

# Kokkelsterfte in de Oosterschelde, juni 2010

Anneke van den Brink<sup>1</sup>, Karin Troost<sup>1</sup>, Marc Engelsma<sup>2</sup>, Tom Ysebaert<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IMARES, <sup>2</sup> CVI

Rapport C101/10



## IMARES Wageningen UR

(IMARES - institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Opdrachtgever: Mevr. Gieta Mahabir  
Ministerie LNV, Directie Agroketens en Visserij  
Postbus 20401  
2500 EK Den Haag  
BO-12.04-001-005 gunning "H-AKV-090 Kokkelsterfte"

Publicatiedatum: 20 september 2010

**IMARES** is:

- een onafhankelijk, objectief en gezaghebbend instituut dat kennis levert die noodzakelijk is voor integrale duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van de zee en kustzones;
- een instituut dat de benodigde kennis levert voor een geïntegreerde duurzame bescherming, exploitatie en ruimtelijk gebruik van zee en kustzones;
- een belangrijke, proactieve speler in nationale en internationale mariene onderzoeksnetwerken (zoals ICES en EFARO).

© 2010 IMARES Wageningen UR

IMARES is onderdeel van Stichting DLO,  
geregistreerd in het Handelsregister  
nr. 09098104,  
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

A\_4\_3\_1-V10.0

# Inhoudsopgave

Inhoudsopgave .....	3
Samenvatting .....	5
1. Inleiding.....	7
2. Kennisvraag.....	7
3. Methoden .....	8
Omvang van de sterfte .....	8
Aanwezigheid van Parasieten .....	10
Vers preparaat.....	10
Histologisch preparaat .....	10
Leeftijd 11	
Ingraafsnelheid .....	11
Toestand van de gonaden .....	12
Conditie van de Kokkels .....	12
Bemonstering Waddenzee .....	12
4. Resultaten .....	13
Omvang van de sterfte .....	13
Aanwezigheid van Parasieten .....	14
Leeftijd en lengte .....	17
Ingraafsnelheid .....	18
Toestand van de gonaden .....	21
Kokkel Conditie.....	22
Bemonstering Waddenzee .....	23
5. Discussie.....	24
Omvang van de sterfte .....	24
Aanwezigheid van Parasieten .....	25
Aanwijzingen voor fysieke verzwakking .....	26
Ingraafsnelheden.....	26
Lengte en leeftijd .....	26
Toestand van de gonaden.....	27
Conditie27	
Temperatuur effect .....	27

	Voedselaanbod .....	28
	Kokkelsterfte in het buitenland .....	28
	Vergelijking met de Waddenzee .....	29
6.	Conclusies .....	30
	Omvang van de sterfte .....	30
	Oorzaak van de sterfte .....	30
	Beantwoording van de kennisvragen.....	30
	Hoe uitzonderlijk is de waargenomen sterfte? .....	31
	Aanbevelingen .....	31
7.	Dankwoord .....	32
8.	Kwaliteitsborging .....	33
9.	Referenties .....	34
	Verantwoording .....	36
	Appendix.....	37

# Samenvatting

De kokkel (*Cerastoderma edule*) is één van de meest voorkomende schelpdiersoorten in de Nederlandse kustwateren. Kokkels leven ingegraven in het sediment en vormen een belangrijke voedselbron voor doortrekkende en overwinterende vogels (bijv. Scholekster) en een gezond kokkelbestand is van belang voor de kokkelvisserij.

Op 15 juni 2010 is door medewerkers van Rijkswaterstaat grote kokkelsterfte (*Cerastoderma edule*) gemeld bij de Slikken van de Dortsman (Stavenisse) in de Oosterschelde. Een veldbezoek op 17 juni 2010 door medewerkers van IMARES bevestigde deze sterfte. Verspreid over een groot gebied werden tienduizenden kokkels dood aangetroffen op het sediment oppervlak met het vlees nog aanwezig in de schelp. Een eerste onderzoek door het CVI gaf aan dat kokkels van de locatie Slikken van de Dortsman zwaar geïnfecteerd waren met een aantal soorten trematoden, zowel qua prevalentie (aantallen kokkels in de partij) als intensiteit (aantallen parasieten per kokkel). In hoofdzaak konden vier soorten trematoden worden onderscheiden: *Bucephalus minimus* en *Gymnophallus choledochus* in de ingewanden, *Himastla* species in mantel en voet, en *Parvatrema minutus* in een cyste nabij het slot van de kokkel.

In overleg met LNV werd besloten tot het opstarten van een verkennend onderzoek (Helpdesk vraag) of (1) kokkelsterfte op meerdere plaatsen in de Oosterschelde voorkwam en (2) in hoeverre parasitaire infecties de oorzaken waren van de kokkelsterfte. Voor *B. minimus* en *G. choledochus* is de kokkel de eerste tussengastheer en een infectie met deze parasieten kan resulteren in sterfte op populatie niveau. Hoewel de prevalentie en intensiteit van infectie van trematoden met de kokkel als tweede tussengastheer (*Himastla* species en *P. minutus*) zeer hoog kan zijn worden over het algemeen infecties met deze soorten minder gezien als een probleem voor de kokkels.

Eind juni 2010 werden in het kader van dit onderzoek acht locaties bezocht in de Oosterschelde. Op alle locaties werden meerdere kokkels op het sedimentoppervlak aangetroffen, maar de omvang van de sterfte was duidelijk lager dan tijdens de eerste waarneming. Op een aantal locaties (Slikken van de Dortsman, Viane, Kats, Krabbenkreek en Vondelingenplaat) werden naast levende ook dode kokkels aangetroffen, terwijl op de Roggenplaat en het slik nabij de Bergse Diepsluis enkel levende kokkels op het sedimentoppervlak werden aangetroffen. Verder werden er op alle locaties nog levende kokkels waargenomen die op normale wijze ingegraven zaten in het sediment.

Om de onderzoeksvragen te beantwoorden werd op een aantal locaties de dichtheid bepaald van de kokkels die aan het oppervlak lagen. Daarnaast werden op alle locaties zowel levende kokkels die op het sedimentoppervlak lagen ("oppervlak kokkels") als nog ingegraven kokkels ("ingegraven kokkels") verzameld en naar het laboratorium gebracht. In het lab werden voor beide groepen de volgende parameters bepaald: ingraafsnelheid, toestand van gonaden, lengte, leeftijd en aanwezigheid van parasieten. Na melding van kokkelsterfte in de Waddenzee werden ook daar monsters genomen op twee locaties en geanalyseerd op aanwezigheid van parasieten.

De dichtheden van kokkels aan het sedimentoppervlak waren einde juni op alle locaties laag (1-5 ind.m<sup>2</sup>). Aangezien op de Slikken van de Dortsman op 2 verschillende data, met een tussenpoos van 2 weken, dode kokkels met het vlees nog in de schelp werden aangetroffen, zal de sterfte waarschijnlijk over een periode van ten minste 2 weken hebben aangehouden. Omdat het bij de kwantificering van de kokkelsterfte om één momentopname ging is het niet mogelijk een uitspraak te doen over de totale kokkelsterfte die is opgetreden in de maand juni en eventueel daarna. Uit onderzoek in het kader van Evall blijkt dat natuurlijke kokkelsterfte in de zomer in de Oosterschelde kan variëren van 11% tot 58%. Of de zomersterfte van 2010, inclusief de sterfte die hier wordt beschreven, binnen deze range ligt, viel niet binnen de doelstelling van dit onderzoek en is met de verkregen resultaten niet te kwantificeren. De verzamelde 'oppervlak kokkels' waren afkomstig uit verschillende leeftijdsklassen, maar waren over het algemeen ouder dan de 'ingegraven kokkels'. Er was echter geen significant verschil in lengte tussen beide groepen. Op de meeste locaties hadden 'ingegraven kokkels' gemiddeld een hogere conditie dan 'oppervlak kokkels', maar dit was enkel significant op de Roggenplaat, de slikken bij de Bergse Diepsluis en de Slikken van Kats.

Op alle locaties waren kokkels geïnfecteerd met trematoden, met in het algemeen hogere prevalenties en intensiteiten in de partij 'oppervlak kokkels' dan in de partij 'ingegraven kokkels' van dezelfde locatie. De 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman lieten nog steeds een uitzonderlijk hoge prevalentie zien van

trematoden met als eerste tussengastheer de kokkel (*B. minimus* 40% en *G. choledochus* 20%). Op de locaties Viane, Bergse Diep en Kats werd ook een hoge prevalentie van *Bucephalus minimus* waargenomen, terwijl die op de Roggenplaat, Krabbenkreek en Vondelingenplaat laag was. De hoge prevalentie en intensiteit van de infectie met *Bucephalus minimus* zal naar alle waarschijnlijkheid een rol hebben gespeeld in de waargenomen sterfte in de Oosterschelde. Op de locatie Krabbenkreek kan de hoge infectie met sporen van verschillende Haplosporidia soorten bijgedragen hebben aan de sterfte. Er is sprake van natuurlijke sterfte, er werden geen exotische of niet-exotische aangifteplichtige schelpdierziekten aangetoond in de onderzochte partijen kokkels. In de Waddenzee was de mate van infectie met parasieten matig op de locatie Oude Wal, maar prevalentie en intensiteit van parasieten bij Vliehors was hoog. Op de locatie Vliehors waren 'oppervlak kokkels' in hogere mate geïnfecteerd dan 'ingegraven kokkels', met als belangrijkste de trematode soorten *G. choledochus* (resp. 10% en 0%) en *B. minimus* (resp. 43% en 23%).

Het ingraaf experiment toonde aan dat 'oppervlak kokkels' van alle locaties zich slechts in beperkte mate weer konden ingraven in het sediment, terwijl 'ingegraven kokkels' zich nagenoeg allemaal weer ingroeven in het sediment. Voor twee locaties (Slikken van de Dortsman en Krabbenkreek) ging een groot deel van de 'oppervlak kokkels' dood tijdens het experiment. Het ingraaf experiment toont aan dat 'oppervlak kokkels' meer verzwakt waren en daardoor in het veld een verhoogd risico lopen op predatie of wegspoelen.

Het is waarschijnlijk dat de oorzaak van de geobserveerde kokkelsterfte een combinatie was van verschillende factoren. Gezien de opvallend hoge prevalentie van trematoden met de kokkel als eerste tussengastheer op de Slikken van de Dortsman en de Slikken van Kats zullen deze parasieten hier zeker een bijdrage aan de sterfte hebben geleverd. Onduidelijk of dit ook de initiële oorzaak is. Andere factoren die mogelijk een rol kunnen spelen zijn temperatuur en droogvalduur. Temperatuur is een belangrijke factor voor de ontwikkeling en reproductie van de kokkel, en beïnvloedt het paaigedrag en de conditie van de kokkels. Dit temperatuursverloop kan mogelijk de oorzaak geweest zijn dat kokkels een relatief lagere conditie hadden. Op hoger gelegen gebieden met een langere droogvalduur kunnen deze verzwakte kokkels op hun beurt vatbaarder zijn voor infecties door parasieten. Gebrek aan voedsel lijkt echter niet een rol te spelen in de waargenomen problemen. Door het ontbreken van gegevens van voorgaande jaren is het onduidelijk hoe uitzonderlijk de waargenomen sterfte is.

Kokkelsterftes door parasieten zijn niet eerder beschreven voor de Nederlandse kustwateren. Massale kokkelsterftes zijn vaker beschreven in de literatuur en komen oa. voor in Wales, Frankrijk, Spanje, Duitse Waddenzee, en Nieuw-Zeeland, en wordt in het algemeen gerelateerd aan een combinatie van parasieten, extreme temperaturen en paaien. Onze aanbeveling is om de komende jaren het al dan niet optreden van kokkel sterfte in de zomerperiode nader te monitoren en onderliggende oorzaken nader te onderzoeken.

# 1. Inleiding

Op 15 juni 2010 is door medewerkers van Rijkswaterstaat grote kokkelsterfte (*Cerastoderma edule*) gemeld bij de Slikken van de Dortsman (Stavenisse). Een bezoek diezelfde dag door medewerkers van IMARES bevestigde deze grote kokkelsterfte. Verspreid over een groot gebied werden tienduizenden kokkels dood aangetroffen op het sediment oppervlak met het lichaamsweefsel nog aanwezig in de schelp. Dit suggereert dat ze recent gestorven waren. Een eerste analyse naar mogelijke parasieten toonde een verhoogde infectie met trematoden. In reactie hierop, is door Imares en CVI, in opdracht van LNV (Helpdesk-vraag), verder onderzoek gedaan naar de schaal, de distributie, en de mogelijke oorzaken van de kokkelsterfte.

In overleg met LNV werd besloten tot het opstarten van onderzoek naar de oorzaken van de kokkelsterfte vanwege de belangrijke rol die kokkels spelen voor overwinterende vogels en het belang van een gezond kokkelbestand voor de kokkelvisserij. Daarbij leek de kokkelsterfte overeenkomsten te vertonen met massale kokkelsterftes die reeds een geruim aantal jaren wordt waargenomen in andere Europese landen. De oorzaak van deze massale sterftes is niet duidelijk, maar wordt over het algemeen in verband gebracht met parasieten, paaien en conditievermindering. Het doel van het onderzoek, waarvan de resultaten hier worden gerapporteerd, was te onderzoeken welke factoren mogelijk hebben bijgedragen aan de waargenomen kokkelsterfte in de Oosterschelde.

## 2. Kennisvraag

De kennisvragen die beantwoord dienden te worden luiden:

Hoofdvraag:

“Hoe groot is de omvang van de kokkelsterfte in de Oosterschelde, meer bepaald tot welke locaties strekt de sterfte zich uit en waar is de sterfte door veroorzaakt?”

Subvragen:

- 1- “Is er bij stervende dieren sprake van een verminderde conditie door een laag voedselaanbod, mogelijk in combinatie met paaien?”
- 2- “Is op alle locaties waar sterfte is geconstateerd sprake van relatief omvangrijke parasitaire infecties?”

Onderzoek om tot een beantwoording van deze vragen te komen richtte zich op een inventarisatie op welke platen in de Oosterschelde kokkelsterfte visueel werd waargenomen. Daarbij werd genoteerd hoeveel dode en stervende kokkels op het sediment werden waargenomen, en werden specimens meegenomen naar het lab om hun conditie en ingraafcapaciteiten te onderzoeken, alsmede de mate van infectie door parasieten en de status van de gonaden. Een summier literatuuronderzoek moest inzicht verschaffen in kokkelsterftes in het buitenland en veronderstelde oorzaken daarvoor.

## 3. Methoden

### Omvang van de sterfte

Om in beeld te brengen tot welke locaties in de Oosterschelde de kokkelsterfte zich uitstrekte werden verschillende platen en slikken in de Oosterschelde bezocht.

Na melding van de kokkelsterfte op 15 juni 2010 op de Slikken van de Dortsman zijn deze slikken bezocht om de situatie ter plaatse te beschouwen. Een grote sterfte werd vastgesteld op 17 juni 2010. Tijdens dit veldbezoek werden 30 kokkels verzameld die stervend aan het oppervlak lagen, met de kleppen geopend. Deze kokkels leefden nog, maar reageerden zeer traag met het sluiten van de kleppen bij aanraking. Ook zijn 30 kokkels verzameld die zich nog ingegraven in het sediment bevonden<sup>1</sup>. De kokkels verzameld op de Slikken van de Dortsman werden gekoeld opgestuurd naar het Centraal Veterinair Instituut (CVI) te Lelystad voor analyse op parasitaire infecties en histologisch onderzoek.

Op dezelfde dag werd door medewerkers van LNV de Yerseke Bank geïnspecteerd en bemonsterd. Hier werden geen kokkels liggend op het sedimentoppervlak aangetroffen. Kokkels die ingegraven zaten werden verzameld van twee verschillende plekken: hoog en laag in de getijdenzone. Van beide plekken werden 30 kokkels opgestuurd naar het CVI voor parasitologisch en histologisch onderzoek.

