

Inhalt	Seite	Contents	Page
1 Zielsetzung	2	1 Objective	2
2 Funktion der Probenart	2	2 Function of the Specimen Type	2
3 Zielkompartimente	4	3 Target Compartments	4
4 Festlegungen für die Probenahme	4	4 Predefinitions for the Sampling	4
4.1 Artbestimmung	4	4.1 Species Determination	4
4.2 Auswahl und Abgrenzung der Probenahmeflächen.....	4	4.2 Selection and Definition of the Sampling Sites	4
4.3 Auswahl der Individuen und Stichprobengröße	5	4.3 Selection of Individuals and Random Sample Number	5
4.4 Probenahmezeitraum und -häufigkeit	6	4.4 Sampling Period and Frequency	6
4.5 Gebietsbezogener Probenahmeplan	6	4.5 Area Related Sampling Scheme.....	6
5 Durchführung der Probenahme	6	5 Implementation of the Sampling Procedure	6
5.1 Erforderliche Ausrüstung und Reinigungsvorschriften	7	5.1 Required Equipment and Cleaning Procedures	7
5.2 Probenahmetechnik.....	8	5.2 Sampling Technique.....	8
6 Biometrische Probencharakterisierung	12	6 Biometric Specimen Characterisation	12
7 Literatur	14	7 Literature	14
 Anhang		 Appendices	
▪ Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme		▪ Checklist to Prepare and Conduct the Sampling	
▪ Probendatenblätter		▪ Specimen Data Sheets	

**Verfahrensrichtlinien für Probenahme, Transport, Lagerung und chemische Charakterisierung von
Umwelt- und Humanorganproben**

**Guidelines for Sampling, Transport, Storage and Chemical Characterisation of
Environmental- and Human Organ Samples**

Stand: Januar 2003 / Version: January 2003

1 Zielsetzung

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) stellt ein System dar, um über einen längeren Zeitraum hinweg chemische Veränderungen in marinen, limnischen und terrestrischen Ökosystemen retrospektiv untersuchen zu können.

Dabei ist die Probenahme der erste und wichtigste Schritt zur Sicherung der Proben- und Datenqualität. Das Hauptziel der Probenahme besteht darin, Proben zu identifizieren, zu sammeln und zu charakterisieren, die repräsentativ für die ausgewählten Gebiete sind. Eine weitere Aufgabe der Umweltprobenbank, die bei dem Erstellen von Probenahmerichtlinien berücksichtigt werden muss, ist die langfristige Reproduzierbarkeit.

Repräsentativität und Reproduzierbarkeit sind zusammen mit der Minimierung von Kontamination und Verlust von chemischen Informationen Vorbedingung für valide Vergleiche über einen längeren Zeitraum hinweg.

Zur Verbesserung der Probenqualität ist beim Vorliegen neuer Erkenntnisse eine Aktualisierung der Probenahmerichtlinien vorgesehen. Die vorliegende Richtlinie stellt die Fortschreibung der Fassung von KLEIN & WAGNER (1995) dar.

2 Funktion der Probenart

In der marinen Umweltbeobachtung spielt das Monitoring mit Muscheln (z.B. *Mytilus edulis*) und Austern weltweit eine bedeutende Rolle (PALMIERI et al. 1984; PHILLIPS et al. 1993; LAUENSTEIN et al. 1996).

Auch Süßwassermollusken werden als Monitororganismen eingesetzt, wobei sich die Dreikant- oder Wandermuschel als besonders geeignet herausstellte (KARBE et al. 1975; MERL & MÜLLER 1983; ZADORY 1984; MATTER & PUTZER 1986; ARGE Elbe, 1991; BUSCH 1991; KRAAK et al. 1991, 1992; GIESE & KRÜGER 1992; KLEIN & ALTMAYER 1992; MERSCH et al. 1992; NEUMANN & JENNER 1992; REINCKE 1992; VAN DER VELDE et al. 1992; MERSCH & PIHAN 1993; VAN SLOOTEN & TARRADELLAS 1994; PAULUS & KLEIN 1994; BERNY et al. 2002).

Die Dreikantmuschel vertritt in der Umweltprobenbank die Stufe der limnischen Konsumenten erster Ordnung in langsam fließenden und stehenden Gewässern (MÜLLER & WAGNER 1988; WAGNER 1993).

1 Objective

The German Environmental Specimen Bank (ESB) constitutes a system to survey retrospectively chemical changes in marine, limnic and terrestrial ecosystems in the long-term.

At this, sampling is the first and most important step to secure the quality of samples and data. Main objective of the sampling is to identify, collect and characterise representative specimen for the selected areas. A further task of the Environmental Specimen Bank, which must be considered by developing a sampling guideline, is to allow for long-term reproducibility.

Representativeness and reproducibility are together with the minimisation of contamination or loss of chemical information the preconditions to achieve valid comparisons in the long run.

To improve sample quality, it is intended to update the sampling guideline in case of new experience. The guideline on hand is the updating of the version by KLEIN & WAGNER (1995).

2 Function of the Specimen Type

For the marine environmental monitoring, the study of mussels (e.g. *Mytilus edulis*) and oysters plays a decisive role all over the world (PALMIERI et al. 1984; PHILLIPS et al. 1993; LAUENSTEIN et al. 1996).

Also freshwater molluscs are used as organisms for environmental monitoring, whereupon the zebra mussel proved to be particularly suitable (KARBE et al. 1975; MERL & MÜLLER 1983; ZADORY 1984; MATTER & PUTZER 1986; ARGE Elbe, 1991; BUSCH 1991; KRAAK et al. 1991, 1992; GIESE & KRÜGER 1992; KLEIN & ALTMAYER 1992; MERSCH et al. 1992; NEUMANN & JENNER 1992; REINCKE 1992; VAN DER VELDE et al. 1992; MERSCH & PIHAN 1993; VAN SLOOTEN & TARRADELLAS 1994; PAULUS & KLEIN 1994; BERNY et al. 2002).

Within the scope of the Environmental Specimen Bank, the zebra mussel represents the level of the first order limnic consumers in slowly running and stagnant waters (MÜLLER & WAGNER 1988; WAGNER 1993).

Folgende Gründe sprechen für ihre Eignung als Bioindikator:

- *Dreissena polymorpha* ist weit verbreitet in Europa mit Ausnahme des extremen Nordens und Südens mit anhaltender Ausbreitungstendenz (THIENEMANN 1950; SIESSEGGER 1969; DEGRANGE & SEASSAN 1971; PUTZER & MATTER 1987; NEUMANN & JENNER 1992; KINZELBACH 1992; VAN DER VELDE et al. 1994; MÜLLER et al. 2001).
- Die adulten Tiere haben eine sedentäre Lebensweise.
- Sie besitzt eine weite ökologische Valenz, besiedelt oligo- bis mesotrophe Gewässer, erträgt Brackwasser (SHADIN 1935, BREITIG 1969), kommt in stehenden und langsam fließenden Gewässern vor und übersteht kurzfristiges Trockenfallen (WALZ 1973).
- Die Dreikantmuschel tritt im Allgemeinen in hohen Siedlungsdichten auf.
- Sie ernährt sich überwiegend von pflanzlichen und tierischen Planktonorganismen sowie Detrituspartikeln im Größenspektrum zwischen 1 und 40 µm die sie aus dem Wasser herausfiltriert. Dadurch steht sie mit allen im Wasser gelösten und suspendierten Inhaltsstoffen in engem Kontakt.
- Durch ihre Ernährungsweise steht die Dreikantmuschel in enger Beziehung zu ihrer Umgebung. Die kontinuierliche Durchströmung der Mantelhöhle mit Wasser sowie die große Kontaktfläche der Kiemen und des Mantels begünstigen die direkte Aufnahme von Schadstoffen aus dem Wasser.
- Sie ist leicht zu manipulieren, d.h. sowohl für aktives Monitoring (Exposition mit Jungmuscheln besiedelter Substrate) als auch für Toxizitäts- und Wirkungstests geeignet (REINKE 1992; FISHER et al. 1993).
- Sie dient einer Reihe von zum Teil auch wirtschaftlich genutzten Fischarten als Nahrung, wozu auch der Brassen zählt, der ebenfalls eine Probenart der Umweltprobenbank des Bundes ist (SIESSEGGER 1969; MARTHALER 1994).

