

**TECHNISCHE HAALBAARHEIDSSSTUDIE VOOR EEN TARBOTKWEKERIJ AAN
DE BELGISCHE KUST**

K. DIERCKENS¹, D. DELBARE², R. DECLERCK² & P. SORGELOOS¹

- 1: LABORATORIUM VOOR AQUACULTUUR & ARTEMIA REFERENCE
CENTER, UNIVERSITEIT GENT
ROZIER 44, 9000 GENT
- 2: DEPARTEMENT VOOR ZEEVISSERIJ, OOSTENDE
ANKERSTRAAT 1, 8400 OOSTENDE

Abstract:

In deze studie werd nagegaan als een tarbotkwekerij aan de Belgische kust een haalbare kaart is. Daar de eisen van tarbotlarven voor de waterkwaliteit hoog liggen, werd voornamelijk aandacht besteed aan de waterkwaliteit en het verbeteren daarvan.

Uit de gegevens blijkt dat de waterkwaliteit aan onze kust te laag ligt om een rendabel systeem te ontwikkelen. Er zou dus moeten gewerkt worden in een gesloten recirculatiesysteem, waarbij de biofilters voldoende groot gedimensioneerd zijn om de metabolieten, geproduceerd in de kweektanks, op een voldoende laag peil te houden. Daarnaast heeft een dergelijk systeem ook het voordeel dat de stookkosten die de groei bevorderen tot en minimum kunnen worden herleid.

Naast de voordelen van een microbiële controle, zien we hier opnieuw dat er zal moeten overgeschakeld worden op recirculatie systemen, willen we spreken van een duurzame aquacultuur.

Doelstelling:

Nagaan als er aan de Belgische kust een mogelijkheid bestaat om een tarbot hatchery en nursery te vestigen die commercieel rendabel is.

Inleiding:

De waterkwaliteit is een zeer belangrijke factor voor het bepalen van een site voor een viskwekerij. Daarom is naast de theoretische berekeningen en overwegingen is groot deel van de tijd aan dit onderwerp besteed. Er werd geopteerd voor een doorstroom kweekstelsel daar er meest informatie over dergelijke systemen verkrijgbaar is. Daar de verschillende stadia die het water doorloopt vanaf inname to lozing, elk een andere waaier bieden aan keuzemogelijkheden met betrekking tot de behandelingen die doorgevoerd kunnen worden, zal hier voor elk van die stadia een mogelijkheid van waterbehandeling beschreven worden. Het spreekt vanzelf dat de kwaliteit van het ingenomen water in belangrijke mate zal bepalen hoe rigoureuze de benodigde behandelingen moeten zijn en, daarmee onafscheidelijk verbonden, hoe hoog de kosten zullen zijn.

Werkingsparameters en berekeningen

1. Produktiviteit

De belangrijkste factor in de planning van een commerciële tarbotkweek is de beoogde produktie. Deze produktie kan uitgedrukt worden in termen van produktiviteit (eenheid $\text{kg} \cdot \text{M}^{-2} \cdot \text{jaar}^{-1}$), het produkt van de groeisnelheid en de gemiddelde kweekdichtheid.

1.1. De specifieke groeisnelheid (Specific Growth Rate, SGR)

Kamstra et al. (1992) berekende de regressie tussen de specifieke groeisnelheid (SGR, $\% \cdot \text{dag}^{-1}$) en het gewicht (g) van tarbot, uitgaande van een database opgesteld door Danielssen & Hjertness (1991), die de groei van tarbot bestudeerden in een breed gewichtsinterval. Uitgaande van deze regressie werd een formule voor de specifieke groeisnelheid opgesteld (met W het gewicht in g)

$$\text{SGR} = 13,09 \cdot W^{-0,525}$$

Met behulp van de SGR kan door iteratie een theoretische groei opgesteld worden. In tabel I wordt enkel een deel van het gebruikte rekenblad afgebeeld : een maand wordt als dertig dagen ondersteld en enkel de gewichten na maand 1 tot en met 30 worden weergegeven.

In de praktijk zal elke vis een andere groeikurve vertonen : er zullen snellere en tragere groeiers zijn. Er wordt hier echter verondersteld dat een evenwichtssituatie ontstaat tussen de verschillende groeisnelheden, met andere woorden, er wordt verondersteld dat de verschillen in groeisnelheden van de verschillende individuele vissen uitmiddelen en dat op deze manier de verschillen tussen de tragere en snellere groeiers de totale produktie niet zullen beïnvloeden.

