

Energiestoffwechsel der Körbchenmuschel (*Corbicula fluminea*)  
bei offenen und geschlossenen Schalen und  
ihre Schalenbewegungen im Rhein

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Christian Ortmann

aus Suhl

Düsseldorf, 2003

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M.K. Grieshaber
2. Berichterstatter: Prof. Dr. C.R. Bridges

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Januar 2003

---

AOX	adsorbierbare organisch gebundene Halogene
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
cAMP	3', 5'-cyclo-Adenosinmonophosphat
chl a	Chlorophyll a
DK-Rhein	Deutsche Kommission zur Reinhaltung des Rheins
å	Dielektrizitätskonstante
FFA	Free Fatty Acids
FG	Frischgewicht
FID	Flammenionisationsdetektor
HCB	Hexachlorbenzol
IKSR	Internationale Kommission zum Schutz des Rheins
LAWA	Länderarbeitsgemeinschaft Wasser
LUA NRW	Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen
MO <sub>2</sub>	Sauerstoffverbrauch
OE	oxykalisches Äquivalent
p	statistische Irrtumswahrscheinlichkeit
PCA	Perchlorsäure
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PEP	Phosphoenolpyruvat
PEPCK	PEP-Carboxykinase
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
POS	polarographischer Sauerstoffsensoren
Q	Wärmedissipation
SCS	Succinyl-CoA-Synthetase
SD	Standardabweichung
SL	Schalenlänge
SMR	Standard Metabolische Rate
SSW	Standard-Süßwasser
ô	Zeitkonstante
TAM	Thermal activity monitor
TG	Trockengewicht
TK	Tierkammer
TOC	Gesamt organischer Kohlenstoff (total organic carbon)
WRRL	Wasserrahmenrichtlinie der EU

---

<b>1 Einleitung .....</b>	<b>6</b>
Ökosystem Rhein .....	6
Entwicklung vom mäandrierenden Fluß zur Hauptwasserstraße in Europa .....	6
Erst Abwasser dann Trinkwasser: Leben mit, vom und im Rhein.....	9
Verbreitungswege der kosmopolitischen „Asian clam“ <i>Corbicula spec.</i> ....	12
Ihre Lebensstrategien (Life History) lassen <i>C. fluminea</i> auch im Rhein dominieren.....	14
Welchen Einfluß hat der Energiestoffwechsel und das Schließverhalten von <i>C. fluminea</i> auf die typischen Merkmale des r-Strategen: schnelles Wachstum und Reproduktion? .....	16
<b>2 Material und Methoden.....</b>	<b>18</b>
2.1 Versuchstiere .....	18
2.2 Beschaffung und Hälterung der Versuchstiere.....	18
2.3 Chemikalien .....	19
2.4 Präparation der Tiere und Gewinnung der Gewebeextrakte .....	19
2.4.1 Anaerobioseinduktion durch Stickstoffbegasung.....	19
2.4.2 Entnahme aus dem Mosselmonitor® oder aus dem Kalorimeter .....	20
2.4.3 Perchlorsäureextrakte.....	20
2.5 Messung der anaeroben Metabolite.....	20
2.5.1 Succinat .....	20
2.5.2 Acetat und Propionat .....	20
2.6 Kalorespirometrie: Die simultane Bestimmung der Wärmeproduktion (Kalorimetrie) und des Sauerstoffverbrauches (Respirometrie) .....	22
2.6.1 Kalorimetrie: Wärmeabgabe als Maß für die Stoffwechselaktivität.....	22
2.6.2 Respirometrie: Sauerstoffverbrauch als Maß für die Stoffwechselaktivität (indirekte Kalorimetrie).....	25
2.6.3 Versuchsaufbau.....	26
2.6.4 Versuchsprotokoll .....	28
2.6.5 Datenaufzeichnung und –bearbeitung.....	29
2.7 Aufzeichnung der Schalenbewegungen.....	29
2.7.1 Der Dreissena-Monitor® in Bad Honnef.....	30
2.7.2 Der Mosselmonitor® .....	32
2.8 Statistik .....	34
<b>3. Ergebnisse.....</b>	<b>35</b>
3.1 Der Energiestoffwechsel von <i>Corbicula fluminea</i> .....	35
3.1.1 Stoffwechselraten und Aktivitätsmuster .....	36

3.1.2 Stoffwechselraten und Wärmemengen.....	38
3.1.3 Spezifische Stoffwechselraten bei geöffneten und geschlossenen Schalen.....	38
3.1.4 Gewichts- und Temperaturabhängigkeit der metabolischen Raten.....	40
3.1.5 Vergleich der Stoffwechselraten aus direkter und indirekter Kalorimetrie .....	44
3.2 Schließverhalten der Körbchenmuschel <i>C. fluminea</i> .....	48
3.2.1 Schalenbewegungen von <i>C. fluminea</i> im Rhein bei Bad Honnef (Dreissena-Monitor <sup>®</sup> ) und Koblenz (Mosselmonitor <sup>®</sup> ).....	48
3.2.2 Schließverhalten von <i>C. fluminea</i> im Labor.....	56
3.3 Anaerober Stoffwechsel von <i>C. fluminea</i> .....	57
3.3.1 Anaerobe Kapazität des Stoffwechsels von <i>C. fluminea</i> .....	57
3.3.2 Anaerobe Metabolite bei geschlossenen Schalen und Normoxie .....	61
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>65</b>
4.1 Intermittierender Stoffwechsel beim Öffnen und Schließen der Schalen.....	66
4.1.1 Standard Metabolic Rate (SMR) und Metabolic Depression bei <i>C. fluminea</i> ....	66
4.1.2 Substrat sparen bei geschlossenen Schalen? .....	68
4.1.3 Kosten der SMR.....	71
4.2 Schalenbewegungen von <i>C. fluminea</i> und <i>D. polymorpha</i> im Rhein .....	73
4.2.1 Das Phytoplankton im Rhein.....	74
4.2.2 Circadianer Rhythmus ermöglicht die effiziente Nutzung der Nahrung.....	77
4.2.3 Schalenbewegungen im Winter.....	80
4.3 Der anaerobe Stoffwechsel von <i>C. fluminea</i> .....	80
4.3.1 Anaerobiosekapazität von <i>C. fluminea</i> .....	81
4.3.2 „Selbstinduzierte“ Anaerobiose bei geschlossenen Schalen.....	81
4.3.3 Besondere Rolle des Succinat bei der Anaerobiose von <i>C. fluminea</i> .....	82
4.4 Einfluß des intermittierenden Stoffwechsels auf das Verbreitungspotential und Konkurrenz zu einheimischen Arten.....	84
<b>5 Zusammenfassung .....</b>	<b>88</b>
<b>6 Literatur .....</b>	<b>90</b>

## 1 Einleitung

### *Ökosystem Rhein*

Einzig der Rhein verbindet auf seiner Fließstrecke von 1320 km die Alpen mit der Nordsee und führt dabei Wasser aus neun Staaten, nämlich aus der Schweiz, Italien, Lichtenstein, Österreich, Deutschland, Frankreich, Luxemburg, Belgien und den Niederlanden. In der Summe ergibt das ein Einzugsgebiet von ca. 170 000 km<sup>2</sup>, nach Wolga und Donau das drittgrößte Europas, in dem etwa 50 Millionen Menschen leben und von denen wiederum ca. 20 Millionen auch ihr Trinkwasser aus dem Rhein bekommen (IKSR 2001). Seit Lauterborn (1916) unterteilt man den Fluß in sechs Abschnitte: den Alpenrhein (Quellen bis Bodensee), den Hochrhein bis Basel, den Oberrhein bis Bingen, den Mittelrhein bis Bonn und den Niederrhein bis zur Teilung im Deltarhein, im wesentlichen Waal, Lek und IJssel.

### *Entwicklung vom mäandrierenden Fluß zur Hauptwasserstraße in Europa*

Im Laufe der Jahrhunderte unterlag der Rhein zahllosen anthropogenen Eingriffen, diente er doch seit jeher zur Wasserver- und -entsorgung, zum Fischfang, als Transportweg und zur Freizeitgestaltung seiner Anwohner, was heute besonders in den Ballungsräumen eine große zusätzliche Belastung darstellt. Noch immer zeugen viele Ruinen entlang des Rheins von seiner frühen Besiedlung durch die Römer, z.B. in Straßburg, Mainz, Köln und Xanten; die Überreste des Limes entlang des Rheins dokumentieren seine Funktion als damaligen Grenzfluß zu den Germanen im Osten (Tümmers 1994). Seit dieser Zeit wuchsen die Siedlungen entlang des Rheins zu immer größeren Orten und Städten, und mit ihnen deren Ansprüche an den Fluß. Neben dem enorm steigenden Bedarf an Wasser, bzw. Beseitigung des Abwassers, traten auch immer mehr die Probleme des Hochwasserschutzes in den Vordergrund, denn der ehemals frei mäandrierende Rhein mit seinem vielfach wechselnden Verlauf ließ lange keine sichere Bebauung und Bewirtschaftung seiner Ufer zu. Erste Durchstiche von Rheinschlingen am Niederrhein zwischen dem 14. und 17. Jh. zeugen zwar vom Gestaltungswillen der Anwohner, fielen aber immer wieder der Dynamik des Stromes zum Opfer (Hailer 1982). Nachdem 1740 ein katastrophales Hochwasser alle Deich- und Wehrbauten, zwischen Duisburg und Schenkenschanz wegschpülte, plante Friedrich II. erstmals weitergehende Eingriffe in den Verlauf des Rheins. Mit Hilfe niederländischer Wasserbauer setzte Friedrich der Große schließlich diese frühen Pläne um, deren wesentlichen Merkmale die Beseitigung der Flußinseln, sowie die Befestigung der Ufer mittels Buhnen waren (Berger 1975; Bürger 1926). Buhnen, damals noch völlig unbekannt, haben sich als Methode zur Uferbefestigung bis heute erhalten. Mitte des 18. Jahrhunderts begann also der kontinuierlich fortschrei-

tende Umbau des Flussbettes, den Tittizer und Krebs (1996) in vier Phasen unterteilen. Der größte und bekannteste Eingriff der ersten Ausbauphase (1815 bis 1900) war die Regulierung des Oberrheins nach den Plänen Johann Gottfried Tullas Anfang des 19. Jh. (Kinzelbach 1972).



**Abb. 1.1:** Karte des Rheinverlaufs von Neunburg bis Sondersheim mit den von Tulla 1817 begonnenen Durchstichen und „Rectificationen“ (Generallandesarchiv Karlsruhe aus Tümmers 1994).

Vor allem Durchstiche an den Mäanderhälsen sollten gemäß seiner „Rhein Rectification“ den Lauf des Rheins zwischen Basel und Worms um 23 % von 354 km auf 273 km verkürzen, das Grundwasser fallen und die Hochwässer schneller abfließen lassen. Einiger Widerstände zum Trotz begannen 1817 die Arbeiten zu den ersten Durchstichen (Abb. 1.1), der Abschluß dieser einschneidenden Begradigungen des Oberrheins ließ aber noch bis 1879 auf sich warten (Honsell 1885). Aber auch im Alpen- und im Hochrhein wurde im 19. Jh. der Verlauf des Rheins vehement verändert. Neben zunehmender Kanalisierung zum Schutz der Anwohner trat immer mehr die Energiegewinnung für die aufkommende Industrialisierung in den Vordergrund. Um die Wasserkraft des Rheins nutzbar zu machen, wurde besonders der Hochrhein an zahlreichen Wehren aufgestaut (Tittizer & Krebs 1996).

In den Ausbauphasen 2 (1900 – 1945) und 3 (1945 – 1975) wurde dieser Weg konsequent fortgesetzt, weitere Wehre und Staustufen lieferten der prosperierenden Industrie dringend benötigte Energie. So wandelte sich der schnellfließende Hochrhein zwischen 1895 und 1965 durch zahlreiche Aufstauungen zu einer „Wassertreppe“ mit der gut 70 % seines Gefälles zwischen Schaffhausen und Basel zur Energiegewinnung nutzbar wurden (Friedrich &

Schulte-Wülwer-Leidig 1996). Schleusen, Staustufen und fortschreitende Begradigung mit begleitender Uferbefestigung, v.a. im Oberrhein, sowie begleitende Kanäle (Grand Canal d'Alsace, besser bekannt als Rheinseitenkanal), machten den Fluß bis kurz hinter Basel schiffbar. Seit 1975, also in der 4. Ausbauphase, dominiert wieder der Hochwasserschutz, da aufgrund des permanenten Ausbaus der Fließrinne zur Fahrrinne den schnell auflaufenden Hochwasserwellen die notwendigen Überflutungsflächen fehlen (Tittizer & Krebs 1996).

Diese strukturellen Eingriffe in den Verlauf des Rheins, die bereits die Tulla'sche Korrektur einleitete, hatten dramatische Folgen für das Ökosystem Rhein: Verminderung der natürlichen Auen- und Überflutungsflächen, Verlust von Inseln und Kiesbänken, Sohlenerosion des Flussbettes und Abfall des Grundwasserspiegels (Tittizer & Krebs 1996), um nur die wichtigsten zu nennen. Auch ohne die begleitende Verschlechterung der Wasserqualität hätte sich die Tier- und Pflanzenwelt erheblich verändert. Das fallende Grundwasser und die ausbleibenden Überschwemmungen ließen viele Auen und Altarme verlanden und machten sie stattdessen landwirtschaftlich nutzbar, so daß sich die natürliche Auenlandschaft zur Kulturlandschaft wandelte, die dann später vielfach der wachsenden Industrie, Siedlungen oder dem Verkehr weichen mußte. Mit dem Verlust der Niedrigwasserbereiche, der Kiesbänke und der Inseln vieler Auen gingen auch große Teile der auentypischen Fauna und Flora verloren. Nachdem einige große, waldbewohnende Säuger, wie Elch, Ur, Bär und Edelhirsch bereits der Rodung der Auwälder im Mittelalter zum Opfer fielen (Lauterborn 1917), raubte nun der Ausbau des Rheins und seiner Nebenflüsse mit Wehren und Staustufen den Wanderfischen den Lebensraum. Den zum Laichen aufsteigenden Lachsen und Meerforellen, einstmals als Brotfische der Rheinfischer wenig geachtet, blieb der Weg versperrt. So gingen die Lachsfänge drastisch zurück, von über 100000 im Jahr 1885 auf ca. 45000 im Jahr 1915. 1935 wurden nur noch unbedeutende Mengen Lachs gefangen und kurz nach dem Ende des Krieges (1945 – 1950) kam der Lachsfang im Rhein dann gänzlich zum Erliegen, die Lachspopulation des Rheins war ausgestorben (Neumann 1994; Tittizer & Krebs 1996). Außer dem Lachs (*Salmo salar*), der gern als Leitspezies genannt wird, teilten alle übrigen anadromen Fische sein Schicksal, so daß die Bestände der Meerforelle (*Salmo trutta trutta*), des Meerneunauges (*Petromyzon marinus*), des Flussneunauges (*Lampetra fluviatilis*), des Maifischs (*Alosa alosa*) und der Finte (*Alosa falax*) im Rhein ebenfalls einbrachen (Tittizer & Krebs 1996; Otto & Weibel 1999). Der Stör (*Acipenser sturio*) dagegen verdankt seine Ausrottung der maßlosen Überfischung bereits zur Jahrhundertwende und wurde seit 1920 in deutschen Flüssen nur noch vereinzelt gefangen (Lozán 1990). Aber auch für viele andere Fischarten des Rheins

litten unter dem Verlust der Auen, sie verloren mit ihnen viele Laichplätze, Lebensräume für die Jungfische und Rückzugsflächen bei Hochwässern (Neumann 1994; Otto & Weibel 1999).

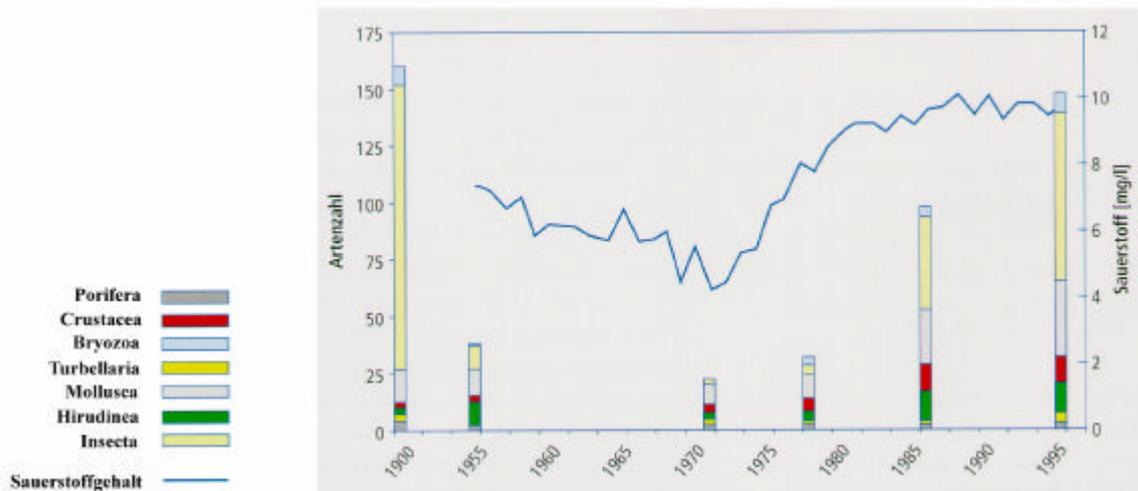
Als Fazit bleibt festzuhalten, daß die strukturellen Eingriffe in den Verlauf des Rheins einerseits den Fluß als Lebensraum stark beeinträchtigten, ihn andererseits zu der wohl bedeutendsten Wasserstraße in Europa werden ließen. Nicht umsonst liegen der größte Binnenhafen (Duisburg) und der größte Seehafen (Rotterdam) der Welt an seinen Ufern, bzw. seiner Mündung (Friedrich & Schulte-Wülwer-Leidig 1996) und jährlich werden auf dem Rhein von über 11000 Schiffen etwa 175 Millionen Tonnen Güter umgeschlagen (LAWA 1997).

### *Erst Abwasser dann Trinkwasser: Leben mit, vom und im Rhein*

Nachdem im 19. Jh. vorwiegend bauliche Veränderungen des Rheins die Lebensbedingungen verändert hatten, verschlechterte sich im Zuge der fortschreitenden Industrialisierung im 20. Jh. zusätzlich auch die Qualität des Wassers. Hauptprobleme waren zunächst die Einleitung ungeklärter industrieller und kommunaler Abwässer sowie zunehmend auch der Nährstoffeintrag aus einer immer intensiveren Landwirtschaft, was eine starke Eutrophierung des Rheinwassers zur Folge hatte. Aufgrund der hohen Fracht an organisch abbaubaren Stoffen, setzte eine starke Sauerstoffzehrung ein (Tittizer et al. 1990; Van den Brink et al. 1990). Zusammen mit einigen Giftunfällen führte dies zwischen 1960 und 1980, auf dem Tiefpunkt der Wasserqualität (1970 O<sub>2</sub>-Gehalt von ca. 4 mg L<sup>-1</sup> ≅ 30 - 40 % Sättigung), mehrfach zu einem Fischsterben im Rhein (DK-Rhein 2001). Gleichzeitig zur Überfrachtung des Rheins mit Nährstoffen, nahm die chronische Belastung mit Salzen, v.a. Chlorid, mit Schwermetallen und mit organischen Chemikalien, hier v.a. Halogenverbindungen (AOX) und Pflanzenschutzmitteln, aus Industrie und Landwirtschaft zu. Die im Rhein verbliebenen Fische waren ungenießbar und rochen nach Phenol (DK-Rhein 2001). Um diese aus ökologischer Sicht katastrophalen Bedingungen wieder zu verbessern, begann man mit hohem finanziellen Aufwand Produktionsverfahren zu verändern und die Einleitungen zu klären. Mit einem flächendeckenden Netz aus biologischen Kläranlagen für kommunale Abwässer und strengeren Auflagen an die Einleitungen der Industrie konnte man relativ schnell die chemische und physikalische Wasserqualität verbessern (den Hartog et al. 1992; IKS 2001). So nahm z.B. der Sauerstoffgehalt des Wassers (1980 bereits wieder ca. 80 % Sättigung) deutlich zu (Friedrich & Schulte-Wülwer-Leidig 1996; IKS 2001) und liegt nun seit einigen Jahren wieder durchgehend nahe an der Sättigungsgrenze (ca. 9 - 10 mg L<sup>-1</sup>: LAWA 1997; 98 % S: Friedrich & Schulte-Wülwer-Leidig 1996). Da heute mehr als 90 % der Bevölkerung an die kommunalen Kläranlagen angeschlossen sind und die industriellen Abwässer kontrollierten Einleitungsge-

nehmigungen unterliegen, stellen inzwischen die diffusen Einträge, besonders von Nährstoffen, Schwermetallen und Pflanzenbehandlungsmitteln, das größte Problem für die Wasserqualität des Rheins dar (Tittizer & Krebs 1996; IKSР 2001). Nach wie vor ist die Belastung mit Nährstoffen, wie Phosphat und Stickstoff zu hoch. Besonders auffällig ist der gegenläufige Trend beim Nitrat-Stickstoff, dessen Konzentration seit 1970 noch bis Ende der 80er Jahre deutlich zugenommen hat (Tittizer & Krebs 1996) und erst seit 1990 stagniert, bzw. leicht rückläufig ist (DK Rhein 2001). Er wird hauptsächlich aus den Böden landwirtschaftlich intensiv genutzter Flächen in den Rhein geschwemmt und entsteht auch bei der Nitrifikation des Ammoniums in den Kläranlagen (Friedrich & Schulte-Wülwer-Leidig 1996). Trotz niedrigerer Konzentrationen als in der Elbe, Weser oder Ems, ist der Rhein damit, aufgrund der transportierten Wassermenge, weiterhin Hauptverursacher für die fortschreitende Eutrophierung der Nordsee (LAWA 1997). Auch die Sedimentkonzentrationen der Schwermetalle Quecksilber, Cadmium, Kupfer und Zink liegen, trotz einer Reduktion um 90 % gegenüber 1970, noch immer deutlich über den Zielvorgaben der aktuellen Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) der EU (IKSR 2001). Im Wasser dagegen sind diese Metalle kaum noch nachzuweisen (LAWA 1997; Friedrich & Schulte-Wülwer-Leidig 1996). Ähnlich stellt sich die Situation bei den Pflanzenschutzmitteln dar. Obwohl ihr Gehalt im Wasser stark rückläufig ist, liegen v.a. die Konzentrationen von Lindan, Diuron und der PCBs besonders in Schwebstoffen und Sedimenten noch deutlich über den Grenzen der EU-WRRL (IKSR 2001), zudem erreichen sie, v.a. HCB und PCBs, hohe Konzentrationen in Fischen (Friedrich & Schulte-Wülwer-Leidig 1996).

Zusammen wirkten sich beide Faktoren, strukturelle Eingriffe in den Lauf des Flusses und seine verminderte Wasserqualität, verheerend auf die Rheinbiozönose aus und führte in den vergangenen 100 Jahren zu einem dramatischen Rückgang der Artenvielfalt (u.v.a. Kinkelbach 1972; van den Brink et al. 1990; den Hartog et al. 1992; DK-Rhein 2001). 1975 fand man nur noch 23 der ehemals 45 Fischarten des Rheins (Lelek & Buhse 1992). Für das Makrozoobenthos des Rheins in Nordrhein-Westfalen beschrieb Schiller (1990) einen Rückgang auf nur noch 12 Taxa im Jahr 1969, einen Zustand den er mit Recht als biologische Verödung bezeichnet. Im gesamten schiffbaren Rhein fiel die Artenzahl des Makrozoobenthos von über 160 Arten um 1900 auf ca. 30 Arten 1971 ab (Abb. 1.2; IKSР 1996). Von ehemals 112 gefundenen Insektenarten fanden sich 1971 nur noch 5 Arten wieder (DK Rhein 2001).



**Abb. 1.2:** Entwicklung des Artenbestandes des Makrozoobenthos und des Sauerstoffgehalts im Rhein bei Bimmen (nach IKSr 1996; DK Rhein 2001).

Erfreulicherweise nahm anschließend im Zuge der deutlich gestiegenen Wasserqualität auch die Artenvielfalt des Rheins wieder zu, so daß man heute beinahe alle 45 ehemals heimischen Fischarten wieder im Rhein antrifft. Lediglich die Wanderfische zeigen sich bisher nur in Einzelfunden (IKSR 2001). Und auch das Makrozoobenthos umfasst heute wieder ähnlich viele Arten wie zu Beginn des 20. Jahrhunderts (Abb. 1.2), allerdings unterscheidet sich die heutige Faunenzusammensetzung des Rheins ganz erheblich von der früherer Jahre (Tittizer et al. 1990). Infolge der sehr monotonen Sohlen- und Uferstrukturen im begradigten Fluß und der noch immer relativ hohen Belastungen findet man heute hauptsächlich euryöke, ubiquitär vertretene Arten im Rhein (den Hartog et al. 1992; Schöll 1995, IKSr 2001). So überwiegen bei den Fischen die anspruchslosen Weißfischarten (Friedrich & Schulte-Wülwer-Leidig 1996), während beim Makrozoobenthos die belastungstoleranteren Hirudinea, Bryozoen, Mollusken und Crustacea die meisten Arten und die höchste Biomasse stellen. Tiere mit höheren Ansprüchen an die strukturelle Vielfalt ihres Lebensraumes oder an die Wasserqualität sind auch heute noch selten. So blieb z.B. die Wiederbesiedlung durch charakteristische Insektengruppen der Fließgewässer (Plecoptera, Ephemeroptera und Trichoptera) weitestgehend aus (van den Brink 1990; Neumann 1994). Immer bedeutender im Artenspektrum des Rheins werden sogenannte Neozoen, Tiere, die ursprünglich aus ganz anderen Teilen der Welt stammen, wie z.B. die Süßwassergarnele *Atyaephyra desmarestii* (Mittelmeerraum), der gebänderte Flohkrebs *Gammarus tigrinus* (Nordamerika), die Flussturmschnecke *Potamopyrgus antipodarum* (Neuseeland) oder die Zebrauschel *Dreissena polymorpha* (Pontokaspis) (Tittizer

& Krebs 1996). Meist sind es euryöke r-Strategen, die aufgrund hoher Fekunditäten und geringer Lebensraumansprüche besonders rasch zuvor verwaiste oder neu strukturierte Biotope besiedeln können und diese dann oftmals mit hohen Biomassen dominieren (den Hartog et al. 1992; Kinzelbach 1995). Im Rhein nahmen sie 1986 laut Kinzelbach (1995) mit ca. 80 Arten etwa 12 % des Artenspektrums ein. Dieser Trend zur Faunenvermischung wird sich bei der zunehmenden Vernetzung der europäischen Binnenschiffahrtswege, zuletzt Rhein-Main-Donau-Kanal (Tittizer 1996; Rheinhold & Tittizer 1997), sicher noch weiter fortsetzen, da Schiffe als maßgeblicher Transporteur gebietsfremder Tiere inzwischen allgemein anerkannt und nachgewiesen sind (Reinhold & Tittizer 1997 und 1999). Den Sprung über die Ozeane schaffen die meisten von ihnen vermutlich im Ballastwasser von Schiffen (Carlton & Geller 1993). Genau dieser Weg wird auch für die aus Amerika nach Europa eingewanderte Körbchenmuschel *Corbicula fluminea* postuliert (Kinzelbach 1991; Meister 1997).

#### *Verbreitungswege der kosmopolitischen „Asian clam“ Corbicula spec.*

Die Gattung *Corbicula* ist ursprünglich in Asien beheimatet, daher auch der umgangssprachliche Name „Asian clam“. Ihre natürliche Ausbreitung reicht von Australien bis in den nahen Osten, aber die größte Artenvielfalt innerhalb dieser Gattung findet man in Südostasien, z.B. in Thailand, Indonesien und China (Morton 1986; Britton & Morton 1986; Kinzelbach 1991), wo sie heute auch als Nahrungsmittel in Aquakultur gehalten werden (McMahon 1983). An die Westküste der USA kamen sie zu Beginn des 20. Jahrhunderts vermutlich als Proviant chinesischer Einwanderer, von wo sie sich innerhalb der nächsten 50 Jahre über den gesamten Kontinent ausbreitete (McMahon 1983). Da sie kurz vor den ersten Funden in Europa (Tab. 3.1) und Südamerika (1979 Rio de la Plata, Argentinien, Ituarte 1981) an der Ostküste der USA eintrafen, 1975, (McMahon 1983), nimmt man heute allgemein an, daß sie von dort, wie manch andere aquatische Neozoen, z.B. *Potamopyrgus antipodarum* und die Wollhandkrabbe *Eriocheir sinensis*, im Ballastwasser von Schiffen den Sprung über den Atlantik schaffte (Kinzelbach 1991; den Hartog 1992; Ricciardi & MacIsaac 2000). Zudem findet man sowohl in Amerika als auch in Europa nur zwei Arten der Gattung *Corbicula* an, nämlich *C. fluminea* und *C. fluminalis* (McMahon 1983; Meister 1997). Zwar ist bis heute nicht genau geklärt, ob es sich bei ihnen wirklich um zwei distinkte Arten handelt oder nur um zwei sehr variable genetische Linien der gleichen Art, aber man fand doch vielfach Unterschiede in deren Morphologie (s.u. Abb. 2.1), Biologie und Ökologie (McMahon 1983; Meister 1997). Meister (1997) zeigte die biologischen Unterschiede beider Arten im Rhein auf, wovon die Wichtigsten hier genannt seien:

*C. fluminea* wächst schneller und ist früher geschlechtsreif als *C. fluminalis*, bei längerer Lebenszeit (bis zu 10 Jahren) wird diese aber größer. *C. fluminea* hat in der Regel zwei Generationen pro Jahr, *C. fluminalis* nur eine, auch die individuelle Fekundität ist bei *C. fluminea* größer. Bei sympatrischen Vorkommen überwiegen immer die Abundanzen von *C. fluminea*, die als eher limnische Art gilt, wohingegen *C. fluminalis* auch Brackwasser toleriert und oftmals in Ästuaren, z.B. in der Weser, vorkommt (Haesloop 1992). Weitere Details zu Differenzen beider Arten findet man bei Meister (1997), deren Ergebnisse sich gut mit der Schilderung der beiden in Amerika lebenden Arten decken (McMahon 1983).

Die Ausbreitung der Körbchenmuscheln in Europa seit ca. 1980 ist in Tab. 3.1 dargestellt. In den letzten Jahren wurden erste Funde auf den Britischen Inseln beschrieben (Howlett & Baker 1999, Aldrige & Müller 2001) und auch die Überquerung der Alpen, vermutlich durch den Rhein-Main-Donau-Kanal, ist ihnen gelungen (Reinhold & Tittizer 1997).

**Tab 3.1: Ausbreitung der Körbchenmuscheln in Europa:**

Frankreich :	1980	Dordogne (Mouthon 1981)
	1990	Canal du Midi, Garonne, Tarn (Kinzelbach 1991; Araujo 1993)
	199 ?	Rhône; Loire & Seine (Mouthon 2001 a + b)
Portugal:	1980	Tajo / Tagus (Mouthon 1981)
Spanien:	1989	Miño (Araujo et al. 1993)
Niederlande:	1985/86	Lek, Hollands Diep, Rhein: Erstbesiedlung aus Altersstruktur datiert (Bij De Vaate & Greijdanus-Klaas 1990)
Belgien:	1992/93	Maas (Nguyen & De Pauwe 2002)
	1999	Dender, viele Kanäle in Flandern (Nguyen & De Pauwe 2002)
Deutschland:	1983	Weser (Kinzelbach 1991; Haesloop 1992)
	1986	Rhein bis Oberwinter km 637 (Bij de Vaate 1991)
	1994	Rhein bis Basel (Schöll et al. 1995)
	1991	Neckar und Main (Alf 1991; Kinzelbach 1991)
	1995	Mosel (Bachmann & Usseglio-Polatera 1999),
	1997	Donau (Reinhold & Tittizer 1997)
Rumänien:	1999	Donau (Bij de Vaate & Hulea 2000)
England:	1997	River Chet, Southern Norfolk Broads (Howlett & Baker 1999; Aldrige & Müller 2001)

*Ihre Lebensstrategien (Life History) lassen C. fluminea auch im Rhein dominieren*

*C. fluminea* erreicht sehr hohe Abundanzen, laut McMahon (1983) oft 1000 Individuen pro  $\text{m}^2$ , in seltenen Fällen bis zu 10000 Ind. pro  $\text{m}^2$ . Meister (1997) fand im Oberrhein mittlere Dichten von 350 bis 600 Tieren pro  $\text{m}^2$  (was ungefähr 1 kg Biomasse je  $\text{m}^2$  entspricht), maximal 11400 Ind. pro  $\text{m}^2$ . Andere Autoren nennen noch höhere Populationsdichten, ca. 20000 Ind.  $\text{m}^{-2}$ , v.a. für nordamerikanische Populationen (McMahon 1983; McMahon & Williams 1986; Doherty et al. 1987). Im Rhein zählt *C. fluminea* seit 1994 zu den Hauptbiomasseproduzenten (Kinzelbach 1995). Wie sehr *C. fluminea* das Makrozoobenthos dominiert wird einem bewußt, wenn man bei einem Spaziergang entlang des Rheins die zahllosen leeren Schalen toter Körbchenmuscheln sieht (Abb. 1.3).



**Abb. 1.3:**  
Das Photo zeigt einen Ausschnitt vom Spülsaum des Rheins bei Düsseldorf-Volmerswerth (August 1997).

Einige herausstechende Eigenschaften ermöglichen *C. fluminea* diese hohen Abundanzen zu erreichen: Die Muscheln sind zwar proterogyne Hermaphroditen, aber obwohl die Oogenese der Spermatogenese vorangeht, sind in fast allen Tieren reife Eier und reife Spermien gleichzeitig anzutreffen (Rajagopal et al. 2000). Daher werden sie mit Recht als simultane Hermaphroditen bezeichnet (McMahon 1983; Kraemer & Galloway 1986; Meister 1997). Ob die Selbstbefruchtung wirklich der allgemeine Reproduktionsweg ist, wie McMahon (2000) aus Allozymstudien (Kijviriya et al. 1991) schließt oder nicht, ist noch unklar. Einige histologische Schnitte zeigten aber Gastrula- und Blastulastadien in den Gonaden und dokumentieren somit zumindest die Möglichkeit der Selbstbefruchtung (Kraemer & Galloway 1986). In nur ein bis zwei Wochen durchlaufen die Larven zwischen den Kiemenlamellen (SEM-Aufnahme bei Araujo et al. 1993) die komplette Entwicklung (Trochophora, Veliger, Pediveliger) bis zur fertigen Jungmuschel (Details siehe Kraemer & Galloway 1986). In jährlich zwei Reproduktionsphasen, Mai/Juni und September, werden die bereits beschalteten, ca.

220 µm großen Juvenilstadien entlassen. Sie sind dann bereits in der Lage sich mit Byssusfäden am Untergrund festzuheften (McMahon 1983; den Hartog 1992; Meister 1997). Die Inkubation der Larven in den Kiemen bis zu eigenständig sessilen Jungtieren ist im Fließgewässer ein großer selektiver Vorteil, da so eine unkontrollierte Verdriftung stromabwärts vermieden wird. Andere Muscheln, wie z.B. *Dreissena polymorpha*, die planktische Larvenstadien besitzen, sind zur Reproduktion auf Stillwasserzonen des Flusses angewiesen, da die Zeit in der fließenden Welle zur Entwicklung bis zur Jungmuschel i.d.R. nicht ausreicht (Borchering 1992a). Zudem zeichnet sich *C. fluminea* durch ungeheuer hohe Fekunditäten aus, so berechneten Heinsohn (1958 in McMahon 1983) 8000 Juvenile pro Jahr und Individuum im Labor und Aldridge & McMahon (1978) für das Freiland gar 68000 Nachkommen pro Individuum und Jahr. In den Tieren der Rheinpopulation fand Meister (1997) maximal 5750 frühe Larvenformen und bis zu 2100 beschaltete Juvenilstadien in den Kiemen einzelner Individuen an. Einmal vom Elterntier entlassen, wachsen die Jungmuscheln schnell, anfangs bis zu 1 mm pro Woche (Kraemer 1979). Nach McMahon (1983) erreichen sie im ersten Jahr eine Schalenlänge von 16 – 30 mm und sind dann bereits geschlechtsreif. Für die Rheinpopulation von *C. fluminea* fand Meister (1997) zwar deutlich geringere Wachstumsraten, sie gibt die Schalenlängen mit ca. 10 mm im ersten, 17-20 mm im zweiten, ca. 23 mm im dritten und bis 28 mm im vierten Jahr an. Dennoch sind auch sie bereits im ersten Jahr selbst geschlechtsreif, so daß sie bereits im darauffolgenden Jahr Larven inkubieren und freisetzen können (Meister 1997; McMahon 2000).

In der kurzen Lebensdauer von 3 – 4 Jahren findet man bei *C. fluminea* also die typischen Merkmale eines r-Strategen, eine sehr hohe Reproduktionsrate bei schnellem Wachstum und schneller Generationenfolge. Die geschilderten Anpassungen eignen sich vorzüglich, um neue Lebensräume zu erschließen, bei genügenden Bedingungen schnell hohe Biomassen zu produzieren und so verwaiste Nischen in den meist monotonen Lebensräumen, die die begradigten Flüsse heute vielfach darstellen, zu besetzen. In Amerika ist es *C. fluminea* so gut gelungen, daß sie dort lange als „pest species“ verrufen war (McMahon 1983). Besonders in künstlichen Gewässern, wie Be- und Entwässerungskanälen, Zuflüssen für Brauchwasser von Kraftwerken und auch in Grund- und Trinkwasser-Pipelines gedeihten die Muscheln so gut, daß sie diese oftmals zu verstopfen drohten. Kam es dann zu einem Massensterben, verdarben sie das Wasser (McMahon 2000).

*Welchen Einfluß hat der Energiestoffwechsel und das Schließverhalten von C. fluminea auf die typischen Merkmale des r-Strategen: schnelles Wachstum und Reproduktion?*

Nachdem also die Anpassungen aus reproduktionsbiologischer und ökologischer Sicht gut beschrieben sind (Kraemer & Galloway 1986, Meister 1997, McMahon 2000), sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, in wie weit vor allem der Energiestoffwechsel, aber auch das Schalenschließverhalten der Muscheln das schnelle Wachstum und die hohe Fekundität unterstützen, bzw. ermöglichen. Daß die Tiere in kurzer Zeit so viel Biomasse akkumulieren, läßt auf einen sehr effizienten Energiestoffwechsel schließen.

Zwar gibt es schon frühe Untersuchungen zum Sauerstoffverbrauch (McMahon 1979), zur Osmoregulation (McCorkle and Dietz 1980; Dietz 1985), zur Temperaturtoleranz (McMahon 1983) und zur Luftexposition (Byrne et al. 1988; Byrne & McMahon 1994), besonders die Bedingungen bei geschlossenen Schalen wurden dabei aber ausgespart. So beobachtete man zwar, daß die Tiere unter Stress die Schalen häufiger schließen (McMahon 1979 und 1983), was dies aber für den Stoffwechsel der Muscheln bedeutet ist unklar. Auch zu anderen Muschelarten findet sich dazu nur wenig in der Literatur. Meist begnügen sich die Autoren damit, das Schließen der Schalen als eine Reaktion auf schlechte äußere Bedingungen oder als Schutzreaktion vor Fressfeinden zu beschreiben. So beschränken sich die physiologischen Daten meist auf Versuche in den Zeiten mit geöffneten Schalen. Eine seltene Ausnahme sind die Arbeiten von Holopainen und Penttinen (1993), die den Stoffwechsel zweier Sphaeriiden, *Pisidium amnicum* und *Sphaerium corneum*, kalorimetrisch bestimmten. Sie beobachteten einen intermittierenden Metabolismus der Muscheln, mit stark reduzierter Wärmedissipation bei geschlossenen Schalen, was sie als „selbstinduzierte Anoxie“ bezeichneten. Einen direkten Nachweis eines anaeroben Stoffwechsels konnten sie allerdings nicht führen. Aber immerhin zeigte diese Arbeit ganz deutlich, daß Exemplare beider Muschelarten ihre Schalen ohne erkennbaren Stress stundenlang geschlossen hielten und sich somit von der Außenwelt isolierten.

Daraus ergeben sich mehrere Fragestellungen, die in der vorliegenden Arbeit untersucht werden sollten:

- Besitzt *C. fluminea* ebenfalls einen intermittierenden Metabolismus, der durch das Öffnen und Schließen der Schalen bedingt ist ? Dazu sollte unter möglichst naturnahen Bedingungen das Schalenschließverhalten von *C. fluminea* im Rhein aufgezeichnet werden.

- Sind im jahreszeitlichen Verlauf Unterschiede im Schließverhalten zu beobachten ? Kann man sie gegebenenfalls mit den oben genannten Reproduktionszeiten in Einklang bringen.
- Mit Hilfe der Kaloresspirometrie, also der simultanen Messung der Wärmeabgabe und des Sauerstoffverbrauches, sollten die metabolischen Raten bei geöffneten und geschlossenen Schalen quantifiziert werden. Gleichzeitig erlaubt diese Methode über den Vergleich der direkten mit der indirekten Kalorimetrie Rückschlüsse auf den Stoffwechselstatus der Tiere. Werden sie bei geschlossenen Schalen anaerob oder nicht ?
- Ist *C. fluminea* überhaupt in der Lage, anaerob Energie zu gewinnen? Welche Stoffwechselwege schlägt sie unter streng hypoxischen Bedingungen ein, und nutzt sie diese auch bei geschlossenen Schalen unter normoxischen Bedingungen ?
- Was bedeutet eine intermittierende metabolische Rate für die Effizienz des Stoffwechsels? Sind Rückschlüsse auf das schnelle Wachstum und die hohen Fekunditäten möglich ?

Bedenkt man, daß Muscheln heute immer häufiger für das Biomonitoring im Rahmen der Umweltüberwachung eingesetzt werden, ist es unverzichtbar, mehr über ihre Stoffwechsellleistungen zu wissen. Nur wenn man mehr über Effizienz und Umfang physiologisch aktiver Zeiten der Muscheln weiß, kann man ihre Reaktionen auf sublethale Stressoren erkennen und beurteilen. Auch bei Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit und Schadwirkung von Xenobiotica (Andres et al. 1999; Narbonne et al. 1999) oder gentoxisch relevanter Stoffe (Vidal et al. 2001) im Wasser werden Muscheln wegen ihrer hohen Filtrationsleistungen eingesetzt. Um die Akkumulation dieser Stoffe in den Geweben besser einschätzen zu können, ist das Wissen über aktive und passive Zeiten des Metabolismus der Versuchstiere ebenfalls von Nutzen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Versuchstiere

O.F. Müller beschrieb 1774 erstmals zwei Arten der Körbchenmuscheln: *Corbicula fluminea* und *Corbicula fluminalis*, die er damals irrtümlicherweise der Gattung *Tellina* zuordnete. Heute fügt man beide Arten bei der in Asien sehr artenreichen Gattung *Corbicula* ein. Nach Kilius (1993) und Cunningham & Vaught (1989) wird sie wie folgt klassifiziert:

Stamm	Mollusca
Klasse	Bivalvia
Ordnung	Eulamellibranchiata
Unterordnung	Heterodonta
Überfamilie	Sphaerioidea
Familie	Corbiculidae
Gattung	Corbicula

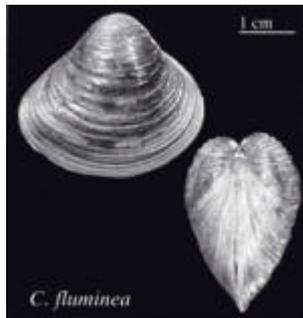
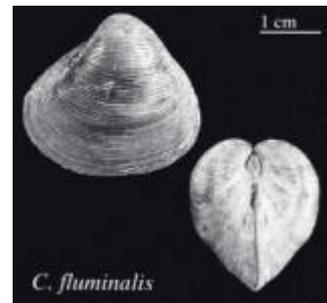


Abb.2.1 aus Glöer (1992)



Die beiden im Rhein vorkommenden Arten *Corbicula fluminea* und *Corbicula fluminalis* unterscheiden sich äußerlich erkennbar in der Morphologie ihrer Schalen. Während bei *C. fluminea* die konzentrischen Rippen auf der Schalenoberfläche weit auseinander stehen, liegen sie bei *C. fluminalis* dicht beieinander. Zudem ist bei letzterer der Wirbel weiter aufgewölbt und etwas nach vorn geneigt (Glöer 1992; Bernauer 1996; Meister 1997). In dieser Arbeit wurden ausschließlich Muscheln der Art *Corbicula fluminea* verwendet.

