

Miesmuschel (*Mytilus edulis*-Komplex)

Martin Paulus, Roland Klein, Diana Teubner

Universität Trier, FB VI – Biogeographie
Universitätsring 15, 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 Probenahme­flächen | 4 |
| 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 | 8 |

Anhang: Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme

Probendatenblätter

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

Stand: März 2018, V 2.1.0

1 Umweltprobenbank des Bundes

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) ist ein Instrument der Umweltbeobachtung des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit (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.

Grundlage des Betriebs der UPB sind spezifische Verfahrensrichtlinien sowie die Konzeptionen der UPB (Umweltbundesamt 2008, 2014).

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.

Die vorliegende Richtlinie stellt die Fortschreibung der Fassung von Wagner *et al.* 2011 dar.

Der Transport und die weiterführende Probenbearbeitung, die Lagerung sowie die chemische Charakterisierung hat nach den gültigen Richtlinien der UPB zu erfolgen.

3 Funktion der Probenart

Die Gemeine Miesmuschel *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758) besiedelt Hartstrukturen an marinen Gezeitenküsten der Nordsee und des Nordatlantiks, oft in großer Dichte und mit hoher Biomasse. Sie repräsentiert in marinen Küsten-Ökosystemen gemeinsam mit ihren verwandten Arten die Stufe der Konsumenten erster Ordnung, die in limnischen Ökosystemen von der Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*) vertreten wird (Binelli *et al.* 2015).

Miesmuscheln (Familie Mytilidae) ernähren sich durch die Filtration von Plankton und Detritus aus dem Meerwasser und gehören damit zu den sessilen marinen Organismen, die eine breit gefächerte Palette von organischen und anorganischen Stoffen in gelöster, aber auch in partikulärer Form aus dem sie umgebenden Meerwasser aufnehmen und ggf. akkumulieren. Aktuelle Untersuchungen weisen darauf hin, dass Miesmuscheln auch Mikroplastikpartikel aufnehmen und teilweise inkorporieren sowie die an den Kunststoffen akkumulierten Schadstoffe in ihrem Weichkörper anreichern (Avio *et al.* 2015, van Cauwenberghe *et al.* 2015).

Miesmuscheln eignen sich daher zum Nachweis der Bioverfügbarkeit von Substanzen aus der marinen Umwelt (Sondergaard *et al.* 2014) und werden in vielen nationalen und internationalen Programmen zur marinen Umweltbeobachtung eingesetzt, z.B. International Corporation for the Exploration of the Seas (ICES) (Davies und Vethaak 2012), Mussel Watch (Farrington *et al.* 1987, Seranico *et al.* 1995), Arctic Monitoring and Assessment Program (AMAP) (Christensen *et al.* 2002, Riget *et al.* 2010) und Prestige Oil Spill Biomonitoring (Marigomez *et al.* 2013). Neben der Akkumulation von Stoffen werden an Miesmuscheln auch biologische Effekte der Belastung mariner Ökosysteme anhand verschiedener Biomarker untersucht (Brooks *et al.* 2011, Li *et al.* 2013, Suarez-Ulloa *et al.* 2013, Lehtonen *et al.* 2014).

Als Teil der menschlichen Nahrung werden Miesmuscheln weltweit auf ihre Gehalte verschiedener Stoffgruppen überwacht (z.B. Pharmazeutika (Ericson *et al.* 2010, Quinn *et al.* 2015), Radionuklide (Kilic *et al.* 2014, Bode *et al.* 2015) und POPs

(Widdows *et al.* 1995, Webster *et al.* 2003, 2009, Dondero *et al.* 2006).

Folgende Merkmale zeichnen die Miesmuschel für ihre besondere Eignung als Monitoringorganismus aus (s. auch Einsporn *et al.* 2009, Brooks *et al.* 2015):

- Sie besitzt eine weite Verbreitung entlang der Küstenregionen der gemäßigten Klimazonen.
- Sie tritt oft in hohen Populationsdichten und Biomassen auf.
- Durch die sessile Lebensweise der adulten Muscheln ist eine hohe Standorttreue bei mehrjähriger Lebensdauer garantiert.
- Sie akkumuliert gelöste und partikuläre Stoffe durch Filtration aus dem umgebenden Medium.
- Sie besitzt eine starke Resistenz gegenüber einer Vielzahl von Schadstoffen.
- Sie ist leicht zu manipulieren, d.h. sowohl für aktives Monitoring (Exposition mit Jungmuscheln besiedelter Substrate) als auch für Toxizitäts- und Wirkungstests geeignet.
- Miesmuscheln dienen der menschlichen Ernährung und stellen damit eine Verbindung zwischen der marinen Umwelt und dem Menschen dar.

4 Zielkompartimente

Als Probe wird der Weichkörper einschließlich des enthaltenen Atemwassers und des Darminhalts verwendet. Atemwasser und Darminhalt verbleiben als Probenbestandteile in den Muscheln, da eine Hälterung der Muscheln zur Abgabe des Atemwassers bzw. zur Darmentleerung nicht praktikabel ist und mit einem Kontaminationsrisiko für die Proben verbunden wäre.

