



Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung

Miesmuschel (*Mytilus edulis*) -Entwurf-

Gerhard Wagner, Martina Bartel, Roland Klein, Martin Paulus,
Markus Quack, Kathrin Tarricone, Diana Teubner

Universität Trier, FB VI – Biogeographie
Wissenschaftspark Trier-Petrisberg, D-54286 Trier



Inhaltsverzeichnis

1	Umweltprobenbank des Bundes	2
2	Zielsetzung dieser Richtlinie	2
3	Funktion der Probenart	2
4	Zielkompartimente	3
5	Festlegungen für die Probenahme	3
5.1	Artbestimmung	3
5.2	Auswahl und Abgrenzung der Probenahmefflächen	3
5.3	Auswahl der Individuen und Stichprobengröße	4
5.4	Probenahmezeitraum und -häufigkeit	5
5.5	Gebietsbezogener Probenahmeplan	5
6	Durchführung der Probenahme	5
6.1	Erforderliche Ausrüstung und Reinigungsvorschriften	5
6.2	Probenahmetechnik	6
7	Biometrische Probencharakterisierung	7
8	Literatur	7

Anhang: Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme
Probendatenblätter

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

Stand: Februar 2011, V 2.0.1

1 Umweltprobenbank des Bundes

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) ist ein Instrument der Umweltbeobachtung des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) unter fachlicher und administrativer Koordination des Umweltbundesamtes (UBA). Die UPB sammelt ökologisch repräsentative Umweltproben sowie Humanproben, lagert sie ein und untersucht sie auf umweltrelevante Stoffe. (BMU 2008).

Die Langzeitlagerung erfolgt unter Bedingungen, die eine Zustandsveränderung oder einen Verlust chemischer Eigenschaften über einen Zeitraum von mehreren Jahrzehnten weitestgehend ausschließen. Damit stellt das Archiv Proben für die retrospektive Untersuchung solcher Stoffe bereit, deren Gefährdungspotential für die Umwelt oder die menschliche Gesundheit heute noch nicht bekannt ist.

Umfassende Informationen zur UPB sind unter www.umweltprobenbank.de verfügbar.

2 Zielsetzung dieser Richtlinie

Die Probenahme ist der erste und wichtigste Schritt zur Sicherung der Proben- und Datenqualität. Sie erfolgt nach fachlich begründeten und standardisierten Methoden, um Kontaminationen zu minimieren und den Verlust von chemischen Informationen zu vermeiden.

Der besonders hohe Anspruch an Qualitätssicherung ergibt sich aus der außergewöhnlichen Bedeutung der Proben als Archivmaterial. Repräsentativität und Reproduzierbarkeit der Proben sind Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse in Zeit und Raum und 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 Probenahmerichtlinie vorgesehen. Die vorliegende Richtlinie stellt die Fortschreibung der Fassung von BACKHAUS et al. (1993). Der Transport und die weiterführende Probenbe-

arbeitung, die Lagerung sowie die chemische Charakterisierung hat nach den gültigen Richtlinien der UPB zu erfolgen.

3 Funktion der Probenart

Die Miesmuschel (*Mytilus edulis*) bildet zusammen mit der in der Ostsee verbreiteten *Mytilus trossulus* und der im Mittelmeer und an der europäischen Atlantikküste verbreiteten *Mytilus galloprovincialis* (mit Tendenz zur Ausbreitung nach Norden) einen Superspezieskomplex. Da alle drei Semi-Spezies in den Proben der UPB vertreten sein können (QUACK & KOSUCH, 2005) wird die Probenart als *Mytilus ssp.* bezeichnet.

Die Miesmuschel gehört zu den sessilen marinen Organismen, die eine breitgefächerte Palette von organischen und anorganischen Stoffen in gelöster, aber auch in partikulärer Form aus dem sie umgebenden Meerwasser aufnehmen und ggf. akkumulieren und sich zum Nachweis der Bioverfügbarkeit von Substanzen aus der Umwelt eignen. Sie sind außerdem Teil des menschlichen Nahrungsspektrums und werden daher zusammen mit nahe verwandten Arten weltweit als prioritäre Probenart in Umweltbeobachtungsprogrammen als Bioindikatoren eingesetzt (PHILIPPS 1976, PHILLIPS 1977, GOLDBERG 1978, ERNST 1982, SCHULZ-BALDES 1982, THEEDE 1982, FARRINGTON 1983, PALMIERI 1984, FARRINGTON 1987, LOBEL et al. 1991, PHILLIPS 1993, NELSON 1995, TMAP 1997, GREEN et al. 2003, PRZYTARSKA et al. 2010),).

Folgende Merkmale heben die besondere Eignung der Miesmuschel als Probenart für die UPB hervor:

- Akkumulation gelöster und partikulärer Stoffe durch Filtration aus dem umgebenden Medium,
- weite Verbreitung des Super-spezies-Komplexes und nah verwandter Arten entlang der Küstenregionen der gemäßigten Klimazonen,
- Vorkommen in hohen Populationsdichten und Biomassen,
- Standorttreue und mehrjährige Lebensdauer.

4 Zielkompartimente

Als Probe wird der Weichkörper der Miesmuschel einschließlich des enthaltenen Atemwassers verwendet (Kap. 5.2).

