

Postbus 77 | 4400 AB Yerseke

Programma naar een Rijke Waddenzee  
t.a.v. M.J. Firet  
Postbus: 20401  
2500 EK Den Haag

Auteur(s): Pauline Kamermans (WMR) en Pascale Jacobs (NIOZ)

## **LNV-PRW onderzoek *Bonamia*-vrije platte oesters bronmateriaal voor restauratieprojecten Noordzee en Waddenzee**

ordernummer 1400010220

### **Inleiding en kennisvraag**

Bonamiosis is een ziekte waar Platte oesters aan dood kunnen gaan als ze ongeveer 2 jaar oud zijn (van Banning, 1991). Daarnaast is het een exoot. De ziekte komt voor in de Zeeuwse wateren (Engelsma et al., 2010). Omdat er geen natuurlijke banken van Platte oesters voorkomen in de Noordzee, is het momenteel onduidelijk of *Bonamia* hier voorkomt. In de Waddenzee zijn recent wel kleine banken van de Platte oester gevonden (van der Have et al., 2017), maar ook hiervoor geldt dat het al dan niet voorkomen van *Bonamia* onbekend is. Zowel op de Noordzee (Wageningen Marine Research, Sas Consultancy en Bureau Waardenburg in opdracht van Wereldnatuurfonds Nederland, Stichting Ark, Gemini, Stichting de Noordzee, Natuur en Milieu, Eneco en van Oord) als in de Waddenzee (NIOZ in opdracht van Programma naar een Rijke Waddenzee) zijn er initiatieven gestart om te onderzoeken of de terugkeer van de Platte oester kan worden gefaciliteerd (Didderen et al., 2018; 2019a,b; Jacobs et al., submitted). Daarom is het raadzaam om voor restauratieprojecten *Bonamia*-vrije oesters te gebruiken (Sas et al., submitted), zodat *Bonamia* niet wordt geïntroduceerd. Zowel ouderdieren als larven kunnen geïnfecteerd zijn met *Bonamia*. Ook als de moederoester niet geïnfecteerd is kunnen larven geïnfecteerd zijn, maar er zijn ook niet-geïnfecteerde larven aangetroffen in geïnfecteerde ouderdieren (Arzul et al., 2011; Flannery et al., 2016). Deze verschillen tussen ouderdier en larven geven mogelijkheden voor het produceren van *Bonamia*-vrije Platte oesters. Door te werken met ouderdieren uit besmet gebied bestaat tevens de mogelijkheid om *Bonamia*-vrije dieren te kweken die resistent zijn voor de ziekte.

Wageningen  
Marine  
Research

DATUM  
12 december 2019

ONDERWERP  
briefrapportage

ONS KENMERK  
1952278.JA-ih

POSTADRES  
Postbus 77  
4400 AB Yerseke

BEZOEKADRES  
Korringaweg 7  
4401 NT Yerseke

INTERNET  
[www.wur.nl/marine-research](http://www.wur.nl/marine-research)

KvK NUMMER  
09098104

CONTACTPERSOON  
mw.dr. P. Kamermans

TELEFOON  
+31 (0) 317 487032

E-MAIL  
[pauline.kamermans@wur.nl](mailto:pauline.kamermans@wur.nl)

Wageningen Marine Research is a leading, independent research institute that concentrates on research into strategic and applied marine ecology.

van *Bonamia*. Hiertoe is een non-destructieve monsternamen methode ontwikkeld waarmee de oesters in leven bleven. De gescreende ouderdieren zijn opgesplitst in een *Bonamia*-vrije groep en een *Bonamia*-geïnfekteerde groep. De *Bonamia*-vrije dieren zijn naar een *Bonamia*-vrij deel van de hatchery van RvY gebracht en de *Bonamia*-besmette dieren zijn in de klimaatkamer van WMR gehuisvest. Beide groepen oesters zijn geconditioneerd voor de productie van larven. Dit houdt in dat ze gedurende meerdere weken extra gevoerd zijn. De geproduceerde larven uit beide groepen zijn getest op *Bonamia*. De met *Bonamia*-geïnfekteerde ouderdieren produceerden zowel besmette als onbesmette larven, terwijl de *Bonamia*-vrije ouderdieren alleen *Bonamia*-vrije larven produceerden. Door hoge sterfte in de larvale fase was in 2018 geen *Bonamia*-vrij broed beschikbaar dat kan worden opgekweekt tot de leeftijd waarop overleving onder *Bonamia* omstandigheden kan worden getest (2 jaar oud). Daarom is in 2019 de screening en larvenproductie herhaald.