5 Festlegungen für die Probenahme

5.1 Artbestimmung

Die in der Nord- und Ostsee einheimische Gemeine Miesmuschel (*Mytilus edulis* Linné 1758) besitzt blauschwarze, bis zu 10 cm lange und 4 cm breite Schalen, die aus zwei fast gleichen Hälften

bestehen. Die Farbgebung der Schalen variiert von dunklem blau/grau bis zu schwarz/dunkelgrau, häufig mit beige- bis goldfarbenen Zonen, beschädigte Stellen sind silbrig-weiß.

M. edulis bildet zusammen mit der u.a. in der Ostsee verbreiteten Pazifischen Miesmuschel (*Mytilus trossulus* Gould 1850) und der im Mittelmeer und an der europäischen Atlantikküste verbreiteten Adriatischen Miesmuschel (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck 1819) einen Superspezieskomplex (Gosling 1992). *M. galloprovincialis* weist eine Tendenz zur Ausbreitung nach Norden und Osten auf (Hilbish *et al.* 2012, Steinert *et al.* 2012). *M. trossulus* stammt aus dem pazifischen Raum und besiedelt u.a. die Ostsee (Zbawicka *et al.* 2014). *M. edulis* bildet Hybridzonen mit beiden Taxa (Rawson *et al.* 1996, Hilbish *et al.* 2002, Dias *et al.* 2011, Zbawicka *et al.* 2014).

M. galloprovincialis erreicht etwa die gleiche Größe wie *M. edulis*, hat jedoch meist breitere Schalen, während *M. trossulus* deutlich kleiner und meist schlanker und dünnschaliger ist. Typische Schalen der drei Taxa sind in Abb. 1 dargestellt.

Möglichkeiten zur eindeutigen Unterscheidung der drei Taxa und ihrer Hybriden im Freiland anhand äußerer schalenmorphologischer Merkmale gibt es nicht, da sowohl ihre Schalenmorphologie als auch die Farbmuster eine enorme Plastizität aufweisen und die am ehesten differenzierenden Merkmale (relative Größe der vorderen Scharnierplatte und der Adduktionsmuskelnarbe) nur nach sorgfältiger Präparation und optischer Vergrößerung zugänglich sind (Asmus 1984, Gosling 1992, Daguin *et al.* 2001, Baird 2012). Daher ist eine sichere Artansprache bei der Probenahme insbesondere bei größeren Probenmengen nicht möglich.

Da es aber Hinweise gibt, dass die drei Taxa unterschiedliche Akkumulationspotenziale aufweisen (Chernova 2010, Brooks *et al.* 2015), ist es für die Interpretation von Monitoringergebnissen wichtig, die genetische Struktur der Miesmuschelbestände zu berücksichtigen, von denen Proben entnommen werden.

Untersuchungen an den UPB-Probenahmeflächen haben ergeben, dass es sich bei den Miesmuschelbeständen in der Nordsee um reine *M. edulis* handelt. Das Screening der Ostsee-Individuen ergab erwartungsgemäß eine Durchmischung von *M.*

edulis (ca. 80%) und *M. edulis* × *M. trossulus*-Hybriden (ca. 20%) (Quack und Kosuch 2005, Quack *et al.* 2010). Da der Superspezieskomplex viele dynamische Hybridisierungszonen aufweist, wird eine regelmäßige Überprüfung der taxonomischen Zugehörigkeit zu beprobender Populationen empfohlen.



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

5.2 Auswahl und Abgrenzung der Probenahme­flächen

Da die Probenahme­flächen repräsentativ für das Ökosystem sein müssen, ist die unmittelbare Nähe zu lokalen Quellen chemischer Substanzen zu meiden. Werden *Mytilus*-Bestände auf künstlichen Substraten ausgewählt, ist des Weiteren darauf zu achten, dass durch die Substratbeschaffenheit keine Kontamination erfolgen kann. Substrattyp, Lage und Zustand der Probenahme­flächen sowie eventuelle Veränderungen sind in den Probenda­tenblättern zu dokumentieren.

Die Auswahl der Probenahme­flächen ist in erster Linie durch das Vorkommen und die Erreichbarkeit ausreichend großer und langfristig möglichst stabiler natürlicher Muschel­vorkommen bestimmt. Bei der Auswahl sind laufende und frühere Kartierungen und Beobachtungen heranzuziehen, um die

Wahrscheinlichkeit langfristiger Stabilität der zu beprobenden Bestände zu erhöhen (Common Wadden Sea Secretariat 2008, Dolch und Reise 2010).

