

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Evaluatie van fosfaat benutting door Tilapia in recirculatie systemen met en zonder denitrificatie.

Aanmeldcode / Protocol: 2010019.a

Stadia van de proef:

04-02-2010	Aangemeld	█
15-02-2010	Wijzigen	Secretaris van de DEC
03-03-2010	Gekopieerd	█

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

This study has been approved by █

1.a. Met dit onderzoek te beantwoorden concrete vraag:

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag

(1) Tilapias zijn herbivore/omnivore vissen en zijn in principe in staat plantaardig materiaal goed te benutten. Echter, ongeveer tweederde van het plantaardig fosfaat bestaat uit phytaat hetgeen niet beschikbaar is voor vis. Dieeten met een laag gehalte aan verteerbaar fosfaat en een hoog gehalte aan onverteerbaar phytaat zullen een fosfaat gelimiteerde groei vertonen. De slechte slechte hydrolyseerbaarheid van phytaat in de darm van tilapia door het ontbreken van het enzym phytase resulteert in een hoge uitscheiding van phytaat in de vaste mest terwijl het verteerbare fosfaat in het dieet goed benut zal worden. De vaste mest met een hoog gehalte aan phytaat wordt in conventionele systemen snel uit de waterstroom verwijderd waardoor er weinig fosfaat door biologische afbraak processen in oplossing gaat in het recirculatie water.

(2) In recirculatie systemen waarin het nitraat uit het recirculerende water wordt verwijderd via denitrificatiereactor en de denitrificerende bacterien gebruik maken van de organische stof in de vissenmest om nitraat in stikstofgas om te zetten zal door afbraakprocessen en de lange verblijftijd van de mest in de denitrificatie reactor veel fosfaat uit de mest (phytaat) in oplossing kunnen gaan. In deze systemen zullen relatief hoge Phosphate-P concentraties kunnen ontstaan doordat bacterien de phytaat complexen afbreken en het fosfaat vrij laten komen in de vorm van ortho-fosfaat. Ortho-fosfaat is in een viskwekerij slecht uit het kweekwater te verwijderen en zal in veel gevallen via het riool worden geloosd of gedeeltelijk via bemesting (org.-P gedeelte in de vaste mest) op het land terecht komen. Echter wanneer vissen de in het water aanwezige opgeloste fosfaat afkomstig uit phytaat kunnen benutten kunnen dieeten met hoge gehalten aan phytaat en laag in verteerbaar-P toch resulteren in een goede groeisnelheid en P-benutbaarheid van het fosfaat in het voer.

(3) Een tweede route waardoor de fosfaat benutting uit het voer kan worden verhoogd is door tilapia de mogelijkheid te bieden het fosfaat vastgelegd in de denitrificerende bacteriele biomassa op te nemen. Vanuit het onderzoek gedaan aan microbial bio-flocs technologie toegepast in vijvers (active suspension ponds, Avnimelech, 2006) weten we dat de opname van microbial flocs tot bijna 50% bijdragen in de

viseiwit behoefte in het voer van tilapia. Tilapia is dus in goed in staat om bacterieel eiwit op te nemen wanneer dit wordt aangeboden in 'biofloc vorm'. Vanuit het onderzoek van Barak en van Rijn (2006) weten we dat denitrificerende bacteriën polyphosfaat accumuleren. Dus wanneer tilapias het fosfaat in de bioflocs van de denitrificatie reactor kunnen benutten kan ook via deze route P-opname uit dieten met hoge gehalten aan phytaat en laag in verteerbaar-P toch resulteren in een goede groeisnelheid en P-benutbaarheid van het fosfaat in het voer.

Literatuur: (1) Barak en van Rijn, 2006. Applied and Environmental Microbiology, March 2000, p. 1209-1212, Vol. 66, No. 3; (2) Avnimelech, 2007. Aquaculture Volume 264, Issues 1-4, 6 April 2007, Pages 140-147

Het direct doel van dit onderzoek is te bepalen of:

- (1) tilapia in staat is fosfaat uit het water te benutten.
- (2) tilapia in staat is fosfaat in de bacteriele denitrificerende "bioflocs" te benutten.

Het uiteindelijke doel is de benutbaarheid van phytaat in dieten gebaseerd op plantaardige ingrediënten te verhogen.

Onderzoeksvraag:

- (1) zijn vissen in staat fosfaat uit het water te benutten?
- (2) zijn vissen in staat fosfaat in de bacteriele denitrificerende 'bioflocs' te benutten?

Om deze onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden worden drie recirculatie systeem configuraties gebruikt (controle).