The following reasons substantiate the suitability of the zebra mussel as bioindicator:

- *Dreissena polymorpha* has a wide distribution within Europe with the exception of the extreme north and south, and it has the continuous tendency to extend its spread (THIENEMANN 1950; SIESSEGGER 1969; DEGRANGE & SEASSAN 1971; PUTZER & MATTER 1987; NEUMANN & JENNER 1992; KINZELBACH 1992; VAN DER VELDE et al. 1994; MÜLLER et al. 2001).
- The adult mussels are sedentary.
- It is characterized by a great ecological valence, colonizes in oligotrophic to mesotrophic waters, sustains in brackish water (Shadin 1935, Breitig 1969), occurs in stagnant and slowly running waters (FRÖMMIG 1956) and survives short-term drying-up of the water body (Walz 1973).
- The Zebra Mussel generally occurs in large population densities.
- It feeds mainly on vegetable and animal plankton-organisms as well as on detritus particles in the size range 1 to 40 µm, which it filters from the circumfluent water. Thus, it is in close contact with all substances dissolved or suspended in the water.
- Due to its feeding habits the zebra mussel is closely related to its environment. The continuous passing of water through its coat cavern and the large contact zone of the opercula and the coat, favour the direct uptake of pollutants from the water.
- It is easily to manipulate, which means that it is suitable both for active monitoring (exposure of substrata colonised with juvenescent mussels) and for toxicity and impact tests. (REINKE 1992; FISHER et al. 1993).
- It serves as nourishment for a number of fish species, part of which are used commercially, such as for instance the bream which itself serves as specimen for the German Environmental Specimen Bank (SIESSEGGER 1969; MARTHALER 1994).

3 Zielkompartimente

Als Probe wird der **Weichkörper** der Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*) verwendet. Atemwasser und Darminhalt verbleiben als Probenbestandteile in den Muscheln, da eine Hälterung der Muscheln zur Abgabe des Atemwassers bzw. zur Darmentleerung unpraktikabel ist und mit einem Kontaminationsrisiko für die Proben verbunden wäre.

4 Festlegungen für die Probenahme

4.1 Artbestimmung

Die Dreikantmuschel erreicht in unseren Breiten eine Länge von 26-40 mm, eine Höhe von 13-18 mm und eine Dicke von 17-25 mm. Einer stark gewölbten Seite steht eine fast flache gegenüber. Der Wirbel tritt stark hervor. Juvenile Individuen zeigen eine grün-gelb-graue Grundfarbe, die mit dunkelbraunen Bögen oder Zickzackmustern versehen ist. Die adulten Tiere sind dagegen von dunkelgelber Grundfarbe mit einer meist nur schwach erkennbaren Musterung. Die Tiere erreichen ein Alter von vier bis fünf Jahren.

In Mitteleuropa kann *Dreissena polymorpha* nur mit *Congeria cochleata* (syn. *Mytilopsis leucophaeta*) verwechselt werden, bei der es sich um eine aus Westafrika eingeschleppte Brackwasserart handelt. Sie besiedelt hauptsächlich Flussmündungen, wie z.B. das Rheindelta (VAN DER VELDE et al. 1992), und Flüsse mit hoher Salzbelastung, wie z.B. die Weser (BUSCH 1991).

4.2 Auswahl und Abgrenzung der Probenahmeflächen

Die Probenahmeflächen müssen repräsentativ für das Ökosystem bzw. den jeweiligen Gebietsausschnitt sein. Das bedeutet, dass sie nicht in unmittelbarer Nähe lokaler Emittenten liegen dürfen.

Mögliche Einwirkungen von Emissionen werden beeinflusst von der Art, Menge und Verteilung der Stoffe sowie von zahlreichen hydrologischen und hydrographischen Faktoren des Gewässers, wie z.B. Tiefe, Breite, Fließgeschwindigkeit, pH-Wert, Sauerstoffgehalt, Wasserhärte, Leitfähigkeit und Trophiegrad. Bei stehenden Gewässern sind auch Wasserfläche, Volumen, Durchmischungsintensität, Windrichtung, Windstärke, Uferbeschaffenheit, Exposition usw. von Bedeutung. Der Abstand von

3 Target Compartments

The compartment used as specimen, is the **soft body** of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). The respiratory water and intestinal content remain inside the mussels as a part of the sample, because a conditioning of the mussels aiming at the release of respiratory water and intestinal content is not practicable and would be combined with a contamination risk for the samples.

4 Predefinitions for the Sampling

4.1 Species Determination

In our latitudes, the zebra mussel attains 26-40 mm in length, 13-18 mm in height and 17-25 mm in thickness. A markedly vaulted side is juxtaposed to a nearly flat side. The spine is strongly prominent. Juveniles exhibit a green-yellow-grey basic colour with dark-brown curved- or zigzag lines. Adult mussels show a dark-yellow basic colouration with a faintly visible pattern in most cases. Mussels live up to an age of 4-5 years.

In Central Europe *Dreissena polymorpha* can only be mistaken with *Congeria cochleata* (syn. *Mytilopsis leucophaeta*), a brackish water species imported from Western Africa. It mainly colonises in river mouths, e.g. the Rhine delta (VAN DER VELDE et al. 1992), and in rivers with a high salt load, e.g. the river Weser (BUSCH 1991).

4.2 Selection and Definition of the Sampling Sites

The sampling sites have to be representative for the ecosystem and the particular sampling region respectively. This means that they must not be located in the direct nearness to local sources of emissions.

Possible effects of emissions depend on the type, amount and dissemination of the emissions and on numerous hydrologic and hydro-geographic factors, e.g. water depth, water width, flow rate, pH-value, oxygen content, water hardness, conductivity and trophic level. In stagnant waters, surface and volume of the water body, the degree of mixing, wind direction, wind strength, character of the riparian zone, and exposure are also relevant. The distance to the nearest by source of emission must

den nächstgelegenen Emittenten muss für jede Probenahme fläche ermittelt und im gebietsbezogenen Probenahmeplan dokumentiert werden.

Bei der Auswahl der Expositionsstellen (Kap. 5.2) ist besonders auf eine sichere und möglichst störungsfreie bzw. geschützte Lage zu achten. Natürliche Störfaktoren, wie zu starke Strömung oder Verschlammungsgefahr, müssen ebenso vermieden werden wie mögliche Störungen durch die Schifffahrt, Bootsverkehr oder Vandalismus. Andererseits ist eine gute Erreichbarkeit der Expositionsstelle auch unter ungünstigen Witterungs- und Wasserstandsbedingungen wichtig.

Bei der Auswahl und Abgrenzung der Probenahme flächen für die Beprobung freilebender Populationen sind eine ausreichende Größe, Dichte und Stabilität der Population wichtig für eine langfristig gesicherte Probenahme. Außerdem ist die langfristige Nutzung der Probenahme flächen bzw. der Zugang zu den Expositionsstellen in Abhängigkeit vom Schutzstatus und den Eigentumsverhältnissen der Probenahme flächen grundsätzlich vertraglich abzusichern.

4.3 Auswahl der Individuen und Stichprobengröße

Aus Gründen der Vergleichbarkeit der Proben muss für das Probenkollektiv eine einheitliche Zielgruppe definiert werden, die neben der Verfügbarkeit der Dreikantmuscheln auch eine ausreichend hohe Probenmenge garantiert. Bei der Expositionsmethode (Kap. 5.2) ist das Alter des Probenkollektivs durch die vorgegebenen Zeiträume für die Besiedlung und Exposition festgelegt.

Bei freiwachsenden Dreikantmuschelbeständen scheidet das Alter als Selektionskriterium aus, da es auch anhand der Ringe auf der Schale nicht hinreichend genau bestimmt werden kann.

Ein geeigneteres Kriterium zur Reduzierung der natürlichen Variabilität ist die Schalenlänge der Muscheln. Dabei ist zu berücksichtigen, dass das Wachstum der Dreikantmuscheln je nach Gewässer unterschiedlich ist und daher Angaben zur Längenstruktur der Zielpopulation stets gebietsbezogen festzulegen sind. Aus praktischen Gründen werden relativ große Muscheln angestrebt, aus biologischen Gründen sollten **adulte Muscheln** im 2. Lebensjahr beprobt werden. Die für das jeweilige Gewässer diesem Ziel entsprechende Längensklasse ist vor der Probenahme durch eine Bestandsaufnahme (Screening) zu ermitteln.

be ascertained separately for each sampling site and documented in the area related sampling scheme.

At the selection of exposure spots (chap. 5.2) it must be especially looked out for a secure and undisturbed, and respectively sheltered position. Natural sources of irritation, e.g. too strong current or risk of siltation need to be avoided as well as possible irritations by river navigation, boat traffic, or vandalism. Otherwise a good accessibility of the exposure spots, even in case of awkward atmospheric conditions, is necessary.

At the selection and demarcation of sampling sites for the sampling of free-living populations, a sufficient size, density and stability of the population is decisive for a secured sampling on the long run. Furthermore the long-ranging utilisation of the sampling sites and respectively the access to the exposure spots must be secured - depending on the level of protection and the ownership structure - by contract as a basic principle.

4.3 Selection of Individuals and Random Sample Number

Because the samples must be comparable, it is necessary to define a homogenous target group, which guarantees - besides the availability of the zebra mussel - for a sufficient sample quantity. With the exposure method (chap. 5.2) the age of the sample collective is defined through the predetermined time for colonisation and exposure.

