

Knelpunten in aquacultuur: enkele risicovolle aspecten van de vroege levensstadia van de vis

Bottlenecks in aquaculture: some risky aspects of early life stages of fish

B. Verhaegen, A. Rekecki, A. Decostere, W. Van den Broeck

Vakgroep Morfologie, Faculteit Diergeneeskunde, UGent,
Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke

anamaria.rekecki@ugent.be

SAMENVATTING

Aquacultuur is een zeer snel groeiende sector, maar er zijn nog talrijke knelpunten bij het opkweken van larven (larvicultuur) en van adulte vissen. Veel van deze knelpunten zijn van nutritionele aard. Het voedingsregime is nog vaak onvoldoende afgesteld op de behoeften van specifieke vissoorten waardoor uithongering een grote invloed blijft hebben. Deze problemen kunnen opgelost worden door de ontwikkeling van het gastro-intestinale stelsel per vissoort in kaart te brengen. Parameters, zoals de enterocytenhoogte, de aanwezigheid van supranucleaire vacuoles in de enterocyten en 'the point of no return' kunnen als maatstaf gebruikt worden om uithongering te monitoren en te voorkomen. Aan de hand van deze gegevens kan een optimaal voedingsregime met rotiferen (radardiertjes), *Artemia* (pekelkreeftjes) en Copepoda (eenooigkreeftjes) uitgewerkt worden.

ABSTRACT

Aquaculture is a fast growing sector. However, during larviculture and fish husbandry, many bottlenecks still occur. Many problems concern nutritional factors and can be avoided by a clear understanding of the development of the gastrointestinal system of the various fish species. Parameters, such as enterocyte height, the presence of enterocytic supranuclear vacuoles and 'the point of no return', can be used to monitor and prevent food deprivation. This information can also be used to compose a feeding regime with rotifers, *Artemia* and copepods.

INLEIDING

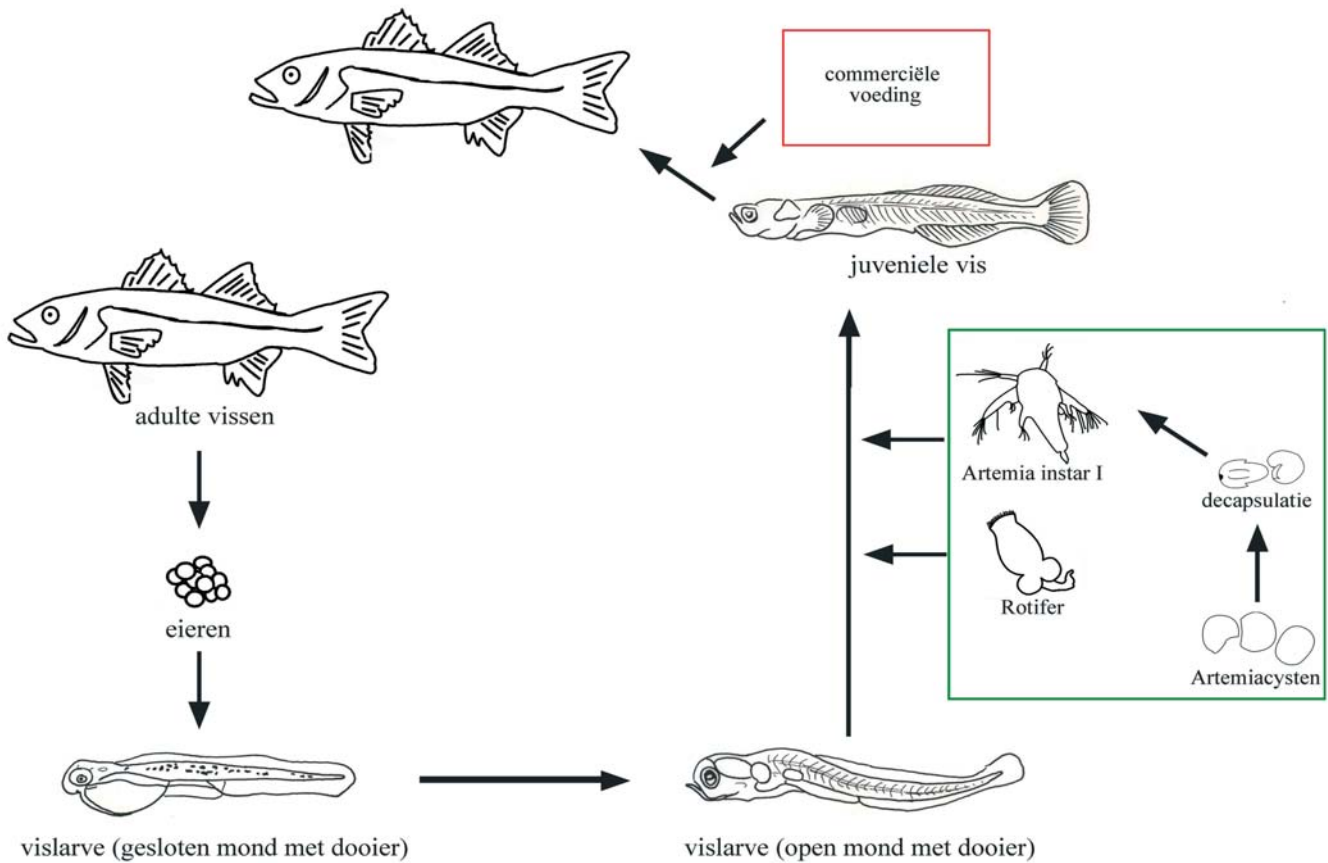
Aquacultuur als alternatief voor de klassieke visserij kent sinds enkele decennia een enorme groei. In 2006 brachten de visserij en de aquacultuur op wereldniveau samen ongeveer 110 miljoen ton vis op, waarvan er 47 percent in aquacultuur werd produceerd (FAO, 2008). Ondanks dit hoog productiegetal blijft men bij de ontwikkeling van de vislarven in aquacultuur kampen met hoge en onvoorspelbare sterfte, een grote gevoeligheid voor ziekten en frequent voorkomende malformaties (Darias *et al.*, 2008). Deze larvale deformaties, waaronder de frequent voorkomende afwijkingen van de wervelkolom (lordosis en scoliosis) en operculum- en kopmalformaties (kaak en neurocranium), worden beïnvloed door verscheidene niet-nutritionele maar ook door nutritionele factoren, zoals tekorten aan diëtaire proteïnen, lipiden en vitamines (Zambonino *et al.*, 2005). De vele onderzoeken naar de optimalisering van de larvale opkweek (larvicultuur) hebben geleid tot nieuwe voedingsregimes waarbij gebruik gemaakt wordt van levend voedsel (Dhert *et al.*, 1997).

