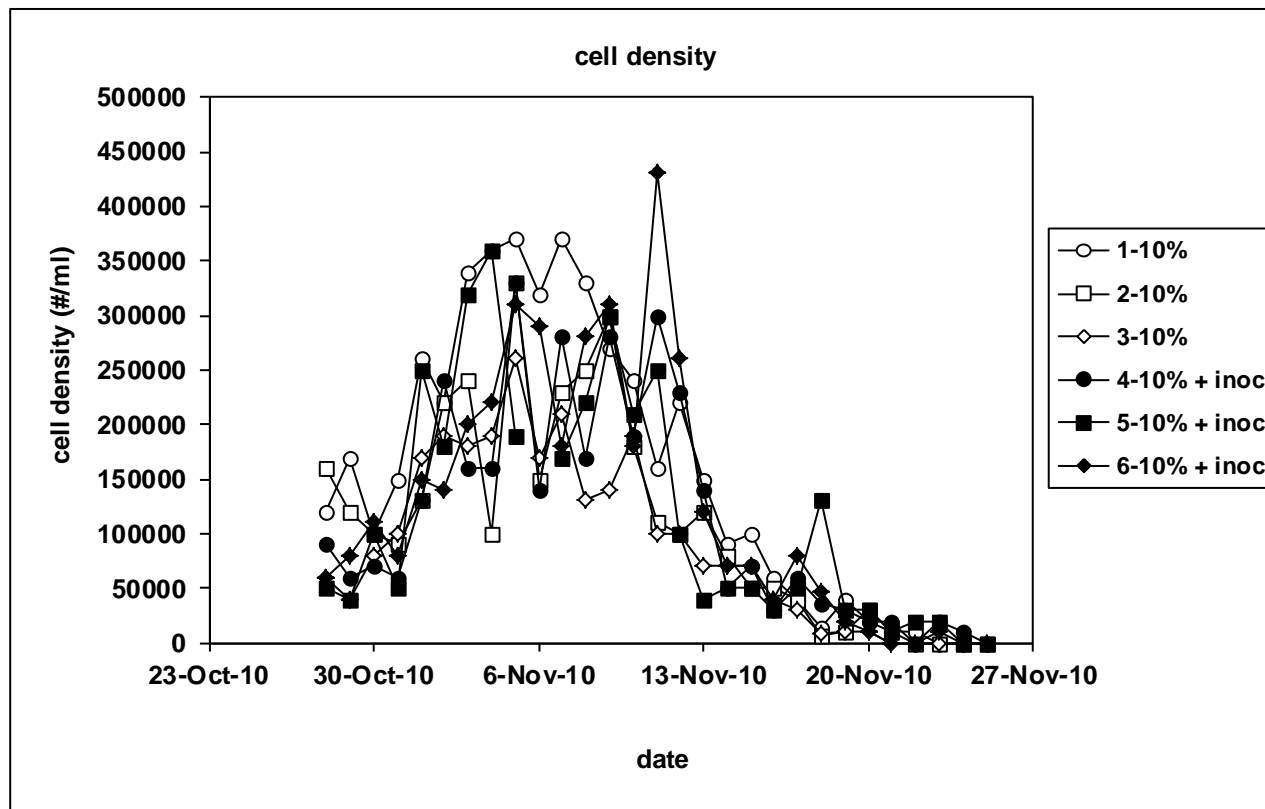


Fig. 16a. Experiment 5: Celconcentratie *Chaetoceros mulleri* (#/ml) bij een verversingspercentage van 10% per dag met en zonder wekelijks extra inoculum.

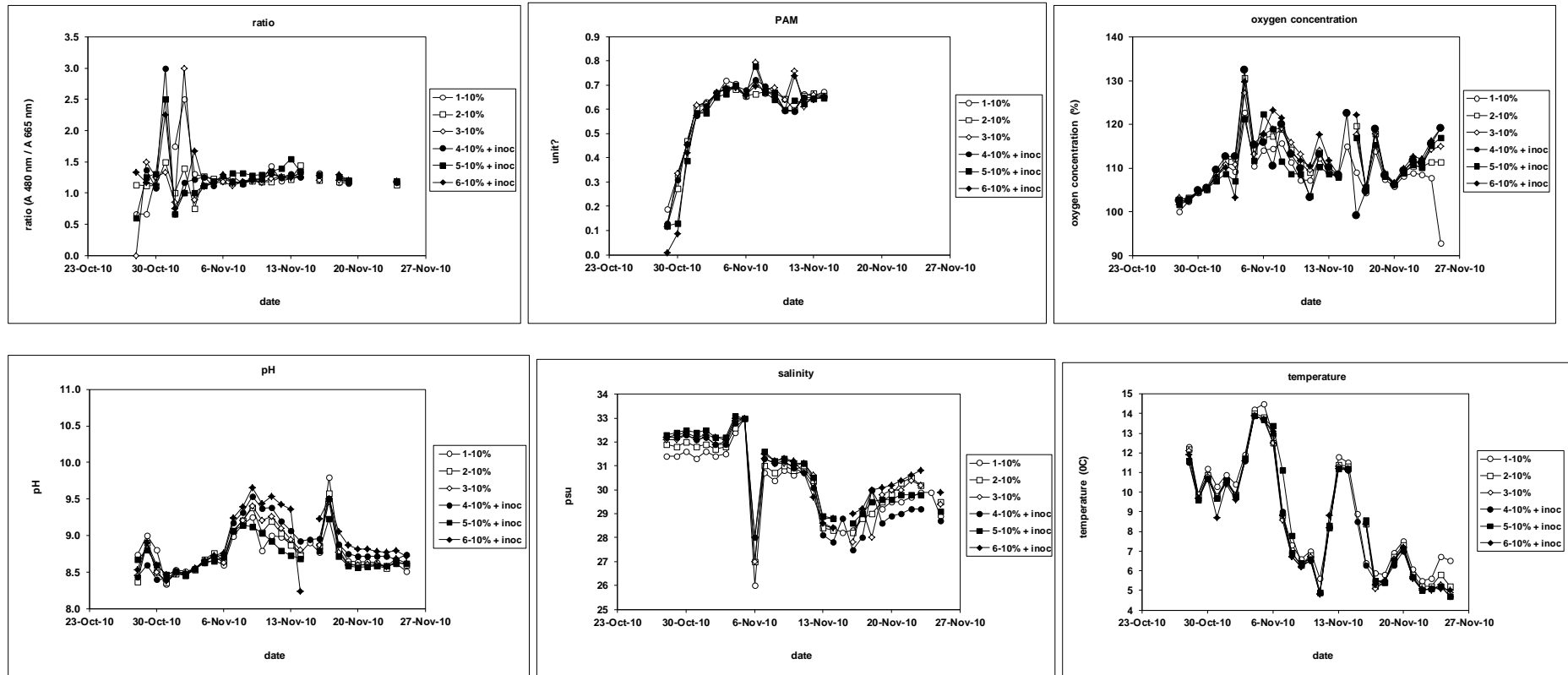


Fig. 16b. Experiment 5: Absorptie ratio (A480nm/A665nm), fotosynthese efficiëntie, zuurstofconcentratie (%), pH, zoutgehalte met een niet goed gekalibreerde meter (psu) en temperatuur (°C) van het water bij een verversingspercentage van 10% per dag met en zonder wekelijks extra inoculum.