Op 28 juni 2010 werden vervolgens nog eens 6 locaties geïnspecteerd (Figuur 1), en ook werden de Slikken van de Dortsman een tweede maal bezocht en bemonsterd (Figuur 2). Op 1 juli 2010 werd de Krabbekreek bemonsterd. De plaatsen werden geselecteerd op basis van de IMARES kokkelkaart 2010. Deze kaart geeft het voorkomen van de kokkels weer in de Oosterschelde op basis van de WOT kokkelsurvey van mei 2010. De coördinaten van de bemonsterde locaties staan vermeld in Tabel 1. De locaties verschilden wat betreft droogvalduur, met de langste droogvalduur op de locatie Slikken van de Dortsman, en de kortste droogvalduur op de locatie Yerseke Bank (Tabel 1).

Ter plaatse werd genoteerd of kokkels (dood, levend) op het sediment oppervlak lagen. Ook werd een inschatting gemaakt van de dichtheid van stervende en dode kokkels. Twee verschillende groepen kokkels werden verzameld voor nader onderzoek:

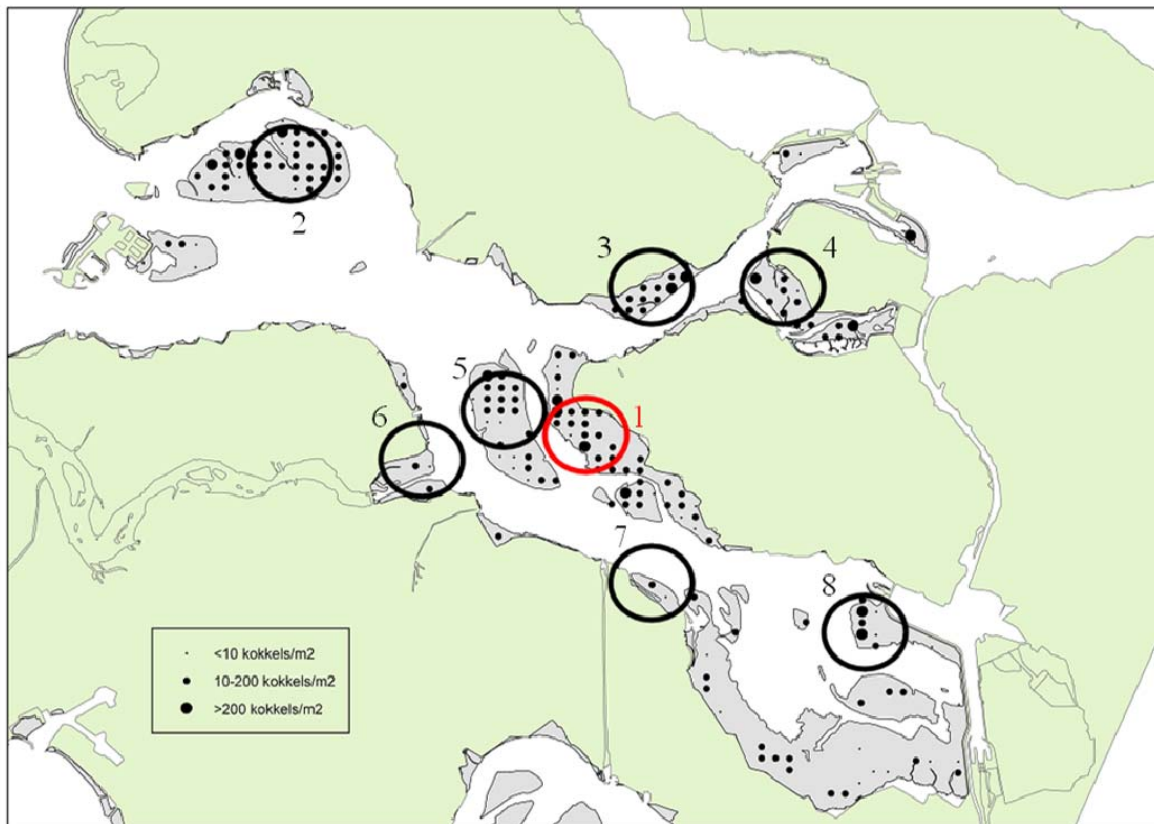
- **'oppervlak kokkels'**: kokkels die op het sediment lagen (geheel zichtbaar bovenop het sediment), maar nog wel levend. Met levend wordt bedoeld kokkels die zich nog sluiten bij aanraking. Het feit dat deze kokkels aan het oppervlak lagen wordt als abnormaal gedrag beschouwd. In getijdengebieden zoals de Oosterschelde en Waddenzee leven kokkels normaal een paar cm ingegraven in het sediment.
- **'ingegraven kokkels'**: kokkels die nog op een normale manier ingegraven waren in het sediment, dus enkele cm onder het sediment oppervlak.

Van elke groep werden op elke locatie een zestigtal kokkels verzameld en meegenomen naar het lab.

---

<sup>1</sup>Kokkels (*Cerastoderma edule*) leven ingegraven aan de oppervlakte in het zand en het slib en vormen een belangrijke prooi voor meeuwen, scholeksters, platvissen en kreeftachtigen. De schelpen zijn dik en geribbeld. De kokkel zit zo'n vijf centimeter diep in de bodem. Door middel van twee siphons (buisjes) houdt het weekdier contact met het water. De kokkel filtert fytoplankton en dood organisch materiaal uit het water. Kokkels komen voor in de kustzone en in het getijdengebied. Kokkels stellen niet veel eisen aan de bodem waarin zij voorkomen. Zolang het sediment niet te fijn of te modderig is kunnen kokkels zich handhaven. De sterkte van de waterstroming is belangrijker. Is deze te sterk dan spoelen de dieren weg. Een te zwakke stroming is ook niet goed; dan wordt er te weinig voedsel aangevoerd. Kokkels kunnen goed graven en zich verplaatsen door de bodem.





Figuur 1. Locaties van kokkel monster verzameling in de Oosterschelde. Locatie 1 is de Slikken van de Dortsman waar de initiële kokkelsterfte is waargenomen. De kaart geeft de dichtheden weer van kokkels zoals vastgesteld tijdens de WOT kokkelsurvey in mei 2010.

Tabel 1. Coördinaten en droogvalduur van locaties waar kokkels zijn verzameld (nummers komen overeen met die in Figuur 1).

Nummer op kaart	Datum bemonstered	Locatie	Noord	Oost	Droogvalduur (% tijd)
1	17/06/2010	Slikken van de Dortsman*	51.56111	4.01389	59
	28/06/2010	Slikken van de Dortsman* 2	51.56111	4.01389	
2	28/06/2010	Roggenplaat	51.67400	3.83533	30
3	28/06/2010	Slikken van Viane (Viane)	51.61400	4.02196	33
	28/06/2010	Slikken van Viane 2 (Viane 2)	51.61806	4.05028	
4	01/07/2010	Krabbenkreek	51.62501	4.09138	50
5	28/06/2010	Vondelingeplaat	51.58733	3.93983	28
6	28/06/2010	Slikken van Kats (Kats)	51.55577	3.88477	40
7	17/06/2010	Yerseke Bank	51.50993	4.06297	15
8	28/06/2010	Bergse Diepsluis	51.50201	4.16968	36

\*Slikken van de Dortsman is de locatie waar de initiële kokkelsterfte is vastgesteld.



Figuur 2. Kokkels verzamelen op de Slikken van de Dortsman. Foto genomen door Anneke van den Brink, IMARES.

Om een inschatting te maken van de dichtheid van stervende en dode kokkels werden op vijf locaties in de Oosterschelde (Slikken van de Dortsman 2, Roggenplaat, Vondelingeplaat, Bergse Diepsluis en Krabbenkreek) op willekeurige plaatsen vijf 1m<sup>2</sup> kwadranten geplaatst. Per kwadrant werden het aantal levende en net gestorven (met het vlees nog in de schelp) kokkels op het sedimentoppervlak geteld.

## Aanwezigheid van Parasieten

Van alle bemonsterde locaties (Tabel 1) werden direct na aankomst op het lab te Yerseke per locatie 30 kokkels van elke groep ('oppervlak' en 'ingegraven') gekoeld opgestuurd naar het Centraal Veterinair Instituut (CVI) te Lelystad voor parasitologisch en histologisch onderzoek.

### Vers preparaat

Voor verse preparaten zijn van iedere kokkel stukjes weefsel (mantel, voet, gonaden, verteringsstelsel en eventueel aanwezige cysten bij het slot van de schelp) op een objectglaasje geplaatst met zeewater. Met het dekglasje is het weefsel iets samengedrukt en vervolgens onder de lichtmicroscop bekeken op de aanwezigheid van parasieten.

### Histologisch preparaat

Voor histologische coupes is een doorsnede van het lichaam in een histo-cassette geplaatst en gefixeerd in Davidson fixatief. Het materiaal is na een dehydratatie reeks in paraffine ingebed en gesneden in secties van 4-5 micrometer dikte. De secties zijn vervolgens aangekleurd met een standaard histologische haematoxyline en eosine (H&E) kleuring, ingesloten en onder de lichtmicroscop bekeken.


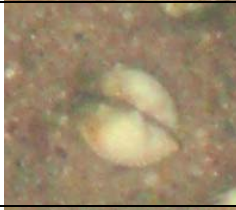

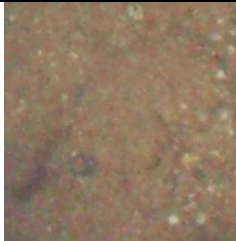

## Leeftijd

Van een deel van de verzamelde 'oppervlak kokkels' en 'ingegraven kokkels' afkomstig van de Slikken van de Dortsman, Kats, de Bergse Diepsluis en de Slikken van Viane (Viane en Viane 2) is de leeftijd bepaald door middel van het tellen van jaarringen en is de schelpenlengte opgemeten met een digitale schuifmaat.

## Ingraafsnelheid

Zestig kokkels van Slikken van de Dortsman, Roggenplaat, Viane, Viane 2, Krabbenkreek, Kats en Bergse Diepsluis (30 oppervlak en 30 ingegraven) werden dezelfde dag nog verdeeld in drie gelijke groepen van ieder tien kokkels van gelijke grootte ( $n=3 \times 10$ ). Elke groep van 10 kokkels werd geplaatst in containers met ieder 3L gesteriliseerd zand. Deze containers werden willekeurig geplaatst in een grote stroomtank gevuld met stromend zeewater.

Om de ingraafsnelheid te bepalen werd de mate van ingegraven zijn op verschillende tijdstippen na aanvang van het experiment geregistreerd: na 5 minuten, en daarna na iedere 10 minuten over een periode van 65 minuten. Een laatste waarneming werd gedaan 16 uur na aanvang (d.i. de volgende ochtend). De mate van ingraving werd bepaald door middel van visuele criteria:

Niet Ingegraven	Geheel op de oppervlakte van het sediment (0%)	
Half	Ingraven is begonnen, maar de helft van de kokkel is nog zichtbaar boven het sediment (50%)	
Driekwart	Bijna geheel begraven, maar nog wel zichtbaar boven het sediment (75%)	
Ingegraven	Geheel of bijna geheel verborgen onder het zand (100%)	
Dood	Open op de oppervlakte liggend zonder reactie bij aanraking	

Vergelijkingen werden gemaakt tussen 2 groepen, namelijk 'oppervlak kokkels' en 'ingegraven kokkels', en tussen locaties.

## Toestand van de gonaden

Aan het einde van het ingraafexperiment werden de kokkels kort gekookt in een magnetron (ongeveer 30 seconden) en daarna ingevroren voor latere analyse.

De kokkels werden ontdooid en de gonaden visueel geïnspecteerd en per individu geregistreerd als volgt:

Vol	Gonaden helder wit gekleurd, soms met binnenin zichtbaar ei of sperma structuur aan de binnenkant.
Half	Gonaden lichtelijk wit met binnenin overblijfsels van ei of sperma structuur.
Leeg	Gonaden doorschijnend zonder enige indicatie van eieren of sperma.
Onzeker	Gonaden lichtelijk wit met geen duidelijk inhoud

## Conditie van de Kokkels

Zodra de toestand van de gonaden was vastgesteld, werd het vlees van elke gemeten individuele kokkel gedroogd gedurende twee dagen bij een temperatuur van 102°C, en één dag bij een temperatuur van 70°C. Daarna werd het gedroogde vlees gedurende vier uur bij een temperatuur van 560°C verast om uiteindelijk het asvrijdrooggewicht te bepalen. Ongelukkigerwijze zijn de drooggewichten van de individuele kokkels verloren gegaan en is enkel het asgewicht bepaald geweest. Om toch het asvrijdrooggewicht te schatten is met een vaste omrekeningsfactor gewerkt (AFDW = asgewicht / 0.32). De factor 0.32 bleek een relatief constante verhouding ( $p < 0.05$ ) te zijn op basis van de studie van Treijtel (2005) waarbij 24 kokkels uit de Oosterschelde individueel gedroogd en verast zijn geweest.

Uit het asvrij drooggewicht en schelpenlengte per individu werd de conditie berekend als volgt:

$$conditie = \frac{asvrijdrooggewicht(g)}{schelpenlengte(cm)^3} \times 1000$$

## Bemonstering Waddenzee

Na de melding van kokkelsterfte in de Oosterschelde kwamen ook meldingen binnen van kokkelsterfte in de Waddenzee. Zo werd door Dirk de Bruin (Informatiecentrum De Noordwester, Vlieland), een massale kokkelsterfte waargenomen aan de zuidzijde van de Vliehors, Vlieland (28 juni 2010, globale positie 53.14.02 N en 004.57.70 E). Door Jeroen Jansen (IMARES) werd in dezelfde periode melding gemaakt van kokkelsterfte bij de Oude Wal, net ten oosten van het rif bij Schiermonnikoog. Het gaat hier om een populatie relatief oude kokkels. Beide locaties zijn daarop op 7 juli 2010 door LNV en IMARES bemonsterd op dezelfde manier als in de Oosterschelde, met onderscheid tussen oppervlak-kokkels en ingegraven-kokkels. Deze kokkels werden eveneens opgestuurd naar het CVI voor parasitologisch en histologisch onderzoek.

## 4. Resultaten

### Omvang van de sterfte

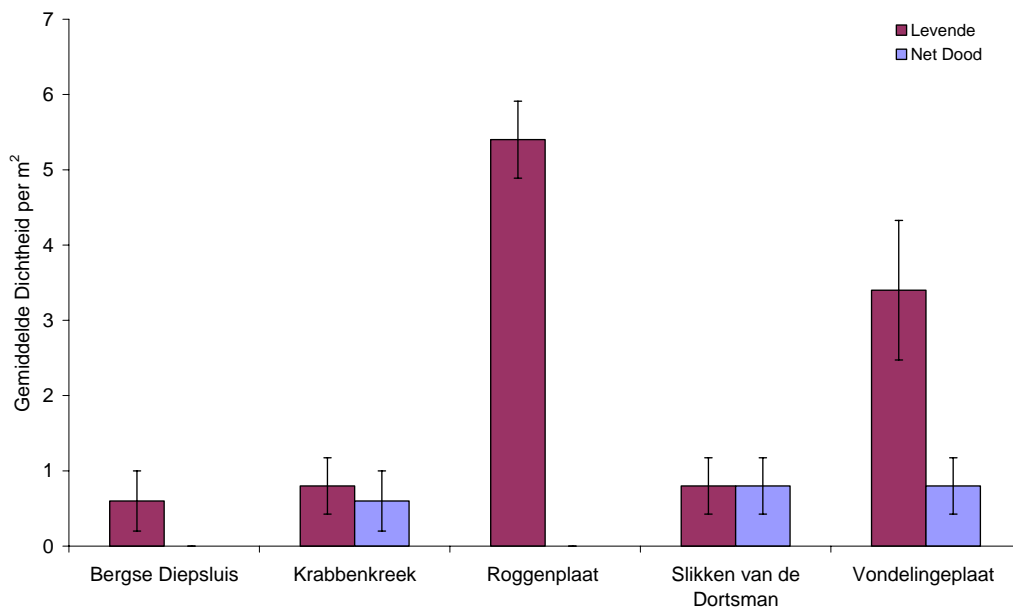
Op alle bezochte locaties werden kokkels aan het sediment oppervlak aangetroffen. Dit was het meest opvallend bij de Slikken van de Dortsman omdat hier over een groot gebied verspreid hoge aantallen kokkels waargenomen werden. Vooral tijdens het eerste bezoek op 17 juni werden duizenden kokkels aan het sediment oppervlak aangetroffen, zowel nog levend als recent gestorven kokkels (Figuur 3). Naar schatting lagen per vierkante meter 2-5 kokkels dood aan het oppervlak, over een uitgestrekt gebied. De nog levende kokkels waren duidelijk verzwakt, wat bleek uit het traag sluiten van de schelp bij aanraking. Op 28 juni, bij een tweede bezoek aan de Slikken van de Dortsman, waren de aantallen kokkels op het sediment oppervlak lager, maar ook toen werden zowel nog levende als recent gestorven kokkels aangetroffen (zie dichtheid). Naast de Slikken van de Dortsman werden ook op de locaties Viane, Kats, Krabbenkreek en Vondelingeplaat recent gestorven kokkels aangetroffen. Op de meeste locaties werd geobserveerd dat vogels de stervende kokkels predeerden, maar dit werd op de Slikken van de Dortsman bij beide bezoeken niet waargenomen.

