

MINISTERIE van MIDDENSTAND en LANDBOUW
Bestuur voor Onderzoek en Ontwikkeling (DG 6)
Centrum voor Landbouwkundig Onderzoek (CLO) - Gent
Departement Zeevisserij - Oostende
Departementshoofd: Dr. ir. R. De Clerck

Werkgroep Biologie

Tussentijds activiteitsverslag

1999 - 2000

Oostende, augustus 2000

Hoofdtthema 1 - Pathologie van vis, schaal- en weekdieren

Project 1.1. - Studie van de visbestanden en
de natuurlijke mortaliteit van commerciële vissoorten

Project 1.1.3. - Registratie van ziekten en parasieten bij commerciële
vissoorten in het Belgisch Continentaal Plat en de ZW Noordzee

a. Projectverantwoordelijke: D. Declerck

b. Wetenschappelijke achtergrond, materiaal en methoden

De studie van de natuurlijke mortaliteit van commerciële vissoorten beoogt door middel van registratie en determinatie van inwendige en uitwendige ziekten en parasieten, een bijdrage te leveren tot de stockramingen op het Belgisch Continentaal Plat en in de ZW-Noordzee.

De registratie van ziekten en parasieten bij commerciële vissoorten uit het Belgisch Continentaal Plat, werd in het voor- en najaar 1999 uitgevoerd. De bemonstering gebeurde met behulp van de O-29 'Broodwinner' en omvatten vier platvissoorten namelijk schol (*Pleuronectes platessa*), schar (*Limanda limanda*), bot (*Platichthys flesus*) en tong (*Solea solea*), en twee rondvissoorten, namelijk kabeljauw (*Gadus morhua*) en wijting (*Merlangius merlangus*). In de ZW-Noordzee werd het onderzoek op schol, schar en tong in augustus 99 met behulp van het onderzoekingschip de 'Belgica' uitgevoerd. De visgronden voor schol en schar in de ZW-Noordzee zijn te vinden in Figuur 1.1.3.8. Het in- en uitwendig onderzoek bij plat- en rondvis werd uitgevoerd met een methode die door de ICES *WGPDMO* Werkgroep werd uitgewerkt voor monitoringprogramma's (ICES, 1989) en de aanbevelingen van BEQUALM (1999). De registratie van de ziekten gebeurde in de periode waarin de bestandsopnamen in het Belgisch Continentaal Plat en de ZW-Noordzee werden uitgevoerd. Hierdoor kunnen de resultaten aan de populatieparameters worden verbonden (EGIDIUS, 1983; BUCKE en STONES, 1988).

c. Vorderingsverslag

c.1. Belgisch Continentaal Plat: Voor- en najaar 1999

Schol, schar en bot

De resultaten worden weergegeven in de Tabellen 1.1.3.1. tot 1.1.3.3. en in een overzichtstabel 1.1.3.4. De evolutie van de voornaamste ziekten (1985-99) wordt uitgezet in de Figuren 1.1.3.1. voor schar, 1.1.3.2. voor schol en 1.1.3.3. voor bot.

Wanneer de periode 1996-98 als referentie voor het Belgisch Continentaal Plat wordt genomen, bleef het voorkomen van pigmentafwijkingen in 1999 zeer hoog voor bot (21.3 %), schol (5.2 %) en schar (4 %). Voor schar werd vooral staartpigment opgetekend.

De aanwezigheid van huidzweren bij schar (1.1 %) en bot (0.5 %) bleef onveranderd. De waargenomen huidzweren werden vooral veroorzaakt door beschadiging van de vis door het vistuig.

De virale aandoening *Lymphocystis* daalde spectaculair bij bot (0.25 %) en was voor het eerst sinds de waarnemingen van dezelfde orde van grootte als bij schar (0.2 %) en schol (0.3 %).

Zoals de jaren voorheen werd epidermale papilloma in de geobserveerde platvissen uit het Belgisch Continentaal Plat niet vastgesteld. Dit is in tegenstelling met de hoge percentages die in midden Noordzee en de noordelijke Noordzee worden opgetekend. Het voorkomen van skeletvervormingen steeg bij bot (1.5 %) en bleef onveranderd bij schar (1.1 %).

De protozoaire aandoening *Glugea stephani* steeg na drie jaar opnieuw bij schar (10.9 %). Deze *Glugea* infectie vertoonde het hoogste voorkomen sinds de waarnemingen in 1985 zijn gestart (Figuur 1.1.3.4.). In tegenstelling met het hoge voorkomen bij schar bleef de *Glugea* infectie laag (< 0.2 %) bij schol en bot.

Tenslotte werden levernodulen > 2 mm bij hogere percentages genoteerd dan in de periode daarvoor: in schar (0.8 %), schol (0.3 %) en bot (2.5 %).

De evolutie van het voorkomen van ziekten en parasieten bij schar (Figuur 1.1.3.1.), schol (Figuur 1.1.3.2.) en bot (Figuur 1.1.3.3.) werden voor de periode 1985-99 uitgezet en reeds in het vorig activiteitenverslag besproken. Voor de drie verschillende vissoorten werd de evolutie van het voorkomen van pigmentafwijkingen, *Glugea*, *Lymphocystis* en levertumoren in Figuur 1.1.3.4. uitgezet.

Wijting

De resultaten zijn opgenomen in Tabel 1.1.3.5. Voor wat de lengteklasse 22-29cm betreft werd er bij het voorkomen van de kiemparasiet *Lerneocera branchialis* 16 % in de lente en 7.9 % in de herfst vastgesteld. Voor dezelfde lengteklasse bedroeg de aanwezigheid van *Cryptocotyle lingua* in de lente 17.8 % en 2.5 % in de herfst. Andere gedetecteerde afwijkingen waren groenverkleuring van de lever (0.3 %) en lordosis (0.6 %).

Kabeljauw

Van december 1999 tot eind januari 2000 waren we in staat de jonge kabeljauwpopulatie (0-2 jaar) uit het Belgisch Continentaal Plat te analyseren. *Pseudoterranova decipiens* werd gevonden in 2.8 %; *Lerneocera branchialis* in 18.3 %; *Cryptocotyle lingua* in 2.8 % en skeletdeformatie in 5.6 % van de gevallen. Geen granulatie van de milt werd genoteerd. Dit was in tegenstelling met november 99, waarbij 8.4 % van de kabeljauwpopulatie een miltaandoening vertoonde.

Tong

Bloedanalyses op een tweehonderdtal tong exemplaren afkomstig van het Belgisch Continentaal Plat werden in de maand juni 2000 uitgevoerd. *Haemogregarina* infecties van de leucocyten en de erythrocyten werden bij 10.6 % van de lengteklasse 12-20cm gevonden. Dit is een aanzienlijke daling in vergelijking met de maand maart 1999 waarbij 40 % en de maand juni 1999 waarbij 63.3 % werd opgetekend. De besmetting lijkt over haar hoogtepunt heen te zijn (Figuur 1.3.3.5.). Er werd evenwel een nieuwe soort van *Haemogregarina* infecties bij de erythrocyten vastgesteld. Voor wat de tankexperimenten op tong betreft werd een aanzienlijke sterfte binnen de eerste twee maanden vastgesteld. Ten aanzien van de *Haemogregarina* infectie kon nog geen verband worden gelegd.

c.2. ZW-Noordzee: Augustus 1999

Voor wat de ZW-Noordzee betreft werden de voornaamste visstations in Figuur 1.1.3.8. uitgezet. De bekomen resultaten werden opgenomen in de Tabellen 1.1.3.6. en 1.1.3.7. en in de Figuren 1.1.3.6. en 1.1.3.7. Hypermelanisatie werd alleen bij schaar (11.8 %) in visgrond 2 vastgesteld (Figuur 1.1.3.8.) vastgesteld. In dit gebied van de zuidwestelijke Noordzee werd een lichte stijging van de bestudeerde ziekten, voornamelijk levertumoren (3.9 %) opgetekend.

In 1999 werd de *Haemogregarina* infectie in tong bevestigd en bedroeg 95 % bij de lengteklasse > 21 cm.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Bestandsopnamen juvenielen BCP	U		X	
Bestandsopnamen adulten ZW-Noordzee	U		X	
Pathologisch onderzoek BCP	U	U	X	X
Pathologisch onderzoek ZW-Noordzee	U		X	
Tankexperimenten op tong	U			

X = gepland

U = uitgevoerd

d. Referenties

ANON. (1999): Biological Effects Assurance in Monitoring Programmes (BEQUALM).
Report of the first workshop (21-23 October 1999): External Fish Diseases and Liver Histo-
pathology

BUCKE, D. en STONES, K. (1988): Fish diseases monitoring on the 1987 North Sea ground-
fish survey.
Diseases of Aquatic Organisms, 3, 1-11.

EGIDIUS, E. (1983): Registration of diseases during traditional biological surveys.
ICES, Marine Environmental Quality Committee, CM 1983 / E: 8

ICES (1989): Methodology of fish disease surveys.
ICES, Cooperative Research Report, 166, 1-43.

Aandoening	LENGTEKLASSEN									TOTAAL AANTAL BESMET			PROCENTUEEL AANTAL(%)		
	15-19cm			20-24cm			>=25cm								
	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal
Voorjaar 1999															
Glugea stephani	-	1	1	1	13	13	-	12	12	-	26	26	-	5,3	5,2
Skeletvervorming	-	-	-	-	4	4	-	2	2	-	6	6	-	1,2	1,2
Lymphocystis	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	2	2	-	0,4	0,4
Pigmentafwijking	-	-	-	-	12	12	-	14	14	-	26	26	-	5,3	5,2
Epidermale papilloma	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	0,2	0,2
Wormen lever	-	-	-	-	-	-	-	3	3	-	3	3	-	0,6	0,6
Zweren	-	-	-	-	4	4	-	2	2	-	6	6	-	1,2	1,2
Verwondingen	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	0,2	0,2
Aantal onderzocht	-	5	5	10	254	264	5	226	231	15	485	500			
Najaar 1999															
Glugea stephani	3	6	9	3	27	30	1	18	19	7	51	58	11,1	11,6	11,6
Skeletvervorming	-	-	-	-	3	3	-	3	3	-	6	6	-	1,3	1,2
Verwondingen	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	0,2	0,2
Pigmentafwijking	-	2	2	1	4	5	-	19	19	1	25	26	1,6	5,7	5,2
Levernodulen	-	-	-	-	1	1	-	2	2	-	3	3	-	0,7	0,6
Zweren	1	-	1	-	-	-	1	3	4	2	3	5	3,1	0,7	0,6
Lidtekenvorming	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	2	2	-	0,4	0,4
Aantal onderzocht	16	21	37	32	299	331	15	117	132	63	437	500			

0

Tabel 1.1.3.1 : Voorkomen van ziekten en parasieten bij schar in het Belgisch continentaal plat (voor-en najaar 1999)

Aandoening	LENGTEKLASSEN									Totaal aantal			Procentueel aantal (%)		
	15-24cm			25-29cm			>30cm			Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal
	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal						
Voorjaar 1999															
Pigmentafwijking	6	9	15	7	4	11	-	5	5	13	18	31	6,7	7,3	6
Skeletvervorming	1	-	1	-	2	2	-	1	1	1	3	4	0,5	0,9	0,8
Glugea stephani	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	0,5	-	0,2
Levernodulen	-	1	1	-	-	-	-	1	1	-	2	2	-	0,6	0,4
Lidtekenvorming	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1	0,5	-	0,2
Lymphocystis	1	-	1	-	1	1	-	-	-	1	1	2	0,5	0,3	0,4
Worm lever	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	-	-	-	-	-
Aantal onderzocht	63	74	137	99	152	251	32	93	125	194	319	513			
Najaar 1999															
Pigmentafwijking	3	1	4	8	13	21	-	3	3	11	17	28	4,3	6,9	5,6
Skeletvervorming	-	-	-	1	-	1	-	-	-	1	-	1	0,4	-	0,2
Levernodulen	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1	0,4	-	0,2
Aantal onderzocht	65	95	160	171	117	288	18	34	52	254	246	500			

Tabel 1.1.3.2 : Voorkomen van ziekten en parasieten bij schol in het Belgisch continentaal plat (voor-en najaar 1999)

Aandoening	LENGTEKLASSEN (CM)									TOTAAL AANTAL			PROCENTUEEL AANTAL		
	20-24			25-29			>=30			Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal
	Mannelijk	Vrouwelijk	Tot	Mannelijk	Vrouwelijk	Tot	Mannelijk	Vrouwelijk	Tot	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal	Mannelijk	Vrouwelijk	Totaal
Voorjaar 1999															
Pigmentafwijking	-	-	-	2	7	9	14	36	49	16	43	58	15,8	25,1	21,3
Vin- en staarterosie	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	0,6	0,4
Levernodulen	-	-	-	-	-	-	2	1	3	2	1	3	2	0,6	1,1
Lymphocystis	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1	-	1	1	-	0,4
Skeletvervorming	-	-	-	-	-	-	2	-	2	2	-	2	2	-	0,8
Wormen op lever	-	-	-	1	-	1	-	1	1	1	1	2	1	0,6	0,8
Zweren	-	-	-	-	1	1	-	1	1	-	2	2	-	1,2	0,8
Aantal onderzocht	3	1	4	35	28	63	63	142	205	101	171	272			
Najaar 1999															
Pigmentafwijking	-	-	-	2	-	2	12	28	40	14	28	42	20	21,5	21
Vin-en staarterosie	-	-	-	-	-	-	-	2	2	-	2	2	-	1,5	1
Levernodulen	-	-	-	-	-	-	-	10	10	-	10	10	-	7,7	5
Skeletvervorming	-	-	-	2	-	2	2	-	2	4	-	4	5,7	-	4
Leveraandoening	-	-	-	2	-	2	2	-	2	4	-	4	5,7	-	4
Aantal onderzocht	4	2	6	18	6	24	48	122	170	70	130	200			

Tabel 1.1.3.3 : Voorkomen van ziekten en parasieten bij bot in het Belgisch continentaal plat (voor- en najaar 1999)

Soort	Aantal onderzocht	Pigment- afwijking	Skeletver- vormingen	Vin erosie	Zweren	Wonden	Glugea stephani	Hyper- melanisatie	Lymphocystis	LNOD	Epidermale papilloma	Wormen op lever
SCHAR												
Voorjaar '99	444	2,9	1,3	0,2	1,5	0,2	6,3	0,2	0,5	0,2	-	0,4
Najaar '99	438	5,0	0,7	0,2	0,7	0,4	16	0,2	-	1,3	-	-
Totaal '99	882	3,5	1	0,2	1,1	0,3	10,9	0,2	0,2	0,8	-	0,2
SCHOL												
Voorjaar '99	581	4,6	0,9	-	0,2	-	0,2	0,2	0,4	0,4	-	0,4
Najaar '99	500	6	-	-	-	-	0,2	-	0,2	0,2	-	-
Totaal '99	1081	5,2	0,5	-	0,1	-	0,2	0,1	0,3	0,3	-	0,2
BOT												
Voorjaar '99	272	22	1,2	0,4	0,8	0,4	-	-	0,4	1,6	-	1,2
Najaar '99	200	20	2	0,4	-	-	-	-	-	5	-	-
Totaal '99	472	21,3	1,5	0,4	0,5	0,25	-	-	0,25	2,5	-	0,6

Tabel 1.1.3.4 : Procentueel voorkomen van ziekten en parasieten bij commerciële platvis in het Belgisch continentaal plat (voor- en najaar 1999)

LENGTEKLASSE	AANTAL EXEMPLAREN ONDERZOCHT			LERNAEOCERA BRANCHIALIS								CRYPTOCOTYLE LINGUA							
	Vrouwelijk	Mannelijk	Totaal	Vrouwelijk			Mannelijk			Tot	%	Vrouwelijk			Mannelijk			Tot	%
				1*	2	3	1*	2	3			1**	2	3	1**	2	3		
Voorjaar 1999																			
<= 21cm	52	33	85	4	-	-	2	-	-	6	7	-	-	1	-	1	1	3	3,5
22-29 cm	166	119	285	16	12	1	16	1	-	46	16	22	9	13	2	4	1	51	17,8
>= 30cm	7	3	10	1	1	-	1	-	-	3	30	-	1	-	-	-	-	1	10
Totaal aantal	225	155	380	21	13	1	19	1	-	55	14,4	22	10	14	2	5	2	55	14,4
Najaar 1999																			
<= 21cm	21	46	67	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	2	3
22-29cm	152	164	316	12	3	-	7	2	1	25	7,9	2	1	3	-	1	1	8	2,5
>=30cm	16	1	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Totaal aantal	189	211	400	12	3	-	7	2	1	25	6,25	2	1	3	1	2	1	10	2,5

* = Aantal parasieten op de kieuwen geteld

** = Graad van besmetting

Tabel 1.1.3.5 : Procentueel voorkomen van in- en uitwendige aandoeningen bij wijting in het Belgisch continentaal plat (voor- en najaar 1999)

Visvak	36FO*	36F1	36F2	35F0	35F1	35F2	34F1	34F2	32F2	31F2	31F2-3V*	31F2-3N*
Code station	18,19,20,111	16,17,112,114	11,116,113	22,72	25,81,61,115	8,9,26,73	107b,28,62	6,7,63,29	2,3,32	1,36,86	B.c.p	B.c.p
Aantal onderzocht	99	210	95	20	97	142	112	68	38	196	444	438
Lymphocystis	-	1,4	-	5	2	-	-	-	-	0,5	0,5	-
Epidermale papiloma	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LNOD	11,1	0,95	-	-	3	1,4	-	-	-	-	0,2	1,3
Glugea stephani	-	5,2	-	10	2	0,7	1,8	2,6	3	0,5	6,3	16
Epitheliocystis	17,1	8,1	4,2	-	-	-	0,9	-	-	-	0,2	0,2
Skeletafwijking	-	-	-	-	-	0,7	0,9	-	-	1	1,3	0,7
Zweren	1	0,5	-	-	-	-	1,8	-	-	-	1,5	0,7
Wormen lever	13,1	3,8	-	-	2	0,7	-	-	-	-	-	-
Pigmentafwijking	5	6,6	12,6	15	7,2	4,2	4,4	8,8	7,9	4	2,9	5
Vinerosie	-	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	0,2	0,2

Tabel 1.1.3.6 : Procentueel voorkomen van ziekten en parasieten bij schar in de zuidwestelijke Noordzee (Belgica campagne aug 1999)

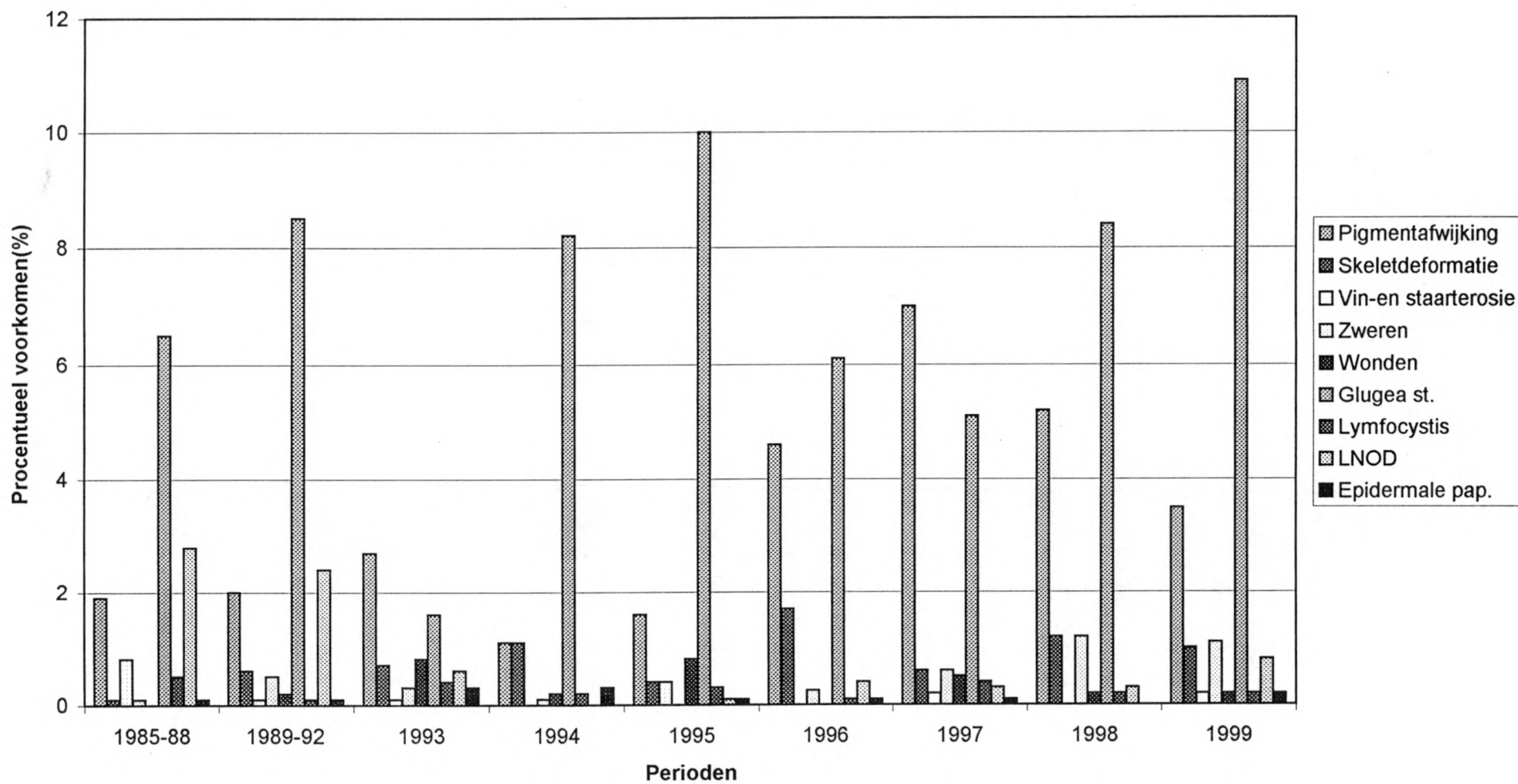
* = B.c.p. (voor - en najaar 1999)

Visvak	36F0	36F1	36F2	35F1	35F2	34F2	33F2	32F1	32F2	31F2	31F2-3V*	31F2-3N*
Code station	19,20	114,112,16,17	11,113,116	24,25,81,115	8,9,26	6,7,28	4,5,30	85,93,82b	3,2	1,36,86		
Aantal exemplaren	102	100	110	107	101	76	48	101	55	153	581	500
Pigmentafwijking	-	6	14,5	3,4	10,9	7,9	8,3	1	14,5	5,2	4,6	6
Skeletafwijking	-	-	-	-	1	-	2,1	-	-	3	0,9	-
Wormen lever	1	1	0,9	0,9	3	1,3	2,1	-	1,8	-	0,4	-
Vin- en staarterosie	1	-	0,9	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Lymphocystis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,2
Glugea stephani	-	-	-	0,9	-	-	2,1	-	-	-	0,2	0,2
LNOD	-	1	0,9	-	1	-	2,1	-	-	-	0,4	0,2
Zweren	-	-	1,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lidtekenvorming	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-

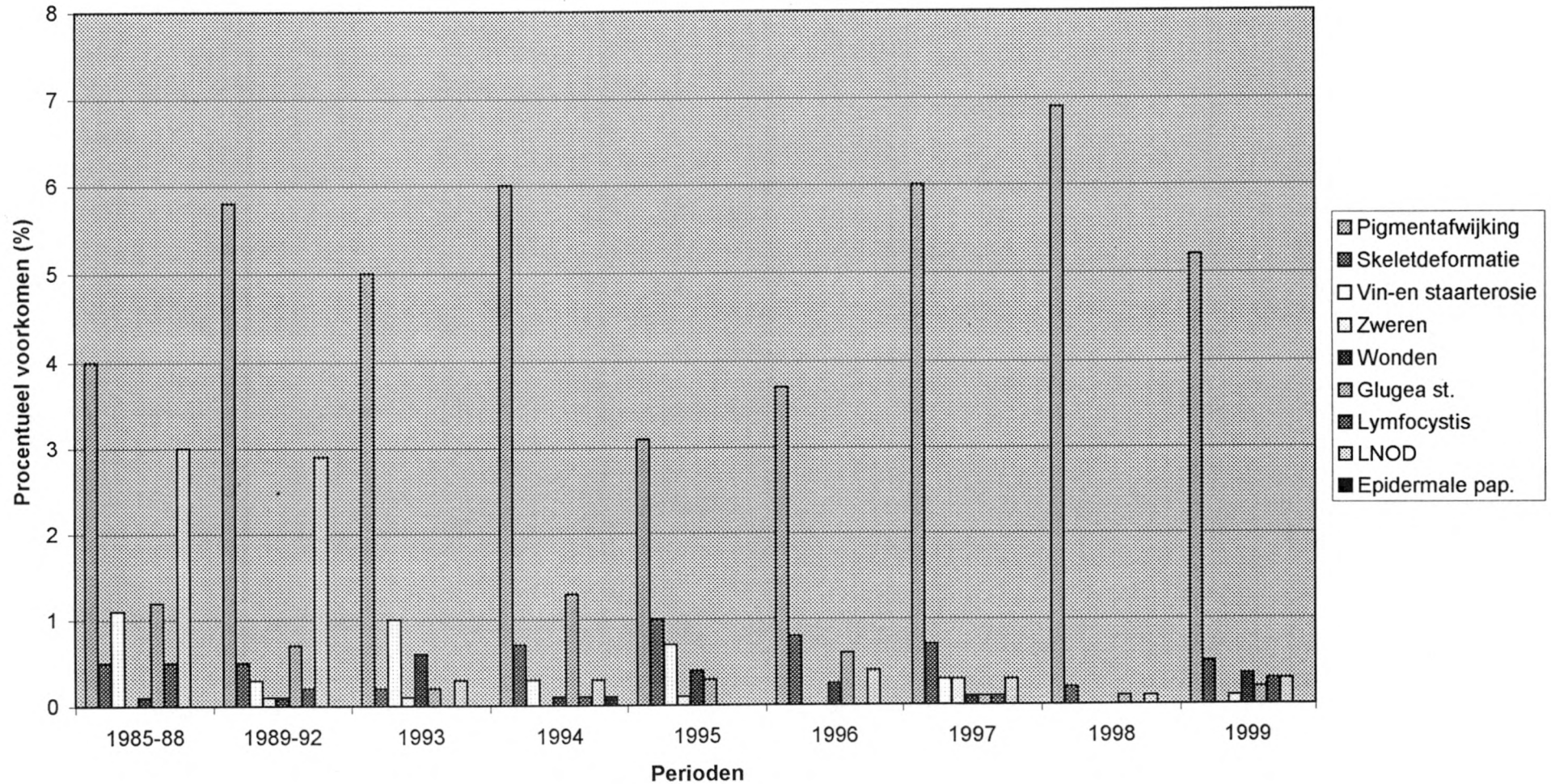
Tabel 1.1.3.7: Procentueel voorkomen van ziekten en parasieten bij schol in de diverse visvakken (Belgica campagne aug 1999)

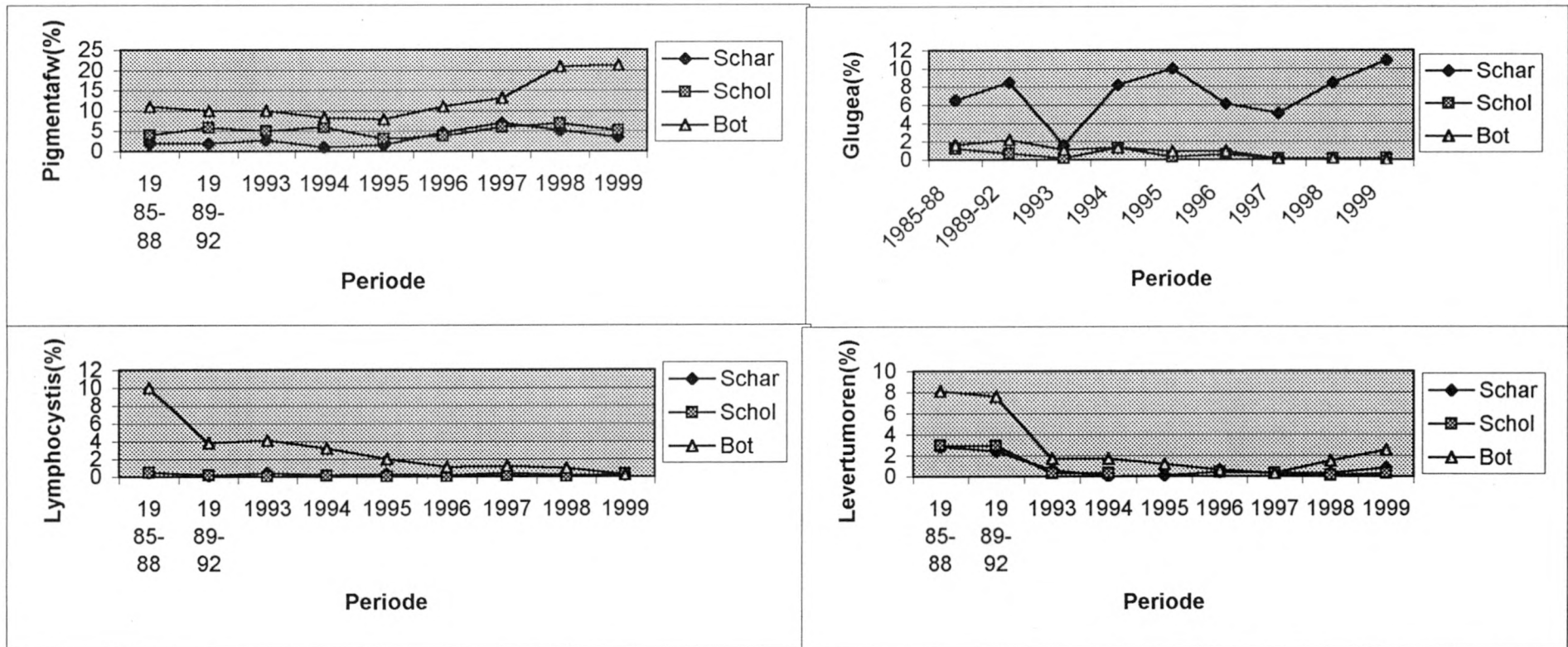
* = B.c.p. (voorjaar en najaar 1999)

Figuur 1.1.3.1 : Evolutie van het voorkomen van in- en uitwendige aandoeningen bij schar afkomstig van het Belgisch continentaal plat (1985-1999)



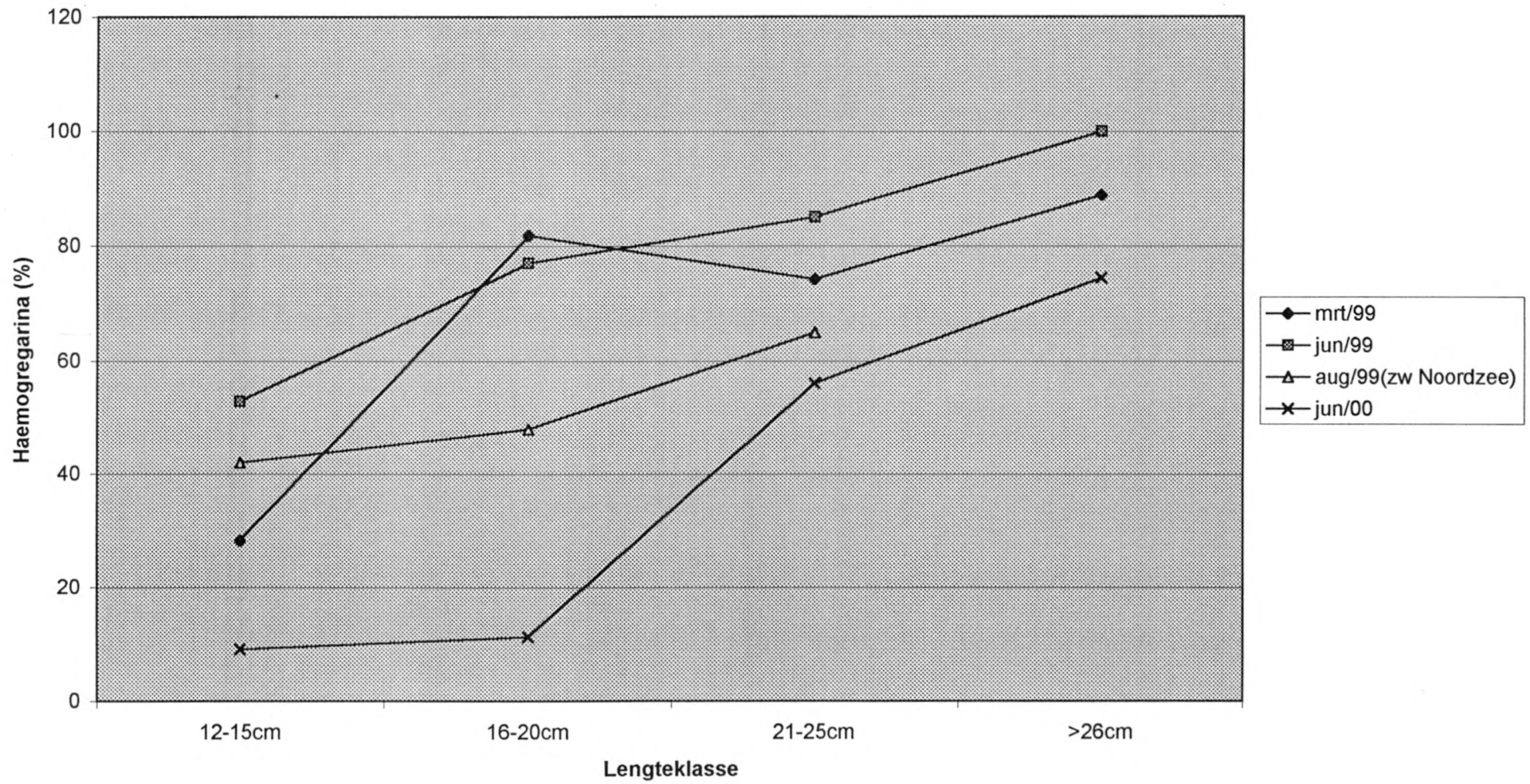
Figuur 1.1.3.2 : Evolutie van de in- en uitwendige aandoeningen bij schol afkomstig van het Belgisch continentaal plat(1985-1999)