Experiment 3

Batch cultures van *Chaetoceros muelleri* behaalde celdichtheden tot 2,8 miljoen cellen per ml in 6 dagen (Fig. 14a). De ratio A480nm/A665nm varieerde tussen 1.25 en 1.56 (Fig. 14b). Dit geeft aan dat de cultures geen limitatie ondervinden. Wel is te zien dat de ratio afneemt naarmate de cultuur dichter wordt. Dit betekent dat de cultuur richting lichtlimitatie gaat. Kritische waarden worden echter niet bereikt.

De test met twee verschillende doorstroomsnelheden (10% en 40% verversing per dag) toonde een snelle afname in celdichtheid in beide behandelingen (Fig. 14a). Na 6-12 dagen was *Chaetoceros* verdwenen en werd de cultuur gedomineerd door benthische diatomeeën zoals *Nitzschia* en *Navicula*. Waarschijnlijk is de cultuur te laat op doorstroom gezet. De ratio A480nm/A665nm varieerde meer dan in de batch cultuur fase en toonde opnieuw een afname (Fig. 14b). De hoge waarde aan het begin van de doorstroom fase duidt op nutriëntenlimitatie.

Experiment 4

De test met drie behandelingen (batch, 10% en 40%) liet in eerste instantie de hoogste celconcentraties zien bij 10% verversing per dag (Fig. 15a). Na 9-11 dagen werden deze cultures gedomineerd door *Nitzschia* en *Navicula*. De concentratie in de verversing met 40% per dag nam al na 4 dagen af. De batch cultuur is aan het begin van de kweek op 2 september en na 9 dagen op 11 september verdund. Dat wil zeggen dat 90% werd geoogst en 10% diende als de nieuwe ent. In de tweede periode was de toename in celdichtheid veel lager dan in de eerste periode. De celopbrengst van de continu cultuur was hoger dan die van de batch cultuur. Bij 10% verversing per dag wordt in 9 dagen 1620 liter met een celdichtheid van gemiddeld 2 miljoen cellen per ml geproduceerd. Van de batch cultuur wordt na 9 dagen 1620 liter geoogst met een celdichtheid van 1.5 miljoen cellen per ml. De ratio A480nm/A665nm gaf aan dat de culturen geen licht of nutrient limitatie ondervonden, behalve raceway nummer 3, die aan het eind nutriëntenlimitatie ondervond (Fig. 15b). De fotosynthese efficiëntie was zeer variabel, maar het hoogst bij de 40% verversing per dag, gevolgd door de batch cultures en het laagst bij de 10% verversing per dag (Fig. 15b).

Experiment 5

De tests met het wekelijks toevoegen van een extra 50 liter inoculum liet geen verschil tussen de behandelingen zien (Fig. 16a). Mogelijk was de hoeveelheid te weinig of de frequentie te laag. Maximaal behaalde celdichtheden lagen rond de 400.000 cellen per ml. De ratio A480nm/A665nm toonde in de batch cultuur fase grote schommelingen, maar gaf daarna aan dat er geen licht of nutrient limitatie aanwezig was (Fig. 16b). Aan het begin van de cultuur, in de batch fase, nam de fotosynthese efficiëntie snel toe nadat de algen vanuit 1 raceway waren verdeeld over 6 raceways (Fig. 16b). Tijdens de continu cultuur periode lag de fotosynthese efficiëntie rond de 0.7. Deze waarde geeft aan dat de cultuur goed functioneerde (J. Kromkamp NIOO, pers. comm).

Conclusies

De experimenten met algenteelt in de raceways geven nog geen betrouwbare continu cultuur van *Chaetoceros*. Er treedt steeds na ongeveer 14 dagen een overname door benthische diatomeeën op (*Navicula* en *Nitzschia*). Deze soorten vormen klonten en zijn dan ongeschikt als voedsel voor schelpdieren. De test met tussentijds extra be-enten van *Chaetoceros* was geen oplossing.

Referenties

- Kamermans, P., A. Blanco, N. Nevejan & P. Geijzen (2006) Operationaliseren Schelpdierhatchery/nursery bij de Roem van Yerseke. RIVO Rapport C021/06.
- Riegman & Rowe, (1994) NUTRITIONAL STATUS AND PIGMENT COMPOSITION OF PHYTOPLANKTON DURING SPRING AND SUMMER *PHAEOCYSTIS* BLOOMS IN DUTCH COASTAL WATERS (MARSDIEP AREA) Netherlands Journal of Sea Research 32 (1): 13-21

2.3. Experimenten in mesocosms en meten respons schelpdieren in de schelpdierpilots: vijverteelt van schelpdieren

Aad Smaal, Emiel Brummelhuis & Pauline Kamermans

Voedselopname en groei van *Tapes*

Voedselopname, vertering en groei van tapijtschelpen van zeeland aquacultuur zijn bepaald met een dieet van algen uit de raceways in 2 concentraties en vergeleken met natuurlijk zeewater.

Uit exp 1 bleek dat de voedselopname van deze tapijtschelpen van ca 15 mm varieerde van 0.18 - 0.36 mg per uur op basis van een clearance rate van 0.121 L/uur. Een lagere voedselopname (met ruw zeewater) werd deels gecompenseerd met een hogere verteringsefficiëntie. Niettemin was de groei bij een hogere voedseltoevoer groter dan bij minder voedsel. De berekende groei op basis van voedselopname (scope for growth) bleek de daadwerkelijke groei over 2 weken goed te voorspellen en deze bedroeg bij het hogere voedselnivo 15 mg asvrijdrooggewicht in 2 weken, hetgeen overeenkomt met een toename van 4 % van het lichaamsgewicht per dag. De FCR in deze metingen bedroeg 0.5. Dit maakt de tapijtschelp een aantrekkelijke soort voor gecontroleerde kweek.