### 2.2 Beschaffung und Hälterung der Versuchstiere

Falls es der Wasserstand zuließ, wurden die Muscheln per Hand aus dem Sand oder Feinkies des Rheins bei Düsseldorf-Volmerswerth (Rheinkilometer 733) gesiebt. Einmalig wurde am 9.2.2000 die Hilfe eines Baggers des Wasserschiffahrtsamtes Neuss in Anspruch genommen, der an diesem Tag an gleicher Stelle für Uferarbeiten eingesetzt wurde. Einige Tiere stammten auch aus Rees, bzw. Köln: Bootshaus (4.11.99; 20.2.02).

Bis zu den Versuchen wurden die Muscheln entweder in Boxen aufbewahrt, die am Heck eines am Ort der Probennahme anliegenden Schiffes angebunden waren, verblieben also im fließenden Rheinwasser, oder in ein Aquarium in der Klimakammer des Institutes gebracht. Dort lebten sie unter konstanten Bedingungen bei 15°C in einem standardisierten, belüfteten Süßwasser (Neumann 1960, Ortmann 1996), das ständig umgewälzt und wöchentlich einmal erneuert wurde. Gefüttert wurden die Tiere einmal pro Woche mit einem Sud aus Brennesselblattpulver (Fa. Caesar & Lorentz, Hilden).

### 2.3 Chemikalien

Feinchemikalien wurden von den Firmen Baker (Deventer, Niederlande), Fluka Chemie AG (Buchs), Janssen Chimica (Geel, Belgien), Merck (Darmstadt), Riedel de Haën (Seelze), Roth (Karlsruhe) und Sigma-Aldrich (Taufkirchen) bezogen. Die Gase Kohlendioxid (4.5), Stickstoff (4.0 und 5.0), synthetische Luft (20.5 % Sauerstoff in Stickstoff) und Wasserstoff (5.0) lieferte die Firma Messer Griesheim (Krefeld), Enzyme und Coenzyme wurden von Boehringer / Roche Diagnostics (Mannheim) bezogen. Nachdem Roche 1999 die Herstellung von Succinyl-CoA-Synthetase (SCS) einstellte, musste auf homolog überexprimierte SCS aus *Escherichia coli* zurückgegriffen werden, die uns freundlicherweise von Dr. William Wolodko (University of Alberta, Department of Biochemistry, Edmonton, Kanada) zur Verfügung gestellt wurde (Buck et al. 1985; Buck et al. 1986; Wolodko et al. 1994).

### 2.4 Präparation der Tiere und Gewinnung der Gewebeextrakte

#### 2.4.1 Anaerobioseinduktion durch Stickstoffbegasung

Um die Kapazität des anaeroben Stoffwechsels von *C. fluminea* zu erfassen, wurden die Tiere in Rundkolben mit nominell anoxischem Standard-Süßwasser (SSW) überführt. Dazu wurde das SSW zuvor mit Stickstoff (4.0) begast und der Sauerstoffpartialdruck mit einer Sauerstoffelektrode (WTW CellOx 325 von Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Weilheim oder E 5046/0 von Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) überprüft, so daß beim Einsetzen der Tiere ein  $pO_2 \leq 3$  Torr gewährleistet war. Danach wurden die Muscheln für eine, zwei, vier, 24, 48 oder 72 weitere Stunden mit  $N_2$  begast und anschließend wie folgt präpariert. Ein Skalpell wurde zwischen die Schalen geführt, beide Schalenadduktoren durchtrennt, das Pallialwasser in einer Uhrglasschale aufgefangen und in ein Eppendorf-Reagenzgefäß überführt, das sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren wurde. Im Weiteren wurde zuerst der Fuß, dann die Adduktoren und zuletzt die Kiemen präpariert und ebenfalls unverzüglich mit einer in flüssigem  $N_2$  vorgekühlten Zange schockgefroren (Wollenber-

ger et al. 1960). Bis zur weiteren Aufarbeitung wurde das Pallialwasser und die Gewebe in flüssigem Stickstoff gelagert.

#### **2.4.2 Entnahme aus dem Mosselmonitor<sup>®</sup> oder aus dem Kalorimeter**

Sowohl aus dem Kalorimeter als auch aus dem Mosselmonitor<sup>®</sup> wurden die Tiere nach definierten Zeiträumen mit geschlossener bzw. geöffneter Schale entnommen und, wie oben beschrieben, schnellst möglich präpariert und schockgefroren.

#### **2.4.3 Perchlorsäureextrakte**

Zur Bestimmung der anaeroben Metabolite wurde das Gewebe unter flüssigem N<sub>2</sub> pulverisiert und in vorgewogene Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt, die 200 µL (Fuß), bzw. 150 µL (Adduktoren und Kiemen) 0.6 M Perchlorsäure (PCA) enthielten. Aus der Gewichts-differenz wurde das Frischgewicht bestimmt. Anschließend wurde das Gewebe 2 x 30 s homogenisiert und 15 min bei 14000 rpm zentrifugiert (Eppendorf Centrifuge 5415D), der Überstand mit 5 M KOH neutralisiert und erneut 30 min zentrifugiert, um das ausfallende Perchlorat abzutrennen. Schließlich wurde der so gewonnene Extrakt bis zu den Messungen bei -20°C eingefroren. Für die Pallialwasser-Extrakte wurden 150 µL des Pallialwassers unmittelbar nach dem Auftauen mit 150 µL der PCA versetzt und entsprechend den Gewebeextrakten weiterverarbeitet.

### **2.5 Messung der anaeroben Metabolite**

#### **2.5.1 Succinat**

Succinat, laut Schöttler et al. (1983) und Grieshaber et al. (1994) ein wichtiger Indikator für den mitochondrialen anaeroben Stoffwechsel, wurde mittels eines enzymatischen Tests nach Beutler (1985) bestimmt. Die photometrische Messung erfolgte an einem Spektralphotometer (Uvikon 710, Kontron, Eching) bei einer Wellenlänge von 339 nm.

#### **2.5.2 Acetat und Propionat**

Acetat und Propionat sind charakteristische Endprodukte der biotopbedingten Anaerobiose. Sie treten oft erst spät auf, wenn es mehr auf die Effizienz als auf die Geschwindigkeit der anaeroben Energiegewinnung ankommt (Wieser 1986; Hochachka & Guppy 1987, Grieshaber et al. 1994). Beide Metabolite gehören zu den freien, kurzkettigen Fettsäuren „short chain fatty acids“ (SCFA), früher auch „free fatty acids“ (FFA), und sind in undissoziierter Form flüchtig, so daß sie mit Hilfe eines Gaschromatographen messbar sind. Es wurde eine

modifizierte Trennung nach de Vries et al. (Netherlands Institute for Dairy Research (NIZO), Ede, Niederlande), bzw. Haas (2000) durchgeführt.

Im Laufe der Arbeit wurden zwei Gaschromatographen verwendet, zum einen das Modell HP-5890 von Hewlett Packard (jetzt Agilent Technologies Deutschland GmbH, Waldbronn) sowie das Modell CP-9001 von Chrompack (jetzt Varian Deutschland GmbH, Darmstadt), beide Gaschromatographen waren mit einem „split-splitless“-Injektor und einem Flammenionisationsdetektor (FID) ausgestattet. Die Trennung der Fettsäuren erfolgte über ein Kapillarsäulensystem, das aus einer deaktivierten Polyethylenglykol-Vorsäule (*fused silica tubing, uncoted*; 3 m x 0.53 mm ID; Varian, Darmstadt) und einer WCOT-Trennsäule (*fused silica, coating CP-wax 58; FFAP-CB, DF 1.0*; 25 m x 0.53 mm ID; Varian, Darmstadt) bestand. Aufgrund ihrer Polaritätsunterschiede (Acetat  $t_{R, 40^\circ\text{C}}$  6.29; Propionat  $t_{R, 40^\circ\text{C}}$  3.44; Weast 1975) binden die Fettsäuren unterschiedlich lange an der stationären Phase der Trennsäule, einem mittelpolaren Polyethylenglycolnitroterephthalsäureester (CP-wax 58). Zudem beeinflussen die unterschiedlichen Siedepunkte (Acetat 118° C; Propionat 141° C) das Retentionsverhalten beider Fettsäuren. Als Trägergas diente Stickstoff (Reinheitsgrad 5.0), für die Flamme am Detektor Wasserstoff (5.0) und synthetische Luft (20.5 % O<sub>2</sub> in N<sub>2</sub>). Die Gasflüsse wurden so gewählt, daß die Splitrate am Injektor zwischen 1:4 und 1:6 lag und N<sub>2</sub> mit ca. 20 mL min<sup>-1</sup> über die Säulen floß, sowie H<sub>2</sub> und Luft am FID im Verhältnis von 1:10 (20, bzw. 200 mL min<sup>-1</sup>). Die Temperaturen betragen am Injektor 270° C, am Detektor 300° C und 100° C im Ofen.

Jeweils 1 µL der Proben wurden mit einer gasdichten 10 µL Hamiltonspritze (Typ # 1801, RNE, pst 1, Hamilton Bonaduz AG, Bonaduz, Schweiz) manuell aufgegeben. Die Spritze wurde durch temperaturstabile Septen (Thermolite<sup>®</sup> septa, Restek, Bad Homburg; Chromsep Blue, Varian, Darmstadt) in den Injektor eingeführt und die Probe injiziert. Im Injektor befand sich entweder ein Cyclo-Splitter-Liner (Restek, Bad Homburg) im HP-5890 oder ein Glockenboden-Liner (Varian, Darmstadt) im CP-9001, die eine explosionsartige Verdampfung des aufgegebenen Proben-Luftgemisches gewährleisten. Zusätzlich zur Probe wurde immer Luft mit in den Kolben gezogen, so daß beim Injizieren die luftgefüllte Kanüle im Injektorblock 3 s erhitzt wurde, was zu einer besseren Reproduzierbarkeit beitrug. Aufgezeichnet wurden die Chromatogramme mit der Chromatographie-Software Maestro 2.3 von Chrompack, bzw. Varian (Darmstadt).

### **2.5.2.1 Kalibrierung und Bestimmung von Acetat und Propionat**

Für die Kalibrierung des Systems wurden wässrige Standards verwendet, Acetat 0.05 mM bis 1 mM ( $r = 0.995$ ); Propionat 0.05 mM bis 1 mM ( $r = 0.996$ ), deren Nachweisgrenzen demnach bei 50 pMolen liegen. Wegen immer wieder leicht veränderten Einstellungen der Gasflüsse, v.a. am Splitventil, Kürzen der Säulen und aufgrund der Abnutzung der stationären Phase im Laufe der Zeit blieb das Verhältnis von absoluter Konzentration zur absoluten Peakfläche (Response-Faktor) nicht konstant. Auch die Retentionszeiten beider Fettsäuren schwankten deshalb leicht. Deswegen wurden die Responsefaktoren und die Retentionszeiten täglich anhand eines 1 mM Mischstandards von Acetat und Propionat neu bestimmt und die Proben dazu in Relation gesetzt.

Unmittelbar vor der Messung wurden Aliquots sowohl der gemischten Standards als auch der aufgetauten Extrakte mit dem gleichen Volumen 1 %iger HCl versetzt. Nach dem Mischen mit der Salzsäure liegt der pH der zu injizierenden Probe  $< \text{pH } 1$ , wodurch gewährleistet ist, daß die Fettsäuren zu  $>99\%$  in ihrer undissoziierten Form, Essigsäure ( $\text{pKs } 4.76$ ) und Propionsäure ( $\text{pKs } 4.88$ ) vorliegen, die zur gaschromatographischen Bestimmung geeignet ist.

## **2.6 Kalorespirometrie: Die simultane Bestimmung der Wärmeproduktion (Kalorimetrie) und des Sauerstoffverbrauches (Respirometrie)**

### **2.6.1 Kalorimetrie: Wärmeabgabe als Maß für die Stoffwechselaktivität**

Als heterotrophe Organismen gewinnen alle Tiere die zum Leben, Wachsen und Fortpflanzen notwendige Energie aus reduzierten Verbindungen, die sie ihrer Umwelt als Nahrung entnehmen müssen. Um deren Energie unabhängig von der Zeit der Nahrungsaufnahme nutzen zu können, werden die Nährstoffe im Katabolismus aufgeschlossen und zu Speichersubstraten, also v.a. Glykogen und Fett umgewandelt. Zentrales Medium der Energietransformation im Stoffwechsel ist das ATP. Oft auch als Energiewährung des Organismus bezeichnet, sind die energiereichen Anhydridbindungen des ATP wichtigster Zwischenspeicher der aus den Speichersubstraten gewonnenen Energie. Ihre Synthese, v.a. bei der oxidativen Phosphorylierung im Mitochondrium, ermöglicht den „Transport“ der darin gebundenen Energie zu den Orten in der Zelle, wo sie zum Aufbau von hochmolekularen Verbindungen, zur mechanischen (Muskel) oder elektrischen (Nerven) Arbeit oder zum aktiven Transport durch Membranen (Ionenkanäle) benötigt wird. Hier wird in Reaktionen, die in der Regel an die Hydrolyse einer Anhydridbindungen des ATP gekoppelt sind, deren chemische Energie für

den Organismus nutzbar, z.B. zu seiner Erhaltung, für Aktivität oder für die Synthese von Verbindungen.

Als Maß für den Energiegehalt einer Substanz gilt ihre Verbrennungsenthalpie  $\Delta H^0$ , also die Enthalpiedifferenz zwischen den Edukten und den Produkten einer vollständigen Oxidation. Alle Energieumwandlungen eines Organismus sind mit einer Wärmeabgabe verbunden. Die Enthalpiedifferenz bei der Umsetzung körpereigener Speichersubstanzen in ihre Endprodukte (v.a.  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$ ) ist gemäß dem Hess'schen Satz immer gleich, unabhängig von den eingeschlagenen Stoffwechselwegen (Wieser 1986). Welche Wege der Substratoxidation bestritten und welche Formen der Zwischenspeicherung (z.B. ATP) der im Substrat gebundenen Energie gewählt werden, bestimmen die Effizienz des Energiestoffwechsels. Die Summe der einzelnen Enthalpiedifferenzen aber ist, ausgehend von einem bestimmten Substratmolekül (z.B. Glucose), am Ende aller Umsetzungen immer gleich (z.B.  $-2837 \text{ kJ mol}^{-1}$  Glucose) und wird als Wärme frei. Eine erhöhte Substratumsetzung hat demnach eine erhöhte Wärmeabgabe zur Folge, die mit einem geeignetem Kalorimeter unmittelbar messbar ist. Somit stellt die Kalorimetrie eine Methode zur integrativen Erfassung des Energiestoffwechsels dar. Mit der direkten Kalorimetrie integriert man also die Summe aller Enthalpieänderungen eines Organismus (Gnaiger et al. 1989) oder auch einer ganzen Lebensgemeinschaft, z.B. in Mikrohabitaten in Sedimenten (Widdows 1987). Dabei sind drei Aspekte besonders interessant:

- Umweltbedingte Anpassungen des Stoffwechsels, z.B. bei Schadstoffexposition oder Sauerstoffmangel
- Verhaltensbedingte Unterschiede der Wärmeabgabe, z.B. zwischen Ruhephasen und Aktivitätsphasen, bei Bewegung oder Biorhythmen
- Untersuchungen von Energie-Bilanzen durch simultane oder parallele Messungen anderer stoffwechselrelevanter Parameter, v.a. Sauerstoffverbrauch, ATP-turnover oder Konzentrationen anaerober Metabolite (Gnaiger et al. 1989).

Als unspezifische Methode gibt die Kalorimetrie allerdings nur Auskunft über den Gesamtzustand des gemessenen Systems. Will man aber den Einfluß bestimmter Anteile dieses Systems betrachten, muß man weitere Parameter hinzuziehen. Zusätzliche Anwendungen der Kalorimetrie findet man in der Toxikologie, z.B. zur Bestimmung optimaler Konzentrationen von Stoffen zur Bekämpfung von Mikroorganismen, sogenannten "slimicides" (slime: Bakterien, Hefen, Schimmelpilze und Algen), in der Papierindustrie (Widdows 1987), bei der Un-

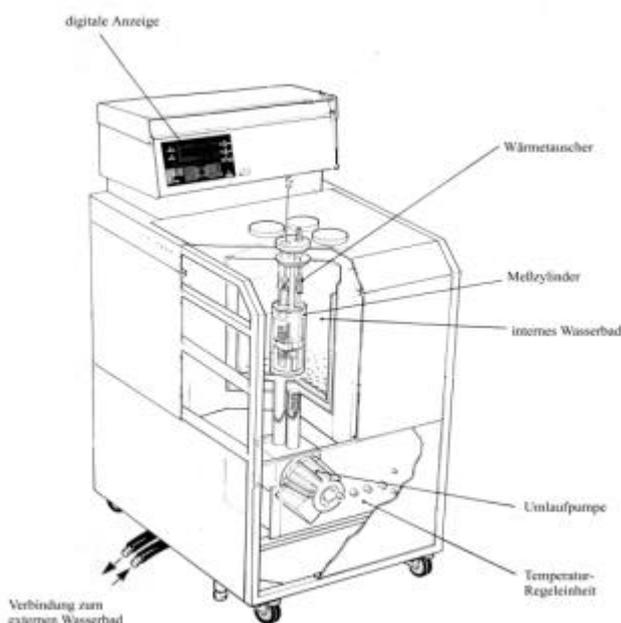
tersuchung von Klärschlämmen (Aulenta et al. 2002) oder bei Stabilitätsnachweisen von Medikamenten in der Pharmazie oder anderer Substanzen (z.B. Sprengstoffe) in der Industrie.

### 2.6.1.1 Der Thermal Activity Monitor (TAM)

Gemessen wurde die Wärmetönung von *C. fluminea* mit dem Thermal Activity Monitor (TAM) LKB 2277 von Thermometric, Järfälla, Schweden (Abb. 2.2). Der TAM gehört in die Gruppe der isothermen Wärme(ab)leitungs-Kalorimeter ("heat conduction calorimeter"), deren Prinzip schon Lavoisier zur Messung der Wärmeabgabe von Meerschweinchen durch schmelzendes Eis nutzte (Lavoisier 1780).

Mittels eines thermostatisierten 25 L Wasserbades wird die unmittelbare Umgebung der Meßkammer temperaturkonstant ( $\pm 2 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}$ , Herstellerangaben) gehalten. In dem Wasserbad befinden sich die Meßzylinder, in welche die Perfusionsysteme ("2250 111" 4 mL Glas-, bzw. "2254 001" 20 mL Edelstahlmeßkammern, beide von Thermometric) eingelassen werden. Wärmetauscher an den Durchflußsystemen sorgen dafür, daß das perfundierende Wasser die Meßkammer mit Versuchstemperatur erreicht. Über Peltier-Elemente wird die vom Tier in der Meßkammer abgegebene Wärme in Metallblöcke geleitet, die als "Wärme-Fallen" (heat sinks) dienen. Dieser Wärmefluß über die Halbleiter-Metalle der Peltier-Elemente erzeugt ein Spannungssignal (Seebeck-Effekt), das direkt proportional zum Temperaturunterschied ( $\Delta T$ ) zwischen Meßkammer und Wärmefalle ist (Calvat & Prat 1963; Gnaiger et al. 1989, Koop 1994). Eine Referenzkammer ohne Tier dient zur Korrektur aller nicht

vom Tier verursachten Schwankungen der physikalischen und chemischen Parameter. Die Spannungen von Probe und Referenz werden umgekehrt in Reihe geschaltet und so direkt das Differenzsignal aufgezeichnet (Twin-Prinzip). Somit ist eine Meßgenauigkeit von  $10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}$  möglich, was einer Leistung von weniger als 1  $\mu\text{W}$  entspricht, daher auch der Ausdruck Mikrokalorimetrie (Gnaiger et al. 1989).



**Abb. 2.2:** Der Thermal Activity Monitor (TAM) von Thermometric

Zur Kalibrierung des Kalorimeters werden definierte Ströme über einen im Meßzylinder integrierten elektrischen Widerstand geleitet und so definierte Wärmemengen erzeugt, mit denen das Kalorimeter im Bereich von 3 - 3000  $\mu$ W kalibriert wird. Anhand der Kalibrierungen wurde auch die Zeitkonstante  $\hat{\tau}$  des Gerätes bestimmt, die ein Maß für die "Verschmierung" des Wärmesignals ist. Zu dieser Verschmierung kommt es, da die Peltier-Elemente nicht unmittelbar mit der Probe in Kontakt stehen. Die dazwischenliegenden Medien, wie z.B. die Meßkammerwand, mit ihren spezifischen Wärmeleitfähigkeiten, verzögern die Aufzeichnung des Wärmeflusses. Weil aber gemäß den Gesetzen der Thermodynamik Wärme nicht verloren geht, verschiebt sich die Kurve entsprechend der Zeitkonstanten ( $\hat{\tau}_{90}$  ca. 15 min, 100  $\mu$ W Kalibrierung im 4 mL-System;  $\hat{\tau}_{90}$  ca. 45 min, 300  $\mu$ W Kalibrierung im 20 mL-System) und kurzfristige Impulse erscheinen mit einer reduzierten Amplitude. Die Wärmemenge, die der Fläche unter der Kurve entspricht, ist unabhängig von der Zeitkonstanten und da die Wärmeraten über wesentlich längere Zeiträume aufgezeichnet und integriert wurden, ist auf eine dynamische Korrektur der Signale verzichtet worden.

### **2.6.2 Respirometrie: Sauerstoffverbrauch als Maß für die Stoffwechselaktivität (indirekte Kalorimetrie)**

Unter der Voraussetzung, daß der Stoffwechsel vollkommen aerob gedeckt wird, was z.B. in den allermeisten Fällen auf Wirbeltiere zutrifft, kann man mit dem Sauerstoffverbrauch unmittelbar die Stoffwechselintensität eines Organismus messen. Das zur Aktivität benötigte ATP wird, bis auf wenige ATP aus Substratkettenphosphorylierungen, durch die oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien bereitgestellt. Um den hierzu notwendigen Protonen-Gradienten über der inneren Mitochondrienmembran aufzubauen, müssen die aus der Substratoxidation stammenden Elektronen die Atmungskette im Mitochondrium durchlaufen, deren Endakzeptor schließlich molekularer Sauerstoff ist, der dabei selbst zu Wasser reduziert wird. Ein erhöhter Substratumsatz aufgrund erhöhten ATP-Bedarfs hat also einen erhöhten  $O_2$ -Verbrauch zur Folge, der somit ein Maß für die Intensität des aeroben Metabolismus ist. Da bei der Oxidation von ein Mol Glucose, wie aus der Verbrennungskalorimetrie bekannt ist, ziemlich genau 2840 kJ Wärme frei wird und 6 Mole Sauerstoff verbraucht werden, konnte man schon früh sogenannte oxykaloische Äquivalente bestimmen (2837 kJ bei 6 Mol  $O_2$  entsprechen also 473 kJ mol<sup>-1</sup>  $O_2$ ). Mit Hilfe dieser oxykaloischen Äquivalente kann man somit auf indirektem Wege die benötigte, bzw. verbrauchte Stoffwechselenergie quantifizieren: indirekte Kalorimetrie. Je nach Speichersubstrat, Zucker, Proteine oder Fette, unterscheiden sie sich leicht und liegen zwischen 478 und 445 kJ mol<sup>-1</sup>  $O_2$  (Wieser 1986; Gnaiger et al. 1989). Werden Wärmedissipation und Sauerstoffverbrauch simultan gemessen, kann

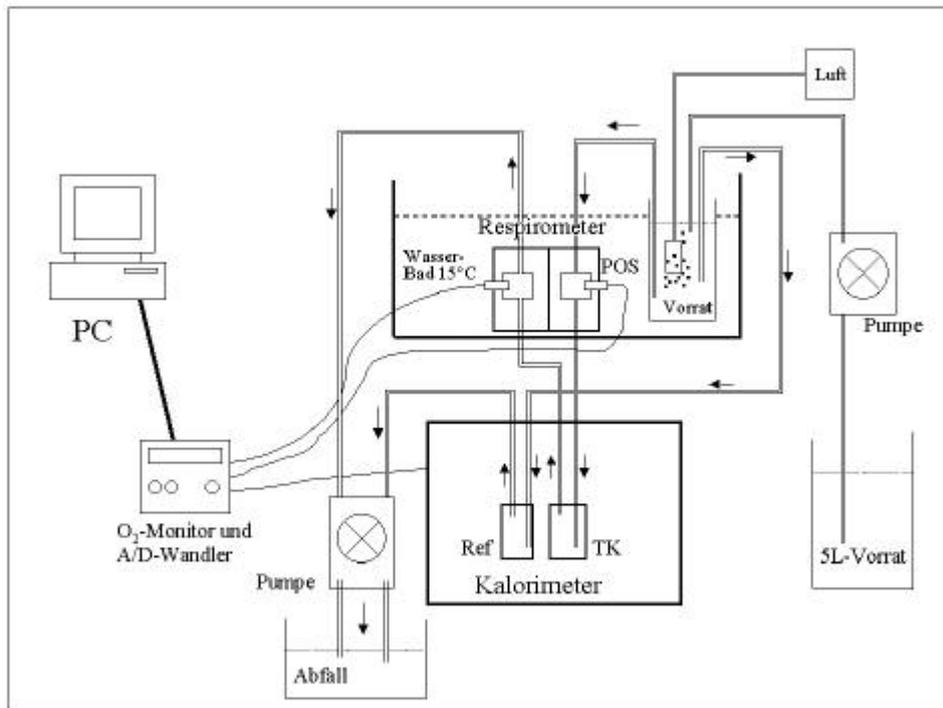
man den kalorisch-respirometrischen Quotienten, CR-Ratio, bestimmen (Wärmerate / O<sub>2</sub>-Verbrauchsrate). Dessen Wert resultiert in der Regel aus der Oxidation unterschiedlicher Speichersubstrate und liegt bei rein dissimilatorischen Metabolismus folgerichtig zwischen den oben genannten oxykalorische Äquivalenten. Gnaiger (1983b) gibt als Näherungswert unter biologischen Bedingungen 450 kJ mol<sup>-1</sup> O<sub>2</sub> an. Umgekehrt kann man nun diesen „Mischwert“ heranziehen, um die Raten aus direkter und indirekter Kalorimetrie zu vergleichen. Sollte die metabolische Rate der direkten Kalorimetrie größer sein, entstammt die Differenz anaeroben Stoffwechselwegen.

### 2.6.2.1 Das Twin-Flow Respirometer

Im Durchfluß betriebene Respirometer, wie das Twin-Flow von Cyclobios (Innsbruck), haben im Vergleich zu den geschlossenen Respirometern zwei entscheidende Vorteile: Es sammeln sich keine giftigen Stoffwechselprodukte an und es kommt bei genügend hohem Durchfluß zu keiner selbstinduzierten Hypoxie in der Meßkammer. Zudem kann man die äußeren Bedingungen (pO<sub>2</sub>, Temperatur, Schadstoffe,...) beliebig verändern ohne die Meßkammer zu öffnen (Gnaiger, 1983a). Unter diesen Bedingungen kann das Volumen der Tierkammer sehr klein gehalten und dennoch über sehr lange Zeiträume verlässlich gemessen werden. Schon 1914 berechneten Ege und Krogh in Experimenten mit Goldfischen deren Sauerstoffverbrauch in offenen Systemen, indem sie den Sauerstoffgehalt des einfließenden und des ausströmenden Wassers bestimmten. Das Twin-Flow Respirometer besitzt zwei Meßkammern mit je einem polarographischen Sauerstoffsensor (POS; Orbisphere, Genf), so daß kontinuierlich vor (Kalibrierposition) und hinter dem Tier (Meßposition) die O<sub>2</sub>-Konzentration des Wassers gemessen werden kann. Mit einem Vierwegehahn ist es möglich die Position der Sensoren zu vertauschen, wodurch eine ständige Kontrolle der Basislinien-drift und der Sensorfunktion gewährleistet ist, ohne dabei den Fluß durch die Tierkammer zu unterbrechen. Zudem bleibt so die Fließrichtung während des gesamten Experimentes unverändert (Gnaiger, 1983 a, Schneider 1995).

### 2.6.3 Versuchsaufbau

Die typische Fließstrecke bei einem kalorespirometrischen Experiment ist schematisch in Abb. 2.3 dargestellt, Abb. 2.4 zeigt ein Foto der Apparatur:



**Abb. 2.3:** Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der kalorimetrischen Experimente. Die Pfeile zeigen die Fließrichtung des SSW an. TK: Tierkammer; Ref: Referenzkammer (Details s. Text)

Von einem unmittelbar am Respirometer befestigten Reservoir, das untergetaucht in einem auf 15°C temperierten Wasserbad stand, gelangt das Wasser zum ersten Sauerstoffsensoren (Kalibrierposition), von dort durch die Aquarienwand über eine wassergekühlte Stahlkapillare zum Perfusionssystem des TAM. Durch dessen innere Kapillare geht es hinab zur Tierkammer, an der äußeren Kapillare hinaus, wieder durch eine gekühlte Stahlkapillare zum zweiten POS des Respirometers. Eigens für diese Apparatur wurde die wassergekühlte Verbindung zwischen dem Respirometer und dem Kalorimeter konstruiert (Abb. 2.4). Sie erfüllte zwei unverzichtbare Aufgaben: Erstens verkürzt sie erheblich die Fließstrecke und zweitens zeigte sich, daß bei längeren Schlauchwegen durch die wärmere Raumluft Luft im perfundierenden Wasser ausgasst und eine Sauerstoffmessung über mehrere Tage unmöglich wird. Schließlich endete das hydrostatisch perfundierende Wasser, über eine bremsende Peristaltikpumpe (IPC von ismatec, Zürich, Schweiz), in einem Abfallgefäß. Durch die tiefe Position der Pumpe am Ende der Fließstrecke wird eine möglichst pulsarme Perfusion des gesamten Systems erreicht. Perfundiert wurde ein vorab filtriertes (45 µm Celluloseacetat-Filter, Sartorius) standardisiertes Süßwasser, das im Reservoir des Respirometers stetig belüftet wurde. Die Fließgeschwindigkeit betrug, je nach verwendetem System, zwischen 14 - 20 mL h<sup>-1</sup> (4 mL Kammer) bzw. 30 - 40 mL h<sup>-1</sup> (20 mL Kammer) und wurde täglich mindestens einmal gravi-

metrisch bestimmt. Eine zweite Peristaltikpumpe (Pumpe P1 von Pharmacia, Uppsala, Schweden) füllte aus einem 5 L Vorrat kontinuierlich das Reservoir im Wasserbad. Für alle nicht vermeidbaren Übergänge der Fließstrecke wurde gasdichter Schlauch (Tygon<sup>®</sup> oder Viton<sup>®</sup>, Novodirect, Karlsruhe) verwendet.

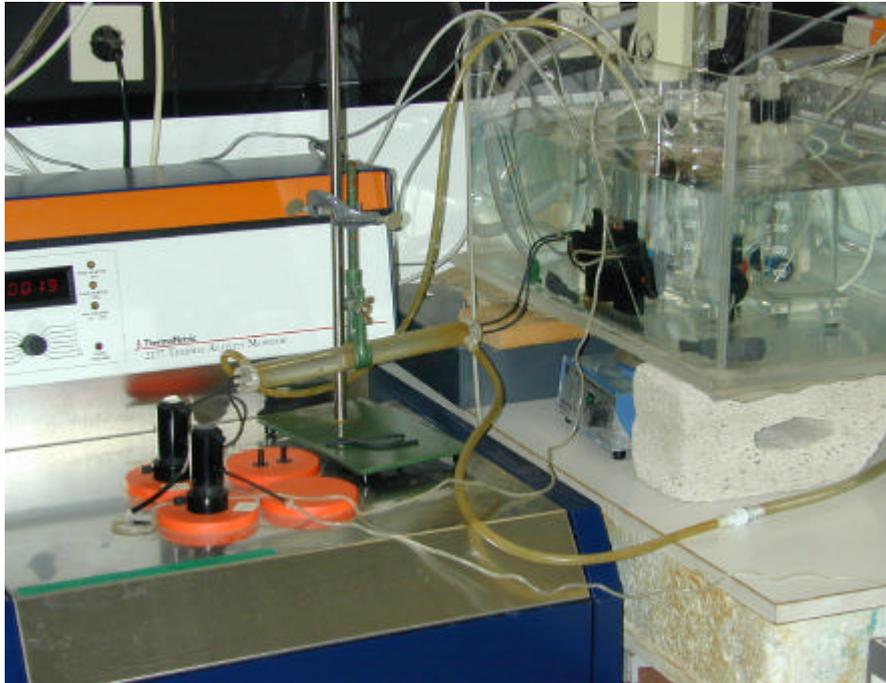


Abb. 2.4

Versuchsaufbau zur Kalo-  
respirometrie:

Rechts das Respirometer mit Reservoir im Wasserbad, links der TAM mit eingesetzten Perfusions-systemen. Wassergekühlte Stahlkapillaren verbinden Kalorimeter und Respirometer

#### 2.6.4 Versuchsprotokoll

Jedes Experiment begann mit einem Vorlauf, in dem sowohl das Kalorimeter als auch das Respirometer kalibriert wurden. 12 bis 24 h darauf wurde ein Tier eingesetzt und dessen Wärmedissipation und Sauerstoffverbrauch aufgezeichnet und anschließend das Durchflusssystem wiederum leer für mindestens 12 h in einem Nachlauf weiterbetrieben. Aus den Werten des Vor- und Nachlaufes konnte die Blind- oder Bakterienrate des Systems bestimmt werden. Aufgrund der langen Messzeiten (6 – 37 Tage) war diese Prozedur unumgänglich, um so die Wärme, die von den an Schlauch- und Kapillarwänden wachsenden Bakterien produziert wurde, abschätzen zu können. Die Interpolation der Raten aus Vorlauf und Nachlauf stellt die bestmögliche Näherung dieser Bakterienraten da, die anschließend vom Gesamtsignal der Messung mit Tier subtrahiert wurde. Entsprechendes gilt für den Sauerstoffverbrauch. Zudem konnte so eine eventuelle Basisliniendrift des Meßsystems in die Auswertung mit einbezogen werden. Die verbleibenden Raten wurden auf das Trockengewicht des Weichkörpers bezogen, wozu der Weichkörper 48 h bei 80°C getrocknet wurde.

### **2.6.5 Datenaufzeichnung und –bearbeitung**

Alle Daten wurden sowohl analog mit yt-Schreibern (Kalorimeter BD40; Respirometer BD112 von Kipp & Zonen, Solingen) als auch Digital mit dem PC erfasst. Dazu wurden die Spannungssignale beider Geräte im Twin-Flow-Monitor (Cyclobios, Innsbruck, Österreich) des Respirometers digitalisiert und jeweils über zwei Minuten gemittelte Werte mit einer Akquisitionsoftware (Datgraf-Acquisition AQ 1-4, Cyclobios) gespeichert. Zusätzlich lieferte der interne Druckmesser des TF-Monitors alle 10 min ein Datum zum aktuellen Luftdruck, der ebenfalls über die Akquisitionsoftware erfasst wurde. Bearbeitet wurden diese Rohdaten anschließend mit der Auswerte-Software „Datgraf 2.1 Analysis“ (© 1993 Michael Reck) von Cyclobios.

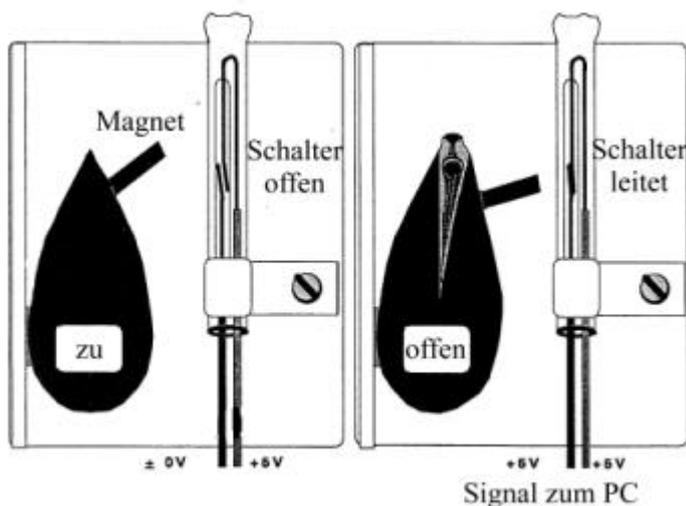
### **2.7 Aufzeichnung der Schalenbewegungen**

Im Zuge der permanenten Gewässerüberwachung, z.B. durch das Landesumweltamt (LUA), werden physikalische und chemischen Parameter, wie Wasserabfluß, Temperatur, pH, Leitfähigkeit, Sauerstoffkonzentration kontinuierlich erfasst. Zusätzlich erfolgt eine weitergehende Analyse der Chlorophyllkonzentration, des Gesamtkohlenstoff (TOC Total Organic Carbon), der Nährstoffkonzentrationen (u.a. Phosphate und Stickstoffverbindungen: Ammonium, Nitrat) und toxikologisch relevanter Fremdstoffe (Schwermetalle, organische Chlorverbindungen, Pflanzenschutzmittel, etc.) in regelmäßig entnommenen Wasserproben (Gewässergütebericht, DK Rhein 2000). In den letzten Jahren ergänzen immer mehr biologische Testverfahren im sogenannten Biomonitoring die zeitnahe Gewässerüberwachung. Ziel des Biomonitorings ist das frühzeitige Erkennen schlechter Lebensbedingungen in den Gewässern durch stressbedingte Verhaltensänderungen der eingesetzten Überwachungsorganismen, wie z.B. das zunehmende Fluoreszieren von Algen, die vermehrte Schwimmaktivität von Daphnien oder das Schalenschließverhalten von Muscheln (Schmitz-Möller & Krebs 1994). Großer Vorteil dieser biologischen Systeme ist, daß sie die synergistische Wirkung vieler Parameter testen und integrativ erfassen, lange bevor ein einzelner Schadstoff als toxisch für das Gewässer erkannt werden kann: „Aquatic biological Early Warning Systems“ (Kramer & Botterweg 1991). Im Falle der Muscheln in der Gewässerüberwachung, macht man sich deren schützendes Schließen der Schalen bei Gefahr zunutze, indem man annimmt, daß sie zu ganz überwiegenden Teil unter günstigen Lebensbedingungen die Schalen geöffnet haben.

### 2.7.1 Der Dreissena-Monitor<sup>®</sup> in Bad Honnef

Die im deutschen als Wandermuschel bekannte *Dreissena polymorpha*, auch Dreikant- oder Zebramuschel genannt, gab dem Muschelmonitor der Firma Borcharding & Volpers GbR ENVICONTROL (Köln) den Namen. Heute ist er bereits in vielen Ämtern entlang des Rheins, der Elbe, der Donau und der Weser im Einsatz (DK Rhein 2001).

An den Gewässerkontrollstationen wird permanent Wasser des zu überwachenden Flusses in eine Fließrinne gepumpt, um pegelunabhängig kontinuierlich Wasseranalysen anstellen zu können. Aus diesem Bypass werden auch die zwei parallel durchflossenen Rinnen gespeist, in denen jeweils eine Haltevorrichtung des Dreissena-Monitors<sup>®</sup> eingehängt ist. Beide tragen jeweils 42 Muscheln, wobei jede so mit einer Schalenhälfte an Plastikplättchen geklebt wird (BlitzGel von Pattex, Henkel, Düsseldorf), daß sie sich gegenseitig nicht beeinflussen können. An die frei bewegliche Schalenhälfte der Tiere wird ein Magnet angeklebt, der sich beim Öffnen der Muschel einem gegenüber angebrachten Reed-Schalter so nah annähert, daß dessen Stromkreis geschlossen wird (Abb. 2.5). Beim umgekehrten Vorgang geht der Draht im Schalter wie bei einer Büroklammer auseinander und der Stromfluß ist unterbrochen.



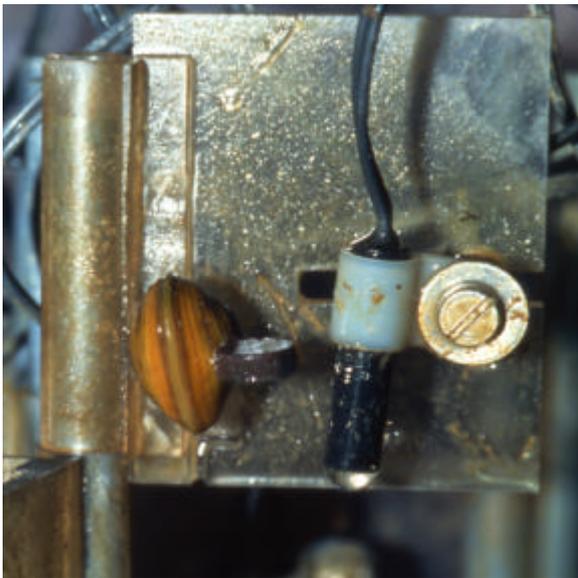
**Abb. 2.5:**

Messprinzip des Dreissena-Monitors<sup>®</sup>, bei geöffneten Schalen wird ein Spannungssignal aufgezeichnet (Abb. aus dem Benutzerhandbuch 1993)

Die Spannungssignale der 84 Reed-Schalter werden über einen A/D-Wandler ununterbrochen einem Rechner zugeführt und aufgezeichnet. Falls alles korrekt aufeinander abgestimmt ist, kann der Monitor also zwischen geöffneten und geschlossenen Zustand jeder einzelnen Muschel unterscheiden. Diese zur weiteren Verarbeitung günstige Ja/Nein-Antwort wird über eine Auswerte-Software aufgezeichnet, analysiert und bewertet. Zwei Kriterien des Schalenschließverhaltens nutzt der Dreissena-Monitor<sup>®</sup> dabei zur Beurteilung des Gewässer-

zustandes, bzw. zur Beurteilung der Abweichung vom „Normalverhalten“ der Tiere: Die Anzahl der Bewegungen in einem Zeitintervall und den Anteil geöffneter Tiere der „Messpopulationen“. Unter Schadstoffeinwirkung nimmt die Anzahl der Schließbewegungen zunächst zu, schließlich bleiben die Tiere über längere Zeit ganz geschlossen. Beide Signale können gegebenenfalls zu einen Gewässeralarm herangezogen werden (Borcherding & Wolf 2001).

Parallel zu dem in Bad Honnef im Routinebetrieb befindlichen Dreissena-Monitor<sup>®</sup> des Landesumweltamtes, konnte für diese Arbeit zusätzlich eine etwas kürzere Variante gleiche Durchflußrinne eingesetzt werden. 2 x 17 Meßplätze wurden mit *C. fluminea* besetzt



(Abb. 2.6) und deren Schließverhalten von August 1997 bis August 1999 aufgezeichnet, nur unterbrochen von einigen Pumpenausfällen, v.a. während eines Rohrbruches (Okt/Nov.1997) und eines Hochwassers im Februar und März 1999.

**Abb. 2.6:** *C. fluminea* mit Reed-Schalter an der Halterung des Dreissena-Monitors<sup>®</sup>

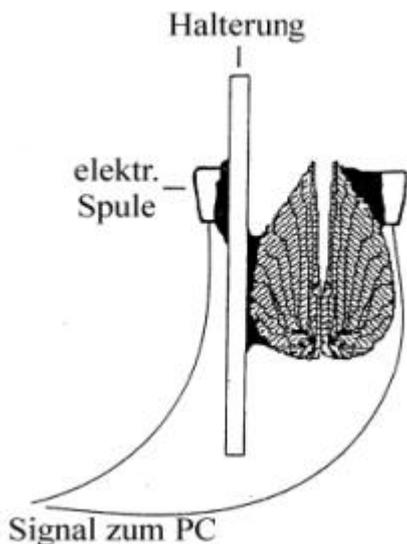
In wöchentlichen Besuchen in Bad Honnef wurden schlecht justierte oder vom Programm fälschlicherweise ausgeschlossene Tiere neu eingestellt, sowie verstorbene Individuen ersetzt. Außerdem wurden Rinnen, Halteplättchen und Tiere gereinigt, da neben angeschwemmten Sedimenten v.a. im Sommer 1999 überwachsene Bryozoen das Verhalten der Muscheln erheblich beeinflussen konnten.