In free-growing zebra mussel populations the age cannot serve as selection criterion, because even by means of the growth rings on the shells, it cannot be identified precisely.

A more suitable criterion to reduce the natural variability is the shell length of the mussel. Yet it has to be considered that the growth of the zebra mussel differs depending on the water body and hence, details concerning the length-structure of the target population must be defined related to the respective area. For practical reasons, relatively large mussels are targeted, for biological reasons **adult mussels** at the age of two years should serve as sample. The length-category, which complies with this demand in the particular water body, must be ascertained preceding the sampling by means of a screening.

Aus Gründen der Vergleichbarkeit ist eine Zielgröße von **ca. 15 bis 25 mm Schalenlänge** anzustreben. Abweichungen hiervon sind im gebietsbezogenen Probenahmeplan festzuhalten. Aus statistischen Gründen soll die Stichprobengröße **mindestens 100 Individuen** betragen.

4.4 Probenahmezeitraum und -häufigkeit

Die Probenahme erfolgt jährlich. Da die Laichzeit durch starke physiologische Dynamik und Schwankungen der Biomasse geprägt ist, ist sie für eine reproduzierbare Probenahme nicht geeignet. Die Laichzeit der Dreikantmuscheln dauert je nach Gewässer und klimatischen Bedingungen etwa von Mai bis Ende August. Die Probenahme wird daher von **Mitte September bis Ende November** durchgeführt (KLEIN et al. 1995).

4.5 Gebietsbezogener Probenahmeplan

Auf der Grundlage dieser Probenahmerichtlinie müssen für die einzelnen Probenahmegebiete spezifische Festlegungen getroffen werden, um die langfristige Kontinuität der Probenahme zu sichern. Dies betrifft insbesondere: die exakte Lage und Abgrenzung der Probenahmeflächen und ggf. Expositionsstellen, die Zeitpunkte der Exposition und Probenahme und ggf. die Beschreibung der zu besammelnden Substrate, die Definition der Zielgrößenklasse und den erforderlichen Stichprobenumfang. Zur Erleichterung der Vorbereitung und zur Durchführung der Probenahme sollten auch weitere Gebietscharakteristika (z.B. Adressen von Nutzungsberechtigten und zuständigen Genehmigungsbehörden) festgehalten werden. Hierzu ist ein gebietsbezogener Probenahmeplan anzufertigen und bei Bedarf zu aktualisieren.

5 Durchführung der Probenahme

Das Sammeln von Dreikantmuscheln von Hartsubstraten im zu untersuchenden Gewässer ist selbst bei hohen Abundanzen oft aufwändig, stör anfällig und im Ergebnis unsicher (WAGNER 1994). Zur Probengewinnung für die Umweltprobenbank werden daher in der Regel mit jungen Dreikantmuscheln besiedelte und in den Probenahmeflächen exponierte Plattenstapel verwendet. Prinzipiell sind jedoch beide Probenahmestrategien, je nach den örtlichen Bedingungen, anwendbar.

For reasons of comparability, the size should range between **15 to 25 mm shell-length**. Variations to this target-length must be recorded in the area related sampling scheme. For statistical reasons, the random sample should comprise **at least 100 individuals**.

4.4 Sampling Period and Frequency

The sampling takes places yearly. Because the spawning season is characterised by an intense physiological dynamic and variations of the biomass, it is not suited for a reproducible sampling. Depending on the type of the water body and the climatic conditions, the spawning season of the zebra mussel lasts about from May until the end of August. Thus, the sampling is conducted between **the middle of September and the end of November** (KLEIN et al. 1995).

4.5 Area Related Sampling Scheme

Based on this sampling guideline, specific determinations for the individual areas under investigation need to be made to sufficiently secure the continuousness of the sampling on the long run. It concerns in particular: the precise location and demarcation of the sampling sites and the exposure spots, the dates for exposure and sampling, and if necessary, the description of the respective substrata, the definition of the target size-group and the required extent of random samples. To ease the prearrangement and the conduction of the sampling, further area characteristics (addresses of beneficiaries of use and concerned approval authorities) should be registered. To this, an area related sampling scheme has to be made and updated if necessary.

5 Implementation of the Sampling Procedure

The collection of the zebra mussel from firm substrata in the water body under investigation is very complex, accident sensitive and unconfident in the results, even if high abundances are existent. (WAGNER 1994). To gain samples for the Environmental Specimen Bank, normally racks with exposure plates are colonised with young zebra mussels and exposed in the sampling sites. Basically, both sampling strategies can be applied, in dependence of the respective local conditions.

5.1 Erforderliche Ausrüstung und Reinigungsvorschriften

Besiedlungsplatten/Exposition:

- Platten aus additivfreiem Polyethylen, 30x30 cm, zu Stapeln verschraubt
- Edelstahlgewindestäbe (12 mm) mit Edelstahlmuttern
- Schraubenschlüssel,
- PTFE-Rohr (7cm lang) als Abstandshalter
- Edelstahl-Drahtseil
- Schrauben, Seilklemmen
- Spezial-Drahtschere
- PE-Kisten mit Deckeln
- Netze mit ca. 10 mm Maschenweite zum Schutz der Muscheln vor Fressfeinden

Probenahme:

- Waage bis mind. 3 kg , Messgenauigkeit 1 g
- Edelstahl- oder Teflonspatel
- Edelstahldrahtkörbe mit ca. 5 mm Maschenweite
- Edelstahl-Probengefäße (5,5 l) mit Deckeln und Klammern
- Kühlvorrichtung zum raschen Tiefkühlen und Lagern der Proben in der Gasphase über Flüssigstickstoff (LIN)
- Probendatenblätter

Laborarbeit:

- Reinluftarbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung
- Präzisionswaage mit Ablesung auf 1 mg
- Flüssigstickstoff
- Schieblehre
- Kälteschutz-Handschuhe und Schutzbrille
- Einmal-Laborhandschuhe
- Pinzetten, Skalpelle mit abgerundeten Klingen, Spatel aus Edelstahl

5.1 Required Equipment and Cleaning Procedures

Colonisation plates / Exposure:

- Plates made of additive-free polyethylene, 30 x 30 cm, screwed to racks
- Stainless steel threaded rods, (12 mm) with stainless steel screw nuts
- Spanner
- PTFE-tube (7 cm length) as spacer
- Stainless steel wire rope
- Screws, wire rope clips
- Special wire shears
- PE cases with lids
- Nets with a mesh width of 10 mm to protect the mussels against forage enemies

Field Work:

- Balance up to at least 3 kg, accuracy 1 g
- Stainless steel or PTFE spatula
- Stainless steel wire baskets with circa 5 mm mesh width
- Stainless steel sample vessels (5.5 l) with lids and fasteners
- Cooling device for the rapid deep-freezing and storage of the samples in the gas phase above liquid nitrogen (LIN)
- Specimen data sheets

Laboratory:

- Clean bench with particles- and activated carbon filtration
- Precision balance with meter reading to 1 mg
- Liquid nitrogen
- Sliding calliper
- Protective gloves against low temperature and protective goggles
- Disposable gloves for laboratory use
- Tweezers, scalpels with rounded blades, spatula, all made of stainless steel

Reinigungsvorschriften:

Die Reinigung der Probengefäße und -geräte erfolgt in einer Laborspülmaschine (z.B. Mielabor G7783) mit chlorfreiem Intensivreiniger (z.B. Neodisher F) im ersten Reinigungsgang. Nach Kalt- und Heißspülung (ca. 90-95° C) erfolgt eine Neutralisation mit ca. 30%iger Phosphorsäure in warmem Wasser, anschließend Heiß- und Kaltspülgänge mit deionisiertem Wasser. Nach dem Spülen werden die Gefäße bei ca. 130° C im Trockenschrank mindestens eine Stunde nachbehandelt (zur Sterilisation). Anschließend lässt man die Gefäße geschlossen abkühlen. Bei Kunststoffen entfällt die Sterilisation.

5.2 Probenahmetechnik

Einsatz von Exponatplatten

Die Besiedlungsplatten bestehen aus additivfreiem Polyethylen und weisen eine Fläche von 30 x 30 cm auf. Sieben dieser Platten werden zu einem Exponatplattenstapel mit Abständen von ca. 7 cm zwischen den einzelnen Platten verschraubt. Die Edelstahlverschraubungen sind durch PTFE-Abstandshalter verdeckt. Zur Vermeidung von Fraßverlusten durch Wasservögel und Fische werden die Plattenstapel mit Netz mit ca. 10 mm Maschenweite umspannt.

