



LEREN LEVEN MET DE OESTERBOORDER

Methode ontwikkeling naar ei-pakketten bestrijding van de Japanse oesterboorder (*Ocenebrellus Inornatus*)

**Delta Academy
Publicatiedatum: 6/3/2018**

Lars van Duren
Kristof Peene

METHODE ONTWIKKELING NAAR EI-PAKKETTEN BESTRIJDING VAN DE JAPANESE OESTERBOORDER (*OCINEBRELLUS INORNATUS*)

Titel: Leren leven met de oesterboorder

*Subtitel: Methode ontwikkeling naar ei-pakketten bestrijding van de Japanse oesterboorder (*Ocinebrellus Inornatus*)*

Rapport type: eindrapport

Datum: 3-6-2018

Auteurs: Lars van Duren & Kristof Peene

Contactgegevens: Dure0002@hz.nl

Peen0009@hz.nl

Begeleidend docent: E. Hartog

Instituut: HZ University of Applied Sciences

Versie: 1



VOORWOORD

Voor u ligt het onderzoeksrapport 'Methode ontwikkeling naar ei-pakketten bestrijding van de Japanse oesterboorder (*Ocenebrellus Inornatus*)' die uitgevoerd is voor het RAAK MKB "Leren leven met de oesterboorder" project. Dit onderzoeksrapport is geschreven in het kader van de Minor Research & Innovation binnen de onderzoeksgroep Aquaculture voor de opleiding Aquatische Ecotechnologie op de HZ University of Applied Sciences te Vlissingen. Van februari 2018 tot en met juni 2018 zijn wij, Lars van Duren en Kristof Peene, bezig geweest met het onderzoek naar de methode ontwikkeling naar debestrijding van de ei-pakketten van de Japanse oesterboorder.

Samen met onze begeleidend docent, Eva Hartog, hebben wij de onderzoeksvraag voor dit onderzoek opgesteld. Het onderzoek dat wij hebben uitgevoerd is anders gelopen dan wij hadden verwacht, maar na goed begeleidende feedback van Eva Hartog hebben wij toch een deel van de onderzoeksvraag kunnen beantwoorden. Tijdens deze minor stonden alle mensen die betrokken zijn bij de onderzoeksgroep Aquaculture voor ons klaar. Zij hebben onze vragen beantwoord zodat wij steeds weer verder konden met ons onderzoek.

Bij deze willen wij graag iedereen bedanken, met name Eva Hartog, voor de fijne begeleiding en de ondersteuning tijdens deze minor.

Wij wensen u veel leesplezier toe tijdens het lezen van dit onderzoeksrapport.

Lars van Duren & Kristof Peene

Vlissingen, 3-jun-18

SUMMARY

The Dutch oyster sector wants to combat the plague of Japanese oyster drills (*Ocenebrellus Inornatus*) that since 2013 reduced the production of the cultivated Japanese oysters (*Magallana gigas*). In order to do this, new information and methods must be discovered to combat this plague.

The aim of this research is to apply different treatments for eradicating egg capsules from the Japanese oyster drill. At the start of this research the following research question was stated: *What is an applicable method for controlling the egg packages of Japanese oyster borer?* An applicable method should be a method that can be applied in practice and does take environmental care in account.

To be able to answer the research question, different methods have been applied to the egg packages in order to determine their effectiveness. The methods are:

- A heat treatment (~1200 °C) of 2 seconds, 4 seconds, 5 seconds, 15 seconds and 30 seconds.
- A warm water bath of 40 ° C, 50 ° C and 60 ° C for 30 and 60 seconds.
- A salt water treatment of 300 g/L both as immersion of 30 and 60 minutes and a spray were the egg packages were sprayed every 5 seconds for 15 seconds.
- An ultrasonic bath for the duration of 1 minute and 10 minutes.

There are also chemical treatments applied;

- Niclosamide (C₁₃H₈Cl₂N₂O₄) (concentrations; 1.2ppm & 12ppm).
- Niclotinilide (C₁₂H₁₀N₂O) (concentrations; 1.2ppm & 12ppm).
- Acetic acid (CH₃-COOH) (concentrations; 47.5ppm & 95ppm).
- Quicklime (CaO) (concentrations; 5,600ppm & 28,000ppm).

Each chemical treatment is performed with immersion of 30 & 60 minutes and a spray where every 5 seconds is sprayed for 2 second, 3 times. These methods were also performed on different oysters to determine whether a treatment can be used without effect on the oysters. After carrying out the treatments on the egg capsules, they are observed for 4 weeks to check whether a treatment actually works and then another week as an extra check to determine the viability of small Japanese oyster drills. The treated oysters were observed for 1 week to determine the effect of a treatment.

The results of the experiments showed that using heat to eradicate the egg capsules is the most effective treatment, however it is not guaranteed that this treatment can be applied in practice. The oysters are able to survive the same treatment, as there was a 0% mortality under the oysters that underwent this treatment. The acetic acid immersion treatment of 95ppm of an hour seems to have a positive effect on the eradication of the egg capsules, However when this treatment is applied on the oysters there is a 100% mortality under the oysters. The 1.2ppm Nicotinilide treatment seems to be an effective treatment as well in both spray and immersion. Oysters that underwent these same treatments all survived.

For a recommendation for a follow-up research is advised to study the development of the egg capsules during the breeding season to discover whether the fertilising of the egg capsules is related to temperature and/or period

SAMENVATTING

De Nederlandse oestersector wil de plaag van de Japanse oesterboorders (*Ocenebrellus Inornatus*) bestrijden die sinds 2013 de productie van Japanse oesters (*Magallana gigas*) doet afnemen. Om dit te kunnen doen moeten er zowel een literatuurstudiemethodes als nieuwe technieken ontdekt worden voor het bestrijden van deze plaag.

Het doel van dit onderzoek is het toepassen van verschillende technieken voor het bestrijden van ei-pakketten van de Japanse oesterboorder. Hiervoor is de volgende onderzoeksvraag opgesteld: 'Wat is een toepasbare methode voor de bestrijding van de ei-pakketten van Japanse oesterboorder?'. Een toepasbare methode is een methode die mogelijk toegepast kan worden op het schip en niet teveel tijd kost. Om een antwoord te kunnen geven op de onderzoeksvraag zijn er verschillende methodes toegepast op de ei-pakketten om de effectiviteit hiervan te kunnen bepalen. De methodes zijn:

- Een hitte behandeling van 2, 4, 5, 15 en 30 seconden.
- Een warm water bad van 40°C, 50°C en 60°C voor 30 en 60 seconden.
- Een zoutwater behandeling van 300 g/l zowel als een onderdompeling van 30 en 60 minuten en een spray waarbij elk ei-pakket 3 keer 2 seconden om 5 seconden werd besproeid.
- Een ultrasoon bad voor gedurende 1 minuut en 10 minuten.

Tevens zijn er behandelingen uitgevoerd met chemische stoffen, namelijk;

- Niclosamide ($C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$) (concentraties; 1.2ppm & 12ppm)
- Niclotinilide ($C_{12}H_{10}N_2O$) (concentraties; 1.2ppm & 12ppm)
- Schoonmaakazijn (CH_3-COOH) (concentraties; 47.5ppm & 95ppm)
- Ongeblust kalk (CaO) (concentraties; 5.600 ppm & 28.000 ppm)

Elke behandeling van chemische stof is uitgevoerd als onderdompeling van 30 & 60 minuten en een besproeiing waarbij elke 3 keer 2 seconden om 5 seconden wordt besproeid. Deze methodes werden ook op verschillende formaten oesters uitgevoerd om te bepalen of een behandeling invloed heeft op de ontwikkeling van de oesters. Na het uitvoeren van de behandelingen op ei-pakketten worden deze geobserveerd 4 weken om te controleren of een methode daadwerkelijk werkt en hierna nog een week als extra controle voor het bepalen van de levensvatbaarheid van kleine Japanse oesterboorders. De behandelde oester worden 1 week geobserveerd om het effect van een behandeling te bepalen.

Uit het experiment is gebleken dat de hitte behandeling het meest effectief is voor de bestrijding van de ei-pakketten, echter is het nog niet duidelijk of deze methode toepasbaar is in de praktijk. Voor dezelfde behandeling op oesters is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen. De azijnzuur behandeling door middel van onderdompeling met een concentratie van 95 ppm lijkt een positieve invloed te hebben op de bestrijding van de ei-pakketten. Echter is bij dezelfde behandeling op de oesters 100% mortaliteit waargenomen. De nicotinilide behandeling door middel van zowel de onderdompeling als de besproeiing met een concentratie van 1.2 ppm lijkt een positieve invloed te hebben op de bestrijding van de ei-pakketten. Voor dezelfde op de oesters is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

Het advies voor vervolgonderzoek is om een onderzoek naar de ontwikkeling van ei-pakketten tijdens het voortplantingsseizoen uit te voeren om te achterhalen of de bevruchting van de ei-pakketten periode- of temperatuur gerelateerd is.