Table 10. Scope for growth of Manila clams fed with different feeding levels (TWW=natgewicht op T=0, FDW = gedroogd gewicht zonder schelp, CR = clearance rate, POM, =voedselconcentratie, FR = filtratiesnelheid, ae = absorptie efficiëntie, AR = absorptiesnelheid, R = ademhaling, SFG = scope for growth = potentiële groei

	TWW (gr)	F.DW (mg)	CR (Lt.h ⁻¹ .ind ⁻¹)	POM (mg.L ⁻¹)	FR (mg.h ⁻¹)	ae (%)	AR (mg.h ⁻¹)	R (mg.h ⁻¹)	SFG (mg.h ⁻¹)
H	0.745	0.015	0.121	2.968	0.360	0.331	0.119	0.077	0.042
M	0.777	0.015	0.121	1.902	0.231	0.461	0.106	0.077	0.030
L	0.783	0.016	0.121	1.539	0.187	0.610	0.114	0.077	0.037

Table 11. Growth comparison based on SFG estimation and scope for growth,

	SFG (mg AFDW.h ⁻¹)	G (mg AFDW.h ⁻¹)
High	0.042±0.007 ^a	0.045±0.012 ^a
Medium	0.030±0.007 ^a	0.033±0.003 ^a
Low	0.037±0.010 ^a	0.039±0.004 ^a

Groei van kokkels, mosselen en tapijtschelpen

Vanaf 16 juli tot en met 16 februari is een experiment uitgevoerd waarbij hatchery kokkels en tapijtschelpen van de Roem van Yerseke en drie grootte klassen MZI zaad is gekweekt met algen die zijn geproduceerd in de raceways. Per grootte klasse (5-10, 10-15 en 15-20 mm) werd het MZI zaad in een netje geplaatst. De schelpdieren waren geplaatst in twee containers die als replica's dienden. Tabel 12 geeft een overzicht van de gevoerde algen gedurende het experiment.

Tabel 12. Overzicht van de gevoerde algen gedurende het experiment.

Periode 2010/2011	Algen soort
14 tot 21 juli	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> gedurende de eerste 2 dagen, daarna <i>Nitzchia longissima</i>
22 tot 28 juli	<i>Phaeodactylum tricornutum</i> gedurende 1 dag. Daarna <i>Chaetoceros muelleri</i> , maar twee dagen later <i>Nitzchia longissima</i>
29 juli tot 9 augustus	<i>Chaetoceros muelleri</i> gedurende de eerste 4 dagen, daarna voornamelijk <i>Nitzchia longissima</i> en <i>Navicula sp.</i>
9 augustus tot 2 september	<i>ongefiltreerd water uit de verwaterleiding</i>
3 september tot 16 september	<i>Chaetoceros muelleri</i> gedurende de eerste 10 dagen, daarna voornamelijk <i>Nitzchia longissima</i> en <i>Navicula sp.</i>
17 september tot 5 november	<i>ongefiltreerd water uit de verwaterleiding</i>
6 november tot 25 november	<i>Chaetoceros muelleri</i> gedurende de eerste 6 dagen, daarna voornamelijk <i>Nitzchia longissima</i> en <i>Navicula sp.</i>
26 november tot 16 februari	<i>ongefiltreerd water uit de verwaterleiding</i>

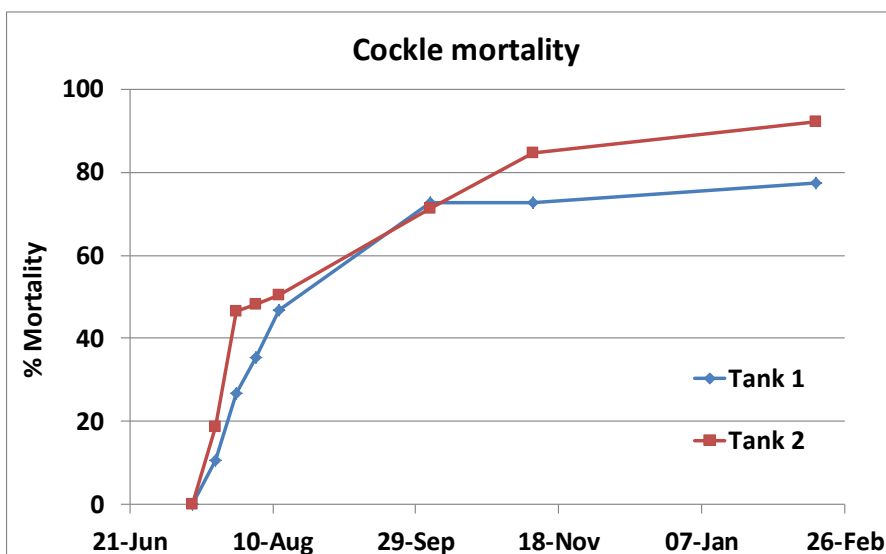
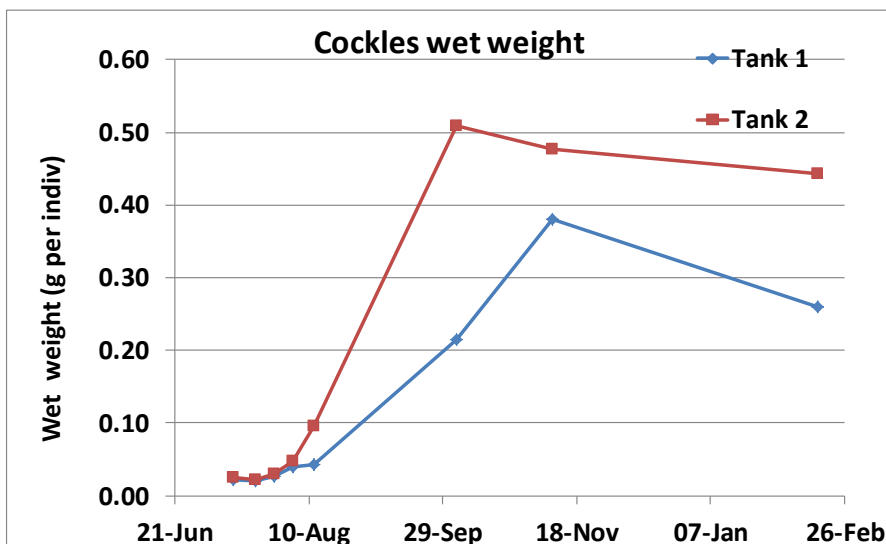
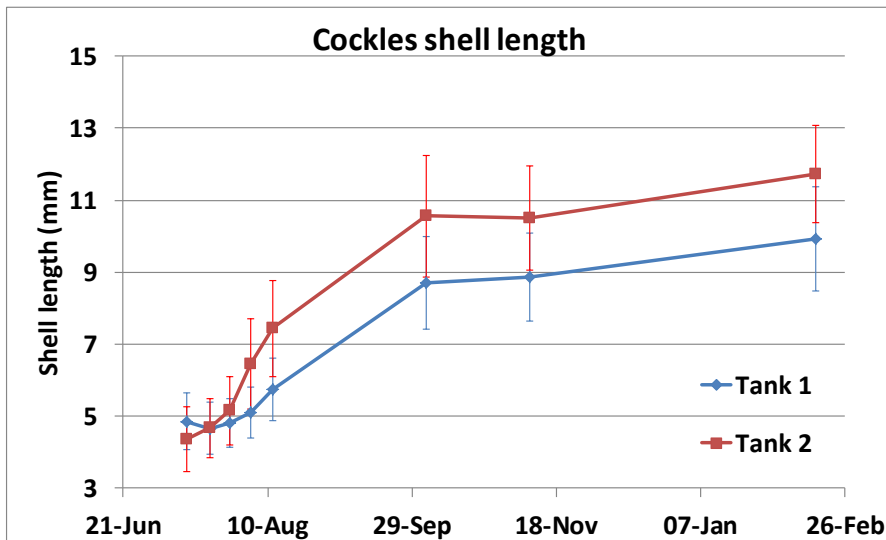


Figure 17. Ontwikkeling schelpengte, versgewichten aantallen kokkels in twee containers.