Zur Besiedlung werden die gereinigten Plattenstapel zu Beginn der Laichzeit in einem sauberen, gut überwachten Gewässer mit stabiler Dreikantmuschelpopulation exponiert. Für die Umweltprobenbank des Bundes geschieht dies an Holzpfählen im Auslauf des Bodensees (Konstanzer Trichter) (Abb. 1).

Die Exponatplattenstapel hängen frei im Wasser in einer Tiefe von 2-3 m und haben dabei keinen Kontakt zum Seeboden, zu möglicherweise kontaminierten Materialien oder Oberflächen. Zur Befestigung werden Edelstahl-Drahtseile verwendet, die mittels Schrauben und Edelstahl-Seilklemmen an geeigneten Befestigungsmöglichkeiten verankert werden.

Die **Besiedlung** durch frei im Wasser driftende Veliger-Larven erfolgt im Frühjahr ab einer Wassertemperatur von ca. 16° C (BUSCH 1991; JANTZ 1996). In größeren mitteleuropäischen Gewässern wird diese Temperatur in der Regel im Mai oder Juni erreicht. Im Herbst werden die mit Jungmuscheln dicht besiedelten Plattenstapel entnommen,

Cleaning Procedures:

The cleaning of the sample vessels and the other equipment for the sampling will be processed in a laboratory dish washer (e.g. Mielabor G7783) with a chlorine-free powerful cleaning agent (e.g. Neodisher F) in a first cleaning course. After cool and hot (approx. 90 -95°C) rinsing, a neutralization with phosphorus acid (approx. 30 %) in warm water is carried out, followed by hot and cool rinsing with deionised water. After the rinsing, the vessels and other equipment are treated (for the purpose of sterilisation) in a compartment dryer for at least one hour at approx. 130°C. Afterwards, the vessels remain closed while they are left to cool down. For synthetic materials the sterilisation is not to apply.

5.2 Sampling Technique

Use of Exposure Plates

The colonisation plates are made from additive-free polyethylene (PE) and have a surface size of 30 x 30 cm. Seven of such plates are screwed together at a distance of approx. 7 cm each. The stainless steel screw connections are concealed by PTFE-spacers. To avoid forage losses through water birds and fish, the plate racks are encompassed by a net with approx. 10 mm mesh width.

For the colonisation, the cleaned plate racks are exposed at the beginning of the spawning season in an unburdened and well monitored water body with a stable population of the zebra mussel. For the German Environmental Specimen Bank, this is carried out in the outflow of Lake Constance (Constance funnel) by mounting the plate racks there on wooden piles (fig.1).

The plate racks dangle free in the water in a depth of 2-3 m and have no contact to the bottom of the lake or to possibly contaminated materials or surfaces. The plates are fixed with stainless steel wire ropes, which are anchored at adequate fastening facilities by means of screws and stainless steel rope clips.

The **colonisation** by free drifting Veliger-larvae takes place in springtime, beginning at a water temperature of approx. 16° C (BUSCH 1991; JANTZ 1996). In large water bodies of Central Europe, this temperature is usually reached in May or June. In autumn, the plate racks are densely populated by juvenile mussels. Then the plate racks are re-

zu den vorgesehenen Probenahme­flächen transpor­tiert und dort an geeig­neten Stellen befestigt und im zu untersuchen­den Gewässer für **ein Jahr exponiert**. Die Platten­stapel müssen (mindestens) ein Jahr vor der Probenahme in die Probenahme­flächen umgesetzt werden. Hiermit wird gewähr­leistet, dass die Muscheln im zu untersuchen­den Gewässer ihre Hauptwachstumsphase durchlaufen und damit auch dessen Lebensbedingungen und Belastungs­niveau widerspiegeln.

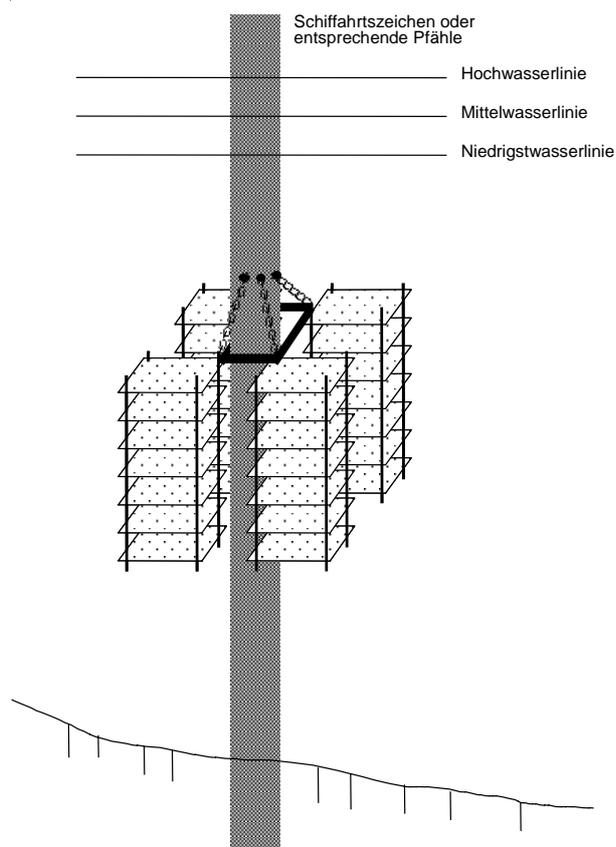


Abb. 1: Beispiel für die Befestigung der Exponatplatten im Gewässer

Der **Transport** erfolgt in Kästen aus Polyethylen mit Deckel (hohe Luftfeuchte). Dabei dürfen die Temperaturen nicht unter 0° C und nicht wesentlich über 20° C liegen. Je höher die Temperaturen, um so kürzer sollte die Transportzeit sein. Bei Transporttemperaturen unter 20° C sind Transportzeiten von 2-3 Tagen unproblematisch.

Zur **Exposition im zu untersuchen­den Gewässer** werden die besiedelten Exponatplatten an Pfählen, Stegen oder geeigneten Schwimmbojen befestigt. Die Exponatplatten­stapel können sowohl einzeln als auch in Mehrzahl miteinander verbunden aus-

moved, brought to the projected sampling sites, mounted there at suitable spots and remain **exposed for one year** in the water body under investigation. The plate racks must be transferred to the sampling site at least one year preceding the sampling date. Therewith is guaranteed, that the mussels run through their main period of growth in the surveyed water body and thus reflect the loading level and living conditions in it.

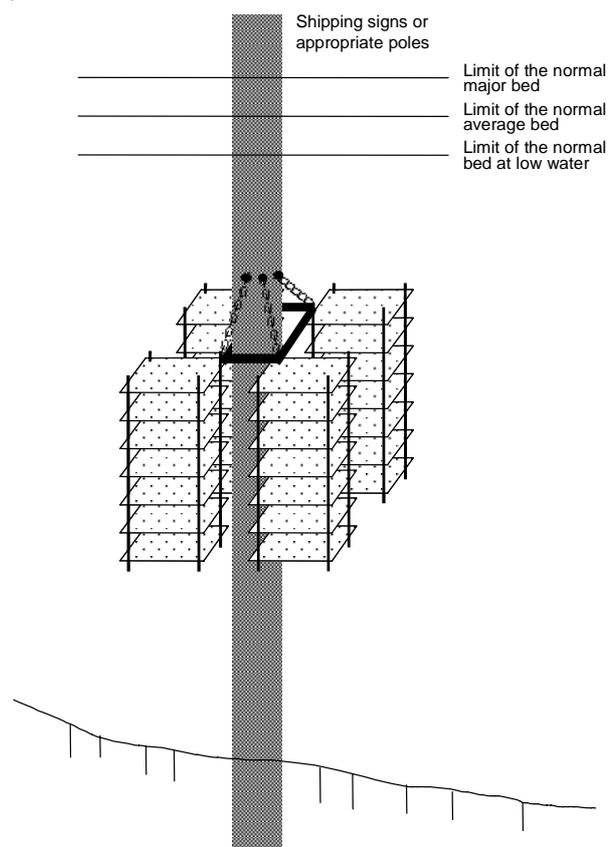


Fig. 1: Example for the anchorage of the plate racks in a water body

The **transport** is carried out in cases made of polyethylene with lids (high air moisture). Thereby, the temperatures may not become less than 0° C and not significantly greater than 20° C. The higher the temperature, the shorter the time for transport should be. If the transport-temperature is less than 20° C, transportation times of 2-3- days will not be problematic.

For **exposure in the water body under investigation**, the colonised exposure plates are mounted at piles, foodbridges or suited buoys. One plate rack can be exposed separately or combined with some more others. By choosing appropriate places for

gebracht werden. Bei der Auswahl der Befestigungsstellen ist darauf zu achten, dass die Platten nicht im anaeroben Bereich hängen und keinen Kontakt zum Gewässergrund, zu möglicherweise kontaminierten Materialien oder Oberflächen haben. Die Expositionsstellen sollen einen guten Wasseraustausch aufweisen, bei Fließgewässern aber nicht in der vollen Strömung hängen. Die Befestigungspunkte sollen möglichst für die Öffentlichkeit unzugänglich oder unter laufender Beobachtung sein, um Beschädigungen zu vermeiden.