INHOUDSOPGAVE

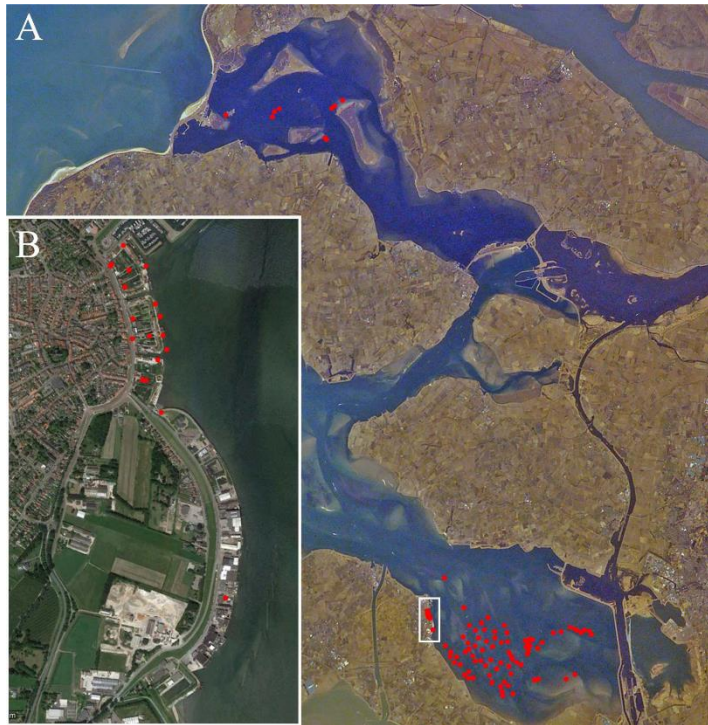
Voorwoord	3
Summary	4
Samenvatting.....	5
Inhoudsopgave	6
1. Introductie.....	1
1.1 Onderzoeksdoel.....	2
1.2 Onderzoeksvragen.....	2
1.3 Hypotheses	2
2. Theoretisch kader	3
2.1 Chemische behandeling	5
2.1.1 Niclosamide en nicotinanilide	5
3. Methode.....	6
3.1 Opstelling.....	6
3.2 Algemene informatie.....	7
3.2.1 Blanco	7
3.2.2 Ei-pakkettenobservatie	7
3.2.3 Oesterobservatie	8
3.3 Fysische behandelingen	9
3.3.1 Hitte behandeling.....	9
3.3.2 Warm water behandeling.....	9
3.3.3 Zoutwater behandeling	9
3.3.4 Ultrasoon behandeling.....	9
3.4 Chemische behandelingen	10
3.4.1 Niclosamide behandeling	10
3.4.2 Nicotinanilide behandeling.....	10
3.4.3 Azijnzuur behandeling	11
3.4.4 Ongeblust kalk behandeling	11
4. Resultaten	12
4.1 Fysische behandelingen	12
4.1.1 Ei-pakketten.....	12
4.1.2 Oesters.....	13
4.2 Chemische behandelingen	15

4.2.1	Ei-pakketten.....	15
4.2.2	Oesters.....	16
5.	Discussie.....	19
6.	Conclusie.....	20
7.	Aanbevelingen.....	20
	Referenties.....	21
	Bijlagen.....	23
	Bijlage 1: Berekeningen concentraties.....	23

1. INTRODUCTIE

De Nederlandse oestersector bestaat uit ongeveer 30 bedrijven die gezamenlijk tussen de 25 en 30 miljoen Japanse oesters (*Magallana gigas*) produceren en ruim 1 miljoen platte oesters (Taal, Bartelings, Beukers, Klok & Strietman, 2010). Binnen de Zuidwestelijke delta is de oesterkweek een belangrijk onderdeel van de Zeeuwse schelpdiersector en samen met de mosselkweek vormt dit een van de belangrijkste export producten.

De oesterkweek staat sinds een aantal jaar hevig onder druk. Dit komt door het oester herpesvirus die in dit gebied heerst sinds 2010 (Gittenberger & Engelsma, 2013) en een exoot, de Japanse oesterboorder (*Ocenebrellus inornatus*). De Japanse oesterboorder is een klein roofslakje die een gaatje boort in de schelp van een oester en het vlees van de oester op eet. De Japanse oesterboorder heeft zich sinds de laatste jaren goed weten te vestigen in de kom van de Oosterschelde, waar oesterpercelen zich bevinden. Door de grote hoeveelheden oesterboorders is er een hoog sterfte cijfer voor de oesters. Volgens Smaal et al (2016) is er een sterfte van ongeveer 50%, maar de Nederlandse Oester vereniging noemt cijfers van ruim 90% (harde cijfers voor de Zuidwestelijke Delta zijn er nog niet) .



Figuur 1 Verspreiding oesterboorders over de ZWD¹

De Japanse oesterboorder bereiken hun reproductie grootte (27 mm) na ongeveer 1 jaar. Het vrouwtje ontwikkelt haar eitjes binnenin de schelp en kan in 16 maanden 27.000 ei-pakketten afzetten (Fey et al., 2010). Een individueel bevrucht ei-pakket bevat 8 tot 10 kleine oesterboorders die na ongeveer 3 weken uitkomen met een grootte van 2mm. Hoewel de overleving van de juveniele maar 10% is, neemt de populatie sterk toe door de hoge vruchtbaarheid van de geslachtsrijpe oesterboorders (Buhle en Ruesink, 2009). Sinds 2009 is er een toename waargenomen in de activiteit van de Japanse oesterboorder en sinds 2013 is er een afname in de productie van de oesters waargenomen (Didderen en Gittenberger, 2013). De Japanse oesterboorders zijn vooral in de kom van de Oosterschelde waargenomen, maar er zijn ook waarnemingen in het Grevelingen meer en het Veerse meer (Figuur 1¹). De verspreiding van de oesterboorder is ontstaan door transporten van oesters tussen de verschillende oesterpercelen en door het gebruik van substraat materiaal afkomstig van lege schelp (TARRA) stortplaatsen. Doordat de Japanse oesterboorder geen natuurlijke vijanden heeft in de Zuidwestelijke Delta (Fey et al., 2010) en door de dikke schelp die de oesterboorder beschermd tegen lage water temperaturen van het vriespunt, kunnen de oesterboorders gemakkelijk overleven.

De Japanse oesterboorder bereiken hun reproductie grootte (27 mm) na ongeveer 1 jaar. Het vrouwtje ontwikkelt haar eitjes binnenin de schelp en kan in 16 maanden 27.000 ei-pakketten afzetten (Fey et al., 2010). Een individueel bevrucht ei-pakket bevat 8 tot 10 kleine oesterboorders die na ongeveer 3 weken uitkomen met een grootte van 2mm. Hoewel de overleving van de juveniele maar 10% is, neemt de populatie sterk toe door de hoge vruchtbaarheid van de geslachtsrijpe oesterboorders (Buhle en Ruesink, 2009). Sinds 2009 is er een toename waargenomen in de activiteit van de Japanse oesterboorder en sinds 2013 is er een afname in de productie van de oesters waargenomen (Didderen en Gittenberger, 2013). De Japanse oesterboorders zijn vooral in de kom van de Oosterschelde waargenomen, maar er zijn ook waarnemingen in het Grevelingen meer en het Veerse meer (Figuur 1¹). De verspreiding van de oesterboorder is ontstaan door transporten van oesters tussen de verschillende oesterpercelen en door het gebruik van substraat materiaal afkomstig van lege schelp (TARRA) stortplaatsen. Doordat de Japanse oesterboorder geen natuurlijke vijanden heeft in de Zuidwestelijke Delta (Fey et al., 2010) en door de dikke schelp die de oesterboorder beschermd tegen lage water temperaturen van het vriespunt, kunnen de oesterboorders gemakkelijk overleven.

¹ opdracht van Bureau Risicobeoordeling, I., Onderzoeksprogrammering, N. V. E. W., van Economische Zaken, M., Gittenberger, A., Rensing, M., Niemantsverdriet, P., ... & Stegenga, H. (2015). Soorteninventarisatie oesterputten en oesterpercelen, 2015.

1.1 ONDERZOEKSDOEL

Dit onderzoek wordt uitgevoerd in het kader van het RAAK MKB Leren “Leven met de oesterboorder” project. Doormiddel van het uitvoeren van verschillende praktische methodes in het SEA-lab van de HZ kan er mogelijk een bijdrage geleverd worden aan de oestersector voor de bestrijding van de ei-pakketten van de Japanse oesterboorder.

1.2 ONDERZOEKSVRAGEN

Voor het behalen van het onderzoeksdoel is de volgende hoofdvraag geformuleerd:

“Wat is een toepasbare methode voor de bestrijding van de ei-pakketten van Japanse oesterboorder?”

Deze hoofdvraag is onderverdeeld in de volgende deelvragen;

1. Welke eerdere bestrijdingsmethodes uit de aquacultuur sector kunnen worden toegepast?
2. Welke chemische factoren kunnen als bestrijdingsmethode toegepast worden?
3. Welke predatoren kunnen dienen als bestrijdingsmethode?