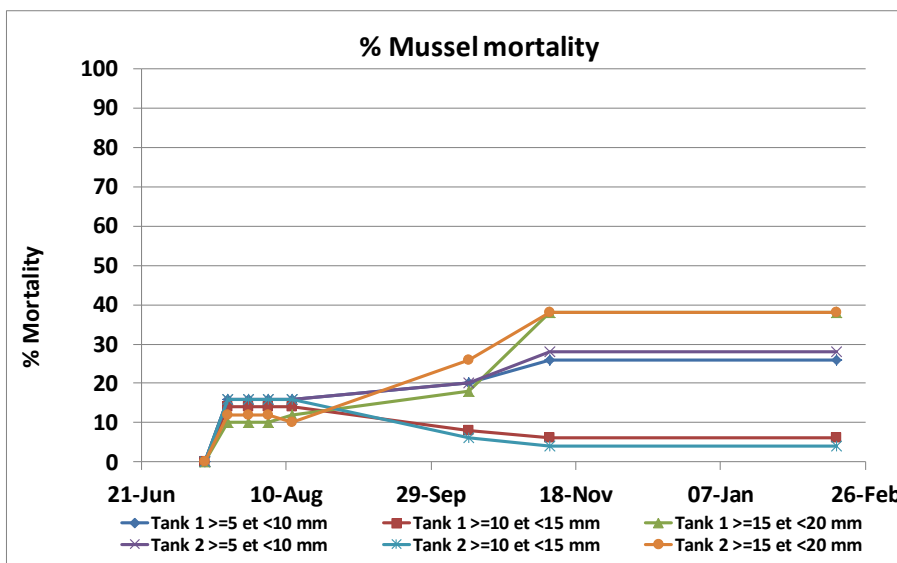
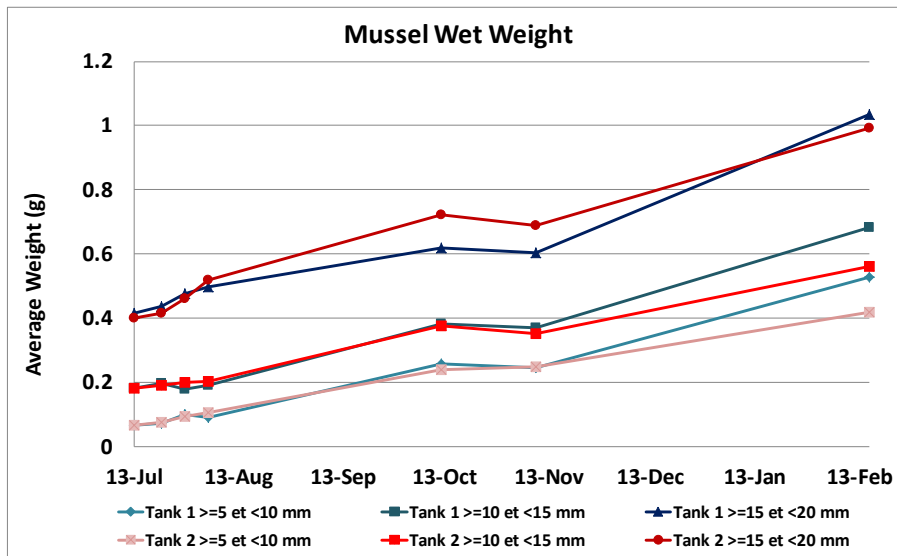
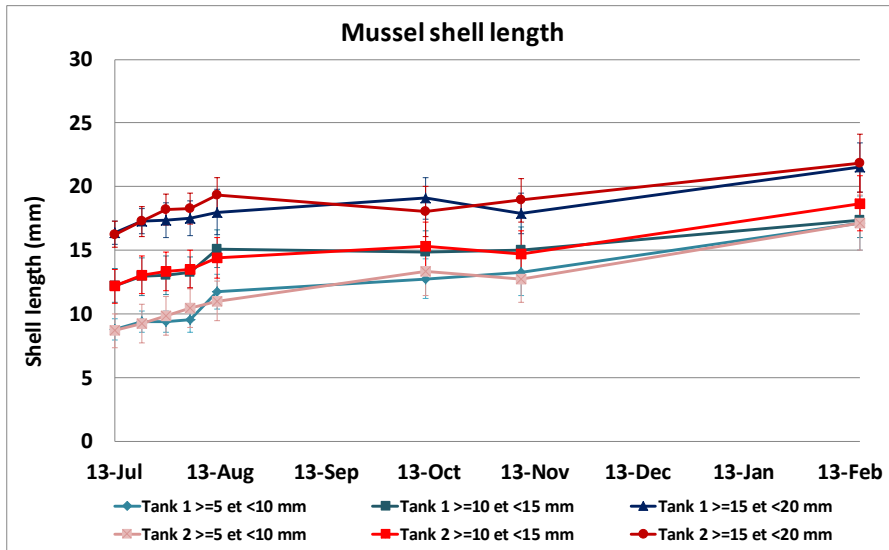


Fig. 18. Ontwikkeling schelpenlengte en versgewicht van drie grootte klassen van mosselen in twee containers. De afname in sterfte kan te maken hebben met migratie van mosselen.