Configuratie 1. Recirculatie systemen zonder denitrificatie (water verversing 300 L/kg voer, geringe accumulatie van fosfaat, in totaal 2 systemen)

Configuratie 2. Recirculatie systemen zonder denitrificatie maar hoog in fosfaat accumulatie (25 mg P/L; controle over deze concentratie door fosfaat additie (H₂PO₄Cl) of waterverversing)

Configuratie 3. Recirculatie systemen met denitrificatie reactor en fosfaat accumulatie (25 mg P/L, controle over deze concentratie door fosfaat additie (H₂PO₄Cl) of waterverversing)

In configuratie 3 wordt biofloc opname mogelijk gemaakt door de uitstroom van de denitrificatie reactor aan de sluiten op de invoer van de vistanks. Bovendien wordt tweemaal daags een vastgesteld volume denitrificerende biomassa ("bioflocs") uit de denitrificatie reactor in de vistanks gebracht om mogelijkheden voor P-benutting te vergroten.

1.b. Het uiteindelijk doel (Maatschappelijke en wetenschappelijke relevantie):

- (1) verhogen van de benutbaarheid van fosfaat uit plantaardige grondstoffen
- (2) verminderen van het totale fosfaat gehalte in dieten.

Om binnen de wettelijke plaatsingsruimte te blijven, voeren veel boeren een deel van hun fosfaatproductie af naar andere landbouwbedrijven of naar het buitenland. In 2006 gebeurt dit voor ruim eenderde van de fosfaatproductie. De export van fosfaat neemt in 2006 iets toe ten opzichte van 2005 (bron CBS en dienst regelingen). Vooral in Brabant waar de tilapieeteelt in Nederland was geconcentreerd is de plaatsingsruimte voor fosfaat beperkt.

Zie :

<http://www.milieuennatuurcompendium.nl/indicatoren/nl0403-Transport-en-verwerking-van-mest.html?i=11-60>

1.c. Leksamenvatting:

2. Gepland vanaf: 22-02-2010 tot 30-06-2010

3. Specificatie diergroepen:

Groep 1	15	vissen *)	Nijl tilapia	Controle R1 (Laag fosfaat gehalte in het water, geen denitrificatie reactor)
Groep 2	15	vissen *)	Nijl tilapia	Controle R1 (Laag fosfaat gehalte in het water, geen denitrificatie reactor)
Groep 3	15	vissen *)	Nijl tilapia	Controle R2 (Laag fosfaat gehalte in het water, geen denitrificatie reactor)
Groep 4	15	vissen *)	Nijl tilapia	Controle R2 (Laag fosfaat gehalte in het water, geen denitrificatie reactor)
Groep 5	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R1 fosfaat gehalte in het water (geen denitrificatie reactor)
Groep 6	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R1 fosfaat gehalte in het water (geen denitrificatie reactor)
Groep 7	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R2 fosfaat gehalte in het water (geen denitrificatie reactor)
Groep 8	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R2 fosfaat gehalte in het water (geen denitrificatie reactor)
Groep 9	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R1 fosfaat gehalte in water met denitrificatie reactor
Groep 10	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R1 fosfaat gehalte in water met denitrificatie reactor
Groep 11	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R2 fosfaat gehalte in water met denitrificatie reactor
Groep 12	15	vissen *)	Nijl tilapia	Hoog R2 fosfaat gehalte in water met denitrificatie reactor
Groep 13	30	vissen *)	Nijl tilapia	Startmonster

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Tilapia zal worden gebruikt (*Oreochromis niloticus*). Bij het begin van het experiment zal het gewicht van de vissen ongeveer 20 - 30 gram zijn.

4.b. Motivatie waarom is gekozen voor deze diersoort:

Tilapia is gekozen omdat het een van de belangrijkste zoetwater vissoorten is die wereldwijd commercieel worden gekweekt. Tilapia is bovendien een vissoort die zowel in Nederland als in het buitenland gekweekt wordt in recirculatie systemen met een t.o.v. doorstroomsystemen hoge fosfaat concentratie.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

De statistische eenheid is twee groepen vis per systeem. Het is onduidelijk hoe sterk de variatie in response zal zijn op de behandeling. Per systeem worden twee herhalingen gebruikt. In totaal zijn dan 6 systemen nodig en 12 groepen vis om een vergelijking tussen drie behandelingen mogelijk te maken. Het aantal vissen per behandeling is gebaseerd op het benaderen van commerciële dichtheden en dus commerciële accumulatie van fosfaat in het recirculatiewater.

4.d. Herkomst:

Groep 1	E. andere herkomst
Groep 2	E. andere herkomst
Groep 3	E. andere herkomst
Groep 4	E. andere herkomst
Groep 5	E. andere herkomst
Groep 6	E. andere herkomst

Groep 7	E. andere herkomst
Groep 8	E. andere herkomst
Groep 9	E. andere herkomst
Groep 10	E. andere herkomst
Groep 11	E. andere herkomst
Groep 12	E. andere herkomst
Groep 13	E. andere herkomst

Toelichting:

Tilapia zijn afkomstig van een commerciële ouderdieren vermeerderaar in Nederland: [REDACTED]

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

Het experiment wordt uitgevoerd in proefaccommodatie [REDACTED] (linker hal)