Die Anzahl der an einer Probenahme-Fläche zu exponierenden Platten richtet sich nach dem Bedarf an Probenmaterial. Von einem der oben beschriebenen Plattenstapel können bei guter Besiedlung nach einjähriger Exposition mindestens 3 kg Muscheln erwartet werden.

Zur **Probenahme** werden die Exponatplattenstapel geborgen und auseinandergeschraubt. Die mit ihren Byssusfäden angehefteten Dreikantmuscheln werden mittels eines PTFE- oder Edelstahlspatels von den Plattenoberflächen vorsichtig abgelöst und in einem Edelstahlkorb aufgefangen. Die Maschenweite des Korbes sollte maximal 5 mm betragen.

In dem Edelstahlkorb werden die Muscheln mit Habitatwasser manuell von äußeren Verunreinigungen befreit. Leere Schalen und ggf. verletzte Muscheln werden von Hand ausgelesen. Danach werden die Muscheln in vorher gewogene Edelstahlgefäße überführt, in diesen gewogen und dann sofort in der Gasphase über LIN tiefgefroren.

Nutzung freilebender Dreikantmuschel-vorkommen

Können in einem Gewässer keine Platten exponiert werden, so sind **vorhandene, kontaminationsfreie Hartsubstrate** unterhalb der Niedrigwasserlinie nach Dreikantmuscheln abzusuchen (z.B. Steinschüttungen, Felsen, unbehandeltes Holz oder Agglomerationen von Dreikantmuscheln, sogen. Drusen). Nicht geeignet sind mit Schutzanstrichen versehene Flächen aus Stahl, Eisen, Kunststoff, Asphalt oder imprägniertes Holz. Die Art des gesammelten Substrates ist für jede Entnahmestelle möglichst einheitlich zu halten und zu dokumentieren. Die Größe der Flächen richtet sich nach der Dichte des Vorkommens von Dreikantmuscheln und ist im Rahmen eines Screenings zu ermitteln.

the anchorage, it is decisive that the plates will not dangle in an anaerobic area, have no contact to the bottom, or to possibly contaminated materials or surfaces. The exposure spots should lie within a zone of continuous water interchange, however, in flowing waters not directly in the current. To avoid damages, the attachment points of the plate racks should not be open to public, or they should be kept under steady surveillance.

The number of plate racks exposed per sampling site depends on the required amount of sample material. Per plate rack, as described above, in case of dense population an amount of at least 3 kg mussels can be expected after one year of exposure.

For the **sampling**, the exposure racks are salvaged and screwed off. The zebra mussels, which are attached to the plates by their byssus filaments, are removed carefully by means of a spatula (made of PTFE or stainless steel) and collected into a stainless steel basket. The mesh width of the basket should not be greater than 5 mm.

Within the stainless steel basket the mussels are manually cleaned from outward contaminations using habitat water. Empty shells and, if the case may be, injured mussels are manually selected. Subsequently, the mussels are transferred into stainless steel vessels (whose empty weight was previously determined), weighed and immediately deep frozen in the gas phase above LIN.

Use of free-living zebra mussel populations

If it is not possible to expose plates in a water body, **existing uncontaminated firm substrata** will be searched for zebra mussels below the low water line (e.g. loose boulders, rocks, untreated wood, or agglomerations of zebra mussels, so called geodes). Not suited are surfaces of steel, iron, synthetic material, and asphalt with a protective coating, or impregnated wood. The type of substratum used for collection should be as uniform as possible at one sampling point and need to be recorded for each sampling point. The size of the necessary surfaces depends on the density of the zebra mussel population and must be ascertained in course of a screening.

Die Muscheln der Zielpopulation werden manuell durch Absuchen oder durch Abkratzen von geeigneten Flächen unter Wasser gewonnen, in Edelstahlrahtkörben gesammelt und manuell im Habitatwasser gereinigt. Die weitere Behandlung erfolgt analog der von den Platten abgesammelten Muscheln.

Die **Trennung von Schale und Weichkörper** geschieht im Labor an einem Reinluft-Arbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung (clean bench) im tiefgefrorenen Zustand, ohne dass die Weichkörper während der Sektion auftauen.

Hierfür wird jeweils ein Teil der zwischengelagerten Muscheln vorsichtig aus dem Probengefäß entnommen und in ein vorgekühltes, isoliertes 1,5 l-Probengefäß überführt.

Das für die präparierten Proben bestimmte Edelstahlgefäß (5,5 l) wird vorgewogen, gekennzeichnet und mit Flüssigstickstoff vorgekühlt.

Dann werden jeweils fünf bis sechs Muscheln dem Probengefäß entnommen und zum oberflächlichen Antauen auf die Arbeitsfläche gelegt. Wenn der auf den Schalen gebildete Reif abzutauen beginnt, werden die Schalen mit dem Skalpell geöffnet. Der noch fest gefrorene Weichkörper wird mit der Pinzette entnommen und in ein ausreichend mit Flüssigstickstoff gefülltes zweites Probengefäß überführt. Sollte nach dem Öffnen der Muschelschalen der Weichkörper bereits angetaut oder beschädigt sein, so ist dieser zu verwerfen.

Nach Abschluss der Sektion wird der Flüssigstickstoff aus dem Probengefäß abgegossen und das Probenmaterial gewogen.

Die bei der Probenahme erhobenen Daten sind in entsprechenden **Probendatenblättern** zu vermerken. Darüber hinaus ist ein **Probenahmeprotokoll** mit folgendem Inhalt anzufertigen:

- An der Probenahme beteiligte Personen inkl. dem Leiter der Probenahme und Helfern
- Chronologischer Ablauf und Ergebnis der Probenahme
- Die für die Probenahme zugrundeliegende Fassung der Probenahmerichtlinie und des gebietsbezogenen Probenahmeplans
- Ggf. Abweichungen von der Probenahmerichtlinie und dem gebietsbezogenen Probenahmeplan.

The mussels of the target population are collected manually underwater by searching or scraping them off suited surfaces, are put into stainless steel baskets, and are manually cleaned in the habitat water. The further treatment is the same as described for the sampling from exposed plates.

The **separation of the soft bodies from the shells** is carried out in the laboratory on a clean bench with particles- and activated carbon filtration in the deep frozen state, without allowing the soft body to thaw during the dissection.

For this purpose, a part of the mussels is carefully removed from the sample vessel and transferred into a pre-cooled and isolated 1.5 l sample vessel.

The stainless steel vessel (5.5 l), which will receive the dissected samples, is pre-weighed, labelled and pre-cooled with liquid nitrogen.

Then portions of five to six of the mussels are taken out of the sample vessel and put on the worktop of the clean bench to thaw superficially. When the rime on the shells begins to melt, the shells are opened with a scalpel. The still deep-frozen soft body is taken out by means of tweezers and put into a second vessel, which is sufficiently filled with liquid nitrogen. If the soft body has already begun to thaw when you open the shells, this specimen will be discarded.

After the termination of the dissection, the liquid nitrogen is poured off the vessel and the sample material is weighed.

All data collected in course of the sampling must be documented in the respective **specimen data sheets**. Furthermore, a **sampling record** with the following content must be kept:

- All persons involved in the sampling, including the conductor and external assistants
- Chronological course and result of the sampling
- The underlying version of the sampling guideline and the area related sampling scheme for the current sampling
- Where necessary, alterations to the sampling guideline and the area related sampling scheme

6 Biometrische Probencharakterisierung

Zur biometrischen Charakterisierung werden im Labor 50 Muscheln aus dem Probenkollektiv zufällig ausgewählt. Sie dient der Feststellung der biometrischen Parameter **Länge, Breite und Höhe** der Schalen sowie das **Frischgewicht** des Weichkörpers und der Schalen.

Da dieses bei eingefrorenen Muscheln nicht direkt bestimmbar ist und erheblichen Fehlereinflüssen unterliegt, wurde zur Vermeidung systematischer und zur Minimierung zufälliger Fehler die folgende Definition und Standardisierung des Bestimmungsverfahrens festgelegt.

Als Frischgewicht wird das Gewicht des Weichkörpers zu dem Zeitpunkt definiert, zu dem der Muschelkörper vollständig aufgetaut und das Atemwasser ausgelaufen ist, aber erst minimale Verluste an Gewebeflüssigkeit ausgetreten sind.

