

LotaPLUS



Controle over de voortplanting van de zoetwaterkabeljauw om het pootvisaanbod te vergroten

Jurgen Adriaen

Odisee
DE CO-HOGESCHOOL



AQUA-ERF

DuBiT

**ASSOCIATIE
KU LEUVEN**

Inhoudstafel

Samenvatting.....	3
Projectgegevens.....	4
Begeleidingscommissie.....	5
Situering en doelstellingen.....	6
1. Opzet voortplantingsruimte.....	8
1.1. Koelcellen.....	8
1.2. Kweekstelsel vissen.....	8
1.3. Incubatorcel.....	9
2. Voortplantingsonderzoek op Aqua-ERF.....	10
2.1. Broeddieren.....	10
2.2. Voortplanting.....	10
2.3. Voortplantingsproeven.....	11
2.3.1. Proef 1: februari-maart 2019.....	11
2.3.2. Proef 2: november 2019.....	13
2.3.3. Proef 3: februari-maart 2020.....	13
3. Voortplantingsactiviteiten bij Belgische kwekerijen.....	16
4. Larvale opkweek.....	17
4.1. Pootvisproductie.....	17
4.2. Larvale proef.....	18
5. Verder verloop met nationale en internationale stakeholders.....	19
6. Relevantie.....	20
6.1. Relevantie m.b.t. onderwijs.....	20
6.2. Relevantie m.b.t. werkveld.....	21
 Bijlage:	
Output PWO LotaPLUS.....	22
Referenties.....	24

Samenvatting

Om verder te kunnen groeien zal de opkomende kweeksector rond zoetwaterkabeljauw nood hebben aan een stabiele en kwaliteitsvolle pootvisaanbod. De afgelopen jaren werd er op het Aqua-ERF pootvis geproduceerd voor de sector startend met aangekochte larven uit Duitsland. Maar voor redenen zoals selectie, kwaliteit, en zekerheid van aanbod is het interessant voor kwekers om larven te bekomen uit een eigen kweekprogramma. Aqua-ERF wilde met dit project de ontbrekende soortspecifieke kennis en ervaring omtrent voortplanting van de zoetwaterkabeljauw opbouwen en overbrengen naar de commerciële kwekers in België.

Heel belangrijk bij de voortplanting van de zoetwaterkabeljauw is de temperatuur, aangezien deze vis in de natuur pas gaat paaien bij temperaturen onder de 4°C en indien het voorafgaande temperatuursverloop ook gunstig was. Om deze omstandigheden te kunnen nabootsen werden samen met DuBiT (Odisee) koelcellen op het Aqua-ERF geïnstalleerd waarmee we het licht en de watertemperatuur kunnen moduleren. Zo konden we op zoek gaan naar de specifieke omstandigheden voor een optimale voortplanting. De installatie van deze koelcellen liep soms stroef en heeft vertragingen opgelopen, wat een invloed heeft gehad op het verloop van de projectonderzoeken.

Hoewel we in de afgelopen twee jaar succesvol bevruchte eitjes hebben verkregen in onze eerst voortplantingspogingen op het Aqua-ERF, hebben we die niet verder kunnen laten ontwikkelen tot larven. Naast bepaalde problemen met de infrastructuur, zijn er misschien toch nog onderliggende factoren in ons voortplantingsprotocol die niet optimaal zijn en waar onze proeven (hormonale behandelingen, voeding, temperatuursverloop,...) niet besluitend genoeg over zijn. De vissen waren misschien nog te jong, waardoor de kwaliteit van de eitjes nog niet optimaal was en hoewel de gegeven voeders specifiek gebruikt worden voor voortplanting bij andere commerciële vissoorten, ontbreken er misschien specifieke nutriënten die de zoetwaterkabeljauw wel nodig heeft voor de optimale ontwikkeling van de gonaden. Een andere kanttekening is dat de afgestreeken eitjes en/of zaad misschien kwaliteitsverlies hebben geleden door stress ten gevolge van bepaalde manipulaties (catherisatie e.a.), die we wel zo beperkt mogelijk hebben gehouden, tijdens het onderzoek.

Met het nieuw project "ReproLota", gefinancierd door het Europees Fonds voor Maritieme Zaken en Visserij, zullen we de onderzoekslijn omtrent de voortplanting bij de zoetwaterkabeljauw kunnen doortrekken en misschien deze euvels kunnen oplossen.

Hierdoor zullen we ook een ondersteunende rol blijven spelen naar de sector toe waar er nog altijd knelpunten zijn voor het doorbreken van de commerciële kweek van zoetwaterkabeljauw, waaronder het pootvisaanbod. Naast het presenteren van resultaten en de opmaak van een handleiding omtrent de voortplanting van de zoetwaterkabeljauw is er ook gedurende dit project rechtstreeks kennis doorgegeven aan bedrijven zoals o.a. Aqualota. Dit bedrijf is dit jaar gestart met de commerciële productie van pootvis in de larvale faciliteiten van Aqua-ERF.

Projectgegevens

Projecttitel:

Controle over de voortplanting van de zoetwaterkabeljauw om het pootvisaanbod te vergroten

Looptijd: 1 januari 2018-31 augustus 2020

Projectleider: Jurgen Adriaen

Medewerkers: Thomas Abeel, Joachim Claeyé, Joost Rekkers, Wouter Meeus, Stef Aerts, Heidi Arnouts, Bart Van Delsen, Tim Verheyden, Michael Dubois

Contact: jurgen.adriaen@odisee.be

Onderzoeksgroep/pleidingen:

*Aqua-ERF; Agro- en Biotechnologie, Campus Sint-Niklaas

*DuBiT, Elektromechanica, Campus Aalst

Partners:

*Alain Halleux, Pisciculture Le Chabotais

*dr. Daniel Zarski

Project gesteund met de PWO-middelen van Odisee

Begeleidingscommissie

- Jurgen Adriaen
Projectleider, onderzoeker Aquacultuur, Aqua-ERF
- Bart Van Delsen
"Docent en Onderzoeker Handelswetenschappen en Bedrijfskunde, Odisee
- Dirk Smits
Directeur Onderzoek en Projectbeheer, Odisee
- Stefanie Beghein
Verantwoordelijke onderzoek IWT – Agro- en Biotechnologie, Odisee
- Stef Aerts
Opleidingshoofd Bachelor Agro- en Biotechnologie , Odisee
Verantwoordelijke onderzoek Ethiek & Aquacultuur, Odisee
- Wouter Meeus
Onderzoeker Aquacultuur, Aqua-ERF
- Jiri Bossuyt
CTO Fish2Be
- Charles Fransman
PhD-kandidaat KUL/Aqua4C

De begeleidingscommissie is samengekomen op:

* 26/04/2018

* 13/06/2019

Situering en doelstellingen

Mede dankzij het PWO-project LotaBEL zijn er de afgelopen jaren verschillende commerciële kweekinitiatieven opgestart met de zoetwaterkabeljauw. Maar één van de mogelijke remmende factoren voor een verdere ontwikkeling van deze sector is het pootvisaanbod. Aqua-ERF heeft de afgelopen jaren pootvis geproduceerd startend met larven vanuit Duitsland. Maar meeste larven geproduceerd in het buitenland komen uit herintroductieprojecten, waar er geen selectie is op productie-eigenschappen, of ze worden bekomen van wilde populaties. Kweken met “wilde” ouderdieren verhoogt de kans op het binnenbrengen van pathogenen in je kwekerij. Door ouderdieren vanuit je eigen kweek te selecteren vermijdt je dit en kun je door genetische vooruitgang de productie verbeteren op aspecten zoals groei, gezondheid en productkwaliteit. Maar omdat de soortspecifieke kennis en ervaring omtrent voortplanting van de zoetwaterkabeljauw bij Aqua-ERF en de commerciële kwekers ontbrak wilde Aqua-ERF via dit project deze leemte invullen.