Tabel I: Gewicht W (g) van de tarbot na elke maand (T), tot 30 maanden

T (maand)	W (g)	T (maand)	W (g)	T (maand)	W (g)	T (maand)	W (g)	T (maand)	W (g)
1	16	7	212	13	610	19	1199	25	1974
2	34	8	264	14	695	20	1315	26	2120
3	58	9	322	15	785	21	1437	27	2272
4	87	10	386	16	881	22	1563	28	2429
5	123	11	455	17	982	23	1695	29	2590
6	165	12	530	18	1088	24	1832	30	2757

1.2. Kweekdensiteit

Uit praktijk is gebleken dat een verband bestaat tussen het lichaamsgewicht van de tarbot en de dichtheid waarbij hij gestockeerd mag worden (tabel II).

TABEL II : Maximum toegelaten kweekdensiteiten (kg.m ⁻²) volgens Kamstra et al. (1992), berekend uit literatuur, en volgens Cachelou (1992), gebruikt in de praktijk.			
Kamstra (1992)		Cachelou (1992)	
Gewicht (g)	Max. dichtheid (kg.m ⁻²)	Gewicht (g)	Max. dichtheid (kg.m ⁻²)
5-10	5	5-50	10
10-40	10	50-200	20
40-100	20	200-500	25
100-300	30	500-800	30
0-600	40	800-1500	40
600-1000	50	> 1500	50
> 1000	60		

Omdat de waarden van Cachelou (1992) gebruikt worden in de praktijk, zullen ze ook gebruikt worden voor de hier uitgevoerde berekeningen.

Het hele proces van vetmesting wordt onderverdeeld in periodes van drie maanden, om de drie maanden wordt de inhoud van elke productie-eenheid overgebracht naar de volgende, wordt productie-eenheid 1 voorzien van 18631 aangekochte larven van 5 g en wordt de inhoud van productie-eenheid 9 verkocht (ongeveer 36 ton tarbot). De eerste 27 maanden na opstarten heeft men dus geen opbrengsten uit verkoop.

De leeftijd staat voor de tijd dat de larven zich in de betreffende productie-eenheid bevinden : beschouwt men bijvoorbeeld productie-eenheid 1, dan bedraagt de tijd dat de larven zich in deze productie-eenheid bevinden 90 dagen (van dag 1, maand 1 tot dag 30, maand 3). De termen 'begin' en 'eind' moeten ook in deze kontekst gezien worden : 'begin' staat voor dag 1, maand 1, terwijl 'einde' staat voor dag 30, maand 3.

De mortaliteitsgegevens worden overgenomen van Kamstra et al. (1992), terwijl de berekening van de benodigde oppervlakte gebeurde aan de hand van de gegevens van Cachelou (1992), zoals getoond in tabel II.

De steeds toenemende benodigde oppervlakte kan als volgt verklaard worden : na 3 maanden verblijf van de larven in produktie-eenheid 1, is hun individuele biomassa toegenomen van 5 tot 58 g. Men bekomt dus hier een (eind)stock van 962 kg en dit in een oppervlak van 96 m². De (eind)densiteit bedraagt dus 10 kg.m⁻² en de dieren wegen 58 g. Uit tabel II blijkt nu dat eens een gewicht van 50 g bereikt is, de larven moeten uitgedund worden tot een densiteit van 20 kg.m⁻². Vandaar de noodzaak tot overbrenging van de larven uit produktie-eenheid 1 naar produktie-eenheid 2 (grotere oppervlakte, dus dalende densiteit bij eenzelfde aantal larven).

2. Waterkwaliteit

TABEL III : Eisen gesteld aan de waterkwaliteit voor de vetmesting van tarbot. Een "?" betekent onzekerheid.

Parameter	Optimum	Grenzen	Bron
Temperatuur (°C)	14-18	< 24	1,2,3
pH	7,0-7,2	6,0-9,0	9
Saliniteit (g.kg ⁻¹)	25-30	22 ?	4
Zuurstof (gO ₂ . m ⁻¹)	6-8	> 5	9
Koolstofdioxide (gCO ₂ .m ⁻³)	-	< 25 ?	5,1
NH ₃ -N (g.m ⁻³)	-	< 0,1	6,7
NO ₂ ⁻ -N (g.m ⁻³)	-	?	9
NO ₃ ⁻ -N (g.m ⁻³)	-	100	8
Zwevende stoffen	-	25 ?	9

1 : Jones et al. (1980); 2 : Scherrer & Person-Le Ruyet (1983); 3 : Kamstra & Nijhof (1991); 4 : Scherrer (1984); 5 : Smart et al. (1979); 6 : Alderson (1979); 7 : Wickins (1980); 8 : Poxton et al. (1981); 9 : Kamstra et al. (1992).