Die Miesmuschelbestände sind einer hohen zeitlichen und räumlichen Dynamik ausgesetzt, die insbesondere im Sublitoral des Wattenmeers wirksam ist (Nehls und Thiel 1993, Nehls und Sach 2000, Millat *et al.* 2009, Dolch und Reise 2010, Büttger *et al.* 2011, Nehls *et al.* 2011). Insbesondere die starke Ausbreitung der Pazifischen Auster (*Crassostrea gigas*) hat zu starken Rückgängen der Miesmuschelbestände und zur Reduktion der Wachstumsraten beigetragen (Reise 1998, Diederich *et al.* 2005). Von einer generellen Gefährdung der Miesmuschelbestände im Wattenmeer ist derzeit allerdings nicht auszugehen (Kochmann *et al.* 2008, Markert *et al.* 2010, Troost 2010, Eschweiler und Christensen 2011, Millat *et al.* 2012, Bray *et al.* 2015).

5.3 Auswahl der Individuen und Stichprobengröße

Ein geeignetes Kriterium zur Reduzierung der natürlichen Variabilität ist die Schalenlänge der Muscheln. Aus praktischen Gründen werden relativ große Muscheln angestrebt, aus biologischen Gründen sollten adulte Muscheln ab dem 2. Lebensjahr beprobt werden.

Die für das jeweilige Gewässer entsprechende Längensklasse ist vor der Probenahme durch eine Bestandsaufnahme (Screening) für jede Probenahme­fläche zu ermitteln, da die Wuchsgeschwindigkeit der Muscheln und Altersstruktur der Bänke räumlichen und zeitlichen Schwankungen unterworfen sein können.

Für längerfristige Probenserien sind die Größen­verteilungen über mehrere Jahre zu überprüfen und die Festlegung der zu sammelnden Größen­klasse ggf. nachzuzustieren.

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

Schablone zur Prüfung der jeweiligen Mindestgröße der zu sammelnden Muscheln empfohlen.

Einen für alle Stoffe gültigen Mindeststichprobenumfang zur Feststellung von zeitlichen und räumlichen Konzentrationsunterschieden gibt es nicht. Auf der Basis von Voruntersuchungen kann für die Betrachtung eines spezifischen Stoffes der Mindeststichprobenumfang statistisch (z.B. durch Power-Analyse) geschätzt werden. Für die UPB wird unter Berücksichtigung pragmatischer Aspekte empfohlen, einen Stichprobenumfang von 50 Individuen einer definierten Größenklasse je Probenahmetermin nicht zu unterschreiten. Um eine ausreichende Menge an Probenmaterial zu gewinnen, sind ggf. höhere Stückzahlen erforderlich, die von den Individualgewichten und damit der definierten Größenklasse abhängen.

5.4 Probenahmezeitraum und -häufigkeit

Die Schadstoffkonzentration in Miesmuscheln ist von einer Vielzahl von Parametern, wie z.B. der Schadstoffkonzentration im Umgebungswasser, dem Ernährungszustand, der Jahreszeit, der Wassertemperatur und der Salinität, abhängig. Da die Entwicklung und die Freisetzung der Gameten einen entscheidenden Einfluss auf die stoffliche Zusammensetzung der Muscheln hat und die Miesmuscheln extrem variabel in ihrem Laichverhalten sind (Gosling 1992), muss der Probenahmezeitraum für jede Probenahmefläche zudem auf den jeweiligen lokalen Laichzyklus abgestimmt werden.

Wenn, wie in der Umweltprobenbank des Bundes, eine zeitlich über ein Jahr integrierende repräsentative Probe angestrebt wird, müssen aufgrund der genannten Jahresrhythmik der die Stoffgehalte beeinflussenden Parameter mehrere Probenahmen im Jahr durchgeführt werden. Wegen der großen Dynamik (Tidengang) und dem damit verbundenen ständigen Stoffaustausch gilt dies in besonderem Maße für Wattenmeerökosysteme.

Die Proben werden zu einem Jahreshomogenat mit jeweils gleichen Gewichtsanteilen vereinigt (Knopf 2012).

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,
- zu sammelnde Größenklasse,
- erforderlicher Stichprobenumfang,
- Probenahmezeitraum,
- zuständige Genehmigungsbehörden.

Hierbei ist zu berücksichtigen, wie eine langfristige Kontinuität der Probenahme gewährleistet werden kann. Bei Änderungen muss das Dokument aktualisiert werden.