Onderzoekers van de Spaanse Universiteit van Santiago (USC) hebben een methode ontwikkeld om met behulp van genetische markers te onderzoeken of een populatie Platte oesters tolerant is voor de ziekte bonamiosis (Vera et al., 2016, 2019). Deze methode kan worden toegepast op *Bonamia*-vrije oesters zodat duidelijk wordt of ze bestand zijn tegen de ziekte of niet. Het *Bonamia*-vrije oesterbroed dat in 2019 is geproduceerd in de hatchery van RvY wordt getest. Ter vergelijking wordt broed van Platte oesters uit *Bonamia*-vrije gebieden getest. Hiertoe zijn Platte oesters uit Noorwegen beschikbaar in de hatchery van RvY. Deze oesters komen uit een *Bonamia*-vrij gebied. Maar dit biedt ook mogelijkheden voor samenwerking met het NIOZ. In 2018 heeft het NIOZ op Texel broed van Platte oesters uit de Waddenzee gekweekt met co-financiering van Programma naar een Rijke Waddenzee, WNF en het NIOZ. Het broed testte negatief op *Bonamia*. Als de gescreende Oosterschelde broedstock deze genen heeft kunnen *Bonamia*-vrije en tevens *Bonamia*-resistente oesters worden geproduceerd. Deze oesters zijn geschikt voor natuurherstelprojecten omdat ze de ziekte niet verspreiden maar zelf overleven mocht de ziekte het gebied toch bereiken. Dat laatste geldt mogelijk niet voor *Bonamia*-vrije oesters die zijn geproduceerd met ouderdieren uit een *Bonamia*-vrij gebied. Deze dieren zouden juist extra gevoelig voor de ziekte kunnen zijn omdat ze er niet eerder aan zijn blootgesteld. Om dit te testen worden 2-3 jaar oude Platte oesters van Waddenzee ouders (nooit eerder blootgesteld aan *Bonamia* = 'naïef' m.b.t. *Bonamia*) en Oosterschelde ouders ('resistent') tot april 2021 blootgesteld aan *Bonamia*. De mate van besmetting zegt iets over het mogelijke verschil tussen deze twee groepen in gevoeligheid voor *Bonamia*.

De vraagstelling van de huidige studie is:

Bezitten de geselecteerde *Bonamia*-vrije oesters *Bonamia*-resistente genetische markers en hebben oesters uit *Bonamia*-vrije gebieden deze markers niet?

En, zijn *Bonamia*-vrije oesters afkomstig uit *Bonamia*-besmette gebieden minder gevoelig voor *Bonamia* besmetting vergeleken met oesters afkomstig uit *Bonamia*-vrije gebieden?

## Activiteiten

Onderstaande activiteiten waren gepland voor 2019, maar door late toekenning van het flankerende budget van LNV is het werk pas in juli gestart. Hierdoor zijn punt 9-12 niet uitgevoerd. Resultaten van punt 13 worden pas in 2021 verwacht.