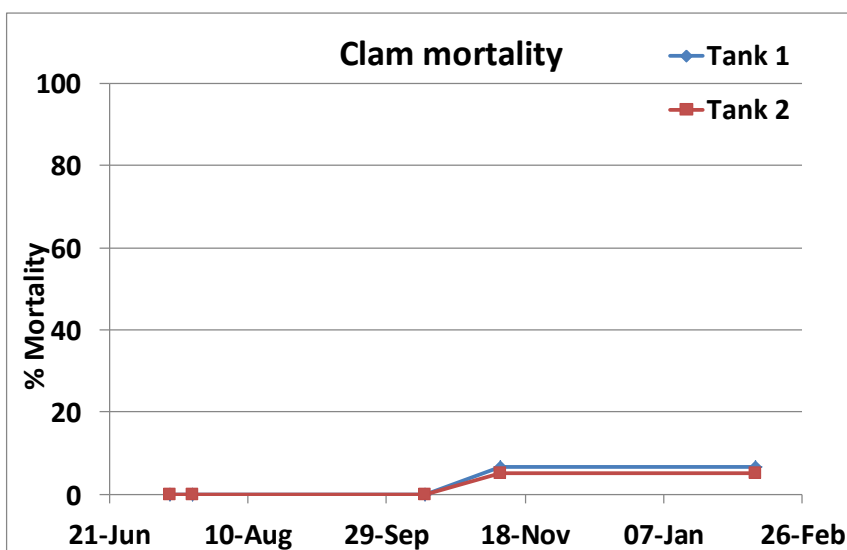
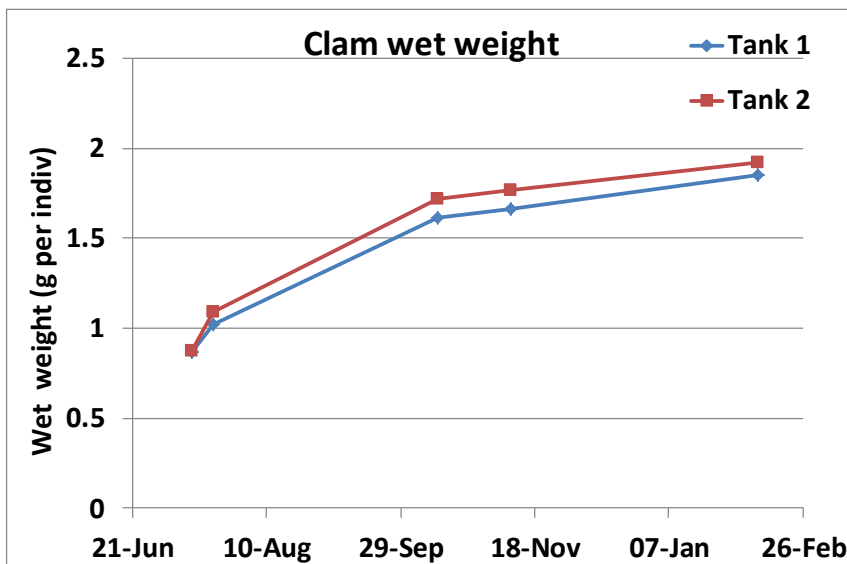
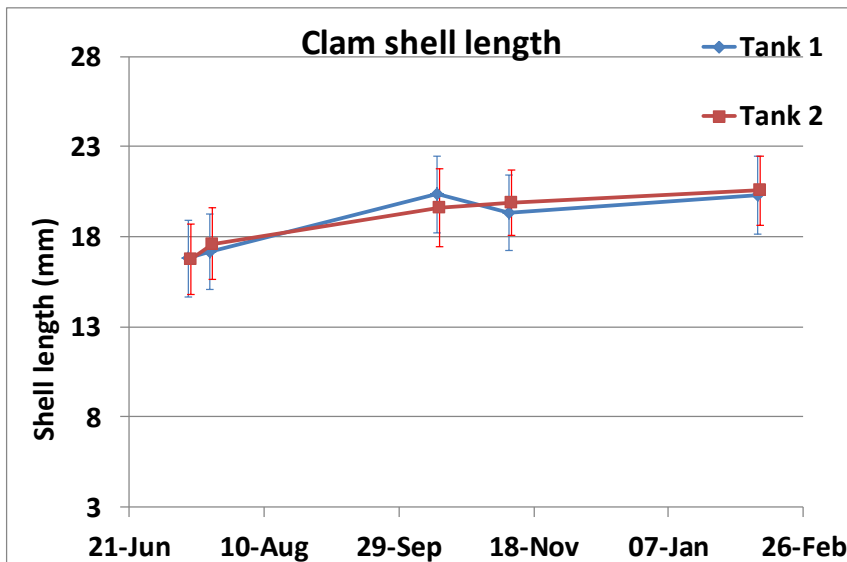


Figure 19. Ontwikkeling schelpenlengte, versgewichten en aantallen tapijtschelpen in twee containers.

Alle schelpdieren vertoonden een toename in schelpenlengte en versgewicht (Fig. 17-19). De kokkels die het snelst groeiden lieten ook eerder een maximum gewicht zien (Fig. 17). De sterfte was het hoogst bij de kokkels (tot 92%) en het laagst bij de tapijtschelpen (maximaal 7%). Een afname in het cumulatieve sterfte percentage bij de mosselen kan veroorzaakt zijn door migratie van de mosselen van het ene netje naar het andere.

De groei was laag in vergelijking met eerder onderzoek. Mosselen met een beginlengte van 7 mm groeiden 2 mm in 20 dagen (Hiele, 2007). Mosselen met een beginlengte van 9 mm groeiden 2 mm in 15 dagen (Peene, 2006). En kokkels met een beginlengte van 5 mm groeiden 1.7 mm en 0.05 g in 20 dagen (Hemsing, 2009). Het achterblijven van de groei kan worden verklaard door het voedselaanbod. Er waren periodes dat de raceways geen algen produceerden en de schelpdieren uitsluitend ongefiltreerd zeewater kregen. Daarnaast werd de algenteelt regelmatig overgenomen door benthische diatomeeën (*Navicula* en *Nitzschia*). Deze soorten vormen klonten. Uit de respons van de schelpdieren blijkt dat de algen dan ongeschikt zijn als voedsel voor deze schelpdieren.

Dankwoord

Graag bedanken wij de studenten Mohammed Amin en Aurore Fillatre voor hun bijdragen aan het onderzoek.

Referenties

- Hemsing, V. 2008. Optimal algal diet for on-land juvenile cockle (*Cerastoderma edule* (L.)) growth. Intern IMARES rapport 08.017.
- Hiele, T.v., 2007. Optimaal en efficiënt voeren van mosselbroed in een nursery. Intern IMARES rapport 07.009.
- Peene, F. 2008. Optimalisatie van een nursery systeem voor de kweek van mosselbroed en een algenkweek systeem t.b.v. deze nursery. Intern IMARES rapport nr. 06.008.

Resultaten pilots: KMWP

Samenstelling en ontwikkeling fyto- en zooplankton

2009

In het 2^e kwartaal zijn de fyto- en zoöplanktondata van de bemonstering van de KMWP vijver in 2009 verder uitgewerkt. De bemonstering is uitgevoerd door Zeeschelp en de analyse door Aquasense/Grontmij. De monsters zijn genomen uit de vijver, vanaf een steiger. Er is vanaf eind juni wekelijks gemonsterd.

De fytoplankton samenstelling is gedetermineerd tot familie of soortniveau. Er zijn 4 hoofdgroepen onderscheiden nl groenwieren, kiezelwieren (diatomeeen), dinoflagellaten en overige algen.(flagellaten).