5 Festlegungen für die Probenahme

5.1 Artbestimmung

Die Gattung *Mytilus* kann in nahezu allen gemäßigten klimatischen Zonen gefunden werden. Die Grenzen der Verbreitung werden durch die 10 °C Sommerisotherme in arktischen Meeren und durch die 27°C-Oberflächenisotherme in den wärmeren Meeren gebildet (SEED 1976). Bei wiederholtem Auftreten von Lufttemperaturen über 32°C ist mit erhöhter Mortalität zu rechnen (JONES et al. 2010)

Mytilus edulis ist Teil eines Superspezies-Komplexes, dem außer der atlantischen *Mytilus edulis* (LINNÉ 1758) die baltische *Mytilus trossulus* (GOULD 1850) sowie die mediterrane *Mytilus galloprovincialis* (LAMARCK 1819) angehören (RAYMOND et al. 1997). *Mytilus edulis* bildet Hybridzonen mit den beiden anderen Arten (RAWSON et al. 1996, RAWSON & HILBISH 1998, HILBISH et al. 2002). Entsprechend ihres euryhalinen Charakters kommt *Mytilus trossulus* in den Bereichen der Ostsee mit einer Salinität bis zu 4,5 ‰ vor (VUORINEN 1986, SUNILA 1987, WESTERBOM 2002). *Mytilus galloprovincialis* ist im Mittelmeer und an der südeuropäischen Atlantikküste bis in die Biskaya verbreitet und scheint nordwärts vorzudringen (ASMUS 1987, DAGUIN et al. 2001, QUACK & KOSUCH 2005). Eindeutige Möglichkeiten zur Unterscheidung der drei Taxa und ihrer Hybriden im Freiland gibt es bisher nicht. Eine genetische Charakterisierung der Proben mittels molekulargenetischer Methoden ist für die Probenahmegebiete der UPB erfolgt (QUACK & KOSUCH 2005). Eine laufende Überprüfung der taxonomischen Zugehörigkeit der beprobten Populationen ist erforderlich.

Die Farbgebung der Schalen variiert von dunklem blau/grau bis zu schwarz/dunkelgrau, häufig mit beige- bis goldfarbenen Zonen, beschädigte

Stellen sind silbrig-weiß (Abb. 1, links). Die Schalen von *Mytilus edulis* sind bis zu 80 mm (130 mm) lang und 40 mm breit. *Mytilus galloprovincialis* erreicht etwa die gleiche Größe, während *Mytilus trossulus* deutlich kleiner und schlanker ist.



Abb. 1: Vergleichende Darstellung der Schalen von *Mytilus edulis* (links), *Mytilus trossulus* (Mitte) und *Mytilus galloprovincialis* (rechts)

5.2 Auswahl und Abgrenzung der Probenahmeflächen

Die Miesmuschelbestände sind einer hohen zeitlichen und räumlichen Dynamik ausgesetzt, die insbesondere im Sublitoral des Wattenmeers wirksam ist (NEHLS 2000). Insbesondere das Überwachsen vieler Miesmuschelbänke durch die pazifische Auster (*Crassostrea gigas*) hat den Bestand und die Wachstumsbedingungen der Miesmuscheln stark verändert. Von einer generellen Gefährdung der Miesmuschelbestände ist derzeit nicht auszugehen (REISE 1998, MARKERT et al. 2010). Die Gewährleistung langfristiger Vergleichbarkeit der Proben-Zeitreihen setzt daher eine gründliche Auswahl der Probenahmeflächen nach Stabilitätskriterien sowie eine flächenbezogene und auf langfristige Reproduzierbarkeit ausgerichtete Festlegung des zu beprobenden Größenbereichs der Muscheln voraus.

Die Auswahl der Probenahmeflächen ist in erster Linie durch das Vorkommen und die Erreichbarkeit ausreichend großer und langfristig möglichst stabiler natürlicher Muschelbänke entlang der Küstenlinie bestimmt. Bei der Auswahl sollten laufende und frühere Kartierungen und Beobachtungen herangezogen werden, um die

Wahrscheinlichkeit langfristiger Stabilität der zu beprobenden Bestände zu erhöhen. Auch bezüglich der Größe und Abgrenzung der Probenahmeflächen müssen Stabilitätskriterien prioritär beachtet werden, da einzelne Muschelbänke z.B. durch Sturmereignisse oder Eisgang in ihrer Struktur verändert, ausgedünnt, räumlich verlagert oder sogar vernichtet werden können (NEHLS & THIEL 1993, NEHLS et al. 1997, RUTH 1997, NEHLS 2000, KOCHMANN et al. 2008, MILLAT et al. 2009). Die Exposition, innere Struktur und Dichte der Muschelbestände ist im Rahmen eines Screenings zu ermitteln und bei den Festlegungen des gebietsbezogenen Probenahmeplans zu berücksichtigen.

Da die Probenahmeflächen repräsentativ für das Ökosystem bzw. den jeweiligen Gebietsausschnitt sein müssen, ist die unmittelbare Nähe zu lokalen Emittenten zu meiden. Die nächstgelegenen Emittenten sind für jede Probenahmefläche zu ermitteln und im gebietsbezogenen Probenahmeplan zu dokumentieren.

Um sich mit ihren Byssusfäden verankern zu können, benötigt *Mytilus edulis* feste Untergründe. Dies können natürliche Muschelbänke sein (z.B. Sylt-Römö-Watt), aber auch Felsen, Steine oder künstlich angelegte Bühnen, Spundwände oder ähnliche Hartsubstrate, aber auch verlagerte Muschelaggregate. Werden *Mytilus*-Bestände auf künstlichen Substraten ausgewählt, ist darauf zu achten, dass durch die Substratbeschaffenheit keine Kontamination erfolgen kann. Die Substratbeschaffenheit ist daher ebenfalls zu dokumentieren, um Schadstoffquellen ggf. auch rückwirkend nachvollziehen zu können.