1. Broedstock verzamelen in de Oosterschelde door RvY

2. Niet-destructief bemonsteren van kieuwen door WMR voor *Bonamia* analyse door WBVR
3. Selecteren van *Bonamia*-vrije broedstock door WMR op basis van resultaten WBVR
4. Conditioneren *Bonamia*-vrije broedstock uit Oosterschelde en Noorwegen door RvY
5. Opkweek larven tot broed in een *Bonamia*-vrije omgeving in hatchery door RvY
6. Broed van broedstock uit Oosterschelde en Noorwegen bemonsteren bij RvY door WMR en broed van broedstock uit Waddenzee bij NIOZ door NIOZ
7. Analyseren broed Oosterschelde, Noorwegen en Waddenzee voor *Bonamia* door WBVR
8. Opsturen broed Oosterschelde, Noorwegen en Waddenzee voor genetische analyses door USC
9. Analyse resultaten door WMR en NIOZ
10. Schrijven publieksvriendelijke samenvatting namens alle partijen
11. Communicatie van de resultaten, gezamenlijke presentatie op bijeenkomst Community of Practice (CoP) Noordzee en relevante bijeenkomsten Waddenzee
12. Schrijven en submitten paper door WMR en NIOZ
13. Opkweken broed in veld tot *Bonamia* piek in april 2021

## Resultaten

Er zijn 181 broedstock oesters uit de Oosterschelde niet-destructief bemonsterd voor aanwezigheid van *Bonamia*. Hiervan waren 77 oesters *Bonamia* vrij. Deze zijn geconditioneerd voor het produceren van larven in de hatchery van RvY. Daarnaast zijn 40 Noorse oesters geconditioneerd in de hatchery. De Oosterschelde oesters hebben 13 batches aan larven geproduceerd waarvan er twee tot succesvolle vestiging van broedjes hebben geleid. Deze oesters zijn gevestigd op schelpen. De meeste daarvan zijn uitgezet in de Voordelta ([https://www.naturetoday.com/intl/nl/nature-reports/message/?utm\\_source=newsletter&utm\\_medium=e-mail&utm\\_campaign=user-mailing&msg=25371](https://www.naturetoday.com/intl/nl/nature-reports/message/?utm_source=newsletter&utm_medium=e-mail&utm_campaign=user-mailing&msg=25371)). In de Voordelta is *Bonamia* aangetroffen (Sas et al., 2018). Een deel van het broed is behouden voor blootstelling aan *Bonamia* in de Grevelingen in 2020 en 2021. Dit is het gebied met de meeste besmette oesters (Engelsma et al., 2010). De Noorse oesters hebben eenmaal larven geproduceerd die niet zijn opgegroeid tot broed. Van alle larven batches en het broed zijn monsters geanalyseerd op *Bonamia*. Deze testen allen *Bonamia* vrij. In 2018 zijn 38 oesters afkomstig uit de Waddenzee gebruikt als broedstock, deze ouder dieren zijn niet getest op *Bonamia*. Deze broedstock gaf 10 batches larven. Van iedere batch larven en het latere broed zijn deelmonsters genomen die zijn geanalyseerd op *Bonamia*. Alle deelmonsters waren vrij van *Bonamia*.

Van de volgende groepen oesters zijn monsters opgestuurd naar USC: stukjes kieuw van (1) 30 *Bonamia*-vrije ouderdieren, (2) 21 *Bonamia*-besmette ouderdieren en (3) 30 Noorse ouderdieren ('naïef' m.b.t. *Bonamia*) en 30 broedjes van (1) *Bonamia*-vrije ouderdieren en (2) 30 broedjes van Waddenzee ouderdieren ('naïef' m.b.t. *Bonamia*). DNA extractie is uitgevoerd en genotypering vindt momenteel plaats.

## Conclusie

Omdat de resultaten uit Spanje nog niet binnen zijn kunnen de kennisvragen nog niet worden beantwoord. Het restbudget van het deel dat door LNV wordt

gefinancierd kan worden meegenomen naar 2020. Afronding zal plaatsvinden voor 1 juli 2020. Communicatie over de resultaten voor wat betreft de Waddenzee wordt in afstemming met PRW ingevuld.