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De vissen worden gehuisvest in circulaire tanks en een centrale water afvoer. De waterdoordroming bestaat uit ± 4 tankversingen per uur. De watertemperatuur wordt op 28°C gehouden. Verder zijn er geen additionele tank verijkingen. De gezondheidsstatus van de vis wordt dagelijks visueel gecontroleerd. Gebaseerd op gedrag en voeropname, wordt de gezondheidsstatus van de vis vastgelegd. De criteria voor het verwijderen van de vis uit het experiment zal worden gebaseerd op extreem of abnormaal gedrag en/of het voorkomen van abnormale gezondheidsproblemen. Omdat de vissen in groepen worden gehouden, en geen individuele voeropname en groeisnelheid worden geregistreerd tijdens het experiment zullen de dagelijkse controle op visgedrag en sterfte de belangrijkste indicatoren zijn voor het vaststellen van problemen. Deze controles worden uitgevoerd tijdens en rondom de periode waarop de dieren worden gevoerd en tijdens de metingen van de waterkwaliteit. De waterkwaliteit wordt dagelijks gemeten volgens de gangbare methoden in proefaccommodatie [REDACTED].

5.c. Voeding:

Alle groepen zullen ad libitum worden gevoerd met een voerautomat te voeren van 9:00-17:00 en daarbovenop met de hand tot schijnbare verzadiging.

Alle groepen worden gevoerd met een volledig dieet bestaande uit een 3 mm drijvende pellet [REDACTED]

De hypothese is:

- dat vissen in de proefbehandeling met een hoog fosfaat gehalte in het water in staat zullen zijn (veel) sneller te groeien doordat zij meer fosfaat per eenheid voer kunnen benutten
- dat vissen in de behandeling met hoog fosfaat met daarbovenop het aanbieden van 'bioflocs' uit een denitrificatie reactor nog sneller zullen groeien omdat zij nog meer fosfaat per eenheid voer kunnen benutten.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Recirculatie systemen.

Zes kleine recirculatie systemen worden gebruikt. Elk recirculatie systeem bestaat uit 2 circulaire vistanks (± 45 L) met een centrale standpijp een vastemestdeeltjes verwijderingseenheid, een pomptank en een standaard AFI trickling filter.

Water stroomt over het trickling filter en zal door zwaartekracht terugstromen door de de vistanks en de vaste mestdeeltjes verwijderaar. De recirculatie systemen zijn ontworpen voor een voerbelasting van 80 g/dag. De waterdoorstroming in de tanks is 3-4 L/min hetgeen gelijk is aan 4 tankuitwisselingen per uur.

Twee van de zes recirculatie systemen zijn uitgevoerd met een denitrificatie reactor (± 10 L). De denitrificatie reactor met denitrificerende biomassa (single sludge deitrificatie reactor) wordt gevoed met het effluent van de vaste mestdeeltjes verwijderaar. Het effluent van de denitrificatie reactor met daarin bacterie flokken wordt teruggevoerd in het influent van de vistanks. Twee maal daags wordt een vast volume (hoeveelheid nog vast te stellen) uit de reactor aan de vistank toegevoegd om de opname van polyfosfaat uit de bacteriele biomassa in de denitrificatie reactor te vergroten.

Experimentele opzet.

Twee recirculatie systemen zullen in bedrijf worden gehouden bij een hoge waterverversingssnelheid van ± 300 L/kg voer (controle behandeling, lage fosfaatgehalten). Twee recirculatie systemen zullen in bedrijf worden gehouden bij een hoge waterverversingssnelheid van ± 300 L/kg voer en hoge fosfaat gehalten (25 mg/L). Twee recirculatie systemen zijn uitgevoerd met een denitrificatie reactor en een hoge waterverversing van 300L/kg voer en een hoog fosfaat gehalte (25 mg/L). Elk systeem zal worden bezet met 2 x 10 tilapia van ± 20 g/vis. De vissen worden twee keer daags gevoerd met de hand 9:00-10:00hr en 16:00-17:00hr. De vissen zullen aan het begin en aan het eind van het experiment worden gewogen. Voeropname per maal zal dagelijks worden vastgesteld. De gezondheidsstatus zal worden gemonitord door voeropname en dagelijkse visuele inspectie. Waterqualiteit (Temperatuur, zuurstof, Saliniteit, pH, NH₄, N₂, N₃) in het effluent van de vistanks zal dagelijks worden gecontroleerd. De overige watermetingen zijn er opgericht om aan het einde van de proef een fosfaat massa balans op te kunnen stellen voor beide behandelingen

Fosfaat diet = Fosfaat retentie vis + Fosfaat accumulatie in het systeem water + Fosfaat retentie in de denitrificatie reactor. + Fosfaat uitstoot

6.b. Mate van ongerief:

Groep 1	A. Gering
Groep 2	A. Gering
Groep 3	A. Gering
Groep 4	A. Gering
Groep 5	A. Gering
Groep 6	A. Gering
Groep 7	A. Gering
Groep 8	A. Gering
Groep 9	A. Gering
Groep 10	A. Gering
Groep 11	A. Gering
Groep 12	A. Gering
Groep 13	A. Gering

6.c. Waaruit bestaat het ongerief en hoe bent u tot uw inschatting van de mate van ongerief gekomen?