Die wesentlichen Kriterien für die Auswahl und Abgrenzung der Probenahmeflächen sind:

- Repräsentativität für den Gebietsausschnitt,
- ausreichende Größe und Populationsdichte für eine langfristig gesicherte Probenahme,
- hohe Wahrscheinlichkeit für langfristige Stabilität der Population,
- gute Erreichbarkeit auch unter ungünstigen Witterungsbedingungen,
- Meidung lokaler Emittenten und Störfaktoren.

Lage und Zustand der Probenahmeflächen sowie eventuelle Veränderungen sind im Probendatenblatt 1 zu dokumentieren.

5.3 Auswahl der Individuen und Stichprobengröße

Um von einer Probenahmefläche eine repräsentative Probe zu sammeln, müssen nach SCHLADOT et al. (1992) mindestens 65 Individuen zu jedem Probenahmetermin über die gesamte Probenahmefläche verteilt gesammelt werden. Um eine ausreichende Menge an Probenmaterial für direkte und retrospektive Analysen zu gewinnen sind für die UPB höhere Stückzahlen erforderlich. Die Stichprobengröße ist daher i.d.R. ausreichend, um Veränderungen innerhalb und Unterschiede zwischen den ausgewählten Probenahmeflächen zu beschreiben (SAAVEDRA et al. 2009).

Die Wuchsgeschwindigkeit und Altersstruktur der Miesmuschelbänke ist kleinräumig und regional unterschiedlich und unterliegt zeitlichen Veränderungen. Dabei besteht nach LOBEL et al. (1991) bei einer Festlegung auf die mittleren Kohorten (z. B. Schalenlänge 70 – 90 % des maximalen Wachstumspotentials der Population) die größte Wahrscheinlichkeit, langfristig vergleichbare Proben sammeln zu können. Diese Größenklasse ist für jede Probenahmefläche unter Berücksichtigung der oben genannten Kriterien durch ein Screening zu ermitteln und durch Festlegung der jeweils auszuwählenden Schalenlängen zu definieren. Für längerfristige Probenserien sind die Größenverteilungen über mehrere Jahre zu überprüfen und die Festlegung der zu sammelnden Größenklasse ggf. nachzujustieren. Die Stückzahl und die Größenklasse der für jede Probenahmefläche zu sammelnden Individuen ist nach den Ergebnissen der Voruntersuchungen im jeweiligen gebietsbezogenen Probenahmeplan (siehe Kap. 5.5) festzulegen. Für die Durchführung der Probenahme wird die Verwendung einer Messlehre zur Prüfung der jeweiligen Mindestgröße der zu sammelnden Muscheln empfohlen.

5.4 Probenahmezeitraum und -häufigkeit

Die Schadstoffkonzentration in Miesmuscheln ist von einer Vielzahl von Parametern, wie z.B. der Schadstoffkonzentration im Umgebungswasser, der Jahreszeit, der Wassertemperatur und der Salinität, abhängig. Um eine zeitlich über ein Jahr integrierende repräsentative Probe zu erhalten, werden nach SCHLADOT et al. (1992) wegen der großen Dynamik im Wattenmeer (Tidengang) und dem damit verbundenen ständigen Stoffaustausch in diesem marinen Ökosystem mehrmals pro Jahr Proben entnommen und diese zu einem Jahreshomogenat mit jeweils gleichen Gewichtsanteilen vereinigt. Für die Jahreshomogenate der UPB werden Miesmuschel-Proben im Wattenmeer der Nordsee in zweimonatigem Rhythmus ab Februar gesammelt. Für die Ostseeküste werden nach SCHLADOT et al. (1992) aufgrund der angenommenen geringeren Dynamik zwei Probenahmetermine (Juni und November) als ausreichend erachtet. Diese Probenahmerhythmik unterscheidet sich von denen der übrigen Probenarten und anderen Monitoringprojekten auf nationaler, europäischer und internationaler Ebene, wo die Proben grundsätzlich einmal jährlich in einem Zeitraum möglichst geringer endogener und exogener Dynamik gewonnen werden (DE JONG et al. 1999, CHERNOVA 2010).

5.5 Gebietsbezogener Probenahmeplan

Auf der Grundlage der Probenahmerichtlinie müssen für die einzelnen Probenahmegebiete bzw. -flächen spezifische Festlegungen getroffen werden, die in einem gebietsbezogenen Probenahmeplan dokumentiert sind. Dies betrifft u.a.:

- Lage und Abgrenzung der Probenahmeflächen,
- erforderlicher Stichprobenumfang,
- Probenahmezeitraum,
- zuständige Genehmigungsbehörden.

Durch die Berücksichtigung der Gebietscharakteristika im gebietsbezogenen Probenahmeplan wird die langfristige Kontinuität der Probenahme

gesichert. Bei Änderungen muss das Dokument aktualisiert werden.

Handelt es sich um gravierende Veränderungen, durch die eine Vergleichbarkeit der Proben nicht mehr gewährleistet ist, muss eine neue Probenahmefläche ausgewählt werden.

