

Pilotstudien zum biologischen Effektmonitoring in Küsten- und Binnengewässern Mecklenburg-Vorpommerns

Schriftenreihe des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie
Mecklenburg-Vorpommern 2009, Heft 2

Herausgeber:

Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern
Goldberger Straße 12
18273 Güstrow
Telefon: 03843/777- 0
Fax: 03843/777- 106
<http://www.lung.mv-regierung.de>
E-Mail: poststelle@lung.mv-regierung.de

Projektleitung, Koordination:

Dipl.-Biol. Mario von Weber

Bearbeitung:

Dr. J. Gercken, Prof. H. Sordyl
unter Mitarbeit von: B. Bernau, B. Göbel, M. Kreuzberg, Ch. Möller, I. Rogotzki,
H. Schulze, M. Sundt
IfAÖ - Institut für Angewandte Ökologie Forschungsgesellschaft mbH Broderstorf
bei Rostock
Alte Dorfstraße 11, 18184 Neu Broderstorf

Redaktion:

Dipl.-Biol. Mario von Weber
Dipl.-Chem. Dr. Alexander Bachor

Zu zitieren als:

Pilotstudien zum biologischen Effektmonitoring in Küsten- und Binnengewässern
Mecklenburg-Vorpommerns, Herausgeber: Landesamt für Umwelt, Naturschutz und
Geologie Mecklenburg-Vorpommern

Titelbilder:

oben: Aalmutter *Zoarces viviparus* (Foto: J. Gercken)
mittig: Miesmuschel *Mytilus edulis* (Foto: J. Gercken)
unten: Wattschnecke *Hydrobia ulvae* (Foto: J. Gercken)

Rückbild:

Strelasund bei Stralsund (Foto: M. von Weber)

Herstellung und Druck:

Altstadt-Druck GmbH Rostock

Einzelpreis: 10,00 EUR

ISSN 1439-9083

Diese Druckschrift wird im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern herausgegeben. Sie darf weder von Parteien noch von deren Kandidaten und Helfern während des Wahlkampfes zum Zwecke der Wahlwerbung verwandt werden. Dies gilt für alle Wahlen. Missbräuchlich ist insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen, an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken oder Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist auch die Weitergabe an Dritte zur Verwendung bei Wahlwerbung. Auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl darf die vorliegende Druckschrift nicht so verwandt werden, dass dies als Parteinahme des Herausgebers zu Gunsten einzelner politischer Gruppen verstanden werden kann. Diese Beschränkungen gelten unabhängig vom Vertriebsweg, also unabhängig davon, auf welchem Wege und in welcher Anzahl diese Druckschrift dem Empfänger zugegangen ist.

Güstrow, im September 2009

**Pilotstudien zum
biologischen Effektmonitoring
in Küsten- und Binnengewässern
Mecklenburg-Vorpommerns**

■ VORWORT

Küstengewässer gehören zu den am stärksten belasteten Regionen der Erde. Die Küstenzonen sind weltweit einem enormen Bevölkerungs- und Nutzungsdruck ausgesetzt. Bereits jetzt lebt gut die Hälfte der Erdbevölkerung in einem ca. 60 km breiten Streifen entlang der Küsten, bis zum Jahr 2030 gehen Experten von etwa zwei Dritteln aus. Das sind geschätzte 5,5 Mrd. Menschen. Die dadurch hervorgerufenen Probleme bedürfen der besonderen Aufmerksamkeit, um dieses gefährdete und besonders wertvolle Ökosystem zu schützen und weiterhin nachhaltig nutzen zu können. Speziell für Mecklenburg-Vorpommern hat die Küstenzone als Naturraum eine besondere Bedeutung für die maritime Industrie und Wirtschaft, für Tourismus und Erholung und nicht zuletzt für die Fischerei.

Mit der Verabschiedung des Ostseeaktionsplanes (Baltic Sea Action Plan) der HELCOM im November 2007 sowie dem Inkrafttreten der EG-Wasserrahmenrichtlinie im Dezember 2000 und der EG-Meeresstrategie-Rahmenrichtlinie im Juni 2008 mit nachhaltigen Umweltzielen zur Erhaltung der Meeresumwelt haben die Anforderungen an die Umweltüberwachung im Ostseeraum deutlich zugenommen. So sind neben den bisher überwachten physikalischen und chemischen Messgrößen nunmehr auch biologische Parameter sowie eine erhöhte Zahl von Schadstoffen zu messen. Mit den stark gestiegenen Überwachungsanforderungen haben auch die Berichtspflichten und die Anforderungen an die Datendienste erheblich an Umfang zugenommen.

Das Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern (LUNG) ist als technisch-wissenschaftliche obere Fachbehörde für die Überwachung der Gewässer zuständig.

Das Küstengewässer-Monitoring ist dabei eine landeshoheitliche Aufgabe mit dem Ziel, rechtzeitig und so präzise wie möglich Veränderungen der Meeresumwelt zu erkennen, ob natürlich oder von Menschen verursacht. Es ist so die Grundlage für eine aktuelle Einschätzung und Prognose des Zustandes der Küstengewässer und damit für eine wissenschaftlich fundierte Beratung der Landesregierung, um rechtzeitig geeignete Maßnahmen zum Schutz und zur Verbesserung der Küstengewässer einleiten zu können.

Dafür bedarf es geeigneter Werkzeuge. Mit den Methoden des biologischen Effektmonitorings - als ein Bestandteil eines integrierten Monitoringansatzes - lassen sich belastbare Ergebnisse zum Gesundheitszustand ausgewählter Indikatororganismen verschiedener trophischer Ebenen eines Ökosystems komprimiert darstellen. Deshalb hat sich das LUNG bereits 2001 auf dem 7. Gewässersymposium unter Beteiligung namhafter Wissenschaftler und Behördenvertreter mit den Perspektiven eines integrierten biologischen Effektmonitoring als Instrument der Gewässerüberwachung auseinandergesetzt.

Die in diesem Heft umfassend dokumentierten Pilotstudien aus den Jahren 1998 bis 2003 zum Effektmonitoring in den mecklenburg-vorpommerschen Küsten- und Binnengewässern sollen die Ergebnisse einer interessierten Öffentlichkeit zugänglich machen und die Grundlagen für eine Anpassung der Gewässerüberwachung an neue nationale und internationale Anforderungen schaffen.

Dr. Harald Stegemann
Direktor des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie

■	INHALTSVERZEICHNIS	
I	Veranlassung	10
II	Thematische Einführung	14
II.1	Biologisches Effektmonitoring und Biomarker-Konzept	14
II.2	Invertebraten und Fische als Bioindikatoren	16
II.2.1	Mollusken als Bioindikatoren	16
II.2.2	Crustaceen als Bioindikatoren	18
II.2.3	Fische als Bioindikatoren	18
II.3	Zur Bedeutung der verwendeten Untersuchungsparameter	21
II.3.1	Reproduktionsstörungen bei marinen Vorderkiemerschnecken	21
II.3.2	Metallothionein-Induktion	22
II.3.3	Acetylcholinesterase-Hemmung	23
II.3.4	Lipidperoxidation	24
II.3.5	Lysosomenstabilität	25
II.3.6	Leber-Histopathologie	25
II.3.7	Reproduktionsstörungen bei der Aalmutter	26
III	Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Pilotstudien 1998 - 2003	30
III.1	Veranlassung	30
III.2	Material und Methoden	31
III.2.1	Probenahmestationen und Beprobung der Bioindikatoren	31
III.2.2	Behandlung der Bioindikator-Proben	32
III.2.3	Reproduktionstörungen bei <i>Hydrobia ulvae</i> (Imposex)	34
III.2.4	Untersuchungen an der Miesmuschel	35
III.2.4.1	<i>Konditionsindex</i>	35
III.2.4.2	<i>Metallothionein-Bestimmung</i>	35
III.2.4.3	<i>Acetylcholinesterase-Aktivität</i>	35
III.2.4.4	<i>Lipidperoxidation</i>	36
III.2.4.5	<i>Lysosomenstabilität</i>	36
III.2.5	Untersuchungen an der Aalmutter	37
III.2.5.1	<i>Biometrische Charakterisierung, Organindizes und Parasitierung</i>	37
III.2.5.2	<i>Histologische Untersuchung der Leber</i>	37
III.2.5.3	<i>Histologischer Nachweis von Intersex im Hoden</i>	37
III.2.5.4	<i>Erfassung von Degenerationen bei der Eientwicklung (Atresie)</i>	37
III.2.5.5	<i>Reproduktionsstörungen bei der Brut trächtiger Weibchen</i>	38
III.2.5.5.1	<i>Mortalität und Missbildungen bei den Larven</i>	38
III.2.5.5.2	<i>Wachstumshemmung der Larven</i>	38
III.2.6	Statistik und Darstellung der Ergebnisse	38
III.3	TBT-Effektmonitoring mit der Wattschnecke <i>Hydrobia ulvae</i>	38
III.4	Biomarkeruntersuchungen an der Miesmuschel	43
III.4.1	Kondition der Miesmuschel-Proben	43
III.4.2	Metallothionein-Konzentration	43
III.4.3	Acetylcholinesterase-Aktivität	46
III.4.4	Lipidperoxidation	48
III.4.5	Lysosomenstabilität	48

■	INHALTSVERZEICHNIS	
III.5	Untersuchungen an der Aalmutter	52
III.5.1	Biometrische Daten und Organindizes	52
III.5.2	Parasitierung	55
III.5.3	Histopathologische Untersuchung der Leber	58
III.5.4	Störung der Gonadenentwicklung	62
III.5.4.1	<i>Intersex bei der männlichen Aalmutter</i>	62
III.5.4.2	<i>Ovar-Degenerationen bei weiblichen Aalmuttern</i>	66
III.5.5	Reproduktionsstörungen bei trächtigen Aalmuttern	68
III.5.5.1	<i>Missbildungen bei entwickelten Larven</i>	68
III.5.5.2	<i>Mortalität von normal entwickelten Larven</i>	72
III.5.5.3	<i>Ausfall der Brut</i>	72
III.5.5.4	<i>Hemmung des Larvenwachstums</i>	72
III.6	Befunde des Effektmonitorings vor dem Hintergrund der Schadstoffbelastung von Sediment und Biota	76
III.7	Schlussfolgerungen und Empfehlungen	81
III.7.1	TBT-Effektmonitoring mit <i>Hydrobia ulvae</i>	81
III.7.2	Untersuchungen an der Miesmuschel	81
III.7.3	Untersuchungen an der Aalmutter	83
III.7.4	Empfehlung für ein Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern und Ausblick	85
III.8	Tabellenanhang – Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern	90
IV	Biologische Effektstudien an Organismen aus Binnengewässern und dem Oderästuar	106
IV.1	Integriertes Monitoring an der Dreikantmuschel aus Gewässern in Mecklenburg-Vorpommern	106
IV.1.1	Veranlassung und Umfang der Untersuchungen	106
IV.1.2	Probenahmestationen und Untersuchungsparameter	107
IV.1.3	Ergebnisse und Bewertung	108
IV.2	Untersuchung von Bioindikatoren am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd und im Kraaker Mühlenbach	109
IV.2.1	Veranlassung und Umfang der Untersuchungen	109
IV.2.2	Probenahmestationen und Untersuchungsparameter	110
IV.2.3	Ergebnisse und Bewertung	110
IV.3	Untersuchung von Bioindikatoren aus Uecker und Randow	113
IV.3.1	Veranlassung und Umfang der Untersuchungen	113
IV.3.2	Probenahmestationen und Untersuchungsparameter	114
IV.3.3	Ergebnisse und Bewertung	115
V	Literaturverzeichnis	120

■ ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A		I	
AChE	Acetylcholinesterase	ICES	Internationaler Rat für Meeresforschung, Kopenhagen
A.demin.	demineralisiertes Wasser	IfAÖ	Institut für Angewandte Ökologie Forschungsgesellschaft mbH, Broderstorf
B		J	
BB	Berliner-Blau-Färbung	JAMP	Joint Assessment and Monitoring Programme (OSPAR-Monitoring-Programm)
BEEP	Biological Effects of Environmental Pollution in Marine Coastal Ecosystems (EU-Projekt)		
BEQUALM	Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programms (EU-Projekt)		
BFA	Bundesforschungsanstalt für Fischerei Hamburg	K	
BfG	Bundesanstalt für Gewässerkunde Koblenz	KI	Konditionsindex
BLMP	Bund/Länder-Messprogramm	L	
C		LANU	Landesamt für Natur und Umwelt des Landes Schleswig-Holstein
CEMP	Coordinated Environmental Monitoring Programme (OSPAR-Monitoring-Programm)	LSI	Lebersomatischer Index
COMBINE	Cooperative Monitoring in the Baltic Sea (siehe HELCOM)	LUNG	Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern
D		M	
DBT	Dibutylzinn	MBT	Monobutylzinn
DDT	Dichlor-Diphenyl-Trichlorethan	MDA	Malondialdehyd
E		MDD	Mitteldarmdrüse
EDS	Endocrine Disrupters: Substanzen mit hormoneller Aktivität	MT	Metallothionein
EEA	Europäische Umweltagentur	N	
ESI	Embryosomatischer Index	NRC	National Research Council
EU	Europäische Union	NRR	Neutralrot-Retentions-Assay
G		O	
GSI	Gonadosomatischer Index	OSPAR	Oslo-Paris Abkommen: Schutz der Meeresumwelt von Nordost-Atlantik und Nordsee
H		P	
HELCOM	Helsinki Kommission: Schutz der Meeresumwelt des Ostseegebietes, COMBINE: Schwerpunkte: Eutrophierung und Kontamination und ihre Effekte	PAK	Polyzyklische Aromatische Kohlenwasserstoffe
		PCB	Polychlorierte Biphenyle
		R	
		ROS	Reaktive Sauerstoffspezies

■ ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**S**

StAUN Staatliches Amt für Umwelt und Natur

T

TBT Tributylzinn

TOSC Total Oxygen Scavenging Capacity

U

UBA Umweltbundesamt

UNEP United Nations Environment Programme

UPB Umweltprobenbank des Bundes

V

VDSI Vas deferens-Sequenz-Index

W

WRRL Europäische Wasserrahmenrichtlinie

I

Veranlassung

■ VERANLASSUNG

Weltweit zählen die Küstenregionen zu den am stärksten anthropogen beeinflussten Lebensräumen. Es ist zu erwarten, dass die Nutzungsansprüche durch Schiffsverkehr, Tourismus, Rohstoff- und Energiegewinnung sowie Fischerei in Zukunft noch zunehmen werden. Als Folge davon ist das küstennahe Ökosystem, neben weiteren Stressfaktoren wie beispielsweise der Eutrophierung, einer ständigen Belastung mit Schadstoffen ausgesetzt. Als Quellen der Schadstoffbelastung sind u.a. Flüsse, Abwassereinleitungen, Verklappung von Baggergut und Einträge über die Atmosphäre zu nennen. Zu den bereits seit langem bekannten „klassischen Schadstoffen“ zählen Schwermetalle, chlorierte und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (Pestizide, Ölverschmutzung) und zinnorganische Substanzen (z.B. bewuchshemmende Unterwasseranstriche). Im Verlauf der 1990er-Jahre wurden weitere „neue Problemstoffe“ wie Inhaltsstoffe von Körperpflegemitteln, Pharmazeutika und eine Vielzahl von hormonell wirksamen Substanzen aus diversen chemischen Stoffklassen als Verursacher von biologisch schädlichen Effekten identifiziert.

Wie in anderen Meeresgebieten wurden auch beim Umweltmonitoring in der Ostsee anfangs vorwiegend hydrographische und hydrochemische sowie produktionsbiologische Parameter untersucht. Erst in einer späteren Phase wurde die Schadstoffproblematik intensiver berücksichtigt, indem zusätzlich ausgewählte Schadstoffe in Wasser, Sediment und Biota erfasst wurden. Vorrangiges Ziel dieser periodisch und langfristig durchgeführten Überwachung ist das Erkennen von räumlichen Verteilungsmustern und zeitlichen Trends der anthropogen bedingten Umweltbelastung.

International und national wird beim Schadstoffmonitoring an Organismen immer schwerpunktmäßig eine chemisch-analytische Bestimmung von Schadstoffkonzentrationen (Schadstoffkonzentrationsmonitoring) vorgenommen. Dieser Ansatz ist aber bereits seit geraumer Zeit in die Kritik geraten, da die Messung von wenigen Einzelsubstanzen allein nicht genügt, um die Qualität bzw. den „Gesundheitszustand“ des marinen

Ökosystems zu bewerten. Grundsätzlich lässt sich anhand weniger Rückstandsdaten keine Bewertung der biologischen Verfügbarkeit und der Wirkung eines in Wirklichkeit vorliegenden komplexen Schadstoffgemisches vornehmen. Das neuere Konzept des biologischen Schadstoffmonitorings zielt darauf ab, die Wirkungen bzw. Effekte von Schadstoffen auf Organismen zu erfassen. Es basiert auf der Prämisse, dass die Kriterien, die an die „Gesundheit“ eines Ökosystem gestellt werden, in erster Linie biologischer Natur sind, selbst wenn sie gemeinhin in chemischen Parametern ausgedrückt werden.

Verschiedene für den Meeresschutz verantwortliche Institutionen und Abkommen haben daraufhin seit gut einem Jahrzehnt damit begonnen, integrierte Monitoringprogramme, die sowohl eine chemische Analytik als auch biologische Effektuntersuchungen umfassen, zu entwickeln. Zu nennen sind hier beispielsweise der Internationale Rat für Meeresforschung (ICES), die Europäische Umweltagentur (EEA), der Mediterranean Action Plan (UNEP) sowie die OSPAR- und HELCOM-Abkommen zur Überwachung des Nordost-Atlantik und der Ostsee.

Vor diesem Hintergrund wurde das Institut für Angewandte Ökologie GmbH (IfAÖ) durch das Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie (LUNG) im Jahr 1998 erstmalig mit der Durchführung einer Pilotstudie „Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern“ betraut. Dieser ersten Untersuchung folgten weitere in den darauf folgenden Jahren.

Sowohl auf Bundes- als auch auf Länderebene wird derzeit intensiv daran gearbeitet, Methoden des biologischen Effektmonitorings in den Küstengewässern und auf der Hohen See in Nord- und Ostsee zu etablieren. Im gemeinsamen Bund/Länder-Messprogramm zur Überwachung der Meeresumwelt von Nord- und Ostsee (BLMP) ist nach einer umfassenden Neuorganisation (BLMP+), die im Jahr 2008 ihren Abschluss fand, eine Arbeitsgruppe eingerichtet worden, die sich speziell mit dem Thema Schadstoffe und Bioeffekte auseinandersetzt. Das LUNG hat dabei intensiv daran mit-

gewirkt, dass in dem Gesamtkonzept eines nachhaltigen Monitoringprogramms, welches allen nationalen und internationalen Anforderungen genügt, ein integriertes Schadstoff- und Effektmonitoring zentraler Bestandteil wird.

In dem vorliegenden Bericht wurde eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse aller Effektmonitoring-Pilotstudien unternommen. Nach der zusammenfassenden Darstellung des Effekt-

monitorings in den Küstengewässern im Auftrag des LUNG folgen Kurzpräsentationen der Befunde von weiteren Studien in Binnengewässern im Auftrag der StÄUN Schwerin und Ueckermünde und im Oderästuar im Auftrag des LUNG. Die diesem zusammenfassenden Bericht zu Grunde liegenden Einzelberichte können beim LUNG bzw. den StÄUN Schwerin und Ueckermünde angefordert werden.



II

Thematische Einführung

■ THEMATISCHE EINFÜHRUNG

II.1 BIOLOGISCHES EFFEKTMONITORING UND BIOMARKER-KONZEPT

Wie bereits ausgeführt, erfolgt die Überwachung der Schadstoffbelastung im Rahmen der Gewässergüteüberwachung immer noch vorwiegend durch eine chemische Analytik ausgewählter Schadstoffe in Wasser, Sediment und Biota. Dabei ist es evident, dass die ökotoxikologische Relevanz eines Schadstoffes nicht auf dessen bloßen Anwesenheit, sondern auf seinen biologischen Wirkungen beruht. Potenziell nachteilige Effekte müssen auch nicht immer vom analysierten Stoff selbst ausgehen, vielmehr sind häufig die im Organismus gebildeten Metaboliten toxischer als die Ausgangssubstanz. Unberücksichtigt bleibt bei der chemischen Analytik auch die Interaktion von Schadstoffen untereinander sowie die *in natura* existierenden Wechselwirkungen mit Umweltfaktoren, die wesentlich die Bioverfügbarkeit eines Schadstoffes bestimmen (z.B. Salinität, partikuläre Substanz). Schließlich gerät das traditionelle chemische Monitoring allein dadurch an seine Grenzen, dass bei immer mehr vom Menschen produzierten Stoffen eine potenziell ökotoxikologische Relevanz erkannt wird (z.B. Pharmazeutika, Körperpflegemittel). Letztendlich ist der Umfang der eigentlich zu analysierenden Stoffe so groß, dass die analytischen Kapazitäten und das finanzielle Budget bei weitem überfordert sind.

Die Erkenntnis der begrenzten Aussagekraft eines alleinigen Schadstoffkonzentrations-monitorings führte zum Konzept des biologischen Effektmonitorings, dessen Ziel es ist, die Reaktionen von Biota auf Stressfaktoren in ihrer Umwelt zu erfassen. Dabei können die Stressfaktoren physikalischer, chemischer und biologischer Natur sein. In der Regel steht aber der Nachweis von Schadstoffwirkungen im Mittelpunkt von biologischen Effektuntersuchungen. Chemische Schadstoffbestimmungen werden dadurch aber nicht überflüssig. Ein chemisches Monitoring wird weiterhin benötigt, um räumliche und zeitliche Trends bezüglich der Belastung mit ausgewählten Kontaminanten zu ermitteln oder auch um Schadstoffe in Nahrungsmitteln zu messen, von denen eine Gefährdung der menschlichen Gesundheit ausgeht. Außerdem können analytische Daten wertvolle Informationen zur Interpretation biologischer Befunde liefern. Insofern sollten biologische Ef-

fektuntersuchungen und die chemische Analytik ausgewählter Schadstoffe in Biota gemeinsam Bestandteil eines „Integrierten Biomonitorings“ sein, da sie unterschiedliche, einander ergänzende Resultate liefern.

Bioverfügbarkeit und Exposition, d.h., die Belastung eines Organismus mit einer bestimmten Konzentration (Dosis) eines Stoffes über einen gewissen Zeitraum, sind von wesentlicher Bedeutung dafür, ob dem Körper eine Schädigung zugefügt wird. In unseren aquatischen Lebensräumen sind die Organismen zumeist einer chronischen Belastungssituation ausgesetzt, d.h. Schadstoffe wirken in geringen Dosen über eine längere Zeit. Zunächst reagiert eine schädigende Chemikalie auf der molekularen und biochemischen Ebene mit Strukturen wie z.B. Enzymen, Membranen oder der DNA. Diese Interaktion kann zu Effekten auf der höheren biologischen Ebene der Gewebe und Organe führen und sich letztendlich in Beeinträchtigungen von Leistungen beim Individuum manifestieren. Dies sind beispielsweise chronische Beeinträchtigungen von Immunsystem, Wachstum und Entwicklung sowie der Fortpflanzung. Derartige Schadstoffeffekte können sich auch potenziell bis auf das Niveau von Populationen und Lebensgemeinschaften auswirken (Fent, 1998) (Abb. 1). Es führt aber nicht jeder Kontakt mit einem schädlichen Stoff auch zu einem nachweisbaren Effekt. Mit Hilfe von Schutz- und Adaptationsmechanismen versucht der Organismus zunächst seine Homöostase aufrechtzuerhalten. Erst wenn Kompensationsmechanismen überfordert sind, tritt eine Schädigung ein (Adams, 2002). Das Paradigma der stufenweisen Manifestation von Schadstoffeffekten auf verschiedenen Ebenen der biologischen Organisation ist die konzeptionelle Basis für das biologische Effektmonitoring und die damit verbundene Anwendung von sog. „Biomarkern“. Biomarker sind definierte biologische Endpunkte, die im Rahmen eines Effektmonitorings als Indikatoren von Stress- und Schadstoffeffekten untersucht werden. Beim Monitoring erfolgt die Auswahl der Biomarker im Allgemeinen so, dass Schadstoffeffekte auf verschiedenen biologischen Organisationsebenen erfasst werden (Abb. 1).

Das National Research Council der USA definiert Biomarker als „auf biochemischer und zellulärer Ebene messbare Indikatoren, die Hinweise auf Einwirkungen von Schadstoffen geben“ (NRC, 1999). Nach der weiter gefassten Definition von Depledge et al. (1995) sind ökotoxikologische Biomarker biochemische, zelluläre, physiologische oder verhaltensmäßige Veränderungen, die in einer Körperflüssigkeit, einem Gewebe oder auf dem Niveau des Individuums gemessen werden können und eine Evidenz für eine Exposition und/oder einen Effekt eines oder mehrerer Schadstoffe darstellen. Im vorliegenden Bericht werden unter dem Begriff „Biomarker“ Endpunkte betrachtet, die auf allen Ebenen der biologischen Organisation auf Stressfaktoren reagieren.

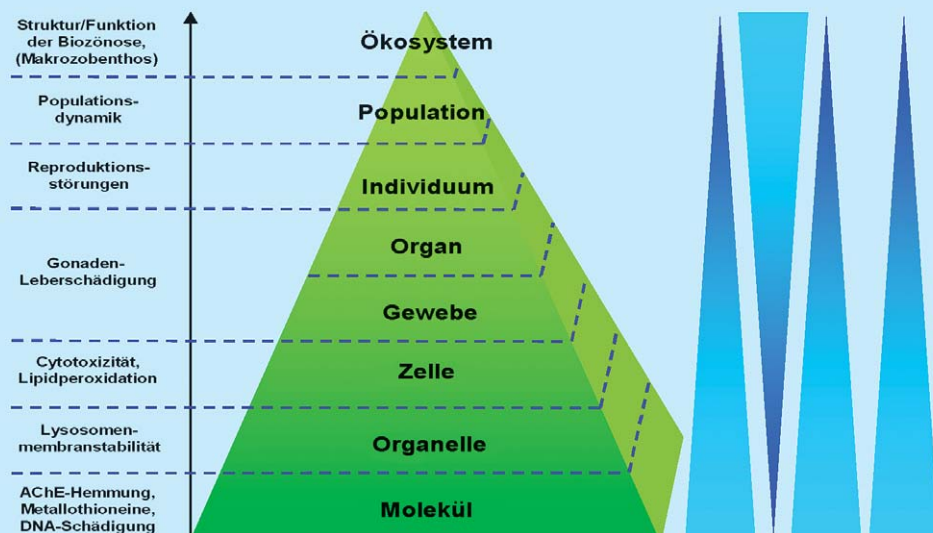
„Schnittstelle“ zwischen der chemischen Umweltanalytik und Parametern auf der Ökosystemebene ein.

Die Literatur über die verschiedenen Einsatzbereiche von Biomarkern ist dementsprechend ständig im Wachsen begriffen. Als Beispiele seien genannt:

- die besondere Eignung von Fischen bei der Anwendung von Bioindikatoren zur Bewertung von Schadstoffeffekten in der Umwelt (Adams, 2002; van der Oost, 2003)
- das Spektrum der beim aquatischen Monitoring verwendeten Biomarker (Adams, 2005; Lam & Wu, 2003; Sherry, 2003)

■ Abb. 1

Ausbildung von Stress- und Schadstoffeffekten auf verschiedenen Ebenen der biologischen Organisation und im zeitlichen Verlauf. (Abb. modifiziert nach Burkhardt-Holm, 2001)



Biomarker lassen sich je nach Reaktion des Organismus auf eine Schadstoffexposition in verschiedene Kategorien einteilen. *Expositionsbiomarker* weisen nach, dass der Organismus Schadstoffen ausgesetzt war und diese in den Körper aufgenommen hat. *Effektbiomarker* können anzeigen, ob bereits eine Schädigung eingetreten ist. Bei Effektuntersuchungen sollten immer mehrere Biomarker auf verschiedenen biologischen Ebenen betrachtet werden, da nur so eine ökotoxikologische Risikoabschätzung erfolgen kann.

Weltweit ist ein Trend zu einem mehr ökosystemaren Ansatz beim Monitoring der anthropogenen Umweltbelastung zu verzeichnen. Biomarker nehmen dabei eine wichtige Funktion als

- die wichtige Rolle, die Biomarkern im Rahmen einer integrierten Umweltüberwachung bzw. Risikoanalyse spielen (Hagger et al., 2006; Handy et al., 2003; Moore et al., 2004)
- der notwendige Einsatz von Biomarkern bei der Umsetzung von Richtlinien bzw. Verordnungen der EU wie z.B. der Wasserrahmenrichtlinie und der Natura-2000-Richtlinie (Apitz et al., 2006; Hagger et al., 2006) und bei der Erfüllung der mit den OSPAR- und HELCOM-Übereinkommen eingegangenen Verpflichtungen (Hagger et al., 2006; ICES, 2004a; ICES, 2006).

II.2 INVERTEBRATEN UND FISCHE ALS BIOINDIKATOREN

Beim Effektmonitoring werden ausgewählte Testorganismen als Bioindikatoren für Stress- und Schadstoffeffekte untersucht. Für das im vorliegenden Bericht vorgestellte Monitoring in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern waren dies die Wattschnecke (*Hydrobia ulvae*), die Miesmuschel (*Mytilus edulis*) und die Aalmutter (*Zoarces viviparus*). Weitere Bioindikatoren, die bei Effektstudien in Binnengewässern untersucht wurden, werden im Folgenden ebenfalls kurz vorgestellt (Tab.1).

II.2.1 Mollusken als Bioindikatoren

Beim marinen biologischen Monitoring sind Muscheln die am häufigsten untersuchten wirbellosen Bioindikatoren. Wesentliche Gründe hierfür sind (Gercken, 1996; Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2002; Viarengo & Canesi 1991):

- Muscheln kommen geographisch weit verbreitet vor. Sie leben in Küstengewässern, Ästuaren und Brackwasser, also in Gebieten, in denen die anthropogene Belastung besonders hoch ist.
- Sie besitzen eine hohe ökologische Relevanz im Ökosystem, so dass Schadstoffeffekte potenziell einen negativen Einfluss auf die gesamte Lebensgemeinschaft haben können.
- Aufgrund ihrer sessilen Lebensweise integrieren Muscheln die Schadstoffbelastung in ihrem Lebensraum über die Zeit.
- Als filtrierende Organismen können sie Schadstoffe, die im Wasser nur in Spuren vorkommen, um mehrere Größenordnungen bioakkumulieren. Ihre geringe Aktivität von Enzymsystemen zur Metabolisierung organischer Xenobiotika führt dazu, dass sich insbesondere organische Spurenstoffe stark im Weichkörper anreichern.
- Muscheln bilden i.d.R. stabile Populationen und stehen ganzjährig und in ausreichender Anzahl für Beprobungen zur Verfügung, wodurch auch Trendanalysen möglich sind.

- Viele Muschelarten lassen sich, unabhängig vom tatsächlichen Vorkommen, an frei gewählten Lokalitäten exponieren (aktives Monitoring). Dadurch wird ein gezieltes Biomonitoring z.B. in Verklappungsgebieten oder bei der Einleiterkontrolle möglich.

Diese vorteilhaften bioindikatorischen Eigenschaften waren Mitte der siebziger Jahre Anlass für das „Mussel-Watch“-Programm, mit dem erstmalig Muscheln in großem Umfang für ein Schadstoffmonitoring in den Küstengewässern der USA genutzt wurden (Goldberg et al., 1978). Andere Länder übernahmen das Konzept und etablierten eigene Mussel-Watch-Programme.

In den deutschen Küstengewässern von Nord- und Ostsee wird die Miesmuschel *Mytilus edulis* für das biologische Monitoring verwendet. Neben den Schadstoffmessungen im Rahmen des BLMP (2005) führen u.a. die Umweltprobenbank des Bundes (UBA, Berlin) und die BFG (Koblenz) chemische Rückstandsuntersuchungen an *Mytilus edulis* durch.

Die Miesmuschel ist ein dominierendes Element der Benthoslebensgemeinschaft in den Küstengewässern Mecklenburg-Vorpommerns. Obwohl sie bevorzugt Hartsubstrate besiedelt, kommt sie auf sandigem Boden, angeheftet an Steinen und Schill oder auch lose als Muschel-Aggregate vor. Auch auf schlickigen Böden der stark eutrophierten inneren Küstengewässer ist *M. edulis* zu finden. Der Reproduktionszyklus der getrenntgeschlechtlichen Tiere beginnt mit der Entwicklung des Gonadengewebes im Spätherbst und Winter. Mit dem Beginn der Frühjahrsplanktonblüte findet dann eine schnelle, abschließende Reifung der Gameten statt. In Abhängigkeit von Temperatur und Nahrungsangebot erstreckt sich die Laichzeit auf den Zeitraum April bis Mitte Juni, wobei die Hauptlaichaktivität zu Beginn der Laichzeit auftritt (Gercken & Sordyl, 1999; Gercken & Sordyl, 2003).

Die Kenntnis des Reproduktionszyklus ist für das biologische Monitoring von besonderer Bedeutung, da Beprobungen für chemische Analysen und Effektuntersuchungen vorzugsweise in einer

Zeit relativer physiologischer Ruhe bzw. Stabilität durchgeführt werden sollten. Aus diesem Grund wurden die Probenahmen der im vorliegenden Bericht vorgestellten Effektmonitoring-Studien im Herbst (selten im Januar) durchgeführt (Gercken & Sordyl, 1999; Gercken & Sordyl; 2003) [Anhang Tab. 6].

An dieser Stelle sei auch erwähnt, dass bezüglich der Artzugehörigkeit von *Mytilus* spp. in der westlichen Ostsee unterschiedliche Auffassungen bestehen. Nach Gosling (1992) wird die eigentliche Ostsee von *M. trossulus* besiedelt, während in der westlichen Ostsee eine Übergangszone existiert, wo die Verbreitungsgrenzen von *M. edulis* und *M. trossulus* nicht genau bekannt sind. An der deutschen Ostseeküste ist die Zuordnung zur Art *Mytilus edulis* am gebräuchlichsten. Dieser Gewohnheit wird im vorliegenden Bericht gefolgt und nur der Artnamen *M. edulis* verwendet.

Die Frage der Artzugehörigkeit von *Mytilus* spp. ist aber von grundsätzlicher Bedeutung für das biologische Monitoring, da verschiedene Arten oder Hybride bekanntlich unterschiedlich sensibel auf anthropogenen Umweltstress reagieren können. Dass die Existenz unterschiedlicher *Mytilus*-Arten in der westlichen Ostsee anzunehmen ist, zeigen genetische Untersuchungen (Schröder, 1999; Smietanka et al., 2004).

Für das Effektmonitoring in Binnengewässern und in Küstengewässern mit sehr geringer Salinität wird häufig die Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*) als Bioindikator gewählt. Sie stellt gewissermaßen das limnische Pendant zur marinen Miesmuschel dar. Bereits zu Beginn der 1990er Jahre wurde in der Elbe ein chemisches Schadstoffmonitoring mit *D. polymorpha* durchgeführt (ARGE Elbe, 1993). Von der Umweltprobenbank des Bundes wird die Dreikantmuschel ebenfalls als Bioindikator der Schadstoffbelastung in Bin-

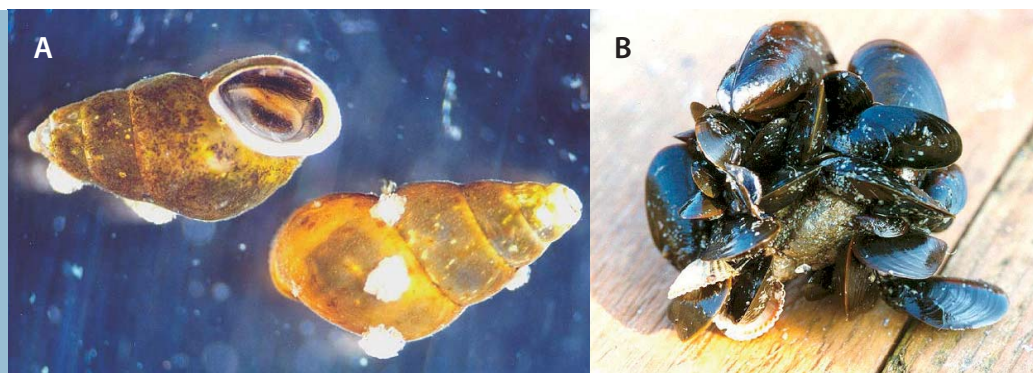
nengewässern genutzt. In Mecklenburg-Vorpommern erfolgten in den Jahren 2000 und 2001 zwei integrierte Feldstudien mit der Dreikantmuschel, die sowohl Schadstoffmessungen als auch biologische Effektuntersuchungen einschlossen (Sordyl & Gercken, 2001 und 2002). Auf Ergebnisse dieser Untersuchungen wird am Ende dieses Berichtes eingegangen. Als weitere Beispiele für ein biologisches Effektmonitoring bzw. ein integriertes Effekt- und Schadstoffmonitoring an *D. polymorpha* können Feldstudien am St. Lorenzstrom in Kanada (Lafontaine et al., 2000) und im Ästuar der Seine in Frankreich angeführt werden (Minier et al., 2006).

Neben Muscheln bilden die Schnecken die zweite große taxonomische Gruppe innerhalb der Mollusken. Für das Monitoring mariner Lebensräume spielen sie zur Zeit jedoch keine so bedeutende Rolle. Eine Ausnahme hiervon sind bestimmte Vertreter der Vorderkiemerschnecken (Prosobranchier). Sie sind sensible Bioindikatoren für die Anwesenheit von TBT und anderer zinnorganischer Substanzen in einem Lebensraum (Oehlmann et al., 2007).

Für das biologische TBT-Monitoring in den Küstengewässern Mecklenburg-Vorpommerns wurde die Wattschnecke (*Hydrobia ulvae*) als Bioindikator gewählt. Weibliche Tiere entwickeln bereits in Anwesenheit sehr geringer Schadstoffkonzentrationen eine typische pathologische Fehlbildung ihres Geschlechtssystems, die als „Imposex“ bezeichnet wird (Schulte-Oehlmann et al., 1997). Dieses Phänomen wird an späterer Stelle ausführlicher beschrieben (II.3.1). Andere Schneckenarten, die für das TBT-Monitoring in der Nordsee oder salzhaltigeren Bereichen der Ostsee (Schleswig-Holstein, Dänemark) verwendet werden, kommen in den gering salinen Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern nicht vor.

■ Abb. 2:

Wattschnecken (*Hydrobia ulvae*) [A] und Miesmuscheln (*Mytilus edulis*) [B]



II.2.2 Crustaceen als Bioindikatoren

Unter den für das hier vorgestellte marine Effektmonitoring ausgewählten Bioindikatoren befindet sich kein Vertreter aus der Klasse der Krebstiere. Dennoch sollen die Krebse hier Erwähnung finden, da sie möglicherweise zukünftig eine größere Rolle beim Effektmonitoring spielen werden und auch bereits in Mecklenburg-Vorpommern bei der biologischen Bewertung von Fließgewässern eingesetzt wurden (Gercken, 2003a; Gercken & Sordyl, 2000; Gercken & Sordyl, 2001a).

Im Vergleich zu Muscheln werden Krebse deutlich seltener für die Untersuchung von „typischen“ Biomarkern genutzt. Andererseits fungieren sie schon seit längerem als Bioindikatoren bei der Durchführung von Biotests zur Bewertung der Schadstoffbelastung von Sedimenten (Corophien-Test) oder als Frühwarnsystem bei der Fließgewässerüberwachung (Daphnien-Test) (Rinderhagen et al., 2000).

In den letzten Jahren wurde die Verwendung von Krebsen in der Ökotoxikologie insbesondere im Zusammenhang mit Untersuchungen zu biologischen Effekten von Substanzen mit hormoneller Wirkung (EDS) gefördert (LeBlanc, 2007; OECD, 2006; Oetken et al., 2004). Die Problematik der EDS stand auch bei Effektuntersuchungen in limnischen und marinen Lebensräumen häufig im Vordergrund. Beispielsweise fand man bei *Gammarus pulex* eine Störung der Oocyten-Entwicklung im Bereich der Einleitung von Kläranlagenabwässern (Gross et al., 2001; Hagger et al., 2001). In Deutschland hat das Umweltbundesamt das Verbundprojekt „Xehogamm“ gefördert, das sich mit Effekten von Umwelthormonen bei Flohkrebse beschäftigt (Triebskorn et al., 2002). Dabei wurden u.a. die Populationsstruktur, das Vorkommen von Intersexualität und Atresie sowie der Gehalt an Stressprotein bei *G. fossarum* oberhalb und unterhalb von Kläranlagen verglichen (Ladewig et al., 2006; Schirling et al., 2005).

Neben der Erfassung von reproduktions- und populationsbezogenen Endpunkten eignen sich Amphipoden auch zur Untersuchung „klassischer“ biochemischer Biomarker. So wurden beispielsweise die Parameter Metallothionein-Induktion, DNA-Strangbrüche und Lipidperoxidation ausgewählt, um toxische Effekte von ästuarinen Sedi-

menten auf *G. locusta* zu bewerten (Neuparth et al., 2005). Parallel dazu wurden jedoch auch Endpunkte auf der Organismen- und Populationsebene betrachtet.

Im Rahmen von Effektstudien in Binnengewässern von Mecklenburg-Vorpommern wurden Flohkrebse (Gammariden) als Indikatoren für die Präsenz neurotoxischer Substanzen verwendet (Gercken, 2000a; Gercken, 2003a; Gercken & Sordyl, 2000; Gercken & Sordyl, 2001a). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind am Ende dieses Berichtes zu finden.

II.2.3 Fische als Bioindikatoren

Fische waren und sind immer noch die bevorzugten Indikatororganismen zur Bewertung der Gewässergüte im Rahmen von Monitoring-Programmen. Beispielsweise führt die Bundesforschungsanstalt für Fischerei (BFA/Hamburg) bereits seit den 1970er Jahren Untersuchungen zur Verbreitung von Fischkrankheiten in Nord- und Ostsee durch. Dieses Fischkrankheitsmonitoring bildet bislang den Schwerpunkt des biologischen Effektmonitorings im Rahmen des BLMP (2005). In den Jahren 1991 und 1992 beauftragte das Umweltbundesamt eine Studie über „Fischkrankheiten in der Nordsee“ (Anders & von Landwüst, 1996). Neben Untersuchungen zur Reproduktion ausgewählter Fischarten wurden auch Biomarker auf niedrigeren Ebenen der biologischen Organisation bewertet. Zu dieser Zeit wurden auch verschiedene „sea going workshops“ durchgeführt, um die Eignung verschiedener Biomarker als Indikatoren für Schadstoffeffekte zu prüfen (Stagg, 1998). Eine umfassende Bewertung über den Einsatz von Biomarkern bei Fischen findet sich in einem Übersichtsartikel von van der Oost und Kollegen (2003). Von Greeley (2002) liegt eine Arbeit über reproduktionsbezogene Parameter als Indikatoren für Umweltstress vor.

Für den deutschen Bereich der Ostsee, stellen die hier vorgestellten Untersuchungen an der Aalmutter (*Zoarces viviparus*) (Abb. 3), nach derzeitiger Kenntnis, die bislang umfangreichste Bioeffektstudie an einer Fischart aus den Küstengewässern dar. Mehrere Gründe sprachen dafür, die Aalmutter als Bioindikator ein Effektmonitoring in den Küstengewässern von Meck-

lenburg-Vorpommern auszuwählen. So ist sie vergleichsweise standorttreu (Vetemaa, 1999) und repräsentiert damit die Belastungssituation im Bereich einer Probenahmestation. Außerdem ist sie wegen ihrer Toleranz gegenüber Brackwasser auch in den besonders belasteten Ästuargebieten anzutreffen. Schließlich ist die Aalmutter als lebendgebärender Fisch besonders für Untersuchungen zum Fortpflanzungserfolg und zum Nachweis von reproduktionstoxischen Effekten prädestiniert (Neuman et al., 1999). Die Ovulation und innere Befruchtung erfolgt im August und im Verlauf des Septembers schlüpfen die Larven im Ovar. Nach einer Tragzeit von insgesamt ca. fünf Monaten werden die Larven als voll entwickelte und geschlechtsdifferenzierte Jungfische (45-55 mm Länge) geboren (Götting, 1976).

Die etwa 5-monatige Embryonal- und Larvalentwicklung lässt sich in eine Entwicklungsphase vor dem Schlupf, der Dottersackphase nach dem Schlupf und einen längeren Abschnitt nach dem Verbrauch des Dottersacks einteilen. Während der beiden letzten Stadien ernähren sich die Larven von Nährstoffen, die vom mütterlichen Organismus in die Ovariallüssigkeit abgegeben werden (Korsgaard, 1986; Korsgaard & Anderson, 1985). Über diesen maternalen-fetalen Transfer können auch Schadstoffe in das Ovar gelangen und die Brut schädigen (Rasmussen et al., 2002).

Die lebendgebärende Reproduktion der Aalmutter bietet die Möglichkeit, Störungen der Larvenentwicklung wie Mortalität, Missbildungen und Wachstumsverzögerungen zu untersuchen. Dabei erfolgt die Inspektion der Brut vorzugsweise von Mitte Oktober bis Ende November, weil die Larven dann bereits eine längere Entwicklungszeit

im Ovar verbracht haben und Entwicklungsstörungen besser zu diagnostizieren sind. Aufgrund der frühen Geschlechtsdifferenzierung lassen sich bereits an der Brut weibliche und männliche Larven bestimmen und damit das Geschlechterverhältnis, als einen potenziellen Biomarker für hormonell bedingte Veränderungen ermitteln (Larsson et al., 2000; Larsson & Förlin, 2002).