### **2.7.1.1 Datenbearbeitung**

Bei der wöchentlichen Wartung wurden die Daten kopiert, in asci-files umgewandelt und ausgewertet, die Darstellung erfolgte mit SigmaPlot 4.0 (Jandel Scientific, Erkrath). Die Daten falsch justierter oder vom Programm fälschlicherweise der Auswertung entzogener Tiere wurden neu bewertet. Die Schalenbewegungen jedes Einzeltieres und das Verhalten beider „Messpopulationen“ wurde in wöchentlichen Abbildungen dargestellt (z.B. Abb. 3.14).

### 2.7.2 Der Mosselmonitor®

Auch beim Mosselmonitor® (Delta Consult, Kapelle, Niederlande) werden die Muscheln, je nach Version 8 bis 16 Tiere, auf Haltevorrichtungen geklebt und diese entweder in Durchflussrinnen installiert oder direkt vor Ort eingesetzt z.B. mit *Mytilus edulis*, der Miesmuschel, als Testorganismus an Ölbohrtürmen in der Nordsee. Im Gegensatz zum Dreissena-Monitor® beschränkt sich die Aussagekraft des Mosselmonitors® nicht auf die Frage, ob die Muscheln geöffnet sind oder nicht, sondern gibt zusätzlich Informationen darüber wie weit die Schalen der Tiere auseinander stehen. Dazu werden auf beiden Schalenseiten elektrische Spulen angeklebt (Abb. 2.7 und 2.8) und mittels eines hochfrequenten Spannungssignals an einer der Spulen ein Magnetfeld induziert, dessen Feldstärke in einem bestimmten Bereich linear mit der Entfernung abnimmt. Hier sollte sich bei guter Installation die zweite, empfan-



gende Spule befinden, in der das Magnetfeld wiederum eine Spannung induziert, die proportional zur Entfernung beider Spulen voneinander und somit zur Öffnungsweite der Muschel ist. Diese Spannungssignale der acht Versuchstiere werden digitalisiert und alle 60 s aufgezeichnet und gespeichert.

**Abb. 2.7:** Befestigung der Muscheln im Mosselmonitor (nach Hoffmann et al. 1994, Erläuterungen s. Text)

Eine zugehörige Software erlaubt auch beim Mosselmonitor® die automatische Evaluierung der Muschelbewegungen als biologisches Frühwarnsystem. Im Gegensatz zum Dreissena-Monitor® läßt sie dem Anwender allerdings größere Freiheiten beim Festlegen der alarmierenden Schwellenwerte. Ganz ähnlich zum Dreissena-Monitor® gehen auch hier die Konstrukteure davon aus, daß die Muscheln im „Normalfall“, also bei guten Umweltbedingungen die Schalen geöffnet haben. Häufiges, kurzzeitiges Öffnen und Schließen der Schalen (flapping), sowie das Schließen der Schalen über längere Zeit sind als Reaktionen auf Schadstoffe vielfach dokumentiert (Jenner et al. 1989).

### 2.7.2.1 Der Mosselmonitor<sup>®</sup> in Koblenz

In Koblenz wird der Mosselmonitor<sup>®</sup> schon seit einigen Jahren im Biomonitoring des Rheins von der Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) eingesetzt. Auch hier haben Hoffmann et al. (1994) bereits Verhaltensänderungen von *D. polymorpha* unter Schadstoffbelastung nachgewiesen. Für die vorliegende Arbeit wurde ein Haltereichen des Mosselmonitors<sup>®</sup> mit *C. fluminea* besetzt, der zweite verblieb mit *D. polymorpha* in der gleichen Durchflußrinne im Keller der BfG. Die Tiere wurden mit einem Dentalkleber (UNIFAST Trad, GC Corporation, Tokio, Japan) am Rechen angeklebt, ebenso die Spulen an den Schalen der Versuchstiere (Abb. 2.8) und ihre Schalenbewegungen von Oktober 1997 bis August 1999 aufgezeichnet. Auch hier wurde wöchentlich die Durchflußrinne kontrolliert und falls nötig gereinigt, sowie der Bewuchs an Bryozoen entfernt.

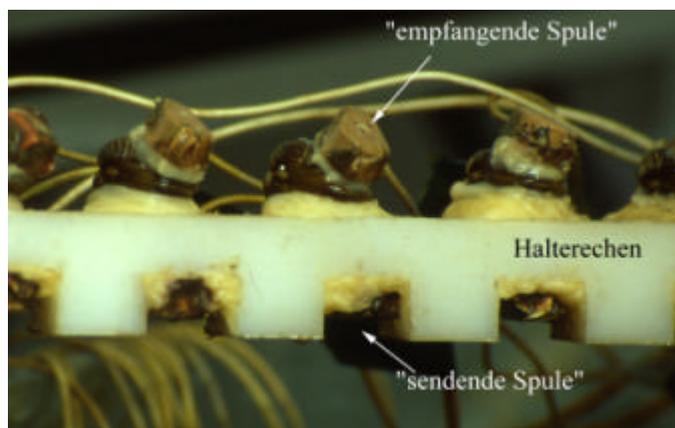


Abb. 2.8

Ausschnitt des Haltereichens mit drei der acht Körbchenmuscheln im Mosselmonitor der Bundesanstalt für Gewässerkunde (BfG) in Koblenz.

### 2.7.2.2 Der Mosselmonitor<sup>®</sup> im Labor

Eine kleinere, kompakte Laborversion für acht Tiere wurde uns von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zur Verfügung gestellt und in einer Klimakammer bei 15°C betrieben. Ca. 45 Liter des standardisierten Süßwassers (s.o.) wurden von einer Aquariumpumpe mit Filter (Eheim, Deizisau) im Umlauf gehalten und halbjährig gewechselt. Sauerstoffkonzentration (80 – 100 % Sättigung), pH (7.9 – 8.6), Leitfähigkeit (350 – 450  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ) und Nitritgehalt ( $< 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ ) wurden stichprobenartig überprüft, ihre Werte lagen nie in schädlichen Bereichen. Um Spulen und Halteplatten zu schonen, wurden sie mit Pflaster unklebt, die Tiere, *C. fluminea*, wurden wiederum mit BlitzGel (s.o.) an die Halter geklebt. Die Schalenbewegungen wurden von März 1999 bis Juni 2002 aufgezeichnet, mindestens ein mal täglich kontrolliert und in wöchentlichen Abbildungen dargestellt. So war es möglich Muscheln nach definierten Zeiträumen mit geöffneten oder geschlossenen Schale abzunehmen.

### 2.7.2.3 Datenbearbeitung

Die interne Software des Mosselmonitors<sup>®</sup> gab „relative Einheiten“ als Öffnungsweite der Muscheln an, die bei der älteren Version aus Koblenz zwischen 1000 und 3000 rE, bei der neueren Laborversion zwischen 100 und 700 rE lagen. Mit einem „Messklotz“ könnten diese rE mit mm Abstand zwischen den Spulen korreliert werden. Davon wurde aber abgesehen, da es unmöglich ist die Spulen immer exakt gleich an die gewölbten Muschelschalen zu kleben. Eine Angabe in mm Schalenöffnung konnte daher nicht erfolgen, dennoch ist mit den rE eine Auflösung im  $\mu\text{m}$ -Bereich möglich (Hoffmann et al. 1994). Wenn man die kleinsten Werte der rE bei vollkommen geschlossener Schale kennt, kann man daher sicher sagen, ob die Tiere Kontakt zur Außenwelt haben oder nicht. Ebenso ist eine Aussage über die relative Öffnungsweite möglich, zeigte sich in der Praxis aber kaum als notwendig, da meist nur zwei unterschiedliche Niveaus, offen oder geschlossen, zu beobachten waren. Mit einer Software von Delta Consult (Dualcomm) wurden die Rohdaten täglich (Mitternacht) auf einem PC zwischengespeichert, im Labor mit einem Programm von Hr. Hoffmann (BfG) vorsortiert und anschließend mit SigmaPlot bearbeitet und wochenweise dargestellt. Während die Daten aus der Klimakammer jederzeit zugänglich waren, wurden die Daten aus Koblenz in unregelmäßigen Zeitabständen von Hr. Hoffmann zum Rechenzentrum der HHU Düsseldorf übertragen und dann möglichst zeitnah ausgewertet.

## 2.8 Statistik

Alle Ergebnisse sind als arithmetische Mittel mit Standardabweichung angegeben. Signifikanzuntersuchungen wurden mit einseitiger Varianzanalyse („one way ANOVA“) durchgeführt. Waren die Daten nicht normalverteilt oder deren Varianzen ungleich, wurde stattdessen eine einseitige Rang-Varianzanalyse nach Kruskal-Wallis („Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks“) durchgeführt. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $p < 0.05$  wurden die Messwerte als signifikant verschieden bewertet und mit \* gekennzeichnet. Für diese Analysen wurde die Statistik-Software SigmaStat (Jandel Scientific, Erkrath) verwendet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Der Energiestoffwechsel von *Corbicula fluminea*

Insgesamt wurden die Stoffwechselraten von 29 Versuchstieren aufgezeichnet, zwei davon ausschließlich mittels Respirometrie, sechs mittels Kalorimetrie. Bei den restlichen 21 Muscheln wurden die Wärmedissipation und die Sauerstoffverbrauchsrate simultan gemessen (Tab. 3.1). Eine genaue Aufstellung zur Auswertung der einzelnen Versuche findet sich in den Tabellen A1 (Kalorimetrie) und A2 (Respirometrie) im Anhang.

**Tab. 3.1:** Experimente mit *C. fluminea* im Kalorimeter, 15°C in SSW

[Trockengewichte] berechnet aus:  $TG = 1.15 \cdot 10^{0.097 \cdot SL}$  (Abb. 3.5) → PCA-Extrakte

C: Kalorimetrie; R: Respirometrie; CR: Kalorespirometrie

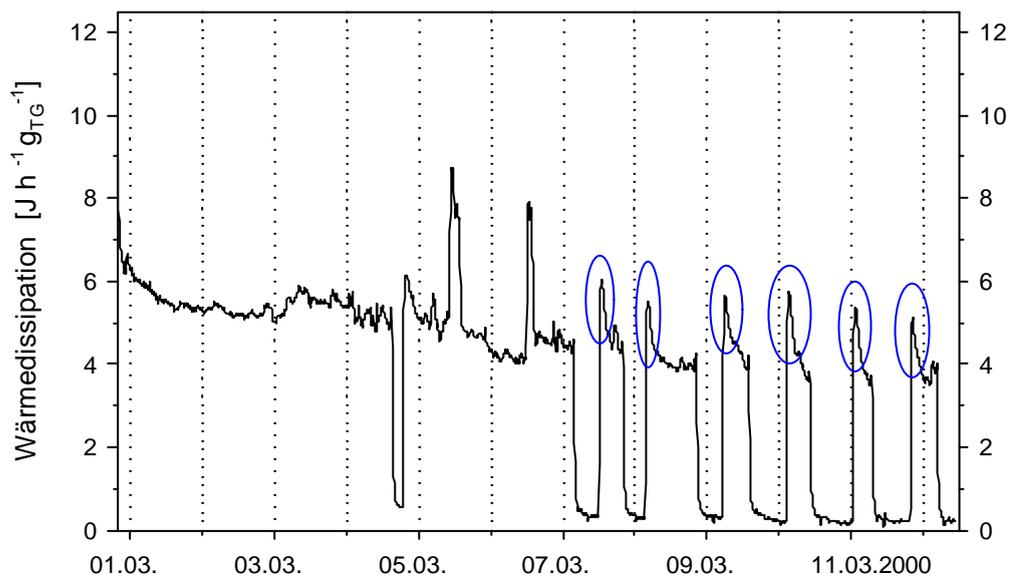
Versuch		Trockengewicht [mg]	Schalenlänge [mm]	Durchfluß [mL/h]	Versuchsdauer [Tagen]		Behandlung
Nr.	Messart				mit Tier	gesamt	
1	C	39.3	15.85	24	8	11	
2	R	34.0	15.40	23	6	[12]	
3	R	33.3	16.35	21	8	[14]	
4	C	5.2	9.55	14	3	7	
5	C	18.2	14.30	24	4	9	
6	C	17.0	13.70	23	10	13	
7	C + CR	33.3	16.35	21	8	14	
8	CR	13.4	12.90	32	3	6	
9	CR	157.0	23.55	25	8	20	
10	CR	98.8	22.50	30	11	18	
11	CR	98.5	22.65	30	12	17	
12	CR	162.8	23.85	40	13	18	15°→10°C
13	CR	278.2	25.10	40	13	20	15°→10°C
14	C	7.2	10.05	15	13	18	15°→10°C
15	CR	224.9	24.40	43	13	18	15°→10°C
16	C	10.1	10.25	14	12	16	
17	CR	149.6	23.55	29	17	23	15°→20°C
18	CR	[244.7]	24.00	30	13	17	
19	CR	[244.7]	24.00	28	27	37	
20	CR	[163.7]	22.20	33	16	21	
21	CR	[148.1]	21.75	33	12	17	
22	CR	[135.4]	21.35	32	12	14	
23	CR	[306.0]	25.00	31	6	12	
24	CR	[167.4]	22.30	32	13	18	
25	CR	[270.6]	24.45	34	8	12	
26	CR	[369.3]	25.85	34	20	31	
27	CR	161.9	22.90	34	24	29	normox→hypox
28	CR	[158.3]	22.05	35	22	19	normox→hypox
29	CR	74.9	21.65	34	18	22	normox→hypox

Versuch Nr. 2 u. 3 (nur R) in gesonderter Meßkammer im Wasserbad; Nr.7 Respirometer später hinzugeschaltet, Nr. 12 – 15 u. 17 mit Temperaturwechsel, Nr. 27 – 29 Wechsel zwischen Luft- und Stickstoffbegasung

Die meisten bisher vorliegenden Daten zum Metabolismus von Muscheln umfassen, oftmals wegen geschlossener Meßsysteme, nur kurze Zeiträume bis zu einigen Stunden und beinhalten nur sehr selten Hinweise auf eine Stoffwechselrate bei geschlossenen Schalen. Einzige mir bekannte Ausnahmen sind die kalorimetrische Arbeiten zur Stoffwechselaktivität zweier Sphaeriiden, *Sphaerium corneum* und *Pisidium amnicum*, deren metabolische Rate über 48 h normoxisch in einem statischen System und bis zu 10 Tagen im Wechsel normoxisch und nominell anoxisch im Durchfluß gemessen wurde (Holopainen & Penttinen 1993). In der vorliegenden Arbeit wurden die metabolischen Raten von *C. fluminea* über einen Zeitraum von 3 bis 27 Tagen in einem perfundierten Meßsystem aufgezeichnet. Nur unter solchen Bedingungen sind verlässliche Aussagen über die Kontinuität der Stoffwechselaktivität oder über deren veränderte Intensität in aktiven Phasen, z.B. Grabaktivitäten und Ventilation, sowie in Ruhephasen, z.B. geschlossenen Schalen, oder unter Stress, z.B. Hypoxie oder Intoxikation, möglich.

### 3.1.1 Stoffwechselraten und Aktivitätsmuster

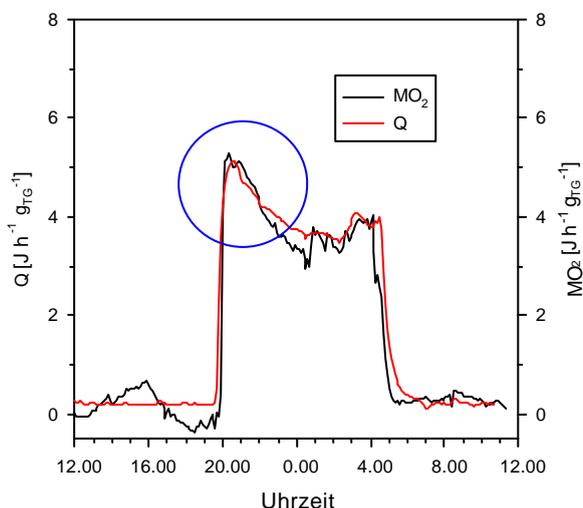
Alle Versuche zum Energiestoffwechsel von *C. fluminea* verdeutlichen, daß die Muschel einen intermittierenden Metabolismus besitzt, Phasen mit gesteigerter Wärmedissipation wechseln auch im normoxischen Wasser immer wieder mit Perioden sehr geringer Wärmeabgabe. Die Stoffwechselrate der Muschel aus Versuch # 21 (Tab. 3.1; Abb. 3.1) veranschaulicht gut die beiden unterschiedlichen Aktivitätsmuster von *C. fluminea*.



**Abb. 3.1:** Kalorimetrische Bestimmung der Stoffwechselrate von *C. fluminea* (Versuch # 21, Tab. 3.1). Die Messung erfolgte bei 15°C in luftgesättigten SSW. Gepunktete, vertikale Linien zeigen den Datumswechsel (0:00 Uhr) an. Die blauen Ellipsen heben den „Overshoot“ der Wärmedissipation hervor, der jedem Öffnen der Schalen folgt.

Es zeigten sich nur drei Stoffwechsellniveaus, die auf unterschiedliche Verhaltensmerkmale schließen lassen. Erstens eine Grundaktivität (hier ca.  $5 \text{ J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ), die je nach Aktivitätsmuster einige Stunden oder sogar mehrere Tage andauern kann. Während dieser Zeit hat die Muschel die Schalen vermutlich geöffnet und liegt ventilierend am Boden der Inkubationskammer im Kalorimeter. Zweitens eine die Grundaktivität deutlich übersteigende Wärmerate (im Bsp. Abb. 3.1 ca.  $8 \text{ J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ), die eine erhöhte Aktivität widerspiegelt, wie sie beispielsweise beim Herausstrecken des sehr muskulösen Fußes denkbar wäre. Mit Hilfe des Fußes können die Muscheln ihre Lage im Flusssediment grabend verändern und auch Nahrungspartikel aufnehmen (McMahon 2000). Unterbrochen werden die aktiven Phasen von dem dritten beobachteten Stoffwechsellniveau, bei dem die Wärmedissipation sehr gering (Abb. 3.1: ca.  $0.3 \text{ J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ ) und die Muschel wahrscheinlich geschlossen ist. Die Abfolge der aktiven und passiven Phasen ließ sich zwei unterschiedlichen Aktivitätsmustern zuordnen. Ein Muster besteht aus sehr langen, z.T. mehrere Tage andauernden Aktivitätsphasen, die meist durch kurze, wenige Stunden, manchmal aber auch ganze Tage anhaltende Ruhephasen unterbrochen werden (Abb. 3.1; erste Hälfte). Das zweite Aktivitätsmuster entspricht dem Verlauf der zweiten Hälfte von Versuch # 21 (Abb. 3.1). Aktivitäts- und Ruhephasen wechseln hier in kürzerer Abfolge, oftmals je eine pro Tag, so daß es z.T. den Anschein hat, die Muscheln unterlägen einem endogenen circadianen Rhythmus.

Beim Öffnen bzw. Schließen der Schalen ist der Übergang zwischen den unterschiedlichen Stoffwechsellniveaus ähnlich scharf ( $\delta_{90}$  ca. 45 - 60 min) wie die aufgezeichnete künstliche Wärmerate beim Starten und Stoppen einer Kalorimereichung ( $\delta_{90}$  ca. 45 min, Kap. 2.6.1.1), ganz so, als ob die Muscheln einem Schalter gleich, ihren Stoffwechsel an- bzw. abstellen könnten. Weiter war sehr auffällig, daß das Öffnen der Schalen sowohl in den Wärme- als auch in den Sauerstoffverbrauchsdaten einen „Overshoot“ der metabolischen Rate aufwies,



der dem Niveau einer gesteigerten Aktivität entspricht (Abb. 3.1. und 3.2).

#### Abb. 3.2

24 h – Ausschnitt aus Versuch # 21 (s. Abb. 3.1: 11. – 12.3.2000), Wärmedissipation  $Q$  in Rot, Sauerstoffverbrauch  $MO_2$  in Schwarz (umgerechnet mittels OE:  $450 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ O}_2$ ), der Metabolismus scheint vollständig aerob gedeckt, da beide Kurven beinahe deckungsgleich verlaufen; Overshoot mit blauem Kreis gekennzeichnet.

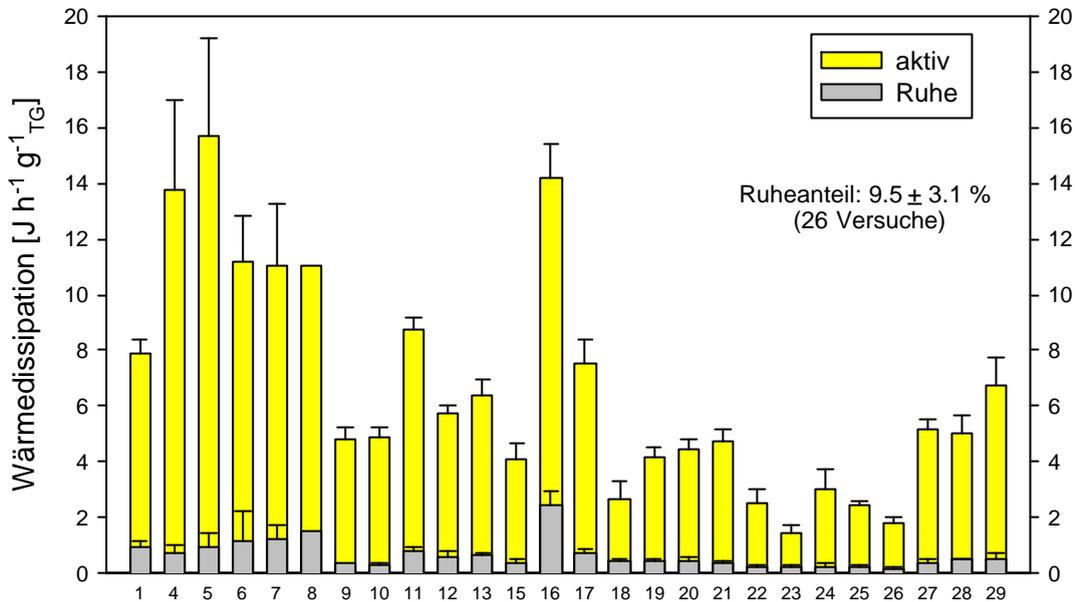
### 3.1.2 Stoffwechselraten und Wärmemengen

Hohe Stoffwechselleistungen äußern sich in einem hohen Energiefluß, direkt meßbar als dissipierte Wärmemenge pro Zeit [ $\dot{Q}$  in  $\text{J s}^{-1}$ ]. Das vom Kalorimeter aufgezeichnete Wärmeleistungssignal [ $\dot{Q}$  in  $\text{W} = \mu\text{J s}^{-1}$ ] zeigt jedoch nur die Momentaufnahme einer aktuellen Leistung und der Verlauf der Meßkurve beschreibt die Dynamik, der sich ändernden Stoffwechselleistungen (Abb. 3.1). Somit kann man Verhaltensänderungen oder Reaktionen auf veränderte Umweltbedingungen unmittelbar erkennen und beurteilen. Allerdings gibt diese aufgezeichnete Wärmerate die wirkliche Stoffwechselleistung messtechnisch bedingt (s.o.) leicht verzögert und auch in der Amplitude etwas „verschmiert“ wieder. Weil eine "Entschmierung" solcher Signale aufwendig ist, betrachtet man häufig die durchschnittlich verbrauchte Energie, hier also die dissipierten Wärmemengen, während eines definierten Zeitintervalls, um so längerfristige Veränderungen des Energiestoffwechsels zu erfassen. Wärmemengen erhält man durch Integration der aufgezeichneten Leistungskurven. Entsprechendes gilt für die Aufzeichnung der Sauerstoffverbrauchsraten ( $\mu\text{mol h}^{-1} \text{g}^{-1}$ ), deren Verschmierung maßgeblich durch das Kammervolumen und die Perfusionsgeschwindigkeit gekennzeichnet ist. Integriert man diese Raten, so erhält man die verbrauchte Menge Sauerstoff des betrachteten Zeitintervalls, die man mit Hilfe des oxykalendarischen Äquivalentes (OE:  $450 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) ebenfalls als Wärmemenge darstellen kann (Wieser 1986; Gnaiger 1983b).

### 3.1.3 Spezifische Stoffwechselraten bei geöffneten und geschlossenen Schalen

In der Literatur werden zur Quantifizierung des Energiestoffwechsels meist die stündlich dissipierten Wärmemengen bestimmt, also die aufgezeichneten Leistungskurven in Stundenintervallen integriert (Koop 1994; Schneider 1995). Um dennoch den Charakter einer Stoffwechselrate zu erhalten, werden diese „Stundenintegrale“ dann als abgegebene Wärmemenge pro Stunde in der Einheit  $\text{J h}^{-1}$  angegeben. Diese Betrachtung macht dort Sinn, wo man keine klaren Ereignisse voneinander abgrenzen kann. Wegen der scharfen Übergänge beim Öffnen und Schließen der Schalen und der sehr unterschiedlichen Stoffwechsellniveaus im geöffneten und geschlossenen Zustand, verbietet sich aber eine Integration der metabolischen Rate von Muscheln über gleichmäßige Zeitintervalle. Vielmehr muß hier eine klare Trennung und Gegenüberstellung des Metabolismus bei offenen und bei geschlossenen Schalen erfolgen. Deshalb wurden die Flächen unter jeder einzelnen Aktivitätsphase berechnet und zur entsprechenden Zeit bei geöffneter Schale in Bezug gesetzt, um so die vergleichbare Einheit  $\text{J h}^{-1}$  angeben zu können. Dabei dienten die aufeinanderfolgenden Meßpunkte mit der größten Differenz als Zeitpunkte des Öffnens bzw. Schließens der Schalen. Entsprechend wurden alle

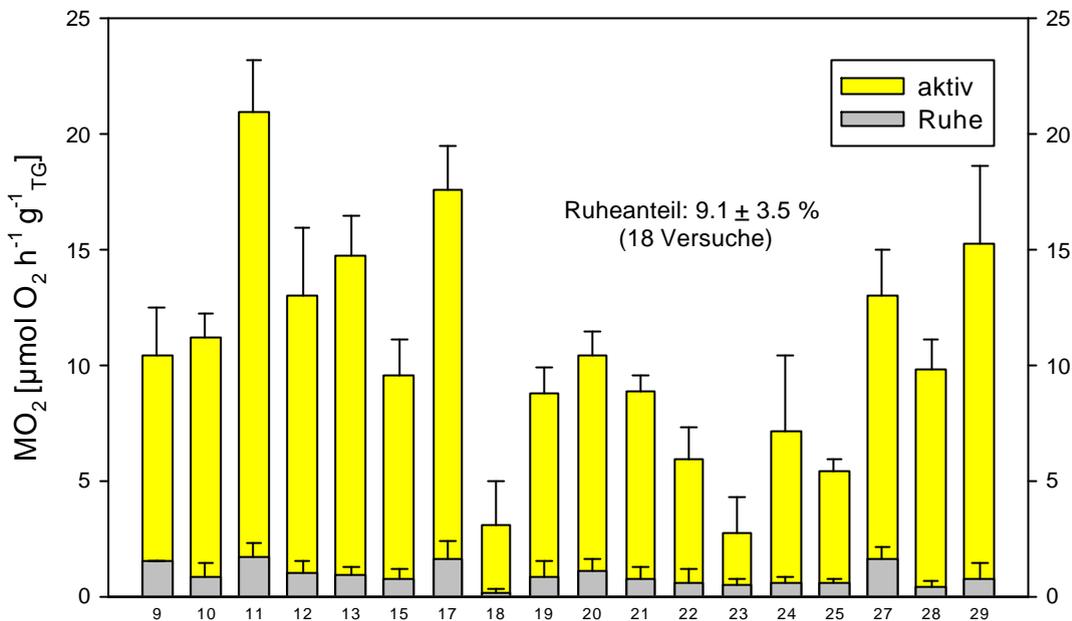
Intervalle mit geschlossener Schale und stark reduziertem Metabolismus einzeln integriert und ebenfalls in  $\text{J h}^{-1}$  angegeben und als spezifische Stoffwechselraten, bezogen auf das Trockengewicht dargestellt (Abb. 3.3).



**Abb. 3.3:** Spezifische Stoffwechselraten von *C. fluminea* bei 15°C im luftgesättigten SSW: Unter den Balken sind die Versuchsnummern aus Tabelle 3.1 angegeben. Aufgetragen sind die Mittelwerte der aktiven Perioden (gelb) und der Ruhephasen (grau) der einzelnen Experimente, die Anzahl (n) der Phasen mit geöffneter und geschlossener Schale lag zwischen 1 und 17. Im Durchschnitt der 26 Experimente betrug die Stoffwechselrate in Ruhephasen  $9.5 \pm 3.1$  % der Rate bei offenen Schalen.

Vergleicht man die Stoffwechselraten bei offenen und geschlossenen Schalen so zeigt sich über das gesamte untersuchte Größenspektrum hinweg, daß in den Ruhephasen der Metabolismus von *C. fluminea* um ca. 90% reduziert ist. Im Durchschnitt der kalorimetrischen Versuche (Tab. 3.1) beträgt die Rate bei geschlossenen Schalen gerade noch  $9.5 \pm 3.1$  % der Rate mit geöffneten Schalen (Abb.3.3). Eine solch drastische Reduktion der metabolischen Rate kennzeichnet üblicherweise eine Anpassung vieler Evertebraten unter biotopbedingten, lang anhaltenden Hypoxien und ist als „metabolic depression“ vielfach zitiert (Hochachka & Guppy 1987; Grieshaber et al. 1994; Hand & Hardewig 1996; Guppy & Withers 1999). In der vorliegenden Arbeit zeigt sich diese Reduktion allerdings schon regelmäßig unter normoxischen Bedingungen ohne erkennbaren äußeren Stress. Bisher wurde bei kaum einer anderen Tiergruppe solch eine immer wiederkehrende Reduktion der metabolischen Rate unter Normoxie festgestellt und auch bei Muscheln wurde sie selten erkannt oder beschrieben. Lediglich Holopainen & Penttinen (1993) stellten vergleichbare Ergebnisse, eine wiederholte Reduktion des Stoffwechsels auf ca. 10 % bereits unter normoxischen Bedingungen, für die beiden Sphaeriiden *Pisidium amnicum* und *Sphaerium corneum* dar und nannten sie „metabolic

quiescence“ bzw. selbstinduzierte Anoxie. Entsprechende Ergebnisse ergaben die 18 Experimenten bei denen der Sauerstoffverbrauch ausgewertet werden konnte, im Durchschnitt war der Stoffwechsel bei geschlossenen Schalen auf  $9.1 \pm 3.5 \%$  reduziert (Abb. 3.4).

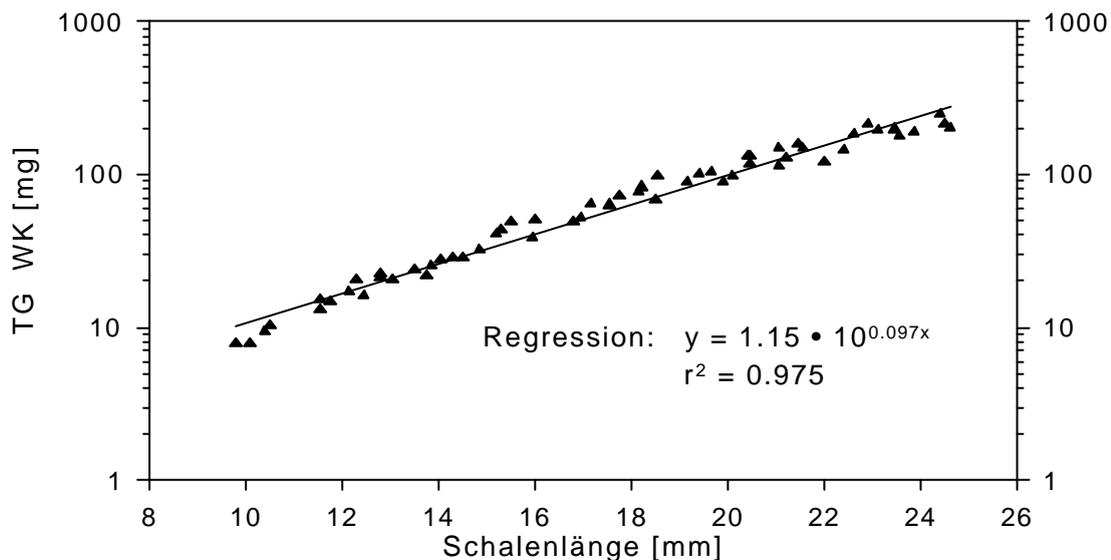


**Abb. 3.4:** Spezifische Stoffwechselraten von *C. fluminea* bei 15°C im luftgesättigten SSW: Unter den Balken sind die Versuchsnummern aus Tabelle 3.1 angegeben. Aufgetragen sind die Mittelwerte der aktiven Perioden (gelb) und der Ruhephasen (grau) der einzelnen Experimente, die Anzahl (n) der Phasen mit geöffneter und geschlossener Schale lag zwischen 1 und 17. Im Durchschnitt der 18 Experimente betrug die Stoffwechselrate in Ruhephasen  $9.1 \pm 3.5 \%$  der Rate bei offenen Schalen.

### 3.1.4 Gewichts- und Temperaturabhängigkeit der metabolischen Raten

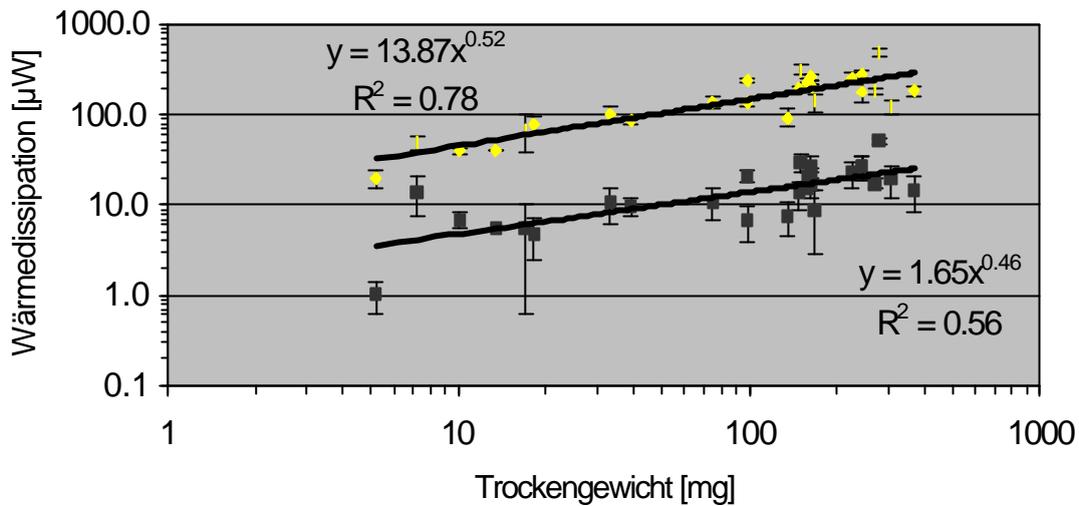
Mit zunehmender Größe der Tiere nimmt auch ihre Wärmedissipation zu. Dieser allometrische Zusammenhang zwischen metabolischer Rate und Gewicht ist inter- und intraspezifisch vielfach in Lehrbüchern dargestellt und zuletzt von Hulbert & Else (2000) in einem Review behandelt worden. Mathematisch wird er mit der Gleichung  $y = a X^b$  ( $y$  metabolische Rate,  $X$  Gewicht) beschrieben, wobei der Exponent  $b$  das Maß für die Größenabhängigkeit darstellt. Ist er gleich 1, so wäre der spezifische Stoffwechsel, also z.B. die Rate pro Gramm Körpergewicht, größenunabhängig. In vielen allometrischen Untersuchungen hat sich ein Exponent von ca. 0.75 berechnen lassen, der wohl den besten Kompromiß zwischen der dreidimensionalen Volumenzunahme einerseits und der nur zweidimensionalen Zunahme der den Metabolismus versorgenden Austauschflächen andererseits (Widdows 1987; Hulbert & Else 2000) widerspiegelt.

Da in den Experimenten # 18 – 26 und # 28 (Tab 3.1) von den Versuchstieren schnellstmöglich Perchlorsäureextrakte zur Bestimmung der anaeroben Metabolite angefertigt wurden, konnte deren Trockengewicht nicht direkt bestimmt werden. Um dennoch ihre spezifischen Stoffwechselraten so präzise wie möglich angeben und mit den Raten der anderen Tiere vergleichen zu können, wurden 58 Exemplare von *C. fluminea* hinsichtlich einer Korrelation zwischen Schalenlänge und Trockengewicht des Weichkörpers untersucht. Dazu wurden Tiere mit Schalenlängen zwischen 9.80 und 24.60 mm ausgewählt und anschließend deren Trockengewichte (7.8 – 244.5 mg) bestimmt. Wie in Abb. 3.5 dargestellt, konnte eine klare Abhängigkeit zwischen Schalenlänge und Trockengewicht des Weichkörpers gefunden werden. Sie ist mit der Gleichung  $TG [mg] = 1.15 \times 10^{0.097 SL[mm]}$  beschrieben, deren Korrelationskoeffizient  $R^2$  97.5 % beträgt. Die spezifischen Stoffwechselraten der oben genannten Versuchstiere (##18 –26, 28) wurden auf das Trockengewicht bezogen, daß sich durch Einsetzen ihrer Schalenlängen in diese Gleichung ergab (Tab 3.1).



**Abb. 3.5:** Abhängigkeit zwischen der Schalenlänge [mm] und dem Trockengewicht [mg] des Weichkörpers von *C. fluminea*, n=58. Mit der Regression wurde das TG der Tiere angegeben (Tab. 3.1), deren Gewebe für PCA-Extrakte verwendet wurde.

Aus den so berechneten und direkt bestimmten Trockengewichten läßt sich nun die gewichtsabhängige Zunahme des Energiestoffwechsels der 26 Versuchstiere im Kalorimeter darstellen, indem man deren Wärmedissipation gegen ihr Trockengewicht aufträgt (Abb. 3.6).

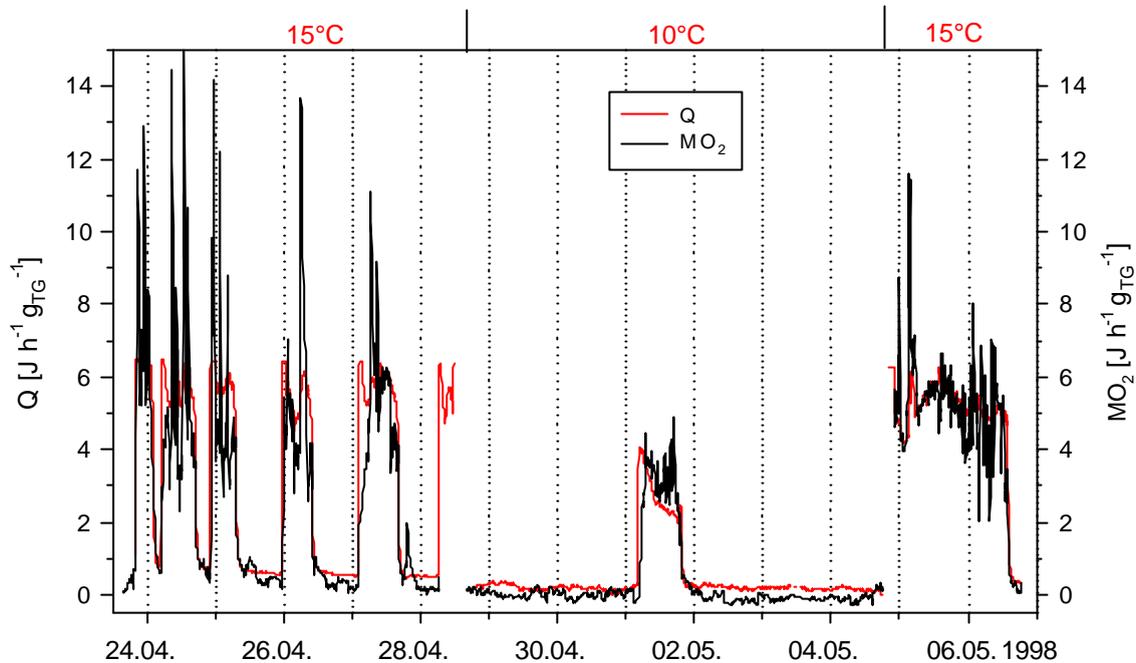


**Abb. 3.6:** Allometrischer Zusammenhang zwischen Größe und Energiestoffwechsel bei *C. fluminea* (15°C; normoxisches SSW). Die Regressionen geben die Zunahme der Wärmedissipation ( $y$  [ $\mu\text{W}$ ]) bei zunehmenden Trockengewicht des Weichkörpers ( $x$  [ $\text{mg}$ ]) wieder;  $\blacksquare$  aktiv;  $\square$  in Ruhe.

Auch *C. fluminea* folgt dem oben beschriebenen Prinzip, die Wärmedissipation nimmt sowohl in aktiven, als auch in Ruhephasen, mit steigendem Gewicht zu (Abb.3.6). Allerdings liegen beide Exponenten mit ca. 0.5 doch deutlich unter dem häufig gefundenen Wert von 0.75. Daraus läßt sich ableiten, daß bei *C. fluminea* mit zunehmenden Gewicht die spezifische Stoffwechselrate überdurchschnittlich abnimmt. Holopainen und Penttinen (1993) finden für *S. corneum* und *P. amnicum* Exponenten von 0.68, bzw. 0.75 in aktiven Phasen (10°C) und 0.96, bzw. 0.71 in Ruhe (10°C). Bei 20°C liegen deren Exponenten allerdings deutlich niedriger, zwischen 0.3 und 0.5, lediglich der Wert für *S. corneum* bei geöffneten Schalen liegt mit 0.79 im „normalen“ Bereich.

In einigen Versuchen sollte der Einfluß der Temperatur auf den Stoffwechsel von *C. fluminea* untersucht werden. Dazu wurde die Temperatur sowohl des Kalorimeters, als auch des Wasserbades in dem sich das Respirometer befand, während der laufenden Messung folgendermaßen geändert: Experimente ## 12 – 15: 15°C  $\rightarrow$  10°C  $\rightarrow$  15°C; # 17: 15°C  $\rightarrow$  20°C  $\rightarrow$  15°C, alle anderen Versuchsparameter blieben unverändert und die Muschel am Boden der Meßkammer ungestört. Aufgrund der Umstellung fehlten jeweils wenige Stunden der Übergangsphase, bis beide Geräte wieder temperaturstabil waren. Allerdings erlaubt dieses Versuchsprotokoll, die unterschiedlichen Stoffwechselraten eines einzelnen Individuums unmittelbar zu messen und zu vergleichen; beispielhaft ist in Abbildung 3.7 das Experiment # 12

gezeigt. Allgemein konnte man beobachten, daß bei niedrigerer Temperatur nicht nur die metabolische Rate sank (Tab. 3.2, Abb. 3.7), sondern auch die Frequenz der aktiven Phasen deutlich geringer war und die Perioden mit geschlossener Schale länger andauerten.



**Abb. 3.7:** Simultan bestimmte metabolische Raten in  $\text{J h}^{-1} \text{g}^{-1}_{\text{TG}}$  der Muschel aus Versuch 12 (Tab 3.1): Wärmedissipation  $Q$  in Rot, Sauerstoffverbrauch  $M O_2$  in schwarz (umgerechnet mit dem OE:  $450 \text{ kJ mol}^{-1} O_2$ ), vertikal gestrichelte Linien zeigen den Datumwechsel an. Am 28.4. ( $15^\circ\text{C} \rightarrow 10^\circ\text{C}$ ) und am 4.5.1998 ( $10^\circ\text{C} \rightarrow 15^\circ\text{C}$ ) wurde die Messtemperatur an beiden Geräten geändert, dabei wurde ununterbrochen mit belüfteten SSW perfundiert.