Voor de berekening van de benodigde debieten om deze grenzen te handhaven, dienen ook de afvalproduktie en zuurstofkonsumptie per kg opgenomen voedsel gekend te zijn.

Parameter	Produktie (g.kg ⁻¹ .voedsel ⁻¹) ('-' = konsumptie)
Zuurstof	-1200
Koolstofdioxide	1320
Zwevende stoffen	150
NH ₄ ⁺ -N	72
NO ₃ ⁻ -N	72

Vooraleer over te gaan tot de berekeningen, dient opgemerkt te worden dat het influent verondersteld wordt te voldoen aan volgende eisen:

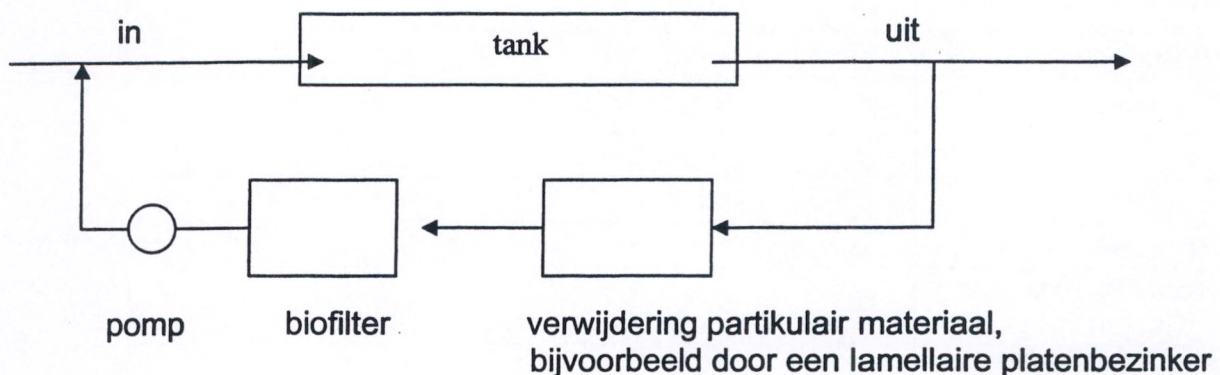
$T = 16^{\circ}\text{C}$

$\text{pH} = 7,1$

$S = 27,5 \text{ g/kg}$ (S = saliniteit)

3. Konfiguratie kweekstelsel

Op figuur 1 wordt een mogelijke configuratie tank – biofilter getoond. Stelt men bijvoorbeeld dat alle tanks op niveau 0 (gelijkvloers) opgesteld worden en de biofilters op niveau -1 (kelder), dan kan een deel van de uitstroom van de tanks gravitair naar de waterbehandeling stromen, terwijl het andere deel geloosd wordt. Na de eigenlijke rekonditionering wordt het water met behulp van een pomp terug naar de tank gevoerd.



Figuur 1: Opstelling van de kweektank en biofilter.

Omdat tanks van het raceway-type gebruikt worden, moet, om dichtslibbing van de biofilters te voorkomen, een verwijdering van partikulair materiaal doorgevoerd worden voor het water de biofilter binnenstroomt. Dit kan op verschillende manieren gebeuren, hier wordt als voorbeeld een lamellaire platenbezinker genomen. Er zijn ook zandfilters beschikbaar die onder druk werken en terzelfdertijd functioneren als biofilter.

4. Waterbehandeling

Verwijdering van partikulair materiaal:

De verwijdering van partikulair materiaal wordt bekomen door het filteren van het zeewater. De diameter van de kleinste deeltjes die dienen verwijderd te worden bepalen de diameter van de filteropeningen. De verwijdering van partikels moet in hoofdzaak gebeuren op 2 punten in het systeem: aan de pompen waar de waterinname gebeurt en voor de biofilters om het dichtslibben ervan te vermijden. Huguenin en Colt (1989) geven een overzicht van welk type filter het best kan

gebruikt worden bij een zeker debiet om partikels met een bepaalde diameter te verwijderen.

De noodzaak tot filtering aan het innamepunt is tweërlei: in de eerste plaats om beschadiging van de pompen te voorkomen en in de tweede plaats om te verhinderen dat ongewenste organismen in het systeem geraken. Daar het water verder in het systeem ontsmet wordt, volstaat het om aan het innamepunt een grove filtratie door te voeren van 150 tot 1000 μm . Deze filtertypes worden vervaardigd en zijn beschikbaar in verschillende materialen, vormen en afmetingen en werken al dan niet onder druk.