De voortplanting van de zoetwaterkabeljauw wordt vooral gekenmerkt door het paaien in water met temperaturen lager dan 4°C. In Europa werken kwekerijen vooral met voortplanting op natuurlijke wijze. Maar hiervoor is de kweker afhankelijk van de natuurlijke temperatuursverlopen, die niet altijd optimaal zijn voor de voortplanting met als gevolg wisselende en soms geen paairesultaten (Zarski et al. 2010). Dit creëert een onstabiele situatie voor de opkomende sector rond zoetwaterkabeljauw.

Aangepaste kweeksystemen met volledige controle over de temperatuur- en het lichtregime moesten Aqua-ERF in staat stellen om de zoetwaterkabeljauw te laten voortplanten zonder afhankelijk te zijn van de natuur. In deze opstelling konden we ook het effect van bepaalde temperatuurprotocols, die verschillen in bijvoorbeeld de snelheid van de temperatuursdaling, op het paaien vergelijken.

In de literatuur vinden we ook indicaties dat je bij de zoetwaterkabeljauw, zoals bij andere soorten, het afleggen van de eitjes kunt stimuleren door gebruikt te maken van hormonen. Deze toepassing zou ook zorgen voor een betere synchronisatie van het paaien, waardoor de verschillende vissen hun eieren vooral op één moment afleggen. Dit vergemakkelijkt niet alleen de arbeidsbeheer tijdens de paaiperiodes, maar brengt ook een voordeel op ten opzichte van de latere larvale kweek, waar er minder grootteverschillen aanwezig zullen zijn tussen de larven. Hierdoor vermindert de kans op kannibalisme (Palinska-zarska et al. 2013). Daarom werd er in dit project ook onderzocht of de toediening van bepaalde hormonen een invloed had op de paairesultaten.

Naast het verhogen van de pootvisproductie, verlangt de sector ook naar een verspreiding van het aanbodmoment. Dit zou moeten leiden tot een daling van de gemiddelde vaste kosten in hun opkweek. Daarnaast brengt het werken met vissen die maar één keer per jaar paaien ook een groter financieel risico met zich mee voor de kwekers indien er dat jaar problemen zijn met de pootvisproductie. Onder natuurlijke omstandigheden plant de zoetwaterkabeljauw zich namelijk maar één keer per jaar voor. Bij meeste vissoorten waar de voortplanting onder kunstmatige omstandigheden kan uitgevoerd worden, kunnen de ouderdieren in verschillende seizoenen gehouden worden waarmee je het pootvisaanbod kunt verspreiden. Odisee wilt ook dit “out of season”-spawning of buitenseizoenpaaien bij de zoetwaterkabeljauw onderzoeken.

Situering en doelstellingen

Om bovenstaande onderzoeksdoelstellingen te behalen werden nieuwe kweeksystemen en koelinstallaties in samenwerking met DuBiT (Odisee) ingericht op het Aqua-ERF . De opgelopen kennis en resultaten uit dit project moesten uitmonden in een voortplantingsprotocol die dan door kwekers op hun eigen kwekerijen toegepast kan worden. Op deze manier wilde Odisee de commerciële pootvisproductie bij Belgische kwekers stimuleren en ondersteunen.

1. Opzet Voortplantingsruimte

Omdat de zoetwaterkabeljauw zich voortplant wanneer de watertemperatuur minder dan 4°C bedraagt hebben we in samenwerking met DuBiT drie koelcellen opgebouwd op het Aqua-ERF. In deze koelcellen kunnen we de temperatuur- en het lichtregime instellen zodat die zoveel mogelijk het natuurlijke bioritme kan nabootsen. De drie koelcellen gaven ons ook de mogelijkheid om verschillende temperatuursverlopen te vergelijken en een paaiperiode te plaatsen buiten het normaal seizoen. Naast de drie koelcellen werd ook een incubatorcel opgezet waar de bekomen eitjes kunnen ontluiken in water aan 4°C .

1.1. Koelsysteem

Door te werken met drie aparte tanken per koelcel is er ook gekozen geweest om de temperatuur van het kweekwater te regelen door middel van luchtkoeling. Op deze manier zullen we ook minder fluctuaties hebben in de temperatuur van het kweekwater bij het aan- en afslaan van de koelinstallaties waar er een veiligheidshysteresis ingesteld is. Door verschillende omstandigheden heeft de installatie van de voortplantingsruimte meer tijd nodig gehad dan voorzien en zijn er technische problemen geweest die een invloed hebben gehad op het verder verloop van de projectonderzoeken.



Figuur 1: Binnenzicht van een koelcel

1.2. Kweekstelsel vissen

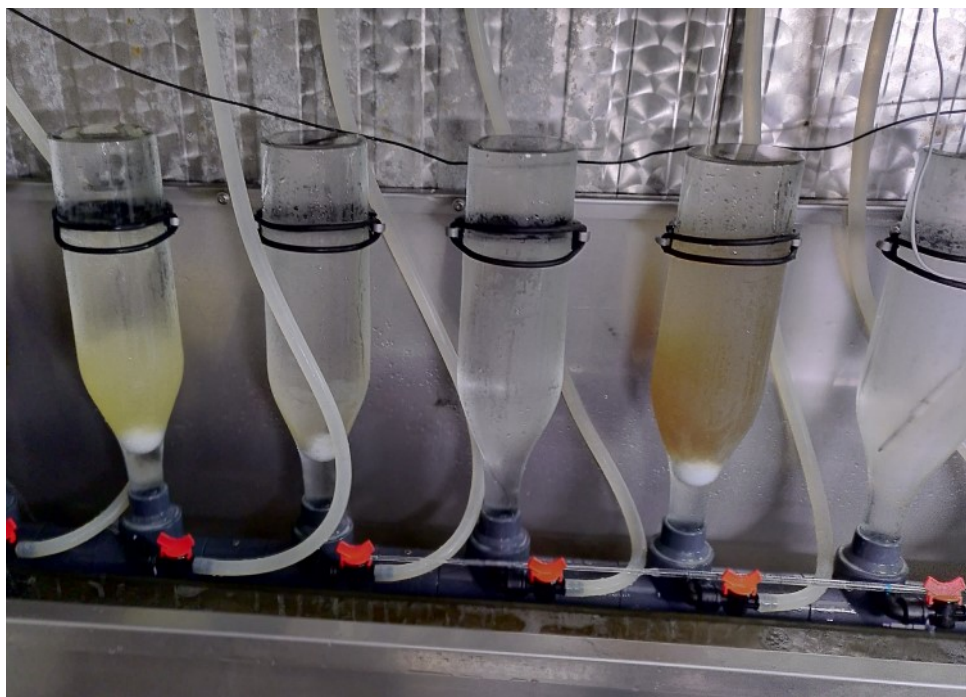
In elke koelcel kwamen er drie vistanken zodat er een extra factor onderzocht kon worden in de onderzoekopstelling. Na gesprekken met statistieker Heidi Arnouts (Odisee) en stuurgroep lid dhr. Fransman (Aqua4C), die voor zijn eigen doctoraatsonderzoek rond de voortplanting van de jadebaars met individuele tanken werkt, werd er ook gekozen om elke tank zijn eigen biofilter te geven. Zo konden we een grotere statistische power bekomen. Figuur 2 toont de opstelling van één kweektank.



Figuur 2: Individuele tankopstelling met eigen biofilter

1.3. Incubatorcel

De eitjes van de zoetwaterkabeljauw zouden ongeveer een 30-40 dagen geïncubeerd (Figuur 3) moeten worden in kweekwater van 4°C. In het eerste jaar van het project moesten we het kweekwater van de incubatorcel op temperatuur houden door het water via een koelcel van de vissen te regelen. Dit zorgde voor wat temperatuursfluctuaties waardoor we ook de verversingsgraad moesten verlagen. Hierdoor was de waterkwaliteit voor de verdere ontwikkeling van de eitjes niet optimaal. Dankzij de financiële steun voor onderzoeksinfrastructuur van Vlaio hebben we de incubatorcel kunnen upgraden met een eigen koelinstallatie alsook de installatie van een buffervat met koeler waarmee we het water van de incubatoren en de vistanken gemakkelijk kunnen verversen zonder teveel temperatuurflectuatties te veroorzaken.