In diesen wenigen Versuchen zeigten sich deutliche Unterschiede in den Stoffwechselraten der untersuchten Tiere. Bereits bei einem Temperaturanstieg von  $5^\circ\text{C}$  verdoppelt sich beinahe die Wärmedissipation der Muscheln bei geöffneter Schale, im Mittel der 5 Versuche um den Faktor 1.92 (Tab 3.2). Bei geschlossenen Schalen bewegt man sich über diesen langen Zeitraum (2-3 Wochen) an der Messgrenze des kalorespirometrischen Systems. Die Interpolationen der Blindraten aus Vor- und Nachlauf erreichen besonders bei der Temperaturreduktion auf  $10^\circ\text{C}$  hin und wieder Werte in der Höhe der gemessenen Gesamtwärmedissipation, bzw. des Gesamtsauerstoffverbrauches. In der Tabelle 3.2 zeigt sich dies v.a. in den Daten aus Versuch 15. Dennoch scheint das Niveau des Metabolismus bei geschlossenen Schalen stärker von der Temperatur abzuhängen als bei offenen Schalen, im Mittel 2.74 fach erhöht bei einem

Temperaturanstieg von 5°C (Tab. 3.2), obschon man bei der geringen Anzahl der Versuche diese Daten sehr vorsichtig bewerten muß.

**Tab. 3.2:** Stoffwechselraten von *C. fluminea* [ $\text{J h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{TG}$ ] in den Experimenten mit Temperaturumstellung (Nrn. s. Tab. 3.1). Gezeigt sind die Mittelwerte (x) und Standardabweichungen (sd) bei 15°C und 10°C (##12-15), bzw. 20°C (#17) der Perioden mit geöffneten und geschlossenen Schalen. „Q5“ ergibt sich aus dem Verhältnis der Rate bei höherer zur Rate bei 5°C niedrigerer Temperatur.

Versuch Nr.	Q aktiv [ $\text{J h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{TG}$ ]					Q Ruhe [ $\text{J h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{TG}$ ]				
	x 15°C	sd	x 10°C / 20°C	sd	"Q5"	x 15°C	sd	x 10°C / 20°C	sd	"Q5"
12	5.72	0.34	2.82		2.03	0.60	0.16	0.19	0.01	3.16
13	6.40	0.59	3.47	0.06	1.84	0.67	0.05	0.47		1.43
14	24.59	4.41	9.89	0.77	2.49	7.07	3.24	1.74	0.43	4.06
15	4.11	0.56	2.71		1.52	0.36	0.11	0.02		18.00
17	7.55	0.86	12.85	1.20	1.70	0.71	0.17	1.65	0.50	2.32

Mittelwert "Q5" 1.92

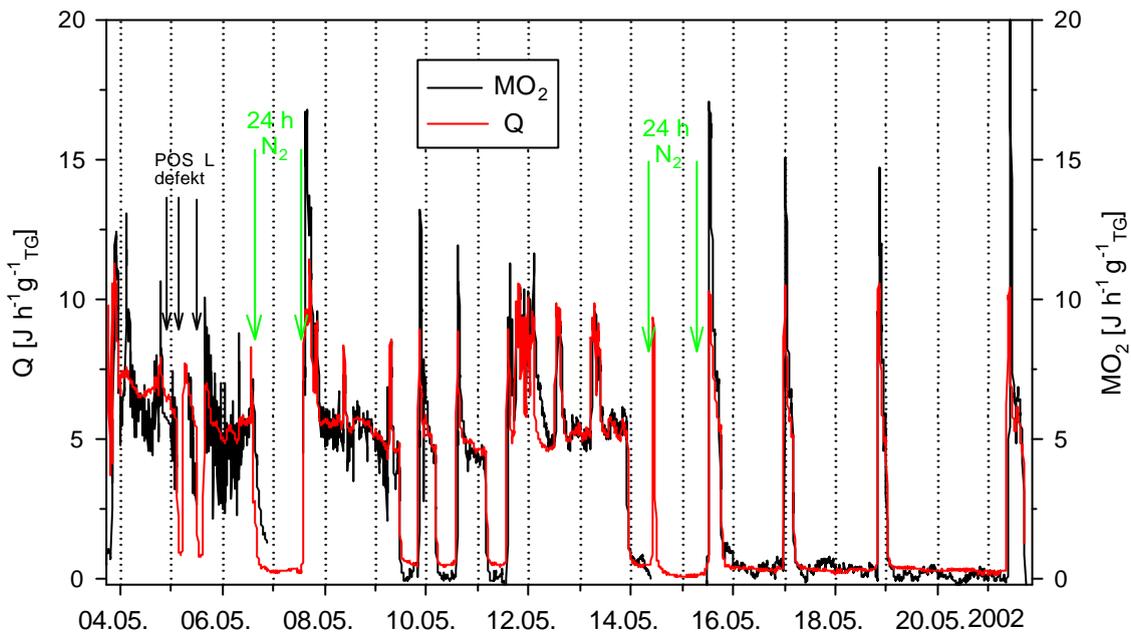
2.74

Das gebräuchlichste Maß zum Vergleich der Temperaturabhängigkeit des Stoffwechsels ist der Q10, der das Verhältnis der Raten bei einem Temperaturunterschied von 10°C beschreibt und in den meisten Lehrbüchern mit ca. 2 - 4 angegeben wird. Aus der Quadratur der „Q5“-Werte ergeben sich für *C. fluminea* somit Q10 - Werte zwischen 2.3 und 6.2, im Durchschnitt ein Q10 von 3.8 bei geöffneten Schalen. Bei geschlossenen Schalen läge der Q10 zwischen 2 und 16, im Mittel bei 8.5 also deutlich höher, was u.a. auf die oben beschriebene Messunsicherheit zurückzuführen sein könnte. Aber auch Holopainen & Penttinen (1993) haben für *P. amnicum* und *S. corneum* zwischen 10°C und 20°C bei geschlossenen Schalen einen höheren Q10 (1.8 – 3.1; bzw. 2.3 – 4.6) berechnet als bei geöffneten Schalen (1.2 – 2.4; bzw. 2.0 – 2.4), so daß von einer stärkeren Temperaturabhängigkeit in den Zeiten mit geschlossenen Schalen ausgegangen werden kann.

### 3.1.5 Vergleich der Stoffwechselraten aus direkter und indirekter Kalorimetrie

Wie unter 2.6.2 beschrieben kann man bei simultaner Bestimmung der Wärmedissipation (direkte Kalorimetrie) und des Sauerstoffverbrauches (indirekte Kalorimetrie) mit Hilfe des oxykalorischen Äquivalentes ( $450 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ O}_2$ ) beurteilen, ob anaerobe Stoffwechselwege zum Gesamtstoffwechsel beitragen. Überträfen die Stoffwechselraten aus der direkten Kalorimetrie diejenigen aus der indirekten Kalorimetrie, so wäre dies ein sicherer Nachweis eines anaeroben Anteils an der metabolischen Rate. Ist der Metabolismus dagegen vollständig aerob, unterschieden sich beide Raten nicht, was sich entweder unmittelbar beim Übereinanderlegen der aufgezeichneten Raten zeigt oder nach der Integration entsprechender Zeiträume beider Kurven. Abb. 3.8 zeigt beispielhaft die gute Übereinstimmung der simultan aufge-

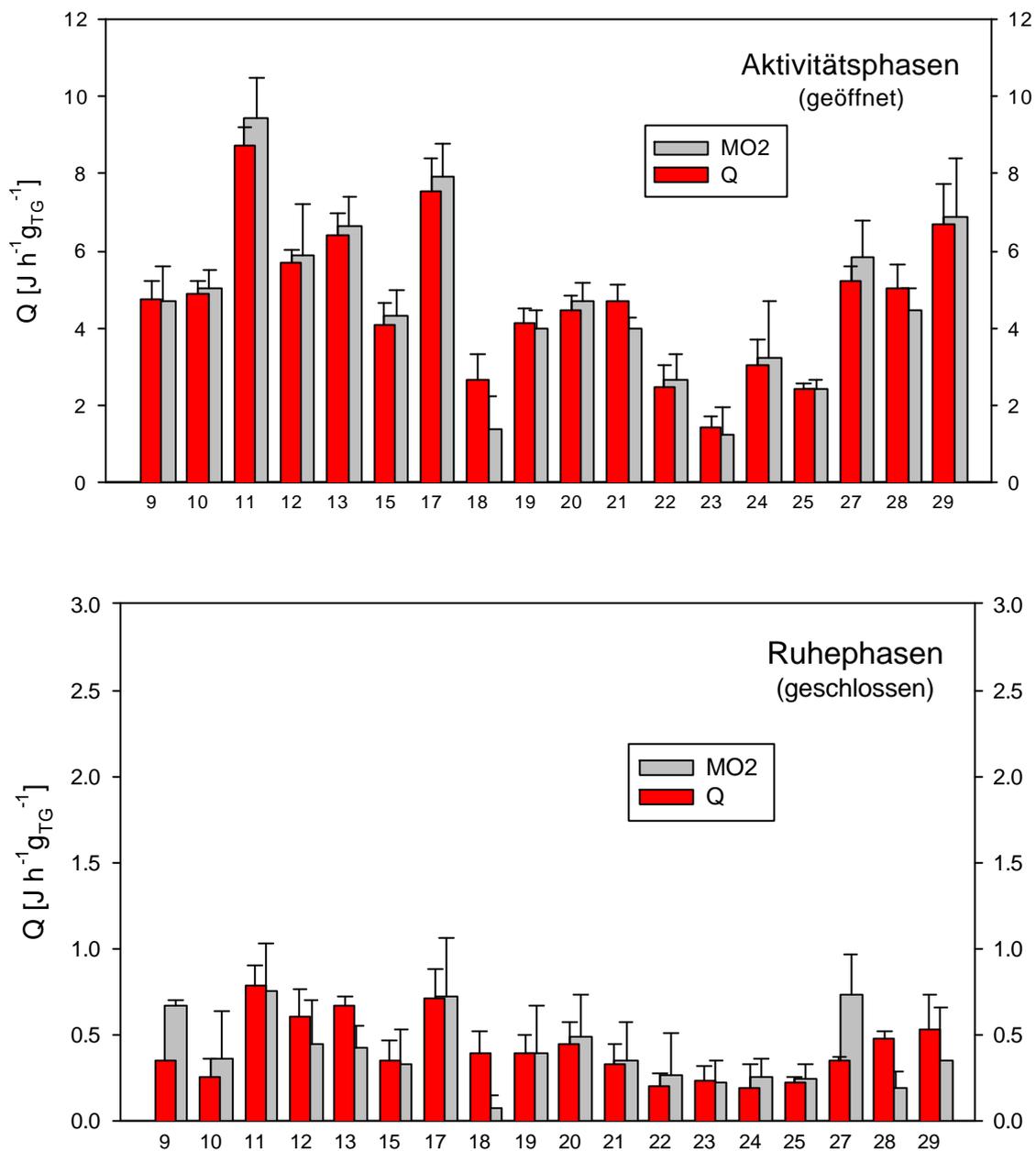
zeichneten Stoffwechselraten von *C. fluminea* aus direkter und indirekter Kalorimetrie des Versuches Nr. 29 (Tab. 3.1). Wärmedissipation und Sauerstoffverbrauch verlaufen annähernd deckungsgleich, lediglich während einiger Phasen bei geschlossener Schale übersteigen die Werte der Wärmeabgabe die des  $O_2$ -Verbrauchs.



**Abb. 3.8:** Metabolische Raten von *C. fluminea* in  $J h^{-1} g^{-1}_{TG}$  (Nr. 29, Tab 3.1); SSW bei  $15^{\circ}C$ , aufgezeichnet vom 3. – 21.5.2002, vertikale Linien zeigen den Datumswechsel an; Wärmedissipation  $Q$  in Rot, Sauerstoffverbrauch  $MO_2$  (umgerechnet mit dem OE:  $450 kJ mol^{-1} O_2$ ) in Schwarz. Am 6.5. mußte ein defektes Kabel eines  $O_2$ -Sensors getauscht werden, am 7. und am 14. Mai wurde das perfundierende SSW mit Stickstoff begast.

Folgerichtig kann man für den Stoffwechsel von *C. fluminea* bei geöffneten Schalen einen anaeroben Beitrag sicher ausschließen, was auch in den integrierten Wärmemengen der aktiven Phasen aller Versuche deutlich wird (Abb. 3.9 oben). Lediglich im Versuch # 18 zeigt sich eine deutlich höhere Wärmerate, dessen Verlauf mit nur vier kurzen Aktivitätsphasen in 13 Tagen sich ohnehin deutlich von den anderen Versuchen unterscheidet. Unter anderem zeigen sich dort zwei Aktivitätsphasen in der direkten Kalorimetrie, die bei der Sauerstoffverbrauchsmessung gar nicht auftauchen, bzw. sehr klein sind, wohingegen die beiden anderen Peaks wieder gut übereinstimmen. Bei allen anderen Experimenten kann man keinen Unterschied in den direkt und indirekt gemessenen Wärmemengen des Metabolismus bei geöffneten Schalen erkennen.

Etwas anders sieht es aus wenn man die Abschnitte mit geschlossenen Schalen betrachtet. Nicht nur die dynamische Aufzeichnung beider Raten offenbart gelegentlich eine höhere Wärmedissipationsrate, z.B. 10., 11. und 12. Mai in Experiment # 29 (Abb.3.8), sondern auch das Bild der integrierten Wärmemengen stellt sich uneinheitlicher dar (Abb. 3.9 unten).



**Abb. 3.9:** Vergleich der metabolischen Raten von *C. fluminea* aus direkter und indirekter Kalorimetrie bei geöffneten (oben) und geschlossenen (unten) Schalen im SSW bei 15°C. Wärmedissipation in Rot und Sauerstoffverbrauch in Grau (umgerechnet mit dem OE:  $450 \text{ kJ mol}^{-1} \text{O}_2$ ) angegeben in  $\text{J h}^{-1} \text{g}_{\text{TG}}^{-1}$ . Die Zahlen unter den Balken geben die Versuchsnummern aus Tab. 3.1 wieder. Bei geöffneten Schalen wird der Metabolismus der Muscheln ausschließlich aerob gedeckt, bei geschlossenen Schalen ist eine klare Aussage zu anaeroben Anteilen des Stoffwechsels nicht möglich.

Generell muß man festhalten, daß die Methode bei den sehr geringen Stoffwechselraten des reduzierten Metabolismus der Muscheln bei geschlossenen Schalen an ihre Grenzen stößt, da die Interpolationen der Blindraten über Zeiträume von mehreren Wochen oftmals die Werte der Gesamtwärmeabgabe erreichen oder gar überschreiten, wie z.B. während der N<sub>2</sub>-Inkubation in Versuch 11 (Tab.3.1). Deshalb kann man nur schwer beurteilen, in welchem Maße anaerobe Stoffwechselwege zur metabolischen Rate der Muscheln bei geschlossenen Schalen beitragen. Des weiteren zeigt sich, daß bei Stickstoffbegasung des perfundierenden Wassers, also unter nominell anoxischen Bedingungen, die Wärmedissipation nochmals gegenüber dem Wert bei geschlossenen Schalen unter Normoxie absinkt (Abb. 3.8; Tab. 3.3). Die dann verbleibende Wärmedissipation ist sicher anaeroben Ursprungs, ob dies aber in der völligen Aufgabe des aeroben Stoffwechsels begründet ist oder eine weitere Reduktion eines bereits vollständig anaeroben Stoffwechsel ist, kann man nur schwer beurteilen. Dennoch ist es bemerkenswert, daß die Muscheln, die beim Schließen der Schalen ihren Stoffwechsel bereits unter normoxischen Bedingungen um mehr als 90 % drosseln, bei streng hypoxischen Bedingungen die metabolische Rate nochmals um weitere 3 – 5 % absenken können (Tab. 3.3).

**Tab.3.3:** Wärmedissipationen  $Q$  [ $J h^{-1} g^{-1} TG$ ] von *C. fluminea* in den Experimenten mit Stickstoffinkubation (## 27-29 Tab3.1).

Nr.	Q offen $x \pm sd$ [ $J h^{-1} g^{-1} TG$ ]	Q zu $x \pm sd$ [ $J h^{-1} g^{-1} TG$ ]	Anteil $Q_{offen}$ [%]	Qzu Hypoxie [ $J h^{-1} g^{-1} TG$ ]	Anteil $Q_{offen}$ [%]	Q der Ruhephasen vor, bei und nach der N <sub>2</sub> -Inkubation [ $J h^{-1} g^{-1} TG$ ]
27	$5.13 \pm 0.36$	$0.40 \pm 0.12$	7.8	0.25 0.23	4.9 4.5	$0.33 \rightarrow 0.25 \rightarrow 0.35$ $0.35 \rightarrow 0.23 \rightarrow 0.39$
28	$5.05 \pm 0.61$	$0.47 \pm 0.05$	9.3	0.28 0.33	5.5 6.5	$0.42 \rightarrow 0.28 \rightarrow 0.46$ $0.44 \rightarrow 0.33 \rightarrow 0.55$
29	$6.72 \pm 1.02$	$0.53 \pm 0.21$	7.9	0.32 0.15	4.8 2.2	$0.80 \rightarrow 0.32 \rightarrow 0.57$ $0.54 \rightarrow 0.15 \rightarrow 0.37$

Qoffen: Wärmerate bei geöffneten Schalen; Qzu: Rate bei geschlossenen Schalen normoxisch (angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der entsprechenden Phasen); Qzu Hypoxie: Raten unter N<sub>2</sub>-Inkubation. Die letzte Spalte zeigt die Wärmeabgabe in den Phasen mit geschlossenen Schalen vor, während und nach der N<sub>2</sub>-Inkubation

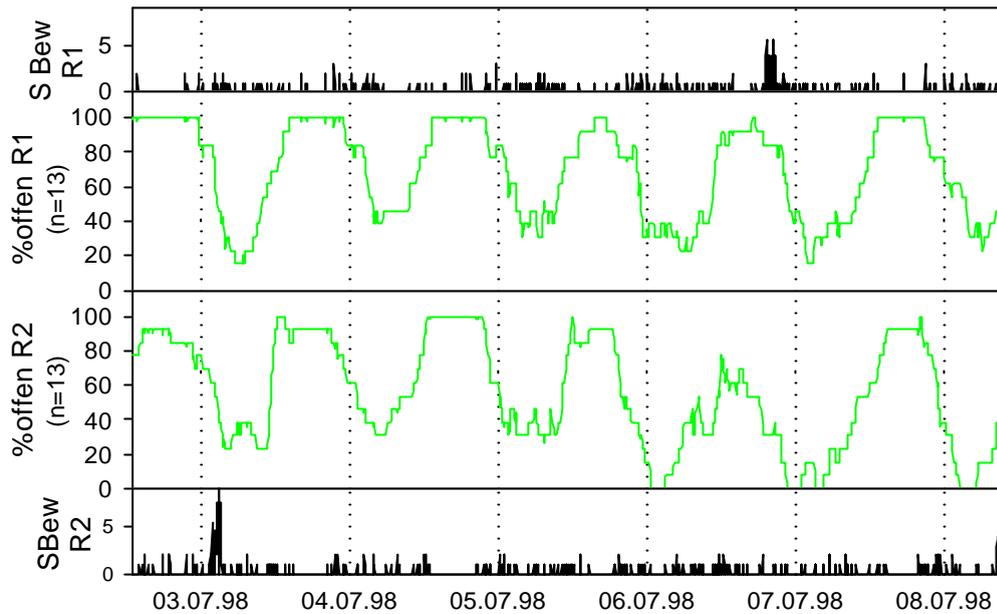
Näheren Aufschluß zum Status des Metabolismus der Muscheln bei geschlossenen Schalen bringt u.a. die Bestimmung typischer Anaerobiosemetabolite, wie z.B. von Succinat oder den freien Fettsäuren Acetat und Propionat, was in Abs. 3.3 ausführlich dargestellt wird. Im folgenden Abschnitt soll aber zunächst näher auf die Schalenbewegungen von *C. fluminea* eingegangen werden, die mit dem intermittierenden Stoffwechsel einhergehen.

### 3.2 Schließverhalten der Korbchenmuschel *C. fluminea*

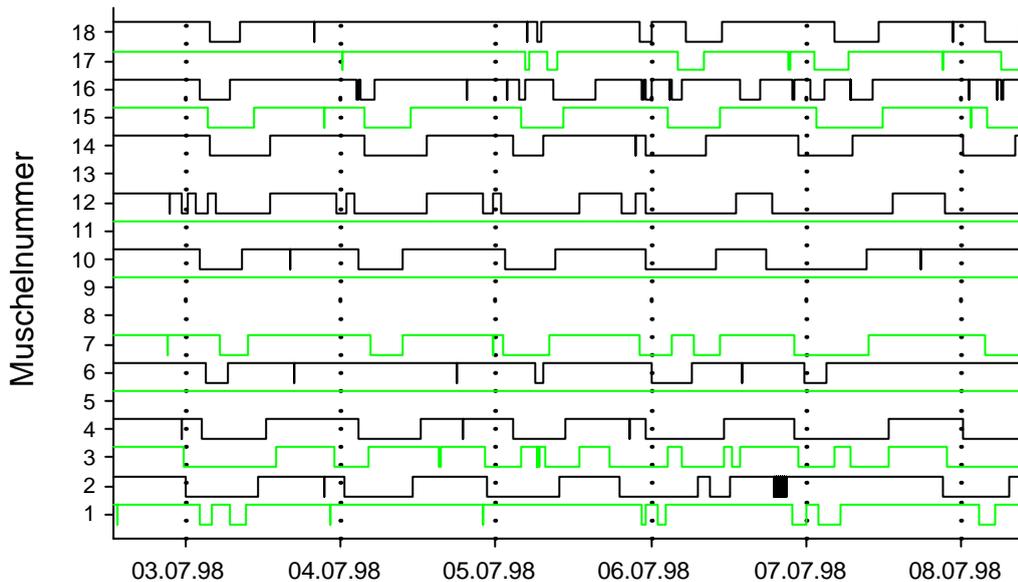
#### 3.2.1 Schalenbewegungen von *C. fluminea* im Rhein bei Bad Honnef (Dreissena-Monitor<sup>®</sup>) und Koblenz (Mosselmonitor<sup>®</sup>)

Neben dem Befund des intermittierender Metabolismus von *C. fluminea* im Kalorimeter, stellte sich die Frage, ob die langen Phasen von oftmals mehr als 12 Stunden mit stark reduzierter metabolischer Rate zum normalen Verhaltensrepertoire der Muscheln im Freiland gehören oder bereits eine Reaktion der Tiere auf die für sie eventuell doch stressvollen Bedingungen im Labor darstellen. Um einen genauen Einblick in das arteigene Schließverhalten der Korbchenmuschel zu bekommen, wurden ihre Schalenbewegungen im Rhein bei Bad Honnef und Koblenz mit Hilfe zweier unterschiedlicher Biomonitoring zwei Jahre lang kontinuierlich aufgezeichnet (s. Kap. 2.7.1 und 2). Dabei befanden sich die Muscheln, von den Wartungen der Anlagen abgesehen, ohne äußere Störungen im Rheinwasser der Kontrollstationen, das sie wie im Freiland offensichtlich gut gedeihen ließ. Während der gesamten Beobachtungszeit war die Sterblichkeit sehr gering, im etwas aufwendigeren Dreissena-Monitor<sup>®</sup> waren insgesamt nur 56 Individuen an den 34 vorhandenen Messplätzen (Abb. 2.5) im Einsatz, davon allein 18 beinahe über den gesamten Zeitraum. Im Mosselmonitor<sup>®</sup> wurden auf den 8 Meßplätzen des ersten Rechens (Abb. 2.7) im Laufe der zwei Jahre 16 Exemplare von *C. fluminea* benötigt, auf dem zweiten Rechen nur 11 Exemplare von *D. polymorpha*, davon 4, bzw. 5 ebenfalls ununterbrochen über beinahe den gesamten Beobachtungszeitraum. In beiden Monitoren führte das gute Wachstum der Tiere dazu, daß die Messvorrichtungen immer wieder etwas nachjustiert werden mußten.

Alle beobachteten Muscheln zeigten Verhaltensmuster, die geprägt waren vom abrupten Wechsel von Phasen mit geöffneten und geschlossenen Schalen (Abb. 3.10 B und 3.11), ganz ähnlich dem Bild des Stoffwechsels im Kalorimeter. Zudem offenbarte die kontinuierliche Aufzeichnung der Schalenbewegungen von *C. fluminea* über die zwei Untersuchungsjahre hinweg vielerlei Einzelheiten des jahres- und v.a. auch tageszeitlich wechselnden Schließverhaltens der Muscheln. Somit ist nun ein verifizierteres Bild vom „normalen“ Verhalten der Tiere vorhanden, daß besonders im Hinblick auf ihren Einsatz im Biomonitoring von Interesse ist.



**A:** Anteil offener Muscheln beider Meßrinnen [%] in Grün, jeweils 13 der 17 vorhandenen Messplätze waren richtig justiert und somit auswertbar. SBew: Schalenbewegungen pro und Stunde, R1, R2: Rinne 1, bzw. 2.



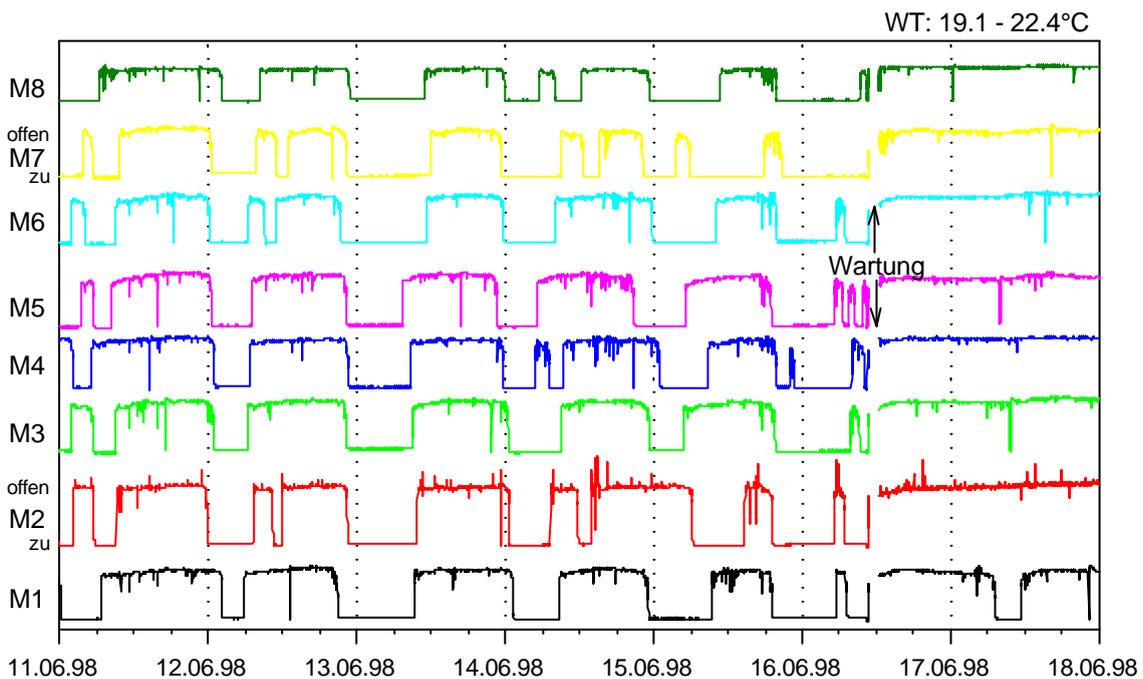
**B:** Einzeldaten der Rinne 1: Wechselnde Farben dienen hier nur zur besseren Unterscheidung der einzelnen Individuen, die Nummern an der Ordinate stehen für die Messplätze. Eine Linie Oberhalb der Messplatz-Nummer zeigt geöffnete Schalen, eine Linie unterhalb der Nummer geschlossene Schalen an. Beim Beginn der Messung waren also alle Tiere geöffnet. (die Magnete der Tiere 5, 9 und 11 waren falsch justiert, Messplätze 8 und 13 defekt)

**Abb. 3.10:** Schalenschließverhalten von *C. fluminea* im Rhein bei Bad Honnef in der Woche vom 2. bis zum 8. Juli 1998 aufgezeichnet mit dem Dreissena-Monitor®. Wassertemperatur 23°C. **A:** Die zusammenfassende Übersicht der ausgewerteten Daten beider Rinnen orientiert sich an den Alarmkriterien des Monitors: Häufung der Schalenbewegungen und Anteil geschlossener Tiere. **B:** Darstellung der Schalenbewegungen der Einzeltiere aus Rinne 1; vertikale gepunktete Linien markieren jeweils den Datumswchsel 0:00 Uhr. Der Monitor unterscheidet nur zwischen offenen und geschlossenen Tieren, die Amplitude sagt hier nichts über die Öffnungsweite aus.

### 3.2.1.1 Schalenbewegungen im Sommer / Herbst

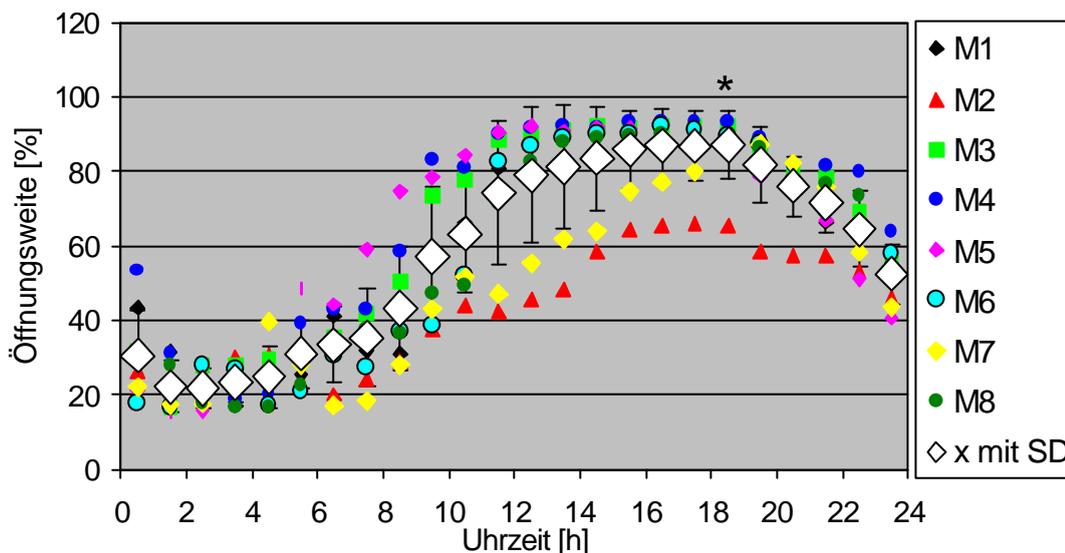
In den Sommermonaten stellt sich bei *C. fluminea* eine Tagesrhythmik in den Schließbewegungen der Schalen ein, in der Form, daß sie in die frühen Morgenstunden zu ganz überwiegenden Teil geschlossen und während des Nachmittags geöffnet sind. Diese circadiane Rhythmik setzte gegen Mai ein und endete im Oktober, sie zeigt sich sowohl in der „Messpopulation“, als auch im Verhalten der einzelnen Individuen. Abbildung 3.10 zeigt beispielhaft eine Woche im Juli 1998 in der diese Tagesrhythmik besonders ausgeprägt war, so daß in der zweiten Tageshälfte oftmals alle 26 Versuchstiere geöffnet waren, wohingegen in der ersten Stunden des Tages manchmal nur zwei oder drei Muscheln die Schalen geöffnet hatten. In den warmen Monaten des Jahres unterliegen die Schalenbewegungen der Körbchenmuscheln offenbar einem circadianen Rhythmus, der innerhalb der Messpopulation zu Tage tritt, mit ungefähr 12 bis 14 Stunden zwischen dem Maximum und dem Minimum an offenen Tieren. Einen ganz ähnlichen Befund lieferten die Monitor-Daten des Landesumweltamtes, die parallel mit ca. 80 Individuen von *Dreissena polymorpha* erhoben wurden. Auch Borchering (1992b) berichtet über 12 Stunden auseinanderliegende Minima und Maxima des Anteils offener Exemplare von *D. polymorpha* im Rhein. In Teil B der Abbildung 3.10 sieht man, wie aus Teil A zu erwarten war, daß die Zeiten mit geschlossenen Schalen der Einzeltiere oft gut übereinstimmen, z.B. am 3. und 4. Juli. Dennoch weicht das Schließverhalten der einzelnen Muscheln oftmals vom oben erwähnten 12 h – Muster ab; aber es gibt auch erstaunlich gleichmäßig rhythmisch öffnende Muscheln, wie z.B. ## 4, 14 und 15 (Abb. 3.10 B), mit täglich einer ausgeprägten mehrstündigen Phase mit geschlossenen Schalen. Dabei kam es lediglich einmal in jeder Rinne zu einem auffälligen Anstieg der durchschnittlichen Schalenbewegungen, am 3.7.98 in Rinne 2 und am 6.7.98 in Rinne 1, jeweils verursacht durch eine Muschel, die ihre Schalen innerhalb weniger Stunden mehrmals öffnete und schloß (Tier #2 in Abb. 3.10 B). Insgesamt ist auch in den als „aktiv“ bezeichneten Phasen, also bei geöffneten Schalen, die Frequenz aller vom Monitor registrierten Bewegungen sehr gering und liegt je nach Qualität der Schalterjustierungen zwischen null und drei Bewegungen pro Stunde. Interessanterweise gab es aber auch in Wochen mit ausgeprägter circadianer Rhythmik im Schließverhalten von *C. fluminea* immer wieder Tage, an dem einzelne Muscheln die Schalen gar nicht schlossen oder sich die Periodenlänge verschob. Es kam auch vor, daß ohne erkennbare Veränderungen der abiotischen Faktoren alle Tiere im Monitor am gleichen Tag mit der Rhythmik aussetzten, ganz so als sei das Verhalten in der Gruppe synchronisiert.

Alle Schalenbewegungen von *C. fluminea*, die mit dem Mosselmonitor<sup>®</sup> in Koblenz aufgezeichnet wurden, entsprachen den oben beschriebenen Muster. Auch hier eine deutlich circadiane Rhythmik im Sommer und Herbst mit stundenlangen Phasen bei geschlossenen Schalen. Konnte der Dreissena-Monitor<sup>®</sup> nur zwischen Auf und Zu der Schalen unterscheiden, so ist die Amplitude des Meßsignals des Mosselmonitors<sup>®</sup> mit der Öffnungsweite der Schalen korreliert (s. Kap. 2.7.2). Allerdings variierten die Öffnungsweiten einzelner Individuen kaum, meist konnte nur zwischen einem Minimalsignal, Schale geschlossen, und einem mehr oder minder konstanten Maximalsignal, Schale geöffnet, unterschieden werden (Abb. 3.11). Zwischenstufen unterschiedlich weit geöffneter Schalen konnten nur selten registriert werden. Auch in Abbildung 3.11 sieht man deutlich, wie beinahe alle Muscheln immer in den frühen Morgenstunden geschlossen sind und scheinbar synchron ihre Schalen schließen. Nach der Wartung am 16. Juni blieben 7 der 8 Individuen den gesamten folgenden Tag durchgehend geöffnet.



**Abb. 3.11:** Schalen-schließverhalten von *C. fluminea* im Rhein bei Koblenz in der Woche vom 11. – 17. Juni 1998 aufgezeichnet mit dem Mosselmonitor<sup>®</sup>. Jede Farbe steht für eine der acht beobachteten Muscheln, M1 bis M8; vertikale, gepunktete Linien markieren den Datumswchsel, 0:00 Uhr; die Amplituden der Ordinate spiegeln die relativen Öffnungsweiten der Schalen wieder. Die Wassertemperatur schwankte zwischen 19.1 und 22.4°C.

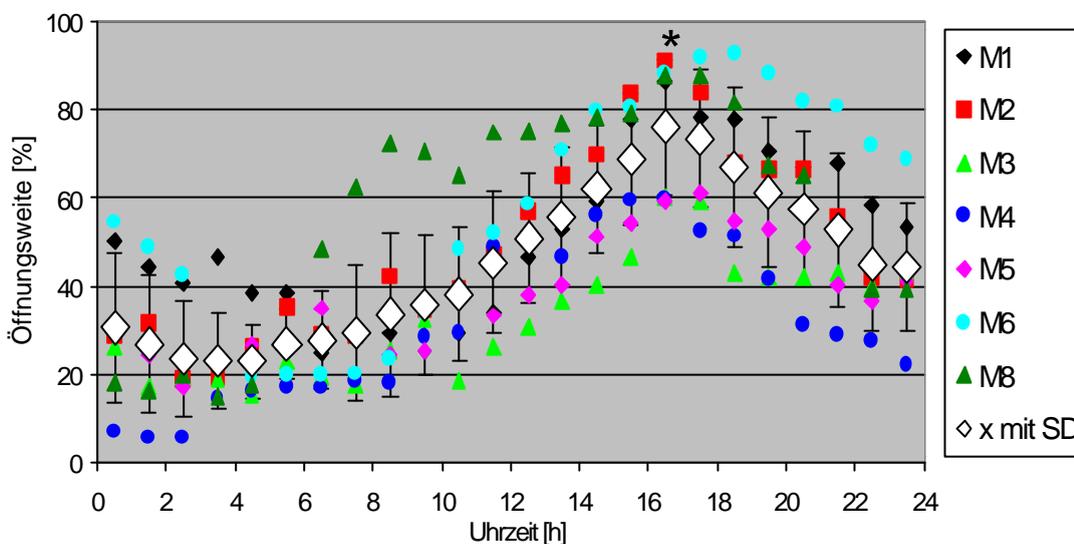
Faßt man die relativen Öffnungsweiten der acht Tiere dieser Juniwoche nach Tageszeiten in Stundenintervalle zusammen, so wird trotz aller individuellen Schwankungen in der Periodizität die zugrunde liegende circadiane Rhythmik offensichtlich (Abb. 3.12). Ein konstant niedriges Niveau hat die durchschnittliche Öffnungsweite zwischen 1:00 und 4:00 Uhr, das Minimum liegt zwischen 2:00 und 3:00 Uhr bei  $22 \pm 5\%$ . Das Plateau mit hoher durchschnittlicher Öffnungsweite liegt in diesem Beispiel zwischen 15:00 und 19:00 Uhr, mit einem Maximum von  $87 \pm 9\%$  zwischen 18:00 und 19:00 Uhr; Maximum und Minimum sind hochsignifikant verschieden ( $p < 0.0001$ ). Natürlich variieren die Minima und Maxima der Öffnungsweiten etwas im Laufe der Wochen und Monate, dennoch findet man das Minimum der Schalenöffnung stets gegen 2:00 bis 3:00 Uhr und das Maximum am späten Nachmittag gegen 16:00 bis 18:00 Uhr.



**Abb. 3.12:** Öffnungsweiten der 8 Muscheln (*C. fluminea*), M1 bis M8, aus dem Mosselmonitor<sup>®</sup> in der Woche vom 11. – 17.6.1998 zusammengefaßt in stündliche Intervalle entsprechender Tageszeiten. Die weißen Rauten zeigen die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 8 Muscheln zur jeweiligen Uhrzeit: Minimum zwischen 2:00 und 3:00 Uhr (22%) und Maximum zwischen 18:00 und 19:00 Uhr (87%) sind hochsignifikant (\*) verschieden.

Eine entsprechender Auftragung des Schließverhaltens von *Dreissena polymorpha*, deren Schalenbewegungen parallel am zweiten Rechen in Koblenz aufgezeichnet wurden, zeigt die Abbildung 3.13. Sie bewegt ihre Schalen häufiger und deutlich unregelmäßiger als *C. fluminea*. Auch in der Gruppe scheinen die Schalenbewegungen nicht so synchron zu erfolgen, was sich in relativ hohen Standardabweichungen niederschlägt. Dennoch schließen auch die Zebrauscheln ihre Schalen einem circadianen Rhythmus folgend (Abb. 3.13). In der betrach-

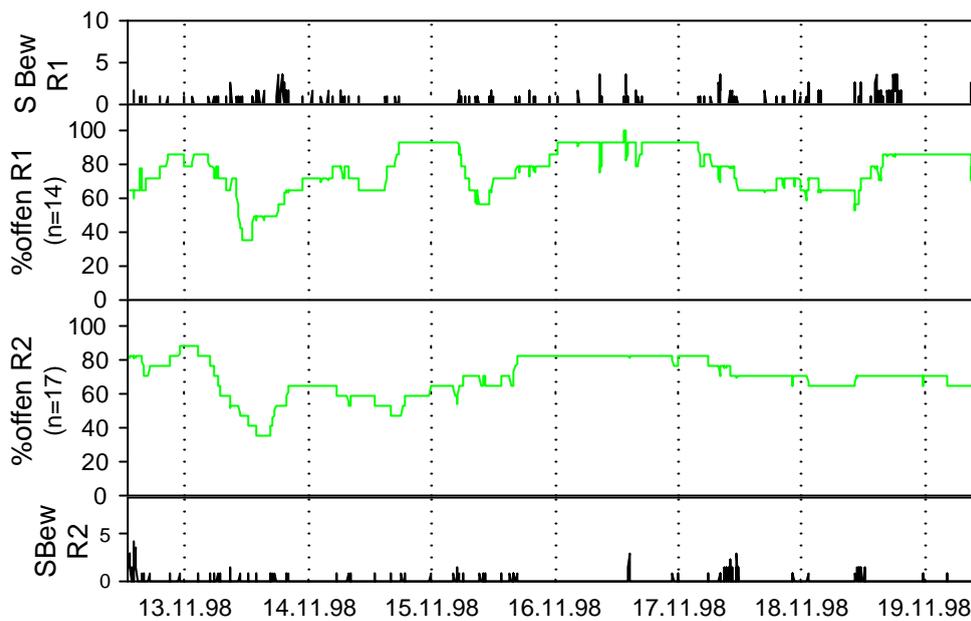
teten Woche lag das Minimum ( $23 \pm 8 \%$ ) zwischen 4:00 und 5:00 Uhr, das Maximum ( $76 \pm 15 \%$ ) genau 12 Stunden später zwischen 16:00 und 17:00, beide waren hoch signifikant von einander verschieden ( $p < 0.0001$ ). Auch mit dem Dreissena-Monitor<sup>®</sup> in Bad Honnef werden im Sommer und Herbst regelmäßig circadiane Schließrhythmen bei *D. polymorpha* aufgezeichnet (Abb. 4.1), wobei das Maximum des Anteils geöffneter Muscheln stets am Nachmittag und das Minimum in den ersten Stunden des Tages liegt (LUA, persönliche Kommunikation).



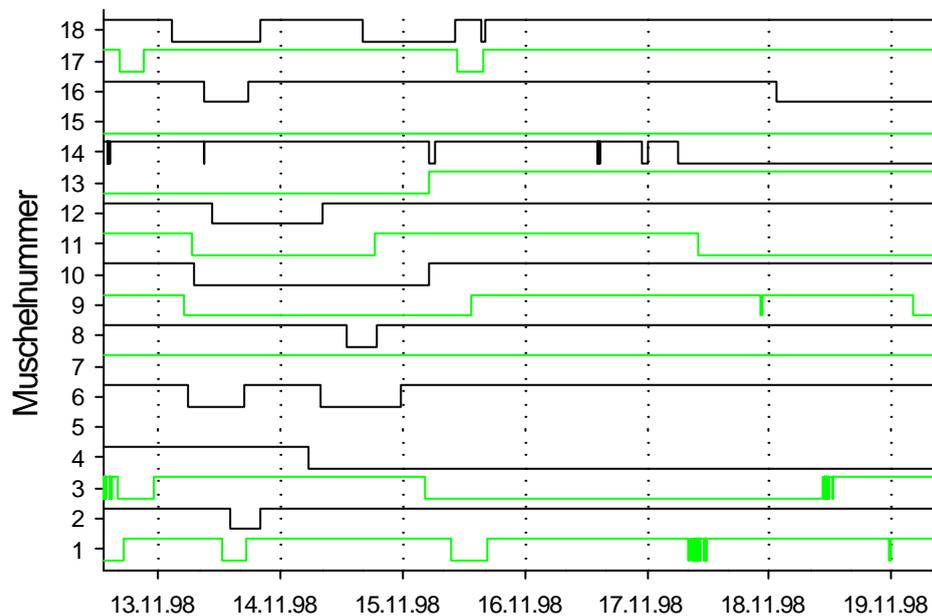
**Abb. 3.13:** Öffnungsweiten von 7 Zebrauscheln (*D. polymorpha*) im Mosselmonitor<sup>®</sup> in der Woche vom 11. – 17.6.1998 zusammengefaßt in stündliche Intervalle entsprechender Tageszeiten. Die weißen Rauten zeigen die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 7 Muscheln zur jeweiligen Uhrzeit: Minimum zwischen 4:00 und 5:00 Uhr ( $23 \pm 8 \%$ ) und Maximum zwischen 16:00 und 17:00 Uhr ( $76 \pm 15 \%$ ) sind hochsignifikant (\*) von einander verschieden. (M7 starb in der Folgewoche, ihre Bewegungen waren daher untypisch)

### 3.2.1.2 Schalenbewegungen im Winter und Frühjahr

War die Frequenz der Schalenbewegungen im Sommer und Herbst schon sehr gering, oftmals nur zwei bis drei am Tag, nahmen sie mit Auslaufen der Rhythmik zum Ende des Jahres noch ab. Sowohl die Abschnitte mit geöffneten, als auch die mit geschlossenen Schalen wurden zunehmend länger (Abb. 3.14 B). Zudem verlor sich das synchrone Verhalten der Tiere, so daß sich die Kurven der Messpopulation glätteten und meist 60 bis 80 % offene Muscheln im Monitor waren (Abb. 3.14 A).