6 Durchführung der Probenahme

Alle bei der Probenahme und biometrischen Probenbeschreibung erhobenen Daten sind in den entsprechenden Probendatenblättern (s. Anhang) zu vermerken. Zu jeder Probenahme ist zudem ein Protokoll mit folgendem Inhalt anzufertigen:

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

6.1 Erforderliche Ausrüstung und Reinigungsvorschriften

Für die Geländearbeit:

- Waage (Messbereich bis mindestens 5 kg, Ablesung auf 1 g),
- Schablone oder Messlehre für die Mindestgröße,
- Edelstahlrahtkörbe,
- Einmalhandschuhe,
- Edelstahlgefäße mit Deckeln und Klammern,

- Kryobehälter zum raschen Tiefkühlen und Transport der Proben in der Gasphase über Flüssigstickstoff (LIN),
- Probendatenblätter,
- Schutzbekleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff,

Für die Laborarbeit:

- Reinluftarbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung,
- Schutzbekleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff,
- Edelstahlgefäße mit Deckeln und Klammern,
- Isolierschale für 2 Edelstahlgefäße,
- Flüssigstickstoff,
- Laborwaage (Messbereich bis mind. 5 kg, Ablesung auf 1 g) zur Ermittlung der Weichkörpereinwaage,
- Laborwaage (Ablesung auf 0,01 g) zur Ermittlung biometrischer Parameter,
- Schieblehre (Ablesung auf 0,1 mm),
- saugfähiges Laborpapier,
- Pinzetten, Skalpelle mit abgerundeten Klingen, Spatel aus Edelstahl,
- Laborhandschuhe und Laborbekleidung.

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) bei Zugang vom Ufer aus von Hand, im Sublitoral durch Taucher oder Dredge. Miesmuscheln der festgelegten Größenklasse sind einzeln von Hand abzulösen, im Meerwasser abzuspülen und im Edelstahlkorb zu sammeln. Hierbei sind puderfreie Laborhandschuhe zu tragen.

Beim Einsatz von Dredgen erfolgt die Auslese nach dem Anlanden der Muscheln.

Anhaftende Teile von Pflanzen und aufsitzende Tiere werden soweit möglich von Hand entfernt, nicht aber die aus den Schalen herausragenden Byssusfäden, fest aufsitzende Seepocken u. Ä.

Das gesamte Probenmaterial wird im Edelstahl-drahtkorb mehrfach im Meerwasser gespült, um Sedimentreste zu beseitigen. Danach werden die Muscheln zum Abtropfen des Wassers aufgestellt. Anschließend wird die Probe in Edelstahlgefäße überführt und gewogen.

Die Proben werden unmittelbar nach der Entnahme in der Gasphase über flüssigem Stickstoff im Transportdewar eingefroren, um die Muscheln schnell abzutöten und veränderungsfrei zu lagern. Sofern die Muscheln aus logistischen Gründen bei ca. -20°C eingefroren und zwischengelagert werden müssen, sollte diese Zwischenlagerung vier Wochen nicht überschreiten.

Aufarbeitung im Labor

Der für die Weichkörper bestimmte Edelstahlbehälter wird vorgewogen, mit der zugehörigen Probenidentifikation gekennzeichnet und mit Flüssigstickstoff vorgekühlt.

Da das Atemwasser nur durch Auftauen der Muscheln entfernt werden könnte, was dem Einhalten einer ununterbrochenen Lagerung im tiefkalten Zustand gemäß UPB-Anforderungen widerspräche, wird der gesamte Inhalt der Muschelschalen als Probe gewonnen.

Die Trennung von Schale und Weichkörper inkl. Atemwasser geschieht im Labor an einem Reinluft-Arbeitsplatz mit Partikel- und Aktivkohlefilterung (Clean-Bench) im gefrorenen Zustand, ohne dass die Weichkörper während der Sektion auftauen. Hierfür werden jeweils drei bis vier der tiefgefrorenen Miesmuscheln vorsichtig aus dem Probengefäß gelöst und zum oberflächlichen Antauen auf die Arbeitsfläche des Reinluft-Arbeitsplatzes gelegt.

Wenn der auf den Schalen gebildete Reif zu tauen beginnt, werden die Schalen mit einer Pinzette bzw. einem Austernmesser geöffnet. Der noch fest gefrorene Weichkörper wird mit einer Pinzette ent-

nommen, mit einer zweiten Pinzette von evtl. anhängenden Schalenresten befreit und im Probengefäß gesammelt.

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

Die Weichkörperproben der einzelnen Probenahmetermine werden am Ende des Probenahmejahres unter Einhaltung der kryogenen Bedingungen mit gleichen Gewichtsanteilen zusammengeführt und homogenisiert.

7 Biometrische Probencharakterisierung

Die biometrische Probencharakterisierung wird an 50 gefrorenen Muscheln im Labor durchgeführt. Bestimmt werden Länge, Breite und Höhe der Schalen sowie das Frischgewicht der ganzen Muschel mit Atemwasser, das Frischgewicht des Weichkörpers sowie das der Schale.

Da die Bestimmung des Weichkörper-Frischgewichtes eingefrorener Muscheln erheblichen Fehlerrisiken unterliegt, muss zur Vermeidung systematischer und zur Minimierung zufälliger Fehler eine genaue Standardisierung des Bestimmungsverfahrens eingehalten werden, wie im Folgenden beschrieben:

Zur Bestimmung des Frischgewichts mit Atemwasser werden die Muscheln nach der Entnahme aus dem Probenbehälter im gefrorenen Zustand von aufsitzenden Seepocken u. ä. gereinigt. Sobald die bereifte Oberfläche antaut und feucht wird, wird die Muschel mit saugfähigem Laborpapier abgewischt und sofort gewogen (ablesen 0,01 g).