Op alle locaties werden nog veel kokkels waargenomen ingegraven in het sediment. Er zijn echter op het moment van verzamelen van de kokkels slechts op 2 locaties dichtheden bepaald van de nog aanwezige levende kokkels in het sediment. Op de locatie op de Vondelingeplaat werden in één vierkante meter 346 kokkels aangetroffen, waarvan 315 levend, 30 lege schelpen en 1 dode kokkel. Op de locatie op de Roggenplaat werden in één vierkante meter 426 levende kokkels gevonden, 65 lege schelpen en geen dode kokkels.



Figuur 3. Een recent gestorven kokkel met het vlees nog in de schelp op de Slikken van de Dortsman. Foto genomen door Anneke van den Brink, IMARES.

De dichtheid van 'oppervlak kokkels', bepaald op 28 juni en 1 juli 2010, varieerde tussen de verschillende locaties (Figuur 4). Op de Roggenplaat werd verreweg de hoogste dichtheid gevonden, met 5,4 kokkels per  $m^2$ . Hier werden geen recent gestorven kokkels aangetroffen. Ook op de Vondelingeplaat werd een relatief hoge dichtheid aangetroffen aan het oppervlak (3,4 kokkels  $m^2$ ). Hier werden tevens recent gestorven kokkels aangetroffen met een dichtheid van 0,8  $m^2$ . Bij de Bergse Diepsluis, Krabbenkreek en Slikken van de Dortsman werden vergelijkbare dichtheden van kokkels aan het oppervlak aangetroffen, van 0,6 tot 0,8 kokkels  $m^2$ . Bij de Krabbenkreek en Slikken van de Dortsman werden tevens recent gestorven kokkels aangetroffen (resp. 0,6 en 0,8  $m^2$ ).



Figuur 4. Gemiddelde dichtheid van kokkels op het sediment oppervlak uit verschillende locaties (n=5, ± se). Levende kokkels zijn kokkels die bij aanraking zich nog sluiten, net dode kokkels zijn kokkels met vlees in.

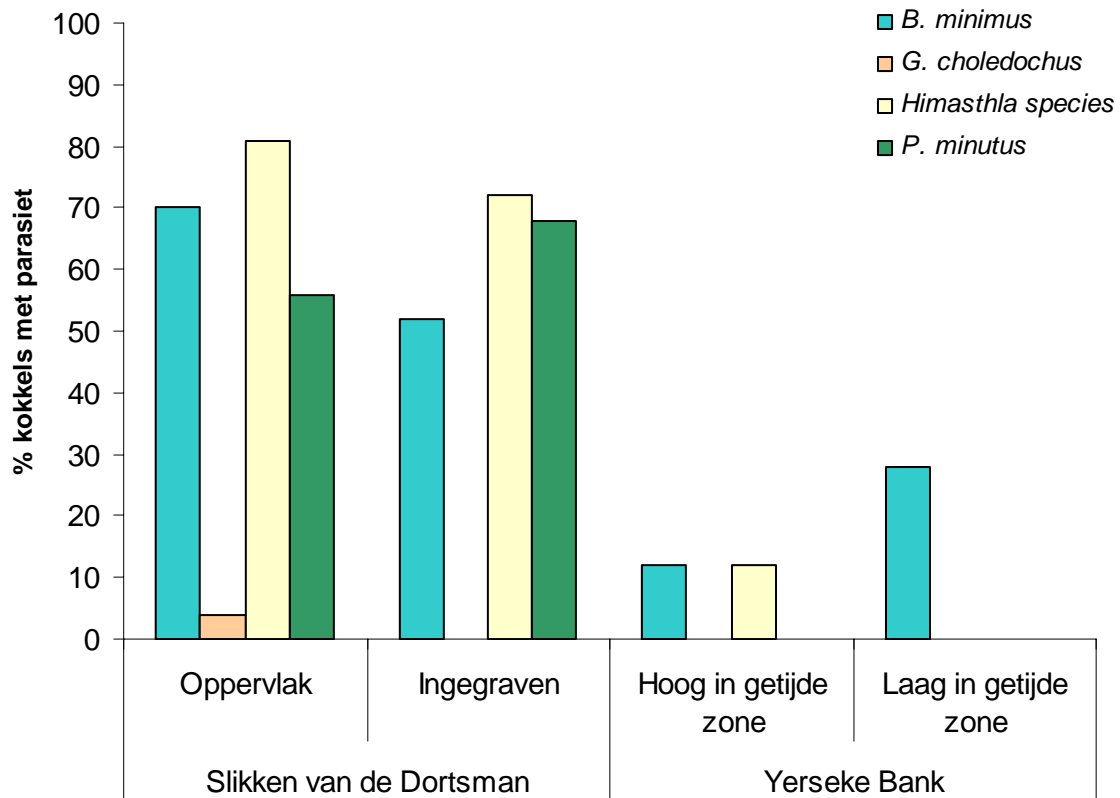
## Aanwezigheid van Parasieten

Een eerste onderzoek gaf aan dat de partij kokkels van de locatie Slikken van de Dortsman (verzameld op 17 juni 2010) zwaar geïnfecteerd was met een aantal soorten trematoden, zowel qua prevalentie (aantallen kokkels in de partij) als intensiteit (aantallen parasieten per kokkel). In hoofdzaak konden vier soorten trematoden worden onderscheiden: *Bucephalus minimus* en *Gymnophallus choleochochus* in de viscera, *Himasthla* species in mantel en voet, en *Parvatrema minutus* in een cyste nabij het slot van de kokkel (zie Appendix 1 voor foto's van de verschillende trematoden).

Daarnaast is bij enkele individuen *Renicola roscovita* in de labiale palp en *Psilostomum brevicolle* nabij het verteringsstelsel waargenomen. Er was echter een duidelijk verschil in de aantallen en intensiteit van de trematode infecties tussen kokkels van de twee verschillende locaties (Slikken van de Dortsman en Yerseke Bank, verzameld op 17 juni 2010) waarneembaar.

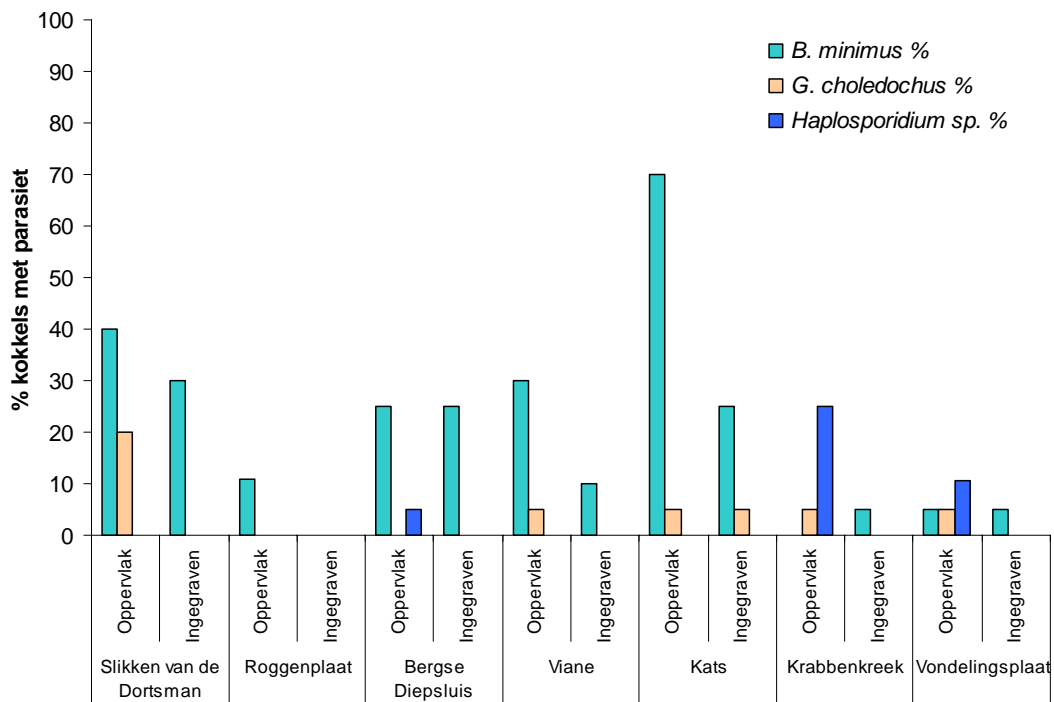
Op de Slikken van de Dortsman werd *B. minimus* gevonden in 70% van de 'oppervlak kokkels' en in 52% van de 'ingegraven kokkels' terwijl deze trematode op de Yerseke Bank slechts in 12% en 28% van de kokkels respectievelijk verzameld hoog en laag in de getijdenzone (Figuur 5). *G. choleochochus* werd alleen aangetroffen in 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman. *Himasthla* sp. werd gevonden in 81% en 73% van respectievelijk de 'oppervlak kokkels' en de 'ingegraven kokkels' van de Slikken van de Dortsman, maar slechts in 12% in kokkels van de Yerseke Bank, verzameld hoog in de getijdenzone, en in het geheel niet in kokkels verzameld laag in de getijdenzone op de Yerseke Bank. *P. minutus* werd gevonden in 68% van de 'oppervlak kokkels' en in 56% van de 'ingegraven kokkels' van de Slikken van de Dortsman, maar werd niet aangetroffen op de Yerseke Bank (zie Appendix 2 voor de gehele dataset).



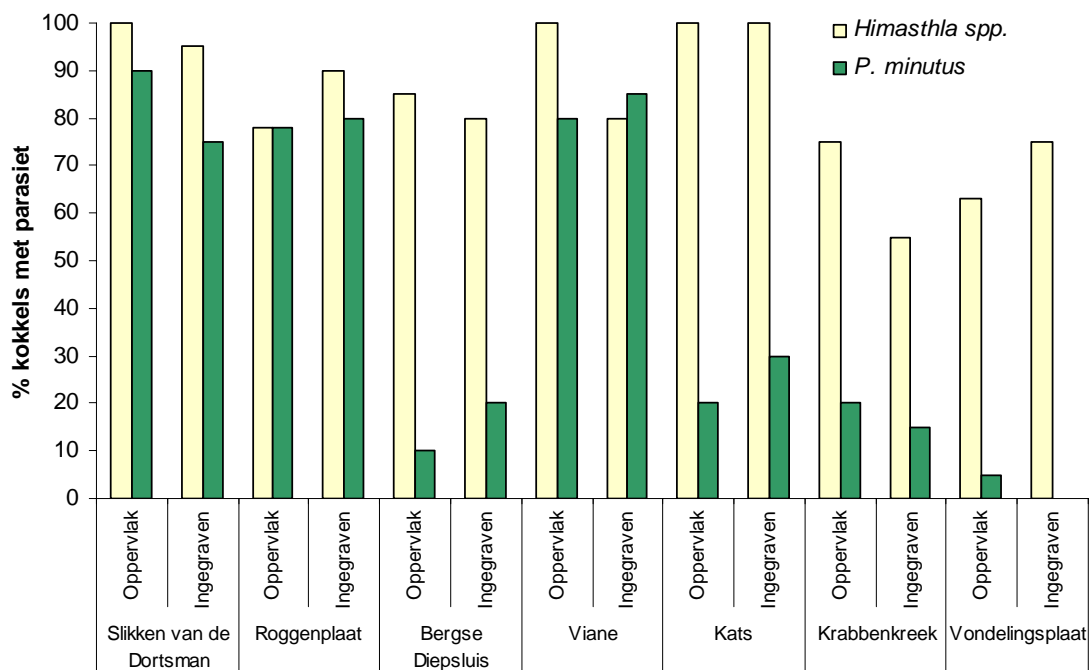


Figuur 5. Percentage van kokkels, verzameld 17 juni op de Slikken van de Dortsman ('ingegraven' en 'oppervlak') en Yerseke Bank (ingegraven kokkels verzameld van relatief hoog en relatief laag in de getijdenzone), geïnfecteerd met de vier verschillende trematode parasieten.

In de monsters die twee weken later werden verzameld en opgestuurd naar het CVI lieten de 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman nog steeds een hoge prevalentie zien voor alle vier de trematoden (*B. minimus* 40%, *G. choledochus* 20%, *Himasthla* sp. 100%, en *P. minutus* 90%) en daarnaast een infectie met *Haplosporidium* species (10%). Dit tweede onderzoek bevestigde de hoge prevalenties van *B. minimus* op de locatie Slikken van de Dortsman, hoewel de prevalenties lager waren dan in het eerste onderzoek, 40% versus 70% in de kokkels uit de 'oppervlak' partij. Wel was het aantal kokkels geïnfecteerd met *G. choledochus* hoger waardoor de som van de prevalenties van trematoden met de kokkel als eerste tussengastheer 55% was. 'Ingegraven kokkels' lieten een relatief hoge prevalentie zien voor *B. minimus* (30%), *Himasthla* sp. (95%) en *P. minutus* (75%). De resultaten van het tweede bezoek aan de Slikken van de Dortsman weken niet bijzonder veel af van de overige locaties die op 28 juni en 1 juli werden verzameld (Figuren 6 en 7). Over het algemeen was de prevalentie van trematoden in de partijen 'oppervlak kokkels' hoger dan in de partij 'ingegraven kokkels' van dezelfde locatie. Hoewel onder de parasieten die de kokkel als eerste gastheer gebruiken de prevalentie van *G. choledochus* het hoogst was in 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman, was de prevalentie van *B. minimus* het hoogst in 'oppervlak kokkels' van Kats en *Haplosporidium* sp. het hoogst in 'oppervlak kokkels' van de Krabbenkreek. Van trematoden waarvoor de kokkel de tweede tussengastheer vormt (*Himasthla* species, *Parvatrema minutus*) liepen de prevalenties op tot respectievelijk 100% en 90%. De hoogste intensiteiten gevonden voor beide trematode soorten waren bij de locaties Slikken van de Dortsman. Onder de parasieten die de kokkel als de tweede gastheer gebruiken werd *Himasthla* sp. eveneens gevonden in 100% van de 'oppervlak kokkels' van Viane en ook van de 'oppervlak' en 'ingegraven' kokkels van Kats. Op de Slikken van Kats liep de prevalentie van trematoden met kokkels als tweede tussengastheer op tot 70% in de 'oppervlak kokkels'. Hoewel *P. minutus* de hoogste prevalentie vertoonde in 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman werd deze parasiet ook gevonden in hoge prevalentie op andere locaties (zoals Roggenplaat 'ingegraven', Viane 'oppervlak' en Viane 'ingegraven') (voor dataset zie Appendix 3). Er is geen duidelijk direct geografisch verband tussen de prevalenties van de trematode soorten op de verschillende locaties.