## Literatuur

- Arzul, I., Langlade, A., Chollet, B., Robert, M., Ferrand, S., Omnes, E., Garcia, C., 2011. Can the protozoan parasite *Bonamia ostreae* infect larvae of flat oysters *Ostrea edulis*? *Vet. Parasitol.* 179 (1), 69–76.
- Didderen K., P. Kamermans, W. Lengkeek (2018) Gemini wind far oyster pilot Results 2018. Bureau Waardenburg Rapport.
- Didderen K., W. Lengkeek, P. Kamermans, B. Deden, E. Reuchlin-Hugenholtz (2019a) Pilot to actively restore native oyster reefs in the North Sea. Comprehensive report to share lessons learned in 2018. Report 19-013. Bureau Waardenburg, Culemborg. WWF, Zeist.
- Didderen K., J.H. Bergsma, P. Kamermans (2019b) Offshore flat oyster pilot Luchterduinen wind farm. Results campaign 2 (July 2019) and lessons learned. Report 19-184 Bureau Waardenburg, Culemborg
- Engelsma MY, S Kerkhoff, I Roozenburg, OLM Haenen, A van Gool, W Sistermans, S Wijnhoven, H Hummel (2010) Epidemiology of *Bonamia ostreae* infecting European flat oysters *Ostrea edulis* from Lake Grevelingen, The Netherlands *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 409: 131–142
- Flannery G., S.A. Lynch, S.C. Culloty (2016) Investigating the significance of the role of *Ostrea edulis* larvae in the transmission and transfer of *Bonamia ostreae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 136: 7–9
- Jacobs P, Y Greeve, M Sikkema, M Dubbeldam, K Philippart (submitted) Successful rearing of *Bonamia*-free *Ostrea edulis* from parents originating from the Wadden Sea.
- Kamermans P, A Blanco, P van Dalen, F Peene, M Engelsma (submitted) Non-destructive *Bonamia* screening for hatchery production of *Bonamia*-free flat oysters (*Ostrea edulis* L.).
- Sas H., P. Kamermans, T. van der Have, M. Christianen et al (2018) Shellfish reef restoration pilots Voordelta The Netherlands, Annual report 2017.
- Sas H, B Deden, P Kamermans, P zu Ermgassen, B Pogoda, L Helmer, A Lown, J Preston, Z Holbrook, I Arzul, T van der Have, A Villalba, B Colsoul, V Merk, A Lown, N Zwerschke and E Reuchlin (submitted) *Bonamia* infection in flat oysters (*Ostrea edulis*) in relation to European restoration projects.
- Van Banning P (1991) Observations on bonamiasis in the stock of the European flat oyster, *Ostrea edulis*, in the Netherlands, with special reference to the recent developments in Lake Grevelingen. *Aquaculture* 93:205–211
- Van der Have, T.M., P. Kamermans, E. van der Zee., 2017. Flat oysters in the Eijerlandse Gat, Wadden Sea. Results of a survey in 2017 Bureau Waardenburg Rapportnr. 17-231.
- Vera, M., Carlsson, J., El Carlsson, J., Cross, T., Lynch, S., Kamermans, P., Martínez, P. (2016). Current genetic status, temporal stability and structure of the remnant wild European flat oyster populations: conservation and restoring implications. *Marine Biology*, 163(12), 239. doi:10.1007/s00227-016-3012-x
- Vera M, BG Pardo, A Cao, R Vilas, C Fernández, A Blanco, AP Gutierrez, TP Bean, R Houston, A Villalba, P Martínez (2019) Signatures of selection for bonamiosis resistance in European flat oyster (*Ostrea edulis*): new genomic tools for breeding programs and management of natural resources. *Evolutionary Applications*; 00:1-16. DOI: 10.1111/eva.12832

## Verantwoording

Projectnummer: 4313100107

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende, verantwoordelijk MT-lid/director van Wageningen Marine Research.

Akkoord: Linda Tonk  
Onderzoeker



Handtekening:

Datum: 11/12/2019

Akkoord: Jakob Asjes  
Manager



Handtekening:

Datum: 12/12/2019

DATUM  
12 december 2019

ONS KENMERK  
1952278.JA-ih

PAGINA  
5 van 5