

EFFECTIVITEIT VAN GROENBESTRIJDING IN OFF- BOTTOM OESTERTEELT.

RESULTATEN EXPERIMENT IKV RAAK PRO ZILTE PRODUCTIE
LOCATIE KATS

*Michel Trommelen, Jacob Capelle, Eva Hartog, Tony van der
Hiele, Pauline Kamermans*

15 september 2017

Onderzoeksgroep Aquacultuur in Deltagebieden



EFFECTIVITEIT VAN GROENBESTRIJDING IN OFF-BOTTOM OESTERTEELT

RESULTATEN EXPERIMENT I.K.V. RAAK PRO ZILTE PRODUCTIE LOCATIE KATS

Titel: Effectiviteit van groenbestrijding in off-bottom oesterteelt
Subtitel: Resultaten experimenten i.h.k.v. Zilte Productie
Rapport type: Eindrapportage
Date: 8 juni 2017
Auteurs: Michel Trommelen, Jacob Capelle, Eva Hartog, Tony van der Hiele, Pauline Kamermans
Approved by:
Contact: m.trommelen@hz.nl



SAMENVATTING

Een van de meest gebruikte methoden wereldwijd om de Japanse Oester (*Magallana gigas*) te kweken is in zakken op tafels. In Nederland wordt deze methode pas sinds enkele jaren toegepast. Een van de problemen waarmee kwekers geconfronteerd worden is aangroei op de zakken van met name macro-algen en zeepokken. Kwekers gebruiken verschillende methodes om deze aangroei tegen te gaan. Het is echter is nog onbekend wat het effect is van deze bestrijdingsmethoden op de reductie in aangroei en op de conditie en overleving van oesters in zakken.

In een veldexperiment nabij Kats zijn daartoe gedurende 6 maanden 36 zakken met oesterbroed en halfwas oesters voor aangroei behandeld, is aangroei gekwantificeerd en zijn conditie index, overleving en vorm van de oesters geanalyseerd. De behandelingen bestonden uit sproeien met azijn, met hogedruk bespuiten, keren van de zakken, vervangen van zakken, een combinatie van deze behandelingen (bedrijfsbenadering) en als controle nietsdoen.

Uit de resultaten blijkt dat het gebruik van azijn effectief is in bestrijding van aangroei. Het vervangen van zakken is waarschijnlijk voor oesterbroed de meest effectieve manier van groenbestrijding. Vanwege een te kort aan metingen kon dit echter niet statistisch getest worden. Ook is er een positief effect van het vervangen van de zakken op de conditie en vorm van oesterbroed. Op de mortaliteit van oesterbroed heeft het verwijderen van aangroei geen effect. Voor de halfwas oesters heeft het verwijderen van aangroei geen effect op de vorm, conditie en overleving van de oesters.

In het algemeen kan daarom op basis van de resultaten van deze studie gezegd worden dat groenbestrijding alleen effectief is bij zakken met oesterbroed. Het vervangen van de zakken is daarbij waarschijnlijk de beste strategie. Uit vergelijkbaar onderzoek komt naar voren dat 1 a 2 keer bestrijden per seizoen optimaal is, en dat de timing daarvan het beste afgestemd kan worden op de voortplantingscyclus van de biofouling organismen. Dit zou in vervolgstudies nader onderzocht moeten worden.

INHOUD

SAMENVATTING	1
INHOUD	4
ACHTERGROND.....	5
Onderzoeksdoel.....	5
METHODE	6
Locatie	6
Oesters.....	6
Groenbestrijding behandelingen.....	7
Data collectie.....	7
Data analyse	Error! Bookmark not defined.
RESULTATEN	10
Aangroei in gewicht	10
Aangroei in bedekkingspercentages.....	10
Effect van tijd.....	11
Conditie index.....	12
Vorm	12
Mortaliteit.....	13
DISCUSSIE	14
Aangroei	14
Conditie index.....	15
Mortaliteit.....	15
Vorm	16
Andere effecten van aangroei	16
Samenvattend.....	Error! Bookmark not defined.
CONCLUSIE.....	16
AANBEVELINGEN	16
LITERATUUR.....	18
APPENDIX 1: Protocol voor bepaling drooggewicht	19
APPENDIX 2: Protocol voor bepaling asvrijdrooggewicht.....	21
APPENDIX 3: Statistische analyses.....	24

ACHTERGROND

Wereldwijd is voor de Japanse oesters (*Magallana gigas*) het opkweken in zakken op tafels de meest gebruikte methode in de aquacultuur van deze soort. De voortdurende aangroei van ongewenst materiaal (biofouling) op de zakken lijkt echter in sommige gebieden voor lagere opbrengsten te zorgen (Claereboudt, Bureau, et al. 1994). Zowel op de oesters zelf als op verschillende structuren die gebruikt worden om schelpdieren te kweken kan de aangroei voor aanzienlijke problemen zorgen (Fitridge et al. 2012). Op mondiale schaal worden de directe economische kosten van biofouling in de aquacultuur industrie geschat tussen de 5-10 % van de productiekosten, de marktprijs van oesters wordt zelfs voor 20% door biofouling bepaald (Watson et al. 2009, Fitridge et al. 2012). Biofouling van voornamelijk wieren en in mindere mate pokken en sponzen, vermindert de doorstroom van het water door de zakken en limiteert daarmee het voedselaanbod en de waterverversing (Claereboudt, Himmelman, et al. 1994, Lodeiros & Himmelman 1996, Yukihiro & Klumpp 1998). Door kwekers in Nederland wordt een combinatie van verschillende technieken gebruikt om aangroei te bestrijden, zoals het besproeien met natuurazijn, het keren van de zakken en schoonspuiten met water op hogedruk. Deze technieken zijn gebaseerd op kennis uit het buitenland en pionierswerk van de kwekers zelf. Welke behandeling gebruikt wordt, in welke frequentie en hoeveel inspanning nodig is, is afhankelijk van de grootte van de oesters, het type aangroei en de snelheid en de mate van de aangroei (Mallet et al. 2009, Fitridge et al. 2012). In Nederland wordt off-bottom kweek van schelpdieren pas recent toegepast, waardoor er nog weinig (praktijk-) kennis is over met welke kweektechnieken, waarmee de productie geoptimaliseerd kan worden. Zo zijn de effecten van groenbestrijding bijvoorbeeld nog niet eerder gekwantificeerd en het is niet duidelijk wat de effectiviteit van verschillende groenbestrijdingsmethoden is.

Onderzoeksdoel

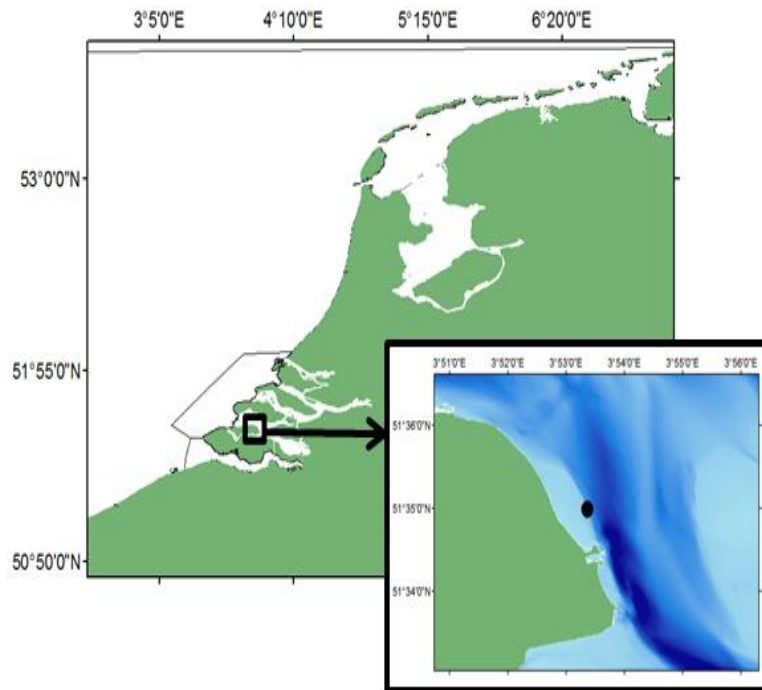
In dit onderzoek zijn de effecten getest van 5 verschillende bestrijdingsmethodes op de reductie in aangroei en op de conditie en overleving van oesters in oesterzakken op tafels.

Verwacht werd dat de groenbestrijding een positief effect heeft op groei, conditie en overleving van oesters in vergelijking met onbehandelde zakken.

METHODE

Locatie

Op 20 mei 2015 zijn op een locatie nabij Kats in de Oosterschelde (figuur 1), 36 schone gemaasde zakken van HDPE met oesters op tafels geplaatst (figuur 2). 18 zakken met een maaswijdte van 6 mm zijn gevuld met oesterbroed en 18 zakken met een maaswijdte van 12 mm met halfwas oesters. De zakken met gelijke maaswijdte werden bij elkaar gelegd, waarbij de zakken met dezelfde behandeling in triplo naast elkaar lagen (tabel 1). De proef werd ingezet op 20 mei 2015 en beëindigd op 8/9 december 2015.