Tabel 13. Dominante soorten fytoplankton in 2009

Groenwieren	Prasinophyceae
Kiezelwieren	Centrales
	Pennales
	Skeletonema
	Skeletonema costatum
Overige algen	Chrysochromulina
	Chrysomonadales
	Corymbellus
	Cryptophyceae
	Euglenophyceae
	Leucocryptos
	ondetermineerbare alg
	Paulinella
	Protomonadales
	Pseudopedinella
Dinoflagellaten	Cochlodinium
	Gymnodiniales
	Heterocapsa minima
	Heterocapsa rotundata
	Peridinales
	Prorocentrum minimum

De aantallen per groep of soort zijn weergegeven in bijgaande figuren in aantallen cellen per ml

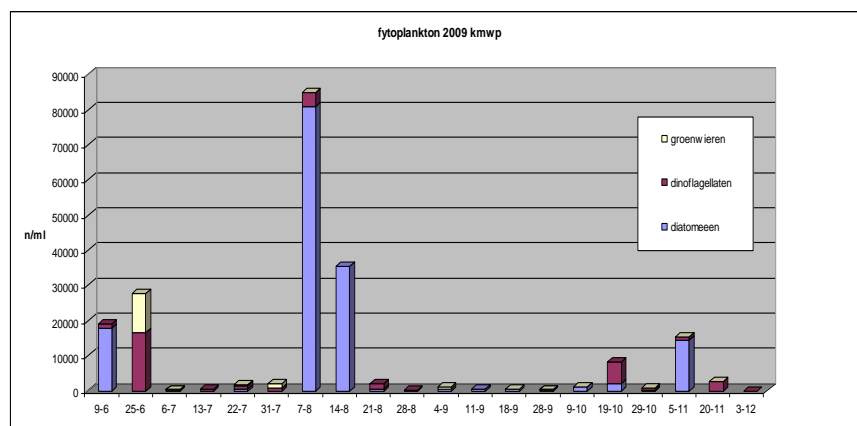


Fig 20. Concentratie groenwieren, diatomeeen en dinoflagellaten (cellen per ml) in vijver WP juni – dec 2009

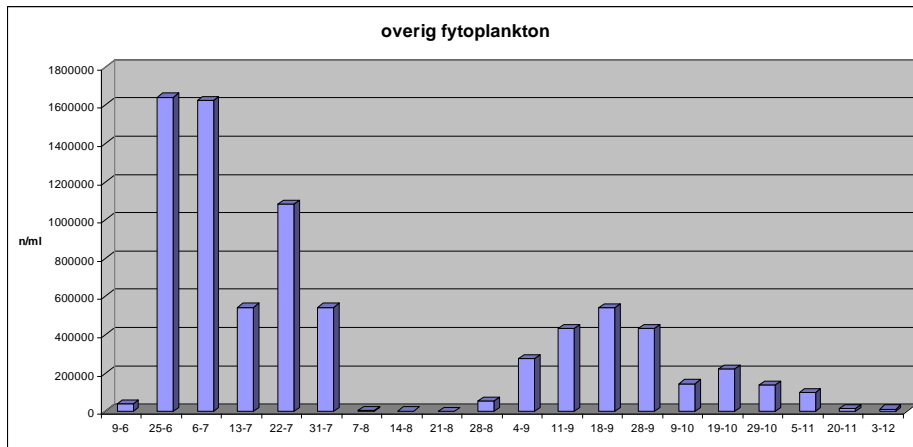


Fig 21. Concentratie overig fytoplankton (vnl picoplankton) in vijver WP juni – dec 2009

Uit de figuren blijkt dat de categorie “overig” de hoogste concentratie vertoont, tot 1.6 mln cellen per ml in juni, en dat deze bloei begin augustus verdwijnt en wordt overgenomen door diatomeeën, die vanaf eind augustus weer weg zijn. Dan komt de bloei van overige algen weer op gang. Deze categorie bestaat voor het overgrote deel uit kleine cellen, het picoplankton. In biomassa telt dit niet erg door. De diatomeeën hebben een piek van 0.8 mln cellen/ml.

De dominantie van picoplankton wijst op sterke begrazing door schelpdieren. Door Cranford et al, 2009 is voor een aantal baaien op Prince Edward Island (Canada) een relatie aangetoond tussen het %-age picoplankton en de graasdruk als gevolg van de mosselcultuur: hoe meer mosselen hoe meer picoplankton. Dit zou een gevolg zijn van het filteren van de grotere cellen door de schelpdieren waardoor de kleinere cellen een competitief voordeel hebben.

Het is echter de vraag of dit ook aan de orde is in de kmwp vijver. De graasdruk is daar gering t.o.v. het totale volume en kan niet dusdanig zijn dat alle grotere algen effectief worden afgefilterd. Uit bijgaande figuur blijkt dat zooplankton voorkomt in aantallen tot 200/l. Dit zijn hoge aantallen vergeleken met de Oosterschelde (Bakker et al, 1994), waardoor hier ook een aanzienlijke graasdruk vanuit kan gaan. Nadere analyse van deze data en de andere gegevens over nutriënten concentraties, chlorofylldata en mosselgroei en productie is nodig om hierop meer zicht te krijgen.

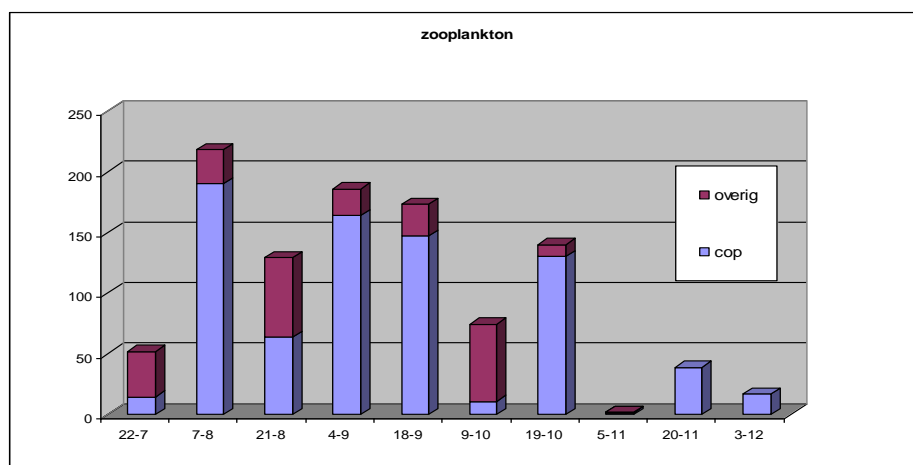


Fig 22. Concentratie zooplankton (aantallen/L) in vijver WP 2009

2010

In 2010 zijn de fyto- en zoöplankton bemonsteringen uitgevoerd door Zeeschelp en geanalyseerd door Grontmij. De monsters zijn genomen uit de vijver, vanaf een steiger. Er is eens in de 2 weken bemonsterd; de fytoplankton data zijn in februari 2011 beschikbaar gekomen, voor zooplankton is de uitwerking 1^e helft 2010 nog gaande.

De totale concentratie algen in 2010 is uitgezet in fig 23.1 op een log schaal. Daaruit blijkt dat de hoogste concentratie in juni optrad, met een celdichtheid van bijna 6 miljoen cellen per ml. Deze bloei bestond vnl uit groenwieren bestond (5.3 miljoen cel/ml). Er was in mei een bloei van *Skeletonema costatum* met 0.5 miljoen cel/ml. De overige soorten vertoonden een vergelijkbaar verloop met een latere piek in juli en een maximale dichtheid van 0.9 miljoen cel/ml (fig 23.2), vooral bestaande uit de cryptophyceae *Hemiselmis*.