In dit overzicht wordt de invloed van nutritionele factoren op de ontwikkeling van het maagdarmstelsel besproken.

De ontwikkeling van het maagdarmstelsel van de vis

Vanaf het moment dat de dooier door de vislarve is verbruikt en de exogene voedingsfase begint, gaat de larve actief op zoek naar voedsel om aan de grote vraag naar aminozuren, lipiden, suikers, vitamines en mineralen te kunnen voldoen (Kamler, 1992; Ronnestad *et al.*, 1999). Op dit moment kan echter niet elke vissoort met commerciële droogvoerdietten gevoederd worden, omdat de larven te klein zijn of een nog onvoldoende ontwikkeld spijsverteringsstelsel hebben. Bij deze vissoorten kan het noodzakelijk zijn de commerciële voeders te laten voorafgaan door levend voedsel (Ronnestad *et al.*, 1999) (Figuur 1).

De larven van veel vissoorten vertonen in het begin van deze exogene voedingsfase nog geen functionele maag. De jonge larven bezitten op dat moment een gastro-intestinaal kanaal bestaande uit een eenvoudige buis met slechts één functionele sfincter, de ileocecale klep, tussen de middendarm en de einddarm. De middendarm fungeert in dit stadium als tijdelijke opslagplaats voor voedsel en zorgt voor de vertering door middel van pancreasenzymen, gal en peristaltische contracties. Ter hoogte van de einddarm wordt het voedsel opgenomen door de enterocyten in pinocyto-



Figuur 1. Voorbeeld van een productiecyclus in aquacultuur.

tische vesikels en wordt het verder intracellulair verteerd (Douglas *et al.*, 1999; Ronnestad *et al.*, 1999; Ronnestad *et al.*, 2003). Zo beginnen de larven van de geelstaart koningsvis (*Seriola lalandi*) na de derde dag exogene voeding op te nemen en komen de maagklieren tot ontwikkeling. Vanaf de vijftiende dag zijn ze volledig ontwikkeld (Chen *et al.*, 2007).

Ondanks het belang van de opname van vrije aminozuren uit het voedsel tijdens het begin van de exogene voedingsfase blijkt de incorporatie van deze vrije aminozuren in het dieet vrij moeilijk te zijn. Uit onderzoek blijkt dat enkel liposomen (gemaakte lipidenblaasjes) in staat zijn deze vrije aminozuren af te leveren aan de larven tijdens de startfase van exogene voedselopname. Er worden twee methoden beschreven om deze liposomen aan het dieet toe te voegen. Ofwel worden ze rechtstreeks toegevoegd aan een microdieet, ofwel wordt levend voedsel, zoals *Artemia* (pekelkreeftjes), gekweekt met een liposomendieet. Deze aangerijkte *Artemia*'s worden vervolgens aan de larven gevoederd (Ronnestad *et al.*, 1999).

Voedselbronnen

In de larvicultuur worden verschillende types voedselbronnen aangewend. Deze kunnen worden onderverdeeld in twee groepen: het levende voedsel en het commerciële voedsel. Het belangrijkste levende voedsel bestaat uit rotiferen (radardiertjes), *Artemia* (pekelkreeftjes) en Copepoda (eenoogkreeftjes). Het commerciële voedsel bestaat uit droogvoeder op basis

van vismeel en visolie vervaardigd uit minder waardevolle vissen, zoals diepzeevissen (pelagische vissen).