Figuur 1: De locatie van het experiment

Oesters

Er is gekozen voor het gebruiken van broed en halfwas om twee redenen. Als eerste: door het gebruik van zowel broed als halfwas kon de 2-jarige kweekcyclus van broed tot consumptie gesimuleerd worden in een korter tijdbestek en in vergelijkbare condities. Daarnaast kon door het gebruik van verschillende grootteklassen oesters (broed en halfwas) ook de effecten op aangroei bij verschillende maaswijdten van zakken mee in beschouwing worden genomen. Het oesterbroed was afkomstig van Oester Broed Invang (OBI) installaties op percelen bij Kats en was circa een half jaar oud, de halfwas oesters waren ook afkomstig van OBI's bij Kats waar ze in 1-1,5 jaar in fijnmazige zakken zijn uitgegroeid tot het gebruikte formaat. De dichtheid van oesterbroed in de zakken was overeenkomstig met de dichtheid die door kwekers in het reguliere kweekproces wordt gehanteerd, circa 2500 stuks per zak. Het aantal oesterbroedjes per zak is bepaald op basis van gewicht. Hiertoe zijn van 6 subsets het gewicht en aantal bepaald inclusief tarra, waaruit volgde dat 1533 gram broed inclusief tarra overeenkwam met 2500 stuks oesterbroed (1384 gram netto). De dichtheid van halfwas oesters in de zakken was gemiddeld 193 stuks (173-213 st.) met een gemiddeld gewicht van 3,02 kg (2.56-3.56 kg).



Figuur 2: Opstelling van oesters in zakken op tafels

Groenbestrijding behandelingen

De zakken zijn in dit experiment op verschillende wijzen behandeld om het effect van groenbestrijding op aangroei te onderzoeken. De behandelingen zijn weergegeven in tabel 1. In het bedrijfsproces werd op verschillende tijdstippen aangroei bestreden, afhankelijk van de aangroei die op dat moment waargenomen werd. De bedrijfsbehandeling (D) bestond uit een combinatie van behandeling met natuurazijn (A) en keren (B) van de zakken. De frequentie en timing van de experimentele behandelingen werd afgestemd op de bedrijfsbehandeling. Andere experimentele behandelingen bestonden uit schoonspuiten met hogedruk (C). Er zijn twee controle behandelingen toegepast, bij de eerste controle behandeling werd helemaal niets gedaan (E). Bij de tweede controle behandeling werden de oude zakken door nieuwe zakken vervangen opdat de mogelijkheid tot aangroei zoveel mogelijk werd gereduceerd (F).

Tabel 1: Behandeling van oesterzakken over 5 maanden, de nummers zijn de dagen van de maand waarop een behandeling plaatsvond, x geeft aan dat er geen behandeling plaatsvond op dat moment. A. Sproeien met natuurazijn B. Keren van de zakken C. Schoonspuiten met water op hogedruk. D. Bedrijfskweekproces, combinatie van de behandelingen zoals dat momenteel gedaan wordt door kwekers (bij broed alleen behandeld met azijn). Controle behandeling E: Nietsdoen (geen) F. Controle behandeling b: Vervangen zakken.

	Juni		Juli		Augustus		September		Oktober	
Behandeling	Broed	HW	Broed	HW	Broed	HW	Broed	HW	Broed	HW
(A) Azijn	12, 24, 30	12, 24, 30	16	16	14, 21	14, 21	10	10	16	16
(B) Keren	12, 30	12, 30	15	15	14	14	10	10	16	16
(C) Hogedruk	11, 30	11,30			21	21			16	16
(D) Bedrijf	x	24 (A), 30 (A)	x	16 (A)	x	14 (A + K), 21 (A)	x	10 (A)	x	16 (A)
(E) Geen										
(F) Vervangen	18	18	15	15	21	14	10	10	19	16

Data collectie

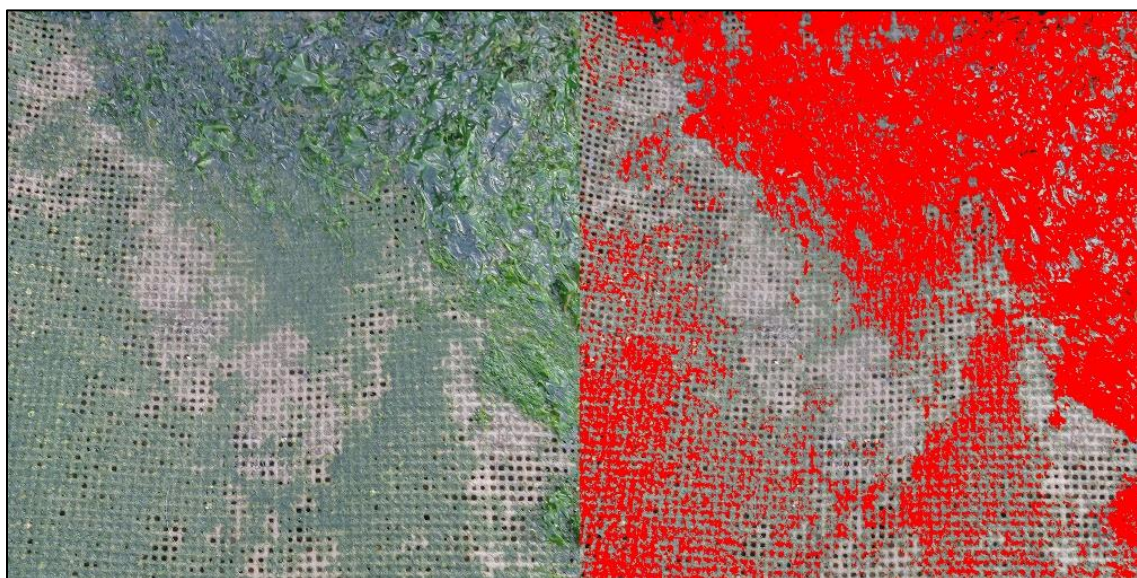
Van de aangroei van de zakken werden tussentijds in het veld foto's gemaakt op 17 mei, 10 september en 16 november 2015. Bij inzet van het experiment en bij de behandeling "vervanging" werden nieuwe zakken gebruikt.

Bij elke bemonstering werden foto's genomen van de aangroei en de zakken met oesters naar het laboratorium gebracht. In het laboratorium werden lege zakken nat gewogen en de oesters gewogen en gemeten. Van het totale monster aan oesters per zak werd het gewicht van het aantal levende en dode oesters bepaald om een indruk te krijgen van de overleving en ontwikkeling van de oesters. Van een subset van 50 oesters werden lengte:breedte:dikte en het natgewicht bepaald om de kwaliteit van de oesters bekijken. De breedte:lengte en diepte:lengte verhoudingen zeggen iets over de vorm van de schelp (Brake et al, 2003). Hiertoe werden vervolgens ook van deze subset een volgende subset van 25 stuks genomen, waarvan het vlees van de schelpen gescheiden werd en van het vlees natgewicht, drooggewicht en asvrijdrooggewicht bepaald werd volgens standaardmethode (zie appendix 1 &2). Met de conditie index (CI) kan een indruk gekregen worden van wat voor effect groenbestrijding heeft op het vleesgehalte van de oesters. De CI is berekend volgens een aangepaste formule van Abbe & Albright (2003); $[\text{asvrijdrooggewicht (g)}/\text{schelpholte volume}] * 100$, waarbij als proxy voor schelpvolume het droog schelpgewicht van het totaal natgewicht wordt afgetrokken.

Bij aanvang van het project is op basis van sub samples een schatting gemaakt van het aantal dode oesters op moment van inzet. Bij de opname van overleving van het oesterbroed aan het einde van het experiment bleek dat het aantal dode oesters niet geteld kon worden omdat van de schelpen soms alleen resten over waren. Daarnaast moest de handel tijd zo kort mogelijk worden gehouden om mortaliteit van het broed als gevolg van handelingen te beperken. Daarom is besloten om als variabele voor de mortaliteit het gewicht van de resten van de oesterschelpen als deel van het gewicht van de overlevende oesters te gebruiken, uitgedrukt in percentages. Dit geeft een indicatie van de mortaliteit maar is niet absoluut. Bij halfwas oesters konden de levende en dode oesters geteld en gewogen worden.

Data-analyse

Met het open source software programma ImageJ (<http://imagej.net/>) werden de foto's geanalyseerd en de bedekkingsgraad van aangroei bepaald (figuur 3). Door de grenswaardes voor kleuren aan te passen in het programma kunnen de verschillen tussen wel/geen aangroei versterkt worden. Aan de hand van de verhouding rood/andere kleuren kan dan het bedekkingspercentage bepaald worden. Bij het analyseren van de foto's werd duidelijk dat bij de laatste meting op 16 november veel roodwieren op de zakken zaten. Met het programma bleek het onmogelijk deze te kwantificeren, vandaar dat de foto's van 16 november niet mee zijn genomen in de analyses.



Figuur 3: Voorbeeld van een resultaat van een foto analyse. Links het origineel, rechts de aangroei in het rood weergegeven.

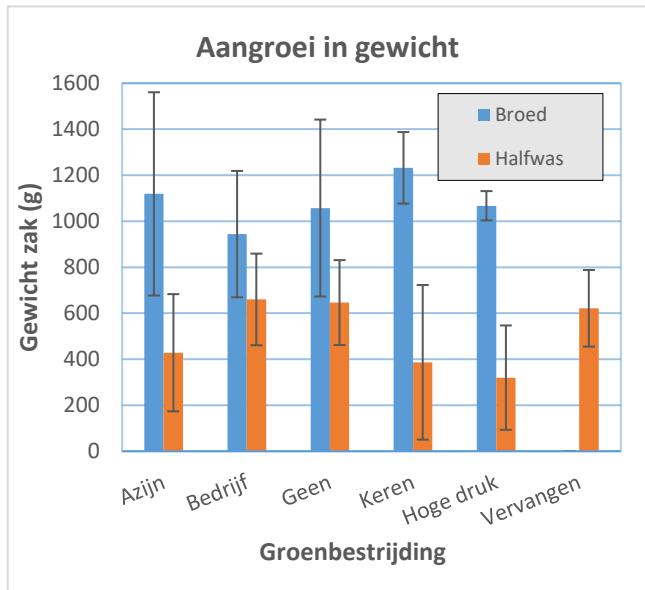
De verzamelde data werd ingevoerd in MS Excel, statistische analyses zijn uitgevoerd met het open source programma R (www.r-project.org) en SPSS.