1.3 HYPOTHESES

- De hitte behandeling van 2, 4 en 5 seconden zullen de ei-pakketten van de Japanse oesterboorder vernietigen en de oesters zullen hier geen hinder van ondervinden.
- De azijnzuur behandeling met de concentraties van 47,5 ppm & 95 ppm zullen de ei-pakketten aantasten wat leidt tot de vernietiging van de ei-pakketten. Ook is de verwachting dat het azijnzuur de kalkstructuur van de oester aantast wat kan leiden tot mortaliteit van de oesters.

2. THEORETISCH KADER

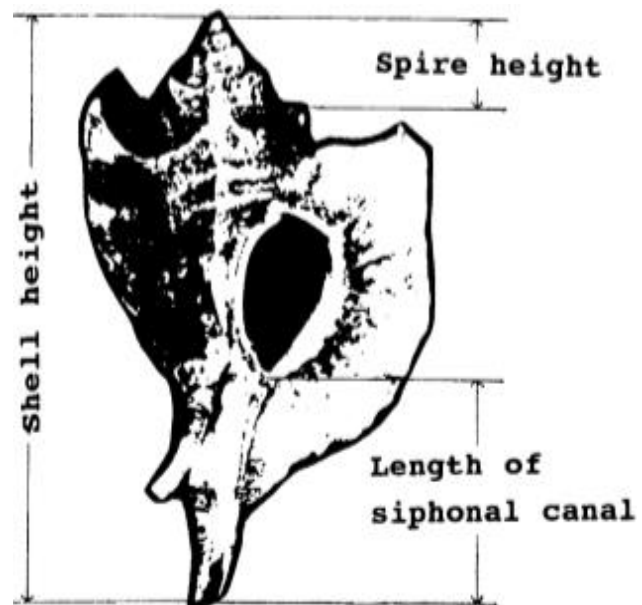
Van oudsher werd de Platte oester (*Ostrea edulis*) gekweekt in de Oosterschelde. In 1962 werd het bestand op 120 miljoen oesters geschat, met een markt productie van ongeveer 30 miljoen oesters per jaar. Door de strenge winter van 1962-1963 werd het bestand teruggebracht naar 4 miljoen (Drinkwaard, 1999). Door de massale sterfte in de winter van 1962-1963 werd in 1964 de Japanse oester (*Magallana gigas*) geïntroduceerd in de Oosterschelde (Wijsman, Dubbeldam, De Kluijver, Van Zanten, & Smaal, 2008). Het rapport van Drinkwaard (1998) veronderstelt dat er geen kans was dat de Japanse oester zich kon voortplanten in de koude wateren van de Nederlandse wateren, maar de Japanse oester heeft zich na de introductie sterk weten uit te breiden en komt nu in grote aantallen voor in de Oosterschelde (Wijsman, Dubbeldam, De Kluijver, Van Zanten, & Smaal, 2008).

De Japanse oester wordt hedendaags in de Oosterschelde, met in het bijzonder in de kom, gekweekt op kweekpercelen op de bodem, voornamelijk beneden de laagwaterlijn (Kamermans, 2017). In totaal is er 1550 ha perceelgrond verpacht, maar niet alle percelen zijn in gebruik. De kweek bestaat uit het invangen van oesterbroed met behulp van invangcollectoren zoals bijvoorbeeld lege (mossel)schelpen waarop het jonge oesterbroed zich vasthecht. Ook worden er lege schelpen voor de broedval uitgezaaid op broed-invang percelen. In een tijdbestek van circa 9 – 12 maanden wordt het broed dat zich vastgehecht heeft aan de lege schelpen opgevist en verplaatst naar percelen voor de opkweek. De opbrengst van de volwassen oesters wordt geschat op 3 miljoen kilo oesters per jaar; dit komt overeen met een geschatte bestands grootte van 10 miljoen kilo (Smaal et al, 2013).

In 2012-2014 zijn oesterbroed-invanginstallaties (OBI's) uitgetest in het Grevelingenmeer. Hierbij is gebruik gemaakt van bakens waartussen een hoofdlijn van touw is gespannen met hieraan verschillende soorten substraten zoals; sokken met mosselschelpen, sokken met kokkelschelpen en Chinese hoedjes. In andere landen, zoals bijvoorbeeld Frankrijk, wordt off-bottom technieken al toegepast, hierbij wordt het broed wordt ingevangen met PVC buizen of Chinese hoedjes (coupelles) (Smaal et al., 2016).

De oestersector in de Zuidwesterlijke delta heeft sinds een aantal jaar te kampen met een plaag van predatie door Japanse oesterboorders (*Ocenebrellus Inornatus*) (Gittenberger & Engelsma, 2013). De eerste meldingen van de Japanse oesterboorder dateren van 2007 (Faase & Ligthart, 2009), maar het is mogelijk dat de slak al langer aanwezig is en niet eerder correct is gedetermineerd (Faase & Ligthart, 2009).

De Japanse oesterboorder is een predaterende slak die van nature voorkomt in o.a. Noord China, Korea en alle zeeën rondom Japan (Lützen et al. 2012). De Japanse oesterboorder is in Europa voor het eerst gevonden langs de kust van Frankrijk in 1995, en is hier hoogstwaarschijnlijk terecht gekomen door het importeren van oesters (Didderen en Gittenberger, 2013). De Japanse oesterboorder kan een maximale schelphoogte van 47.9 mm bereiken (Figuur 2²).



Figuur 2: bouw Japanse oesterboorder²

² Amano, K., & Vermeij, G. J. (1998). Taxonomy and evolution of the genus *Ocenebrellus* (Gastropoda: Muricidae) in Japan. *Paleontological Research*, 2(3), 199-212

De Japanse oesterboorder vertoont een klein verschil in seksuele dimorfisme, hierbij is het vrouwtje groter dan het mannetje (Martel et al., 2004). De volwassen slakken bereiken hun reproductie fase (27 mm) na ongeveer 1 jaar. Tijdens het paaiseizoen van maart tot en met september komen de slakken in grote aantallen bij elkaar om te paren (Lützen et al., 2012). De vrouwelijke Japanse oesterboorder ontwikkelt haar eitjes binnenin de schelp. De eieren worden van april tot juni gelegd op hard substraat in gele ei-capsules (Buhle et al., 2004; Fey et al., 2010). De vrouwtjes produceren een cluster van 20-40 felgele ei-pakketten, die elk enkele honderden cellen, na de celdeling, bevatten (Figuur 3) (Lützen et al., 2012). Na een ontwikkelingsperiode van ongeveer 3 weken komen de ei-pakketten uit. Een individueel bevrucht ei-pakket bevat 8 tot 10 kleine oesterboorders met een grootte van 2mm (Buhle en Ruesink, 2009). Buhle et al (2004) toont aan dat juveniele oesterboorders een groeisnelheid kunnen behalen van 2 mm per maand. Martel et al (2004) hebben tijdens hun onderzoek in Frankrijk naar de Japanse oesterboorder ontdekt dat ze ook een tweede reproductie periode hebben in de herfst.



Figuur 3: uitgeknepen ei-pakket met honderden niet ontwikkelde embryo's

Het dieet van de Japanse oesterboorder bestaat uit de Japanse oester, maar hij voedt zich ook met andere tweekleppige weekdieren zoals de gewone mossel (*Mytilus Edulis*) of de kokkel (*Cerastoderma edule*). Door een gaatje te boren in de schelp van hun prooi kan de Japanse oesterboorder zich voeden met het oestervlees. Nadat het gaatje geboord is scheidt de oesterboorder spijsverteringsenzymen uit in de oester waarna de oester opgegeten kan worden. Het gehele proces kan tot 1 week duren afhankelijk van de grootte van de oester (Boersma et al., 2006).

Vanuit de praktijk van de oesterkwekers wordt gemeld dat er sinds 2013 een hoge mortaliteit optreedt onder het Japanse oesterbroed door het herpesvirus, OsHV-1. Dit virus komt vooral voorbij oesterlarven en oesterbroed (zeer kleine, jonge oesters) bij een watertemperatuur boven de 16°C (Strietman, Smaal & Bolman, 2016). De combinatie van het herpesvirus en de Japanse oesterboorder leidt nu tot een afname van de oesterproductie. De oesterproductie is in 2010 gedaald van 37 miljoen stuks tot 20 miljoen stuks in 2015 (Smaal et al., 2016). Naar schatting zullen de Japanse oesterboorders een economisch verlies tot 50% veroorzaken voor de oesterkweek in Nederland (Fey et al, 2010). Om te komen tot herstel van de oesterproductie hebben de Nederlandse Oestervereniging (NOV) en het ministerie van Economische Zaken een plan van aanpak geformuleerd om onder andere met behulp van nieuwe technieken de problemen te beheersen (NOV, 2016; Smaal et al., 2016). De nieuwe technieken bestaan uit off-bottom kweek, dit is het kweken van oesters boven de grond in bijvoorbeeld mandjes.