Die Untersuchung des Reproduktionserfolgs bei Aalmuttern („Reproductive Success“) zählt zu den Parametern, die vom ICES sowie OSPAR und HELCOM für das marine biologische Effektmonitoring empfohlen werden (HELCOM, 2003; ICES, 2004a; ICES, 2006; OSPAR, 1997).

Zur methodischen Qualitätssicherung des Biomarkers „Reproductive Success“ wurde ein internationales Arbeitstreffen im Rahmen des EU-Projektes BEQUALM, (2000) durchgeführt.

In Schweden wird die Aalmutter bereits seit 1989 im Rahmen des Küstenmonitorings untersucht (Neuman et al., 1999). Seit 2001 wird die Aalmutter auch in Dänemark als Indikator für das Auftreten von Reproduktionsstörungen in Küstengewässern genutzt (Strand et al., 2004). Beim Monitoring von Fischen in „Baltic Reference Areas“ ist der „Reproductive Success“ von Aalmuttern Bestandteil des Untersuchungsprogramms (Ådjers et al., 2001). In Deutschland wurde die Aalmutter als

Probenspezies für das Schadstoffkonzentrationsmonitoring der Umweltprobenbank ausgewählt (Schladot et al., 1997). Die Probenahme erfolgt in der Ostsee beim Darßer Ort und im Wattenmeer im Jadebusen und bei Büsum.

■ **Abb. 3:**

Aalmutter (*Zoarces viviparus*)



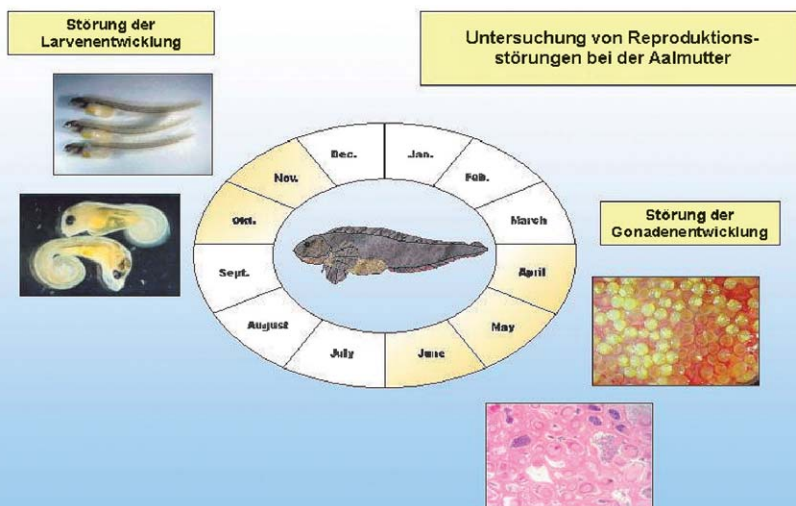
Neben der Untersuchung der Brut trächtiger Weibchen lassen sich anhand histologischer und makroskopischer Befunde im späten Frühjahr Störungen der Keimzellreifung in Hoden und Ovar erfassen (Abb. 4). An späterer Stelle (II.3.7) werden alle im Rahmen der Pilotstudien untersuchten Fortpflanzungsstörungen detaillierter vorgestellt.

Grundsätzlich eignet sich die Aalmutter zur Untersuchung aller gebräuchlichen Biomarker (Frenzilli et al., 2004; Ronisz et al., 2005; Schiedek et al., 2006; Sturve et al., 2005). In Kombination mit reproduktionsbezogenen Parametern kann somit ein großes Spektrum biologischer Ebenen an einem einzigen Bioindikator erfasst werden. Die Größe der Tiere ermöglicht es auch chemische Rückstandsanalysen einzubeziehen (Schiedek et al., 2006).

Außer der Aalmutter soll an dieser Stelle auch kurz die besondere Eignung des Dreistachligen Stichlings (*Gasterosteus aculeatus*) erwähnt werden. Diese Fischart wurde als Indikator für die biologische Gewässergütebewertung kleiner Fließgewässer in Mecklenburg-Vorpommern ausgewählt (Gercken & Sordyl, 1998; Gercken, 2000a; Gercken, 2003). Ergebnisse dieser Feldstudien sind am Ende dieses Berichts kurz zusammengefasst.

In Laborexperimenten hat sich der Stichling als besonders guter Bioindikator zum Nachweis hormonell aktiver Substanzen (Endocrine Disrupters) erwiesen. Mit ihm lassen sich sowohl biologische Effekte estrogener als auch androgener Chemikalien anhand spezifischer Endpunkte nachweisen (Hahlbeck et al., 2004a und b; Katsiadaki et al., 2002a und 2002b; Katsiadaki et al., 2006). Darüberhinaus lassen sich auch zahlreiche weitere Biomarker beim Stichling anwenden (Pottinger et al., 2002). Handy und Koautoren (2002) empfehlen den Dreistachligen Stichling für ein Fischgesundheitsmonitoring in europäischen Fließgewässern. Zur Bewertung des Gesundheitsstatus sollten die Befunde einer histologischen Untersuchung von Leber, Milz und Kiemen herangezogen werden.

Insgesamt betrachtet bietet sich der Dreistachlige Stichling - neben der Aalmutter - auch für das Monitoring in den inneren Küstengewässern als potenzieller Bioindikator an. Erste Untersuchungen an marinen Stichlingen wurden im Rahmen einer vor kurzem beendeten Biomarker-Studie des IfAÖ im Greifswalder Bodden am Auslauf der Kläranlage Greifswald durchgeführt (Gercken, 2007).



■ Abb. 4:

Reproduktionszyklus und Zeiträume der Beprobung zum Nachweis von Reproduktionsstörungen während der Gonadeneentwicklung und während der Schwangerschaft.

Bioindikator	wiss. Name	Gewässertyp	in M.-V. durchgeführte Untersuchungen
Watt-schnecke	<i>Hydrobia ulvae</i>	Küstengewässer	Effektmonitoring in Küstengewässern (LUNG)
Mies-muschel	<i>Mytilus edulis</i>	Küstengewässer	Effektmonitoring in Küstengewässern (LUNG)
Dreikant-muschel	<i>Dreissena polymorpha</i>	Binnengewässer, Küstenge-wässer mit geringer Salinität	Effektmonitoring im Kleinen Haff und Binnengewässern (LUNG)
Flohkrebs	<i>Gammarus spp.</i>	Binnengewässer	Effektstudien in Fließgewäs- sern (StAUN Schwerin und Ueckermünde)
Aalmutter	<i>Zoarcis viviparus</i>	Küstengewässer	Effektmonitoring in Küstengewässern (LUNG; BEEP)
Dreistach- liger Stich- ling	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Binnengewässer, Küstenge- wässer	Effektstudien in Fließgewässern
Barsch	<i>Perca fluviatilis</i>	Binnengewässer	Effektstudien in Fließgewässern (StAUN Ueckermünde)

■ Tab. 1:

Bioindikatoren, die für ein aquatisches Effekt- monitoring in M.-V. verwendet wurden

II.3 ZUR BEDEUTUNG DER UNTERSUCHUNGSPARAMETER

Im Folgenden werden die im Verlauf der Effekt- monitoring-Pilotstudien in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern verwendeten Biomarker vorgestellt. Mit Ausnahme des TBT- spezifischen Biomarkers „Imposex bei *Hydrobia ulvae*“ wurden diese Biomarker auch für verschie- dene biologische Effektstudien in Binnengewäs- sern ausgewählt (siehe zusammenfassende Dar- stellung am Ende des Berichts).

II.3.1 Reproduktionsstörungen bei marinen Vorderkiemerschnecken

Zinnorganische Verbindungen zählen zu den stärksten Umweltgiften in aquatischen Ökosys- temen (Fent, 1996). Sie werden weit verbreitet, in Sediment und in Biota von Oberflächengewäs- sern nachgewiesen. Ein Großteil der produzierten Organozinn- verbindungen findet als Stabilisa- toren in Kunststoffen und als Biozid in bewuchs- hemmenden Unterwasseranstrichen (Antifou-

lings) Verwendung. Weitere Anwendungsgebiete betreffen bzw. betrafen z.B. den Pflanzenschutz, Holzschutzmittel und die Imprägnierung von Textilien (Klingmüller & Watermann, 2003).

Tributylzinn (TBT) ist der toxischste Vertreter der Organozinnverbindungen. Es wird vorwiegend für die Herstellung von Antifouling-Anstrichen verwendet. Aus diesem Grund stellt die Schifffahrt auch die hauptsächliche Eintragsquelle von TBT in marine Gewässer dar. In Küstengebieten ist daher die Umweltbelastung mit TBT im Bereich von Häfen und Schifffahrtswegen besonders hoch. Die Europäische Union hat bereits 1989 ein Verbot der Verwendung von organozinnhaltigen Farben für Boote unter 25 Metern ausgesprochen.

Auf Initiative der internationalen Meeresschutzorganisation IMO wurde ein totales Anwendungsverbot von TBT und anderer Organozinnverbindungen in Schiffs-Antifouling ab dem Jahr 2008 verabschiedet. Zinnorganische Verbindungen sind als „prioritäre Schadstoffe“ in Gewässermonitoringprogrammen der EU aufgeführt. Neben TBT werden schwerpunktmäßig vor allem die Abbauprodukte Dibutyl- und Monobutylzinn (DBT, MBT) sowie Triphenylzinnverbindungen untersucht.

Neben einer „klassisch toxischen“ Wirkung haben Zinnorganika auch die Fähigkeit, als hormonell wirkende Substanzen die Fortpflanzung von Organismen zu beeinflussen. Besonders gut sind die endokrinen Wirkungen in Bezug auf die Reproduktion von marinen Vorderkiemerschnecken (Prosobranchier) untersucht. Bei zahlreichen Spezies ruft eine Exposition mit TBT eine als „Imposex“ bezeichnete Reproduktionsstörung hervor. Unter Imposex oder Pseudohermaphroditismus versteht man die bei weiblichen Prosobranchiern zusätzlich zum eigenen Geschlechtssystem auftretende Ausbildung männlicher Geschlechtsorgane (Penis und/oder Samenleiter). Imposex ist eine abgestufte morphologische Reaktion auf eine TBT-Exposition. Anhand eines Entwicklungsschemas lassen sich die unterschiedlichen Stadien der Vermännlichung kategorisieren (Oehlmann et al., 1996; Oehlmann et al., 1997; Oehlmann et al., 1998b; Schulte-Oehlmann, 1997; Schulte-Oehlmann et al., 1997). Bei der weiblichen Strandschnecke (*Littorina littorea*) verursacht TBT eine weitere, als „Intersex“ bezeichnete pathologische Veränderung des weiblichen Genitalsystems. Die-

se Pathomorphose lässt sich ebenfalls anhand eines graduellen Entwicklungsschemas beschreiben (Bauer et al., 1997; Oehlmann et al., 1997; Oehlmann et al., 1998a; Oehlmann et al., 1998b; Schulte-Oehlmann, 1998).

Untersuchungen zum TBT-Wirkmechanismus haben gezeigt, dass zinnorganische Substanzen in den Stoffwechsel der Sexualhormone eingreifen, indem sie die Cytochrom-P450-abhängige Aromatisierung von Androgenen zu Estrogenen hemmen. Dies führt bei weiblichen Tieren zu einer Verschiebung der Androgen-Estrogen-Balance in Richtung eines erhöhten Gehaltes an männlichen Geschlechtshormonen und damit letztendlich zur Ausbildung zusätzlicher männlicher Geschlechtsorgane (Bettin et al., 1996).

Die TBT-induzierte Ausbildung von Imposex und Intersex bei marinen Vorderkiemerschnecken ist das zur Zeit beste Beispiel für eine Störung des Hormonsystems von Invertebraten, die eindeutig mit der Kontamination des Lebensraums durch eine Umweltchemikalie verknüpft ist (Matthiessen & Gibbs, 1998). In der Nordsee wird das Vorkommen von Intersex bzw. von Imposex im Rahmen des dortigen Effektmonitorings (OSPAR/JAMP) u.a. an Strandschnecken (*Littorina littorea*) und Nordischen Purpurschnecken (*Nucella lapillus*) ermittelt (ICES, 2004d). Für die Ostsee hat die HELCOM keine entsprechende Empfehlung für ein TBT-Effektmonitoring ausgesprochen. Dies mag daran liegen, dass aufgrund der geringeren Salinität keine der in der Nordsee gebräuchlichen Bioindikatoren in der eigentlichen Ostsee vorkommen. Tatsächlich wurde bislang einzig die Wattschnecke *H. ulvae* als geeigneter Indikator beschrieben (Oehlmann et al., 1998b). Sie reagiert auf eine TBT-Exposition sensibel mit der graduellen Ausbildung von Intersex (Schulte-Oehlmann et al., 1997). Aus diesem Grund wurde diese Spezies für das in diesem Bericht vorgestellte TBT-Effektmonitoring in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern ausgewählt (Gercken, 1999).

II.3.2 Metallothionein-Induktion

Metallothioneine [MT] sind eine Gruppe intrazellulärer, metallbindender Proteine, die bei Tieren, Pflanzen und Mikroorganismen weit verbreitet sind (Hamer, 1986). Sie wurden z.B. bereits bei

mindestens 80 Fischen und aquatischen Invertebraten nachgewiesen (Roesijadi, 1992). Ihre charakteristischen Merkmale sind ein geringes Molekulargewicht (6000-7000 Da), Hitzestabilität, Wasserlöslichkeit und ein außergewöhnlich hoher Cystein-Gehalt (20-30%). Die charakteristischen Cluster von Cysteinresten in der Aminosäuresequenz fungieren als Bindungsdomänen für jeweils mehrere Metallionen (Hamer, 1986; Roesijadi, 1992; Vergani et al., 2005).

MT nehmen eine zentrale Funktion beim Stoffwechsel von Spurenelementen ein. Sie binden die essentiell benötigten Metalle Kupfer und Zink und vermitteln deren Verteilung und Übertragung auf metallhaltige Enzyme. MT stellen damit Spurenmoleküle für Synthesen zur Verfügung, ohne dass die Metalle als freie, toxische Ionen Schäden im Körper anrichten können. Außerdem spielen MT eine essentielle Rolle bei der Schwermetall-Entgiftung, indem sie Metalle komplexieren und damit ihrer toxischen Wirkung berauben (Hamer, 1986).

Aus ökotoxikologischer Sicht sind MT von indikatorischer Bedeutung, da sie durch eine Exposition gegenüber Schwermetallen zur Neubildung angeregt werden. Insbesondere Cadmium, Kupfer und Quecksilber führen zu einer raschen Synthese von MT. Wird die Entgiftungskapazität der MT durch eine zu hohe Schwermetallbelastung überfordert, kann jedoch auch eine Schädigung der Zelle durch freie Metallionen eintreten (Viarengo, 1989; Viarengo & Nott, 1993). Der MT-Gehalt der Zelle wird nicht allein von Metallen, sondern auch von weiteren Stressfaktoren, wie beispielsweise freien Radikalen (oxidativer Stress), Infektion und Hunger beeinflusst. Bei Tieren sind MT vor allem in Leber und Niere sowie im Magen-Darm-Trakt zu finden. Fische besitzen auch in den Kiemen höhere MT-Gehalte. Bei Invertebraten treten MT vorwiegend in der Mitteldarmdrüse (Hepatopankreas) auf.

Wegen der Induzierbarkeit von MT durch Metalle werden MT schon seit längerem als Biomarker zum Nachweis einer erhöhten Exposition gegenüber Schwermetallen verwendet (Livingstone, 1993). Praktische Erfahrungen mit dem Biomarker „MT-Induktion“ werden beispielsweise im Rahmen von Monitoring-Programmen (z.B. OSPAR-JAMP, Med-Pol-Programm) gewonnen. Der Biomarker wird dabei als Indikator für das Vorliegen

einer sublethalen Metallexposition angesehen. Nach Roesijadi (1992) besteht der prinzipielle bioindikatorische Wert der MT vor allem darin, dass erhöhte MT-Gehalte darauf hinweisen, dass ein wichtiger homöostatischer Regulationsmechanismus der Zelle überfordert sein könnte. Dabei ist es grundsätzlich unerheblich, ob erhöhte MT-Konzentrationen durch Schwermetalle oder andere Stressfaktoren induziert wurden.

II.3.3 Acetylcholinesterase-Hemmung

Bei zahlreichen in Oberflächengewässern nachgewiesenen Umweltchemikalien handelt es sich um Biozide, die vorwiegend in der Landwirtschaft und in geringerem Umfang auch im häuslichen Bereich eingesetzt werden. Über direkte Einleitungen und diffuse Einträge gelangen diese Stoffe auch in das Meer, wo sie insbesondere die Küstenregion kontaminieren (Fulton & Key, 2001).

Chemisch handelt es sich bei Pestiziden häufig um Organophosphate (Phosphorsäureester) und Carbamate. Deren Wirkung beruht auf der Hemmung der Aktivität bestimmter Enzyme, der Cholinesterasen. Ein bevorzugter Wirkort der Biozide ist die Acetylcholinesterase (AChE), deren Bindungsstelle für den Neurotransmitter Acetylcholin durch Anlagerung des Biozids blockiert wird. Dadurch ist die AChE nicht mehr in der Lage die spezifische Spaltung des Acetylcholins in Cholin und Azetat vorzunehmen, und es tritt eine Akkumulation des Acetylcholins im synaptischen Spalt auf. Letztendlich kommt es zu einer endogenen Acetylcholinvergiftung mit schweren Folgen für die neuronale Koordination. Bei akuter Vergiftung können z.B. Muskelschwäche und Atemstörungen auftreten (Fulton & Key, 2001). Während Organophosphate allgemein als irreversible Inhibitoren der Cholinesterasen gelten, ist die Wirkung von Carbamaten langsam reversibel (Bocquene & Galignani, 1998). Neben ihrer toxischen Wirkung auf die Acetylcholinesterase können Organophosphor- und Carbamatverbindungen auch andere Serinhydrolasen, wie z.B. die Carboxylesterasen inhibieren (Galloway et al., 2002).

Die Messung der AChE-Aktivität zählt zu den Kernparametern beim biologischen Effektmonitoring in europäischen Meeresgebieten. Sie wird u.a. auch vom ICES (2004a) empfohlen, um eine Gewässerbelastung mit neurotoxisch wirkenden Stoffen nachzuweisen. Wird im Rahmen eines Mo-

onitorings an einer Station eine vergleichsweise geringe Enzymaktivität ermittelt, gilt dies als Indiz für eine Hemmung der AChE durch vorwiegend Organophosphor- und Carbamatverbindungen. Allerdings wird die AChE nicht nur allein durch Pestizide inhibiert. Zumindest einige Schwermetalle bewirken ebenfalls eine Hemmung der AChE, ohne dabei die Bindungsstelle für Acetylcholin zu blockieren (Boquene et al., 1995; Frasco et al., 2005; Najimi et al., 1997). Außerdem können auch Algentoxine inhibitorisch auf die AChE wirken (Bocquene & Galgani, 1998).

Bei den gebräuchlichen Methoden zur Bestimmung der AChE-Aktivität handelt es sich zumeist um Modifikationen einer ursprünglich von Ellman et al. (1961) publizierten Methode. Sie beruht auf der AChE-vermittelten Spaltung des spezifischen Substrats Acetylthiocholinjodid in Thiocholin und Essigsäure. Thiocholin bildet in Gegenwart von DTNB (Dithiobisnitrobenzoat) ein gelbes Reaktionsprodukt, das sich photometrisch quantifizieren lässt. Die Ellman-Methode wurde an die Verwendung von Mikrotiterplatten angepasst und hat dadurch eine breite Anwendung beim biologischen Effektmonitoring gefunden (Galgani & Boquene, 1991; Bocquene & Galgani, 1998).

II.3.4 Lipidperoxidation

Bei aerob lebenden Organismen entstehen im Rahmen des höchst effektiven oxidativen Energiestoffwechsels in den Mitochondrien ständig reaktive Sauerstoffspezies (Sauerstoff-Radikale, Superoxid, Wasserstoffperoxid) als unvermeidliche Begleitprodukte. Diese Sauerstoffspezies [ROS] können cytotoxisch wirken indem sie Proteine, Zellmembranen und die DNA aufgrund ihrer extremen Reaktionsfreudigkeit schädigen. Als Folge davon haben Organismen verschiedene antioxidative Schutzmechanismen in Coevolution entwickelt, um ROS unschädlich zu machen oder deren Schadwirkung zu minimieren (Ahmad, 1995; Josephy et al., 1997; Kelly et al., 1998). Zum zellulären, antioxidativen Abwehrsystem zählen Enzyme wie die Superoxid-Dismutase (SOD), Glutathion-Reduktase (GR), Glutathion-Peroxidase (GPx), Katalase (CAT) und der Radikalfänger Glutathion (Doyotte et al., 1997; Kelly et al., 1998). Außerdem verfügen auch die bereits erwähnten Metallo-thioneine über eine protektive Funktion

gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies (Cavaletto et al., 2002; Viarengo et al., 1999).

Normalerweise besteht im Organismus ein Gleichgewicht zwischen der Bildung von Sauerstoffradikalen und antioxidativen Schutzmechanismen. Dieses Gleichgewicht kann jedoch durch eine vermehrte Bildung von Radikalen oder eine ungenügende Beseitigung der ROS gestört sein. Dieser Zustand wird als „oxidativer Stress“ bezeichnet. Er stellt – allgemein ausgedrückt – eine Störung des Prooxidantien-Antioxidantien-Verhältnisses zugunsten prooxidativer Prozesse dar (Pellerin-Massicotte, 1994; Winston, 1991; Winston & DiGiulio, 1991).

Zu den toxischen Konsequenzen von oxidativem Stress zählen auf der subzellulären Ebene die oxidative Schädigung von Proteinen und DNA sowie die Lipidperoxidation von Membranen. Bei der Lipidperoxidation sind die in den Zellmembranen vorhandenen ungesättigten Fettsäuren der Angriffspunkt der oxidativen Kettenreaktion. Ein Abbauprodukt dieser Peroxidasereaktion ist das Malondialdehyd [MDA] (Josephy et al., 1997; Kelly et al., 1998). MDA und weitere Degradationsprodukte von Membranen wirken aufgrund ihrer hohen Reaktivität mit anderen Zellkomponenten toxisch. Die photometrische Bestimmung des MDA in einem Gewebehomogenat ist eine gebräuchliche Methode zur Quantifizierung der abgelaufenen Lipidperoxidation und somit ein Indikator für oxidative Prozesse (Buege & Aust, 1978).

Die Ursachen für die Lipidperoxidation sind vielfältig. Es ist bekannt, dass zahlreiche Umweltchemikalien bei aquatischen Organismen die Bildung von ROS und damit die Entstehung von oxidativem Stress induzieren (Felton, 1995; Winston & DiGiulio, 1991). Genannt seien hier u.a. organische Xenobiotika wie PCBs und DDT sowie Schwermetalle wie Cadmium, Kupfer und Quecksilber. Aber auch natürliche Stressoren wie Krankheitserreger, Parasiten und der Ernährungszustand können zum oxidativen Stress führen und damit zur Lipidperoxidation beitragen. Bekanntlich nehmen oxidative Schädigungen wie die Lipidperoxidation auch im Verlauf des Alterungsprozesses zu. Dass dies auch für die Miesmuschel *M. edulis* zutrifft, haben Messungen der Lipidperoxidation in der Mitteldarmdrüse unterschiedlich alter Tiere gezeigt

(Viarengo et al., 1989; Viarengo et al., 1991). Angesichts der Vielfalt an möglichen Induktoren ist die Lipidperoxidation als unspezifischer Biomarker anzusehen, der einen schadstoffbedingten und/oder durch den physiologischen Status hervorgerufenen Stresszustand anzeigt.

Im Rahmen der hier vorgestellten Effektuntersuchungen wurde die Lipidperoxidation als Biomarker für das Vorkommen von oxidativem Stress bei der Miesmuschel gewählt. Die Bestimmung erfolgte an der Mitteldarmdrüse nach der Methode von Buege & Aust (1978).

II.3.5 Stabilität der Lysosomenmembran

Lysosomen sind polymorphe Zellorganellen, die vielfältige intra- und extrazelluläre Aufgaben besitzen. Dazu zählen u.a. das Recycling von Proteinen, die zelluläre Abwehr (Adema et al., 1991), Zellentgiftung und Resorption von Gameten (Bayne et al., 1978). Sie sind auch für die Homöostase von Metallen von Bedeutung, indem sie die metallbindenden Metallothioneine aufnehmen und speichern (Viarengo et al., 1987). Bei Muscheln ist der stark entwickelte Lysosomenkomplex der Mitteldarmdrüse für die intrazelluläre Verdauung der Nahrung zuständig. Zum Schutz der Zelle vor den in den Lysosomen befindlichen aggressiven Enzymen (Hydrolasen) sind Lysosomen von einer dicken Membran umgeben.

Lysosomen können sensibel auf chemische und physikalische Umweltfaktoren sowie endogene Stressoren mit einer Destabilisierung ihrer Membran reagieren. Bei Bivalviern sind dies beispielsweise die Temperatur (Moore, 1976), schnelle Änderungen der Salinität (Bayne et al., 1976), die Reproduktion (Bayne et al., 1976) und Nahrungsmangel. Außerdem ist auch ein breites Spektrum von Schadstoffen in der Lage, eine Labilisierung der lysosomalen Membran zu verursachen. Insgesamt gilt die Lysosomenstabilität daher als Biomarker für eine allgemeine Reaktion auf Stressfaktoren (z.B. Bayne et al., 1982; Domouhtsidou et al., 2004; Krishnakumar et al., 1994; Moore, 1988; Moore et al. 1996; Regoli, 1992; Regoli et al., 1993). Im Rahmen von Untersuchungen an transplantierten Muscheln (Nasci et al., 2000; Regoli et al., 1993; Stien et al., 1998; Viarengo & Canesi, 1991) und in Laborversuchen (Harrison & Berger, 1982;

Viarengo et al., 1987) wurde die Verwendung der „Lysosomenstabilität“ als Biomarker demonstriert.

Im Rahmen einer der hier vorgestellten Pilotstudien wurde die Stabilität der Lysosomenmembran an der Mitteldarmdrüse (MDD) der Miesmuschel *Mytilus edulis* ermittelt. Die MDD ist das zentrale Organ für die Nahrungsverdauung und für Entgiftungsfunktionen (Moore, 1976). Daher sind die Lysosomen in den Verdauungszellen auch besonders empfänglich für stressinduzierte Schädigungen. Bei der angewendeten Methode handelt es sich um ein histochemisches Verfahren, das an Gelfrierschnitten durchgeführt wird (Moore, 1976). Dabei wird eine Serie von Gelfrierschnitten einer MDD für unterschiedlich lange Zeitintervalle (im Bereich von ca. 2-40 min) mit einem säurehaltigen Puffer behandelt. Darauf folgt eine histochemische Anfärbung eines lysosomalen Enzyms. Bei Muscheln mit geschädigten Lysosomen tritt eine maximale Anfärbung des Enzyms bereits nach kürzerer Säurebehandlung auf als bei Tieren mit einer stabileren lysosomalen Membran (Krishna-kumar et al., 1994; Moore, 1976; Moore, 1988; Regoli, 1992).

Neben der histochemischen Methode hat der von Lowe et al. (1995a und 1995b) entwickelte Neutralrot-Retentions-Assay (NRR) zur Bestimmung der lysosomalen Membranstabilität bei lebenden Hämocyten eine breite Anwendung beim Effektmonitoring gefunden. (Wedderburn et al., 2000a; Wedderburn et al., 2000b). Die Anwendung der NRR-Methode beschränkt sich nicht allein auf Hämocyten, sondern kann auch an anderen Einzelzellen durchgeführt werden. Vom ICES wurde eine Anleitung zur Durchführung der histochemischen und der NRR-Methode veröffentlicht (ICES, 2004b). Insgesamt haben Testverfahren, welche die Stabilität der lysosomalen Membran ermitteln, eine weite Verbreitung in der aquatischen Ökotoxikologie und beim Effektmonitoring gefunden (Cajaraville et al., 1995; Lin & Steichen, 1994; Lowe & Pipe, 1994; Lowe et al., 1995a und 1995b; Moore, 1976; Moore, 1988; Regoli, 1992; Viarengo & Canesi, 1991).

II.3.6 Leberhistopathologie

Die histologische Methodik ist ein wichtiges Instrument zur Bewertung des Gesundheitszustandes von Organismen. Ihr diagnostischer Wert besteht

darin, dass sie stressbedingte biochemische und physiologische Veränderungen auf der höheren biologischen Ebene der Zell- und Organstrukturen integriert (Myers & Fournie, 2002). Trotz dieses Vorteils werden histologische Untersuchungen beim Effektmonitoring vergleichsweise selten durchgeführt, was daran liegen mag, dass die Methode relativ arbeitsaufwändig ist und eine längere Erfahrung zur Bewertung der Schnittpräparate notwendig ist.

Im Rahmen der weltweit intensiv betriebenen Labor- und Felduntersuchungen zu den biologischen Wirkungen von hormonell aktiven Substanzen (Endocrine Disrupters) nimmt die histologische Methodik einen besonderen Stellenwert ein. So lassen sich beispielsweise Veränderungen an den Reproduktionsorganen nur durch eine histologische Befundung detailliert beschreiben (siehe II.3.7).

Steht die Frage nach dem allgemeinen Gesundheitszustand eines Fisches im Vordergrund, ist die Leber das bevorzugte Organ für eine histologische Untersuchung. Sie ist das zentrale Stoffwechsel- und Entgiftungsorgan und ist daher auch besonders empfänglich für die toxischen Wirkungen von Schadstoffen. Die Leber integriert die Belastungssituation über einen längeren Zeitraum, da stressbedingte Veränderungen, auch nach Ende der Exposition, noch eine Weile oder sogar dauerhaft präsent bleiben. Insgesamt ist die Leber ein bevorzugtes Indikatororgan zur Bewertung der Fischgesundheit und Gewässerqualität (Bernet et al., Köhler et al., 1992; 1999; Schmitt & Dethloff, 2000; Schwaiger et al., 1997; Stentiford et al., 2003; Teh et al., 1997; Vethaak et al., 1996).

In Nord- und Ostsee erfolgen histopathologische Leberuntersuchungen an der Kliesche (*Limanda limanda*) und der Flunder (*Platichthys flesus*) im Rahmen des Bund-Länder-Messprogramms (BLMP) an küstenferneren Stationen. Schwerpunktmäßig wird dabei das Vorkommen von Leberknoten/-tumoren erfasst (BLMP, 2005; ICES, 2004c). Die Leberhistopathologie ist zusammen mit dem Parameter „Leberknoten“ mittlerweile ein verpflichtender Bestandteil des Coordinated Environmental Monitoring Programme (CEMP) des OSPAR-Übereinkommens.

Das IfAÖ hat im Rahmen mehrerer biologischer Effektstudien histopathologische Untersuchungen an der Leber von Aalmuttern aus den Küstengewässern (Gercken, 2002) sowie Stichlingen und Barschen aus Binnengewässern (Gercken, 2003a; Gercken & Sordyl, 2000) von Mecklenburg-Vorpommern durchgeführt.

II.3.7 Reproduktionsstörungen bei der Aalmutter

Fortpflanzungs- und Entwicklungsstörungen zählen zu den schwerwiegendsten Schadeffekten der anthropogenen Belastung aquatischer Lebensräume, da sie sich in letzter Konsequenz auf den Fortbestand einer Population auswirken können. Umweltstressoren können entweder eine direkte toxische Wirkung auf die Keimzellen ausüben oder endokrine Wechselwirkungen beeinflussen und dadurch die Reproduktion und die frühe Entwicklung der Nachkommen stören (Arcand-Hoy & Benson, 1998; Kime, 1995).

Das Vorkommen von Reproduktionsschäden bei Wildpopulationen von Fischen ist durch zahlreiche Feldstudien gut dokumentiert. Dabei richtet sich die Ursachenermittlung seit gut fünfzehn Jahren insbesondere auf die Kontamination der Gewässer durch Fremdstoffe mit hormoneller Wirkung, die als potenzielle Auslöser verschiedener Fortpflanzungsstörungen gelten (Arcand-Hoy & Benson, 1998; NRC, 1999; Pait & Nelson, 2002). Hormonelle Wirkungen von Umweltchemikalien bei Fischen sind mittlerweile gut dokumentiert. Wegen der zuerst beobachteten Verweiblichungserscheinungen bei männlichen Fischen, konzentrierten sich zahlreiche Feldstudien auf Substanzen mit estrogenen Wirkung (Xenoestrogene). Die Literatur über Wirkungen von hormonell aktiven Substanzen (Endocrine Disrupters [EDS]) ist in den letzten Jahren sprunghaft angestiegen. Auf folgende Übersichten sei an dieser Stelle verwiesen: Jobling & Tyler (2003), Pait & Nelson (2002), Sumpter (2005).

Die im vorliegenden Bericht vorgestellten Untersuchungen zum Vorkommen von Reproduktionsstörungen bei der Aalmutter konzentrierten sich anfangs auf die als „Reproductive Success“ bekannte Begutachtung der Brut von trächtigen Weibchen. Erst später, vor dem Hintergrund

von Befunden zum Vorkommen von Intersex bei männlichen Aalmuttern (Gercken & Sordyl, 2002a), wurden auch histologische Untersuchungen während der späten Gonadenreife in das Untersuchungsprogramm aufgenommen. Wie im Ergebnisteil dargestellt, wiesen männliche Aalmuttern überraschend häufig „Intersex“ auf, während in den Ovarien weiblicher Tiere häufig degenerierte Follikel (Atresie) auftraten.

Beim Intersex-Phänomen handelt es sich um das Vorkommen von weiblichen Keimzellen (Oocyten) im ansonsten normal männlich geprägten Hodengewebe. Derartig veränderte Hoden werden auch als „Ovotestis“ oder „Zwittergonaden“ bezeichnet. Als Ursache dieser pathologischen Veränderung wird eine hormonelle Störung der Gametogenese durch endokrin aktive Substanzen im Wasser angesehen. Labor- und Freilandbefunde sprechen dafür, dass es sich dabei vorwiegend um estrogen aktive Substanzen handelt (Pait & Nelson, 2002).

Ergebnisse aus mehreren Feldstudien an Fischen belegen einen starken Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Intersex bei männlichen Tieren und hormonell aktiven Substanzen in der Umwelt. In England hat man hauptsächlich bei der Plötze (*Rutilus rutilus*) hohe Prävalenzen von Intersex in abwasserbelasteten Fließgewässern ermittelt (Jobling et al., 1998). In einer weiteren Untersuchung in englischen Küstengewässern wurde Intersex bei männlichen Flundern (*Platichthys flesus*) in schadstoffbelasteten Ästuaren beobachtet (Allen et al., 1999). In beiden Fällen korrelierte die Intersex-Prävalenz mit einer erhöhten Gewässerbelastung durch Kläranlagenabwässer. In Mecklenburg-Vorpommern wurden bei Stichlingen im Ableitergraben einer Kläranlage (Gercken, 2000) und bei Barschen in den Fließgewässern Uecker und Randow (Gercken & Sordyl, 2000) männliche Tiere mit Intersex-Hoden nachgewiesen.

Mit der Untersuchung des Ovars weiblicher Aalmuttern sollte das Vorkommen von Oozyten-Degenerationen (Atresie) erfasst werden. Dabei handelt es sich um das physiologisch regulierte Absterben von Eizellen in Verbindung mit der Resorption des degenerierten Zellmaterials (Kime, 1995). Bei oviparen Fischen ist die Atresie von Eiern, die nicht abgelaicht wurden, sondern nach


der Laichzeit im Ovar verblieben ein normaler physiologischer Vorgang, welcher der Rückführung von Nährstoffen in den Stoffwechsel dient. Insofern ist das vermehrte Auftreten atretischer Oocyten besonders dann von diagnostischer Bedeutung, wenn es zu einer „unnormalen“ Zeit im Reproduktionszyklus auftritt. Für die bei der Aalmutter beobachteten Eizelldegenerationen trifft dies zu. Sie traten im Verlauf der Oogenese bei noch nicht ausgereiften Oocyten auf.

Ein gehäuftes Vorkommen atretischer Eizellen bei Wildpopulationen von Fischen gilt als Indikator für eine Stress- und/oder Schadstoffwirkung (Blazer, 2002). Zu den Auslösern atretischer Veränderungen zählen interessanterweise auch endokrin wirkende Umweltchemikalien (Blazer, 2002; Janz et al., 1997; Janz et al., 2001).

Bei den Untersuchungen an trächtigen Aalmutterweibchen im Herbst (Oktober/November) wurde die Häufigkeit von toten, missgebildeten und wachstumsgehemmten Larven in der Brut ermittelt. Aus ökotoxikologischer Sicht sind Missbildungen von besonderer Relevanz, da ihr Auftreten auch mit der Wirkung von Schadstoffen in Verbindung gebracht werden kann. So hatten Untersuchungen zur Reproduktionsfähigkeit von Fischen in der Nordsee ergeben, dass die planktischen Fischembryonen vermehrt Missbildungen in den stärker verschmutzten Seegebieten vor der britischen Ostküste, der Rheinmündung und in der Deutschen Bucht aufwiesen (Cameron et al., 1996). Beim Monitoring in chinesischen Küstengewässern dienten Missbildungen bei Fischembryonen ebenfalls als Biomarker zur Bewertung der Gewässerqualität (Klumpp et al., 2002).

In Bezug auf die Aalmutter haben Untersuchungen in der Nähe von Industrieanlagen an der schwedischen Westküste einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Häufigkeit von missgebildeten Larven in der Brut und dem Grad der anthropogenen Verschmutzung aufgezeigt (Jacobsson & Neumann, 1991; Vetemaa et al., 1997). Neuere Ergebnisse des Aalmutter-Monitorings in dänischen Küstengewässern (Strand et al., 2004) sowie die im vorliegenden Bericht präsentierten Untersuchungen des IfAÖ bestätigen die enge Beziehung zwischen dem Auftreten von Entwicklungsstörungen bei den Larven und der Umweltbelastung.





III Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Pilotstudien 1998 - 2003

■ BIOLOGISCHES EFFEKTMONITORING IN KÜSTENGEWÄSSERN VON MECKLENBURG-VORPOMMERN. PILOTSTUDIEN 1998 - 2003

III.1 VERANLASSUNG

Das Land Mecklenburg-Vorpommern führt in seinen inneren und äußeren Küstengewässern regelmäßig eine Überwachung der räumlichen und zeitlichen Veränderungen physikalischer, chemischer und biologischer Parameter durch. Die langfristig ermittelten Daten dienen vor allem dem Erkennen von räumlichen Verteilungsmustern und zeitlichen Trends hinsichtlich der anthropogen bedingten Belastung der Meeresumwelt. Das Küstenmonitoring ist Bestandteil des Bund-/Ländermessprogramms (BLMP) und dient auch der Erfüllung internationaler Verpflichtungen im Rahmen der HELCOM.

Vor dem Hintergrund der sich abzeichnenden zunehmenden Bedeutung von biologischen Schadstoffeffektuntersuchungen, auch im Rahmen des von der HELCOM neu konzipierten Küstengewässer-Monitorings, beauftragte das Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie (LUNG M-V) das Institut für Angewandte Ökologie GmbH (IfAÖ) 1998 erstmalig mit der Durchführung einer „Effektmonitoring-Pilotstudie“ in der Wismar-Bucht und in inneren und äußeren Küstengewässern bei Warnemünde. In diesen beiden Gewässern wurden bei Schadstoffrückstandsuntersuchungen an Miesmuscheln *Mytilus edulis* die mit Abstand höchsten Belastungen mit Organochlorpestiziden (HCH, DDT) und PCBs an der Küste nachgewiesen. In den darauf folgenden Jahren wurden weitere Pilotstudien mit einer teilweise modifizierten Parameterauswahl durchgeführt. Außerdem wurde das Untersuchungsgebiet auch auf den östlichen Landesteil erweitert. Die letzte Beprobung im Rahmen einer Pilotstudie erfolgte im Sommer 2004.

Als Bioindikatoren wurden die Wattschnecke (*Hydrobia ulvae*), die Miesmuschel (*Mytilus edulis*) und die Aalmutter (*Zoarcetes viviparus*) ausgewählt. Anhand einer Palette von verschiedenen Biomarkern,

die Stress- und Schadstoffeffekte auf verschiedenen Ebenen der biologischen Organisation erfassen, sollte der „Gesundheitszustand“ der Organismen und somit auch die anthropogene Belastung der Probenahmestationen bewertet werden. Ferner galt es zu prüfen, ob die Reaktionen der Biomarker die bekannte Schadstoffbelastung im Bereich der beprobten Stationen widerspiegeln.

In Tabelle 2 sind alle Biomarker aufgeführt, die im Verlauf der Pilotstudien untersucht wurden. Die konkrete Auswahl der Biomarker für eine bestimmte Feldstudie erfolgte u.a. aufgrund von Ergebnissen vorheriger Pilotstudien oder von Befunden, die im Rahmen anderer biologischer Effektuntersuchungen durch das IfAÖ vorlagen. Hier sind in erster Linie eine Effektstudie im Auftrag des Umweltbundesamtes [UBA] (Gercken & Sordyl, 2002a; Gercken & Sordyl, 2002b; Gercken et al., 2006) und eine Beteiligung am EU-Projekt BEEP (Gercken et al., 2006; Lehtonen et al., 2006; Schiedek et al., 2006) zu nennen. Im Anhang (III.8) ist der ausführlichen Tabelle 6 zu entnehmen, welche Biomarker an einer Probenahmestation im Verlauf aller Pilotstudien jeweils untersucht wurden.

Im folgenden Teil des Berichtes sind die wesentlichen Resultate der Effektmonitoring-Studien zusammengefasst dargestellt. Die Ergebnisse jeder Einzelstudie liegen auch als Einzelberichte vor (Gercken, 1999, 2000b, 2002, 2003b; Gercken & Sordyl, 2001b). Die Befunde der letzten Feldbeprobung (2003/2004) wurden in den vorliegenden Endbericht integriert.

Parameter	Organismus / Matrix	Bedeutung
Imposex	<i>Hydrobia ulvae</i>	Reproduktionstoxische Effekte von zinnorganischen Verbindungen (TBT).
Metallothionein-Induktion	Miesmuschel (Mitteldarmdrüse)	Indikator für erhöhte Exposition mit Metallen.
Acetylcholinesterase-Aktivität (AChE)	Miesmuschel (Kieme) Aalmutter (Muskel)	Indikator für Exposition mit Pestiziden (Organophosphate, Carbamate) und einige Metalle; neurotoxischer Effekt.
Lipidperoxidation	Miesmuschel (Mitteldarmdrüse) Aalmutter (Leber)	Schädigung der Zellmembran durch freie Radikale; Indikator für oxidativen Stress.
Lysosomenstabilität	Miesmuschel (Mitteldarmdrüse)	Unspezifischer Indikator für subzelluläre Schädigung.
Histopathologie der Leber	Aalmutter (Leber)	Indikator für den allg. Gesundheitszustand; Effekte von natürlichem und anthropogenem Stress.
Störung der Gonadenentwicklung	Aalmutter (Hoden, Ovar)	Indikator für Reprotoxizität, endokrine Störung; weites Spektrum an Schadstoffen.
Entwicklungsstörungen bei der Brut	Trächtige Aalmuttern (Larven)	Indikator für Reprotoxizität, endokrine Störung; weites Spektrum an Schadstoffen.

■ Tab. 2:

Biomarker der Effektmonitoring-Studien in den Küstengewässern von M-V

III.2 MATERIAL UND METHODEN

III.2.1 Probenahmestationen und Beprobung der Bioindikatoren

Insgesamt wurden an elf Stationen der mecklenburgisch-vorpommerschen Küste Proben für biologische Effektuntersuchungen genommen (Abb. 5, Abb. 6). In Tab. 3 ist aufgeführt, welcher der drei Bioindikatoren - Wattschnecke (*Hydrobia ulvae*), Miesmuschel (*Mytilus edulis*) und Aalmutter (*Zorces viviparus*) - an den einzelnen Stationen beprobt wurden (siehe auch Anhang Tab. 6).

Für das TBT-Effektmonitoring wurden Wattschnecken anfangs an zwei, später auch an vier und sechs Stationen entlang der Küste von der Wismar-Bucht bis nach Usedom gesammelt (Tab. 3). In der Wismar-Bucht, dem Breitling und im südlichen Greifswalder Bodden wurden die Schnecken in Strandnähe mit Hilfe eines Siebes von der Sedimentoberfläche gesammelt. An der Au-

Benküste vor dem Fischland und Darßer Ort und nördlich von Usedom wurde *H. ulvae* in größerer Wassertiefe mit einem Bodengreifer beprobt.

Die Miesmuschelproben stammten von natürlichen Muschelbeständen entlang der mecklenburgisch-vorpommerschen Küste. Von den insgesamt sechs Probenahmestellen lagen zwei in den inneren und vier in den äußeren Küstengewässern (Abb.5, Tab.3). In den flachen inneren Küstenrevieren (Wismar/Wendorf; Breitling) wurde eine Hand-Dredge für das Sammeln der Muschelproben verwendet. An den Stationen der Außenküste erfolgten die Probenahmen mittels einer größeren Dreieck-Dredge. In jedem Revier (Station) wurden drei getrennte Proben genommen, um den potenziellen Einfluss der in einem Gebiet auftretenden kleinräumigen Variabilität zu verringern.

Aalmuttern wurden von ortsansässigen Fischern bezogen, welche die Tiere als Beifang in Aalreusen gefangen hatten. Die Stellplätze der Reusen lagen in der Wismar-Bucht bei Wismar/Wendorf, im westlichen Salzhaff bei Boiensdorf und im östlichen Breitling bei Rostock. An der Außenküste wurden Aalmuttern am Darßer Ort und bei Zingst sowie im Greifswalder Bodden bei Gager gefangen (Abb. 5, Tab. 3).