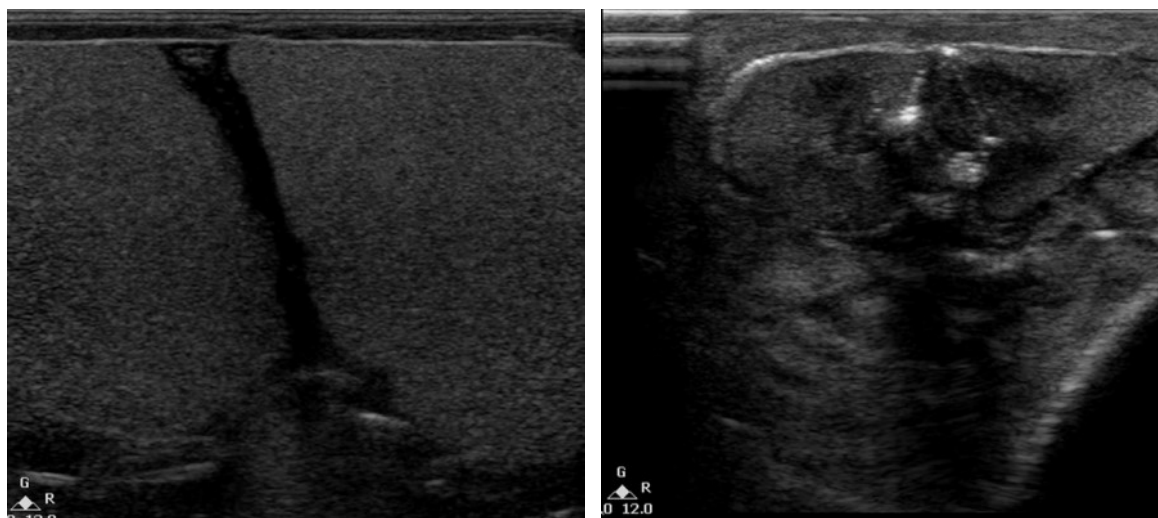
Figuur 3: Eierincubatoren

2. Voortplantingsonderzoek op het Aqua-ERF

2.1. Broeddieren

De snelste groeiers uit de pootvisproductie van 2016 op het Aqua-ERF, opgestart met aangekochte larven van Bezirk Niederbayern, werden bijgehouden met het oog op reproductie. Deze vissen hebben we getracht in zoverre mogelijk elk jaar een natuurlijke wintercyclus te laten ondergaan. Maar aangezien Aqua-ERF toen nog niet over een passend koelsysteem beschikte, moest hiervoor soms geïmproviseerd worden en gebruikt gemaakt worden van de buitentemperatuur. Ondanks de beperkte vriesdagen zijn we soms toch onder de 5° C geraakt. Na het eerste paaiseizoen (2019) zijn er wat vissen gestorven. Navraag bij andere kwekers geeft aan dat zo een uitval na een paaiseizoen niet abnormaal is. Om het aantal vissen weer aan te vullen voor het tweede paaiseizoen van 2020 werden vissen teruggehaald van bij kwekerij Aqualota. Deze vissen waren afkomstig van de groep snelgroeiers uit de pootvisproductie op het Aqua-ERF van 2017.

Aangezien er bij de zoetwaterkabeljauw geen externe geslachtskenmerken zijn, werd via echografie het geslacht van de broeddieren bepaald. Figuur 4 toont ultrasoonbeelden van een mannelijk en vrouwelijke zoetwaterkabeljauw. Bij het vrouwtjes zien we twee grote grijze zones die de ovariën zijn. Bij het mannetje zien we twee irreguliere grijze zones die de testis weergeven. De vissen werden ook gechipt zodat elke vis individueel opgevolgd kon worden.



Figuur 4: Ultrasoon beelden van vrouwelijke (links) en mannelijke (rechts) zoetwaterkabeljauw

2.2. Voortplanting

De zoetwaterkabeljauw waar Aqua-ERF mee kweekt is van Beierse afkomst. Daar paait de vis in de natuur in de periode van december tot maart afhankelijk van de temperatuur. Om de voortplanting en verdere larvale kweek optimaal te kunnen uitvoeren werd de temperatuur en licht zo afgesteld dat de paai-periode in februari-maart zou vallen. Op basis van literatuur (Zarski et al. 2010, 2014; Kucharczyk et al. 2018) hebben we een temperatuursverloop uitgestippeld die we gebruiken als basisverloop met de temperatuursdrop onder de 4°C in de begindagen van februari. Voor het lichtregime hebben we gebruik gemaakt van data met betrekking tot zonsondergang en -opgang in Lindberg (Niederbayern)

waar er met deze genetische lijn van zoetwaterkabeljauw succesvol eitjes worden verkregen. Er kan geopteerd worden om de vissen spontaan te laten paaien in de tanken en de bevruchte eieren uit de tanken te halen. Er is hier wel het risico dat het mannetje de afgelegde eitjes van het vrouwtje niet bevrucht en ook moet de kweker bij deze methode de tanken een paar keer per dag checken. Bij artificiële reproductie gaan we proberen het vrouwtje te strippen wanneer we denken dat het vrouwtje klaar is en deze eitjes te bevruchten met afgestreken zaad; Op deze manier weten we ook zeker van welk specifiek vrouwtje de eitjes zijn en kunnen we de paaiparameters en de verdere ontwikkeling van deze eitjes terugkoppelen naar het specifiek vrouwtje en de onderzoeksbehandeling die ze kreeg. Meer specifieke details en handelingen uit te voeren bij de voortplanting van de zoetwaterkabeljauw zijn terug te vinden in de handleiding "Voortplanting van de zoetwaterkabeljauw" opgemaakt door Odisee in kader van dit project.

2.3. Voortplantingsproeven

Door de opstelling van drie koelcellen met daarin elk drie aparte tanken hebben we op hetzelfde moment twee verschillende factoren in hetzelfde proefverloop kunnen uittesten. De proeven, met uitzondering van het buitenseizoenpaaien, werden uitgevoerd zodat het paaimoment (februari-maart) ongeveer samenviel met het natuurlijk paaimoment. Gedurende het projectverloop werden drie proeven uitgevoerd waarbij volgende parameters opgevolgd werden:

- Lengte en gewicht van de ouderdieren
- De ontwikkeling van de oöcyten
- Dag van ovulatie
- Zaadlozing
- Fecunditeit (Gewicht eitjes/ gewicht van het vrouwtjes)
- Fertilisatie (aantal eitjes die 24uur na bevruchting leefbaar zijn, Dit gebeurde in een aparte opstelling met 12 eitjes in een well plate)