- Het effect van aangroei op gewicht van de zakken, de conditie index, bedekkingspercentage en de mortaliteit is getest met een one-way ANOVA. Bij een significant resultaat is een pairwise t-test met Bonferroni correctie als posthoc test gebruikt, om het effect van de verschillende behandelingen tegen elkaar te toetsen.
- Het effect van de behandelingen op de verhoudingen breedte:lengte en diepte:lengte van het oesterbroed zijn getest met een pairwise t-test.
- Om aan de assumpties van het statistisch model te kunnen voldoen is voorafgaand aan de analyse de data voor bedekkingspercentage arcsine getransformeerd. Deze data werd vervolgens met een univariate analyse met Bonferroni posthoc getest om onderlinge verschillen te laten zien.
- Het effect op de overleving van oesters werd geanalyseerd door de biomassa van dood en levend materiaal als proxy te gebruiken waarvan de resultaten (ratio's) arcsin getransformeerd zijn. De behandelingen zijn getest met een one-way ANOVA.

RESULTATEN

Aangroei in gewicht

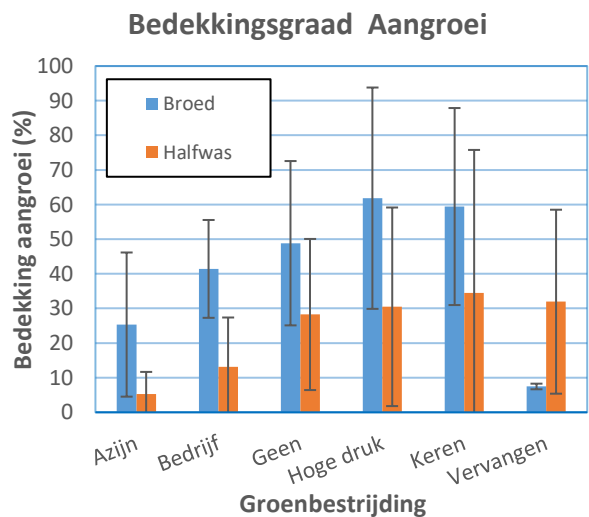
In de experimenten zijn geen significante ($p > 0.05$) verschillen gevonden tussen de effecten van de verschillende behandelingen op het gewicht van de aangroei (Appendix 3, tabel 3.1). Bij broed is er geen opname van aangroei gedaan bij het vervangen van de zakken. In vergelijking tot de aangroei op zakken met halfwas, valt op dat de aangroei op de zakken met oesterbroed hoger is (figuur 4). De verschillen tussen aangroei op zakken met maaswijdtes van 6 en 12 mm zijn significant ($p < 0,001$). Maaswijdte is dus een belangrijke factor voor de mate van aangroei, dit is te verklaren doordat bij een kleinere maaswijdte meer oppervlakte beschikbaar is voor hechting.



Figuur 4: Gemiddeld ($n=3$ met standaard deviatie) gewicht aangroei op zakken oesterbroed en halfwas per behandeling bij de eindmeting op 8 december.

Aangroei in bedekkingspercentages

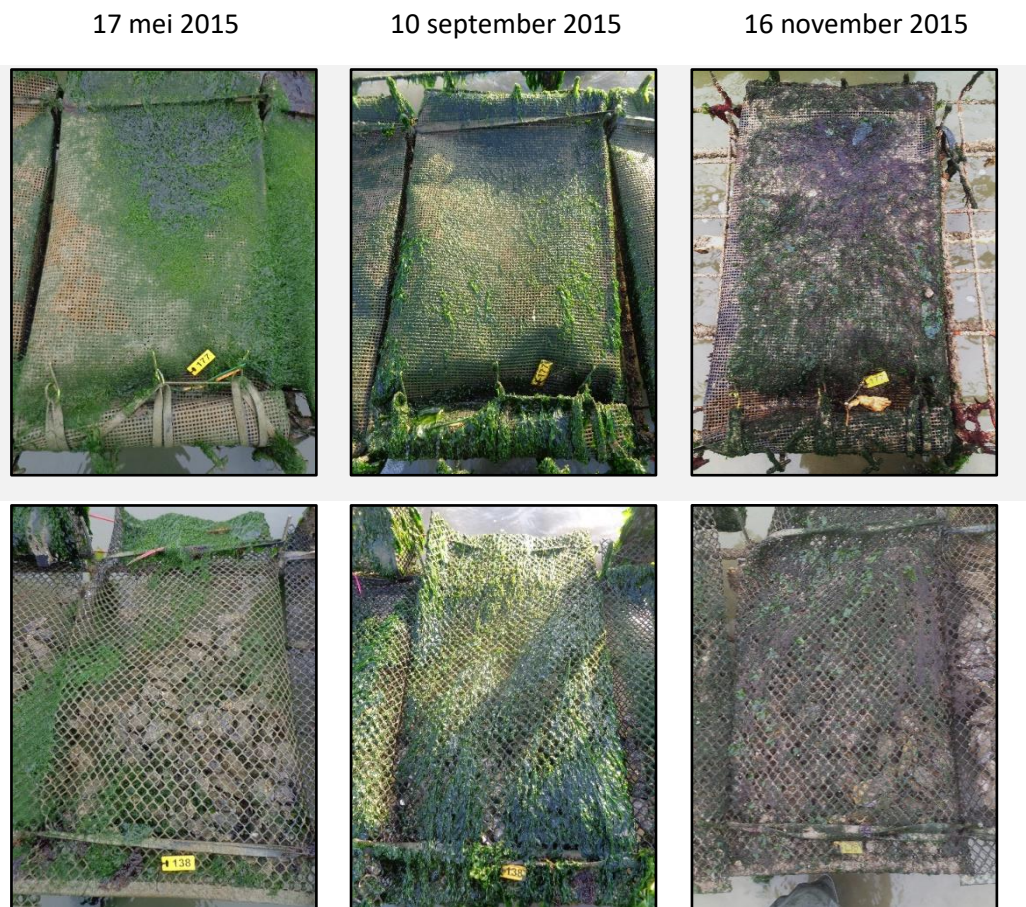
Analyse van de foto's genomen op 3 tijdstippen laat zien dat er verschillen zijn tussen de bedekking op zakken met broed en halfwas. Ook zijn er verschillen te zien tussen de onderlinge behandelingen, waarbij aangroei bij broed en halfwas dezelfde trend volgen (figuur 5). Uit statistische analyse van de aangroeipercentages (Appendix 3, tabel 3.2), blijken er significante verschillen te zijn tussen zowel de behandelingen ($p < 0,05$) als de maaswijdte die gebruikt wordt ($p < 0,05$). In een posthoc t-test (appendix 3, tabel 3.5) blijkt dat het verschil in bedekkingsgraad tussen de behandelingen "azijn" en "keren" significant is ($p < 0,05$), waarbij een behandeling met azijn de minste aangroei oplevert. Keren heeft gemiddeld het minste effect op de mate van aangroei, sterker nog, de behandelingen met hogedruk en keren lijken aangroei te bevorderen. Uit de gegevens komt ook naar voren dat het vervangen van de zakken effect lijkt te hebben op de aangroei op zakken met oesterbroed. Er zijn, echter maar 2 foto's geanalyseerd waardoor hier geen statistisch bewijs voor kan worden geleverd.



Figuur 5: Gemiddeld ($n=3$ met sd) percentage aangroei op de zakken na analyse van foto's.

Effect van tijd

Bij nadere beschouwing bleek dat de bedekkingsgraad bij de laatste meting (16 november) moeilijk te analyseren was met de software. De bedekkingsgraad verschilt met name door de aanwezigheid van roodwieren (niet analyseerbaar met ImageJ, figuur 6) significant van de andere twee metingen (Appendix 3, tabel 3.3). Daarom is ervoor gekozen om de analyses ook te doen met alleen de data van 17 mei en 10 september (Appendix 3, tabel 3.4).

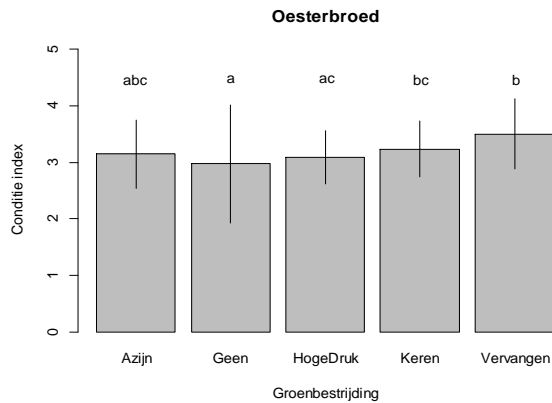


Figuur 6: Voorbeelden van aangroei over tijd (links 17 mei, midden 10 september en rechts 16 november 2015), bovenste rij is broed bij behandeling met hogedruk, de onderste rij is de controle zonder groenbestrijding van halfwas. Op de zakken van 16 november is duidelijk de aanwezigheid van roodwier te zien.

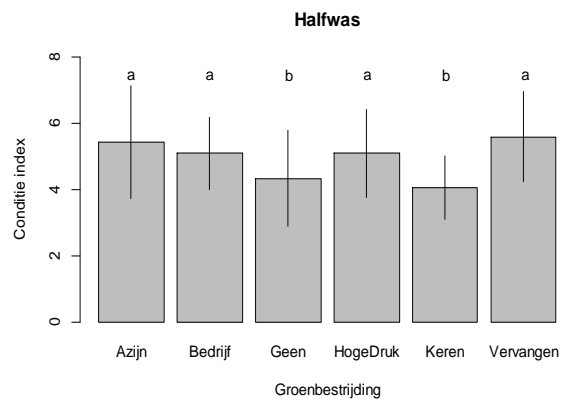
Uit de testen met alleen de data van 17 mei en 10 september blijkt dat zowel type behandeling als maaswijdte een significant effect hebben op de bedekkingsgraad van de aangroei. Via een Bonferroni post-hoc test (Appendix 3, tabel 3.6) komt naar voren dat de behandeling met azijn in deze periodes significant verschilt van niets doen, keren of hogedruk.