Im tabellarischen Anhang (III.8) sind alle im Verlauf der Pilotstudien durchgeführten Beprobungen stationsbezogen aufgelistet (Tab. 6). Aus der Tabelle ist auch zu entnehmen, welche Parameter jeweils an einer Probe untersucht wurden. Im vorliegenden Endbericht sind jedoch nicht alle Resultate der einzelnen Untersuchungen aufgeführt. Die hier getroffene Auswahl dokumentiert die wichtigsten Befunde.

III.2.2 Behandlung der Bioindikator-Proben

Wattschnecke

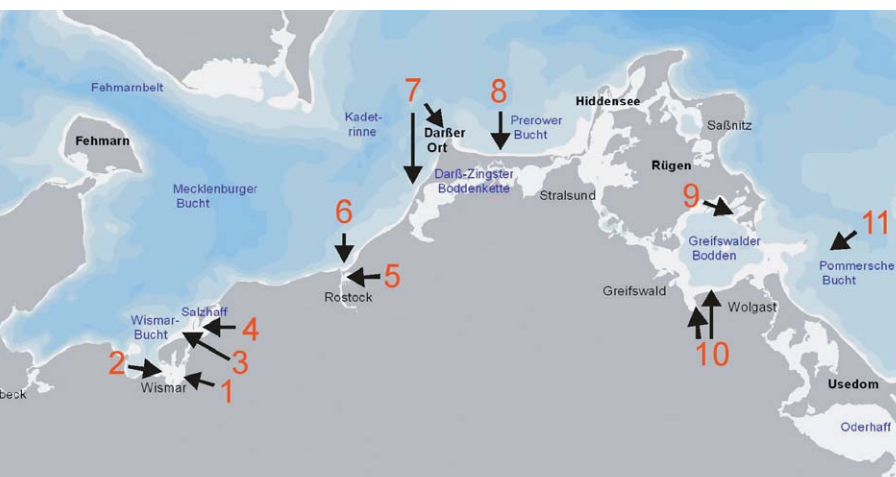
Bei den Siebproben der Wattschnecken handelte es sich immer um eine Mischung der beiden Arten *Hydrobia ulvae* und *H. ventrosa*. Da letztgenannte Art nicht zum Nachweis von Imposex geeignet ist, wurde zunächst *H. ulvae* mit Hilfe einer Binokularlupe aus den Proben aussortiert. Bis zur Auswertung wurden die Schnecken für maximal 10 Tage in gekühltem, belüftetem Wasser, das vom Ort der Beprobung stammte, gehältert.

Miesmuschel

Nach der Probenahme wurden die Muscheln in natürlichem Seewasser, das vom Ort der Probenahme stammte, über Nacht in belüfteten Aquarien gehältert. Zur Entnahme der Organproben wurden die Schließmuskeln der Muschel von den Schalen getrennt und der Weichkörper herausgelöst. Die paarig angelegten Kiemen und die Mitteldarmdrüse wurden freipräpariert und auf Filterpapier kurz abgetupft und dann sofort in flüssigem Stickstoff schockgefroren. Bis zur weiteren Bearbeitung lagerten die Proben bei -70°C in einer Tiefkühltruhe. Die Messung der Acetylcholinesterase-Aktivität erfolgte an Kiemengewebe während die Bestimmung des Metallothioneingehaltes und der Lipidperoxidation an Mitteldarmdrüsen durchgeführt wurde.

Aalmutter

Die Aalmuttern wurden von ortsansässigen Fischern lebend übernommen. Sie waren i.d.R. am Morgen des Abholtages aus den Reusen entnommen worden. Nach dem Transport in den Aquarienraum des IfAÖ wurden sie dort in belüftetem, künstlichem Seewasser für 1-2 Tage gehältert. Innerhalb dieser Zeit erfolgte die Sektion der



■ Abb. 5:

Untersuchungsgebiet mit Lage der Probenahmestationen.

In Tabelle 3 ist aufgeführt, welche Bioindikatoren an den jeweiligen Stationen beprobt wurden.

Stationsnummer	Stationsname	Bedeutung	Bioindikator
1	Wismar/ Wendorf	Strandbereich zwischen Seebrücke und Marina Wendorf	Wattschnecke
		nördl. Seebrücke, Hafffeld, Zufahrt Tonnenhafen	Miesmuschel
		nördl. Seebrücke, Tonnenhof, Ölhafen, Einleiter Klärwerk	Aalmutter
2	Eggers Wiek	beidseits des Fahrwassers im Bereich Eggers Wiek bis Insel Walfisch	Aalmutter
3	nordöstl. Poel	nordöstl. Insel Poel	Wattschnecke
		östl. Insel Poel, vor Halbinsel Wustrow	Miesmuschel
4	Salzhaff	Strandbereich bei Parkplatz und Badestelle Boiensdorf	Wattschnecke
		westl. Salzhaff, Ausgang Salzhaff, Kroy und Kieler Ort	Aalmutter
5	Breitling	Strandbereich nahe Schnatermann im östlichen Breitling	Wattschnecke
		Untiefe zwischen Fahrwasseraufspaltung, nahe Werft	Miesmuschel
		östl. Breitling, Ölhafen, Bereich Marinestützpunkt	Aalmutter
6	nördl. Warnemünde	Außenküste vor Hohe Düne/ Markgrafenheide, östl. des Fahrwassers	Miesmuschel
7	Fischland/ Darß	nördl. Darßer Ort, Seegebiet vor Wustrow/Dierhagen	Wattschnecke
		Darßer Ort, westl. der Fahrinne zum Nothafen	Aalmutter
8	Zingst	nördl. Seebrücke Zingst	Miesmuschel
		Strandbereich östl. Seebrücke	Aalmutter
9	Gager	Hagensche Wiek/Greifswalder Bodden	Aalmutter
10	südl. Greifswalder Bodden	Hafenzufahrt Vierow, Dänische Wiek	Wattschnecke
11	nördl. Usedom	östl. Greifswalder Oie, westl. Oderbank	Miesmuschel

■ Tab. 3:

Lage der Beprobungsstellen der Bioindikatoren an den Stationen

Tiere. Zu Beginn der Sektion wurden die Fische in einem Betäubungsbad (MS 222, Fa. SIGMA) narkotisiert. Dann wurden Gewicht und Länge der Tiere registriert und deren äußerer Zustand überprüft. Nach dem Öffnen der Bauchhöhle wurden die Eingeweide entfernt und das Gewicht des Restkörpers sowie das der Leber und der Gona- de bzw., bei trächtigen Weibchen, das der Larven ermittelt. Im Verlauf der Sektion wurde auch das Vorkommen von Parasiten im Magen-Darmtrakt und der Leber registriert.

III.2.3 Reproduktionstörungen bei *Hydrobia ulvae* (Imposex)

Der Nachweis von Imposex bei der Wattschnecke *Hydrobia ulvae* erfolgte nach der von Schulte-Oehlmann (1997) und Oehlmann et al. (1998b) publizierten Methode. Vor der Sektion wurden die Tiere für die Dauer von ein bis drei Stunden in einer 3%igen $MgCl_2$ -Lösung relaxiert. Die Schalenlänge und Größe der Schalenmündung wurde mit einem Messokular bestimmt und die Schale mit Hilfe eines kleinen Schraubstocks vorsichtig aufgebrochen. Nachdem der Weichkörper unter der Stereolupe von Schalenbruchstücken befreit worden war, wurde das Auftreten von Imposex nach dem für das Monitoring mit *H. ulvae* entwickelten Klassifikationsschema bewertet.



■ **Abb. 6:**

Station Wismar/Wendroff: Industriensiedlung auf dem Hafffeld (A)

Bereich zwischen Tonnenhafen und Werft, Einleiter des Klärwerks (B)

Station Salzhauff: westliches Salzhauff mit Blick auf Boiensdorfer Werder (C)

Station Breitling: Probenahmestelle in Nähe der Werft (D)

östl. Breitling mit Marinehafen und Gebiet „Schnatermann“ (E)

Um die Häufigkeit und Intensität von Imposex an den Stationen zu vergleichen, wurden folgende Indizes berechnet (Oehlmann et al., 1997; Oehlmann et al., 1998; Schulte-Oehlmann, 1997; Schulte-Oehlmann et al., 1996; Schulte-Oehlmann et al., 1997):

- Imposex-Prävalenz: prozentualer Anteil virilisierter Weibchen in der Stichprobe
- VDS-Index (Vas Deferens-Sequenz Index): arithmetischer Mittelwert aller Imposexstadien. Der VDS-Index gilt als Indikator für die Imposex-Intensität.

$$VDS - Index = \frac{\sum IS}{n_w}$$

Dabei bedeuten:

IS: Imposexstadium. Besitzt je nach Ausprägung Wert von 1 bis 5.

n_w : Anzahl der untersuchten weiblichen Schnecken in einer Stichprobe

III.2.4 Untersuchungen an der Miesmuschel

III.2.4.1 Konditionsindex

Von jeder der drei in einem Muschel-Revier gesammelten Proben wurde an einer Stichprobe von 25 bis 30 Individuen jeweils ein Konditionsindex ermittelt. Hierzu wurde der Weichkörper von den Schalen getrennt und beide Körperteile für ca. 24h bei 60°C in einem Trockenschrank getrocknet. Anhand der Trockengewichte von Schale und Weichkörper wurde der Konditionsindex (KI) folgendermaßen errechnet:

$$KI = \text{Trockengewicht} \times 100 / \text{Schalengewicht}$$

Zur Charakterisierung einer Probe wurde anhand der KI einzelner Muscheln Mittelwert und Standardabweichung errechnet.

III.2.4.2 Metallothionein-Bestimmung

Zur Bestimmung des Metallothionein-Gehaltes [MT] in der Mitteldarmdrüse von *Mytilus edulis* wurde die spektrophotometrische Methode von Viarengo et al. (1997) angewandt. Bei diesem Verfahren wird mit Hilfe von Ethanol/Chloroform vorgereinigtes MT aus dem Mitteldarmdrüsen-

Homogenat (30.000g-Fraktion) ausgefällt. Dabei wird das während der Homogenisation und MT-Fällung notwendige reduzierende Milieu durch die Anwesenheit von Mercaptoethanol gewährleistet. Der MT-Gehalt der Probe wird dann über die photometrische Erfassung der in den MT zahlreich vorhandenen SH-Gruppen (Cystein-Gehalt 20-30%) in Gegenwart von Ellman's Reagenz (DTNB) bestimmt.

Für die quantitative Berechnung der MT-Konzentration wurde eine Glutathion-Standardkurve als Referenz benutzt. Mit Hilfe von Umrechnungsfaktoren, die den molekularen Aufbau von Muschel-Metallothionein berücksichtigen, lässt sich dann aus dem mit der Standardkurve ermittelten Wert die MT-Konzentration der Probe in ng/g Feuchtwicht errechnen (UNEP/ RAMOGE, 1999). Die MT-Bestimmung erfolgte an Sammelproben von jeweils 10 Mitteldarmdrüsen. Im Jahr 1999 wurden drei Proben und in den folgenden Jahren neun Proben von einer Station gemessen.

III.2.4.3 Acetylcholinesterase-Aktivität

Bei der Miesmuschel wurde die Aktivität der Acetylcholinesterase (E.C.3.1.1.7 [AChE]) im Kiemengewebe nach der Methode von Boquene & Galgani (1998) durchgeführt. Zunächst wurde das Organ mit vier Volumina 0,02M Phosphatpuffer (KH₂PO₄/Na₂HPO₄, pH 7), dem 0,1% Triton-X100 zugefügt war, versetzt und mit Hilfe eines Ultra-Turrax-Mixers (IKA-Werke, Staufen) homogenisiert und anschließend zentrifugiert (10.000g, 20min, 4°C).

Die Messung der Enzymaktivität im Homogenat erfolgte in Mikrotiterplatten (MTP) mit jeweils vier parallelen Ansätzen für jede Probe. Pro Ansatz wurden 330µl Phosphatpuffer (ohne Triton-X100) und 20µl DTNB (Dithiobisnitrobenzoesäure in 0,1M Tris-Puffer, pH 8) in jede Kavität vorgelegt und dann 20µl Gewebehomogenat zugegeben. Nach Schütteln und einer 5-minütigen Inkubation wurde die Enzymreaktion durch Zugabe von 10µl ACTC-Substrat (0,1M Acetylthiocholinjodid in *A.demin.*) gestartet. Als Kontrolle erhielten vier Ansätze Phosphatpuffer anstelle eines Gewebextraktes. Die Änderung der Extinktion wurde mit einem Photometer (Spectra Thermo, Fa. TECAN, Crailsheim) in 2-minütigen Intervallen über einen Zeitraum von 10min bei einer Wellenlänge von 405nm gemessen. Die mittlere Änderung der Ex-

tinktion pro Minute ($\Delta OD/\text{min}$) ging zur Berechnung der AChE-Aktivität in die unten aufgeführte Formel ein.

Damit die Aktivität der AChE auf den Proteingehalt des Kiemengewebes bezogen werden konnte erfolgte außerdem eine Proteinbestimmung entweder nach einer für MTP modifizierten Methode von Bradford (1976) oder mit dem Roti[®]-Quant-Reagenz (Roth, Karlsruhe) nach Angaben des Herstellers.

Formel zur Berechnung der AChE-Aktivität =

Dabei bedeuten:

ΔOD_{410} = Extinktionsänderung pro Minute
 Vol_T = Gesamtvolumen pro Reaktionsansatz (0,38ml)

$1,36 \times 10^4$ = Extinktionskoeffizient von TNB [$M^{-1}cm^{-1}$]

Lichtweg = Tiefe der Mikrotiterplatte (1,0cm)
 Vol_S = Probenvolumen pro Reaktionsansatz (0,02ml)

[Protein] = Proteinkonzentration des enzymatischen Extraktes ($mg\text{ml}^{-1}$)

III.2.4.4 Lipidperoxidation

Die Messung der Lipidperoxidation in der Mitteldarmdrüse (MDD) der Miesmuschel wurde nach der Methode von Buege & Aust (1978) durchgeführt. Dabei wird Malondialdehyd [MDA], das als Degradationsprodukt beim oxidativen Abbau ungesättigter Fettsäuren entsteht, in einer Reaktion mit Thiobarbiturat bei einer Wellenlänge von 535nm photometrisch quantifiziert.

Einzelne MDD wurden 1:4 (G/V) in Phosphatpuffer (pH 7,2) mit Hilfe eines Ultra-Turrax-Mixers in Eppendorf-Reaktionsgefäßen homogenisiert und anschließend 15min bei 10.000g und 4°C in einer Kühlzentrifuge (Fa. Heraeus) zentrifugiert. Zu 100µl Homogenatüberstand wurde 1ml TTH-Reagenz (15% Trichloressigsäure; 0,375% Thiobarbitursäure; 0,25N HCL) gegeben und der Ansatz

20min in siedendem Wasser erhitzt. Das dabei entstandene weiße Präzipitat wurde nach Abkühlen in einem Eisbad für 10min bei 10.000g abzentrifugiert. Abschließend erfolgte die Messung der Extinktion im Überstand mit einem Spektralphotometer (Cadas 100, Fa. Dr. Lange) bei einer Wellenlänge von 535nm. Aus dem Extinktionsmesswert und dem spezifischen Extinktionskoeffizienten von $\epsilon = 1,56/\mu\text{mol}/\text{cm}$ wurde die Konzentration von Malondialdehyd bezogen auf das Feuchtgewicht errechnet.

III.2.4.5 Lysosomenstabilität

Zur Bestimmung der Membranstabilität von Lysosomen wurde die Mitteldarmdrüse aus dem Weichkörper präpariert und über einen Zwischenschritt in tiefgekühltem Hexan (-70°C), in flüssigem Stickstoff schockgefroren und dann bis zur weiteren Verarbeitung bei -70°C gelagert. Mit einem Kryostat-Mikrotom (Leitz 1720; Kabinett-Temperatur -21°C) wurden serielle Schnitte von 10µm Dicke angefertigt und dann nach dem Protokoll von Moore (1976) die Ermittlung der Lysosomenstabilität vorgenommen. Zuerst erfolgte eine Inkubation der Schnitte bei 37°C in Citratpuffer (0,1M; pH 4,5), wobei die einzelnen Schnitte einer Serie (n=8) einer unterschiedlich langen Inkubationsdauer ausgesetzt wurden (2 - 5 - 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 40min). Daran schloss sich eine 20-minütige Inkubation bei 37°C in Citratpuffer (0,1M; pH 4,5) an, der folgende Zusätze enthielt: Naphthol-AS-Bi-N-Acetyl-β-D-Glucosaminid (20mg/50ml; SIGMA), NaCl (1,5g/50 ml) und Polypep (3,5g/50 ml; SIGMA). Anschließend wurden die Schnitte bei 37°C in 3%-igem NaCl für 2min gewaschen und dann 10min im Kühlschrank in Phosphatpuffer (0,1M; pH 7,5), der das Diazoniumsalz Fast Violett B (1mg/ml; SIGMA) enthielt, inkubiert. Nach kurzem Spülen in *A. demin.* wurden die Schnitte 10min im Kühlschrank in Calcium-Formalin (4%, +2,5% NaCl) fixiert. Abschließend wurden die Schnitte gewaschen und in Glycerin-Gelatine eingedeckt.

III.2.5 Untersuchungen an der Aalmutter

III.2.5.1 *Biometrische Charakterisierung, Organindizes und Parasitierung*

Anhand der im Verlauf der Sektion registrierten Längen- und Gewichtsdaten wurden der Konditionsindex (KI), der Lebersomatische Index (LSI), der Gonadosomatische Index (GSI) und der Embryosomatische Index (ESI) nach folgenden Formeln berechnet:

LSI = $\frac{\text{Lebergewicht} \times 100}{\text{somatisches Körpergewicht}}$
(Somatisches Körpergewicht: Totalgewicht - Gonadengewicht)

KI = $\frac{\text{Totalgewicht} \times 100}{\text{Länge}^3}$

GSI = $\frac{\text{Gonadengewicht} \times 100}{\text{somatisches Körpergewicht}}$
(im Juni/Juli während der Gonadenentwicklung)

ESI = $\frac{\text{Larvengewicht} \times 100}{\text{somatisches Körpergewicht}}$
(im Herbst bei trächtigen Weibchen)

Bei der Leber wurde der makroskopisch erkennbare Befall durch Parasiten registriert. Die Bewertung der Intensität der Parasitierung erfolgte immer durch dieselbe Person, die - unter Berücksichtigung der an allen Stationen beobachteten Parasitierung - eine Zuordnung in drei Befallsstufen (gering - moderat - stark) vornahm.

III.2.5.2 *Histologische Untersuchung der Leber*

Für die histopathologische Beurteilung der Leber wurde ein Gewebestück aus dem mittleren Bereich des Organs 2 bis 3 Tage in Bouin'scher Lösung fixiert. Anschließend wurde die Probe in 70%-Ethanol überführt und darin bis zur weiteren Aufarbeitung gelagert. Vor der Einbettung in Technovit-7100-Kunstharz (Heraeus Kulzer, Wehrheim) wurde das Gewebe stufenweise in einer aufsteigenden Ethanol-Reihe dehydriert. Darauf folgten Inkubationen in einer 100%-Ethanol-Monomerlösung (1:1, V:V) und einer 100%-Monomerlösung. Nach Überführung der Leberstücke in Einbettformen aus Kunststoff erfolgte die Einbettung in frischer Monomerlösung, der ein Katalysator zum Start der Polymerisationsreaktion zu-

gefügt worden war. Mit einem motorgetriebenen Mikrotom (Microm HM-360, Walldorf) wurden von den Gewebestücken 3µm dicke Schnitte angefertigt. Als Standardfärbung wurde eine Färbung mit Hämalaun-Eosin und eine Färbung mit Toluidinblau, durchgeführt (Romeis, 1989). Zur speziellen Darstellung von Makrophagen-Aggregaten im Lebergewebe erfolgte außerdem eine Berliner-Blau-Färbung der Präparate (Gerrits, 1992).

III.2.5.3 *Histologischer Nachweis von Intersex im Hoden*

Für die histopathologische Untersuchung des Hodens wurde das komplette paarige Organ zwei bis drei Tage in Bouin'scher Lösung fixiert und dann bis zur weiteren Bearbeitung in 70%-Ethanol gelagert. Die Einbettung erfolgte nach der für die Leberhistologie beschriebenen Methode. Im Unterschied zur Leberprobe wurden von eingebetteten Hodenabschnitten Querschnitte in drei verschiedenen Schnittebenen angefertigt. Diese Maßnahme diente dazu, auch geringgradig ausgeprägte Formen von Intersex effektiver nachzuweisen. Standardmäßig wurden Färbungen mit Hämalaun-Eosin und Toluidinblau durchgeführt (Romeis, 1989). Die mikroskopische Befundung der Hoden-Präparate wurde immer von derselben Person durchgeführt, um eine einheitliche Bewertung der Intensität von Intersex anhand folgender Kriterien zu gewährleisten:

- geringgradig: bis zu 10 weibliche Keimzellen in allen drei Schnittebenen
- moderat: bis zu 25 weibliche Keimzellen in allen drei Schnittebenen
- stark: mehr als 25 weibliche Keimzellen in allen drei Schnittebenen

III.2.5.4 *Erfassung von Degenerationen bei der Eientwicklung (Atresie)*

Zur Zeit der Probenahme im Juni/Juli war die Eientwicklung im Ovar bereits so weit fortgeschritten, dass degenerative Veränderungen bereits makroskopisch zu erkennen waren. Zur genaueren Bewertung auffälliger Störungen wurde das unpaare Organ vorsichtig mit einem Längsschnitt geöffnet und in einer Petrischale flächig ausgebreitet. Mit Hilfe eines Binokulars erfolgte dann die detaillierte Prüfung bezüglich des Auftretens

von Störungen bei den Eizellen. Die subjektiv getroffene Bewertung des Schädigungsgrades (gering - moderat - stark) wurde immer von derselben Person vorgenommen.

III.2.5.5 Reproduktionsstörungen bei der Brut trächtiger Weibchen

Untersuchungen zum Auftreten von Entwicklungsstörungen bei den Larven trächtiger Aalmuttern wurden im Oktober/November durchgeführt. Die Methodik der Bewertung orientierte sich im Wesentlichen an den Richtlinien, nach denen das Aalmutter-Monitoring in schwedischen Küstengewässern erfolgt (Neumann et al., 1999).

III.2.5.5.1 Mortalität und Missbildungen bei den Larven

Zur Untersuchung der Larven wurde das freisezierte Ovar in eine Schale mit filtriertem Seewasser überführt und die Larven durch Aufschneiden der Ovarwand freigesetzt. Sofort erfolgte eine Prüfung der gesamten Brut hinsichtlich des Vorkommens von toten und/oder missgebildeten Larven. Für die Berechnung des Embryosomatischen Index (s.o.) wurde das Abtropfgewicht der Larven registriert. Abschließend wurden die Larven für eine spätere Ermittlung der Längenverteilung - nach Betäubung in MS-222 - in Bouin'scher Lösung oder in 4%-Paraformaldehyd fixiert.

III.2.5.5.2 Wachstumshemmung der Larven

Um das potenzielle Auftreten einer Wachstumshemmung bei den Larven zu ermitteln, wurden die individuellen Längen aller Larven einer Nachkommenschaft gemessen und die Werte in Längenklassen (Intervalle 2,5mm) gruppiert. Waren mehr als 5% der Larven kleiner als ihre Geschwister in den drei größten Längenklassen, wurde die Brut des betroffenen Weibchens als „wachstumsgehemmt“ angesehen. Diese Bewertung basiert auf der em-

pirischen Erfahrung, dass das Längenwachstum der Larven innerhalb einer Brut kaum variiert und alle Larven i.d.R. den zwei bis drei größten Längenklassen angehören (Neumann et al., 1999).

III.2.6 Statistik und Darstellung der Ergebnisse

Die grafische Darstellung von Ergebnissen erfolgt entweder als Histogramm oder als Box-Plot, der auch Informationen zur Verteilung der Daten liefert. Der Querstrich in der Box repräsentiert den Median der Verteilung. Die unteren und oberen Seiten der Box markieren die 25%- und 75%-Quartile, so dass die Länge der Box (Interquartilabstand) 50% der Messwerte umfasst. Die Whisker geben die 10%- und 90%-Perzentile und die Punkte die 5%- und 95%-Perzentile an. Statistische Prüfungen auf Signifikanzunterschiede zwischen mehreren Gruppen bzw. Stationen erfolgten mit dem Kruskal-Wallis-ANOVA-Rangsummentest. Für den multiplen Vergleich von Mittelwerten wurden post-hoc-Tests (Dunn's, Tukey) durchgeführt. Außerdem erfolgten an den nonparametrisch verteilten Stichproben auch paarweise Vergleiche mit dem U-Test nach Mann und Whitney.

Zur Durchführung von Berechnungen und Erstellung von Grafiken wurden die Statistikprogramme StatView (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA) und SigmaStat/ SigmaPlot (Systat Software, Inc., Point Richmond, CA) verwendet.

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse der Untersuchungen an den Bioindikatoren Wattschnecke und Miesmuschel vorgestellt. Danach werden die an der Aalmutter erhobenen Befunde präsentiert. Die Darstellung der Resultate erfolgt vorwiegend in grafischer Form. Numerische Werte sind tabellarisch im Anhang (III.8) zusammengestellt.

III.3 TBT-EFFEKTMONITORING MIT DER WATTSCHECKE *HYDROBIA ULVAE*

Freiland- und Laboruntersuchungen haben gezeigt, dass die Wattschnecke *Hydrobia ulvae* ein gut geeigneter Bioindikator für das biologische Monitoring von Effekten zinnorganischer Substanzen (TBT) darstellt (Schulte-Oehlmann, 1997; Schulte-Oehlmann et al., 1997; Oehlmann et al., 1998). So induziert eine TBT-Exposition bei weib-

lichen Tieren dosisabhängig eine pathologische Ausprägung männlicher Geschlechtsmerkmale (Penis und/oder Samenleiter) zusätzlich zu den vorhandenen weiblichen Reproduktionsorganen. Diese Fehlbildung wird als „Imposex“ bezeichnet. Je nachdem, ob zuerst ein Penis oder Vas deferens (Samenleiter) angelegt wird, lassen sich zwei Ent-

wicklungsreihen der Imposex-Entwicklung unterscheiden. In der a-Reihe wird bei den Weibchen zuerst ein Penis und nachfolgend ein Samenleiter angelegt, während in der b-Reihe in der Frühphase der Imposexentwicklung zuerst ein Vas deferens und später zusätzlich ein Penis auftritt. Den verschiedenen Stadien der Imposex-Entwicklung sind Zahlenwerte zugeordnet, die eine numerische Beschreibung der Imposex-Intensität in einer Population ermöglichen (Abb. 7).

Für die Bewertung der TBT-Belastung wurden beim vorliegenden Monitoring die biologischen Indizes Imposex-Prävalenz und VDSI (Vas deferens-Sequenz-Index) gewählt. Die Imposex-Prävalenz beschreibt den Anteil virilisierter Weibchen in einer Probe. Der VDSI berechnet sich als arithmetisches Mittel aller Imposexstadien (1-5) einer Stichprobe und spiegelt die Intensität des Imposex-Phänomens wieder. Beide Indices stellen die am besten geeigneten Endpunkte für ein TBT-Effektmonitoring dar (Schulte-Oehlmann, 1997; Schulte-Oehlmann et al., 1997; Oehlmann et al., 1998b).

In den inneren Küstengewässern Wismar-Bucht (Wendorf, Boiensdorf), Breitling (Schnatermann) und südlicher Greifswalder Bodden (Vierow, Dänische Wiek) erfolgte die Beprobung der Schnecken in Strandnähe in geringer Wassertiefe. An der Außenküste (nördl. Poel, Fischland/Darß, nördl. Usedom) lagen die Probenahmestellen weiter von der Küste entfernt und wiesen dementsprechend eine größere Wassertiefe auf.

Das Ergebnis des TBT-Effektmonitorings ist in den Abb. 8 und Abb. 9 als Imposex-Prävalenz und als VDS-Index dargestellt (Anhang Tab. 7). Wie deutlich zu erkennen ist, wies *Hydrobia ulvae* an den in der Wismar-Bucht gelegenen Stationen Wismar (Wendorf) und Salzhaff (Boiensdorf) sowie im Breitling bei Rostock (Schnatermann) hohe Imposex-Prävalenzen auf (Abb. 8). Im Breitling war die Prävalenz bei allen drei Beprobungen mit im Durchschnitt knapp 50% konstant hoch. Bei Wismar trat Imposex in den ersten vier Jahren des Monitorings ebenfalls häufig auf. In den Jahren 2003 und 2004 wurde dann ein deutlicher Rückgang der Prävalenz registriert. An der Station Boiensdorf im Salzhaff war die Imposex-Prävalenz anfangs mit 18% und 25% vergleichsweise gering. Sie stieg dann aber in den Jahren 2001 und 2002 bis auf gut 40% an, um danach wieder deut-

lich abzufallen. Die Proben aus dem südlichen Greifswalder Bodden und von den drei Stationen an der Außenküste wiesen eine deutlich geringere Imposex-Prävalenz auf. Im Seegebiet vor dem Fischland und Darßer Ort wurde in den drei Beprobungsjahren keine Wattschnecke mit Imposex beobachtet. Nördlich von Usedom wurde im Verlauf der dreimaligen Probenahmen ein totaler Rückgang der Imposex-Häufigkeit verzeichnet.

In Übereinstimmung mit den Befunden zur Imposex-Prävalenz wiesen die Stationen Wendorf, Boiensdorf und Breitling auch die stärkste Imposex-Intensität (VDS-Index) auf (Abb. 9). Bei Wendorf war der Rückgang der Imposex-Prävalenz auch mit einer Abnahme des VDS-Index verbunden. Auch für Boiensdorf wiesen die Veränderungen des VDS-Index einen ähnlichen Verlauf wie bei der Prävalenz auf. Die anhaltend hohen VDS-Indices der Proben vom Schnatermann (Breitling) zeigen an, dass hier Imposex vergleichsweise am stärksten ausgeprägt war. An den Stationen nördlich Poel und im Greifswalder Bodden, an denen nur eine geringe Häufigkeit von Imposex bestand war diese Pathomorphose hingegen nur sehr schwach ausgeprägt. Hier wiesen die wenigen betroffenen weiblichen Wattschnecken ausschließlich frühe Penisbildungen auf [Stadium = 1] (Abb. 7A). Im Gebiet nördlich von Usedom war der Rückgang der Imposex-Häufigkeit auch mit einer Abnahme der Intensität verbunden.

An den Stationen in den inneren Küstengewässern war *H. ulvae* in unterschiedlichem Ausmaß von verschiedenen Entwicklungsstadien von Trematoden befallen. Gelegentlich auftretende Fälle von Imposex bei parasitierten Schnecken wurden nicht berücksichtigt. Die hier vorgelegten Imposex-Befunde beruhen auf Proben, die keine erkennbare Parasitierung aufwiesen.

Insgesamt spiegeln die Befunde des TBT-Effektmonitorings an der Wattschnecke *H. ulvae* die deutlich höheren TBT-Konzentrationen in den inneren Küstengewässern im Vergleich zur Außenküste auf der biologischen Effektebene deutlich wieder. So wurden die höchste Prävalenz und stärkste Ausprägung von Imposex bei Schnecken aus dem Breitling bei Rostock ermittelt. Als weiterer bekannter Schwerpunkt einer TBT-Belastung von Sediment und Biota wies auch Wismar/Wendorf im Mittel eine relativ hohe Imposex-Prävalenz auf.

Entgegen der ursprünglichen Erwartung war auch die Imposex-Prävalenz bei Boiensdorf im Salzhaff vergleichsweise hoch. Sie stieg im Verlauf der sechsmaligen Beprobungen an und erreichte zeitweilig ähnlich hohe Werte wie bei Wendorf. Entsprechendes galt auch für die Imposex-Intensität (VDS-Index). Dieser Befund war überraschend, denn eine begleitend zur ersten Pilotstudie durchgeführte TBT-Analytik an Miesmuscheln hatte eine weit höhere TBT-Belastung der Tiere im Gebiet von Wismar/Wendorf im Vergleich zum Salzhaff ergeben (Gercken, 1999). Aus den Daten der TBT-Belastung von Sedimenten im Salzhaff ist aber auch ersichtlich, dass dort starke regionale Konzentrationsunterschiede vorhanden sind. Die maximal ermittelten TBT-Gehalte waren vergleichbar hoch wie bei Wendorf (LUNG, 1995-2002). Vom Probenahmegebiet am Boiensdorfer Strand liegen keine Sedimentdaten vor. Möglicherweise ist der nahe gelegene Hafen eine Quelle der TBT-Belastung im Bereich der Probenahmestelle (siehe auch III.6).

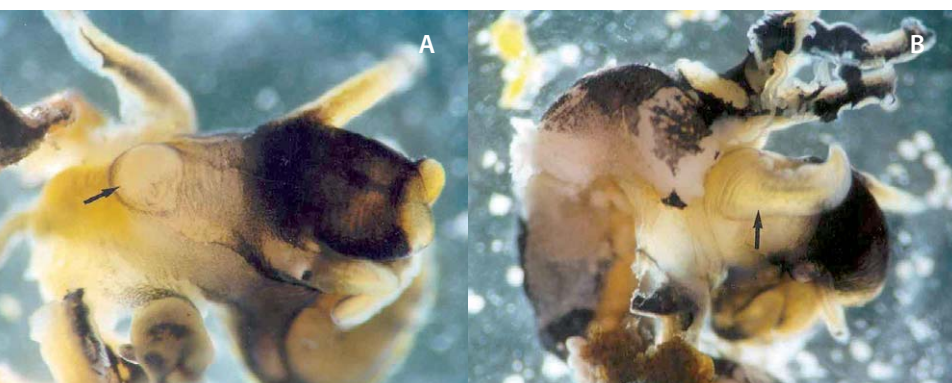
Interessanterweise wiesen die Proben von Wendorf und Boiensdorf bei den letzten beiden Beprobungen deutlich geringere Imposex-Prävalenzen und VDS-Indices auf als in den Jahren zuvor. Eine Fortsetzung des Monitorings kann zeigen, ob dieses relativ niedrige Niveau anhält. Sollte das der Fall sein, wäre dies ein starkes Indiz dafür, dass Anwendungsverbote zu einem Rückgang der TBT-Belastung geführt haben. An der Station Wendorf könnte auch die vollständige Inbetriebnahme des neuen Klärwerks zur Abnahme der Imposex-Prävalenz beigetragen haben.

Im Rahmen einer vom UBA beauftragten Studie zur Eignung einheimischer mariner Vorderkiemerschnecken erfolgten ebenfalls Beprobungen von *H. ulvae* im Salzhaff bei Boiensdorf und bei

Wismar/Wendorf. Dabei wurden starke Schwankungen der Imposex-Häufigkeit zwischen einzelnen Beprobungen beobachtet (Oehlmann et al., 1998b). Sowohl bei Wendorf als auch im Salzhaff lagen die ermittelten Prävalenzen in einem Bereich, wie er bei den hier vorgestellten Pilotstudien ermittelt wurde.

Detailliertere Vergleichsdaten aus anderen Gebieten der Ostsee, sind in der veröffentlichten wissenschaftlichen Literatur nicht zu finden. Dies ist sicherlich auch dem Umstand geschuldet, dass von Seiten der HELCOM keine Anstrengungen unternommen wurden, dass in der Nordsee übliche TBT-Effektmonitoring - an geeigneten Bioindikatoren - auch in der Ostsee zu implementieren. Vermutlich handelt es sich bei dem hier vorgestellten TBT-Effektmonitoring in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern um das bislang umfangreichste an *H. ulvae* durchgeführte Monitoring im Bereich der Ostsee.

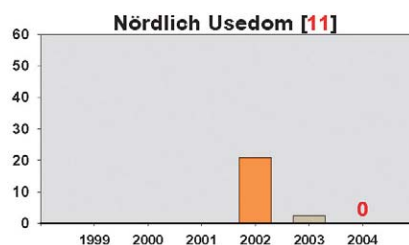
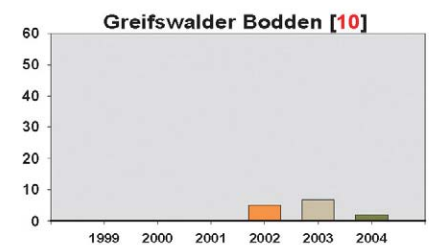
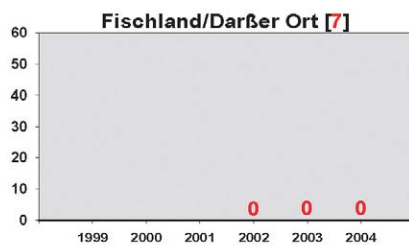
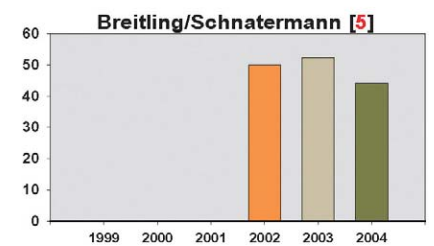
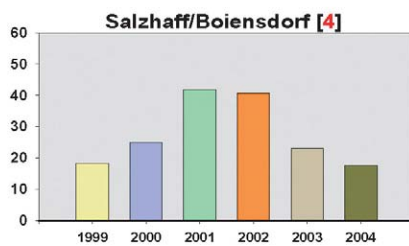
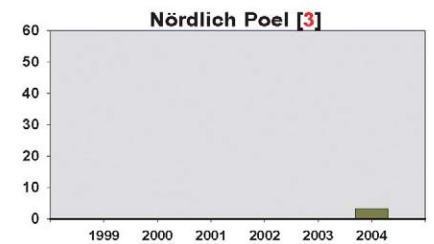
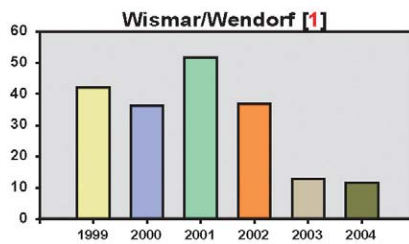
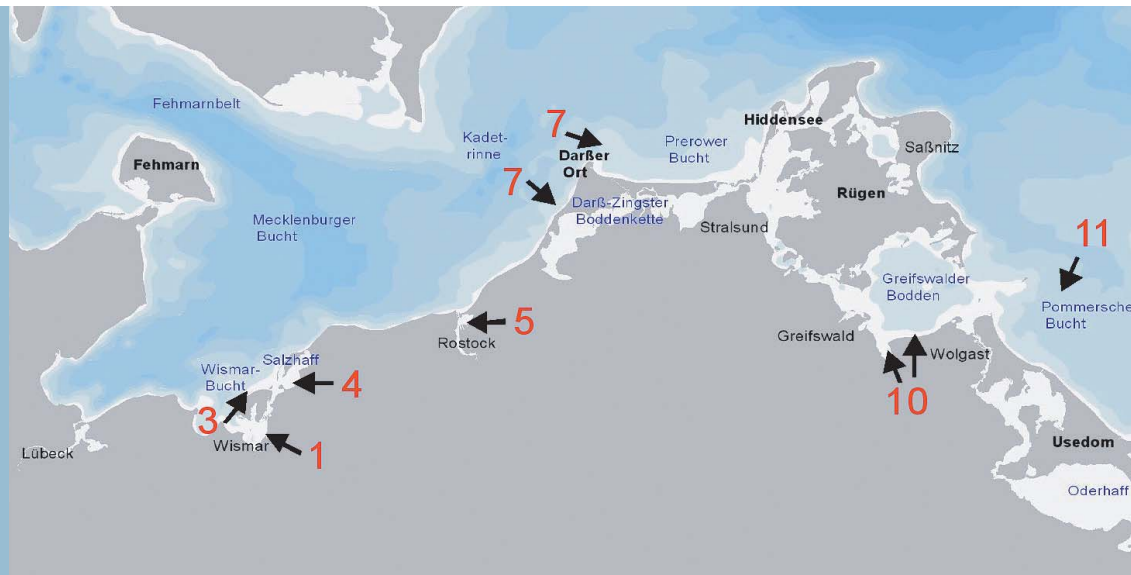
Im OSPAR-Konventionsgebiet zählt das TBT-Monitoring von Imposex/Intersex mit ausgewählten Vorderkiemerschnecken zu den obligatorischen Parametern im Rahmen von OSPAR/CEMP (ICES, 2006). An der Nord- und Ostseeküste von Schleswig-Holstein ist die Strandschnecke *Littorina littorea* ein weit verbreiteter Bioindikator, an dem dieses verpflichtende Monitoring durchgeführt werden kann (LANU, 2001). Diese Möglichkeit ist für Mecklenburg-Vorpommern nicht gegeben, da hier die Strandschnecke nur punktuell in salzhaltigeren Gebieten vorkommt. Für ein TBT-Monitoring an der gesamten Küste, insbesondere der stärker TBT-belasteten inneren Gewässer, ist sie daher nicht geeignet. Wie die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, ist aber mit *Hydrobia ulvae* ein geeigneter Bioindikator für das TBT-Effektmonitoring vorhanden.

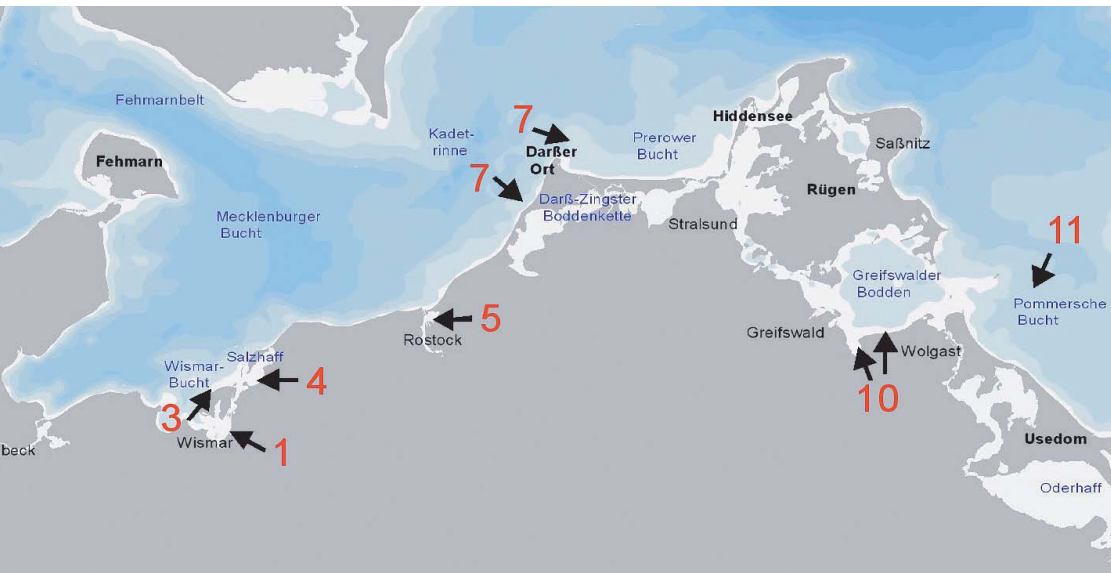


■ **Abb. 7:**

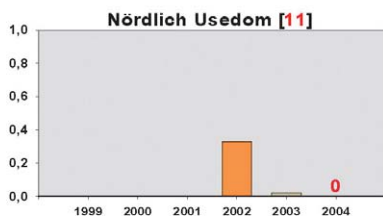
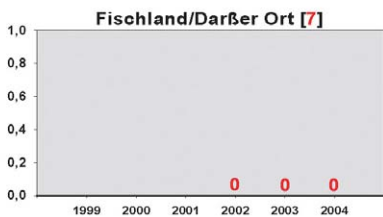
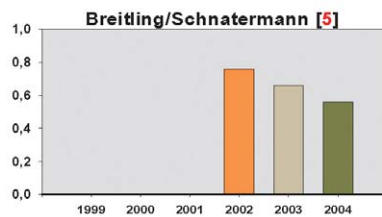
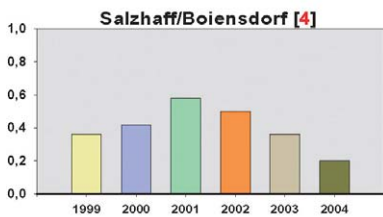
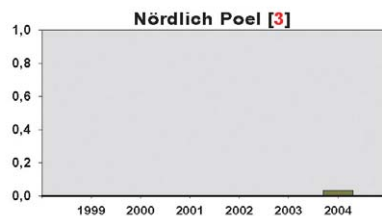
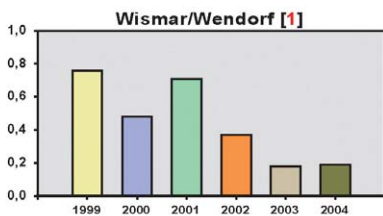
Unterschiedlich starke Ausprägung von Imposex bei *H. ulvae*. Beginnende Imposex-Bildung mit Penisprimordium [Stadium 1a, Pfeil] (A) Fortgeschrittene Penisentwicklung [Stadium 2a, Pfeil] (B)

■ **Abb. 8:**
 Imposex-Prävalenz [%]
 bei *Hydrobia ulvea* im
 Untersuchungsgebiet.





■ **Abb. 9:**
 Intensität von *Imposex*
 bei *Hydrobia ulvea* im
 Untersuchungsgebiet.
 [Angaben als VDS-Index]



III.4 BIOMARKERUNTERSUCHUNGEN AN DER MIESMUSCHEL

III.4.1 Kondition der Miesmuschel-Proben

Als Begleitparameter zur Charakterisierung der Muschelproben wurde der Konditionsindex (KI) ermittelt. Er gibt das Verhältnis des Weichkörper-trockengewichts zum Schalengewicht wieder und wird verwendet, um den konditionellen Zustand der Muscheln zum Zeitpunkt der Beprobung abzuschätzen.