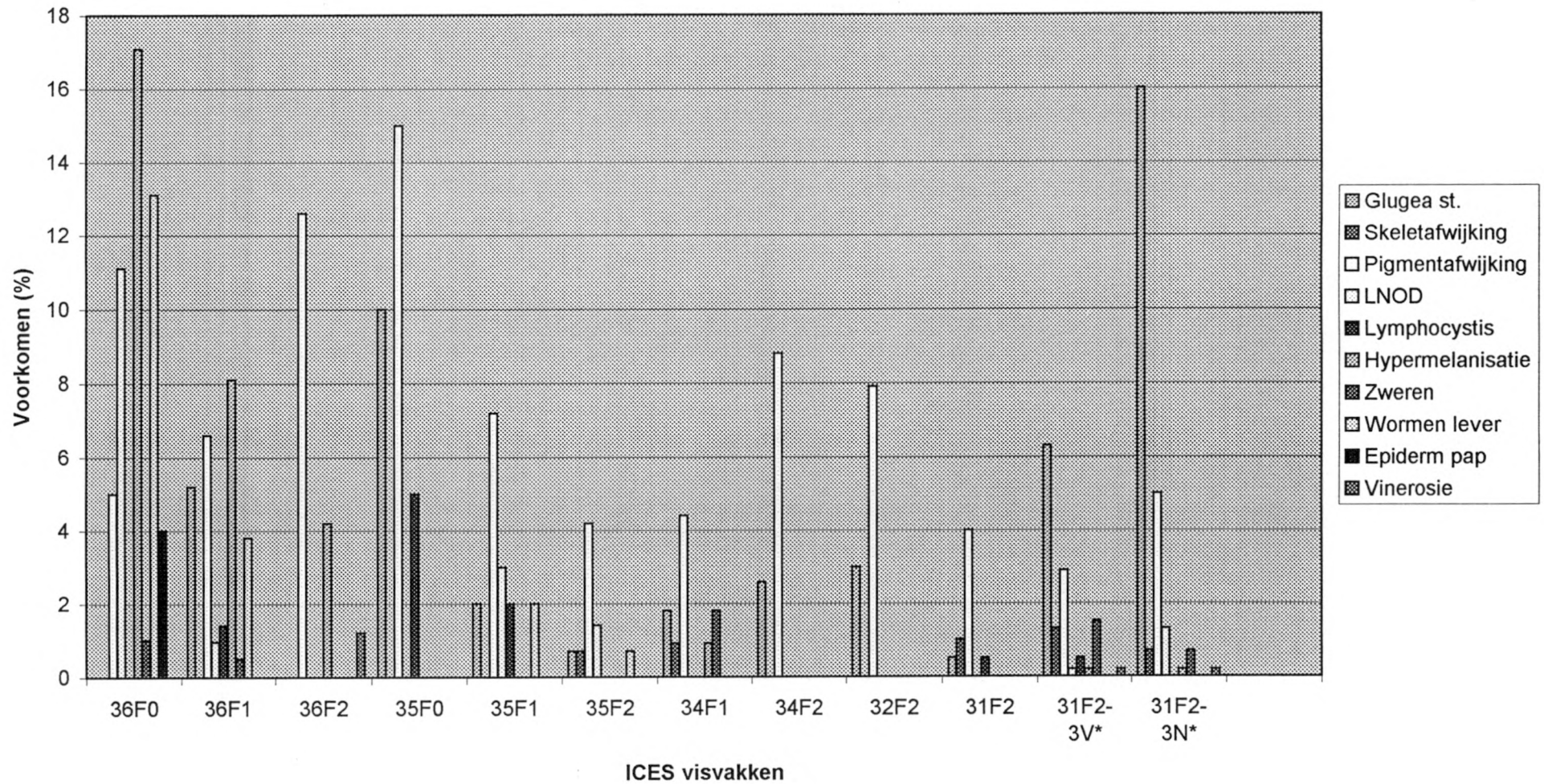


Figuur 1.1.3.4 : Evolutie van het procentueel voorkomen van in-en uitwendige aandoeningen bij platvis uit het B.C.P.(1985-1999)

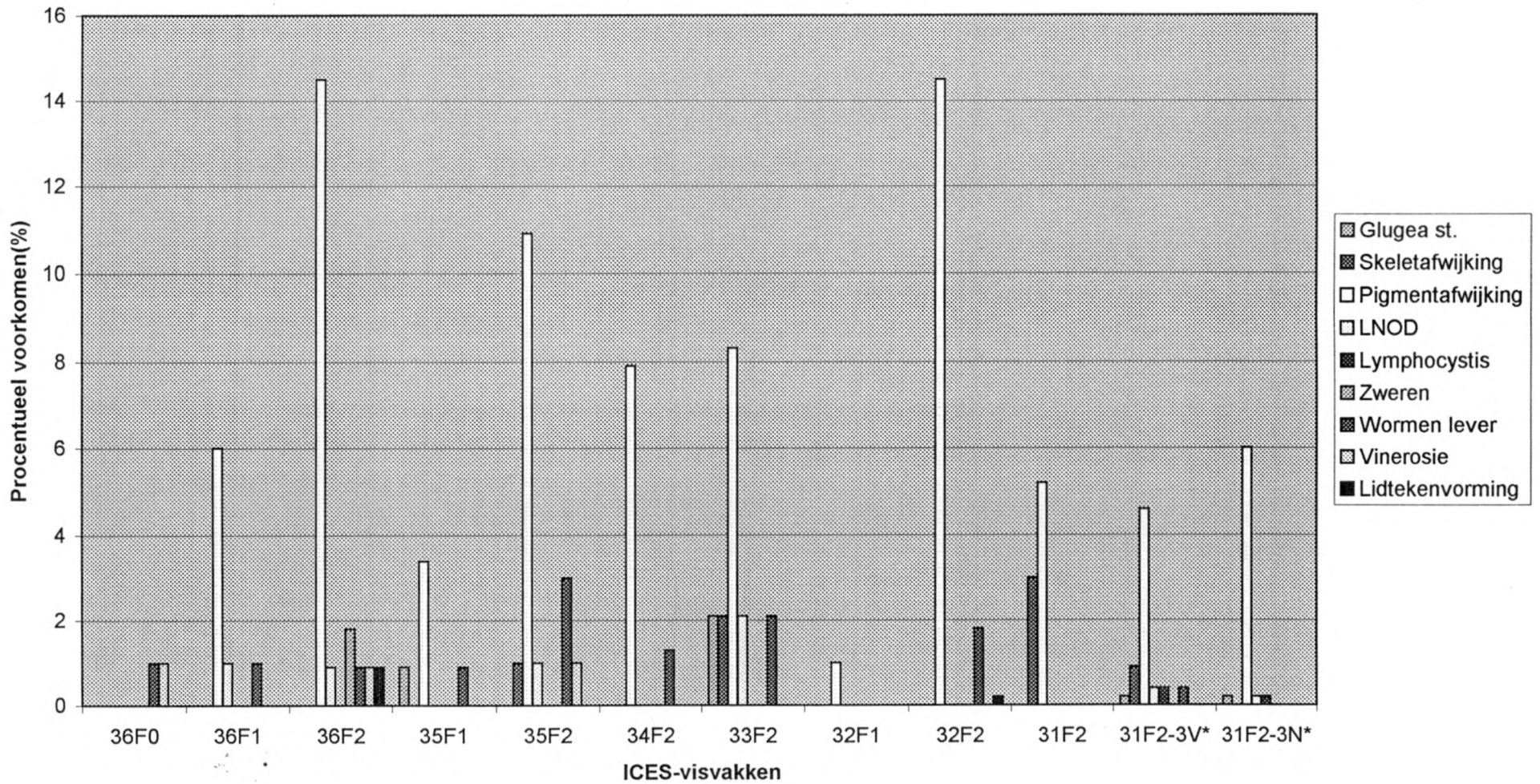
Figuur 1.1.3. 5 : Voorkomen van *Haemogregarina simondi* in de bloedcellen van tong afkomstig van het Belgisch continentaal plat en de Zw-Noordzee

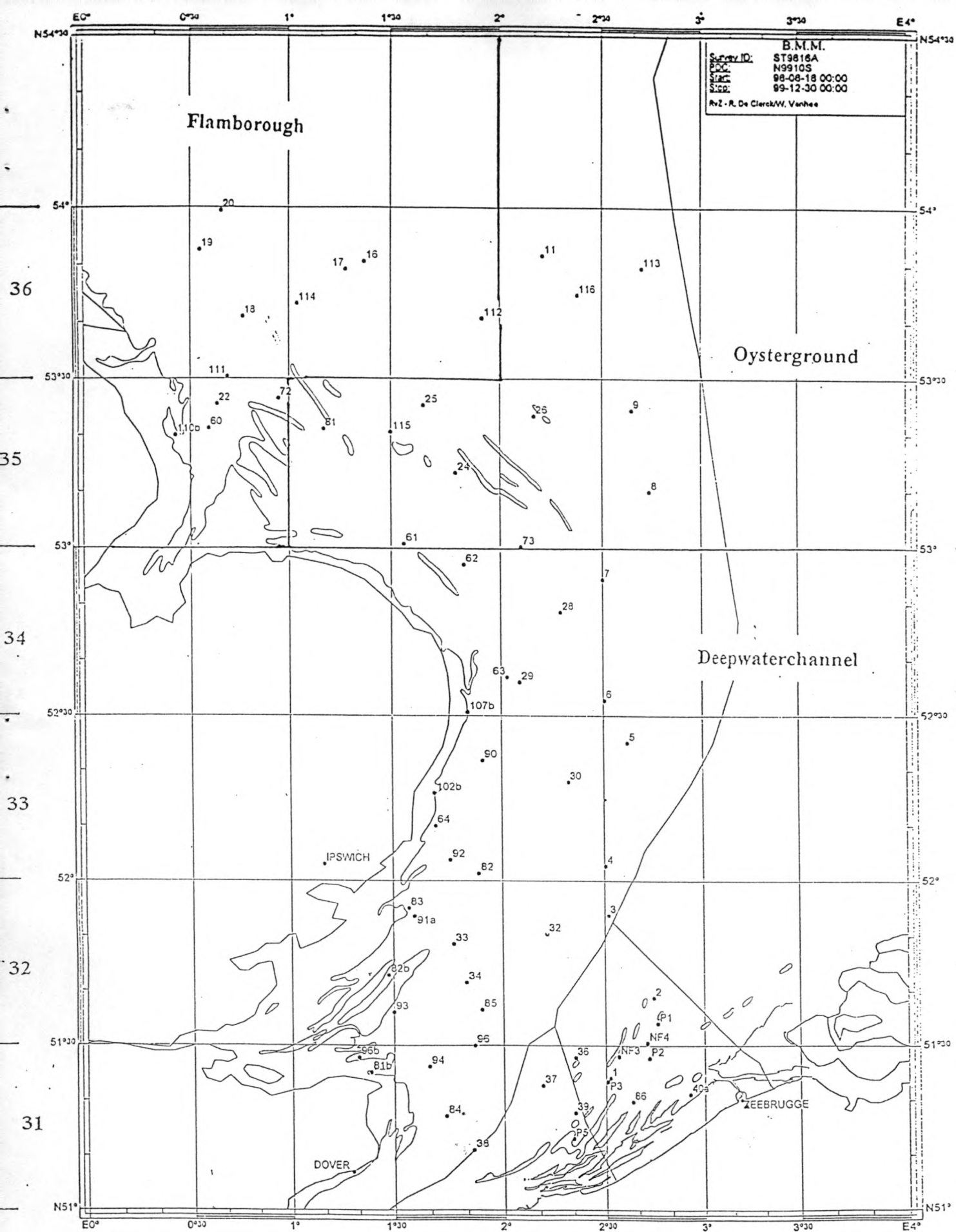


Figuur 1.1.3.6 : Procentueel voorkomen van ziekten en parasieten bij schar in relatie met de ICES-visvakken in de ZW-Noordzee (Belgica campagne aug 1999)



Figuur 1.1.3.7 : Procentueel voorkomen van ziekten en parasieten bij schol in relatie met de ICES-visvakken in de ZW-Noordzee (Belgica campagne aug 1999)





Figuur : 1.1.3.8 – Visgronden voor schol en schar:

Project 1.2. - Histopathologisch onderzoek en registratie van levernodulen bij platvis

a. Projectverantwoordelijke: D. Declerck

b. Wetenschappelijke achtergrond, materiaal en methoden

Histologische en histochemische biomerktekens van letsels, het slecht functioneren en het ontstaan van tumoren als gevolg van chronische blootstelling aan levertoxinen en levercarcinogenen worden tegenwoordig voorgesteld als de beste indicatoren om de verzwakking van vis door antropogene activiteiten aan te wijzen. Zoals bij andere dieren is de lever van vis betrokken bij de omzetting van het voedsel en de biotransformatie van lichaamsvreemde stoffen. Vooral platvis die het meest kwetsbaar is, leeft in nauw contact met het sediment dat levertoxinen en carcinogene componenten accumuleert. Levercellen reageren zeer gevoelig op veranderingen in het natuurlijk milieu van vis. Hoge concentraties aan schadelijke stoffen en contaminanten veroorzaken op lange termijn een zodanige 'stress' dat vis vatbaar wordt voor ziekten.

Leverletsels die in wilde vis gevonden worden zijn te vergelijken met neoplasia en aanverwante letsels (niet-neoplastische weefsels) die door experimentele blootstelling van vis en zoogdieren aan chemische carcinogenen en andere toxische verbindingen geïnduceerd worden. In deze zin treden deze letsels bij het blootstellen aan contaminanten misschien op als een van de meest directe en geïntegreerde '*bio-markers*'. Het voorkomen van toxisch fytoplankton heeft eveneens direct of indirect een invloed op de gezondheid van vis. Van sommige toxines is het bekend dat zij aan de basis liggen van het ontstaan van levertumoren

Ter gelegenheid van de ICES Meeting omtrent het gebruik van leverpathologie bij de monitoring van platvis (Weymouth, 1996) produceerde de Werkgroep een nieuw classificatieschema van leveraandoeningen bij platvis die als '*bio-markers*' voor monitoringprogramma's in aanmerking kunnen komen. De belangrijkheid van het letsel als '*bio-marker*' wordt eveneens aangegeven.

Gedurende de vergadering van de *WGPDMO* in Gdynia (ICES, 1998) werd informatie gegeven omtrent een voorstel voor de ontwikkeling van een trainings en intercalibratie

programma voor de diagnose van histopatologische leverbeschadigingen die deel uitmaakt van een schema inzake kwaliteitsverzekering (Quality assurance scheme). Dit schema werd sedert 1 november 1998 in een programma van de Europese Commissie geïncorporeerd onder de titel 'Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programmes' (BEQUALM). Gedurende het eerste jaar werd vooral aandacht besteed worden aan de oprichting en uitvoering van een intercalibratie-programma voor de diagnose van leverpathologie. Er werd een verzameling aangelegd van bewerkte histologische weefsels, foto's van relevante leverbeschadigingen en bijbehorende documentatie. Tenslotte werd door de workshop protocols, praktische oefeningen en diagnostische criteria tot stand gebracht om de graad van overeenkomst (interpretatie van de pathologie) binnen de deelnemersgroep te bepalen. De eerste workshop nam in oktober 1999 plaats en nam 3 dagen in beslag (BEQUALM 1999). De tweede workshop zal gedurende het derde jaar van het project tot stand komen.

Deze studie heeft tot doel een bijdrage te leveren voor de detectie van zichtbare levernodulen, die kunnen veroorzaakt worden door bacteriën, parasieten, contaminanten en toxisch fytoplankton (Verdrag van Parijs).

c. Vorderingsverslag

De BEQUALM histopathologische werkvergadering had plaats in de CEFAS Visserij Laboratoria te Weymouth, UK, en nam drie dagen in beslag.

Vooreerst werden de nationale rapporten omtrent de activiteiten rond de monitoring van visziekten in de diverse landen besproken. De protocollen voor fixatie, histologische behandeling en kleuring (Haematoxylin en Eosin) werden voor leverweefsel vastgelegd.

De ervaring bij de groep was dat de diagnose voor lever histopathologie geen gemakkelijke taak is. Tot nu toe werd de diagnose gestoeld op 35 verschillende categorieën van letsels (ICES, 1997). Sinds deze eerste vergadering waren slechts enkele laboratoria in staat dit systeem te gebruiken.

Als een onderdeel van de discussie werden sets van gekleurde doorsneden van schar en bot, als referentie materiaal aan elke deelnemer overgemaakt.

Met behulp van dit materiaal grepen praktische zittingen rond de microscopen plaats. Verder werden ook doorsneden onderzocht die door de deelnemers werden meegebracht. Deze doorsneden omvatten zeldzaam voorkomende tumoren bij schar en bot en andere typen van

leverletsels (tumoren van de pancreas, cholangioma, carcinoma en proliferatie van de galwegen).

De ICES Werkgroep *WGPDMO* stelde reeds in 1998 een aantal nieuwe categorieën van visziekten voor, die naast de reeds bestaande visziekten in het FDE (*Fish Disease Data Entry Program*) dienen opgenomen te worden.

De nieuwe ziektecategorieën werden geselecteerd op basis van hun mogelijkheid de blootstelling aan contaminanten te kunnen aanwijzen.

De voornaamste categorieën, die voor monitoring doeleinden werden geselecteerd waren:

- Vroege niet-neoplastische letsels (sponslever, levercellen en nucleair cellulair polymorfisme, vacuolisatie van de levercellen en epitheliale galcellen) veroorzaakt door intoxicatie.
- Focussen van celbederf.
- Goedaardige tumoren
- Kwaadaardige tumoren
- Niet-specifieke leverletsels

Zowel voor de niet-neoplastische als voor de niet-specifieke leverletsels werd bij de deelnemers geen consensus bereikt. De beslissing zal worden uitgesteld tot na de bekendmaking van de resultaten van de ringtest.

Uiteindelijk zal voor de BEQUALM ringtest een set met referentie weefsel, afkomstig van het coördinerend lab, bij de deelnemers rondgaan. De slides zullen blind gelezen worden en gaan van het ene laboratorium naar het andere laboratorium tot de uiteindelijke terugkeer naar het moederlaboratorium in Weymouth. De resultaten zullen verzameld en samengevat worden in Excel. De ringtest is voorzien voor 2001.

De volgende vergadering omtrent de ontwikkeling van een training en intercalibratie programma van de Europese Commissie (BEQUALM) is voorzien voor 2001.

Voor wat de resultaten van het Belgisch onderzoek in de zuidwestelijke Noordzee betreft, werd gedurende de periode 1990-99 de evolutie van het voorkomen van levertumoren bij schar, schol en bot in de Tabellen 1.2.1., 1.2.2., 1.2.3. opgenomen (DECLERCK, 1999). Het procentueel voorkomen bij de drie verschillende schar en scholpulaties in Flamborough (area 2), Oyster Ground (area 3) en Deepwater Channel (area 4) is eveneens in de tabellen vermeld.

Gedurende de eerste drie onderzoekingsjaren (1990-93) werden tussen het voorkomen van levertumoren bij schar en schol geen significante verschillen gevonden. Sindsdien werd een dalende trend voor beide vissoorten vastgesteld. In 1999 werd echter een significante stijging bij schar uit de Flamborough zone 2 vastgesteld.

In het Belgisch Continentaal Plat was het voorkomen van levernodulen zeer frequent bij platvis tussen de jaren 1980-90, doch daalde nadien aanzienlijk. Alleen bij bot, afkomstig van het estuarium van de Westerschelde, bleef het procentueel voorkomen van levertumoren tot in 1992 hoog (8.5 %), doch daalde nadien tot 0.8 % in 1996. De laatste twee jaar (1998-99) steeg het voorkomen opnieuw tot 1.5 %.

Uiteindelijk geef Tabel 1.2.4. het voorkomen weer van visueel bepaalde tumoren bij platvis, afkomstig van de zuidwestelijke Noordzee, in de periode 1997-99. In 74 % van de gevallen werden histologische veranderingen vastgesteld. Hiervoor werd de fixatie van het leverweefsel zo vlug mogelijk in gebufferde formol gebracht. De weefsels werden ontwaterd, geklaard, en ingebed in paraffine wax. Voor de kleuring werd de haematoxiline/eosine methode aangewend (Weymouth 1996, 1999). De diagnose werd uitgevoerd volgens de criteria van BOORMAN (1997), KOHLER (1996) en MURCHELANO (1990).

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Deelname werkvergaderingen te Weymouth (UK)	U			X
Levernodulen rond- en platvis Belgisch Continentaal Plat	U	U	X	X
Levernodulen rond- en platvis ZW-Noordzee	U		X	
Leveronderzoek schol Belgisch Continentaal Plat	U		X	

X = gepland

U = uitgevoerd

d. Referenties

ANON (1999): Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programmes (BEQUALM).

Report of the workshop (Weymouth 21-23 October 1999): External Fish Diseases and Liver Histopathology.

BOORMAN, A. *et al.* (1997): Diagnostic Criteria for Degenerative, Inflammatory, Proliferative Nonneoplastic Liver Lesions in Medaka (*Oryzias latipes*)
Consensus of a National Toxicology Program Pathology Working Group.

DECLERCK, D. (1996): Registration of liver nodules in flatfish and identification of problems areas in the south-western North Sea.

ICES Ad hoc Meeting on the Use of Liver Pathology of Flatfish for Monitoring Biological Effects of Contaminants, 10 pp (Weymouth 1996).

ICES (1998): Report of the Working Group on Pathology and diseases of Marine Fish Stocks.
ICES, Mariculture Committee, 1998/F:6

KOHLER-GUNTHER, A., VETHAAK, D., MEYERS, M., OKIHIRO, M., BOGOVSKI, S., GRINWIS, G. en FEIST, S. (1996): Diagnostic criteria for liver histopathology.

Report of the special Meeting on the Use of Liver Pathology of Flatfish for monitoring Biological effects of Contaminants.

MURCHELANO, R.A. en MacCLEAN, S.A. (1990): Histopathological Atlas of the Registry of Marine Pathology.

Oxford, MD., 45-49.

Populatie	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Flamborough (Area 2)	2.4	1.9	2.7	0.8	0.6	0.6	2.5	2.1	0.0	3.9
Oysterground (Area 3)	1.9	3.7	1.9	1	1.1	0.1	0.4	1.4	0.3	1.5
Deepwaterchannel (Area 4)	3.6	1.7	3.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2	0.3	0.1

Tabel 1.2.1: Evolutie van het voorkomen (%) van levertumoren bij schar afkomstig van de zuidwestelijke Noordzee (1990-1999)

Populatie	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Flamborough (Area 2)	1.8	2.3	4.4	1.7	0.8	0.35	0.0	0.0	1.2	0.6
Oysterground (Area 3)	1.8	3.8	3.6	1.2	0.0	1.7	1.3	0.0	0.0	0.5
Deepwaterchannel (Area 4)	3.1	3.1	2.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.2	0.2	0.3

Tabel 1.2.2 : Evolutie van het voorkomen (%) van levertumoren bij schol in de zuidwestelijke Noordzee (1990-1999)

	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Western Scheldt estuary (B.c.s)	4.2	8.1	8.5	1.7	1.7	1.2	0.78	0.3	1.5	1.5

Tabel 1.2.3 : Evolutie van het voorkomen (%) van levertumoren bij bot in het Belgisch continentaal plat (1990-1999)

Jaar	Aantal onderzocht	LNOD visueel gedetecteerd als tumor	Gedetecteerd met histopathologische veranderingen
1997			
Bot	910	3	3
Schol	2074	4	3
Schar	2769	28	18
1998			
Bot	608	9	7
Schol	1653	3	2
Schar	1919	5	4
1999			
Bot	272	4	3
Schol	1122	6	5
Schar	1558	19	15

Tabel 1.2.4 : Gedecteerde levertumoren bij platvis afkomstig van de zuidwestelijke Noordzee (1997-1999)

Project 1.3. - Hematologisch en immunologisch onderzoek bij vissen

Project 1.3.1. - Bloedonderzoek op kabeljauw en tong uit het Belgisch Continentaal Plat en de zuidwestelijke Noordzee

a. Projectverantwoordelijke: D. Declerck

b. Wetenschappelijke achtergrond, materiaal en methoden

Hematologisch en immunologisch onderzoek spelen een belangrijke rol in de diagnose van ziekten bij vissen. In dit domein is er bij zeevis nog weinig bekend. Ook bij in het wild levende vispopulaties zoals vis uit de Noordzee, is er in verband met hematologisch onderzoek weinig beschikbaar. In het licht van de op gang zijnde aquacultuur van tarbot en tong is het volgen van de bloedformule noodzakelijk. Het verschaft ons onder meer belangrijke gegevens omtrent het voedselregime doch het bloedonderzoek stelt ons vooral in staat besmettingen van bacteriologisch en protozoaire aard vroegtijdig op te sporen. De samenstelling van de bloedformule is afhankelijk van een aantal factoren zoals stamsort, geslacht, leeftijd en seksuele maturiteit, seizoen, temperatuur, paaiperiode, sociale stress, transport, aanwezigheid van vrije koolstofdioxide en deficiëntie aan zuurstof. Het bloedbeeld van een vis kan ook door ziekte (BLAXHALL, 1972; HOFFMAN en medewerker, 1984; KIRMSE, 1980; STEINHAGEN en medewerkers, 1990) wijzigen. Naast de fysiologische stress en de stress door ziekten kan er bij de vis stress geïnduceerd worden door het milieu (ZELIKOFF, 1994; WEEKS en WARINNER, 1986; PULSFORD *et al.*, 1995; HOLDWAY *et al.*, 1994) waarin de vis leeft. Ook de voeding speelt een belangrijke rol (BLAZER, 1991).

De morfologie, de functie en de oorsprong van de rode bloedcellen worden ondermeer door PEETERS en medewerker (1985) beschreven en door de '*Atlas of Fish Histology*' (1982) in beeld gebracht. De morfologie, de functie en de oorsprong van de lymfocyten, de plasmacellen, de monocytten, de macrofagen, de granulocyten (neutrofiële, basofiele en eosinofiele) en de trombocyten worden door ELLIS (1977) omschreven.

Het bloedonderzoek op kabeljauw en tong, afkomstig van het Belgisch Continentaal Plat werd verder gezet. Op regelmatige tijdstippen werden tong en kabeljauw bemonsterd en na de nodige voorbereidingen van de bloedstalen op het schoolschip 'Broodwinner' naar het laboratorium gebracht. Als hematologische parameters werden erythrocyten en leucocyten bepaald. Bij de leucocyten werd een onderscheid gemaakt tussen de monocytten, lymfocyten en granulocyten. Ook het procentueel voorkomen van de trombocyten werd eveneens opgenomen. Verder werden ook het hematocrietgetal en het hemoglobine gehalte bepaald. De gebruikte hematologische methoden werden omschreven door COTMAN en DECLERCK (1993). Het bloedonderzoek naar het voorkomen van *Haemogregarina simondi* in het Belgisch Continentaal Plat en de zuidwestelijke Noordzee werd uitgevoerd met behulp van de 'Broodwinner' en het oceanografisch schip 'Belgica'. Er werden tongen in diverse visvakken bemonsterd (Figuur 1.1.3.8.).

c. Vorderingsverslag

De resultaten van het hematologische onderzoek bij tong zijn opgenomen in de Tabellen 1.3.1.1. en 1.3.1.2. en voor kabeljauw in de Tabel 1.3.1.3. Naast de vangstdatum werd het geslacht en temperatuur van het zeewater geregistreerd.

Voor wat de bloedformule betreft werden geen duidelijke verschillen tussen het bloed van gezonde mannelijk en vrouwelijke tongen en kabeljauwen gevonden. Er werd eveneens geen significant verschil gevonden tussen de vrouwelijke en mannelijke tongen en kabeljauwen voor wat de conditiefactor betreft. Bij de tellingen worden zowel de monocytten, lymfocyten, granulocyten en trombocyten procentueel uitgedrukt. De uitstrijkjes werden gekleurd met Hemacolor van Merck.

Gedurende de bemonsteringsperiode bedroeg het gemiddeld aantal erythrocyten voor tong en kabeljauw respectievelijk $1866697/\mu\text{l} \pm 379236$ en $1624756/\mu\text{l} \pm 414126$. Het erythrocyten gemiddelde bij kabeljauw lag lager dan bij schar, schol, bot en tong. Het gemiddeld aantal leucocyten bedroeg bij tong en kabeljauw respectievelijk 20221 ± 9843 en 30033 ± 9804 . Het leucocyten aantal lag hoger bij kabeljauw dan bij alle andere reeds onderzochte vissoorten.

Het gemiddeld hematocrietgetal en de hemoglobine concentratie voor tong bedroeg respectievelijk 21.6 ± 4 en 4.6 ± 1.2 g/l. Het hemoglobine gehalte bij kabeljauw verschilde niet aanzienlijk met tong, doch het hematocrietgetal lag gemiddeld hoger bij kabeljauw.

De evolutie van de bloedparameters van tong werden grafisch in de Figuren 1.3.1.1. tot 1.3.1.6. uitgezet.

Het aflezen van het hematocrietgetal van tong werd bemoeilijkt door een onduidelijke scheidingszone. Dit verschijnsel komt soms voor bij zieke exemplaren van andere vissoorten.

Voor wat de studie van de bloedparasieten bij tong betreft, werd er een significante daling bij de lengteklasse 12-15 cm vastgesteld (Figuur 1.3.1.7.). Schol en schar waren niet met *Haemogregarina spp* besmet.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Bloedformule tong	U	U	X	X
Bloedformule van kabeljauw		U		X
Parasitair bloedonderzoek kabeljauw		U		X
Parasitair bloedonderzoek tong	U	U	X	X

X = gepland

U = uitgevoerd

d. Referenties

BLAXHALL, P.C. (1972): The haematological assessment of the health of freshwater fish. A review of selected literature.

Journal of Fish Biology, 4, 593-604.

COTMAN, D. (1993): Hematologisch en immunologisch onderzoek bij vissen.

Eindverhandeling o.l.v. D. Declerck (onuitgegeven. Brugge, HTI).

ELLIS, A.E. (1977): The leucocytes of fish: A review.

Journal of Fish Biology, 11, 453-491.

HOFFMANN, R. en LOMMEL, R. (1984): Haematological studies in proliferatives kidney diseases of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson.

Journal of Fish Diseases, 7, 323-326.

HOLDWAY, D.A., BRENNAN, S.E. en AHOKAS, J.T. (1994): Use of Hepatic MFO and Blood Enzyme Biomarkers in Sand Flathead (*Platycephalus bassensis*).

Marine Pollution Bulletin, 11, 101-114.

KIRMSE, P. (1980): Observations on the pathogenicity of *Haemogregarina sachi* in farmed turbot *Scophthalmus maximus* (L.).

Journal of Fish Diseases, 3, 101-114.

PEETERS, G. en SCHWARZER, R. (1985). Changes in hemopietic tissue of rainbow trout under influence of stress.

Diseases of Aquatic Organisms, 1, 1-10.

STEINHAGEN, D. en JENDRYSEK, S. (1994): Phagocytosis by carp granulocytes, in vivo and in vitro observations.

Fish and Shellfish Immunology, 4, 521-525.

WEEKS, A.D. en WARINNER, J.E. (1986): Functional evaluation of macrophages in fish from polluted estuary.

Veterinary Immunology and Immunopathology, 12, 313-320

ZELIKOFF, J.T. (1994): Fish immunotoxicology.

Second edition, 71-95. Edited by JH Deann JH *et al.*, New York, Raven Press.