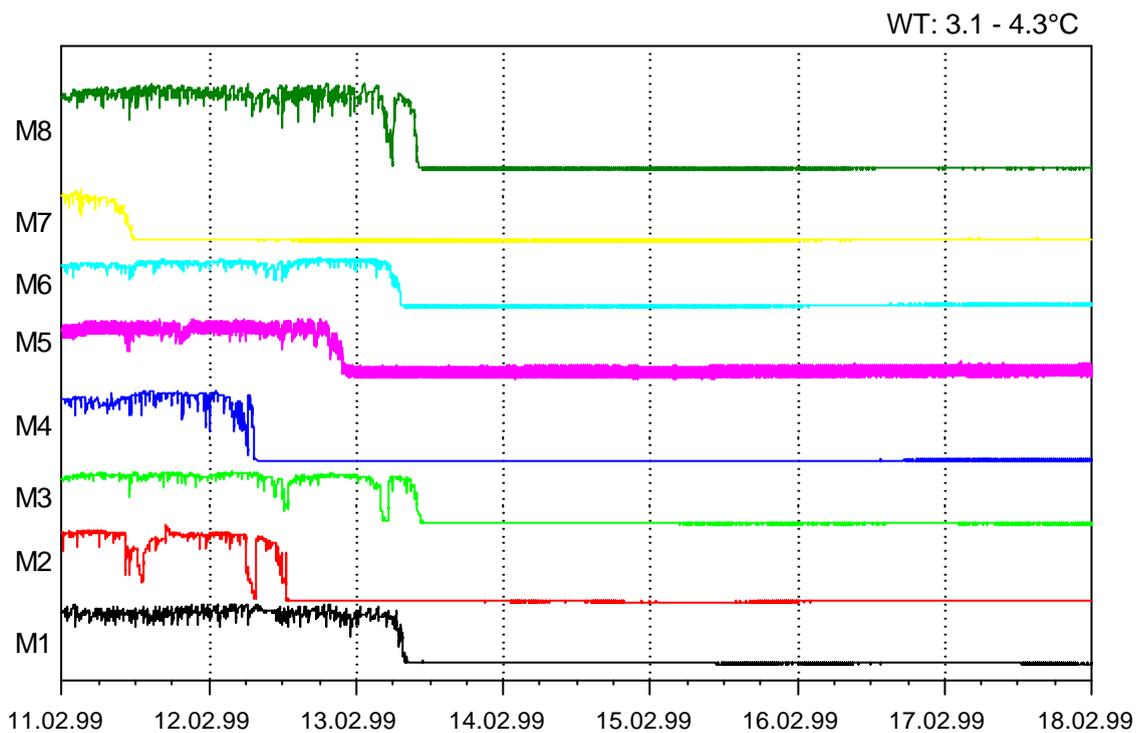
**A:** Anteil offener Muscheln beider Meßrinnen [%] in Rot; Rinne 1 (R1) mit 14 und Rinne 2 (R2) mit 17 von 17 auswertbaren Messplätzen; SBew: Schalenbewegungen pro und Stunde



**B:** Einzeldaten der Rinne 2: Wechselnde Farben dienen hier nur zur besseren Unterscheidung der einzelnen Individuen, die Nummern an der Ordinate stehen für die Messplätze. Eine Linie Oberhalb der Messplatz-Nummer zeigt geöffnete Schalen, eine Linie unterhalb der Nummer geschlossene Schalen an. Messplatz 5 war defekt.

**Abb. 3.14:** Schalschließverhalten von *C. fluminea* im Rhein bei Bad Honnef in der Woche vom 12. bis zum 19. November 1998 aufgezeichnet mit dem Dreissena-Monitor<sup>®</sup>. Wassertemperatur 8°C. **A:** Die zusammenfassende Übersicht der ausgewerteten Daten beider Rinnen orientiert sich an den Alarmkriterien des Monitors: Häufung der Schalenbewegungen und Anteil geschlossener Tiere. **B:** Darstellung der Schalenbewegungen der Einzeltiere aus Rinne 2; vertikale gepunktete Linien markieren jeweils den Datumswechsel 0:00 Uhr. Der Monitor unterscheidet nur zwischen offenen und geschlossenen Tieren, die Amplitude sagt hier nichts über die Öffnungsweite aus.

Bei sehr kalten Wassertemperaturen im Winter blieb *C. fluminea* immer öfter auch für mehrere Tage hintereinander geschlossen, im Extremfall auch mal eine ganze Woche, wie im Februar 1999 in Koblenz als der Rhein nur noch eine Temperatur von 3 – 4°C aufwies (Abb. 3.14).

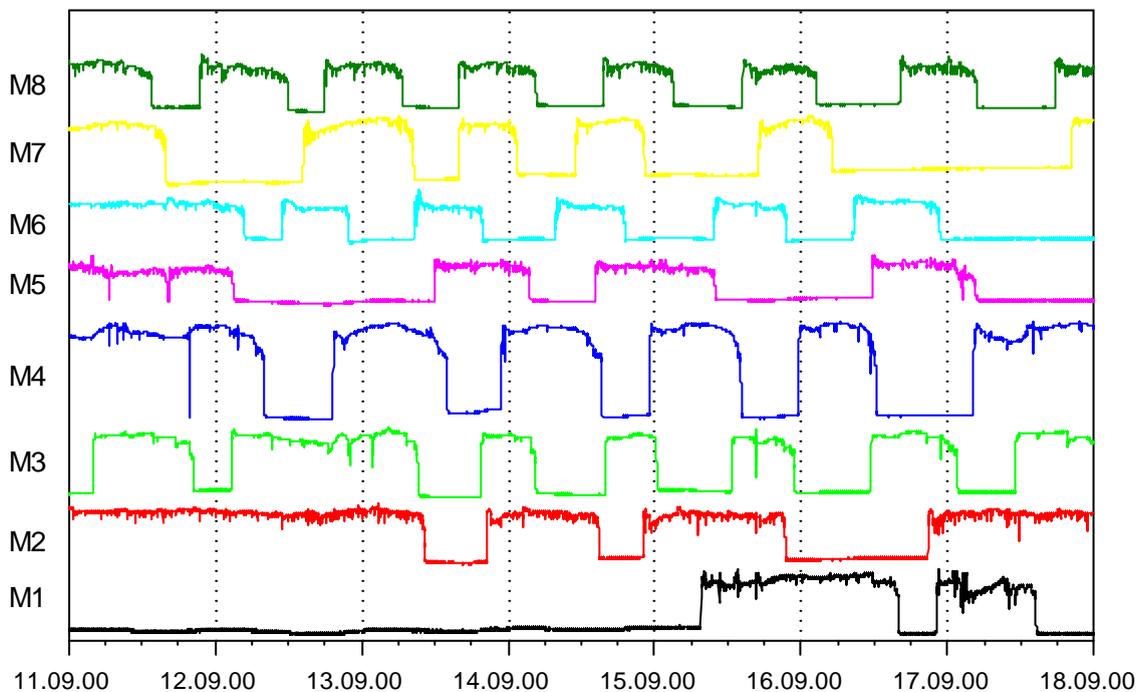


**Abb. 3.15:** Schalschließverhalten von *C. fluminea* im Rhein bei Koblenz in der Woche vom 11. – 18. Februar 1999 aufgezeichnet mit dem Mosselmonitor<sup>®</sup>. Jede Farbe steht für eine der acht beobachteten Muscheln, M1 bis M8; vertikalen Linien markieren den Datumswechsel, 0:00 Uhr; die Amplituden der Ordinate spiegeln die relativen Öffnungsweiten der Schalen wieder. Die Wassertemperatur schwankte zwischen 3.1 und 4.3°C.

Bei *D. polymorpha* verlängerten sich im Herbst und Winter v. a. die Phasen mit geöffneten Schalen, dagegen waren sie selten länger als einen ganzen Tag geschlossen und extreme Schließzeiten von einer Woche konnten bei ihr gar nicht beobachtet werden. In Bad Honnef starben in dieser Zeit, besonders bei sehr kalten Wassertemperaturen von unter 6° C viele Zebrauscheln, deutlich mehr als von *C. fluminea*.

### 3.2.2 Schließverhalten von *C. fluminea* im Labor

In der Klimakammer des Labors wurden die Tiere unter konstanten Bedingungen gehalten (bei 15°C in einem standardisierten Süßwasser, s. Kap. 2.2). In erster Linie diente der Mosselmonitor® dort dazu, Tiere für die Metabolitbestimmung (s. Kap. 3.3) auszuwählen, von denen man die genaue Dauer der Zeit mit geschlossenen Schalen kannte. Dazu wurden täglich die Schalenbewegungen der Muscheln ausgewertet und es stellte sich heraus, daß auch unter konstanten Laborbedingungen viele Individuen einen endogenen Schließrhythmus besitzen, mit täglich einer Phase bei geöffneten, sowie einer Phase mit geschlossenen Schalen (M4 und M8; Abb. 3.16). Innerhalb der Gruppe laufen diese Rhythmen, falls überhaupt vorhanden, allerdings nicht mehr synchron.



**Abb. 3.16:** Schalenschließverhalten von *C. fluminea* im Labor in der Woche vom 11. – 17. September 1999 aufgezeichnet mit dem Mosselmonitor®. Jede Farbe steht für eine der acht beobachteten Muscheln, M1 bis M8; vertikalen Linien markieren den Datumswchsel, 0:00 Uhr; die Amplituden der Ordinate spiegeln die Öffnungsweiten der Schalen wieder.

Nach einigen Wochen unter den konstanten Bedingungen im Labor verliert sich dann der gleichmäßige Rhythmus der Schalenbewegungen. Manchmal verschiebt sich lediglich die Phase, meist wird das Schließverhalten aber völlig unregelmäßig. Was aber immer erhalten bleibt, ist der stetige Wechsel zwischen Phasen bei geöffneten Schalen und stundenlangen, manchmal auch Tage andauernden Phasen bei geschlossenen Schalen (M1, Abb.3.16), in de-

nen sich die Muschel in ihre „eigenen Welt“ zurück zieht und von ihrer Umgebung völlig isoliert ist.

### **3.3 Anaerober Stoffwechsel von *C. fluminea***

Wie sich bei den kalorespirometrischen Untersuchungen zeigte, ist der Metabolismus von *C. fluminea* zumindest bei geöffneten Schalen vollständig aerob, die Raten der direkten und der indirekten Kalorimetrie sind beinahe deckungsgleich (Abb. 3.8 und 3.9 oben). Aufgrund methodischer Probleme ist eine klare Aussagen aus der Kalorespirometrie für die Zeiten mit geschlossenen Schalen nicht möglich. In einigen Versuchen ## 13, 18, 28, 29 (Abb. 3.9 unten) übersteigt aber die direkt gemessene Wärmemenge die aus dem Sauerstoffverbrauch berechnete Wärmemenge. Zudem fällt die Wärmedissipation unter nomineller Anoxie noch unter die Werte bei geschlossenen Schalen unter Normoxie ab. Beides deutet darauf hin, daß bei geschlossenen Schalen sowohl aerobe als auch anaerobe Stoffwechselwege bei drastisch reduzierter metabolischen Rate ablaufen. Um einen Eindruck von der anaeroben Kapazität der Körbchenmuscheln zu bekommen, wurden einige Tiere in stickstoffbegastem Wasser inkubiert. Anschließend wurden in Perchlorsäureextrakten unterschiedlicher Gewebe, Schalenadduktoren, Fuß und Kiemen, sowie im Pallialwasser charakteristische Metabolite des anaeroben Stoffwechsels bestimmt; neben Succinat, das als verlässlicher Indikator für einen anaeroben Zustand der Mitochondrien gilt (Grieshaber et al. 1994), die kurzkettigen Fettsäuren Acetat und Propionat. Beide sind Endprodukte einer effizienten Anaerobiose, auf deren Syntheseweg 6 Mol ATP je Mol Glucose gewonnen und gleichzeitig nur zwei Protonen frei werden (Hochachka & Guppy 1987). Typische Endprodukte einer anaeroben Glykolyse konnten nicht nachgewiesen werden, die Extrakte enthielten weder D- oder L-Laktat, noch die bei Evertebraten vorkommenden Opine Oktopin, Alanopin und Strombin (Grieshaber & Kreutzer 1986). Des weiteren wurden Extrakte von Tieren unter normoxischen Bedingungen angefertigt, bei deren Entnahme aus dem Mosselmonitor oder aus dem Kalorimeter die genaue Dauer mit geschlossener Schale bekannt war. Exemplare aus dem belüfteten Aquarium, die vor der Präparation geöffnet waren, dienten zur Kontrolle der Metabolitkonzentrationen der Gewebe und des Pallialwassers unter unbelasteten Bedingungen.

#### **3.3.1 Anaerobe Kapazität des Stoffwechsels von *C. fluminea***

Um sowohl die beginnende als auch die fortgeschrittene Anaerobiose zu erfassen, wurden in mehreren Ansätzen Tiere für 1, 2 und 4 Stunden, sowie 24, 48 und 72 Stunden in kontinuierlich mit N<sub>2</sub> begastem Wasser inkubiert. Während Succinat und Propionat bei streng

hypoxischer Inkubation in allen Geweben und im Pallialwasser rasch akkumulieren (Abb. 3.17 und 3.18), unterscheiden sich die Acetatkonzentrationen in den Geweben auch nach drei Tagen unter Stickstoff nicht signifikant von denen der Kontrollen, lediglich im Pallialwasser ist dessen Konzentration nach 24, 48 und 72 Stunden signifikant erhöht (Tab. 3.4). In allen Geweben verdoppelt sich die Acetatkonzentration zwar beinahe in den ersten Stunden der Hypoxie, um dann nach 1 – 3 Tagen wieder auf das Ausgangsniveau abzufallen. Wegen der großen Streuungen ist die anfängliche Akkumulation aber nicht signifikant ( $p > 0.05$ ). Im Pallialwasser akkumuliert Acetat gegenüber den Kontrollen ( $0.11 \pm 0.04 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ) um einen Faktor 5, auf ca. 0.5 mM.

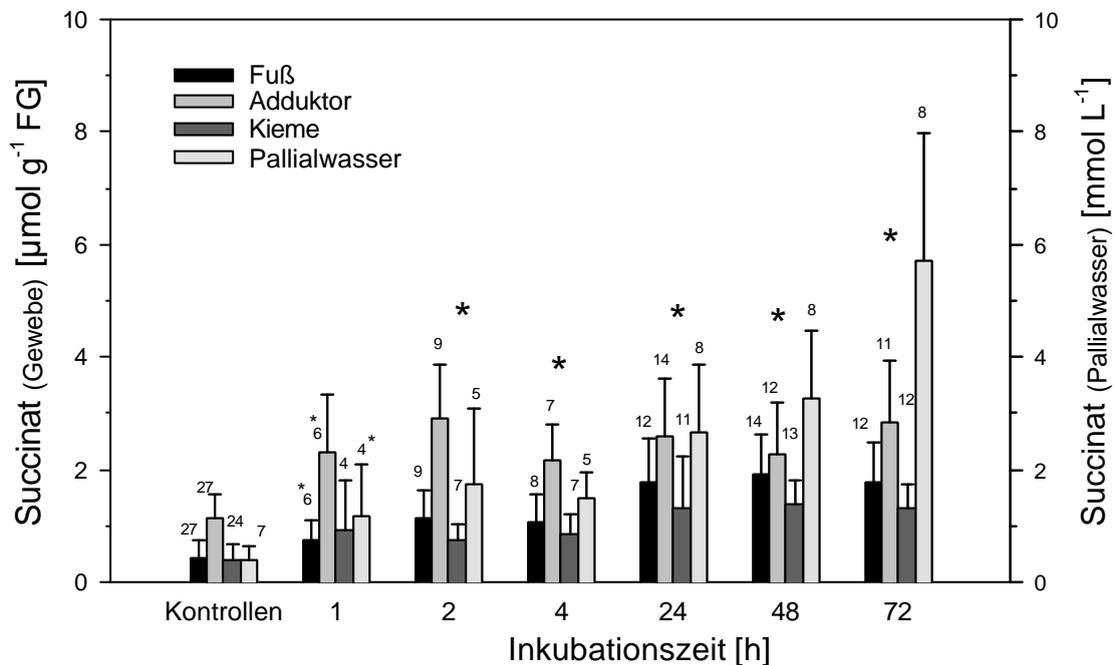
**Tab 3.4:** Acetat-Konzentrationen im Fuß, im Adduktor, in den Kiemen [ $\mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ] und im Pallialwasser [mM] von normoxischen Kontrolltieren und bei nomineller Anoxie ( $\text{N}_2$ -Begasung für 1, 2, 4, 24, 48, und 72 Stunden). Angegeben sind die Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen ( $x \pm \text{SD}$ ), sowie die Anzahl der Tiere (n); fettgedruckte Werte sind signifikant verschieden zu den Kontrollen

Acetat	Fuß [ $\mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ]		Adduktor [ $\mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ]		Kiemen [ $\mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ]		Pallialwasser [mmol L <sup>-1</sup> ]	
	$x \pm \text{SD}$	(n)	$x \pm \text{SD}$	(n)	$x \pm \text{SD}$	(n)	$x \pm \text{SD}$	(n)
Kontrollen	$0.83 \pm 0.51$	(23)	$0.93 \pm 0.65$	(20)	$1.14 \pm 0.76$	(17)	$0.11 \pm 0.04$	(4)
1 h	$0.77 \pm 0.51$	(6)	1.21	(2)	1.30	(1)	$0.14 \pm 0.02$	(3)
2 h	$1.45 \pm 0.79$	(6)	$1.66 \pm 1.34$	(7)	$2.12 \pm 1.57$	(6)	$0.25 \pm 0.26$	(3)
4 h	$1.40 \pm 1.17$	(7)	$1.67 \pm 1.73$	(6)	$2.03 \pm 1.76$	(5)	$0.32 \pm 0.34$	(5)
24 h	$0.75 \pm 0.23$	(10)	$1.11 \pm 0.47$	(10)	$1.55 \pm 0.45$	(8)	<b><math>0.28 \pm 0.19</math></b>	<b>(8)</b>
48 h	$0.96 \pm 0.49$	(8)	$0.85 \pm 0.35$	(8)	$0.88 \pm 0.40$	(8)	<b><math>0.55 \pm 0.43</math></b>	<b>(8)</b>
72 h	$0.89 \pm 0.41$	(10)	$1.23 \pm 1.37$	(11)	$0.85 \pm 0.25$	(11)	<b><math>0.51 \pm 0.21</math></b>	<b>(8)</b>

Abbildung 3.17 zeigt die Succinatkonzentrationen im Fuß, in den Schalenadduktoren, in den Kiemen und im Pallialwasser nach entsprechender Inkubationszeit. Außer in den Kiemen steigt die Succinatkonzentration in allen Geweben, sowie im Pallialwasser bereits nach einer Stunde signifikant gegenüber den Kontrollen an. Bei allen längeren Inkubationen bleiben die Konzentrationen signifikant erhöht. Es fällt auf, daß die Succinatkonzentration in den Adduktoren bereits nach einer Stunde Stickstoffinkubation mit  $2.31 \pm 1.01 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$  doppelt so hoch ist wie in den Kontrollwerten ( $1.14 \pm 0.32 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ) und bei länger andauernder Hypoxie auf diesem Niveau verbleibt ( $2.28 \pm 0.93 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$  nach 48 h), bzw. nach drei Tagen nur leicht darüber liegt ( $2.83 \pm 0.32 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ). In den Kiemen (4 h:  $0.86 \pm 0.36 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ), und noch mehr im Fuß (4 h:  $1.06 \pm 0.49 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ) akkumuliert Succinat dagegen bei lang anhaltender, strenger Hypoxie weiter (24 h: Kiemen  $1.31 \pm 0.94 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ; Fuß  $1.78 \pm 0.77 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$ ). Nach 24 Stunden stagniert die Konzentration dann ebenfalls, insgesamt bleiben die Gewebekonzentrationen im Fuß und in den Kiemen unter denen

in den Adduktoren. Der Konzentrationsanstieg fällt allerdings mit einem Faktor 3 bei den Kiemen, bzw. Faktor 4 beim Fuß, höher aus als in den Adduktoren, Faktor 2, was in den hohen Kontrollwerten der Adduktoren begründet ist.

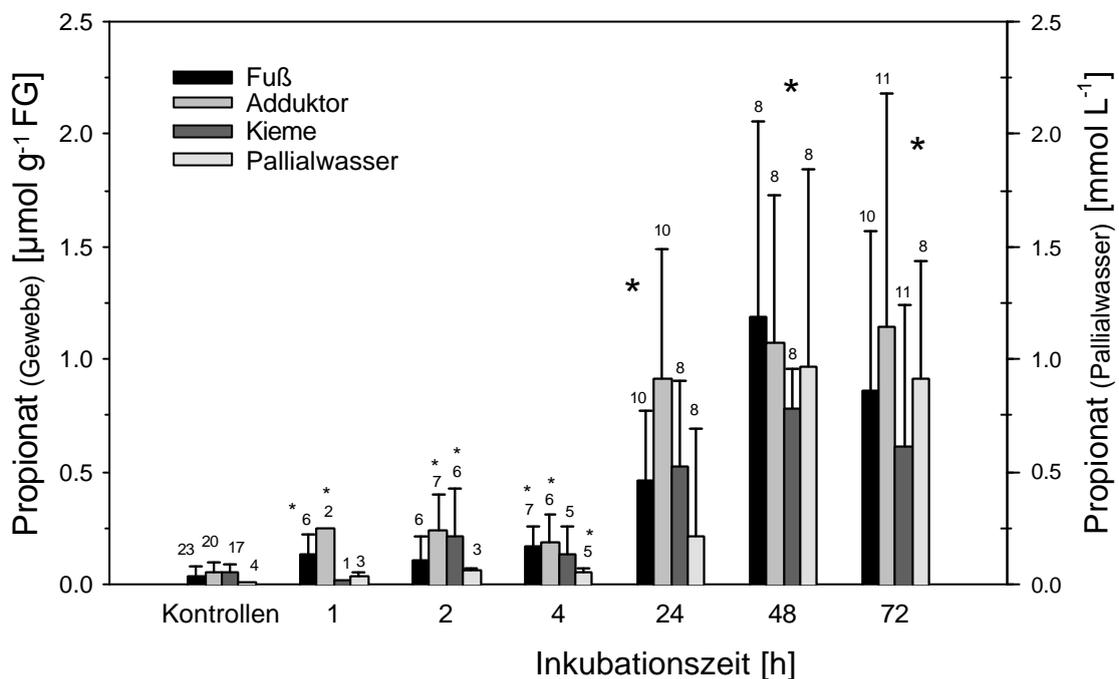
Anders stellt sich die Situation des Succinats im Pallialwasser der Muscheln dar. Zwar ist auch dort schon nach einer Stunde strenger Hypoxie die Succinatkonzentration signifikant erhöht, nämlich auf das 3fache ( $1.19 \pm 0.91$  mM) der Kontrollwerte ( $0.40 \pm 0.24$  mM), steigt aber während der 72 Stunden stetig bis auf das 14fache ( $5.71 \pm 2.28$  mM) weiter an, so daß zu vermuten ist, daß auch nach 72 Stunden das Maximum noch nicht erreicht ist.



**Abb. 3.17:** Succinat-Konzentrationen im Fuß, im Adduktor, in den Kiemen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$ FG] und im Pallialwasser [mM] von normoxischen Kontrolltieren und bei nomineller Anoxie ( $\text{N}_2$ -Begasung für 1, 2, 4, 24, 48, und 72 Stunden). Angegeben sind die Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ), sowie die Anzahl der Tiere (n: Ziffer über den Balken); mit einem Stern gekennzeichnete (\*) Balken, (\*) Gruppen, sind signifikant ( $p < 0.05$ ) verschieden zu den Kontrollen.

Auch Propionat, als spätes Endprodukt einer biotopbedingten Anaerobiose (Grieshaber et al. 1994) akkumuliert bei *C. fluminea* unter Stickstoffbegasung, zunächst zwar langsam, innerhalb der ersten vier Stunden auf das 3 bis 5fache der Kontrollwerte. Nach zwei bis drei Tagen unter strenger Hypoxie aber steigen dessen Konzentrationen auf das 10 bis 20fache, ca.  $1 \mu\text{mol g}^{-1}$  FG, im Gewebe und im Durchschnitt auf das 100fache, ca. 1 mM, im Pallialwasser (Abb. 3.18). Besonders beim Pallialwasser liegt der hohe Faktor an den sehr niedrigen normoxischen Kontrollwerten, bei allen vier Tieren 0.01 mM. Während in den Geweben schon in

den ersten beiden Stunden signifikante Unterschiede in den Propionatkonzentrationen auftreten, dauert es vier Stunden bis Propionat mit  $0.05 \pm 0.02$  mM im Pallialwasser signifikant akkumuliert. Nach 24 Stunden nimmt die Propionatproduktion allerdings vehement zu und erreicht nach 48 und 72 Stunden im Pallialwasser Konzentrationen von  $0.97 \pm 0.87$  mM, bzw.  $0.91 \pm 0.53$  mM Propionat. Wie die hohen Standardabweichungen andeuten, sind die einzelnen Individuen sehr verschieden in ihrer Fähigkeit Propionat zu bilden und es dann anschließend in das Pallialwasser auszuschleusen, so daß die Einzelwerte zwischen 0.01 mM und 2.35 mM Propionat im Pallialwasser schwanken.



**Abb. 3.18:** Propionat-Konzentrationen im Fuß, im Adduktor, in den Kiemen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG] und im Pallialwasser [mM] von normoxischen Kontrolltieren und bei nomineller Anoxie ( $\text{N}_2$ -Begasung für 1, 2, 4, 24, 48, und 72 Stunden). Angegeben sind die Mittelwerte mit ihren Standardabweichungen ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ), sowie die Anzahl der Tiere (n: Ziffer über den Balken); mit einem Stern gekennzeichnete (\*) Balken, (\*) Gruppen, sind signifikant verschieden ( $p < 0.05$ ) zu den Kontrollen.

Genau wie im Pallialwasser akkumuliert Propionat in den Geweben von sehr niedrigen normoxischen Kontrollwerten ausgehend: Fuß  $0.04 \pm 0.04$   $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG, in den Adduktoren  $0.05 \pm 0.05$   $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG und in den Kiemen  $0.05 \pm 0.04$   $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG. Innerhalb der ersten vier Stunden bei strenger Hypoxie steigen die Konzentrationen auf etwa  $0.10$  bis  $0.25$   $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG an, um dann nach 24 Stunden sehr stark auf ca.  $0.50$   $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG (Fuß und Kiemen), bzw.  $0.91 \pm 0.58$   $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG (Adduktoren) zuzunehmen. Nach weiteren 24 Stunden steigt die Propionatkonzentration nochmals an und erreicht Werte von etwa  $1$   $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG in allen drei

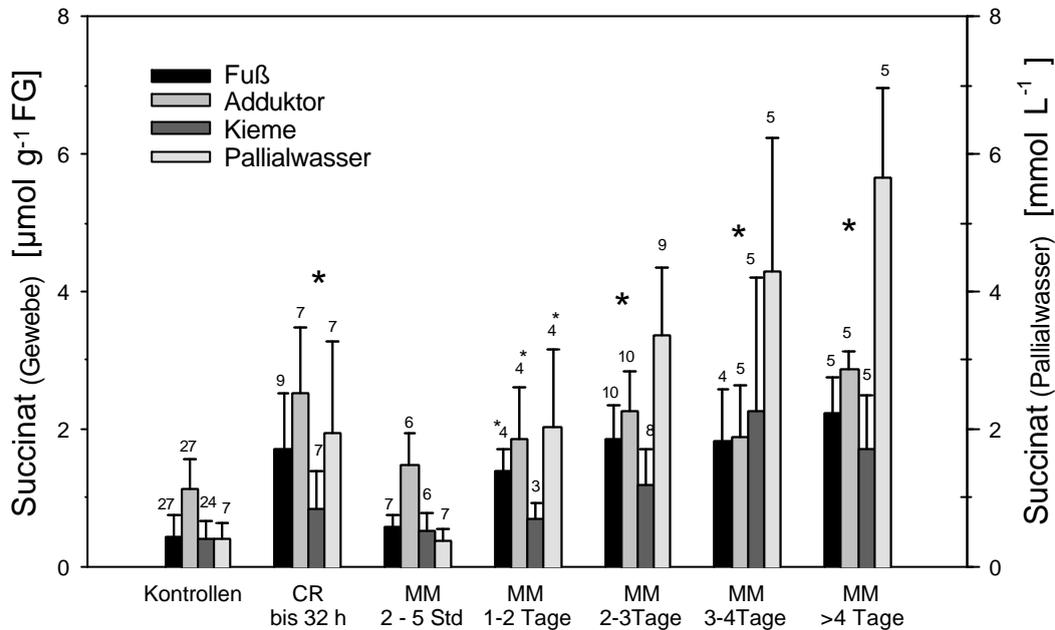
Geweben. Auch in den Geweben zeigt sich die sehr unterschiedliche Kapazität des anaeroben Stoffwechsels der einzelnen Individuen (hohe SD in Abb. 3.18). Einige Muscheln kommen kaum über das Niveau der frühen Anaerobiose hinaus, andere dagegen erreichen Maximalwerte von  $2.42 \mu\text{mol g}^{-1}$  FG im Fuß (48 h), bzw.  $2.98 \mu\text{mol g}^{-1}$  FG in den Adduktoren (72 h).

### 3.3.2 Anaerobe Metabolite bei geschlossenen Schalen und Normoxie

Nachdem mit den Muschelmonitoren im Rhein und im Labor gezeigt wurde, daß Schließzeiten von mehr als 10 bis 12 Stunden, manchmal auch ganze Tage bei geschlossenen Schalen, zum normalen Verhalten der Körbchenmuscheln gehören (Kap. 3.2), bleibt der Modus des Stoffwechsels während dieser Zeiten noch zu klären. Denn die Kalorespirometrie vermag nicht eindeutig zu beantworten, ob die um 90 % reduzierte metabolische Rate ausschließlich aerob gedeckt ist oder zusätzlich anaerobe Stoffwechselwege Energie liefern (Kap. 3.1). Daß *C. fluminea* den sehr effektiven Weg der anaeroben Propionatproduktion beschreiten kann, haben die Stickstoffinkubationen von bis zu drei Tagen bewiesen. Ob dieser anaerobe Stoffwechselweg auch bei geschlossenen Schalen unter normoxischen Bedingungen von den Muscheln eingeschlagen wird, sollten Metabolitbestimmungen von Tieren klären, von denen man genau wusste, daß sie zuvor für definierte Zeiten ihre Schalen geschlossen hatten. Neben den neun Tieren, die dazu aus dem Kalorimeter entnommen wurden (## 18 – 26, Tab. 3.1), konnte ich dem Mosselmonitor<sup>®</sup> im Labor geeignete Muscheln entnehmen (31 Exemplare) und bei ihnen die Konzentrationen an Succinat, Acetat und Propionat in den Geweben und im Pallialwasser nach Schließzeiten zwischen zwei und 175 Stunden messen. Um die vielen Einzeldaten (Tab. A3 u. A4, Anhang) sinnvoll darstellen zu können, wurden die Metabolitkonzentrationen der 31 Tiere aus dem Mosselmonitor<sup>®</sup> so in Gruppen zusammengefasst, daß man eine eventuelle zeitabhängige Akkumulation erkennen kann; nämlich 2 – 5 h, 1 – 2 Tage, 2 – 3 Tage, 3 – 4 Tage und mehr als 4 Tage mit geschlossenen Schalen. Die neun Tiere aus dem Kalorimeter, deren Schließzeiten zwischen 7 und 32 Stunden lagen, wurden nicht weiter aufgetrennt, sondern als eigene Gruppe den Abbildungen hinzugefügt, die Kontrollen entsprachen denen der Stickstoffinkubationen (Abb. 3.19 und 3.20).

Wie in Abb. 3.19 zu erkennen ist, akkumuliert Succinat in allen untersuchten Geweben mit fortschreitender Zeit bei geschlossenen Schalen. Sind die Konzentrationen nach 2 – 5 Stunden nur leicht gegenüber den Kontrollen erhöht, so zeigen alle anderen Gruppen mit längerer Schließzeit signifikant höhere Succinatkonzentrationen, ebenso die Gruppe der Tiere aus dem Kalorimeter, die zwischen 7 und 32 h geschlossen waren. Im Gegensatz zu den Ge-

webekonzentrationen, die mit ca.  $2 \mu\text{mol g}^{-1}$  FG nach 1 – 3 Tagen ein oberes Niveau erreichen, akkumuliert Succinat im Pallialwasser mit fortschreitender Schließzeit kontinuierlich weiter und scheint auch nach einer Woche noch kein Maximum erreicht zu haben (Abb. 3.19).

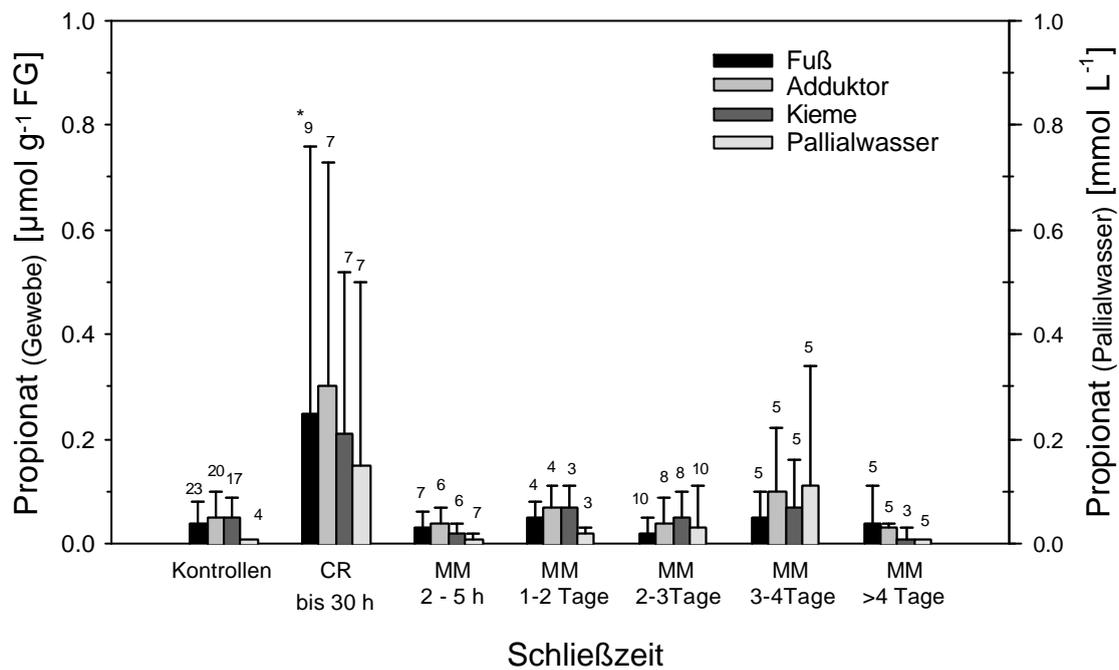


**Abb. 3.19:** Succinat-Konzentrationen im Fuß, im Adduktor, in den Kiemen [ $\mu\text{mol g}^{-1}$ FG] und im Pallialwasser [mM] von Kontrolltieren und nach definierter Zeit mit geschlossenen Schalen im Kalorimeter (CR 7 – 32 h), bzw. im Mosselmonitor<sup>®</sup> (MM), alle Tiere in normoxischen SSW bei  $15^\circ\text{C}$ . Angegeben sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ), sowie die Anzahl der Tiere (n: Ziffer über den Balken); mit einem Stern gekennzeichnete (\*) Balken, (\*) Gruppen, sind signifikant verschieden ( $p < 0.05$ ) zu den Kontrollen.

Mit Gewebekonzentrationen von maximal  $2 - 3 \mu\text{mol g}^{-1}$  FG akkumuliert Succinat bei geschlossenen Schalen und Normoxie also in gleichem Maße wie unter den streng hypoxischen Bedingungen der Stickstoffinkubationen (Abb.3.17). Auch die ungehemmt fortschreitende Akkumulation des Succinats im Pallialwasser der geschlossenen Muscheln gleicht dem Verlauf unter strenger Hypoxie, nur daß sie etwas langsamer verläuft. Erreicht die Succinatkonzentration bereits nach drei Tagen Stickstoffinkubation  $5.71 \pm 2.28 \text{ mM}$ , so liegt sie nach drei Tagen bei geschlossenen Schalen und Normoxie erst bei  $3.37 \pm 1.03 \text{ mM}$  und braucht weitere zwei Tage um auf  $5.66 \pm 1.30 \text{ mM}$  anzusteigen.

Völlig anders stellt sich die Situation bei den freien Fettsäuren dar. Selbst nach über vier Tagen mit geschlossenen Schalen konnte keine erhöhte Konzentration des Propionats (Abb. 3.20) oder des Acetats gefunden werden, weder in den drei untersuchten Geweben noch

im Pallialwasser der Muscheln. Lediglich vier Individuen zeigen den unter Hypoxie üblichen Anaerobiosestoffwechsel, je zwei Tiere aus dem Kalorimeter und dem Mosselmonitor®. Sie wiesen in allen Geweben und im Pallialwasser gegenüber den Kontrollen erhöhte Werte auf und zeichnen sich auch für die hohen Standardabweichungen und die einzige Signifikanz (CR Fuß) in Abb. 3.20 verantwortlich. Alle anderen Tiere unterscheiden sich nicht zu den Kontrollen, haben nicht einmal leicht erhöhte Propionatkonzentrationen.



**Abb. 3.20:** Propionat-Konzentrationen im Fuß, im Adduktor, in den Kiemen [ $\mu\text{mol g}^{-1}\text{FG}$ ] und im Pallialwasser [ $\text{mM}$ ] von Kontrolltieren und nach definierter Zeit mit geschlossenen Schalen im Kalorimeter (CR 7 – 32 h), bzw. im Mosselmonitor® MM, alle Tiere im normoxischen SSW bei 15°C. Angegeben sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen ( $\bar{x} \pm \text{SD}$ ), sowie die Anzahl der Tiere (n: Ziffer über den Balken); mit einem Stern gekennzeichnete (\*) Balken sind signifikant verschieden ( $p < 0.05$ ) zu den Kontrollen.

Lediglich bei zwei Tieren ist es bisher gelungen die Metabolite unmittelbar nach dem „freiwilligen“ Öffnen der Schalen zu bestimmen. Bei einer Muschel aus dem Kalorimeter (#28 Tab. 3.1), die zuvor ca. 22 Stunden geschlossen war, fünf Minuten nach dem Öffnen und bei einer zweiten Muschel, die zuvor 10.5 Stunden im Mosselmonitor® geschlossen war, drei Minuten nach dem Öffnen (Tab. 3.5). Gegenüber den Kontrollwerten (0.11 mM) wiesen sie leicht erhöhte Acetat-Konzentrationen im Pallialwasser auf (0.18 mM, bzw. 0.20 mM), während sie in den Geweben nicht von den Kontrollen abwichen. Die etwas erhöhten Werte bei

dem Tier aus dem Kalorimeter sind vermutlich in den ungewöhnlich hohen Verdünnungsfaktoren der PCA-Extrakte von Adduktor und Kiemen begründet.

**Tab. 3.5:** Metabolitkonzentrationen in Fuß, Adduktor (Add) und Kiemen (Kie) [ $\mu\text{mol g}^{-1}$  FG], sowie im Pallialwasser (Pall) [mM] der Kontrolltiere und von zwei Muscheln unmittelbar nach dem Öffnen der Schalen.

1) 5 min offen nach 22 h bei geschlossenen Schalen (Kalorimeter) und 2) 3 min geöffnet nach 10.5 h bei geschlossenen Schalen (Mosselmonitor<sup>®</sup>)

	Succinat $\mu\text{mol g}^{-1}$ FG; bzw. mM				Acetat $\mu\text{mol g}^{-1}$ FG; bzw. mM				Propionat $\mu\text{mol g}^{-1}$ FG; bzw. mM			
	Fuß	Add	Kie	Pall	Fuß	Add	Kie	Pall	Fuß	Add	Kie	Pall
Kontrollen $\bar{x} \pm \text{SD}$	0.42 $\pm 0.32$	1.14 $\pm 0.40$	0.40 $\pm 0.26$	0.40 $\pm 0.24$	0.83 $\pm 0.51$	0.93 $\pm 0.65$	1.14 $\pm 0.76$	0.11 $\pm 0.04$	0.04 $\pm 0.04$	0.05 $\pm 0.05$	0.05 $\pm 0.04$	0.01 $\pm 0.00$
1) 5 min auf nach 22 h	1.95	2.70	1.88	2.80	0.72	1.61	1.98	0.18	0.02	0.04	0.07	0.01
2) 3 min auf nach 10.5 h	0.48	1.75	0.67	1.55	0.53	0.67	0.85	0.20	0.01	0.02	0.01	0.01

Anders als beim Propionat, für das sich weder in den Geweben noch im Pallialwasser erhöhte Konzentrationen finden ließen, lagen die Succinatwerte z.T. deutlich gegenüber den Kontrollen erhöht. Bei dem Tier aus dem Kalorimeter sind die Werte der Gewebe, wie bereits erwähnt, wegen der schlechten Verdünnungsfaktoren mit Vorsicht zu beurteilen. Dennoch scheint in beiden Tieren der Succinatgehalt leicht erhöht zu sein. Die hohen Konzentration des Pallialwassers sind dagegen ohne Abstriche aussagekräftig und zeigen bei beiden Tieren eine deutliche Akkumulation von Succinat (2.80 mM, bzw. 1.55 mM) im Pallialwasser an.

#### 4 Diskussion

Muscheln sind als Monitore von Umweltbelastungen aus mehreren Gründen hervorragend geeignet: Sie akkumulieren und tolerieren hohe Konzentrationen vieler Schadstoffe, sie sind sessil und somit repräsentativ für den jeweiligen Standort, sie sind weit verbreitet und geben genügend Gewebe für die nötigen Analysen. Zwei verschiedene Ansätze des Monitorings finden bei ihnen Anwendung. Zum einen Verhaltensänderungen als Antwort auf schlechte Umweltbedingungen, also v.a. ihre Schalenbewegungen (Doherty 1987; Borcharding 1992b; Allen et al. 1996) und zum anderen die Schadstoffakkumulation der Gewebe („Mussel Watch“ u.a. Gunther et al. 1999), v.a. Schwermetalle (Leland & Scudder 1990; Reinfelder et al. 1997) und organische Chlorverbindungen (Leard et al. 1980; Narbonne et al. 1999; Cataldo et al. 2001). Eine umfassende Darstellung solcher Arbeiten zu *C. fluminea* geben Doherty & Cherry (1988). Toxikologische Untersuchungen zur physiologischen Antwort auf diese Schadstoffe liefern die Grundlagen für das Verständnis deren Wirkung und ihrer Entgiftung, bzw. Aufnahme ins Gewebe (u.a. Cheney et al. 2001, Cosson 2000; Isani et al. 2001).