Figuur 6. Percentage van kokkels, verzameld op 28 juni en 1 juli op verschillende locaties, geïnfecteerd met de drie parasieten die de kokkel als eerste (of enige) gastheer gebruiken.



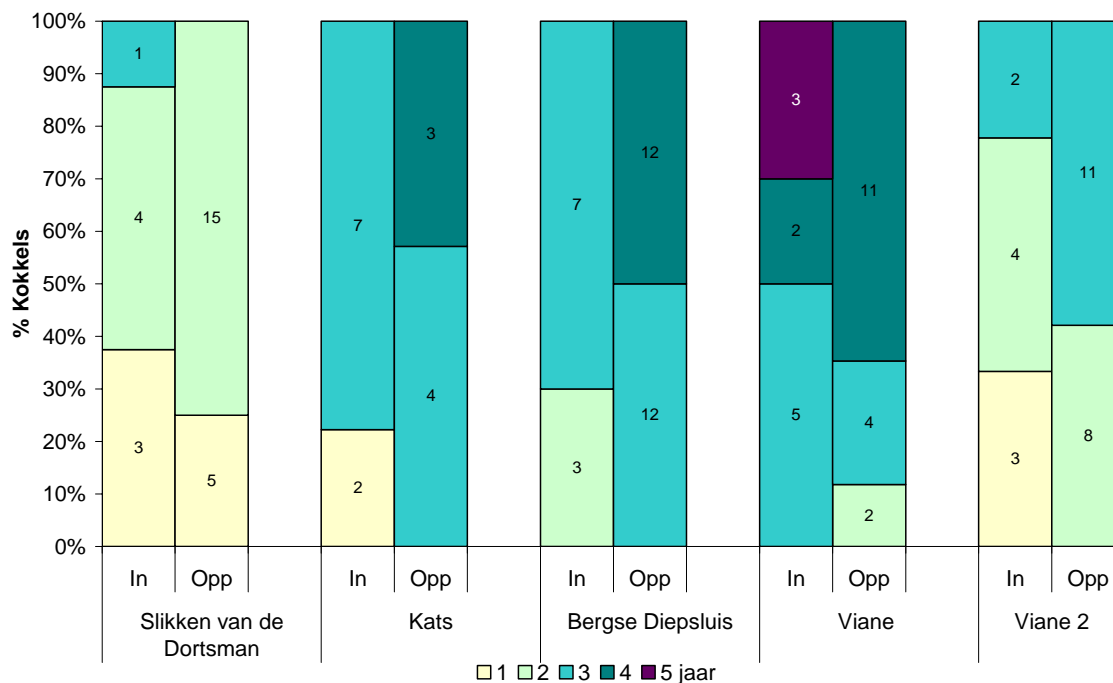
Figuur 7. Percentage van kokkels, verzameld op 28 juni en 1 juli op verschillende locaties, geïnfecteerd met de twee parasieten die de kokkel als tweede gastheer gebruiken.



Voor onderzoek naar mogelijke andere aanwezige ziekteverwekkers is histopathologisch onderzoek uitgevoerd op partijen kokkels van de Slikken van de Dortsman en partijen van de Yerseke Bank als referentie gebied. In de histologie was met name een *Nematopsis* species massaal aanwezig in de kokkel populatie van de Slikken van de Dortsman. Daarnaast zijn in enkele kokkels afkomstig van de Slikken van de Dortsman infecties waargenomen met een intracellulaire bacterie (*Rickettsia*-achtige organismen).

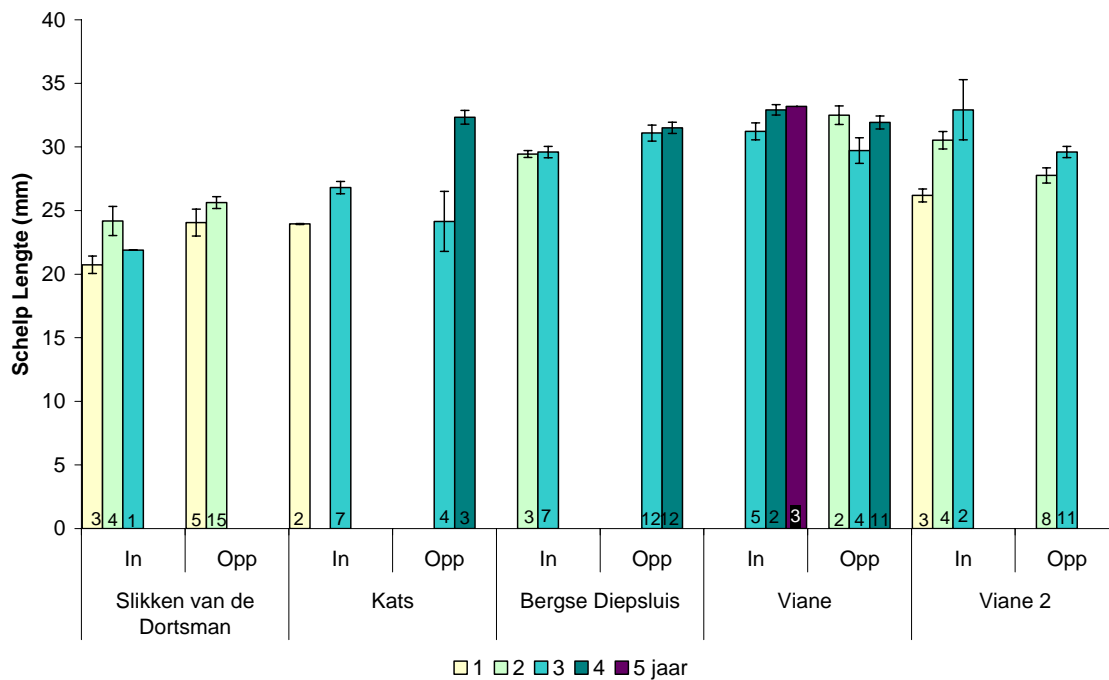
## Leeftijd en lengte

De resultaten laten zien dat de gevonden nog levende 'oppervlak' kokkels, afkomstig waren uit verschillende leeftijdsklassen. Over het algemeen waren de 'oppervlak kokkels' ouder dan de 'ingegraven kokkels' (Figuur 8). Opvallend is het ontbreken van 3 en 4 jaar oude kokkels op de Slikken van de Dortsman, terwijl die op de andere locaties de kokkel populatie domineerden.



Figuur 8. Percentage kokkels van verschillende leeftijdsklassen voor 'ingegraven kokkels' (In) en 'oppervlak kokkels' (Opp) van verschillende locaties (de getallen in de kolommen geven het aantal waargenomen kokkels per leeftijdsklasse weer).

In het algemeen waren kokkels van de Slikken van de Dortsman en Kats kleiner voor hun leeftijd dan kokkels van andere locaties (Figuur 9). Een vergelijking van schelpenlengte tussen verschillende lengteklassen en locaties laat een significant verschil zien in schelpenlengte tussen kokkels afkomstig van de Slikken van de Dortsman en Kats aan de ene kant en alle locaties aan de andere kant (ANOVA met post-hoc test:  $p < 0.05$ ), terwijl schelpenlengte van kokkels van de Slikken van de Dortsman en Kats niet significant verschieden van elkaar (ANOVA:  $p > 0.05$ ). Op geen enkele locatie werd een significant verschil gevonden tussen 'oppervlak kokkels' en 'ingegraven kokkels' (ANOVA:  $p > 0.05$ ).



Figuur 9. De gemiddelde schelpenlengte ( $\pm 1$  s.e) voor de verschillende leeftijdsklassen van kokkels verzameld op de verschillende locaties. (In = ingegraven kokkels, Opp = oppervlak kokkels, de getallen in de kolommen geven het aantal waargenomen kokkels per leeftijdsklasse weer.

## Ingraafsnelheid

Het ingraaf experiment (Figuur 10) toont duidelijk aan dat 'oppervlak kokkels' minder graafactiviteit vertoonden dan 'ingegraven kokkels'.



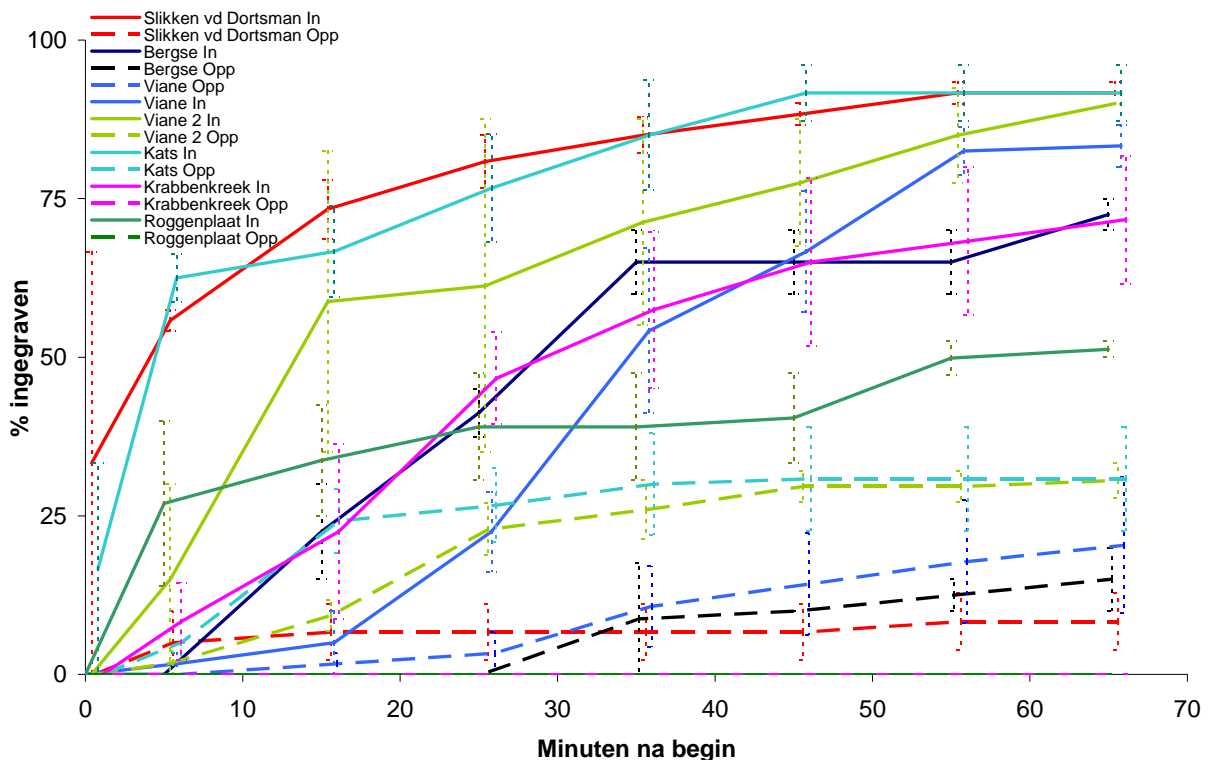
Figuur 10. Kokkels in het ingraaf experiment. Foto genomen door Martine van den Heuvel-Greve, IMARES.

Van de 'oppervlak kokkels' groeven significant minder individuen zich in dan van de 'ingegraven kokkels', ongeacht de locatie waar ze verzameld waren (Figuur 11). Van de 'ingegraven kokkels' van alle locaties hadden meer dan de

helft van de kokkels zich bij beëindiging van het experiment geheel ingegraven terwijl van de 'oppervlak kokkels' minder dan 30% zich na beëindiging van het experiment helemaal hadden ingegraven.

De ingraafsnelheid van 'ingegraven kokkels' van de Slikken van de Dortsman en Kats was sneller dan bij 'ingegraven kokkels' van de andere locaties. Na 65 minuten was 90% van de 'ingegraven kokkels' van de Slikken van de Dortsman en Kats volledig ingegraven. De langzaamste ingravers onder de 'ingegraven kokkels' waren die van de locaties Krabbenkreek en Roggenplaat, met respectievelijk 72% en 51% na 65 minuten.

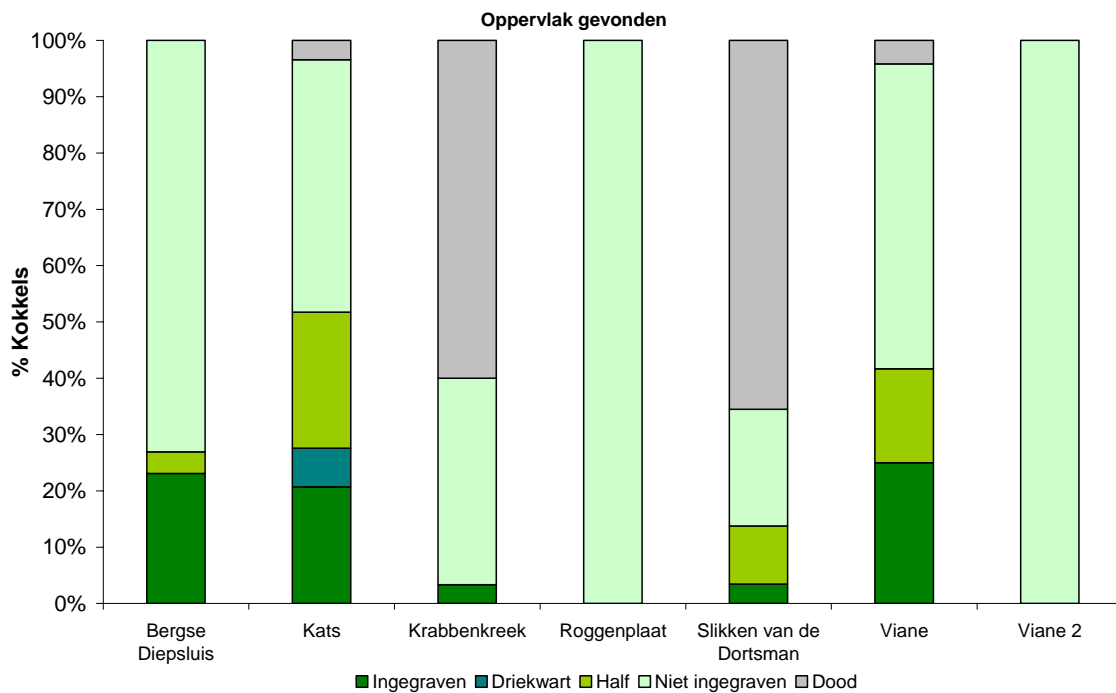
Van de 'oppervlak kokkels' vertoonden die van Kats en Viane 2 de grootste ingraafsnelheid (29% na 65 minuten). Van de kokkels afkomstig van de Slikken van de Dortsman had zich slechts 8% geheel ingegraven na 65 min. Geen van de 'oppervlak kokkels' afkomstig uit de Krabbenkreek en van de Roggenplaat hebben zich ingegraven tijdens het experiment.