6 Durchführung der Probenahme

Zur Vorbereitung der Probenahmen. In Abhängigkeit vom Schutzstatus und den Eigentumsverhältnissen sind die erforderlichen Genehmigungen zum Betreten der Probenahmeflächen und zur Entnahme der Proben bei den jeweils zuständigen Genehmigungsstellen rechtzeitig vor der Probenahme einzuholen.

Alle bei der Probenahme und biometrischen Probenbeschreibung erhobenen Daten sind in den entsprechenden Probendatenblättern (s. Anhang) zu vermerken.

Zu jeder Probenahme ist darüber hinaus ein Protokoll mit folgendem Inhalt anzufertigen:

- an der Probenahme beteiligte Personen,
- chronologischer Ablauf der Probenahme,
- die für die Probenahme zugrunde liegende Version der Probenahmerichtlinie und des gebietsbezogenen Probenahmeplanes,
- Abweichungen von der Probenahmerichtlinie und dem gebietsbezogenen Probenahmeplan.

6.1 Erforderliche Ausrüstung und Reinigungsvorschriften

Für die Geländearbeit:

- Probendatenblätter zur Dokumentation während der Probenahme (Entnahmestelle, Probenahmemethode, Probenbeschreibung und Lagerung,
- Waage (Messbereich bis mindestens 4 kg, ablesen auf 1 g),
- Messlehre für Mindestgröße,
- Edelstahlrahtkörbe,
- Einmal-Laborhandschuhe
- Edelstahlbehälter mit Deckel und Klammer,
- wasserfester Markierstift,

- Transportdewar mit Flüssigstickstoff zum Transport der Proben in der Gasphase über Flüssigstickstoff (LIN),
- Kamera zur Dokumentation,
- Schutzkleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff,
- angepasste Kleidung für die Probenahme

Für die Laborarbeit:

- Reinluftarbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung,
- Einmal-Laborhandschuhe
- Pinzetten, Austernmesser und Spatel aus Edelstahl,
- Edelstahlgefäße mit Deckel und Klammer,
- Isolierhüllen für 2 Edelstahlgefäße,
- Flüssigstickstoff,
- Waage (Messbereich bis mind. 4 kg, ablesen auf 1 g),
- Waage (ablesen auf 0,01g),
- Schutzkleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff.

Reinigungsvorschriften

Die Reinigung der Probengefäße und -geräte erfolgt in einer Laborspülmaschine mit chlorfreiem Intensivreiniger im ersten Reinigungsgang. Nach Kalt- und Heißspülung (90-95°C) erfolgt eine Neutralisation mit 30%iger Phosphorsäure in warmem Wasser. Anschließend erfolgen Heiß- und Kaltspülgänge mit deionisiertem Wasser. Nach dem Spülen werden die Gefäße bei 130°C (+/- 10°) im Trockenschrank mindestens eine Stunde nachbehandelt (zur Sterilisation). Anschließend lässt man die Gefäße im geschlossenen Trockenschrank abkühlen. Bei Kunststoffen entfällt die Sterilisation.

6.2 Probenahmetechnik

Die Sammlung erfolgt in der Regel im Gezeitenbereich (Eulitoral) von Hand vom Ufer aus, im Sublitoral ggf. durch Taucher oder Dredge. Die Hände (Laborhandschuhe) und Sammelkörbe werden im Meerwasser vor Ort konditioniert (vgl. FOWLER 1979). Die Probenahme wird gleichmäßig über die gesamte Probenahmefläche verteilt durchgeführt. Miesmuscheln der festgelegten Größenklasse werden einzeln von Hand abgelöst,

im Meerwasser abgespült und in den Edelstahlkorb gelegt.

Anhaftende Teile von Pflanzen und lose aufsitzende Tiere werden soweit möglich von Hand abgesammelt. Die aus den Schalen herausragenden Byssusfäden und fest aufsitzende Seepocken u. ä. werden nicht entfernt.

Das gesamte Probenmaterial wird mehrfach im Meerwasser gespült, um Sedimentreste zu beseitigen. Das den Muscheln anhaftende und von diesen abgegebene Wasser wird vor dem Einfrieren soweit wie möglich entfernt. Anschließend wird die Probe in Edelstahlgefäße überführt und gewogen.

Die Proben werden unmittelbar nach der Probenahme in der Gasphase über flüssigem Stickstoff im Transportdewar eingefroren, um die Muscheln schnell abzutöten und zu konservieren.

Nach der im Labor durchgeführten Sektion (s.u.) werden die Weichkörper-Proben der einzelnen Probenahmeterminen am Ende des Probenahmejahres unter Einhaltung der cryogenen Bedingungen mit gleichen Gewichtsanteilen zusammengeführt und homogenisiert.

Zur Gewinnung der Weichkörper werden jeweils fünf bis zehn der zwischengelagerten Miesmuscheln vorsichtig mit einem Spatel aus dem Probengefäß gelöst und zum oberflächlichen Antauen auf die Arbeitsfläche des Reinluft-Arbeitsplatzes gelegt.

Wenn der auf den Schalen gebildete Reif abzutauen beginnt, werden die Schalen mit einer Pinzette bzw. einem Austernmesser geöffnet. Der noch fest gefrorene Weichkörper wird mit einer Pinzette entnommen, mit einer zweiten Pinzette von evtl. anhängenden Schalenresten befreit und in das vorgewogene, mit dem Probenartenschlüssel gekennzeichnete und ausreichend mit Flüssigstickstoff gefüllte zweite Probengefäß überführt.