Aus der Gesamtbetrachtung aller Beprobungen ergibt sich, dass die Muscheln aus den inneren Küstengewässern bei Wismar/Wendorf und im Breitling bei Rostock im Durchschnitt einen höheren KI besaßen als die Muscheln von der Außenküste. Bei Wendorf nahm der KI der Muschelproben im Verlauf der letzten Pilotstudien tendenziell ab, während bei Poel ein Anstieg zu verzeichnen war. An den übrigen Stationen wies der KI unregelmäßige jährliche Schwankungen auf (Abb. 10, Anhang Tab. 8).

Bei der Interpretation dieser Befunde ist zu berücksichtigen, dass der KI ein integrativer Begleitparameter ist, der natürlicherweise große Veränderungen im Jahreslauf aufweist. Er wird wesentlich von den Faktoren Nahrungsangebot und Reproduktionszyklus bestimmt. Außerdem wirken auch verschiedene Arten von Stress auf den KI. Beispielsweise kann eine Hemmung der Filtrationsleistung von Muscheln oder der Speicherung von Nahrungsenergie zu einer Abnahme des KI führen.

Die beobachtete Variabilität des KI ist somit vorwiegend Ausdruck der von Jahr zu Jahr mehr oder weniger stark wechselnden abiotischen und biotischen Umweltbedingungen. Bei einer zeitigen Beprobung im Oktober können Temperatur und Nahrungsangebot den physiologischen Zustand der Muscheln noch positiv beeinflussen, während die Tiere bei einer späteren Probenahme bereits von ihren Energiereserven zehren mussten.

Im Durchschnitt besaßen die Miesmuscheln aus der inneren Wismar-Bucht (Wendorf) und dem Breitling einen höheren KI als ihre Artgenossen an der Außenküste. Dies ist im Wesentlichen auf das größere und über einen längeren Zeitraum

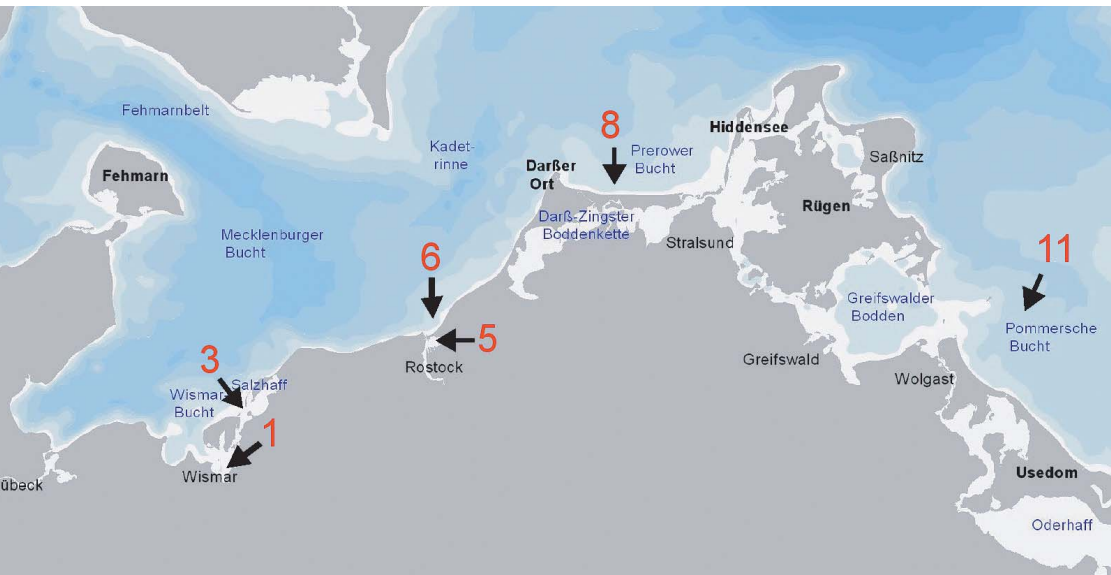
verfügbares Nahrungsangebot in den stark eutrophen inneren Küstengewässern zurückzuführen.

Im Rahmen von Untersuchungen des IfAÖ zur Saisonalität von Schadstoffeffekten bei der Miesmuschel wurden regional unterschiedliche Jahresgänge physiologischer Parameter (Lipid-, Glykogengehalt, KI, Reproduktionsstatus) bei Miesmuscheln aus dem Breitling und von der Außenküste (nördlich Warnemünde, Kühlungsborn) ermittelt (Gercken & Sordyl, 1999; Gercken & Sordyl, 2003). Die Befunde machen deutlich, dass Kenntnisse über saisonale Veränderungen des physiologischen Status eines Bioindikators notwendige Begleitinformationen zur Bewertung der Ergebnisse des Monitorings von Schadstoffen oder biologischen Effekten darstellen.

III.4.2 Metallothionein-Konzentration

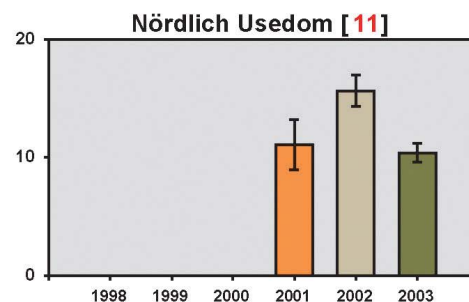
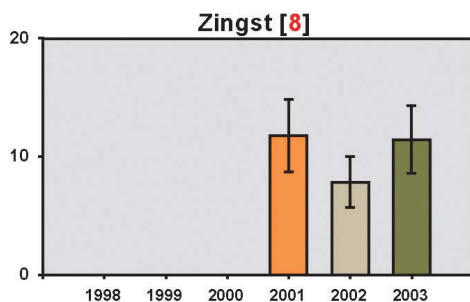
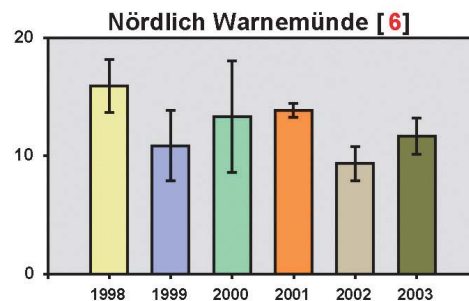
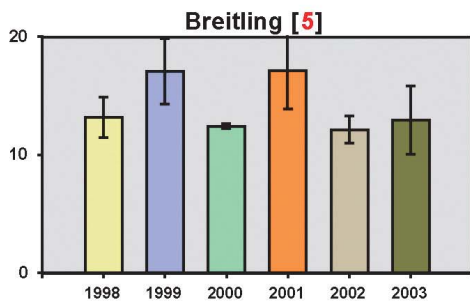
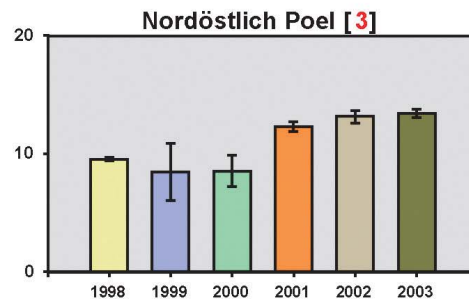
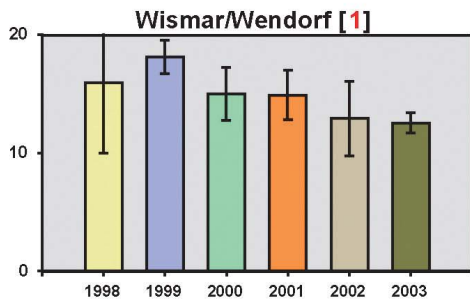
Die Bestimmung der Konzentration von metallbindenden Metallothioneinen [MT] in der Mitteldarmdrüse der Miesmuschel sollte darüber Aufschluss geben, ob die Tiere in den verschiedenen Probenahmegebieten einer erhöhten Exposition mit bioverfügbaren Schwermetallen ausgesetzt waren. Jeweils zehn Mitteldarmdrüsen (MDD) wurden als Sammelprobe homogenisiert und die MT-Konzentration nach der Methode von Viarengo et al. (1997) photometrisch bestimmt.

Die Ergebnisse der einzelnen Pilotstudien sind in Abb. 11 und Tab. 9 (Anhang) dargestellt. Bei der ersten Messung (1999) wiesen die Miesmuscheln an allen vier beprobten Stationen im Mittel einen relativ ähnlichen MT-Gehalt der Mitteldarmdrüse auf. In den folgenden Jahren zeigten sich dann bei einzelnen Beprobungskampagnen regionale Unterschiede. So wiesen die bei Wismar gesammelten Muscheln in den Jahren 2000 und 2001 hohe und 2002 vergleichsweise geringe MT-Konzentrationen im Vergleich zu anderen Gebieten auf. Auch in Muscheln aus dem Seegebiet nördlich Warnemünde wurden in einem Jahr (2001) die relativ niedrigsten und im nächsten Jahr die höchsten MT-Gehalte im Vergleich aller Stationen gemessen. Im Seegebiet nördlich von Usedom lag der MT-Gehalt der Miesmuscheln bei den



■ **Abb. 10:**

Konditionsindex der Miesmuschel an den Stationen im Untersuchungsgebiet. [MW ± STABW]



drei Beprobungen immer auf einem relativ hohen Niveau. Muscheln aus dem Gebiet vor Zingst besaßen 2001/2002 tendenziell hohe und 2003 vergleichsweise geringe MT-Gehalte (Abb. 11; Anhang Tab. 9).

Beim Vergleich von Stationen der inneren und äußeren Küstengewässer ergibt sich folgendes Bild: Proben aus Wendorf wiesen im Vergleich mit Proben von der Station nördlich Poel in den Jahren 2001 und 2003 signifikant ($p < 0,05$) höhere MT-Ge-

halte auf. Auch 2000 lag bei Wismar ein tendenziell höheres MT-Niveau vor. An der Außenküste vor Warnemünde war die MT-Konzentration ebenfalls 2001 und 2003 signifikant ($p < 0,05$) geringer als im Breitling. Bei der Beprobung 2002 wiesen die Einzelproben aus dem Seegebiet vor Warnemünde eine starke Streuung auf, so dass im Mittel ein höheres MT-Niveau als an der Station im Breitling bestand. Insgesamt waren die MT-Gehalte der Muscheln von Wendorf und dem Breitling bei drei Beprobungen im Mittel höher als bei den Artgenossen an der Außenküste.

Die beobachtete Variabilität der MT-Konzentrationen an mehreren Stationen wird verständlich, wenn man bedenkt, dass die Bildung dieser protektiven Proteine von mehreren Einflussfaktoren abhängt, die wiederum selbst saisonalen Schwankungen unterliegen. So wird die Akkumulation von Schwermetallen u.a. durch den Salzgehalt, die Temperatur und das Nahrungsangebot moduliert. Außerdem weist das Sediment, als eine der wesentlichen Quellen einer Metallexposition, ebenfalls kleinräumige und wechselnde Konzentrationen an Schwermetallen auf (Bachor, 2005).

Das überwiegende Fehlen von signifikanten Unterschieden zwischen den durchschnittlichen MT-Gehalten in den MDD von Muscheln der inneren und äußeren Küstengewässer steht prinzipiell im Einklang mit den Befunden des Miesmuschel-Schadstoffmonitorings. Dabei wurde im langjährigen Mittel ein relativ ähnliches Belastungsniveau mit Schwermetallen an Stationen der inneren und äußeren Küstengewässer ermittelt. Zum Teil waren die Konzentrationen einzelner Schwermetalle bei Muscheln von der Außenküste sogar tendenziell höher als bei denjenigen von Wismar/Wendorf oder dem Werftstandort im Breitling (Gercken, 2001; Sordyl, 2000). In Bezug auf Cadmium lagen die Gehalte immer über den bei Wendorf bzw. am Werftstandort ermittelten Werten. Besonders hohe Cadmium-Gehalte traten an den Stationen nördlich Zingst und nördlich Usedom auf. Dass die Muscheln an diesen Standorten auch auffallend hohe MT-Konzentrationen in der MDD aufwiesen, lässt einen Bezug zur Schwermetallanreicherung vermuten.

Neben einer erhöhten Spurenmetallbelastung in Sediment und Schwebstoffen kann auch der ge-

ringere Salzgehalt in der Pommerschen Bucht indirekt zur Induktion von MT beigetragen haben. Dies beruht darauf, dass mit abnehmendem Salz- bzw. Chloridgehalt der Anteil freier Metallionen im Wasser ansteigt. Damit ist auch eine höhere Bioverfügbarkeit und Toxizität der Metalle verbunden. Der Organismus reagiert dann auf diese Metallexposition mit der Bildung von MT, um die Metallionen durch Bildung von MT-Metall-Komplexen zu detoxifizieren.

Die Abhängigkeit der MT-Konzentration vom Salzgehalt zeigt sich auch an den Ergebnissen der BEEP-Untersuchung in der Ostsee. So wiesen Miesmuscheln von der litauischen Küste und aus der Danziger Bucht MT-Konzentrationen in einem deutlich höheren Bereich auf als Miesmuscheln in der Wismar-Bucht (Lehtonen et al., 2006). Dort wurden im Herbst 2001 und 2002, bei Proben aus Wendorf und dem Salzhaff, ähnlich hohe MT-Gehalte gemessen wie bei den hier vorgestellten Pilotstudien (Schiedek et al., 2006).

Im Hinblick auf die saisonale Variabilität der MT liegen verschiedene Ergebnisse aus dem Ostseegebiet vor. In südfinnischen Küstengewässern fanden Leiniö und Lehtonen (2005) eine deutliche saisonale Variabilität der MT-Konzentration in den MDD von *M. edulis* und *Macoma balthica*. Die Miesmuschel wies im Frühjahr und Sommer deutlich höhere MT-Gehalte auf als im Herbst. Im Gegensatz dazu wurden an drei Stationen in der Danziger Bucht im Herbst höhere MT-Konzentrationen in Miesmuscheln gemessen als im Frühjahr (Kopecka et al., 2006). Im Rahmen des BEEP-Projektes wurden an einer Station im Salzhaff im Frühjahr geringere MT-Gehalte ermittelt als im Herbst. An der stärker kontaminierten Station Wendorf blieb das MT-Niveau in der MDD unverändert hoch (Schiedek et al., 2006). Interessanterweise wiesen auch die zwei stärker belasteten Stationen in der Danziger Bucht eine geringere saisonale Variabilität auf als die weniger kontaminierte Station (Kopecka et al., 2006). Diese Befunde lassen vermuten, dass ein anhaltender Schadstoffstress das Niveau der MT durch Induktion einer homöostatischen Ausgleichsreaktion hoch reguliert, während in geringer belasteten Gebieten natürliche saisonale Schwankungen stärker ausgeprägt sind.

III.4.3 Acetylcholinesterase-Aktivität

Die Bestimmung der Aktivität der Acetylcholinesterase (AChE) zählt zu den Kernparametern des biologischen Effektmonitorings. Dieser Biomarker dient dazu, die Exposition von Organismen gegenüber neurotoxischen Substanzen abzuschätzen. Eine relativ geringe Enzymaktivität wird als Indiz für die Wirkung AChE-hemmender Stoffe gewertet. Beim vorliegenden Monitoring erfolgte die Bestimmung der AChE-Aktivität im Kiemengewebe der Miesmuschel nach der Methode von Bocquene & Galgani (1998).

Die mehrjährigen Messungen ergaben Schwankungen der AChE-Aktivität an einer Station und Unterschiede zwischen den Stationen innerhalb einer einzelnen Beprobungskampagne (Abb. 12; Tab. 10). Im regionalen Vergleich der AChE-Aktivitäten wiesen Miesmuscheln aus dem Gebiet von Wismar/Wendorf relativ hohe Enzymaktivitäten auf. Verglichen damit wurden an der Außenküstenstation nördöstlich Poel, mit Ausnahme von 2003, zumeist signifikant geringere AChE-Werte ermittelt. Zwischen dem Werftstandort im Breitling und der Station nördlich von Warnemünde traten keine derart deutlichen Unterschiede der AChE-Aktivität auf. Bei den ersten beiden Beprobungen (1999, 2000) war die Enzymaktivität an der Außenküste nördlich Warnemünde tendenziell höher als im Breitling. Spätere Messungen ergaben keinen nennenswerten Unterschied zwischen beiden Stationen. Die nördlich von Zingst und Usedom entnommenen Muscheln wiesen 2002/2003 vergleichsweise hohe AChE-Aktivitäten auf. Dabei war die AChE-Aktivität der Usedom-Muscheln im Jahr 2002 die höchste, die bei dieser Beprobungskampagne gemessen wurde. Im Jahr zuvor wurde hier noch - neben Poel - die niedrigste Enzymaktivität gefunden. Im Jahr 2003 lagen die AChE-Werte von Zingst signifikant über denen von Wismar, Poel und dem Breitling.

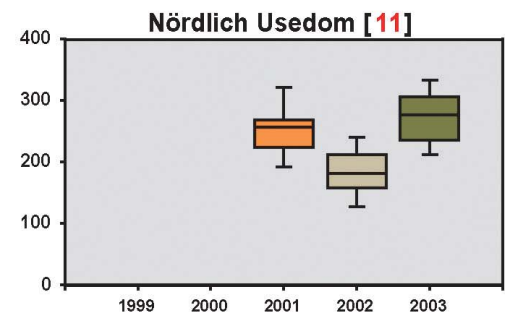
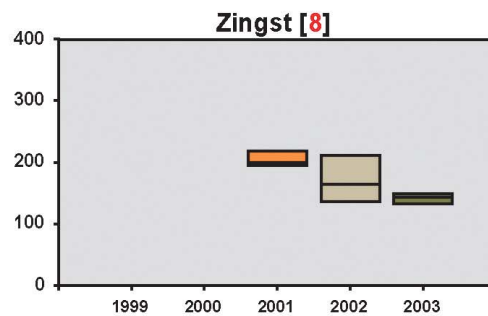
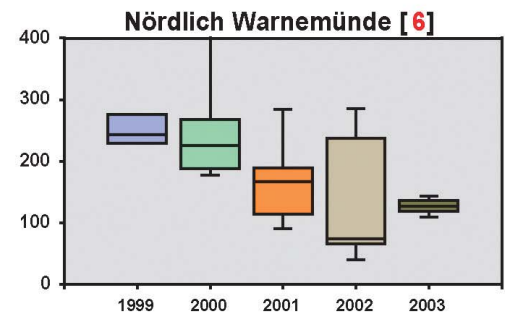
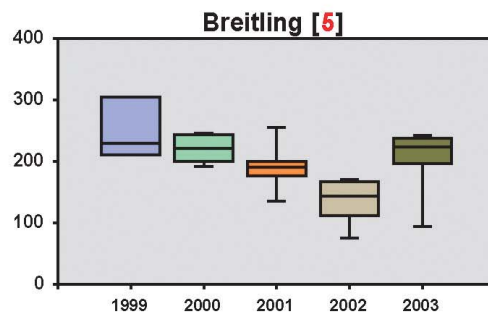
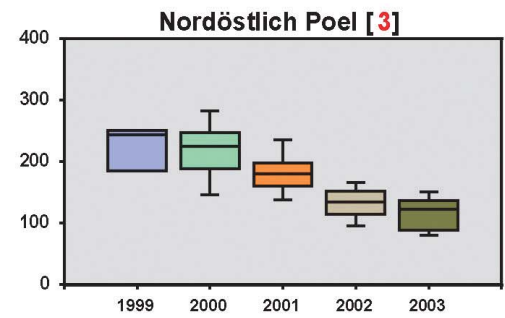
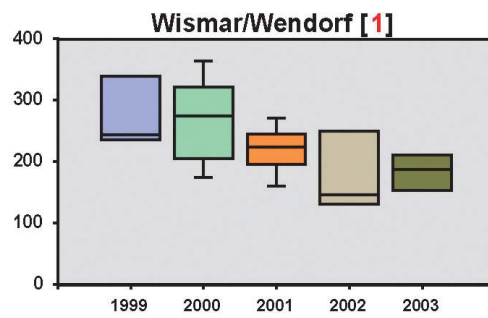
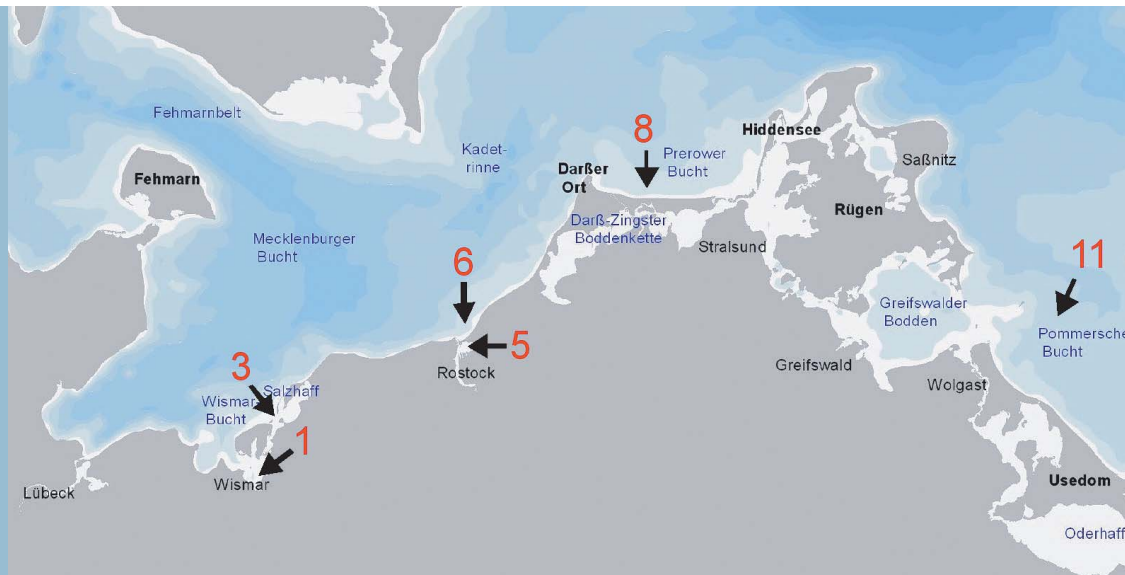
Wie die Daten zeigen, wiesen die in den stärker anthropogen belasteten Gebieten lebenden Miesmuscheln nicht pauschal geringere Enzymaktivitäten auf als ihre Artgenossen von der Außenküste. Vielmehr war die AChE-Aktivität bei Poel und nördlich von Warnemünde mehrfach relativ gering. Wenn man unterstellt, dass die Belastung mit Pestiziden an der Außenküste nicht höher ist als in den inneren Küstengewässern (chemische

Daten liegen nicht vor!), so lässt dies den Schluss zu, dass möglicherweise andere Substanzen als Organophosphate/Carbamate zu einer Hemmung des Enzyms beigetragen haben. Was die Station bei Poel betrifft, wären auch Schwermetalle in Betracht zu ziehen. Bekanntlich ist dieses Gebiet durch die Verbreitung von kontaminiertem Material aus einer in der Lübecker Bucht gelegenen ehemaligen Verklappungsstelle für Abfälle der Metallindustrie deutlich mit Schwermetallen belastet (Leipe et al., 2005). Zumindest von einigen Schwermetallen ist bekannt, dass sie die AChE hemmen können (Boquene et al., 1995).

Wie Untersuchungen von Gercken & Sordyl (2003) sowie Pfeifer et al. (2005) gezeigt haben, unterliegt die Aktivität der AChE im Untersuchungsgebiet deutlichen jahreszeitlichen Schwankungen. Im Gebiet von Warnemünde (Breitling, Außenküste) wurden im Winter im Mittel geringere Enzymaktivitäten als während des Sommers gemessen (Gercken & Sordyl, 2003). Die Untersuchungen von Pfeifer (2002) über saisonale Veränderungen der AChE-Aktivität von Muscheln aus dem Alten Strom (Warnemünde) bestätigen die Temperaturabhängigkeit der AChE-Aktivität. Außerdem stellte Pfeifer (2002) auch einen Einfluss des Salzgehaltes auf die AChE-Aktivität fest. In Hälterungsexperimenten beobachtete sie eine Abnahme der Enzymaktivität mit zunehmendem Salzgehalt. Aufgrund dieses Befundes ist auch in Betracht zu ziehen, dass eine höhere AChE-Aktivität bei den Muscheln in der Pommerschen Bucht mit der dort vorliegenden geringeren Salinität in Zusammenhang stehen könnte. Da die Aktivität der AChE natürlicherweise im Herbst/Winter gering ist, sollte dieser Parameter vorzugsweise im Sommer gemessen werden. Zu dieser Zeit werden auch neurotoxisch wirkende Pestizide verstärkt in die Umwelt eingebracht, so dass zu erwarten ist, dass sich regionale Belastungsunterschiede deutlicher abzeichnen.

Wie diese Befunde verdeutlichen, sollten Informationen über die saisonalen Veränderungen hydrographischer und biologischer Parameter vorliegen, um Monitoringbefunde vor dem Hintergrund der natürlicherweise in einem Untersuchungsgebiet variierenden Umweltbedingungen zu bewerten. Generell gilt dies nicht nur für die AChE sondern auch für andere biologische Endpunkte, ein-

■ **Abb.11:**
 Metallothionein-
 Konzentrationen in der
 Mitteldarmdrüse von
Mytilus edulis.
 [$\mu\text{g/g}$ Frischgewicht]



schließlich derjenigen auf der Ökosystemebene (z.B. Makrozoobenthos). Der Umstand, dass anthropogen bedingte Effekte immer durch natürliche Veränderungen moduliert werden, betrifft allerdings nicht allein nur die biologischen Effektparameter. Auch beim „klassischen“ Schadstoffkonzentrationsmonitoring in Biota müssen die saisonalen Schwankungen hinsichtlich der Bioakkumulation und Freisetzung von Schadstoffen grundsätzlich bei der Bewertung von Messdaten berücksichtigt werden (Gercken & Sordyl, 2003).

III.4.4 Lipidperoxidation

Der Biomarker „Lipidperoxidation“ ist ein Endpunkt, mit dem eine oxidative Schädigung von Zellmembranen infolge von oxidativem Stress abgeschätzt werden kann. Die Quantifizierung der durch reaktive Sauerstoffverbindungen peroxidierten Lipide erfolgt über die photo-metrische Messung von Malondialdehyd (MDA), das als Degradationsprodukt beim oxidativen Abbau ungesättigter Membranlipide entsteht (Buege & Aust, 1978).

Bei den ersten beiden Beprobungen wurden keine signifikanten regionalen Unterschiede festgestellt. Stationen, die 1999 ein relativ geringes Ausmaß an Lipidperoxidation besaßen, wiesen 2000 tendenziell höhere Werte auf und umgekehrt. Im Jahr 2001 lag die Lipidperoxidation bei den nördlich von Usedom beprobten Muscheln signifikant unter den Werten der Stationen Wismar, nördlich Warnemünde (je $p < 0,001$) und Zingst ($p < 0,05$). Außerdem war die Lipidperoxidation an der Station nordöstlich Poel signifikant geringer als bei Wismar/Wendorf ($p < 0,05$). Bei der nächsten Probenahme (2002) erwies sich die Lipidperoxidation an den Stationen Poel, Breitling und nördlich Warnemünde signifikant stärker ausgeprägt als bei Wismar, Zingst und Usedom ($p < 0,001$) (Abb. 13 und Anhang Tab. 11).

Insgesamt betrachtet war das Niveau der Lipidperoxidation bei den Muscheln an der Außenküste vor Zingst und Usedom gering und relativ einheitlich. An den anderen Stationen wurden größere jährliche Schwankungen gemessen. Beim Vergleich zwischen inneren und äußeren Küstengewässern wies die Station Wismar/Wendorf bei drei Beprobungen geringere Werte auf als die Station nordöstlich Poel. Im Breitling zeich-

nete sich im Verlauf der Untersuchung ein Anstieg der Lipidperoxidation ab. Bei den Proben aus dem Seegebiet vor Warnemünde gab es einen Wechsel von Jahren mit relativ geringer und mit höherer Lipidperoxidation.

Wie die Schwankungen der Lipidperoxidation anzeigen, war das Ausmaß an oxidativem Stress, dem die Muscheln in den Jahren der Beprobungen ausgesetzt waren unterschiedlich groß. Dies ist nicht verwunderlich, wenn man bedenkt, dass die Lipidperoxidation ein integrierender Effektparameter ist, der den durch natürliche Faktoren und Schadstoffbelastung verursachten oxidativen Stress widerspiegelt. Die relativ stark ausgeprägte Variabilität von einzelnen Proben ist Ausdruck der unterschiedlichen Reaktion einzelner Muscheln auf Faktoren, die oxidativen Stress auslösen können.

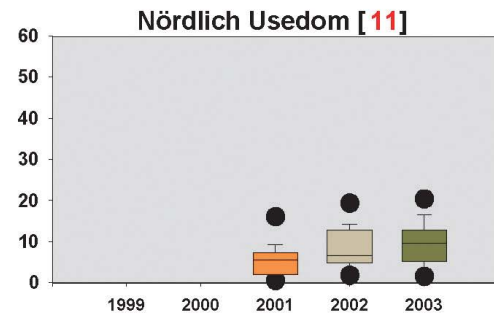
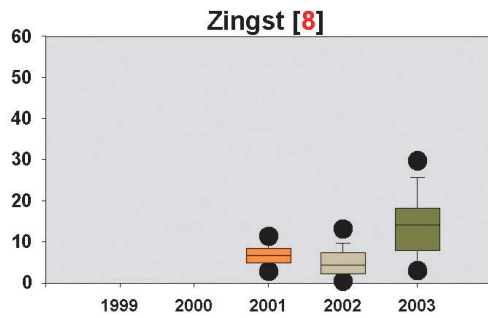
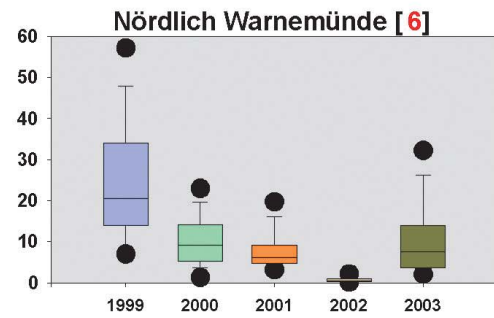
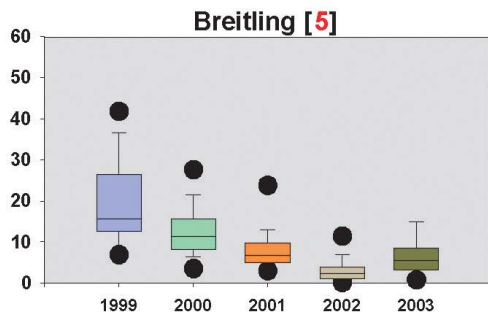
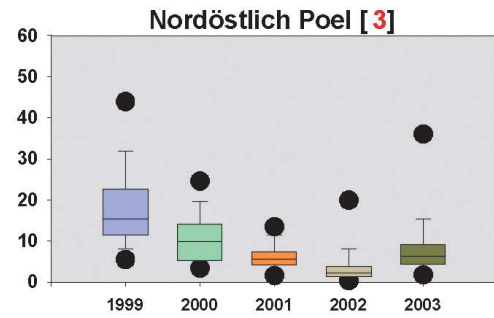
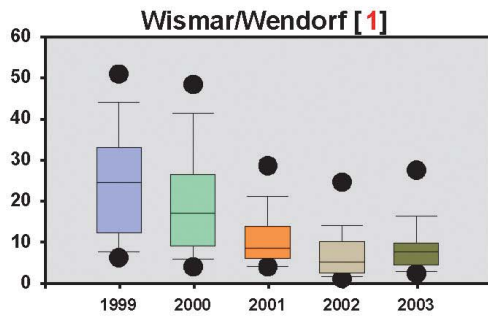
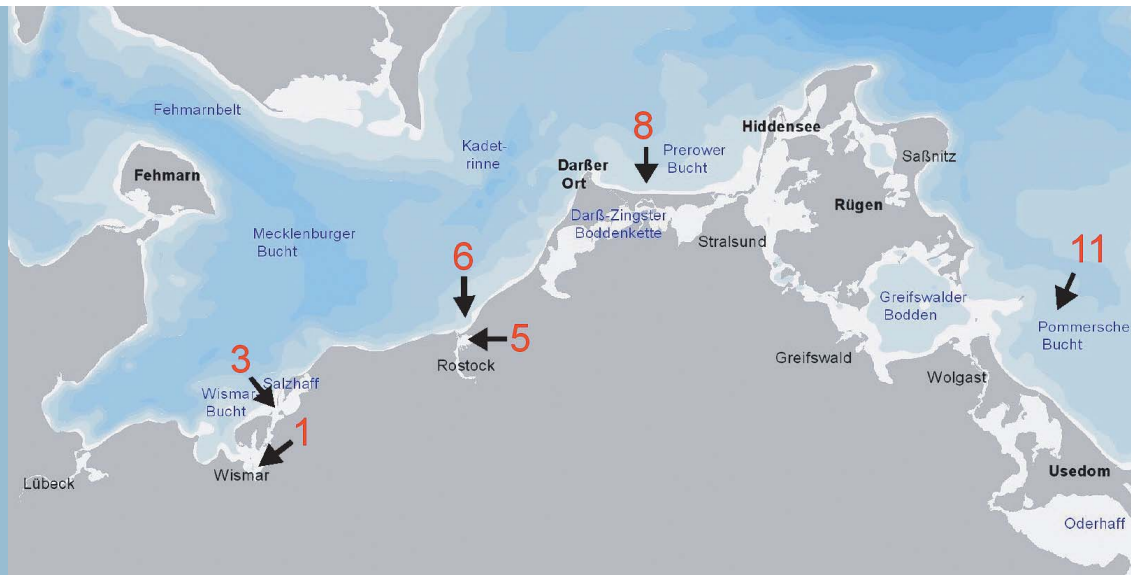
Wie die geringe Lipidperoxidation bei den Muscheln vor Zingst und Usedom vermuten lässt, beeinflusst die vergleichsweise hohe Belastung der Tiere mit Schwermetallen (Gercken, 2001; Sordyl, 2000) offenbar nicht das Ausmaß der Lipidperoxidation. Bei den Miesmuscheln aus dem Gebiet Wismar/Wendorf schien die dort vorliegende Belastung mit organischen Schadstoffen ebenfalls ohne Einfluss auf die Lipidperoxidation zu sein, denn dort wurde mehrmals eine niedrigere Lipidperoxidation gemessen als an der Außenküste nordöstlich von Poel. Man kann vermuten, dass die gute Kondition der bei Wendorf lebenden Tiere dazu führt, dass diese über eine effektive Schutzkapazität gegenüber oxidativem Stress verfügen.

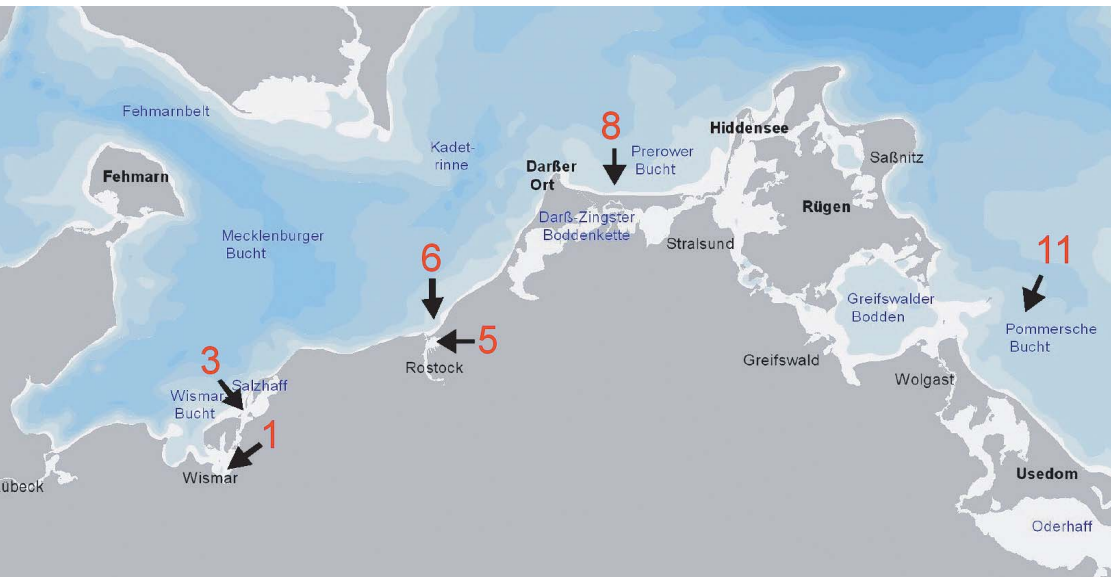
III.4.5 Lysosomenstabilität

Der biologische Endpunkt „Lysosomenstabilität“ ist ein häufig verwendeter Biomarker zur Erfassung von Schadstoffeffekte auf dem zellulären Niveau. Mit ihm wird die Stabilität der Lysosomenmembran ermittelt, da Lysosomen auf eine erhöhte Speicherung von Xenobiotika und Metallen mit einer Labilisierung ihrer Membran reagieren.

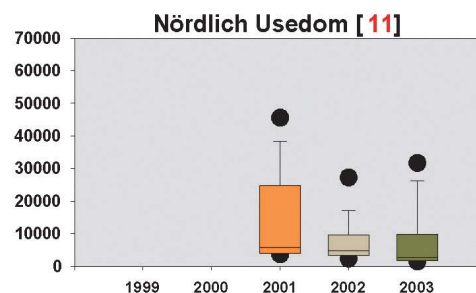
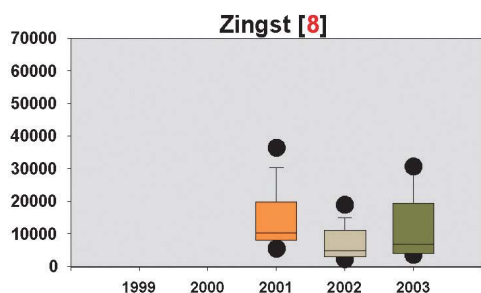
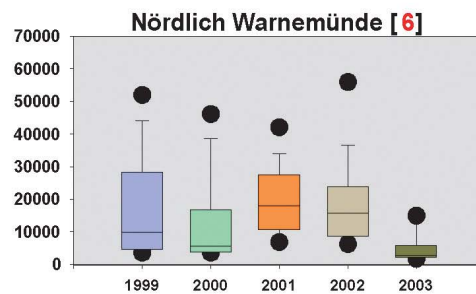
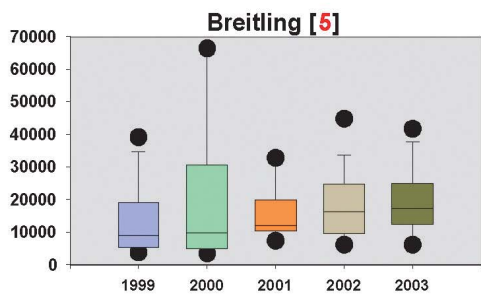
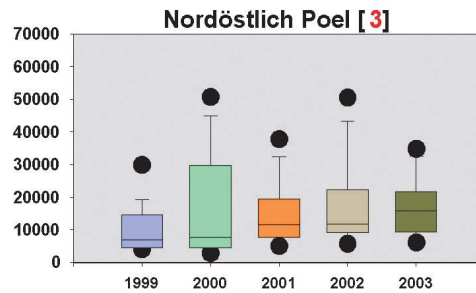
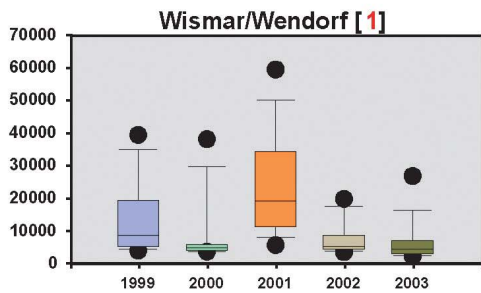
Die Stabilität der Lysosomenmembran in den Verdauungszellen der Mitteldarmdrüse von *Mytilus edulis* wurde nur im Rahmen der ersten Pilotstudie 1998 gemessen. Dabei wurde die histochemische Methode nach Moore (1976) angewendet. Sie be-

■ **Abb. 12:**
 AChE-Aktivität im Kiemen-
 gewebe von *Mytilus edulis*.
 [$\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ Protein]



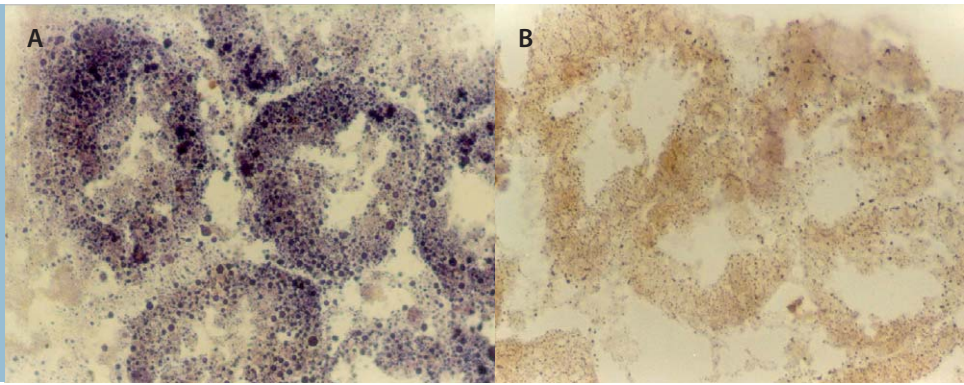


■ **Abb. 13:**
Lipidperoxidation in der
Mitteldarmdrüse von
Mytilus edulis. [MDA
($\mu\text{mol/g}$ Frischgewicht)]



■ Abb. 14:

Lysosomenstabilität in der Mitteldarmdrüse der Miesmuschel: Starke histochemische Reaktion bei kurzer Destabilisierungszeit (5 min) [A]. Schwache histochemische Reaktion bei langer Destabilisierungszeit (30 min) [B].



stimmt die Zeitspanne, die benötigt wird, um die Lysosomenmembran mit einem sauren Puffer so weit zu labilisieren, dass die anschließende histochemische Anfärbung eines lysosomalen Leitenzyms eine maximale Farbreaktion ergibt (Abb. 14). Eine lange Destabilisierungszeit ist somit ein Indiz für eine unversehrte, „stabile“ Lysosomenmembran, während eine kurze Destabilisierungszeit ein Indiz für eine Schädigung der Lysosomenmembran darstellt.

Die Bestimmung der Lysosomenstabilität erfolgte an Proben, die bei Wismar/Wendorf, im westlichen Salzhaff und im Breitling nahe der Werft entnommen wurden. Die Messung ergab, dass die Muscheln aus Wendorf eine signifikant ($p < 0,001$) geringere Membranstabilität besaßen als die im Salzhaff und im Breitling lebenden Muscheln. An diesen beiden Stationen war die Destabilisierungszeit im Mittel ungefähr gleich lang, so dass hier ein vergleichbarer Zustand der Lysosomenmembran vorlag (Abb.15).

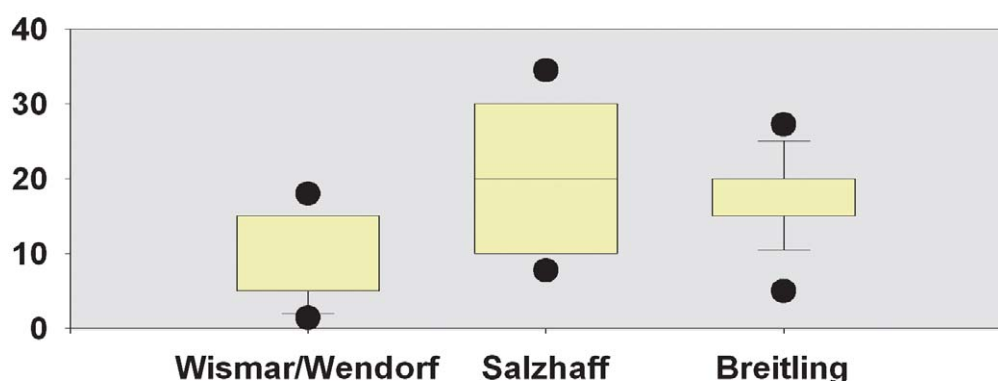
Betrachtet man zunächst das Ergebnis für die Stationen Wendorf und Salzhaff, so lässt sich dieser Befund mit der bekannten anthropogenen Um-

weltbelastung in diesen Gebieten erklären. Bei den Muscheln aus dem Breitling war der Befund einer relativ hohen Stabilität der Lysosomenmembran vor dem Hintergrund der dortigen starken Schadstoffbelastung nicht erwartet worden, denn hinsichtlich „klassischer“ Industriechemikalien ist die Station im Breitling bekanntermaßen stärker kontaminiert als das Gebiet bei Wendorf. Allerdings ist anzunehmen, dass die Einleitung von Abwasser aus der Kläranlage Wismar dazu führt, dass hier ein anderer „Schadstoffcocktail“ vorliegt als am Werftstandort im Breitling.

Dass die Lysosomenmembran der Muscheln aus dem Breitling unerwartet stabil ist, haben auch die vom IfAÖ durchgeführten Untersuchungen zur Saisonalität von Schadstoffeffekten gezeigt. So wiesen die Breitling-Muscheln im Oktober überraschenderweise eine höhere Lysosomenstabilität auf als die Tiere an der Außenküste (Gercken & Sordyl, 1999; Gercken & Sordyl, 2003). Man darf vermuten, dass es nicht näher bekannte Faktoren gibt, die den potentiell lysosomenschädigenden Schadstoffeinflüssen kompensatorisch entgegenwirken.

■ Abb. 15:

Stabilität der Lysosomenmembran in der Mitteldarmdrüse der Miesmuschel. [angegeben als Destabilisierungszeit (min)]



III.5 UNTERSUCHUNGEN AN DER AALMUTTER

III.5.1 Biometrische Daten und Organindizes

Zur Charakterisierung der untersuchten Aalmutter-Proben wurden Längen- und Gewichtsparameter gemessen und Organindizes errechnet. Anhand dieser Begleitparameter sollte einerseits geprüft werden, ob die Proben hinsichtlich biometrischer Daten vergleichbar waren, andererseits dienten sie auch zur Beschreibung des allgemeinen physiologischen Zustands der Tiere. Im Folgenden werden nur die Ergebnisse bezüglich der ermittelten Organindizes vorgestellt.