De bloei is een respons op extra bemesting die eind mei is toegediend en die heeft geleid tot veel hogere concentraties dan in 2009 (6 vs 1.6 miljoen). Ook de zooplanktonconcentratie is hoger in 2010 dan in 2009 (Tabel 14) (zie verder verslag WP pilot)

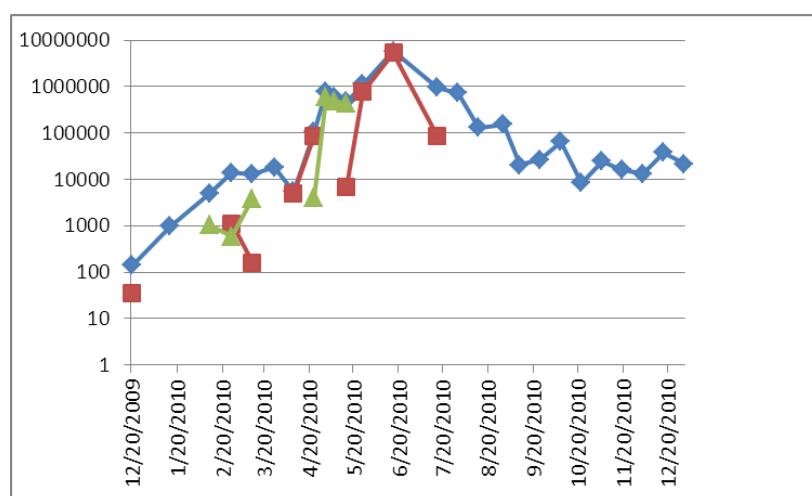


Fig 23.1. Concentraties algen (n/ml) in de WP vijver in 2010: blauw = totaal, rood = groenwieren, groen = *Skeletonema costatum*.

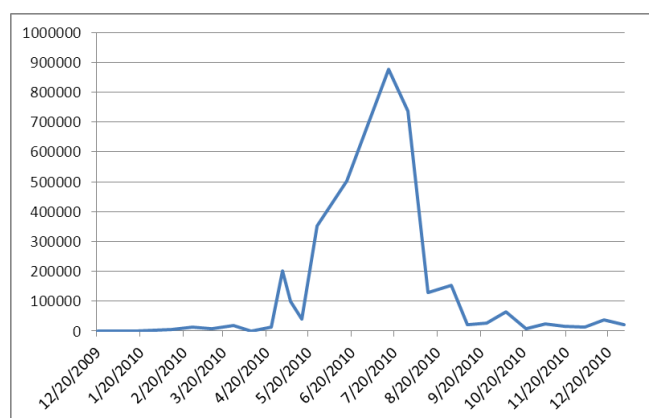


Fig 23.2 Concentratie overige algensoorten 2010

Tabel 14 Soortensamenstelling fyto- en zooplankton 2010

fytoplankton 2010		zooplankton 2010	
soort/groepsnaam	n/ml	groep	n/l
Chlorophyta	7566865	Asplanchna	825
Hemiselmis	1533039	Bivalvia	681
Skeletonema costatum [1]	1517734	Brachionus	577
Biota	1095698	Calanoida	385
Plagioselmis nannoplanctica	222675	Ciliophora	340
Thalassiosirales	112579	Copepoda	201
Cryptomonadales	85882	Diatomidae	130
Skeletonema	84141	Harpacticoida	108
Pyramimonas	78445	Heliozoa	62
Khakista	58795	Lohmaniella	59
Nitzschia	51192	Oligotrichia	49
Cryptomonas	25731	Peritrichia	12
Heterocapsa rotundata	24179	Rotifera	6
Pseudopedinella	22613	Spionida	5
Plantae	20998	Synchaeta	5
Cryptophyceae	14252		
Chlamydomonadaceae	7007		
Woloszynskia	3724		
Oscillatoria	2222		
Chrysochromulina	1287		
Chaetoceros	1201		
Elakatothrix genevensis	1067		
Bacillariophyceae	462		
Ceratoneis closterium	454		
Heterocapsa	361		
Peridinales	320		
Stephanodiscus binderanus	320		
Oscillatoriales	156		
Gymnodiniaceae	99		
Amphora	53		
Euglenophyceae	36		
Cymbella [1]	18		
Fragilariaceae	18		
Navicula gregaria	18		

Voedselopname mosselen in WP pilot

Op 14 oktober 2010 is mbv de testkit een serie metingen uitgevoerd van de voedselopname en vertering van mosselen uit de pilot. Zie voor de methode het verslag van 2009.

Voedselopname is vergeleken met standaard mosselen. Uit tabel 15 blijkt dat de WP mosselen een hogere clearance rate vertoonden dan de standaard mosselen; dit wijst erop dat de standaard mosselen niet waren aangepast aan het vijverdieet en de WP mosselen wel.

Tabel 15 Clearance rate in l/g adw/uur van standaard en pilot mosselen in 2 series. Met serie 2 is verder gerekend vanwege de geringe spreiding.

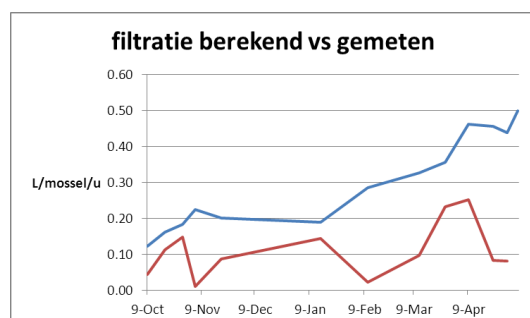
l/u/g ADW	standaard		wp		n
	gem	sd	gem	sd	
serie 1	1.58	0.45	3.41	0.78	5
serie 2	1.75	0.31	2.27	0.19	5

Mbv deze gegevens is een voedselbalans berekend en vergeleken met gemeten groei zoals bepaald door st. Zeeschelp over de periode juni – oktober 2010. Uit tabel 16 blijkt dat de berekende groei op basis van de meting in oktober duidelijk hoger is (specifieke groeisnelheid 3.6 %/d) dan de gemeten groei (1 % per dag) over de periode juni – oktober. De waargenomen groei is aan de lage kant, gegeven de waarde van 1 % van het gewicht per dag. De berekende waarde van 3.6 % per dag komt met literatuurwaarden overeen.

Tabel 16. Scope for growth en gemeten groei mosselen WP 2010

testkit WP 2010	
Body weigth g AFDW	0.98
voedsel mg POM/l	2.7
CR (l/g/uur)	2.2
Filtratie (mg/g/uur)	5.7
Absorptie eff (fractie)	0.5
Respiratie (mg droge stof/uur)	1.4
Scope for Growth (mg/uur)	1.46
SFG per dag	35
% van W / d	3.6
gemeten groei mg/dag	5.8
% van W/d	1

Het verschil tussen waargenomen en gemeten groei is verder geanalyseerd door de influx van van organisch materiaal van vijver naar put per mossel te vergelijken met de potentiële voedselopname op basis van de gemeten filtratiesnelheid. Uit fig 24 blijkt dat de potentiële voedselopname (blauw) duidelijk hoger was dan de gemeten opname (rood).