Conditie index

In de experimenten zijn significante verschillen gevonden van de behandelingen op de conditie van de oesters (broed: $F(4,314)=6.89$, $p<0.001$ en halfwas $F(5,399)=14.23$, $p<0.001$) (figuur 7 en 8). Bij broed is een significant verschil te zien tussen niets doen ("geen") en vervangen van de zakken, vervangen geeft een hogere conditie. Voor halfwas geldt dat het effect op de conditie index significant verschilt tussen de behandelingen "keren" en nietsdoen, en alle andere behandelingen. Keren en niets doen laten de laagste conditie zien. Vervangen van de zakken heeft voor zowel broed als halfwas het meest positieve effect op de conditie index.



Figuur 7: Effect van groenbestrijding op de conditie van oesterbroed via een one-way ANOVA pairwise t-test. The letters boven de balken geven aan of er behandelingen significant verschillen van elkaar.



Figuur 8: Effect van groenbestrijding op de conditie van halfwas via een one-way ANOVA pairwise t-test.

Vorm

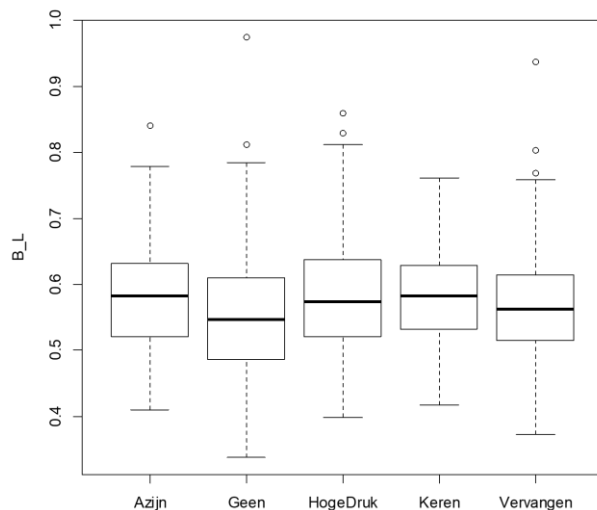
Om te kijken of er verschillen ontstaan in de vorm van het oesterbroed bij verschillende behandelingen, is gekeken naar de breedte/lengte (B_L) en diepte/lengte (D_L) verhoudingen. Een pairwise t-test wijst uit dat de B_L verhouding significant lager ($p<0,05$) is voor "geen" behandeling (tabel 2, figuur 10). De behandelingen leiden tot een hogere B_L verhouding ten opzichte van geen behandeling. Met andere woorden, de oesters zonder behandeling zijn langer en smaller. Wat betreft de D_L verhouding komen de effecten van behandelingen keren, hogedruk en azijn overeen (tabel 3, figuur 11). Het effect van het vervangen van de zakken op de D_L verhouding is significant ten opzichte van alle andere behandelingen ($p<0,05$). Het vervangen van de zakken leidt tot een hogere D_L ratio, de oesters hebben dus meer een komvorm. Het effect van de behandeling nietsdoen ("geen") is ook significant ten opzichte van de andere behandelingen, niets doen heeft een significant negatief effect op de komvorm.

Tabel 6: P-waarden van pairwise t-test met samengevoegde standaard deviaties ($p<0,05$) Breedte:Lengte.

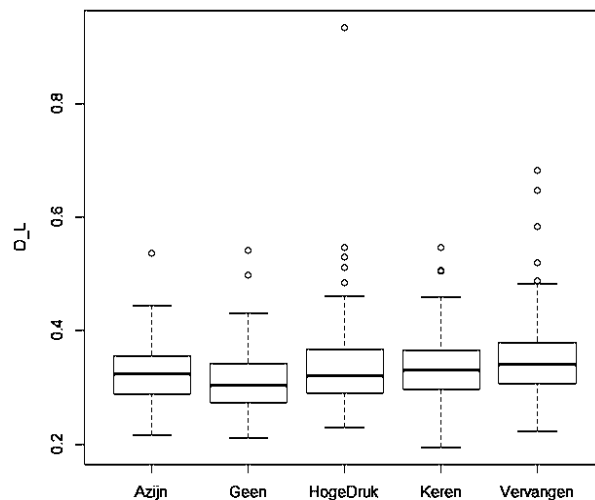
	Azijn	Geen	Hoge druk	Keren
Geen	0,0450	-	-	-
Hoge druk	1,0000	0,0340	-	-
Keren	1,0000	0,0200	1,0000	-
Vervangen	0,6920	0,6920	0,6920	0,5470

Tabel 7: P-waarden van pairwise t-test met samengevoegde standaard deviaties ($p<0,05$) Diepte:Lengte

	Azijn	Geen	Hoge druk	Keren
Geen	0,0496			
Hoge druk	1,0000	0,0026		
Keren	1,0000	0,0025	1,0000	
Vervangen	0,0091	2.7e-09	0,0385	0,0496



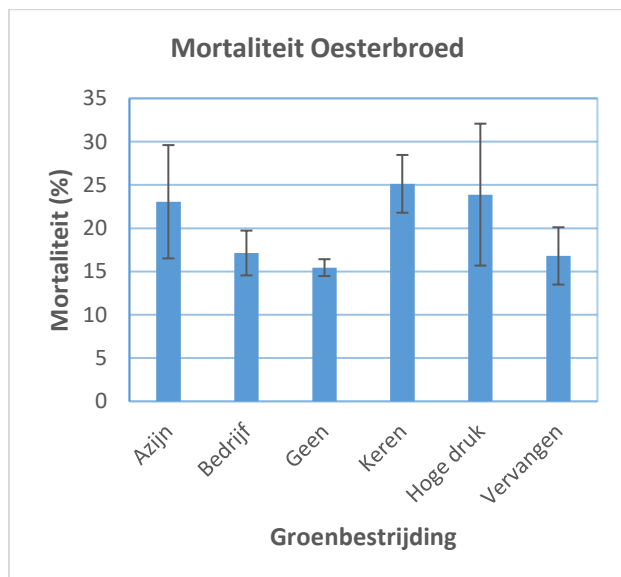
Figuur 9: Effect van groenbestrijding op de breedte: lengte (B_L) verhoudingen bij oesterbroed.



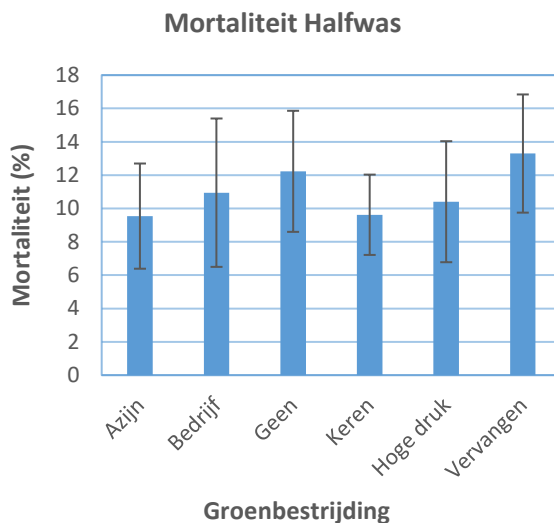
Figuur 10: Effect van groenbestrijding op de diepte: lengte (D_L) verhoudingen bij oesterbroed.

Mortaliteit

Tussen de mortaliteit ratio bij de verschillende behandelingen zijn geen significante verschillen ($p > 0.05$) gevonden (Appendix 3, tabel 3.7-3.10). Er lijkt dus geen verschil in effect te zijn van de behandelingen op de overleving van de oesters. In figuren 12 en 13 valt op dat de mortaliteit bij broed hoger is dan bij halfwas en dat er verschillen zijn tussen de effecten van de behandelingen op de mortaliteit bij oesterbroed en halfwas. De variatie tussen behandelingen is groter bij oesterbroed (16-25 % mortaliteit) dan bij halfwas oesters (9,5-13% mortaliteit). Waar de mortaliteit bij halfwas laag is bij de behandelingen met azijn en keren, is het effect van deze behandelingen bij oesterbroed juist tegenovergesteld. Voor de bedrijfsbehandeling, nietsdoen en vervangen van de zakken geldt juist dat deze behandelingen positief werken voor de overleving in vergelijking tot gebruik van azijn, keren en hogedruk.



Figuur 12: Effect van groenbestrijding op overleving van oesterbroed.



Figuur 13: Effect van groenbestrijding op de overleving van halfwas oesters.

DISCUSSIE

Aangroei

Tijdens de experimenten is gebleken dat de aangroei gedomineerd werd door (macro)algen. Andere organismen zoals zakpijpen kregen waarschijnlijk geen kans door de behandelingen, het droogvallen van de zakken en competitie met de algen. Dit wordt ondersteund in andere onderzoeken waarin benadrukt wordt dat de mate van aangroei en effectiviteit van groenbestrijding afhankelijk is van diverse factoren zoals locatie, type systeem, droogvalduur (Watson et al. 2009, Adams et al. 2011, Fitridge et al. 2012, Sievers et al. 2014).