Het water dat de kweektanks verlaat, is zwaar belast met faekaliën en voedselresten. Om te verhinderen dat de biofilters zouden dichtslibben, moeten deze partikels verwijderd worden. Dit kan op 2 manieren gebeuren. Een zeer eenvoudige, maar doeltreffende vorm van sedimentatie kan doorgevoerd worden aan de hand van een lamellaire platenbezinker (Sorgeloos et al., 1986). De werking van een lamellaire platenbezinker steunt op het feit dat het water onderaan de bezinkingskamer turbulentieloos stijgt over de ruimtes tussen de platen. In de zo ontstane lamellaire stroming zetten de partikels zich neer op de platen en schuiven af naar de bodem. Het geakkumuleerde slib wordt regelmatig afgelaten.

De tweede mogelijkheid, filtering, kan op verschillende wijzen gebeuren, gaande van zeer eenvoudig (filternet of filterzak) tot gesofistikeerd (filteren onder druk of in zandfilters).

Verwijdering van metabolieten:

De waterbehandeling in een biofilter dient er voor te zorgen dat de afvalstoffen geproduceerd door de vissen en eventueel andere organismen worden afgebroken tot niet-toxische componenten.

Hierna volgt de beschrijving van 2 gebruikte biofilters.

Sproeifilters of oxidatiebedden (Trickling filters):

Na een primaire sedimentatie om het water van het grootste particulier materiaal te ontdoen, stroomt het water de biofilter binnen. De hoogte van de filterkolom kan variëren van 3 tot maximaal 10 m. De gemiddelde BOD (Biological Oxygen Demand) die door dit type filter verwerkt kan worden, bedraagt 1 tot 5 $\text{Kg BOD}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ bij een debiet van 1,5 tot 2,5 $\text{m}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ (Verstraete, 1991).

Roterende biologische contactoren (Biodiscs)

Biodiscs zijn in essentie ook trickling filters, met het verschil dat de microflora hier vastgehecht zit op verticale schijven (discs) bevestigd aan een horizontale rotor. Biodiscs kunnen hoge belastingen aan (Verstraete, 1991): tot 2 $\text{Kg BOD}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{m}^{-3}$ reaktor. Daarbij moet nog vermeld worden dat het energieverbruik van dit type filters laag is, namelijk $\pm 0,25$ kWh per Kg BOD input (Verstraete, 1991).

5. Besluit:

Technisch en biologisch gezien is de kweek van tarbot in het hier ontworpen systeem zeker haalbaar. De waterkwaliteit aan de Belgische kust voldoet echter niet aan de eisen, in het bijzonder met betrekking tot de ammonium- en nitraatstikstof. Gezien de zeer toxische werking van de niet-geïoniseerde fractie van de ammoniumstikstof (ammoniak), is zonder verwijdering van deze component voorafgaand aan het gebruik

in de kweekinstallatie de kans op massale starfte van de tarbot in de kweektanks bijzonder groot. Verder onderzoek wordt dan ook aangeraden op de economische haalbaarheid van een tarbotkweek met volledige recirculatie aan de Belgische kust. Kamstra et al. (1992) voerden dit uit voor een 50 ton produktiesysteem in Nederland. De verwachte groeisnelheid van de tarbot versus de prijs per kilo verhindert een duidelijk besluit omtrent de economische haalbaarheid. Er dient eveneens onderzoek te gebeuren naar een voedsel samenstelling en dosering die resulteert in een optimale pigmentatiegraad van de gekweekte dieren.

Synthese van het onderzoek

De beperkingen van de visbestanden in zee werden pas duidelijk in het begin van de jaren negentig, toen de jaarlijkse produktie continu afnam met 2,5%. Het is duidelijk dat de aquacultuurproductie van marien vis deze afname niet kan compenseren, hoewel het aandeel van gekweekte vis exponentieel toeneemt (13 % in 1994), bovendien voorzien schattingen van de toekomstige vraag naar vis en schaaldieren in een toename met 50% tegen het jaar 2025. De effecten van onvoldoende natuurlijke hernieuwing van de visbestanden kunnen verholpen worden door het laten aangroeien van het bestand, d.w.z. door het in het wild uitzetten van gekweekte juvenielen om de natuurlijke populatie te laten aangroeien.

In deze studie werd speciale aandacht besteed aan de kwaliteit van de geproduceerde pootvis, naast cruciale biologische aspecten in verband met de overleving, groei en fysiologische toestand (m.a.w. specifieke kwaliteitskenmerken) van de uit te zetten pootvis.