Nach der Bestimmung des Frischgewichts mit Atemwasser werden die Muscheln einzeln auf saugfähigem Laborpapier auf fortlaufend nummerierten Plätzen ausgelegt. Dabei wird der Beginn der Auftauzeit (= Entnahme der Muschel aus dem gekühlten Probengefäß) festgehalten, um für jede Muschel die nach ihrem Frischgewicht ermittelte Auftauzeit einhalten zu können. Anschließend werden Länge, Breite und Höhe der Schalen mittels einer Schiebleere gemessen (ablesen auf 0,1 mm) und im Probendatenblatt 3 erfasst. Zum Auftauen

werden die Muscheln mit der Bauchseite nach unten auf das Papier gelegt.

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

Die Auftauzeit ist von der Größe der Muschel sowie von der Umgebungstemperatur abhängig. Sie ist zu dem Zeitpunkt erreicht, an dem die rasche Gewichtsabnahme durch Auslaufen des aufgetauten Atemwassers in eine wesentlich langsamere Gewichtsabnahme übergeht, die durch Verdunstung des Gewebewassers verursacht wird.

Wenn sich die Schalen geöffnet haben, werden die Muscheln mehrfach gedreht, damit das enthaltene Wasser vollständig auslaufen kann. Bei einer Raumtemperatur von 20 – 22°C wurden folgende Auftauzeiten in Relation zum Frischgewicht mit Atemwasser ermittelt (Tab. 1).

Tab. 1: Auftaudauer in Abhängigkeit vom Frischgewicht mit Atemwasser für die Bestimmung des Weichkörpergewichts

| Frischgewicht mit Atemwasser [g] | Auftauzeit [min] | Frischgewicht mit Atemwasser [g] | Auftauzeit [min] |
|----------------------------------|------------------|----------------------------------|------------------|
| 5,0 | 56 | 20 | 83 |
| 7,5 | 64 | 25 | 86 |
| 10 | 69 | 30 | 92 |
| 12,5 | 73 | 35 | 95 |
| 15 | 77 | 40 | 99 |
| 17,5 | 80 | | |

Nach der Auftauzeit von 56 bis 99 Minuten (Tab. 1) wird das oben definierte Weichkörpergewicht bestimmt. Hierzu wird der Weichkörper nach dem Auftauen mittels Skalpell und Pinzette entnommen, quantitativ in einer vorgewogenen Schale aufgefangen und zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten sofort gewogen (abtropfendes Wasser wird entfernt, ablesen auf 0,01 g). Danach wird die Schale ebenfalls gewogen (ablesen auf 0,01 g).

Es ist zu beachten, dass in den gelagerten Muschelproben, die für die chemische Charakterisierung bereitgestellt werden, das Atemwasser enthalten ist. Deshalb sind die Konzentrationen von Inhaltsstoffen der UPB-Proben gegenüber den in

anderen Untersuchungen oft im frischen Zustand seziierten Muscheln je nach Probenahmeffläche etwa um den Faktor 2,4 bis 3 verdünnt.