Uit de resultaten is gebleken dat in het experiment de verschillende methodes van groenbestrijding geen effect heeft op het gewicht van aangroei op de zakken. In principe maakt het voor de aangroei niet uit welke methode gehanteerd wordt, na 29 weken is het gewicht van aangroei nagenoeg hetzelfde voor alle behandelingen. De opnames van gewicht zijn echter momentopnames en kunnen variëren over de tijd. De analyse met betrekking tot de bedekkingsgraad wijst uit dat de behandeling met azijn een remmend effect heeft op de mate van aangroei ten opzichte van de behandeling waarbij de zakken gekeerd worden. Keren of gebruik van hogedruk heeft geen effect en lijkt zelfs de aangroei te bevorderen. Vervangen van de zakken lijkt ook een belangrijk negatief effect te hebben op aangroei op zakken met oesterbroed, dit effect zal gerelateerd zijn aan de frequentie van vervangen. De werking van azijn is in lijn met andere wetenschappelijke onderzoeken (Carver et al. 2003, Forrest et al. 2007), waarbij onderdompeling in 4 en 5% azijn het meest efficiënt werd bevonden in het verwijderen van zakpijpen en andere organismen.

In de analyses kwam duidelijk het verschil tussen aangroei op zakken met broed en aangroei op zakken met halfwas naar voren. Zowel in gewicht als bedekkingsgraad viel op dat de aangroei hoger was op de zakken met broed. Deze zakken hebben een maaswijdte van 6 mm terwijl de zakken met halfwas 12 mm maaswijdte hebben. Een kleinere maaswijdte betekent meer oppervlak om te hechten.

Uit de analyses van de bedekkingsgraad bleek dat er verschillen zijn tussen de periodes van aangroei. De bedekkingsgraad van 16 november verschilt significant van de data van 17 mei en 10 september. De reden daarvoor is onder andere dat de bedekking op 16 november met name uit roodalgens bestond welke niet te detecteren en kwantificeren zijn met het gebruikte analyseprogramma. Doordat roodalgens niet meegenomen zijn in de analyse is een onderschatting van totale begroeiing aannemelijk. Tussen 17 mei en 10 september zijn geen significante verschillen gevonden in bedekking. Het verschil in groeiperiode van aangroei-soorten kan van belang zijn voor de keuze in groenbestrijding. Het belang van de timing van groenbestrijding wordt in verschillende onderzoeken benadrukt (Mallet et al. 2009, Arens et al. 2011, Fitridge et al. 2012) waarbij wordt geadviseerd in te zetten op het begrijpen van biofouling organismen en welke methode het meest efficiënt is bij die soort op welk tijdstip. Zo geven Mallet et al. (2009) en Fitridge (2012) in hun studies aan dat de methodes van verwijderen van biofouling, de frequentie en de intensiteit ervan, gestuurd worden door de samenstelling van de aangroei. Bij Mallet et al. (2009) is dit met name zeepokken in de aanloop van het kweekseizoen, mosselen aan het einde van het seizoen. Zij vonden bij verschillende regimes (tweewekelijks, maandelijks, 1 keer in 4 maanden en geen behandeling) voor het keren van zakken dat zowel locatie als de behandeling en hun interactie een significant effect heeft op de aangroei. Ze adviseren om maar 1 of 2 keer te behandelen tijdens een seizoen, en dit af te stemmen op de broedval en groei van de biofouling soorten. Sievers et al. (2013) vonden vergelijkbare resultaten voor hun onderzoek naar verwijdering van met name zakpijpen en mosselzaad. De zaadval is volgens hen goed voorspelbaar via monitoring waarop het

beleid van behandelingen afgestemd zou kunnen worden. In de foto's is ook duidelijk een verschuiving van soorten aangroei zichtbaar, roodalgae worden pas overheersend later in de herfst, terwijl met name groene draadalgae in de zomer overheersen. Hier zou het bestrijdingsregime op aangepast kunnen worden.

Conditie index

Uit de resultaten bleek dat alleen het vervangen van de zakken een positief effect heeft op de conditie index voor oesterbroed ten opzichte van geen behandeling. Voor halfwas oesters geldt dat het keren van de zakken en de controle zonder behandeling een significant negatief effect had op de conditie index. Blijkbaar zijn de oesters in deze zakken onderhevig geweest aan stress. De aangroei op die zakken is echter niet significant hoger dan bij andere behandelingen, aangroei is dus waarschijnlijk niet de oorzaak voor de lage conditie index. Het is van belang in acht te nemen dat het bepalen van de conditie index aan het einde van de experimentele periode en ook het einde van het seizoen is gedaan. De conditie index varieert door het seizoen (Sawusdee et al. 2015) en deze meting geeft dus een momentopname weer. In hun studie naar het effect van de frequentie van het keren van zakken op groei van oesters (Mallet et al. 2009) vonden de onderzoekers geen significante verschillen in conditie tussen de oesters in zakken die met verschillende frequenties gekeerd werden.

Mortaliteit

Geen van de methodes van groenbestrijding bleek een significant effect te hebben op de overleving van zowel oesterbroed als halfwas oesters. Dit is in tegenstelling met diverse studies waarin aangetoond is dat biofouling een effect kan hebben op de groei en overleving van schelpdieren, vanwege competitie om voedsel en ruimte (Watson et al. 2009, Adams et al. 2011), maar ook vanwege het belemmeren van de aanvoer van voedsel en afvoer van afvalproducten (Yukihira & Klumpp 1998). Aan de andere kant kan biofouling ook zorgen voor een verhoogde primaire productie waarvan de schelpdieren kunnen profiteren (Lodeiros et al. 2002). Het is niet duidelijk waarom de groenbestrijding geen significante effecten heeft op de overleving van oesters, mogelijk wordt sterfte door andere factoren (zoals het herpesvirus) beïnvloed waardoor een eventueel effect van behandeling wordt overschaduwd.

De dichtheid waarin de oesters in de zakken worden gedaan kan ook een belangrijke rol in spelen in de overleving van oesters (Taylor et al. 1997, Marshall & Dunham 2013). Naar aanleiding van de ervaring van de kwekers werd een hoeveelheid van 2500 stuks oesterbroed en circa 200 stuks halfwas oesters gekozen. De dichtheid beïnvloedt de competitie om voedsel en ruimte, tussen de oesters maar ook tussen oesters en de biofouling. Aan de hand van de resultaten is niet te bepalen welke invloed dichtheid heeft gehad, maar hierin kan gevarieerd worden om een hogere overleving en groei te realiseren.

De methode waarmee de mortaliteit is bepaald verschilde bij oesterbroed en halfwas vanwege de kwetsbaarheid van het oesterbroed. Voor oesterbroed is er gerekend met verschillen in gewichten van dode en levende schelpen, dit om de tijd uit het water zo kort mogelijk te houden zodat het effect op overleving minimaal was. Bij halfwas was het mogelijk om de dode schelpen individueel te tellen. Bij oesterbroed werd gevonden dat de behandelingen waarbij niets gedaan werd en zakken vervangen werden de minste mortaliteit plaatsvond. Daarentegen leidden deze behandelingen bij halfwas juist tot de hoogste mortaliteit. Een verklaring is dat het oesterbroed nog te kwetsbaar is om frequent behandeld te worden en de halfwas oesters wellicht te veel stress ondervinden door te veel competitie met andere oesters en biofouling. In een vergelijkbare studie van Mallet et al. (2009) kwamen de onderzoekers tot de conclusie dat 1 keer keren gedurende de 4 maanden van het experiment voldoende was. Dit leverde namelijk dezelfde resultaten qua groei, conditie en mortaliteit als andere behandelingen.

Vorm

Voor oesterbroed blijken in dit experiment een aantal behandelingen een positief effect hebben op de breedte: lengte ratio (B_L) en de diepte: lengte ratio (D_L) ten opzichte van wanneer geen groenbestrijding wordt toegepast. Het vervangen van de zakken heeft een positief effect op de D_L ratio van de oesters ten opzichte van de andere behandelingen. In een onderzoek van Brake et al. (2003) werden verschillende oesterkwekers gevraagd oesters van goede van slechte vorm te scheiden. Dit leverde standaardwaarden op waaraan een "goede" oester moet voldoen qua vorm. De verhouding D_L werd goed bevonden als deze >0,25 was, de B_L wanneer deze >0,63 was. Wanneer de oesters uit dit experiment vergeleken worden met deze waarden blijkt dat de D_L verhouding van oesterbroed gemiddeld boven de 0,25 scoort voor alle behandelingen. Echter blijkt de verhouding B_L overal onder de 0,63. De hoge score voor D_L bij het vervangen van zakken zou kunnen worden verklaard doordat het wegnemen van de barrières voor voedselaanvoer en afvoer van afvalproducten de oesters voor meer optimale condities zou kunnen zorgen. Ook kan een vrijere doorstroming zorgen voor meer contact tussen de oesters doordat er meer beweging plaatsvindt. Door meer contact eroderen de randen van de oesters, waardoor oesters meer investeren in een diepere schelp. Dit wordt onderbouwd door de resultaten voor geen behandeling, de D_L verhouding is significant lager dan bij alle andere behandelingen. De erosie kan ook verklaren waarom de B_L verhouding nog onder de streefwaarde zit, hiervoor zijn de verschillen tussen de behandelingen ook kleiner. Echter moet rekening gehouden worden met het feit dat in deze studie de verhoudingen voor oesterbroed zijn bekeken en in de studie van Brake et al. (2003) voor consumptie oesters.

Andere effecten van aangroei

Naast het effect op de conditie en overleving van de oesters heeft biofouling natuurlijk effect op de infrastructuur waar de oesters in gekweekt worden. De aangroei zorgt voor veel extra gewicht wat door de tafels gedragen moet worden en voor extra weerstand in het water waardoor grote krachten op de infrastructuur worden uitgeoefend (Claereboudt, Bureau, et al. 1994, Adams et al. 2011). Dit kan zorgen voor hogere onderhoudskosten (Fitridge et al. 2012), waardoor het de vraag is of het rendabel is om te investeren in bestrijding van aangroei.