Rotiferen (*Brachionus plicatilis*) vindt men in zoutmeren. Ze zijn ongeveer 160 tot 240 μm groot en voeden zich met plankton (Dhert *et al.*, 1997; Treece, 2000). Omwille van hun geringe grootte, hoge voedingswaarde, trage mobiliteit en goede reproductiecapaciteit kunnen ze ideaal dienst doen als voedsel voor vislarven vanaf het moment dat de mond volledig ontwikkeld is. De ontwikkeling van rotiferen is echter zeer gevoelig voor bepaalde factoren, zoals temperatuur, zoutgehalte en voedselconcentratie (Treece, 2000).

Pekelkreeftjes (*Artemia salina*) zijn reeds lange tijd een populaire voedingsbron voor het opkweken van vislarven. Deze kleine kreeftachtigen leven in zeewater en zoutwatermeren. De vrouwtjes zijn in staat om levende jongen (larven) voort te brengen, maar in suboptimale omstandigheden kunnen ze ook resistente cysten met embryo's vormen die veel langer kunnen bewaard worden. Dergelijke artemiacysten worden reeds meer dan 25 jaar geoogst om als levend voer gebruikt te worden. Door de stijgende vraag en het afnemend aanbod worden artemiacysten tegenwoordig uit verschillende zoutwatermeren in de wereld geoogst, maar ze vertonen een sterk variërende kwaliteit afhankelijk van de artemiastam, -species en -locatie (Lalvens en Sorgeloos, 2000). De cysten moeten in zeer specifieke omstandigheden opgekweekt worden om een maximale opbrengst te bekomen (Dhert *et al.*, 1997; Treece, 2000). Eens het embryo uit de cyste vrij-

komt, doorloopt deze vijf larvale stadia, ook instarstadia genoemd. Het eerste larvale stadium van *Artemia*, dat slechts 400 tot 500 µm groot is en zich uitsluitend voedt met zijn eigen dooier, wordt eveneens vaak gebruikt als voedsel voor vislarven.

Eenoogkreeftjes (Copepoda) zijn fytoplanktoneters met, afhankelijk van de species, een grootte van 50 tot 750 µm. Het gebruik van Copepoda in de larvicultuur is beperkt omwille van de dure infrastructuur en hoge arbeidskost om dit type levend voedsel te kweken (Stottrup, 2000).

Ondanks het uitgebreid gebruik van levend voedsel in de larvicultuur heeft dit voedseltype tekortkomingen. De productie is vaak duur, arbeidsintensief en onvoorspelbaar. Het voedsel kan bovendien gecontamineerd zijn met ziektekiemen en toxinen. De opkweek van bepaalde vissoorten, zoals de zeebrasem, zeebaars en tarbot, is zonder dit type voedsel echter nog niet mogelijk (Barrow en Rust, 2000).

Voedingsregime en de rol van levend voedsel (*Artemia* pekelkreeftjes, rotiferen en Copepoda)

Het voedingsregime bij de vislarve kan worden afgestemd op de ontwikkeling van het spijsverteringsstelsel. Aan de geelstaartkoningsvis bijvoorbeeld worden vanaf de derde dag, na de dooierresorptie en het openen van de functionele mond en anus, rotiferen gevoederd (Chen *et al.*, 2007) (Figuur 1).

Vervolgens wordt langzaam de overgang gemaakt naar groter voedsel. Vanaf de 10^{de} tot 24^{ste} dag wordt overgeschakeld van rotiferen op *Artemia* nauplii, en vanaf de 18^{de} tot 36^{ste} dag wordt commerciële voeding gegeven (Treece, 2000; Chen *et al.*, 2007) (Figuur 1).

Het is belangrijk om het eerste larvale stadium (instar I) van *Artemia* nauplii aan de vislarven te voederen, omdat de artemialarve zich, eens zes tot acht uur uit het ei, ontwikkelt tot het instar II-stadium, dat groter en meer beweeglijk is. Daardoor bezitten deze larven een lagere energiewaarde en minder vrije aminozuren dan nodig voor de opfok van vislarven. Daarenboven moeten de vislarven ook meer inspanning leveren om ze te vangen. Dit alles kan leiden tot ondervoeding van de vislarven (Sorgeloos *et al.*, 2001). Instar II-larven vertonen een aselectieve eetgewoonte. Dit geeft de mogelijkheid om verschillende producten, zoals vitamines en essentiële vetzuren, te laten opnemen en te incorporeren in deze *Artemia* instar II-larven (Sorgeloos *et al.*, 2001). Deze aanrijking vindt meestal plaats vanaf de eerste 6-8 uur tot 24 uur na het ei te hebben verlaten (Sorgeloos *et al.*, 2001). Er wordt echter opgemerkt dat *Artemia franciscana* aanrijkt met docosahexaeenzuur (DHA) deze DHA voor een stuk zelf verteert. Hetzelfde wordt opgemerkt na aanrijking met fosfolipiden. Door met andere artemiastammen te kweken en door fosfolipiden simultaan te voederen aan de vislarven kunnen deze problemen eventueel omzeild worden (Dhert *et al.*, 1993). Bij de meeste artemiastammen wordt omwille van de hoge kostprijs en het lage DHA-gehalte vaak vroeger gespeend met *Artemia*, voorafgegaan door een langere

rotiferenvoedingsfase (Sorgeloos *et al.*, 2001).