Sollte nach dem Öffnen der Muschelschalen der Weichkörper bereits angetaut sein, so ist dieser zu verwerfen.

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

7 Biometrische Probencharakterisierung

Erforderliche Geräte:

- Probendatenblatt,
- Waage (ablesen auf 0,01g),
- Schieblehre (ablesen auf 0,1mm),
- Wiegeschale,
- saugfähiges Laborpapier,
- Schutzkleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff,
- Pinzetten, Skalpelle, Austernmesser und Spatel aus Edelstahl.

Die für die biometrische Probencharakterisierung erhobenen Daten sind im Probendatenblatt 3 zu erfassen.

Als Weichkörpergewicht wird das Frischgewicht des Weichkörpers zu dem Zeitpunkt definiert, zu dem der Muschelkörper vollständig aufgetaut und das Atemwasser ausgelaufen ist, die Verluste an Gewebeflüssigkeit aber minimal sind.

Anmerkung: Da das Frischgewicht des Weichkörpers eingefrorener Muscheln nicht direkt bestimmbar ist und erheblichen Fehlereinflüssen unterliegt, muss zur Vermeidung systematischer und zur Minimierung zufälliger Fehler eine genaue Standardisierung des Bestimmungsverfahrens eingehalten werden, wie im Folgenden beschrieben.

Für die biometrische Bestimmung werden die Muscheln der Stichprobe einzeln auf saugfähigem Laborpapier ausgelegt und durchnummeriert. Der Beginn der Auftauzeit ist festzuhalten, um für jede Muschel die nach ihrer Schalengröße ermittelte Auftauzeit einhalten zu können. Während des Auftauens werden die Muscheln von aufsitzenden Seepocken u.ä. gereinigt. Länge, Breite und Höhe der Schalen werden mittels einer Schieblehre gemessen (ablesen auf 0,1mm) und im Probendatenblatt 3 erfasst.

Nach einer größenabhängigen Auftauzeit von 35-90 Minuten wird das Weichkörpergewicht bestimmt wie oben definiert. Hierzu werden die Muscheln während des Auftauens mit der Schalenöffnung nach unten auf saugfähiges Laborpapier gelegt. Der Weichkörper wird nach dem Auftauen mittels Skalpell und Pinzette quantitativ

entnommen und gewogen (ablesen auf 0,01g). Danach werden die inzwischen abgetrockneten Schalen ebenfalls gewogen (ablesen auf 0,01),.

Die Zeit bis zum vollständigen Auftauen ist von der Größe und Form der Muscheln sowie von der Umgebungstemperatur abhängig. Bei einer Raumtemperatur von 20-22°C wurden in Abhängigkeit von der Größe und Form der Muscheln die folgenden Auftauzeiten in Relation zur Schalenbreite ermittelt (Tab. 1).

Tab. 1: Auftauzeiten nach Muschelgröße

Schalenbreite	Auftauzeit
unter 9 mm	25 min
9-<11 mm	35 min
11-<14 mm	45 min
14-<18 mm	55 min
18-<21 mm	65 min
21-<24 mm	75 min
24-<28 mm	85 min
<28 mm	95 min

8 Literatur

- ASMUS, H. (1987): Secondary production of an intertidal mussel bed community related to its storage and turnover compartments. *Mar Ecol Prog Ser* 39:251-261.
- BACKHAUS, F. & SCHLADOT, J.D. (1993): Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung: Miesmuschel (*Mytilus edulis*). In: UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.): Umweltprobenbank des Bundes – Verfahrensrichtlinien für Probenahme, Transport, Lagerung und chemische Charakterisierung von Umwelt- und Human-Organproben. Erich Schmidt
- CHERNOVA, E.N. (2010): Changes in trace metal concentrations in the tissues of the White Sea mussel *Mytilus edulis* over the reproductive cycle. *Russian Journal of Marine Biology*, 36 (1), 63-69.
- DAGUIN, C.; BONHOMME, F. & BORSA, P. (2001): The zone of sympatry and hybridization of *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*, as described by intron length polymorphism at locus mac-1. *Heredity* 86: 342-354.
- DAVID, A.; GOMEZ, E.; AIT-AISSA, S.; BACHELOT, M.; ROSAIN, D.; CASELLAS, C. & FENET, H. (2010): Monitoring organic contaminants in small French coastal lagoons: comparison of levels in mussel, passive sampler and sediment. *Journal of Environmental Monitoring*, 12 (7), 1471-1481.