Didderen en Gittenberger (2013) rapporteren dat er verschillende methodes zijn getest om de ei-pakketten van de Japanse oesterboorder populatie in de Oosterschelde te verminderen. Eerder gebruikte methodes om de ei-pakketten van de Japanse oester populatie te verminderen zijn:

HANDMATIGE VERWIJDERING EI-PAKKETTEN

Het onderzoek van White (2007) suggereert dat de handmatige verwijdering van de ei-pakketten met een schroevendraaier de makkelijkste manier is om de Japanse oesterboorder populatie te verminderen. Echter wordt dit werk wel als vrij arbeidsintensief ervaren.

VERBRANDING EI-PAKKETTEN

Het uitgevoerd door Buhle et al. (2004) verondersteld dat het verbranden van de ei-pakketten van de Japanse oesterboorder een effectieve methode is om de Japanse oesterboorder populatie te verminderen. Deze methode brengt verschillende risico's met zich mee, hierbij kun je denken aan brandwonden en gevaarlijke situaties op het schip.

2.1 CHEMISCHE BEHANDELING

2.1.1 NICLOSAMIDE EN NICOTINANILIDE

De chemische stoffen niclosamide ($C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$) en nicotinanilide ($C_{12}H_{10}N_2O$) worden in India toegepast ter bestrijding van de ziekte Schistosomiasis. Deze ziekte wordt veroorzaakt door parasitaire wormen en komt bij zowel dieren als mensen voor (Engels et al., 2002). De zoetwaterslak (*Lymnaea Luteola*) heeft zich door heel India verspreid en is drager van de ziektes; *Schistosoma incognitum*, *S. nasale*, *Orientobilharzia dattae*, *Fasciola hepatica* & *F. gigantica* (Malek & Cheng, 1974; Singh & Agarwal, 1981; Jairajpuri, 1991; Agrawal et al., 2000). Uit onderzoek naar chemische behandelingen is gebleken dat het gebruik van niclosamide & nicotinanilide ter bestrijding van de slakken de beste methode is om de verspreiding van Schistosomiasis te minimaliseren (WHO 1993, DeSouza 1995).

In het onderzoek van Sukumaran, Parashar, Gupta, Jeevaratnam, & Prakash (2004) is nicotinanilide en niclosamide als bestrijdingsmiddel op de zoetwaterslak (*Lymnaea Luteola*) toegepast. In dit onderzoek zijn de onderstaande levensstadia van deze slak gebruikt voor toxiciteitsstudies:

- Eieren (0-24 uur oud)
- Eieren (72-96 uur oud)
- Onvolgroeide slakken (3-6 mm)
- Jong volwassen slakken (9-12 mm)
- Volwassenen slakken (groter dan 12 mm)

De eieren werden voor 24 uur door middel van onderdompeling blootgesteld aan oplossingen met verschillende concentraties (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1.0 ppm) niclosamide en nicotinanilide. Na de 24 uur werden de eieren voor 24 uur overgeplaatst naar zoetwater. Naast de behandelingen van de eieren zijn ook de andere levens fases (onvolgroeid, jong volwassen & volwassen) behandeld. De mortaliteit voor alle bovengenoemde levensstadia is berekend in een LC_{50} en LC_{90} (dodelijke concentratie voor 50% en 90% mortaliteit) waarde. De LC_{90} waar de voor de eieren van 0-24 uur en 72-96 uur werd respectievelijk vast gesteld op 0,71 en 0,38 ppm voor niclosamide en 0,76 en 0,70 ppm voor nicotinanilide (Sukumaran et al., 2004).

3. METHODE

Om antwoord te kunnen geven op de hoofdvraag met betrekking tot de bestrijding van de ei-pakketten van de Japanse oesterboorder zijn hieronder verschillende methodes bedacht die getest zullen worden. Het eerste deel van de methode bestaat uit het toepassen van verschillende behandelingen op de ei-pakketten om het effect hierop te kunnen visualiseren. Deze ei-pakketten werden na de behandeling voor 4 weken ter observatie naar een gesloten systeem, met beluchting, overgeplaatst. Het tweede deel van de methode bestond uit het behandelen van de oester. Tijdens deze methodes werden de oesters op dezelfde manier behandeld als de ei-pakketten om ook hier het effect van deze behandelingen op de oesters te kunnen visualiseren. De oesters werden na de behandeling voor 1 week ter observatie overgeplaatst naar een observatietank met verversing door middel van doorstroom. De opstelling en de algemene informatie over de methodes wordt hieronder verder uitgelegd.

3.1 OPSTELLING

De Japanse oesters, zonder ei-pakketten, werden na de levering opgeslagen in een opslagtank (van 100 bij 150 cm) welke belucht wordt en verversing heeft door middel van doorstroom. Het grondwater heeft een zoutgehalte van 28 g/L met een gemiddelde watertemperatuur van 12°C. Hier worden de oesters voor 2 weken gehouden om ze te kunnen laten acclimatiseren (Figuur 4 **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**). Een andere opslagtank met dezelfde dimensies wordt gebruikt als recovery na de behandelingen.

De ei-pakketten werden bij binnenkomst opgeslagen in een gesloten, beluchte systeem binnen in het SEA lab. Als er ei-pakketten bevestigd zijn op levende Japanse oesters, dan wordt de oester open gestoken en van het vlees ontdaan. Dit wordt gedaan om vervuiling van het water te minimaliseren, wat kan leiden tot een langere houdbaarheid van de ei-pakketten.



Figuur 4: oesteropslag & recovery (Sea-lab)

3.2 ALGEMENE INFORMATIE

3.2.1 BLANCO

Voor elke behandeling, voor zowel de ei-pakketten als de oesters, werd er gebruik gemaakt van een blanco die als referentie diende. De blanco, van zowel van de ei-pakketten als de oesters, werd met de behandelde ei-pakketten of oesters vergeleken om de werking van de behandelingen te kunnen valideren. De blanco werd genomen uit dezelfde batch oesters of ei-pakketten waarop de behandeling werd uitgevoerd.

3.2.2 EI-PAKKETTENOBSERVATIE

Voor elke behandeling werd er 1 stuk oesterschelp met hierop ei-pakketten gebruikt. Na elke behandeling werden de ei-pakketten afzonderlijk opgeslagen in zoutwater (28 g/L) welke individueel belucht waren (Figuur 5 **Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.**). De ei-pakketten werden na de behandeling schoongespoeld met vers grondwater zodat het rest materiaal van de behandelingen geen verdere invloed had tijdens de observatieperiode van de ei-pakketten. De watertemperatuur buiten de opslagbakjes werd door middel van een koeler/heather gehouden op 12°C en in verloop van tijd langzaam opgebracht tot 16°C om te temperatuur van Marollegat Oosterschelde te simuleren (Rijkswaterstaat, 2018). De behandelde ei-pakketten werden voor 4 weken geobserveerd om het effect van de benadelingen waar te kunnen nemen. Tijdens de observatie periode werd er een onderscheidt gemaakt tussen levensvatbare en niet levensvatbare oesterboorders. Er werd verwacht door visuele observaties dat levensvatbare oesterboorders zich over de zijkant van de opslagbakjes verspreiden, terwijl de niet levensvatbare oesterboorders op de bodem bleven liggen. Op basis hiervan werden de levensvatbare oesterboorders geteld, de oesterboorders die op de bodem lagen werden uit de opslagbakjes genomen en onder de microscoop bekeken. Wanneer deze in leven waren was er



Figuur 5: observatieopstelling ei-pakketten (Sea-lab)

duidelijk beweging te zien.

3.2.3 OESTERBESERVATIE

Het tweede deel van het onderzoek bestaat uit het bepalen van het effect van de behandelingen op de levende Japanse oester, waarbij de oesters dezelfde behandelingen ondergingen als de ei-pakketten. Elke behandeling is op 5 oesters met verschillende groottes toegepast om het effect op deze groottes te kunnen valideren. Na de behandelingen worden deze voor de observatie overgeplaatst naar de opslagtank (Figuur 4). De oesters werden na behandeling elke dag geobserveerd om het effect op de oester te bepalen (levend, dood of aantasting van de schelp). Hierbij wordt gekeken of de oesters open stonden en deze weer sluit nadat er op de schelp getikt werd. Een eventuele dode oester werd uit de tank verwijderd om vervuiling van het water tegen te gaan.

De 5 behandelde oesters werden onderverdeeld in:

- Klein (2 st.): < 7,1 cm
- Middel (2 st.): 7,1 – 10,5 cm
- Groot (1 st.): > 10,5

Er is voor de klassering gekozen om het effect van de behandeling op alle groottes oesters te kunnen bepalen.

3.3 FYSISCHE BEHANDELINGEN

3.3.1 HITTE BEHANDELING

Voor het uitvoeren van de hitte behandeling werden de ei-pakketten en de oesters individueel met behulp van een gasbrander (aardgas) met een blauwe vlam ($\pm 1100^{\circ}\text{C}$) behandeld. Hierbij werden de ei-pakketten en de oesters gedurende, 2 seconden, 4 seconden, 5 seconden, 15 seconden en 30 seconden blootgesteld aan een blauwe vlam.