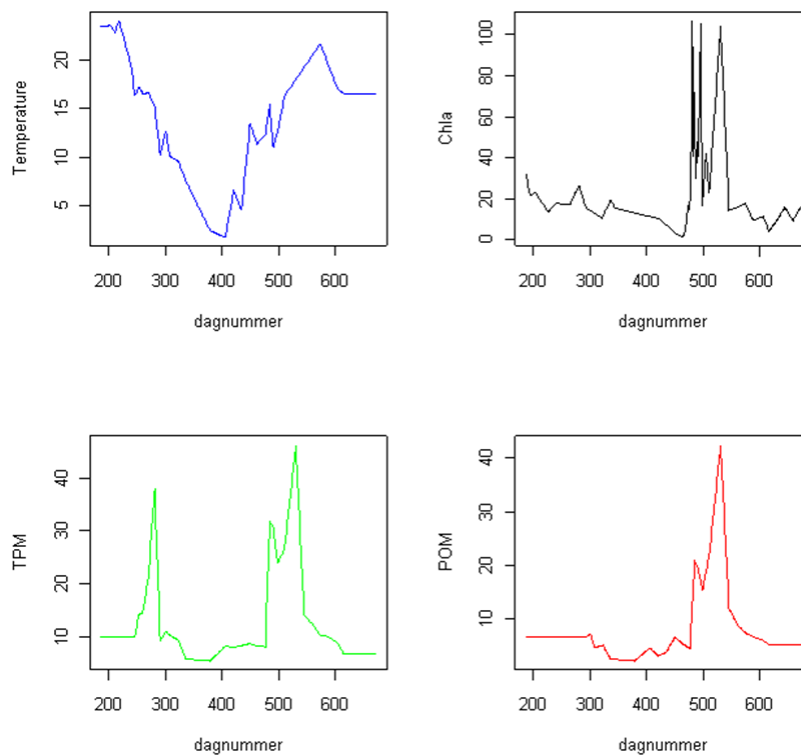


Figuur 24. Clearance rate op basis van potentiële voedselopname per mossel in de put vergeleken met clearance rate op basis van de influx van POM naar de put, voor de periode oct 2009 – mei 2010 (van de latere data is zijn POM gegevens van put outflow beschikbaar).

Deze gegevens zouden erop kunnen duiden dat de voedselopname door de mosselen in de put hoger zou kunnen zijn dan daadwerkelijk optreedt, omdat een deel van het water de put weer verlaat zonder met de mosselen in contact te zijn geweest.

Modelberekening WP pilot

Met behulp van een dynamic energy budget (DEB) model, dat is gebaseerd op enkele algemeen geldende principes en kan worden gebruikt met enkele standaard parameters, is berekend welke schelpdiergroei mogelijk is wanneer wordt uitgegaan van gemeten waarden van het voedselaanbod en de watertemperatuur. In fig 25.1 zijn voedsel en temp weergegeven voor de periode zomer 2009 – eind 2010. De piek in chlorofyl , POM en TPM (=zwevend stof) concentratie als gevolg van de bemestingsproef in mei 2010 is duidelijk te zien. In fig 25.2 is te zien dat dit volgens het model - dat nu nog is gebaseerd op de kokkel - , een groei berekend tot 3 cm en 3 gram natvleesgewicht in 400 dagen. Dit betekent een stukstal van 330 per kg, dit is een marktwaardige maat.



Figuur 25.1 Temperatuur en voedselconcentratie in WP vijver.

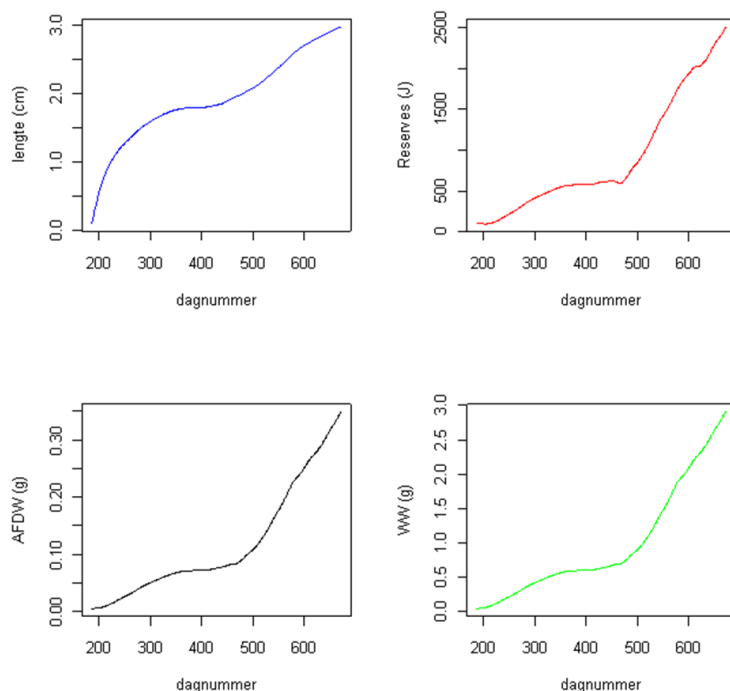


Fig 25.2 Simulatie van kokkelgroei mbv DEB model op basis van voedselaanbod uit fig 25.1

Discussie en conclusies WP pilot

In dit verslag is alleen ingegaan op beschikbare gegevens over fytoplankton, voedselopname en op modelberekeningen. Daaruit blijkt dat de bemestingsproef tot hoge concentraties algen heeft geleid. Het pilot verslag (in prep) laat zien dat na de hoge voedselpieken sterfte is opgetreden van de mosselen tgv zuurstofgebrek, mogelijk in combinatie met de Hemiselmis piek. Dit wijst op hypertrofiering en zou vermeden moeten worden.

Uit de voedselopname metingen blijkt dat er meer potentieel is voor groei dan benut. Betere menging in de putten zou dit kunnen verbeteren.

De modelsimulatie laat zien dat groei tot marktwaardig product met de gegeven voedselhoeveelheden mogelijk is in 400 dagen. Hierbij is geen rekening gehouden met de opgetreden hypertrofiering.

Uit een voorlopige analyse komt naar voren dat de capaciteit van een vijver van 4500 m³ ca 1250 kg (volwassen) mosselen bedraagt, indien de filtratiedruk niet meer dan 33 % per dag mag bedragen. Dit zou verder uitgewerkt moeten worden. Voor nadere analyse van de massabalansen en de vertaling naar een commercieel verantwoorde schaal en opzet is een consistent monitoringprogramma nodig en een goede database.