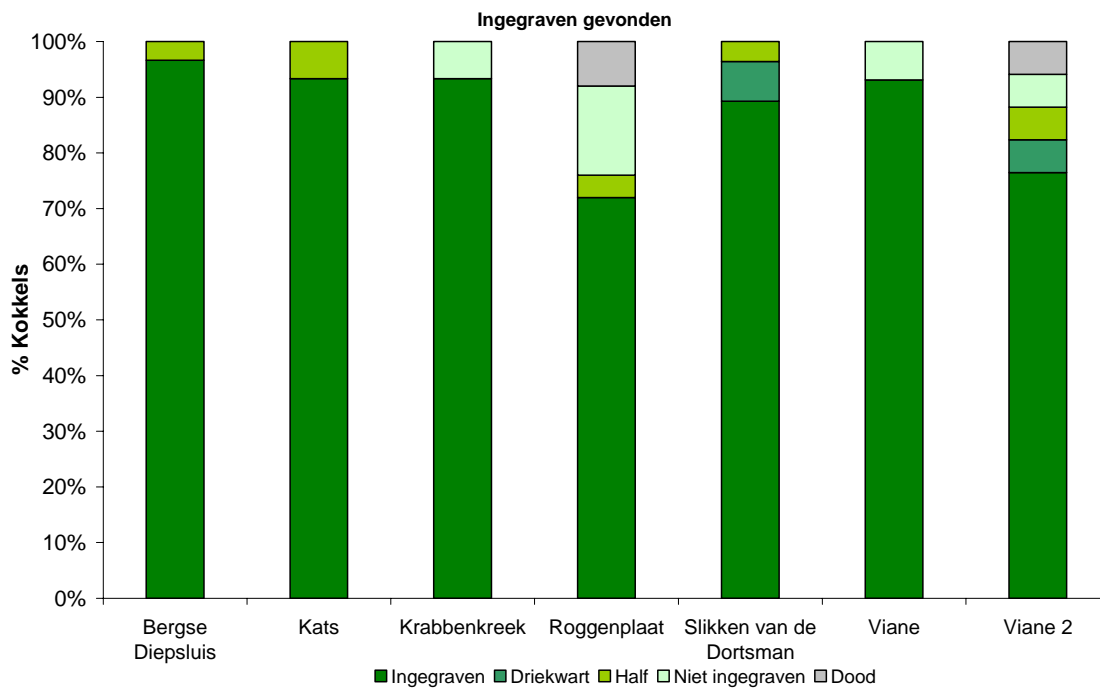
Figuur 11. Gemiddelde mate van ingraving per container gedurende de eerste 65 minuten van het experiment [niet-onderbroken lijnen = 'ingegraven kokkels' (In), onderbroken lijnen = 'oppervlak kokkels' (Opp)]. De mate van ingraving is een gemiddelde van de verschillende ingraafstadia (niet = 0%, half = 50%, driekwart = 75%, geheel = 100%) van 10 kokkels per container (n=3).

De volgende ochtend, 16 uur na aanvang van het experiment, was de situatie niet significant verschillend van wat na 65 minuten werd geobserveerd. Van de 'oppervlak kokkels' van de Roggenplaat was nog steeds geen enkel individu ingegraven, terwijl van de 'oppervlak kokkels' van de Krabbenkreek slechts 1 individu zich alsnog had ingegraven (Figuur 12). Van de 'oppervlak kokkels' was na 16 uur een groot percentage gestorven van de kokkels afkomstig van de Slikken van de Dortsman (66%) en de Krabbenkreek (60%). Van deze locaties was na 16 uur slechts 3% van de 'oppervlak kokkels' ingegraven.

Van de 'ingegraven kokkels' had de meerderheid zich na 16 uur volledig ingegraven. Na 16 uur was van de kokkels van de Roggenplaat 8% gestorven, en 6% van de kokkels van Viane 2 (Figuur 13). De 'ingegraven kokkels' van de Roggenplaat hadden zich na 16 uur het minst ingegraven, gemiddeld slechts 72%. De 'ingegraven kokkels' van de Bergse Diepsluis hadden zich het meest ingegraven, namelijk gemiddeld 96%.



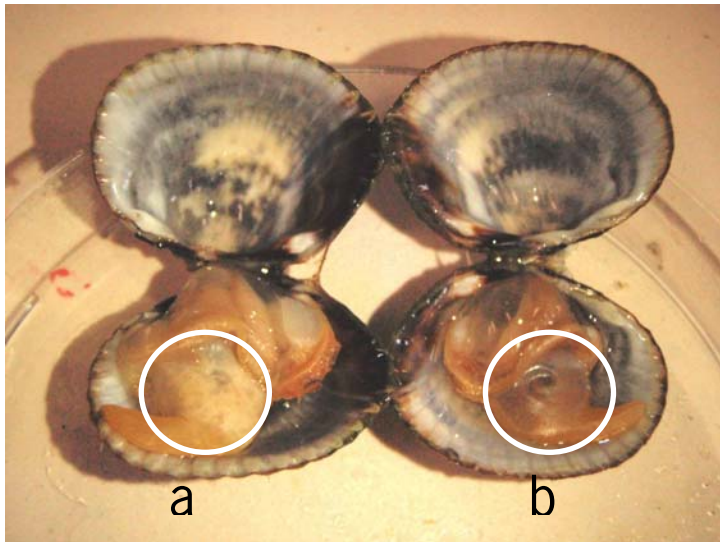
Figuur 12. Het percentage van 'oppervlak kokkels' dat zich bevond in de verschillende stadia van ingraving na 16 uur.



Figuur 13. Het percentage van 'ingegraven kokkels' dat zich bevond in de verschillende stadia van ingraving na 16 uur.

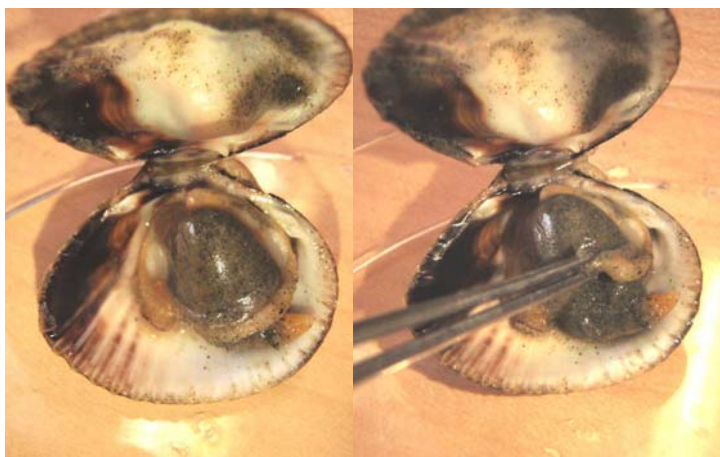
## Toestand van de gonaden

De toestand van de gonaden werd visueel geïnspecteerd. Vaak was op het oog niet duidelijk te zien of de gonaden gevuld waren of niet. Daarom werd in veel gevallen de toestand van de gonaden geclassificeerd als 'onzeker'. In een aantal gevallen was echter ook heel duidelijk te zien dat de gonaden ofwel 'vol' ofwel 'leeg' waren (Figuur 14).



Figuur 14. Voorbeelden van gevallen waarbij de gonaden zonder twijfel vol (a) en leeg (b) waren. Foto genomen door Anneke van den Brink, IMARES.

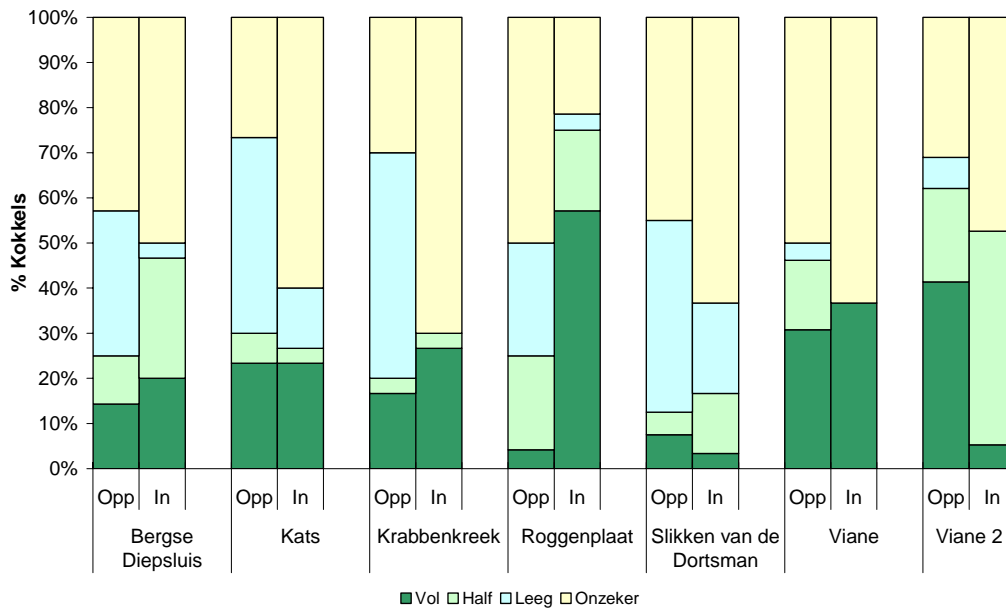
Van 27 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman die visueel werden geïnspecteerd werd bij 9 individuen een aanzienlijke hoeveelheid geaccumuleerd sediment binnen de mantel gevonden (Figuur 15). Op beide locaties Krabbenkreek en Viane werd een vergelijkbare ophoping van sediment gevonden in 1 individu.



Figuur 15. Geaccumuleerd sediment onder de mantel van 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman Foto's genomen door Anneke van den Brink, IMARES.

Op de Slikken van de Dortsman werd een relatief groot aantal kokkels aangetroffen met duidelijk lege gonaden, vooral onder de 'oppervlak kokkels' (43%) (Figuur 16). Het percentage kokkels met duidelijk volle gonaden was klein vergeleken met de andere locaties, met 8% voor 'oppervlak kokkels' en 3% voor 'ingegraven kokkels'. Het grootste verschil in de toestand van de gonaden tussen 'oppervlak kokkels' en 'ingegraven kokkels' werd gevonden op de locatie Roggenplaat. Hier werden duidelijk volle gonaden geobserveerd in 4% van de 'oppervlak

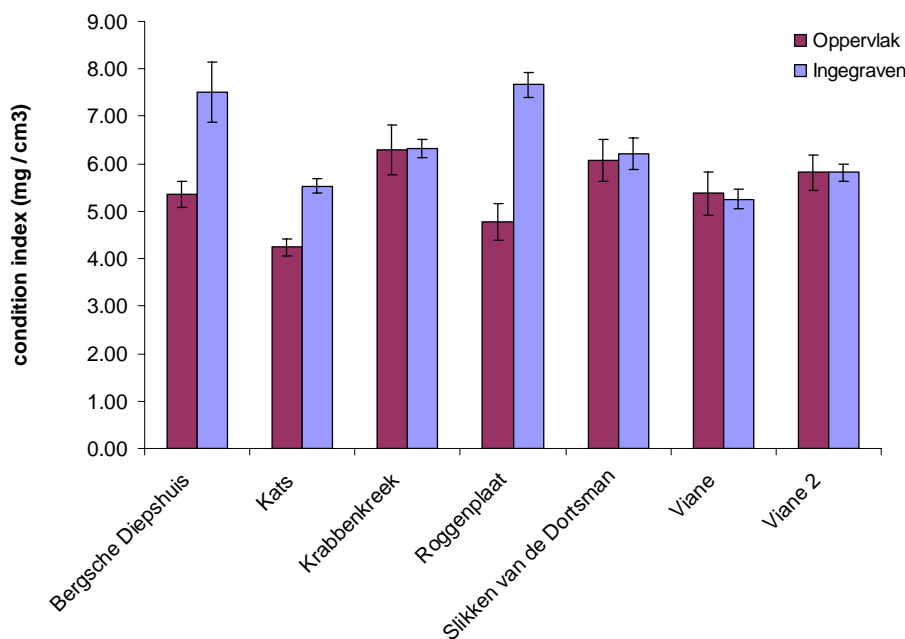
kokkels' en in 57% van de 'ingegraven kokkels'. Bij Viane 2 was de situatie omgekeerd. Hier werden duidelijk volle gonaden gezien bij 41% van de 'oppervlak kokkels' en slechts 5% van de 'ingegraven kokkels'.



Figuur 16. De toestand van de gonaden van 'oppervlak kokkels' (Opp) en 'ingegraven kokkels' (In) verzameld van verschillende locaties.

### Kokkel Conditie

Op de meeste locaties hadden 'ingegraven kokkels' gemiddeld een hogere conditie dan 'oppervlak kokkels', maar enkel bij Bergse Diepsluis, Kats en Roggenplaat was dit verschil significant (Figuur 17).



Figuur 17. De gemiddelde conditie (mg/cm<sup>3</sup> met standaard error) van 'oppervlak kokkels' en 'ingegraven kokkels' van de verschillende locaties.

## Bemonstering Waddenzee

Kokkels verzameld uit de Waddenzee, van de locaties Oude Wal en Vliehors, waren tussen de 30 en 42 mm groot. Dit is duidelijk groter dan de stervende en dode kokkels aangetroffen in de Oosterschelde. De foto's genomen bij Vliehors tonen een grote sterfte aan met hoge aantallen dode kokkels op het sediment (Figuur 18). Op de locatie Oude Wal was de mate van infectie met parasieten matig zonder duidelijke verschillen tussen 'ingegraven kokkels' en 'oppervlak kokkels'. Wel was 70% van de 'ingegraven kokkels' geïnfecteerd met *Himasthla* spp., tegen 30% van de 'oppervlak kokkels'. *G. choledochus* en *B. minimus* werden vrijwel niet aangetroffen. Rond de 50% van de kokkels was geïnfecteerd met *P. minutus*. Op de locatie Vliehors waren 'oppervlak kokkels' in hogere mate geïnfecteerd dan 'ingegraven kokkels', met de parasieten *G. choledochus* (resp. 10% en 0%), *B. minimus* (resp. 43% en 23%) en *Himasthla* spp. (resp. 60% en 30%). Voor *P. minutus* was er geen verschil tussen beide groepen (beide 87%). Zie Appendix 4 voor volledige dataset.



Figuur 18. Foto's van kokkelsterfte bij de zuidzijde van Vliehors, Vlieland (28 juni 2010, globale positie 53.14.02 N en 004.57.70 E). Foto's genomen door Dirk Bruin, Informatiecentrum De Noordwester Vlieland.



## 5. Discussie

### Omvang van de sterfte

De waargenomen kokkelsterfte in de Oosterschelde beperkte zich niet tot de Slikken van de Dortsman, waar de sterfte het eerst werd waargenomen op 15 juni 2010. Sterfte (in de vorm van dode kokkels waargenomen op het sediment oppervlak) werd eind juni 2010 naast de Slikken van de Dortsman ook waargenomen op de Slikken van Kats, Slikken van Viane, Krabbenkreek, en Vondelingeplaat. Op de Roggenplaat en bij de Bergse Diepsluis werden op het moment van de monsternamen enkel levende kokkels op het sediment oppervlak waargenomen.

De bemonsteringen zijn in een korte periode uitgevoerd en zijn daarmee slechts een momentopname. Het valt niet uit te sluiten dat op de locaties waar nu geen dode kokkels werden waargenomen deze niet alsnog later wel waargenomen zouden zijn.

Na melding in de pers van de waargenomen kokkelsterfte in de Oosterschelde kwamen er ook waarnemingen vanuit de Waddenzee binnen.

Waargenomen dichtheden aan dode en doodgaande kokkels op het sedimentoppervlak waren niet bijzonder hoog in de Oosterschelde (max. enkele ind.m<sup>2</sup> op het moment van verzamelen van de kokkels), maar vaak wel verspreid over een groot gebied. De éénmalige bemonstering eind juni was een momentopname. Kokkels aangetroffen op het sediment oppervlak kunnen door stroming en golfslag wegspoelen en het valt ook niet uit te sluiten dat de verzamelde kokkels afkomstig zijn van andere gebieden.

In de Waddenzee was bij Vliehors sprake van grote sterfte (mond. med. waarnemers), maar hier zijn geen dichtheden bepaald. Bij Oude Wal werd geen grote sterfte waargenomen, maar lagen kokkels wel aan het oppervlak (mond. med. Arnold Bakker).

Met de huidige resultaten kan niet ingeschat worden welk percentage van het kokkelbestand is doodgegaan als gevolg van parasitaire infectie. Wel kan gesteld worden dat de waargenomen dichtheden aan dode en stervende kokkels laag was in vergelijking met lokale kokkeldichtheden zoals bepaald in de kokkelsurvey van 2010. Op basis van de geschatte aantallen lagen er op 17 juni 2010 op de slikken van de Dortsman 2-5 recent dode kokkels per m<sup>2</sup>, en op 28 juni 2010 werden aan het oppervlak 0,8 ind.m<sup>2</sup> levende kokkels en 1 ind.m<sup>2</sup> recent gestorven kokkels geteld. Deze observaties laten zien dat waargenomen aantallen dode kokkels aan het sediment oppervlak laag zijn, maar wel over een langere periode (minstens 2 weken) voorkwamen. Gemiddeld over de vier meest nabijgelegen monsterpunten uit de kokkelsurvey is ter plaatse de kokkeldichtheid geschat op 85 m<sup>2</sup>. Ruw omgerekend zou het op het moment van de observatie een sterfte van enkele procenten betreffen. Benadrukt dient te worden dat de monsternamen slechts een momentopname was, en dat kokkels aan het oppervlak snel gepreedeerd kunnen worden en/of verplaatst kunnen worden door stroming en golven. Het is daarom aannemelijk dat de sterfte over de gehele periode groter zal zijn geweest. Binnen de huidige opdracht was het niet mogelijk om een kwantitatieve bepaling van het sterfteverloop in de tijd te maken (zie aanbevelingen).