Zur **Bestimmung des Weichkörpergewichts** werden die 50 Muscheln (bzw. bei kleinen Muscheln zuerst nur die Hälfte) aus dem Probengefäß entnommen und einzeln auf saugfähigem Laborpapier zum Auftauen mit der Schalenöffnung nach unten ausgelegt. Während des Auftauens werden die Länge, Breite und Höhe der Schalen mittels einer Schieblehre auf 1 mm genau gemessen und die Muscheln von ggf. noch anhaftenden Verunreinigungen befreit.

Nach einer größenabhängigen Auftauzeit von ca. 40–60 Min. wird das oben definierte Weichkörpergewicht bestimmt. Hierzu wird der Weichkörper mittels Skalpell und Pinzette aus den Schalen entnommen, quantitativ in einer vorgewogenen Schale aufgefangen und zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten sofort auf 1 mg genau gewogen. Danach werden die inzwischen abgetrockneten Schalen ebenfalls auf 1 mg genau gewogen.

Die Zeit von der Entnahme aus dem Lagergefäß bis zum vollständigen Auftauen ist von der Größe der Muschel sowie von der Umgebungstemperatur abhängig. Von einer Raumtemperatur von ca. 20° C ausgehend wurde für eine maximale Gewichtsabweichung von $\pm 0,01$ g experimentell folgender Zusammenhang zwischen Schalenlänge und Auftauzeit ermittelt (Abb. 2).

6 Biometric Specimen Characterisation

The biometric specimen characterisation is carried out with 50 mussels randomly selected out of the total amount. The biometric characterisation provides a basis to determine the biometric parameters: **length, width, height** of the shells, as well as the **fresh weight** of the soft body and the shells.

Because the fresh weight of deep-frozen mussels can not be determined directly and is subject to drastic error effects, a precise standardization of the determination method (as described in the following) must be applied to avoid systematic errors and to minimise random errors.

The fresh weight of the soft body is defined as the weight of the soft body at the time when it is completely thawed, the respiratory water is completely emitted, and the losses of tissue fluid are minimal.

To **determine the soft body weight** 50 mussels (in case of small mussels in a first step only the half) are taken out of the sample vessel and spread out individually with the open part of their shells downwards on the absorptive laboratory paper. While thawing, the mussels are freed from possibly adherent contaminations and length, width, and height of the shells are measured by means of a sliding calliper to an accuracy of 0.1 mm.

After a size-depending thawing time of approx. 40–60 minutes, the weight of the soft body is determined as defined above. To this, the soft body is removed by means of a scalpel and tweezers from the shells, quantitatively caught in a previously weighed dish and immediately weighed to an accuracy of 1 mg to avoid evaporation losses. After this, the meanwhile dried shells are also weighed to an accuracy of 1 mg.

The time needed between the removal from the storage vessel until the complete thawing depends on the size of the mussel and on the ambient air temperature. By a given room temperature of approx. 20°C, the following correlation between shell length and thawing time was found by experimental ascertainment (fig. 2) for a maximum weight difference of ± 0.01 g.

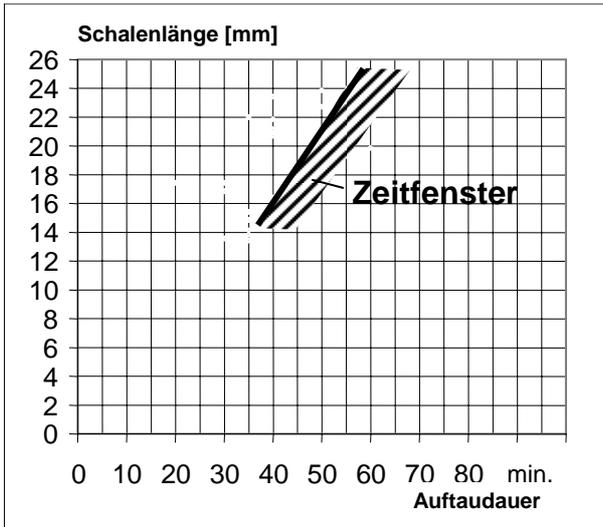


Abb. 2: Auftaudauer in Abhängigkeit von der Schalenlänge für die Bestimmung des Weichkörpergewichts

Das Herauspräparieren und Wiegen der Weichkörper erfolgt jeweils in der Reihenfolge zunehmender Größe der Muscheln unter Beachtung der nach Abb. 2 ermittelten Auftauzeiten.

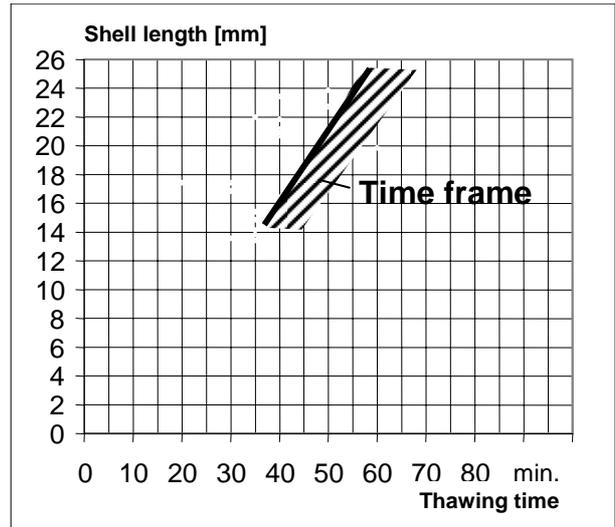


Fig. 2: Thawing time against shell length for the determination of the soft body weight

The dissecting and weighing of the soft bodies is carried out in the order of increasing mussel size with regard to the thawing times ascertained in fig.2.