Er is ongerief voor de vissen mogelijk tengevolge van:

- het wegen van de vissen aan het begin en aan het einde van het experiment.
- euthanasie van de vis aan het einde van het experiment.

7. Welke maatregelen heeft u getroffen om het ongerief tot een minimum te beperken?

Anesthesie:

Groep 1	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 2	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

- Groep 3 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 4 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 5 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 6 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 7 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 8 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 9 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 10 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 11 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 12 A. Niet toegepast (geen aanleiding).
- Groep 13 A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

- Groep 1 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 2 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 3 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 4 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 5 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 6 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 7 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 8 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 9 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 10 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 11 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 12 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
- Groep 13 A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

- a) opofferen van de vissen aan het einde van het experiment.
- b) de betrokkenheid van professioneel getrainde mensen in dit experiment.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

- Groep 1 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 2 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 3 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 4 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 5 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 6 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 7 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 8 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 9 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 10 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 11 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 12 Het dier is gedood na het einde van de proef.
- Groep 13 Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

In totaal worden 30 vissen opgeofferd aan het begin van het experiment en 10 vissen per proefgroep aan het eind van het experiment voor het vaststellen van de lichaamssamenstelling. Deze dieren worden geëuthaniseerd d.m.v. een overdosis TMS.

De overige vissen worden geëuthaniseerd na beëindigen van de proef.

9. Welke alternatieven (vervanging, verfijning, vermindering) zijn voor de beschreven experimenten overwogen en waarom zijn deze verworpen?

Er is wel over een alternatief nagedacht: alleen chemische toevoeging van fosfaat aan het water. Dit is

uiteindelijk verworpen omdat we fosfaat benutting door vis in relatie tot voersamenstelling, de samenstelling van de mest en de afbraak daarvan in de denitrificatie reactor en de uiteindelijke accumulatie in het systeem volume per behandeling willen bestuderen.

10. Namen van direct betrokkenen bij de dierproef (artikel 9- en 12-functionarissen):



Tabel registratiecode opties voor aanvraag 2010019.a (K14):

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
					37	1	1	01					
Groep 1	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 2	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 3	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 4	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 5	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 6	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 7	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 8	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 9	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 10	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 11	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 12	1	89	5	15					01	1	1	1	2
Groep 13	1	89	5	30					01	1	1	1	2

Aanmeldingsformulier voor proeven met gewervelde dieren.

Secretariaat DEC

Aanvrager:
Afdeling:

Titel dierproef: Evaluatie van fosfaat benutting door Tilapia in recirculatie systemen.

Aanmeldcode / Protocol: 2010019.b

Stadia van de proef:

04-03-2010	Aangemeld	[redacted]
11-03-2010	Positief advies	Secretaris van de DEC
01-04-2010	Proef gestart	[redacted]
11-05-2010	Proef beëindigd	[redacted]
26-05-2010	Gekopieerd	[redacted]
11-11-2010	Welzijnsevaluatie aangemaakt	[redacted]

Is deze proef wetenschappelijk getoetst en goedgekeurd? Ja

Toelichting:

This study has been approved by [redacted]

1.a. Met dit onderzoek te beantwoorden concrete vraag:

. Wetenschappelijke vraag m.b.t.wetensch. vraag

(1) Tilapias zijn herbivore/omnivore vissen en zijn in principe in staat plantaardig materiaal goed te benutten. Echter, ongeveer tweederde van het plantaardig fosfaat bestaat uit phytaat hetgeen niet beschikbaar is voor vis. Dieeten met een laag gehalte aan verteerbaar fosfaat en een hoog gehalte aan onverteerbaar phytaat zullen een fosfaat gelimiteerde groei vertonen. De slechte slechte hydrolyseerbaarheid van phytaat in de darm van tilapia door het ontbreken van het enzym phytase resulteert in een hoge uitscheiding van phytaat in de vaste mest terwijl het verteerbare fosfaat in het dieet goed benut zal worden. De vaste mest met een hoog gehalte aan phytaat wordt in conventionele systemen snel uit de waterstroom verwijderd waardoor er weinig fosfaat door biologische afbraak processen in oplossing gaat in het recirculatie water.

(2) In recirculatie systemen waarin het nitraat uit het recirculerende water wordt verwijderd via denitrificatiereactor en de denitrificerende bacterien gebruik maken van de organische stof in de vissenmest om nitraat in stikstofgas om te zetten zal door afbraakprocessen en de lange verblijftijd van de mest in de denitrificatie reactor veel fosfaat uit de mest (phytaat) in oplossing kunnen gaan. In deze systemen zullen relatief hoge Phosphate-P concentraties kunnen ontstaan doordat bacterien de phytaat complexen afbreken en het fosfaat vrij laten komen in de vorm van ortho-fosfaat. Ortho-fosfaat is in een viskwekerij slecht uit het kweekwater te verwijderen en zal in veel gevallen via het riool worden geloosd of gedeeltelijk via bemesting (org.-P gedeelte in de vaste mest) op het land terecht komen. Echter wanneer vissen de in het water aanwezige opgeloste fosfaat afkomstig uit phytaat kunnen benutten kunnen dieten met hoge gehalten aan phytaat en laag in verteerbaar-P toch resulteren in een goede groeisnelheid en P-benutbaarheid van het fosfaat in het voer.