Er werd speciale aandacht besteed aan de invloed van de tarbotkweek op de omgeving. Er werden geen antibiotica tijdens de larvale fase gebruikt, daar de gevaren die schuilen in het gebruik van antibiotica zijn genoegzaam bekend. Alle experimenten werden uitgevoerd in recirculatie systemen, waardoor men een betere controle heeft op het affluent en de hoeveelheid effluent wordt gereduceerd tot een minimum.

Tarbotlarven werden opgekweekt in 3 verschillende kweeksystemen. De groei, overleving en pigmentatie werd gevolgd de eerste 11dagen na hatching. Het eerste systeem heeft een batch fase en daarna, vanaf dag 8, wordt iedere tank verbonden met een aparte biofilter. Het tweede is een recirculatiesysteem waarbij het water wordt gefilterd over een proteïnskimmer met ozoninjectie en een biofilter. Het derde is een recirculatiesysteem waarbij de larven in een kooi worden gehouden. Het water circuleert over een aparte biofilter.

Hoge mortaliteit in het begin van het experiment maakte éénduidige conclusies onmogelijk. De doorstromingsnelheid in beide recirculatiesystemen veroorzaakte te veel stress bij de larven. Het gebruik van probionten moet een alternatief bieden voor antibiotica in de toekomst.

In de daarop volgende experimenten werd geprobeerd de vislarven te beschermen door geselecteerde bacteriën met een positieve invloed aan het kweekmedium en/of aan het voedsel van de vislarven toe te voegen. De overleving en groei van de vislarven werd gevolgd.

Vijf verschillende bacteriën werden gebruikt: *Vibrio proteolyticus*, *V. mediterranei*, *Aeromonas hydrophila*, *Glucanobacter sp* en een niet identificeerbare Cluster A.

Vanaf dag 5 was er een significant verschil in opname van de rotiferen tussen de controlebehandeling en de behandelingen met probionten. De bacteriële inoculatie

van het kweekwater heeft een positieve invloed op de eerste colonisatie van de darm van de vislarven, maar dit kwam slechts na 3 dagen tot uiting. De bacteriën die toegevoegd werden in de rotiferencultuur werden niet teruggevonden in de rotiferen zelf, waaruit blijkt dat de toevoeging van bacteriën voor de start van de voeding van de vislarven het meest invloed heeft.

Cluster A, *Vibrio proteolyticus* en *Glucanobacter sp.* hadden een positieve invloed op de overleving op dag 5 ten opzichte van de controle: 95%, 93%, 93% en 74% respectievelijk. Zowel *Aeromonas hydrophila* als *Vibrio mediterranei* vertoonden geen significant effect op de larvale overleving.

Cluster A, *Vibrio proteolyticus* en *Glucanobacter sp.* zijn potentiële probionten die verder moeten getest worden op grote schaal.

Naast het zoeken naar alternatieven voor antibiotica, werd geprobeerd tarbot juvenielen te produceren van hoge kwaliteit. Daartoe werden verschillende additieven aan commercieel voedsel toegevoegd.

Het effect van toevoeging van Vitamine C en E aan een dieet gesupplementeerd met visolie op de kwaliteit van juveniele tarbot werd bestudeerd.

De tarbotjuvenielen werden gehouden in een recirculatiesysteem bestaande uit 3 tanks (elk 2m³) deze zijn verbonden met een drumfilter en een biologisch sproeifilter. Het gefilterde water wordt via UV-sterilisatoren terug naar de tanks gepompt. Er werden 650 juvenielen in iedere tank geplaatst die 3 maal/dag werden gevoederd met 1) een standaardkorrel (Provimi Turbot starter), 2) de standaardkorrel gecoat met 9% visolie (DHA/EPA=4), 10% Vit C en 3) cfr. 2 met toevoeging van 1000 ppm Vit E.

Overleving en groei werden gevolgd tijdens het experiment en de lengte werd bepaald net voor het uitzetten. De kwaliteit werd bepaald aan de hand van een gemodificeerde saliniteit stresstest.

Toen de vissen in zee werden uitgezet, was er een significant lengteverschil. De vissen gevoederd met dieet 3 waren groter (16.04 ± 1.52) dan de controlegroep (15.17 ± 1.53). De vissen gevoederd met dieet 2 hadden een intermediaire lengte (15.62 ± 1.49). De overleving op het eind van de experimentele periode bedroeg 85%, 92% en 90% respectievelijk voor de 3 diëten.