7 Literatur / Literature

- ARGE Elbe (Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe der Länder Hamburg, Niedersachsen und Schleswig-Holstein) (1991): Biologisches Effektmonitoring mit der Dreikantmuschel *Dreissena polymorpha* in der Messstation Schnackenburg. Wassergütestelle Elbe. Hamburg.
- BERNY, P. LACHAUX, O. BURONFOSSE, T. MAZALLON, M. GILLET, C. (2002): Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*) as Indicators of Freshwater Contamination with Lindane. Environmental Research, New York, Vol. 90/2, S. 142-151.
- BREITIG, G. (1969): Das Molluskenplankton und seine Rolle in der Besiedlung der Binnengewässer. Z. Wasserwirt. u. Wassertech. 19: 116-118.
- BUSCH, D. (1991): Entwicklung und Erprobung von Methoden für den Einsatz der Süßwassermuschel *Dreissena polymorpha* für ein Biomonitoring von Schwermetallen im Ökosystem Weser. Diss. Univ. Bremen.
- FISHER, S.W.; GOSSIAUX, D.C.; BRUNER, K.A. & LANDRUM, P.F. (1993): Investigations of the toxicokinetics of hydrophobic contaminants in the zebra mussel. In: NALEPA, T.F.; SCHLOESSER, D.W. (Hrsg.): Zebra Mussels: Biology, Impact and Control. Lewis Publishers. Boca Raton. S. 465-490.
- GIESE, F. & KRÜGER, A. (1992): Biomonitoring of organochlorines in surface waters of Berlin and the Lake Stechlin. In: NEUMANN, D. & JENNER, H.A. (Hrsg.): The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Limnologie Aktuell 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. S. 245-254.
- JANTZ, B. (1996): Wachstum, Reproduktion, Populationsentwicklung und Beeinträchtigung der Zebromuschel (*Dreissena polymorpha*) in einem großen Fließgewässer, dem Rhein. Diss. Universität Konstanz.
- KINZELBACH, R. (1992): The main features of the phylogeny and Dispersal of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*). In: NEUMANN, D. & JENNER, H.A. (Hrsg.): The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Limnologie Aktuell 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. S. 5-17.
- KARBE, L.; AANTONACOUPOULOS, N. & SCHNIER, C. (1975): The influence of water quality on the accumulation of heavy metals in aquatic organisms. Verh. Int. Ver. Limnol. 19: 2094-2101.
- KLEIN, R. & ALTMAYER, M. (1992): The zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) as a specimen in the environmental specimen banking programme of the Federal Rep. of Germany. In: NEUMANN, D. & JENNER, H.A. (Hrsg.): The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Limnologie Aktuell 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. S. 255-262.
- KLEIN, R.; KROTTEN, J.; MARTHALER, L.; SINNEWE, C. & DITTMANN, J. (1995): Die Abhängigkeit des Informationsgehalts limnischer Akkumulationsindikatoren vom Zeitpunkt der Probenahme. UWSF-Z. Umweltchem. Ökotox. 7: 115-126.
- KLEIN, R. & WAGNER, G. (1995): Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung – Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*). In: Umweltbundesamt (Hrsg.), Umweltprobenbank des Bundes – Verfahrensrichtlinien für Probenahme, Transport, Lagerung und chemische Charakterisierung von Umwelt- und Human-Organproben, Erich Schmidt Verlag, Berlin.
- KRAAK, M.H.S.; LAVY, D.; PEETERS, W.H.M. & DAVIDS, C. (1992): Chronic ecotoxicity of copper and cadmium to the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. Arch. Envir. Contam. Tox. 23: 363-369.
- KRAAK, M.H.S.; SCHLOTEN, M.C.T.; PEETERS, W.H.M. & DE KOCK, W.C. (1991): Biomonitoring of heavy metals in the Western European rivers Rhine and Meuse using the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. Environ. Poll. 74: 101-114.
- LAUENSTEIN, G.; GANTILLO, A.; KOSTER, B.J.; SCHANTZ, M.M.; STONE, S.; ZEISLER, R. & WISE, S.A. (1996): National Status and Trends Program Specimen Bank: Sampling Protocols, Analytical Methods, Results, and Archive Samples, NOAA Tech. Memo. NOS ORCA 98.
- MARTHALER, L.R. (1994): Populationsdynamik und Schwermetallkonzentrationen bei *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) zur Definition eines optimalen Probenahmezeitpunktes. Diplomarbeit, Univ. d. Saarlandes. Saarbrücken.
- MATTER, L. & PUTZER, D. (1986): Organochlorverbindungen und PCB's in Süßwassermuscheln in Abhängigkeit vom Standort. *Lebensmittelchemie* 40:12-14.
- MERL, G. & P. MÜLLER (1983): Schwermetalle und chlorierte Kohlenwasserstoffe in *Dreissena polymorpha* Populationen Mitteleuropas. *Forum Städte-Hygiene* 34:178-180.
- MERSCH, J.; JEANJEAN, A.; SPOR, H. & PIHAN, J.C. (1992): The freshwater mussel *Dreissena polymorpha* as a bioindicator for trace metals, organochlorines, and radionuclides. In: NEUMANN, D. & JENNER, H.A. (Hrsg.): The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Limnologie Aktuell 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. S. 227-244.
- MERSCH, J. & PIHAN, J.C. (1993): Simultaneous assessment of environmental impact on condition and trace metal availability in zebra mussels *Dreissena polymorpha* transplanted into the Wiltz River, Luxembourg. Comparison with the aquatic moss *Fontinalis antipyretica*. *Arch. Environ. Contam. Tox.* 25: 353-364.
- MÜLLER, J.; WÖLL, S.; FUCHS, U. & SEITZ, A. (2001): Genetic interchange of *Dreissena polymorpha* populations across a canal. *Heredity* 86: 103-109.
- MÜLLER, P. & WAGNER, G. (1988): Probenahme und Charakterisierung von repräsentativen Umweltproben. In: Bundesministerium für Forschung und Technologie (Hrsg.): Umweltprobenbank - Bericht und Bewertung der Pilotphase. Springer-Verlag, Berlin. S. 27-36.
- NEUMANN, D. & H. JENNER (1992): The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Symposium on Ecology and Biomonitoring. Limnologie Aktuell. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- PALMIERI, J.; LIVINGSTONE, H. & FARRINGTON, J.W. (1984): U.S. „Mussel Watch“ program. 73 pp., Woods Hole Oceanogr. Inst. Techn. Report WHOI 84.
- PAULUS, M. & KLEIN, R. (1994): Umweltprobenbanken als Instrumente zur umweltchemischen Beweissicherung und retrospektiven Bioindikation. In: GUNKEL, G. (Hrsg.): Bioindikation in aquatischen Ökosystemen. Gustav Fischer Verlag, Jena. S. 421-439.
- PHILLIPS, J.H. & RAINBOW, P.S. (1993): Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants. Elsevier Science Publ., London.
- PUTZER, D. & C. MATTER (1987): Zum Biomonitoring von Blei und Cadmium im Rheinabschnitt Köln-Nord-Duisburg-Emschermündung mit Hilfe der Süßwassermuschel *Dreissena polymorpha*. VDI Berichte Nr. 609.
- REINCKE, H. (1992): Biological effect monitoring in the river Elbe using the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. In: NEUMANN, D. & JENNER, H.A. (Hrsg.): The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Limnologie Aktuell 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. S. 185-195.
- SHADIN, W.J. (1935): Über die ökologische und geographische Verbreitung der Süßwassermollusken in der UdSSR. *Zoogeographica* 2: 495-554.
- SIESEGGER, B. (1969): Vorkommen und Verbreitung von *Dreissena polymorpha* im Bodensee. *GfW Wasser-Abwasser* 30: 814-815.
- THIENEMANN, A. (1950): Die Binnengewässer, Bd. XVIII. Fischer Verlag, Stuttgart.
- VAN DER VELDE, G.; HERMUS, K.; VAN DER GAAG, M. & JENNER, H.A. (1992): Cadmium, zinc, and copper in the body, byssus and shell of the mussels *Mytilopsis leucophaeta* and *Dreissena*

polymorpha in the brackish Noordzeekanaal of the Netherlands. In: NEUMANN, D. & JENNER, H.A. (Hrsg.): The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Limnologie Aktuell 4. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. S. 213-226.

VAN DER VELDE, G.; PAFFEN, B.G.P.; VAN DEN BRINK, F.W.B.; BIJ DE VAATE, A. & JENNER, H.A. (1994): Decline of Zebra Mussel populations in the Rhine. *Naturwissenschaften* 81: 32-34.

VAN SLOOTEN, K. & TARRADELLAS, J. (1994): Accumulation, depuration and growth effects of tributyltin in the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha* under field conditions. *Environ. Toxicol. Chem.* 13: 755-762.

WAGNER, G. (1993): Umweltprobenbanken - neue Instrumente für Umweltforschung, -analytik und -planung, in RIES, L.; WAGNER, G.; FIEDLER, H. & HUTZINGER, O. (Hrsg.): Ecoinforma '92, Band 4: Biomonitoring und Umweltprobenbanken, Umweltdatenbanken & Informationssysteme, Bayreuth. S. 71-80.

WAGNER, G. (1994): Biological Samples. In: STOEPLER, M. (ed.): Sampling and Sample Preparation, Springer, Berlin. S. 88-107.

WALZ, N. (1973): Untersuchungen zur Biologie von *Dreissena polymorpha* im Bodensee. *Arch. Hydrobiol.* 42: 452-482.

ZADORY, L. (1984): Freshwater Molluscs as accumulation indicators for monitoring heavy metal pollution. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 317:375-379.

Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme

Probenart:	Dreikantmuschel (<i>Dreissena polymorpha</i>)
Zielkompartimente:	Weichkörper inkl. Atemwasser und Darminhalt
Probenindividuen:	Muscheln der im gebietsbezogenen Probenahmeplan festgelegten Größenklasse (zwischen ca. 15 und 25 mm Schalenlänge)
Stichprobenumfang:	Mindestens 100 Individuen
Probenahmezeitraum:	Mitte September bis Ende November
Probenahmehäufigkeit:	Jährlich
Erforderliche Ausrüstung für die Geländearbeit:	<p>Besiedlungsplatten/Exposition:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Platten aus additivfreiem Polyethylen, 30x30 cm ○ Edelstahlgewindestäbe (12 mm), Edelstahlmutter und Schraubenschlüssel ○ PTFE-Rohrhülsen als Abstandshalter, 7 cm lang ○ Edelstahl -Drahtseil zur Befestigung ○ Schrauben, Seilklemmen, Spezial-Drahtschere, ○ Netze mit Maschenweiten ca. 10 mm zum Schutz der besiedelten Platten vor Fressfeinden der Muscheln ○ PE-Kisten mit Deckel zum Transport der besiedelten Exponate <p>Probenahme:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Edelstahl- oder Teflonspatel ○ Kamera zu Dokumentationszwecken ○ Probendatenblätter ○ Edelstahl-Drahtkorb mit ca. 5 mm Maschenweite ○ Flüssigstickstoff ○ Laborwaage, min. 5 kg, Ablesung auf 1 g
Erforderliche Ausrüstung für die Probenaufbereitung im Labor:	<ul style="list-style-type: none"> ○ Reinluftarbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung ○ Kälteschutzhandschuhe und Schutzbrille gegen LIN ○ Edelstahl-Probengefäße 1,5; 3,5 und 5,5 l ○ Laborwaage, Messgenauigkeit 1 g ○ Flüssigstickstoff ○ Isolierschale aus Styrodur o.ä. zur Isolierung von 2 Probengefäßen ○ Pinzetten, Skalpelle mit abgerundeten Klingen, Spatel aus Edelstahl ○ Einmalhandschuhe
Erforderliche Ausrüstung für die biometrische Probencharakterisierung:	<ul style="list-style-type: none"> ○ Präzisionswaage, Messgenauigkeit 1 mg ○ Schieblehre ○ Edelstahlpinzetten, Skalpelle ○ Edelstahlspatel
Probenverpackung bis zur -aufarbeitung:	Edelstahl-Probengefäße 5,5 l mit Deckeln und Klammern, 3-4 Gefäße je nach Muschelgröße
Probentransport und -zwischenlagerung:	Kühlvorrichtung zum raschen Tiefkühlen und Lagern der Proben in der Gasphase über flüssigem Stickstoff (LIN)
Biometrische Probencharakterisierung:	<p>An jeweils 50 Muscheln:</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Schalenlänge, -breite, -höhe [auf 1 mm genau] ○ Weichkörpergewicht [auf 0,001 g genau] ○ Schalengewicht [auf 0,001 g genau]