Uit jaarlijkse kokkelsurveys uitgevoerd in het voorjaar in de Waddenzee, Oosterschelde en Westerschelde, alsmede herbemonsteringen in het kader van het project EVAII (2000 – 2002) in het najaar en onderzoek naar de populatiedynamica van kokkels in de Oosterschelde en Westerschelde ('kokkelvakken', 1991 – 2008, (methoden in Kesteloo, 2006)) is een beeld verkregen van de omvang van natuurlijke sterfte (in vergelijking tot sterfte door visserij) in deze gebieden. Over de periode 1992 – 2002 is de natuurlijke sterfte over een geheel jaar in de Oosterschelde bepaald op gemiddeld 61% (Kamermans *et al.*, 2004). De sterfte in het zomerseizoen, van 1 mei t/m 1 september is geschat op 28% (Kamermans *et al.*, 2004; Kamermans *et al.*, 2003). Dit is ook het sterftepercentage dat wordt gehanteerd bij omrekening van het bepaalde kokkelbestand in het voorjaar (uit de survey) naar het geschatte bestand in het najaar (Kesteloo *et al.*, 2009). Hierbij dient opgemerkt te worden dat het hier een gemiddelde betreft uit zeer uiteenlopende waarden. Met name in de Oosterschelde is de variatie in zomersterfte hoog; deze varieerde in de periode 1996 – 2002 tussen 11% en 58%. Binnen het kader van EVAII heeft men gezocht naar oorzakelijke verbanden tussen zomersterfte en weersomstandigheden, visserij en voedselaanbod, voor zowel Oosterschelde als Westerschelde en Waddenzee. Geconcludeerd werd dat de toenmalige dataset nog onvoldoende groot was om het relatieve belang van deze factoren te bepalen (Kamermans *et al.* 2004). Het is daarom nog niet bekend waar de grote variatie in natuurlijke sterfte van jaar tot



jaar door veroorzaakt wordt. Het effect van parasitaire infecties is niet meegenomen in de EVAI analyses. In hoeverre de waargenomen natuurlijke kokkelsterfte in deze studie heeft geleid tot een hogere zomersterfte is met de huidige data niet af te leiden (zie aanbevelingen).

## Aanwezigheid van Parasieten

Trematoden vormen een onderdeel van de fauna rond kokkel populaties en in alle onderzochte partijen kokkels werden dan ook trematode soorten aangetroffen. Het percentage met trematoden geïnfecteerde kokkels op Slikken van de Dortsman en de intensiteit van deze infecties waren zeer hoog in de kokkels verzameld op 17 juni.

De kokkel is voor *Bucephalus minimus* en *Gymnophallus choledochus* de eerste tussengastheer. *Bucephalus minimus* heeft als eindgastheer zeebaars, *Gymnophallus choledochus* heeft als eindgastheer watervogels. Beide parasieten vormen geen gevaar voor de volksgezondheid. Beide soorten komen met over het algemeen met een lage prevalentie voor langs de kust van Noordwest Europa (De Montaudouin *et al.*, 2009). *Bucephalus minimus* komt in Noordwest Europa voor bij circa 5-10% van de kokkels in een populatie (pers. comm. Xavier de Montaudouin). Van *Gymnophallus choledocus* is beschreven dat deze betrokken kan zijn bij zomersterfte van kokkels (Thieltges, 2006).

De kokkel is voor *Himasthla* species, *Parvatrema minutus*, *Renicola roscovita* en *Psilostomum brevicolle* de tweede tussengastheer. De eindgastheer voor deze trematode soorten zijn watervogels. Voor *Parvatrema minutus* is dit de scholekster. De trematoden vormen dan ook geen gevaar voor de volksgezondheid. De *Himasthla* species zijn niet nader getypeerd, er zijn drie soorten mogelijk, *Himasthla interrupta*, *Himasthla continua* en *Himasthla elongata*, die morfologisch sterk op elkaar lijken. Van alle partijen is materiaal in de ethanol gefixeerd voor eventuele latere typering van de species. *Parvatrema minutus* wordt meestal in de literatuur beschreven als *Meiogymnophallus minutus* maar door (Scholz, 2002) wordt aannemelijk gemaakt dat *Parvatrema* de juiste genus naam is en deze wordt hier dan ook aangehouden. Hoewel de prevalentie en intensiteit van infectie van trematoden met de kokkel als tweede tussengastheer zeer hoog kan zijn worden over het algemeen deze soorten niet gezien als een probleem voor de kokkels (pers. comm. Xavier de Montaudouin).

In de eerste partij kokkels, verzameld op 17 juni op de Slikken van de Dortsman en Yerseke Bank, waren *Himasthla* species en *Parvatrema minutus* nagenoeg alleen aanwezig op de Slikken van de Dortsman. *Gymnophallus choledocus* is niet waargenomen in de partij van de Yerseke Bank en in de partij van de Slikken van de Dortsman was de frequentie zo laag dat de parasiet hoogstwaarschijnlijk geen rol heeft gespeeld bij deze sterfte. De waargenomen prevalentie van *Bucephalus minimus* op de Slikken van de Dortsman wordt door twee onderzoekers op het gebied van trematoden onafhankelijk van elkaar als uitzonderlijk hoog beschouwd (pers. comm. Xavier De Montaudouin en David Thieltges). De hoge prevalentie en intensiteit van de infectie met *Bucephalus minimus* zal naar alle waarschijnlijkheid een rol hebben gespeeld in de waargenomen sterfte in het gebied Slikken van de Dortsman.

De tweede partij kokkels, verzameld op 28 juni en 1 juli, bevestigde de hoge prevalenties van *Bucephalus minimus* op de locatie Slikken van de Dortsman. Hoewel de prevalenties lager waren dan in het eerste onderzoek, was het aantal kokkels geïnfecteerd met *Gymnophallus choledocus* hoger waardoor de som van de prevalenties van trematoden met de kokkel als eerste tussengastheer 55% was. Naast dat de aantallen onderzochte kokkels laag is voor statistische verwerking kan ook de bijna twee weken die tussen de monsternamen op 17 juni en de volgende monsternamen op 30 juni heeft gezeten een rol hebben gespeeld in de verschillen gevonden tussen de twee bemonsteringen. Op de locaties Viane, Bergse Diep en Kats werd ook een hoge prevalentie van *Bucephalus minimus* waargenomen, terwijl die op de Roggenplaat, Krabbenkreek en Vondelingeplaat laag was.

Op één locatie, Krabbenkreek, was een relatief zeer groot aantal kokkels geïnfecteerd met sporen van verschillende Haplosporidia species. Twee soorten konden worden onderscheiden maar zijn nog niet nader getypeerd. *Haplosporidium edule* is beschreven in kokkels en is waarschijnlijk een van deze species. De andere species is mogelijk *Minchinia tapetis* of *Minchinia mercenariae* deze soorten zijn aangetroffen in kokkels uit het Verenigd Koninkrijk (ongepubliceerde data M. Engelsma). In totaal zijn in 11 van de 36 kokkels van deze locatie sporen van deze parasiet waargenomen. Mogelijk kunnen deze Haplosporidia hebben bijgedragen aan de sterfte in de kokkelpopulatie.

In de histologie was met name een *Nematopsis* species massaal aanwezig in de kokkel populatie van de Slikken van de Dortsman. Deze parasiet wordt niet gezien als een primair probleem voor kokkels. De enkele waargenomen bacteriële ontstekingen (*Rickettsia*-achtige organismen) zijn hoogst waarschijnlijk secundaire ontstekingen. Er zijn verschillende studies in de literatuur waarbij sterfte in verschillende kokkel populaties is toegeschreven aan een virale agens (Carballal *et al.*, 2003; Romalde *et al.*, 2007). In de onderzochte kokkels uit de Oosterschelde is er vanuit de histologie geen enkele aanwijzing voor een virale oorzaak van de problemen. Daarnaast zijn er géén exotische of niet-exotische aangifteplichtige schelpdierziekten (volgens ziektelijsten in de EU regelgeving 2006/88/EC, 2010/7057/EC) aangetoond in de onderzochte partijen kokkels.

Het meest aannemelijk is dat de trematode *Bucephalus minimus* voor een groot deel heeft bijgedragen aan de waargenomen sterfte van kokkels op de locatie Slikken van de Dortsman, alsook op een aantal andere locaties in de Oosterschelde (Kats, Viane, Bergse Diep). Of dit ook de initiële oorzaak van de problemen is geweest is niet duidelijk; mogelijk heeft een andere factor, waarschijnlijk de weersomstandigheden, in eerste instantie de conditie van de kokkels op deze locatie verslechterd waarna de kokkels vatbaarder zijn geworden voor infecties met deze trematode. Gezien de tijdsduur nodig voor de ontwikkeling van deze trematoden zal dit al eerder in het jaar geweest zijn.

## Aanwijzingen voor fysieke verzwakking

### Ingraafsnelheden

De ingraafproeven lieten zien dat kokkels die aan het oppervlak van het sediment lagen zich niet meer goed in konden graven. Als kokkels zich niet meer goed in kunnen graven kan dat in theorie rechtstreeks veroorzaakt worden door parasieten, maar ook door verzwakking (al dan niet als gevolg van een infectie met parasieten).

Kokkels die in het veld aan het oppervlak liggen zijn veel kwetsbaarder voor extreme luchttemperaturen bij droogvallen dan ingegraven kokkels. Ook zijn ze meer blootgesteld aan uitdroging en predatoren en kunnen ze wegspoelen naar minder optimale leefgebieden. Desclaux *et al.* (2002) vonden dat sterfte onder kokkels in de Baai van Arcachon, Frankrijk, twee tot vijfmaal zo hoog was onder kokkels die aan het oppervlak lagen dan kokkels die ingegraven waren. Blanchet *et al.* (2003) hadden vergelijkbare resultaten met kokkels in hetzelfde gebied. Zij stelden dat het liggen aan het oppervlak over het algemeen leidt tot sterfte. Zij rapporteerden ook een significant hogere infectie met bacteriën in oppervlakte kokkels dan in ingegraven kokkels, hoewel infecties met trematoden vergelijkbaar waren tussen oppervlak en ingegraven kokkels. Volgens hen zouden de bacteriën de oorzaak zijn dat de kokkels naar het oppervlak migreerden, maar niet de sterfte direct hebben veroorzaakt.

Dus, terwijl het liggen aan het sedimentoppervlak een resultaat van infectie en/of verzwakking kan zijn, is het ook een oorzaak van verdere verzwakking en uiteindelijk mortaliteit. De 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman groeven zich langzamer in dan die van de Bergse Diepsluis, Viane, Viane 2 en Kats, terwijl die van de Krabbenkreek en Roggenplaat zich in het geheel niet ingroeven. Hoewel de sterfte tijdens de ingraafproef minimaal was onder kokkels van de meeste locaties, stierf maar liefst 65% van de 'oppervlak kokkels' van de Slikken van de Dortsman en 60% van de 'oppervlak kokkels' van de Krabbenkreek, wat impliceert dat ze al stervende waren toen ze werden verzameld.

De 'ingegraven kokkels' van de Slikken van de Dortsman en de Krabbenkreek leken zich niet langzamer in te graven dan 'ingegraven kokkels' van andere locaties. De 'ingegraven kokkels' van de Slikken van de Dortsman waren zelfs de snelste ingravers. Voor 'ingegraven kokkels' van alle locaties gold dat alle kokkels binnen 16 uur waren ingegraven, zonder gevallen van sterfte afgezien van de Roggenplaat en Viane 2 (resp. 8% en 6% sterfte tijdens het experiment).

### Lengte en leeftijd

De data uit de huidige studie geven aan dat de sterfte onder verschillende leeftijdsklassen voorkwam en niet duidelijk beperkt was tot slechts de jongere of oudere kokkels. Over het algemeen leek onder 'oppervlak kokkels'

een grotere proportie oudere kokkels gevonden te worden dan onder 'ingegraven kokkels'. Richardson et al (1993) vond een lagere graaactiviteit onder grotere kokkels dan onder kleinere kokkels.

Kokkels verzameld van de Slikken van de Dortsman en Kats waren kleiner dan kokkels uit dezelfde leeftijdsklassen verzameld van de andere locaties. Dit suggereert dat de Slikken van de Dortsman en Slikken van Kats geen optimale locaties zijn voor kokkelgroei, vergeleken met de andere locaties. Iglesias en Navarro (1991) veronderstelden op basis van hun onderzoek dat bij slechtere groei-omstandigheden de reproductieve output relatief groter is. Het is mogelijk dat de kokkels van de Slikken van de Dortsman en van Kats, die relatief klein van stuk waren en dus langzamer gegroeid waren, relatief veel energie hebben gestoken in het paaien, waardoor ze mogelijk meer verzwakt zijn geraakt zijn dan de relatief grotere kokkels van andere locaties. Op deze locaties was infectie met trematoden ook het hoogst.

Hoewel habitatmodellering gebaseerd op biomassa en dichtheden van kokkels in de Oosterschelde aangeeft dat de Slikken van de Dortsman zeer geschikt habitat voor kokkels vormen (Kater *et al.*, 2004), kan de relatief lange droogvalduur in het gebied geresulteerd hebben in de geobserveerde relatief kleine schelpengtes. Bij een langere droogvalduur hebben de kokkels namelijk minder tijd om algen te filteren uit het water, wat logischerwijs kan resulteren in een langzamere groei.

#### Toestand van de gonaden

De kwalitatieve inschatting van de toestand van de gonaden leidde er in veel gevallen toe dat niet met zekerheid gezegd kon worden of de gonaden leeg, vol of halfvol waren. Wel kon van een groot deel van de kokkels met zekerheid gesteld worden dat de gonaden ofwel duidelijk leeg ofwel duidelijk vol waren. De data tonen aan dat in juni de kokkels volop aan het paaien waren, wat overeenkomt met de normale paaiperiode van deze soort. De Slikken van de Dortsman weken af van de overige locaties in die zin dat er opvallend weinig kokkels met duidelijk volle gonaden werden gevonden. Dit kan betekenen dat relatief veel kokkels reeds gepaaid hadden, maar het kan ook betekenen dat de kokkels in het geheel geen gonaden hadden opgebouwd, of zelfs dat ze de gonaden geresorbeerd hadden in een periode van voedselgebrek. Alle drie mogelijke verklaringen hebben te maken met een verlaagde fitheid van de kokkels. Dit kan vervolgens de hoge infectiegraad met trematoden, en de uiteindelijke sterfte als gevolg van de infecties, veroorzaakt hebben.

#### Conditie

Op de meeste locaties hadden 'ingegraven kokkels' gemiddeld een hogere conditie dan 'oppervlak kokkels'. Dit verschil was alleen significant op de locaties Kats en Roggenplaat. Over het algemeen waren de condities van de kokkels laag. In de maand juni is de conditie index normaal relatief groot omdat dan zowel somatische groei plaatsvindt en investeringen in gonadenontwikkeling hebben plaats gevonden (Newell and Bayne 1980, Zwarts 1991, Cardoso 2007). Vanaf augustus begint de conditie weer af te nemen en bereikt deze een minimum in de winter. Conditie indexen voor de Oosterschelde zijn nauwelijks voorhanden, maar een omrekening op basis van de data van Treijtel (2007) laten een gemiddelde conditie zien van  $8,5 \text{ mg cm}^{-3}$  in september en  $7,1 \text{ mg cm}^{-3}$  in november 2004. Dit is iets lager dan de waarden ( $\pm 10 \text{ mg cm}^{-3}$ ) vermeld door Cardoso (2007) voor de Waddenzee in dezelfde maanden. Voor de maand juni geeft Cardoso een gemiddelde index van  $\pm 13 \text{ mg cm}^{-3}$ , terwijl we in deze studie gemiddeld een conditie index van  $6,3 \text{ mg cm}^{-3}$  aantreffen. Deze conditie is relatief laag, maar opgemerkt dient te worden dat het asvrijdrooggewicht bekomen werd na toepassing van een bepaalde conversiefactor en hiermee een grote onzekerheidsmarge kent.