Uit de resultaten van de gemodificeerde stress test bleek dat de dieren van dieet 2 het best de saliniteitsstress konden weerstaan. Het toevoegen van vitamines, vooral Vit E en extra HUFA's aan het dieet verhoogt de kwaliteit van de juvenielen en is dus sterk aan te raden in herstockeringsprogramma's en voor commerciële doeleinden.

Een experiment werd uitgevoerd om het effect van oxidatie van de olie in het voeder op de Vit E behoefte bij juveniele tarbot na te gaan. Diëten met verschillende gehalten Vit E (0 of 200 ppm) in combinatie met al dan niet geoxideerde triglyceride olie (60 of 7 meq peroxide/Kg). Een standaard ICES weaning dieet werd gebruikt als controle.

Nat en droog gewicht van de volledige vis en de lever, specifieke groeisnelheid, heptosomatische index en Vit E en C gehalte in de lever werden bepaald.

Op het einde van het experiment waren het gewicht en de specifieke groeisnelheid van de vissen gevoederd met het dieet zonder Vit E en met geoxideerde olie significant lager dan die van de andere vissen. Uit een tweevoudige variantieanalyse bleek dat er een significant effect was van de oxidatie, maar niet van het Vit E gehalte in het voeder op het gewicht en de specifieke groeisnelheid. Het gewicht van de lever en de heptosomatische index daarentegen waren afhankelijk van het Vit E gehalte in het voeder. De voeders zonder Vit E resulteerden in een hoger levergewicht en een grotere heptosomatische index.

Reeds na 36 dagen werd het tocopherolgehalte in de voeders gereflecteerd in de tocopherolgehaltes van de lever.

Er werden verschillende methodes gebruikt en/of op punt gesteld om de kwaliteit van tarbotlarven en juvenielen te bepalen. Het is immers belangrijk dat de uitgezette dieren van hoge kwaliteit zijn om een voldoende hoge overleving te garanderen.

De kwaliteit van de tarbotlarven werd bepaald aan de hand van 3 verschillende, reproduceerbare testen: de saliniteit stresstest, de Cellulaire Energie Allocatie methode en de bepaling van de fagocytosecapaciteit.

In de eerste test was de stressindicator de respiratiegraad van de dieren. Een hogere respiratiegraad wijst op een meer gestresseerde situatie en een slechtere fysiologische conditie van de proeforganismen. Het CEA-concept is een goed alternatief voor de conventionele 'Scope for growth' methode, die te arbeidsintensief is om routinematig te worden toegepast. De energiereserve wordt gequantificeerd via een bepaling van het vet-, suiker- en eiwitgehalte in het testorganisme. De metingen worden uitgevoerd met behulp van spectrofotometrische methoden. Het verschil tussen de energiereserve en het energieverbruik wordt uitgedrukt in mJ per organisme per uur en reflecteert de energie, beschikbaar voor groei en reproductie. De fagocytosecapaciteit is een maat voor de kwaliteit bij vis.

De gemodificeerde stress test geeft significante verschillen naargelang de verschillende dieten die werden gebruikt zonder de dieren te doden. Deze test kan bijgevolg gebruikt worden om de kwaliteit van tarbotjuvenielen te bepalen voor ze worden uitgezet in zee.

Het bepalen van de energiereserves aan de hand van suikers en proteïnen bleek geen problemen op te leveren. Het is wel zo dat het protocol aangepast dient te worden naargelang de grootte van de vislarve. Bij kleine larven is het onmogelijk om organen apart te behandelen. Als ook de andere componenten (energiereserve aan lipiden en energieverbruik) kunnen bepaald worden, is de CEA test in de toekomst bruikbaar om de stressweerstand en de kwaliteit van tarbot te bepalen.

Met het bepalen van de fagocytosecapaciteit kon de voorgeschiedenis betreffende het toegediende voedselregime, al dan niet verrijkt met vitamine C en/of vitamine E,

achterhaald worden. Dit zelfs acht weken nadat de dieren op een zelfde dieet werden geplaatst, namelijk visafval.

Uitzetten van gekweekte dieren in natuurlijke ecosystemen geeft automatische genetische implicaties. Het is daarom noodzakelijk om enerzijds geen vreemd genetisch materiaal in te brengen op de plaats waar het uitzetten van gekweekte dieren gebeurt. Om die reden moet men gebruik maken van ouderdieren die tot een zelfde populatie behoren als deze die op de locatie van het uitzetten voorkomt. Het is daarom noodzakelijk een kijk te krijgen op de populatiestructuur van de doelsoort binnen zijn verspreidingsgebied. Genetische analyse van tarbotten afkomstig uit diverse locaties binnen het natuurlijk verspreidingsgebied van deze soort, heeft aangetoond dat dieren afkomstig uit de Ierse Zee als een aparte stock kunnen beschouwd worden. Daarnaast bestaan er indicaties dat tarbot nog verder kan opgesplitst worden in een (sub)populatie Engels Kanaal – Baai van Biscaye en een (sub)populatie Noordzee – Keltische Zee.