Bei all diesen Arbeiten wird vorausgesetzt, daß die Muscheln unter unbelastenden Bedingungen bei geöffneten Schalen ventilieren und die schnellste Reaktion auf äußeren Stress das Schließen der Schale sei. Gleiches gilt für physiologische Experimente zu Stoffwechselaktivitäten unter den verschiedensten Umweltbedingungen, wie Reaktionen auf Hypoxie (Wang & Widdows 1993a + b), Luftexposition (Byrne & McMahon 1994), Experimente zur Osmoregulation (Dietz 1985), zur Temperaturabhängigkeit (Peck et al. 2002) oder bei der Bestimmung der Filtrationsraten (Jørgensen 1990). Natürlich ist es richtig, daß die Muscheln bei Gefahr und schlechten Umweltbedingungen die Schalen schließen. Aber sie schließen die Schalen auch ohne erkennbaren äußeren Stress, wie bisher alle Aufzeichnungen von Schalenbewegungen bei Muscheln belegten, wenn auch die Dauer der Schließzeiten je nach Art sehr unterschiedlich sein kann: u.a. *Anodonta cygnea* (Salanki 1965); *Crassostrea virginica* (Higgins 1980); *Mytilus edulis* (Kramer et al. 1989); *Dreissena polymorpha* (Borcharding 1992); *Austrovenus stutchburyi* (Williams et al. 1993) und auch *C. fluminea* (Doherty 1987; Ham & Peterson 1994; Allen et al. 1996; diese Arbeit). Allerdings ist wegen des schweren Zugriffs bisher nur wenig bekannt über die Zustände innerhalb der geschlossenen Schalen, etwas mehr schon über den Metabolismus geschlossener Muscheln bei strenger Hypoxie. Unter solchen Bedingungen reduzieren Muscheln, wie viele andere Evertibraten auch, drastisch ihre SMR. Auf diese Weise sparen sie Speichersubstrate und verlangsamen die Akkumulation saurer Endprodukte („metabolic depression“: Hochachka & Guppy 1987; Grieshaber et al. 1994),

was ihnen ein längeres Überleben ermöglicht. Eine entsprechende Reduktion der Stoffwechselrate findet man als Schutz vor Austrocknung, bei sehr hohen Schadstoffkonzentrationen oder andauernden Nahrungsmangel (Guppy & Withers 1999).

#### **4.1 Intermittierender Stoffwechsel beim Öffnen und Schließen der Schalen**

Wie die Schalenbewegungen von *C. fluminea* und *D. polymorpha* im Rhein (Kap. 3.2) demonstrieren, schließen die Muscheln ihre Schalen aber auch für viele Stunden täglich unter Bedingungen, die sie ansonsten gut wachsen lassen. Können sie diese Phasen tatsächlich nutzen, um Substrate und Energie einzusparen? Zumindest für *C. fluminea* konnten die kalorespirometrischen Messungen (Kap 3.1) nachweisen, daß ihre Wärmedissipation unter normoxischen Bedingungen über mehrere Stunden um 90 % reduziert ist. Obgleich man nicht in die Meßkammer des Kalorimeters hineinschauen kann, ist es doch nur sehr schwer vorstellbar, daß dies nicht mit dem Schließen der Schalen einhergeht. Vergleicht man die Messkurven aus dem Kalorimeter mit denen der Muschelmonitore im Rhein, so findet man eindeutige Übereinstimmungen in deren Verlauf. So ähnelt z.B. der intermittierende Stoffwechsel mit den wenigen, aber scharfen Wechseln zwischen den Aktivitäts- und den Ruhephasen dem seltenen und stufenlosen Schließen und Öffnen der Schalen. Zudem konnte ich bei ersten respirometrischen Experimenten einen transparenten Inkubationsbehälter verwenden und sehen, daß das Schließen der Schale eine Reduktion des Sauerstoffverbrauchs zur Folge hatte. Ein weiteres Indiz, daß die Phasen mit sehr niedrigen Stoffwechselraten den Zeiten mit geschlossener Schale entsprechen, findet man bei Holopainen & Penttinen (1993). Bei deren kalorimetrischen Experimenten zur Hypoxietoleranz von *Sphaerium corneum* und *Pisidium amnicum* trat solch ein intermittierender Metabolismus ebenfalls bereits unter normoxischen Bedingungen auf. Auch sie korrelierten diesen Befund sofort mit dem Schließen und Öffnen der Schalen und überprüften ihre Hypothese indem sie ein kleines Stäbchen so zwischen den Schalen fixierten, daß die Muscheln die Schalen nicht mehr schließen konnten. Daraufhin blieben die Abschnitte mit reduzierter Wärmedissipation aus.

##### **4.1.1 Standard Metabolic Rate (SMR) und Metabolic Depression bei *C. fluminea***

Unter „metabolic depression“ versteht man die Reduktion der metabolischen Rate bezogen auf die metabolische Rate in Ruhe ohne Nahrung (SMR). Das Ausmaß der „metabolic depression“ einer gemessenen Rate wird als deren Quotient oder Anteil in % der SMR angegeben und liegt in den meisten Fällen zwischen 5 und 40% der SMR (Widdows 1987; Guppy & Withers 1999). Ein Vergleich der Stoffwechselraten von Muscheln ist oft schwierig und

verwirrend, gerade wegen der Zeiten mit geschlossenen Schalen und den daraus entstehenden unterschiedlichen Auffassungen von den Ruhezuständen der Tiere. So behelfen sich einige Autoren mit den Begriffen „basale Rate“, „Routinerate“, „Ruherate“ oder „Ventilationsrate“ und bezeichnen damit oftmals alle etwas anderes. Mal messen sie nur bei geöffneten Schalen, mal über längere Zeiträume mit offenen und geschlossenen Schalen, manche nehmen die Phasen bei geschlossenen Schalen bewusst heraus, manche bestimmen einen „Mischwert“, manchmal sind die Tiere gefüttert worden und manchmal nicht. Hinzu kommen noch gravierende Unterschiede der Versuchsbedingungen, wovon hier nur geschlossene und offene Systeme, sowie Größen- und Temperaturabhängigkeit des Metabolismus genannt sein sollen. Dennoch liegen die in dieser Arbeit für *C. fluminea* bestimmten spezifischen Stoffwechselraten in der gleichen Größenordnung wie andere Arbeiten mit Muscheln (Tab 4.1).

**Tab. 4.1:** Stoffwechselraten von Muscheln in  $\text{J h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{TG}$

Spezies (Gewicht / Länge)	Q [ $\text{J h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{TG}$ ]	T [°C]	Referenz
<i>Abra tenuis</i>	8 – 12	15	Wang & Widdows (1993a)
<i>Cerastoderma edule</i>	9 – 10 *	10	Widdows et al. (1979)
<i>Crassostrea virginica</i> (360mg)	12 – 55 * <sup>#</sup>	25	Willson & Burnett (2000)
<i>Geukensia demissa</i>	8.2 *	20	Widdows et al. (1979)
<i>Mercenria mercenaria</i>	18 – 24 <sup>#</sup>	21	Hammen (1979)
<i>Mulina lateralis</i>	12	15	Shumway et al. (1983)
<i>Mya arenaria</i>	11.4 – 15.2 <sup>#</sup>	24	Hammen (1979)
<i>Mytilus edulis</i>	9 – 13 <sup>#</sup>	24	Hammen (1979)
<i>Mytilus edulis</i>	7.6 – 8.4 *	10	Widdows et al. (1979)
<i>Mytilus edulis</i>	7	15	Shick et al. (1986)
<i>Mytilus edulis</i> (14.7mg)	8 – 15	15	Wang & Widdows (1993b)
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	4.2 – 8.6 *	25	Widdows et al. (1979)
<i>Ruditapes philipensis</i> (33mm)	17.5 *	20	Kim et al. (2001)
<i>Scapharca inaequivalis</i>	6.3 *	20	van den Thillart et al. (1992)
<i>Tellina alternata</i> (4.6g FG)	4.3 – 5.8 <sup>#</sup>	18	Doeller et al. (1990)
<i>Dreissena polymorpha</i> (20mg)	12*	17	Sprung & Borcharding (1991)
<i>Dreissena polymorpha</i> (60mg)	6 - 8 *	10.4	Sprung & Borcharding (1991)
<i>Musculinum secures</i> (2-4mm)	16 *	20	McKee & Mackie (1983)
<i>Pisidium amnicum</i> (1mg)	6 – 7	10-20	Holopainen & Penttinen (1993)
<i>Sphaerium corneum</i> (1mg)	7 - 14	10-20	Holopainen & Penttinen (1993)
<i>Sphaerium occidentale</i> (2-8mm)	30 *	20	McKee & Mackie (1983)
<i>Corbicula fluminea</i>	4 – 25 *	15	McMahon (1979)
<i>Corbicula fluminea</i>	27 *	25	Byrne et al. (1990)
<b><i>Corbicula fluminea</i> (5 – 370 mg)</b>	<b>2 - 16</b>	<b>15</b>	<b>diese Arbeit</b>

\*: Werte aus  $\text{MO}_2$  mit dem oxykalendarischen Äquivalent ( $450 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) berechnet.

<sup>#</sup>: Werte des FG mit Faktor 6 – 8 in TG umgeformt (Crisp 1971; Gnaiger & Staudigl 1987).

Für die weitere Betrachtung bezeichne ich die Stoffwechselraten der in Kap. 3 „Aktivitätsphasen“ genannten Abschnitte als SMR bei geöffneten Schalen. In diesen Phasen sind die Tiere entsprechend der Definition der SMR ohne äußeren Stress in normoxischen, temperaturkonstanten Wasser und ohne Nahrung. Die dort gemessene Wärmeabgabe stammt aus den Reaktionen, die der Erhaltung des Organismus dienen. Entsprechend spiegeln die Stoffwechselraten während der „Ruhephasen“ (Kap 3) die „metabolic depression“ von *C. fluminea* bei geschlossenen Schalen wider (Abb. 3.3 und 3.4). Mit ca. 10% der SMR liegt die Wärmedissipation bei geschlossenen Schalen aber auf einem Niveau, daß ansonsten nur bei Tieren unter großer Belastung gefunden wird (Widdows 1987; Guppy & Withers 1999).

#### 4.1.2 Substrat sparen bei geschlossenen Schalen?

Ob die Reduktion auf 10% der SMR wirklich Substrat und Energie einspart hängt von mehreren Dingen ab. Nimmt man an, daß der Stoffwechsel in diesen Zeiten vollständig aerob gedeckt ist, wäre die Reduktion auf 10 % der SMR in der Tat eine deutliche Einsparung an wertvollem Speichersubstrat. Zu dieser Annahme kann man schnell gelangen, wenn man die kalorespirometrischen Messungen betrachtet, die zu ganz überwiegenden Teil auch in den Abschnitten mit reduziertem Stoffwechsel, keinen Hinweis auf anaerobe Anteile am Stoffwechsel geben (Kap. 3.1.5, Abb. 3.9 unten). Die Meßkurven der Wärmedissipation und des Sauerstoffverbrauchs verlaufen beinahe deckungsgleich (Abb. 3.7 und 3.8) und auch der Anteil bzgl. der SMR ist in diesen Abschnitten gleich,  $9.5 \pm 3.1 \%$  und  $9.1 \pm 3.5 \%$  (Abb. 3.3 und 3.4). Dennoch muß man, wie bereits ausgeführt, wegen der langen Versuchszeit mit einer Beurteilung vorsichtig sein. Schließlich gehe ich davon aus, daß die Muscheln dort ihre Schalen geschlossen haben, also nur noch den Sauerstoff zur Verfügung haben, den sie im Pallialwasser und im Gewebe zuvor speichern konnten. Aus der Größe der Tiere und dem Volumen des Pallialwassers kann man ungefähr abschätzen, wieviel Sauerstoff die Tiere im geschlossenen Zustand zur Verfügung haben. Kennt man die Menge Sauerstoff kann man daraus die maximale aerobe Wärme berechnen und aus der Stoffwechselrate bei geschlossenen Schalen (Abb. 3.6) die Zeit bestimmen, bis der gespeicherte Sauerstoff bei ausschließlich aeroben Metabolismus aufgebraucht wäre.

Wie die beiden Beispiele in Tab. 4.2 zeigen, muß *C. fluminea* nach dem Schließen der Schalen nicht gleich in eine selbstinduzierte Anaerobiose fallen, wie es Holopainen und Penttinen (1993) für die Sphaeriiden *S. corneum* und *P. amnicum* annahmen. Dennoch ist bei ausschließlich aeroben Metabolismus der gelöste Sauerstoff je nach Größe der Muschel auf etwa

5 bis 9 h begrenzt. Im Kalorimeter waren aber Schließzeiten von mehr als 9 h keine Seltenheit und im Rhein sogar die Regel und da weitere Sauerstoffspeicher oder respiratorische Pigmente bei *C. fluminea* nicht bekannt sind, müssen folglich auch anaerobe Prozesse zur Gesamtwärmerate beitragen. Mit dem Nachweis von Succinat ist dies in dieser Arbeit auch belegt.

**Tab. 4.2:** Maximale Dauer des aeroben Stoffwechsels bei geschlossenen Schalen

<i>C. fluminea</i> (Größe)	200mg TG = 1.4 g FG	1000 mg TG = 7 g FG
Volumen Pallialwasser	0.5 – 1.0 mL	1 – 2 mL
Gewebe: (1 g FG = 1 mL)	1.4 mL	7 mL
normoxischer O <sub>2</sub> -Gehalt (15°C): 315 μmol L <sup>-1</sup> = 0.315 μmol mL <sup>-1</sup>	0.60 – 0.76 μmol O <sub>2</sub>	2.5 – 2.8 μmol O <sub>2</sub>
oxykal. Äquivalent: 0.45 J μmol <sup>-1</sup>	0.27 – 0.34 J	1.1 – 1.3 J
Stoffwechselrate (Abb.3.6) : y [μW] = 1.65 • [mgTG] <sup>0.46</sup>	19 μW = 0.07 J h <sup>-1</sup>	40 μW = 0.14 J h <sup>-1</sup>
Dauer bis O <sub>2</sub> verbraucht ist	<b>4 – 5 h</b>	<b>8 – 9 h</b>

Will man aber das Ausmaß der anaeroben Anteile am Stoffwechsel beurteilen, ergeben sich einige Probleme. Zwar kann man aus der Differenz zwischen Gesamtwärmedissipation und aerober Wärme den Anteil der anaeroben Wärmedissipation leicht bestimmen, damit weiß man allerdings noch wenig über den Substratverbrauch und den ATP-Turnover, der dieser anaeroben Wärme zu Grunde liegt. Wie Gnaiger (1983c) ausführlich darlegt, gibt es keinen direkten Zusammenhang zwischen diesen Stoffwechselgrößen und der dissipierten Wärmemenge. In Abhängigkeit der anaeroben Endprodukte, deren Akkumulation oder Exkretion, sowie den Puffereigenschaften des Cytosols gegenüber den vermehrt anfallenden Protonen wird unterschiedlich viel Wärme frei. Und auch die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse hängt von diesen Bedingungen ab, sie schwankt zwischen 78 kJ mol<sup>-1</sup> bei Normoxie und 55 kJ mol<sup>-1</sup> bei anaerober Propionatproduktion (Gnaiger 1983c). Falls alle anaeroben Endprodukte bekannt sind, kann man aus deren kalorischen Äquivalenten (z.B. 136 - 152 kJ mol<sup>-1</sup> Succinat; 142 – 156 kJ mol<sup>-1</sup> Propionat: Gnaiger 1983c) die metabolische Rate indirekt bestimmen. Oft zeigte sich aber, daß diese Berechnungen z.T. deutlich unter den direkt gemessenen Wärmeabgaben lagen, ein Ergebnis das als „anoxic gap“ beschrieben wird (Shick et al. 1983; Widdows 1987; Gnaiger et al. 1989). Diese Diskrepanz zwischen berechneter und totaler Wärmedissipation könnte u.U. auf verbliebene aerobe Anteile am Stoffwechsel hindeuten, denn nur

selten sind die Versuchsanordnungen wirklich anoxisch. Schon kleinste Mengen Sauerstoff können während der „metabolic depression“ gravierend zur gesamten Wärmeabgabe beitragen. Viele Tiere regulieren bei sehr niedrigen Sauerstoffkonzentrationen dessen Verbrauch (mikrooxic Regulierer), so daß bei einem  $pO_2$  von 0.2 kPa (1% S) der aerobe Anteil an der Gesamtwärmedissipation 50 % betragen kann. Selbst bei strikt  $O_2$ -konformen Tieren betrüge bei diesem Sauerstoffpartialdruck der aerobe Anteil noch 9 % der Gesamtwärmerate (Gnaiger 1990).

Ohne direkte Bestimmung der Glykogenkonzentrationen und aller Endprodukte kann man offensichtlich das Ausmaß des Substratabbaus, sowie die Effektivität des Energiegewinns nicht exakt quantifizieren, sobald neben den aeroben auch anaerobe Stoffwechselwege zur Gesamtwärme beitragen. Als Überschlagsrechnung für den Propionat-Weg geben Gnaiger et al. (1989) eine Reduktion des ATP-Turnovers auf 20% der aeroben Rate bei einer Reduktion der Wärmedissipation auf 10% der SMR an. Allgemein nimmt man an, daß der anaerobe Stoffwechsel bei einer Reduktion der Wärmedissipation auf ca. 6 – 20 % der aeroben Rate etwa gleichviel Substrat verbraucht (Grieshaber & Hardewig 1993). Erst darunter beginnt demnach ein echter „inverser Pasteur-Effekt“, also ein Stoffwechsel mit reduziertem Substratverbrauch unter anaeroben Bedingungen. Bei Schmidt und Kamp (1996) finden sich einige Beispiele für eine z.T. deutliche Reduktion des ATP-Turnovers und des Substratabbaus während der „metabolic depression“, bei aller Unsicherheit über das Ausmaß. Unter den genannten Beispielen für einen inversen Pasteur-Effekt bei Hypoxie findet sich mit *M. edulis* auch eine Muschel (De Zwaan & Wijsman 1976; Shick et al. 1983; Schmidt & Kamp 1996).

Angesichts des bei geschlossenen Schalen noch vorhandenen Sauerstoffs (s. Tab. 4.2) und der drastischen Reduktion der metabolischen Wärme (Abb. 3.3 und 3.4) kann man sicher sagen, daß *C. fluminea* in den Zeiten mit geschlossener Schale sowohl aerobe als auch anaerobe Stoffwechselwege nutzt und dabei weniger Substrat verbraucht als bei unveränderter SMR und geöffneten Schalen. Sie zeigt einen inversen Pasteur-Effekt bereits unter augenscheinlich stressfreien Bedingungen. Der geringe Energiebedarf bei geschlossenen Schalen wird auch durch den für Muscheln charakteristischen „catch“-Mechanismus möglich, bei dem die Kontraktion der Adduktoren in einem Rigor ähnlichen Zustand verharrt, bis das regulierende Protein Twitchin phosphoryliert wird (Butler et al. 2001). Unter Stickstoffinkubation fällt die Wärmedissipation gar bis auf ca. 5 % der SMR ab (Tab. 3.3), was andeutet, daß die Muscheln beim „normalen“ Schließen der Schalen ihren Spielraum zur Reduktion des Meta-

bolismus nicht vollständig ausschöpfen. Dennoch stellt sich die Frage, wieso sich die Muscheln so lange von ihrer Umwelt isolieren, anstatt die gesamte Zeit zur Nahrungsaufnahme zu nutzen? Denn auch der anabole Stoffwechsel, Wachstum und Fortpflanzung, sind in diesen Phasen unterbunden. Und was macht den Stoffwechsel bei geöffneten Schalen so „kostspielig“, daß ein intermittierender Metabolismus bevorteilt ist?

#### **4.1.3 Kosten der SMR**

Das Konzept der SMR als Erhaltungsstoffwechsel eines Tieres kann man prinzipiell bis hinunter zu den Zellen übertragen, so daß die SMR des gesamten Organismus der Summe der SMRs der einzelnen Zellen entspricht. Auf Zellebene wird die meiste Energie, also ATP, zum Fortbestehen lebenswichtiger Ungleichgewichte benötigt, wie z.B. der Erhaltung funktionierender Makromoleküle, deren Gleichgewicht weit auf Seite der Monomere liegt, und der Erhaltung der Ionengradienten über den Zellmembranen. Im wesentlichen sind das der Protein-Turnover und die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (Hochachka & Guppy 1987). Über deren Anteile am Energie-, bzw. Sauerstoffverbrauch gehen die Meinungen zwar auseinander. Aber mit jeweils mindestens 20 % des benötigten Sauerstoffs veranschlagen die meisten Autoren die Hauptverbraucher Proteinsynthese und Ionenregulation, weitere 20 – 30 % gehen auf Kosten des Protonenlecks der inneren Mitochondrienmembran (Rolfe & Brand 1996; Brand et al. 2000; Pakay et al. 2002). Beim Erhaltungsstoffwechsel geht also gut ein Viertel der Oxidationsenergie beim Aufbau des  $\text{H}^+$ -Gradienten und dem ungekoppelten Rückfluß der Protonen als Wärme verloren (Brand 1990, Bishop et al. 2002). Entsprechend tragen mitochondrienreiche, umsatzstarke Gewebe vermehrt zur Wärmedissipation eines Tieres bei, weshalb bevorzugt Leber-, bzw. Hepatopankreas- oder Muskelzellen zur Untersuchung des Energiestoffwechsels dienen.

Wegen ihrer sessilen Lebensweise spielt die Muskelarbeit bei den meisten Muscheln keine große Rolle, zumindest nicht während der SMR, die ja per Definition zusätzliche Bewegung, wie z.B. Grabaktivitäten, ausschließt (Pörtner & Grieshaber 1993). Aber die vielen bewimperten Zellen, besonders in den Kiemen, sind reich an Mitochondrien. Im Laufe ihrer Evolution entwickelten sich die Muschelkiemen zu hoch spezialisierten Organen der Nahrungsaufnahme, zu einem enorm leistungsfähigen Filterapparat, der eine effektive Extraktion der Nahrungspartikel aus dem Wasser ermöglicht. Der Wasserstrom über die Kiemen wird durch den metachronen Schlag der Lateralcilien zwischen den Kiemenfilamenten angetrieben. Im 90° Winkel dazu schlagen die Laterofrontalcirren und erzwingen somit den Wechsel der

mitgeführten Partikel in den Oberflächenstrom der Frontalcilien, worin sie wiederum bis zu den ebenfalls bewimperten Nahrungsrinnen an der Basis und am ventralen Ende der Lamellen transportiert werden (Silverman et al. 1996a u. b; Ward 1996 u. 1997) bis sie schließlich die Mundsegel oder -lappen erreichen und dort in den Verdauungstrakt gelangen (Jørgensen 1990; Riisgård & Larson 2000). Bei geöffneten Schalen schlagen die Cilien ununterbrochen, so daß die Kiemen trotz sehr weit auseinandergehenden Meinungen über deren Anteil an der SMR sicher zu den Hauptenergie- und Sauerstoffverbrauchern zählen. Bei isolierten Kiemen von *M. edulis* beträgt der Sauerstoffverbrauch der Cilien tragenden Zellen 90 % (Clemmesen & Jørgensen 1987) und der Anteil der intakten Kiemen am Gesamtverbrauch der Muschel beläuft sich auf ca. 20 % (Riisgård & Larsen 2000). Neben den unvermeidbaren Kosten der Proteinsynthese und der Ionenregulation haben Muscheln also mit den Kiemen einen weiteren „Großverbraucher“ mit Energie zu versorgen, der zudem wegen der vielen Mitochondrien den Substratverlust durch das Protonenleck verschärft.

Um den ATP-Bedarf und die Wärmedissipation der Kiemen von *C. fluminea* berechnen zu können, müsste man die Anzahl der Cilien und deren Schlagfrequenz kennen, wozu sich bisher leider keine Angaben in der Literatur finden lassen. Für *M. edulis* liegen dazu einige Daten vor und man kann versuchen den Energiebedarf der Kiemen von *C. fluminea* davon abzuleiten, wengleich die Kiemen der Körbchenmuscheln als echte Eulamellibranchia weiter entwickelt sind als die der Miesmuscheln, die zu den Filibranchia zählen. Clemmesen & Jørgensen (1987) berechneten den ATP-Verbrauch der Lateralcilien von *M. edulis* und bestimmten dazu die Anzahl der Cilien mit 165 Mio. je cm<sup>2</sup> Kieme. Bei einer Länge von 15 µm je Cilie und 24 nm Abstand zwischen den Dyneinbindestellen, sowie der Annahme, daß je Schlag und Dyneinbindung 2 ATP benötigt würden, kamen sie auf  $6.16 \cdot 10^{-12}$  mol ATP je cm<sup>2</sup> Kieme und Schlag. Weiter kannten sie die Schlagfrequenz (20 Hz) und veranschlagten 48 kJ mol<sup>-1</sup> ATP für dessen Hydrolyse, so daß sie schließlich ca. 6 µW je cm<sup>2</sup> Kieme als Energiebedarf für den Wasserdurchstrom errechneten (Clemmesen & Jørgensen 1987).

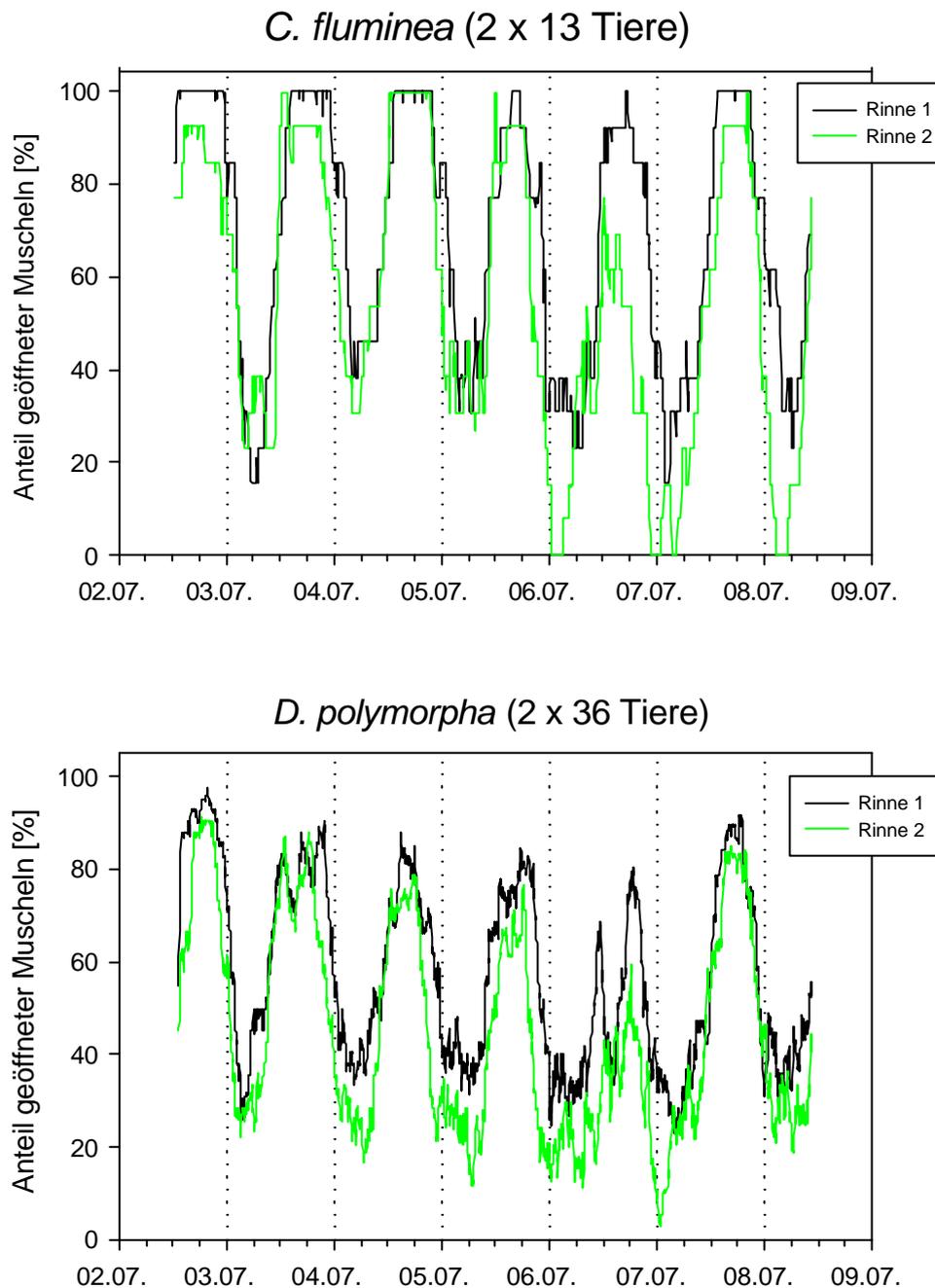
Silverman et al. (1997) fanden eine Korrelation zwischen Trockengewicht und Kiemenfläche bei *C. fluminea*, sie beträgt 1.4 mm<sup>2</sup> je mg, was bei einem Tier von ungefähr 200 mg TG, wie ich es im Kalorimeter verwendete, einer Kiemenfläche von 3 cm<sup>2</sup> entspräche. Bei Übernahme obiger Werte von *M. edulis*: Ciliendichte 165 Mio. je cm<sup>2</sup>, 11250 Dyneinbindungsstellen je Cilie, 2 ATP je Dynein und Schlag, sowie einer Schlagfrequenz von 10 Hz (limnische Arten zeigen geringere Pumpraten: Jørgensen 1990) und 3 cm<sup>2</sup> Kieme ergibt sich

ein ATP-Bedarf von  $6.16 \cdot 10^{-12} \text{ mol ATP} \cdot 30 \text{ s}^{-1} = 1.85 \cdot 10^{-10} \text{ mol ATP s}^{-1}$ . Multipliziert mit dem kalorischen Äquivalent des ATP,  $78 \text{ kJ mol}^{-1}$  (Gnaiger 1983c), ergäbe sich eine Wärmerate von ca.  $14 \mu\text{W}$  allein für die Erzeugung des Wasserstromes über die Kiemen. Hinzu käme noch die Wärme, die durch das Schlagen der übrigen Cilien, also v.a. der Laterofrontal- und der Frontalcilien, erzeugt wird. Nimmt man ferner an, daß 15 % der Kiemenzellen Lateralcilien und 25 % der Kiemenzellen andere, aber kürzere Cilien tragen (Clemmesen & Jørgensen 1987), kann man die Wärme der übrigen Cilien mit etwa  $16 \mu\text{W}$  angeben. Zusammen wären dies also  $30 \mu\text{W}$  Wärmedissipation allein durch die Kiemen, was etwa 14 % der SMR ( $220 \mu\text{W}$ ) einer 200 mg TG schweren *C. fluminea* entspräche:  $13.87 \cdot [200]^{0.52}$  (Abb. 3.6).

Allerdings bleiben weite Bereiche dieser Berechnung spekulativ, so haben Gueron et al. (1999) beispielsweise berechnet, daß zwar beinahe alle Dyneine beim Cilienschlag aktiv sein müssen, metachrones Schlagen der Cilien im Verband aber weniger Energie beansprucht als die Summe allein schlagender Cilien. Auch finden sich keine sicheren Angaben darüber wieviel ATP je Dynein, bzw. je Cilie und Schlag wirklich verbraucht werden und mit welcher Frequenz die verschiedenen Typen der Cilien der Kieme schlagen. An dieser Stelle soll das kleine Rechenbeispiel nur demonstrieren, daß der zuvor genannte Anteil der Kieme an der SMR von etwa 20 % (Riisgård & Larsen 2000) eine durchaus realistische Einschätzung auch für *C. fluminea* ist. Die zum Nahrungserwerb umgewandelten Kiemen als charakterisierendes Merkmal der Muscheln erhöhen also ganz erheblich die Kosten des Erhaltungsstoffwechsels.

#### **4.2 Schalenbewegungen von *C. fluminea* und *D. polymorpha* im Rhein**

Anfallende Kosten sind natürlich nur dann als „hoch“ einzuschätzen, wenn es an genügenden Zahlungsmitteln, also Substraten und ATP fehlt. Wenn man das Wachstum und die Fekundität der Körbchenmuscheln im Rhein kennt (u.a. Meister 1997), sollte man allerdings annehmen, daß die vorhandene Nahrung vollkommen ausreicht oder gar im Überfluß vorhanden ist. Dennoch zeigte *C. fluminea* sowohl in Bad Honnef, als auch in Koblenz immer wieder lange Phasen mit geschlossenen Schalen, Zeiten in denen sie keine Nahrung aufnehmen kann. Von etwa April bis Oktober schlossen die Muscheln ihre Schalen außerdem in einem auffallenden, circadianen Rhythmus, so daß sie in den Morgenstunden überwiegend zu, dagegen von mittags bis abends offen waren (Kap. 3.2). Ganz entsprechend sind die Schalenbewegungen von *D. polymorpha* im Rhein, die unter diesen Bedingungen ebenfalls wächst (Kap. 3.2 und Abb. 4.1).



**Abb. 4.1:** Schalenschließverhalten von *C. fluminea* (oben) und *D. polymorpha* (unten) im Rhein bei Bad Honnef in der Woche vom 2. bis zum 8. Juli 1998 aufgezeichnet mit dem Dreissena-Monitor<sup>®</sup>. Dargestellt ist der Anteil geöffneter Muscheln in den parallelen Durchflußrinnen der Kontrollstation. Wassertemperatur 23°C. Vertikale gepunktete Linien markieren jeweils den Datumswechsel 0:00 Uhr. Beide Messpopulationen schließen synchron die Schalen.

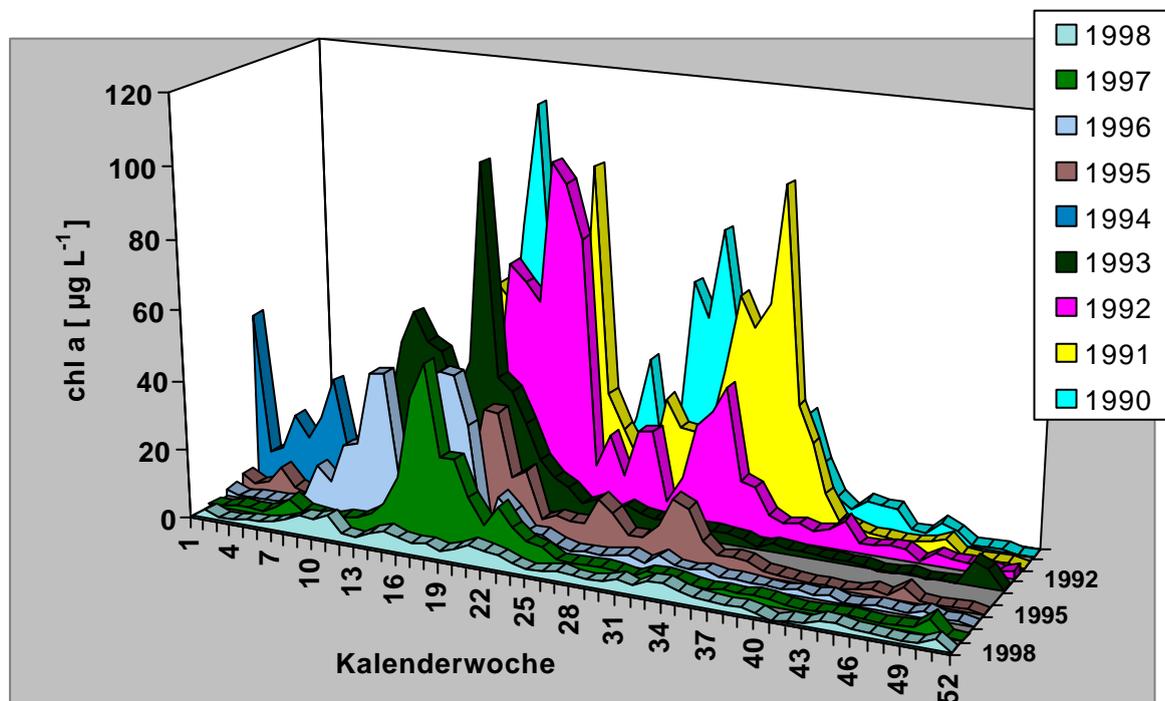
#### 4.2.1 Das Phytoplankton im Rhein

Hauptnahrungsquelle der Muscheln ist das Phytoplankton, obwohl beide Arten auch sehr effektiv das feinere Bakterienplankton (< 1 µm) filtrieren können (Silverman 1997). Zusätzlich kann zumindest *C. fluminea* mit Hilfe des muskulösen Fußes („deposit or pedal fee-

ding“) Detritus aus dem Sediment aufnehmen (Way et al. 1990; Vaughn & Hakenkamp 2001). Foe & Knight (1986) untersuchten das Wachstum von *C. fluminea* bei unterschiedlichen Diäten, wobei sie neben einigen Grünalgen auch Hefe und mehrere Sorten kohlenhydratreiches Körnermehl anboten, die sich bereits bei anderen Muscheln und weiteren Filterern als gutes Futter bewährt hatten. Bei allen gewählten Futtersorten wuchsen die Muscheln, bei den Grünalgen aber mit Abstand am Besten.

Auch im Rhein korreliert das Wachstum von *C. fluminea* mit dem verfügbaren Phytoplankton. Nur in den Zeiten mit relativ hohem Phytoplankton, also ab dem Frühjahr, können sie sowohl schnell wachsen als auch viele Jungmuschel freisetzen, während bis zum Februar weder Masse noch Schalenlänge zunimmt (Rajagopal et al. 2000). Als Maß für das verfügbare Phytoplankton gilt das Chlorophyll a (chl a), dessen Gehalt im Jahresverlauf stark schwankt. In den vergangenen Jahren war die Tendenz im Rhein insgesamt deutlich abnehmend, und im besonders phytoplanktonarmen Jahr 1998 blieb sogar die übliche Frühjahrsblüte in Bad Honnef aus (Abb. 4.2; Tab. 4.3).

### Chlorophyll-a [ $\mu\text{g/l}$ ], LUA Bad Honnef (Rhein km 640 r)



**Abb. 4.2:** Entwicklung der Chlorophyll a Konzentration [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] des Rheins bei Bad Honnef von 1990 bis 1998. Dargestellt sind wöchentliche Stichproben, meist gegen 9:00 Uhr (Quelle: Landesumweltamt NRW).

Bei chl a - Konzentrationen unter  $20 \mu\text{g L}^{-1}$  sind Korbchenmuscheln bereits nahrungslimitiert, d.h. ihr potentiell Wachstum ist eingeschränkt (Foe & Knight 1985). An den beiden Untersuchungsstellen in Koblenz und Bad Honnef liegen die chl a - Konzentrationen jedoch meist deutlich tiefer, z.B. in Bad Honnef von 1994 bis 2000 im Jahresdurchschnitt unter  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , selbst in den Sommermonaten lagen die Werte oft unter  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  (Abb. 4.2 und Tab 4.3). Auf der Fließstrecke des Rheins in NRW nimmt der Gehalt an chl a zwischen Bad Honnef (km 640) und Kleve / Bimmen (km 865) deutlich zu (Friedrich et al. 2000), so daß man wiederum davon ausgehen kann, daß die Konzentrationen weiter stromaufwärts in Koblenz (km 590) noch niedriger liegen als in Bad Honnef.

**Tab. 4.3:** Chlorophyll a - Konzentrationen [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] im Rhein bei Bad Honnef km 640 r

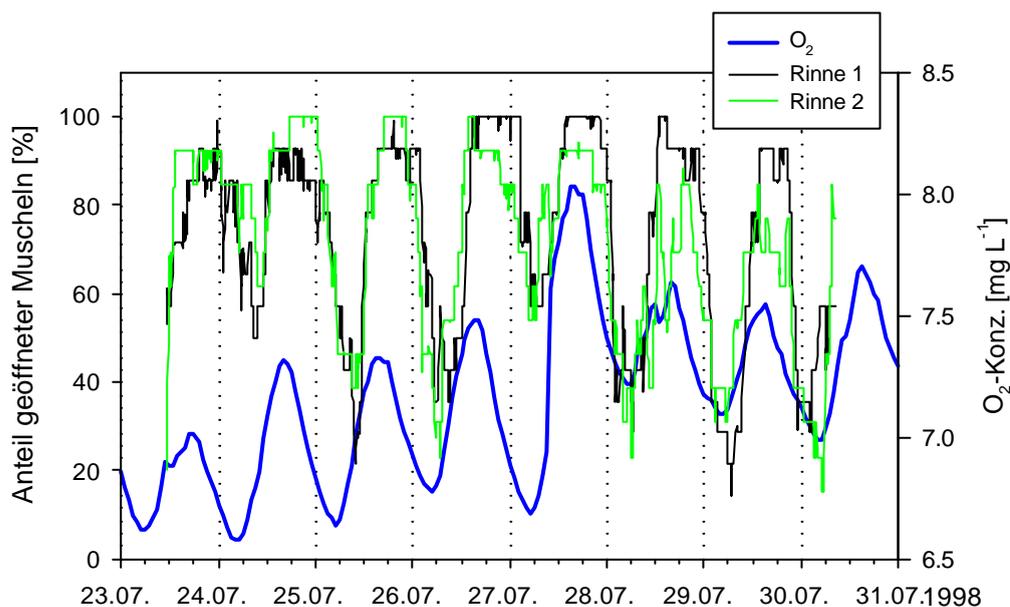
Mittelwerte für das gesamte Jahr, sowie die Peaks im Frühjahr (März bis Mai: Kalenderwochen 10 – 20) und Spätsommer (Juli / August: Kalenderwochen 25-35)

	Jahresmittel [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ]	KW 10 – 20 [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ]	KW 25 – 35 [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ]
1990	20.7	37.1	35.7
1991	22.8	32.8	34.9
1992	19.2	33.6	21.8
1993	12.1	43.4	4.0
1994	7.3	15.3	10.3
1995	7.0	14.2	9.4
1996	9.1	33.3	2.7
1997	6.4	18.7	2.8
<b>1998</b>	<b>3.0</b>	<b>4.3</b>	<b>3.1</b>
1999	8.4	15.1	12.0
2000	3.7	10.4	2.2

Schon im Zuge der Evaluierung des Dreissena-Monitors<sup>®</sup> als Biomonitor stellte sich heraus, daß der Anteil geöffneter Muscheln der Messpopulationen (2x42 Tiere: *D. polymorpha*) im Rhein bei Bad Honnef circadian schwankt, dieser Rhythmus also zum „Normalverhalten“ von *D. polymorpha* gehört. Weitere Versuche belegten allerdings, daß die circadianen Öffnungsbewegungen nur unter Nahrungsmangel auftraten, eine Erhöhung der Diät von 15000 Zellen je mL auf 25000 Zellen je mL ließ den circadianen Schließrhythmus der Schalen verschwinden (Borcherding 1992b). In Kleve / Bimmen war 1998 die Gesamtzahl der Algen aber nur zwischen den Kalenderwochen 19 und 36 über 10000 Zellen pro mL und nur von der 21. bis zur 23. Woche über 20000 Zellen je mL (Friedrich et al. 2000). Folglich müssen die entsprechenden Werte für Bad Honnef und Koblenz nochmals deutlich niedriger liegen (s.o.), so daß die Muscheln 1998 in Bad Honnef und Koblenz sicherlich nahrungslimitiert waren.

#### 4.2.2 Circadianer Rhythmus ermöglicht die effiziente Nutzung der Nahrung

Behörden bestimmen Chlorophyllkonzentrationen in der Regel als wöchentliche Stichproben, die meist in den Morgenstunden genommen werden. Sie dienen v.a. der Überwachung der Schwankungen im Jahresverlauf und dienen der Beurteilung der Nährstofffracht, bzw. der Flußeutrophierung und deren Entwicklung über viele Jahre hinweg (Abb. 4.2). Nur selten findet man aber Untersuchungen über tagesperiodische Schwankungen des Chlorophylls in Flüssen. Besonders in Flüssen, die durch mehrere Aufstauungen und hohe Nährstofffracht gekennzeichnet sind, findet man auch in der fließenden Welle ganz ähnliche, diurnale Schwankungen wie in Stillgewässern. Die täglichen Maxima der Chlorophyllkonzentrationen gehen dabei mit einer entsprechend erhöhten Sauerstoffproduktion einher (Ittel 1995). Bei hoher Globalstrahlung, nicht zu großer Tiefe und ausreichender Fließstrecke kommt es auch in großen Flüssen, v.a. im Tieflandbereich, zu solchen Schwankungen. Stündlich gemessene Sauerstoffkonzentrationen in Bad Honnef spiegeln solche Verhältnisse bereits im Mittelrhein wieder (Abb. 4.3).



**Abb. 4.3:** Sauerstoffkonzentration (blau: Stundenmittel) und Schalschließverhalten von *C. fluminea* im Rhein bei Bad Honnef in der Woche vom 23. bis zum 31. Juli 1998 aufgezeichnet mit dem Dreissena-Monitor<sup>®</sup>. Dargestellt ist der Anteil geöffneter Muscheln in den parallelen Durchflußrinnen der Kontrollstation. Wassertemperatur 22 -24°C. Vertikale gepunktete Linien markieren jeweils den Datumswechsel 0:00 Uhr. Das tägliche Maximum geöffneter Muscheln folgt meist kurz auf das Maximum der Sauerstoffkonzentration.