Im Frühjahr/Sommer 2003 und 2004 wurden die Gonaden von männlichen und weiblichen Aalmuttern untersucht, um potenzielle Störungen im Verlauf der Gonadenentwicklung zu erfassen. Als Begleitparameter wurden die in Abb. 16 für beide Geschlechter ermittelten Organindizes ermittelt (Anhang Tab. 12; Tab. 13).

Der Konditionsindex (KI), der das Längen-Gewichtsverhältnis widerspiegelt, war an allen Stationen für Männchen und Weibchen nahezu gleich. Der regionale Vergleich ergab ebenfalls keine deutlichen Unterschiede zwischen den Stationen. Die KI der Aalmuttern aus dem Breitling, von Wismar und aus dem Salzhaff (2004) waren aber im Mittel zumeist etwas größer als diejenigen der Tiere an der Außenküste beim Darßer Ort und bei Zingst.

Beim relativen Lebergewicht, repräsentiert durch den lebersomatischen Index (LSI), lagen deutlichere regionale Unterschiede vor. So wiesen die Proben von den Stationen Wendorf und Breitling einen höheren mittleren LSI auf als Proben aus dem Salzhaff, vom Darßer Ort und von Zingst. Dieser Befund galt für beide Geschlechter, wobei der LSI der Männchen in einigen Proben geringer als derjenige der Weibchen war.

Bei der grafischen Darstellung des gonadosomatischen Index (GSI) fallen zunächst die großen geschlechtsspezifischen Unterschiede auf. Die Hoden der Männchen besaßen immer einen höheren Anteil am Körpergewicht als die Ovarien der Weibchen. Im regionalen Vergleich wies der GSI bei den Proben von Wismar/Wendorf und dem Breitling höhere Werte auf als bei den Pro-

ben vom Salzhaff (2003), Darßer Ort (2004) und von Zingst. Bei den Weibchen lagen die GSI an den Stationen Wendorf, Breitling und Zingst auf einem ähnlichen Niveau. Im Salzhaff wurde 2003 ein deutlich höherer GSI gefunden als 2004. Die niedrigsten GSI wurden in beiden Jahren bei den am Darßer Ort gefangenen Weibchen ermittelt.

Im Herbst (Oktober/November) wurde die Brutträchtigkeit der Weibchen auf das Vorkommen von Entwicklungsstörungen bei den Larven untersucht. Die begleitend ermittelten K-Indices und die LSI sind in Abb. 17 und Tab. 14 (Anhang) dargestellt. Die Werte des embryosomatischen Index (ESI), der den relativen Gewichtsanteil der Brut repräsentiert, bleiben hier unberücksichtigt. Wegen der zum Teil größeren zeitlichen Abstände, mit denen einzelne Stationen innerhalb einer Probenahme-Kampagne beprobt wurden, spiegeln die ermittelten ESI-Werte lediglich eine mehr oder weniger weit fortgeschrittene Entwicklung der Larven wieder. Damit ein Vergleich von Stationen hinsichtlich der Entwicklung der Brut möglich ist, sollte zukünftig eine möglichst zeitgleiche Beprobung von verschiedenen Standorten erfolgen.

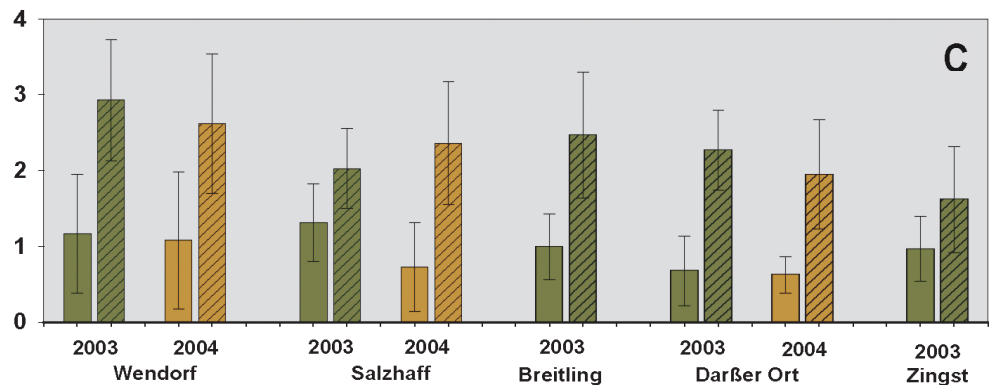
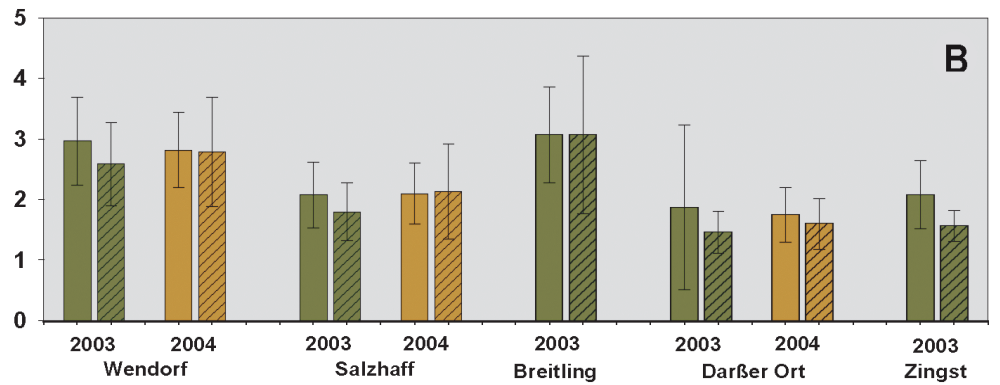
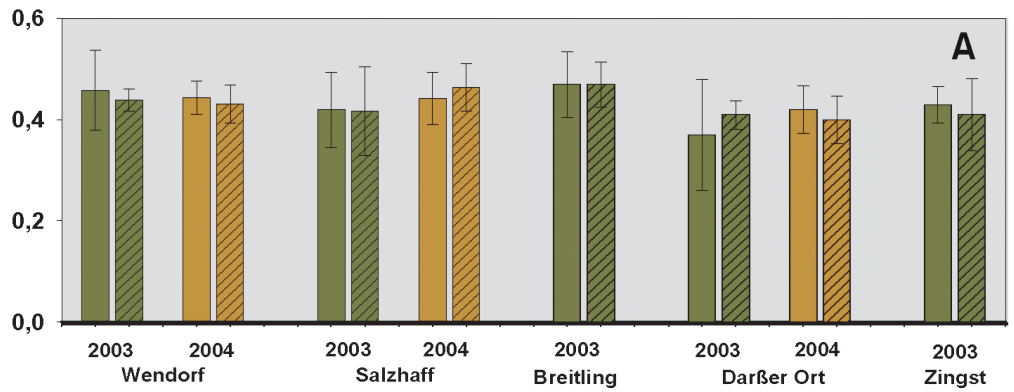
Beim K-Index der trächtigen Weibchen wurden keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Stationen ermittelt. Bei den ersten drei Pilotstudien war der K-Index der Proben aus Wendorf tendenziell erhöht. Entsprechendes galt auch für die erste Probe von der Eggers Wiek (Abb. 17).

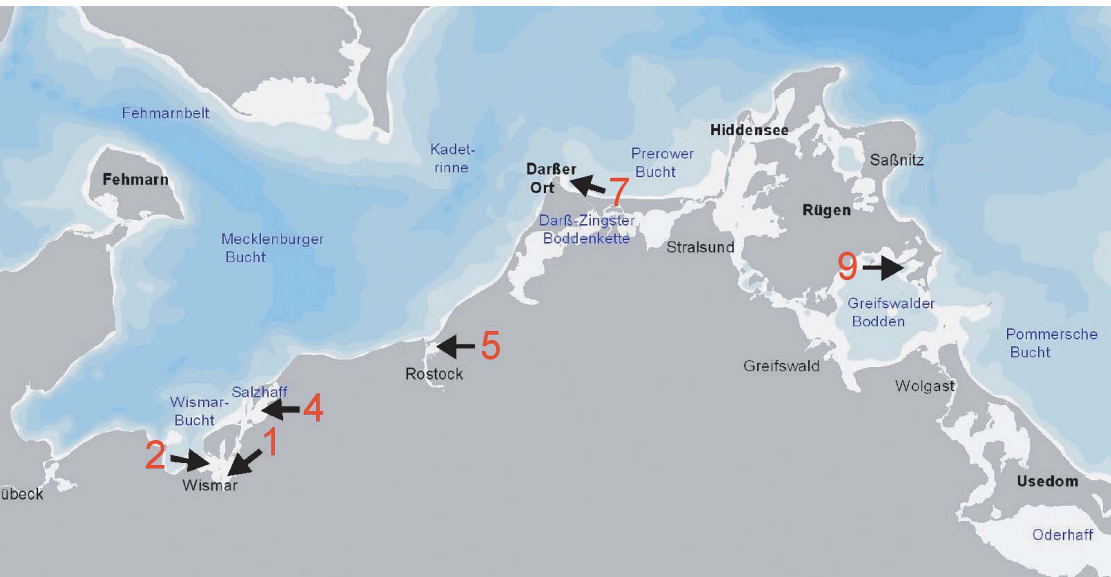
Die LSI-Werte wiesen größere regionale Unterschiede auf. Aalmuttern aus dem Breitling, von Wendorf und der Eggers Wiek besaßen im Durchschnitt die höchsten relativen Lebergewichte, während am Darßer Ort der niedrigste LSI auftrat. An den Stationen Salzhaff und Gager lag der LSI auf einem mittleren Niveau.

Insgesamt betrachtet traten beim Konditionsindex keine auffälligen Unterschiede zwischen den im Frühjahr/Sommer (Abb. 16) und Herbst (Abb. 17) beprobten Aalmuttern auf. Dass Tiere aus den inneren Küstengewässern teilweise etwas höhere KI aufwiesen, ist wahrscheinlich auf ein besseres Nahrungsangebot zurückzuführen.

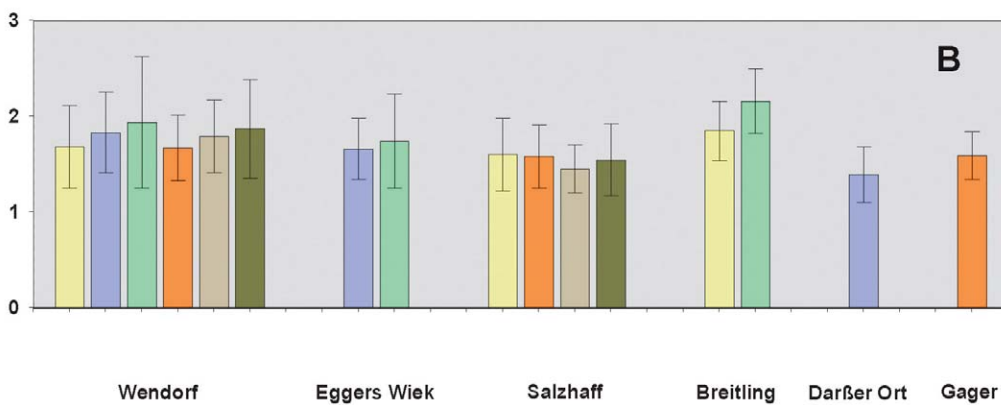
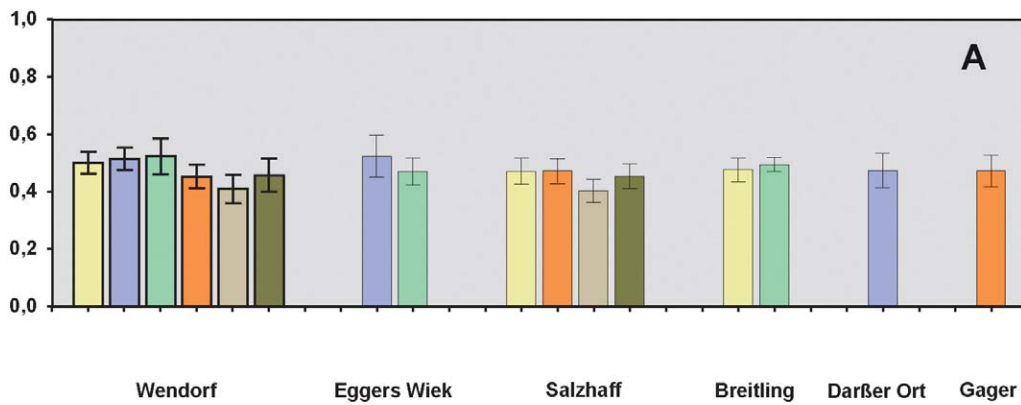
■ **Abb.16:**

Konditionsindex [KI] (A), Lebersomatischer Index [LSI] (B) und Gonadosomatischer Index [GSI] (C) der im Frühjahr/Sommer untersuchten weiblichen und männlichen (Schraffur) Aalmuttern [MW ± STABW].





■ **Abb. 17:**
 Konditionsindex [KI] (A)
 und Lebersomatischer
 Index [LSI] (B) der im
 Herbst untersuchten
 trächtigen Weibchen
 [MW ± STABW].



Auch hinsichtlich der LSI zeigten die im Frühjahr/Sommer und Herbst ermittelten regionalen Unterschiede eine grundsätzliche Übereinstimmung. Allerdings fielen die Unterschiede zur Zeit der Gonadenreife im Frühjahr deutlicher aus als während der Entwicklung der Brut im Herbst. Was die Weibchen betrifft, ist davon auszugehen, dass ein höheres Lebergewicht zum Teil auf die Produktion von Dotterprotein in der Leber (Vitellogenese) zurückzuführen war. Dieser Zusammenhang spiegelt sich auch in einer mehrfach beobachteten Übereinstimmung zwischen einem hohen LSI und einer fortgeschrittenen Entwicklung der Gonade (hoher GSI) wieder. Der Einfluss der Vitellogenese ist wahrscheinlich auch für den Unterschied zwischen den LSI-Werten beider Geschlechter an derselben Station verantwortlich.

Der Nachweis eines deutlich erhöhten LSI bei weiblichen und männlichen Aalmuttern der Stationen Wendorf und Breitling ist von besonderem Interesse, da der LSI der Organindex ist, der am häufigsten mit einer Schadstoffbelastung in Zusammenhang gebracht wird. Es gibt zahlreiche Beispiele von Felduntersuchungen, bei denen Fische aus stärker kontaminierten Lebensräumen höhere LSI aufwiesen als ihre Artgenossen aus weniger verschmutzten Gewässern (Dethloff & Schmitt, 2000). Als ein Grund für die Zunahme der Lebermasse wird die verstärkte Entgiftungsleistung der Leber angeführt, die mit einem Anstieg der Anzahl an Leberzellen verbunden ist (Dethloff & Schmitt, 2000).

Biologische Effektstudien des IfAÖ an Stichlingen (*Gasterosteus aculeatus*) aus dem Ableitergraben der Kläranlage Schwerin-Süd bestätigen diese Beobachtungen. An zwei Probenahmeorten, die stark mit Abwasser kontaminiert waren, besaßen männliche und weibliche Stichlinge deutlich höhere LSI als ihre Artgenossen an unbelasteten Stationen (Gercken, 2000a) [siehe auch IV.2]. Stichlinge, die am Ablauf der Kläranlage Greifswald in den Greifswalder Bodden gefangen wurden, wiesen ebenfalls einen signifikant höheren LSI auf als Stichlinge an einer Referenzstation bei Wampen (Gercken, 2007).

III.5.2 Parasitierung

An allen Stationen kamen in unterschiedlicher Häufigkeit Aalmuttern vor, deren Leber oberflächlich auffällige, von Parasiten hervorgerufene Cysten aufwiesen (Abb. 18). Diese Cysten wurden durch einen Befall mit Nematoden (wurmartige Parasiten) verursacht. Bei der histologischen Befundung von Leberpräparaten wurden gelegentlich Cysten mit dem darin eingekapselten Parasiten beobachtet. Selten kamen auch frei bewegliche Parasiten auf der Leberoberfläche vor. Wahrscheinlich handelte es sich bei diesen Nematoden um die Art, die auch für die Cystenbildung verantwortlich war. Dieser Nematode wurde als *Hystherothylacium auctum* (Rudolphi, 1802) bestimmt. Außer der Leber befiel er häufig auch gleichzeitig den Darmtrakt und das benachbarte Fettgewebe. Das makroskopische Bild der Cysten sowie die histologische Ausprägung der Läsion sahen an allen Stationen gleich aus, so dass man annehmen durfte, dass es sich immer um die gleiche Parasitenart handelte.

Zwischen den Probenahmestationen bestanden auffällige Unterschiede hinsichtlich der Häufigkeit und Intensität des Vorkommens der parasitär verursachten Lebercysten. Die Aalmuttern von den Stationen Wismar, Eggers Wiek, Breitling und Greifswalder Bodden (Gager) wiesen eine hohe Prävalenz von Nematodencysten auf. Dabei war der Befall an der Station Wismar besonders intensiv ausgeprägt. Mit Ausnahme der Beprobung 2003 wies die Mehrzahl der Aalmuttern dort immer eine moderate bzw. hohe Anzahl von Parasitencysten auf. Außerdem wurde auch bei Proben von der Eggers Wiek und dem Breitling (1998) ein intensiver Befall registriert. Die Lebern der im Salzhaff und beim Darßer Ort gefangenen Aalmuttern waren wesentlich seltener und auch weniger intensiv von Nematoden befallen. Dort wurde die Ausprägung des Befalls fast ausschließlich als „geringgradig“ bewertet (Abb.19).

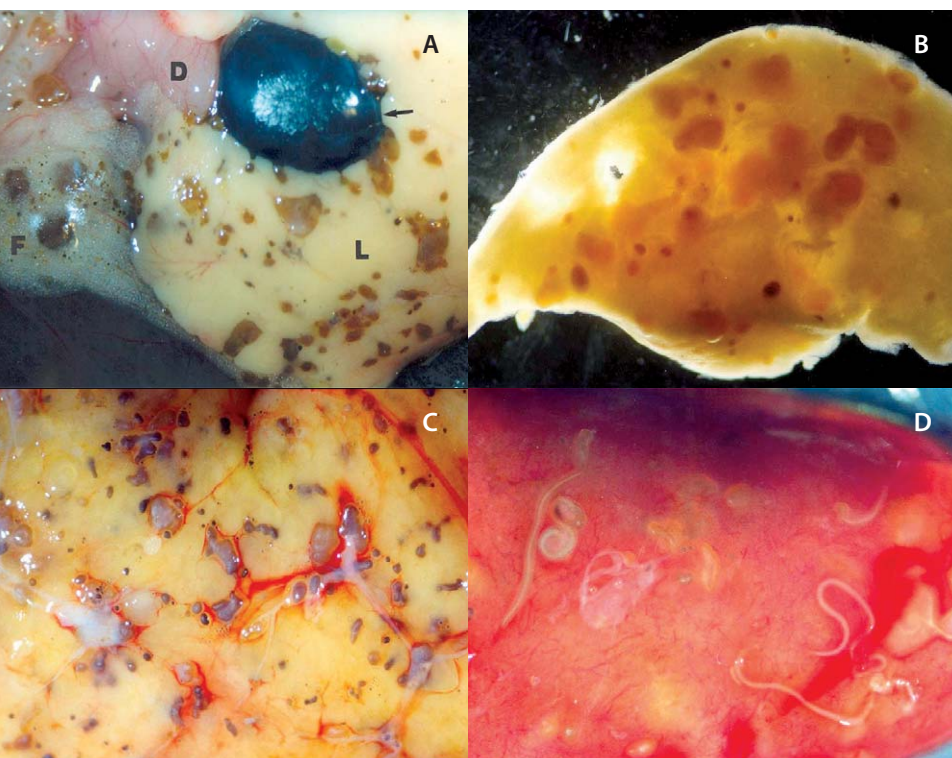
Die vorgestellten Befunde beziehen sich auf die Leberparasitierung aller im Herbst untersuchten trächtigen Weibchen. In den Jahren 2003/2004 wurde außerdem das Vorkommen von Lebercysten bei im Frühsommer beprobten Aalmuttern (Männchen, Weibchen) ermittelt. Diese Untersuchung ergab grundsätzlich denselben Befund wie im Herbst, d.h. Prävalenz und In-

tensität des Parasitenbefalls waren ebenfalls an der Station Wismar/Wendorf mit Abstand am stärksten ausgeprägt (Daten nicht dargestellt).

Die Befunde zum Nematodenbefall der Aalmutter stimmen mit Untersuchungsergebnissen über den Parasitenbefall der Aalmutter in der Lübecker Bucht (Zander, 1991) und im Salzhaff (Reimer & Walter, 1998) überein. Die Untersucher fanden eine hohe Prävalenz und starke Intensität der Parasitierung von Aalmuttern mit dem Nematoden *H. auctum*. Nach Reimer und Walter (1998) handelt es sich bei *H. auctum* um die eudominante Parasitenart der Aalmutter in der Wismar-Bucht.

Die im Rahmen der Pilotstudien ermittelte Prävalenz und vor allem die Intensität der Leber-Parasitierung im Bereich der Wismar-Bucht (Wendorf, Eggers Wiek) und zum Teil auch im Breitling waren so stark ausgeprägt, dass sie nicht mehr als Ausdruck eines ausbalancierten Parasit-Wirt-Verhältnisses anzusehen ist. Vielmehr besteht Grund zu der Annahme, dass der starke Befall der Tiere das Resultat einer geschwächten Immunabwehr darstellt. Die geringgradige Parasitierung der Aalmuttern aus dem Salzhaff und vom Darßer Ort, scheint hingegen auf einem für den Wirtsorganismus „normalem“ Niveau zu liegen.

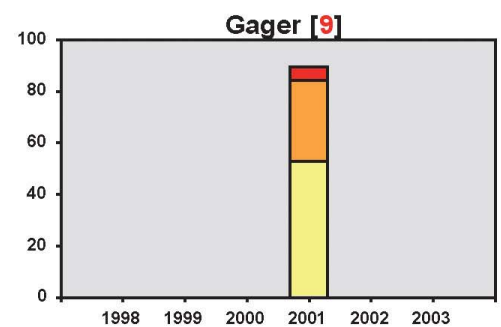
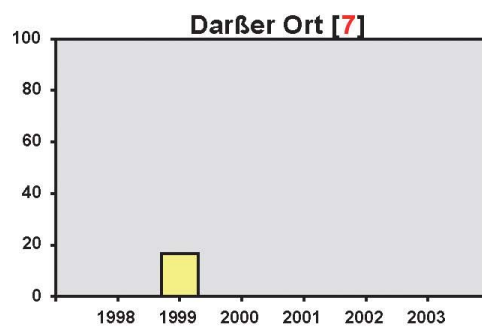
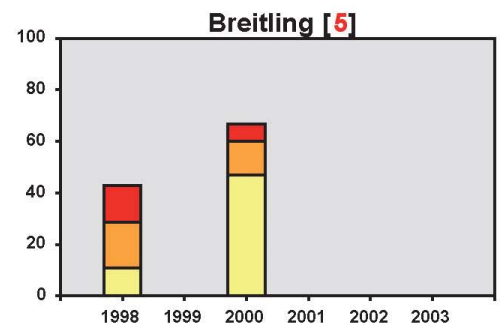
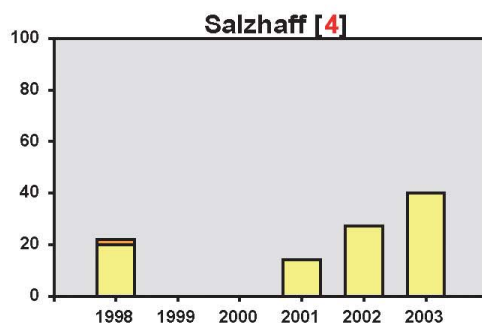
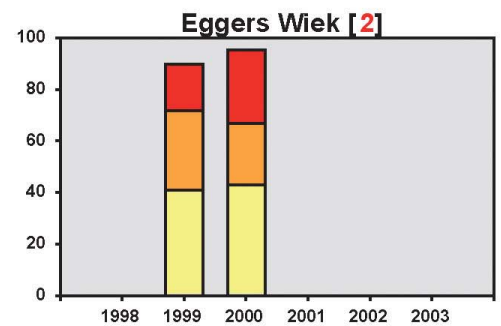
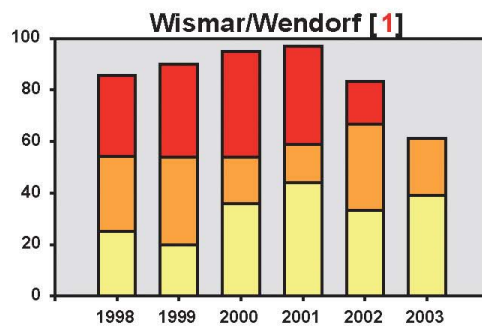
Insgesamt gesehen hat die Erfassung des Parasitenbefalls einen wertvollen Beitrag zur Bewertung des Gesundheitszustandes der Aalmuttern geliefert. Die Schwächung der Immunabwehr in den stärker anthropogen beeinflussten Gebieten ist möglicherweise auf eine erhöhte Schadstoffbelastung zurückzuführen. Anhand detaillierterer Untersuchungen zum Immunstatus der Aalmutter ließe sich der vermutete Zusammenhang zwischen Abwehrschwäche und Schadstoffbelastung überprüfen. Im Bereich von Wendorf zählt das Abwasser des dortigen Klärwerks zu den Quellen, die möglicherweise das Immunsystem der Aalmutter schwächen. Angesichts der schwächeren Parasitierung im Jahr 2003, stellt sich die Frage, ob dies bereits eine Folge der Modernisierung des Klärwerks in den vorherigen Jahren sein könnte.



■ **Abb. 18:**

Parasitär verursachte Cysten in Leber (L), Darm (D) und Fettkörper (F). Der Pfeil zeigt auf die Gallenblase [A]. Unfixiertes Schnittpräparat einer stark parasitierten Leber. Die Cysten nehmen einen großen Anteil am Volumen der Leber ein [B]. Leberoberfläche mit zahlreichen Cysten [C]. Freie, nicht encystierte Nematoden auf der Oberfläche der Leber [D].

■ **Abb. 19:**
Prävalenz [%] und Intensität des Befalls der Aalmutter-Leber mit parasitischen Nematoden.



III.5.3 Histopathologische Untersuchung der Leber

Die histopathologische Methode dient dazu, Informationen zum Auftreten von Stress- und Schadstoffeffekten auf Organniveau zu gewinnen. Von besonderem Interesse ist dabei die Leber, die sich wegen ihrer zentralen Rolle im Stoffwechsel und Bedeutung bei der Entgiftung von Schadstoffen gut als Indikatororgan (Köhler, 1990; Schmitt & Dethloff, 2000) eignet. Die nachfolgend vorgestellten histologischen Leberbefunde wurden im Verlauf mehrerer Pilotstudien ermittelt. (1998, 1999, 2001). Von den Stationen Wismar/Wendorf und Breitling wurden jeweils zwei Proben und von den Stationen Eggers Wiek, Salzhaff, Darßer Ort und Gager eine Probe untersucht (Tab. 4).

Histologisch betrachtet besteht die Leber hauptsächlich aus den eigentlichen Leberzellen, den Hepatocyten, die in ihrer Gesamtheit das Leberparenchym darstellen. Bei Fischen bilden die Hepatocyten normalerweise zweischichtige, epithelartige Lagen, die sich beidseitig an Gefäße (Venolen bzw. Sinusoide) anlegen. Hepatocyten sind polygonal und weisen, in Abhängigkeit von Alter und Ernährungszustand, mehr oder weniger zahlreiche, Vakuolen auf, die der Speicherung von Lipiden und Glykogen dienen. Außer Hepatocyten prägen unterschiedlich große Blutgefäße und Gallengänge ebenfalls das histologische Bild eines Leberpräparates (Abb. 20A).

Zur Befundung der Leber-Präparate wurden folgende gebräuchliche diagnostische Kriterien gewählt: Allgemeine Struktur des Leberparenchyms und Vakuolisierung der Hepatocyten, nekrotische Degenerationen und Entzündungsprozesse, Vorkommen von Makrophagenaggregaten sowie von Parasiten verursachte Leberschäden (Tab. 4).

In Bezug auf das Kriterium „Leberparenchym“ wiesen die Lebern von Tieren aus dem Salzhaff, vom Darßer Ort und aus dem Greifswalder Bodden (Gager) ein geordnetes, normal strukturiertes histologisches Bild auf. Die Kerne besaßen überwiegend eine reguläre, unauffällige Form (Abb. 20A). Die zellulären Begrenzungen der Hepatocytenstränge, Blutgefäße und Gallengänge waren immer gut zu unterscheiden (Abb. 20A). Mit Ausnahme der Vakuolen besaß das Cytoplasma immer einen mehr oder weniger locker strukturierten Inhalt. An

den Stationen Wismar/Wendorf, Eggers Wiek/Insel Walfisch und Breitling erschien die Struktur des Leberparenchyms oftmals diffus und aufgelöst. Dies traf besonders auf Aalmuttern aus dem Breitling zu, bei denen fast alle untersuchten Leberpräparate Anzeichen einer allgemeinen Degeneration der Leberparenchymstruktur aufwiesen (Tab. 4).

Die *Vakuolisierung* der Hepatozyten wies ebenfalls deutliche Unterschiede an den einzelnen Stationen auf. Bei Proben von Wendorf und Gager wurde eine starke Variabilität bezüglich der Intensität der Vakuolisierung beobachtet. Die Lebern einiger Aalmuttern besaßen z.T. keine (Gager) oder nur wenige Vakuolen, während andere Tiere zahlreiche Vakuolen aufwiesen. Beim Darßer Ort und der Eggers Wiek war die Vakuolisierung stärker ausgeprägt. Die intensivste Vakuolenbildung wurde an der Station Breitling ermittelt (Abb. 20B). Aalmuttern aus dem Salzhaff besaßen immer eine schwach ausgeprägte Vakuolisierung (Tab. 4).

Besonders auffällige *nekrotische Degenerationen* traten im Zusammenhang mit einem Parasitenbefall auf. Auf sie wird weiter unten im Text eingegangen. Die folgenden Befunde beziehen sich auf nekrotische Veränderungen im Leberparenchym, die offensichtlich nicht in Verbindung mit einer Parasitierung standen (Abb. 20C,D).

Nekrosen traten besonders häufig und ausgeprägt in den Proben von Wendorf und dem Breitling auf. Auch im Gebiet Eggers Wiek/Insel Walfisch waren nekrotische Degenerationen auffallend häufig, wenngleich weniger intensiv ausgeprägt. An den Stationen Salzhaff und Darßer Ort lag die Prävalenz von Lebernekrosen im interstationären Vergleich auf einem mittleren Niveau. Den niedrigsten Prozentsatz an Nekrosen wies die Probe von Gager auf (Tab. 4).

Eine weitere Abweichung vom normalen histologischen Bild der Leber betraf das Vorkommen von degenerativen Veränderungen im Bereich der Gallengänge. Sie äußerte sich in einer mehr oder weniger umfangreichen Vermehrung von Bindegewebe um den Gallengang (Cholangiofibrose) (Abb. 20E). Gallengänge sind histologisch an den charakteristischen kubisch geformten Zellen des Gallengangepithels zu erkennen. Diese Alteration trat bei allen Aalmuttern von der Station

Gager auf. An den Stationen Wismar, Breitling und Darßer Ort wurde sie bei 50 bis 60% der Leberpräparate registriert. Am Standort Eggers Wiek zeigten sich Veränderungen an den Gallengängen bei knapp einem Drittel der Proben (Tab. 4).

Makrophagenzentren (MZ) bzw. Makrophagen-Aggregate sind Teil des Abwehrsystems der Fische. Sie phagozytieren sowohl abgestorbene körpereigene Substanzen als auch Fremdkörper wie z.B. Bakterien und Viren. Außerdem dienen sie der Eisenspeicherung. MZ treten vorwiegend in Milz und Niere und normalerweise weit seltener in der Leber auf. Kommen MZ in größerer Anzahl in der Leber vor, gilt dies als Anzeichen für eine Aktivierung des Abwehr- und Entgiftungssystems (Schmitt & Dethloff, 2000).

Im Hämalan-Eosin-gefärbten [HE] Leberpräparat erschienen MZ als optisch helle Areale (Abb. 20F).

Gelegentlich waren MZ schmutzig-weiß und besaßen gelb-bräunliche Pigmenteinschlüsse. Bei den Pigmenten handelt es sich um Verdauungsprodukte, welche in den Makrophagen, nach Phagozytose von Fremdmaterial oder geschädigten körpereigenen Zellen, abgelagert werden. Häufig enthalten Makrophagen auch das eisenhaltige Pigment Hämosiderin, das nach Aufnahme von gealterten oder geschädigten roten Blutkörperchen aus dem Abbau von Hämoglobin entsteht. Aus diesem Grund lassen sich Makrophagen und MZ im histologischen Präparat meistens mit Hilfe der Berliner-Blau-Färbung [BB], die auf dem Nachweis von Eisenverbindungen beruht, nachweisen.

An den Stationen Wendorf, Eggers Wiek/Walfisch und Gager war der Prozentsatz von Lebern mit MZ im HE-Präparat besonders hoch. Deutlich seltener traten MZ bei Aalmuttern vom Salzhaff, Breitling und insbesondere vom Darßer Ort auf. Nach Be-

■ Abb. 20:

Normal ausgebildetes Leberparenchym (A).

Starke Vakuolisierung der Hepatocyten (B).

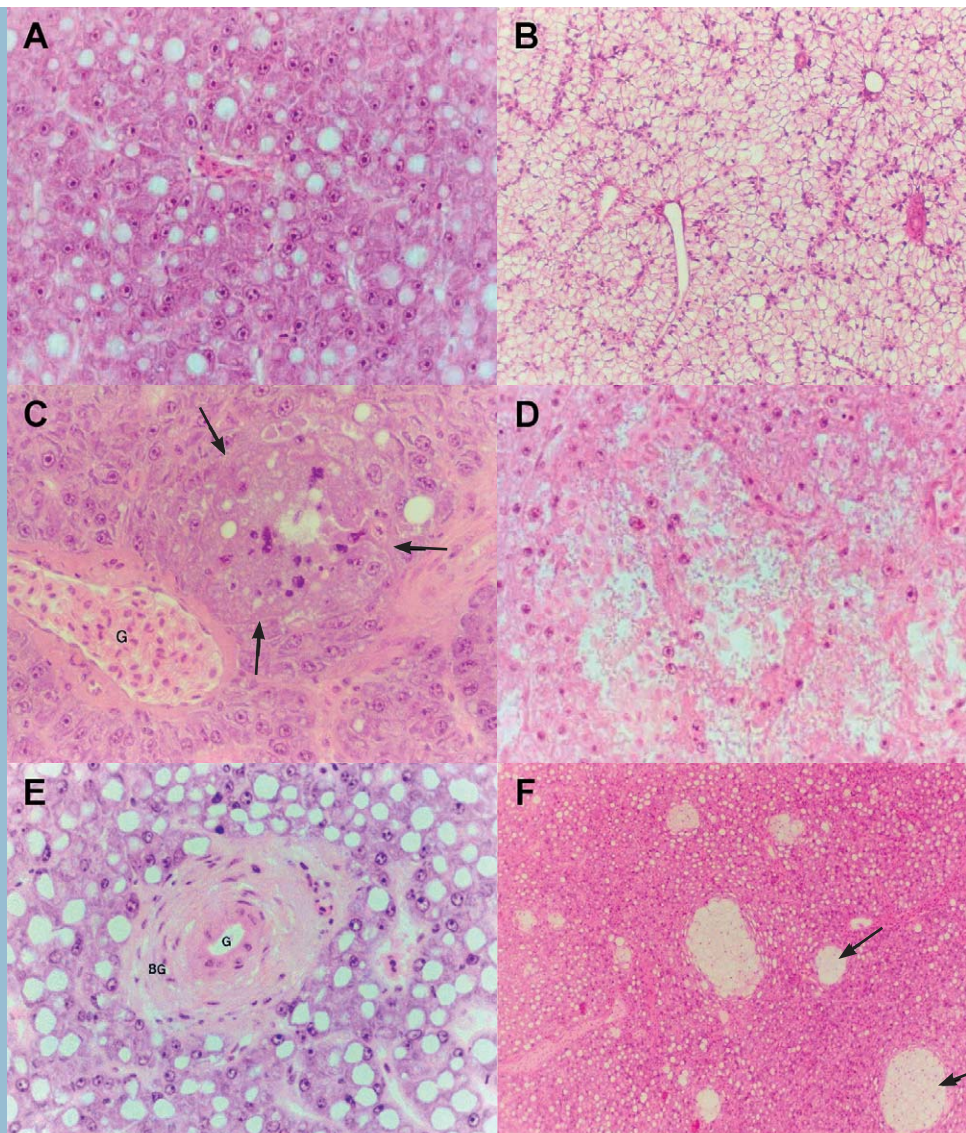
Herd nekrotisch zerstörten Lebergewebes [Pfeile] in der Nähe eines Gefäßes [G].

Die in das nekrotische Gewebe eingewanderten Immunzellen (dunkel gefärbt) sind Anzeichen einer Entzündungsreaktion (C).

Weitflächige nekrotische Zerstörung des Leberparenchyms (D).

Vermehrung des Bindegewebes [BG] um einen Gallengang [G] (E)

Ansammlung von Makrophagenzentren [Pfeile] unterschiedlicher Größe im Leberparenchym (F).

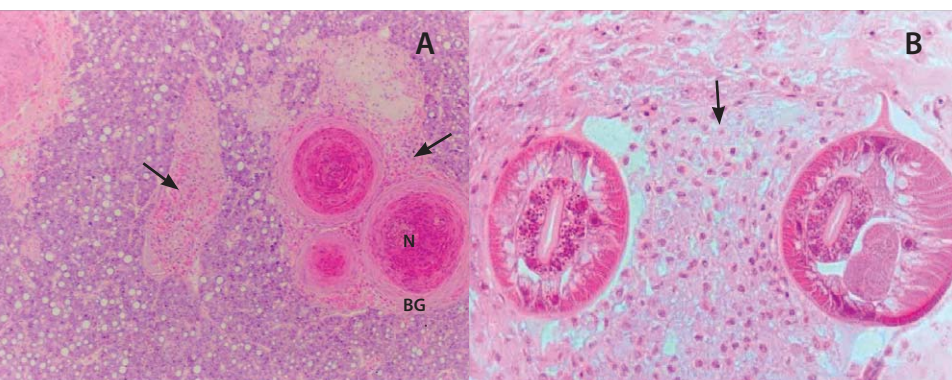


handlung der Leberschnitte mit einer BB-Färbung, wiesen die meisten Lebern in den Proben von Wendorf und Eggers Wiek BB-positiv MZ auf. Bei Proben aus dem Salzhaff, Breitling und von Gager war dies deutlich seltener der Fall. Aalmuttern vom Darßer Ort besaßen keine BB-positiven MZ (Tab. 4).

Aufgrund des allgemein weit verbreiteten Befalls der Leber mit dem parasitischen Nematoden *H. auctum* wurden auch in den Schnittpräparaten häufiger parasitär verursachte Leberschäden vorgefunden. Das Lebergewebe reagiert auf den Parasitenbefall mit einer Entzündungsreaktion und der Bildung eines Granuloms. Dabei handelt es sich um proliferative Gewebeveränderungen, an denen Makrophagen wesentlich beteiligt sind. Die Granulombildung führt letztendlich zu einer Einkapselung des Parasiten, wodurch dieser vom gesunden Leberparenchym separiert wird. Ältere Cysten waren im Zentrum meist völlig von nekrotischem Zellmaterial erfüllt und durch bindegewebige Schichten vom gesunden Parenchym abgegrenzt (Abb. 21A). Unversehrte Parasiten wurden in den Cysten selten angetroffen. Das Auftreten von Nematoden, die noch nicht von einer kompakten Kapsel aus Bindegewebe umschlossen waren, deutete auf einen erst kürzlich erfolgten Befall hin (Abb. 21B). Im Falle einer sehr starken Parasitierung, so wie sie vorwiegend bei Aalmuttern aus Wismar/Wendorf auftrat, können die Parasitencysten einen erheblichen Teil des Leberparenchyms beanspruchen. Es ist zu vermuten, dass sich dies auch negativ auf die allgemeine Kondition des Tieres auswirkt. Auf die Prävalenz und Intensität der Parasitierung wurde im vorherigen Abschnitt III.5.2 eingegangen.

Fasst man die histologischen Befunde zusammen, so hat sich gezeigt, dass die stärksten pathologischen Leberveränderungen bei Aalmuttern aus der Wismar-Bucht (Wendorf, Eggers Wiek/Walfisch) und dem Breitling auftraten. Bei Aalmuttern von den Stationen Salzhaff, Darßer Ort und Gager war die Schädigung der Leber insgesamt betrachtet deutlich schwächer ausgeprägt. Bei den Tieren aus der Wismar-Bucht war vor allen Dingen die starke Parasitierung und die damit verbundene Cystenbildung für die schwerwiegenden nekrotischen Veränderungen und Reparaturprozesse im Leberparenchym verantwortlich. Für die Station Wendorf kann die sehr starke Leberparasitierung als Indiz für eine Schwäche des Immunsystems der dort lebenden Aalmuttern gewertet werden. Makrophagen-Aggregate traten ebenfalls häufig in räumlicher Nähe zur parasitär geschädigten Lebergewebe auf, so dass deren Prävalenz mit der an einer Station herrschenden Intensität der Parasitierung verknüpft zu sein scheint.

Die nicht von Parasiten verursachten Organveränderungen sind ihrem Erscheinungsbild nach auf eine chronisch toxische Belastung mit Wasserinhaltsstoffen zurückzuführen. Dies gilt insbesondere für die degenerativen Auflösungserscheinungen der Leberparenchymstruktur, von denen vorwiegend Tiere aus der Wismar-Bucht und dem Breitling betroffen waren. In schwächerer Ausprägung wiesen auch die Lebern der Aalmuttern von den anderen Stationen histologische Anzeichen einer Exposition mit Umweltschadstoffen auf.



■ Abb. 21:

Von Nematoden induzierte Bildung von Cysten. Im Innern der Cysten befindet sich nekrotisches Zellmaterial [N].

Die äußere Schicht besteht aus Bindegewebe [BG] (A).

Im Querschnitt getroffener Parasit im Leberparenchym. Um den Parasiten hat sich noch keine kompakte Cyste gebildet (B).

Abwehrzellen (Makrophagen) sind zahlreich vorhanden (Pfeile).

Station	n	Vakuolierung	Degenerierte Parenchymstruktur		Nekrotische Degeneration		Makrophagenzentren (MZ)		Degenerierter Gallgang	
			[%]	Intensität	[%]	Intensität	gesamt [%]	BB*-pos. [%]	[%]	Intensität
Wismar/ Wendorf (1998, 1999)	17	+ bis +++	41,2	+++	82,4	+++	100	70,6	52,9	++
Eggers Wiek (1999)	16	++ bis +++	56,3	++	68,8	++	68,7	93,8	31,2	++
Salzhaff (1998)	18	+	5,7	+	38,9	+	22,2	11,8	nicht erfasst	
Breiting/ Warnemünde (1998, 1999)	15	+++	93,3	+++	60,0	+++	33,3	13,3	60,0	++
Darßer Ort (1999)	17	++ bis +++	5,8	+	47,1	+	5,8	0	58,8	+
Gager (2001)	18	- bis +++	0	++	27,8	++	83,3	27,8	100	+ bis ++

■ **Tab. 4:**
Befunde histopathologischer Untersuchungen an der Leber der Aalmutter
* Berliner Blau-Färbung

III.5.4 Störungen der Gonadenentwicklung

In den Jahren 2003 und 2004 wurden Untersuchungen zur Erfassung von Störungen bei der Gonadenentwicklung der Aalmutter in das Monitoringprogramm der Pilotstudien aufgenommen. Anlass hierfür waren Befunde des IfAÖ über ein überraschend häufiges Vorkommen von Zwitterbildungen (Intersex) im Hoden männlicher Aalmuttern in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern, die im Rahmen eines UBA-Projektes (Gercken & Sordyl, 2002a) und des EU-Projektes BEEP (IfAÖ, unveröffentlicht) ermittelt worden waren. In diesem Zusammenhang wurden auch bei weiblichen Aalmuttern häufig Degenerationen der Eientwicklung beobachtet. Die im Folgenden vorgestellten Ergebnisse der Pilotstudien erweitern die Befunde zum Auftreten von Gonadenstörungen bei der Aalmutter und stellen sie auf eine fundiertere Basis.

In Übereinstimmung mit früheren Gonadenuntersuchungen erfolgte die Beprobung der Fische im Zeitraum von Mai bis Juli. Die Proben stammten aus den inneren Küstengewässern von den Stationen Wismar/Wendorf, Salzhaff und Breitling sowie von der Außenküste beim Darßer Ort und bei Zingst.

III.5.4.1 *Intersex bei der männlichen Aalmutter*

Alle untersuchten Hoden wiesen äußerlich kein Anzeichen einer Fehlbildung auf. Der Jahreszeit entsprechend wies das histologische Bild fortgeschrittene Stadien der Keimzellentwicklung (Gametogenese) mit vorwiegend Spermatiden und reifen Spermatozoen in den Kanälchen des Hodengewebes auf. Frühe Gametenstadien kamen selten vor.