Bij de opkweek op basis van rotiferen en *Artemia*, zelfs wanneer ze aangerijkt zijn, worden nog steeds tekenen waargenomen van nutritionele deficiënties, zoals abnormale pigmentatie bij de tarbot (*Scophthalmus maximus* L.) (Stottrup, 2000). Tijdens de opkweek van zeepaardlarven (*Hippocampus erectus*) op basis van *Artemia* nauplii wordt vaak een uitval vastgesteld vanaf de vijfde dag. De larven kunnen hun voedsel niet opeten of onvoldoende verteren en sterven door uithongering. Dit is een grote limiterende factor voor de heropkweek van deze bedreigde vissoort in aquacultuur (Tindemans *et al.*, 2010).

Uit onderzoek blijken eenoogkreeftjes (Copepoda) een goede vervanging van *Artemia* te zijn. De vislarven lijken beter te groeien en ze vertonen een grotere weerstand tegen stress. Copepoda bezitten immers meer essentiële vetzuren en een hoger DHA-gehalte, maar de kweek van deze Copepoda is minder vanzelfsprekend dan die van *Artemia* of rotiferen (Kraul *et al.*, 1993).

Voedselonthouding en diagnostische parameters

Ondanks de grote vooruitgang die de laatste jaren werd geboekt inzake larvicultuur, schiet de kennis nog vaak te kort. Voornamelijk op het vlak van leefomgeving en nutritionele behoeften van de vislarven is verder onderzoek aangewezen. Tijdens de exogene voedingsfase heeft uithongering een belangrijke negatieve impact. Daarbij kan zelfs een zeer korte periode van voedselonthouding erge gevolgen hebben (Planas en Cunha, 1999; Gisbert *et al.*, 2003). Deze voedselonthouding resulteert in degeneratieve veranderingen van het spijsverteringsstelsel, waardoor het voedselabsorberende oppervlak kleiner wordt. De schade aan dit oppervlak leidt tot een afname van de nutriëntenopnamecapaciteit en oefent een negatief effect uit op het herstel van de voedingsstatus. Vele van deze vislarven sterven met voedsel in hun darmen (Chen *et al.*, 2007) (Figuur 2).



Figuur 2. Macroscopische morfologie van een normaal gevoederde, negen dagen oude zeebaarslarve (*Dicentrarchus labrax*).

Aquacultuur heeft methoden nodig om de voedingsstatus van vislarven te achterhalen. Zo zouden uitgehongerde van goed gevoede vissen kunnen onderscheiden worden (Figuur 2). Door met deze factor rekening te houden, worden een maximale overlevingsgraad en groei en een minimale variatie in grootte gewaarborgd (Gisbert *et al.*, 2003).

Vooraf de jongste larven zijn gevoelig voor uithongering. Een ansjovislarve (*Engraulis mordax*) die net haar dooierzak heeft geresorbeerd en overgaat tot haar eerste exogene voederopname, heeft een voedseldensiteit nodig die tot 37 maal groter is dan die van larven ouder dan tien dagen (Hunter, 1972). Het vermogen om succesvol voedsel op te nemen stijgt exponentieel met de leeftijd. Hierdoor kan de voedseldensiteit afnemen. Deze eerste voedselperiode is dan ook een zeer kritiek moment dat makkelijk tot uithongering kan leiden (Hunter, 1972).

Enterocytenhoogte

Uit onderzoek op larven van de Noorse ansjovis (*Engraulis mordax*) is gebleken dat de hoogte van de enterocyten een diagnostische indicator is voor de voedingsgeschiedenis (Gisbert *et al.*, 2003). Tijdens de voedselonthouding wordt immers opgemerkt dat de enterocyten verminderen in hoogte, zowel in de middendarm als de einddarm (Theilacker en Watanabe, 1989; Gisbert *et al.*, 2003).

De enterocyten zijn het hoogst net vóór de resorptie van de dooierzak plaatsgrijpt. Tijdens dit stadium is de middendarm nog niet volledig gedifferentieerd. De hoogte neemt af tot het moment van de eerste exogene voederbeurt. Wordt deze voederbeurt niet uitgesteld, dan is de enterocyt bij de ansjovis ongeveer 13 µm hoog. Na vier dagen uithongeren is deze nog slechts 9 µm hoog. De grenswaarden tussen een gevoede en een uitgehongerde ansjovis wordt gelegd op 11 µm (Theilacker en Porter, 1989).

Supranucleaire vacuoles

Naast de impact op de enterocytenhoogte wordt bij uithongering ook een duidelijke vermindering gemerkt van de supranucleaire vacuoles in de einddarm (Crespo *et al.*, 2001).