CONCLUSIE

In dit onderzoek is bekeken welke methode het meest effectief is om aangroei op oesterzakken in het veld te bestrijden. Uit de resultaten kon geconcludeerd worden dat het gebruik van azijn en het vervangen van zakken significant negatieve effecten te hebben op de groei van biofouling. Dit vertaalt zich echter niet naar een betere groei of overleving van de oesters. De conditie en vorm van oesterbroed blijkt alleen significant te worden beïnvloed wanneer de zakken regelmatig vervangen worden. Op halfwas oesters blijkt het keren van de zakken en geen behandeling een negatief effect te hebben op de conditie index. In het algemeen kan daarom aan de hand van de resultaten uit dit experiment gezegd worden dat er geen bewezen effect is van de huidige groenbestrijdingsmethoden op de groei en overleving van de oesters.

AANBEVELINGEN

Uit de resultaten blijkt dat vervangen van zakken en gebruik van azijn voornamelijk effect heeft op de conditie en vorm van oesterbroed. Voor oesterbroed kan het dus van belang zijn om aan groenbestrijding te doen, voor halfwas heeft het geen bewezen effect. Door alleen de zakken met oesterbroed te behandelen kan een kostenbesparing worden gerealiseerd.

Seizoensgebonden verschillen in biofoulingsoorten en dichtheid daarvan wijzen erop dat timing van belang kan zijn. Niet alleen de timing van groenbestrijding maar ook de timing van het plaatsen van de zakken met oesterbroed en de grootte van het oesterbroed kan aangroei verminderen. Door de groeicyclus van biofouling beter te leren begrijpen zal efficiëntere bestrijding kunnen worden uitgevoerd.

Ook zou er aan andere manieren van aangroei bestrijding kunnen worden gedacht, zo hebben Sala & Lucchetti (2008) geëxperimenteerd met golf-borstels. Dit is een touwensysteem dat door golfenergie langs de cilindervormige oestermanden wordt bewogen. Dit goedkope en makkelijk installeerbare systeem zorgde er voor dat biofouling van mosselzaad en algen substantieel werd gereduceerd op de manden met golf-borstels.

LITERATUUR

- Abbe GR, Albright BW (2003) An improvement to the determination of meat condition index for the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791). *J Shellfish Res* 22:747–752
- Adams CM, Shumway SE, Whitlatch RB, Getchis T (2011) Biofouling in Marine Molluscan Shellfish Aquaculture: A Survey Assessing the Business and Economic Implications of Mitigation. *J World Aquac Soc* 42:242–252
- Arens CJ, Paetzold SC, Ramsay A, Davidson J (2011) Pressurized seawater as an antifouling treatment against the colonial tunicates *Botrylloides violaceus* and *Botryllus schlosseri* in mussel aquaculture. *Aquat Invasions* 6:465–476
- Brake J, Evans F, Langdon C (2003) Is beauty in the eye of the beholder? Development of a simple method to describe desirable shell shape for the Pacific oyster industry. *J Shellfish Res* 22:767–772
- Carver CE, Chisholm A, Mallet AL (2003) Strategies to mitigate the impact of *Ciona intestinalis* (L.) biofouling on shellfish production. *J Shellfish Res* 22:621–631
- Claereboudt MR, Bureau D, Côté J, Himmelman JH (1994) Fouling development and its effect on the growth of juvenile giant scallops (*Placopecten magellanicus*) in suspended culture. *Aquaculture* 121:327–342
- Claereboudt MR, Himmelman JH, Côté J (1994) Field evaluation of the effect of current velocity and direction on the growth of the giant scallop, *Placopecten magellanicus*, in suspended culture. *J Exp Mar Bio Ecol* 183:27–39
- Fitridge I, Dempster T, Guenther J, Nys R de (2012) The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. *Biofouling* 28:649–69
- Forrest BM, Hopkins GA, Dodgshun TJ, Gardner JPA (2007) Efficacy of acetic acid treatments in the management of marine biofouling. *Aquaculture* 262:319–332
- Locke A, Doe KG, Fairchild WL, Jackman PM, Reese EJ (2009) Preliminary evaluation of effects of invasive tunicate management with acetic acid and calcium hydroxide on non-target marine organisms in Prince Edward Island, Canada. *Aquat Invasions* 4:221–236
- Lodeiros CJM, Himmelman JH (1996) Influence of fouling on the growth and survival of the tropical scallop, *Euvola* (*Pecten*) *ziczac* (L. 1758) in suspended culture. *Aquac Res* 27:749–756
- Lodeiros C, Pico D, Prieto A, Narváez N, Guerra A (2002) Growth and survival of the pearl oyster *Pinctada imbricata* (Röding 1758) in suspended and bottom culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquac Int* 10:327–338
- Mallet AL, Carver CE, Hardy M (2009) The effect of floating bag management strategies on biofouling, oyster growth and biodeposition levels. *Aquaculture* 287:315–323
- Marshall RD, Dunham A (2013) Effects of culture media and stocking density on biofouling, shell shape, growth, and survival of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and the Manila clam (*Venerupis philippinarum*) in suspended culture. *Aquaculture* 406:68–78
- Sala A, Lucchetti A (2008) Low-cost tool to reduce biofouling in oyster longline culture. *Aquac Eng* 39:53–58
- Sawusdee A, Jensen AC, Collins KJ, Hauton C (2015) Improvements in the physiological performance of European flat oysters *Ostrea edulis* (Linnaeus, 1758) cultured on elevated reef structures: Implications for oyster restoration. *Aquaculture* 444:41–48
- Sievers M, Dempster T, Fitridge I, Keough MJ (2014) Monitoring biofouling communities could reduce impacts to mussel aquaculture by allowing synchronisation of husbandry techniques with peaks in settlement. *Biofouling* 30:203–212
- Sievers M, Fitridge I, Dempster T, Keough MJ (2013) Biofouling leads to reduced shell growth and flesh weight in the cultured mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Biofouling* 29:97–107
- Taylor JJ, Southgate PC, Rose RA (1997) Fouling animals and their effect on the growth of silver-lip pearl oysters, *Pinctada maxima* (Jameson) in suspended culture. *Aquaculture* 153:31–40
- Watson DI, Shumway SE, Whitlatch RB, Rodrick GE (2009) Biofouling and the shellfish industry. In: Shumway SE, Rodrick GE (eds) *Shellfish safety and quality*. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge (UK), p 317–336
- Yukihira H, Klumpp DW (1998) Effects of body size on suspension feeding and energy budgets of the pearl oysters *Pinctada margaritifera* and *P. maxima*. *Mar Ecol Prog Ser* 170:119–130

APPENDIX 1: Protocol voor bepaling drooggewicht

1. ONDERWERP EN TOEPASSINGSGEBIED

Dit werkvoorschrift beschrijft het drogen van schelpdiermateriaal ten behoeve van biomassa en conditie bepaling.

2. TERMEN EN DEFINITIES

Drooggewicht (DW): het droog-gewicht van vlees en/of schelpmateriaal.

3. BEGINSEL

Schelpdieren worden met of zonder schelp gedroogd met behulp van droogstoof.

4. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

1. Droogstoof tot minimaal 150 graden
2. Exicator met actieve (blauwgekleurde) silicagel
3. Analytische balans
4. Hittebestendige kroezen, genummerd.
5. Hittebestendige handschoenen
6. Metalen tang

5. WERKWIJZE

5.1 Voorbereiding

1. Maak een lijst in Excel met als heading: sample nummers, kroes nummer., gewicht kroes, brutogewicht 1, nettogewicht 1, brutogewicht 2, nettogewicht 2, verschil (2-1)%.
2. Bedenk hoeveel benodigde kroesjes er nodig zijn en laat deze 2 uur drogen in een stoof van 70°C. Als er aluminium kroezen gebruikt worden is dit niet van toepassing.
3. Vervolgens moeten de kroesjes 30 minuten in een exicator staan, om af te koelen.

5.2 Verwerking samples

1. Hierna kunnen de kroesjes gewogen worden op de analytische balans. Zorg dat recht staat en dat deze getarreerd is.
2. Noteer de gevonden waarden van de lege kroesjes in het Excel bestand.
3. Vervolgens kunnen de samples in de kroes overgebracht worden en kunnen deze gewogen worden.
4. Noteer de gevonden waarden van de kroes met het natte vlees in het Excel bestand.
5. Zet in Excel het samplenummer bij het juiste kroesnummer.
6. De kroesjes met het schelpenvlees moeten 2 à 4 dagen in de stoof staan van 80°C. (Hoe natter het sample, hoe meer tijd het sample nodig heeft om op stabiel drooggewicht te komen.)
7. Na de droging worden de kroesjes overgebracht naar de exicator. Zet de samples in een exicator met een open ventiel, doe het ventiel na 30 seconden dicht waardoor de exicator vacuümtrekt.
8. Laat de samples voor 30 minuten in de exicator afkoelen.

5.3 Weging van de samples

1. Vervolgens kan het drooggewicht bepaald worden met behulp van de analytische balans.
2. Noteer de gevonden waarden van de kroes met het sample in het Excel bestand.
3. Bereken het gewicht van het droge sample m.b.v.:
Droog gewicht kroes met droge sample – gewicht kroes = gewicht droge sample
4. Zet vervolgens de kroesjes terug in de stoof op 80°C voor 2 uur.
5. Verplaats na 2 uur de kroesjes naar de exicator en laat ze daar voor 30 minuten afkoelen. Zorg ervoor dat de exicator vacuümtrekt.
6. Weeg daarna de kroesjes met het sample voor de tweede keer. Bereken het nettogewicht van het sample. Het verschil tussen meting 1 en 2 kan nu als percentage uitgedrukt worden. (zie punt 6)
7. Omdat schelpdieren vaak in grotere hoeveelheden verast worden is het toegestaan een verschil te hebben met een afwijking van 1%. Als d afwijking meer is dan deze 1% wordt het protocol vanaf 5.3.5 herhaald. Dit wordt net zolang herhaalt tot het percentage lager is dan 1% .(Bij kleinere samples kan het toegestane verschil tot 0.1% teruggebracht worden.)