Tabel 1.3.1.1 : Bloedonderzoek op tong afkomstig van het Belgisch continentaal plat (1998)

Tong	Lengte	Gewicht	Geslacht	Cond. Fact	Haematocriet	R.B.C./ μ l	W.B.C./ μ l	Monocyt(%)	Lymphocyt(%)	Granulocyt(%)	Trombocyt(%)	Haemo- globine g/dl	Haemo- gregarina
4/02/98	39	660	vr	1,11	28(+2)	2272000	25312	3	40	8	49	7,37	+
5°C													
17/03/98	30	310	vr	1,15	22(+2)	1504000	20468	7	68	4	21	5,86	+
8°C	25	135	vr	0,86	28(+3)	2752000	6875	7	40	6	47	8,02	+
	34	440	vr	1,15	20	1616000	18281	6	51	6	37	5,71	+
	29	270	vr	1,1	24	2000000	24375	20	60	14	6	6,24	+
	27	185	m	0,9	30(+2)	2160000	9375	13	44	7	36	7,67	+
22/04/98	38	510	vr	0,93	13(+2)	1248000	37187	11	48	20	21	3,3	-
10°C	36	510	vr	1,1	22(+7)	2304000	10312	1	82	4	13	5,7	+(min)
	25	130	m	0,83	21(+2)	2256000	26250	15	60	9	16	5,6	+(min)
	26	150	m	0,85	22(+3)	1840000	35781	9	64	4	23	5,8	+
27/05/98	29	240	vr	0,98	15(+6)	1360000	35156	6	85	7	2	4,23	+
15,5°C	29	240	vr	0,98	18(+5)	1824000	29375	8	70	4	18	5,22	+
	31	250	vr	0,84	22(+3)	1696000	21718	4	69	4	23	4,69	+
	30	230	vr	0,85	23(+3)	2032000	19843	16	61	8	15	5,14	+
	38	455	vr	0,82	23	1632000	13281	14	63	6	17	2,9	+
	32	270	vr	0,82	18(+4)	1920000	50312	13	57	6	24	3,17	-
	29	165	m	0,67	19(+2)	1808000	46093	4	46	7	43	3,85	+
11/09/98	28	210	vr	0,95	18(+2)	1552000	12031	5	66	3	26	4,5	+
16°C	39	490	vr	0,81	19(+1)	1216000	8594	7	72	1	20	4,38	+
	30	220	m	0,81	23(+1)	2288000	13593	8	50	8	34	4,95	+
	30	220	m	0,81	17(+4)	1712000	32812	3	75	4	18	4,61	+
	35	415	vr	0,96	20(+2)	1856000	26718	9	69	3	19	4,27	+
	31	300	vr	1	24	2400000	12500	4	78	3	15	5,21	+
	32	320	vr	0,97	19(+2)	1600000	13750	1	82	4	13	4,5	+
	31	291	m	0,97	20(+2)	2656000	17187	5	69	3	23	5,25	+
16/09/98	30	300	vr	1,11	30	2048000	14375	8	60	7	25	3,89	+
17°C	33	359	vr	1	24	1920000	14375	7	61	7	25	3,25	+
	37	573	vr	1,13	30	2032000	18125	16	50	11	23	3,13	+
	32	318	vr	0,97	27	1936000	10156	5	64	3	28	4,19	-
18/11/98	27	230	vr	1,17	18(+2)	1552000	19687	7	56	3	34	3,44	+
11°C	28	178	m	0,8	22(3)	1872000	18281	9	56	5	30	4,27	+
	32	380	vr	1,16	18(+2)	1792000	25468	17	45	5	33	3,75	++
	29	263	vr	1,08	18(+1)	1744000	7656	1	65	2	32	2,57	+
	26	185	vr	1,05	19(+1)	1552000	13906	5	59	3	33	2,61	+
	29	253	vr	1,04	24(+3)	1856000	16093	5	57	5	33	5,4	+
	27	213	m	1,08	26(+3)	2208000	22813	9	55	10	26	4,27	+
	33	340	vr	0,95	22(+2)	2160000	26406	3	50	3	44	4,31	+
11/12/98	41	830	vr	1,2	24(+3)	1632000	17812	15	32	10	43	4,95	+
9°C	31	310	vr	1,04	20(+3)	2224000	13437	10	58	10	22	3,7	+
	31	300	vr	1,01	21(+5)	2400000	17656	10	65	1	24	5,52	+
	27	190	vr	0,96	15(+3)	1392000	15156	10	64	9	17	3,17	+
	30	300	vr	1,11	18(+2)	960000	9375	4	47	5	44	3,85	-
	32	390	vr	1,19	24(+6)	1504000	21562	12	65	8	15	4,01	+

Tabel 1.3.1.2 : Bloedonderzoek op tong afkomstig van het Belgisch continentaal plat (1999-2000)

Tong Datum	Lengte	Gewicht	Geslacht	Cond. Fact	Haematocriet	R.B.C./µl	W.B.C./µl	Monocyt(%)	Lymphocyt(%)	Granulocyt(%)	Trombocyt(%)	Haemoglobine g/dl	Haemogregarina
Temp. zeew.													
6/5/99	32	295	vr	0,9002686	16+2	1360000	76875	2	65	7	26	6,05	+
11°C	28	160	vr	0,73	25+2	2016000	30625	7	55	9	29	5,74	+
	27	185	vr	0,94	15+2	1040000	34687	7	74	13	6	5,74	+
	32	265	vr	0,8	19+1	1696000	54062	7	84	7	2	7,41	+
26/5/99													
12°C	31	250	vr	0,84	19+1	1360000	28125	14	58	9	19	4,42	+
	28	180	vr	0,82	25+3	2032000	33906	6	60	8	26	6,99	+
	28	170	vr	0,77	12+6	1280000	66562	5	67	6	22	3,93	+
	29	210	vr	0,86	25+3	2112000	33125	8	59	8	25	6,9	+
	26	130	m	0,73	17+3	1488000	39531	3	54	13	30	4,8	+
	31	270	vr	0,9	20+2	1184000	51875	12	49	13	26	4,65	+
	28	185	vr	0,84	16+3	1776000	29062	6	74	5	15	4,8	+
	27	160	vr	0,81	17+1	1344000	18437	21	54	21	4	4,23	-
1/6/99													
13°C	27	160	vr	0,81	23+3	2192000	18750	10	50	5	35	5,93	+
	30	227	vr	0,84	22	1648000	19062	3	58	18	21	4,76	+
	22	110	m	1,03	23+6	2032000	70312	5	64	12	19	5,55	+
	25	142	m	0,9	19+1	1264000	40625	5	61	10	24	4,19	+
	28	190	m	0,86	19+2	1296000	16900	5	52	5	38	4,91	+
	25	123	m	0,78	23+5	2016000	37187	6	61	7	26	6,16	+
	29	180	vr	0,73	26+2	1760000	31093	10	52	5	33	6,16	+
9/6/99													
14°C	30	240	vr	0,88	14+4W	1024000	55312	4	76	4	16	4,08	+
	28	175	vr	0,97	22+2R	2304000	29062	5	59	2	34	6,06	+
	27	185	m	0,93	20+2R	1712000	22500	3	52	5	40	5,78	+
	26	165	m	0,93	25+1W	2112000	23437	10	69	8	13	6,43	+
	31	275	vr	0,92	26+5R	3104000	68750	9	45	14	32	7,75	+
	28	150	m	0,68	13+6RR	976000	26562	10	51	3	36	4,04	+
14/6/99													
14°C	32	280	vr	0,85	15+2w	1632000	17187	8	74	7	11	4,27	+
	25	150	m	0,96	22+6R	1504000	35937	6	69	12	13	5,14	+
	28	190	m	0,86	18+1w	1248000	16406	2	53	8	37	4,99	+
	26	150	m	0,85	20+W	1280000	34375	9	59	12	14	4,31	+
	29	190	m	0,78	22+2W	1888000	24375	4	67	10	19	5,25	+
	30	230	m	0,85	16+2W	1248000	23125	3	82	4	11	4,51	+
16/6/99													
14,5°C	33	345	vr	0,96	18+3R	2016000	42187	1	62	17	20	5,44	+
	26	150	m	0,85	23+2W	2160000	30625	9	74	7	10	5,93	+
	26	120	m	0,68	18+2R	1520000	29375	6	66	7	21	4,7	+
	32	280	vr	0,85	24+5R	1680000	70937	1	71	8	20	6,08	+
	26	160	m	0,91	17+1R	1648000	34375	5	79	9	7	4,61	+
	28	190	vr	0,86	20+3R	1440000	39375	2	72	1	26	4,19	+
	29	220	vr	0,9	23+2W	2144000	31562	4	50	5	41	5,86	+
	27	150	m	0,76	23+2R	1552000	35781	10	70	11	9	4,72	+
25/6/99													
15°C	26	145	m	0,82	23+4R	1968000	40937	6	52	4	38	5,82	+
	30	215	m	0,79	15+1W	1424000	26875	4	44	4	48	3,02	+
	28	205	vr	0,93	15+2R	1424000	31093	9	61	11	19	5,03	+
	31	255	vr	0,85	16+2R	1504000	34687	8	76	8	8	4,31	+

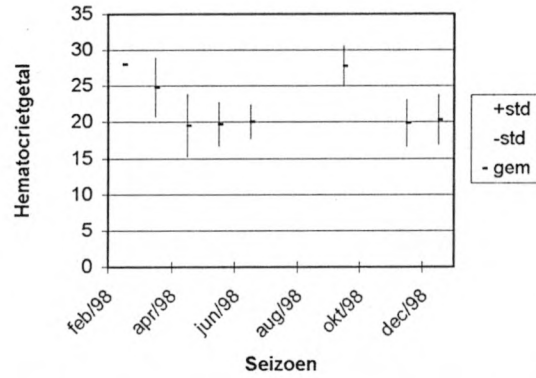
	25	120	m	0,77	20+2W	1360000	21718	3	65	5	27	4,46	+
	25	150	m	0,96	19+2W	2048000	45625	1	67	4	28	5,48	+
	29	190	vr	0,78	20+2W	1552000	35937	8	54	16	22	5,37	+
	27	160	m	0,81	23+3R	2096000	30937	11	58	6	25	6,54	+
14/06/00	29	170	vr	0,69	20+3	2368000	9375	5	80	6	9	6,01	+
14°C	26	190	m	1,08	20+2	2112000	3750	4	55	9	32	6,8	++
	28	215	vr	0,97	22+3	1728000	11250	4	62	5	29	6,73	++
	26	165	m	0,93	18+3	2464000	9687	10	70	10	10	6,99	+
	31	230	vr	0,77	18+4	1280000	12812	3	75	5	17	6,99	+
	25	100	m	0,64	22+3	2976000	10000	16	69	6	9	7,52	-
	27	190	vr	0,96	22+3	2528000	14687	3	72	10	15	7,41	+
	26	170	m	0,96	18+3	2400000	9687	4	73	12	11	7,26	+
21/06/00	27	195	m	0,99	32	2400000	6875	2	75	6	17	8,11	+
14°C	27	185	vr	0,93	18+2	1504000	8437	3	75	8	14	5,02	-
	25	145	m	0,92	15+2	1824000	10937	1	73	6	20	5,32	+
	27	195	m	0,99	18+3	1824000	17187	4	51	6	39	7,07	+
	29	305	vr	1,25	21+3	1760000	23125	10	71	10	9	6,47	+
	26	180	m	1,02	20+2	1696000	36250	9	62	9	20	4,24	+
	27	210	vr	1,05	21+4	2016000	29062	6	76	13	5	4,16	-
	30	260	vr	0,96	22+1	1312000	8750	2	61	1	36	7,07	+
27/06/00	29	213	vr	0,87	18+3	1856000	18750	1	75	2	22	6,11	++
15°C	38	520	vr	0,94	22+4	2304000	16875	5	78	4	13	7,18	++
	24	120	m	0,86	17+4	1536000	25625	8	71	10	11	4,91	++
	26	163	vr	0,92	17+2	1504000	20625	5	65	12	18	4,95	+
	27	205	vr	1,04	23+2	2592000	7812	7	48	12	33	7,22	+
	29	207	vr	0,84	24+2	2240000	34687	14	42	10	34	7,74	-
	25	142	m	0,9	20+1	1728000	9687	2	65	6	27	6,03	+
	24	130	m	0,94	15+2	1376000	19687	6	60	15	19	4,94	+

Tabel 1.3.1.3 : Bloedonderzoek op kabeljauw afkomstig van het Belgisch continentaal plat (1998 - 2000)

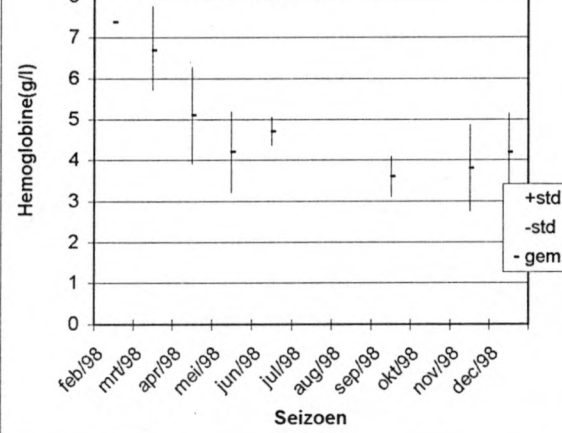
Kabeljauw datum	Lengte	Gewicht	Geslacht	Cond. fac	Hematocriet	R.B.C.\µl	W.B.C.\µl	ymphocyt(%)	onocyt(%)	ranulocyt(%)	Trombocyt(%)	Haemoglob g\dl	Ziekte
Temp. zeew.													
11\12\98	28	252	m	1,14	21+2	1360000	19687	52	15	4	29	2,83	
8°C	28	268	m	1,22	23+2	1376000	23750	55	13	5	27	3,41	
9\12\98	54	1890	vr	1,2	24	1808000	14687	43	16	13	28	3,2	Lerneocera b.
8°C	62	2790	vr	1,17	22+4	1088000	12968	53	12	9	26	3,55	"
	60	2560	m	1,18	25+2	2112000	15937	45	15	9	31	4	Miltaanvoering
	54	1820	vr	1,15	24+3	1568000	23437	43	14	7	36	5,29	Lerneocera b.
	58	2170	vr	1,11	15	896000	11718	74	5	11	10	8,24	Miltaanvoering
	64	2830	m	1,08	19+3	1072000	25000	56	18	17	9	3,48	Miltaanvoering
11\12\98	27	200	vr	1,02	15	992000	24375	48	19	5	28	4,42	Lern 2+Miltaanv.
8°C	54	1400	vr	0,89	27+2	1344000	17968	33	12	6	49	5,86	
	49	1510	m	1,28	25+3	1504000	25312	51	20	4	25	5,75	
	40	610	m	0,95	25+2	2144000	17968	40	22	5	33	5,7	
	27	250	m	1,27	21	1264000	33750	49	11	14	26	4,72	Miltaanvoering 3
	49	1510	vr	1,28	27+3	1440000	25937	54	14	9	23	5,06	
	37	600	m	1,28	28+2	2128000	27500	35	21	15	29	8,01	
	34	390	m	0,99	21	1344000	24062	59	10	15	16	6,05	
16\12\98	50	1330	vr	1,06	24+2	1424000	27500	46	23	10	21	6,01	
8°C	29	280	vr	1,14	26+4	1856000	45937	35	24	18	23	6,92	
	27	270	m	1,37	25+2	2336000	29843	47	29	7	17	5,82	Lerneoc. b 1
	40	670	m	1,04	32+2	3008000	29675	49	22	6	23	6,39	
	34	420	m	1,07	28+3	1440000	29843	56	15	12	17	4,34	Miltaanvoering
	30	400	vr	1,48	22+10	1440000	47968	50	14	8	28	6,08	
	40	640	vr	1	23+4	1296000	23906	56	10	7	27	5,59	Lerneoc. 3
17\12\98	27	205	vr	1,04	23+4	1872000	38437	53	24	12	11	5,7	
10°C	28	263	m	1,2	22+3	1504000	32031	65	12	15	8	5,03	
	36	480	vr	1,03	27+4	1824000	46875	63	16	6	15	5,78	
	31	330	m	1,1	26+2	1744000	44687	72	15	6	7	6,73	
	42	780	m	1,05	26	1456000	32812	70	12	10	8	5,14	
	29	330	m	1,35	25+2	1728000	47500	53	23	10	14	6,12	
	29	305	m	1,25	18	1408000	23125	57	14	9	20	6,35	
	27	230	m	1,17	14	1024000	17031	74	15	5	6	4,31	
18\12\98	51	1400	m	1,05	25+5	1680000	23125	55	29	2	14	5,78	
6°C	49	1460	m	1,24	27+6	1504000	48437	53	24	8	15	5,44	
	29	320	m	1,31	18+2	960000	42812	55	12	13	20	5,9	

	46	1170	vr	1,2	28+4	2432000	35312	59	13	12	16	7,18	
	32	370	m	1,09	18+2	1312000	36875	51	30	6	13	5,12	
	48	1460	vr	1,32	25+4	1792000	32812	43	27	9	21	5,82	Skeletvervorming
	28	290	m	1,32	19+2	928000	48437	55	11	6	28	4,91	
	40	650	vr	1,01	30+6	1920000	40312	60	8	11	21	5,55	
22/01/99	31	405	vr	1,36	28+3	2432000	26718	52	13	9	26	3,97	Lern1;grote RBC
8,2°C	32	415	m	1,26	29+2	1664000	27656	60	16	6	18	3,55	
	21	110	m	1,18	30+3	1920000	28125	61	1	11	12	4,46	
	29	285	vr	1,16	27+4	1504000	40312	61	17	11	11	3,55	
	30	320	m	1,18	33+2	2128000	20781	53	22	14	11	4,57	
	28	295	m	1,34	27+2	1472000	36039	54	16	18	12	4,16	
	27	255	m	1,29	26+2	1264000	32656	54	20	9	17	3,47	
	34	480	vr	1,22	21	1120000	11562	84	6	6	4	4,04	
29/01/99	30	315	m	1,16	27+1	1872000	33750	53	22	9	16	3,85	
8,4°C	30	340	vr	1,26	20+3	1440000	27656	44	21	17	18	3,78	
	27	240	m	1,21	27+2	1712000	38593	48	16	14	22	4	
	31	400	m	1,34	32+1	2256000	32656	31	17	16	36	3,82	
	32	385	vr	1,17	27+2	1584000	33125	41	22	8	29	4,61	
	31	430	m	1,44	23+2	1776000	28281	57	22	13	8	3,63	
	34	465	m	1,18	22	1488000	17031	72	16	7	5	4,35	
	34	515	m	1,31	27+1	1200000	46406	44	26	8	22	3,75	
9/02/99	32	380	vr	1,16	30+2	1968000	38437	67	8	8	17	5,29	Lern 1
7,6°C	31	405	m	1,35	23+1	1312000	31093	53	19	20	8	4,2	
	32	450	vr	1,37	27+1	1408000	53750	37	33	24	6	4,76	
	32	345	vr	1,05	15	1072000	17656	80	10	2	8	5	
	33	435	vr	1,21	30+2	1184000	35468	42	17	14	27	5,44	
	30	275	vr	1,01	23+1	1568000	26875	67	9	12	12	5,14	Lern 1
	29	285	vr	1,17	26+1	1200000	9531	79	8	6	7	3,89	
	33	395	m	1,1	17	1472000	33906	58	17	8	17	4,57	Speudoterranova
17/03/99	35	450	m	1,05	34+3	2352000	44375	57	20	10	13	5,8	
7°C	35	450	vr	1,05	20+1	992000	35312	59	16	11	14	4,76	
	36	590	m	1,26	34+2	2240000	52187	51	21	9	19	6,2	
	33	40	vr	1,11	30+4	1968000	65000	58	11	13	18	5,48	Lern 1
	32	370	vr	1,13	25+3	1568000	29218	42	32	16	10	4,96	
	37	605	vr	1,19	28+2	1424000	45312	36	37	9	18	5,59	
	34	465	m	1,18	25+2	1456000	42656	50	30	10	10	5,25	
	37	620	m	1,22	28+1	1856000	56093	36	33	14	17	5,4	
31/03/99	38	680	m	1,24	26+2	1408000	67187	42	34	10	14	5,21	
8°C	52	1630	m	1,6	23+4	1344000	52250	31	25	14	30	4,65	Lordosis
	36	605	m	1,3	28+2	1648000	58125	49	28	10	13	5,06	
	35	535	vr	1,2	18+1	1008000	26875	45	7	29	19	4,5	
	35	555	vr	1,3	30+4	1808000	68125	42	35	14	9	6,46	Lern 2
	35	565	m	1,3	22+1	1328000	31562	69	5	21	5	5,52	

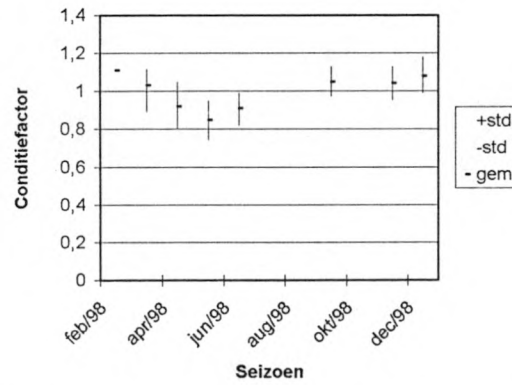
Figuur 1.3.1.1 : Evolutie van het hematocrietgetal bij tong in functie van het seizoen



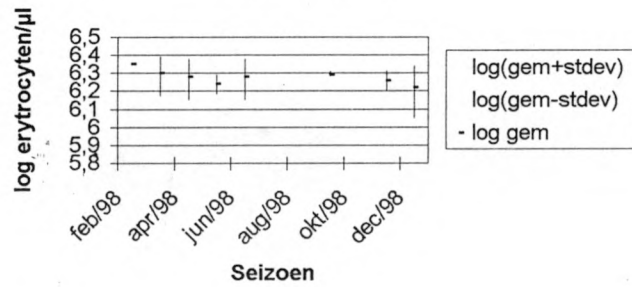
Figuur 1.3.1.2 : Evolutie van het hemoglobine (g/l) bij tong in functie van het seizoen



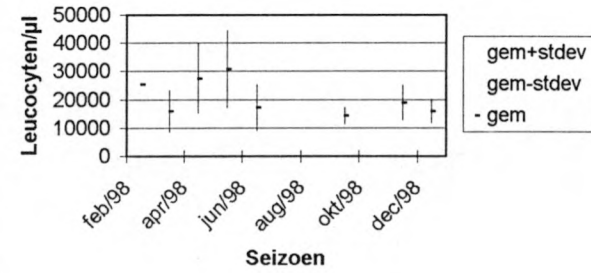
Figuur 1.3.1.3 : Evolutie van de conditiefactor bij tong in functie van het seizoen



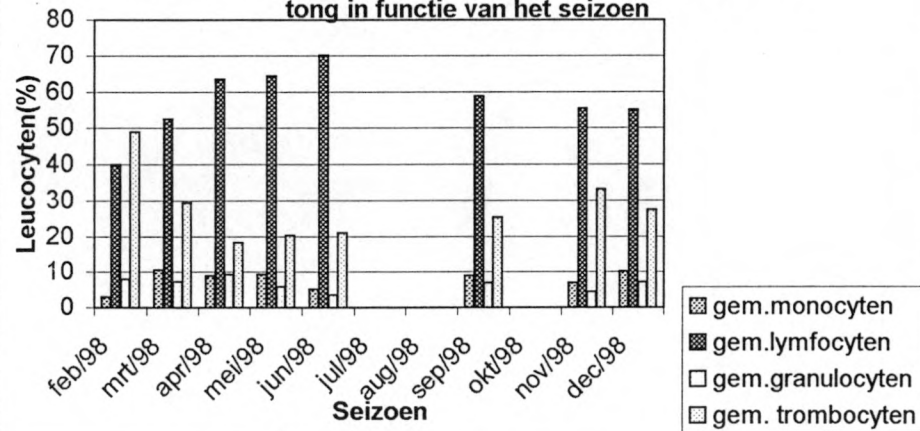
Figuur 1.3.1.4 : Evolutie van het gemiddeld aantal erythrocyten per μl bij tong in functie van het seizoen



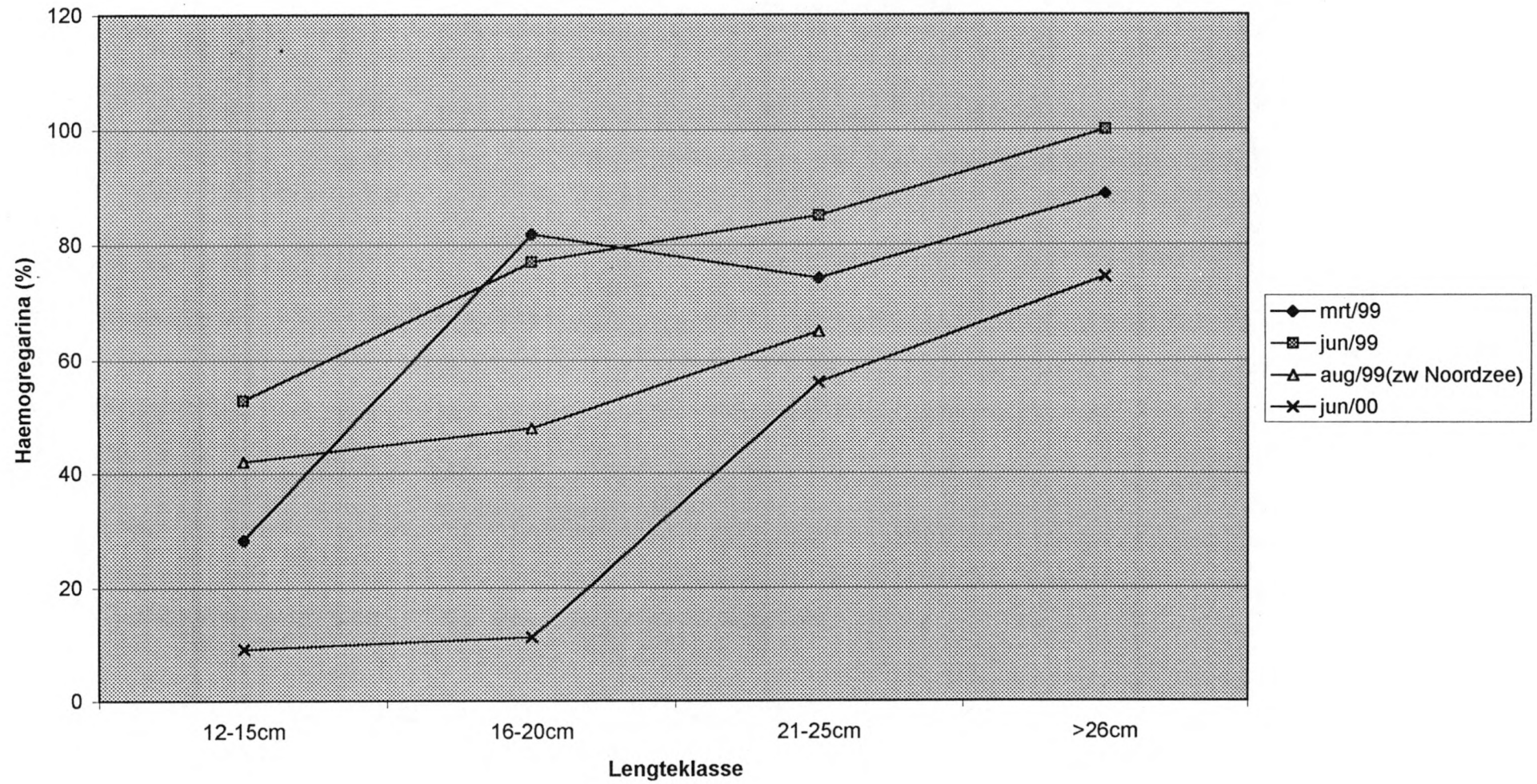
Figuur 1.3.1.5 : Evolutie van het gemiddeld aantal leucocyten per μl bij tong in functie van het seizoen



Figuur 1.3.1.6 : Gemiddeld procentueel gemiddeld aantal monocyten, lymfocyten, granulocyten en trombocyten bij tong in functie van het seizoen



Figuur 1.3.1.7 : Voorkomen van *Haemogregarina simondi* in de bloedcellen van tong afkomstig van het Belgisch continentaal plat en de Zw-Noordzee



Project 1.3.2. - Fagocytose onderzoek bij tarbot en kabeljauw

a. Projectverantwoordelijke: D. Declerck

b. Wetenschappelijke achtergrond, materiaal en methoden

Fagocytose is een van de technieken die gebruikt kan worden als indicator voor stressbepaling bij vis (MATHEWS, 1990). Fagocytose, de verslinding van cellen en partikels, biedt vele mogelijkheden in het planten- en dierenrijk, namelijk de opname van partikels van enkele micrometers groot zoals bacteriën of in experimentele situaties zelfs dunne plastieken pareltjes (GREENBERG, 1993)

Fagocyterende cellen hebben een belangrijke functie bij het tot stand komen van de immun-respons. Tot de fagocyterende cellen behoren zowel de granulocyten, waarvan de neutrofielen in dit kader de belangrijkste zijn als de monocyt/en/macrofagen. GREENBERG en SILVERSTEIN (1993) noemen de granulocyten polymorf-nucleaire leucocyten en de monocyt/en en macrofagen mononucleaire leucocyten. Monocyt/en behoren tot het mononucleair fagocytensysteem. De monocyt/en zijn de macrofagen van het bloed. Als monocyt/en het bloed verlaten naar de weefsels worden ze macrofagen genoemd. Monocyt/en migreren naar weefselplaatsen van infecties of ontstekingen, waar ze differentiëren in macrofagen die gebroken cellen, dode micro-organismen en andere partikels vernietigen (DARNELL *et al.*, 1990).

De verschillende fasen waarbij de fagocytose plaatsgrijpt werden door ROITT en medewerkers (1990) en den OTTOLANDER (1989) beschreven.

Voor de analyses worden voor vis de macrofagen en granulocyten uit de kopnier (pronephros) geïsoleerd. MATHEWS en medewerkers (1990) gaan ervan uit dat de lichtmicroscopische meting van de fagocytose een nauwkeurige en betrouwbare techniek is.

PLASMAN en VRAY (1994) hebben een methode beschreven om de fagocytose activiteit na te gaan door gebruik te maken van fluorescerende partikels zoals bacteriën, gisten of parels. In een ander experiment hebben PLASMAN en VRAY (1993) peritoneale cellen van muizen gescheiden op 12 fracties van Percoll-gradiënten met een eigen densiteit. SANTAREM en FIGUERAS (1994) hebben de effecten bestudeerd van intraperitoneale injecties van *Pasteurella piscicida* o antigen bij tarbot (*Scophthalmus maximus*). LERNOUT en OLLEVIER

(1992) hebben de invloed van de voedingslipiden op de fagocytosecapaciteit bij de Afrikaanse meerval (*Clarias gariepinus*) onderzocht.

c. Vorderingsverslag

De methode beschreven in het activiteitenverslag (1997-99) voor bot (*Platichthys flesus*) werd als uitgangspunt gebruikt voor de bepaling van de fagocytosecapaciteit bij tarbot. De proefdieren (tarbot < 30 cm) waren afkomstig uit het Belgisch Continentaal Plat en aangevoerd door het schoolschip 'Broodwinner'. De kieuw wordt doorgeknipt. Enerzijds wordt voor het onderzoek van de bloedformule 0.5 ml bloed in een buisje voorzien van EDTA opgevangen. Daar de tarbotten te klein waren kon onvoldoende bloedserum verkregen worden. Na het volledig uitbloeden van de vis wordt de kopnier met steriel dissectiemateriaal weggenomen en in een plastic potje, voorzien van AIMV-medium, gebracht.

Voor de bereiding van 0.5 liter AIMV-medium worden 248 ml AIMV + 248 ml Leibovitz L15 + 2 ml heparine (5000 IE/ml) en 10 ml penicilline/streptomycine (10000 IE/g) aangewend. Het AIMV-medium wordt gesteriliseerd met behulp van een membraanfilter (0.22 µ) en bewaard bij 4° C.

De kopnier wordt in een homogenisator (Vel catalogus art nr 7351502) gebracht en geplet zonder de bloedcellen te breken en daarna gefiltreerd door een steriele filter van 40 µ.

De scheiding van de cellen wordt uitgevoerd met behulp van het Sigma product histopaque 1077. De gewassen kopnieroplossing (15 ml) wordt op 15 ml histopaque 1077 aangebracht en gedurende 30 minuten bij 700 g (2000 T/min) afgecentrifugeerd. Om een betere scheiding van de lagen te bekomen wordt de temperatuur gedurende het centrifugeren op 12° C gebracht. Hierna wordt de bovenlaag afgezogen en daarna de witte bloedcellenlaag afgezonderd. De witte bloedcellenlaag wordt 2x gewassen met 5 ml AIMV-medium en op 200 g gedurende 10 minuten afgecentrifugeerd. Daarna worden de neergeslagen bloedcellen in 5 ml AIMV-medium bewaard.

De overleving van de geïsoleerde (polymorf-nucleaire en mononucleaire leucocyten) cellen wordt met trypaanblauwoplossing getest. Het percentage cellen die fagocyteren en de fagocytose-index worden in functie van de tijd bepaald. De fagocytosetest wordt met behulp van gistcellen uitgevoerd. Er wordt een verhouding bloedcellen / gistcellen van 1 tot 10 nagestreefd.

Twee soorten proefnemingen werden uitgevoerd: namelijk de bepaling van het best geschikte medium om de fagocytosetest bij tarbot uit te voeren en het onderzoek van de optimale incubatietemperatuur.

Voor wat de bepaling van de fagocytosecapaciteit bij tarbot betreft, werd zowel het AIMV-medium met (test A) of zonder (test D) kabeljauwserum; het PBS-medium (B) als het RPMI-medium (C) uitgetest. De incubatie temperatuur waarbij de fagocytose werd uitgevoerd bedroeg 4° C.

Daar de tarbotexemplaren te klein waren werd beroep gedaan op kabeljauwserum. Dit serum bleek goed geschikt bij de bepaling van de fagocytosecapaciteit bij bot.

Proefopstelling fagocytosetest bij tarbot
A - 1000 µl WBC + 500 µl kabeljauwserum + 70 µl gistcellen + 500 µl AIMV-medium
B - 1000 µl WBC + 70 µl gistcellen + 1000 µl PBS-medium
C - 500 µl WBC + 70 µl gistcellen + 1500 µl RPMI-medium
D - 1000 µl WBC + 70 µl gistcellen + 1500 µl AIMV-medium

Bij de proefopstelling A, waarbij AIMV-medium en kabeljauwserum werd gebezigd werd geen fagocytose waargenomen. Het kabeljauwserum bleek giftig te zijn voor de uitvoering van de fagocytose door tarbotfagocyten. Bij de proefopstelling B en C werd eveneens geen fagocytose waargenomen. Alleen bij proefopstelling D werd voldoende fagocytose waargenomen in aanwezigheid van het AIMV-medium.

Tenslotte werd de invloed van de temperatuur op de fagocytosecapaciteit en fagocytose-index bij tarbot werd bestudeerd. Er werden vier verschillende incubatietemperaturen namelijk: 4° C, 12° C, 22° C en 30° C ingesteld. De proefneming werd zes maal herhaald en gaven steeds dezelfde resultaten. Het incubatiemedium omvatte 1000 µl WBC + 70 µl gistcellen + 1500 µl AIMV-medium.

In vergelijking met de twee andere ingestelde incubatietemperaturen (22° C en 30° C) kwam de incubatie bij 4° C en 12° C trager op gang. Het fagocyteren bij 30° C kwam gedurende het eerste uur goed op gang maar viel achteraf stil. De beste incubatietemperatuur bleek 4° C te bedragen. Bij deze temperatuur bereikte de fagocytose reeds een maximum na 3 uur incubatie (Figuren 1.3.2.1. en 1.3.2.2.). Het hoogst aantal gefagocyteerde gistcellen per tarbotfagocyt bedroeg 7 à 8. Het onderzoek werd voorlopig beëindigd.

Voor wat het onderzoek van de fagocytosebepaling bij kabeljauw betreft werd er geringe fagocytose bij gebruik van het RPMI en het PBS-medium vastgesteld. Het AIMV-medium in aanwezigheid van kabeljauwserum gaf de beste resultaten.

De incubatietemperatuur bedroeg 2° C boven van het zeewater. Het maximum aan fagocytose werd reeds na een uur bereikt. De opname van gistcellen door de fagocyten was maximum 5 eenheden. De proefnemingen zullen in januari 2001, wanneer de kabeljauw voor onze kust opnieuw aanwezig is, worden verder gezet. Hierbij zal de invloed van het kabeljauwserum op de fagocytose worden bestudeerd.

De bepaling van de fagocytosecapaciteit vond haar toepassing bij de kweek van tarbot waarbij verschillende voedselregimes werden gebruikt. Een eerste lot tarbot juvenielen kregen het voedsel Provimi, een tweede lot: provimi + visolie + vit C en een derde lot: provimi + visolie + vit C + vit E. Er werden 9 verschillende tarbotten onderzocht; drie van elk lot. Vooraleer de proefnemingen te starten werden alle tarbotten gedurende 6 weken op hetzelfde regime van visafval gevoederd. Op het bloed van elke vis werd de bepaling van de fagocytosecapaciteit drie maal herhaald. De gemiddelde resultaten van de bepalingen van de fagocytosecapaciteit en de fagocytose-index zijn in de Figuren 1.3.2.3. en 1.3.2.4. opgenomen. Het beste resultaat werd bekomen bij de toevoeging van vitamine C aan het basisvoedsel provimi. De toevoeging van vitamine E deed het effect van de toevoeging van vitamine C teniet. Uit de bepalingen van de fagocytosecapaciteit kwam verder tot uiting dat de invloed van het basisregime op de conditie van de tarbot een zekere tijd blijft doorwerken na de stopzetting van de toevoeging van de diverse provimi regimes.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Fagocytose-capaciteit kabeljauw en tarbot		U		X

X = gepland

U = uitgevoerd

d. Referenties

DARNELL *et al.*, (1990): Molecular cell biology. Second edition. New York. Freeman and company. 555-560.