Bij normaal gevoede tandbrasemlarven (*Dentex dentex*) kunnen er vanaf de zesde dag acidofiele supranucleaire vacuoles met proteïnegranules waargenomen worden in de enterocyten van de einddarm (Crespo *et al.*, 2001). Deze vacuoles ontstaan doordat de meeste vissoorten nog geen functionele maag bezitten zolang ze niet getransformeerd zijn naar de juveniele vorm. Zolang er geen functionele maag aanwezig is, moet de vertering van eiwitten hoofdzakelijk plaatsvinden in de intracytoplasmatische supranucleaire vacuoles van de enterocyten van de einddarm na de pinocytotische opname van de proteïnen en de versmelting met lysosomen (Govoni *et al.*, 1986; Crespo *et al.*, 2001). Bij uithongering van de tandbrasemlarve wordt een vermindering van de acidofiele supranucleaire vacuoles

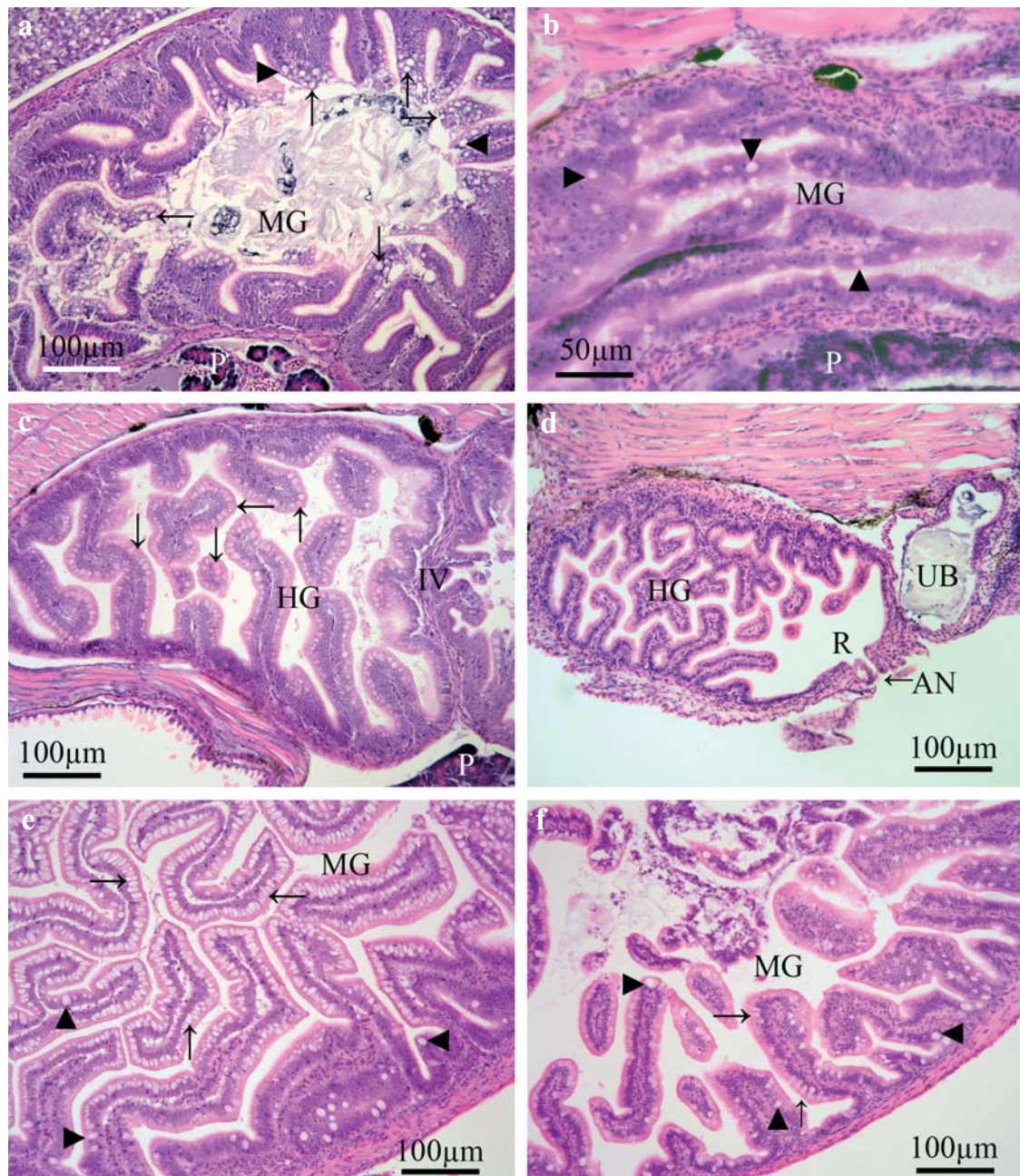
in de einddarm vastgesteld. Wanneer na het omschakelen naar de exogene voedingsfase voedsel onthouden wordt, zijn de darmen reeds na twee uur, op wat resten van rotiferen na, volledig leeg. Toch kan in dit stadium nog geen conditieverlies opgemerkt worden. Drie uur later beginnen de proteïnegranules te verkleinen in de supranucleaire vacuoles ter hoogte van de einddarm, terwijl de vetdruppels, die aanwezig zijn in de middendarm, ook verminderen. Na 24 uur voedselonthouding zijn alle supranucleaire vacuoles verdwenen, wat erop wijst dat de volledige vertering van eiwitten ongeveer 24 uur in beslag neemt (Watanabe, 1984). Vanaf dit punt worden de tekorten aangevuld door de afbraak van lichaamseigen weefsel, wat ondermeer resulteert in de degeneratie van de hele spijsverteringstractus. Dit vormt dus een betrouwbare histologische indicator voor een slechte nutritionele conditie van de larven (Crespo *et al.*, 2001).