6. BEREKENINGEN

6.1 Netto droog gewicht

Bruto drooggewicht – gewicht kroes

6.2 Percentuele afwijking

$((\text{nettogewicht 1} - \text{nettogewicht 2}) * 100) / \text{netto gewicht 1}$

6.3 Voorbeeld spreadsheet

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	Sample nummer	kroes nummer	gewicht kroes (g)	bruto gewicht 1 (g)	Netto gewicht 1 (g)	bruto gewicht 2 (g)	Netto gewicht 2 (g)	Vershil 2-1 (%)
2	meep 8	5	20.01	31.22	=D2-C2	30.11	=E2-C2	=(E2-G2)*100/E2

APPENDIX 2: Protocol voor bepaling asvrijdrooggewicht

1. ONDERWERP EN TOEPASSINGSGEBIED

Dit werkvoorschrift beschrijft het verassen van schelpdiermateriaal ten behoeve van biomassa en conditie bepaling.

2. TERMEN EN DEFINITIES

Asvrijdrooggewicht (AFDW): het organische deel van het drooggewicht.

3. BEGINSEL

Schelpdieren worden met of zonder schelp gedroogd en verast met behulp van droogstoven en een moffeloven.

4. Apparatuur er hulpmiddelen

1. Moffeloven bereik tot minimaal 600 °C
2. Droogstoof minimaal 150 °C
3. Exicator met actieve silicagel
4. Analytische balans
5. Hittebestendige bakjes of kroezen, genummerd
6. Hittebestendige handschoenen
7. Metalen tang om bakjes mee vast te pakken

5. Werkwijze

5.1 Voorbereiding

- 1 Maak een lijst in Excel met daarin de: sample, kroes nr., as1, netto as1. Bijv.:

Sample	Crus nr.	As1	Netto As1	As2	Netto As2	Vershil
						0

- 2 Let erop dat het kroesgewicht en het drooggewicht van de samples al bepaald is en genoteerd staat. (zie werkvoorschrift drooggewicht bepalen bij schelpdieren).

5.2 Verwerking samples

- 1 Zet de moffeloven aan en stel deze in op 560°C.
- 2 Zet de te bepalen samples voorzichtig voor in de moffeloven.
- 3 De oven warmt zich langzaam op tot de juist ingestelde aantal graden terwijl de samples al in de moffeloven staan
- 4 De samples moet gedurende 4 uur bij 560°C, nadat de moffeloven opgewarmd is, in de moffeloven blijven staan.
- 5 Na de 4 uur kunnen de kroezen uit de moffeloven gehaald worden, LET OP; de oven zal warm zijn. Gebruik dan hittebestendige handschoenen en tang.

- 6 De kroezen met as moeten, voor gedurende 60 minuten, teruggeplaatst worden in de droogstoof van 80°C.
- 7 Hierna kunnen de kroezen 30 minuten afkoelen in de exicator. Laat de exicator zich vacuümtrekken door het ventiel 30 sec. open te houden en daarna weer dicht te draaien.

5.3 Weging samples

- 1 Hierna kan het ruwe as gewogen worden op de analytische balans, zorg dat recht staat en dat deze getarreed is.
- 2 Zet vervolgens de kroesjes terug in de moffeloven bij 560°C voor 2 uur.
- 3 De kroezen met as moeten, voor gedurende 60 minuten, teruggeplaatst worden in de droogstoof van 80°C.
- 4 Hierna worden de kroesjes naar de exicator geplaatst waar ze voor 30 minuten afkoelen. Zorg ervoor dat de exicator vacuümtrekt.
- 5 Weeg daarna de kroesjes met het sample voor de tweede keer. Bereken het nettogewicht van het sample.
- 6 Zet de gevonden waarden in het Excel bestand en bereken het nettoverschil uit in procenten.

$$\frac{((\text{Netto as1} - \text{Netto as2}) * 100)}{\text{Netto as1}} = \text{verschil tussen as1 en as2 in \%}$$

- 7 Is er een afwijking gevonden die groter is dan 1% dan moet de kroes nog 2 uur in de oven verhit worden op 560°C. LET OP; de oven zal warm zijn. Gebruik dan hittebestendige handschoenen en tang.
- 8 De kroes gaat daarna 60 minuten in de stoof en vervolgens 30 minuten in de exicator.
- 9 Hierna kan het ruw as gewicht berekend worden.
- 10 De stappen vanaf 5.2 worden herhaald tot de afwijking minder dan 1% is.

6. Berekeningen

6.1 Netto asvrijdrooggewicht:

Bruto drooggewicht – gewicht kroes

6.2 Percentage afwijking:

$$\frac{((\text{Netto as1} - \text{Netto as2}) * 100)}{\text{Netto as1}} = \text{verschil tussen as1 en as2 in \%}$$

6.3 Asgewicht

Asvrijdrooggewicht - Drooggewicht

6.4 Voorbeeld spreadsheet:

Sample	kroes (=nr)	Gewicht kroes (g)	Gewicht kroes + asgewicht Sample 1 (g)	Netto asgewicht Sample 1 (g)	Gewicht kroes + asgewicht Sample 2 (g)	Netto asgewicht Sample2 (g)	Verschil (%)	Asvrij droog gewicht	Asgewicht
bv: meep 8	5	20.01	31.22	=(31.22-20.01)	30.11	=(30.11-20.01)	=(((11.21-10.10)*100)/11.21)	10.1	=(20.01-10.10)

APPENDIX 3: Statistische analyses

Tabel 3.1: Univariate Analyse waarbij effect van behandeling en effect van maaswijdte op de aangroei in gewicht is getoetst.

Tests of Between-Subjects Effects						Between-Subjects Factors				
Dependent Variable: Gewicht (g)										
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.		Value Label	N		
Corrected Model	3157074,24 ^a	10	315707,424	4,465	,002	Behandeling	0	Azijn	6	
Intercept	20396275,03	1	20396275,03	288,433	,000		1	Bedrijf	6	
Behandeling	127407,367	5	25481,473	,360	,870		2	Niets Doen	6	
Maaswijdte	2661736,533	1	2661736,533	37,641	,000		3	Hoge Druk	6	
Behandeling * Maaswijdte	338648,467	4	84662,117	1,197	,340		4	Keren	6	
Error	1555710,667	22	70714,121				5	Vervangen	3	
Total	24338591,00	33				Maaswijdte	0	Halfwas	18	
Corrected Total	4712784,909	32					1	Broed	15	

a. R Squared = .670 (Adjusted R Squared = .520)

Tabel 3.2: Univariate Analyse waarbij effect van behandeling en effect van maaswijdte op de aangroei in bedekkingspercentages is getoetst.

Tests of Between-Subjects Effects						Between-Subjects Factors				
Dependent Variable: Begroeiing										
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.		Value Label	N		
Corrected Model	4,110 ^a	11	,374	3,485	,001	Behandeling	0	Azijn	16	
Intercept	20,888	1	20,888	194,828	,000		1	Bedrijf	14	
Behandeling	1,749	5	,350	3,262	,011		2	Niets doen	15	
Maaswijdte	1,086	1	1,086	10,131	,002		3	Hoge druk	16	
Behandeling * Maaswijdte	,618	5	,124	1,153	,341		4	Keren	14	
Error	7,505	70	,107				5	Vervangen	7	
Total	36,310	82				Maaswijdte	0	Halfwas	45	
Corrected Total	11,615	81					1	Broed	37	

a. R Squared = ,354 (Adjusted R Squared = ,252)

Tabel 3.3: Univariate Analyse met een bonferroni post-hoc test waarbij effect van tijd is getoetst.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Begroeiing

Bonferroni

(I) Datum	(J) Datum	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
17.05.2016	10.09.2016	-,0708	,03563	,158	-,1590	,0175
	16.11.2016	,5117*	,04347	,000	,4040	,6194
10.09.2016	17.05.2016	,0708	,03563	,158	-,0175	,1590
	16.11.2016	,5825*	,04234	,000	,4776	,6874
16.11.2016	17.05.2016	-,5117*	,04347	,000	-,6194	-,4040
	10.09.2016	-,5825*	,04234	,000	-,6874	-,4776

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,021.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 3.4: Univariate Analysis waarbij effect van behandeling en effect van maaswijdte op de aangroei in bedekkingspercentages is getoetst voor 17 mei en 10 september

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Begroeiing

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3,661 ^a	11	,333	4,773	,000
Intercept	24,108	1	24,108	345,679	,000
Behandeling	1,694	5	,339	4,857	,001
Maaswijdte	,505	1	,505	7,238	,010
Behandeling * Maaswijdte	,877	5	,175	2,516	,041
Error	3,696	53	,070		
Total	35,910	65			
Corrected Total	7,358	64			

a. R Squared = ,498 (Adjusted R Squared = ,393)

Between-Subjects Factors

	Value Label	N	
Behandeling	0	Azijn	12
	1	Bedrijf	12
	2	Niets doen	12
	3	Hoge druk	12
	4	Keren	12
Maaswijdte	5	Vervangen	5
	0	Halfwas	33
	1	Broed	32

Tabel 3.5: Post-hoc test voor bedekkingsgraad voor alle data.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Begroeiing