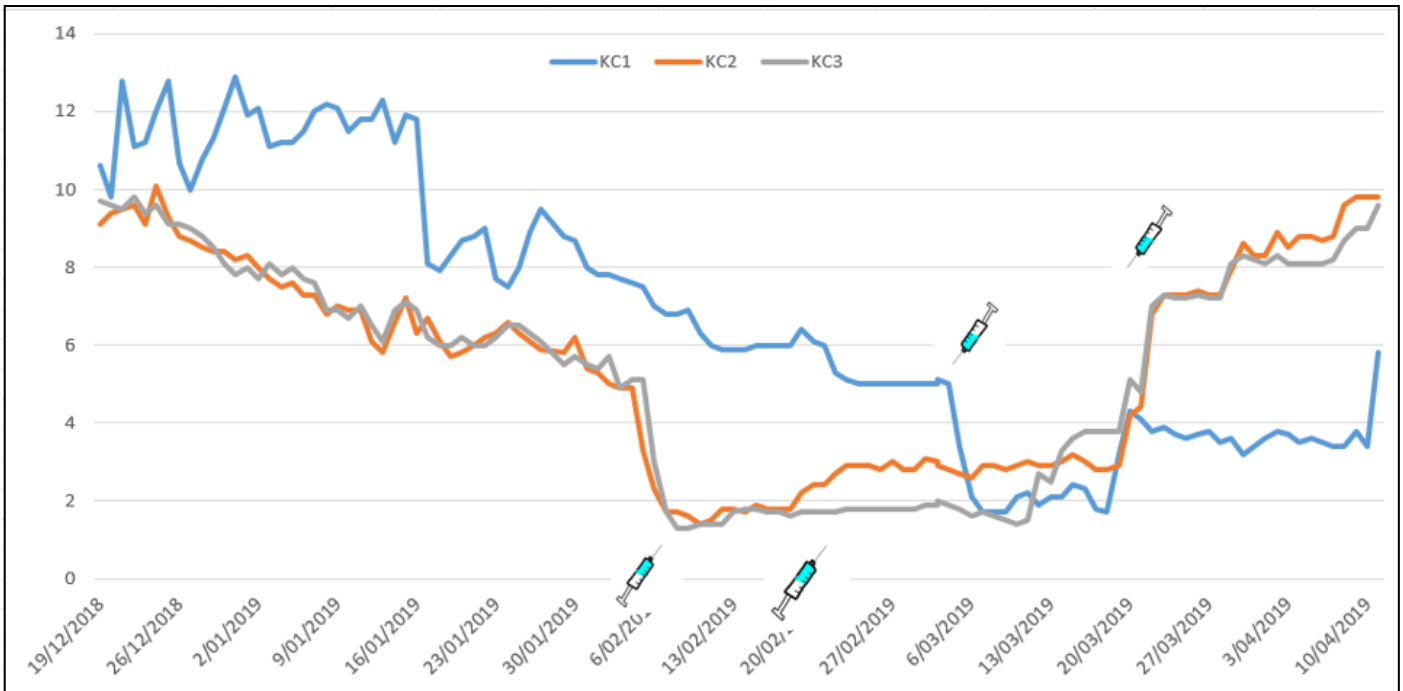
2.3.1 Proef 1: februari-maart 2019

- Hormonale stimulatie

Bij vele gekweekte vissoorten wordt er gebruikt gemaakt van hormonale stimulaties om meer controle te krijgen over het paaien. Het gebruik van hormonen zou de ovulatie kunnen versnellen en deze eventueel meer voorspelbaar maken, waardoor de kweker zijn activiteiten beter kan organiseren. Hormonen zouden ook zorgen voor een betere synchronisatie van het paaien, waardoor de verschillende vissen hun eieren rond hetzelfde moment afleggen (Kurcharczyk et al. 2018). In deze proef vergeleken we twee hormonen die courant gebruikt worden in de aquacultuur, namelijk sGnRHa (Salmon Gonadotrophin-Releasing Hormone analogue) en HCG (Human Chorionic Gonadotrophin). Aangezien er na twee weken bij sommige vissen weinig evolutie te observeren was in de ontwikkeling van de oöcyten, kregen sommige vissen een tweede injectie van het desbetreffende hormoon of controle.

- Temperatuursverloop

Een studie (zarski) toont aan dat er verschillen zijn in de jaarlijkse paaiprestaties van de zoetwaterkabeljauw onder natuurlijke omstandigheden die waarschijnlijk te wijten zijn aan de verschillende temperatuursverlopen over de jaren heen. In deze proef kreeg elke koelcel een verschillende temperatuursverloop (Figuur 5). Door technische problemen bij koelcel 3 (KC3) is de plotse temperatuurdaling naar 1.5°C pas een maand later dan bij de anderen uitgevoerd.



Figuur 5: Temperatuursverlopen en injectieschema van proef 1

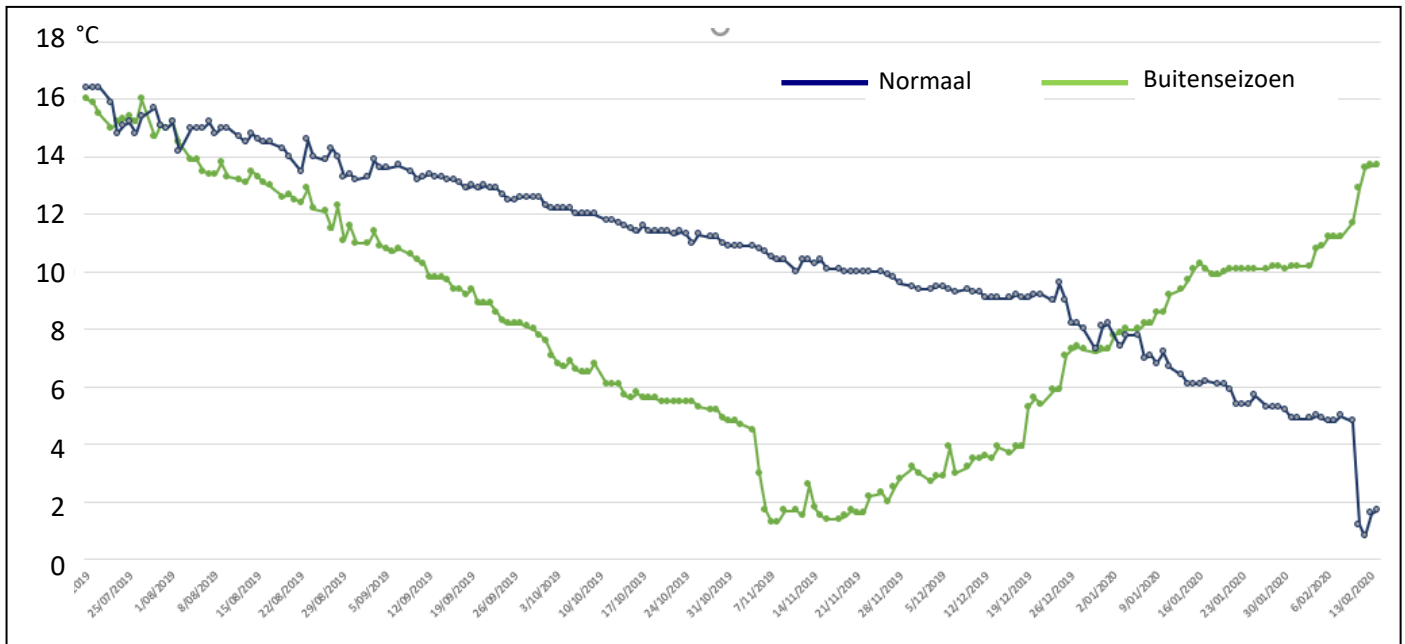
Resultaat

Het eerste vrouwtje begon te ovuleren tien dagen na de eerste injectie met sGnRHa, terwijl het vrouwtje met de laatste geobersveerde ovulatie dat deed op dag 40 na de 1ste injectie. De hoogste frequentie aan ovulerende vrouwtjes gebeurde tussen dag 22 en dag 40. In totaal hebben 46 van de 65 vrouwtjes (71%) gedurende deze proef geovuleerd en alhoewel de hoogste paaipercentage bekomen werd bij visen behandeld met sGnRHa, vonden we geen significant effect tussen de verschillende behandelingen (met of zonder hormoon, tussen de hormonen, met 1 of twee injectie). Ook tussen de drie verschillende temperatuursverlopen en de interactie tussen de hormonale behandelingen en de temperatuursverlopen werden er geen significante verschillen gevonden. Temperatuur, hormonale behandelingen en de interactie tussen de twee hadden geen significante invloeden op de fecunditeit. De resultaten geven aan dat het gebruik van sGnRHa mogelijk leidt tot het vroeger en meer synchroniek bekomen van bevruchte eitjes. Door technische problemen kon het verder verloop van de embryonale en larvale ontwikkeling niet opgevolgd worden en daardoor ook het effect van de verschillende behandelingen op deze ontwikkelingen niet nagegaan worden. Voor meer informatie betreffende deze proef, verwijzen we graag naar de presentatie "Effect of temperature and different spawning agents on reproduction success of burbot in captivity" van Adriaen et al. 2019.