3.3.2 WARM WATER BEHANDELING

Voor de warm water behandeling werden de ei-pakketten en de oesters gedurende 30 en 60 seconden ondergedompeld in warm water van 40, 50 & 60 °C. Na elke individuele behandeling werd het water op de juiste temperatuur gebracht. Na de behandeling werden de ei-pakketten en oesters afgespoeld met vers grondwater en overgeplaatst naar de opslag ter observatie.

3.3.3 ZOUTWATER BEHANDELING

3.3.3.1 ONDERDOMPELING

Tijdens de zoutwater behandeling werden de ei-pakketten en de oesters voor 30 & 60 seconden ondergedompeld in een zout waterbad van 300 g/L. Na de behandeling werden de ei-pakketten en de oesters afgespoeld met vers grondwater en overgeplaatst naar de recovery opslag ter observatie.

3.3.3.2 BESPROEIING

Tijdens de zoutwater spray behandeling van 300g/L werden de ei-pakketten en de oesters individueel drie maal voor 2 seconden om de 5 seconden met behulp van een drukspuit besproeid. Voordat de ei-pakketten en de oesters overgeplaatst werden naar de opslagtank werden deze eerst voor 60 minuten aan de lucht gehouden om zo het zoutwater in te laten werken. Hierna werden deze met vers grondwater afgespoeld en geplaatst in de opslag ter observatie

3.3.4 ULTRASOON BEHANDELING

Voor het uitvoeren van de ultrasoon behandeling werden de ei-pakketten en de oesters met behulp van ultrasone geluidsgolven (37 kHz) behandeld. De ei-pakketten werden in een ultrasone unit apart van de oesters ondergedompeld voor gedurende 1 en 10 minuten blootgesteld aan ultrasone geluidsgolven van 37 kHz. Na het uitvoeren van de ultrasoon behandelingen werden de oesters en ei-pakketten overgeplaatst naar de opslag ter observatie

3.4 CHEMISCHE BEHANDELINGEN

3.4.1 NICLOSAMIDE BEHANDELING

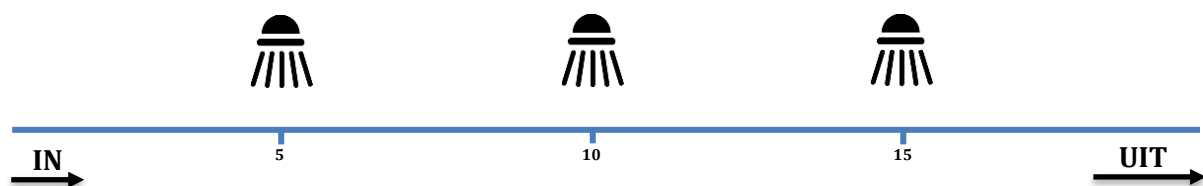
Voor de Niclosamide behandeling werd er een niclosamide-oplossing gemaakt met concentraties van 1.2 & 12 ppm (Bijlage 1: Berekeningen concentraties). De ei-pakketten en de oesters werden tijdens deze proef op de volgende manieren behandeld:

3.4.1.1 ONDERDOMPELING

Met de onderdompeling werden ei-pakketten en oesters voor gedurende 30 of 60 minuten individueel ondergedompeld in een niclosamide bad met de twee concentraties (1.2 ppm & 12 ppm). De ei-pakketten en de oesters werden na de behandeling uit de oplossingen gehaald en afgespoeld waarna ze ter recovery waren overgeplaatst.

3.4.1.2 BESPROEIING

Voor de besproei behandeling werden ei-pakketten en de oesters besproeid met een concentratie van 1.2 ppm en hierop volgend werden er andere ei-pakketten en oesters besproeid met een concentratie van 12 ppm. De ei-pakketten en de oesters werden drie maal 2 seconden om de 5 seconden met behulp van een drukspuit besproeid en voordat ze hierna overgeplaatst werden naar de opslagtanks werden ze voor 60 minuten buiten het water gehouden om zo de niclosamide in te kunnen laten werken op de ei-pakketten en de oesters (Figuur 6).



Figuur 6: schematische opstelling besproei behandeling

3.4.2 NICOTINANILIDE BEHANDELING

Voor de nicotinanilide behandeling werd er een nicotinanilide-oplossing gemaakt met concentraties van 1.2 & 12 ppm (Bijlage 1: Berekeningen concentraties). De ei-pakketten en de oesters zijn op dezelfde manier behandeld als de behandeling met behulp van Niclosamide.

3.4.3 AZIJNZUUR BEHANDELING

Voor de azijnzuur (CH_3COOH) behandeling werd er gebruik gemaakt van schoonmaakazijn met een azijnzuur concentratie van 47.5 ppm (4,75%) en 95 ppm (9,5%). De ei-pakketten en de oesters werden tijdens dit experiment op de volgende manieren behandeld:

3.4.3.1 ONDERDOMPELING

Tijdens de onderdompelingen in schoonmaakazijn werden ei-pakketten en oesters voor gedurende 30 of 60 minuten ondergedompeld in schoonmaakazijn met een concentratie van 47.5ppm en een concentratie van 95ppm. De ei-pakketten en de oesters werden na de behandeling uit de oplossingen gehaald en afgespoeld met vers grondwater waarna ze naar de opslagtank werden overgeplaatst ter observatie.

3.4.3.2 BESPROEIING

Tijdens de azijnzuur spray werden ei-pakketten en de oesters besproeid met schoonmaakazijn met concentraties van 47.5 of 95 ppm. De ei-pakketten en de oesters werden drie maal 2 seconden om de 5 seconden met behulp van een drukspuit besproeid en voordat ze hierna overgeplaatst werden naar de opslagtanks voor observatie, werden ze voor 60 minuten aan de lucht gehouden om zo de azijnzuur in te kunnen laten werken op de ei-pakketten en de oesters (Figuur 6).

3.4.4 ONGEBLUST KALK BEHANDELING

Voor de ongebluste kalk behandelingen zijn er twee ongebluste kalk (CaO) oplossing gemaakt met concentraties van 5600 ppm of 28.000 ppm (Bijlage 1: Berekeningen concentraties). Deze oplossingen zijn direct toegepast op de ei-pakketten en de oesters. De ei-pakketten en de oesters waren tijdens deze proef op de volgende manieren behandeld:

3.4.4.1 ONDERDOMPELING

Tijdens de onderdompelingen werden ei-pakketten en oesters voor gedurende 30 of 60 minuten ondergedompeld in een ongeblust kalk bad met een concentratie van 5600 ppm of 28.000 ppm. De ei-pakketten en oesters werden na de behandeling afgespoeld met vers grondwater waarna ze naar de opslagtanks waren overgeplaatst ter observatie.

3.4.4.2 BESPROEIING

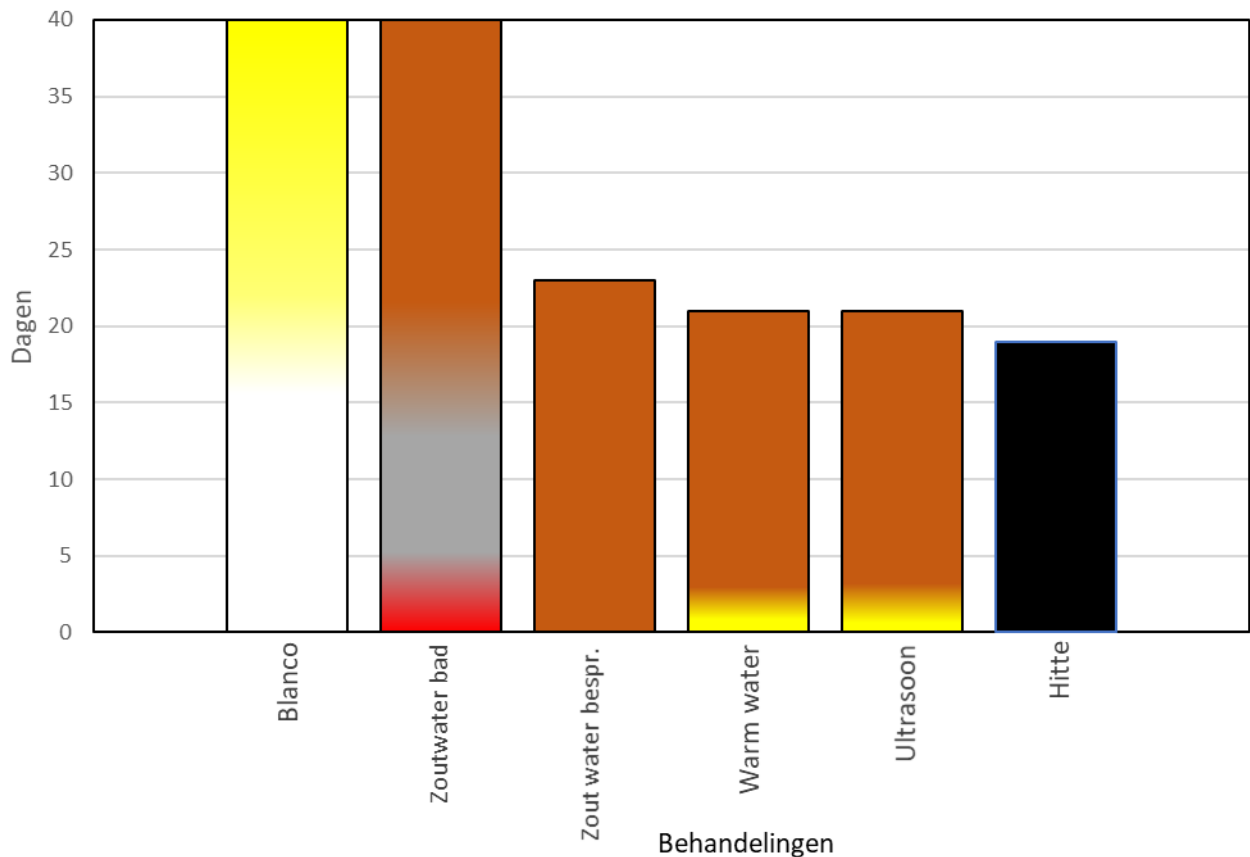
Tijdens de eerste besproei behandeling werden de ei-pakketten en de oesters besproeid met een ongeblust kalk oplossing met een concentratie van 5600 ppm. Hierna werd de tweede behandeling uitgevoerd op de ei-pakketten en de oesters met een ongeblust kalk oplossing met een concentratie van 28.000 ppm. De ei-pakketten en de oesters werden drie maal 2 seconden om de 5 seconden met behulp van een drukspuit besproeid en voordat ze hierna overgeplaatst werden naar de opslagtanks ter observatie, werden ze voor 60 minuten aan de lucht gehouden om zo het ongebluste kalk in te kunnen laten werken (Figuur 6).