(3) Een tweede route waardoor de fosfaat benutting uit het voer kan worden verhoogd is door tilapia de mogelijkheid te bieden het fosfaat vastgelegd in de denitrificerende bacteriele biomassa op te nemen. Vanuit het onderzoek gedaan aan microbial bio-flocs technologie toegepast in vijvers (active suspension ponds, Avnimelech, 2006) weten we dat de opname van microbial flocs tot bijna 50% bijdragen in de viseiwit behoefte in het voer van tilapia. Tilapia is dus in goed in staat om bacterieel eiwit op te nemen wanneer dit wordt aangeboden in 'biofloc vorm'. Vanuit het onderzoek van Barak en van Rijn (2006) weten we dat denitrificeren bacterien polyphosphaat accumuleren. Dus wanneer tilapias het fosfaat in de bioflocs van de denitrificatie reactor kunnen benutten kan ook via deze route P-opname uit dieten met hoge gehalten aan phytaat en laag in verteerbaar-P toch resulteren in een goede groeisnelheid en P-benutbaarheid van het fosfaat in het voer.

Literatuur: (1) Barak en van Rijn, 2006. Applied and Environmental Microbiology, March 2000, p. 1209-1212, Vol. 66, No. 3; (2) Avnimelech, 2007. Aquaculture Volume 264, Issues 1-4, 6 April 2007, Pages 140-147

Het direct doel van dit onderzoek is te bepalen of:

(1) tilapia in staat is fosfaat uit het water te benutten.

Het uiteindelijke doel is de benutbaarheid van phytaat in dieten gebaseerd op plantaardige ingrediënten te verhogen.

Onderzoeksvraag:

(1) zijn vissen in staat fosfaat uit het water te benutten?

Om deze onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden worden twee identieke recirculatie systemen gebruikt (Recirculatie systeem 1 en Recirculatie systeem 2).

Behandeling	Recirculatie systeem 1	Recirculatie systeem 2
	(1 mg P/L in het water)	(25 mg P/L in het water)

Voer 1 (overvloed aan P) 2)	4 replicates (N=30)	4 replicates (N=30)
Voer 2 (laag in beschikbaar P) 4)	4 replicates (N=30)	4 replicates (N=30)

1) Er is voor een hoogste concentratie van 25 mg P/L water gekozen omdat dit een concentratie is die in werkelijkheid wordt gemeten in recirculatie systemen uitgevoerd met een denitrificatie reactor.

2) P in het voer 13.4 g /kg voer, opneembaar P in het voer 10.3 g/kg voer

3) N=30 is aantal vissen per replicate.

4) P in het voer is 5.5 g/kg voer, opneembaar P is 2.5 g/kg voer.

Verwachte uitkomsten/conclusies:

1. Voer 1 gevoerd aan vissen in recirculatie systeem 1 en recirculatie systeem 2 laten een normale controle groep groei zien.

2. Voer 2 gevoerd in systeem 1 (1 mg P/L) laat een gelimiteerde groei zien. Vissen zijn niet in staat om eenzelfde groei als op voer 1 te realiseren door extra fosfaat opname uit het water.

3. Voer 2 gevoerd in systeem 2 (25 mg P/L) heeft een aantal mogelijke uitkomsten:

(a) geeft een zelfde groei dan vissen gevoerd met voer 1. Dus vissen kunnen via P opname door hun kieuwen het tekort aan beschikbaar P compenseren voor het realiseren van een zelfde groei als op voer 1
 (b) geeft lagere groei zien dan vissen gevoerd met voer 1 maar hoger dan vissen gevoerd met voer 2 gehuisvest bij een concentratie van 1 mgP/L. Hieruit kan worden afgeleid dat vissen slechts gedeeltelijk in staat zijn het tekort aan P in voer te compenseren via opname uit het water.

(c) geeft eenzelfde groei te zien als vissen gevoerd met voer 2 en gehuisvest bij een lage P concentratie (1 mg P/L) in het water. De vissen zijn niet in staat fosfaat uit het water op te nemen via de kieuwbogen.

Deze uitkomst wordt onwaarschijnlijk geacht omdat er een experiment is gepubliceerd waarin met met radioactief gelabeld P is aangetoond dat er opname van P vanuit het water mogelijk is. Echter voorzover wij weten is deze opname nooit gekwantificeerd en is ook nooit het relatief belang van deze route van P-opname t.o.v. opname via het voer aangetoond.

1.b. Het uiteindelijk doel (Maatschappelijke en wetenschappelijke relevantie):

(1) verhogen van de benutbaarheid van fosfaat uit plantaardige grondstoffen

(2) verminderen van het totale fosfaat gehalte in dieten.