‘Point of no return’ en de riskante gevolgen ervan

De hierboven besproken criteria werden nagegaan bij de geelstaartkoningsvis om het effect van een uitgestelde eerste voedingsbeurt en voedselonthouding op het gastro-intestinaal kanaal te achterhalen (Chen *et al.*, 2007).

De eerste exogene toediening van voedsel aan de larven gebeurt normaal op de derde dag na het verlaten van het ei. Wanneer dit uitgesteld wordt tot de vijfde dag, wordt een significante afname van de enterocytenhoogte waargenomen. Eenzelfde duidelijke daling aan de enterocytenhoogte wordt waargenomen wanneer de larven van de twaalfde tot vijftiende dag geen voedsel krijgen. Wordt er daarentegen later in het larvale leven voedsel onthouden, tussen de 33^{ste} en 36^{ste} dag, dan kan er geen significant verschil in enterocytenhoogte worden vastgesteld ten opzichte van normaal gevoede larven (Chen *et al.*, 2007) (Figuur 3).

Bij histologisch onderzoek wordt er bij deze vislarven ook aandacht besteed aan de aanwezigheid van de vetvacuoles in de middendarm. Deze vetvacuoles blijken volledig te verdwijnen bij zowel het uitstellen van de eerste voederbeurt als bij voedselonthouding tijdens het vroeglarvale leven. Wordt het voedsel evenwel onthouden in een later stadium, dan wordt enkel een reductie van het aantal vetvacuoles vastgesteld (Figuur 3B, 3F). Hier kan een duidelijke, leeftijdsafhankelijke tolerantie voor voedselonthouding waargenomen worden. Deze tolerantie is veel lager in een vroeg stadium dan in een later stadium. De voedseltekorten worden dus het beste geminimaliseerd tijdens de opkweek van larven, zeker in de vroege stadia van de ontwikkeling (Chen *et al.*, 2007). Onderzoek met larven van de zomerbot (*Paralichthys dentatus*) bewees eveneens de aanwezigheid van een dergelijke leeftijdsafhankelijke tolerantie. Het voedsel werd onthouden bij larven van 6, 16, 33 en 60 dagen oud. De 6 dagen oude larven waren 60 uur tolerant, de 16 dagen oude larven 72 uur, de 33 dagen oude larven acht dagen, de 60 dagen oude larven tien dagen. De tolerantie neemt dus duidelijk toe met de stijgende leeftijd (Bisbal en



Figuur 3. Histologische doorsneden van het spijsverteringskanaal van de geelstaartkoningvis. (a) Middendarm van een normaal gevoede larve, vijftien dagen na het ei te hebben verlaten. De vele vetvacuoles worden aangeduid met pijlen en de slijmbekercellen door pijlpunten. (b) Middendarm van een voedselonthouden, vijftien dagen oude larve; de pijlpunten geven de slijmbekercellen weer. (c) Einddarm van een normaal gevoede vijftien dagen oude larve; de pijlen geven de vele supranucleaire vacuoles weer. (d) Einddarm van een vijftien dagen oude, voedselonthouden larve. (e) Middendarm van een normaal gevoede, 36 dagen oude larve; de vele vetvacuoles worden aangeduid met een pijl en de slijmbekercellen met een pijlpunt. (f) Middendarm van een 36 dagen oude, voedselonthouden larve; de vetvacuoles worden aangeduid met een pijl en de slijmbekercellen met een pijlpunt. AN: anus; HG: einddarm; IV: intestinale klep; MG: middendarm; P: pancreas; R: rectum; UB: urineblaas (hematoxyline-eosinekleuring) (naar Chen *et al.*, 2007).

Bengtson, 1995).

Onderzoek met de geelstaartkoningvis wijst ook op veranderingen veroorzaakt door het uitstellen van de eerste exogene voederbeurt. Daarom is het belangrijk te weten wanneer de exogene voeding moet gestart worden. Deze vraag werd beantwoord in een studie met Californische heilbotlarven (*Paralichthys californicus*) (Gisbert *et al.*, 2003). De laagste mortaliteitscijfers werden bekomen bij de larven die hun eerste voeding kregen op de derde tot vijfde dag. Een

sterke stijging van de mortaliteit trad op wanneer op de zesde dag werd gevoederd. Geen enkele larve overleefde wanneer pas na de zevende dag gevoederd werd. Hieruit kan besloten worden dat 'the point of no return' bereikt wordt vier dagen na de volledige absorptie van de dooier, wat bij de larven van de voorgenomen studie op de derde dag gebeurde (Gisbert *et al.*, 2003).