- DE JONG, F., BAKKER, J.F., VAN BERKEL, C.J.M., DANKERS, N.M.J.A., DAHL, K., GÄTJE, C., MARENCIC, H. & POTEL, P. (1999): Wadden Sea Quality Status Report. Wadden Sea Ecosystem No. 9. Common Wadden Sea Secretariat, Trilateral Monitoring and Assessment Group, Quality Status Report Group. Wilhelmshaven, Germany
- ERNST, W. (1982): Tiere als Monitororganismen für organische Schadstoffe. *Decheniana Beihefte* 26:55-66.
- Farrington, J.W., E.D. Goldberg, R.W. Risebrough, J.H. Martin, V.T. Bowen (1983): U.S. "Mussel Watch" 1976-1978. *Eur Sc Tech* 17: 490-496.
- FARRINGTON, J.W.; DAVIS, A.C.; TRIPP, B.W.; PHELPS, D.K.; GALLOWAY, W.B. (1987): Mussel watch – measurements of chemical pollutants in bivalves as one indicator of coastal environmental quality. In: E.P. BOYLE (ed.), *New Approaches to Monitoring Aquatic Ecosystems*, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, 125-139.
- FOWLER, S.W. (1979): Use of Macroalgae as a Reference Material for Pollutant Monitoring and Specimen Banking. In: LÜPKE, N.-P. (ED.), *Monitoring Environmental Materials and Specimen Banking*, Martinus Nijhoff Publishers, The Hague/Boston.
- Goldberg, E.D.; Bowen, V.T.; Farrington, J.W.; Risebrough, R.W.; Robertson, W.; Schneider, E.; Gamble, E. (1978): The Mussel Watch, *Environ. Conserv.* 5: 101-125.
- GREEN, N., BJEERKENG, B., HYLLELAND, K., RUUS, A., & RYGG, B. (2003). Hazardous substances in the European marine environment: Trends in metals and persistent organic pollutants (pp. 6–60). Copenhagen: European Environment Agency.
- HILBISH, T.J.; CARSON, E.W.; PLANTE, J.R.; WEAVER, L.A. & GILG, M.R. (2002): Distribution of *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*, and their hybrids in open-coast populations of mussels in southwestern England. *Marine Biology* 140: 137-142.
- JONES, S.J.; LIMA, F.P. & WETHEY, D.S. (2010): Rising environmental temperatures and biogeography: poleward range contraction of the blue mussel, *Mytilus edulis* L., in the western Atlantic. *Journal of Biogeography*, 37 (12), 2243-2259.
- KOCHMANN, J.; BUSCHBAUM, C.; VOLKENBORN, N. & REISE, K. (2008): Shift from native mussels to alien oysters: Differential effects of ecosystem engineers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 364 (1), 1-10.
- LOBEL, P.B., BAJDIK, C.D., BELKHODE, S.P., JACKSON, S.E. & LONGERICH, H.P. (1991): Improved protocol for collecting mussel watch specimens taking into account sex, size, condition, shell shape, and chronological age. *Arch. Environ. Contam. Tox.*
- MILLAT, G.; BORCHARDT, T.; HERLYN, M. & ADOLPH, W. (2009): Die Entwicklung des eulitoralen Miesmuschelbestandes (*Mytilus edulis*) in den deutschen Wattgebieten. *Meeresumwelt Aktuell Nord- und Ostsee*, 2009/5, 1-7.
- NEHLS, G. & THIEL, M. (1993): Large-scale distribution patterns of the mussel *Mytilus edulis* in the Wadden Sea of Schleswig-Holstein: Do storms structure the ecosystem? *Neth J Sea Res* 31, 181-187
- NEHLS, G. & SACH, G. (2000): Miesmuschelmonitoring – Die Miesmuschelgemeinschaft. In: Landesamt für den Nationalpark Schleswig-Holsteinisches Wattenmeer (Hrsg.): *Wattenmeermonitoring 1999. Schriftenreihe des Nationalparks Schleswig-Holsteinisches Wattenmeer*. Tönning. S. 9-11.
- NEHLS, G. (2000): Anatol holte Muscheln – Einfluss eines Orkans auf Muschelbänke im Nationalpark Schleswig-Holsteinisches Wattenmeer. *Wattenmeermonitoring 2000*. S. 18-20.
- NEHLS, G.; HERZLER, I. & SCHEIFFAHR, I. (1997): Stable mussel beds in the Wadden Sea – they are just for the birds. *Helgol Meeresunters* 51: 361-372.
- NELSON, W.G.; BERGEN, B.J.; COBB, D.J. (1995): Comparison of PCB and trace metal bioaccumulation in the Blue Mussel, *Mytilus edulis*, and the Ribbed Mussel, *Modiolus demissus*, in new Bedford harbor, Massachusetts, *Environ Toxicol Chem* 14: 513-521.
- PALMIERI, J.; LIVINGSTON, H.; FARRINGTON, J.W. (1984): U.S. "Mussel Watch" programm. Woods Hole Oceanog. Inst., Tech. Report WHOI 84.
- PHILLIPS, D.J.H. (1976): The Common Mussel *Mytilus edulis* as an indicator of pollution by zinc, cadmium, lead and copper. *Mar Biol* 38:59-70.
- PHILLIPS, D.J.H. (1977): Use of Biological Indicator Organisms to Monitor Trace Metal Pollution in Marine and Estuarine Environments – a Review. *Environ Pollut* 13: 281-317.
- PHILLIPS, J.H., RAINBOW, P.S. (1993): *Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants*. Elsevier Science Publ., London.
- PRZYTARSKA, J.E.; SOKOŁOWSKI, A.; WOŁOWICZ, M.; HUMMEL, H. & JANSEN, J. (2010): Comparison of trace metal bioavailabilities in European coastal waters using mussels from *Mytilus edulis* complex as biomonitors. *Environmental Monitoring and Assessment*, 166 (1-4), 461-476.
- QUACK, M. & KOSUCH, J. (2005): Morphologische und genetische Untersuchungen an den Probenarten Miesmuschel (*Mytilus edulis*) und Blasenentang (*Fucus vesiculosus*) unter besonderer Berücksichtigung von Hybridisierungseffekten. Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben im Auftrag des Umweltbundesamtes, Dessau. 171 Seiten.
- RAWSON, P.D. & HILBISH, T.J. (1998): Asymmetric introgression of mitochondrial DNA among European populations of blue mussels (*Mytilus spp.*). *Evolution* 52(1): 100-108.
- RAYMOND, M.; VÄÄNTÖ, R.L.; THOMAS, F.; ROUSSET, F.; DE MEEÛS, T. & RENAUD, F. (1997): Heterozygote deficiency in the mussel *Mytilus edulis* species complex revisited. *Marine Ecology Progress Series* 156: 225-237.