Om binnen de wettelijke plaatsingsruimte te blijven, voeren veel boeren een deel van hun fosfaatproductie af naar andere landbouwbedrijven of naar het buitenland. In 2006 gebeurt dit voor ruim eenderde van de fosfaatproductie. De export van fosfaat neemt in 2006 iets toe ten opzichte van 2005 (bron CBS en dienst regelingen). Vooral in Brabant waar de tilapiateelt in Nederland was geconcentreerd is de plaatsingsruimte voor fosfaat beperkt.

Zie :

<http://www.milieuennatuurcompendium.nl/indicatoren/nl0403-Transport-en-verwerking-van-mest.html?i=1>
1-60

1.c. Lekensamenvatting:

2. Gepland vanaf: 15-03-2010 tot 30-06-2010

3. Specificatie diergroepen:

Groep 1	30	vissen *)	Nijl tilapia	Controle 1, R1	Hoog beschikbaar
fosfaat voer, laag P in water (<1 mg P/L)					
Groep 2	30	vissen *)	Nijl tilapia	Controle 1, R2	Hoog beschikbaar
fosfaat voer, laag P in water, (1 mgP/L)					
Groep 3	30	vissen *)	Nijl tilapia	Controle 1, R3	Hoog beschikbaar
fosfaat voer, laag P in het water(<1 mg/L)					
Groep 4	30	vissen *)	Nijl tilapia	Controle 1, R4	Hoog beschikbaar
fosfaat voer, laag P in het voer, laag P in het water (1 mg P/L)					
Groep 5	30	vissen *)	Nijl tilapia	Controle 2, R1	Hoog beschikbaar
fosfaat voer, hoog P in het water (25 mg P/L)					
Groep 6	30	<<< Error: Value could not be decoded: 0 >>>			<<< Error: Merge field started but no ending code used >>><#Tpsubspec.HoofdDierSpec>
					<#Tpsubspec.Omschrijving>
Groep 7	30	vissen *)	Nijl tilapia	Controle 2, R3	Hoog beschikbaar
fosfaat voer, hoog P in het water (25 mg P/L)					
Groep 8	30	vissen *)	Nijl tilapia	Controle 2, R4	Hoog beschikbaar
fosfaat voer, hoog P in het water (mg P/L)					
Groep 9	30	vissen *)	Nijl tilapia	Behandeling 1, R1	Laag beschikbaar
fosfaat voer, laag P in het water (1 mg P/L)					
Groep 10	30	vissen *)	Nijl tilapia	Behandeling 1, R2	Laag beschikbaar
fosfaat voer, laag P in het water (1 mg P/L)					
Groep 11	30	vissen *)		Behandeling 1, R3	Laag beschikbaar fosfaat
voer, laag P in het water (1 mg P /L)					
Groep 12	30	vissen *)		Behandeling 1, R4	Laag beschikbaar fosfaat
voer, laag P in het water (1 mg /L)					
Groep 13	30	vissen *)		Behandeling 2, R1	Laag beschikbaar fosfaat
voer, hoog in het water (25 mg/L)					
Groep 14	30	vissen *)		Behandeling 2, R1	Laag beschikbaar fosfaat
voer, hoog in het water (25 mg/L)					
Groep 15	30	vissen *)		Behandeling 2, R3	Laag beschikbaar fosfaat
voer, hoog in het water					
Groep 16	30	vissen *)		Behandeling 2, R4	Laag beschikbaar fosfaat
voer, hoog in het water,(25 mg/L)					

Groep 17 30 <<< Error: Value could not be decoded: 0 >>> <<< Error: Merge field started but no ending code used >>><#Tpsubspec.HoofdDierSpec> <#Tpsubspec.Omschrijving>

4.a. Nadere aanduiding gebruikte dieren:

Tilapia zal worden gebruikt (*Oreochromis niloticus*). Bij het begin van het experiment zal het gewicht van de vissen ongeveer 20 - 30 gram zijn.

4.b. Motivatie waarom is gekozen voor deze diersoort:

Tilapia is gekozen omdat het een van de belangrijkste zoetwater vissoorten is die wereldwijd commercieel worden gekweekt. Tilapia is bovendien een vissoort die zowel in Nederland als in het buitenland gekweekt wordt in recirculatie systemen met een t.o.v. doorstroomsystemen hoge fosfaat concentratie.

4.c. Toelichting voor het aantal gebruikte dieren:

De statistische eenheid is een groep vissen per aquarium. Het is onduidelijk hoe sterk de variatie in response zal zijn op de behandeling. Per behandeling is gekozen voor 4 herhalingen. Omdat we met kleine vis starten verwachten we dat de proef gestopt kan worden voordat effecten t.g.v. dominant gedrag gaan optreden. Het aantal van 30 vissen is gekozen om voldoende mest per bak te kunnen verzamelen om de verteerbaarheid van de nutrienten in het voer te kunnen bepalen. Veteerbaarheidsmetingen zijn noodzakelijk om de stikstof en fosfaat balans te kunnen bepalen. In totaal zijn 16 x 30+30 (vissen in het startmonster) = 510 vissen nodig.