2.3.2 Proef 2: november 2019

-Buitenseizoenspaaien

Het verspreiden van het pootvisaanbod over het jaar kan de opkweek financieel interessanter maken. Maar om pootvis op verschillende momenten te kunnen produceren, moet eerst de paaiperiode ook buiten het seizoen bekomen kunnen worden. In deze proef werd in één koelcel een versnelde licht- en temperatuursprotocol (Figuur 6) ingesteld zodat de paaiperiode van de vissen, normaal gezien februari, verplaatst werd naar november.



Figuur 6: Temperatuursverlopen proef 2

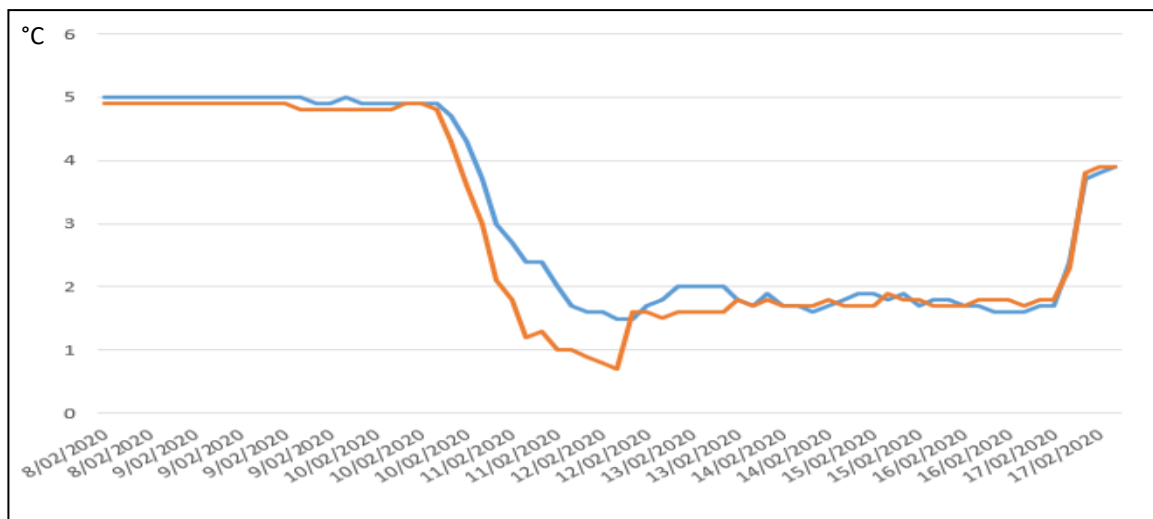
Resultaat:

Zowel de vrouwelijke als de mannelijke zoetwaterkabeljauwen hebben in deze periode geen gameten afgegeven. Hoewel de vissen een hormonale behandeling hebben gekregen zagen we maar een beperkte ontwikkeling van de oocyten. Hypothese is dat het verkorten van 12 maanden naar 9 maanden tussen twee paaiperiodes in misschien te fors was. Maar misschien zullen deze vissen dit najaar wel paaien in november nadat ze een volledige jaarcyclus hebben kunnen volgen en er een normale ontwikkeling zou kunnen plaatsvinden van hun geslachtsklieren.

2.3.3 Proef 3: februari-maart 2020

-Temperatuurdrop

Een plotse daling van de temperatuur in het winterseizoen zou de trigger zijn om de laatste fase van het ontwikkelingsproces van de oöcyten en het ovuleren in te leiden (Zarski et al. 2010). In deze proef wilden we achterhalen of er een effect zou zijn om lager te gaan dan de temperatuur van de proef in 2019. Aan de start van de verwachte paaiperiode werd de temperatuur bij KC2 en KC3 snel gedropt van 5°C naar respectievelijk 1.5°C en 0.5°C om na te gaan of dit een effect had op bepaalde paaiprestaties.



Figuur 7: Temperatuurdrops proef 3

Resultaat:

Vergelijken we de paairesultaten van de twee verschillende temperatuurdrops dat zien we geen significante verschillen. Bij de vrouwtjes zien we een zelfde percentage ovulaties (58%), maar zien we dat de vrouwtjes met de temperatuurdrop tot 1.4°C een gemiddeld hogere fecunditeit hebben (16.3% vs 11.6%) en gemiddeld twee dagen vroeger afgestreden kunnen worden. Bij de mannen zien we dat meer vissen zaad gegeven hebben, maar dit verschil was niet significant.

-Voeder

Verschillende studies hebben al aangetoond dat voeding tijdens de ontwikkeling van de gonaden een belangrijke rol speelt op de kwaliteit van de bevruchting, de embryonale en larvale ontwikkeling (Izquierdo et al. 2001). Elke vissoort heeft zijn specifieke behoeften en tot op heden is er geen specifiek voeder voor de zoetwaterkabeljauw. In deze proef werden drie verschillende commerciële voeders specifiek voor voortplanting uitgetest om het effect op de paairesultaten te vergelijken. Voeder A (gebruikt voor zeebaars en zeebrasem) bevat een grotere hoeveelheid omega-3 vetzuren (Eicosapentaeenzuur (EPA); Docosahexaeenzuur (DHA)) dan voeder B (gebruikt voor stuur) en voeder C (gebruikt voor verschillende soorten in RAS-systemen). Tabel 1 toont de algemene en de vetzuursamenstelling van de drie commerciële voeders. Aan de hand van FAME-analyses, uitgevoerd aan de Ugent, werd ook de invloed van de verschillende voeders op de vetzuursamenstellingen van de afgestreden eitjes vergeleken.

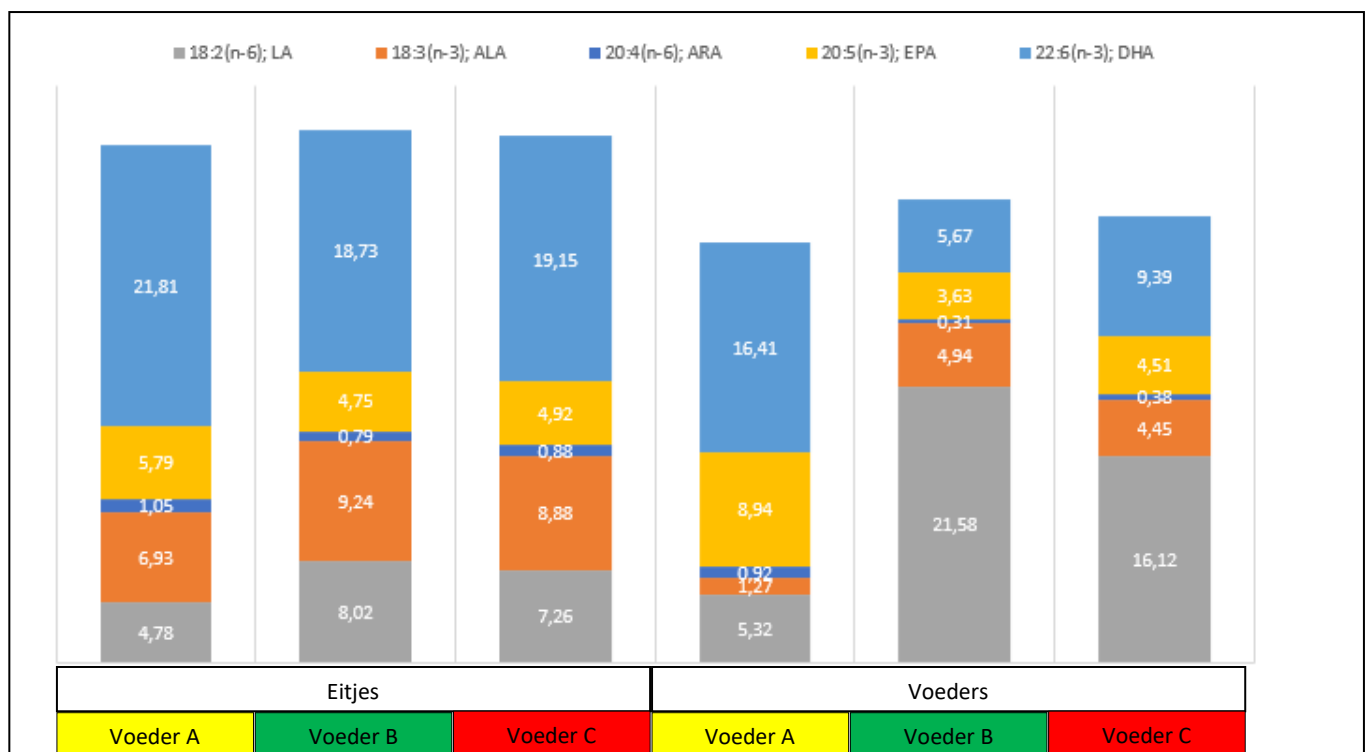
Resultaat:

Uit de analyses van de paairesultaten zien we dat er meer vrouwtjes geovuleerd hebben bij de behandelingen met voeder B en C (63%) dan voeder A (50%) en dat de fecunditeit hoger lag bij voeder C (19.8%). Maar deze verschillen zijn niet significant. Ook bij de mannen zijn er geen significante verschillen in de paairesultaten. Door het spontaan paaien van vissen en uitval van vissen tijdens de proef, hebben we minder replica's bekomen dan vooropgesteld en dit heeft de statistische verwerking bemoeilijkt. Dit kan ook een verklaring zijn dat de verschillen niet significant zijn.

Uit de FAME-analyses valt het op dat de vetzuursamenstelling van de eitjes geen volledige weerspiegeling is van het gegeven voeder. Hoewel er in voeder A een veel hoger gehalte is aan omega-3-vetzuren dan in de andere voeders, vinden we deze grootorde niet terug in vetzuuranalyses van de eitjes (Figuur 8). Door de weinige replica kan er geen besluit genomen worden welk voeder een betere invloed heeft op de verdere ontwikkeling van de eitjes en larven.

Samenstelling	Voeder A		Voeder B		Voeder C	
Vet (%)		14,3		12		14,3
Eiwit (%)		50,5		52		46,5
Vocht %		6,51		9,36		9,31
Droge stof g/100g		93,5		90,6		90,7
As (%)		11,11		7,76		9,5
Celstof (%)		1		1,5		3,1
Totaal fosfor (P) mg/kg		14000		13000		17000
Vetzuren	%	mg/g DW	%	mg/g DW	%	mg/g DW
18:2(n-6); LA	5,32	6,71	21,58	27,04	16,12	21,71
18:3(n-3); ALA	1,27	1,61	4,94	6,19	4,45	5,99
20:4(n-6); ARA	0,92	1,16	0,31	0,38	0,38	0,51
20:5(n-3); EPA	8,94	11,28	3,63	4,55	4,51	6,07
22:6(n-3); DHA	16,41	20,70	5,67	7,10	9,39	12,64
SOM n-3	27,41	34,59	10,23	12,82	15,54	20,93
SOM n-6	7,03	8,87	22,10	27,69	18,52	24,95
ARA/EPA	0,103	0,103	0,084	0,084	0,084	0,084
ARA/DHA	0,056	0,056	0,054	0,054	0,040	0,040
EPA/DHA	0,545	0,545	0,640	0,640	0,480	0,480
n-6/n-3	0,256	0,256	2,160	2,160	1,192	1,192
SFA	27,40	34,57	16,01	20,06	20,25	27,29
MUFA	30,12	38,00	43,48	54,48	36,73	49,48
PUFA	37,35	47,12	37,88	47,46	39,31	52,96
Total mg FAME/g DW		126,17		125,29		134,72

Tabel 1: Algemene en vetzuursamenstelling van de drie commerciële voeders



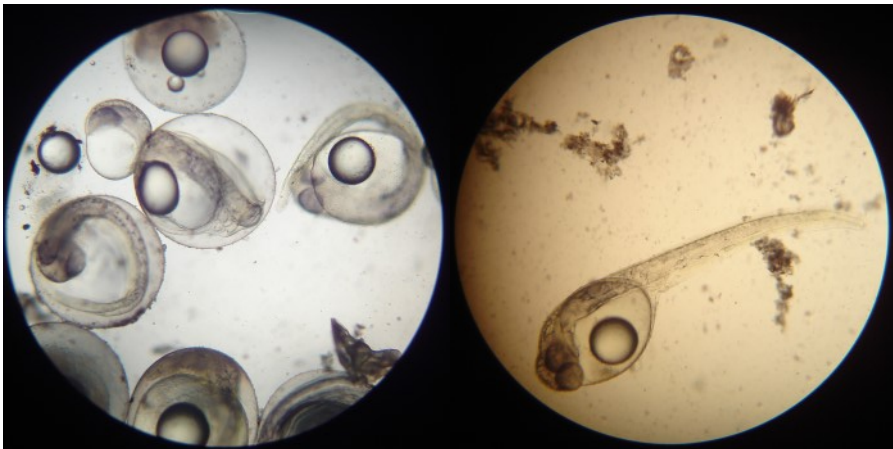
Figuur 8: Percentage van de belangrijkste vetzuren in de totale vetzuursamenstelling voor de voeders en de afgestreeken eitjes

3. Voortplantingsactiviteiten bij Belgisch kwekerijen

Bij de start van het project waren er drie lota-actoren die interesse of plannen hadden getoond om zelf met de voortplanting door te gaan. Maar ook tijdens het project zijn er nieuwe kweekactiviteiten of plannen voortgekomen met betrekking tot de kweek van de zoetwaterkabeljauw. Deze lota-actoren werden geïnformeerd over de lopende onderzoeken en hebben ter plaatse een demonstratie gekregen van de gebruikte voortplantingstechnieken op het Aqua-ERF.

-Pisciculture Le Chabotais

Pisciculture Le Chabotais ontving in het najaar van 2015 in het kader van het PWO-project LotaBEL pootvissen van zoetwaterkabeljauw afkomstig van het Duitse pootviskwekerij Lotaqua. Deze vissen werden verder opgekweekt in doorstroom en de grootsten werden apart gehouden om de voortplanting mee uit te voeren. In het voorjaar van 2017 heeft de kweker zijn eerste voortplantingspogingen ondernomen met de vissen. De eitjes waren bevrucht, maar zijn snel kapot gegaan, waarschijnlijk door een combinatie van factoren (jonge leeftijd van de ouderdieren, watertemperatuur $>5^{\circ}\text{C}$, ...) . In het voorjaar van 2018 heeft de kweker een nieuwe poging ondernomen en zijn systeem wat aangepast met o.a. een koelcel om te hoge temperaturen te vermijden. Met deze aanpassingen is de kweker erin geslaagd om larven te bekomen, maar de hoeveelheid was klein en deze zijn dan ook snel gestorven. Redenen voor de mortaliteit zouden kunnen liggen in het gebruik van messingkranen die lood-intoxicatie hebben kunnen veroorzaken. In de daaropvolgende jaren zijn geen pogingen meer ondernomen met de zoetwaterkabeljauw daar hij zijn focus meer op andere vissoorten wilde richten.