DEN OTTOLANDER, G.J.H. (1989): Interne geneeskunde.

Negende herziene druk. Utrecht. Bohn, Scheltema en Holkema. 8-10 en 46-49.

GREENSBERGS, S. en SILVERSTEIN (1993): Phagocytosis.

Fundamental immunology. 3rd edition, William E. Paul, New York. Raven Press Ltd., Chapter 27, 941-949.

LERNOUT, M. (1992): Invloed van voedingslipiden op de gewichtstoename en de fagocytosecapaciteit bij de Afrikaanse Meerval (*Clarias gaiepinus* Burchell 1822).

Eindverhandeling (onuitgegeven) o.l.v. prof F. Ollevier. Leuven, KUL.

MATHEWS, E. S. *et al.* (1990): Assays of immune function in fish macrophages. Techniques used as indicators of environmental stress.

Techniques in Fish Immunology. Fish Immunology Technical Communications 1. Edition by Stolen J. S. *et al.*

PLASMAN, N. en VRAY, B. (1993): Mouse peritoneal macrophages: characterisation of functional subsets following Percoll density gradients.

Research on Immunology, 144, 151-163.

PLASMAN, N. en VRAY, B. (1994): Quantification of bacterial phagocytosis by flow cytometry and spectrofluorimetry.

Journal of Immunology Methods, 174, 195-202.

RIOTT, I. *et al.* (1989): Immunology.

Second edition. London. New York. Churchill Livingstone, Gower Medical Publishing. 1.1-1.5, en 15.2-15.9.

SANTAREM, M. en FIGUERAS, A. (1994): Kinetics of phagocytic activity, plaque-forming cells and specific agglutinins of turbot (*Scophthalmus maximus*) immunised with O antigen of *Vibrio damsela* and *Pasteurella piscicida*.

Fish and Shellfish Immunology, 4, 527-537.

Project 1.4. - Studie van de natuurlijke mortaliteit en de biologische conditie van schaal- en weekdieren

Project 1.4.1. - Studie van het bacteriologisch, parasitair en toxisch fytoplankton bij mosselen

a. Projectverantwoordelijke: D. Declerck

b. Wetenschappelijke achtergrond, materiaal en methoden

De studies betreffende de pathologie van schaal- en weekdieren moeten indicaties geven omtrent de ziekte-incidentie, het verloop van het ziektebeeld, de verantwoordelijke pathogenen, de impact van milieu-omstandigheden en de geografische verspreiding van de aandoeningen. Het hieraan gekoppelde biologische conditie-onderzoek wordt beïnvloed door een aantal endogene en exogene factoren, waaronder voedselaanbod, paaiperiode, abiotische milieucondities en de aanwezigheid van ziekten en parasieten, die allen in min of meerdere mate seizoensafhankelijk zijn.

Biotoxines geproduceerd door dinoflagellaten hebben de laatste jaren grote sterftes veroorzaakt onder zowel wilde als gekweekte vispopulaties. De expansie van de aquacultuur en haar economische betekenis langs de kustzones heeft er toe geleid meer aandacht aan de bloei van toxische algen te schenken. Van de 5000 gekende microalgen spp zijn er ongeveer 1 % toxisch (SLEIDINGER *et al.* 1998). Sommige microalgen zoals *Gymnodinium breve* produceren ten minste 8 toxinen, waaronder het letale neurotoxine. De kieuwen schijnen de voornaamste plaats te zijn voor de opname van toxinen die afwisselend cytolytisch (celdestructie), neurolytisch (decompositie van het zenuwstelsel) of hemolytisch (scheiding kleurstof en rode bloedcellen) zijn. Variatie van de aantasting van de lever, kieuwen en de darmen hangt onder meer af van het type van toxine en de duur van de blootstelling aan het toxine. Vissterfte werd vastgesteld bij celconcentraties van *Gyrodinium aureolum* van $10^7/l$ (DAHL en TANGEN, 1993) en *Gymnodinium breve* van $2 \times 10^5/l$ (STEIDINGER *et al.*, 1998). De concentratie van het toxine, de vissoort en het milieu (ph en beschikbare zuurstof) hebben een invloed op de mortaliteit. In de aanwezigheid van algentoxines vertonen vele adulte vissoorten een aangepast gedrag.

De vissterfte van juveniele en adulte vissen, te wijten aan toxische dinoflagellaten is goed herkenbaar, doch het verlies aan larven is minder evalueerbaar, vooral als het effect van toxische algenbloei op de populatie moet worden onderzocht. Experimentele studies hebben aangetoond dat slechts een tiental cellen van *Alexandrium tamarence* reeds dodelijk waren voor de larven van zeebaars (WHITE *et al.*, 1989). Larven die zich voeden met toxische dinoflagellaten vertonen neurotische effecten, gewijzigd zwemgedrag, evenwichtverlies en paralyse. Copepoden en ander zooplankton, die zich voeden met toxische dinoflagellaten en de toxines tolereren, kunnen als toxinevector dienen voor vislarven en adulte plankton etende vissen, zoals haring. Bij mortaliteitsexperimenten met haringlarven, die zich voeden met Copepoden die toxische dinoflagellaten hadden opgenomen, werden verliezen van 30 % larven per dag opgetekend (WHITE, 1980). Het okadoic zuur, beter gekend voor zijn rol als DSP vergiftiger bij mensen, werd aangewezen als een tumor-initiator bij zoodieren (FUJIKI en SUGANAMA, 1993). Recent werd het okadoic zuur in verband gebracht met het bevorderen van fibropapillomas (fibroom dat onder meer in de urineblaas voorkomt) in zeeschildpadden (LANDBERG en SHUMBERG, 1998).

Het is evident dat deze organismen direct of indirect een invloed hebben op de gezondheid van vis (van sommige toxines is bekend dat zij aan de basis kunnen liggen van het ontstaan van levertumoren) en op de consumeerbaarheid van visserijproducten (in casu schelpdieren). Mocht het tot uitbating van de schelpdieren bestanden in de Belgische kustwateren komen dan zal er een systeem nodig zijn van sanitaire monitoring (Richtlijnen van de Raad ; 79/923/EEG en 91/492/EEG) waarbij onder meer het toxisch fytoplankton, de aanwezigheid van coliformen en *Salmonella* en een aantal fysisch-chemische parameters van het schelpdierwater en de schelpdieren moeten bepaald worden. Het onderzoek op toxisch fytoplankton (producenten van DSP, PSP, NSP en ASP) zal voornamelijk gericht worden op de genera *Dinophysis*, *Procentrum*, *Alexandrium* en *Pseudonitzschia* die allen in de Belgische kustwateren kunnen voorkomen.

De onderzochte mosselen werden bemonsterd in november 1999 en waren afkomstig van de kustlijn (Knokke-het-Zoute tot Sint-Idesbald) en uit volle zee (Figuur 4.1.). Langs de kustlijn werden 9 plaatsen bemonsterd namelijk: Sint-Idesbald (oosthelling); Nieuwpoort (Veurnestraat); Westende (Sint-Laureins); Middelkerke (Keizer Karel domein); Oostende (rechts van de vaargeul, eerste golfbreker); Bredene (Bludseyde); Blankenberge (200 m voorbij het staketsel) en Knokke-het-Zoute (Linkse kant van de golfbreker ter hoogte van 'Surfparadise'). De onderzochte plaatsen komen overeen met de plaatsen die in november 1988 werden bemonsterd. De mosselmonsters werden gebruikt voor bacteriologisch en parasitologisch onderzoek, de bepalingen van de chemische samenstelling (asgehalte, vetgehalte, droge stof, eiwitgehalte), hematologische (fagocytosecapaciteit) bepalingen en rendementbepalingen. Op dezelfde plaatsen werd er eveneens zeewater en zand bemonsterd. De staalname gebeurde ter hoogte van het midden van de golfbreker.

Anderzijds werden er eveneens mosselen bemonsterd van de hangcultuur die op de Figuur 4.1. als plaats C wordt aangeduid. De mosselen van de hangcultuur waren in december 1999 circa negen maanden oud.

Het bacteriologisch onderzoek omvatte de bepaling van het aantal totaal bacteriën bij 20° C (Plate count agar), de fecale *E. coli* bij 44° C (Violet red bile agar) en de fecale Streptococci bij 44° C (Slanetz en Bartley agar). De bepaling van de fagocytosecapaciteit bij mosselen werd uitgevoerd door middel van het protocol dat door DECLERCK (1998) werd uitgewerkt.

c. Vorderingsverslag

Schelpmisvormingen komen zowel binnen als buiten de schelp voor. Binnenin de schelp zijn er soms parels waar te nemen. De meeste parels hebben kernen van niet identificeerbaar, korrelachtig materiaal. *Odostomia scalaris* behoort tot de gastropoden en is in staat beschadigingen aan de schelp van de mossel te veroorzaken. De slakken die zich vastgemaakt hebben op de buitenkant van de schelp dringen met hun lange slurf langs de ventrale zijde binnen in de mossel. Ze blijven verschillende dagen in deze houding om zich te voeden. Daardoor misgroeit de schelp (COLE en HANCOCK, 1955). Het grootste aantal vervormingen bij de mosselen (29 %) kwam voor ter hoogte van fort Napoleon. Dit is tegenstelling met de schelpen van de hangcultuur, waar geen enkel spoor van vervorming waar te nemen is. De schelpen van de hangcultuur hebben een zuivere en min of meer licht doorschijnende broze schelp. De kleur is grijs en enigszins afwijkend van de grijze mossel. Een meer donkere kleur en steviger schelp wordt verwacht gedurende de consumptie periode augustus-december 2000. De mosselen zullen dan 18 maanden oud zijn.

Voor wat het parasitair onderzoek betreft werd *Mytilicola intestinalis* in de mosselen langs de Belgische kust niet aangetroffen. Het toxisch fytoplankton onderzoek werd in september en november 1999 op diverse plaatsen langs de kustlijn uitgevoerd. Het voorkomen in de maand september van *Alexandrium tamarense* (220/l) in het zeewater langs de kustlijn maakt analyses noodzakelijk gedurende de warme maanden. *Alexandrium tamarense* is reeds toxisch vanaf 100/liter en veroorzaakt paralytic shellfish poisoning.

De vitaliteitstest bij de erythrocyten gaf betere resultaten (97 %) bij de hangcultuur dan de testen op de mosselen die afkomstig waren van de golfbrekers langs de kustlijn (92 % à 93 %).

De evolutie van de fagocytosecapaciteit en de fagocytose-index bij mosselen afkomstig van drie verschillende locaties is in de Tabel 1.4.1. en de Figuren 1.4.10. en 1.4.11. opgenomen. Opvallend is de duidelijk hogere fagocytosecapaciteit en -index bij de mosselen afkomstig van de hangcultuur. Deze waarneming wijst op een betere biologische conditie van de hangcultuur mosselen.

Voor wat de chemische analyses in november 1999 betreft, werd het laagste eiwitgehalte in Sint-Idesbald (15.3 %) en ter hoogte van Fort Napoleon te Oostende (14.6 %) opgetekend.

Het bacteriologisch onderzoek op de mosselen, zeewater, en sediment (Figuren 1.4.1. tot 1.4.9.) wijst op een algemene verbetering van de kwaliteit van het zeemilieu in vergelijking met 10 jaar terug. Een sterke vermindering van fecale coliformen in het mosselvlees (0/100 g) en in het sediment (35/100 g) is waargenomen voor november 1999 t.o.v. respectievelijk 77760/100 g en 19050/100 g voor oktober 1987. De mosselen in november 1999 waren voor directe consumptie geschikt en beantwoorden aan de EEG richtlijn 91/492.

De verhouding fecale coliformen op fecale streptokokken (meestal < 1) wijst op een vermindering van bacteriële input van menselijke oorsprong en dus een verbetering van de kwaliteit van het zeewater en milieu. De gunstige resultaten komen voort van een momentopname langs de Belgische kust. Verdere proefnemingen in de omgeving van de hangcultuur gedurende de maanden juli tot september moeten bevestiging brengen.

De biologische kwaliteit van de mossel langs de Belgische kustlijn is in het algemeen zeer sterk verbeterd, wat bemoedigend is voor de kwaliteit van mosselen afkomstig van de hangcultuur in het Belgisch Continentaal Plat. Alles wijst er op dat de aquacultuur van mosselen in het Belgisch Continentaal Plat in de toekomst tot de mogelijkheden behoort.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Parasitair onderzoek op mosselen uit het BCP	U	U	X	X
Bacteriologisch onderzoek op mosselen uit BCP	U	U	X	X
Hematologisch onderzoek op mosselen	U	U	X	X
Onderzoek van toxisch fytoplankton in BCP	U	U	X	X

X = gepland

U = uitgevoerd

d. Referenties

COLE, H.A. en HANCOCK, D.A. (1955): On some larval trematode parasites of the mussel (*Mytilus edulis*) and the cockle (*Cardium edule*).
Parasitology, 27, 276-280.

DAHL, E. en TANGEN, K. (1993): 25 years experience with *Gyrodinium aureolum* in Norwegian waters.

In: Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. T. Smayda and Y. Shimizu (eds.), 15-21, Elsevier Sci. Publ. B.V., Amsterdam.

DECLERCK, D. (1998): Onderzoek van de fagocytosecapaciteit van mosselen (*Mytilus edulis*) in de nabijheid van de Belgische kusthavens.

CLO Publicatie nr 249-D/198/0889/1.

FUJIKI, H. en SUGANUMA, M. (1993): Tumor promotion by inhibitors of protein phosphatases 1 and 2A: the okadaic acid class of compounds.

Advances in Cancer Research, 61, 143-194.

GOSSELIN, S., FORTIER, L. en GAGNE, J.A. (1989): Vulnerability of marine fish larvae to the toxic dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis*.

Mariner Ecology Progress Series, 57, 1-10.

LANDSBERG, J.H. en SHUMWAY, S.E. (1998): Harmful algal blooms and their effects on marine and estuarine animals.

Abstr. Proc. 3rd Int. Aquat. Anim. Hlt Sympos., 58-63, Baltimore.

STEIDINGER, K.A., VARGO, G.A., TESTER, P.A. en TOMAS, C.R. (1998): Bloom dynamics and physiology of *Gymnodinium breve* with emphasis on the Gulf of Mexico.

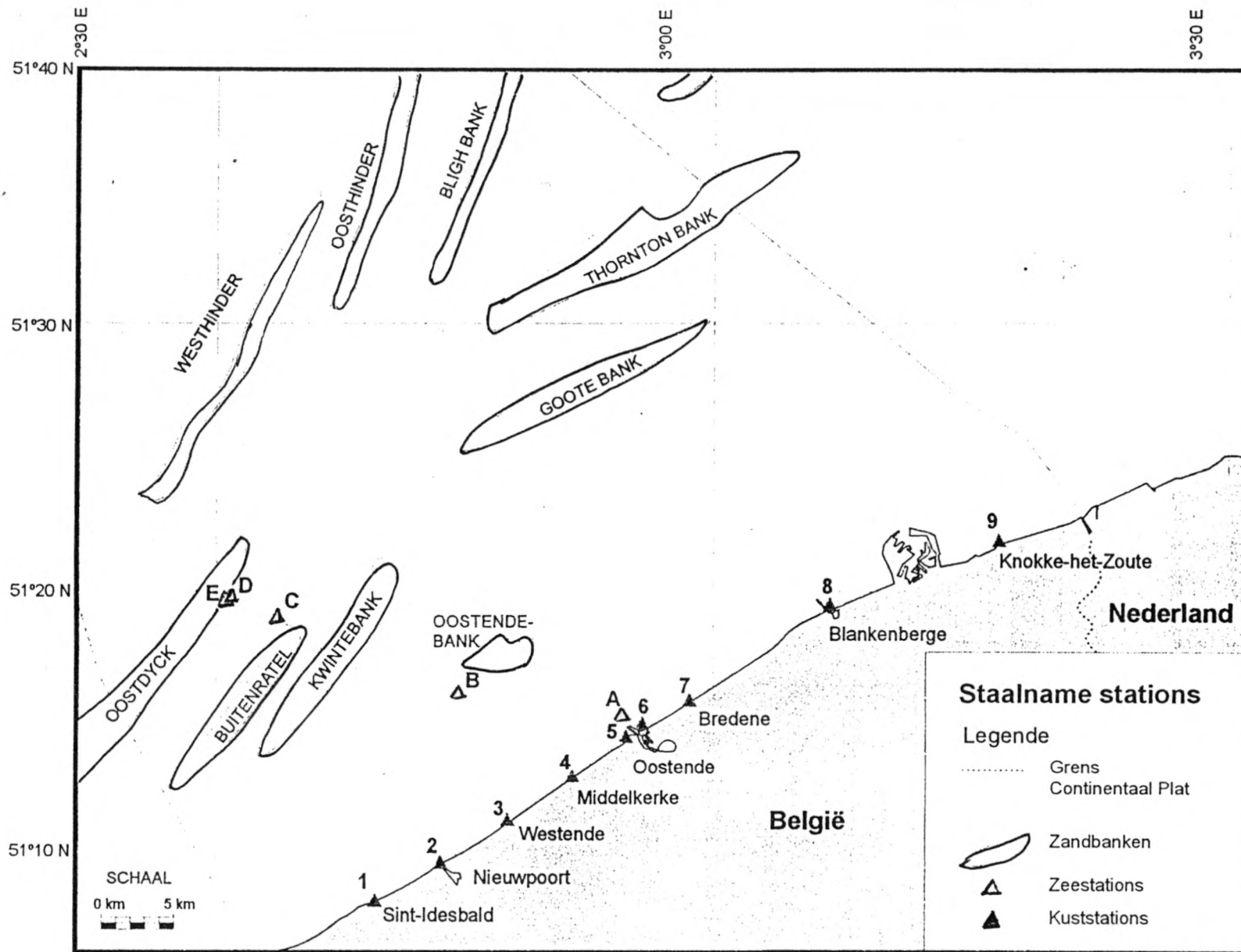
In: Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms. D.M. Anderson, A.D. Cembetta en G.M. Hallegraeff (eds.), 133-153. Springer-Verlag, Berlin.

WARLEN, S.M., TESTER, P.A. en COLBY, D.R. (1999): Recruitment of larval fishes into a North Carolina estuary during a bloom of the red tide dinoflagellate, *Gymnodinium breve*.

Bulletin of Marine Science, 62.

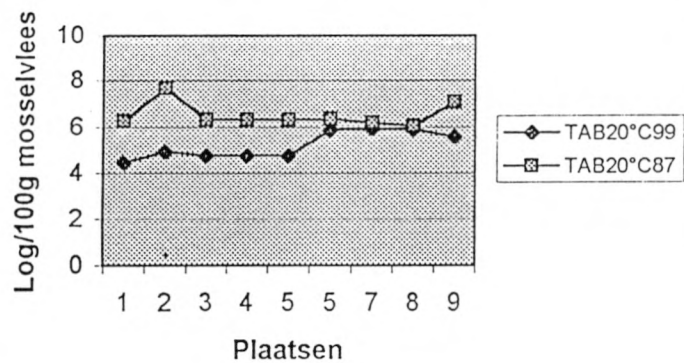
WHITE, A.W. (1980): Recurrence of kills of Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) caused by dinoflagellate toxins transferred through herbivorous zooplankton.

Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37, 2262-2265.

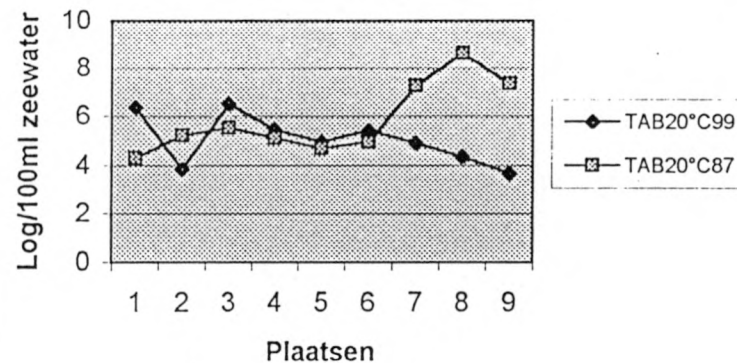


Figuur 1.4: Overzicht van de bemonsteringspunten langs de kustlijn en in het Belgisch Continentaal Plat.

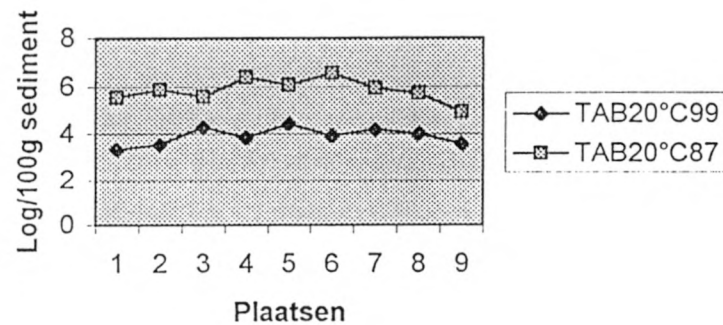
Figuur 1.4.1 : Vergelijkend onderzoek van het TAB per 100g mosselvlees afkomstig van de golfbrekers langs de Belgische kust (1987,1999)



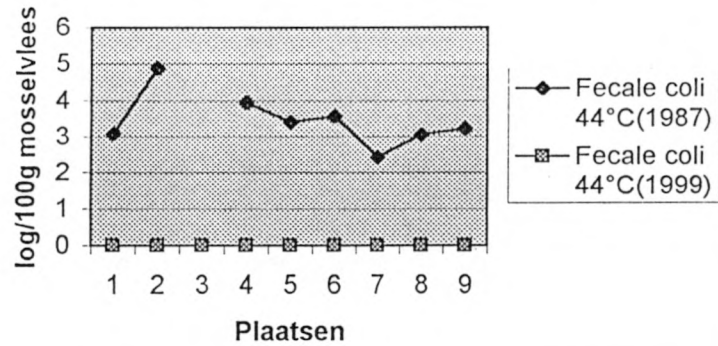
Figuur 1.4.2 : Vergelijkend onderzoek van het TAB/100ml zeewater in diverse plaatsen langs de Belgische kust (1987, 1999)



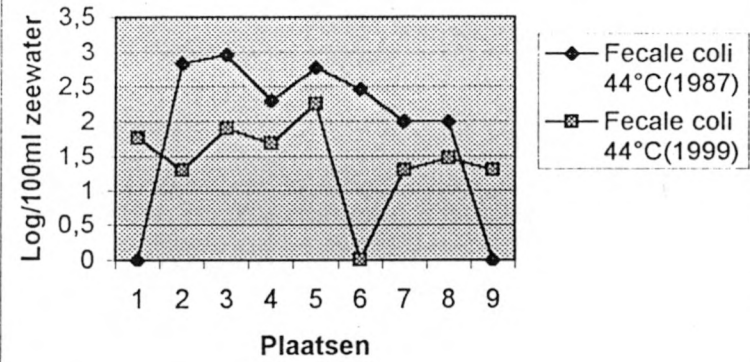
Figuur 1.4.3: Vergelijkend onderzoek van TAB/100g sediment in diverse plaatsen langs de Belgische kust (1987, 1999)



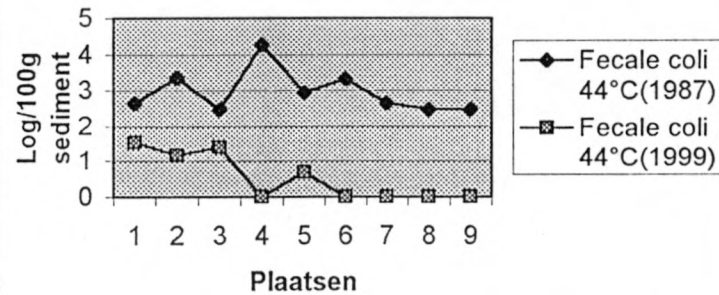
Figuur 1.4.4 : Vergelijkend onderzoek van het totaal aantal fecale coli/100g mosselvlees afkomstig van de golfbrekers langs de Belgische kust (1987,1999)



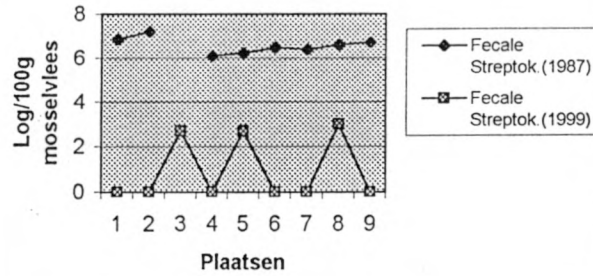
Figuur 1.4.5 : Vergelijkend onderzoek van het totaal aantal fecale coli/100ml zeeewater bij diverse plaatsen langs de Belgische kust (1987,1999)



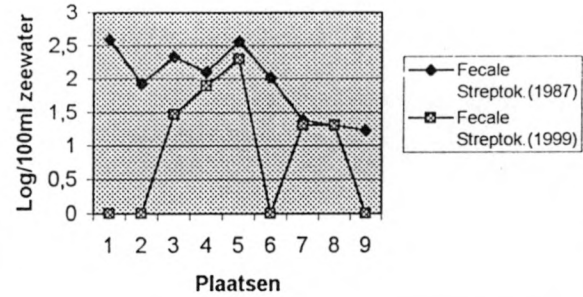
Figuur 1.4.6 : Vergelijkend onderzoek van het totaal aantal fecale coli /100g sediment bij diverse plaatsen langs de Belgische kust (1987,1999)



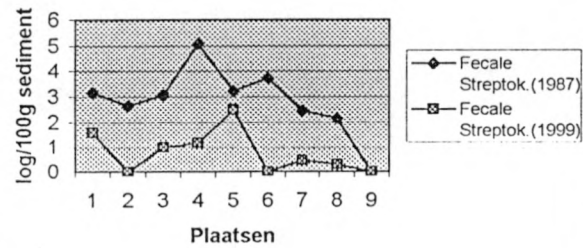
Figuur 1.4.7 : Vergelijkend onderzoek van het totaal aantal fecale Streptokokken/100g mosselvlees afkomstig van de golfbrekers langs de Belgische kust (1987,1999)



Figuur 1.4.8 : Vergelijkend onderzoek van het totaal aantal fecale Streptok./100ml zeewater bij diverse plaatsen langs de Belgische kust (1987,1999)



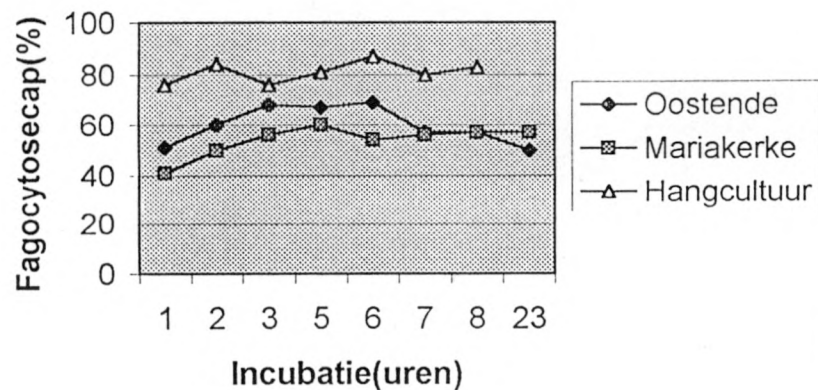
Figuur 1.4.9 : Vergelijkend onderzoek van het totaal aantal Streptok./100g sediment bij diverse plaatsen langs de Belgische kust (1987,1999)



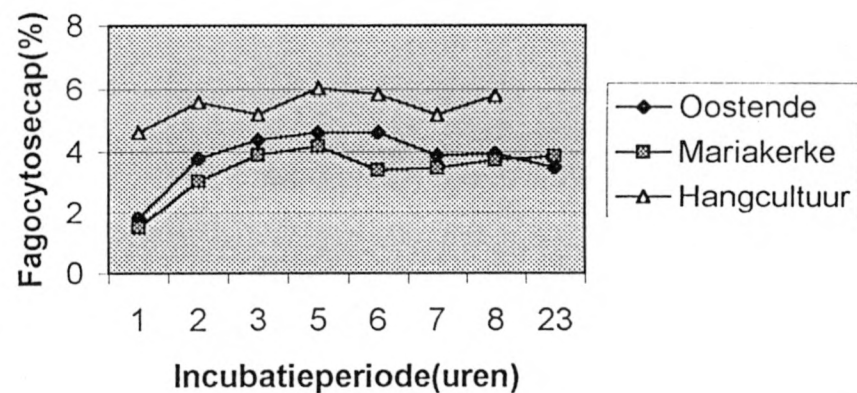
Tabel 1.4.1 : Evolutie van de fagocytosecapaciteit en fagocytoseindex bij mosselen afkomstig van drie verschillende locaties

Incubatie(uren)	Fagocytosecapaciteit			Fagocytoseindex		
	Oostende	Mariakerke	Hangcultuur	Oostende	Mariakerke	Hangcultuur
1	51	41	76	1,84	1,49	4,62
2	60	50	84	3,76	3,05	5,58
3	68	56	76	4,38	3,89	5,2
5	67	60	81	4,61	4,18	6,04
6	69	54	87	4,61	3,4	5,85
7	57	56	80	3,86	3,46	5,17
8	57	57	83	3,93	3,73	5,8
23	50	57		3,48	3,85	

Figuur 1.4.10 : Evolutie van de fagocytosecapaciteit bij mosselen afkomstig van drie verschillende locaties



Figuur 1.4.11 : Evolutie van de fagocytoseindex bij mosselen afkomstig van drie verschillende locaties



Project 1.4.2. - Studie van het voorkomen van *Hematodinium* bij langoestine (*Nephrops norvegicus*) in de zuidelijke Noordzee

a. Projectverantwoordelijken: F. Redant en D. Declerck

b. Wetenschappelijke achtergrond

Sinds de eerste waarnemingen voor de Schotse Westkust (FIELD *et al.*, 1992), in het begin van de jaren '90, is er toenemende bezorgdheid over de mogelijke gevolgen van infectie door de parasitaire dinoflagellaat *Hematodinium* op de langoestinstocks in de Europese wateren (ICES, 1998). Uitbraken van deze ziekte hebben immers een epidemisch karakter en kunnen tot massale sterfte onder de langoestines leiden. In die mate dat zowel de populatie als de visserij er aanzienlijke en langdurige schade van (kunnen) ondervinden. Tot nu toe werd de ziekte enkel met zekerheid vastgesteld in de Schotse kustwateren en in het Kattegat (ICES, 2000), maar er zijn indicaties dat ze ook in andere delen van de Noordzee (waaronder het Botney Gut - Silver Pit gebied) voorkomt.

Gezien de potentiële omvang van het probleem (men kan immers terecht stellen dat door *Hematodinium* geïnfecteerde *Nephrops*-stocks op een 'biologische tijdbom' leven) en gezien zijn potentiële implicaties voor de langoestinevisserij, is er dringend nood aan bijkomende gegevens, teneinde de graad van infectie door *Hematodinium* in zoveel mogelijk *Nephrops*-populaties na te gaan (ICES, 1998). Op termijn moet deze kennis toelaten een zgn. 'risk assessment' uit te voeren naar de kansen op epidemische uitbraken, en naar de mogelijke gevolgen daarvan op de stocks en hun exploiteerbaar potentieel.

c. Vorderingsverslag

De gestructureerde aanpak van het *Hematodinium*-onderzoek was één van de agendapunten op de laatste vergadering van de ICES *Nephrops Study Group* (Reykjavik, mei 2000 - ICES, 2000). Op deze vergadering werd een overzicht gegeven van de meest recente onderzoeksresultaten die in Schotland en Zweden geboekt werden, en van de minimumvereisten waaraan toekomstige onderzoeken moeten voldoen om vergelijkingen tussen diverse *Nephrops*-stocks onderling mogelijk te maken. Deze gegevens werpen een totaal nieuw licht op de materie, en noodzaken ons meteen ook

om de oorspronkelijke planning van het onderzoek (zoals opgenomen in het programma 1999-2001 van de Werkgroep Biologie) te herzien.

Zeer in het kort kunnen deze bevindingen (en hun implicaties voor het toekomstige *Hematodinium*-onderzoek) als volgt samengevat worden:

- In tegenstelling tot wat vroeger gemeend werd, verschillen de periodes met piekprevalenties van *Hematodinium* van gebied tot gebied. Voor de Schotse Westkust is dit in maart-april (STENTIFORD, niet-gepubliceerde gegevens, gerapporteerd aan de ICES *Nephrops Study Group* - ICES, 2000), maar voor de Zweedse kust in de late zomer en vroege herfst (ULMESTRAND, *ibidem*). De gevolgen hiervan voor de organisatie van toekomstige onderzoeken naar het voorkomen van *Hematodinium* liggen voor de hand: wil men een nauwkeurig beeld krijgen van de mogelijke graad van *Hematodinium*-infectie, dan is een doorlopend monitoringprogramma vereist, met een looptijd van minstens 12 en bij voorkeur 24 maand. Bij een eenmalige studie (zoals oorspronkelijk voorzien in het programma van de Werkgroep Biologie) bestaat immers het risico dat de prevalentiepiek 'gemist' wordt, en dat de infectiegraad zwaar onderschat wordt.
- De diverse methoden die tot nu toe gebruikt werden om de ziekte te registreren (zgn. '*body colour method*', '*pleopod method*', en analyse van bloedmonsters) geven geen eenduidige resultaten, o.m. omdat de uitkomsten te zeer beïnvloed worden door de onderlegdheid van de waarnemer (resultaten van een Schots-Zweeds intercalibratie-onderzoek, gerapporteerd in ICES, 2000). Momenteel wordt aan de Universiteit van Glasgow een nieuwe diagnostische methode ontwikkeld voor de opsporing van *Hematodinium*, gebaseerd op de zgn. '*western blotting assay*' (een immuno-respons methode gericht op de detectie van parasiet-specifieke proteïnen in het bloed en de weefsels van *Nephrops* - STENTIFORD in ICES, 2000). Deze methode moet het mogelijk maken om snel en (relatief) goedkoop grote aantallen *Nephrops* op de aanwezigheid van *Hematodinium* te controleren – een absolute vereiste voor het type monitoringprogramma's waarvan hierboven sprake.