Neben Männchen mit histologisch normal entwickelten Hoden wurden an allen Stationen auch Individuen mit Intersex (Ovotestis) gefunden. Diese Zwitterbildung äußert sich in einem mehr oder weniger starken Vorkommen weiblicher Keimzellen in dem von männlichen Gameten geprägten Hodengewebe (Abb. 22). Die weiblichen Zellen (Oocyten) traten ausschließlich in den Hodenkanälchen und nicht im bindegewebigen Interstitium auf. Sie wiesen i.d.R. ein frühes Entwicklungsstadium (primäre Oocyte) auf. Auch bei den größten angetroffenen Oocyten hatte noch keine nennenswerte Einlagerung von Dotter stattge-

funden. Neben den dominierenden primären Oocyten wurden seltener „Oogonien“ beobachtet, die ein noch früheres Entwicklungsstadium der weiblichen Keimzellentwicklung repräsentieren. Interessanterweise befanden sich auch einige Oocyten im Zustand der Rückbildung. Derartige Oocyten erschienen histologisch unscharf begrenzt und in Auflösung begriffen (Abb. 22E,F).

Bei geringgradiger Intersex-Ausprägung waren nur wenige, einzeln verstreute Oocyten im Hodengewebe vorhanden. Tiere mit einer stärkeren Ausprägung von Intersex wiesen auch häufiger Gruppen von 3 bis 5 Oocyten in einem Hodenkanälchen auf. Als intensivste Form von Intersex wurde das Auftreten von zahlreichen, strangförmig angeordneten Oocyten beobachtet, die einen größeren Anteil des Hodengewebes einnahmen. Unabhängig von der Intensität der Zwitterbildung wiesen die Hodenkanälchen und die männlichen Gametenstadien immer ein normales, unauffälliges Aussehen auf (Abb. 22A-D).

In Abb. 23 ist die Häufigkeit von Intersex an Stationen der inneren und äußeren Küstengewässer dargestellt. Im Jahr 2003 lag die Prävalenz in den Proben aus Wismar, dem Salzhaff und Breitling sowie vom Darßer Ort bei ungefähr 40% (38-44%). Für die Station bei Zingst wurden 23% ermittelt. Im darauf folgendem Jahr war die Prävalenz an der Station Salzhaff mit 10% deutlich niedriger als an den Vergleichsstationen bei Wismar und am Darßer Ort, wo, gegenüber dem Vorjahr, ein relativ geringer Rückgang der Intersex-Häufigkeit zu verzeichnen war (Anhang Tab. 15).

Bezüglich der Intensität des Intersex-Phänomens wurden ebenfalls Unterschiede zwischen den beiden Beprobungskampagnen festgestellt. So wurden 2003, mit Ausnahme von Zingst, an allen Stationen auch Individuen mit einer stärkeren Intersex-Ausprägung angetroffen. In den Proben von Wismar/Wendorf, dem Salzhaff und dem Darßer Ort wurde die Ausprägung von Intersex bei 7%, 6% bzw. 13% der untersuchten Männchen als „stark“ eingestuft. Bei den 2004 untersuchten Proben gab es nur bei Aalmuttern vom Darßer Ort stärker ausgeprägte Formen von Ovotestis.

Die Daten zur Intersex-Häufigkeit bestätigen die Ergebnisse früherer Untersuchungen, de-

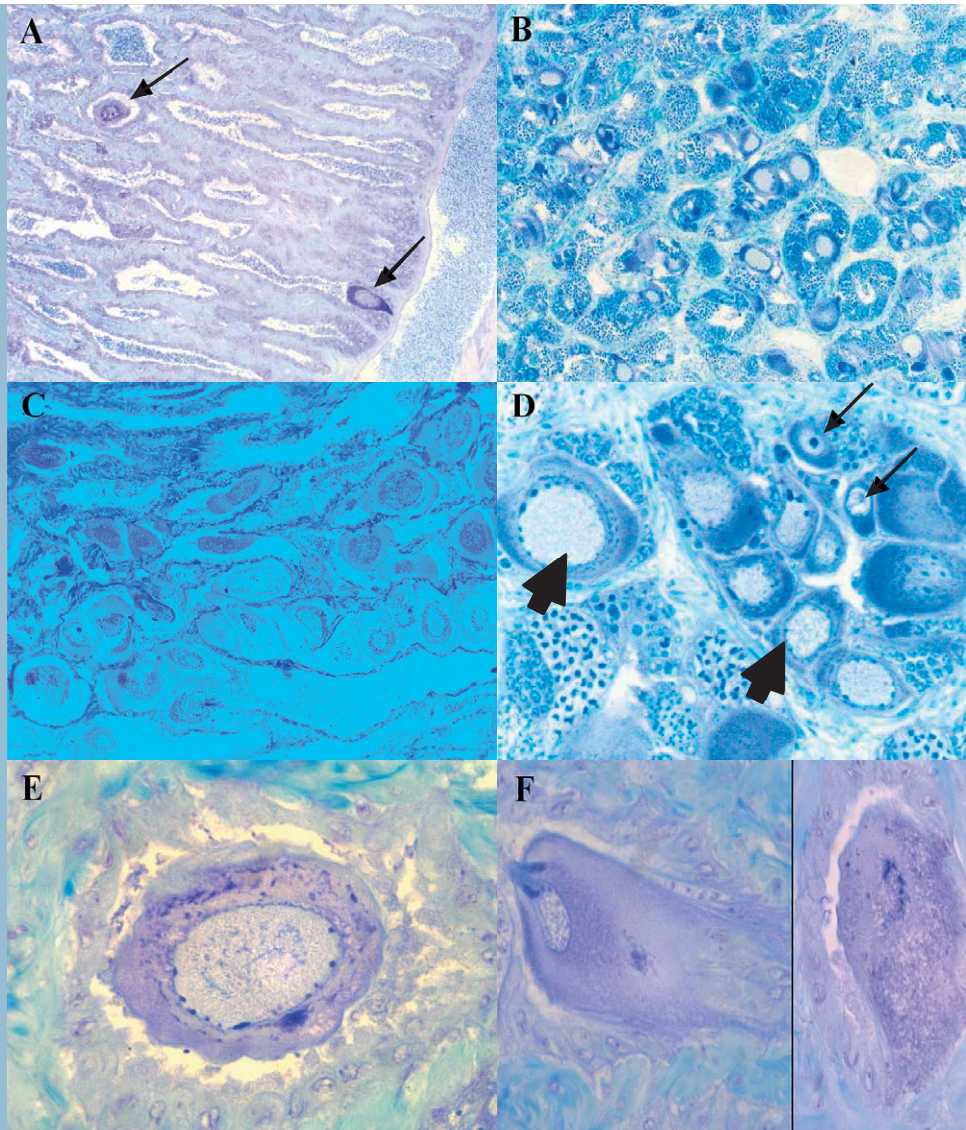
nen zufolge Intersex bei männlichen Aalmuttern offensichtlich weit verbreitet an der Küste von Mecklenburg-Vorpommern vorkommt. Dennoch war die hohe Prävalenz und z.T. auch Intensität von Intersex bei Tieren von der Außenküste beim Darßer Ort überraschend. Bei der ersten Beprobung im Jahr 2000 wurde an dieser Station kein einziger Fall von Intersex beobachtet (Gercken & Sordyl, 2002a). Auch bei der 2003 im Salzhaff genommenen Probe war Intersex deutlich häufiger und stärker ausgeprägt als bei drei früheren Probenahmen. Interessanterweise wurde ebenfalls 2003 bei Wendorf die höchste Intersex-Prävalenz aller fünf dort erfolgten Beprobungen ermittelt.

Betrachtet man den gesamten im Zeitraum 1999 bis 2004 erhobenen Datensatz zum Vorkommen von Intersex in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern, ergibt sich folgendes Bild (Gercken & Sordyl, 2002a; Gercken et al., un-

veröffentlicht; vorliegende Pilotstudien): In der Wismar-Bucht trat Intersex an den Stationen bei Wendorf und im Salzhaff im Mittel häufiger auf als im Gebiet der Eggers Wiek. Dort wurden nur geringgradige Formen von Intersex beobachtet. Lässt man das „Ausnahmejahr 2003“ unberücksichtigt, so wurden im Salzhaff bei drei von vier Probenahmen lediglich geringgradige Formen von Ovotestis gefunden, während bei Wendorf in drei von vier Proben auch stärkere Ausprägungen einer Verweiblichung vorkamen. Bei zwei Proben (2000, 2003) aus dem Breitling bei Rostock war die Häufigkeit von Intersex ähnlich hoch wie an der Station Wismar/Wendorf. Am Darßer Ort zeigten die Prävalenzen noch stärkere interannuelle Schwankungen als andernorts. Während im Jahr 2000 kein Individuum mit Intersex gefunden wurde, war die Häufigkeit und Intensität von Intersex bei den folgenden Beprobungen vergleichbar mit der Situation in den inneren Küstengewässern.

■ Abb. 22:

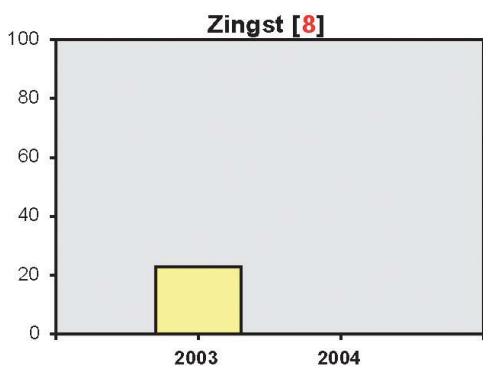
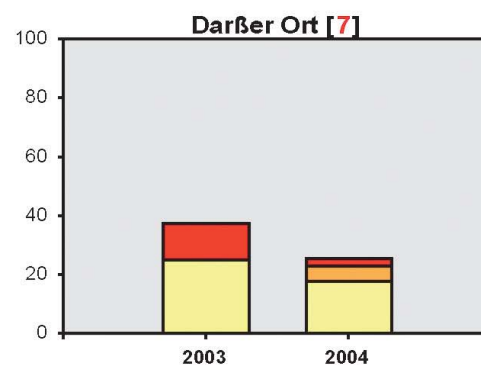
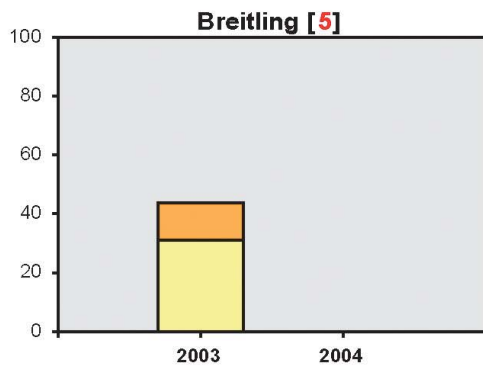
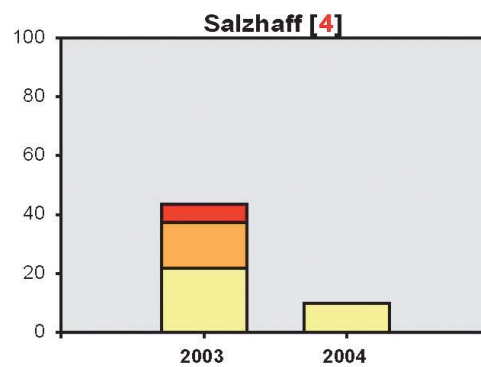
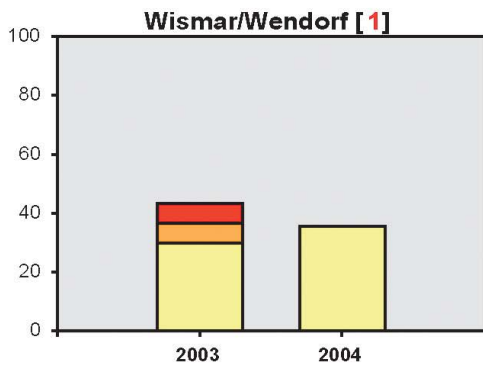
Geringgradige Ausprägung von Intersex mit vereinzelt auftretenden Oocyten [Pfeile] (A).
Starke Ausprägung von Intersex mit zahlreichen Gruppen oder strangförmig angeordneten Oocyten (B, C).
Gruppe von Oocyten unterschiedlicher Größe (dicker Pfeil) und kleine Oogonien [dünner Pfeil] (D).
Degenerierte Oocyten in Resorption begriffen (E, F).





■ **Abb. 23:**

Prävalenz [%] und Intensität [%] der Ausprägung von Intersex bei männlichen Aalmuttern im Untersuchungsgebiet. [Bewertungskriterien siehe S. 29]



Auch an der nicht weit vom Darßer Ort entfernten Station Zingst lag die Prävalenz bei beträchtlichen 23%. Allerdings wurden hier nur schwach ausgeprägter Formen einer Zwitterbildung beobachtet.

Zur Zeit existieren nur spärliche Vergleichsdaten über das Auftreten von Intersex bei Aalmuttern aus anderen Bereichen der Ostsee oder anderer Meeresgebiete. Im Rahmen der EDMAR-Studie in britischen Küstengewässern wurden Intersex-Häufigkeiten im Bereich von 7-20% ermittelt (Allen et al., 2002). In den Ästuaren des Clyde und Tyne war die Prävalenz am höchsten. Hier wiesen auch männliche Flundern vermehrt Intersex auf. Bei einer weiteren Feldstudie im Tyne-Ästuar wurden bei 25% der männlichen Aalmuttern Intersex beobachtet (Stentiford et al., 2003). Die im Frühling genommenen Proben wiesen ausschließlich frühe, prävitellogene Oocyten auf. In Herbstproben wurden keine Tiere mit Intersex gefunden.

Im Rahmen des EU-Projektes BEEP bot sich dem IfAÖ die Gelegenheit, Hodenproben von Aalmuttern aus schwedischen Küstengewässern vergleichend zu untersuchen (Probenmaterial von Prof. Förlin, Universität Göteborg). Die Proben stammten von einer nördlich von Göteborg im Skagerrak gelegenen Station (Fjällbacka) und einer Station an der Ostseeküste südlich von Stockholm (Kväddfjärden). Beide Gebiete zählen zum Stationsnetz des schwedischen Küstenmonitorings und sind jeweils als „Referenzgebiet“ eingestuft. Bei der histologischen Befundung von insgesamt 50 Hodenproben wurde kein einziger Fall von Intersex beobachtet. Zukünftig sollen am IfAÖ weitere Proben aus schwedischen Küstengewässern bearbeitet werden, so dass demnächst ein größerer Datensatz zum Vorkommen von Intersex bei schwedischen Aalmuttern vorliegen wird. Dieser kann dann als Referenzdatenbasis für die in den hiesigen Küstengewässern ermittelten Intersex-Befunde dienen.

Die an schwedischen Aalmuttern ermittelten Befunde zeigen deutlich, dass es sich bei den hohen Intersex-Prävalenzen der Aalmuttern aus den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern keinesfalls um „natürliche Basiswerte“ handeln kann. Vielmehr müssen die hiesigen Befunde als Resultat von derzeit nicht näher bekannten Stress- und Schadstoffeffekten interpretiert werden.

Der Breitling bei Rostock mit der angrenzenden Unterwarnow und die innere Wismar-Bucht mit dem Klärwerk und dem Hafen bei Wismar/Wendorf sind als Schwerpunkte einer Umweltbelastung mit Schadstoffen bekannt (III.6). An diesen Stationen war auch die Intersex-Prävalenz und -Ausprägung besonders hoch bzw. intensiv. Andererseits traten Ovotestis in Gebieten mit geringerer anthropogener Belastung wie im Salzhaff und besonders am Darßer Ort nicht deutlich seltener auf. Daraus ist allerdings nicht zu folgern, dass Schadstoffe allenfalls eine untergeordnete Rolle bei der Entstehung von Intersex spielen. Wie bereits im einleitenden Kapitel erwähnt, werden vor allem hormonell aktive Substanzen für die Induktion von Intersex verantwortlich gemacht. Diese heterogene Gruppe von Chemikalien wird aber mit dem gegenwärtigen Monitoring der Küstengewässer gar nicht erfasst. Dennoch kommt den beim Monitoring analysierten „klassischen Schadstoffen“ eine gewisse Stellvertreterfunktion zu und man darf annehmen, dass Stationen wie Wendorf und Breitling auch mit den sog. „neuen Schadstoffen“ relativ stark belastet sind. Diese Verbindungen, zu denen beispielsweise Arznei- und Körperpflegemittel sowie synthetische und natürliche Hormone zählen sind häufig um ein Vielfaches in ihrer endokrinen Wirksamkeit aktiver als die beim regulären Küstengewässermonitoring gemessenen Schadstoffe. Insofern erscheint es durchaus möglich, dass diese Schadstoffe auch in geringer anthropogen belasteten inneren und äußeren Küstengewässern - in ihrer Gesamtheit - biologisch wirksam sind.

Leider ist die Datenlage zur Belastung der hiesigen Küstengewässer mit hormonaktiven Stoffen zur Zeit noch äußerst dürftig. Erst kürzlich wurden Daten über Konzentrationen von natürlichen und synthetischen Estrogenen sowie von Bisphenol A in Wasserproben aus der inneren Wismarbucht bei Wendorf und der Außenküste beim Darßer Ort publiziert (Beck et al., 2006a). In Bezug auf Bisphenol A und dem synthetischen Estrogen Ethinylestradiol (Kontrazeptiva) waren die Wasserproben von Wismar stärker kontaminiert als die vom Darßer Ort. Bei den natürlichen Hormonen Estradiol (E2) und Estron (E1) lagen hingegen an beiden Standorten vergleichbare Konzentrationen bzw. weniger starke Unterschiede vor. Ergänzend zur chemischen

Analytik wurde mit Hilfe eines estrogensensitiven Hefezelltests („yeast estrogen screen“, YES) die biologische Wirkung von aus Wasserproben angereicherten Extrakten ermittelt. Proben aus der inneren Wismar-Bucht wiesen die höchsten estrogenen Aktivitäten auf. Überraschend hohe estrogenen Aktivitäten waren aber auch in Proben von der Eggers Wiek, dem Salzhaff und vom Darßer Ort vorhanden (Beck et al., 2006b).

Einen direkten Nachweis für eine Exposition von Aalmuttern gegenüber Substanzen mit hormoneller Wirkung lieferte Lünemann (2004) im Rahmen ihrer Diplomarbeit. Sie führte eine Bestimmung von estrogen wirksamen Schadstoffen in der Gallenflüssigkeit der Aalmutter durch. Die Tiere stammten von den Stationen Wismar/Wendorf und Salzhaff und waren hinsichtlich des Auftretens von Gonadenstörungen vom IfAÖ histologisch untersucht worden (Galleproben durch das IfAÖ zur Verfügung gestellt). Industriechemikalien wie Bisphenol A und insbesondere Nonylphenol wurden in der Galle weiblicher und männlicher Aalmutter in relativ hohen Konzentrationen von 0,71-19,5ng/µl Galle bzw. 2,3-18,8ng/µl Galle gemessen. Interessanterweise bestanden dabei keine nennenswerten Konzentrationsunterschiede zwischen Tieren von Wendorf und dem Salzhaff. Entsprechendes galt auch für die analysierten natürlichen Estrogene (17β-Estradiol, Estron, Estriol) bei den Weibchen. Hier wurden sogar Maximalwerte bei einer Aalmutter aus dem Salzhaff ermittelt. Aufgrund der zeitlichen Begrenzung wurden in dieser Diplomarbeit relativ wenige Proben analysiert. Die vorliegenden Befunde lassen jedoch eine umfangreichere Untersuchung an der Gallenflüssigkeit der Aalmutter dringend geboten erscheinen.

Diese interessanten Befunde sind ein gutes Beispiel für den diagnostischen Wert biologischer Effektmethoden beim marinen Monitoring. Über den Nachweis bestimmter Metaboliten in der Gallenflüssigkeit bietet sich die Möglichkeit, eine Strategie zur Aufklärung von Ursache-Wirkungsbeziehungen zu entwickeln.

III.5.4.2 Ovar-Degenerationen bei weiblichen Aalmuttern

Im Gegensatz zu den meistens paarig angelegten Ovarien anderer Fische besitzt die Aalmutter ein unpaares Ovar. Es ist mit Mesenterien in der

dorsalen Leibeshöhlenwand fixiert. Am Beginn der Gonadenentwicklung liegen die Oogonien und jungen Oocyten im Keimepithel eingebettet an der Innenwand des Ovars. Im Laufe der Eientwicklung wölbt sich das Keimepithel infolge der Volumenzunahme der Oocyte in das Lumen des Ovars vor. Im Zustand fortgeschrittener Reife, wie er zum Zeitpunkt der Beprobung bestand, hat sich die stark vergrößerte Oocyte mit den umhüllenden Follikelzellen so weit in das Ovarlumen verlagert, dass sie nur noch durch eine stielartige Verbindung (Funiculus) mit der Ovarwand verbunden ist. Aufgrund der fortgeschrittenen Reife waren die Oocyten bereits in situ durch die mehr oder weniger transparent erscheinende Wand des Ovars gut zu erkennen. Die Größe und die gelbe Färbung der Eier waren ein Indiz für die bereits weit fortgeschrittene Einlagerung von Dotter (Vitellogenese) in das Ooplasma.

Bei der Sektion von weiblichen Aalmuttern fielen häufiger äußerlich sichtbare Veränderungen an den Ovarien auf. Diese Beobachtung war Anlass, die Ovarien einer detaillierteren Untersuchung zu unterziehen. Hierfür wurde das mit einem Längsschnitt geöffnete und ausgebreitete Ovar mit Hilfe einer Binokularlupe inspiziert. Wie Abb. 24 zeigt, war die Ausprägung der beobachteten Degenerationen bei den Oocyten recht vielfältig. Beginnende Degenerationen waren zuerst an einer veränderten Färbung der Eizellen zu erkennen. Mit fortschreitender Degeneration setzte eine Schrumpfung der Eizelle ein, bis lediglich ein kleiner „Kern“ übrig blieb und das normalerweise gut durchblutete Gewebe der Ovarwand sozusagen als „leere Hülle“ übrig blieb.

Zum besseren Verständnis der degenerativen Veränderungen wurden stichprobenweise gesunde und abnorme Ovarien auch auf histologischer Ebene miteinander verglichen. Im histologischen Bild erwiesen sich die Degenerationen als unterschiedliche Ausprägungen einer typischen Atresie (Abb. 25). Dieser Begriff umschreibt das Absterben und die Resorption der Eizelle im Follikel (Follikel-Atresie). Es handelt sich dabei um einen Prozess, bei dem das Gewebe sein Wachstum einstellt, degeneriert und schließlich seine Funktion verliert. Im Gegensatz zur nekrotischen Zerstörung von Gewebe handelt es sich bei der Atresie um einen „geordneten Prozess“ der Rückbildung von Eizellen.

In Abb. 26 und Tab. 16 (Anhang) sind Häufigkeit und Ausprägung der makroskopisch sichtbaren Ovardegenerationen im Untersuchungsgebiet dargestellt. Insgesamt waren atretische Oocyten mit einer Prävalenz von mindestens ca. 40% in allen untersuchten Proben (mit Ausnahme Salzhaff 2003) weit verbreitet. An der Station Wendorf wurden die höchsten Prävalenzen mit 53 bzw. 65% ermittelt. Im Jahr 2003 wurden Degenerationen an der Station Salzhaff deutlich seltener beobachtet (19%) als an den Vergleichsstandorten. Die Ausprägung der Degenerationen wurde bei den Aalmuttern aus dem Salzhaff vorwiegend als „geringgradig“ bewertet. Bei den anderen Proben lag der Anteil schwach ausgeprägter Atresien zu meist bei 50% und darunter. An den Stationen Wismar und Darßer Ort war der Anteil stark degenerierter Ovarien mit 16% (2003) bzw. 15 und 16% (2003/2004) besonders hoch. Zusammenfassend betrachtet bestätigen die hier

vorgestellten Daten zum Auftreten von Ovar-Degenerationen die Befunde, die im Rahmen des BEEP-Projektes in den Jahren 2001 und 2002 an Aalmuttern im selben Untersuchungsgebiet ermittelt wurden (IfAÖ, unveröffentlicht). Mit einer Prävalenz von 70% und 50% kamen Atresien bei Wismar/ Wendorf ähnlich häufig vor wie bei den hier vorgestellten Pilotstudien. In der mittleren Wismar-Bucht; an der Station Eggers Wiek, wurden ebenfalls hohe Prävalenzen von 82% und 57% ermittelt. Im Salzhaff wiesen lediglich 0% (2001) bzw. 14% (2002) der Weibchen Degenerationen der Eientwicklung auf.

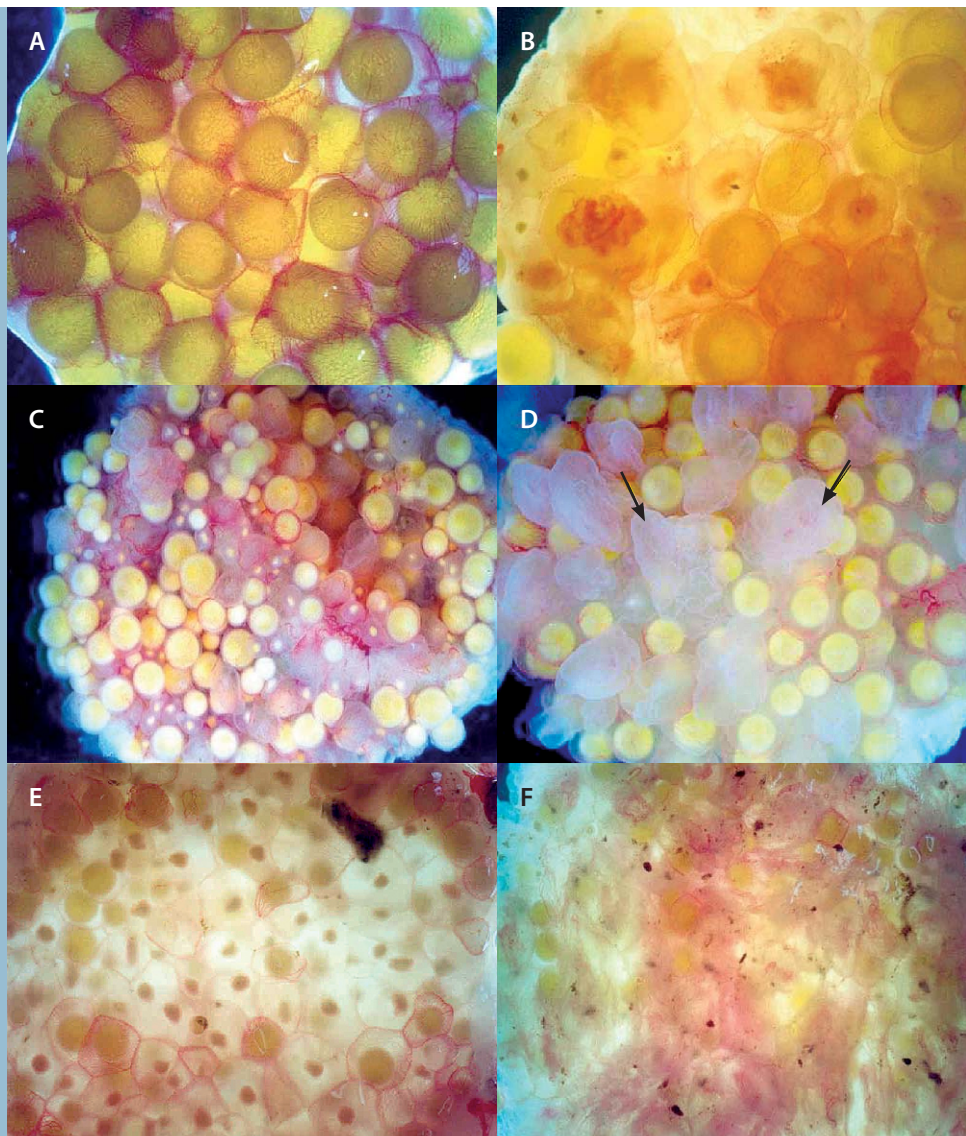
In der wissenschaftlichen Literatur existieren keine weiteren Vergleichsdaten über das Vorkommen von Atresie bei der Aalmutter. Lediglich im Rahmen eines Abschlussberichtes über biologische Effektuntersuchungen an Organismen aus britischen Küstengewässern wird das Vorkommen

■ Abb. 24:

Ovar mit normal entwickelten, durch Einlagerung von Dotter gelb gefärbten Eiern.

Jedes Ei liegt in einem von der Ovarwand gebildeten „Becher“, der zahlreiche Blutgefäße enthält (A).

Die weiteren Abbildungen zeigen verschiedene Ausprägungen von makroskopisch erkennbaren atretischen Veränderungen (B-F)



von Atresie bei Aalmuttern aus dem Clyde-Ästuar erwähnt, ohne jedoch genauere Angaben zur Prävalenz zu machen (Feist et al., 2005).

Als Auslöser einer atretischen Degeneration von Eizellen können verschiedene Faktoren in Frage kommen. Genannt seien beispielsweise körperlicher Stress, Hunger und Parasiten. Außerdem müssen Schadstoffe als Auslöser von Oocyten-Degenerationen in Betracht gezogen werden. Neben Fremdstoffen, die im „klassischen“ Sinne toxisch wirken, ist dabei auch an eine hormonelle Störung zu denken. Für diese Annahme spricht, dass es sich bei der Atresie um eine „geordnete“ Rückbildung und Resorption der Eizelle handelt. Dieser Vorgang gleicht dem „regulierten Zelltod“ nach Art einer Apoptose. Da die Auslösung von Apoptose u.a. durch hormonelle Faktoren reguliert wird, könnte eine Störung der hormonellen Homöostase im Ovar zu einer vermehrten Atresie führen.

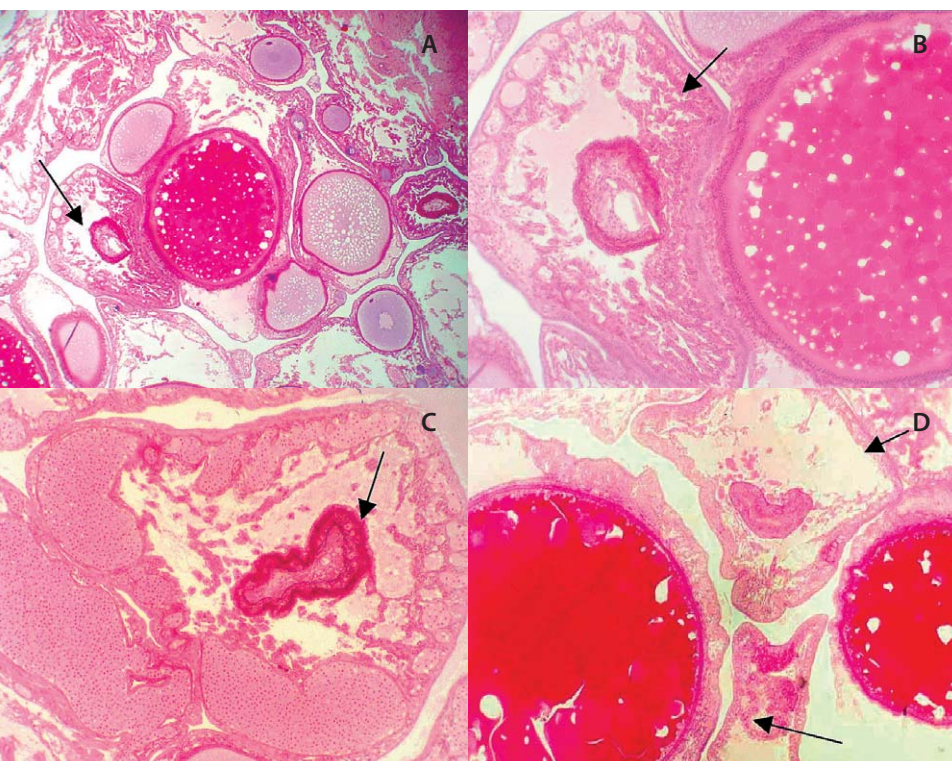
Gestützt wird diese Hypothese durch die Resultate von Freilanduntersuchungen an Fischen (*Catostomus commersoni*) in der Nähe einer Zellstoffabrik. Die dort lebenden Tiere wiesen eine erhöhte Prävalenz apoptotischer, atretischer Follikel auf. Außerdem waren die Plasmakonzentrationen von Testosteron und Estradiol erniedrigt bzw. erhöht (Janz et al., 1997). Die Autoren vermuten Substanzen aus dem Abwasser der Fabrik als Auslöser der Atresie.

III.5.5 Reproduktionsstörungen bei trächtigen Aalmuttern

Mit der Untersuchung von trächtigen Weibchen in den Monaten Oktober und November sollte das Vorkommen von Entwicklungsstörungen bei den Nachkommen erfasst werden. Zu dieser Zeit befanden sich die Weibchen im 2.-3. Monat der Schwangerschaft. Je nach dem Zeitpunkt der Probenahme betrug die Länge der untersuchten Larven ungefähr 27 bis 40mm. Methodisch orientierte sich die Untersuchung an der Richtlinie des schwedischen Küstenmonitorings zur Ermittlung des Reproduktionserfolgs (Reproductive Success) bei der Aalmutter (Neumann et al., 1999).

III.5.5.1 Missbildungen bei entwickelten Larven

Die augenfälligste Störung einer Brut äußerte sich im Auftreten von missgebildeten bzw. deformierten Larven (Abb. 27). Dabei ließen sich zwei Größenklassen unterscheiden. Kleine missgebildete Larven (<15mm; bei ≈15mm erfolgt der Schlupf) kamen vergleichsweise häufig an allen Stationen vor. Sie waren bereits vor dem Schlüpfen gestorben und wiesen dementsprechend ein frühes Entwicklungsstadium auf. Der diagnostische Wert dieser frühen Missbildungsstadien ist gering, da bekanntlich selbst in Gebieten, die als „unbelastet“ gelten, derart kleine, deformierte Larven relativ häufig vorkommen.

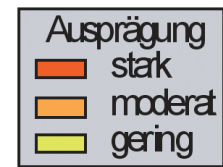
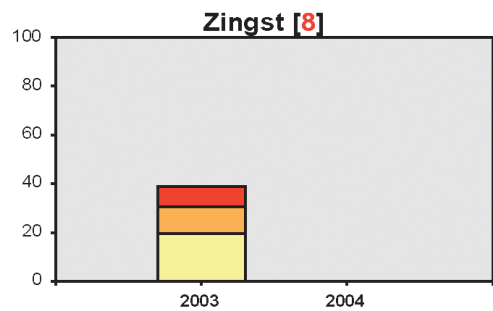
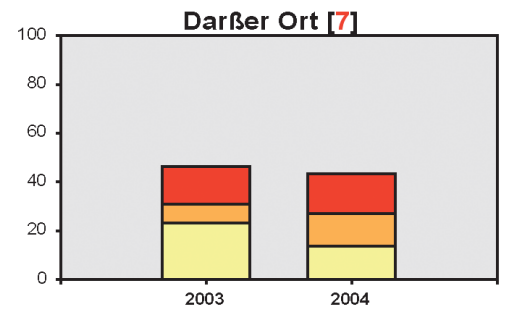
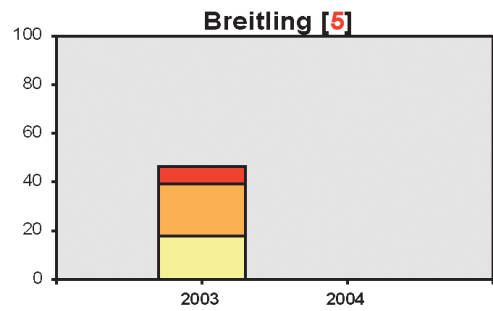
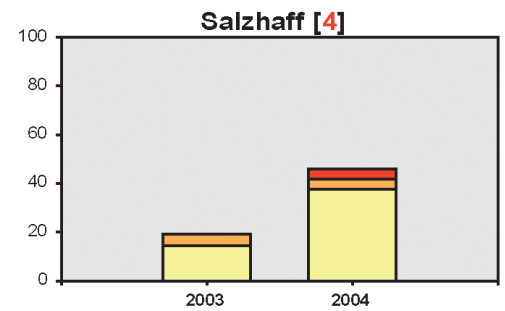
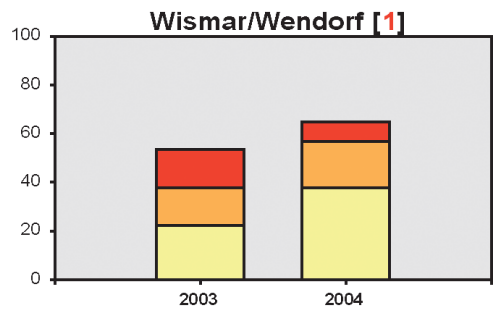


■ Abb. 25:

Histologische Bilder normal entwickelter und atretischer Eizellen [Pfeile]. Übersichtsdarstellung mit normal entwickelten Oocyten in verschiedenen Reifestadien (A). Geschrumpfte, atretische Oocyte neben einer normalen, dotterreichen Oocyte (B). Eine bis auf einen kleinen „Kern“ zusammengeschrumpfte Oocyte [Pfeil] umgeben von stark angeschwollenen Blutgefäßen (C). Zwei normale und zwei degenerierte Oocyten [Pfeile] (D).

■ **Abb. 26:**

Prävalenz [%] und Intensität [%] der Ausprägung von Ovar-Degenerationen (Atresie) bei weiblichen Aalmuttern im Untersuchungsgebiet.



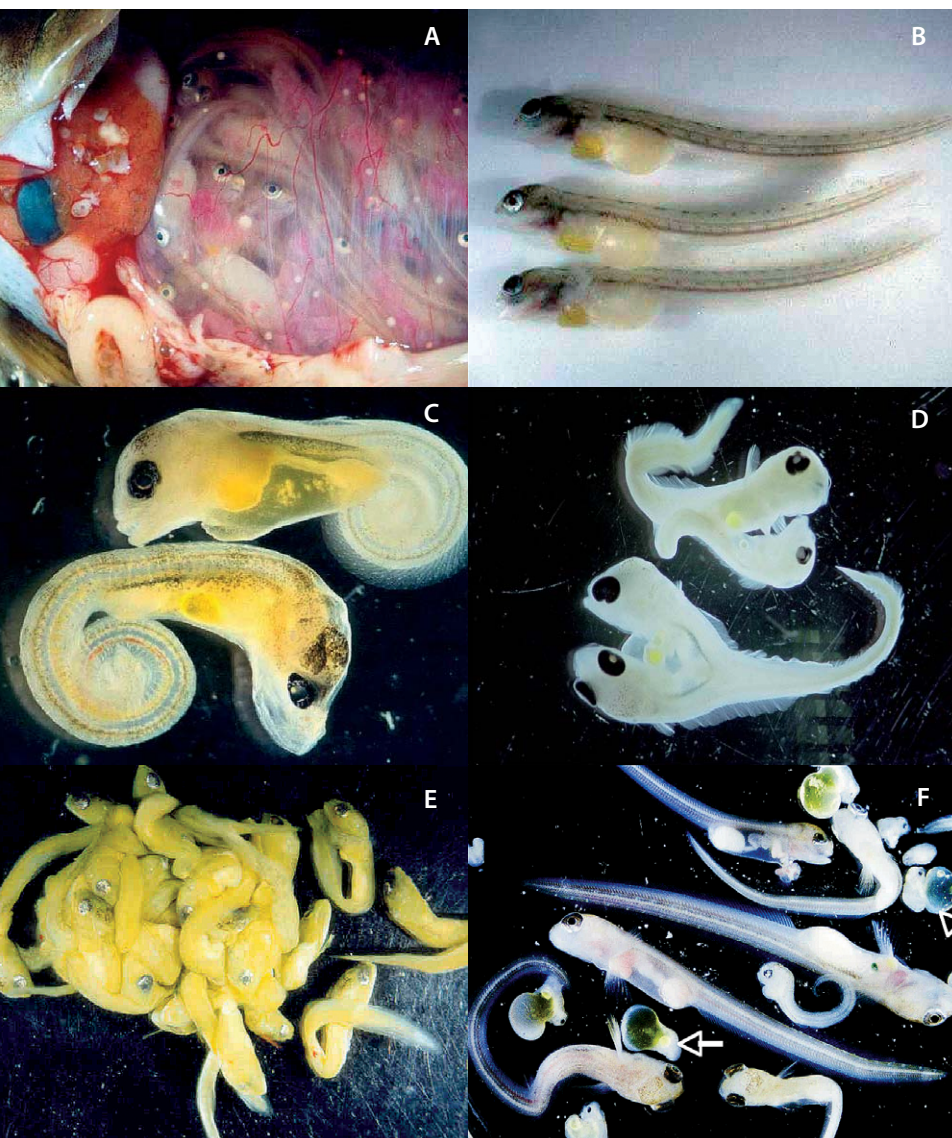
Aus diesem Grund werden die Befunde über die regionale Prävalenz kleiner fehlentwickelter Larven an dieser Stelle nicht vorgestellt.

Von größerer ökotoxikologischer Relevanz war das Auftreten von Deformationen bei größeren Larven, die zumindest das Dottersackstadium oder bereits ein weiteres Entwicklungsstadium erreicht hatten (>15mm, nach dem Schlupf). Missbildungen bei diesen entwickelten Larven gelten als zuverlässiger Indikator für die Wirkung von reproduktionstoxischen Substanzen (Neumann et al., 1999). Bei der Darstellung der Befunde über das Vorkommen entwickelter, deformierter Larven wurde nicht zwischen toten und (noch) lebenden Larven unterschieden. Der Schweregrad der Deformation war im Allgemeinen so groß, dass die Larven keine Überlebenschance gehabt hätten. Zu den Missbildungen, die am häufigsten auftraten, zählten Zwergwuchs, Wirbelsäulendeformationen und

-spaltbildungen sowie Schädel- und Augenfehlbildungen (Abb. 27).

In Abb. 28 ist der prozentuale Anteil der Weibchen mit deformierten Larven in der Brut im interstationären Vergleich zu sehen. Außerdem enthält die Darstellung noch Informationen über das Ausmaß, mit dem die Missbildungen innerhalb einer Kategorie auftraten (Kategorien als prozentuale Anteile). An den Stationen, die mehrfach beprobt wurden, gab es deutliche jährliche Schwankungen der Prävalenz. Mit Ausnahme der Probe des Jahres 2002 aus dem Salzhaff wiesen immer mindestens 50% der Weibchen entwickelte, deformierte Larven auf. Die Höchstwerte lagen im Bereich von 80% (Anhang Tab. 17).

In den Proben von den Stationen Wismar/Wenddorf und Breitling wurden die Weibchen mit den höchsten Anteilen deformierter Larven in der Brut



■ **Abb. 27:**

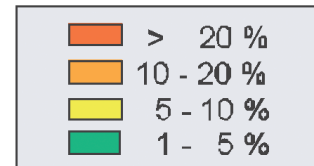
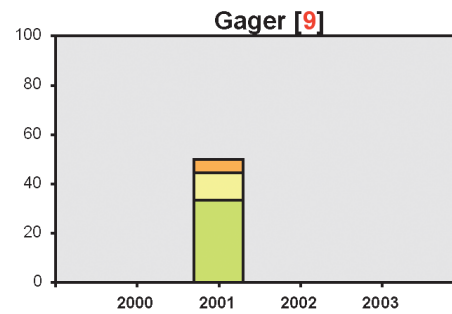
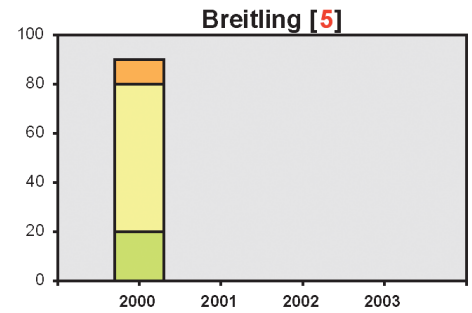
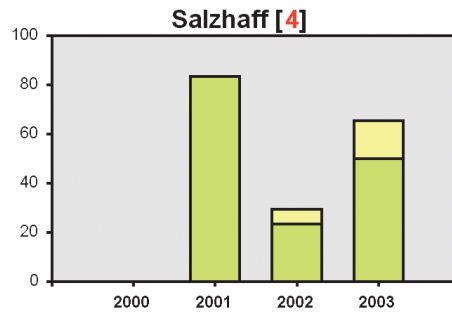
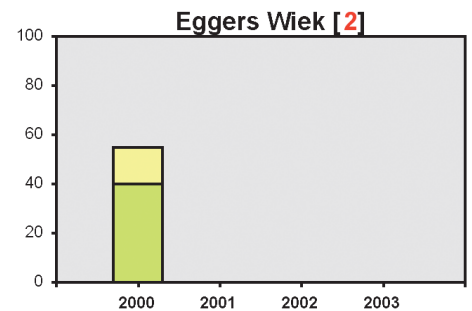
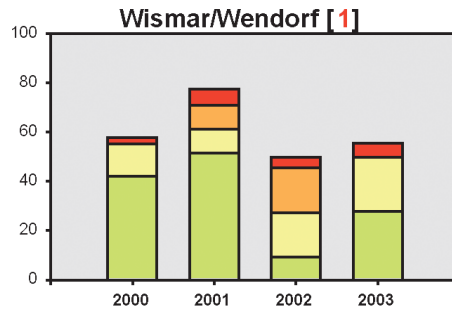
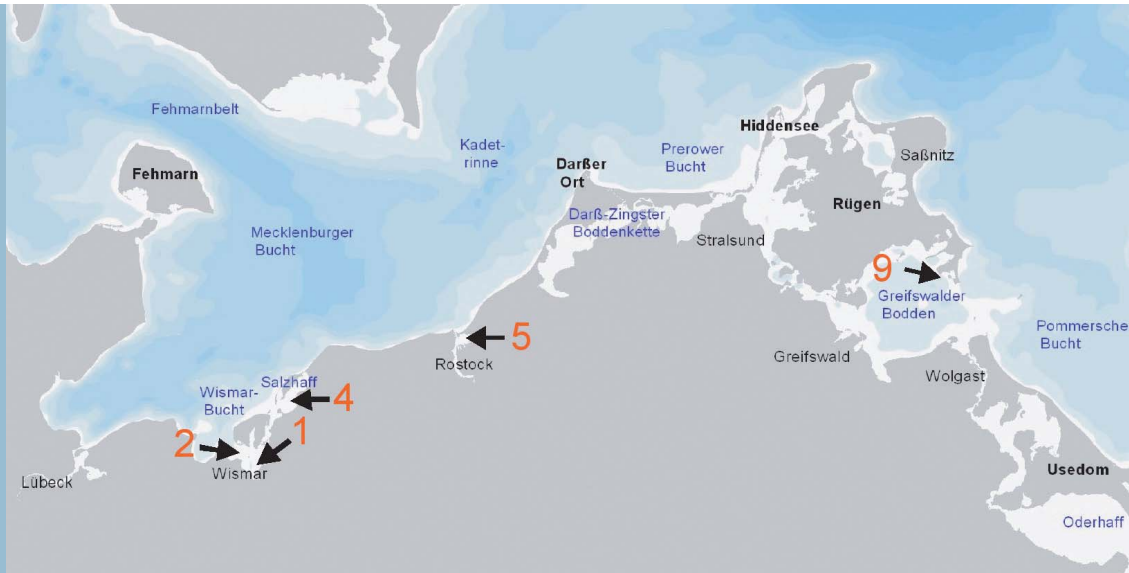
In situ freigelegtes Ovar. Durch die transparente Ovarwand sind die Larven zu sehen (A).