- REISE, K. (1998): Pazific oysters invade mussel beds in the European Wadden Seaa. *Senckenbergiana marit.* 28: 167-175.
- RUTH, M. (1997): Untersuchungen zur Biologie und Fischerei von Miesmuscheln im Nationalpark Schleswig-Holsteinisches Wattenmeer. UBA-Texte 73/97, Berlin.
- SAAVEDRA, Y.; GONZALEZ, A. & BLANCO, J. (2009): Inter-individual distribution of metal concentrations in four marine bioindicator organisms and its use for optimal sampling design of a monitoring system. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 89 (8-12), 559-568..
- SCHLADOT, J.D. & BACKHAUS, F.W. (1992): The Common Mussel (*Mytilus edulis*) as a Marine Bioindicator for the Environmental Specimen Bank of the Federal Republic of Germany. In: M. ROSSBACH, J.D. SCHLADOT, P. OSTAPCZUK (EDS), *Specimen Banking Environmental Monitoring and Modern Analytical Approaches*, Springer, Berlin-Heidelberg-New York. S. 75-87.
- SCHULZ-BALDES, M. (1982): Tiere als Monitororganismen für Schwermetalle im Meer. *Decheviana Beihefte* 26:43-54.
- SEED, R. (1976): Ecology. In: B.L. BAYNE (ed.), *Marine mussels: their ecology and physiology*, Cambridge University Press, 13-24.
- SEED, R. (1992): Systematics evolution and distribution of mussels belonging to the genus *Mytilus* - an overview. *American Malacological Bulletin* 9: 123-137.
- SEED, R. (1995): Speciation and geographical distribution within the genus *Mytilus*. *Bulletin of the Malacological Society of London*, Band 24/4.
- SUNILA, I. (1987): Histopathological Effects of Environmental pollutants on the common mussel *Mytilus edulis* (Baltic Sea). Ph.D. Thesis, University of Helsinki.
- THEEDE, H. & SCHOLZ, N. (1982): Anreicherung und Schadwirkung von Cadmium bei Meerestieren. *Naturwiss Rundsch* 35: 286-292.
- TRILATERAL MONITORING AND ASSESSMENT GROUP (1997): TMAP Manual. The Trilateral Monitoring and Assessment Program. Common Wadden Sea Secreteriat, Wilhelmshaven.
- VUORINEN, I.; LATHONEN, P.; LIETZEN, E. (1986): Distribution and abundance of invertebrates causing fouling in power plants on the Finish coast. *Memoranda Soc. Fauna Flora Fennica* 62: 123-125.
- WESTERBOM, M.; KILPI, M. & MUSTONEN, O. (2002): Blue mussels, *Mytilus edulis*, at the edge of the range: population structure, growth and biomass along a salinity gradient in the north-eastern Baltic Sea. *Marine Biology* 140: 991-999.

Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme

Probenart:	Miesmuschel (<i>Mytilus edulis</i>)
Zielkompartimente:	Weichkörper (tiefgefroren präpariert, incl. Atemwasser)
Probenindividuen:	Absammeln nach der im gebietsbezogenen Probenahmeplan festgelegten Größenklasse von 6 x 120 Muscheln für den Gebietsausschnitt Jadebusen und 6 x 80 Muscheln für den Gebietsausschnitt Sylt-Römö-Watt, sowie Dredgenfang von 2 x 4 kg Muscheln für den Gebietsausschnitt Halbinsel Fischland Darß .Zusätzlich je 50 Muscheln zur biometrischen Probencharakterisierung.
Stichprobenumfang:	6 mal 500 g oder 2 mal 1.500 g Muschelweichkörper.
Probenmenge für die UPB:	Für eine Probenmenge von 2.220 g Weichkörpergewicht ist die Entnahme ca. 450 - 500 Muscheln nötig.
Probenahmezeitraum:	bei 6 Probenahmeterminen alle 2 Monate von Februar bis Dezember, bei 2 Probenahmeterminen im Juni und November.
Probenahmehäufigkeit:	2 bzw. 6 Probenahmen pro Jahr als Jahresmischprobe.
Erforderliche Ausrüstung für die Geländearbeit:	<ul style="list-style-type: none"> • Probendatenblätter zur Dokumentation während der Probennahme (Entnahmestelle, Probenahmemethode und Lagerung, Probenbeschreibung Miesmuschel), • Edelstahlkörbe zum Sammeln der Muscheln, • Edelstahlbehälter mit Deckel und Klammer, • wasserfester Markierungsstift zur Beschriftung der Edelstahlgefäße, • Waage (Messbereich bis mindestens 4 kg, ablesen auf 1g), • Messlehre für Mindestgröße, • Kamera zur Dokumentation, • Transportdewar mit Flüssigstickstoff zum transportieren der Proben in der Gasphase über Flüssigstickstoff (LIN), • Schutzkleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff, • angepasste Kleidung für die Probenahme (z.B.. Watstiefel).
Probenverpackung bis zur -aufarbeitung:	<ul style="list-style-type: none"> • Edelstahlbehälter mit Deckel und Klammer.
Probentransport und -zwischenlagerung	Kühlvorrichtungen zum raschen Tiefkühlen und Lagern und Transport der Proben in der Gasphase über flüssigem Stickstoff (LIN).
Erforderliche Ausrüstung für die Laborarbeit:	<ul style="list-style-type: none"> • Reinluftarbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung, • Pinzetten, Austernmesser und Spatel aus Edelstahl, • Edelstahlgefäße mit Deckel und Klammer, • Isolierhüllen, • Flüssigstickstoff, • Waage (Messbereich bis mind. 4 kg, ablesen auf 1 g) • Waage (ablesen auf 0,01g) • .Schutzkleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff,