Rekening houdend met:

- de noodzaak om aanvullende gegevens te verzamelen over de incidentie van *Hematodinium* in zoveel mogelijk Europese *Nephrops*-stocks;
- de technische vereisten die aan een dergelijk pan-Europees onderzoek gesteld worden (aantal te onderzoeken stocks, minimale duur van de monitoringprogramma's teneinde zekerheid te hebben over het seizoenaal verloop van de ziekte, enz.); en
- de wenselijkheid om deze onderzoeken uit te voeren met een gestandaardiseerde en reproduceerbare diagnostische methode;

zijn de leden van de ICES *Nephrops Study Group* overeen gekomen om bij de Europese Commissie (EC) een voorstel in te dienen tot financiering van een internationaal coöperatief onderzoeksprogramma naar de verspreiding van *Haematodinium* in de Europese *Nephrops*-stocks (ICES, 2000). Dr. Douglas Neil (University of Glasgow, UK) heeft ermee ingestemd om een ontwerp van onderzoeksproject uit te werken en om de coördinatie van dit project op zich te nemen. Wellicht zal dit projectvoorstel nog in de loop van het najaar 2000 bij de EC ingediend worden, in het kader van het zgn. 5th Framework.

Gezien het belang van dit onderzoek (ook voor de *Nephrops*-stock in het Botney Gut - Silver Pit gebied) en gezien de wenselijkheid om het eigen onderzoeksprogramma af te stemmen op de aanbevelingen van de ICES *Nephrops Study Group*, wordt voorgesteld om de geplande onderzoeken in het Botney Gut - Silver Pit gebied tijdelijk op te schorten en deel te nemen aan bovengenoemd pan-Europees project. De inbreng van extra, Europese financiële middelen is trouwens een absolute vereiste, willen we in staat zijn om (a) de onderzoeken uit te breiden van een eenmalige studie tot een monitoringprogramma van 12 of 24 maand, en (b) de onderzoeken uit te voeren met gebruikmaking van de '*western blotting assay*'.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Staalnamen op zee		X	of X	
Microscopisch onderzoek			X	X
Statistische verwerking resultaten				X

X = gepland

d. Referenties

FIELD, R.H., CHAPMAN, C.J., TAYLOR, A.C., NEIL, D.M. en VICKERMAN, K. (1992): Infection of the Norway lobster, *Nephrops norvegicus*, by a *Haematodinium*-like species of dinoflagellate on the west coast of Scotland. Diseases of Aquatic Organisms, 13, 1-15.

ICES (1998): Report of the Study Group on Life Histories and Assessment of *Nephrops*. ICES, Living Resources Committee, CM 1998/G:9 (mimeo).

ICES (2000): Report of the Study Group on Life Histories of *Nephrops*. ICES, Living Marine Resources Committee, CM 2000/G:.. (in druk).

Hoofdstuk 2 - Dynamiek en exploitatie van commerciële schaaldieren

Met betrekking tot de projecten onder Hoofdstuk 2., dient opgemerkt dat Frank Redant, met instemming van de Directie van DG 6, van juli 1999 t.e.m. maart 2000 parttime tewerkgesteld was op het zgn. Project Fladen (5b-project gefinancierd door de Europese Gemeenschap, de Vlaamse Gemeenschap en de visserijsector). Dit heeft uiteraard repercussies gehad op de tijd die aan de uitvoering van het contractueel onderzoek kon besteed worden.

Project 2.1. - Interacties tussen populatiedynamiek en exploitatiepatroon bij langoestine (*Nephrops norvegicus*)

a. Projectverantwoordelijke: F. Redant

b. Wetenschappelijke achtergrond

De inkrimping van de Belgische *Nephrops*-vloot in het begin van de jaren '90, leidde tot een aanzienlijke daling van de (Belgische) visserij-inspanning op *Nephrops*. Verhoudingsgewijs echter, daalde de aanvoer minder snel dan de visserij-inspanning. Dit was een rechtstreeks gevolg van de opmerkelijke stijging in de aanvoer per eenheid van visserij-inspanning (*Landings per Unit Effort* of LPUE's) tussen 1992 en 1995. Aangezien de LPUE's tot op zekere hoogte indicatief zijn voor de relatieve abundantie van een geëxploiteerde stock, wees deze stijging op een algemene verbetering van het exploitatiepatroon, wat het beste liet verhoppen voor de daaropvolgende jaren.

In tegenstelling tot de verwachtingen, was 1996 een teleurstellend opbrengstjaar voor de Belgische *Nephrops*-vloot. Hoewel de visserij-inspanning nauwelijks daalde, zakte de aanvoer terug tot amper 265 ton (- 55 % ten opzichte van 1995). De redenen voor deze terugloop zijn onduidelijk, te meer daar diverse visserij-afhankelijke en biologische indicatoren (waaronder de LPUE's in het piekseizoen van de *Nephrops*-visserij, het aandeel van de oudste leeftijdsklassen in de vangsten, e.d.) én de resultaten van de in 1997 en 1999 uitgevoerde analytische populatiestudies (ICES, 1997

en 1999), aantoonen dat de stock niet overbevist was. In 1997 en 1998 herstelde de aanvoer zich gedeeltelijk, terwijl ook de LPUE's naar 'normale' waarden terugkeerden. Toch blijkt het risico op overbevissing van de Botney Gut - Silver Pit stock reëel. De voorbije jaren is de totale, internationale visserijdruk immers aanzienlijk gestegen, in hoofdzaak als gevolg van de toenemende interesse vanwege de Nederlandse vloot voor de langoestinevisserij in de zuidelijke Noordzee.

De mogelijke gevolgen van een ongecontroleerde toename in de visserijdruk op de *Nephrops*-stock in het Botney Gut - Silver Pit gebied zijn bekend uit het verleden. Uit de periode 1987-91 (toen de Belgische langoestinevisserij in de zuidelijke Noordzee een piek kende in termen van aantal deelnemende schepen en gepresteerde visuren), weten we immers dat een ongeremde toename in visserijdruk zeer snel kan leiden tot een daling in de LPUE's en een verminderde economische rendabiliteit van de *Nephrops*-trawlers. Wat, uiteraard, een zware hypotheek op de toekomst van dit vlootsegment zou leggen. De verdere opvolging van deze visserij, via visserij-afhankelijke en biologische indicatoren van de exploitatiegraad en via analytische populatiestudies, is dan ook een absolute noodzaak. Niet alleen om de *Nephrops*-stock in het Botney Gut - Silver Pit gebied voor overbevissing te behoeden, maar ook om de economische leefbaarheid van de betrokken vaartuigen veilig te stellen.

c. Vorderingsverslag

Marktbemonsteringen

De marktbemonsteringen op de Belgische *Nephrops*-aanvoer uit het Botney Gut - Silver Pit gebied werden plusminus op schema afgewerkt. Een overzicht van de geplande en effectief uitgevoerde marktbemonsteringen is in onderstaande tabel opgenomen:

Periode	Gepland	Uitgevoerd	N (*)
3 ^e kwartaal 1999	6	6	800
4 ^e kwartaal 1999	6	5	800
1 ^e kwartaal 2000	6	3	600
2 ^e kwartaal 2000	6	4	600
(*) Aantal metingen per monsternamen			

De belangrijkste reden voor het lage aantal bemonsteringen in het 1^e en het 2^e kwartaal van 2000, is de stelselmatige reductie van het aantal zgn. 'fulltime *Nephrops*-trawlers' (vaartuigen die minstens 10 of 11 maanden per jaar de langoestinevisserij beoefenen). De voorbije jaren is de Belgische langoestinevisserij in het Botney Gut - Silver Pit gebied immers ingrijpend gewijzigd, zowel qua vloot-

samenstelling als qua exploitatiepatroon (Tabel 2.1.1.). Tot en met 1998 werd het merendeel van de *Nephrops*-aanvoer gerealiseerd door de voltijdse *Nephrops*-trawlers, en was de bijdrage van de zgn. 'seizoenale *Nephrops*-trawlers' (vaartuigen die enkel gedurende de zomer en vroege herfst op langoestine vissen) relatief beperkt. Sinds 1999 echter, is het aantal voltijdse *Nephrops*-trawlers teruggevallen tot nauwelijks 6. Daar tegenover staat dat steeds meer vaartuigen (met name Eurokotters) gedurende het piekseizoen de langoestinegronden opzoeken, als alternatief voor hun gebruikelijke visserij-activiteiten (rondvis-, platvis- dan wel garnalvisserij). Dit heeft geleid tot (a) een toenemende concentratie van de visserij-inspanning in de zomer en vroege herfst, en (b) een ongeziene diversificatie in visserijtechnieken. Terwijl in het verleden meer dan 80 % – en vaak zelfs meer dan 90 % – van de langoestines werd gevangen met enkelvoudige bordennetten (geopereerd vanop zijtrawlers), worden nu, voor zover bekend, minstens 6 verschillende technieken aangewend om langoestines te vangen:

- enkelvoudige bordennetten,
- tweelingnetten,
- drielingnetten,
- dubbele tweelingnetten bediend vanop de bomen van een boomkorrenvaartuig,
- voor de langoestinevisserij opgetuigde 'visboomkorren', en
- garnaalboomkorren met een langoestinevistuig (een methode die vooral wordt toegepast door de Eurokotters).

Daarnaast is er ook een toenemend aantal zgn. 'occasionele *Nephrops*-trawlers' (vaartuigen die slechts enkele reizen per jaar naar de langoestinegronden maken, doorgaans gedurende de zomermaanden). Van deze vaartuigen is niet altijd bekend welke visserijmethode(n) zij gebruiken, en in hoeverre de aangevoerde langoestines het product zijn van een gerichte visserij, dan wel bijvangst van een visserij die in eerste instantie op andere soorten gericht is (bvb. rond- of platvis).

Eén en ander maakt dat het steeds moeilijker wordt om (a) een representatief beeld te krijgen van de samenstelling van de langoestine-aanvoer, en (b) vergelijkingen door te voeren tussen de vangsten per eenheid van visserij-inspanning (de LPUE's) voor de opeenvolgende jaren. De *Nephrops*-visserij is een specialistische visserij, die een grondige kennis van de visgronden vereist en een gedegen ervaring met het uitsorteren van de vangsten op zee. Het effect van deze 'fishermen's skills' op de opbrengsten van langoestinevaartuigen is een bekend fenomeen (hoewel het uiterst moeilijk is om de impact ervan op de bedrijfsresultaten van langoestinetrawlers precies te becijferen), en hoe meer 'nieuwkomers' een visserij telt, hoe sterker het relatieve gebrek aan 'fishermen's skills' op het cijfermateriaal (bvb. gemiddelde LPUE's voor de vloot in zijn geheel of zelfs voor bepaalde vlootsegmenten) gaat doorwegen.

Momenteel is het nog te vroeg om uitspraken te formuleren over de omvang van dit probleem, of over de mogelijke statistische technieken die hieraan kunnen verhelpen (bvb. een opsplitsing van de

gegevens per type vistuig of per vlootsegment). Van zodra de aanvoercijfers voor het jaar 2000 beschikbaar zijn (februari-maart 2001), zal een grondige analyse van het cijfermateriaal uitgevoerd worden (aangevuld met informatie over de toegepaste visserijmethoden, die via een gerichte enquête bij de vissers zal opgevraagd worden), en zal nagegaan worden (a) welke cijfers de bestaande – en tot nu toe zeer homogene – tijdreeks met LPUE-gegevens kunnen aanvullen, en (b) of wijzigingen aan het marktmonitoringsprogramma noodzakelijk zijn. Zowel de LPUE-data als de lengtemetingen op de aanvoer zijn cruciale elementen bij de beoordeling van de exploitatiegraad van een *Nephrops*-stock, en dus is het absoluut noodzakelijk dat alles in het werk wordt gesteld om de betrouwbaarheid van deze gegevens te garanderen.

Informatisering van bestaande datasets

In het voorjaar van 2000 werd een aanvang gemaakt met de omzetting van de 'oude' Lotus bestanden (met de aanvoer- en marktmonitoringsgegevens voor de jaren 1986-98) naar een Excel formaat. Tegelijk werden ook de gegevens voor 1999 geïnformatiseerd in het nieuwe formaat. Dit nieuwe formaat omvat meer 'quality checks' en moet, dankzij een betere uitwisselbaarheid met de overige Windows-software, bijdragen tot een snellere en vlottere verwerking van de data.

Op de laatste vergadering van de ICES *Nephrops Study Group* (Reykjavik, mei 2000) werd de wens uitgedrukt om de aanvoer- en marktmonitoringsgegevens (of op zijn minst een synthese daarvan) voor de Europese *Nephrops*-stocks in een centrale databank op te slaan (ICES, 2000). Een dergelijk systeem heeft het voordeel dat de leden van de *Nephrops Working* en *Study Group* makkelijker toegang kunnen krijgen tot de gegevens voor de diverse stocks bij de uitvoering van specifieke deelstudies (bvb. stock-rekruut-relaties - zie verder onder Project 2.2.).

Aan de uitbouw van een centrale databank zijn echter tal van technische en juridische aspecten verbonden (niet in het minst voor wat betreft de toegankelijkheid en de beveiliging van de opgeslagen informatie), die eerst moeten uitgeklaard worden, vooraleer het initiatief geconcretiseerd kan worden. Wellicht zal deze materie verder besproken worden op de eerstkomende vergadering van de ICES *Nephrops Working Group* in 2001.

Als tussenoplossing werd overeengekomen om de volledige inhoud van het laatste rapport van de ICES *Nephrops Working Group* (ICES, 1999), alsmede alle bestanden die gegenereerd werden als in- en output van de analytische populatiestudies (LCA's en VPA's), op Cd-rom te stockeren en te verspreiden onder de leden van de *Working Group*. Aan de voorzitter van de *Working Group* (Frank Redant) werd gevraagd om dit uiterlijk tegen het einde van dit jaar in orde te brengen.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Marktbemonsteringen	U	U	X	X
Analytische populatiestudies				X
Adviesronde ICES <i>Nephrops</i> Working Group				X

X = gepland

U = uitgevoerd

d. Referenties

ICES (1999): Report of the Working Group on *Nephrops* Stocks.

ICES, Advisory Committee on Fisheries Management, CM 1999/ACFM:13, 504 pp (mimeo).

ICES (2000): Report of the Study Group on Life Histories of *Nephrops*.

ICES, Living Marine Resources Committee, CM 2000/G.: (in druk).

Tabel 2.1.1. - Aandeel van verschillende typen vaartuigen in de *Nephrops*-gerichte visserij-inspanning en de *Nephrops*-aanvoer uit het Botney Gut - Silver Pit gebied, 1986-2000.

Jaar	Full-time <i>Nephrops</i> trawlers			Seizoenale <i>Nephrops</i> trawlers			Eurokotters		
	Aantal vaartuigen	% visuren	% aanvoer	Aantal vaartuigen	% visuren	% aanvoer	Aantal vaartuigen	% visuren	% aanvoer
1986	13	93.5	94.1	8	6.5	5.9	0	0.0	0.0
1987	12	98.1	98.6	2	1.9	1.4	0	0.0	0.0
1988	15	98.0	99.1	2	2.0	0.9	0	0.0	0.0
1989	17	94.7	94.2	3	5.3	5.8	0	0.0	0.0
1990	21	90.9	91.8	7	9.1	8.2	0	0.0	0.0
1991	21	86.7	86.7	8	13.3	13.3	0	0.0	0.0
1992	21	89.6	93.6	8	10.4	6.4	0	0.0	0.0
1993	17	98.0	99.3	2	2.0	0.7	0	0.0	0.0
1994	9	96.1	97.8	4	3.9	2.2	0	0.0	0.0
1995	9	97.6	98.0	2	2.4	2.0	0	0.0	0.0
1996	8	97.6	95.0	1	2.4	5.0	0	0.0	0.0
1997	8	87.1	82.3	3	8.5	11.5	2	4.4	6.2
1998	7	91.5	89.0	3	3.8	3.6	2	4.7	7.4
1999	6	76.7	75.6	2	8.8	7.4	5	14.5	17.0
2000 (*)	5 à 6	↘	↘	2 à 4	↗	↗	5 à 6	↗	↗

(*) Schatting van de vermoedelijke trends voor het jaar 2000 (op basis van voorlopige cijfers voor januari-juni)

Project 2.2. - Verfijning van de bemonsteringsprotocols en sensitiviteitsanalyse van de stockramingstechnieken voor langoestine (*Nephrops norvegicus*)

a. Projectverantwoordelijke: F. Redant

b. Wetenschappelijke achtergrond

Het beheer van de Europese *Nephrops*-visserijen gebeurt via een systeem van Totale Toegestane Vangsten (TAC's), die om de twee jaar vastgelegd worden op basis van de beheersadviezen uitgewerkt door de ICES *Working Group on Nephrops Stocks*.

Bij de beoordeling van de exploitatiegraden wordt gebruik gemaakt van zgn. analytische populatiemodellen, gebaseerd op de lengte- en/of leeftijdsverdeling van de vangsten. Deze verdelingen worden berekend uit de resultaten van markt-bemonsteringsprogramma's, al dan niet aangevuld met gegevens betreffende de lengteverdeling van de teruggooi (de zgn. 'discards') of met de resultaten van experimentele surveys. Behalve van deze lengte- en/of leeftijdsverdelingen, maken de populatiemodellen tevens gebruik van biologische inputparameters, waaronder groeiparameters, schattingen van de natuurlijke sterftegraden, de lengte of leeftijd waarbij de wijfjes-*Nephrops* hun seksuele maturiteit bereiken, enz.

Gezien de steeds strengere kwaliteitscriteria die bij de beoordeling van de beheersadviezen gehanteerd worden, en met het oog op de nakende invoering van zgn. Biologische Referentie Waarden (*Biological Reference Points* of BRP's) voor *Nephrops* (zie o.m. ICES, 1999), is er blijvend behoefte aan verfijning van de frequentieverdelingen, de inputparameters en de modellen die voor de schattingen van de visserijsterftegraden en de stockramingen gebruikt worden.

Project 2.2. speelt rechtstreeks in op deze behoefte (a) via de uitvoering van eigen, specifieke onderzoeken naar de invloed van de kwaliteit van lengte- en leeftijdsverdelingen op de uitkomsten van de analytische populatiestudies, en (b) via de deelname aan de deelstudies die in het kader van de ICES *Nephrops Working Group* en de ICES *Nephrops Study Group* ondernomen worden.

c. Vorderingsverslag

Stock-rekruut-relaties bij Nephrops

Op vraag van de ICES *Nephrops Study Group* werd een deelstudie uitgevoerd naar de meest waarschijnlijke vorm van de stock-rekruut-relatie (SRR) bij *Nephrops*. Dit onderzoek gebeurde in samenwerking met Dr. Mike Bell (CEFAS, Lowestoft).

De vraag naar de vorm van de SRR is niet zonder belang. SRR's spelen immers een cruciale rol in de vangstvoorspellingen, omdat de meeste prognosetechnieken gebruik maken van één of andere, vaak ingebouwde SRR om, op basis van de schattingen van het aantal rekruten, voorspellingen te maken van de potentiële vangsten op korte en middellange termijn. De impact van de SRR op de stockramingen en vangstprognoses is dan ook aanzienlijk, zoals reeds eerder door Dr. David Bennett (CEFAS, Lowestoft) werd aangetoond (onderzoek uitgevoerd op vraag van de ICES *Nephrops Study Group* en gerapporteerd in ICES, 1994). Ten tijde van deze studie evenwel, waren de beschikbare gegevens met betrekking tot stock-biomassa's en rekruut-omvang van de Europese *Nephrops*-stocks te schaars om toe te laten het verband tussen beide te achterhalen. De benadering van David Bennett was dan ook veeleer theoretisch, en de conclusies van het onderzoek bleven beperkt tot algemene – zij het belangwekkende – uitspraken over de impact van diverse typen SRR's op de stockramingen. De vraag naar de precieze vorm van de SRR bij *Nephrops* bleef echter onbeantwoord.

Sindsdien werden de tijdreeksen met gegevens over de omvang en de samenstelling van de meeste *Nephrops*-stocks (waaronder LPUE- en CPUE-data per geslacht en per lengteklasse) gevoelig uitgebreid, en werd, met redelijk succes, het gebruik van de VPA in het *Nephrops*-onderzoek geïntroduceerd. Dit alles leverde bijkomende indices en/of schattingen op van o.m. het aantal rekruten (R), de totale stock biomassa (TSB) en de biomassa van de paaistand (SSB) voor een aantal *Nephrops*-stocks. Vandaar de hernieuwde poging om de SRR te achterhalen.

De geëxploreerde pistes en de belangrijkste conclusies van deze deelstudie worden hieronder bondig samengevat. De integrale tekst (met bijhorende figuren) van de bewuste sectie uit het rapport van de *Nephrops Study Group* (ICES, 2000), is als bijlage aan het verslag toegevoegd (Bijlage1).

Geëxploreerde pistes:

- In eerste instantie werden de schattingen van R gerelateerd aan de SSB-schattingen voor de *Nephrops*-wijfjes (beiden gegenereerd door de VPA's die in 1999 door de *Nephrops Working Group* uitgevoerd werden). Daarbij werden diverse zgn. 'time-lags' gebruikt. R is immers niet gerelateerd aan de SSB in hetzelfde jaar, maar aan deze 2-6 jaar eerder, afhankelijk van de

groeisnelheid van de jonge langoestines en dus ook van de tijdspanne die nodig is om van larve tot een rekruteerbare lengte uit te groeien. Behalve voor de IJlandse *Nephrops*-stock leverde deze benadering geen conclusieve resultaten op.

- In een poging om (a) de indices van R en van de wijfjes-SSB te verfijnen, en (b) de onzekerheid over de betrouwbaarheid van de SSB-schattingen (te wijten aan de doorgaans gebrekkige performantie van de VPA voor de wijfjes) te elimineren, werd vervolgens het verband nagegaan tussen de CPUE's voor de langoestines in leeftijdsklasse '2' (als index van R) en de CPUE's voor *Nephrops*-wijfjes > 35 mm carapaxlengte (als index van de wijfjes-SSB). Voor drie stocks (Firth of Forth, Farn Deeps en Moray Firth) leverde dit significante, negatieve SRR's op. De vorm van deze curven suggereerde meteen ook het bestaan van dichtheidsafhankelijke, compenserende mechanismen in de rekrutering bij *Nephrops*.
- Het idee van deze compenserende mechanismen werd verder onderzocht door na te gaan of er een gelijkaardig verband is tussen R en de biomassa van mannetjes-*Nephrops*. A priori was er immers geen enkele reden om te veronderstellen dat de dichtheidsafhankelijke mechanismen geslachtsgebonden zouden zijn (lees: enkel te wijten aan de wijfjes), en dus leek het logisch om aan te nemen dat er ook tussen R en de mannetjes-SSB een negatief verband zou bestaan. Dit bleek echter geenszins het geval te zijn. Deze vaststelling roept uiteraard vragen op over de biologische mechanismen die aan de grondslag liggen van de dichtheidsafhankelijkheid in het rekruteringsproces. Waarom immers speelt de dichtheid van de wijfjes wél een negatieve rol op het aantal rekruten, en deze van de mannetjes niet? Voorlopig evenwel kunnen we hierover enkel speculeren.
- Tenslotte werden de hierboven berekende relaties tussen R en wijfjes-SSB 'gerescaled', zodat een vergelijking van de SRR's tussen de verschillende stocks onderling mogelijk werd.

Belangrijkste conclusies:

- Ook al leverde de nieuwe benadering veelbelovende resultaten op, toch blijven tal van vragen onbeantwoord.
- Voor sommige stocks (Firth of Forth, Farn Deeps, Moray Firth) suggereren de data dat het rekruteringsproces door dichtheidsafhankelijke mechanismen beïnvloed wordt. Voor één stock evenwel (IJland), blijkt de SRR strikt lineair te zijn, zonder de minste indicatie van dichtheidsafhankelijkheid, en voor een derde groep (Ierse Zee West, Clyde), werden geen significante SRR's gevonden. De redenen van deze verschillen zijn vooralsnog onduidelijk.
- Voor de stocks met indicaties van dichtheidsafhankelijke mechanismen, lijkt het erop alsof de mannelijke en de vrouwelijke populatiecomponent een totaal verschillende rol spelen in het proces. Ook hier tasten we in het duister over de mogelijke redenen van deze geslachtsgebonden verschillen. Verder onderzoek (o.m. naar de dichtheidsafhankelijkheid van het reproductief potentieel bij de wijfjes, de eventuele verschillen in het gedrag van volwassen

mannetjes en wijfjes ten aanzien van de pre-rekruten, en het belang van kannibalisme als compenserende factor) zijn noodzakelijk eer we definitieve conclusies kunnen formuleren over deze materie.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Simulatiestudies	X	X	X	
Sensitiviteitsanalyse stockramingen en vangstprognoses			X	X
Analyse stock-rekruut-relaties		N		

X = gepland

U = uitgevoerd

N = onderzoek niet voorzien in het oorspronkelijk programma, maar uitgevoerd op vraag van de ICES *Nephrops Study Group*

d. Referenties

ICES (1994): Report of the Study Group on Life Histories and Assessment Methods of *Nephrops* Stocks.

ICES, Shellfish Committee, CM 1994/K:9 (mimeo).

ICES (1999): Report of the Working Group on *Nephrops* Stocks.

ICES, Advisory Committee on Fisheries Management, CM 1999/ACFM:13, 504 pp (mimeo).

ICES (2000): Report of the Study Group on Life Histories of *Nephrops*.

ICES, Living Marine Resources Committee, CM 2000/G: (in druk).

Project 2.3. - Studie van de trends in predatiedruk op grijze garnaal (*Crangon crangon*)

a. Projectverantwoordelijke: F. Redant

b. Wetenschappelijke achtergrond

Uit studies over de evolutie van de Europese garnaalvisserijen (*Crangon crangon*), uitgevoerd in het kader van de ICES *Study Group on the Life History, Population Dynamics and Assessment of Crangon Stocks*, is gebleken dat de garnaalstocks in de Europese kustwateren, in tegenstelling tot het midden van de jaren '70, duidelijke symptomen van overexploitatie vertonen.

Over de achterliggende oorzaken van deze evolutie lopen de meningen echter uiteen. Diverse en vaak tegenstrijdige hypothesen werden naar voor gebracht, die allen geheel of gedeeltelijk de achteruitgang van de Europese garnaalvisserijen kunnen verklaren: een overmatige toename van de visserijdruk als gevolg van een onvoldoende gecontroleerde toename van het aantal vaartuigen dat de garnaalvisserij beoefent; een geleidelijke toename van de predatiedruk, waardoor de exploiteerbare biomassa van de garnaalstocks is afgenomen; geleidelijke veranderingen in het milieu (al dan niet als gevolg van menselijke activiteiten), waardoor het dragend vermogen van de kustwateren is verminderd, enz. Teneinde klaarheid te scheppen in deze problematiek, werd in 1994 door bovengenoemde *Study Group* een actieplan voorgesteld inzake de oriëntering van het garnaalonderzoek, en werd principieel overeen gekomen om de onderzoeken in de diverse landen en instellingen in internationaal verband te organiseren. De hoofdlijnen van dit actieplan omvatten:

- Onderzoek naar de historische trends in de dichtheid, de structuur en het reproductief potentieel van de diverse *Crangon*-populaties.
- Onderzoek naar de trends in predatie- en exploitatiedruk op de *Crangon*-stocks.
- Onderzoek naar de trends in de milieufactoren waarvan vermoed wordt dat ze direct (bvb. temperatuur, voedselaanbod, enz.) of indirect (bvb. eutrofiëring) de dynamiek van de *Crangon*-populaties beïnvloeden.
- De ontwikkeling van een geïntegreerd model voor de levenscyclus van *Crangon*, als grondslag voor de ontwikkeling van soort-specifieke stockramings- en beheersmodellen.

Gelet op zijn ruime ervaring met het onderzoek naar de predatie op *Crangon* door demersale vissoorten, werd overeengekomen dat de Werkgroep Biologie zich bij voorrang op dit luik van het actieplan zou toeleveren. Tevens werd door de *Study Group* de wenselijkheid benadrukt om het predatie-onderzoek met nieuwe gegevens aan te vullen, en zo een vergelijking van de huidige situatie met deze in het verleden mogelijk te maken.

c. Vorderingsverslag

Verwerking van de historische gegevens

De statistische analyse van de historische gegevens met betrekking tot de predatie door demersale vissoorten op garnaal werd voltooid, en de resultaten werden overgemaakt aan de ICES *Working Group on Crangon Stocks* voor integratie in het populatie-dynamisch model voor de garnaalstocks in de Europese kustwateren (ICES, 2000). Deze gegevens hadden betrekking op kabeljauw (*Gadus morhua*), wijting (*Merlangius merlangus*), steen- en dwergbolke (*Trisopterus spp.*), vijfdradige meun (*Ciliata mustela*), poon (*Trigla spp.*), slakdolf (*Liparis liparis*) en harnasmannetje (*Agonus cataphractus*), en werden aan de *Working Group* overgemaakt in de vorm van soort-specifieke datamatrices met de lengte van de predatoren in de X-as (in klassen van 1 of 5 cm, naargelang het aantal beschikbare gegevens), de lengte van de garnalen (enkel *Crangon*) in de Y-as (in klassen van 10 mm totale lengte), en het gemiddeld aantal garnalen (enkel *Crangon*) per maaginhoud in de Z-as.

Verzameling van materiaal voor nieuwe maaganalyses

Nieuw materiaal voor de geplande maaganalyses (periode 1996-2001) werd verzameld gedurende de Belgica-campagnes van november 1999 en februari-maart 2000. Aanvullend materiaal zal verzameld worden in het najaar 2000 en in het voorjaar 2001, ter gelegenheid van (a) de lopende monitoring-campagnes van het Departement Zeevisserij in de Belgische kustwateren, en (b) de specifieke proefreizen van de Afdeling Technisch Visserij-Onderzoek in het kader van het Project Elvis (elektrische visserij op *Crangon*).

Voor de verwerking van dit materiaal zal eens te meer contact opgenomen worden met de Vlaamse universiteiten, in de hoop dat het voor het academiejaar 2000-2001 wél zal lukken om een aantal thesisstudenten in deze onderzoeken in te schakelen.

Voor twee soorten (met name poon, *Trigla spp.*, en slakdolf, *Liparis liparis*) lijkt het weinig waarschijnlijk dat de vooropgestelde aantallen vissen (minstens 250 à 300 per soort) binnen de voorziene tijdsperiode (1999-2001) zullen kunnen verzameld worden. Voor *Trigla* is dit grotendeels te wijten aan het feit dat de Belgica-campagnes in de Belgische kustwateren ofwel net voor

ofwel net na de piekperiode in de abundantie van deze vissoort vallen. Voor *Liparis* is de reden veel simpeler, maar tegelijk ook onrustwekkend: deze vissoort lijkt immers quasi-volledig verdwenen te zijn uit de Belgische kustwateren. Kwam *Liparis* pakweg 20 jaar geleden nog zeer regelmatig voor in de bijvangsten van garnaalvissers, dan wordt deze soort nu nog nauwelijks en onveranderlijk in zeer kleine aantallen (hooguit 2 of 3 per sleep) in de vangsten aangetroffen.

Tentatief tijdsschema voor het verzamelen van materiaal ten behoeve van de maaganalyses						
	99-1	99-2	00-1	00-2	01-1	01-2
Kabeljauw	U	U	U	X	(X)	(X)
Wijting	U	U	U	(X)		
Dwerg- en steenbolk	U	U	U	(X)		
Vijfdradige meun	U	U	U	X	(X)	(X)
Rode en grauwe poon	U	U	U	X	(X)	(X)
Slakdolf	U	U	U	X	(X)	(X)
Harnasmannetje					(X)	(X)
Schar			(X)	(X)	(X)	(X)

X = gepland

U = uitgevoerd

d. Referenties

ICES (2000): Report of the Working Group on Life Histories and Assessment of *Crangon* Stocks. ICES, Living Marine Resources Committee, CM 2000/G.: (in druk).

Project 2.4. - Inleidend onderzoek naar de mogelijke oorzaken van de recente crisis in de garnaalvisserij (*Crangon crangon*)

a. Projectverantwoordelijke: F. Redant

b. Wetenschappelijke achtergrond

1998 was een crisisjaar voor de Belgische garnaalvisserij. Hoewel de visserij-inspanning lichtjes steeg t.o.v. 1997, viel de aanvoer van garnaal (*Crangon crangon*) in de Belgische havens terug op bijna de helft: van 345 ton in 1997 tot nauwelijks 190 ton in 1998, het laagste cijfer dat ooit geregistreerd werd (ICES, 2000).

In de lokale vakpers werd een ‘beschuldigende vinger’ uitgestoken naar o.m. de baggerwerken in de Westerschelde en de Nederlandse Eurokottervloot, maar een sluitende verklaring voor de gebeurtenissen ontbrak. Het was uiteraard niet uit te sluiten dat het hier ging om een toevallige samenloop van ongunstige omstandigheden, en dat de visserij zich in 1999 zou herstellen. De nagenoeg onvoorspelbare opeenvolging van ‘goede’ en ‘slechte’ jaren is een bekend gegeven in de garnaalvisserij, en ook in het verleden zijn er jaren geweest waarin de visserij veel slechter scoorde dan in de jaren ervoor en erna (ICES, 2000). Nog nooit evenwel, is de toestand zo ernstig geweest als in 1998, en dit heeft een ware schokgolf veroorzaakt in de sector.

De multitude aan factoren die een invloed hebben op het reproductief succes en op de dichtheid van garnaalstocks (en dus ook op de exploitierbare biomassa) maakt dat er wellicht geen eenvoudige en eenduidige verklaring is voor dergelijke crisissituaties. De bezorgdheid van de sector is echter terecht, en daarom wilde de Werkgroep Biologie een poging ondernemen om een antwoord te geven op de vraag naar het ‘waarom’ van de recente gebeurtenissen.

c. Vorderingsverslag

Het Departement Zeevisserij heeft zich steeds zeer gematigd opgesteld in de discussie over het waarom van de crisis in 1998, en deze houding is terecht gebleken. In 1999 heeft de Belgische garnaalvisserij zich immers op spectaculaire wijze hersteld. In september 1999 werd, op één maand tijd, in de Belgische havens evenveel garnaal aangevoerd als gedurende het ganse jaar 1998, en op

jaarbasis bedroeg de aanvoer 590 t – het driedubbele van wat in 1998 werd aangeland (Figuur 2.4.1. - linksboven). De rendementen gedurende de topmaanden (0.140 en 0.150 kg/pk-uur voor resp. augustus en september 1999) behoorden tot de hoogste die sinds 1982 genoteerd werden (Figuur 2.4.2. - onder), en ook het jaargemiddelde (0.090 kg/kp-uur) lag duidelijk boven het gemiddelde voor de laatste 10 jaar (Figuur 2.4.1. - rechtsonder). Deze cijfers tonen ten overvloede aan dat de 'crisis' van 1998 een eenmalig gegeven was, en niet (zoals door sommigen beweerd werd) de voorbode van de definitieve ineenstorting van de Belgische garnaalvisserij.