Anderzijds is het noodzakelijk de genetische diversiteit van de uitgezette dieren zo hoog mogelijk te maken, door het minimaliseren van inteelt, domesticatie en genetische drift. Gezien het ouderlijk genetisch effect mee de stressconditie en de overleving bepaald, zal de genetische diversiteit van de pootvis en de uitgezette dieren eveneens bepaald worden door het ouderlijk genetisch effect, namelijk door genetische uitval.

Volgens de resultaten van de technische haalbaarheidsstudie, is de waterkwaliteit aan de Belgische kust te laag om tarbotcultuur toe te laten. Daardoor is een compleet gesloten recirculatie systeem de enige mogelijke kweekmethode. Naast de voordelen van de controle over de inlaat van het systeem, heb je ook een lagere uitstoot in de natuurlijke omgeving. Het is heel moeilijk, economisch gezien, om besluiten te trekken over de haalbaarheid van tarbotkweek, daar de verandering van de marktprijs niet te voorspellen is.

Summary of the research

The restrictions of the fish populations became only clear in the nineties, when the yearly production decreased continuously with 2.5%. Clearly, the aquaculture production cannot compensate this decrease, although the share of the cultured fish increases exponentially (13% in 1994). In addition, the estimations of the future demand for fish and crustaceans expect a raise of 50% by the year 2025. The effects of insufficient natural renewal of the fish populations can be rectified by letting the population increase.

In this study special attention was given to the quality of the produced fish, next to crucial biological aspects in connection with the survival, growth and physiological condition (in other words specific quality characteristics) of the fish that will be put out in the sea.

Special attention was also given to the influence of turbot culture on the environment. No antibiotics were used during the larval phase, as the dangers that come with the use of antibiotics are well known. All experiments were conducted in recirculation systems, which results in a better control of the affluent and the effluent is reduced to a minimum.

Turbot larvae were cultured in 3 different systems. The growth, survival and pigmentation were monitored the first 11 days post-hatching. The first system has a batch phase and afterwards, from day 8 onwards, every tanks is connected to a separate biofilter. The second system is a recirculation system. The water passes through a protein skimmer with ozone injection and a biofilter. The third system is again a recirculation system where the larvae are kept in a cage. The water recirculates over a separate submerged biofilter.

High mortality in the beginning of the experiment made clear cut conclusions impossible. The flow rate in both recirculation systems caused the larvae too much stress. The use of probionts should offer an alternative for antibiotics in the future.

In the following experiments it was tried to protect the fish larvae by adding selected bacteria with a positive influence to the culture medium and/or to the food of the fish larvae. Survival and growth of the larvae were monitored.

Five different bacteria were used: *Vibrio proteolyticus*, *V. mediterranei*, *Aeromonas hydrophila*, *Glucanobacter sp* and a not identifiable Cluster A.

From day 5 onwards, there was a significant difference in the consumption of rotifers between the control and the treatments with probionts. The bacterial inoculation of the culture water has a positive effect on the first colonization of the gut of fish larvae, but this only became clear after 3 days. The bacteria that were added to the rotifer culture were not recovered in the rotifers themselves. From these data it can be concluded that the addition of bacteria before start feeding has the biggest effect.

Cluster A, *V. proteolyticus* and *Glucanobacter sp.* have a positive effect on the survival on day 5 compared to the controls: 95%, 93%, 93% and 74%, respectively. *A. aeromonas* as well as *V. mediterranei* had no significant effect on larval survival. Cluster A, *V. proteolyticus* and *Glucanobacter sp.* are potential probiotics that need to be tested on a larger scale.

Next to the experiments on alternatives for antibiotics, high quality turbot juveniles need to be produced.

The effect of addition of Vitamins C and E to a diet supplemented with fish oil on the quality of the produced turbot larvae was studied.

The turbot juveniles were kept in a recirculation system with 3 tanks (2 m³ each) connected to a drum filter and a biological trickling filter. The filtered water is pumped back to the tanks through UV-sterilisers. 650 juveniles were put in each tank and fed 3 times a day with 1) a standard granule (Provimi Turbot Starter), 2) the standard granule coated with 9% fish oil (DHA/EPA = 4%), 10% Vit C and 3) cfr. 2 with addition of 1000 ppm Vit E.