Figuur 9: Larven in embryonale fase en na ontluiking bij kwekerij Le Chabotais

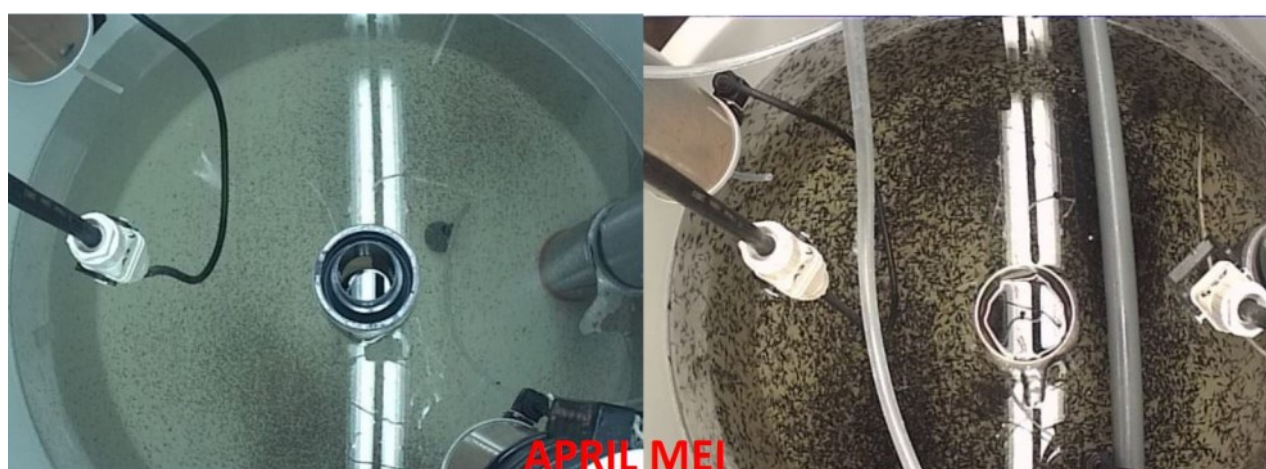
-Aqualota

Dit bedrijf wilt zich specialiseren als pootviskwekerij en heeft in de afgelopen jaren zijn ouderdieren bij elkaar verzameld. De snelst groeiende vissen uit de pootvisproductie van Aqua-ERF werden zowel in 2017 als in 2018 doorgegeven aan Aqualota in het kader van de PWO-projecten LotaBEL/LotaPLUS. Deze vissen werden verder opgekweekt in RAS, maar er zijn nog geen voortplantingspogingen ondernomen door het ontbreken van de gepaste koelinfrastructuur. Volgend jaar zou eventueel de eerste poging uitgevoerd worden.

4. Larvale opkweek

4.1. Pootvisproductie

Ook in dit project is er op het Aqua-ERF pootvis van zoetwaterkabeljauw geproduceerd (Figuur 10). Hoewel het de bedoeling was om dit te doen vertrekkend met larven vanuit eigen kweek om zo de invloed van de behandelingen tijdens de voortplantingen op te volgen, waren we genoodzaakt om larven vanuit Duitsland aan te kopen. Tijdens de productie werden nieuwe voedertechnieken en –protocols toegepast die tot een verkorting van de Artemia-fase hebben geleid. In 2020 is er een samenwerkingsovereenkomst opgestart tussen AquaLota en Aqua-ERF waarbij AquaLota de larvale kweekinstallatie van Aqua-ERF huurt om pootvis van zoetwaterkabeljauw te produceren. Tabel 2 toont de pootvisproductie op het Aqua-ERF van de afgelopen jaren.



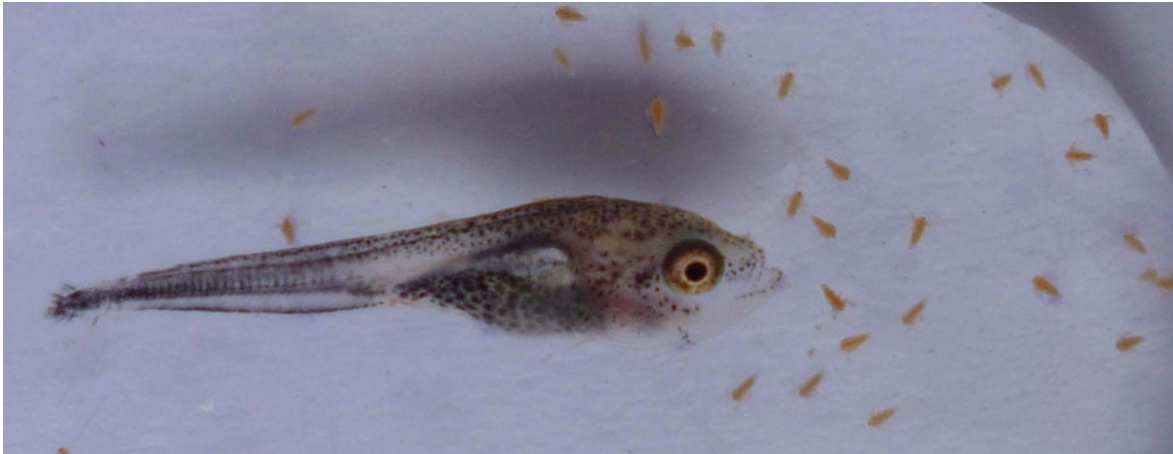
Figuur 10: Bovenaanzicht larvale tank met 29 dagen interval

Jaar	Aangekochte larven	Aantal pootvis	Percentage pootvis/larven	Project
2014	225000	1400	<1%	EFMVZ-Hatchery
2015	300000	—	—	EFMVZ-Larvale kweek
2016	300000	13500	4.5%	LotaBEL
2017	400000	40000	10%	LotaBEL
2018	400000	80000	20%	LotaBEL/LotaPLUS
2019	250000	35000	14%	LotaPLUS
2020	200000	380000	19%	AquaLota*

Tabel 2: Pootvisproductie van zoetwaterkabeljauw op Aqua-ERF. (*AquaLota voerde in 2020 de pootvisproductie in eigen beheer uit in de faciliteiten van het Aqua-ERF)

4.2. Larvale proef

In het productiejaar 2018 hebben we een larvale proef uitgevoerd om te achterhalen of er vroeger geweand kon worden (het overzetten van levend voer naar artificieel voer) en/of er gebruikt moest gemaakt worden van een co-feeding periode (mix levend voer-artificieel voer) gedurende de larvale kweek. Uit de resultaten van de proef bleek dat de larven een week eerder geweand kunnen worden wat voor de kweker de larvale kweek goedkoper en minder arbeidsintensief zal maken. Voor meer informatie betreffende deze resultaten, verwijzen we graag naar de presentatie "EFFECT OF EARLY WEANING AND CO-FEEDING IN BURBOT LARVICULTURE" van Adriaen et al. 2019.



Figuur 11: Larve die zich voedert met Artemia

5. Verder verloop met nationale en internationale stakeholders

In kader van het zoetwaterkabeljauwonderzoek op het Aqua-ERF zijn er contacten geweest met verschillende buitenlandse onderzoeks- en onderwijsinstellingen. De interacties met Zone.College uit Nederland hebben geleid tot onze participatie in het Erasmus+-project "Aqua-View". Met dit project willen we in een consortium van Europese scholen voor beroepsonderwijs en -opleiding, hogescholen en internationale industrie in de aquacultuursector, Europese opleidingen ontwikkelen op EQF-niveau 4, op EQF-niveau 5 en in werkgebaseerde leerprogramma's voor levenslang leren. De kennis rond de zoetwaterkabeljauw, en in specifiek de voortplanting, kan hierin opgenomen worden en een grotere interactie omtrent de kweek van zoetwaterkabeljauw over Europa stimuleren. Vanuit Duitsland, Zwitserland en Nederland zijn er ook bezoeken geweest van particulieren die bij verder ontwikkeling van hun activiteiten tot een nauwere samenwerking kunnen leiden. Deze samenwerking hebben we al met verschillende kwekers op nationaal vlak.

Met de goedkeuring van het project "ReproLota", gefinancierd door het Europees fonds voor Maritieme Zaken en Visserij, kunnen we de onderzoekslijn van dit project verlengen en verdiepen en nog meer toenadering zoeken naar andere lota-actoren.

6. Relevantie

6.1. Relevantie m.b.t. onderwijs

Het Aqua-ERF biedt tal van stage- en projectmogelijkheden aan voor interne en externe studenten van Belgische of internationale onderwijsinstellingen, alsook voor particulieren die aquacultuur-ervaring willen opdoen. Tijdens hun stage hebben ze meegeholpen bij activiteiten van het LotaPLUS-project. Het onderzoek met de zoetwaterkabeljauw wordt ook toegelicht aan de studenten bij schoolrondleidingen op Aqua-ERF. Voor sommige onderwijsinstellingen was dit eenmalig, terwijl anderen jaarlijks terugkomen met nieuwe studenten.