Normal entwickelte Larven mit fast vollständig resorbierten Dottersack (B). Unterschiedlich ausgeprägte Missbildungen bei entwickelten Larven (C,D,E,F).

Abbildung F enthält auch kleine (<15mm) missgebildete Larven [Pfeile].

■ **Abb. 28:**

Prävalenz [%] von Aalmuttern mit missgebildeten, entwickelten Larven sowie Darstellung der Intensität der Missbildungen. Die Farben repräsentieren jeweils den Anteil an Weibchen in einer Probe mit einem bestimmten prozentualen Anteil [4 Kategorien] von missgebildeten Larven in der Brut.



angetroffen. Im Jahr 2002 lag der Anteil von Weibchen, in deren Brut >5% der Larven missgebildet waren an der Station Wismar/Wendorf bei 40%. In der Probe aus dem Breitling wiesen 70% der Tiere >5% deformierte Nachkommen auf. An den Stationen Eggers Wiek, Salzhaff und Gager wurde das Ausmaß der Missbildungen überwiegend als geringgradig (1-5%) eingestuft (Abb. 28, Tab. 17; Anhang).

III.5.5.2 *Mortalität von normal entwickelten Larven*

Eine weitere Störung bestand im Vorkommen von größeren (>15 mm), toten Larven, die äußerlich unversehrt und normal entwickelt aussahen. Derartig geschädigte Larven traten i.d.R. deutlich seltener als deformierte Larven auf.

Wie Abb. 30 zeigt, wurde eine Mortalität von augenscheinlich normalen Larven nicht in allen untersuchten Proben beobachtet. An den jeweils nur einmal beprobten Stationen Eggers Wiek, Breitling und Gager kam dieses Phänomen nicht vor. Bei den drei Proben aus dem Salzhaff traten nur im Jahr 2003 tote, normal entwickelte Larven zu einem geringen Anteil in der Brut weniger Weibchen auf. Bei Wendorf kamen im Jahr 2002 vergleichsweise häufiger Weibchen mit toten Larven im Ovar vor. Dabei war der prozentuale Anteil toter Larven an der gesamten Brut mehrmals relativ hoch. In den Jahren 2000 und 2003 war dieses Phänomen jedoch deutlich seltener vorhanden (Anhang Tab. 18).

III.5.5.3 *Ausfall der Brut*

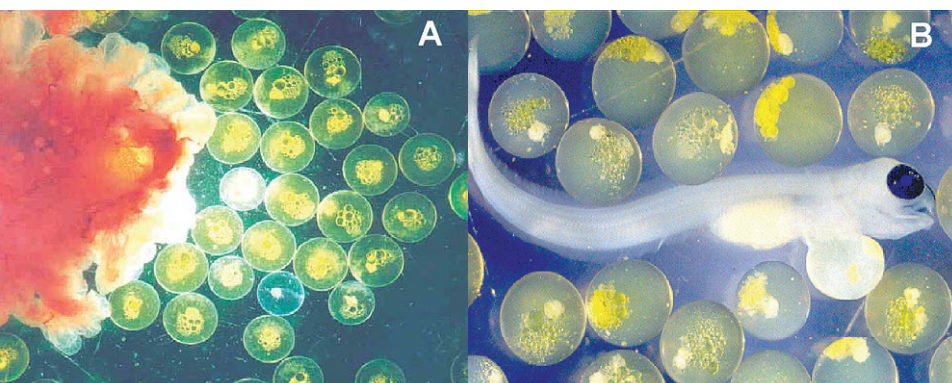
Neben Störungen wie Mortalität und Deformationen von Larven wurden in einigen Proben auch Weibchen gefunden, deren Ovar lediglich degenerierte, nicht entwickelte Eier enthielt.

Gelegentlich kamen außer degenerierten Eiern auch wenige entwickelte Larven vor (Abb. 29). Die Eier besaßen entweder einen großen oder mehrere kleinere Klumpen aus amorphem Zellmaterial. Möglicherweise handelte es sich dabei um das Resultat einer Fehlregulation der frühen Embryonalentwicklung. Eine derartig schwerwiegende Schädigung der Brut bedeutete letztendlich für das betroffene Weibchen ein vollständiges Ausbleiben der Nachkommenschaft.

Wie aus Abb. 31 hervorgeht, wies diese Art der Schädigung der Brut an den mehrfach beprobten Stationen eine starke Variabilität auf. An der Station Wismar/Wendorf wurde diese Störung bei einer von insgesamt vier Beprobungen gefunden (8,3%). Von den drei Proben aus dem Salzhaff lag der Ausfall einer Brut bei 22% bzw. 13% in den Jahren 2002 und 2003 relativ hoch. Bei Proben aus der Eggers Wiek und dem Breitling war die Prävalenz deutlich geringer (<10%). In der Probe von der Station Gager wurde diese Störung nicht beobachtet (Anhang Tab. 19).

III.5.5.4 *Hemmung des Larvenwachstums*

Eine weitere Entwicklungsstörung betraf das Vorkommen von wachstumsgehemmten Larven in einer Brut. Zur Ermittlung dieses Parameters wurde die Längenverteilung aller Larven einer Brut ermittelt. Fielen mehr als 5% der Larven nicht in die drei größten Längenintervalle wurde die Brut als „wachstumsgehemmt“ eingestuft. Diese Bewertung beruht auf der empirischen Erfahrung, derzufolge das Wachstum der Larven synchron erfolgt und die Länge der Larven innerhalb einer Brut normalerweise um nicht mehr als drei Längensklasse-Intervalle differiert (Neumann et al., 1999).



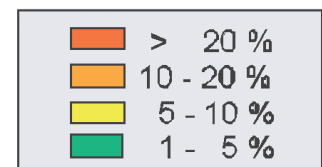
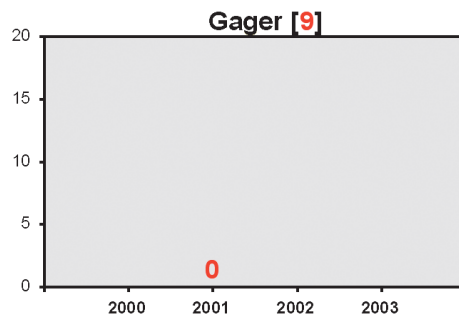
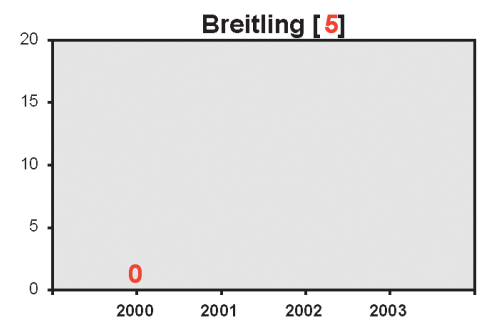
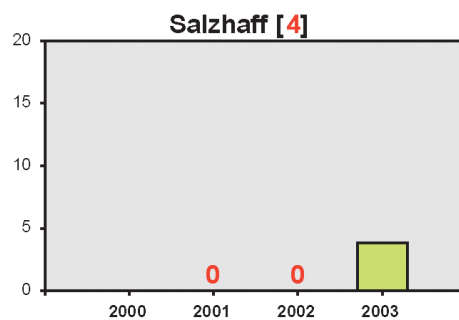
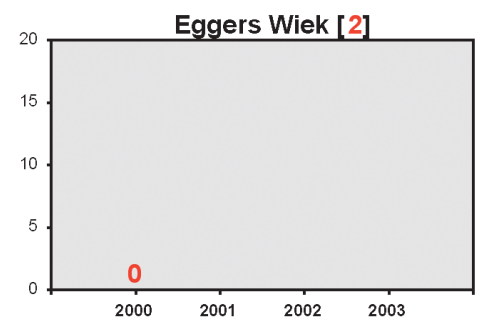
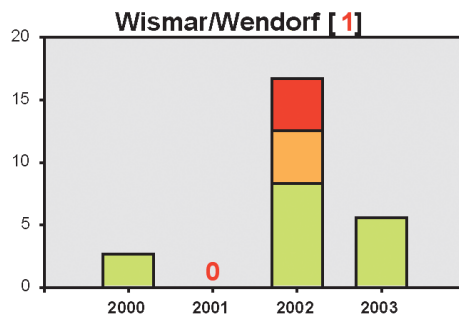
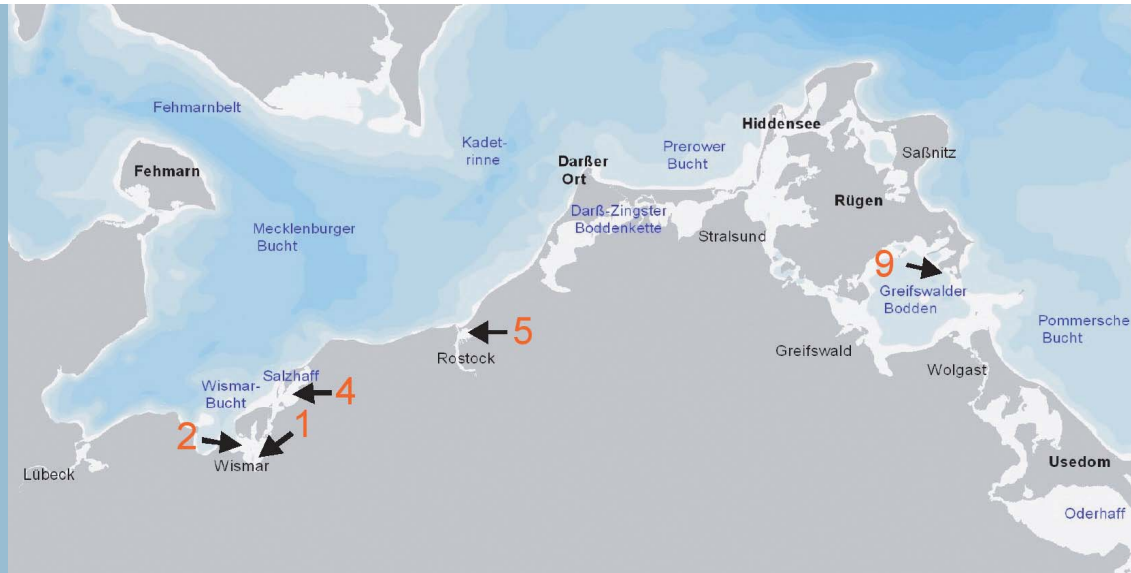
■ **Abb. 29:**

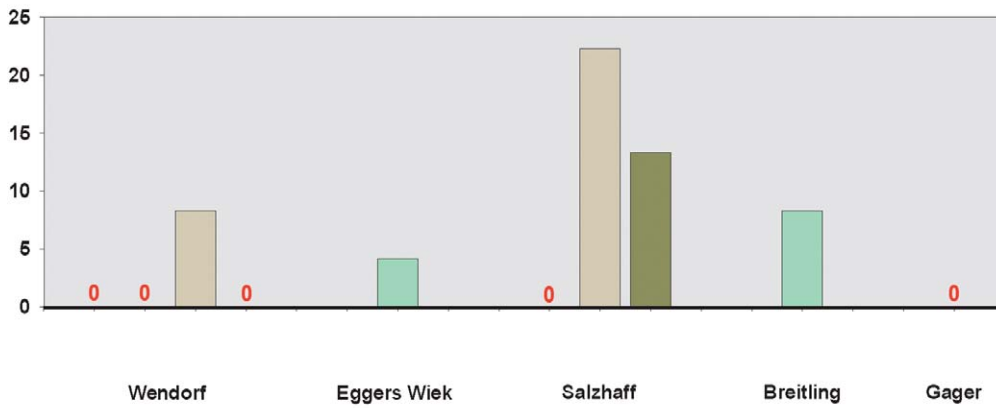
Degenerierte Eier einer nicht entwickelten Brut mit Teil des geöffneten Ovars (A).

Degenerierte Eier einer nicht entwickelten Brut mit missgebildeter Larve (Schädel, Eingeweide) (B).

■ **Abb. 30:**

Prävalenz [%] von Aalmuttern mit toten, äußerlich normal entwickelten Larven sowie Darstellung der Intensität der Mortalität. Die Farben repräsentieren jeweils den Anteil an Weibchen in einer Probe mit einem bestimmten prozentualen Anteil [4 Kategorien] toter Larven in der Brut.





■ **Abb. 31:**

Anteil an Weibchen [%], bei denen ein Ausfall der Brut auftrat.

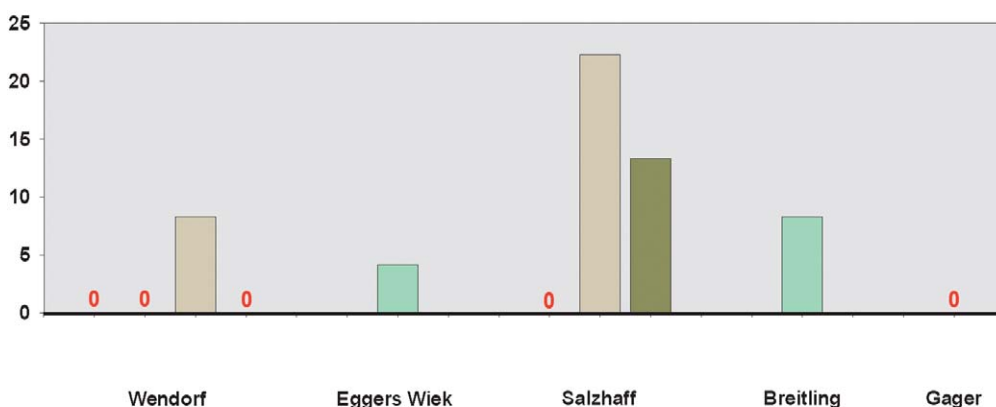
In Abb. 32 ist die Häufigkeit der Weibchen mit einer längenretardierten Brut für die einzelnen Stationen dargestellt. Wie anhand der Resultate an den mehrmals beprobten Stationen Wendorf und Salzhaff hervorgeht, wies dieser biologische Endpunkt starke jährliche Schwankungen auf. Insgesamt ließen die vorliegenden Daten keine regionalen Unterschiede erkennen.

Mit den im Rahmen der Effektmonitoring-Pilotstudien ermittelten Daten zum Auftreten von Entwicklungsstörungen bei Aalmutter-Larven wurden die Befunde vorheriger Untersuchungen an den Stationen Wismar (1998, 1999), Salzhaff (1998) und Breitling (1998) bestätigt und ergänzt. Mit der Station Gager wurde erstmals ein weiter östlich gelegenes Gebiet in den regionalen Vergleich einbezogen. Bereits 1999 hatte eine Beprobung von trächtigen Aalmuttern am Darßer Ort ergeben, dass auch an der Außenküste in einem erheblichen Maße Missbildungen von Larven auftreten können (Gercken et al., 2006).

Durch das seit vielen Jahren in schwedischen Küstengewässern praktizierte Monitoring zum „Reproductive Success“ von Aalmuttern standen

erfreulicherweise umfangreiche Vergleichsdaten aus anderen Bereichen der Ostsee zur Bewertung der hiesigen Reproduktionsstörungen zur Verfügung. Von Gercken et al. (2006) wurde ein mehrjähriger Datensatz über die Häufigkeit von Larven-Entwicklungsstörungen an zwei Referenzstationen (Kvädöfjärden, Marsö) an der schwedischen Ostküste ausgewertet und mit den Befunden aus Mecklenburg-Vorpommern verglichen. Hinsichtlich der Häufigkeit von Missbildungen wurden drastische Unterschiede zwischen den Stationen in Schweden und Mecklenburg-Vorpommern festgestellt. Während bei der Mehrzahl der hiesigen Proben mindestens 50% der Weibchen deformierte Larven (>15mm) in der Brut aufwies lag die Prävalenz an der Station Kvädöfjärden im Bereich von 0-6% (1999-2003) und bei Marsö bei 0-4% (1998-2003).

Weitere Daten zu Missbildungsraten bei Larven der Aalmutter wurden im Rahmen des Monitorings von Fischen in „Baltischen Referenzgebieten“ in Schweden, Finnland, Åland und Estland erhoben (Ådjers et al., 2001). Die ermittelte Häufigkeit von Missbildungen lag im Zeitraum 1994 bis 2000 an allen Stationen fast immer unter 1%.



■ **Abb. 32:**

Anteil an Weibchen [%] mit wachstumsverzögerten Larven in der Brut.

In Bezug auf den Parameter „Larven-Mortalität“ waren die Unterschiede zwischen den deutschen und schwedischen Aalmutter-Proben nicht so deutlich. So kam es vor, dass die Häufigkeit von Weibchen mit toten, normal entwickelten Larven bei den schwedischen Stationen zum Teil ähnlich hoch war wie in einzelnen Jahren in der Wismar-Bucht (Gercken et al., 2006).

Eine Wachstumshemmung der Larven trat bei den Aalmuttern von den schwedischen Referenzstationen wesentlich seltener auf als bei ihren Artgenossen in hiesigen Küstengewässern. Während bei Wismar, Eggers Wiek, Salzhaff und Breitling im Mittel 36%, 31%, 28% und 31% der Weibchen mehr als 5% wachstumsretardierte Larven in der Brut aufwiesen waren es in Kvädojärden und Marsö lediglich 3,6% bzw. 5,4%. Selbst am Darßer Ort und bei Gager betrug die Wachstumshemmung noch 19% bzw. 22% (Gercken et al., 2006).

Die Befunde aus dem Vergleich mit den Monitoringdaten schwedischer Referenzstationen lassen den Schluss zu, dass für die außerordentlich hohe Prävalenz von Missbildungen und auch von Wachstumshemmungen bei der Brut von Aalmuttern in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern offensichtlich anthropogene Stress- und Schadstoffbelastungen verantwortlich zu machen sind. Eine chemische Rückstandsanalytik an weiblichen Aalmuttern, die im Herbst 2001 und 2002 bei Wendorf und im Salzhaff gefangen worden waren, bestätigte die deutlich höhere Schadstoffbelastung bei den nah beim Hafen und Klärwerk Wismar lebenden Tieren. So wurden im Filet von Aalmuttern der Station Wendorf im Mittel ca. 4-fach höhere PCB-Konzentrationen (Σ 8 Congenere) und 2-3-fach höhere DDT-Konzentrationen gemessen als bei den Aalmuttern aus dem Salzhaff (Schiedek et al., 2006).

Evidenzen für einen Zusammenhang zwischen Umweltbelastung und der Häufigkeit von Missbildungen lieferte auch das seit 2001 in dänischen Küstengewässern durchgeführte Aalmutter-Monitoring (Strand et al., 2004). Im inneren Bereich von Fjorden sowie in der Nähe von größeren Städten und Industrieansiedlungen wurden wesentlich mehr Deformationen nachgewiesen als in geringer anthropogen belasteten Küstengewässern. Mit einem Anteil von 30% bis 50% weiblicher Aalmuttern, in deren Brut mehr als 5% der Larven

Missbildungen besaßen, erreichte diese Störung in kontaminierten Gebieten ein vergleichbar hohes Ausmaß wie in Mecklenburg-Vorpommern.

Das dänische Aalmutter-Monitoring lieferte auch wertvolle Hinweise zur Interpretation des Phänomens „Mortalität normal entwickelter Larven“. Strand et al. (2004) fanden, dass Aalmuttern an Stationen, an denen vor der Beprobung Sauerstoffmangel herrschte, eine besonders hohe Mortalität von augenscheinlich „gesunden“ Larven aufwiesen. Eigene Beobachtungen weisen ebenfalls darauf hin, dass Larven sensibler auf Sauerstoffmangel reagieren als die Mütter. So ist der überraschend hohe Anteil toter Larven bei Weibchen von der Station Darßer Ort (1999) sehr wahrscheinlich auf die zur Zeit der Zwischenhälterung im Nothafen durchgeführte Ausbaggerung der Fahrinne zurückzuführen. Die massive Störung des Sediments verursachte offenbar Sauerstoffmangel und führte möglicherweise auch noch zusätzlich zur Freisetzung von Schwefelwasserstoff (Gercken et al., 2006).

Insgesamt betrachtet spiegelt der Parameter „Mortalität“ nicht eine direkte Schadstoffbelastung wieder. Dieser Endpunkt kann vielmehr als Indikator für nachteilige Effekte durch Eutrophierung betrachtet werden (Gercken et al., 2006; Strand et al., 2004). Dieser Bezug zur Eutrophierung kann auch erklären, warum an den Referenzstationen des schwedischen Aalmutter-Monitorings relativ starke Schwankungen der Larven-Mortalität beobachtet wurden.

Grundsätzlich können auch ungünstige hydrografische Bedingungen zu Missbildungen bei Fischembryonen und -larven führen. Hierzu zählen beispielsweise Sauerstoffmangel und plötzliche Salzgehalts- und Temperaturschwankungen (Alderdice & Forrester, 1971; Westernhagen, 1970). Wie die Daten der Gewässerüberwachung zeigen, spielten diese Faktoren zur Zeit der Beprobung der Aalmuttern in hiesigen Küstengewässern keine Rolle.

Insgesamt gesehen besitzen die Missbildungen der Aalmutterlarven die größte ökotoxikologische Bedeutung, da sie die größte Evidenz für das Vorliegen von Schadstoffeffekten liefern. Anhand experimenteller Studien ist gut dokumentiert,

dass Schwermetalle, Organochlorverbindungen und PAKs Missbildungen in frühen Lebensstadien von Fischen hervorrufen können (Westernhagen, 1988).

Zum Beispiel führte die Exposition von Zebrafischen (*Danio rerio*) mit verschiedenen PCB-Kongeneren zu Deformationen in der Embryonal- und frühen Larvalphase (Olsson et al., 1999). Bei Wildpopulationen des Killifisches (*Fundulus heteroclitus*), die in einem mit PCBs kontaminierten Ästuar lebten, wurden die höchsten Prävalenzen von Wirbelsäulendeformationen im Gebiet der stärksten Verschmutzung gefunden (Black et al., 1998). Bei derselben Spezies wurde auch festgestellt, dass eine Exposition mit den hormonell aktiven Stoffen Nonylphenol und Octylphenol (4-t-OP) Entwicklungsstörungen bei den Embryos induziert (Kelly & Di Giulio, 2000).

Aufgrund ihrer viviparen Fortpflanzung ist die Aalmutter ein besonders sensibler Bioindikator zur Erfassung von Schadstoffwirkungen auf frühe Phasen der Embryonal- und Larvalentwicklung. Dies liegt daran, dass in umweltbelasteten Gebieten der mütterliche Organismus bereits diverse Schadstoffe in seinem Körper bioakkumuliert hat. Während der Tragzeit können dann Schadstoffe über die von der Mutter in das Ovar abgegebene Nährlösung auch die Larven erreichen (Korsgaard & Andersen, 1985). Dass dieser maternale-embryonale Transport tatsächlich von Bedeutung ist, zeigen Laborversuche (Rasmussen et al., 2002). Es wurde nachgewiesen, dass sich das Hormon 17 β -Estradiol und die Industriechemikalie Octylphenol aus der Wasserphase im mütter-

lichen Organismus anreichern und dann auch in die Ovarialflüssigkeit transferiert werden, so dass Entwicklungsstörungen bei den Larven auftreten. Bei einer anderen viviparen Fischart (*Ditrema temmincki*) wurde ebenfalls ein Transfer von Organochlorverbindungen in die ovariale Nährlösung nachgewiesen (Oka et al., 2006).

Untersuchungen an trächtigen Aalmuttern, die im Rahmen von Feldstudien in der Nähe chemischer Industrieanlagen an der schwedischen Westküste gefangen wurden, belegen einen Zusammenhang zwischen der Häufigkeit von Mortalität und Missbildungen bei den Larven und dem Verschmutzungsgrad der Probenahmestation (Jacobsson & Neuman, 1991; Vetemaa et al., 1997). Experimentelle Expositionen von trächtigen Aalmuttern mit Abwässern aus der Holzverarbeitenden Industrie haben ergeben, dass pflanzliche Stoffe mit hormoneller Wirkung (Phytosterole) zu Entwicklungsstörungen der Larven führen können (Mattsson et al., 2001). Vor dem Hintergrund der in den letzten Jahren auf dem Hafffeld bei Wismar angesiedelten Holzindustrie ist dieser Befund von besonderem Interesse.

Zusammengefasst kann festgestellt werden, dass die Befunde des Effektmonitorings an trächtigen Aalmuttern aus den Küstengewässern Mecklenburg-Vorpommerns auf einen engen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Larvenschädigungen und anthropogenen Belastungsfaktoren schließen lassen. Der Biomarker „Reproductive Success“ hat sich damit als hervorragender integrativer Parameter erwiesen, um Effekte der Schadstoffbelastung auf die Fortpflanzung zu erfassen.

III.6 BEFUNDE DES EFFEKTMONITORINGS VOR DEM HINTERGRUND DER SCHADSTOFFBELASTUNG VON SEDIMENT UND BIOTA

Im Rahmen des chemischen Umweltmonitorings besitzt die Quantifizierung von potenziell ökotoxikologisch relevanten Stoffen im Sediment eine große Bedeutung. Spurenmetalle und organische Schadstoffe akkumulieren im Sediment und können von dort auch wieder remobilisiert werden. Letzendlich kann die Schadstoffbelastung nicht nur die im oder auf dem Sediment lebenden benthischen Organismen in ihrer Gesundheit beein-

trächtigen, über die Nahrungskette können auch andere Spezies betroffen sein. Schadstoffkonzentrationen in Sedimenten repräsentieren die Belastungssituation über einen längeren Zeitraum und sind daher von besonderer umweltdiagnostischer Bedeutung.

Im Folgenden sollen die Befunde des biologischen Effektmonitorings in Relation zu Schad-

stoffkonzentrationen im Oberflächensediment der Probenahmegebiete betrachtet werden. Die zur Verfügung stehenden Daten des seit Mitte der 1990er Jahre vom LUNG durchgeführten Sedimentmonitorings betreffen fast ausschließlich die inneren Küstengewässern (LUNG, 1995-2002; LUNG, 2001, 2004, 2008). Die Schwermetalldaten des LUNG wurden von Bachor (2005) im Rahmen einer umfassenden Studie über die Nährstoff- und Schwermetallbelastung der Küstengewässer Mecklenburg-Vorpommerns zusammengefasst und bewertet. Über die Belastung der Sedimente mit organischen Schadstoffen hat Hildebrandt (2005) eine Übersichtsarbeit mit einer begleitenden ökologischen Risikobewertung vorgelegt. Auch diese Publikation basiert auf Sedimentdaten, die durch das LUNG erhoben wurden und behandelt deshalb nur die inneren Küstengewässer. Neuere Ergebnisse zur Sedimentbelastung im Salzhaff wurden kürzlich von Propp (2006) veröffentlicht. Insgesamt lassen sich die vorliegenden Sedimentdaten nur zur Bewertung des in der Wismar-Bucht und im Breitling bei Rostock durchgeführten biologischen Effektmonitorings heranziehen. Sedimentdaten von der Außenküste (Darßer Ort, Zingst, Pommersche Bucht) standen nicht zur Verfügung.

Neben Sedimentdaten werden im Folgenden auch Daten zur Schadstoffbelastung von Biota herangezogen, die seit 1994 durch das LUNG erhoben werden. Dabei handelt es sich zumeist um Befunde des Schadstoffmonitorings an Miesmuscheln in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern (LUNG, 2001, 2004, 2008; Sordyl, 2000; Gercken, 2001).

Schwermetalle in Sediment und Biota und Befunde der MT-Bestimmung

Im Hinblick auf die Schwermetallbelastung in der Feinkornfraktion (<20µm) von Oberflächensedimenten der Wismar-Bucht weisen die Daten deutliche räumliche und - wo mehrere Beprobungen vorhanden sind - zeitliche Unterschiede auf (LUNG, 1995-2002). Die räumlichen Unterschiede folgen aber keinem abnehmenden Konzentrationsgradienten von der inneren zur äußeren Wismar-Bucht, wie man zunächst vermuten würde. Vielmehr wurden auch bei der Insel Walfisch und nordwestlich von Poel Schwermetallkonzentrationen ermittelt, die von vergleichbarer Grö-

ßenordnung wie bei Wismar/Wendorf sind. Nach Bachor (2005) ist für die höheren Konzentrationen in der äußeren Wismar-Bucht ein ehemaliges Verklappungsgebiet für Abfälle der Metallindustrie in der westlichen Lübecker Bucht verantwortlich. Der Transport aus diesem Gebiet führte zu einem stark ausgeprägten West-Ost-Gefälle der Belastung. Offenbar wird auch Material in die Wismar-Bucht eingetragen und führt dort im äußeren Bereich zum Teil zu deutlich höheren Konzentrationen an Blei, Zink und Cadmium als in der inneren Bucht (Bachor, 2005; Leipe et al., 2004).

Auch im Salzhaff ist die regionale Belastung der Oberflächensedimente mit Schwermetallen sehr heterogen, wie die Daten des LUNG (1995-2002) und von Propp (2006) zeigen. Die aus allen Stationswerten gemittelten Gehalte unterscheiden sich nicht wesentlich von den Konzentrationsbereichen, die in anderen Bereichen der Wismar-Bucht ermittelt wurden. Im südwestlichen Bereich des Salzhaffs, wo Aalmuttern für das Effektmonitoring gefangen wurden, fand Propp (2006) eine erhöhte Belastung mit Cadmium. Bezüglich Blei, Zink und Kupfer wies dieser Teil des Salzhaffs kleinräumige Unterschiede auf. Quecksilber war stärker in Sedimenten des inneren Salzhaffs akkumuliert. Die im Breitling bei Rostock beprobten Sedimente lassen ebenfalls keinen regionalen Gradienten der Schwermetallgehalte erkennen. Im östlichen Bereich (Schnatermann, Ölhafen, Peezer Bach), wo die untersuchten Aalmutter-Proben herstammten, lagen die Konzentrationen ähnlich hoch wie nahe der Werft im westlichen Breitling, wo die Miesmuscheln beprobt wurden (LUNG, 1995-2002). Die Konzentrationen in der Feinfraktion unterschieden sich nicht auffällig von den Werten, die in Sedimentproben von Wismar/Wendorf und aus dem Salzhaff ermittelt wurden.

Im Gegensatz zum Sedimentmonitoring liegen für das Schadstoffkonzentrationsmonitoring an Miesmuscheln (LUNG, 2001, 2004, 2008; Gercken, 2001; Sordyl, 2000) auch Daten von der Außenküste vor. Sie zeigen, dass die Muscheln in den äußeren Küstengewässern keineswegs geringere Metallgehalte aufweisen als die Tiere in den inneren Küstengewässern. Für einige Metalle lagen die Konzentrationen an Stationen der Außenküste im Mittel sogar höher als bei Wismar/Wendorf oder am Werftstandort im Breitling. Dies galt be-

sonders für Cadmium, dass bei Muscheln von der Außenküste immer stärker akkumuliert war als bei den in inneren Küstengewässern lebenden Artgenossen. Vergleichsweise hohe Cadmium-Werte wurden nördlich Zingst und Usedom ermittelt. Für die vor Usedom lebenden Tiere ist ein Zusammenhang mit der dort vorhandenen Cadmium-Belastung der Schwebstoffe anzunehmen. Die erhöhten Gehalte bei Zingst lassen sich anhand der vorhandenen Daten nicht plausibel interpretieren (LUNG, 2004). Insgesamt ist festzustellen, dass die Schwermetallgehalte im Weichkörper, ebenso wie beim Sediment, jährliche Schwankungen aufweisen und - mit Ausnahme von Cadmium - keine deutlichen Unterschiede zwischen inneren und äußeren Küstengewässern bestehen.

Vor dem Hintergrund der hier kurz vorgestellten Schwermetallbelastung in Sediment und Biota sollen im Folgenden die beim Effektmonitoring ermittelten Metallothionein-Befunde näher betrachtet werden. Dieser Biomarker war gewählt worden, um gegebenenfalls eine physiologische Reaktion der Miesmuscheln auf eine erhöhte Schwermetallexposition anzuzeigen. Für den Bereich der Wismar-Bucht spiegeln die Metallothionein-Ergebnisse die relativ ausgeglichene Belastungssituation wieder. So waren die MT-Gehalte bei den Muscheln von Wendorf zum Teil tendenziell erhöht gegenüber denjenigen von der Station nordöstlich Poel, signifikante Unterschiede wurden jedoch nicht ermittelt. Für die Stationen Breitling/Werft und nördlich Warnemünde wurde ein entsprechender Befund ermittelt. Mit Ausnahme einer Beprobung (2003), wo die MT-Konzentration bei Miesmuscheln aus dem Breitling signifikant höher war als an der Außenküste, wurden ansonsten nur gering erhöhte MT-Werte oder keine Unterschiede gemessen. Die auffällig hohen MT-Konzentrationen bei Muscheln aus der Pommerschen Bucht (nördlich Usedom) sind möglicherweise eine Reaktion auf die hohe Cadmium-Akkumulation in den dort lebenden Tieren. Darüber hinaus ist anzunehmen, dass aufgrund der geringeren Salinität ein relativ hoher Anteil der Metalle als toxisches Ion vorliegt und der Organismus darauf mit einer verstärkten Produktion von Schutzmolekülen (MT) reagiert. Bei der Bewertung der MT-Daten ist auch zu berücksichtigen, dass MT nicht allein durch Schwermetalle induziert werden. Vielmehr können auch physio-

logische Stress-Zustände (z.B. oxidativer Stress) zu einer Induktion von MT führen. Möglicherweise ist dies mit einer der Gründe dafür, dass die Miesmuscheln bei Wendorf und im Breitling im Mittel tendenziell höhere MT-Gehalte aufwiesen als die Tiere bei Poel bzw. an der Außenküste von Warnemünde. Die beobachteten jährlichen Schwankungen der MT-Konzentration in der Mitteldarmdrüse lassen sich im Wesentlichen mit der Variabilität der Schwermetallexposition (Sediment, Schwebstoffe, etc) und der Schwermetallanreicherung im Weichkörper erklären.

Organische und zinnorganische Schadstoffe in Sediment und Biota

Die nun folgende kurze Darstellung der Kontamination von Sediment und Biota mit organischen Schadstoffen und Zinnorganika basiert im Wesentlichen auf einem Datensatz des LUNG (1995-2002) und der zusammenfassenden Bewertung von Hildebrandt (2005) sowie den Ergebnissen des Schadstoffmonitorings an Miesmuscheln (LUNG, 2001, 2004, 2008; Sordyl, 2000; Gercken, 2001).

Im Gegensatz zu den Schwermetallen bestehen im Falle der organischen Schadstoffe in Sediment und Biota deutliche Unterschiede zwischen äußeren und inneren Küstengewässern und im regionalen Vergleich der inneren Küstengewässer.

In der Wismar-Bucht ist das Sediment bei Wendorf um ein Mehrfaches stärker mit Polyzyklischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK-16), Polychlorierten Biphenylen (PCBs), DDT und Metaboliten sowie zinnorganischen Verbindungen (MBT, DBT, TBT) belastet als an einer Station nordwestlich von Poel. Im Salzhaff liegt lokal im inneren und mittleren Bereich eine starke Belastung mit organischen Schadstoffen vor, während der Bereich am Ausgang des Salzhaffs (Kroy, tiefe Rinne) vergleichsweise gering kontaminiert ist. Die vorhandenen Daten über Zinnorganika weisen ebenfalls auf starke regionale Belastungsunterschiede hin. An einer Station nördlich vom Teßmannsdorfer Haken an der Halbinsel Wustrow lagen die Sedimentkonzentrationen von MBT, DBT und TBT ähnlich hoch oder sogar höher als an der Station bei Wismar/Wendorf. Über die Sedimentbelastung am südwestlichen Ufer beim Boiensdorfer Hafen, wo die Wattschnecken zur Ermittlung der Imposex-Prävalenz gesammelt wurden,

enthält der LUNG-Datensatz keine Angaben. Es ist aber davon auszugehen, dass auch hier deutliche kleinräumige Unterschiede bestehen.

Die Unterwarnow erweist sich im regionalen Vergleich als das mit Abstand am stärksten mit organischen Schadstoffen belastete Küstengewässer. Schwerpunkte der anthropogenen Belastung liegen im Bereich des Rostocker Stadthafens, wo lokal Maximalwerte bei den PAKs, PCBs und DDTs gemessen wurden. Für den Breitling weisen die Daten starke regionale und zeitliche Belastungsunterschiede, auch zwischen nah beieinander liegenden Stationen, auf. An der Probenahmestation bei der Werft, wo Muscheln für das Effektmonitoring beprobt wurden, ist die Kontamination mit „klassischen“ Industriechemikalien (PAKs, PCBs, TBTs) besonders stark. Die Konzentrationen lagen hier höher als in Wismar im Hafen und bei Wendorf. Im östlichen Teil des Breitlings (Beprobung Wattschnecke, Aalmutter) war die Kontamination lokal immer noch vergleichbar hoch wie bei Wismar/Wendorf. Beim Schnatermann wurden beispielsweise TBT-Gehalte in ähnlicher Größenordnung wie bei Wendorf ermittelt. An der Station „Werft“ lagen die maximal gemessenen TBT-Konzentrationen noch deutlich darüber (LUNG, 1995-2002).

Im Vergleich zum Breitling weisen die Sedimente an der Warnemünder Außenküste wesentlich geringere Konzentrationen an PAKs, PCBs und Zinnorganika auf. Dies belegen Sedimentanalysen, die im Rahmen von Untersuchungen zur Saisonalität von Schadstoffkonzentrationen und -effekten an Miesmuscheln aus dem Breitling und von der Außenküste bei Warnemünde durchgeführt wurden (IfAÖ/BFG, unveröffentlicht). Insbesondere in Bezug auf PCBs und Zinnorganika ist die Kontamination an der Außenküste um ein Vielfaches geringer als im Breitling.

Wie bei den Schwermetallen fehlen auch bei den organischen Schadstoffen Daten zur Sedimentbelastung an der Außenküste. Es ist aber davon auszugehen, dass am Darßer Ort, bei Zingst und auch vor Usedom eine deutlich geringere Kontamination besteht als in den inneren Küstengewässern.

Die Daten des Schadstoffmonitorings an Miesmuscheln spiegeln die Belastung der Sedimente mit organischen Schadstoffen wieder. So haben

die Tiere aus der inneren Wismarbuch bei Wendorf und vom Werftstandort im Breitling deutlich mehr PCBs und DDTs im Weichkörper akkumuliert als ihre Artgenossen an der Außenküste bei Poel, Warnemünde, Zingst und vor Usedom (LUNG, 2001, 2004, 2008; Sordyl, 2000; Gercken, 2001). Auch PAKs waren in Muscheln der Stationen Wendorf und Breitling/Werft stärker angereichert als an der Außenküste bei Poel und Warnemünde (Gercken, 2000c). Hinsichtlich Zinnorganika waren Muscheln vom Werftstandort/Breitling mit Abstand am stärksten belastet. Die zweithöchsten Konzentrationen wurden in Muscheln bei Wismar/Wendorf gemessen. An allen Vergleichsstationen der Außenküste war die TBT-Kontamination von *Mytilus* wesentlich geringer (BFG, 2000).

Schadstoffbelastung und Biomarkerreaktionen

Im Folgenden werden Ergebnisse der Effektmontoringstudien vor dem Hintergrund der regionalen Belastungsunterschiede mit organischen Schadstoffen betrachtet werden. Dabei ist zu erwarten, dass die Ergebnisse des stoffgruppenspezifischen TBT-Monitorings mit der Wattschnecke *Hydrobia ulvae* weitgehend die Belastung mit Zinnorganika widerspiegeln. Bei den anderen untersuchten biologischen Endpunkten ist ein derart spezifischer Bezug zu bestimmten Schadstoffen nicht gegeben.

Tatsächlich lassen sich die Imposex-Befunde widerspruchsfrei zur bekannten örtlichen TBT-Kontamination in Beziehung setzen. So wiesen die *H. ulvae* im östlichen Breitling und bei Wismar/Wendorf (1999-2002) im Durchschnitt die höchsten Imposex-Prävalenzen und eine stärkere Ausprägung von Imposex auf (VDS-Index). Im Gegensatz dazu wurden an der Außenküste beim Darßer Ort keine oder nur vergleichsweise wenige Fälle von Imposex gefunden (Poel, Usedom). Die relativ hohe Imposex-Prävalenz und -Intensität bei den im südwestlichen Salzhaff beprobten *H. ulvae* lässt den Schluss zu, dass die TBT-Belastung an dieser nahe des Hafens von Boiensdorf gelegenen Station die Wirkschwelle für eine Induktion von Imposex deutlich überschreitet. Die Daten des LUNG (1995-2002) zeigen, dass im Salzhaff drastische regionale Unterschiede in den TBT-Gehalten der Sedimente vorkommen.

Die Befunde des Effektmonitorings an der Aalmutter lassen sich - je nach Station - mehr oder weniger gut vor dem Hintergrund der regionalen Unterschiede der Verschmutzung mit organischen Schadstoffen interpretieren. Für die Stationen Wismar/ Wendorf und Breitling gilt, dass alle Biomarker-Befunde die dort herrschende starke anthropogene Belastung widerspiegeln. Die Aalmuttern wiesen hohe lebersomatische Indices (LSI) und eine starke Parasitierung sowie Prävalenz von degenerativen Veränderungen in der Leber auf. Außerdem waren hier alle untersuchten Reproduktionsstörungen (Intersex, Atresie; Entwicklungsstörungen bei Larven) besonders stark ausgeprägt. An den weniger kontaminierten Stationen wurde ein differenziertes Muster der Biomarker-Reaktionen beobachtet. So wiesen Aalmuttern aus dem Salzhaff weniger Leberveränderungen und eine relativ niedrige Prävalenz von Leberparasiten und Ovardegenerationen (Atresie) auf. Andererseits war die Häufigkeit von Intersex bei männlichen Aalmuttern und von Störungen der Larvenentwicklung jedoch überraschend hoch. Entsprechendes galt auch für die vom Darßer Ort stammenden Aalmutter-Proben.

Bei den Biomarker-Untersuchungen an der Miesmuschel stehen die Ergebnisse der Membranstabilität in der Mitteldarmdrüse von Miesmuscheln aus dem Salzhaff und von Wismar/Wendorf mit der örtlichen Belastung durch organische Schadstoffe im Einklang. Die starke Umweltbelastung des Breitlings schlägt sich jedoch nicht in einer erniedrigten Membranstabilität nieder. Hinsicht-

lich der Metallothionein-Gehalte in der Mitteldarmdrüse wurde bereits ausgeführt, dass hier eine Übereinstimmung zwischen Biomarker-Reaktionen und der Schwermetallbelastung der Probenahmestationen vorliegt (III.4.2). Die AChE-Aktivität in der Mitteldarmdrüse stand in keinem erkennbaren Zusammenhang zur Umweltbelastung durch organische Schadstoffe. Zur geringen AChE-Aktivität der Muscheln vor Poel könnte möglicherweise auch die dortige relativ hohe Schwermetallbelastung beigetragen haben.

Zum Abschluss dieser Gegenüberstellung von Schadstoffbelastung und Biomarker-Reaktionen sei hier betont, dass ein derartiger Vergleich in der Regel keine widerspruchsfreien Befunde liefert. Man muss sich darüber im Klaren sein, dass die chemisch analysierten Schadstoffe stellvertretend für einen Schadstoffcocktail stehen, an dem sehr viel mehr, nicht näher bekannte Schadstoffe beteiligt sind. Insofern ist auch nicht zu erwarten, dass Biomarker-Reaktionen eine bekannte Belastungssituation deckungsgleich abbilden. Die neue Qualität des biologischen Effektmonitorings besteht ja gerade darin, dass nicht nur Schadstoffeinflüsse, sondern auch weitere auf einen Bioindikator einwirkende endogene und exogene Stressfaktoren die Reaktion von Biomarkern beeinflussen. Gerade unerwartete und vermeintlich nicht mit der bekannten Schadstoffbelastung in Einklang zu bringende Befunde, sollten Anlass sein, nach bislang nicht beachteten Quellen von Schadstoffstress zu suchen.

III.7 SCHLUSSFOLGERUNGEN UND EMPFEHLUNGEN

III.7.1 TBT-Effektmonitoring mit *Hydrobia ulvae*

Das TBT-Effektmonitoring mit der Wattschnecke (*Hydrobia ulvae*) hat über mehrere Jahre konsistente Befunde zur Imposex-Prävalenz in den inneren und äußeren Küstengewässern geliefert. Die Resultate belegen eindeutig die Anwesenheit von erhöhten, biologisch wirksamen TBT-Konzentrationen in den westlichen inneren Küstengewässern (Wismar-Bucht, Breitling) im Vergleich zum südlichen Greifswalder Bodden und zur Außenküste bei Fischland-Darß.