Checklist to Prepare and Conduct the Sampling

Specimen Type:	Zebra Mussel (<i>Dreissena polymorpha</i>)
Target Compartments:	Soft body including respiratory water and intestinal content
Individual Specimens:	Mussels of a particular size group as defined in the area related sampling scheme (between circa. 15 and 25 mm shell length)
Random sample number:	At least 100 individuals
Sampling Period:	Middle of September until end of November
Sampling Frequency:	Yearly
Equipment Required for Field Work:	<p>Colonisation plates / Exposure:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Plates made of additive-free polyethylene, 30 x 30 cm ➤ Stainless steel threaded rods, (12 mm) with stainless steel screw nuts and spanner ➤ PTFE-tube (7 cm length) as spacer ➤ Stainless steel wire rope to be used for anchorage ➤ Screws, wire rope clips, special wire shears ➤ Nets with 10 mm mesh width to protect the mussels against forage enemies ➤ PE cases with lids for the transport of the colonised plates <p>Field Work:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Stainless steel or PTFE spatula ➤ Camera for the purpose of documentation ➤ Specimen data sheets ➤ Stainless steel wire baskets with circa 5 mm mesh width ➤ Liquid nitrogen ➤ Laboratory Balance, at least 5 kg with meter reading to 1 g accuracy
Required Equipment for the Sample Dissection in the Laboratory:	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Clean bench with particles- and activated carbon filtration ➤ Protective gloves against low temperature, protective goggles against LIN ➤ Stainless steel vessels for the samples, 1.5l, 3.5l and 5.5l ➤ Laboratory balance, accuracy 1 g ➤ Liquid nitrogen ➤ Insulating vessel made of Styrofoam or the like, for the insulation of two sampling vessels ➤ Several pairs of tweezers, scalpels with rounded blades, spatula all made of stainless steel ➤ Disposable gloves
Required Equipment for the Biometric Sample Characterization:	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Precision balance (accuracy 1 mg) ➤ Sliding calliper ➤ Several pairs of tweezers, scalpels ➤ Stainless steel spatula
Sample Packing until Further Processing:	Stainless steel vessels 5.5 l with lids and fasteners, 3-4 vessels depending on the mussel size
Sample Transport and Interim Storage:	Cooling device for the rapid deep-freezing, storage and transport of the samples in the gas phase above liquid nitrogen (LIN)
Biometric Sample Characterization:	<p>For 50 mussels:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Length, width and height of the shell [accuracy 1mm] ➤ Weight of the soft body [accuracy 0.001g] ➤ Weight of the shell [accuracy 0.001g]

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 1: Entnahmestelle Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*)

Identifikation

_____ / X / _____ / _____ / _____ / _____	Probenart
_____	Probenzustand
_____	Entnahmedatum (MM/JJ)
_____	Probenahmegebiet (PNG)
_____	Gebietsausschnitt (GA)
_____	Probenahmefläche (PNF)
_____	Zusatzangabe

Entnahmestelle: _____

Gauß-Krüger-Koordinaten

Rechtswert: _____ Hochwert: _____

Datum: _____ Ellipsoid: _____

Flusskilometer: _____ bis _____

Größe der Entnahmestelle: _____ km² _____ ha _____ a _____ m²

Uferbeschreibung

Ufervegetation:

- | | | |
|-----------------------------------|---------------------------------------|--|
| <input type="checkbox"/> Röhricht | <input type="checkbox"/> Hochstauden | <input type="checkbox"/> Bäume |
| <input type="checkbox"/> Grünland | <input type="checkbox"/> Seggenrieder | <input type="checkbox"/> Sonstiges _____ |

Nutzung:

Bemerkung:

Bearbeiter:

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 2: Probenahmemethode, Probenbeschreibung und Lagerung Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*)

Identifikation:

_____ / X / _____ / _____ / _____

von: _____ Datum der Probenahme bis: _____

Beginn: _____ Uhrzeit Ende: _____

Substratbeschreibung
Beim Einsatz von Exponatplatten:

Datum der Exposition: _____ Expositionsdauer [Monate]: _____

Wassertiefe der Platten: _____, _____ m Anzahl Türme/Platten: _____ / _____

Beim Absammeln anderer Substrate:

Substrattyp: Beschreibung der Struktur und Art Beschreibung der Struktur und Art

Steine _____ Beton _____

Kies _____ Sonstige: _____

Besiedlung der Platten bzw. anderer Substrate:

Oberseite: vereinzelt locker dicht geschlossen

Unterseite: vereinzelt locker dicht geschlossen

Probenbeschreibung
Verunreinigungen der Muscheln durch:

Beschreibung der Struktur und Art Beschreibung der Struktur und Art

Sediment _____ Sonstige: _____

Aufwuchs

_____ vereinzelt mittel viel

_____ vereinzelt mittel viel

Lagerung

Nummer des Edelstahlgefäßes:	Leergewicht [g]	Vollgewicht [g]	Einwaage [g]	Bemerkungen
_____	_____	_____	_____	
_____	_____	_____	_____	
_____	_____	_____	_____	

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 3.1: Biometrie

Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*)

Identifikation:

____ / X / ____ / ____ / ____

Nr.	Länge ____, ____ mm	Breite ____, ____ mm	Höhe ____, ____ mm	Schalengewicht ____, ____ g	Weichkörpergewicht ____, ____ g
01					
02					
03					
04					
05					
06					
07					
08					
09					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK

**Specimen Data Sheet 1: Sampling Point
Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*)**

Identification

_____ / X / _____ / _____ / _____ / _____	Specimen Type
_____	Specimen Condition
_____	Collection Date (MM/YY)
_____	Area under Investigation (AUI)
_____	Sampling Region (SR)
_____	Sampling Site (SS)
_____	Additional information

Sampling Point: _____

Gauß-Krüger-Coordinates

Easting: _____ Northing: _____
Date: _____ Ellipsoid: _____

River Kilometer: from _____ to _____

Size of the Sampling Point: ___ km² ___ ha ___ a ___ m²

Description of the Bank

Bank Vegetation:

Reeds tall Herbaceous p. Trees
 Grassland Sedges Other _____

Kind of Use:

Remarks:

Person(s) in Charge:

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK

Specimen Data Sheet 2: Sampling Method, Sample Description and Storage

Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*)

Identification:

_____ / **X** / _____ / _____ / _____

from: _____ . _____ . _____ Sampling Date to: _____ . _____ . _____

Start: _____ : _____ Time End: _____ : _____

Substratum Description
If Colonisation Plates are Used:

Date of Exposure: _____ . _____ . _____ Duration of Exposure [Months]: _____

Depth of Exposed Plates: _____ , _____ m Number of Towers/Plates: _____ / _____

If Samples are Collected from other Substrata:

Substratum Type:

Description of Structure and Kind

Description of Structure and Kind

Stones _____

Concrete _____

Gravel _____

Other: _____

Colonisation of Plates or other Substrata:

Upper Side: scattered loose dense compact

Lower Side: scattered loose dense compact

Sample Description
Mussels Polluted by:

Description of Structure and Kind

Description of Structure and Kind

Sediment _____

Other: _____

Periphyton

_____ sporadic middle-rate plenty

_____ sporadic middle-rate plenty

Storage

Number of the stainless steel vessel	Weight Empty [g]	Weight Filled [g]	Weighted Sample [g]	Remarks
_____	_____	_____	_____	
_____	_____	_____	_____	
_____	_____	_____	_____	

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK

**Specimen Data Sheet 3.1 : Biometry
Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*)**

Identification:

_____/ X / _____ / _____ / _____

no.	Length ____, ____ mm	Width ____, ____ mm	Height ____, ____ mm	Weight of the Shell ____, ____ g	Weight of the Soft Body ____, ____ g
01					
02					
03					
04					
05					
06					
07					
08					
09					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					

GERMAN ENVIRONMENTAL SPECIMEN BANK

**Specimen Data Sheet 3.2 : Biometry
Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*)**

Identification:

____ / X / ____ / ____ / ____

no.	Length ____, ____ mm	Width ____, ____ mm	Height ____, ____ mm	Weight of the Shell ____, ____ g	Weight of the Soft Body ____, ____ g
26					
27					
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					
44					
45					
46					
47					
48					
49					
50					