8 Literatur

- Asmus H. (1984): Freilanduntersuchungen zur Sekundärproduktion und Respiration benthischer Gemeinschaften im Wattenmeer der Nordsee. Kiel C.-A.-U. (Hrsg.), *Berichte aus dem Institut für Meereskunde*, Biologische Anstalt Helgoland, List/Sylt
- Avio C.G., Gorbi S., Milan M., Benedetti M., Fattorini D., d'Errico G., Pauletto M., Bargelloni L. und Regoli F. (2015): Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Pollution*, 198, 211-222
- Baird D. (2012): Assessment of observed and perceived changes in ecosystems over time, with special reference to the Sylt-Romo Bight, German Wadden Sea. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 108, 144-154
- Binelli A., Della Torre C., Magni S. und Parolini M. (2015): Does zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) represent the freshwater counterpart of *Mytilus* in ecotoxicological studies? A critical review. *Environmental Pollution*, 196, 386-403
- Bode K.T., Bylyku E., Xhixha G., Daci B. und Fishka K. (2015): Determination of activity concentration of ^{210}Po in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Butrinti Lagoon, Albanian Ionian coast. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 304(3), 1353-1358
- Bray D.J., Green I., Golicher D. und Herbert R.J.H. (2015): Spatial variation of trace metals within intertidal beds of native mussels (*Mytilus edulis*) and non-native Pacific oysters (*Crassostrea gigas*): implications for the food web? *Hydrobiologia*, 757(1), 235-249
- Brooks S., Harman C., Zaldibar B., Izagirre U., Glette T. und Marigomez I. (2011): Integrated biomarker assessment of the effects exerted by treated produced water from an onshore natural gas processing plant in the North Sea on the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Pollution Bulletin*, 62(2), 327-339
- Brooks S.J., Farnen E., Heier L.S., Blanco-Rayon E. und Izagirre U. (2015): Differences in copper bioaccumulation and biological responses in three *Mytilus* species. *Aquatic Toxicology*, 160, 1-12
- Büttger H., Nehls G. und Witte S. (2011): High mortality of Pacific oysters in a cold winter in the North-Frisian Wadden Sea. *Helgoland Marine Research*, 65(4), 525-532
- 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
- Christensen J.H., Glasius M., Pecseli M., Platz J. und Pritzl G. (2002): Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in marine fish and blue mussels from southern Greenland. *Chemosphere*, 47(6), 631-638
- Common Wadden Sea Secretariat (2008): TMAP Handbook - TMAP guidelines for an integrated Wadden Sea monitoring, Version 0.9, May 2008. Common Wadden Sea Secretariat, Wilhelmshaven
- Daguin C., Bonhomme F. und P. B. (2001): Mosaicism in the European zone of sympatry and hybridization of *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*, as revealed by intron length polymorphism at locus mac-1. *Heredity*, 86, 342-354
- Davies I.M. und Vethaak A.D. (2012): Integrated marine environmental monitoring of chemicals and their effects. Anderson E.D. (Hrsg.), *ICES Cooperative Research Report*
- Dias P.J., Piertney S.B., Snow M. und Davies I.M. (2011): Survey and management of mussel *Mytilus* species in Scotland. *Hydrobiologia*, 670(1), 127-140
- Diederich S., Nehls G., van Beusekom J.E.E. und Reise K. (2005): Introduced Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in the northern Wadden Sea: invasion accelerated by warm summers? *Helgoland Marine Research*, 59, 97-106
- Dolch T. und Reise K. (2010): Long-term displacement of intertidal seagrass and mussel beds by expanding large sandy bedforms in the northern Wadden Sea. *Journal of Sea Research*, 63(2), 93-101
- Dondero F., Dagnino A., Jonsson H., Capri F., Gastaldi L. und Viarengo A. (2006): Assessing the occurrence of a stress syndrome in mussels (*Mytilus edulis*) using a combined biomarker/gene expression approach. *Aquatic Toxicology*, 78, 13-24
- Einsporn S., Bressling J. und Koehler A. (2009): Cellular localization of lead using an antibody-based detection system and enzyme activity changes in the gills and digestive gland of the Blue Mussel *Mytilus edulis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(2), 402-408
- Ericson H., Thorsen G. und Kumblad L. (2010): Physiological effects of diclofenac, ibuprofen and propranolol on Baltic Sea blue mussels. *Aquatic Toxicology*, 99(2), 223-231
- Eschweiler N. und Christensen H.T. (2011): Trade-off between increased survival and reduced growth for blue mussels living on Pacific oyster reefs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 403(1-2), 90-95
- Farrington J.W., Davis A.C., Tripp B.W., Phelps D.K. und Galloway W.B. (1987): "Mussel Watch" - Measurements of chemical pollutants in Bivalves as one indicator of coastal environmental quality. In: Boyle T.P. (Hrsg.): *New approaches to monitoring aquatic ecosystems*, S. 125-139. American Society for Testing Materials, Philadelphia
- Gosling E. (Hrsg.) (1992): The mussel *Mytilus*: Ecology, physiology, genetics and culture. *Developments in Aquaculture and Fisheries Sciences*. Elsevier, Amsterdam London New York Tokyo, 589 Seiten