Blijft de vraag waarom de 'crisis' van 1998 als dermate acuut door de sector ervaren werd. De verklaring hiervoor vinden we terug in de resultaten van de bio-economische studie die in het kader van het ECODISC-project op de Europese garnaalvisserijen werd uitgevoerd (REVILL *et al.*, 1999). Uit deze studie (gebaseerd op de bedrijfsresultaten voor de jaren 1987-96) is gebleken dat een *blijvende* rendementsdaling van 15 à 20 % op termijn zou leiden tot een 'implosie' van de Belgische garnaalvisserij (REVILL *et al.*, 1999, sectie 7.). In 1998 bedroeg de rendementsdaling echter bijna 50 %, en hoewel hierover weinig twijfelloze gegevens bestaan, mag men ervan uitgaan dat dit inkomstenverlies veel garnaalvaartuigen op de rand (of tijdelijk zelfs over de rand) van de economische leefbaarheid heeft gebracht.

Ook al kunnen we de 'crisis' van 1998 nu omschrijven als een voorbijgaand fenomeen, toch blijft de algemene toestand van de Belgische garnaalvisserij zorgwekkend. Sinds het midden van de jaren '70 vertonen de LPUE's een dalende trend (Figuur 2.4.1. - rechtsonder). Men zou, op basis van de data in deze grafiek, eventueel kunnen aanvoeren dat de LPUE's de voorbij jaren niet verder gedaald zijn, maar dat ze zich gestabiliseerd hebben rond een gemiddelde van ca. 0.075 kg/pk-uur. Of de daling nog verder gaat of niet is hier echter minder relevant. Feit is dat de gemiddelde LPUE's het voorbije decennium gemiddeld veel lager waren dan in de periode 1973-82 (0.075 tegenover 0.125 kg/pk-uur).

Dit brengt ons terug naar het échte probleem van de Belgische garnaalvisserij, nl. de terugval van het vangstpotentieel, en de vraag naar de mogelijke oorzaken daarvan. Een eerste analyse van de beschikbare gegevens inzake predatie- en visserijdruk (REDANT, niet gepubliceerde gegevens) en de belasting door zware metalen en organische polluenten (gegevens van het Departement Zeevisserij), suggereert dat de verklaring elders moet gezocht worden. Geen van deze potentiële actoren lijkt immers lange-termijn trends te vertonen die de dalende trend in de garnaal-LPUE's kunnen verklaren. Noch de predatiedruk, noch de visserijdruk zijn de voorbije 25 jaar toegenomen. Hetzelfde geldt voor de directe en de indirecte belasting door de meeste polluenten (al dient hierbij opgemerkt dat de tijdreeksen voor de meeste polluenten niet voldoende ver in de tijd teruggaan om hun potentiële rol als negatieve actor definitief te kunnen uitsluiten).

Een mogelijke verklaring voor de terugloop van het vangstpotentieel zou kunnen liggen in de reductie van het areaal dat als kweekgebied voor *Crangon* in aanmerking komt, met name de slikken, schorren en kwelders in de Westerschelde en langs de Belgische kust. Slikken en schorren spelen een cruciale rol in de levenscyclus van *Crangon*, als 'kinderkamer' voor de juveniele stadia, die er beschutting en voedsel vinden, en die er opgroeien tot pre-rekruten (zie o.m. CATRYSSSE, 1994). De voorbije decennia echter, is het areaal aan slikken en schorren in de Westerschelde gevoelig in oppervlakte verminderd (in hoofdzaak als gevolg van menselijke ingrepen) (MEIRE, pers. mededeling). Het oorzakelijk verband 'reductie kweekgebieden → reductie volwassen stock → reductie vangstpotentieel' is dan ook een logische werkhypothese. Deze piste wordt momenteel verder onderzocht.

Werkschema 1999-2001				
	99-2	00-1	00-2	01-1
Bevraging beroepssector	G			
Inventarisering potentiële actoren		U	(X)	
Opsporing/informatisering tijdreeksen potentiële actoren		U	X	X
Informatisering tijdreeksen garnaaldichtheden		X	X	
Trendanalyse en analyse causale verbanden			(X)	X

X = gepland

U = uitgevoerd

G = geschrapt wegens niet langer relevant

d. Referenties

CATRYSSSE, A. (1994): Schorkreken in het brakke deel van het Westerschelde estuarium als habitat voor vissen en macrocrustacea.

Doctoraatsthesis RUG, academiejaar 1993-94.

ICES (2000): Report of the Working Group on Life Histories and Assessment of *Crangon* Stocks. ICES, Living Marine Resources Committee, CM 2000/G:.. (in druk).

REVIL, A., PASCOE, S., RADCLIFFE, C., RIEMANN, S., REDANT, F., POLET, H., DAMM, U., NEUDECKER, T., KRISTENSEN, P.S. en JENSEN, D. (1999): The economic and biological consequences of discarding in the European *Crangon* fisheries - The ECODISC Project. Final Report, EU DG XIV, Financially Assisted Project No 97/SE/025.

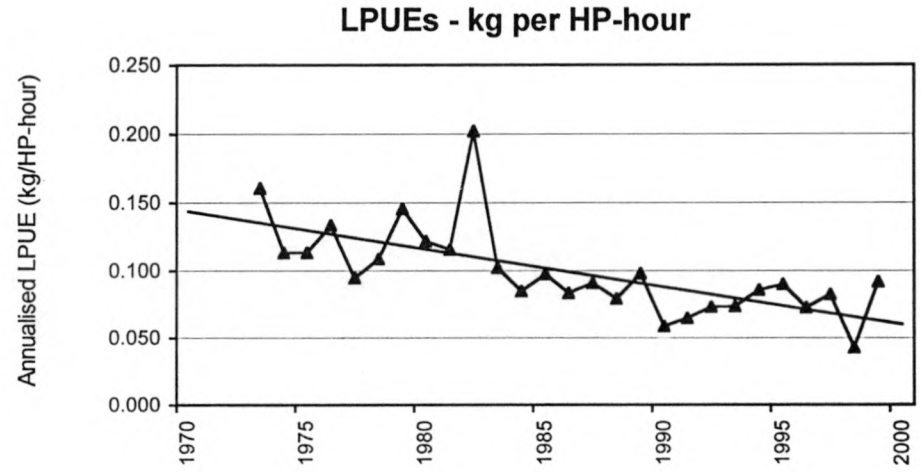
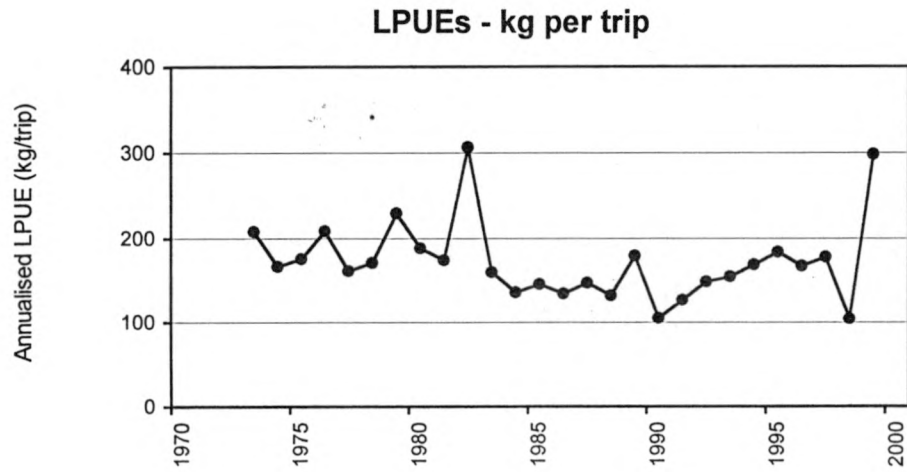
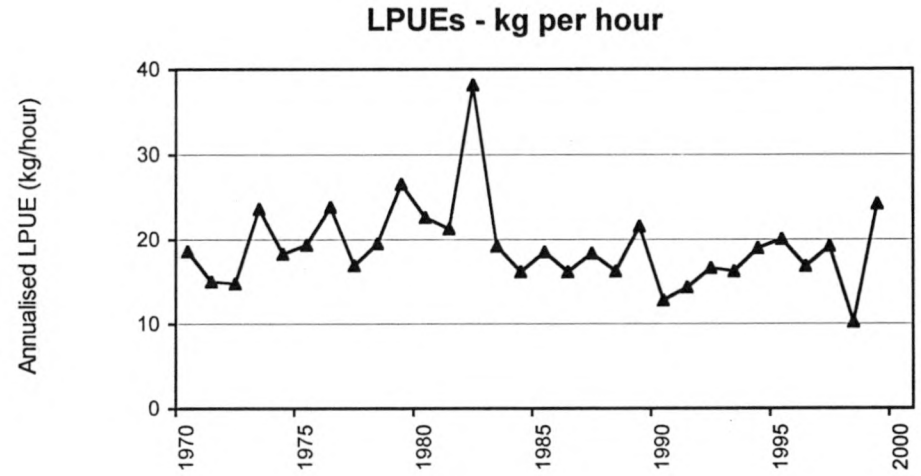
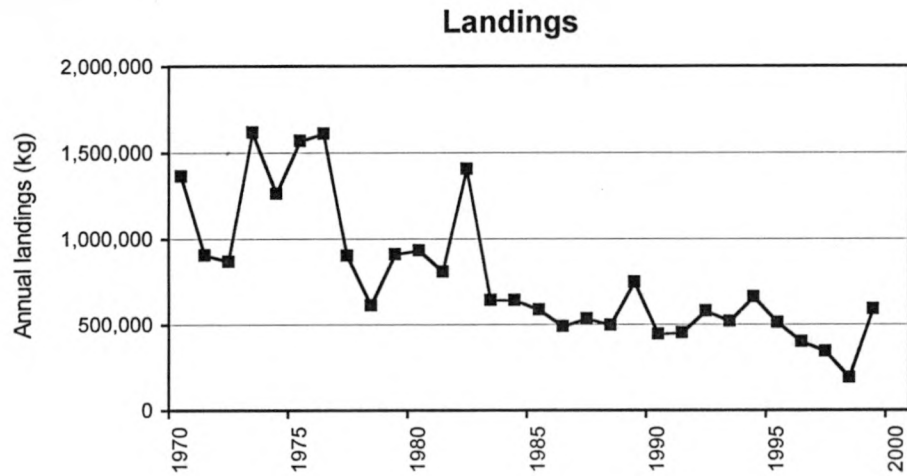


Figure 2.4.1. - Long-term trends in the Belgian *Crangon* fisheries: yearly fish stats since 1970.
 Note: all data refer to landings by Belgian vessels in Belgian ports only.

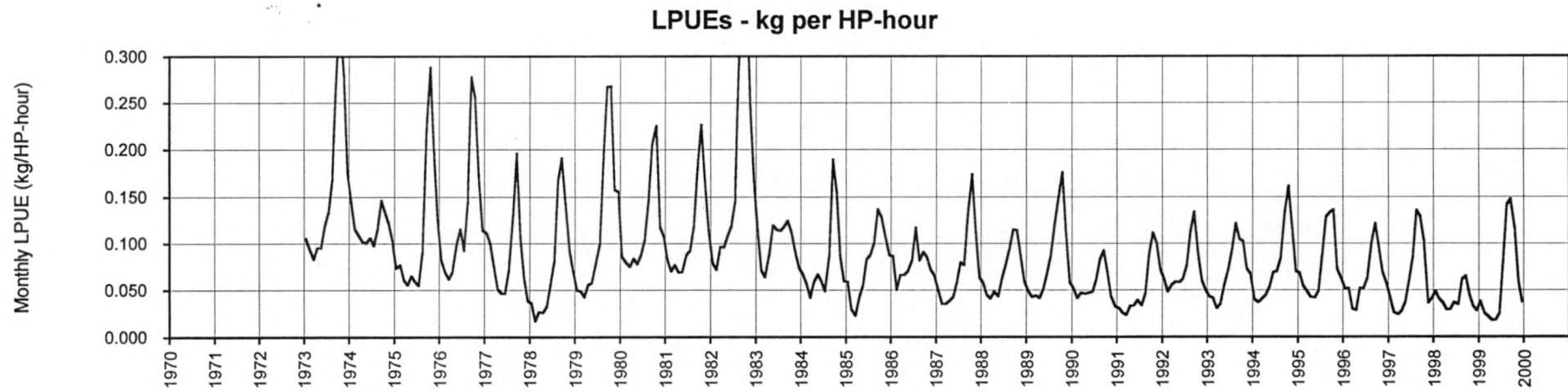
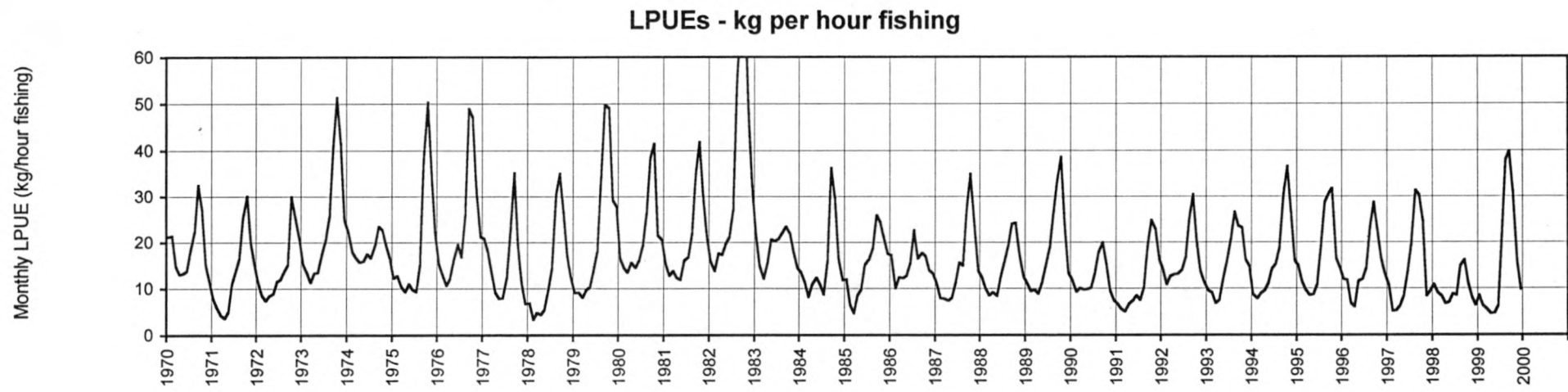


Figure 2.4.2. - Long-term trends in the Belgian *Crangon* fisheries: monthly fish stats since 1970.
 Note: all data refer to landings by Belgian vessels in Belgian ports only.

Overige activiteiten, aansluitend op het contractueel onderzoek

a. Vergadering van het ICES Advisory Committee on the Marine Environment

In februari 2000 nam Frank Redant deel aan een bijzondere vergadering van het ICES *Advisory Committee on the Marine Environment* (ACME). Gedurende deze vergadering werden het zgn. Lindeboom-rapport (over de impact van de borden- en de boomkorrenvisserij op de ecosystemen van de Noordzee en de Ierse Zee) (LINDEBOOM en DE GROOT, 1998) en het rapport van de ICES *Working Group on Ecosystem Effects of Fishing Activities* (ICES, 2000a) besproken, en werden aanbevelingen geformuleerd om de impact van visserijen met bodemsleepnetten op het mariene ecosysteem te verminderen. Deze vergadering was van cruciaal belang voor de Belgische visserijsector, omdat verwacht mocht worden dat zij richtinggevend zou zijn voor de toekomst van de visserijen met bodemsleepnetten in de Noordzee en de Ierse Zee, en dus meteen ook voor de verdere ontwikkeling van het biologisch en technisch onderzoek op deze visserijen.

De effecten van gesleepte vistuigen op het mariene milieu werden recentelijk bestudeerd in het kader van drie Europese projecten, waaraan ook het Departement Zeevisserij (met name de Afdeling Technisch Visserij-Onderzoek) zijn medewerking verleende, te weten:

- Environmental Impact of Bottom Gears on Benthic Fauna in Relation to Natural Resources Management and Protection of the North Sea (Contract FAR MA 2-549);
- IMPACT II - The Effects of Different Types of Fisheries on the North Sea and Irish Sea Benthic Ecosystems (Contract AIR2 - CT 94-1664); en
- Trawl Penetration in the Seabed (Study 96-006).

Deze studies vonden plaats in de periode 1992-99. De onderzocht effecten hadden betrekking op zowel het mariene milieu in het algemeen (fysische en morfologische karakteristieken van de zeebodem, schade toegebracht aan structurele biota, habitat-complexiteit, enz.), als op individuele soorten en functionele soortengroepen (verspreiding, abundantie en fragmentatie van populaties, relatieve soortensamenstelling van levensgemeenschappen, enz.).

Op verzoek van de Europese Commissie werd het IMPACT II rapport (ook wel Lindeboom-rapport genoemd - LINDEBOOM en DE GROOT, 1998) 'gescreend' door de ICES *Working*

Group on Ecosystem Effects of Fishing Activities (ICES, 2000a), en vervolgens ter beoordeling voorgelegd aan ACME. Tevens werd beheersadvies gevraagd, met het doel "*de effecten van bodemsleepnetten op het mariene ecosysteem meetbaar te verminderen, zonder evenwel de vangstmogelijkheden van commercieel belangrijke soorten in het gedrang te brengen*".

De algemene conclusie van ACME was dat de effecten van bodemvistuigen op habitat en biota, zowel qua intensiteit als qua duur, sterk variëren naargelang het type habitat waarin de visserij-activiteiten plaatsvinden (ICES, 2000b). In zgn. hoog-dynamische habitats (die het merendeel van de Noordzee en de Ierse Zee uitmaken, en waar de belangrijkste bodemvisserijen geconcentreerd zijn) zijn de effecten relatief beperkt en verloopt het herstel sneller dan in laag-dynamische habitats. Het meest kwetsbaar zijn o.m. koraalriffen, *Sabellaria*-bedden, wilde oesterbanken en zeegrasvelden, maar deze kwamen/komen in de Noordzee en de Ierse Zee slechts op een beperkt aantal plaatsen voor. Bovendien kan niet met 100 % zekerheid gesteld worden dat hun gehele of partiële verdwijning enkel en alleen te wijten is aan de visserij (ook klimaatsveranderingen en pollutie hebben daarin ontegensprekelijk een rol gespeeld) (ICES, 2000a).

Op lange termijn ziet ACME diverse mogelijkheden om de effecten van bodemvisserijen significant te reduceren, te weten (ICES, 2000b):

- een algemene reductie van de visserij-inspanning met minstens 20 %;
- gesloten gebieden (op voorwaarde dat sluiting niet leidt tot een ongeremde toename van de visserij-inspanning in de gebieden die open blijven);
- een overschakeling naar visserijtechnieken met een geringere milieu-impact;
- verbeteringen aan bestaande vistuigen, teneinde hun impact op de zeebodem en de mariene biota tot aanvaardbare proporties te herleiden; en
- habitat-rehabilitatie (het kunstmatig herstel van habitats in hun oorspronkelijke vorm).

Op korte termijn stelt ACME voor om (ICES, 2000b):

- het gebruik van de verschillende typen bodemvistuig te beperken tot de zones waar ze momenteel in gebruik zijn;
- de expansie van de demersale vloten te bevrozen; en
- het visserijbeleid fijner af te stemmen op de lange-termijn doelstellingen van internationale conventies en milieustrategieën zoals OSPAR Annex V en Natura 2000.

Interessant om weten is, dat de door ACME voorgestelde reductie van de visserij-inspanning ven dezelfde grootte-orde is als de reductie die door het ICES *Advisory Committee on*

Fisheries Management (ACFM) wordt voorgesteld als beheersmaatregel voor het merendeel van de commerciële visstocks in de Noordzee en de Ierse Zee.

Het Departement Zeevisserij voert reeds enkele jaren onderzoek uit naar de mogelijkheden om de impact van boomkorrenvistuig op de benthische fauna te reduceren door middel van technische aanpassingen. Bovendien onderzoekt het Departement het potentieel van andere visserijen (bvb. inktvisvisserij in de Noordzee en het Kanaal, langoestinevisserij in het Fladengebied) en visserijtechnieken (bvb. tweelingnetten, soortselectieve elektrische visserij), als alternatief voor de klassieke boomkorrenvisserijen.

Referenties

ICES (2000a): Report of the Working Group on Ecosystem Effects of Fishing Activities.
ICES, Advisory Committee on the Marine Environment, CM 2000/ACME:2, 95 pp (mimeo).

ICES (2000b): Report of the ICES Advisory Committee on the Marine Environment.
ICES, Cooperative Research Report (in druk).

LINDEBOOM, H.J. en DE GROOT, S.J. (Eds.) (1998): IMPACT II - The effects of different types of fisheries on the North Sea and Irish Sea benthic ecosystem.
NIOZ Rapport 1998-1 - RIVO-DLO Rapport C003/98, 404 pp.

b. Ontwikkeling van de DvZ-website

In het voorjaar van 2000 werd meegewerkt aan de ontwikkeling van de nieuwe website van het Departement Zeevisserij (DvZ). De website omvat in totaal een 25-tal pagina's met o.m.:

- algemene informatie over de opdracht en het profiel van het DvZ;
- praktische informatie over hoe het DvZ te bereiken;
- een overzicht van de diverse onderzoeksdomeinen (biologie en stock-assessments, aquacultuur, biologische en chemische monitoring, pathologie, visserijtechniek, ecologische impact van vistuig, kwaliteit en authenticiteit van visserijproducten);
- een lijst met de stafleden van het DvZ, met telkens een kort CV;
- een overzicht van de publicaties van de DvZ-medewerkers sinds 1990, met korte samenvattingen (voor zover beschikbaar);

- links naar de websites van internationale organisaties en beheersorganen; nationale en internationale datacentra; binnen- en buitenlandse geologische, hydrologische, meteorologische, marien biologische en visserij-instituten;
- links naar websites met sleuteldocumenten over het Europees visserijbeleid, internationale conventies en beheersplannen met betrekking tot het (mariene) milieu en de exploitatie van levende en niet-levende natuurlijke rijkdommen, enz.;
- links naar online consulteerbare wetenschappelijke tijdschriften; en
- informatie over de laatste nieuwigheden op de website, persberichten, enz.

De bijdrage van Frank Redant in het totstandkomen van deze website situeerde zich op volgende vlakken:

- het schrijven van de algemene teksten over het DvZ en van de teksten die betrekking hebben op de onderzoeksactiviteiten van de Werkgroep Biologie;
- de eindredactie van de website (Engelstalige versie);
- het verzamelen van de informatie voor de links-pagina's (in samenwerking met de webmaster, Hans Hillewaert, medewerker van de Afdeling Monitoring en informatica-deskundige van het DvZ); en
- de grafische vormgeving van de pagina's over de diverse onderzoeksdomeinen en van de links-pagina's (eveneens in samenwerking met de webmaster).

De website van het DvZ kan bezocht worden op volgend adres: www.dvz.yucom.be/. Sinds de website 'online' is (begin juni 2000), kreeg hij reeds een 500-tal bezoekers, waarvan 51 % uit België, 8 % van internationale en non-profit organisaties, en 41 % uit andere, in hoofdzaak Europese en Noord-Amerikaanse landen.

c. ICES Annual Science Conference

Sinds medio 2000 zijn de medewerkers van de Werkgroep Biologie, samen met hun collega's uit de andere afdelingen van het DvZ, ingeschakeld bij de voorbereiding van de *ICES Annual Science Conference*, die doorgaat van 28 september t.e.m. 4 oktober 2000 te Brugge. Deze werkzaamheden omvatten de logistieke ondersteuning van de eigenlijke conferentie, alsook de voorbereiding van de nevenactiviteiten.

Publicaties

DECLERCK, D. (1999): The occurrence of liver tumours in flatfish in the south-western North Sea.

BEQUALM Liver Histopathological Workshop, 21-23 October 1999, Weymouth, UK.

DECLERCK, D. (2000) : National report for Belgium. Diseases in wild populations of marine organisms (1999).

Progress report submitted to the Working Group on Pathology and Diseases of Marine Organisms, March 2000, Bremen, Germany.

POLET, H. en REDANT, F. (1999): Effect of population structure, sampling strategy and sample size on the estimates of selection parameters for shrimp (*Crangon crangon*) trawls. Fisheries Research, 40, 213-225.

VYNCKE, W. en DECLERCK, D. (1999). Aspecten van de kwaliteitsbepaling van gerookte vis.

Mededelingen van het Departement Zeevisserij (CLO.) Publicatie nr. 254-D/1999/0889/5

Rapporten van Werk- en Studiegroepen

BEQUALM (1999) : Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programmes.

Report of the First Workshop (21-23 October 1999): External Fish Diseases and Liver Histopathology.

ICES (1999): Report of the ICES Advisory Committee on Fisheries Management.

ICES, Cooperative Research Report, .

ICES (1999): Report of the Working Group on *Nephrops* Stocks.

ICES, Advisory Committee on Fisheries Management, CM 1999/ACFM:13, 504 pp (mimeo).

ICES (1999): Report of the Study Group on Life Histories of *Nephrops*.

ICES, Living Marine Resources Committee, CM 1999/G:13 (mimeo).

ICES (2000): Report of the ICES Advisory Committee on the Marine Environment.
ICES, Cooperative Research Report (in druk).

ICES (2000) : Report of the Working Group on Pathology and Diseases of Marine Fish Stocks.
ICES, Mariculture Committee, CM 2000/F:.. (in druk).

ICES (2000): Report of the Study Group on Life Histories of *Nephrops*.
ICES, Living Marine Resources Committee, CM 2000/G:. (in druk).

ICES (2000): Report of the Working Group on Life Histories and Assessment of *Crangon* Stocks.
ICES, Living Marine Resources Committee, CM 2000/G:. (in druk).

Proefschriften uitgevoerd onder leiding van D. Declerck

KINDT, S. (2000): Oriënterend onderzoek naar de mogelijkheid van aquacultuur van de mossel in het Belgisch Continentaal Plat.
Eindwerk KHBO, Brugge (onder leiding van D. Declerck)

Bijlage 1

Uittreksel uit:

Report of the ICES *Nephrops* Study Group, 2000

6. Likely shape of the Stock-Recruitment Relationship (SRR) in *Nephrops*

6.1. Earlier approaches taken by the Study Group

In 1994, the Study Group examined the biological clues which could provide some guidance on the most likely shape of the SRR in *Nephrops*. At the time, the data series of female spawning stock biomass (SSB) and recruitment (R) estimates (as provided by the VPA) were generally too short to allow an in-depth empirical approach, and hence the issue was tackled in a largely assumptive and speculative way (ICES, 1994).

Elements taken into account in the discussion included:

- The fact that *Nephrops* is associated with particular sediments, which physically constrains the expansion of *Nephrops* populations to areas where these sediments prevail.
- The likely dependence of newly settled pre-recruits on the presence of burrows inhabited by larger *Nephrops* in the first months/years of their life.
- The pronounced territorial behaviour of *Nephrops* – especially of the larger animals – which constrains the number of inhabitants per unit of seabed surface.
- The possible density-dependence of predation and cannibalism, which may provoke relatively higher levels of predation mortality (particularly amongst the smaller size classes) at higher stock densities of *Nephrops*.
- The possibility that density-dependent slower growth might increase mortality of the pre-recruits, by maintaining *Nephrops* at smaller sizes which may be more vulnerable to predation.

Except for the second, all these elements suggest the existence of compensatory mechanisms. Therefore, the 1994 Study Group concluded that “one might expect the SRR to be asymptotic, showing compensation at higher biomass levels” (ICES, 1994). Again however, it should be stressed that the approach taken by the Study Group was largely assumptive, and that, at the time, the available evidence was insufficient to eliminate any of the Stock-Recruitment curves (SR-curves) showing even stronger levels of compensation than the asymptotic one (such as curves C and D in Figure 6.1.).

At its 1994 meeting, the Study Group also examined the effect of different SR-curves on the outcome of the Y/R predictions by Length Cohort Analysis (LCA) – till then the method used most widely to assess the state of exploitation of *Nephrops* stocks. The conclusion was that the choice of the SRR does make a critical difference. In the example given (Irish Sea West – ICES, 1994, Figure 3.6.5.), an apparently optimally exploited stock (under the assumption of constant recruitment, which is part of the *status quo* conditions of LCA) turned into either an under-exploited or a heavily over-exploited stock, depending on whether a SRR was used with or without compensation at higher biomass levels.

Since 1994, new information has been collected on the recruitment processes in *Nephrops*, most importantly on the processes governing the dispersion of larvae. Studies

in the Irish Sea (BROWN *et al.*, 1995) have shown that tidal gyres confine the dispersion of the *Nephrops* larvae to an area roughly corresponding to that of the parent stock, and that settlement primarily occurs in the area inhabited by the parent stock. Although these processes have not (or not yet) been investigated in other areas, from a management point of view it seems prudent to assume that they generally apply to all *Nephrops* populations, and not to count upon an influx of larvae from neighbouring stocks for replenishing stocks that suffer from over-exploitation.

6.2. Empirical analysis of SSB and R data

At its present meeting, the Study Group examined several data sets, in an attempt to find numerical and corroborative evidence for any of the possible SRRs. The data sets used were derived from the existing time series of fishery dependent data (particularly CPUEs of selected size groups) and from the VPAs performed at last year's Working Group meeting (ICES, 1999). From the very beginning however, it was agreed to restrict the analyses to those Functional Units for which actual discard data (i.e. length frequency distributions (LFDs) obtained through regular sampling of the discards) were available. For several stocks (e.g. Botney Gut - Silver Pit, Celtic Sea, Bay of Biscay) the discard LFDs are estimated by extrapolating the discard pattern in one or two particular years to the next and/or previous years in the time series. This technique bears the risk of under-representing the natural variability in the numbers-at-length of the smallest size classes, and hence of giving unrealistically stable estimates of annual recruitment.

The first approach taken was that of plotting the XSA-estimates of R against the XSA-estimates of male (for Iceland) or female SSB (for the other stocks), with time lags of 6 years for the Icelandic stock (because of their long egg-bearing stage and their slow growth rate), and of 2 and 3 years for the others. Except for Iceland and – to a lesser extent – for the Clyde and for SW and S Portugal (where the plots showed a positive relationship between R and female SSB), this approach failed to give conclusive evidence on the shape of the SRR (Figure 6.3.). There are two main reasons for this. First, the XSA-estimates of stock biomass (either total or spawning) and R for females are usually much less reliable than those for males, the consequence being that possible patterns in the data are likely to be clouded by the XSA-related uncertainty in the plotted data. Second, for most stocks the range of estimated female SSB-values is very narrow (probably narrower than in reality, owing to mismatch between year-classes and nominal age-classes from sliced length distributions), and values at the lower end of the scale are usually missing. This results in the R-values clustering over a narrow range of values on the SSB-axis, making it difficult to distinguish particular patterns in the data.

In an attempt to refine the indices of R and female SSB, and to skirt the problem of XSA-related computational uncertainty, plots were then made of the CPUEs of males and females at 'nominal age' 2 (which can be seen as an index of R) against the CPUEs of females > 35 mm CL in the period of maximum emergence from the burrows (which can be seen as an index of female SSB). The time lag used was 2 years for the fastest growing stocks (Clyde, SW and S Portugal) and 3 years for the others (Firth of Forth, Farn Deeps, Moray Firth, and Irish Sea West) (Figure 6.2.). For some stocks (Clyde, Irish Sea West, and SW and S Portugal) either the range of SSB-values was too narrow

or the degree of scattering in the data too high to produce conclusive plots, but for three stocks (Firth of Forth, Farn Deeps and Moray Firth) the plots showed a clear negative relationship between R and female SSB (Figure 6.4.). The shape of the plots suggests the existence of compensatory mechanisms at higher female stock biomasses, and a SR-curve similar to type D in Figure 6.1.

The idea of density-dependence in the SRR was further explored by plotting the CPUEs of males and females at 'nominal age' 2 against the CPUEs of males > 35 mm CL (averaged over the duration of the pre-recruit phase). Since males – and particularly adult males – are even more territorial, belligerent and cannibalistic than females (McQUAID, pers. comm.), it could be assumed that the adult male component of the population too might have a compensatory impact on recruitment, and this for the whole duration of the pre-recruit phase (whence the averaging of the male CPUE-figures). None of these plots, however, showed evidence of such a density-dependent effect (Figure 6.5.).

The difference between the male and the female component in the compensatory effects of stock densities is somewhat puzzling. Unless the compensatory mechanisms are strictly connected to the (female) reproduction process itself, there is no *a priori* reason why male and female densities would affect recruitment in a different way or, even stronger, why adult female stock densities would and male densities would not affect recruitment. Yet, this seems to be the case, at least in a number of stocks. Several hypotheses could be advanced to explain these differences, but they all need further investigation before anything definite can be said on the issue.

As a final step in the analyses performed by the Study Group, the curves in Figure 6.5. were re-scaled (to total female SSB in the X-axis and total number of recruits in the Y-axis), and the corresponding type D (Shepherd) SR-curves were calculated (Figure 6.6.). In this procedure, the a-values (slope at the origin) were chosen such that all data-points were to the right of the line $R = a * SSB$.

With a SRR of the type found for the Firth of Forth or the Farn Deeps, one would expect stock biomass and recruitment to show cyclic fluctuations. As SSB increases, R would decrease, which, in time, would result in a decline in SSB. In turn, this would be followed by R going up again, which, in time, would result in an increase in SSB. The time series data presented in Section 3. show clear evidence of such multi-annual cyclic fluctuations in stock biomass (as reflected by the fluctuations in CPUE and/or LPUE). It is tempting to see this as corroborative evidence for the SRR that are presented here, but it should be borne in mind that the two data-sets (i.e. the data-set of CPUE or LPUE values used in the time series analysis, and the data-set of CPUE values for selected size groups used in the SRR analysis) are not independent.

6.3. Conclusions

The new approach taken by the Study Group yielded promising results, but nevertheless many questions remain unanswered.

For some stocks (Firth of Forth, Farn Deeps and Moray Firth) the data suggest a density-dependent SRR, but for others (Iceland) the SRR appears to be strictly linear, without even the slightest hint of compensatory effects at high biomass levels. And a third group (Irish Sea West, Clyde) shows no SRR at all. As for now, however, the reasons for these differences are unclear.

For the stocks where the data do show evidence of compensatory effects, it looks as if the male and female population components play a completely different part in generating these effects. Here too, the possible underlying biological mechanisms are unclear, and further in-depth investigations are required (including studies on the density-dependence of the female reproductive potential, the differences in behaviour between males and females, and the importance of cannibalism) before definite conclusions can be drawn.