4. RESULTATEN

4.1 FYSISCHE BEHANDELINGEN

4.1.1 EI-PAKKETTEN

Figuur 7: fysische behandelingen kleurveranderingen ei-pakketten. Figuur 7 geeft de visuele kleurverandering van de behandelde ei-pakketten weer. Op dag 0 zijn de ei-pakketten geleverd. Op deze dag is direct de zoutwater behandeling uitgevoerd. De andere behandelingen zijn later uitgevoerd



Figuur 7: fysische behandelingen kleurveranderingen ei-pakketten

met ei-pakketten uit dezelfde batch.

4.1.1.1 BLANCO

Figuur 7 toont de kleurverandering van elke blanco in verloop van tijd. De ei-pakketten van de blanco verkleuren na ongeveer 20 dagen net als alle niet behandelde ei-pakketten van een witgele kleur naar een donkere kleur geel.

4.1.1.2 ZOUTWATER BEHANDELING

De eerste dagen na het onderdompelen in zoutwater (300 g/L) kleurden de ei-pakketten rood. Hierna veranderde de kleur langzaam naar grijs. Bij de behandelde ei-pakketten door middel van besproeiing is er geen duidelijke (kleur)verandering waargenomen.

4.1.1.3 WARM WATER BEHANDELING

Er is geen duidelijke (kleur)verandering waargenomen bij de behandelde ei-pakketten door middel van onderdompeling in warm water bij temperaturen van 40°C, 50°C en 60°C.

4.1.1.4 ULTRASOON BEHANDELING

Er is geen duidelijke (kleur)verandering waargenomen bij de behandelde ei-pakketten door middel van ultrasone geluidsgolven.

4.1.1.5 HITTE BEHANDELING

Bij de ei-pakketten die voor 2 en 4 seconden bloot gesteld zijn aan de blauwe vlam is ongeveer 50% verbrandt. Ei-pakketten die voor 5, 15 en 30 seconden zijn blootgesteld aan de blauwe vlam is 100% verkoolt waardoor er geen levensvatbare oesterboorders meer uit kunnen komen. Tijdens deze behandelingen sprong het vocht met hierin de nog niet ontwikkelde oesterboorders uit het ei-pakket waardoor er lege ei-pakketten overbleven.

4.1.2 OESTERS

Figuur 8 toont het voorbeeld van de overlevingsgrafiek van de fysisch behandelde oesters. Deze grafiek geeft de overleving, 100%, van de oesters van alle uitgevoerde fysische behandelingen weer.



Figuur 8: voorbeeld overlevingsgrafiek oesters fysische behandelingen

4.1.2.1 WARM WATER BEHANDELING

Voor de behandeling van 30 seconden en 60 seconden bij 40, 50°C en 30 seconden bij 60°C is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen. Bij de behandeling van 60 seconden bij 60°C is er 40% mortaliteit waargenomen (Figuur 9).



Figuur 9: Overlevingsgrafiek oesters warm water behandeling van 60°C voor 60 seconden

4.1.2.2 ZOUTWATER BEHANDELING

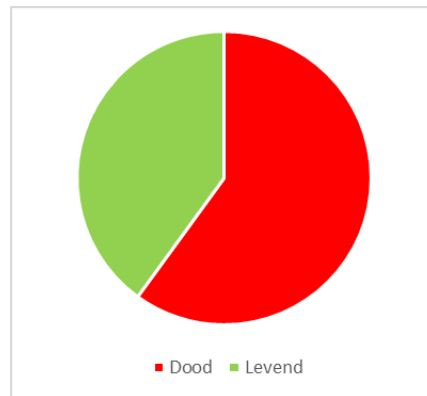
Na zowel de onderdompeling van 60 minuten als de besproeiing met concentratie van 300 g/L is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

4.1.2.3 ULTRASOON BEHANDELING

Na de ultrasoon behandeling is er bij zowel de behandeling van 1 minuut als de behandeling van 10 minuten 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

4.1.2.4 HITTE BEHANDELING

Fout! Verwijzingsbron niet gevonden. toont dat bij de behandeling op de oesters bij 30 seconden 60% mortaliteit is waargenomen. Na de hitte behandeling van 2, 4, 5 en 15 seconden is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

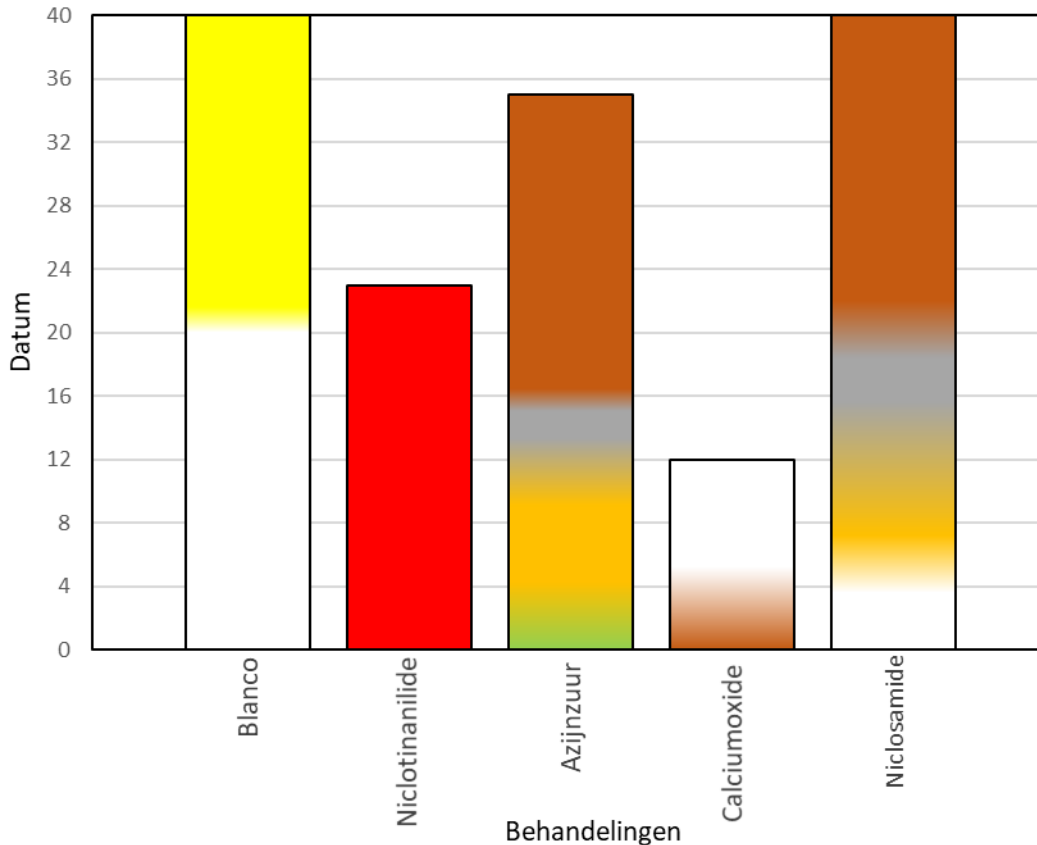


Figuur 10 mortaliteit oesters hitte 30 seconden

4.2 CHEMISCHE BEHANDELINGEN

4.2.1 EI-PAKKETTEN

Figuur 11 geeft de visuele kleurverandering van de behandelde ei-pakketten weer. Op dag 0 zijn de ei-pakketten geleverd. Op deze dag is direct de niclosamide behandeling uitgevoerd. De andere behandelingen zijn later uitgevoerd met ei-pakketten uit dezelfde batch.