Wie in Abbildung 4.3 deutlich zu erkennen ist, folgen die Muscheln mit ihren Öffnungsbewegungen dem diurnalen Verlauf der Sauerstoffkonzentration, so daß sie in den Zeiten mit den täglich höchsten Phytoplanktongehalt die Schalen geöffnet haben und Nahrung

filtrieren können. Dagegen scheint das Angebot bei Nacht so gering zu sein, daß es für die Muschel ökonomischer ist, bei geschlossenen Schalen und stark reduziertem Stoffwechsel Substrate zu sparen. Zudem verschärfen die relativ hohen Temperaturen (22 – 24°C) bei einem Q10 von etwa 4 (Tab 3.2) die ohnehin hohen Kosten der SMR. So stellt sich in den warmen und chlorophyllreicheren Monaten ein circadianer Schließrhythmus ein, der einerseits gewährleistet, beim besten Angebot möglichst viel Nahrung aufnehmen zu können, und andererseits bei Tageszeiten mit relativ wenig Phytoplankton Substrate zu sparen, die später besser für das Wachstum und v.a. für die Reproduktion verwendet werden können.

Der circadiane Rhythmus sorgt also für eine möglichst effiziente Ausnutzung der knappen Nahrungsressourcen. Aber wie stellt er sich bei den Muscheln ein? Sowohl im Kalorimeter als auch im Mosselmonitor<sup>®</sup> im Labor waren die Muscheln im Dauerdunkel und auch ansonsten unter konstanten Bedingungen, dennoch zeigten sie auch dort über weite Zeiträume ebenfalls einen circadianen Rhythmus (Abb. 3.16). Demnach muß der Rhythmus endogene Komponenten haben, einer inneren Uhr folgen. Solche endogenen Rhythmen sind im Tierreich durchaus nichts ungewöhnliches. Im Gegenteil sind sogenannte „Urgene“, die endogene Rhythmen steuern, in allen Reichen der Lebensformen bereits nachgewiesen, seien es Pilze (*Neurospora*), Pflanzen (*Arabidopsis*) oder Tiere (*Drosophila* und Maus). Das Wirkprinzip ist, bei allen Unterschieden in der Komplexität, immer das gleiche, nämlich eine verzögerte negative Rückkopplung (delayed negative feedback loops) von Transkriptionsfaktoren der Uhrgene, deren eigene Transkription ihrerseits wieder von den Uhrgenen abhängt (Harmer et al. 2001). So kommt es zu einer Oszillation zwischen Inhibition und Aktivierung der Transkription der Uhrgene. Die Periode dieser Oszillation muß aber von sogenannten äußeren Zeitgebern immer wieder neu justiert werden. Oftmals sind diese Zeitgeber lichtabhängige Botenstoffe, weshalb viele Rhythmen circadian sind. Findet die Justierung nicht statt, verkürzt oder verlängert sich die Periode der Schwingung, die Phase verschiebt sich oder der Rhythmus geht ganz verloren (s. Kap. 3.2.2; Hastings & Maywood 2000; Reppert & Weaver 2002). Auf das Verhalten der Muscheln übertragen müsste also ein Zeitgeber vorhanden sein, der bei geöffneten Schalen auf dieses oszillierende System der inneren Uhr einwirkt und den endogenen Rhythmus justiert. Und zwar in Abhängigkeit des Nahrungsangebots, denn bei ausreichender Nahrung bleibt der Rhythmus, z.B. bei *D. polymorpha*, aus (Borcherding 1992b). Einen weiteren Beleg dafür liefern Arbeiten zum Verhalten von *Austrovenus stutchburyi*, einer Muschel der Gezeitenzone Australiens, deren endogener Schließrhythmus ebenfalls unter konstanten Laborbedingungen weiterlief (Williams et al. 1993). Mit fortschreitender Zeit

blieben die Phasen mit geöffneten Schalen zunehmend aus und da die Muscheln nicht gefüttert wurden, galt Nahrungsmangel als mögliche Ursache für dieses Verhalten. Spätere Versuche zeigten tatsächlich, daß bei punktueller Futtergabe die Schalenbewegungen zuvor arrhythmischer Tiere synchronisiert werden konnten und zwar in der Form, daß sie bereits vor der erwarteten Futtergabe die Schalen öffneten (Williams & Pilditch 1997).

Es müßte also ein Zeitgeber so auf die Muscheln einwirken, daß bei fallendem Nahrungsangebot die Reduktion des Stoffwechsels einsetzt, was wegen der hohen Kosten der SMR nur bei geschlossenen Schalen möglich ist. Später wird aufgrund der oszillierenden Transkription der Uhrgene ein Protein expremiert, daß nach etwa 12 h die Rückkehr zur SMR auslöst, wozu die Schalen wieder geöffnet werden müssen. Ein Mechanismus wie er schon früh auch zum Überdauern langer hypoxischer Bedingungen entstanden sein muß. Die Rezeption fallender Sauerstoffkonzentrationen ist das maßgebliche Signal für die Induktion einer „metabolic depression“ unter Hypoxie, die bereits deutlich vor wirklich ernsten O<sub>2</sub>-Mangel einsetzt. Mit fallendem O<sub>2</sub>-Signal werden dann zahlreiche Regulationskaskaden ausgelöst, die sowohl den ATP-Bedarf, als auch das ATP-Angebot drastisch reduzieren (Hochachka et al. 1996; Hochachka & Lutz 2001). Man könnte also annehmen, daß die Muscheln diesen alten Mechanismus zum Überstehen hypoxischer Bedingungen auch bei geringem Nahrungsangebot nutzen, das ja auch mit schwankenden O<sub>2</sub>-Konzentrationen korreliert. Daß also Sauerstoff der externe Zeitgeber für den Schließrhythmus sein könnte. Allerdings sind die diurnalen Schwankungen der Sauerstoffkonzentration weit von den niedrigen Partialdrücken entfernt, die für Muscheln als Sauerstoffmangel angesehen werden könnten. Zudem reagierten die Muscheln (*D. polymorpha*; *A. stutchburyi*) zwar auf wechselndes Nahrungsangebot, dies aber unter völlig unverändertem Sauerstoffbedingungen (Borcherding 1992b; Williams & Pilditch 1997), womit Sauerstoff als Zeitgeber wohl nicht in Frage kommt. Viele Autoren glauben, daß Muscheln ihre Filtrationsleistung dem Nahrungsangebot anpassen und die Partikel an den Kiemen oder Mundsegeln auch sortieren können (Ward et al. 1997; Bayne 1998; Bøninger 2000; Silverman et al. 2000). Ist dies der Fall, könnte ein vermindertes Nahrungsangebot sicher auch die oben beschriebene Regulationsfolge in Gang setzten, so daß die Nahrungsaufnahme oder ein mit ihr unmittelbar gekoppelte Prozeß, wie die Verdauung, als Zeitgeber für das rhythmische Schließen der Schale fungieren würde.

### 4.2.3 Schalenbewegungen im Winter

In den kalten Monaten ist noch weniger Phytoplankton im Wasser enthalten, so daß die Muscheln vermutlich vermehrt Bakterienplankton oder Detritus aufnehmen oder weitestgehend hungernd über den Winter kommen. Wegen der tiefen Temperaturen ist der Stoffwechsel aber ohnehin stark verlangsamt und benötigt nicht mehr soviel Energie. Im Winter ist das Nahrungsangebot zudem so gering, daß während dieser Zeit weder Gewicht noch Schalenlänge zunimmt (Meister 1997; Rajagopal et al. 2000). Ein Tagesrhythmus ist dann nicht mehr vorhanden, was in dieser Zeit auch sinnlos wäre, da die verbliebende Nahrung nicht circadian schwankt. Generell schränken die Tiere ihre Aktivitäten stark ein, es werden kaum noch Schalenbewegungen registriert, sowohl Phasen mit geöffneten, als auch mit geschlossenen Schalen dauern länger an (Abb. 3.14 und 3.15). Insgesamt hat *C. fluminea* dennoch deutlich länger als 12 h täglich die Schalen geöffnet, erst bei Temperaturen unter 5° C schließt sie die Schalen extrem lange, z.T. mehr als eine Woche. Aus Toleranzstudien ist bekannt, daß *C. fluminea* bei 2° C ihre untere Verbreitungsgrenze hat. So kalte Bedingungen kann sie auch in geschlossenen Schalen nicht lange überdauern (McMahon 2000).

### 4.3 Der anaerobe Stoffwechsel von *C. fluminea*

Neben der „metabolic depression“ als Reaktion auf streng hypoxische Bedingungen, können fast alle Muscheln auch anaerob Energie gewinnen, wobei der besonders effektive Weg über Succinat zum Propionat überwiegt. Laktat und Opine spielen bei den wenig mobilen Tieren dagegen eine untergeordnete Rolle (De Zwaan et al. 1995; Isani et al. 1995; Sukhotin & Pörtner 1999). Ausnahmen sind die zu Fluchtreaktionen fähigen Muscheln, wie die Pectinidae und einige Cardiidae, die vornehmlich Oktopin als Endprodukt einer funktionellen Anaerobiose bilden (Meinardus-Hager & Gäde 1986; Grieshaber & Kreutzer 1986). Anfangs werden aber auch bei Muscheln Phosphagene (v.a. Phospho-L-Arginin) abgebaut, kurz darauf setzt zumindest bei marinen Tieren der Abbau des Aspartat ein, so daß nach mehreren Transaminierungen Pyruvat in Alanin überführt wird. Gleichzeitig beginnt die Akkumulation des Succinat über Oxalacetat, das bei der Transaminierung des Aspartats entstanden ist (De Zwaan et al. 1995; Grieshaber et al. 1994; Isani et al. 1995). Später entsteht das Oxalacetat direkt aus dem Phosphoenolpyruvat (PEP) der Glykolyse, enzymatisch katalysiert von der PEP-Carboxykinase (PEPCK). Umgewandelt zu Malat gelangt es ins Mitochondrium, wo es schließlich über Fumerat zu Succinat reduziert wird, das weiter akkumuliert und somit ein verlässlicher Anzeiger für anaerobe Mitochondrien ist (Grieshaber et al. 1994). Dagegen setzt die Propionatproduktion erst nach ungefähr einem Tag ein (Kluytmans & De Zwaan 1976).

Es entsteht hauptsächlich aus dem akkumulierten Succinat, welches als Succinyl-CoA in den Kreislauf eingeht, der über Methylmalonyl-CoA und Propionyl-CoA schließlich Propionat freisetzt, das in der Regel ausgeschieden wird (Grieshaber et al. 1994).

#### 4.3.1 Anaerbiosekapazität von *C. fluminea*

Unter Stickstoffinkubation folgt *C. fluminea* weitestgehend dem oben beschriebenen Anaerbiosemuster, Succinat akkumuliert bereits nach 1 h signifikant im muskulösem Fuß und im Adduktor, nach 2 h auch in den Kiemen und erreicht nach einem Tag in allen Geweben ein Plateau von etwa  $2-3 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$  (Abb. 3.17). Propionat ist ebenfalls schon nach 4 h in allen Geweben signifikant erhöht, wenn auch mit ca.  $0.2 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$  auf relativ niedrigem Niveau. Nach 24 h nomineller Anoxie sind die Propionatwerte dann allerdings deutlich höher und erreichen im Durchschnitt etwa  $1 \mu\text{mol g}^{-1} \text{FG}$  in allen Geweben (Abb. 3.18).

Einen völlig neuen Aspekt bringt allerdings die Betrachtung des Pallialwassers, denn dort steigen nicht nur die freien Fettsäuren Propionat und Acetat (Tab. 3.4) im Laufe der Inkubationszeit an, sondern auch das Succinat (Abb. 3.17 und 3.18). Und das scheint nach drei Tagen mit den beachtlichen Konzentrationen von  $4-6 \text{ mM}$  noch kein Maximum erreicht zu haben. Während das Ausschleusen von Acetat und Propionat bei vielen Tieren beschrieben ist und eine zu starke Ansäuerung der Gewebe während der Anaerbiose verhindert, dachte man bisher, daß das Succinat in den Mitochondrien verbleiben würde. Zumindest *C. fluminea* kann aber, wie diese Versuche belegen, auch Succinat aus den Zellen ins Pallialwasser abgeben.

Typische Endprodukte einer funktionellen Anaerbiose, also Laktat oder Opine, konnten auch für *C. fluminea* nicht nachgewiesen werden. Unklar bleibt, ob das Succinat direkt bei Einsetzen der Anaerbiose über den PEPCK vermittelten Weg gebildet wird oder ebenfalls zunächst vom Aspartat ausgehend. Denn eine mögliche Akkumulation von Alanin wurde nicht untersucht, da dieser Weg vorwiegend von marinen Tieren mit hohen Aminosäurekonzentrationen bekannt ist.

#### 4.3.2 „Selbstinduzierte“ Anaerbiose bei geschlossenen Schalen

Nahm man bisher an, daß Muscheln beim Schließen der Schalen schnell anaerob werden (Holopainen & Penttinen 1993; Williams et al. 1993), zeigt die vorliegende Arbeit, daß zumindest *C. fluminea* zunächst mehrere Stunden aerob bleiben kann, indem sie die metabolische Rate stark reduziert (Tab 4.2). Bestätigt wird das durch die geringen Succinatkonzentra-

tionen in den Geweben und im Pallialwasser der Tiere, die vor der Präparation nur 2 – 5 h unter normoxischen Bedingungen geschlossen waren. Sie unterscheiden sich, im Gegensatz zu den Tieren der Stickstoffinkubationen (1 – 4 h), nicht von den Kontrollen (Abb. 3.19). Von einer „selbstinduzierten Anaerobiose“, wie Holopainen & Penttinen (1993) das „freiwillige“ Schließen der Schalen der Sphaeriiden *S. corneum* und *P. amnicum* bei stark gedrosselter Stoffwechselrate nannten, kann also nur gesprochen werden, wenn die Muscheln sehr lange geschlossen bleiben. In der Tat akkumuliert *C. fluminea* bei längeren Schließzeiten (Kalorimeter 7 – 32 h; Mosselmonitor > 24 h) in allen Geweben Succinat, auch ohne äußeren Sauerstoffmangel. Ebenso gibt sie Succinat in das Pallialwasser ab, zwar deutlich verzögert, aber dennoch mit 4 – 6 mM in gleicher Größenordnung wie unter anoxischen Bedingungen (Abb. 3.17 und 3.19). Wenn man bedenkt, daß dies unter Normoxie geschieht, kann man also schon von einer „selbstinduzierten“ Anaerobiose sprechen. Es wäre aber treffender aufgrund der schlechten Nahrungssituation von einer „Hunger induzierten“ Anaerobiose zu sprechen, da die Muscheln im Kalorimeter gar nicht und im Mosselmonitor nur unzureichend mit Brennesselblattpulver gefüttert wurden. Bei mangelnder Nahrung hilft der inverse Pasteur-Effekt bei geschlossenen Schalen den Substratverbrauch einzuschränken.

#### 4.3.3 Besondere Rolle des Succinat bei der Anaerobiose von *C. fluminea*

Anders als bei der Stickstoffinkubation akkumuliert *C. fluminea* während der langen normoxischen Schließzeiten, jeweils zwei Tiere im Kalorimeter und im Mosselmonitor ausgenommen, kein Propionat, weder in den Geweben noch im Pallialwasser (Abb. 3.20). Die Muscheln scheinen also auf zusätzliches ATP beim Weg vom Succinat zum Propionat nicht angewiesen zu sein. Ebenso wenig greifen sie beim Ausschleusen der anaerob anfallenden Protonen auf Propionat zurück. Neben den häufig zitierten Puffereigenschaften der Schale (Byrne & McMahon 1994), die vorwiegend aus  $\text{CaCO}_3$  besteht, könnte diese Rolle vielleicht auch das Succinat übernehmen. Vergleicht man die hohen Konzentrationen des Succinat im Pallialwasser, mehr als 4 mM, bzw.  $4 \mu\text{mol mL}^{-1}$ , mit denen der Gewebe, etwa  $2 \mu\text{mol g}^{-1}$  FG, muß das Succinat nach ca. zwei Tagen gegen einen Konzentrationsgradienten ins Pallialwasser gelangen. Um das bei niedrigen Stoffwechselraten zu gewährleisten, wäre z.B. ein Co-Transport mit Protonen denkbar, der gleichzeitig die schädliche Ansäuerung der Zellen verhindert.

Im Laufe der Evolution entwickelten sich die Muschelkiemen von Organen des Gasaustauschs zu hochspezialisierten Filterorganen im Dienste des Nahrungserwerbs. Damit die Kiemen effizient filtrieren können, haben sich nicht nur die Kiemenlammellen und die zugehörigen Cilien hoch spezialisiert (Jørgensen 1990; Riisgård & Larsen 2000; Silverman et al. 2000). Wichtig ist auch die klare Trennung zwischen dem ventralen Einströmraum, der Mantelhöhle, und dem dorsalen Ausströmraum, der Suprabranchialhöhle. Somit muß der gesamte von den Cilien erzeugte Wasserstrom die Kiemen passieren. Bei *C. fluminea* kommt hinzu, daß die beiden Mantelhälften, bis auf enge Aussparungen für den Fuß und die Adduktoren, miteinander verwachsen sind (Kraemer 1979), so daß Wasser, das einmal in den Pallialraum gelangt ist, diesen nur über die Kiemen wieder verlassen kann. Ausgenommen von den kurzen, heftigen Schließbewegungen beim Ausstoß des Pseudofaeces. Wird nun beim langanhaltenden Schließen der Schalen Succinat in den Pallialraum abgegeben, muß dieses mit Succinat angereicherte Wasser ebenfalls die Kiemen passieren, sobald die Schalen wieder geöffnet werden. Wenn sich bei den Muscheln aber ein Mechanismus entwickelt hat, der es ihnen ermöglicht Succinat aus den Zellen in das Pallialwasser auszuschleusen, so ist es nur folgerichtig, daß sie dieses auch wieder aus dem Wasser aufnehmen können. Entweder bereits vor dem Öffnen der Schalen über die feinen Epithelien des Mantels oder mit beginnender Ventilation über die Kiemen. Betrachtet man die beiden Tiere, deren Succinatkonzentrationen kurz nach dem „freiwilligen“ Öffnen der Schale bestimmt werden konnte, scheint letzteres wahrscheinlicher. Zumindest innerhalb der ersten 5 min war die Succinatkonzentration im Pallialwasser noch immer deutlich erhöht (Tab. 3.5). Leider fällt es sehr schwer, Muscheln so abzupassen, daß man sie im Zeitverlauf kurz nach dem Öffnen der Schalen analysieren kann.

Der Konzentrationsgradient des Succinat weist nach dem Öffnen zelleinwärts, was die Aufnahme sicher erleichtert, aber auch ein aktiver Transport bei dann ungedrosseltem aeroben Metabolismus wäre denkbar. Eine aktive Rückführung des Succinat würde auch einen Teil des „Overshoots“ der metabolischen Rate beim Öffnen der Schale erklären, der sicher nicht im Auffüllen zuvor geleerter O<sub>2</sub>-Speicher begründet ist, da direkte und indirekte Wärmerate beinahe deckungsgleich verlaufen (Abb. 3.2). Beim Öffnen der Schalen muß auch der „catch“ der Adduktoren gelöst werden. Dazu ist eine Serotonin vermittelte Reaktionskaskade nötig, an deren Ende eine cAMP aktivierte Proteinkinase das Twitchin des Muskels phosphoryliert (Butler et al. 2001; Funabara et al. 2001). Dennoch sind vermutlich die Cilien der Kiemen für den größten Anteil der „Overshoots“ verantwortlich, deren Schlagbewegung mit dem Öffnen der Schalen einsetzt.

Neben der Substratersparnis durch den inversen Pasteur-Effekt bei geschlossenen Schalen, könnte eine Rückführung des noch stark reduzierbaren Succinats in den katabolen Stoffwechsel wiederum Speichersubstrat einsparen, wenn der Stoffwechsel nach dem Öffnen der Schalen wieder ansteigt. Oder das Succinat wird der Gluconeogenese zugeführt. Beides wäre mit Propionat als Endprodukt nicht möglich, weshalb dieses nur unter anoxischen Bedingungen gebildet wird, wenn die Tiere vermutlich auf die bessere ATP-Ausbeute angewiesen sind. Auf diese Weise könnte das Pallialwasser als Zwischenspeicher für Succinat dienen und es gingen während einer Anaerobiose nicht so viele energiehaltige Metabolite verloren. Stattdessen könnten die während schlechter Bedingungen eingesparten Substrate und deren Energie in besseren Zeiten zur hohen Fekundität beitragen und für das gute Wachstum der Muscheln verwendet werden.

#### **4.4 Einfluß des intermittierenden Stoffwechsels auf das Verbreitungspotential und Konkurrenz zu einheimischen Arten**

Wie bereits in der Einleitung beschrieben charakterisieren schnelles Wachstum, hohe Fekundität und rasche Generationenfolge *C. fluminea* als typischen r-Strategen, Eigenschaften, die es den gebietsfremden Tieren ermöglichen, in kurzer Zeit neu besiedelte Lebensräume zu dominieren. Häufig wurde sie dabei als Bedrohung angesehen, in wirtschaftlicher Hinsicht aufgrund der Besiedlung diverser Wasserleitungssysteme und in ökologischer Hinsicht als potentielle und potente Konkurrenten einheimischer Muscheln und anderer Makrozoobenthosbewohner. In welcher Form unterstützen, bzw. ermöglichen aber das Verhalten und der Energiestoffwechsel die Bildung so großer Mengen Biomasse? Die Ergebnisse dieser Arbeiten zeigen einige interessante Hinweise zur Effektivität des Energiestoffwechsels von Muscheln auf.

Bisher wurde das Schließen der Schalen nur als Schutzfunktion betrachtet, zum einen natürlich vor möglichen Predatoren. Zum anderen aber auch zum Überdauern widriger Umstände und hier v.a. lang anhaltende Trockenphasen, bzw. Luftexposition. Z.B. verharren einige Sphaeriidae mehrere Monate im Sommer in ausgetrockneten Tümpeln, Unionidae überstehen Niedrigwasser der Flüsse und die Muscheln der Gezeitenzonen fallen täglich zwei mal während der Ebben für mehrere Stunden trocken. Ebenso ist bekannt, daß sie bei Toxinen im Wasser die Schalen schließen, um deren Giftwirkung zu entgehen, was zu ihrem Einsatz in der Gewässergüteüberwachung führte. Man wusste, daß die Muscheln in diesen Phasen ihren Stoffwechsel stark reduzieren („metabolic depression“) und nahm an, das sie schnell anaerob

würden. Dennoch zeigten bisher beinahe alle Untersuchungen des Stoffwechsels oder des Schalenschließverhaltens, daß Muscheln ihre Schalen auch ohne Sauerstoffmangel und ohne Einfluß von Giften schließen. Wenn man bei guten Bedingungen geöffnete Schalen voraussetzt, wäre dieses Verhalten im Umkehrschluß ein klares Zeichen für einen negativ wirkenden äußeren Stressfaktor. In vielen physiologischen Untersuchungen im Labor wird das, genau wie in der vorliegenden Arbeit, eine unzureichende Nahrungsverfügbarkeit sein. Gleiches zeigen die Muscheln der Biomonitoringstationen in den Gewässergütestationen bei vielerorts sinkenden Chlorophyllgehalten der Flüsse an.

Der Energiestoffwechsel eines Tieres ist stets die Schaltstelle, die zwischen den Kosten und dem Nutzen eines Organismus abwägt und vermittelt. Der Nutzen ist neben dem angestrebten Wachstum und der Vermehrung zunächst einmal die Erhaltung des Organismus, also die Deckung der SMR. Die dafür notwendige Energie wird der Nahrung entnommen, ist nicht genügend vorhanden, müssen Speichersubstrate sie ersetzen. Alles was über den Erhaltungsstoffwechsel hinaus verfügbar ist, der sogenannte „scope for growth“, kann in Wachstum und Reproduktion umgesetzt werden. Nun sind die Kosten für die SMR zwar das definierte Minimum zur Erhaltung des Stoffwechsels, für die meisten Tiere sind dies aber dennoch keine „Fixkosten“. Einerseits variieren sie mit der Temperatur („Q<sub>10</sub>“), dem Sauerstoffangebot (Oxykonformer und –regulierer) und anderer abiotischen Faktoren, andererseits können einige Tiere auch die Kosten der SMR erheblich vermindern, indem sie die metabolische Rate drosseln (metabolic depression). Vorausgesetzt sie bleiben dabei aerob oder können den Stoffwechsel so stark reduzieren, daß sie auch anaerob weniger Speichersubstrate aufwenden müssen (inverser Pasteureffekt). Jene Tiere können demnach nicht nur an Wachstum und Fortpflanzung „sparen“, was zunächst bei Nahrungsmangel der Fall ist, sondern auch bei den Kosten zur Erhaltung des Organismus. Auf diese Weise werden Speichersubstrate geschont, die Überlebenszeit verlängert und in Zeiten, in denen wieder mehr Nahrung zur Verfügung steht, verbleibt mehr Energie für Wachstum und Reproduktion.

Was bedeutet das für Muscheln? Neben den Hauptverbrauchern des Erhaltungsstoffwechsels, also Protein-Turnover, Ionenregulation und Protonenleck, müssen ventilierende Muscheln zusätzlich ihre cilien- und damit mitochondrienreichen Kiemen versorgen. Bei knapper Nahrung und hohen Temperaturen verschärfen die energieintensiven Kiemen also die Kosten der SMR der Muscheln und verstärken den Selektionsdruck zur optimalen Ausnutzung vorhandener Nahrung. Daraus resultiert der intermittierende Metabolismus der Mu-

scheln, hohe metabolische Raten bei ausreichender Nahrung und geöffneten Schalen, minimale Raten (<10%) bei geringem Nahrungsangebot und geschlossenen Schalen. Bei mangelnder Nahrung ist es für die Muscheln ökonomischer ganz auf die Nahrungsaufnahme zu verzichten und auf niedrigem Niveau von den Speichersubstraten zu leben, als bei geöffneten Schalen gleich viel oder mehr Speichersubstrate zur Deckung der SMR zu verbrauchen. Der Energiebedarf ist wegen des gedrosselten Metabolismus sehr gering, zudem benötigen die Muscheln wegen des Catch-Mechanismus ihrer Adduktoren kaum Energie, um die Schalen geschlossen zu halten. Gleichzeitig sind sie in diesen Zeiten vor Fressfeinden geschützt.

Soweit trifft dies sicher prinzipiell auf viele Muscheln zu, allerdings unterscheiden sich die einzelnen Arten in anderen Eigenschaften bezüglich der Ausnutzung vorhandener Nahrung. Unterschiedlich aufgebaute Cilien und Kiemen erlauben es verschiedene Spektren des Nahrungsangebots zu nutzen, wie z.B. Bakterienplankton oder Detritus zusätzlich zum Phytoplankton (Silverman et al. 1997). Manche Arten können die Filtrationsleistung bei Nahrungsmangel verbessern, indem sie stärker ventilieren oder effektiver verwertbare Nahrung von unverdaulichen Schwebstoffen trennen (Ward et al. 1997 und 1998; Bayne 1998). Letztere Anpassungen wären aber wiederum mit höheren Kosten verbunden und sind zudem in der Fachliteratur sehr umstritten (u.v.a. Jørgensen 1996; Bayne 1998; Riisgård 2001). Aus den circadianen Schließbewegungen während der warmen Monate kann man zumindest für *C. fluminea* und *D. polymorpha* ablesen, daß sie dem täglich schwankenden Nahrungsangebot folgend die ertragreichsten Stunden zur Filtration nutzen. Das Verbreitungspotential beider Arten belegt, daß sie besonders effektiv die vorhandene Nahrung umsetzen können, obwohl *D. polymorpha* zuletzt rückläufige Zahlen im Rhein aufweist.

Wie man der vorliegenden Arbeit entnehmen kann, verbraucht *C. fluminea* extrem wenig Substrate, wenn sie die Schalen geschlossen hält. Während des circadianen Schließrhythmus wird sie, wenn überhaupt, nur für kurze Zeit anaerob, da der verbleibende Sauerstoff innerhalb der Schalen bei der niedrigen metabolischen Rate für mindestens 5 – 9 h ausreicht (Tab. 3.2). Wird sie tatsächlich anaerob, liegt die Stoffwechselrate immer noch in Bereichen, die etwa dem Substratverbrauch der SMR entsprechen oder bleibt sogar darunter. Zusätzlich wird vermutlich zumindest ein Teil des ins Pallialwasser ausgeschleusten Succinats später wieder dem Metabolismus zugeführt und geht nicht gänzlich verloren, wie z.B. Propionat. Ob dies eine besondere Leistung von *C. fluminea* darstellt, müssen Vergleichsstudien mit anderen Muschelarten erweisen, bisher gibt es leider keine weiteren Angaben über

die Zusammensetzung des Pallialwassers anderer Arten nach bekannter Dauer mit geschlossenen Schalen. In einigen anderen Arbeiten stellte sich ebenfalls heraus, daß einzig Succinat während einer Anaerobiose akkumulierte (Sukhotin & Pörtner 1999). All die hier genannten Anpassungen zusammengenommen tragen sicherlich zur besonders guten Ausnutzung knapper Nahrung bei. Den Winter übersteht *C. fluminea* ohne hohe Verluste an Speichersubstraten und mit einsetzender Planktonblüte im Frühjahr beginnt auch das rasante Wachstum der Tiere, selbst im relativ chlorophyllarmen Mittelrhein (Meister 1997). Kurz darauf folgt auch die erste Generation der Jungmuscheln, die zweite im Herbst ist bereits über einen längeren Zeitraum verteilt oder bleibt bei schlechtem Nahrungsangebot ganz aus (Mouthon 2000a + b).

Neben einigen Besonderheiten des Lebenszyklus, v.a. die Inkubation zahlreicher Larven innerhalb der Kiemen bis zu beschalteten Juvenilen, ist der intermittierende Metabolismus ausschlaggebend für das effektive Ausschöpfen der limitierenden Nahrungsressourcen und die daraus resultierende effiziente Nutzung der vorhandenen Energie ist Grundlage für die außergewöhnliche Fekundität von *C. fluminea* und damit für ihre schnelle Verbreitung. Ihre Anpassung an die schwankende Verfügbarkeit der Nahrung, sollte bei allen Untersuchungen unbedingt beachtet werden, besonders bei allen Ansätzen des Biomonitorings mit *C. fluminea*, aber auch anderen Muscheln, um vorschnelle Fehlinterpretationen zu vermeiden.

## 5 Zusammenfassung

Trotz stetig steigender Wasserqualität finden sich erst langsam wieder anspruchsvollere Organismen in der Rheinbiozönose ein, was vorwiegend an dem noch immer sehr strukturarmen Erscheinungsbild v.a. des Nieder- und Mittelrheins liegt. Bedingungen, die besonders euryöke r-Strategen zu einer raschen Verbreitung nutzen können, darunter auch viele gebietsfremde Arten, sogenannte Neozoen. Seit ungefähr 15 Jahren findet man die aus Südostasien stammende Körbchenmuschel *Corbicula fluminea* im Rhein, in dem sie aufgrund hoher Wachstumsraten und Fekunditäten schnell zu einem der bedeutendsten Biomasseproduzenten wurde. Eingeschleppt wurde sie über Nordamerika, wo sie seit langer Zeit als „pest species“ hohen wirtschaftlichen Schaden verursacht, indem sie Rohrleitungen und Kanäle von Brauch- und Trinkwasser verstopft oder verunreinigt. In dieser Arbeit wurde der Energiestoffwechsel von *C. fluminea* und ihr Schalenschließverhalten untersucht, um deren Einfluß auf die außergewöhnlich gute Verbreitung der Muschel beurteilen zu können.

In simultanen Messungen der Wärmeabgabe und des O<sub>2</sub>-Verbrauchs (Kalorespirometrie) zeigte *C. fluminea* einen intermittierenden Stoffwechsel, der auf die Schließbewegungen der Muscheln zurückzuführen ist. Bei offenen Schalen ist der Metabolismus vollständig aerob gedeckt, bei geschlossenen Schalen bleibt nur wenig Sauerstoff zur Verfügung. Aufgrund der Reduktion der metabolischen Raten um 90 % („metabolic depression“) reicht dieser dennoch, um den Stoffwechsel für einige Stunden aerob zu halten. Während der anschließenden Anaerobiose akkumuliert Succinat.

Die Schalenbewegungen von *C. fluminea* wurden über etwas mehr als zwei Jahre mit Muschelmonitoren in von Rheinwasser gespeisten Durchflußrinnen der Kontrollstationen in Bad Honnef und in Koblenz aufgezeichnet. Von Ende April bis Ende Oktober öffneten die Tiere ihre Schalen in einem circadianen Rhythmus, so daß sie in den Morgenstunden geschlossen blieben und erst ab Mittag die Schalen geöffnet hatten. Mit den diurnal schwankende O<sub>2</sub>-Konzentrationen konnte indirekt gezeigt werden, daß die Muscheln mit ihrem Schließrhythmus den im Tagesverlauf wechselnden Phytoplanktonkonzentrationen folgten, der wichtigsten Nahrungsquelle der Muscheln.

Unter konstanten Laborbedingungen dauerte der Rhythmus an, woraus man schließen kann, daß endogene Komponenten den Rhythmus steuern, deren Einfluß bei ausbleibender Justierung durch einen äußeren Zeitgeber aber nachließ, so daß sich Periode und Phase des Rhythmus verschob oder dieser später ganz verschwand. Im Winter blieb der circadiane

Rhythmus aus, dennoch blieb es bei z.T. stundenlangen Abschnitten mit geschlossenen Schalen. Bei extrem kalten Temperaturen ( $< 5^{\circ}\text{C}$ ) waren die Muscheln oft tagelang geschlossen.

Mit Hilfe ihres circadianen Schließrhythmus kann *C. fluminea* die Zeiten mit geöffneten Schalen auf die Stunden beschränken, in denen der Phytoplanktongehalt am Größten ist. Dagegen spart sie wichtige Speichersubstrate zu Zeiten mit geringem chl a Gehalt ein, indem sie die Schalen schließt und den Stoffwechsel drosselt. So umgeht sie die hohen zusätzlichen Kosten der Muschelkiemen am Erhaltungsstoffwechsel, deren Hauptfunktion die Filtration von Nährstoffen aus dem durchströmenden Wasser ist. Sowohl der Wasserstrom über die Kiemen, als auch die Selektion und der weitere Transport der Partikel wird durch einen energieintensiven Cilienapparat gewährleistet, dessen Unterhalt nur bei ausreichender Nahrung sinnvoll ist. Später können die bei geschlossenen Schalen eingesparten Speichersubstrate stattdessen besser dem Wachstum, bzw. der Reproduktion zugeführt werden.

Bei den circadianen Schließbewegungen werden die Tiere kaum anaerob, da der bei geschlossenen Schalen im Pallialwasser und Gewebe vorhandene Sauerstoff bei der geringen Stoffwechselleistung lange vorhält. Bleibt Nahrung in ausreichender Menge länger aus, schließt *C. fluminea* die Schalen auch für viele Stunden unter normoxischen Bedingungen. Dabei akkumuliert sie Succinat, allerdings nicht nur in den Geweben (ca.  $2 \mu\text{mol g}^{-1}$  FG), sondern auch im Pallialwasser (4 – 6 mM). Und obwohl die streng hypoxischen Inkubationen nachweisen, daß *C. fluminea* auch Propionat zu bilden vermag, bleibt dies unter normoxischen Bedingungen aus. Bei *C. fluminea* hat sich also ein Mechanismus entwickelt, der ihr die Abgabe des anaerob entstandenen Succinats in das Pallialwasser ermöglicht. Aufgrund der Kiemenanordnung innerhalb der Muschel, muß das mit Succinat angereicherte Wasser zunächst die Kiemen passieren, bevor es die Muscheln verlässt. Deshalb ist es denkbar, daß vor und v.a. nach dem Öffnen der Schalen zuvor ausgeschleustes Succinat wieder aufgenommen und dem Stoffwechsel zurückgeführt wird, so daß während der energetisch ineffizienten Anaerobiose nicht so viele Metabolite verloren gehen.

Der intermittierende Metabolismus ist somit die Grundlage für die effiziente Nutzung des geringen Nahrungsangebotes., wobei die Ausschleusung des Succinat ins Pallialwasser den Verlust anaerober Metabolite verringert.

## 6 Literatur

- Aldridge DC and McMahon RF (1978) Growth, fecundity, and bioenergetics in a natural population of the Asiatic freshwater clam, *Corbicula manilensis* Philippi, from North Central Texas. *J Moll Stud* 44: 49-70.
- Aldridge DC and Muller SJ (2001) The Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, in Britain: Current status and potential impacts. *J Conchology* 37 Part 2: 177-183.
- Alf A (1991) Neu- und wiedergefundene Arten des Makrozoobenthos im Neckars. *Lauterbornia* 8: 71-76.
- Allen HJ, Waller WT, Acevedo MF, Morgan EL, Dickson KL and Kennedy JH (1996) A minimally invasive technique to monitor valve-movement behaviour in bivalves. *Environ Technol* 17: 501-507.
- Andres S, Baudrimont M, Lapaquellerie Y, Ribeyre F, Maillet N, Latouche C and Boudou A (1999) Field transplantation of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* along a polymetallic contamination gradient (river Lot, France): I. Geochemical characteristics of the sampling sites and cadmium and zinc bioaccumulation kinetics. *Environ Toxicol Chem* 18: 2462-2471.
- Araujo R, Moreno D and Ramos MA (1993) The Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Bivalvia: Corbiculidae) in Europe. *Amer Malac Bull* 10: 39-49.
- Aulenta F, Bassani C, Ligthart J, Majone M and Tilche A (2002) Calorimetry: a tool for assessing microbial activity under aerobic and anoxic conditions. *Water Research* 36: 1297-1305.
- Bachmann V and Usseglio PP (1999) Contribution of the macrobenthic compartment to the oxygen budget of a large regulated river: the Mosel. *Hydrobiologia* 410: 39-46.
- Bayne BL (1998) The physiology of suspension feeding by bivalve molluscs: an introduction to the Plymouth "TROPHEE" workshop. *J Exp Mar Biol Ecol* 219: 1-19.
- Beninger PG (2000) Limits and constraints: A comment on premises and methods in recent studies of particle capture mechanisms in bivalves. *Limnol Oceanogr* 45: 1196-1199.
- Berger W (1975) Der Rhein - gestern, heute, morgen. *Jahrbuch der Hafenbautechnischen Gesellschaft* 34: 1974/75.

- Bernauer D, Kappus B and Jansen W (1996) Neozoen in Kraftwerksproben und Begleituntersuchungen am nördlichen Oberrhein. In: Gebhardt H, Kinzelbach R and Schmidt-Fischer S (eds.) Gebietsfremde Tierarten: Auswirkung auf einheimische Arten, Lebensgemeinschaften und Biotope, Situationsanalyse, pp 87-95. ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg.
- Beutler HU (1985) Succinat. In: Bergmeyer HU (ed.) Metabolite! → Di- und Tricarbonsäuren, pp 25-33. Verlag Chemie, Weinheim.
- Bij de Vaate A and Greijdanus-Klaas M (1990) The Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Pelecypoda, Corbiculidae), a new immigrant in The Netherlands. Bull Zool Mus Amsterdam 12: 173-177.
- Bij de Vaate A (1991) Colonization of river Rhine by the Asiatic clam, *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) (Pelecypoda, Corbiculidae). Bull Zool Mus Amsterdam 13: 13-16.
- Bij de Vaate A and Hulea O (2000) Range extension of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* (Müller 1774) in the River Danube: first record from Rumania. Lauterbornia 38: 23-26.
- Bishop T, St Pierre J and Brand MD (2002) Primary causes of decreased mitochondrial oxygen consumption during metabolic depression in snail cells. Amer J Physiol-Regul Integr C 282: R372-R382.
- Borcherding J (1992a) Abundance and growth of *Dreissena polymorpha* larvae. In: Neumann D and Jenner HA (eds.) The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha* (Band IV), Gustaf-Fischer-Verlag, Stuttgart, New York.
- Borcherding J (1992b) Another early warning system for the detection of toxic discharges in the aquatic environment based on valve movements of the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. In: Neumann D and Jenner HA (eds.) The zebra mussel *Dreissena polymorpha*, pp 127-146. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart; New York.
- Borcherding J and Wolf J (2001) The influence of suspended particles on the acute toxicity of 2-chloro- 4-nitro-aniline, cadmium, and pentachlorophenol on the valve movement response of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). Arch Environ Contam Toxicol 40: 497-504.
- Brand MD (1990) The Contribution of the leak of protons across the mitochondrial membrane to standard metabolic rate. Journal of theoretical biology 145: 267-286.
- Brand MD, Bishop T, Boutilier RG and St Pierre J (2000) Mitochondrial proton conductance, standard metabolic rate and metabolic depression. In: Life in the cold, pp 413-430. Springer-Verlag, Berlin.

- Britton JC and Morton B (1986) Polymorphism in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculoidea) from North-America. Malacological Review 19: 1-43.
- Buck D, Spencer ME and Guest JR (1985) Primary structure of the Succinyl-CoA Synthetase of *Escherichia coli*. Biochemistry 24: 6245-6252.
- Buck D, Spencer ME and Guest, JR (1986) Cloning and Expression of the Succinyl-CoA Synthetase Genes of *Escherichia coli* K12. Journal of General Microbiology 132: 1753-1762.
- Butler TM, Narayan SR, Mooers SU, Hartshorne DJ and Siegman MJ (2001) The myosin cross-bridge cycle and its control by twitchin phosphorylation in catch muscle. Biophys J 80: 415-426.
- Bürger F (1926) Die Fischereiverhältnisse im Rhein im Bereich der preußischen Rheinprovinz. Zeitschrift für Fischerei 24: 217-399.
- Byrne RA, Gnaiger E, McMahon RF and Dietz TH (1990) Behavioural and metabolic responses to emersion and subsequent reimmersion in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. Biol Bull 178: 251-259.
- Byrne RA and McMahon RF (1994) Behavioural and physiological response to emersion in freshwater bivalves. Amer Zool 34: 194-204.
- Calvet E and Prat H (1963) Recent progress in microcalorimetry. Pergamon Press, Oxford.
- Carlton JT and Geller JB (1993) Ecological Roulette: The global transport of nonindigenous marine organisms. Science 261: 78-82.
- Cataldo D, Colombo JC, Boltovskoy D, Bilos C and Landoni P (2001) Environmental toxicity assessment in the Paraña river delta (Argentina): simultaneous evaluation of selected pollutants and mortality rates of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) early juveniles. Environ Pollut 112: 379-389.
- Cheney MA, Birdsall K and Kukor JJ (2001) Uptake and diverse effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on the metabolic activity of *Elliptio complanata* measured by calorimetry. Environ Toxicol Chem 20: 1031-1036.
- Clemmesen B and Jorgensen CB (1987) Energetic costs and efficiencies of ciliary filter feeding. Mar Biol 94: 445-449.
- Cosson RP (2000) Bivalve metallothionein as a biomarker of aquatic ecosystem pollution by trace metals: Limits and perspectives. Cell Mol Biol 46: 295-309.

- Crisp DJ (1971) Energy flow measurements. In: Holme NA and McIntyre AD (eds.) *Methods for the Study of Marine Benthos*, pp 251-279. Blackwell, Oxford.
- Cunningham V and Vaught K (1989) A classification of the living Mollusca. In: Tucker Abbott R and Boss KJ (eds.) *American Malacologists*, Melbourne, Florida.
- De Zwaan A and Wijsman TCM (1976) Review: Anaerobic metabolism in bivalvia (Mollusca). Characteristics of anaerobic metabolism. *Comp Biochem Physiol* 56B: 313-324.
- De Zwaan A, Isani G, Cattani O and Cortesi P (1995) Long-term anaerobic metabolism of erythrocytes of the arcid clam *Scapharca inaequivalvis*. *J Exp Mar Biol Ecol* 187: 27-37.
- Den Hartog C, Van den Brink FWB and Van der Velde G (1992) Why was the invasion of the river Rhine by *Corophium curvispinum* and *Corbicula* species so successful? *J Nat Hist* 26: 1121-1129.
- Dietz TH (1985) Ionic Regulation in freshwater mussels: a brief review. *Amer Malac Bull* 3: 233-242.
- DK Rhein (2001) Rheingütebericht 2000. Deutsche Kommission zur Reinhaltung des Rheins (eds.) 108 pp, Düsseldorf
- Doeller JE, Kraus DW and Colacino JM (1990) Simultaneous measurement of the rates of heat dissipation and oxygen consumption in marine invertebrates having and lacking haemoglobin. *Comp Biochem Physiol* 97A: 107-113.
- Doherty FG, Cherry DS and Cairns J (1987) Valve closure response of the Asiatic clam *Corbicula fluminea* exposed to cadmium and zinc. *Hydrobiologia* 153: 159-167.
- Doherty FG and Cherry DS (1988) Tolerance of the Asiatic clam *Corbicula* ssp. to lethal levels of toxic stressors - A review. *Environ Poll* 51: 269-313.
- Ege R and Krogh A (1914) On the relation between the temperature and the respiratory exchange in fishes. *Int Rev Hydrobiol Hydrograph* 7: 48-55.
- Foe C and Knight A (1985) The effect of phytoplankton and suspended sediment on the growth of *Corbicula fluminea* (Bivalvia). *Hydrobiologia* 127: 105-115.
- Foe C and Knight A (1986) Growth of *Corbicula fluminea* (bivalvia) fed artificial and algal diets. *Hydrobiologia* 133: 155-164.