	<ul style="list-style-type: none"> • Probandenblatt • Waage (ablesen auf 0,01g), • Schieblehre (ablesen auf 0,1mm), • Wiegeschale, • saugfähiges Laborpapier, • Schutzkleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff, • Pinzetten, Skalpelle, Austernmesser und Spatel aus Edelstahl.
<p>Biometrische Probencharakterisierung:</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Messungen an 50 Muscheln: • die Schalenlänge [ablesen auf 0,1 mm], • die Schalenbreite [ablesen auf 0,1 mm], • die Schalenhöhe [ablesen auf 1 mm], • das Schalengewicht [ablesen auf 0,01 g], • das Weichkörpergewicht [ablesen auf 0,01g].

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 1: Entnahmestelle Miesmuschel (*Mytilus edulis*)

Identifikation:

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

Entnahmestelle: ___

Gauß-Krüger-Koordinaten:

Rechtswert: _____ Hochwert: _____

Datum: _____ Ellipsoid: _____

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

Wasserpflanzen vorhanden: Nein Ja Falls ja, Deckungsgrad: ___ %

Bemerkung: _____

Bearbeiter: _____

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 2: Probenahmemethode, Probenbeschreibung und Lagerung Miesmuschel (*Mytilus edulis*)

Identifikation:

_____ / X / _____ / _____ / _____

von: _____ Datum der Probenahme bis: _____

Beginn: _____ Uhrzeit: _____ Ende: _____

Substratbeschreibung

Substrattyp:	Beschreibung der Struktur und Art	Substrattyp:	Beschreibung der Struktur und Art
<input type="checkbox"/> Buhne	_____	<input type="checkbox"/> Sand	_____
<input type="checkbox"/> Steine	_____	<input type="checkbox"/> Muschelbank	_____
<input type="checkbox"/> Kies	_____	<input type="checkbox"/> Sonstige	_____

Probenahmetechnik

Sammeln von Hand

Sammeln mit Dredge

Sonstige: _____

Probenbeschreibung

Verunreinigungen der Muscheln durch:

	Beschreibung der Struktur und Art		Beschreibung der Struktur und Art
<input type="checkbox"/> Sediment	_____	<input type="checkbox"/> Sonstige:	_____

Aufwuchs:

Seepocken	<input type="checkbox"/> vereinzelt	<input type="checkbox"/> mittel	<input type="checkbox"/> viel
_____	<input type="checkbox"/> vereinzelt	<input type="checkbox"/> mittel	<input type="checkbox"/> viel

Lagerung

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

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 3.1: Biometrie

Miesmuschel (*Mytilus edulis*)

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					
26					
27					
28					

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 3.2: Biometrie

Miesmuschel (*Mytilus edulis*)

Identifikation:

____ / X / ____ / ____ / ____

Nr.	Länge ____, ____ mm	Breite ____, ____ mm	Höhe ____, ____ mm	Schalengewicht ____, ____ g	Weichkörpergewicht ____, ____ g
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					
44					
45					
46					
47					
48					
49					
50					

Bearbeitungsstand:

von Nr. --	bis Nr. --	Datum --.--.--	Namen	Unterschrift

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probennahmeprotokoll Miesmuschel (*Mytilus edulis*)

Probenahmegebiet: _____ Identifikation: _____

Zugrundeliegende Fassung der Probenahmerichtlinie _____ . _____ . _____

Zugrundeliegende Fassung des Probenahmeplanes _____ . _____ . _____

1. Ziel der Probenahme: _____

2. Tatsächlicher Probenahmezeitraum:

Datum	Uhrzeit		Proben Nr.		Bemerkungen
	von	bis	von	bis	

3. Teilnehmer: Leitung/Protokoll _____
Beteiligte _____

4. Checkliste zum Probenahmeplan und zur Probenahmerichtlinie: eingehalten

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> 4.1 Probenahmezeitraum | <input type="checkbox"/> 4.6 Probenahmetechnik/Fangmethode |
| <input type="checkbox"/> 4.2 Probenahmefläche und Entnahmestelle (Auswahl/Abgrenzung) | <input type="checkbox"/> 4.7 Probenmenge |
| <input type="checkbox"/> 4.3 Auswahl der Probenindividuen | <input type="checkbox"/> 4.8 Datenerhebung |
| <input type="checkbox"/> 4.4 Technische Vorbereitungen | <input type="checkbox"/> 4.9. Transport und Zwischenlagerung |
| <input type="checkbox"/> 4.5 Reinigungsvorschriften für Verpackungen | |

Nummer, Art und Grund der Abweichung als Klartext:

Bemerkungen: _____

Protokollführer

Datum

Unterschrift