Figuur 11: chemische behandelingen kleurveranderingen ei-pakketten

4.2.1.1 BLANCO

Figuur 11 toont de kleurverandering van elke blanco in verloop van tijd. De ei-pakketten van de blanco verkleuren net als alle niet behandelde ei-pakketten van een witgele kleur naar een donkere kleur geel.

4.2.1.2 NICOTINANILIDE BEHANDELING

De eerste dag na de behandeling, zowel de onderdompeling als de besproeiing van de ei-pakketten met concentraties van 1.2 ppm en 12 ppm, is er binnen een dag (kleur)verandering van de ei-pakketten waargenomen. De behandelde ei-pakketten kleurden van een witgele kleur naar een rode kleur.

4.2.1.3 AZIJNZUUR BEHANDELING

Na de behandeling van zowel de onderdompeling als de besproeiing van de ei-pakketten met concentraties van 47.5 ppm en 95 ppm is er over de gehele periode van 40 dagen (kleur)verandering van de ei-pakketten waargenomen. De eerste dag na de behandelingen kleurden de ei-pakketten geel, hierna veranderde de kleur van de ei-pakketten naar een oranje/gele kleur waarna ze direct weer grijzer werden.

4.2.1.4 ONGEBLUST KALK BEHANDELING

Na de behandeling van zowel de onderdompeling als de besproeiing van de ei-pakketten met concentraties van 5600 ppm en 28.00 ppm is er na 4 dagen (kleur)verandering van de ei-pakketten waargenomen. De ei-pakketten werden na de behandelingen wit van kleur.

4.2.1.5 NICLOSAMIDE BEHANDELINGEN

De eerste dag na de behandeling, zowel de onderdompeling als de besproeiing van de ei-pakketten met concentraties van 1.2 ppm en 12 ppm, is er direct (kleur)verandering van de ei-pakketten waargenomen. De ei-pakketten kleurden na 4 dagen oranje/geel, in de dagen hierna veranderde deze langzamerhand naar een grijze kleur.

4.2.2 OESTERS

Figuur 12 toont het voorbeeld van de overlevingsgrafiek van de chemisch behandelde oesters. Deze grafiek geeft de overleving van de oesters van onderstaande 3 uitgevoerde chemische behandelingen weer.



Figuur 12: voorbeeld overlevingsgrafiek oesters chemische behandelingen

4.2.2.1 NICLOSAMIDE BEHANDELING

Na de onderdompeling van 60 minuten in een concentratie van zowel 1.2 ppm als 12 ppm is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

Na de besproeiing met een concentratie van zowel 1.2 ppm als 12 ppm is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

4.2.2.2 NICOTINANILIDE BEHANDELING

Na de onderdompeling van 60 minuten in een concentratie van zowel 1.2 ppm als 12 ppm is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

Na de besproeiing met een concentratie van zowel 1.2 ppm als 12 ppm is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

4.2.2.3 ONGEBLUST KALK BEHANDELING

Na de onderdompeling van 60 minuten in een concentratie van zowel 5600 ppm als 28.000 ppm is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen. Na de besproeiing met een concentratie van zowel 5600 ppm als 28.000 ppm is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

4.2.2.4 AZIJNZUUR BEHANDELING

Figuur 14 & Figuur 13 tonen de mortaliteit van de oesters na de azijnzuur behandeling. Na de onderdompeling van 60 minuten in een concentratie van 95 ppm azijnzuur is er 100% mortaliteit van de oesters waargenomen. Na de onderdompeling van 30 minuten in een concentratie van 95 ppm azijnzuur is er 40% mortaliteit van de oesters waargenomen.



■ Dood ■ Levend

Figuur 14: mortaliteit oesters azijnzuur onderdompeling (95 ppm, 60 min.)



■ Dood ■ Levend

Figuur 13: mortaliteit oesters azijnzuur onderdompeling (95 ppm, 30 min.)

Figuur 15 toont de mortaliteit van de azijnzuur behandeling. Na de onderdompeling van 60 minuten in een concentratie van 47.5 ppm azijnzuur is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.



■ Dood ■ Levend

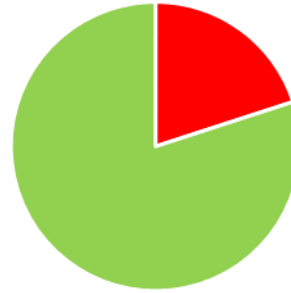
Figuur 15: mortaliteit oesters azijnzuur onderdompeling (47.5 ppm, 60 min.)

Figuur 17 & Figuur 16 tonen de mortaliteit van de oesters na de azijnzuur behandeling. Na de besproeiing met een concentratie van 95 ppm azijnzuur is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen. Na de besproeiing met een concentratie van 47.5 ppm azijnzuur is er 20% mortaliteit van de oesters waargenomen.



■ Dood ■ Levend

Figuur 17: mortaliteit oesters azijnzuur besproeiing (95 ppm)



■ Dood ■ Levend

Figuur 16: mortaliteit oesters azijnzuur besproeiing (47.5 ppm)

5. DISCUSSIE

Voor dit onderzoek zijn er 8 verschillende behandelingen toegepast om de ei-pakketten van de Japanse oesterboorder (*Ocenebrellus Inornatus*) te bestrijden. De behandelingen zijn uitgevoerd op zowel de ei-pakketten als op de Japanse oester (*Magallana gigas*) om het effect van de behandelingen op beide te kunnen testen.

Uit de resultaten is gebleken dat er na 6 weken nog steeds geen ei-pakketten van de Japanse oesterboorder uitgekomen zijn, dit geldt voor zowel voor de blanco's als voor de behandelde ei-pakketten. De verwachting is dat een individueel ei-pakket na ongeveer 3 weken uitkomt waarbij juveniele oesterboorders ontstaan (Buhle en Ruesink, 2009).

Doordat de blanco hetzelfde resultaten geven is een mogelijke verklaring voor dit resultaat is dat de ei-pakketten door de vrouwelijke oesterboorder onbevruucht zouden kunnen zijn. Lützen et al. (2012) beschrijft dat elk ei-pakket enkele honderden cellen, na de celdeling, bevat. Door observaties tijdens het onderzoek door middel van het uitknippen van ei-pakketten en deze met behulp van een microscoop te bekijken, is er in verloop van tijd geen verdere ontwikkeling van de cellen na de celdeling waargenomen.

Een andere verklaring zou kunnen zijn dat de eerste weken/maanden van het voortplantingsseizoen de ei-pakketten meestal onbevruucht zijn en dat afhankelijk van de temperatuur de paaiperiode eerder of later begint. Hierdoor zou het zo kunnen zijn dat een vrouwelijke oesterboorder onbevruuchte ei-pakketten afzet.

De ei-pakketten zijn bij binnenkomst opgeslagen in een gesloten systeem, ook zijn er in de opslagtanks geen ei-pakketten uitgekomen na 6 weken. Het zou kunnen zijn dat de dichtheid van de hoeveelheid ei-pakketten te maken zou kunnen hebben met de ontwikkeling van ei-pakketten.

Door de behandeling met calciumoxide op de oesters, zou de marktwaarde van deze oesters mogelijk kunnen stijgen. Dit omdat de oesters een wittere kleur hebben gekregen en schoner uitzien dan de niet behandelde oesters.

Het huidige onderzoek is uitgevoerd na literatuurstudie over de Japanse oesterboorder. Hierbij is er met name gekeken naar de ei-pakketten van deze slak. Aan de hand van dit onderzoek zou het interessant kunnen zijn als de oesterkweekers de opgeviste ei-pakketten tijdens het gehele voortplantingsseizoen bestuderen. Hierbij zou er gekeken kunnen worden naar onder andere wanneer en bij welke temperatuur de ei-pakketten op de oesterpercelen verschillen van kleur en wanneer deze uitkomen.

6. CONCLUSIE

In dit onderzoek is gezocht naar een antwoord op de vraag: 'Wat is een toepasbare methode voor de bestrijding van de ei-pakketten van Japanse oesterboorder?'.

Uit de resultaten naar de uitgevoerde behandelingen op de ei-pakketten is gebleken dat de hitte behandeling van 5 seconden in een blauwe ruisende vlam van $\pm 1300^{\circ}\text{C}$ het meeste effect heeft op het bestrijden van de ei-pakketten. Na dezelfde behandeling op de oesters is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen. Uit dit onderzoek is gebleken dat de hitte behandeling het meest effectief is voor de bestrijding van de ei-pakketten, echter is het nog niet duidelijk of deze methode toepasbaar is in de praktijk.