Dit punt wordt bereikt wanneer de eerste voederbeurt zo lang wordt uitgesteld dat de cumulatieve ef-

fecten van uithongering irreversibel worden en vijftig procent van de larven nog leeft maar niet meer in staat is om voedsel op te nemen als het aanwezig zou zijn (Blaxter en Hempel, 1963). Het tijdstip waarop 'the point of no return' optreedt, hangt af van de vissoort, de periode van de dooierzakresorptie, de algemene nutritionele status van de gekweekte vissen en de opfoktemperatuur (Pena en Dumas, 2005). Zo wordt dit punt bij ansjovislarven bereikt anderhalve dag na de dooierzakresorptie, terwijl dit pas na vier dagen wordt vastgesteld bij de geelrugzeebaars (*Dentex tumifrons*) (Lasker *et al.*, 1970; Xia *et al.* 2004).

Bij de gevlekte zandbaarslarven (*Morone saxatilis*) neemt de hoeveelheid voedselopname toe wanneer de eerste voedingsbeurt wordt uitgesteld tot net vóór 'the point of no return' bereikt wordt. Dit kan verklaard worden door de reeds verder gevorderde ontwikkeling van het gastro intestinaal stelsel en van het visueel vermogen en de toename van de zwemactiviteit (Pena en Dumas, 2005).

'The point of no return' wordt eveneens aanzien als het einde van het leerproces van de vis om voor het eerst exogeen voedsel op te nemen. Dit proces begint bij het openen van de mond tot de eerste voedselopname. Ook de voedseldensiteit is hierbij belangrijk, want bij een lage densiteit weten enkel de krachtigste larven te overleven en ondervinden ze zelfs een gunstige groei, wat in latere stadia tot predatie kan leiden (Parra en Yufera, 1999).

CONCLUSIE

De steeds toenemende vraag naar zeevissen als voedselbron en de overbevissing van de zeeën hebben in de laatste decennia een belangrijke evolutie veroorzaakt in de aquacultuursector. Binnen de aquacultuur dient evenwel nog zeer veel onderzoek te gebeuren om een optimaal larvale opkweek te bekomen. Het voedingsregime binnen de larvicultuur speelt een belangrijke rol. Daarbij kunnen de productiekosten beperkt worden door de exogene voedingsfase uit te stellen. Hierbij dient wel rekening gehouden te worden met de nadelige effecten van de voedselonthouding op de larve. Door het in kaart brengen van 'the point of no return' en de leeftijdsafhankelijke tolerantie bij de verschillende vissoorten en verschillende opkweekomstandigheden, zoals temperatuur, kunnen deze nadelige effecten geminimaliseerd worden.

Er dient opgemerkt te worden dat veel gegevens steunen op histologische bevindingen, zoals de hoogte van de enterocyten en de aanwezigheid van supranucleaire vacuoles en vaak voortkomen uit een klein aantal studies uitgevoerd bij één bepaalde vissoort. De monsternamen, het fixatieproces, de exacte plaats waar het preparaat wordt aangesneden, de eventuele kleuring en de grote individuele verschillen binnen een bepaalde vissoort oefenen alle een grote invloed uit op het uiteindelijke resultaat. Het is dus van groot belang om toevalsbevindingen te onderscheiden van significante resultaten en niet te snel tot conclusie over te gaan.

Tenslotte behelst een van de meest kritieke knel-

punten binnen de aquacultuur het gebruik van levend voer voor de opkweek van vissen. De sector is zo sterk geëvolueerd dat de traditionele levende voedingsstoffen uitgeput raken. Verder onderzoek naar de vele voordelen die de introductie van Copepoda in het vislarvendieet met zich meebrengt, dient zeker extra aandacht te krijgen en is een van de vele stappen in de goede richting naar een duurzame aquacultuur.

DANKWOORD

De auteurs willen hun dank betuigen aan Prof. dr. P. Simoens voor zijn vakkundige adviezen, aan Dhr. E. Maes voor zijn technische assistentie en aan dr. B. Chen voor het verschaffen van histologische beelden van het spijsverteringskanaal van de geelstaartkoningvis.