- Friedrich G and Schulte-Wülwer-Leidig A (1996) Der Rhein - das alte Sorgenkind. In: Lozán L and Kausch H (eds) Warnsignale aus Flüssen und Ästuaren, pp 65-75. Paray Buchverlag im Blackwell-Wissenschafts-Verlag, Berlin.
- Friedrich G, Schiller W, Pohlmann M, Schwenke B and Seuter S (2000) Rheinstrom. In: Ministerium für Umwelt und Naturschutz and Landesumweltamt NRW (LUA) (eds) Gewässergütebericht 2000 - Sonderbericht - 30 Jahre biologische Gewässerüberwachung in NRW, pp 55-78. Moeker Merkur Druck GmbH, Essen.
- Funabara D, Kinoshita S, Watabe S, Siegman MJ, Butler TM and Hartshorne DJ (2001) Phosphorylation of molluscan twitchin by the cAMP-dependent protein kinase. *Biochemistry* 40: 2087-2095.
- Glöer P, Meier-Brook C and Ostermann O (1992) Süßwassermollusken: Ein Bestimmungsschlüssel für die Bundesrepublik Deutschland. Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung, Hamburg.
- Gnaiger E (1980) The caloric equivalent of ATP-turnover of aerobic and anoxic metabolism. *Thermochimica Acta* 40: 195-223.
- Gnaiger E (1983a) Calculation of energetic and biochemical equivalents of respirometry oxygen consumption. In: Gnaiger E and Forstner H (eds) Polarographic oxygen sensors, pp 337-345. Springer Verlag, Berlin.
- Gnaiger E (1983b) The Twin-Flow Microrespirometer and simultaneous calorimetry. In: Gnaiger E and Forstner H (eds) Polarographic oxygen sensors, pp 134-166. Springer Verlag, Berlin.
- Gnaiger E (1983c) Heat dissipation and energetic efficiency in animal anoxybiosis: Economy contra power. *J Exp Zool* 228: 471-490.
- Gnaiger E and Staudigl I (1987) Aerobic metabolism and physiological reactions of aquatic oligochaetes to environmental anoxia. Heat dissipation, oxygen consumption, feeding and defecation. *Physiol Zool* 60: 659-677.
- Gnaiger E, Shick JM and Widdows J (1989) Metabolic microcalorimetry and respirometry of aquatic animals. In: Bridges CR and Butler PJ (eds) Techniques in comparative respiratory physiology, pp 112-135. University Press, Cambridge.
- Gnaiger E (1990) Concepts on efficiency in biological calorimetry and metabolic flux control. *Thermochimica Acta* 172: 31-52.
- Grieshaber MK and Kreutzer U (1986) Opine formation in marine invertebrates. *Zool Beitr N F* 30: 205-229.

- Grieshaber MK and Hardewig I (1993) Adjustments to hypoxia in invertebrates. In: Scheid P (ed.) Funktionsanalyse biologischer Systeme. Mainzer Akademie der Wissenschaften. (23): 327-337.
- Grieshaber MK, Hardewig I, Kreutzer U and Pörtner HO (1994) Physiological and metabolic responses to hypoxia in invertebrates. *Rev physiol biochem pharm* 125: 44-147.
- Gueron S and Levit-Gurevich K (1999) Energetic considerations of ciliary beating and the advantage of metachronal coordination. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 12240-12245.
- Gunther AJ, Davis JA, Hardin DD, Gold J, Bell D, Crick JR, Scelfo GM, Sericano J and Stephenson M (1999) Long-term bioaccumulation monitoring with transplanted bivalves in the San Francisco Estuary. *Mar Poll Bull* 38: 170-181.
- Guppy M and Withers P (1999) Metabolic depression in animals: physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol Rev Camb Philos Soc* 74: 1-40.
- Haas D (2000) Der Einfluß von Hypoxie und Sulfid auf den Säure-Basenhaushalt beim Wattwurm (*Arenicola marina* L.). 163 pp. Dissertation: HHU Düsseldorf.
- Haesloop U (1992) Establishment of the Asiatic clam *Corbicula cf. fluminalis* in the tidal Weser River (N.Germany). *Arch Hydrobiol* 126: 175-180.
- Hailer, N. Natur und Landschaft am Oberrhein: Versuch einer Bilanz (1982) Veröffentlichungen der Pfälzischen Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften (70) 105 pp.
- Ham KD and Peterson MJ (1994) Effect of fluctuating low-level chlorine concentrations on valve-movement behaviour of the Asiatic clam (*Corbicula fluminea*). *Environ Toxicol Chem* 13: 493-498.
- Hammen CS (1979) Metabolic rates of marine bivalve molluscs determined by calorimetry. *Comp Biochem Physiol* 62A: 955-959.
- Hand SC and Hardewig I (1996) Downregulation of cellular metabolism during environmental stress: mechanisms and implications. *Annu Rev Physiol* 58: 539-563.
- Harmer SL, Panda S and Kay SA (2001) Molecular bases of circadian rhythms. *Annu Rev Cell Dev Biol* 17: 215-253.
- Hastings M and Maywood ES (2000) Circadian clocks in the mammalian brain. *Bioessays* 22: 23-31.

- Higgins PJ (1980) Effects of food availability on the valve movements and feeding behaviour of juvenile *Crassostrea virginica* (Gmelin) I. Valve movements and periodic activity. *J Exp Mar Biol Ecol* 45: 229-244.
- Hochachka PW and Guppy M (1987) *Metabolic arrest and the control of biological time*. Harvard University Press, Cambridge.
- Hochachka PW, Buck LT, Doll C and Land SC (1996) Unifying theory of hypoxia tolerance: Molecular / metabolic defence and rescue mechanisms for surviving oxygen lack. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93: 9493-9498.
- Hochachka PW and Lutz PL (2001) Mechanism, origin, and evolution of anoxia tolerance in animals. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 130: 435-459.
- Hoffmann M, Blübaum-Gronau E and Krebs F (1994) Die Schalenbewegung von Muscheln als Indikator von Schadstoffen in der Gewässerüberwachung. *Schriftenreihe des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene* 93: 125-149.
- Holopainen IJ and Penttinen OP (1993) Normoxic and anoxic heat output of the freshwater bivalves *Pisidium* and *Sphaerium* I. Rhythms of spontaneous quiescence and behaviour. *Oecologia* 93: 215-223.
- Honsell M (1885) *Die Korrektion des Oberrheins von der Schweizer Grenze unterhalb Basel bis zur Großherzoglich-Hessischen Grenze unterhalb Mannheim*. Beiträge zur Hydrogeographie des Großherzogtums Baden (3) Karlsruhe
- Howlett D and Baker R (1999) *Corbicula fluminea* (Muller): New to UK. *J Conchology* 36 Part 6: 83.
- Hulbert AJ and Else PL (2000) Mechanisms underlying the cost of living in animals. *Annu Rev Physiol* 62: 207-235.
- IKSR (1996) *Das Makrozoobenthos des Rheins 1990 - 1995*. Internationale Kommission zum Schutz des Rheins (eds.) Koblenz pp 1-10.
- IKSR (2001) *Zustand des Rheins: Gestern-Heute-Morgen; Rhein-Ministerkonferenz (29.1.2001)* Internationale Kommission zum Schutz des Rheins (eds.)
- Isani G, Cattani O, Zurzolo M, Pagnucco C and Cortesi P (1995) Energy metabolism of the mussel, *Mytilus galloprovincialis*, during long-term anoxia. *Comp Biochem Physiol* 110B: 103-113.
- Isani G, Andreani G, Kindt M and Carpena E (2000) Metallothioneins (MTs) in marine molluscs. *Cell Mol Biol* 46: 311-330.

- Ittel I (1995) Nährstoffgehalte und Eutrophierungsprobleme. In: Wie sauber ist der Rhein wirklich? Ministerium für Umwelt und Forsten, Rheinland Pfalz (eds.) Conference Proceeding (21.11.1994): 27-33
- Ituarte CF (1981) Primera noticia acerca de la presencia de pelecipodos asiaticos en el area rioplatense. *Neotropica* 27: 79-82.
- Jenner HA, Noppert F and Sikking T (1989) A new system for the detection of valve-movement response of bivalves. *Kema Scientific & Technical Reports* 7: 91-98.
- Jørgensen CB (1990) Bivalve Filter Feeding: Hydrodynamics, Bioenergetics, Physiology and Ecology. Olsen & Olsen, Fredensborg, Denmark, 141 pp.
- Jørgensen CB (1996) Bivalve filter feeding revisited. *Mar Ecol-Progr Ser* 142: 287-302.
- Kijviriyaya V, Upatham ES, Viyanant V and Woodruff DS (1991) Genetic studies of the Asiatic Clams , *Corbicula*, in Thailand: Allozymes of nominal species are identical. *Amer Malac Bull* 4: 97-106.
- Kilius R (1993) Stamm Mollusca. In: Gruner H-E (ed.) *Lehrbuch der Speziellen Zoologie* (begr. von A. Kaestner) Band I, 3.Teil, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, New York.
- Kim WS, Huh HT, Huh SH and Lee TW (2001) Effects of salinity on endogenous rhythm of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum* (Bivalvia : Veneridae). *Mar Biol* 138: 157-162.
- Kinzelbach R (1972) Einschleppung und Einwanderung von Wirbellosen in Ober- und Mittelrhein. *Mainzer Nat Wiss Arch* 109-150.
- Kinzelbach R (1991) Die Körbchenmuscheln *Corbicula fluminalis*, *Corbicula fluminea* und *Corbicula fluviatilis* in Europa (Bivalvia: Corbiculidae). *Mainzer Nat Wiss Arch* 29: 215-228.
- Kinzelbach R (1995) Neozoans in European waters - Exemplifying the worldwide process of invasion and species mixing. *Experientia* 51: 526-538.
- Kluytmans, J. H. and De Zwaan, A. (1976) Production of volatile acids in bivalved molluscs. *Biochemical Society Transactions* 4: 475-477. Conference Proceeding
- Koop JHE (1994) Akute und subakute Einflüsse von Kaliumchlorid-Belastungen in Fließgewässern auf den Energiestoffwechsel von *Gammarus pulex* (L.) und *Gammarus tigrinus* (Sexton). Dissertation HHU Düsseldorf: 106 pp

- Kraemer LR (1979) *Corbicula* (Bivalvia: Sphaeriacea) vs. indigenous mussels (Bivalvia: Unionacea) in U.S. rivers: A hard case for interspecific competition? Amer Zool 19: 1085-1096.
- Kraemer LR and Galloway ML (1986) Larval Development of *Corbicula fluminea* (Müller) (Bivalvia: Corbiculacea): An Appraisal Of Its Heterochrony. Amer Malac Bull 4: 61-79.
- Kramer KJM, Jenner HA and De Zwart D (1989) The valve movement response of mussels: a tool in biological monitoring. Hydrobiologia 188/189: 433-443.
- Kramer KJM and Botterweg J (1991) Aquatic Biological early warning systems: An overview. Bioindicators and Environmental Management 95-126.
- Lauterborn R (1916) Die geographische und biologische Gliederung des Rheinstromes I. Teil. Sitzungsber Heidelb. Akad Wiss , Math -naturwiss Kl , Abt B VII, 6 Abh 1-61.
- Lauterborn R (1917) Die geographische und biologische Gliederung des Rheinstromes II. Teil. Sitzungsber Heidelb. Akad Wiss , Math -naturwiss Kl , Abt B VII, 5 Abh 1-70.
- Lavoisier A and Laplace P (1780) Memoire sur la chaleur. In: Gabriel ML and Fogel J (eds) Great experiments in Biology, pp 85-93. Prentice Hall, New Jersey.
- LAWA (1997) Die Beschaffenheit der großen Fließgewässer Deutschlands. Länderarbeitsgemeinschaft Wasser, Berlin: 12 pp
- Leard RL, Grantham BJ and Pessoney GF (1980) Use of selected freshwater bivalves for monitoring organochlorine pesticide residues in major Mississippi stream systems, 1972-73. Pestic Monit J 14: 47-52.
- Leland HV and Scudder BC (1990) Trace elements in *Corbicula fluminea* from the San Joaquin River, California. Sci Total Environ 97-98: 641-672.
- Lelek A and Buhse G (1992) Fische des Rheins. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 214
- Lozán JL (1990) Zur Gefährdung der Fischfauna - Das Beispiel der diadromen Fischarten und Bemerkungen über andere Spezies. In: Lozán JL, Lenz W, Rachor E, Watermann B and von Westernhagen H (eds) Warnsignale aus der Nordsee, pp 231-249. Verlag Paul Parey, Berlin.
- McCorkle S and Dietz TH (1980) Sodium transport in the freshwater Asiatic clam *Corbicula fluminea*. Biol Bull 59: 325-336.

- McKee PM and Mackie GL (1983) Respiratory Adaptations of the Fingernail Clam *Sphaerium occidentale* and *Musculinum securis* to ephemeral habitats. Can J Fish & Aqua Sci 40: 783-791.
- McMahon RF (1979) Response to temperature and hypoxia in the oxygen consumption of the introduced Asiatic freshwater clam *Corbicula fluminea* (Müller). Comp Biochem Physiol 63A: 383-388.
- McMahon RF (1983) Ecology of an invasive pest bivalve, *Corbicula*. In: Russel-Hunter WD (ed) The Mollusca: Ecology, pp 505-561. Academic Press Inc, New York.
- McMahon RF and Williams CJ (1986) Growth, Life cycle, upper thermal limit and downstream colonization rates in a natural population of the freshwater bivalve mollusc, *Corbicula fluminea* (Müller) receiving thermal effluents. Amer Malac Bull Special Ed 2: 231-239.
- McMahon RF (2000) Invasive characteristics of the freshwater bivalve *Corbicula fluminea*. In: Claudi R (ed) Nonindigenous freshwater organisms. Vectors, biology and impacts, pp 315-343. Lewis Publishers, Boca Raton.
- Meinardus-Hager G and Gäde G (1986) The pyruvate branchpoint in the anaerobic energy metabolism of the jumping cockle *Cardium tuberculatum* L.: D-lactate formation during environmental anaerobiosis versus octopine formation during exercise. Exp Biol 45: 91-110.
- Meister A (1997) Lebenszyklus, Autökologie und Populationsökologie der Körbchenmuscheln *Corbicula fluminea* und *Corbicula fluminalis* (Bivalvia, Corbiculidae) im Inselrhein. Dissertation TU Darmstadt: 170 pp
- Morton B (1986) *Corbicula* in Asia: An updated synthesis. Amer Malac Bull Special Ed 2: 113-124.
- Mouthon J (1981) Sur la présence en France et au Portugal de *Corbicula* (Bivalvia, Corbiculidae) originaire d'Asie. Basteria 45: 109-116.
- Mouthon J (2001a) Life cycle and population dynamics of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia : Corbiculidae) in the Rhône River at Creys-Malville (France). Arch Hydrobiol 151: 571-589.
- Mouthon J (2001b) Life cycle and population dynamics of the Asian clam *Corbicula fluminea* (Bivalvia : Corbiculidae) in the Saone River at Lyon (France). Hydrobiologia 452: 109-119.

- Narbonne JF, Djomo JE, Ribera D, Ferrier V and Garrigues P (1999) Accumulation kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons adsorbed to sediment by the mollusc *Corbicula fluminea*. *Ecotoxicol Environ Saf* 42: 1-8.
- Neumann D (1960) Osmotische Resistenz und Osmoregulation der Flussschnecke *Theodoxus fluviatilis* L. *Biologisches Zentralblatt* 79: 585-605.
- Neumann D (1994) Ökologische Probleme im Rheinstrom. *Nordrhein-Westfälische Akademie der Wissenschaften N 407*: 43-83. Conference Proceeding Westdt. Verlag
- Nguyen LTH and De Pauw N (2002) The invasive *Corbicula* species (Bivalvia, Corbiculidae) and the sediment quality in Flanders, Belgium. *Belgian Journal of Zoology* 132: 41-48.
- Ortmann Ch (1996) Wärmedissipation und oxykalisches Äquivalent von Süßwassermollusken in Abhängigkeit von abiotischen Umweltbedingungen. 61 pp. Diplomarbeit HHU Düsseldorf
- Otto A and Weibel U (1999) Entwicklung der Rhein-Auengewässer -Teil 1- Grundlagen 133 pp In: Landesamt für Wasserwirtschaft in Rheinland-Pfalz (eds) *Aktion Blau: Gewässerentwicklung in Rheinland-Pfalz, Mainz*
- Pakay JL, Withers PC, Hobbs AA and Guppy M (2002) In vivo downregulation of protein synthesis in the snail *Helix aspersa* during estivation. *Amer J Physiol-Regul Integr C* 283: R197-R204.
- Peck LS, Pörtner HO and Hardewig I (2002) Metabolic demand, oxygen supply, and critical temperatures in the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. *Physiol Biochem Zool* 75: 123-133.
- Penttinen OP (1997) Effects of anoxia and xenobiotics on the metabolic heat dissipation by freshwater benthic invertebrates. Dissertation Universität Joensuu Finland
- Pörtner HO and Grieshaber MK (1993) Critical  $pO_2$  (s) in oxyconforming and oxyregulating animals: gas exchange, metabolic rate and the mode of energy production. In: Bicudo E (ed) *The vertebrate gas transport cascade - Adaptations to environment and mode of life*, pp 330-357. CRC Press, Boca Raton.
- Rajagopal S, van der Velde G and Bij de Vaate A (2000) Reproductive biology of the Asiatic clams *Corbicula fluminalis* and *Corbicula fluminea* in the river Rhine. *Arch Hydrobiol* 149: 403-420.

- Reinfelder JR, Wang WX, Luoma SN and Fisher NS (1997) Assimilation efficiencies and turnover rates of trace elements in marine bivalves: A comparison of oysters, clams and mussels. *Mar Biol* 129: 443-452.
- Reinhold M and Tittizer T (1997) Zur Rolle von Schiffen beim Faunenaustausch Rhein/Main/Main-Donau-Kanal/Donau. *Gewässerkundl. Mitteilungen* 41: 199-205.
- Reinhold M and Tittizer T (1999) Verschleppung von Makrozoen durch Kühlwasserfilter eines Schiffes. *Wasser & Boden* 51: 61-66.
- Reppert SM and Weaver DR (2002) Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 418: 935-941.
- Ricciardi A and MacIsaac HJ (2000) Recent mass invasion of North American Great Lakes by Ponto-Caspian species. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 62-65.
- Riisgård HU and Larsen PS (2000) Comparative ecophysiology of active zoobenthic filter feeding, essence of current knowledge. *J Sea Res* 44: 169-193.
- Riisgård HU (2001) Comment - Physiological regulation versus autonomous filtration in filter-feeding bivalves: Starting points for progress. *Ophelia* 54: 193-209.
- Rolfe DFS and Brand MD (1996) Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. *Amer J Physiol-Cell Physiol* 40: C1380-C1389.
- Salanki J (1965) Oxygen level as a specific regulator in the rhythmic activity of freshwater mussel (*Anodonta Cygnea* L.). *Acta Biol Hung* 15: 299-310.
- Schiller W (1990) Die Entwicklung der Makrozoobenthonbesiedlung des Rheins in Nordrhein-Westfalen im Zeitraum 1969 - 1987. In: Kinzelbach R and Friedrich G (eds) *Biologie des Rheins*, pp 259-275. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Schmidt H and Kamp G (1996) The Pasteur effect in facultative anaerobic metazoa. *Experientia* 52: 440-448.
- Schmitz-Möller P, Krebs F (1995) Detektion von Schadstoffwellen im Rhein mit kontinuierlich arbeitenden Biotestverfahren. In: Ministerium für Umwelt und Forsten, Rheinland Pfalz (eds.) *Wie sauber ist der Rhein wirklich? -Biomonitoring-* : pp 101-117: Conference Proceeding (21.11.1994)
- Schneider A (1995) Die Sulfidtoleranz der Schlammröhrenwürmer *Limnodrillus hoffmeisteri* (Cl.) und *Tubifex tubifex* (M.). Dissertation HHU Düsseldorf

- Schöll F, Becker C and Tittizer T (1995) Das Makrozoobenthos des schiffbaren Rheins von Basel bis Emmerich 1986 - 1995. *Lauterbornia* 21: 115-137.
- Schöttler U, Wienhausen G and Zebe E (1983) The mode of energy production in the lugworm *Arenicola marina* at different oxygen concentrations. *J Comp Physiol* 149: 547-555.
- Shick JM, De Zwaan A and De Bont AMT (1983) Anoxic metabolic rate in the mussel *Mytilus edulis* L. estimated by simultaneous direct calorimetry and biochemical analysis. *Physiol Zool* 56: 56-63.
- Shick JM, Gnaiger E, Widdows J, Bayne BL and De Zwaan A (1986) Activity and metabolism in the mussel *Mytilus edulis* L. during intertidal hypoxia and aerobic recovery. *Physiol Zool* 59: 627-642.
- Shumway SE, Scott TM and Shick JM (1983) The effects of anoxia and hydrogen sulphide on survival, activity and metabolic rate in the Coot clam *Mulinia lateralis* (Say). *J Exp Mar Biol* 71: 135-146.
- Silverman H, Lynn JW, Achberger EC and Dietz TH (1996a) Gill structure in zebra mussels: Bacterial-sized particle filtration. *Amer Zool* 36: 373-384.
- Silverman H, Lynn JW and Dietz TH (1996b) Particle capture by the gills of *Dreissena polymorpha*: Structure and function of latero-frontal cirri. *Biol Bull* 191: 42-54.
- Silverman H, Nichols SJ, Cherry JS, Achberger E, Lynn JW and Dietz TH (1997) Clearance of laboratory-cultured bacteria by freshwater bivalves: differences between lentic and lotic unionids. *Can J Zool* 75: 1857-1866.
- Silverman H, Lynn JW and Dietz TH (2000) In vitro studies of particle capture and transport in suspension-feeding bivalves. *Limnol Oceanogr* 45: 1199-1203.
- Sprung M and Borcharding J (1991) Physiological and morphometric changes in *Dreissena polymorpha* (Mollusca; Bivalvia) during a starvation period. *Malacologia* 33: 179-191.
- Sukhotin AA and Pörtner HO (1999) Habitat as a factor involved in the physiological response to environmental anaerobiosis of White Sea *Mytilus edulis*. *Mar Ecol-Progr Ser* 184: 149-160.
- Tittizer T, Schöll F and Schleuter M (1990) Beitrag zur Struktur und Entwicklungsdynamik der Benthalfauna des Rheins von Basel bis Düsseldorf in den Jahren 1986 und 1987. In: Kinzelbach R and Friedrich G (eds) *Biologie des Rheins*, pp 293-323. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.

- Tittizer T and Krebs F (1996) Ökosystemforschung: Der Rhein und seine Auen - eine Bilanz. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 468 pp.
- Tittizer T (1996) Vorkommen und Ausbreitung aquatischer Neozoen (makrozoobenthos) in den Bundeswasserstraßen. In: Gebhardt H, Kinzelbach R and Schmidt-Fischer S (eds) Gebietsfremde Tierarten: Auswirkung auf einheimische Arten, Lebensgemeinschaften und Biotope, Situationsanalyse, pp 49-86. ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg.
- Tümmers HJ (1994) Der Rhein: Ein europäischer Fluß und seine Geschichte. C.H.Beck'sche Verlagsbuchhandlung, München, 480 pp.
- Van den Brink FWB, Van der Velde G and Cazemier WG (1990) The faunistic composition of the freshwater section of the river Rhine in The Netherlands: present state and changes since 1900. In: Kinzelbach R and Friedrich G (eds) Biologie des Rheins, pp 191-216. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- van den Thillart G, van Lieshout G, Storey K, Cortesi P and De Zwaan A (1992) Influence of long-term hypoxia on the energy metabolism of the haemoglobin-containing bivalve *Scapharca inaequivalvis*: critical O<sub>2</sub> levels for metabolic depression. J Comp Physiol [B] 162: 297-304.
- Vaughn CC and Hakenkamp CC (2001) The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. Freshwater Biol 46: 1431-1446.
- Vidal ML, Basseres A and Narbonne JF (2001) Potential biomarkers of trichloroethylene and toluene exposure in *Corbicula fluminea*. Environ Toxicol Pharm 9: 87-97.
- Wang WX and Widdows J (1993a) Metabolic Responses of the common mussel *Mytilus edulis* to hypoxia and anoxia. Mar Ecol-Progr Ser 95: 205-214.
- Wang WX and Widdows J (1993b) Calorimetric studies on the energy metabolism of the infaunal bivalve, *Abra tenuis*, under normoxia, hypoxia and anoxia. Mar Biol 116: 73-79.
- Ward JE (1996) Biodynamics of suspension-feeding in adult bivalve molluscs: Particle capture, processing, and fate. Invertebrate Biology 115: 218-231.
- Ward JE, Levinton JS, Shumway SE and Cucci T (1997) Site of particle selection in a bivalve mollusc. Nature 390: 131-132.
- Way CM, Hornbach DJ, Miller-Way CA, Payne BS and Miller AC (1990) Dynamics of filter feeding in *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae). Can J Zool 68: 115-120.

- Widdows J, Bayne BL, Livingstone DR, Newell RIE and Donkin P (1979) Physiological and biochemical responses of bivalve molluscs to exposure to air. *Comp Biochem Physiol* 62A: 301-308.
- Widdows J (1987) Application of calorimetric methods in ecological studies. In: James AM (ed) *Thermal and energetic studies of cellular biological systems*, pp 182-215. John Wright, Bristol.
- Wieser W (1986) *Bioenergetik - Energietransformationen bei Organismen*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 245 pp.
- Williams BG, Palmer JD and Hutchinson DN (1993) Comparative studies of tidal rhythms XIII: Is a clam clock similar to those of other intertidal animals. *Mar Behav Physiol* 24: 1-14.
- Williams BG and Pilditch CA (1997) The entrainment of persistent tidal rhythmicity in a filter-feeding bivalve using cycles of food availability. *J Biol Rhythm* 12: 173-181.
- Willson LL and Burnett LE (2000) Whole animal and gill tissue oxygen uptake in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*: Effects of hypoxia, hypercapnia, air exposure and infection with the protozoan parasite *Perkinsus marinus*. *J Exp Mar Biol Ecol* 246: 223-240.
- Wollenberger AO, Ristan O and Schoffa G (1960) Eine einfache Technik der extrem schnellen Abkühlung größerer Gewebestücke. *Pflügers Arch* 270: 399-412.
- Wolodko WT, Fraser ME, James MNG and Bridger WA (1994) The Crystal Structure of SuccinylCoA-Synthetase from *Escherichia coli* at 2.5 Å Resolution. *J Biol Chem*: 269(14):10883-10890.

Tab. A3: Metabolitbestimmungen – normoxische Schließzeiten Succinat (Kalorimeter &amp; Mosselmonitor)

Rechts Mittelwerte und Standardabweichungen der jeweiligen Rubriken

Kalorimeter		optischer Test			
Tier: Nr.	Schließzeit [h]	Fuß	Add	Kie	Pall
47	7	1.30	1.38	[1.17]	1.15
87	10	1.54	2.69	0.49	2.22
116	12	0.75	1.08	0.67	0.10
85	15	1.80	2.55	0.65	3.70
45	20	1.46	3.60	0.94	
86	20	1.41	3.24	0.80	3.33
46	24	2.15		0.40	2.30
44	30	3.63	3.14	2.01	
84	32	1.39	[15.68]	[2.23]	0.71

117	5 min offen	1.95	2.70	1.88	2.80
-----	-------------	------	------	------	------

Mosselmonitor		optischer Test			
Tier: Nr.	Schließzeit [h]	Fuß	Add	Kie	Pall
141	2	0.52		0.9	0.19
145	2	0.23	0.83	0.4	0.12
146	2	0.7	1.13	0.3	0.3
144	2.5	0.6	1.47	0.33	0.52
143	3	0.45	1.55	0.77	0.58
147	4	0.75	2.19		0.26
62	5	0.70	1.73	0.43	0.54
61	24	0.91	0.93	0.74	0.80
77	24	1.55	2.73	0.41	1.67
78	29	1.42	1.84		2.17
60	33	1.67	1.93	0.89	3.51
140	46	2.10	1.99	[7.43]	
115	50	1.95	2.75		2.90
107	54	1.86	1.89	1.60	2.78
78	60	1.50	2.73	0.72	2.35
114	60	2.92	3.38	0.45	5.07
106	62	2.20	2.48	1.13	4.30
121	66	1.52	1.61	1.47	2.13
122	67	1.15	1.60	2.00	4.29
101	68	1.67	1.80	0.70	2.63
103	71	1.66	2.35	1.35	3.89
123	74	1.07	0.72	5.68	2.40
63	80	2.46	2.05	0.97	7.10
120	81	1.27	2.06	1.57	2.59
76	90	2.48	1.81	1.60	5.27
102	92		2.79	1.51	4.03
105	98	1.64	2.95	1.09	5.12
104	102	1.95	2.47	2.83	4.41
113	116	2.30	3.21	1.35	4.74
100	130	2.15	2.90	1.07	6.56
112	175	3.04	2.78	2.23	7.46

142	3 min offen	0.48	1.75	0.67	1.55
-----	-------------	------	------	------	------

Succ CR	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	1.71	0.81
Adduktor	2.53	0.95
Kieme	0.85	0.54
Pallialwasser	1.93	1.34

Kontrollen	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	0.42	0.32
Adduktor	1.14	0.41
Kieme	0.40	0.26
Pallialwasser	0.40	0.24

Mosselmonitor	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	1.80	0.59
Adduktor	2.22	0.66
Kieme	1.45	1.12
Pallialwasser	3.70	1.83

2 - 5 h	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	0.56	0.18
Adduktor	1.48	0.47
Kieme	0.52	0.25
Pallialwasser	0.36	0.19

1 - 2 Tage	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	1.39	0.33
Adduktor	1.86	0.74
Kieme	0.68	0.25
Pallialwasser	2.04	1.13

2 - 3 Tage	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	1.85	0.49
Adduktor	2.26	0.58
Kieme	1.18	0.53
Pallialwasser	3.37	1.03

3 - 4 Tage	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	1.82	0.76
Adduktor	1.89	0.75
Kieme	2.27	1.93
Pallialwasser	4.28	1.96

> 4 Tage	x opt. Test	sd opt. Test
Fuß	2.22	0.52
Adduktor	2.86	0.27
Kieme	1.71	0.78
Pallialwasser	5.66	1.30

Tab. A4: Metabolitbestimmungen - normoxische Schließzeiten

Acetat und Propionat (Kalorimeter &amp; Mosselmonitor; unten Kontrollen Mittelwerte und SD)

Kalorimeter		Acetat				Propionat			
Tier: Nr.	Schließzeit [h]	Fuß	Adduktor	Kieme	Pallialwasser	Fuß	Adduktor	Kieme	Pallialwasser
47	7	0.69	0.48	[1.26]	0.28	0.10	0.08	0.18	0.01
87	10	0.65	0.60		0.17	0.04	0.08	0.00	0.02
116	12	0.25	0.48	0.49	0.07	0.02	0.04	0.02	0.01
85	15	0.41	0.48	0.69	1.00	0.03	0.04	0.03	0.02
45	20	2.28	6.25	5.70	0.67	0.06	0.18	0.11	
86	20	1.29	1.30	1.36	2.25	0.31	0.50	0.24	0.95
46	24	0.86		1.11	0.25	0.07			0.03
44	30	2.77	3.20	2.91		1.60	1.20	0.89	
84	32	0.40	[4.83]	[1.91]	0.11	0.06	[0.59]	[0.22]	0.02
117	5 min offen	0.72	1.61	1.98	0.18	0.02	0.04	0.07	0.01

Mosselmonitor		Acetat				Propionat			
Tier: Nr.	Schließzeit [h]	Fuß	Adduktor	Kieme	Pallialwasser	Fuß	Adduktor	Kieme	Pallialwasser
141	2	0.84		0.7	0.13	0.02		0.01	0
145	2	0.49	0.85	1.2	0.19	0	0.01	0.02	0
146	2	0.34	0.72	1.11	0.19	0.01	0.03	0.01	0
144	2.5	0.49	0.76	1.35	0.24	0.01	0.03	0.03	0.01
143	3	0.26	0.43	0.88	0.11	0.01	0.01	0.02	0
147	4	1.42	2.09		0.28	0.03	0.05		0
62	5	1.36	0.76	1.14	0.40	0.10	0.08	0.05	0.03
61	24	0.89	0.78	0.68	0.23	0.07	0.09	0.09	0.03
77	24	0.37	0.43	0.94	0.09	0.02	0.06	0.03	0.01
78	29	0.30	0.39		0.21	0.02	0.03		0.01
60	33	0.98	1.12	1.28	0.27	0.07	0.11	0.10	
140	46	0.25	0.30	2.61	0.07	0.01	0.02	0.16	0.01
115	50	0.17	0.47	0.20	0.05	0.00	0.03	0.01	0.00
107	54	0.26			0.14	0.01			0.01
79	60	0.23	0.43	0.67	0.18	0.02	0.03	0.02	0.01
114	60	0.13	0.30	0.42	0.06	0.00	0.03	0.01	0.00
106	62	0.27			0.12	0.01			0.00
121	66	0.37	0.38	0.69	0.10	0.02	0.02	0.03	0.01
122	67	0.40	0.26	0.56	0.15	0.12	0.17	0.07	0.25
101	68	0.45	0.53	1.37	0.14	0.02	0.02	0.04	0.01
103	71	0.43	0.54	1.40	0.21	0.02	0.02	0.04	0.01
123	74	0.27	0.51	1.95	0.28	0.14	0.32	0.24	0.52
63	80	0.40	0.73	0.86	0.16	0.03	0.06	0.02	0.01
120	81	0.29	0.37	0.55	0.11	0.02	0.04	0.02	0.01
76	90	0.45	0.49	0.71	0.08	0.03	0.06	0.04	0.01
102	92	0.56	0.66	1.21	0.16	0.03	0.03	0.04	0.01
105	98	0.41	0.54		0.18	0.02	0.03		0.01
104	102	0.22	0.28		0.23	0.01	0.02		0.01
113	116	0.18	0.42	0.58	0.09	0.16	0.03	0.00	0.00
100	130	0.23	0.44	1.03	0.12	0.02	0.02	0.03	0.01
112	175	0.31	0.50	0.61	0.16	0.01	0.03	0.00	0.01
142	3 min offen	0.53	0.67	0.85	0.20	0.01	0.02	0.01	0.01

Kontrollen	x Acetat	sd Acetat	x Propionat	sd Propionat
Fuß	0.83	0.51	0.04	0.04
Adduktor	0.93	0.65	0.05	0.05
Kieme	1.14	0.76	0.05	0.04
Pallialwasser	0.11	0.04	0.01	0.00

Tab. A1: Übersicht zur Auswertung der Kalorimeterversuche

Integrale der Aktivitätsphasen und der Ruhephasen, Summen (Q<sub>ges</sub>) und Mittelwerte der zugehörigen Peaks (Q<sub>Peak</sub>), bzw. Schließzeiten (Q je Ruhephase)

		DIREKTE KALORIMETRIE										
Nr.	Versuch	Q aktiv ges [J/gTG]	Q <sub>ges</sub> / t <sub>offen</sub> [J/h/gTG]	Anzahl Aktivität- peaks	Q je Paek		Q passiv ges [J/gTG]	Q ges / t integ [J/h/gTG]	Q je Ruhephase		Q Ruhe / Q aktiv	
					x [J/h/gTG]	sd			x [J/h/gTG]	sd	Raten ges [%]	Raten je Peak [%]
1	nur K	876.4	8.09	11	7.87	0.53	44.1	0.95	0.9	0.21	11.7	11.4
2	nur R											
3	nur R											
4	nur K	116.7	12.55	5	13.77	3.23	55.14	0.72	0.7	0.28	5.7	5.1
5	nur K	215.7	14.13	6	15.71	3.51	32.3	0.71	0.95	0.45	5.0	6.0
6	nur K	1304.3	10.86	8	14.47	6.32	116.01	1.57	1.16	1.03	14.5	8.0
7	**K + CR	677.9	10.53	9	11.04	2.25	114.86	1.34	1.18	0.52	12.7	10.7
8	CR	396.3	11.07	1	11.07		14.9	1.52	1.52		13.7	13.7
9	CR	773.6	5.09	4	4.77	0.46	1.8	0.35	0.35	0	6.9	7.3
10	*CR	633.6	4.77	5	4.87	0.36	29.4	0.25	0.25	0.11	5.2	5.1
11	*CR	906.3	8.87	10	8.74	0.44	118.8	0.75	0.78	0.12	8.5	8.9
12	*CR 15°C	510.1	5.61	6	5.72	0.34	27.6	0.58	0.6	0.16	10.3	10.5
	CR 10°C	43.2	2.82	1	2.82		23.9	0.19	0.19	0.01	6.7	6.7
13	CR 15°C	806.1	6.08	10	6.4	0.59	22.2	0.66	0.67	0.05	10.9	10.5
	CR 10°C	312.3	3.51	2	3.47	0.06	11.9	0.47	0.47		13.4	13.5
14	nur K 15°C	4413.4	25.84	9	24.59	4.41	230.2	10.15	7.07	3.24	[39.3]	[28.8]
	nur K 10°C	584.8	9.85	6	9.89	0.77	35.4	1.74	1.74	0.43	[17.7]	[17.6]
15	CR 15°C	679.6	3.96	5	4.11	0.56	12.9	0.36	0.36	0.11	9.1	8.8
	CR 10°C	25.4	2.71	1	2.71		1.4	0.02	0.02	0.02	[0.7]	[0.7]
16	nur K	2399	14.29	13	14.23	1.2	204.6	2.5	2.45	0.52	17.5	17.2
17	CR 15°C	1025.3	7.7	15	7.55	0.86	78.5	0.66	0.71	0.17	8.6	9.4
	CR 20°C	1210.4	12.77	8	12.85	1.2	13.9	1.47	1.65	0.5	11.5	12.8
18	CR	42.8	2.46	4	2.68	0.64	91.7	0.32	0.4	0.12	13.0	14.9
19	CR	1858.5	4.09	15	4.15	0.36	47.3	0.35	0.39	0.11	8.6	9.4
20	CR	989	4.52	11	4.46	0.37	63.5	0.44	0.45	0.12	9.7	10.1
21	CR	1028.8	5.06	8	4.7	0.45	18	0.29	0.33	0.12	5.7	7.0
22	CR	333.2	2.24	5	2.49	0.55	18.2	0.14	0.2	0.08	6.3	8.0
23	CR	99.9	1.66	4	1.45	0.28	14.1	0.19	0.23	0.09	11.4	15.9
24	CR	513.9	2.87	10	3.03	0.69	22.3	0.21	0.19	0.13	7.3	6.3
25	CR	273.8	2.44	7	2.44	0.15	15.8	0.22	0.23	0.03	9.0	9.4
26	CR	394.8	1.76	17	1.81	0.22	30.1	0.14	0.14	0.06	8.0	7.7
27	CR	786.7	4.97	10	5.13	0.36	86.6	0.37	0.4	0.12	7.4	7.8
28	CR	966.9	4.71	7	5.05	0.61	73	0.46	0.47	0.05	9.8	9.3
29	CR	1324.8	6.33	12	6.72	1.02	59.1	0.38	0.53	0.21	6.0	7.9

Tab. A2: Übersicht zur Auswertung der Respirometrie (indirekte Kalorimetrie → alle Werte mit dem OE ( $450 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) in  $\text{J h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  umgerechnet)  
 Integrale der Aktivitätsphasen und der Ruhephasen, Summen ( $Q_{\text{ges}}$ ) und Mittelwerte der zugehörigen Peaks ( $Q_{\text{Peak}}$ ), bzw. Schließzeiten ( $Q$  je Ruhephase)

RESPIROMETRIE: INDIREKTE KALORIMETRIE												
Nr.	Versuch	Anzahl Aktivitätspeaks	Q aktiv ges [J/gTG]	Qges / t offen [J/h/gTG]	Q je Paek		Q passiv ges [J/gTG]	Q ges / t integ [J/h/gTG]	Q je Ruhephase		Q Ruhe / Q aktiv	
					x [J/h/gTG]	sd			x [J/h/gTG]	sd	Raten ges [%]	Raten je Peak [%]
1	nur K	11										
2	nur R		301.6	13.92	13.7	3.1	247.5	2.45	2.58	1.21	17.6	18.8
3	nur R		1139	12.5	12.32	2.76	97.36	2.59	2.05	2.29	20.7	16.6
4	nur K	5										
5	nur K	6										
6	nur K	8										
7	**K + CR	9	235.6	13.14	13.21	4.64	371.5	6.92	6.85	2.97	[52.7]	[51.9]
8	CR	1	363.1	9.8	9.8		17.93	1.85	1.85		18.9	18.9
9	CR	4	765.2	5.05	4.7	0.91	3.35	0.66	0.67	0.03	13.1	14.3
10	*CR	5	635.2	4.86	5.05	0.45	40.9	0.36	0.36	0.27	7.4	7.1
11	*CR	10	935.2	9.59	9.45	1.01	119.5	0.75	0.76	0.28	7.8	8.0
12	*CR 15°C	6	495.3	5.52	5.88	1.31	21.1	0.42	0.45	0.26	7.6	7.7
	CR 10°C	1	44.4	3.08	3.08		0.9	0.01	0.01		0.3	0.3
13	CR 15°C	10	778.8	6.14	6.65	0.76	13.1	0.42	0.42	0.13	6.8	6.3
	CR 10°C	2	280.3	3.08	3.23	0.28	5.1	0.2	0.2		6.5	6.2
14	nur K 15°C	9										
	nur K 10°C	6										
15	CR 15°C	5	702.8	4.07	4.31	0.69	10.6	0.34	0.33	0.21	8.4	7.7
	CR 10°C	1	26.5	2.7	2.7		6.7	0.09	0.09		3.3	3.3
16	nur K	13										
17	CR 15°C	15	1030.8	8.07	7.94	0.85	87.4	0.65	0.72	0.34	8.1	9.1
	CR 20°C	8	1241.2	12.97	13.08	0.99	10.5	0.83	0.93	0.26	6.4	7.1
18	CR	4	31.4	1.45	1.4	0.84	28.5	0.1	0.08	0.08	6.9	5.7
19	CR	15	1737.3	3.86	3.97	0.48	37.7	0.28	0.39	0.28	7.3	9.8
20	CR	11	982.7	4.72	4.7	0.48	67.9	0.53	0.49	0.24	11.2	10.4
21	CR	8	837.5	4.15	4.01	0.28	20.9	0.3	0.35	0.22	7.2	8.7
22	CR	5	357.8	2.42	2.68	0.64	11.5	0.09	0.27	0.25	3.7	10.1
23	CR	4	96	1.69	1.23	0.72	14.8	0.19	0.23	0.12	11.2	18.7
24	CR	10	409.3	2.79	3.22	1.47	18.3	0.24	0.25	0.11	8.6	7.8
25	CR	7	260.1	2.54	2.44	0.24	17.1	0.25	0.25	0.07	9.8	10.2
26	CR	17	345.2	1.62	1.62	0.33	[-3.3]	[-0.02]	[-0.01]	0.06	[-1.2]	[-0.6]
27	CR	10	788.5	5.57	5.86	0.92	212.4	0.78	0.73	0.23	14.0	12.5
28	CR	7	878	4.32	4.44	0.57	25	0.16	0.19	0.09	3.7	4.3
29	CR	12	1304	6.42	6.87	1.54	43.1	0.28	0.35	0.3	4.4	5.1