Bonferroni

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Azijn	Bedrijf	-,1509	,11983	1,000	-,5151	,2133
	Niets doen	-,3108	,11768	,153	-,6684	,0469
	Hoge druk	-,3469	,11577	,057	-,6987	,0050
	Keren	-,3780*	,11983	,036	-,7422	-,0138
	Vervangen	-,1488	,14838	1,000	-,5997	,3022
Bedrijf	Azijn	,1509	,11983	1,000	-,2133	,5151
	Niets doen	-,1599	,12168	1,000	-,5297	,2100
	Hoge druk	-,1960	,11983	1,000	-,5602	,1682
	Keren	-,2271	,12376	1,000	-,6033	,1490
	Vervangen	,0021	,15157	1,000	-,4585	,4628
Niets doen	Azijn	,3108	,11768	,153	-,0469	,6684
	Bedrijf	,1599	,12168	1,000	-,2100	,5297
	Hoge druk	-,0361	,11768	1,000	-,3938	,3215
	Keren	-,0673	,12168	1,000	-,4371	,3025
	Vervangen	,1620	,14988	1,000	-,2935	,6175
Hoge druk	Azijn	,3469	,11577	,057	-,0050	,6987
	Bedrijf	,1960	,11983	1,000	-,1682	,5602
	Niets doen	,0361	,11768	1,000	-,3215	,3938
	Keren	-,0312	,11983	1,000	-,3954	,3330
	Vervangen	,1981	,14838	1,000	-,2528	,6491
Keren	Azijn	,3780*	,11983	,036	,0138	,7422
	Bedrijf	,2271	,12376	1,000	-,1490	,6033
	Niets doen	,0673	,12168	1,000	-,3025	,4371
	Hoge druk	,0312	,11983	1,000	-,3330	,3954
	Vervangen	,2293	,15157	1,000	-,2314	,6900
Vervangen	Azijn	,1488	,14838	1,000	-,3022	,5997
	Bedrijf	-,0021	,15157	1,000	-,4628	,4585
	Niets doen	-,1620	,14988	1,000	-,6175	,2935
	Hoge druk	-,1981	,14838	1,000	-,6491	,2528
	Keren	-,2293	,15157	1,000	-,6900	,2314

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,107.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 3.6: Post-hoc test van bedekkingsgraad voor 17 mei en 10 september

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Begroeiing

Bonferroni

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Azijn	Bedrijf	-,1375*	,10781	1,000	-,4689	,1939
	Niets doen	-,3342*	,10781	,047	-,6656	-,0027
	Hoge druk	-,4467*	,10781	,002	-,7781	-,1152
	Keren	-,3683*	,10781	,018	-,6998	-,0369
	Vervangen	-,1763	,14057	1,000	-,6085	,2558
Bedrijf	Azijn	,1375	,10781	1,000	-,1939	,4689
	Niets doen	-,1967	,10781	1,000	-,5281	,1348
	Hoge druk	-,3092	,10781	,089	-,6406	,0223
	Keren	-,2308	,10781	,553	-,5623	,1006
	Vervangen	-,0388	,14057	1,000	-,4710	,3933
Niets doen	Azijn	,3342*	,10781	,047	,0027	,6656
	Bedrijf	,1967	,10781	1,000	-,1348	,5281
	Hoge druk	-,1125	,10781	1,000	-,4439	,2189
	Keren	-,0342	,10781	1,000	-,3656	,2973
	Vervangen	,1578	,14057	1,000	-,2743	,5900
Hoge druk	Azijn	,4467*	,10781	,002	,1152	,7781
	Bedrijf	,3092	,10781	,089	-,0223	,6406
	Niets doen	,1125	,10781	1,000	-,2189	,4439
	Keren	,0783	,10781	1,000	-,2531	,4098
	Vervangen	,2703	,14057	,898	-,1618	,7025
Keren	Azijn	,3683*	,10781	,018	,0369	,6998
	Bedrijf	,2308	,10781	,553	-,1006	,5623
	Niets doen	,0342	,10781	1,000	-,2973	,3656
	Hoge druk	-,0783	,10781	1,000	-,4098	,2531
	Vervangen	,1920	,14057	1,000	-,2401	,6241
Vervangen	Azijn	,1763	,14057	1,000	-,2558	,6085
	Bedrijf	,0388	,14057	1,000	-,3933	,4710
	Niets doen	-,1578	,14057	1,000	-,5900	,2743
	Hoge druk	-,2703	,14057	,898	-,7025	,1618
	Keren	-,1920	,14057	1,000	-,6241	,2401

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,070.

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabel 3.7: Effect van groenbestrijding op de mortaliteit voor broed

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Mortaliteit Broed

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,039 ^a	5	,008	2,815	,071
Intercept	3,570	1	3,570	1290,209	,000
Behandeling	,039	5	,008	2,815	,071
Error	,030	11	,003		
Total	3,681	17			
Corrected Total	,069	16			

a. R Squared = ,561 (Adjusted R Squared = ,362)

Tabel 3.8: Post-hoc test groenbestrijding op de mortaliteit voor broed

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Mortaliteit Broed

Bonferroni

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Azijn	Bedrijf	,0727	,04295	1,000	-,0875	,2328
	Niets Doen	,0950	,04295	,736	-,0651	,2551
	Hoge Druk	-,0257	,04295	1,000	-,1858	,1345
	Keren	-,0088	,04802	1,000	-,1879	,1702
	Vervangen	,0777	,04295	1,000	-,0825	,2378
Bedrijf	Azijn	-,0727	,04295	1,000	-,2328	,0875
	Niets Doen	,0223	,04295	1,000	-,1378	,1825
	Hoge Druk	-,0983	,04295	,642	-,2585	,0618
	Keren	-,0815	,04802	1,000	-,2605	,0975
	Vervangen	,0050	,04295	1,000	-,1551	,1651
Niets Doen	Azijn	-,0950	,04295	,736	-,2551	,0651
	Bedrijf	-,0223	,04295	1,000	-,1825	,1378
	Hoge Druk	-,1207	,04295	,255	-,2808	,0395
	Keren	-,1038	,04802	,802	-,2829	,0752
	Vervangen	-,0173	,04295	1,000	-,1775	,1428
Hoge Druk	Azijn	,0257	,04295	1,000	-,1345	,1858
	Bedrijf	,0983	,04295	,642	-,0618	,2585
	Niets Doen	,1207	,04295	,255	-,0395	,2808
	Keren	,0168	,04802	1,000	-,1622	,1959
	Vervangen	,1033	,04295	,523	-,0568	,2635
Keren	Azijn	,0088	,04802	1,000	-,1702	,1879
	Bedrijf	,0815	,04802	1,000	-,0975	,2605
	Niets Doen	,1038	,04802	,802	-,0752	,2829
	Hoge Druk	-,0168	,04802	1,000	-,1959	,1622
	Vervangen	,0865	,04802	1,000	-,0925	,2655
Vervangen	Azijn	-,0777	,04295	1,000	-,2378	,0825
	Bedrijf	-,0050	,04295	1,000	-,1651	,1551
	Niets Doen	,0173	,04295	1,000	-,1428	,1775
	Hoge Druk	-,1033	,04295	,523	-,2635	,0568
	Keren	-,0865	,04802	1,000	-,2655	,0925

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,003.

Tabel 3.9: Effect van groenbestrijding op de mortaliteit voor halfwas

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Mortaliteit HW

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,008 ^a	5	,002	,535	,746
Intercept	2,019	1	2,019	641,669	,000
Behandeling	,008	5	,002	,535	,746
Error	,038	12	,003		
Total	2,066	18			
Corrected Total	,046	17			

a. R Squared = ,182 (Adjusted R Squared = -,158)

Tabel 3.10: Post-hoc test van groenbestrijding op de mortaliteit voor halfwas

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Mortaliteit HW

Bonferroni

(I) Behandeling	(J) Behandeling	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Azijn	Bedrijf	-,0217	,04580	1,000	-,1888	,1455
	Niets Doen	-,0430	,04580	1,000	-,2101	,1241
	Hoge Druk	-,0020	,04580	1,000	-,1691	,1651
	Keren	-,0133	,04580	1,000	-,1805	,1538
	Vervangen	-,0597	,04580	1,000	-,2268	,1075
Bedrijf	Azijn	,0217	,04580	1,000	-,1455	,1888
	Niets Doen	-,0213	,04580	1,000	-,1885	,1458
	Hoge Druk	,0197	,04580	1,000	-,1475	,1868
	Keren	,0083	,04580	1,000	-,1588	,1755
	Vervangen	-,0380	,04580	1,000	-,2051	,1291
Niets Doen	Azijn	,0430	,04580	1,000	-,1241	,2101
	Bedrijf	,0213	,04580	1,000	-,1458	,1885
	Hoge Druk	,0410	,04580	1,000	-,1261	,2081
	Keren	,0297	,04580	1,000	-,1375	,1968
	Vervangen	-,0167	,04580	1,000	-,1838	,1505
Hoge Druk	Azijn	,0020	,04580	1,000	-,1651	,1691
	Bedrijf	-,0197	,04580	1,000	-,1868	,1475
	Niets Doen	-,0410	,04580	1,000	-,2081	,1261
	Keren	-,0113	,04580	1,000	-,1785	,1558
	Vervangen	-,0577	,04580	1,000	-,2248	,1095
Keren	Azijn	,0133	,04580	1,000	-,1538	,1805
	Bedrijf	-,0083	,04580	1,000	-,1755	,1588
	Niets Doen	-,0297	,04580	1,000	-,1968	,1375
	Hoge Druk	,0113	,04580	1,000	-,1558	,1785
	Vervangen	-,0463	,04580	1,000	-,2135	,1208
Vervangen	Azijn	,0597	,04580	1,000	-,1075	,2268
	Bedrijf	,0380	,04580	1,000	-,1291	,2051
	Niets Doen	,0167	,04580	1,000	-,1505	,1838
	Hoge Druk	,0577	,04580	1,000	-,1095	,2248
	Keren	,0463	,04580	1,000	-,1208	,2135

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,003.