- Hilbish T.J., Carson H.L., Plante J.R., Weaver L.A. und 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
- Hilbish T.J., Lima F.P., Brannock P.M., Fly E.K., Rognstad R.L. und Wetthey D.S. (2012): Change and stasis in marine hybrid zones in response to climate warming. *Journal of Biogeography*, 39(4), 676-687
- Kilic O., Belivermis M., Gozel F. und Carvalho F.P. (2014): Radioactivity levels in mussels and sediments of the Golden Horn by the Bosphorus Strait, Marmara Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 86(1-2), 555-561
- Knopf B. (2012): Literaturrecherche zur saisonalen Abhängigkeit der Konzentration von Metallen in Ulvophyceae, Phaeophyceae und Mollusken. Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (IME) - Bereich Angewandte Oekologie, Schmalleben
- Kochmann J., Buschbaum C., Volkenborn N. und 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
- Lehtonen K.K., Sundelin B., Lang T. und Strand J. (2014): Development of tools for integrated monitoring and assessment of hazardous substances and their biological effects in the Baltic Sea. *Ambio*, 43(1), 69-81
- Li Q., Zhao X., Kong L. und Yu H. (2013): Transcriptomic response to stress in marine bivalves. *Isj-Invertebrate Survival Journal*, 10(1), 84-93
- Marigomez I., Garmendia L., Soto M., Orbea A., Izagirre U. und Cajaraville M.P. (2013): Marine ecosystem health status assessment through integrative biomarker indices: a comparative study after the Prestige oil spill "Mussel Watch". *Ecotoxicology*, 22(3), 486-505
- Markert A., Wehrmann A. und Kroncke I. (2010): Recently established Crassostrea-reefs versus native Mytilus-beds: differences in ecosystem engineering affects the macrofaunal communities (Wadden Sea of Lower Saxony, southern German Bight). *Biological Invasions*, 12(1), 15-32
- Millat G., Borchardt T., Herlyn M. und Adolph W. (2009): Die Entwicklung des eulitoral Miesmuschelbestandes (*Mytilus edulis*) in den deutschen Wattgebieten. *Meeresumwelt Aktuell Nord- und Ostsee*, 2009/5, 1-7
- Millat G., Borchardt T., Bartsch I., Adolph W., Herlyn M., Reichert K., Kuhlenkamp R. und Schubert P. (2012): Die Entwicklung des eulitoral Miesmuschelbestandes (*Mytilus edulis*) in den deutschen Wattgebieten (aktualisierte Fassung des Berichts 2009 / 5). *Meeresumwelt Aktuell Nord- und Ostsee*, 2012/2, 1-12
- Nehls G. und Thiel M. (1993): Large-scale distribution patterns of the mussel *Mytilus edulis* in the wadden sea of Schleswig-Holstein - do storms structure the ecosystems? *Netherlands Journal of Sea Research*, 31(2), 181-187
- Nehls G. und Sach G. (2000): Miesmuschelmonitoring – die Miesmuschelgemeinschaft. In: Landesamt für den Nationalpark Schleswig-Holsteinisches Wattenmeer (Hrsg.): *Wattenmeermonitoring 1999. Schriftenreihe des Nationalparks Schleswig-Holsteinisches Wattenmeer*, Sonderheft, S. 9-11. Westholsteinische Verlagsanstalt, Heide
- Nehls G., Büttger H. und Ruth M. (2011): Miesmuschelmonitoring und Miesmuschelmanagement im Nationalpark "Schleswig-Holsteinisches Wattenmeer" - Berichtszeitraum 1997-2009. Landesbetrieb für Küstenschutz, Nationalpark und Meeresschutz, Schleswig-Holstein, Husum
- Quack M. und Kosuch J. (2005): Morphologische und genetische Untersuchungen an den Probenarten Miesmuschel (*Mytilus edulis*) und Blasentang (*Fucus vesiculosus*) unter besonderer Berücksichtigung von Hybridisierungseffekten. Universität Trier, FB VI - Biogeographie
- Quack M., Hochkirch A. und Veith M. (2010): Klimabedingte Allelveränderungen in ausgewählten UPB-Probenarten. Universität Trier, FB VI - Biogeographie
- Quinn B., McEneff G. und Schmidt W. (2015): Pharmaceuticals in the Irish aquatic environment: The assessment and potential human impact of exposure to pharmaceuticals on marine and freshwater bivalves. *EPA Research Report*, Environmental Protection Agency, Wexford
- Rawson P.D., Joyner K.L., Meetze K. und Hilbish T.J. (1996): Evidence for intragenic recombination within a novel genetic marker that distinguishes mussels in the *Mytilus edulis* species complex. *Heredity*, 77, 599-607
- Reise K. (1998): Pacific oyster invade mussel beds in the European wadden sea. *Senckenbergiana maritima*, 28(4/6), 167-175
- Riget F., Bignert A., Braune B., Stow J. und Wilson S. (2010): Temporal trends of legacy POPs in Arctic biota, an update. *Science of the Total Environment*, 408(15), 2874-2884
- Seranico J.L., Wade T.L., Jackson T.J., Brooks J.M., Tripp B.W., Farrington J.W., Mee L.D., Readmann J.W., Villeneuve J.-P. und Goldberg E.D. (1995): Trace organic contamination in the Americas: An overview of the US national status & trends and the International 'Mussel Watch' Programmes. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12), 214-255
- Sondergaard J., Bach L. und Gustavson K. (2014): Measuring bioavailable metals using diffusive gradients in thin films (DGT) and transplanted seaweed (*Fucus vesiculosus*), blue mussels (*Mytilus edulis*) and sea snails (*Littorina saxatilis*) suspended from monitoring buoys near a former lead-zinc mine in West Greenland. *Marine Pollution Bulletin*, 78(1-2), 102-109
- Steinert G., Huelsken T., Gerlach G. und Bininda-Emonds O.R.P. (2012): Species status and population structure of mussels (Mollusca: Bivalvia: *Mytilus* spp.) in the Wadden Sea of Lower Saxony (Germany). *Organisms Diversity & Evolution*, 12(4), 387-402