LITERATUUR

- Barrow F.T. en Rust M.B. (2000). Larval feeding. *Encyclopedia of Aquaculture*, 465-469.
- Bisbal G.A., Bengtson D.A. (1995). Description of the starving condition in summer flounder, *Paralichthys dentatus*, early life history stages. *Fishery Bulletin* 93-2, 217-230.
- Blaxter J., Hempel G. (1963). The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). *Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer* 28, 176-181.
- Chatain B. (1997). Development and achievements of marine fishrearing technology in France over the last 15 years. *Hydrobiologia* 358, 7-11.
- Chen B.N., Qin J.G., Carragher J.F., Clarke S.M., Kumar M.S., Wayne G. Hutchinson W.G. (2007). Deleterious effects of food restrictions in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* during early development. *Aquaculture* 271, 326-335.
- Crespo S., Marin de Mateo M., C.A. Santamaria C.A., Sala R., A. Grau A., Pastor E. (2001). Histopathological observations during larval rearing of common dentex, *Dentex dentex*. *Aquaculture* 192, 121-132.
- Darias, M.J., Zambonino-Infante, J., Hugot, K., Cahu, C., Mazurais, D. (2008). Gene expression patterns during the larval development of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) by microarray analysis. *Marine. Biotechnology* 10, 416-428.
- Dhert P., Sorgeloos P., Devreese B. (1993). Contributions towards a specific DHA enrichment in the live food *Brachionus plicatilis* and *Artemia* sp. *Fish Farming Technology*, 109-115.
- Dhert P., Lim L.C., Candreva P., Van Duffel H., Sorgeloos P. (1997). Possible applications of modern fish larviculture technology to ornamental fish production. *Aquarium Sciences and Conservation*, 1, 119-128.
- Douglas S.E., Gawlicka A., Mandla S., Gallant J.W. (1999). Ontogeny of the stomach in winter flounder: characterization and expression of the pepsinogen and proton pump genes and determination of pepsin activity. *Journal of Fish Biology* 55, 897-915.
- FAO, Fisheries and Aquaculture Department, (2008). The state of world fisheries and aquaculture 2008.
- Gisbert E., Doroshov S. I. (2003). Histology of the developing digestive system and the effect of food deprivation in larval green sturgeon (*Acipenser medirostris*). *Aquaculture* 192, 121-132.

- Gisbert E., Conklin D.B., Piedrahita R.H. (2003). Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. *Journal of Fish Biology* 64, 116-132.
- Govoni J.J., Boehlert G.W., Watanabe Y. (1986). The physiology of digestion in fish larvae. *Environmental Biology of Fishes* 16, 59-77.
- Hunter J.R. (1972). Swimming and feeding behavior of larval anchovy *Engraulis mordax*. *Fishery Bulletin* 70, 821-838.
- Kamler, E. (1992). Early life history of fish: an energetic approach. *Fish and fisheries series* 4, 267.
- Kraul S., Brittain K., Cantress R., Nagao T., Ako H., Ogawara A., Kitagawa H. (1993). Nutritional factors affecting stress resistance in the larval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *Journal of World Aquaculture Society* 24, 186-193.
- Lasker R., Feder H.M., Theilacker G.H., May R.C. (1970). Feeding, growth and survival of the *Engraulis mordax* larvae reared in the laboratory. *Marine Biology* 5, 345-353.
- Lavens P., Sorgeloos P. (2000). The history, present status and prospects of availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture* 181, 397-403.
- Parra G., Yufera M. (1999). Feeding, physiology and growth responses in first-feeding gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae in relation to prey density. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 243, 1-15.
- Pena R., Dumas S. (2005). Effect of delayed first feeding on development and feeding ability of *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Journal of Fish Biology* 67, 640-651.
- Planas M., Cunha I. (1999). Larviculture of marine fish: problems and perspectives. *Aquaculture* 177, 171-190.
- Ronnestad I., Thorsen A., Finn R.N. (1999). Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acids. *Aquaculture* 177, 201-216.
- Ronnestad I., Tonheim S.K., Fyhn H.J., Rojas-Garcia C.R., Kamiska Y., Koven W., Finn R.N., Terjesen B.F., Barr Y., Conceição L.E.C. (2003). The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings. *Aquaculture* 227, 147-164.
- Sorgeloos P., Dhert P., Candreva P. (2001). Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture* 200, 147-159.
- Stottrup J.G. (2000). The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquaculture Research* 31, 703-711.
- Theilacker G.H., Watanabe Y. (1989). Midgut cell height defines nutritional status of laboratory raised larval northern Anchovy, *Engraulis mordax*. *Fishery Bulletin* 87-83, 457-469.
- Theilacker G.H., Porter S.M. (1989). Condition of larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the western Gulf of Alaska assessed with histological and shrinkage indices. *Fishery Bulletin* 93, 333-344.
- Tindemans D., Rekecki A., Van den Broeck W. (2010). Ontwikkeling van het maagdarmstelsel bij het zeepaardje (*Hippocampus erectus* P.). *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 79, 207-212.
- Treece D. (2000). Zooplankton culture. *Encyclopedia of Aquaculture*, 1038-1040.
- Treece D. (2000). Brine shrimp culture. *Encyclopedia of Aquaculture*, 128-136.
- Watanabe Y. (1984). Histological changes in the liver and intestine of freshwater goby larvae during short-term starvation. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 51 (5), 707-709.
- Xia L.-J., Shi Z.-H., Lu J.-X. (2004). Experimental starvation on *Dentex tumifrons* larvae and definition of the point of no return. *Marine Fisheries* 2004 (04).
- Zambonino, J., Cahu, C., Villeneuve, L., Gisbert, E. (2005). Nutrition, development and morphogenesis in fish larvae: some recent developments. *Aqua Feeds: Formulation & Beyond* 2 (1), 3-5.