#### Temperatuur effect

De winter van 2009/2010 hield lang aan en was de koudste in de afgelopen 14 jaar (KNMI). Het bleef lang koud in het voorjaar (vooral een koele meimaand, maart en april waren eerder zacht), maar het warmde snel op naar een gemiddelde luchttemperatuur van  $16,4^\circ\text{C}$  in juni. Een strenge winter met daaropvolgende snelle opwarming kan een verzwakking van de kokkels veroorzaakt hebben, met mogelijk een verandering van de populatiestructuur als gevolg van sterftes onder bepaalde leeftijdsklassen. Hancock (1970) vond dat specifieke parasieten alleen geassocieerd konden worden met kokkelsterfte in tijden van stress, zoals door koude winters en hete zomers. In Nieuw-Zeeland werd een massale sterfte onder de *Austrovenus stutchburyi* toegeschreven aan een verzwakking

als gevolg van extreme hoge temperaturen (MAFBNZ, 2009) en in de Burry Inlet in Wales werd warmtestress ook geopperd als een mogelijke oorzaak van massale sterfte onder kokkels (Elliott *et al.*, 2010). In Traeth Melynog in Noord-Wales werd een hoge mortaliteit onder kokkels waargenomen op locaties waar extreme temperaturen voorkwamen en wintersterfte werd regelmatig waargenomen. Hierbij komt dat de Slikken van de Dortsman, waar de hoogste sterfte werd waargenomen en parasieten de hoogste prevalenties vertoonden, relatief hoog gelegen is in het intergetijdengebied. Bij laagwater liggen de kokkels relatief lang droog, waarbij met name kokkels die nabij of op het oppervlak liggen zijn blootgesteld aan meer extreme temperaturen.

## Voedselaanbod

Kokkels zijn filter feeders die algen uit het water filteren. De hoeveelheid beschikbare algen is dan ook een belangrijke factor die de conditie van de kokkel zal bepalen. Metingen door het Nederlands Instituut voor Ecologie (NIOO) van de primaire productie in de Oosterschelde (locatie Zeelandbrug) laten voor de eerste helft van 2010 geen abnormaal lage waarden zien (pers. comm. Peter Herman) ten opzichte van andere jaren. Ook het seizoenspatroon vertoont geen afwijkingen ten opzichte van andere jaren, met een duidelijke voorjaarspiek in begin april. Een gebrek aan voedsel lijkt dan ook niet de oorzaak te zijn van de waargenomen kokkelsterfte in de Oosterschelde.

## Kokkelsterfte in het buitenland

Sinds 2002 komen vergelijkbare kokkelsterftes als waargenomen in de Oosterschelde jaarlijks voor onder kokkelbanken (*C. edule*) in de Burry Inlet in Wales (Elliott *et al.* 2010). Hoewel geen eenduidige oorzaak werd gevonden, werden de volgende observaties gedaan: er waren weinig veranderingen in het abiotische milieu ter plaatse, hoge maar uniforme massale sterfte (geen episodische sterfte), sterfte volgde meestal op het paaien, gerelateerd aan paaien werd een lage conditie waargenomen, hoge infectie met parasieten en sneller groei en vroegere reproductie vergeleken met kokkels in andere gebieden (zonder sterfte).

Vergelijkbaar met de sterfte in de Oosterschelde werd in de late zomer van 2004 een opvallende kokkelsterfte onder *C. edule* waargenomen op een plaat in de Waddenzee van Sleeswijk-Holstein, waarbij vele recent gestorven en stervende kokkels aan het sedimentoppervlak werden waargenomen (Thieltges 2006). Thieltges (2006) stelde voor dat bacteriele infecties, hoge kokkeldichtheden (verdringing) en extreme omgevingsfactoren een rol spelen bij de migratie naar het oppervlak, los van parasitaire infecties, of dat kokkels aan het oppervlak zijn gaan liggen als gevolg van onbekende factoren en vervolgens geïnfecteerd zijn geraakt met parasieten. Dit laatste leek echter onwaarschijnlijk omdat slechts volledig ontwikkelde parasieten in de kokkels werden gevonden en geen vroege ontwikkelingsstadia). Omdat de kokkels alleen aan het sedimentoppervlak verschenen gedurende een korte periode in de late zomer, wees Thieltges (2006) parasieten zoals de trematode *Gymnophallus choledochus* aan als meest waarschijnlijke oorzaak voor de sterfte.

In de zomer van 1991 werd een massale kokkelsterfte (*C. edule*) waargenomen aan de Zweedse westkust (Jonsson en André 1992). Meer dan 20% van de kokkelpopulatie was geïnfecteerd met de trematode *Cercaria cerastodermæ* (= *Monorchis parvus*) en de meeste geïnfecteerde individuen hadden ernstige weefselschade. Geconcludeerd werd dan ook dat deze trematode verantwoordelijk was geweest voor de geobserveerde sterfte. Ingraafexperimenten, en geobserveerde weefselschade aan de voet (waarmee de kokkel zich ingraaft) lieten zien dat de trematode de ingraafcapaciteit van de kokkel vermindert.

In Nieuw-Zeeland werd massale sterfte van de kokkel *Austrovenus stutchburyi* waargenomen na een extreem warme zomer in 2006 (MAFBNZ 2009). De sterfte werd toegeschreven aan verzwakking door extreme warmte met een grotere bevattelijkheid voor twee verschillende ziekteverwekkers tot gevolg: een algemeen voorkomende parasiet die de kieuwen infecteerde en een myobacterie. Myobacteriën zijn vrij levende bacteriën die algemeen voorkomen in mariene en aquatische milieus maar die slechts in uitzonderlijke gevallen worden aangetroffen in weekdieren (MAFBNZ 2009).

## Vergelijking met de Waddenzee

De massale sterfte waargenomen op een aantal locaties in de Waddenzee laat een verschillend beeld zien wat betreft parasitaire infecties op deze locaties. Op Schiermonnikoog was de parasitaire infectie laag, op Vliehors relatief hoog. Gezien de relatief grote schelpenlengte van de aldaar verzamelde dieren heeft hier waarschijnlijk ouderdom (de meeste kokkels zijn van het goede broedvaljaar 2005 en zijn daarmee 5 jaar oud) een belangrijke rol gespeeld. Ook in de Waddenzee werden geen bewijzen gevonden voor infecties met exotische pathogenen. Massale kokkel sterfte is wel eerder gemeld, maar niet gerapporteerd in de Nederlandse Waddenzee.

## 6. Conclusies

In antwoord op de kennisvraag “Hoe groot is de omvang van de kokkelsterfte in de Oosterschelde, tot welke locaties strekt de sterfte zich uit en waar is de sterfte door veroorzaakt?” kan het volgende geconcludeerd worden:

### Omvang van de sterfte

De grote kokkelsterfte gerapporteerd medio juni 2010 deed zich voor op de Slikken van de Dortsman. Einde juni 2010 werden nog steeds dode kokkels waargenomen op de Slikken van de Dortsman, maar in lagere aantallen. Ook op andere locaties in de Oosterschelde werden dode kokkels aangetroffen, en op alle bezochte locaties werden levende kokkels op het sediment oppervlak gevonden. De mortaliteit werd bij alle leeftijdsklassen waargenomen. Op alle locaties werden nog veel levende kokkels ingegraven in het sediment waargenomen. De exacte omvang van de sterfte is moeilijk in te schatten maar er kan besloten worden dat een beperkt deel van de kokkelpopulatie doodgegaan was op het moment van de monstername in de tweede helft van juni. Bijkomend onderzoek is nodig voor een inschatting van de opgetreden sterfte in de aanwezige kokkelpopulaties (zie verder aanbevelingen).

### Oorzaak van de sterfte

Het meest aannemelijk is dat de trematode *Bucephalus minimus* voor een groot deel heeft bijgedragen aan de waargenomen sterfte van kokkels op de locatie Slikken van de Dortsman en op een aantal andere locaties in de Oosterschelde (Bergse Diep, Kats, Viane). Op de Krabbenkreek kan de verhoogde aanwezigheid van Haplosporidia hebben bijgedragen aan de waargenomen sterfte. Mogelijk zijn de kokkels verzwakt door andere factoren waarna ze vatbaarder zijn geworden voor parasitaire infecties. Gezien de tijdsduur nodig voor de ontwikkeling van deze trematoden zal dit al eerder in het jaar geweest zijn. Factoren die mogelijk een rol hebben gespeeld zijn de lange en strenge winter van 2009/2010 en de relatief grote temperatuur variaties tijdens de paaiperiode. Verzwakking als gevolg van temperatuurseffecten is dan ook een waarschijnlijk scenario, met name voor de hoger gelegen gebieden met langere droogvalduur, waarna infectie door trematoden geleid heeft tot sterfte in de aanwezige kokkelpopulaties.

### Beantwoording van de kennisvragen

Kort samengevat uit bovenstaande paragrafen van dit hoofdstuk luidt het antwoord op de kennisvraag

“Hoe groot is de omvang van de kokkelsterfte in de Oosterschelde, tot welke locaties strekt de sterfte zich uit en waar is de sterfte door veroorzaakt?”

als volgt:

De kokkelsterfte in de Oosterschelde strekte zich uit over verschillende platen en slikken in de Oosterschelde, met een zwaartepunt op de Slikken van de Dortsman. De ruw ingeschatte mortaliteit van enkele procenten is een momentopname en zegt weinig over de totaal opgetreden natuurlijke zomersterfte. Of de geobserveerde sterfte heeft geleid tot een verhoging van de zomersterfte tot meer dan 58%, de hoogst vastgestelde natuurlijke zomersterfte onder kokkels in de Oosterschelde, is met de huidige resultaten niet te zeggen.

De beantwoording van de subvragen is als volgt:

- 1- “Is er bij stervende dieren sprake van een verminderde conditie door een laag voedselaanbod, mogelijk in combinatie met paaien?”

Bij de stervende dieren werd geen verminderde conditie waargenomen, maar er zijn wel aanwijzingen voor verzwakking als gevolg van extreme temperaturen, een lange droogvalduur, een relatief kleine grootte voor de

leeftijd en mogelijk daaruit volgend een relatief groot verlies aan energie door paaien. Het voedselaanbod voor de kokkels was in de eerste helft van 2010 normaal te noemen ten opzichte van andere jaren.

2- "Is op alle locaties waar sterfte is geconstateerd sprake van relatief omvangrijke parasitaire infecties?"

Op de locaties waar kokkelsterfte werd waargenomen, en in het bijzonder op de Slikken van de Dortsman, was sprake van relatief zeer omvangrijke parasitaire infecties (zowel qua prevalentie als intensiteit) die hoogstwaarschijnlijk de uiteindelijke doodsoorzaak zijn geweest. Kokkels die op het oppervlak lagen hadden een grotere infectiegraad dan nog ingegraven kokkels. Deze 'oppervlak-kokkels' waren ook niet meer in staat zich in te graven en zullen dan ook in het veld snel doodgaan door predatie of verspoeling naar suboptimale gebieden.

## Hoe uitzonderlijk is de waargenomen sterfte?

Massale sterfte onder kokkels is een algemeen bekend fenomeen (Duitse Waddenzee, Thieltges 2006; Wales, Elliott et al. 2010; Nieuw-Zeeland, MAFBNZ 2009). Klimatologische omstandigheden zoals extreme temperaturen, maar ook parasitaire infecties en verzwakking door paaien worden vaak in verband gebracht met deze massale kokkelsterftes, hoewel de precieze oorzaken meestal niet duidelijk vastgesteld kunnen worden. In Wales is er reeds meerdere, opeenvolgende jaren sprake van massale kokkelsterftes met grote gevolgen voor de kokkelpopulaties, maar de oorzaken zijn nog onvoldoende bekend, hoewel ook hier parasitaire infecties een rol spelen. Tot in hoeverre dit fenomeen zich reeds in de Oosterschelde voordoet, of zich in de toekomst (frequenter) voor zal gaan doen, weten we niet. Hiervoor is nader onderzoek nodig (zie aanbevelingen).

Over massale kokkelsterftes in Nederlandse kustwateren is nooit iets gerapporteerd, maar er zijn wel anekdotische meldingen van opvallend hoge sterftes. Parasitologisch onderzoek naar een lokale sterfte uit de Waddenzee bij Harlingen in 2004 toonde geen veterinaire oorzaak aan (Engelsma 2004, CVI kenmerk 04016440), net als een lokale kokkelsterfte onderzocht uit de Westerschelde in oktober 2005 (Engelsma 2005, kenmerk 05019333). Naar oorzaken van natuurlijke sterfte onder kokkels in de Oosterschelde is weinig onderzoek gedaan. Binnen het kader van EVAII leverde onderzoek naar oorzakelijke verbanden tussen zomersterfte en weersomstandigheden, visserij en voedselaanbod geen resultaten op vanwege een te kleine dataset (Kamermaans et al. 2004). Het effect van parasitaire infecties is nooit onderzocht voor kokkels in Nederlandse kustwateren. Gebaseerd op de resultaten in dit rapport lijkt een combinatie van klimatologische omstandigheden en parasitaire infecties de oorzaak te zijn van de waargenomen sterfte in de Oosterschelde, waarbij ook verzwakking door paaien een rol gespeeld kan hebben

## Aanbevelingen

1. Herhaal (een gedeelte van) de kokkelsurvey die in het voorjaar van 2010 heeft plaatsgevonden. Dit zal inzicht verschaffen in de exacte omvang van de opgetreden sterfte in de aanwezige kokkelpopulatie. Een steekproef op verschillende locaties in de Oosterschelde volstaat. Deze bemonstering gebeurt het best in de loop van september of oktober 2010, maar in ieder geval voor het intreden van de winter.
2. Onze aanbeveling is om de komende jaren het al dan niet optreden van kokkel sterfte in de zomerperiode nader op te volgen en onderliggende oorzaken nader te onderzoeken. Hiervoor vormt de survey naar kokkelgroei en overleving die tot 2008 door IMARES werd uitgevoerd in opdracht van LNV in de Oosterschelde, Westerschelde en Waddenzee (de 'kokkelvakken') een goede basis. Vooralsnog is onbekend in hoeverre grote sterftes door parasitaire infecties een regelmatig terugkerend fenomeen zijn. Hoewel ieder jaar de omvang van het bestand wordt vastgesteld, gebeurt dit slechts in het voorjaar waardoor sterfte van het ene jaar op het andere niet toegeschreven kan worden aan wintersterfte dan wel zomersterfte (mogelijk door parasieten). Bepaling van de zomermortaliteit is relevant vanuit de Natura 2000 doelstellingen omdat de hoeveelheid kokkels beschikbaar in het najaar en winter bepalend is voor het voorkomen van verschillende Natura 2000 doelsoorten (bijv. scholekster). Het onderscheid tussen zomersterfte en wintersterfte is noodzakelijk bij het achterhalen van oorzaken bij een eventuele achteruitgang in kokkelaantallen. Bijkomend parasitologisch onderzoek dient hier tevens bij aan bod te komen.

## 7. Dankwoord

De volgende mensen worden bedankt voor het helpen verzamelen van kokkels in het veld: Gert-Jan van Veen en de bemanning van De Valk (LNV), Ad van Gool (IMARES Yerseke), Tim Schellekens (IMARES Yerseke), Jeroen Jansen en Arnold Bakker (IMARES Texel), Bram Fey en de bemanning van de Krukel en Phoca (LNV). Dirk Bruin van het Informatiecentrum De Noordwester Vlieland maakte melding van de kokkelsterfte bij de Vliehors en bezorgde hiervan foto's.