- Suarez-Ulloa V., Fernandez-Tajes J., Manfrin C., Gerdol M., Venier P. und Eirin-Lopez J.M. (2013): Bivalve omics: State of the art and potential applications for the bio-monitoring of harmful marine compounds. *Marine Drugs*, 11(11), 4370-4389
- Troost K. (2010): Causes and effects of a highly successful marine invasion: Case-study of the introduced Pacific oyster *Crassostrea gigas* in continental NW European estuaries. *Journal of Sea Research*, 64(3), 145-165
- Umweltbundesamt (Hrsg.) (2008): Umweltprobenbank des Bundes – Konzeption (Stand: Oktober 2008); www.umweltprobenbank.de
- Umweltbundesamt (Hrsg.) (2014): Umweltprobenbank des Bundes – Konzeption (Stand: Oktober 2014); www.umweltprobenbank.de
- Van Cauwenberghe L., Claessens M., Vandegehuchte M.B. und Janssen C.R. (2015): Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution*, 199, 10-17
- Wagner G., Bartel M., Klein R., Paulus M., Quack M., Tarricone K. und Teubner D. (2011): Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung - Miesmuschel (*Mytilus edulis*). www.umweltprobenbank.de.
- Webster L., McIntosh A.D., Dalgarno E.J., Megginson C., Shepherd N.J. und Moffat C.F. (2003): The polycyclic aromatic hydrocarbon composition of mussels (*Mytilus edulis*) from Scottish coastal waters. *Journal of Environmental Monitoring*, 5(1), 150-159
- Widdows J., Donkin P., Brinsley M.D., Evans S.V., Salked P.N., Franklin A., Law R.J. und Waldock M.J. (1995): Scope for growth and contaminant levels in North Sea mussels *Mytilus edulis*. *Marine Ecology Progress Series*, 127, 131-148
- Webster L., Russell M., Walsham P., Phillips L.A., Packer G., Hussy I., Scurfield J.A., Dalgarno E.J. und Moffat C.F. (2009): An assessment of persistent organic pollutants (POPs) in wild and rope grown blue mussels (*Mytilus edulis*) from Scottish coastal waters. *Journal of Environmental Monitoring*, 11(6), 1169-1184
- Zbawicka M., Wenne R. und Burzynski A. (2014): Mitogenomics of recombinant mitochondrial genomes of Baltic Sea *Mytilus* mussels. *Molecular Genetics and Genomics*, 289(6), 1275-1287

Checkliste zur Vorbereitung und Durchführung der Probenahme

| | |
|--|--|
| Probenart: | Miesmuschel (<i>Mytilus edulis</i>-Komplex) |
| Zielkompartimente: | Weichkörper, tiefgefroren präpariert inkl. Atemwasser und Darminhalt |
| Probenindividuen: | Muscheln der im gebietsbezogenen Probenahmeplan festgelegten Größenklasse |
| Stichprobenumfang: | mindestens 50 Individuen |
| Probenmenge für UPB: | für eine Probenmenge von 1.000 g Weichkörper ist die Entnahme von 6 x ca. 350 g oder 2 x ca. 1.000 g Muscheln pro Jahr erforderlich |
| 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 Probenahme: | <ul style="list-style-type: none"> • Waage (Messbereich bis mind. 5 kg, ablesen auf 1 g) • Schablone oder Messlehre für Mindestgröße • Einmalhandschuhe • Edelstahlkörbe zum Sammeln der Muscheln • Probendatenblätter • Schutzbekleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff |
| Probenverpackung: | <ul style="list-style-type: none"> • Edelstahlbehälter mit Deckeln und Klammern |
| Probentransport und -zwischenlagerung: | <ul style="list-style-type: none"> • Kryobehälter zum raschen Tiefkühlen, 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 • Schutzkleidung für den Umgang mit flüssigem Stickstoff • Edelstahlgefäße mit Deckeln und Klammern • Isolierschalen für Edelstahlgefäße mit Flüssigstickstoff • Flüssigstickstoff • Laborwaage (Messbereich bis mind. 5 kg, Ablesung auf 1 g) • Laborwaage (Ablesung auf 0,01 g) • Schieblehre (Ablesung auf 0,1 mm) • Wiegeschale • Pinzetten, Austernmesser und Skalpell aus Edelstahl • saugfähiges Laborpapier, puderfreie Laborhandschuhe • Probendatenblätter |
| Biometrische Probencharakterisierung an 50 Muscheln: | <ul style="list-style-type: none"> • Schalenlänge, -breite und -höhe (Ablesung auf 0,1 mm) • Frischgewicht mit Atemwasser (Ablesung auf 0,01 g) • Weichkörpergewicht (Ablesung auf 0,01 g) • Schalengewicht (Ablesung auf 0,01 g) |

UMWELTPROBENBANK DES BUNDES

Probendatenblatt 1: Entnahmestelle(n)

Miesmuschel (*Mytilus edulis*-Komplex)

Identifikation:

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

Probenahmefläche (Klartext) _____

Beprobte Entnahmestelle(n) (Nummer der ENS und Bezeichnung)

Anmerkungen: _____

Probenahmeleiter: _____

Notizen: _____