Survival and growth were monitored during the experiment and the length was measured just before release in the sea. The quality was determined using a modified salinity stress test.

When the fish were released into the sea, there was a significant size difference. The fish fed with diet 3 were bigger (16.04 ± 1.52) than the control group (15.17 ± 1.53). The fish fed diet 2 had an intermediate size (15.62 ± 1.49). The survival at the end of the experiment was 85%, 92%, 90%, respectively for the 3 diets.

The results of the modified stress test showed that the fish fed diet 2 had the highest quality. The addition of vitamins, especially Vit E, and addition of HUFA's enhances the quality of the juveniles and should be recommended in restocking programs and for commercial purposes.

An experiment was conducted to evaluate the effect of oxidation of the oil present in the feed on the need of Vit E in juvenile turbot. Diets with different Vit E (0 or 200 ppm) in combination with either oxidized (60 meq peroxide/Kg) or unoxidized (7 meq peroxide/Kg) triglyceride oil. A standard ICES weaning diet was included as a control.

Wet and dry weight of the whole body fish and the liver, specific growth rate, hepatosomatic index and levels of vitamin C and E in the liver were measured.

At the end of the experiment, the whole body weight and the specific growth of the fish fed the diet containing oxidized oil, without additional Vit E were significantly lower than of the other fish. A two-way analysis of variance showed a significant effect of the oxidation, but not of the dietary Vit E level on the weight and on the specific growth rate of the fish. The liver weight and the hepatosomatic index on the other hand were affected by the vitamin E level. Diets without Vit E resulted in the highest liver weight and hepatosomatic index.

Already after 36 days, the tocopherol level in the diets was reflected in the one in the liver.

Several methods to determine the quality of turbot larvae and juveniles were used and/or made perfect. It is of utter most importance that the released fish have a high quality to guarantee a high survival rate.

The quality of the turbot larvae was determined by 3 different reproducible tests: the salinity stress test, the Cellular Energy Allocation method and the determination of the phagocytosis capacity.

In the first test, the respiration speed was the stress indicator. A higher respiration speed is caused by a stressful situation and a worse physiological condition of the experimental organisms. The CEA-concept is a good alternative for the conventional 'Scope of Growth' method, which is too labour intensive to be used routinely. The energy reserve is quantified via the determination of the fat, sugar and protein content of the test organism. A spectrophotometer is used for the measuring the levels. The difference between the energy reserve and the energy consumption is expressed in mJ per organism per hour and reflects the energy available for growth and reproduction. The phagocytosis capacity is a measure for the quality of the fish.

The modified salinity stress test gives significant differences according to the different diets used without killing the organisms. Therefore, this test can be used to determine the quality of the turbot juveniles before they are released into the sea.

The determination of the energy reserves through the sugars and proteins did not give any problems. The protocols had to be adjusted according to the size of the fish larvae. It is impossible to use separate organs in small fish. If the other components (energy reserve and the use of lipids and energy) could be determined, then the CEA test is convenient to determine the stress resistance and the quality of turbot in the future.

Through the determination of the phagocytosis capacity, one is able to define the diet used before, even 8 weeks after the fish have been given fish trash.

The release of farmed animals into natural ecosystems has genetic implications. It is therefore necessary on the one hand not to introduce genetically foreign organisms on the place of release. For this reason, one should use brood stock originating from the population present at the site of the release of the cultured juveniles. Therefore, it is important to document the structure of the populations of the target species within its range of distribution. Genetic analysis of turbot originating from different locations within the natural range of distribution has shown that the animals coming from the Irish Sea can be considered as a separate stock. There are also indications that this species can be further divided into a (sub)population English Channel – Bay of Biscay and a (sub)population North sea- Celtic Sea.

On the other hand, it is necessary to enlarge the range of genetic diversity of the released animals, by minimizing the inbreeding, domestication and genetic drift. As

the parental genetic effect also determines the stress resistance condition and the survival, the genetic diversity of the juveniles and the released fish will as well be determined by the parental genetic effect, namely by genetic loss.

According to the technical feasibility study, the water quality at the Belgian coast is too low to allow turbot larviculture. For that reason, a complete closed recirculation system is the only possible culture method. Next to the advantages of the control of the inlet, you have also less effluent flowing back to the natural environment. It is very difficult, economically spoken, to draw conclusions on the feasibility of the turbot culture, as the variation of the market prize is not predictable.