## 8. Kwaliteitsborging

IMARES beschikt over een ISO 9001:2000 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 08602-2004-AQ-ROT-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2012. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Het laatste controlebezoek vond plaats op 26-28 april 2010. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Milieu over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 27 maart 2013 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

## 9. Referenties

- Carballal, M. J., A. Villalba, D. Iglesias, and P. M. Hine. (2003). Virus-like particles associated with large foci of heavy hemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain). . *Journal of Invertebrate Pathology* 84:234-237.
- Cardoso, J.F.M.F. (2007) Growth and reproduction in bivalves: An energy budget approach. PhD thesis University Groningen.
- De Montaudouin, X., D. W. Thieltges, M. Gam, M. Krakau, S. Pina, H. Bazairi, L. Dabouineau, F. Russell-Pinto, and K. T. Jensen. (2009). Digenean trematode species in the cockle *Cerastoderma edule*: identification key and distribution along the north-eastern Atlantic shoreline. *J. Mar Biol Ass UK* 89:543-556.
- Desclaux, C., X. de Montaudouin, and G. Bachelet. (2002). Cockle emergence at the sediment surface: 'favourization' mechanism by digenean parasites? *Diseases of Aquatic Organisms* 52:137-149.
- Elliott, M., D. Burdon, R. Callaway, J. Hartle, T. Hill, M. Longshaw, S. Malham, and R. Stockdale. (2010). Burry Inlet Cockle Mortalities Investigation: Scientific Findings March to July 2009. Interim Report - Consultation Draft to the Environment Agency Wales. Report: YBB140-D3-2010
- Iglesias, J. I. P. and E. Navarro. (1991). Energetics of Growth and Reproduction in Cockles (*Cerastoderma-Edule*) - Seasonal and Age-Dependent Variations. *Marine Biology* 111:359-368.
- Jonsson P.R. and Andre´ C. (1992) Mass mortality of the bivalve *Cerastoderma edule* on the Swedish west coast caused by infestation with the digenean trematode *Cercaria cerastodermae* I. *Ophelia* 36, 151–157.
- Kamermans, P., T. Bult, B. Kater, D. Baars, J. Kesteloo, J. Perdon, and E. Schuiling. (2004). Eindrapport EVA II (Evaluatie Schelpdiervisserij tweede fase). Deelproject H4: Invloed van natuurlijke factoren en kokkelvisserij op de dynamiek van bestanden aan kokkels (*Cerastoderma edule*) en nonnen (*Macoma balthica*) in de Waddenzee, Ooster- en Westerschelde. Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV, RIVO Rapport C058/03, Yerseke.
- Kamermans, P., J. Kesteloo, and D. Baars. (2003). Eindrapport EVA II (Evaluatie Schelpdiervisserij tweede fase). Deelproject H2: Evaluatie van de geschatte omvang en ligging van kokkelbestanden in de Waddenzee, Ooster- en Westerschelde. Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV, RIVO Rapport C054/03, Yerseke.
- Kater, B. J., A. G. Brinkman, J. M. D. D. Baars, and G. Aarts. (2004). Kokkelhabitatkaarten voor de Oosterschelde en Waddenzee. Nederlands Instituut voor Visserij Onderzoek (RIVO) BV.
- Kesteloo, J. (2006). Kokkelgroei en overleving in de zomerperiode in de Westerschelde. Wageningen IMARES, Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies, Rapport C055/06, Yerseke.
- Kesteloo, J., C. Van Zweeden, M. Poelman, and J. M. Jansen. (2009). Het kokkelbestand in de Nederlandse kustwateren in 2009. Wageningen IMARES, Institute for Marine Resources and Ecosystem Studies, Report C087/09, Yerseke, the Netherlands.
- MAFBNZ. (2009). Parasites and bacteria responsible for mass cockle deaths at Whangateau Estuary. MAF Biosecurity New Zealand. Available at: <http://www.biosecurity.govt.nz/media/21-08-09/cockle-death-whangateau-estuary>.
- Newell, R.I.E. and B.L. Bayne (1980) Seasonal changes in the physiology, reproductive condition and carbohydrate content of the cockle *Cardium (=Cerastoderma) edule* (Bivalvia: Cardiidae). *Marine Biology* 56: 11-19.
- Richardson, C. A., I. Ibarrola, and R. J. Ingham. (1993). Emergence pattern and spatial distribution of the common cockle *Cerastoderma edule*. *Marine Ecology Progress Series* 99:71-81.
- Romalde, J. L., M. L. Vilarino, R. Beaz, J. M. Rodriguez, S. Diaz, A. Villalba, and M. J. Carballal. (2007). Evidence of retroviral etiology for disseminated neoplasia in cockles (*Cerastoderma edule*). *Journal of Invertebrate Pathology* 94:95-101.
- Scholz, T. (2002). *Family Gymnophallidae Odhner, 1905*. In: D.I. Gibson, A. Jones and R.A. Bray (Eds), *Keys to the Trematoda*, Vol. 1, CAB International and The Natural History Museum, London.
- Thieltges, D. W. (2006). Parasite induced summer mortality in the cockle *Cerastoderma edule* by the trematode *Gymnophallus choledochus*. *Hydrobiologia* 559:455-461.
- Treijtel, R. (2005) Aanpassing van kieuwen en palpen van *Mytilus edulis*, *Cerastoderma edule* en *Crassostrea gigas* aan een veranderd voedselaanbod. RIVO Rapport 05.006.

Zwarts, L. (1991) Seasonal variation in body weight of the bivalves *Macoma balthica*, *Scrobicularia plana*, *Mya arenaria* and *Cerastoderma edule* in the Dutch Wadden Sea. Netherlands Institute of Sea Research 28: 231-245.

# Verantwoording

Rapport C101/10  
Projectnummer: 430.83010.03

## Verantwoording

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

Akkoord: Dr. Pauline Kamermans  
Onderzoeker

Handtekening:



Datum: 20 september 2010

Akkoord: Birgit Dauwe  
Afdelingshoofd

Handtekening:



Datum: 20 september 2010

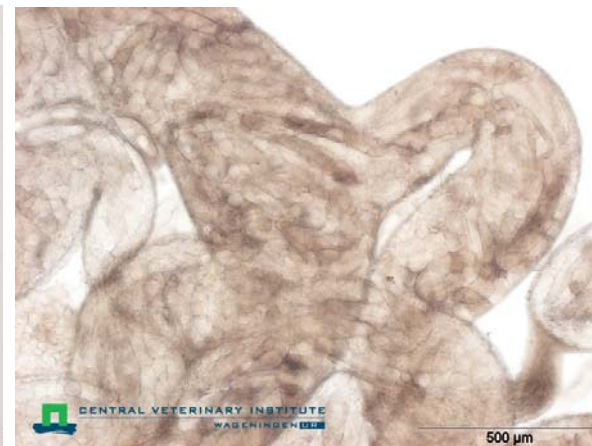
Aantal exemplaren: 35  
Aantal pagina's: 42  
Aantal tabellen: 1  
Aantal figuren: 18  
Aantal bijlagen: 3

# Appendix

Appendix 1. Dominante trematoden species waargenomen in deze studie.

## Digenean trematodes cockles 1 intermediate host

### **1 *Bucephalus minimus***



Sporocysts with cercaria  
Location: gonads

First intermediate host: *Cerastoderma edule*  
Second intermediate host: *Pomatoschistus* spp.  
Final host: *Dicentrarchus labrax*

## 2 *Gymnophallus choledochus*



Sporocysts with cercaria and metacercaria  
Location: gonads

First intermediate host: *Cerastoderma edule*  
Second intermediate host: polychaetes or *Cerastoderma edule*  
Final host: water birds

Digenean trematodes cockles 2 intermediate host

**3 *Himasthla* spp.**



Metacercaria

Location: mantle and/or foot

First intermediate host: *Hydrobia* spp. or *Littorina littorea*

Second intermediate host: *Cerastoderma edule*

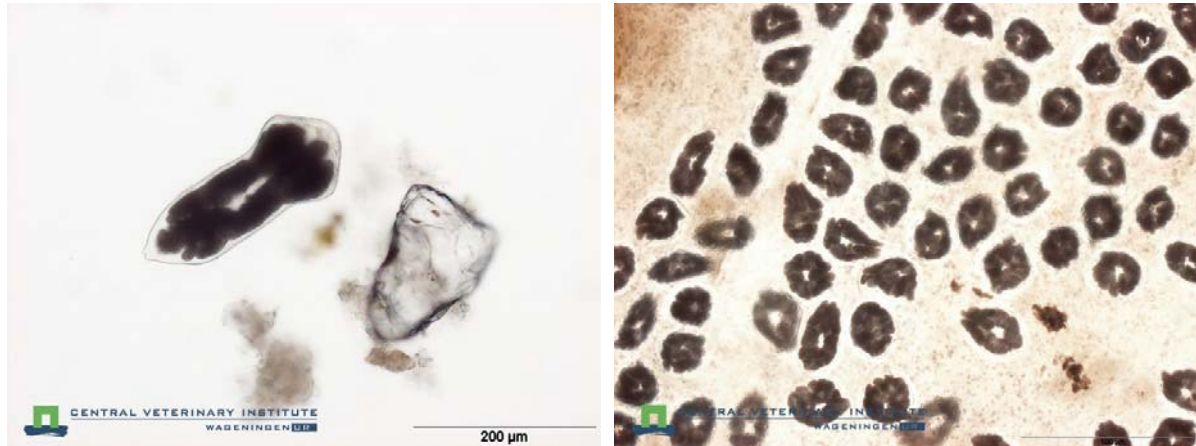
Final host: water birds

Diameter *Himasthla interrupta* 80-140 µm

Diameter *Himasthla continua* 150-210 µm

Diameter *Himasthla elongata* 210-270 µm

#### 4 *Parvatrema minutus* (= *Meiogymnophallus minutus*)



Metacercaria  
Location: hinge

First intermediate host: *Scrobicularia plana*  
Second intermediate host: *Cerastoderma edule*  
Final host: *Haemotopus ostralegus*



Appendix 2. Resultaten van de parasitaire analyse van kokkels van de Slikken van de Dortsman en Yerseke Bank, verzameld op 17 juni 2010.

Locatie	Positie	<i>B. minimus</i>		<i>G. choledochus</i>		<i>Himasthla species</i>		<i>P. minutus</i>	
		#/totaal	%	#/totaal	%	#/totaal	%	#/totaal	%
Slikken vd Dortsman	Oppervlak	19/27	70	1/27	4	22/27	81	15/27	56
Slikken vd Dortsman	Ingegraven	13/25	52	0/25	0	18/25	72	17/25	68
Yerseke Bank	hoog in getijde zone	3/25	12	0/25	0	3/25	12	0/25	0
Yerseke Bank	laag in getijde zone	7/25	28	0/25	0	0/25	0	0/25	0

Appendix 3. Resultaten van de parasitaire analyse van kokkels verzameld op 7 locaties in de Oosterschelde.

Locatie	Positie	Analyse vers	<i>B. minimus</i>			<i>G. choledochus</i>			1 intermediate host		<i>Himasthla spp.*</i>			<i>P. minutus</i>			<i>Haplosporidium sp.</i>	
			#	%	intensiteit	#	%	intensiteit	#	%	#	%	intensiteit	#	%	intensiteit	#	%
Vondelingsplaat	Oppervlak	19	1	<b>5</b>	>1000	1	<b>5</b>	>1000	2	<b>11</b>	12	<b>63</b>	1 - 20	1	<b>5</b>	>100	2	<b>11</b>
Vondelingsplaat	Ingegraven	20	1	<b>5</b>	>1000	0	<b>0</b>	-	1	<b>5</b>	15	<b>75</b>	1 - 20	0	<b>0</b>	-	0	<b>0</b>
Roggenplaat	Oppervlak	18	2	<b>11</b>	>1000	0	<b>0</b>	-	2	<b>11</b>	14	<b>78</b>	10 - >50	14	<b>78</b>	100 - > 400	0	<b>0</b>
Roggenplaat	Ingegraven	20	0	<b>0</b>	-	0	<b>0</b>	-	0	<b>0</b>	18	<b>90</b>	20 - >100	16	<b>80</b>	>50 - >400	0	<b>0</b>
Bergsediepsluis	Oppervlak	20	5	<b>25</b>	>1000	0	<b>0</b>	-	5	<b>25</b>	17	<b>85</b>	1 - >50	2	<b>10</b>	~5 - ~50	1	<b>5</b>
Bergsediepsluis	Ingegraven	20	5	<b>25</b>	>1000	0	<b>0</b>	-	5	<b>25</b>	16	<b>80</b>	~10 - >50	4	<b>20</b>	~10 - ~20	0	<b>0</b>
Slikken van Viane	Oppervlak	20	6	<b>30</b>	>1000	1	<b>5</b>	>1000	7	<b>35</b>	20	<b>100</b>	2 - >50	16	<b>80</b>	~50 - >200	0	<b>0</b>
Slikken van Viane	Ingegraven	20	2	<b>10</b>	>1000	0	<b>0</b>	-	2	<b>10</b>	16	<b>80</b>	2 - ~40	17	<b>85</b>	~50 - >200	0	<b>0</b>
Slikken van de Dortsman	Oppervlak	20	8	<b>40</b>	>1000	4	<b>20</b>	>1000	11	<b>55</b>	20	<b>100</b>	>100 - >400	18	<b>90</b>	~50 - >400	0	<b>0</b>
Slikken van de Dortsman	Ingegraven	20	6	<b>30</b>	>1000	0	<b>0</b>	-	6	<b>30</b>	19	<b>95</b>	~100 - >200	15	<b>75</b>	~50 - >200	0	<b>0</b>
Slikken van Kats	Oppervlak	20	14	<b>70</b>	>1000	1	<b>5</b>	>1000	14	<b>70</b>	20	<b>100</b>	~50 - >400	4	<b>20</b>	~10 - ~50	0	<b>0</b>
Slikken van Kats	Ingegraven	20	5	<b>25</b>	>1000	1	<b>5</b>	>1000	6	<b>30</b>	20	<b>100</b>	~50 - >400	6	<b>30</b>	~20 - >50	0	<b>0</b>
Krabbenkreek	Oppervlak	20	0	<b>0</b>	-	1	<b>5</b>	>1000	1	<b>5</b>	15	<b>75</b>	3 - >50	4	<b>20</b>	~10 - ~20	5	<b>25</b>
Krabbenkreek	Ingegraven	20	1	<b>5</b>	>1000	0	<b>0</b>	>1000	1	<b>5</b>	11	<b>55</b>	2 - >50	3	<b>15</b>	~5 - ~10	0	<b>0</b>

Appendix 4. Resultaten van de parasitaire analyse van kokkels verzameld op 2 locaties in de Waddenzee.

Locatie	Positie	Analyse vers	<i>B. minimus</i>			<i>G. choledochus</i>			1 intermediate host		<i>Himasthla spp.*</i>			<i>P. minutus</i>		
			#	%	intensiteit	#	%	intensiteit	#	%	#	%	intensiteit	#	%	intensiteit
Oude Wal	Oppervlak	20	0	<b>0</b>	-	0	<b>0</b>	-	0	<b>0</b>	3	<b>15</b>	~1 - ~10	9	<b>45</b>	>20 - >50
Oude Wal	Ingegraven	20	0	<b>0</b>	0	2	<b>10</b>	>1000	2	<b>10</b>	14	<b>70</b>	~2 - ~20	10	<b>50</b>	~20 - >50
Vliehors	Oppervlak	30	13	<b>43</b>	~500 - >1000	3	<b>10</b>	>1000	16	<b>53</b>	18	<b>60</b>	1 - 7	26	<b>87</b>	>50 - >400
Vliehors	Ingegraven	30	7	<b>23</b>	>1000	0	<b>0</b>	-	7	<b>23</b>	9	<b>30</b>	1 - 3	26	<b>87</b>	~100 - >400