4.d. Herkomst:

Groep 1	E. andere herkomst
Groep 2	E. andere herkomst
Groep 3	E. andere herkomst
Groep 4	E. andere herkomst
Groep 5	E. andere herkomst
Groep 6	E. andere herkomst
Groep 7	E. andere herkomst
Groep 8	E. andere herkomst
Groep 9	E. andere herkomst
Groep 10	E. andere herkomst
Groep 11	E. andere herkomst
Groep 12	E. andere herkomst
Groep 13	E. andere herkomst
Groep 14	E. andere herkomst
Groep 15	E. andere herkomst
Groep 16	E. andere herkomst
Groep 17	E. andere herkomst

Toelichting:

Tilapia zijn afkomstig van een commerciële ouderdieren vermeerderaar in Nederland: [REDACTED]

5.a. Accommodatie: [REDACTED]

Het experiment wordt uitgevoerd in proefaccommodatie [REDACTED] (linker hal)

5.b. Huisvesting & Verzorging:

De vissen worden gehuisvest in circulaire tanks en een centrale water afvoer. De waterdoordroming bestaat uit ± 4 tankverversingen per uur. De watertemperatuur wordt op 28°C gehouden. Verder zijn er geen additionele tank verrijkingen. De gezondheidsstatus van de vis wordt dagelijks visueel gecontroleerd. Gebaseerd op gedrag en voeropname, wordt de gezondheidsstatus van de vis vastgelegd.

De criteria voor het verwijderen van de vis uit het experiment zal worden gebaseerd op extreem of abnormaal gedrag en/of het voorkomen van abnormale gezondheidsproblemen. Omdat de vissen in groepen worden gehouden, en geen individuele voeropname en groeisnelheid worden geregistreerd tijdens het experiment zullen de dagelijkse controle op visgedrag en sterfte en voeropname de belangrijkste indicatoren zijn voor het vaststellen van problemen. Deze controles worden uitgevoerd tijdens en rondom de periode waarop de dieren worden gevoerd en tijdens de metingen van de waterkwaliteit. Bij het vaststellen van problemen zal contact worden opgenomen met de proefdierdeskundige. De waterkwaliteit wordt dagelijks gemeten volgens de gangbare methoden in proefaccommodatie [REDACTED].

5.c. Voeding:

Alle groepen zullen op ± 80 van ad lib worden gevoerd (elke groep wordt dagelijks eenzelfde hoeveelheid voer gevoerd). Er wordt met de hand gevoerd van 9:00-10:00 en 16:00-17:00. 9:00-17:00. Alle groepen worden gevoerd met een volledig dieet bestaande uit een 3 mm drijvende pellet [REDACTED]. De dieten verschillen in totaal fosfaat en beschikbaar fosfaat.

De hypothese is:

- dat vissen in de proefbehandeling met een hoog fosfaat gehalte in het water in staat zullen zijn sneller te groeien doordat zij meer fosfaat per eenheid voer kunnen benutten dan vissen met een laag fosfaat gehalte in het voer en een lage fosfaat concentratie in het water.

6.a. Proefschema / proefbehandelingen:

Recirculatie systemen.

Twee grote recirculatie systemen worden gebruikt. Elk recirculatie systeem bestaat uit 8 aquaria ($\pm 70L$), een drumfilter voor solids verwijdering een pomptank een trickling filter een tweede pomptank een volume het effluent van het drumfilter in op te vangen.

De recirculatie systemen zijn ontworpen om een voerbelasting aan te kunnen van maximaal 3 - 4 kg voer/dag. De waterdoorstroming in de tanks is $\pm 6 L/min$ hetgeen gelijk is aan ± 5 tankuitwisselingen per uur.

Experimentele opzet.

De twee recirculatiesystemen zullen in bedrijf worden gehouden bij een zelfde waterverversing en twee verschillende fosfaat (P) concentraties. In het systeem met de hoogste P-concentratie (25 mg/L) zal fosfaat aan het water worden toegevoegd. De P concentraties in het water zullen worden gecontroleerd door dagelijkse meting van het P gehaltes in het water. Bij afwijking van de gewenste P concentraties zullen deze via verdunning worden aangepast aan het gewenste behandelingsniveau. Elk recirculatie systeem (recirculatie systeem 1 en recirculatie systeem 2) bevat 8 aquaria van 70L. De vissen worden twee keer daags met de hand gevoerd om 9:00-10:00hr en 16:00-17:00hr. De vissen zullen aan het begin en aan het eind van het experiment worden gewogen. Het voerniveau wordt ingesteld op 80% van de ad lib voeropname. Alle behandelingen (N=16 aquaria met 30 vissen) krijgen exact dezelfde hoeveelheid voer per dag gevoerd ($\pm 80\%$ van ad lib). De gezondheidsstatus zal worden gemonitord door voeropname

en dagelijkse visuele inspectie. Waterkwaliteit (Temperatuur, zuurstof, Saliniteit, pH, NH₄, NO₂, NO₃) in het effluent van de vistanks zal dagelijks worden gecontroleerd.