Stage:

- *Jonas Van Bogaert (3de jaar dierenzorg, Odisee), Stage 2018
- *Joost Rekkers (VDAB), Stage in kader van opleidingstraject, 2018
- *Sandra Langi (Msc Aquaculture, Ugent) Stage 2018
- *Le Dang Khoa Tran (Msc Aquaculture, Ugent) Stage 2018
- *Nelia Mbewe (Msc Aquaculture, Ugent) Stage 2018
- *Felicia Vervloesem (3de jaar dierenzorg, Odisee), Stage 2019
- *Wouter Timmermans (3de jaar dierenzorg, Odisee), Bachelorproef met rivierkreeft 2019
- *Alex Stulens, Eindstage in kader opleidnig aquacultuur, Odisee 2019
- *Jasper Van de Pitte (3de jaar Dierenzorg, VIVES), Stage 3 op Aqua-ERF, 2019
- *Heritier Byiringiro (Msc Aquaculture, Ugent), Stage, 2019
- *Freya Derijcke (3de jaar dierenzorg, Odisee), Stage, 2019-2020
- *Sofie Horemans (3de jaar dierenzorg, Odisee), Onderzoekservaring 2020

Rondleidingen:

- Studenten Praktijkdag, Odisee
- Studenten Cursus Specialisatie Aquacultuur, Odisee
- Studenten Proefdierkunde, Odisee
- Studenten Bio-Ingenieurs, Ugent
- Studenten Master of Science in Aquaculture, Ugent
- Studenten Broederschool Biotechnische & Sport, Sint-Niklaas

6.2. Relevantie m.b.t. werkveld

In het verloop van het project zijn verschillende particulieren en bedrijven op het Aqua-ERF langs geweest om meer informatie te verkrijgen omtrent de zoetwaterkabeljauw. Dit gaat van voederfabrikanten tot mensen met kweekplannen. Met volgende kwekerijen zijn er samenwerkingsovereenkomsten afgesloten in kader van het LotaPLUS-project voor de levering van pootvis en de opvolging ervan.

**Pisciculture Le Chabotias*

**Lotaquality*

**Vasch*

**Interdata Services*

**Aqualota*

Aqua-ERF heeft in de afgelopen jaren pootvis geproduceerd en verdeeld om zo geïnteresseerden de kans te geven om met deze vis te werken en hun kweekactiviteiten vorm te geven. Dit jaar zijn wij daarmee gestopt daar Aqualota in 2020 zelf met de commerciële pootvisproductie van zoetwaterkabeljauw in België is gestart. Aangezien hun installaties nog niet klaar waren is er een specifieke samenwerkingsovereenkomst opgezet tussen Odisee en Aqualota waarbij Aqualota de larvale faciliteiten van het Aqua-ERF huurt. Ook vanuit Aqua-ERF is er kennis omtrent de voortplanting, larvale kweek en verder opkweek doorgegeven aan Aqualota.

Bijlage: Referenties output PWO LotaPLUS

Mondelinge presentaties:

- *Adriaen J., "*Burbot aquaculture*",
Seminarie "Pikeperch and Burbot aquaculture", BIOR, Letland (11/12/2019)
- *Adriaen J., "*La lotte de rivière, Recherche a Aqua-ERF*",
Assemblée sectorielle aquaculture, Paliseul (12/11/2019)
- *Adriaen J., Claeys J., Abeel T., Meeus W., Aernouts H.,
"Effect of temperature and different spawning agents on reproduction success of burbot in captivity", Aquaculture Europe 19, Berlijn (08/10/2019)
- *Adriaen J., Claeys J., Abeel T., Meeus W., Aernouts H., Aerts S.,
"Effect of early weaning and co-feeding in burbot larviculture",
The 18th International Conference on life sciences for sustainable development,
Cluj-Napoca, Roemenië (26/09/2019)
- *Adriaen J., "Aqua-ERF, Research and Education",
International workshop on freshwater aquaculture research priorities in Europe,
Tartu, Estland (8-9/05/2019)
- *Adriaen J., Abeel T., Meeus W., Claeys J., "*LotaBEL, De zoetwaterkabeljauw als kweek- en consumptievis*",
Studiedag zoetwaterkabeljauw, Sint-Niklaas (21/11/2018)
- *Adriaen J., "*Onderzoek omtrent de zoetwaterkabeljauw op het Aqua-ERF*",
Onderzoeksdag Odisee, Zele (11/09/2018)
- *Adriaen J., "*Lota lota, Zoetwaterkabeljauw, kwabaal, lotte de rivière,...*",
Cursus Aquacultuur, Odisee, Sint Niklaas (04/10/2018) & (03/10/2019)
- *Adriaen J., "*Lota lota, Zoetwaterkabeljauw, kwabaal, lotte de rivière,...*",
Cursus Aquacultuur, Odisee, Sint Niklaas (04/10/2018) & (03/10/2019)

Posterpresentaties op congres:

- *Adriaen J., Claeys J., Abeel T., Meeus W., Aernouts H.,
"*Burbot larviculture: To enrich or not?*", Aqua 2018, Montpellier (25-29/08/2018)

Artikels in vakbladen:

*Adriaen J. "Studiedag zoetwaterkabeljauw",

AQUAcultuur, maart 2019

*Claeyé J., Claeyé G., Adriaen J., Abeel T., Meeus W. "Aqualota:Het verhaal van Lota loopt verder",

AQUAcultuur, juni 2020

Videopresentaties:

Het Aqua-ERF heeft via WETCOM een filmpje laten maken over het onderzoek op het Aqua-ERF met onder andere een uiteenzetting van de onderzoeken omtrent zoetwaterkabeljauw. Het filmpje staat op de website van Aqua-ERF, de YouTube-pagina van SALTO en werd afgespeeld op volgende events:

*Dag van de Wetenschap, Gent (25/11/2018) & (24/11/2019)

*Dag van de Wetenschap, Sint-Niklaas (25/11/2018) & (24/11/2019)

*Infodag Odisee, Sint-Niklaas (23/02/2019; 07/09/2019; 22/06/2019)

*Slotevent AquaVLan, Middelburg, NL (11/11/2019)

*Interreg-event "Funding the Future", Oud-Turnhout (29/09/2019)

*Workshop Aquaponics, PCG, Kruishoutem (23/03/2019)

Pers en Internet:

*"Leden in Europa: Met de steun van Europa verdiept Odisee zich in aquacultuur",

Vleva-blog (17/02/2020)

*"All about the burbot", The Fish Site (18/06/2020)

*Verschillende tweets op de twitter-account @Onderzoeksodisee

*Projectpagina op de websites Salto en Aqua-ERF

Bijlage: Referenties

- *Kucharczyk D., Nowosad J., Kujawa R., Dietrich G., Biegaj M., Sikora M., Luczynski M.J. (2018) "Comparison of spontaneous and hormone-induced reproduction of burbot *Lota lota* (L.) under hatchery conditions", *Aquaculture* 485: 25-29
- *Izquierdo M.S., Fernandez-Palcios H., Tacon A.G.J. (2001) "Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish", *Aquaculture* 197: 24-42
- *Palinska-zarska K., Zarski D., Krejszeff S., Nowosad J., Bias M., Trejchel K., Brylewski A., Targonska K., Kucharczyk D. (2014) "The effect of age, size and digestive tract development on burbot, *Lota lota* (L.), larvae weaning effectiveness", *Aquaculture Nutrition* 20: 281-290
- *Zarski D., Kucharczyk D., Sasiowski W., Targonska K., Mamcarz A. (2010). "The influence of temperature on successful reproduction of burbot, *Lota lota* (L.) under hatchery conditions", *Pol. J. Natur. Sc.*, Vol 25(1): 93-105
- *Zarski D., Palinska-Zarska K., Krejszeff S., Kucharczyk D. (2014). "A first successful induction of spawning of the hatchery reared burbot, *Lota lota* L.", Poster session at Aquaculture Europe, San Sebastian, 14-17/10/2014