De azijnzuur behandeling door middel van onderdompeling met een concentratie van 95 ppm lijkt een positief effect te hebben op de bestrijding van de ei-pakketten. Deze ei-pakketten zijn na de behandeling zodanig verkleurd van witgeel naar grijs dat er verwacht wordt dat deze zodanig aangetast zijn dat hier geen levensvatbare oesterboorders uit voort kunnen komen. Echter is bij dezelfde behandeling op de oesters 100% mortaliteit waargenomen.

De nicotinanilide behandeling door middel van zowel de onderdompeling als de besproeiing met een concentratie van 1.2 ppm lijkt een positief effect te hebben op de bestrijding van de ei-pakketten. Deze ei-pakketten zijn na de behandeling zodanig verkleurd van witgeel naar rood dat er verwacht wordt dat deze zodanig aangetast zijn dat hier geen levensvatbare oesterboorders uit voort kunnen komen. Na dezelfde op de oesters is er 0% mortaliteit van de oesters waargenomen.

7. AANBEVELINGEN

Het advies voor vervolgonderzoek is om een onderzoek naar de ontwikkeling van ei-pakketten tijdens het voortplantingsseizoen uit te voeren om te achterhalen of de bevruchting van de ei-pakketten periode- of temperatuur gerelateerd is.

Na dit onderzoek dient er een onderzoek opgezet te worden om deze behandeling toe te kunnen passen aan boord van een schip. Hierbij dient er rekening te worden gehouden met kosten, veiligheid en ruimte.

REFERENTIES

- Amano, K., & Vermeij, G. J. (1998). Taxonomy and evolution of the genus *Ocenebrellus* (Gastropoda: Muricidae) in Japan. *Paleontological Research*, 2(3), 199-212.
- Agrawal, M. C., Gupta, S., & George, J. (2000). Cercarial dermatitis in India. *Bulletin of the World Health Organization*, 78(2), 278-278.
- Babaran, D. (2017). Japanese oyster drills (*Ocenebrellus inornatus*): exploring prey size and species preference in the Netherlands. Vlissingen.
- Boersma, P. D., Reichard, S. H., & Van Buren, A. N. (2006). *Invasive species in the Pacific Northwest*. University of Washington Press.
- Buhle, E. R., Margolis, M., & Ruesink, J. L. (2004). Bang for buck: cost-effective control of invasive species with different life histories. *Ecological Economics*, 52(3), 355-366.
- Buhle, E. R., & Ruesink, J. L. (2009). Impacts of invasive oyster drills on Olympia oyster (*Ostrea lurida* Carpenter 1864) recovery in Willapa Bay, Washington, United States. *Journal of Shellfish Research*, 28(1), 87-96.
- Cole, H. (1942). The American whelk tingle, *Urosalpinx cinerea* (Say), on British oyster beds. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 25(03), p.477.
- Dankers, N. M. J. A., Dijkman, E. M., De Jong, M. L., De Kort, G., & Meijboom, A. (2004). *De verspreiding en uitbreiding van de Japanse Oester in de Nederlandse Waddenzee* (No. 909). Alterra.
- Didderen, K., & Gittenberger, A. (2013). Distribution and risk analysis of the American and Japanese oyster drill (*Urosalpinx cinerea*, *Ocenebra inornata*) update 2013. Bureau Waardenburg report, (13-203), 76.
- Drinkwaard, A. C. (1998). Introductions and developments of oysters in the North Sea area: a review. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 52(3), 301.
- Engels D, Chitsulo L, Montresor A, Savioli L 2002. The global epidemiological situations of schistosomiasis and new approach to control and research. *Acta Trop* 82: 139-146.
- Faasse, M., & Ligthart, M. (2009). American (*Urosalpinx cinerea*) and Japanese oyster drill (*Ocenebrellus inornatus*)(Gastropoda: Muricidae) flourish near shellfish culture plots in The Netherlands. *Aquatic Invasions*, 4(2), 321-326.
- Fey, F., van den Brink, A. M., Wijsman, J. W. M., & Bos, O. G. (2010). Risk assessment on the possible introduction of three predatory snails (*Ocenebrellus inornatus*, *Urosalpinx cinerea*, *Rapana venosa*) in the Dutch Wadden Sea. *Risk assessment on the possible introduction of three predatory snails (Ocenebrellus inornatus, Urosalpinx cinerea, Rapana venosa) in the Dutch Wadden Sea*.
- Gittenberger, A., & Engelsma, M. Y. (2013). *Oesterherpesvirus OsHV-1 μ var in de Waddenzee (No. 2013_04)*. GiMaRIS.
- Jairajpuri MS 1991. Snails, Flukes, and Man, Zoological Survey, India 60 pp.

- Lützen, J., Faasse, M., Gittenberger, A., Glenner, H., & Hoffmann, E. (2012). The Japanese oyster drill *Ocenebrellus inornatus* (Récluz, 1851)(Mollusca, Gastropoda, Muricidae), introduced to the Limfjord, Denmark. *Aquatic Invasions*, 7(2).
- Malek EA, Cheng TC 1974. *Medical and Economic Malacology*, Academic Press, New York and London, 398 pp.
- Martel, C., Guarini, J. M., Blanchard, G., Sauriau, P. G., Trichet, C., Robert, S., & Garcia-Meunier, P. (2004). Invasion by the marine gastropod *Ocenebrellus inornatus* in France. III. Comparison of biological traits with the resident species *Ocenebra erinacea*. *Marine Biology*, 146(1), 93-102.
- Mueller, K. W., & Hoffmann, A. (1999). Effect of freshwater immersion on attachment of the Japanese oyster drill, *Ceratostoma inornatum* (Recluz 1851). *Journal of Shellfish Research*, 18(2), 597-600.
- Rijkswaterstaat (2018). Temperatuur Oppervlakte water °C Marollegat. Beschikbaar op: [https://waterinfo.rws.nl/#/details/expert/Watertemperatuur/Marollegat-\(o\)\(MRGo\)/Temperatuur_20Oppervlaktewater_20oC](https://waterinfo.rws.nl/#/details/expert/Watertemperatuur/Marollegat-(o)(MRGo)/Temperatuur_20Oppervlaktewater_20oC) (geraadpleegd op 14 mei, 2018)
- Smaal, A. C., Kamermans, P., & Strietman, W. J. (2016). Kennis-en onderzoeksagenda voor de Nederlandse oestersector (No. C057/16). IMARES.
- Schreier, T. M., Dawson, V. K., Choi, Y., Spanjers, N. J., & Boogaard, M. A. (2000). Determination of niclosamide residues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillet tissue by high-performance liquid chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(6), 2212-2215.
- Singh O, Agarwal RA 1981. Toxicity of certain pesticides to two economic species of snail in northern India. *J Econ Entomol* 74: 568-571.
- Souza, C. P. D. (1995). Molluscicide control of snail vectors of schistosomiasis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90(2), 165-168.
- Strietman, W. J., Smaal, A., & Bolman, B. (2016). Economische situatie van de oestersector. *Potentiele impact van herpesvirus in oesters en Japanse oesterboorder op de oestersector*. Quickscan, LEI.
- Sukumaran, D., Parashar, B. D., Gupta, A. K., Jeevaratnam, K., & Prakash, S. (2004). Molluscicidal effect of nicotinilide and its intermediate compounds against a freshwater snail *Lymnaea luteola*, the vector of animal schistosomiasis. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 99(2), 205-210.
- Wijsman, J. W. M., Dubbeldam, M., De Kluijver, M. J., Van Zanten, E., & Smaal, A. C. (2008). *Wegvisproef Japanse oesters in de Oosterschelde: eindrapportage* (No. C063/08). IMARES.
- World Health Organization. (1993). The control of schistosomiasis: second report of the WHO Expert Committee999 [meeting held in Geneva from 8-15 November 1991].

BIJLAGEN

BIJLAGE 1: BEREKENINGEN CONCENTRATIES

$$\frac{\text{Aantal gram}}{\text{Molaire massa}} = \text{Aantal mol}$$

Niclosamide

Molmassa ($\text{C}_{13}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_4$): 327.12 g/mol

Berekening:

$$\frac{0.0012 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{327.12 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0.00000367 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 0.00367 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$$

$$12 \text{ ppm} = 12 \text{ mg/L} = 0.012 \text{ g/L}$$

Berekening:

$\frac{0.012 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{327.12 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0.0000367 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 0.0367 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$
--

Nicotinanilide

Molmassa ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$): 198.22 g/mol

Berekening:

$$\frac{0.0012 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{198.22 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0.00000605 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 0.00605 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$$

$$12 \text{ ppm} = 12 \text{ mg/L} = 0.012 \text{ g/L}$$

Berekening:

$$\frac{0.012 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{198.22 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0.0000605 \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 0.0605 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$$

Ongeblust kalk

Molmassa (CaO): 56.08 g/mol

Berekening

$$5600 \text{ ppm} = 5600 \text{ mg/L} = 5.6 \text{ g/L}$$

$$\frac{5.6 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{56.08 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0.1 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Berekening

$$28.000 \text{ ppm} = 28.000 \text{ mg/L} = 28 \text{ g/L}$$

$$\frac{28 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{56.08 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0.5 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$