Opzet experiment (duur 8 weken) :

Behandeling	Recirculatie systeem 1 (1 mg P/L in het water)	Recirculatie systeem 2 (25 mg P/L in het water)
Voer 1 (overvloed aan P) 2)	4 replicates (N=30)3)	4 replicates (N=30)
Voer 2 (laag in beschikbaar P)4)	4 replicates (N=30)	4

- 1) Er is voor een hoogste concentratie van 25 mg P/L gekozen omdat dit een concentratie is die in werkelijkheid in commerciële RAS met tilapia en denitrificatiereactor in het systeem benadert.
- 2) P in het voer 13.4 g/kg voer, opneembaar P in het voer 10.3 g/kg voer.
- 3) N=30 is het aantal vissen per replicate.
- 4) P in het voer is 5.5 g/kg voer, opneembaar P is 2.5 g/kg voer.

6.b. Mate van ongerief:

Groep 1	A. Gering
Groep 2	A. Gering
Groep 3	A. Gering
Groep 4	A. Gering
Groep 5	A. Gering
Groep 6	A. Gering
Groep 7	A. Gering
Groep 8	A. Gering
Groep 9	A. Gering
Groep 10	A. Gering
Groep 11	A. Gering
Groep 12	A. Gering
Groep 13	A. Gering
Groep 14	A. Gering
Groep 15	A. Gering
Groep 16	A. Gering
Groep 17	A. Gering

6.c. Waaruit bestaat het ongerief en hoe bent u tot uw inschatting van de mate van ongerief gekomen?

Er is ongerief voor de vissen mogelijk tengevolge van:

- het wegen van de vissen aan het begin en aan het einde van het experiment.
- euthanasie van de vis aan het einde van het experiment.

7. Welke maatregelen heeft u getroffen om het ongerief tot een minimum te beperken?

Anesthesie:

Groep 1	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 2	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 3	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 4	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 5	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 6	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 7	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Groep 8	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 9	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 10	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 11	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 12	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 13	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 14	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 15	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 16	A. Niet toegepast (geen aanleiding).
Groep 17	A. Niet toegepast (geen aanleiding).

Pijnbestrijding:

Groep 1	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 2	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 3	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 4	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 5	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 6	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 7	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 8	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 9	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 10	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 11	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 12	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 13	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 14	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 15	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 16	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.
Groep 17	A. Wordt niet toegepast omdat hiertoe geen aanleiding bestaat.

- a) opofferen van de vissen aan het einde van het experiment.
- b) de betrokkenheid van professioneel getrainde mensen in dit experiment.

8. Toestand van dieren na einde van de proef:

Groep 1	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 2	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 3	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 4	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 5	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 6	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 7	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 8	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 9	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 10	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 11	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 12	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 13	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 14	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 15	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 16	Het dier is gedood na het einde van de proef.
Groep 17	Het dier is gedood na het einde van de proef.

Toelichting:

In totaal worden 30 vissen opgeofferd aan het begin van het experiment en 10 vissen per proefgroep aan het eind van het experiment voor het vaststellen van de lichaamssamenstelling. Deze dieren worden geëuthaniseerd d.m.v. een overdosis TMS. De overige vissen worden geëuthaniseerd na beëindigen

Uw aanvraag 2010019.a, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Wijzigen' gekregen.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten geringe ongerief dat de dieren ondergaan. Voorafgaand aan een definitief advies heeft de DEC de volgende vragen en opmerkingen:

Er worden verschillende recirculatiesystemen naast elkaar gebruikt. De DEC vraagt zich af, hoe wordt gegarandeerd dat fosfaat het enige is wat varieert in de tank, hoe een vergelijkbare waterkwaliteit wordt gewaarborgd.

Daarnaast verzoekt de DEC u aan te geven, of haar veronderstelling, dat in cohorten wordt gewerkt juist is, aangezien die suggestie wel wordt gewekt.

Bovendien verzoekt de DEC u het aantal gebruikte dieren eenduidig te vermelden: Bij 3. (specificatie diergroepen en 4.a. (nadere aanduiding gebruikte dieren wordt gesproken van 15 vissen van 30 gram per groep, bij 6.a. (proefschema) van 10 vissen van 20 gram.

Tenslotte verzoekt de DEC u aan te geven, of de proef wordt gestopt voordat de tilapia's op de leeftijd komen dat ze (kunnen) gaan vechten.

Na beantwoording zal de proef door de secretaris van de DEC in overleg met de proefdierdeskundige worden afgehandeld.

Uw aanvraag 2010019.b, door u aangemeld vanuit DRS heeft van de KC de status: 'Positief advies' gekregen.

De DEC is van mening dat het doel van de proef opweegt tegen het te verwachten geringe ongerief dat de dieren ondergaan en dat de vraag m.b.t. alternatieven voldoende is beantwoord.

Met vriendelijke groet,


Secretaris DEC