References

BROWN, J., HILL, A.E., FERNAND, L., BENNETT, D.B. and NICHOLS, J.H. (1995): A physical retention mechanism for *Nephrops norvegicus* larvae. ICES, Doc. Shellfish Comm., CM 1995/K:31 (mimeo).

ICES (1994): Report of the Study Group on Life Histories and Assessment Methods of *Nephrops* Stocks. ICES, Doc. Shellfish Comm., CM 1994/K:9 (mimeo).

ICES (1999): Report of the Working Group on *Nephrops* Stocks. ICES, Report to the Advisory Committee on Fishery Management, CM 1999/ACFM:13 (mimeo).

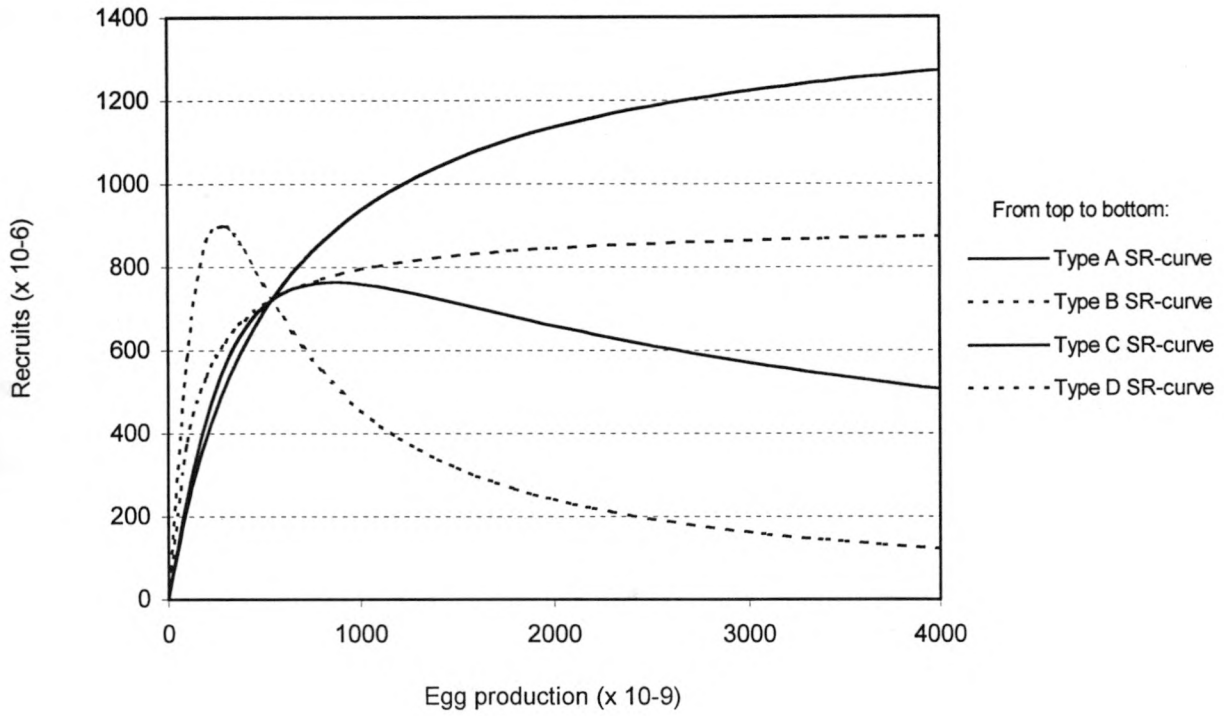


Figure 6.1. - Theoretical Stock-Recruitment curves for *Nephrops*, as examined in the 1994 report of the *Nephrops* Study Group (ICES, 1994).

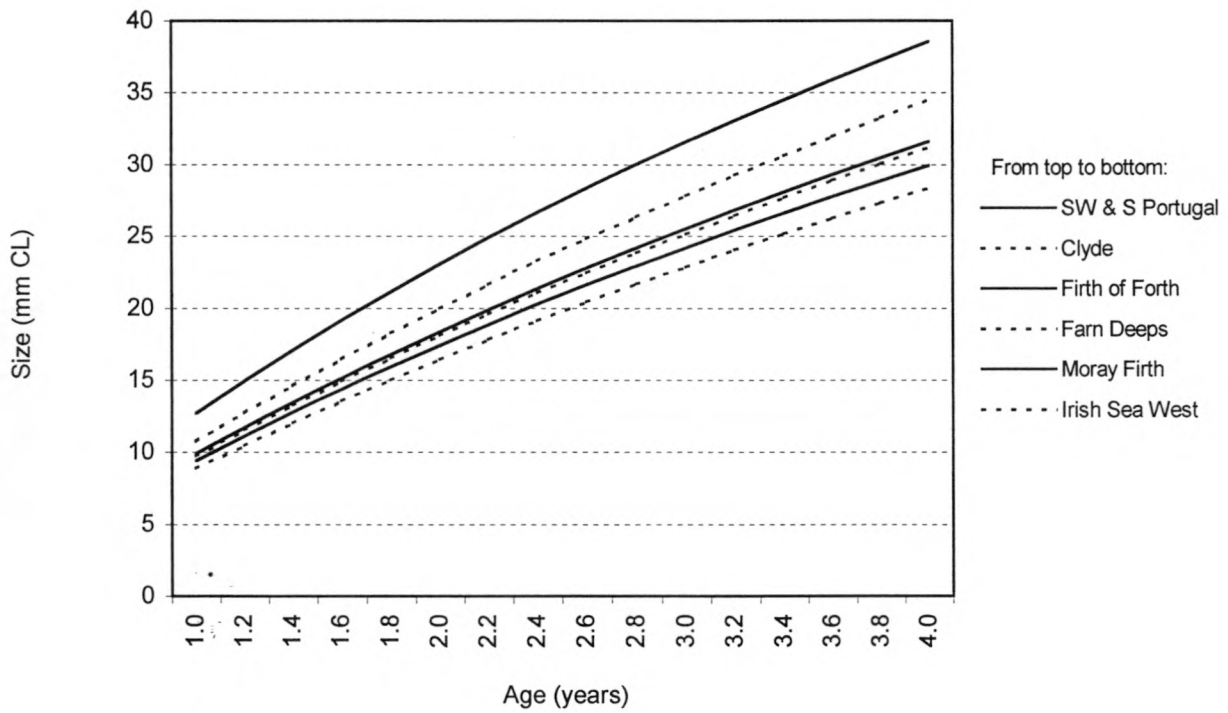
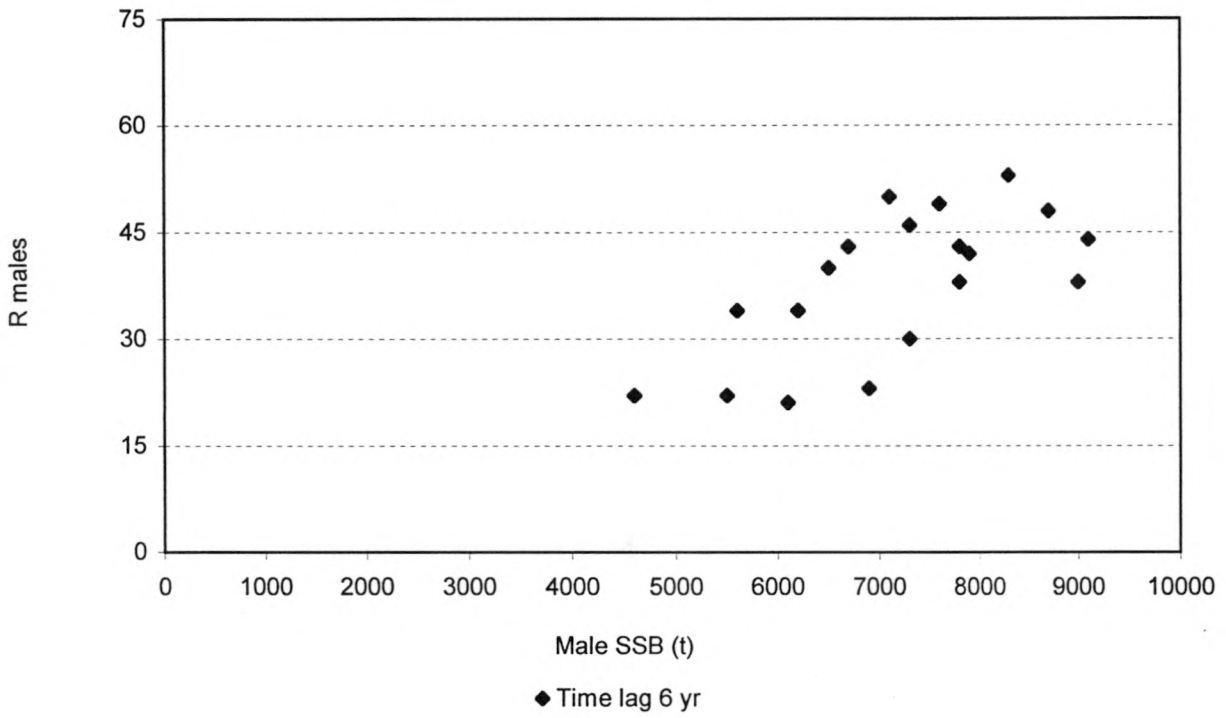


Figure 6.2. - Growth curves of small *Nephrops*.

SE Iceland



Firth of Forth

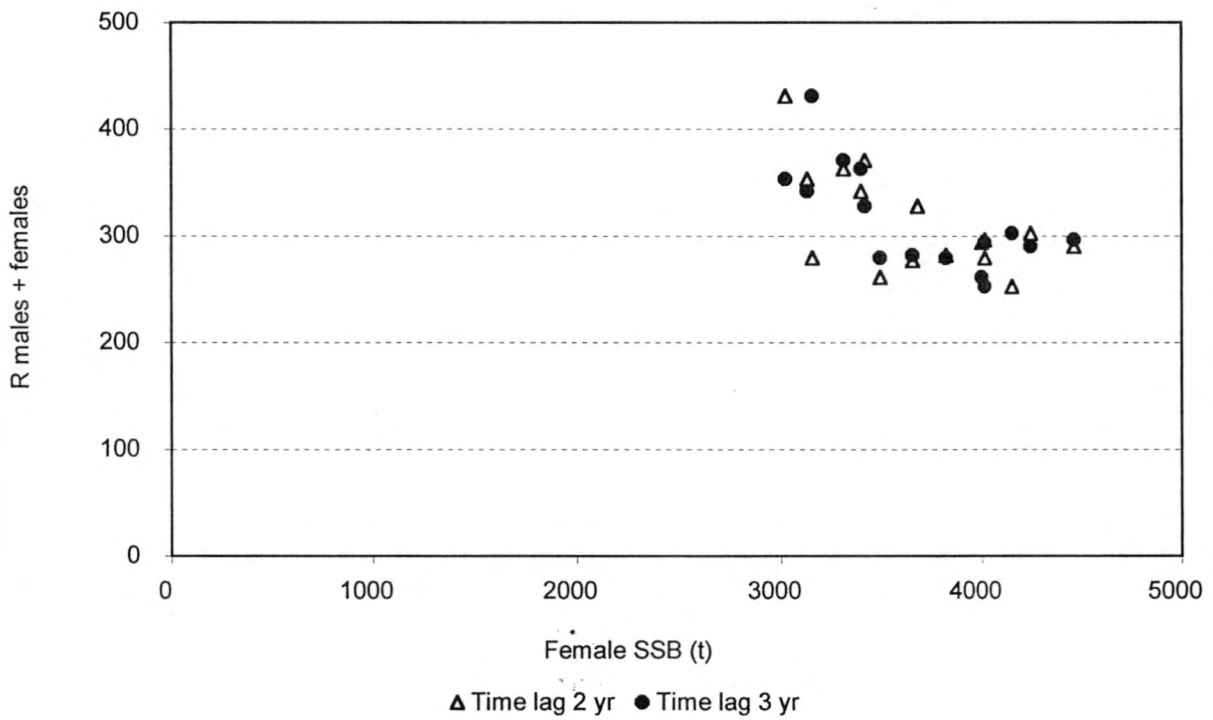
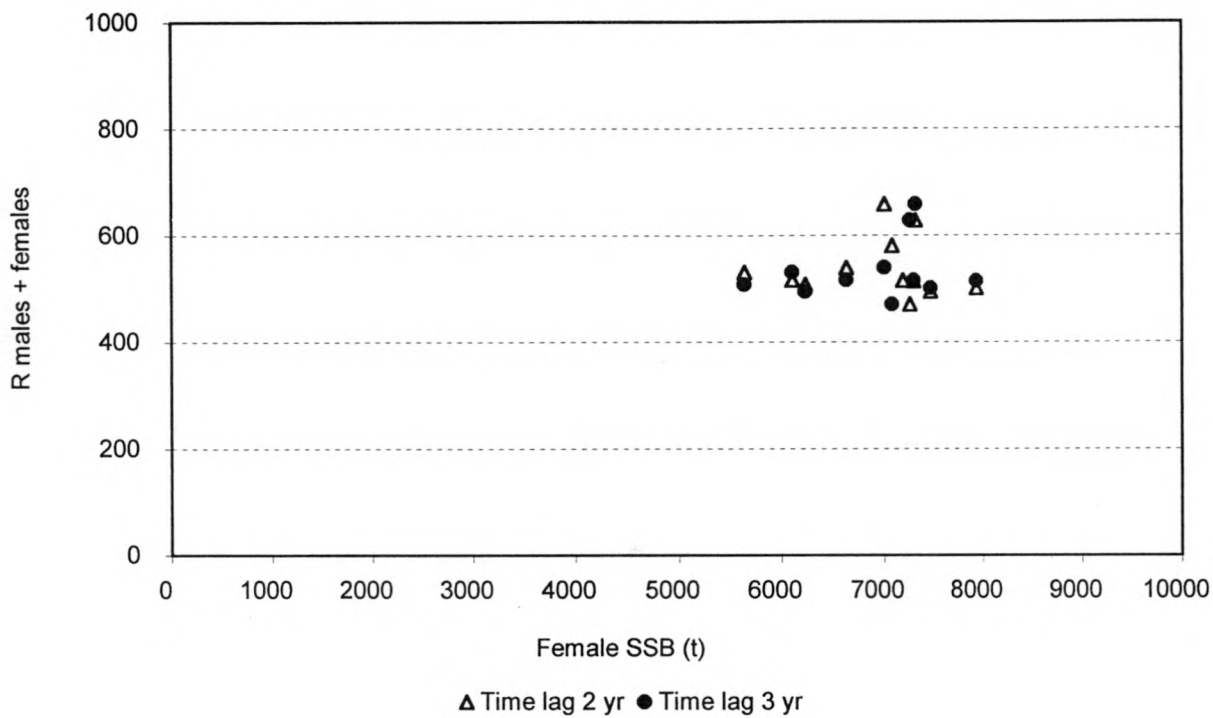


Figure 6.3.A. - Relationships between recruitment and SSB, as estimated by XSA.

Farn Deeps



Moray Firth

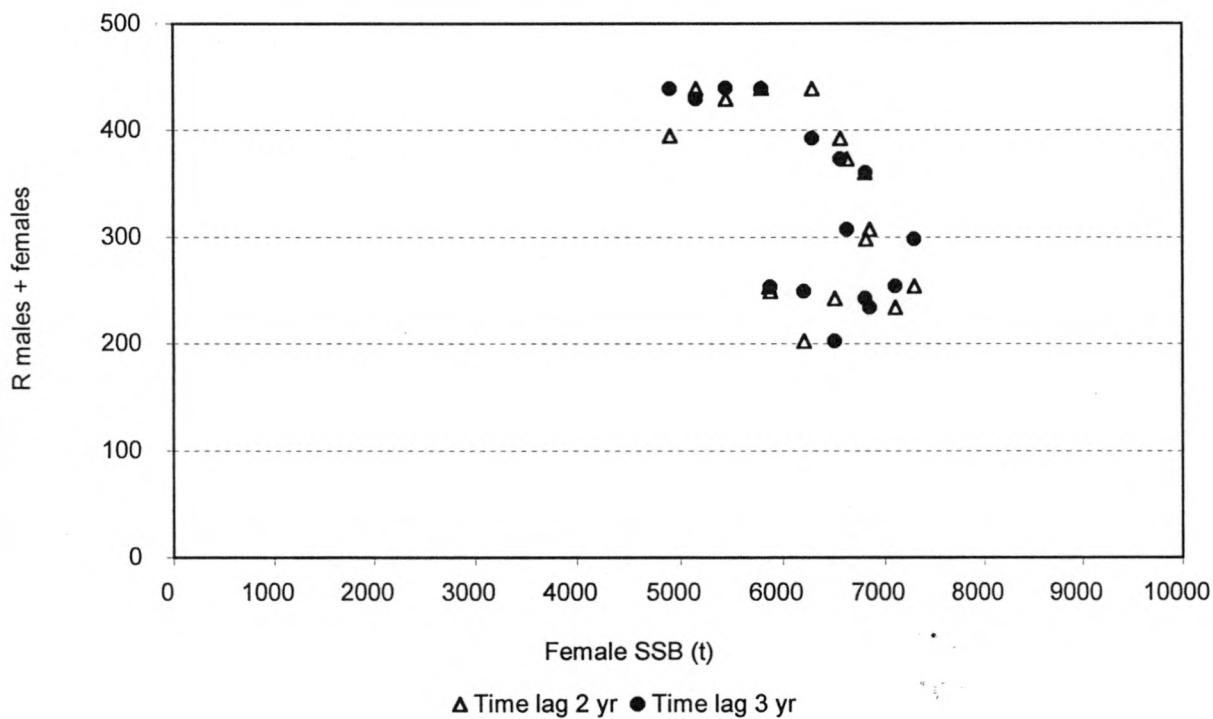


Figure 6.3.B. - Relationships between recruitment and SSB, as estimated by XSA.

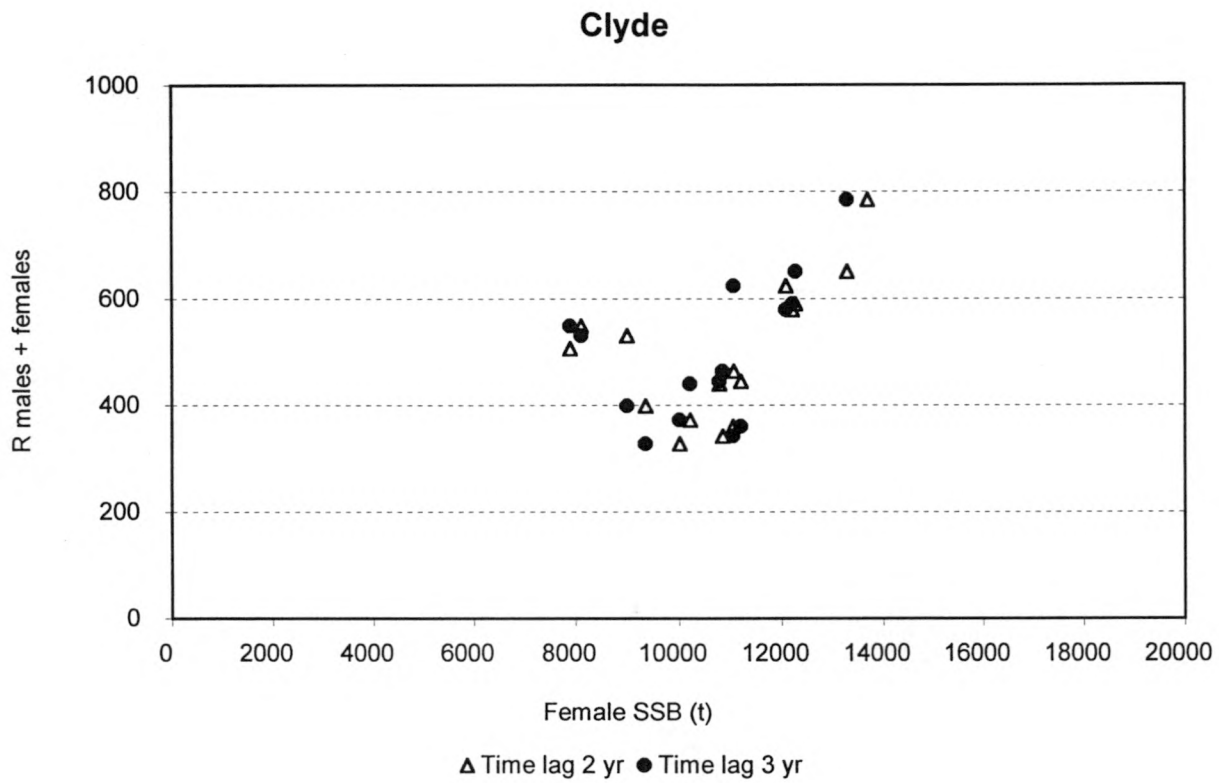


Figure 6.3.C. - Relationships between recruitment and SSB, as estimated by XSA.

SW and S Portugal

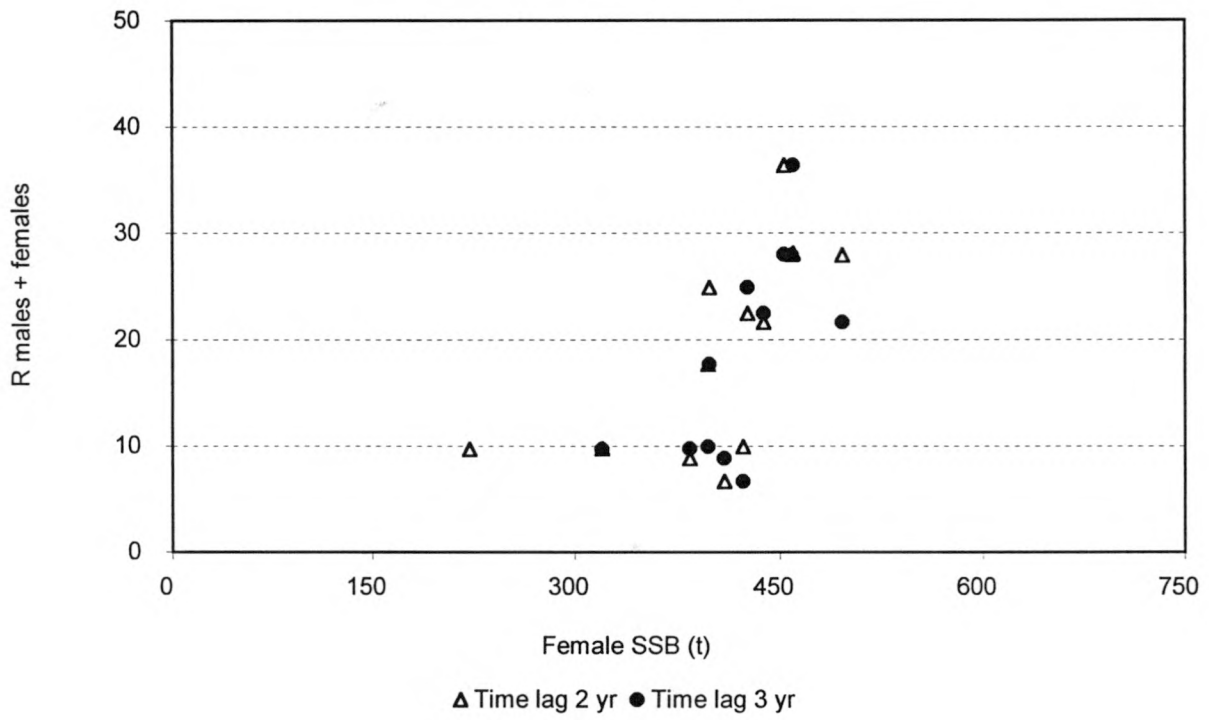
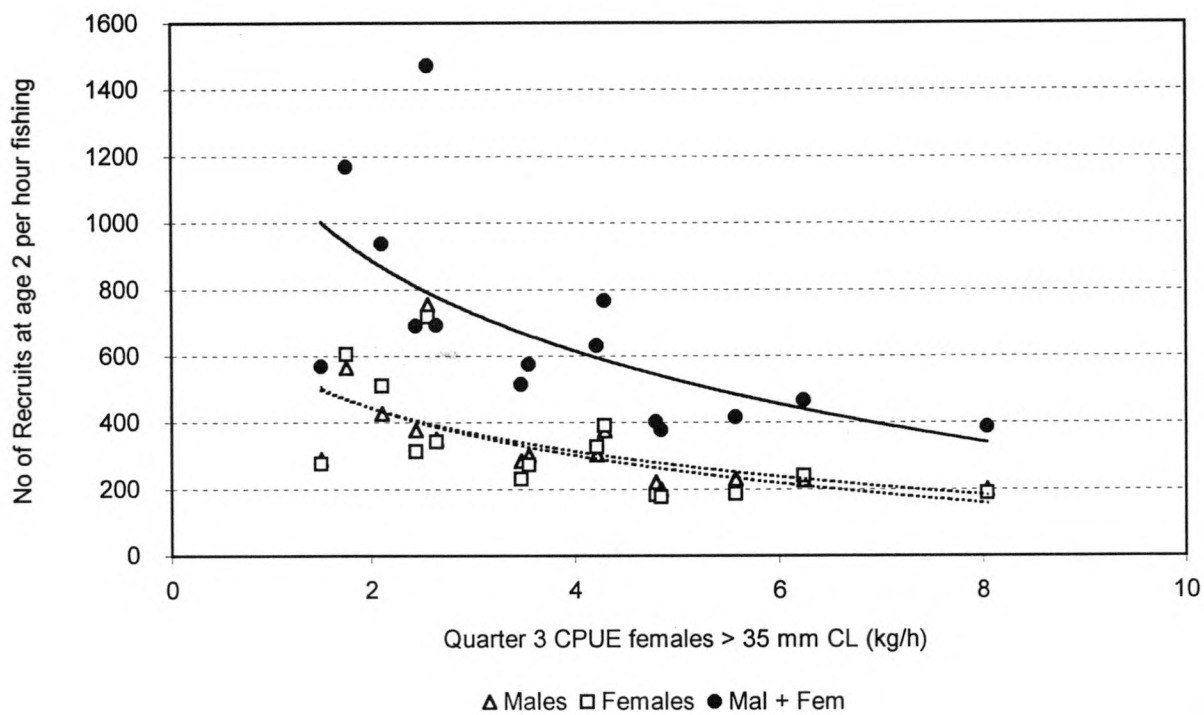


Figure 6.3.D. - Relationships between recruitment and SSB, as estimated by XSA.

Firth of Forth



Farn Deeps

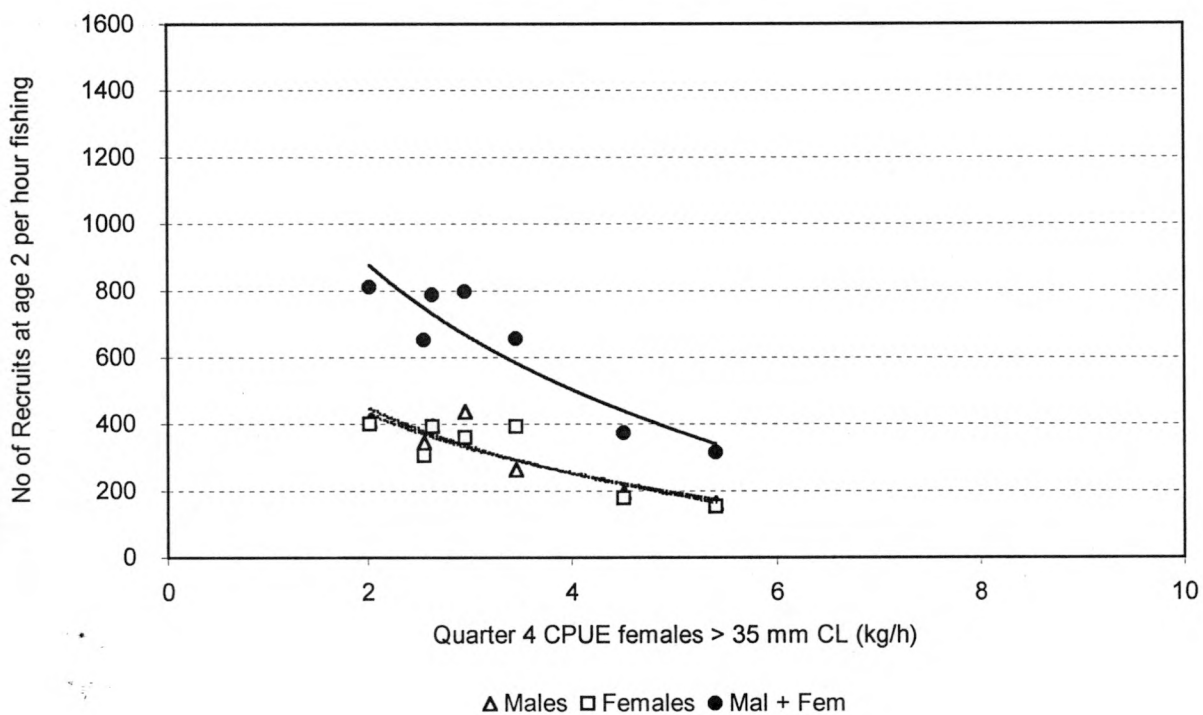
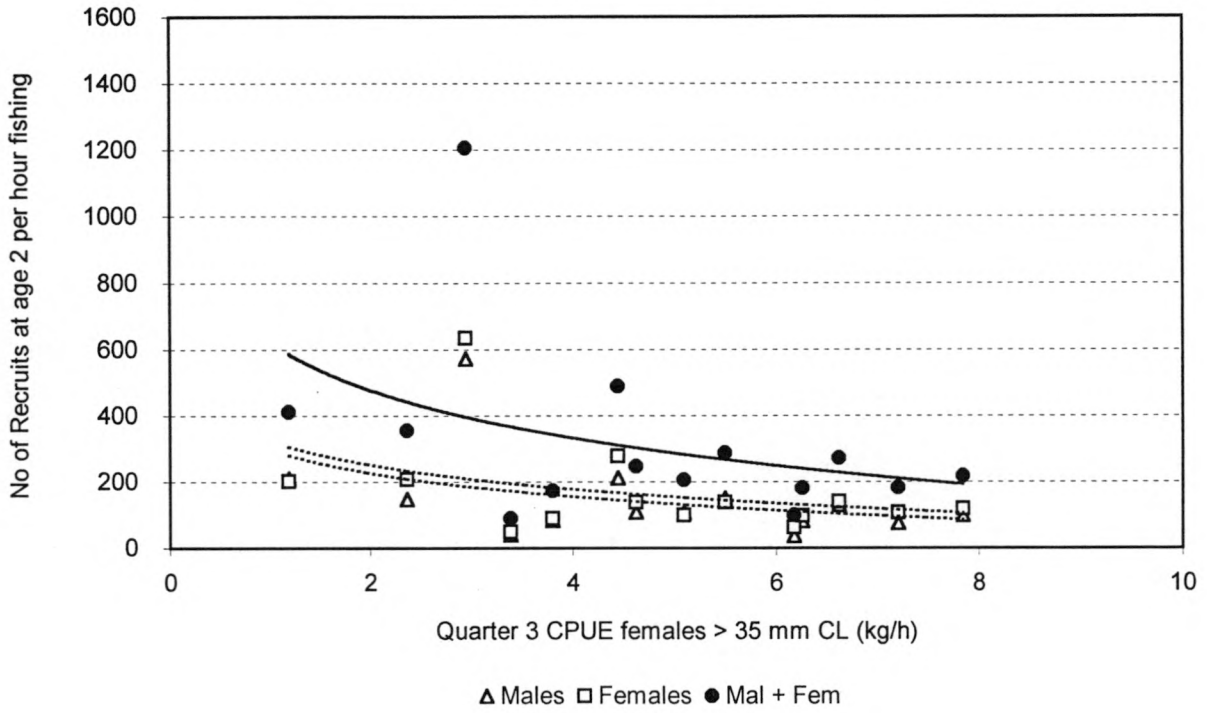


Figure 6.4.A. - Relationships between recruitment and index of mature female stock size.

Moray Firth



Clyde

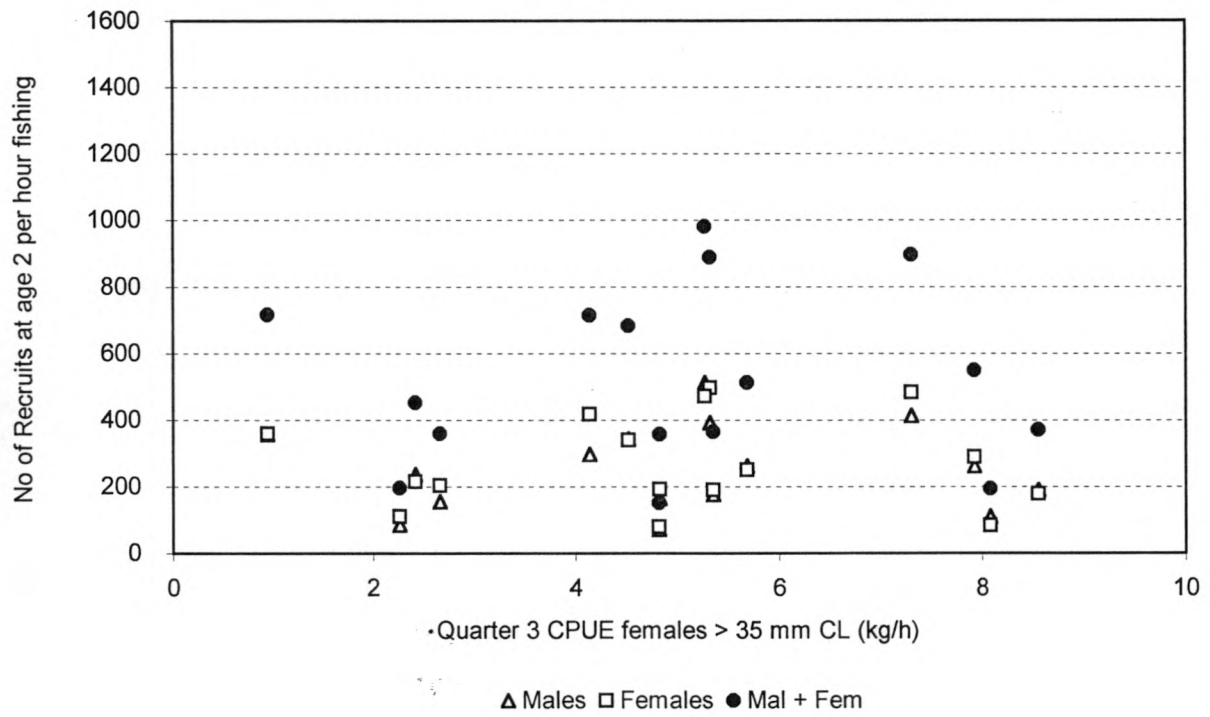
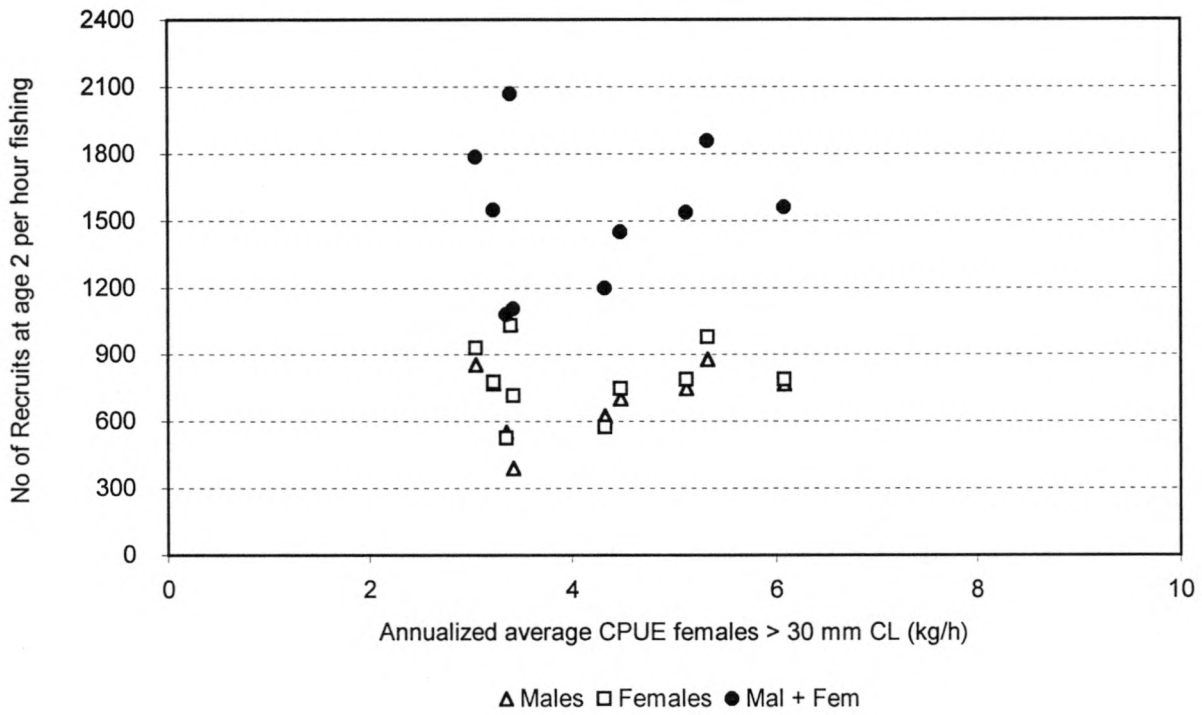


Figure 6.4.B. - Relationships between recruitment and index of mature female stock size.

Irish Sea West



SW and S Portugal

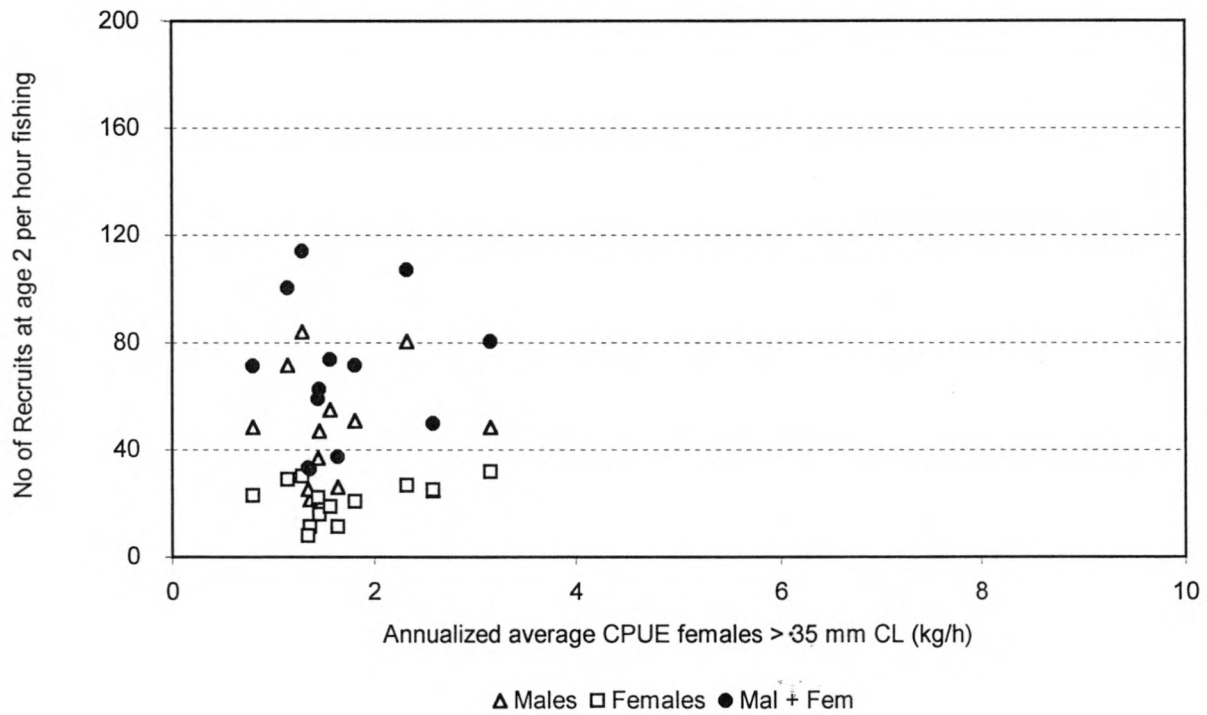
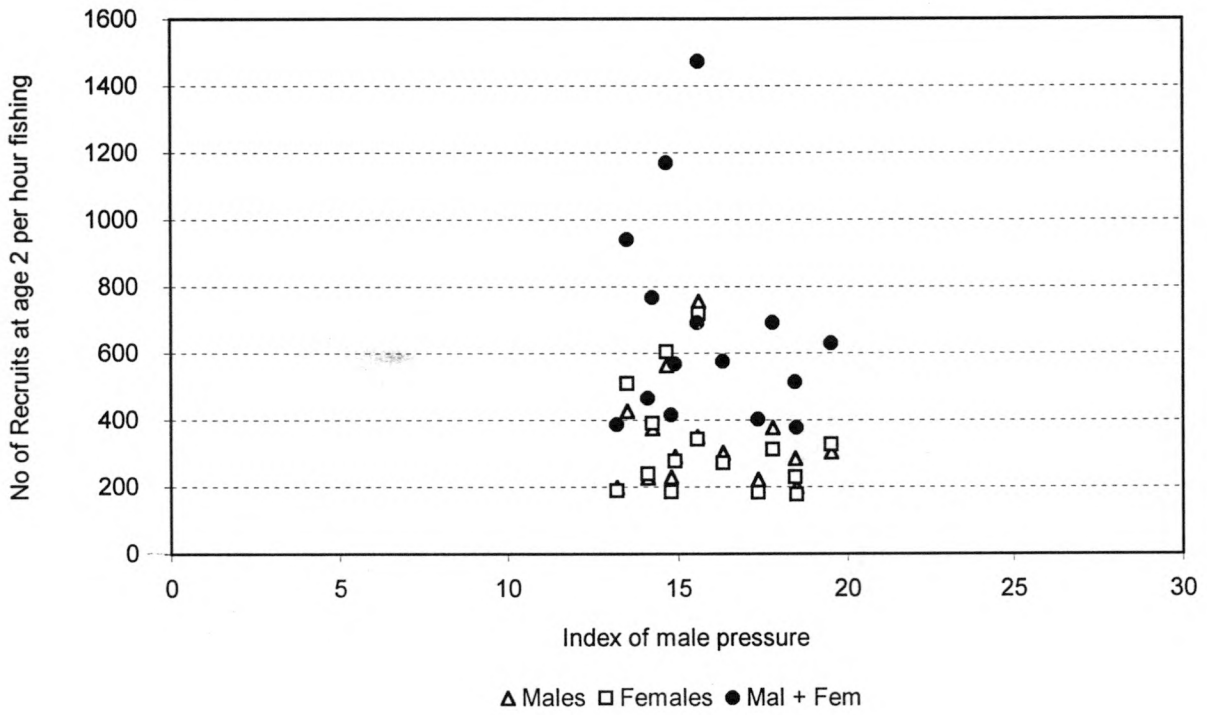


Figure 6.4.C. - Relationships between recruitment and index of mature female stock size.

Firth of Forth



Farn Deeps

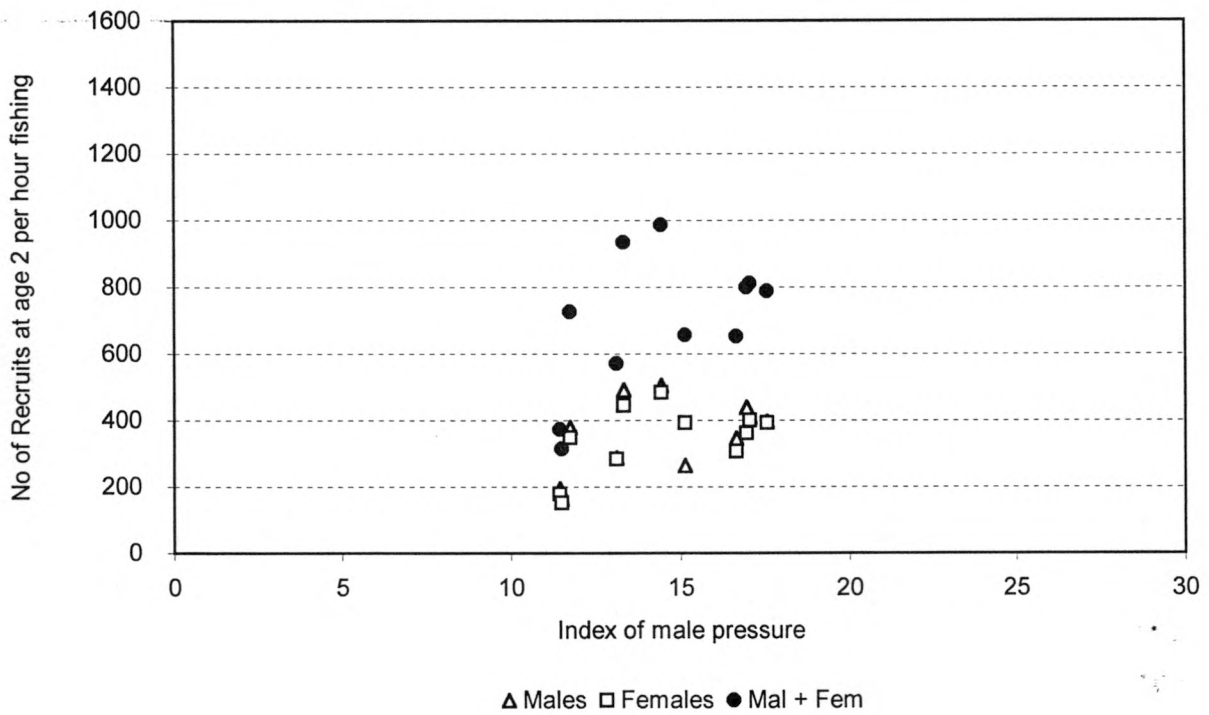
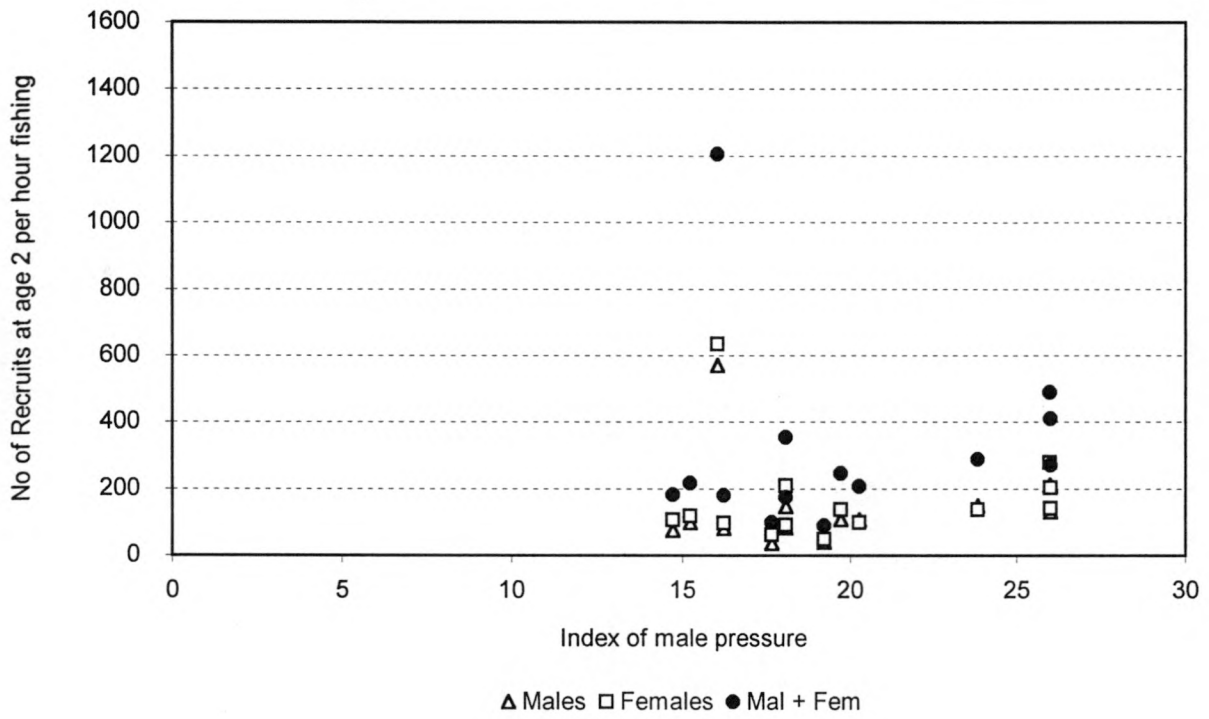


Figure 6.5.A. - Relationships between recruitment and index of predation and competition pressure exerted by adult male population component.

Moray Firth



Clyde

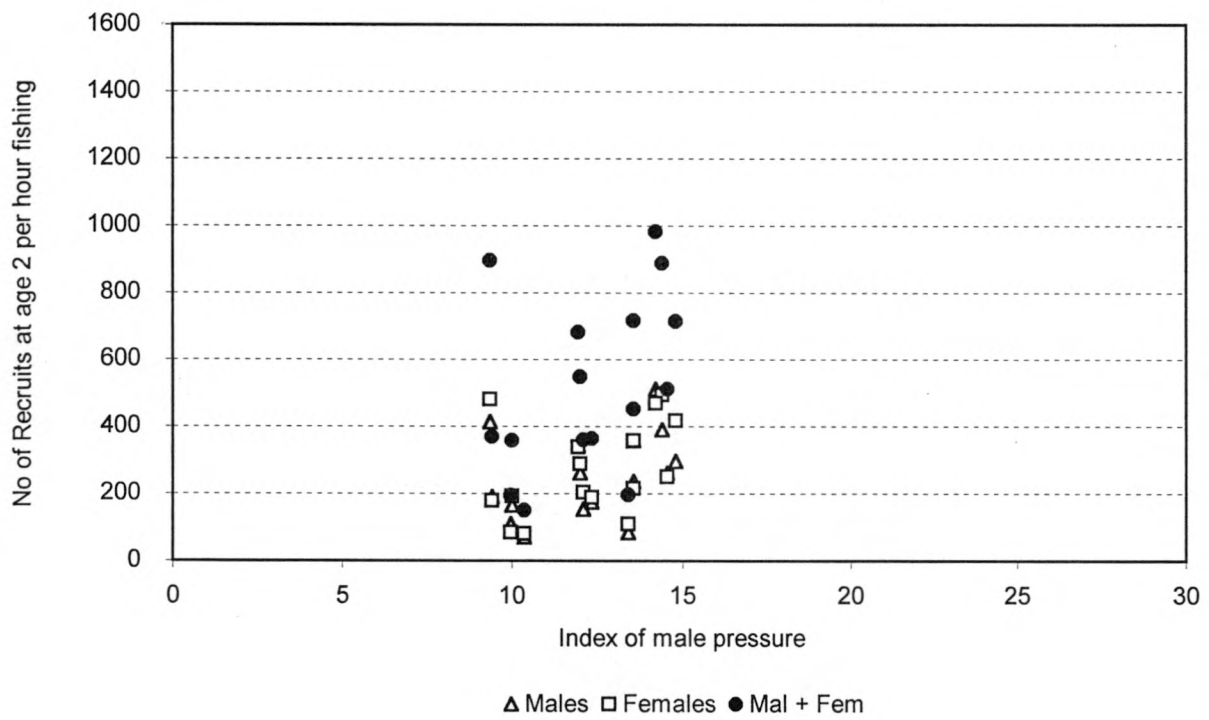
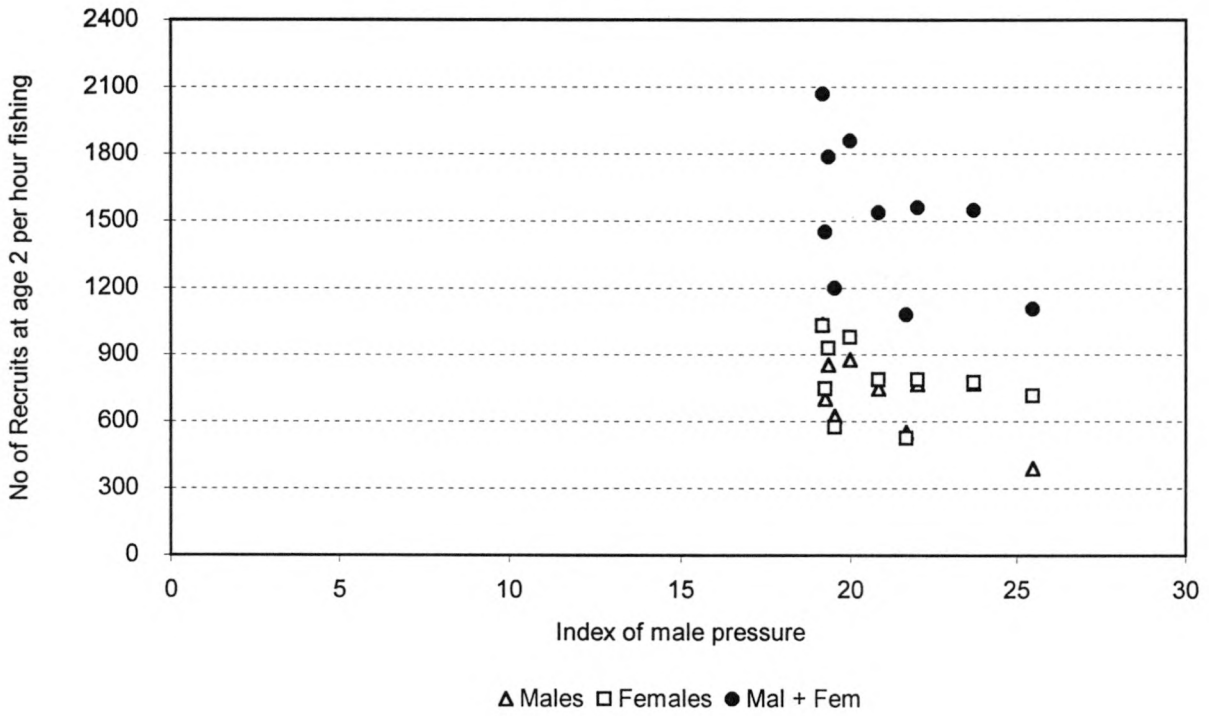


Figure 6.5.B. - Relationships between recruitment and index of predation and competition pressure exerted by adult male population component.

Irish Sea West



SW and S Portugal

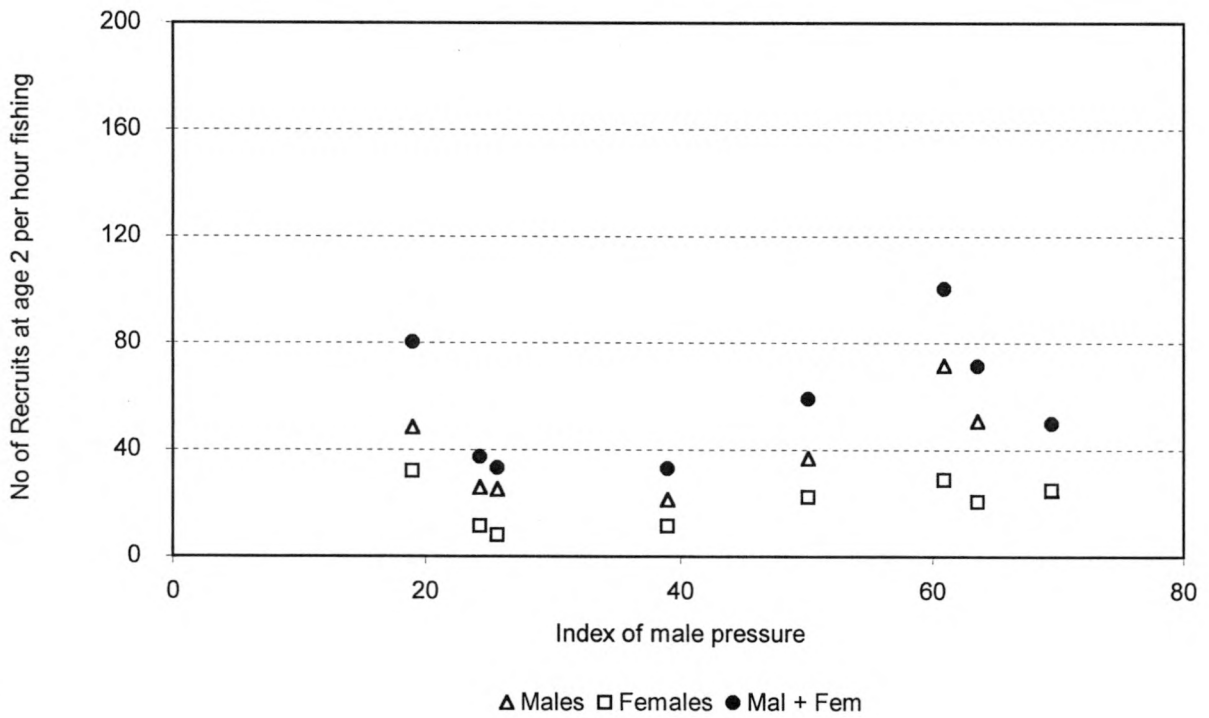
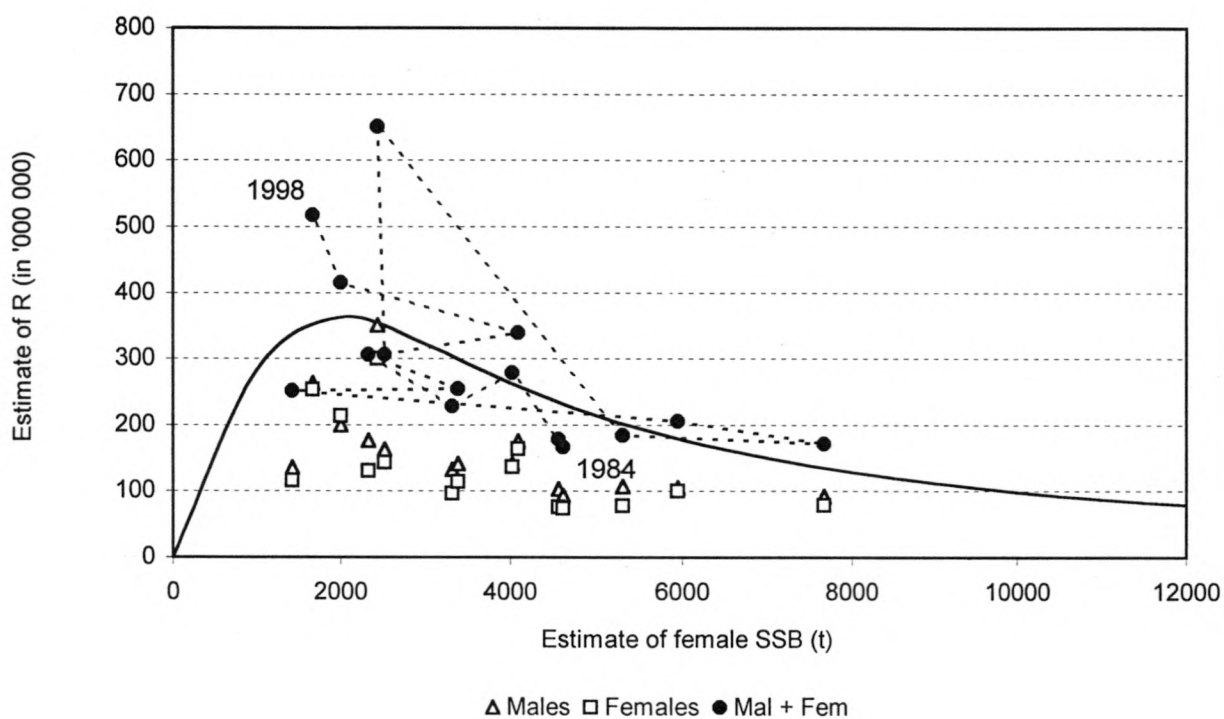


Figure 6.5.C. - Relationships between recruitment and index of predation and competition pressure exerted by adult male population component.

Firth of Forth



Farn Deeps

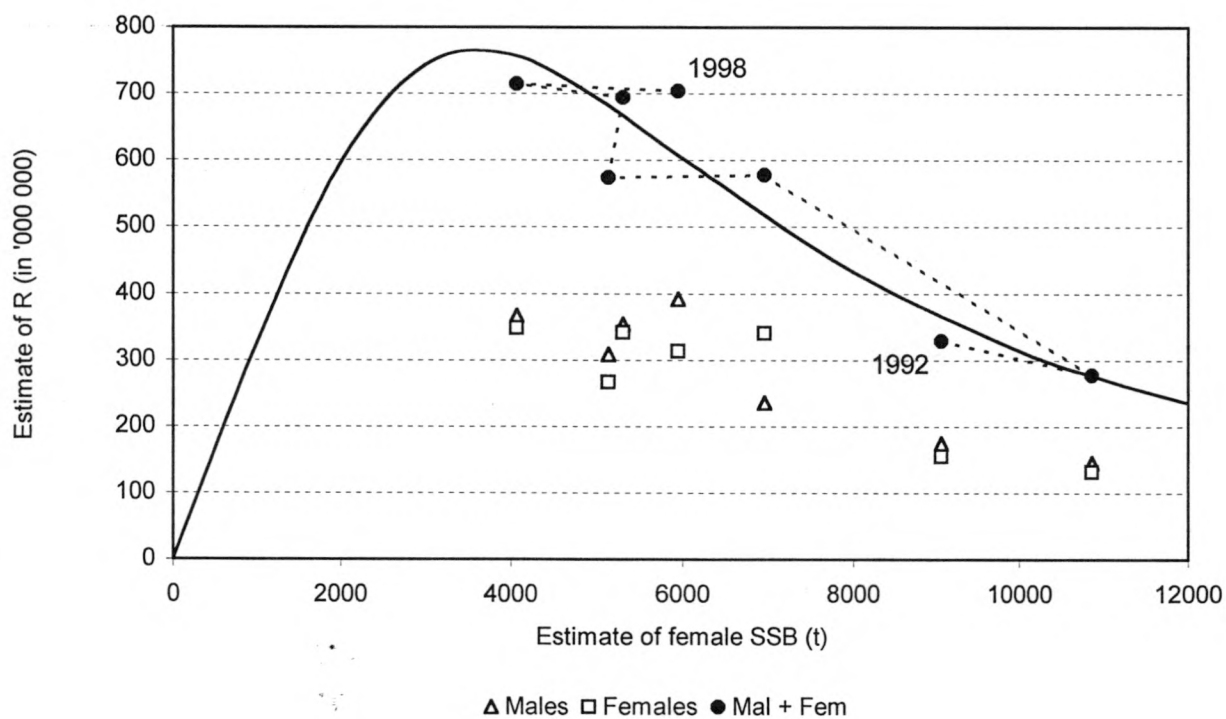


Figure 6.6.A. - Relationships between recruitment and female SSB (rescaled).

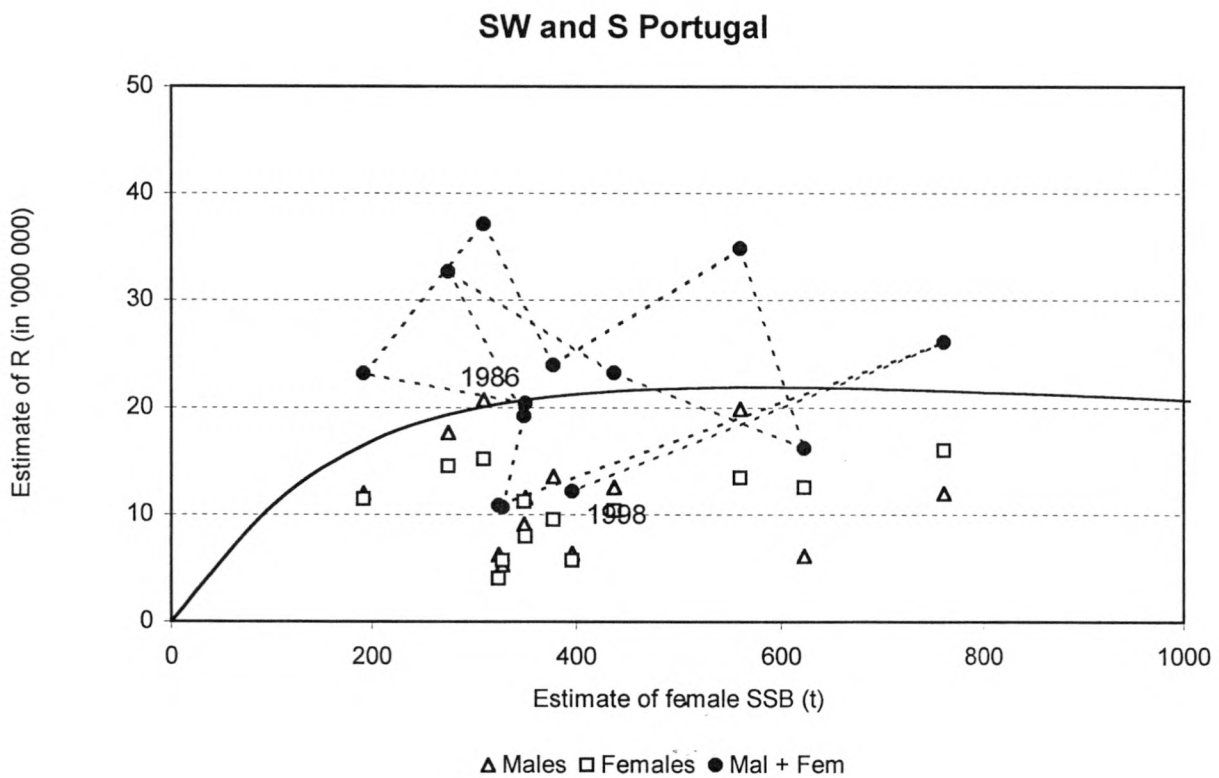
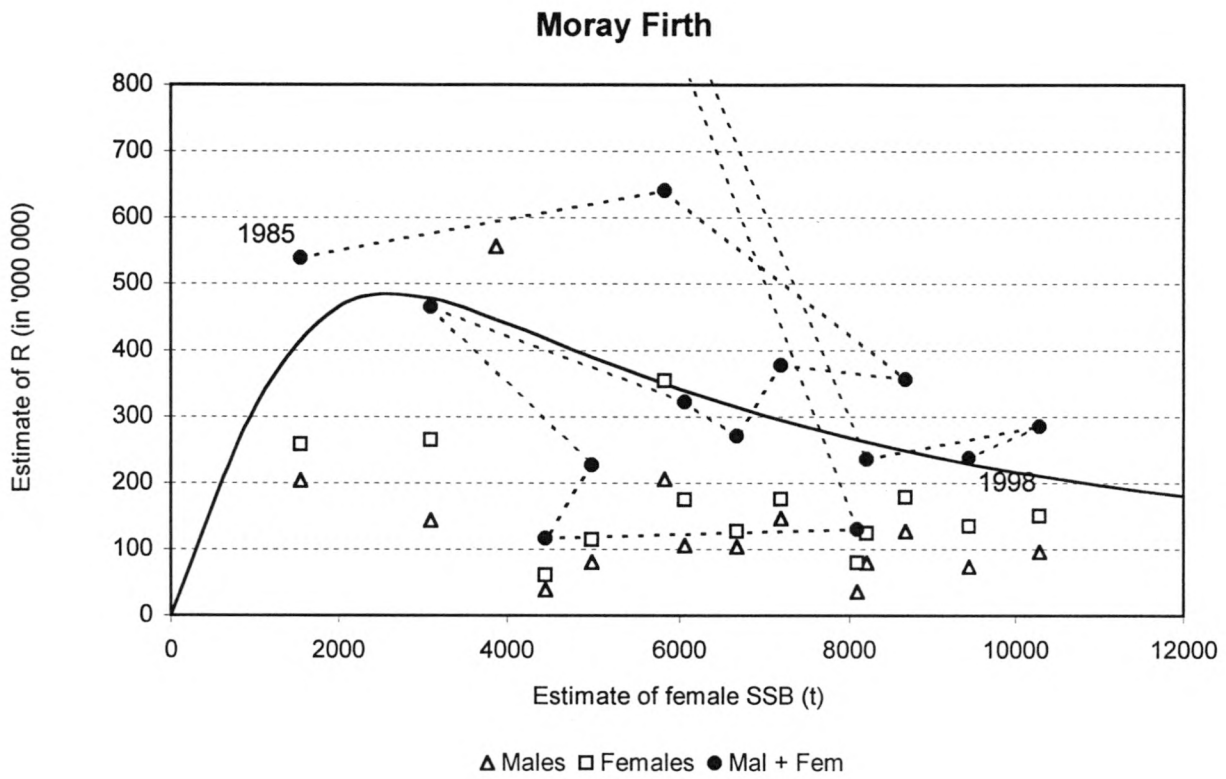


Figure 6.6.B. - Relationships between recruitment and female SSB (rescaled).