Der Tatbestand, dass deutliche regionale Unterschiede im Vorkommen von biologisch wirksamen TBT-Konzentrationen bestehen, unterstreicht die Notwendigkeit, das TBT-Monitoring auch zukünftig weiter durchzuführen, um die Entwicklung in den inneren Küstengewässern, und dort insbesondere in der Wismar-Bucht (Wendorf, Boiensdorf) und im Breitling, weiter zu verfolgen. Bei einer Fortführung des Monitorings wird sich zeigen, ob sich die in den letzten zwei Jahren beobachtete, erheblich geringere Imposex-Prävalenz an den Stationen Wendorf und im Salzhaff im Sinne eines Trends fortsetzt. Sollte das der Fall sein, wäre dies ein gutes Beispiel für den Erfolg von regulatorischen Maßnahmen.

Das TBT-Effektmonitoring sollte auf weitere Stationen in den Küstengewässern ausgedehnt werden. Dabei ist es nicht notwendig, alle Stationen jährlich zu beproben. Vielmehr kann sich das Monitoring in einzelnen Jahren auf bestimmte Regionen konzentrieren. Beispielsweise könnten mit einem enger über die Wismar-Bucht gelegten Stationsnetz Fragen zur TBT-Belastung in anderen Bereichen des Salzhaffs, in der mittleren Wismar-Bucht und in den Sportboothäfen beantwortet werden. Ein weiterer, bislang nicht untersuchter Küstenstreifen, ist das Seegebiet vor Warnemünde. Hier sollte geprüft werden, ob und gegebenenfalls wie weit sich die hohe TBT-Belastung des Breitlings an der Außenküste fortsetzt. Außerdem stellt in diesem Gebiet der vielbefahrene Seekanal eine potenzielle Quelle für eine TBT-Kontamination dar.

Wie die Daten des LUNG (1995-2002) zeigen, weisen die Sedimente der hiesigen Küsten-

gewässer i.d.R. kleinräumige Unterschiede der TBT-Belastung auf. Wegen der geringen Mobilität der Schnecken ist gerade das TBT-Effektmonitoring gut dafür geeignet, kleinräumige Belastungsunterschiede auf der biologischen Effektebene nachzuweisen und dadurch potenziell auch Belastungsquellen zu identifizieren.

Für den Fall, dass hohe Imposex-Prävalenzen an vermeintlich gering belasteten Stationen auftreten, sollte eine begleitende TBT-Rückstandsanalytik an Sedimentproben und/oder an Miesmuscheln durchgeführt werden.

- Insgesamt betrachtet sollte der Biomarker „Imposex“ aufgrund seiner hohen Spezifität für die äußerst toxischen zinnorganischen Verbindungen zu den Kernparametern eines Effektmonitorings zählen. Da Schadstoffwirkungen bei den häufig „vernachlässigten“ Wirbellosen erfasst werden, ist dieser Biomarker aus ökologischer Sicht ähnlich relevant wie das Auftreten von Reproduktionsstörungen bei der Aalmutter.

III.7.2 Untersuchungen an der Miesmuschel

Die Befunde über die Konzentration von Metallothioneinen [MT] in der Mitteldarmdrüse der Miesmuschel ergaben keinen Hinweis darauf, dass an einer der Probenahmestationen eine deutlich erhöhte Exposition der Tiere mit Spurenmetallen bestand. Die MT-Gehalte in den Proben aus dem Seegebiet vor Usedom deuteten tendenziell auf eine erhöhte Metallbelastung in diesem Gebiet hin. An der Außenküste vor Warnemünde und nordöstlich Poel wurden nur bei einzelnen Beprobungen, aber nicht immer, geringere MT-Werte ermittelt als im Breitling bzw. bei Wismar/Wendorf. Insgesamt gesehen lieferten die Befunde aber keine überzeugenden Indizien für das Vorliegen einer erhöhten Schwermetallexposition in den inneren Küstengewässern im Vergleich zu den äußeren Küstengewässern. Es ist somit von vergleichbaren Verhältnissen bezüglich der biologisch wirksamen Schwermetallbelastung im gesamten Untersuchungsgebiet auszugehen.

Dieses Ergebnis deckt sich im Grundsatz mit Befunden des langjährig durchgeführten Schadstoffmonitorings an Miesmuscheln, das gezeigt hat, dass die Bestände an der Außenküste und in den inneren Küstengewässern keine großen Unterschiede bezüglich der Spurenmetallkonzentrationen im Weichkörper aufweisen (LUNG, 2001, 2004, 2008; Gercken, 2001; Sordyl, 2000). Zu Beginn des Schadstoffmonitorings wurde die Hypothese aufgestellt, dass die unerwartet geringen Metallgehalte von Muscheln an den stärker umweltbelasteten Stationen Wendorf und Breitling möglicherweise das Resultat einer verstärkten Entgiftungsleistung durch die Induktion von MT sein könnte. Diese Vermutung wird durch die Befunde der MT-Bestimmung nicht gestützt. Es ist nunmehr davon auszugehen, dass sich die Exposition der Muscheln gegenüber Spurenmetallen in den inneren und äußeren Probenahmeregionen nicht wesentlich voneinander unterscheidet.

- Aus jetziger Sicht besteht keine Notwendigkeit, die Messung der MT-Konzentration routinemäßig fortzusetzen. Dieser Biomarker sollte bei einem begründeten Verdacht für das Vorliegen einer hohen Schwermetallbelastung gezielt eingesetzt werden. Ein Anlass könnten Befunde über erhöhte Konzentrationen in Sediment und Biota oder außergewöhnliche Hochwasser der Oder sein.

Mit der Bestimmung der Aktivität der Acetylcholinesterase (AChE) im Kiemengewebe der Miesmuscheln sollte die Belastung der Küstengewässer mit neurotoxisch wirksamen Stoffen abgeschätzt werden. Dabei wurden deutliche Unterschiede der AChE-Aktivität an einer Station bei aufeinander folgenden Beprobungen beobachtet. Zusammengefasst lassen die Befunde keine eindeutigen regionalen Unterschiede bezüglich einer Belastung mit AChE-hemmenden Substanzen erkennen. Einzelmessungen ergaben vergleichsweise hohe AChE-Aktivitäten an der Außenküste vor Zingst und Usedom, was als Indiz für eine geringe Kontamination mit AChE-hemmenden Substanzen gewertet werden kann. Überraschenderweise wiesen auch die Proben von Wismar mehrfach eine höhere Enzymaktivität auf als die von der Station Poel.

Am Beispiel der AChE wird deutlich, wie wichtig Erkenntnisse über natürliche Einflussfaktoren bei der Interpretation von Biomarker-Befunden sind. So haben eigene Felduntersuchungen zur Saisonalität von Biomarker-Reaktionen (Gercken & Sordyl, 2003) und die Arbeit von Pfeifer (2002) gezeigt, dass die AChE-Aktivität relativ ausgeprägte natürliche saisonale Schwankungen aufweist. Daher sollte bei der Bestimmung der AChE-Aktivität das Zeitintervall für die Beprobung aller Stationen möglichst kurz gehalten werden. Diese Forderung betrifft grundsätzlich auch andere Biomarker. Sie ist aber besonders wichtig, wenn es sich um potenziell schnell ändernde Endpunkte auf der molekularen/ biochemischen Ebene der biologischen Organisation handelt.

- Die Messung der AChE-Aktivität sollte auch weiterhin Bestandteil eines Effektmonitorings bleiben. Sie zählt zu den Kernparametern beim biologischen Effektmonitoring (z.B. OSPAR/CEMP). In der Ostsee sind die auf relativ kleinem Raum wechselnden hydrographischen Bedingungen zu berücksichtigen. Es sollten auch potenziell geeignetere Bioindikatoren als die Miesmuschel in Betracht gezogen werden. Es gibt Hinweise darauf, dass Krebse spezifischer mit einer AChE-Hemmung auf neurotoxische Stoffe reagieren als *Mytilus spec.* Bei biologischen Effektuntersuchungen in kleinen Fließgewässern Mecklenburg-Vorpommerns haben sich Flohkrebse als gut geeignet zur Bestimmung der AChE-Aktivität erwiesen (Gercken, 2000a; Gercken & Sordyl, 2000).

Die Lipidperoxidation ist einer von mehreren Biomarkern, die beim Effektmonitoring zum Nachweis von oxidativem Stress eingesetzt werden. Der Parameter wurde ausgewählt, weil er - im Gegensatz zu anderen Endpunkten - bereits eine eingetretene Schädigung durch oxidativ wirkende Radikale nachweist. Die Messungen ergaben ein relativ geringes Niveau der Lipidperoxidation bei Zingst und Usedom. An den übrigen Stationen traten große jährliche Schwankungen auf, so dass insgesamt gesehen keine eindeutigen interstationären Unterschiede bezüglich der Intensität der Lipidperoxidation beobachtet wurden. Dies mag daran gelegen haben, dass tatsächlich keine wesentlichen Unterschiede bestanden oder, was

wahrscheinlicher ist, dass andererseits ein Parameter nicht genügt, um die komplexen Reaktionen des Organismus auf oxidativen Stress zu erfassen.

- Grundsätzlich sollte das Auftreten von oxidativem Stress im Rahmen eines Effektmonitorings durch geeignete Parameter erfasst werden. Oxidativer Stress ist Resultat einer Störung der Homöostase und kann bei längerem Andauern zu ernsthaften Gesundheitsschäden führen. Hervorzuheben ist auch, dass eine enge Beziehung zwischen der Intensität von oxidativem Stress und dem Auftreten von gentoxischen Schädigungen besteht. Vor einigen Jahren wurde ein neuer Biomarker vorgestellt, mit dem die Abwehrkapazität des Organismus gegenüber oxidativem Stress ermittelt werden kann (Regoli, 2000; Regoli et al., 2002.). Dieser als „TOSC“ (total oxygen scavenging capacity) bezeichnete Parameter erfasst die Kapazität des gesamten körpereigenen antioxidativen Systems zur Neutralisation von reaktiven Sauerstoffspezies. Anhand von TOSC-Befunden lässt sich so mit die Empfänglichkeit von Organismen für die Entwicklung von oxidativen Stress einschätzen. Der Biomarker „TOSC“ scheint ein vielversprechender Ersatz für den Endpunkt „Lipidperoxidation“ zu sein.

Der Parameter „Lysosomenstabilität“ zählt zu den am häufigsten gewählten Biomarkern beim Effektmonitoring. Im Rahmen der hier durchgeführten Pilotstudien wurde die Stabilität der Lysosomenmembran an Gefrierschnitten von Mitteldarmdrüsen ermittelt. Diese Methode ist arbeits- und zeitaufwendig und die Auswertung ist mit einem relativ hohen Grad an Subjektivität verbunden. Aus diesen Gründen wurde diese Methode nur einmal während der ersten Pilotstudie eingesetzt.

- Da der Endpunkt Lysosomenstabilität bei vielen Effektuntersuchungen seine Eignung als Indikator von zellulärem Stress unter Beweis gestellt hat, sollte er zur Biomarker-Auswahl zählen. Allerdings wird empfohlen, zukünftig den Neutralrot-Test (ICES, 2004b) anzuwenden. Er ist mittlerweile gebräuchlicher als die histochemische Methode nach Moore (1976). Beim Neutralrot-Test

wird die Fähigkeit, den Vitalfarbstoff Neutralrot in den Lysosomen von Blutzellen oder Hämocyten zu speichern, als Indikator für den Zustand der lysosomalen Membran gewertet. Für diese Methode wurde ein internationaler Ringversuch im Rahmen von Qualitätssicherungsmaßnahmen (BE-QUALM) durchgeführt.

III.7.3 Untersuchungen an der Aalmutter

Die histologische Untersuchung der Aalmutterleber hat sich als geeigneter Biomarker erwiesen, um die anthropogene Belastungssituation im Untersuchungsgebiet abzubilden. Die Befunde unterstreichen, dass es sinnvoll war, diesen Parameter mit zeitlicher Integrationskraft im Rahmen der Pilotstudien einzusetzen. Histopathologische Leberuntersuchungen sind mittlerweile auch als verpflichtender Bestandteil in das OSPAR/CEMP-Monitoring aufgenommen worden. Dies unterstreicht die positive Bewertung dieses Parameters.

- Es wird grundsätzlich empfohlen, histopathologische Organuntersuchungen beim Effektmonitoring durchzuführen. Wegen des verhältnismäßig großen Arbeitsaufwandes der Methode kann ihre Anwendung zeitlich begrenzt oder in größeren zeitlichen Intervallen erfolgen. In jedem Fall sollten histologische Organuntersuchungen immer dann durchgeführt werden, wenn eine Station erstmalig beprobt wird. Grundsätzlich wäre auch eine Befundung weiterer „Indikatororgane“ wie beispielsweise Niere und Kieme wünschenswert. Das Auftreten von organspezifischen Schäden könnte auf bestimmte Schadstoffklassen oder Expositionswege hindeuten. Histologische Befunde sollten in mehrjährigem Abstand auf Veränderungen überprüft werden.

Mit den Untersuchungen an der männlichen und weiblichen Gonade der Aalmutter sowie an der Brut von trächtigen Weibchen wurde erstmalig das häufige und regional verbreitete Vorkommen von Fortpflanzungs- und Entwicklungsstörungen bei einer Fischart in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern dokumentiert.

Der Parameter „Intersex“ wurde in das Untersuchungsprogramm aufgenommen nachdem andere Feldstudien ein überraschend häufiges Auftreten dieser Verweiblichungserscheinung bei männlichen Aalmuttern in den hiesigen Küstengewässern gezeigt hatten (Gercken & Sordyl, 2002a). Mit den im Rahmen der Pilotstudien vorgelegten Ergebnissen wurde der Befund einer hohen Prävalenz von Intersex in den inneren Küstengewässern und an der Außenküste nochmals deutlich bestätigt. Seit dem Vorliegen der ersten Intersex-Befunde wurde vermutet, dass die Prävalenzen zu hoch sind, um noch als „natürliche Hintergrundwerte“ zu gelten. Diese Einschätzung wurde durch eine Vergleichsuntersuchung an schwedischen Aalmuttern bestätigt. Dabei wurde kein einziger Fall von Intersex beobachtet, so dass man annehmen darf, dass Intersex in weitgehend unbelasteten Küstengewässern offensichtlich nur sehr selten vorkommt.

Die schwedischen „Referenzdaten“ lassen den Schluss zu, dass die Ausbildung von Intersex bei den hiesigen Aalmuttern offensichtlich Folge der stärkeren anthropogenen Belastung der Küstengewässer in Mecklenburg-Vorpommern ist. Vermutlich sind es estrogen wirksame Stoffe, die ursächlich an der Entstehung von Intersex beteiligt sind. Darauf weisen zahlreiche Befunde aus Freilandstudien sowie Laborbefunde hin (Pait & Nelson, 2002). Der kürzlich erfolgte Nachweis von hormonell aktiven Substanzen in der Gallenflüssigkeit von Aalmuttern aus den Gebieten Wismar/Wendorf und Salzhaff ist ein Beweis für eine Exposition der Fische mit diesen biologisch aktiven Stoffen (Lünneman, 2004) (III.5.4.1).

- Die Datenbasis über die Verbreitung und Häufigkeit von Intersex sollte durch weitere Untersuchungen ergänzt und gefestigt werden. Dabei wäre es wünschenswert weitere Stationen an der Außenküste einzubeziehen. Hier ist in erster Linie an das Seegebiet vor Warnemünde zu denken, wo eine Schadstoffbelastung mit endokrin wirksamen Stoffen vermutet werden kann. Weitere Beprobungen am Darßer Ort können zeigen, ob die unerwartet hohe Intersex-Prävalenz an dieser Außenküstenstation fortbesteht.

Die Erfassung von degenerativen Störungen bei der Eientwicklung (Atresie) wurde ebenfalls erst im Verlauf der Pilotstudien in das Untersuchungsprogramm aufgenommen, nachdem andere Feldstudien ein häufiges Vorkommen von Atresie bei weiblichen Tieren angezeigt hatten. Derartige degenerative Veränderungen des Ovars sind bislang bei der Aalmutter nicht beschrieben worden. Vergleichsproben aus schwedischen Küstengewässern standen nicht zur Verfügung. Man darf aber annehmen, dass die Häufigkeit von Ovardegenerationen ein „natürliches Maß“ überschreitet.

- Gemeinsam mit den Untersuchungen zur Intersex-Prävalenz sollte zukünftig auch die Verbreitung von Atresie weiter untersucht werden. Der Aufwand der hiermit verbunden ist, ist verhältnismäßig gering, da normalerweise beide Geschlechter in den Proben vorhanden sind und im Frühjahr/Sommer erst im Verlauf der Sektion festgestellt werden kann, ob es sich bei dem Tier um ein Männchen oder Weibchen handelt. Da relevante Ovardegenerationen makroskopisch befundet werden können, ist dieser Endpunkt leicht zu erfassen. Wie beim Intersex-Phänomen bereits geschehen, sollte auch hier versucht werden, weibliche Aalmuttern aus schwedischen Referenzgebieten zum Vergleich heranzuziehen.

Wegen der viviparen Reproduktionsweise lässt sich bei der Aalmutter eine Schädigung der Brut von einzelnen Weibchen mit großer Genauigkeit ermitteln. Diese besondere Eigenschaft, in Verbindung mit der Standorttreue und dem Vorkommen in Küstengewässern veranlassen auch OSPAR (JAMP/CEMP) und HELCOM, die Aalmutter als Bioindikator für das Effektmonitoring zu empfehlen. Nachdem Schweden bereits seit längerer Zeit den Reproduktionserfolg der Aalmutter im Rahmen des Küstenmonitorings untersucht, hat 2002 auch das nationale dänische Umweltforschungsinstitut (NERI) begonnen, das Vorkommen von Reproduktionsstörungen bei trächtigen Aalmuttern in den Küstengewässern zu ermitteln (Strand et al., 2004).

Die Befunde zur Häufigkeit und Intensität des Vorkommens von Missbildungen bei entwickelten Larven weisen deutlich auf eine Beziehung

zur Umweltbelastung im Bereich der Probenahmestationen hin. In Übereinstimmung mit der hohen Schadstoffbelastung bei Wismar/Wenddorf und im Breitling besaßen die dort gefangenen Weibchen höhere Anteile an missgebildeten Larven in der Brut als an den Vergleichsstationen. Gleichwohl ist der Prozentsatz an Deformationen auch an den bekanntermaßen geringer anthropogen beeinflussten Stationen so hoch, dass auch dafür Stressfaktoren verantwortlich sein müssen. Diese Schlussfolgerung ergibt sich anhand von Vergleichsdaten des schwedischen Aalmutter-Monitorings. Wie die an schwedischen Referenzstationen langjährig erhobenen Daten zeigen, liegt die (vermutlich) natürliche Prävalenz von Weibchen mit deformierten Larven in schwedischen Küstengewässern im Bereich von nur zwei bis drei Prozent. Selbst wenn man - aufgrund der unterschiedlichen lokalen Gegebenheiten - höhere „Referenzwerte“ für die Küstengewässer von Mecklenburg-Vorpommern nicht von vornherein ausschließen kann, liegt das Ausmaß der Larvendeformationen auch an den Stationen Salzhaff, Greifswalder Bodden (Gager) und Darßer Ort weit über einem natürlicherweise vorkommenden Basiswert.

- Die Untersuchungen über die Verbreitung von Larven-Schädigungen bei der Aalmutter sind von hoher ökotoxikologischer Relevanz und sollten auf jeden Fall fortgesetzt werden. Bei einem längerfristigen Monitoring ist zu erwarten, dass sich potenzielle Unterschiede zwischen den Stationen deutlicher herausbilden.

Insgesamt betrachtet, hat sich die Aalmutter als ausgezeichneter Bioindikator für das Auftreten von Reproduktionsstörungen im Verlauf der Gonadenentwicklung und während der Schwangerschaft erwiesen. Dass mit dem Endpunkt „Intersex“ auch potenziell endokrin verursachte Reproduktionsstörungen erfasst werden können, ist ein besonderer Vorteil.

Trotz der guten Eignung der Aalmutter als Bioindikator wird empfohlen zukünftig auch andere, stationär lebende Fische für ein Effektmonitoring in Betracht zu ziehen. Im europäischen Ausland (Großbritannien, Schweden) werden seit einigen Jahren Labor- und Feldstudien durchgeführt, um

die Eignung des Dreistachligen Stichling (*Gasterosteus aculeatus*) als Bioindikator für ein Effektmonitoring zu untersuchen (Hahlbeck et al., 2004a und 2004b; Katsiadaki et al., 2002a und 2002b). Wie die Studien gezeigt haben, lassen sich am Stichling sowohl estrogen als auch androgen vermittelte Reproduktionsstörungen erfassen (Hahlbeck, 2004a und 2004b; Katsiadaki et al., 2002a und 2002b). Auch das IfAÖ hat im Rahmen von Fließgewässeruntersuchungen das Vorkommen von Intersex und Atresie beim Stichling untersucht (Gercken, 2000a; Gercken, 2003a). Eine weitere Fischart als Bioindikator wird auch deshalb vorgeschlagen, weil die Aalmutter in einigen Bereichen der Küstengewässer von M-V nur selten vorkommt.

In Bezug auf die Reproduktionsstörungen der Aalmutter haben die Pilotstudien auch gezeigt, dass es in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern offenbar keine Referenzgebiete gibt, in denen „natürliche Hintergrundwerte“ hinsichtlich der gewählten Parameter existieren. Insofern waren die Vergleichsdaten aus schwedischen Referenzgebieten von großem Nutzen für die Bewertung der Intersex- und Larven-Befunde. Vor diesem Hintergrund sollte die internationale Kooperation verstärkt werden. Monitoring-Daten aus benachbarten Ländern können bei der Bewertung der in hiesigen Küstengewässern erhobenen Befunde helfen. Voraussetzung hierfür ist eine international abgestimmte Qualitätskontrolle und Verpflichtung auf eine standardisierte Methodik.

III.7.4 Empfehlung für ein Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern und Ausblick

Im Folgenden werden einige Biomarker empfohlen, die für ein biologisches Effektmonitoring in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern besonders geeignet erscheinen. Die Auswahl basiert im Wesentlichen auf den im Rahmen der Effektmonitoringstudien gemachten Erfahrungen. Zusätzlich wurden aber auch Schlussfolgerungen aus dem BEEP-Projekt und Erkenntnisse über den Einsatz von Biomarkern in anderen Effektstudien berücksichtigt.

Zunächst soll aber nochmals betont werden, dass sich die Auswahl der Bioindikatoren Wattschnecke, Miesmuschel und Aalmutter bewährt hat.

Die Wattschnecke *H. ulvae* ist „konkurrenzlos“ bezüglich der Indikation von biologischen Effekten von zinnorganischen Verbindungen. Für die Miesmuschel spricht, dass an ihr unterschiedliche Biomarkerreaktionen, von der molekularen Ebene bis zur Reproduktion, untersucht werden können. Zudem ist sie der in Europa am häufigsten verwendete marine Bioindikator. Dementsprechend existieren viele methodisch etablierte Testverfahren sowie eine umfangreiche Referenzliteratur.

Die Vorzüge der Aalmutter für das Monitoring reproduktionstoxischer Effekte sind evident. Nur bei ihr ist es möglich, gleichzeitig Fortpflanzungsstörungen auf dem Organniveau (Gonade) und der Ebene des Individuums (Untersuchung der Brut) durchzuführen. Grundsätzlich eignet sich die Aalmutter auch ohne Einschränkungen zur Anwendung aller gebräuchlichen Biomarker. Aufgrund ihrer Größe steht ausreichend Material für die gleichzeitige Untersuchung mehrerer Endpunkte an einem Individuum zur Verfügung. Auch eine chemische Begleitanalytik ist prinzipiell möglich. In Tab. 5 ist eine Auswahl von Biomarkern aufgeführt, die für ein Effektmonitoring der Küstengewässer empfohlen werden. Sie repräsentieren Endpunkte auf verschiedenen biologischen Organisationsebenen und zählen zu den vom ICES (2004a; 2006) und auf Basis der Befunde von BEEP (Lehtonen et. al, 2006) ausgewählten Effektparametern. Die meisten Parameter wurden auch im Verlauf der Pilotstudien untersucht. Für die Ermittlung von oxidativem Stress und der Stabilität der Lysosomenmembran werden jedoch nunmehr andere Methoden empfohlen.

Als neuer Biomarker wurden DNA-Strangbrüche, als Repräsentant für gentoxische Schäden, in das Parameter-Set aufgenommen. Mit dem Comet-Assay lässt sich diese Schädigung gut quantifizieren. Die Methode wurde u.a. eingesetzt, um das Vorkommen einer DNA-Schädigung bei Miesmuscheln (Gercken & Sordyl, 2003), Dreikantmuscheln (Zorn, 2000) und beim Stichling (Wirzinger et al., 2007) zu untersuchen. Der Comet-Assay wird auch von der Fachgruppe des ICES für biologische Schadstoffeffekte als „promising method“ bewertet (ICES, 2006).

Als weitere an der Miesmuschel zu untersuchende Parameter sind die AChE-Aktivität, ein Marker für

oxidativen Stress (TOSC) und der Neutralrot-Assay (NRR) zur Ermittlung der Lysosomenstabilität aufgeführt. Der NRR ist weniger aufwändig als die im Rahmen der ersten Pilotstudie angewandte histochemische Bestimmung der Lysosomenstabilität. Im Rahmen von BEQUALM wurde ein Workshop als Maßnahme der Qualitätssicherung bei dieser Methode durchgeführt. In Dänemark wird der NRR seit kurzem als allgemeiner Schadstoffeffektparameter beim Monitoring von Miesmuscheln aus den Küstengewässern eingesetzt. Das Monitoring aller Miesmuschel-Parameter sollte jährlich an einem festen Stationsnetz erfolgen.

Für das Monitoring von Wattschnecke und Aalmutter werden schwerpunktmäßig reproduktionsbezogene Biomarker empfohlen. Außerdem ist die Leberhistopathologie als Indikator für den allgemeinen Gesundheitszustand eingeschlossen. Darüber hinaus bietet es sich an, an der Aalmutter auch Biomarker wie die AChE-Aktivität oder einen Parameter für oxidativen Stress mit zu untersuchen, da das Probenmaterial ohnehin zur Verfügung steht. Das Monitoring von Wattschnecke und Aalmutter sollte sich jährlich auf unterschiedliche Bereiche der Küste konzentrieren. Dafür sind diese Gebiete dann mit einem dichteren Stationsnetz zu versehen. Beispielsweise werden für die Wismar-Bucht Probenahmen bei Wendorf, Eggers Wiek sowie im äußeren und inneren Salzhaff als sinnvoll erachtet. Die Untersuchung von mehreren Stationen in einem Gebiet erhöht die Möglichkeit, potenzielle Belastungsquellen und -gradienten nachzuweisen. Insgesamt wird eine flexiblere Probenahmestrategie empfohlen. Zur Ursachenfindung beobachteter Schadstoffeffekte, ist auch der Einsatz weiterer ökotoxikologischer Testverfahren in Betracht zu ziehen.

Alle Konzepte für ein biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern müssen auch in einem Kontext zur derzeitigen Umsetzung der EU-Wasserrahmenrichtlinie (WRRL) gesehen werden. Mit der Verabschiedung der WRRL (EU; 2000/60/EC) hat die Europäische Union einen grundlegenden Wechsel in der Bewertung von Oberflächengewässern, vom primär chemisch dominierten Monitoring hin zu einer integrierten ökologischen Bewertung vollzogen. Es sollen „ungestörte Referenzzustände“ erfasst und Leitbilder von Gewässertypen definiert werden anhand derer das

Biomarker/ Parameter	Indikator für	Bioindikator / Matrix	Monitoring
Comet-Assay	Gentoxizität	Miesmuschel/Hämocyten	jährlich
AChE-Aktivität	Neurotoxizität, (Metalle)	Miesmuschel/Kieme	jährlich
TOSC	oxidativer Stress	Miesmuschel	jährlich
Lysosomenstabilität (Neutralrot-Assay)	Stress- und Schadstoffeffekte	Miesmuschel/Hämocyten	jährlich
Histopathologie	allg. Gesundheitszu- stand, weites Spektrum an Schadstoffen	Aalmutter/Leber u.a. Organe	abwechselnd in unterschiedlichen Gebieten
Imposex	Zinnorganika	Wattschnecke H. ulvae	abwechselnd in unterschiedlichen Gebieten
Intersex, Atresie	Reproduktionsstörung durch hormonaktive Substanzen	Aalmutter/Hoden, Ovar	abwechselnd in unterschiedlichen Gebieten
Störungen der Larven- entwicklung	weites Spektrum an Schadstoffen, potenzi- ell endokrine Effekte	Aalmutter/Brut	abwechselnd in unterschiedlichen Gebieten

■ Tab. 5:

Empfohlene Biomarker für ein biologisches Effektmonitoring in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern

Ausmaß der anthropogenen Veränderung bewertet wird. Bei dieser Zielsetzung wäre eigentlich zu erwarten gewesen, dass auch biologische Effektuntersuchungen anhand von Biomarkern oder Bioassays zum methodischen Spektrum der WRRL zählen. Das biologische Bewertungsinstrumentarium der WRRL sieht aber ausschließlich Komponenten auf höherer biologischer Ebene vor (u.a. Makrozoobenthos, Fischfauna) (EU, 2003). Die Schadstoffbelastung soll anhand einer Auswahl sog. „prioritärer Stoffe“ bewertet werden.

Das Fehlen von biologischen Effektmethoden wird zunehmend als ein wesentlicher Mangel im Bewertungsinstrumentarium der WRRL empfunden,

da allein sie als Schnittstelle zwischen chemischer Umweltanalytik und ökosystemaren Parametern fungieren können. (Hagger et al., 2006). Nur das mittlerweile umfangreich entwickelte ökotoxikologische Methodenspektrum bietet potenziell die Möglichkeit Stresseffekte auf höherer biologischer Ebene ursächlich auf die Wirkung bestimmter chemischer Stoffe zurückzuführen und damit konkrete regulatorische Maßnahmen zu treffen. Außerdem stellen Veränderungen des Gesundheitszustandes ausgewählter Bioindikatoren ein frühzeitiges Warnsystem für biologische Wirkungen von Schadstoffen dar, während sich Veränderungen in Lebensgemeinschaften im Allgemeinen nur langsam manifestieren und deshalb

nur eine retrospektive Bewertung ermöglichen. Ausgehend von dem Ansatz der Indikation von Stress- und Schadstoffeffekten auf den unteren Ebenen der biologischen Organisation (Zelle, Organ, Individuum) eignet sich das biologische Effektmonitoring besonders für das indikative Monitoring (Überwachung zu Ermittlungszwecken) i.S. der WRRL.

Im Folgenden soll anhand einiger Beispiele gezeigt werden, dass biologische Effektmethoden zukünftig sehr wahrscheinlich eine wichtigere Rolle bei der Zustandsbewertung von Gewässern und der Risikoabschätzung im Rahmen von Eingriffen in die Umwelt spielen werden.

- Als erstes sind hier die derzeitigen Bestrebungen für eine Neukonzeption des marinen Monitorings in Deutschland (Projekt BLMP+) zu nennen, die vor dem Hintergrund mehrerer in den letzten Jahren in Kraft getretener nationaler und internationaler Abkommen bzw. Richtlinien notwendig wurde (Brockmann et al., 2007). So sollen beim Monitoring im Rahmen von OSPAR (JAMP)- und HELCOM (Combine) zukünftig verstärkt biologische Parameter berücksichtigt werden. Einen ökosystemaren Ansatz verfolgen auch die EU-WRRL, die EU-Meereschutzstrategie und die Natura-2000-Richtlinien. Insofern strebt die Neukonzeption des Meeresmonitorings eine harmonisierte Überwachung und die Nutzung von Synergieeffekten an. Als ein Ergebnis von BLMP+ wurden auch für die Komponente „Biologische Effekte“ Kennblätter erstellt, die zukünftig laufend aktualisiert werden sollen (Brockmann et al., 2007). Nach dem derzeitigen Stand sind dort die bereits durch die Bundesforschungsanstalt für Fischerei ausschließlich an Stationen der „hohen See“ ermittelten biologischen Parameter sowie das TBT-Monitoring mit Schnecken (Imposex/ Intersex) aufgeführt. Als Kandidaten für eine Erweiterung des Parameterspektrums werden die „Lysosomenstabilität“ und der „Reproduktionserfolg bei Fischen“ genannt.
- Immer mehr der von der EU verabschiedeten Direktiven, Verordnungen und Empfehlungen für Maßnahmen des Umweltschutzes verfolgen einen holistischen, ökosystembasierten Ansatz. Bei der Umsetzung dieser Richtlinien wird die integrierte Umweltbewertung (Environmental Risk Assessment) bzw. das Umweltmanagement in den kommenden Jahren an Bedeutung gewinnen. Dabei wird der Aspekt der „Ökosystemgesundheit“ (Ecosystem Health) eine zentrale Rolle bei regulatorischen und Managemententscheidungen spielen (Apitz et al., 2006; Hagger et al., 2006; Handy et al., 2003; Moore et al., 2004). Ökologische und ökotoxikologische Parameter (Biomarker/Bioassays) sind in diesem integrierten Ansatz von zentraler Bedeutung, da sich ein Risiko für die Umwelt mit chemischer Analytik allein nicht erfassen lässt. Die Bewertung einer potenziellen Beeinträchtigung des Ökosystemerfolgs anhand des sog. „Weight-of Evidence-Konzepts“.
- Ein weiteres Anwendungsfeld für biologische Effektmethoden ist die Risikobewertung bei direkten baulichen Eingriffen in das marine Ökosystem, wie sie beispielsweise der Bau von Pipelines oder die Errichtung von Offshore-Windparks darstellen. Im Fall der Windparks ist nicht bekannt, ob die im Meeresboden verlegten Stromkabel - durch Erwärmung des Sediments und/oder elektromagnetische Felder - einen nachteiligen Effekt auf benthische Organismen ausüben können. Der Biomarker-Ansatz bietet hier eine gute Möglichkeit, zur Beantwortung der Frage beizutragen. Am IFAÖ werden diesbezüglich Laborexperimente an der Miesmuschel durchgeführt (Gercken et al., unveröffentlicht).
- Biologische Effektmethoden sind auch gefordert, wenn es um die Bewertung von Risiken geht, die beim Einbringen von potenziell toxischen Materialien in das Küstenmeer entstehen. Ein Beispiel hierfür ist der Bau von Buhnen für den Küstenschutz. Einheimische Hölzer lassen sich nur als Buhnenpfähle verwenden, wenn sie mit bioziden Schutzmitteln behandelt wurden,

da sie ansonsten in kurzer Zeit vom Schiffsbohrwurm (*Teredo navalis*) zerstört werden würden. Mithilfe der auch beim Monitoring gebräuchlichen Biomarker lässt sich eine Bewertung der Wirkung von Schutzmittelimpregnierungen durchführen. Ein geeigneter Bioindikator ist die natürlicherweise im Aufwuchs von Buhnen lebende Miesmuschel (Gercken & Sordyl, 2002c).

- Im vorliegenden Bericht wurde bereits erwähnt, dass zahllose Chemikaliendestillations-Gebrauchs in den Kläranlagen nur teilweise eliminiert werden und somit in Flüsse und auch die Küstengewässer gelangen. Außer hormonaktiven Substanzen zählen beispielsweise auch Human- und Tierpharmaka sowie Bestandteile von Körperpflege-mitteln dazu. Trotz geringer Konzentrationen im Vorfluter können bei diesen meist biologisch sehr aktiven Chemikalien chronische Effekte auf Organismen nicht ausgeschlossen werden. Ohne den Einsatz von Biomarkern und Biotests wird eine Bewertung des von diesen „neuen Schadstoffen“ ausgehenden ökotoxikologischen Gefährdungspotenzials nicht möglich sein.

Abschließend bleibt festzustellen, dass das Konzept eines biologisch und ökosystemar dominierten integrierten Ansatzes der Gewässergütemessung ohne den Einsatz von biologischen Effektparametern nicht wirkungsvoll umgesetzt werden kann. Das umfangreiche Instrumentarium, das die Ökotoxikologie mittlerweile zur Bewertung der Gesundheit von Biota bereithält, stellt das Bindeglied zwischen der Ebene des chemischen Monitorings und der Untersuchungen auf der Populations- und Ökosystemebene dar. Nur die Anwendung von biologischen Effektmethoden bietet grundsätzlich die Möglichkeit, Ursache-Wirkungsbeziehungen zu erkennen und daraus abgeleitet regulatorische Maßnahmen im Sinne des Vorsorgeprinzips oder eines „Weight-of-Evidence-Ansatzes“ zu treffen.

III.8 TABELLENANHANG – EFFEKTMONITORING IN KÜSTENGEWÄSSERN VON MECKLENBURG-VORPOMMERN

Stat. Nr.	Stat. Name	Pilot-studie	Datum	Bioindikator	Parameter	
1	Wismar Wendorf	1998	24.11.1998	Miesmuschel	Lysosomenstabilität	
					Katalase-Aktivität	
					AChE-Aktivität	
			28.10.1998	Aalmutter	Katalase-Aktivität	
					AChE-Aktivität	
					Leberhistopathologie	
			15.06.1999	Wattschnecke	Imposex	
			1999	26.10.1999	Miesmuschel	AChE-Aktivität
						Lipidperoxidation
		Metallothionein Induktion				
		05./24.11.1999		Aalmutter	Lipidperoxidation	
					AChE-Aktivität	
		07.06./06.07.2000	Wattschnecke	Imposex		
		2000	02.11.2000	Miesmuschel	AChE-Aktivität	
					Lipidperoxidation	
					Metallothionein Induktion	
			02.11.05.12.2000	Aalmutter	AChE-Aktivität	
					Lipidperoxidation	
		18.06./02.07.2001	Wattschnecke	Imposex		
		2001	22.10.2001	Miesmuschel	AChE-Aktivität	
					Lipidperoxidation	
					Metallothionein Induktion	
			22.10.2001	Aalmutter	Lipidperoxidation	
					Larvenschädigung	
		28.07.2002	Wattschnecke	Imposex		
		2002	10.10.2002	Miesmuschel	AChE-Aktivität	
					Lipidperoxidation	
					Metallothionein Induktion	
			03./11.06.2003	Aalmutter	Atresie/Intersex	
					Lipidperoxidation	
22.10.2002		Larvenschädigung				
28.08.2003	Wattschnecke	Imposex				
2003	15.01.2004	Miesmuschel	AChE-Aktivität			
			Lipidperoxidation			
			Metallothionein Induktion			
	25.05./09.06.2004	Aalmutter	Atresie/Intersex			
	22.10./11.11.2003		Larvenschädigung			
04.06.2004	Wattschnecke	Imposex				

Stat. Nr.	Stat. Name	Pilot-studie	Datum	Bioindikator	Parameter
2	Eggers Wiek/ Insel Walfisch	1999	13.10.1999	Aalmutter	AChE-Aktivität
					Leberhistopathologie
					Lipidperoxidation
		2000	05.12.2000	Aalmutter	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Larvenschädigung
3	nordöstl. Poel	1999	02.11.1999	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		2000	21.11.2000	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		2001	29.10.2001	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		2002	05.11.2002	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		2003	16.10.2003	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
			05.10.2004	Wattschnecke	Imposex
		4	Salzhaff	1998	14.10.1998
Katalase-Aktivität					
AChE-Aktivität					
13./16.10.1998 20.11.1998	Aalmutter			Katalase-Aktivität	
				AChE-Aktivität	
				Leberhistopathologie	
10.06.1999	Wattschnecke			Imposex	
1999	07.06./06.07.2000			Wattschnecke	Imposex
2000	15.06.2001			Wattschnecke	Imposex
2001	21.11.2001			Aalmutter	Lipidperoxidation
					Larvenschädigung
2002	30.05.2002			Wattschnecke	Imposex
	23./26.06.2003			Aalmutter	Atresie/Intersex
					Lipidperoxidation
	24.10./07.11.2002				24.10./07.11.2002
15.07./28.08.2003	Wattschnecke			Imposex	
2003	07./22.06./05.07.2004			Aalmutter	Atresie/Intersex
		Larvenschädigung			
	22.10./04.11.2003				
04.06.2004	Wattschnecke	Imposex			

Stat. Nr.	Stat. Name	Pilot-studie	Datum	Bioindikator	Parameter
5	Breitling	1998	27.10.1998	Miesmuschel	Lysosomenmembranstabilität
					Katalase-Aktivität
					AChE-Aktivität
					TBT-Analytik
			13.10./19.10.1998	Aalmutter	Katalase-Aktivität
					AChE-Aktivität
		Leberhistopathologie			
		1999	19.10.1999	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		22.04.1999	Aalmutter	Leberhistopathologie	
		2000	26.10.2000	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		09.10./13.10.2000	Aalmutter	Larvenschädigung	
		2001	16.10.2001	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		30.07.2002	Wattschnecke	Imposex	
		2002	26.11.2002	Miesmuschel	AChE-Aktivität
Lipidperoxidation					
Metallothionein Induktion					
13.06.2003	Aalmutter		Atresie/Intersex		
21.07.2003	Wattschnecke	Imposex			
2003	27.11.2003	Miesmuschel	AChE-Aktivität		
			Lipidperoxidation		
			Metallothionein Induktion		
27.05.2004	Wattschnecke	Imposex			
6	nordlich Warnemünde	1998	12.11.1998	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Katalase-Aktivität
		1999	04.11.1999	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		2000	20.11.2000	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		2001	17.10.2001	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
		2002	26.11.2002	Miesmuschel	AChE-Aktivität
					Lipidperoxidation
					Metallothionein Induktion
2003	11.11.2003	Miesmuschel	AChE-Aktivität		
			Lipidperoxidation		
			Metallothionein Induktion		

Stat. Nr.	Stat. Name	Pilot-studie	Datum	Bioindikator	Parameter		
7	Darßer Ort/ Fischland	1999	23./30.11.1999	Aalmutter	AChE-Aktivität		
					Leberhistopathologie		
					Lipidperoxidation		
		2001	30.08.2002	Wattschnecke	Imposex		
					2002	17.06.2003	Aalmutter
		2003	15.06.2004	Aalmutter			
2002	22.09.2003				Wattschnecke	Imposex	
		2003	29.09.2004	Wattschnecke		Imposex	
8	nördlich Zingst				2001	13.11.2001	Miesmuschel
		Lipidperoxidation					
		Metallothionein Induktion					
		2002	12.02.2003	Miesmuschel	AChE-Aktivität		
					Lipidperoxidation		
					Metallothionein Induktion		
		2003	01./17.07.2003	Aalmutter	Atresie/Intersex		
					10.11.2003	Miesmuschel	AChE-Aktivität
							Lipidperoxidation
Metallothionein Induktion							
9	Gager	2001	05.11.2001	Aalmutter	Leberhistopathologie		
					Lipidperoxidation		
					Larvenschädigung		
10	Greifswalder Bodden	2001	09.08.2002	Wattschnecke	Imposex		
		2002	22.09.2003	Wattschnecke	Imposex		
		2003	21.07.2004	Wattschnecke	Imposex		
11	nördlich Usedom	2001	14.11.2001	Miesmuschel	AChE-Aktivität		
					Lipidperoxidation		
		2002	13.02.2003	Miesmuschel	Metallothionein Induktion		
					2003	06.10.2003	Wattschnecke
		2001	20.08.2002	Wattschnecke			
					19.01.2004	Miesmuschel	Lipidperoxidation
							Metallothionein Induktion
		2002	06.10.2003	Wattschnecke			Imposex
					2003	19.01.2004	Miesmuschel
2003	19.01.2004	Miesmuschel	Lipidperoxidation				
			2003	19.01.2004	Miesmuschel	Metallothionein Induktion	
2003	19.01.2004	Miesmuschel				Imposex	
			2003	19.01.2004	Miesmuschel	Imposex	

■ **Tab. 6:**

Übersicht über die Stationen, das Datum der Beprobungen und die an den Proben untersuchten Parameter S. 90-93

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	Imposex Indiz [%]	VDS Index
1	Wismar/ Wendorf	1999	19	42,1	0,74
		2000	33	36,4	0,48
		2001	31	51,6	0,71
		2002	19	36,8	0,37
		2003	39	12,8	0,18
		2004	43	11,6	0,19
3	nordöstlich Poel	2004	28	3,2	0,03
4	Salzhaff	1999	22	18,2	0,36
		2000	48	25,0	0,42
		2001	31	41,9	0,58
		2002	32	40,6	0,50
		2003	39	23,1	0,36
		2004	40	17,5	0,20
5	Breitling	2002	34	50,0	0,76
		2003	44	52,3	0,66
		2004	43	44,2	0,56
7	Darßer Ort/ Fischland	2002	33	0,0	0,0
		2003	30	0,0	0,0
		2004	47	0,0	0,0
		2004	35	0,0	0,0
10	Greifswalder Bodden	2002	39	5,1	0,05
		2003	30	6,7	0,07
		2004	48	2,1	0,02
11	nördlich Usedom	2002	24	20,8	0,33
		2003	41	2,4	0,02
		2004	54	0,0	0,00

■ **Tab. 7:**

Auftreten von Imposex bei der
Wattschnecke *H. ulvae*
- Imposex Indiz und VDS-Index -

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	MW	STABW
1	Wismar	1998	15,94	5,96
		1999	18,13	1,44
		2000	15,00	2,23
		2001	14,90	2,08
		2002	12,93	3,15
		2003	12,52	0,87
3	Poel	1998	9,52	0,14
		1999	8,43	2,41
		2000	8,53	1,33
		2001	12,30	0,44
		2002	13,13	0,51
		2003	13,39	0,34
5	Breitling	1998	13,19	1,71
		1999	17,07	2,80
		2000	12,43	0,21
		2001	17,13	3,25
		2002	12,13	1,17
		2003	12,93	2,88
6	nördlich Warnemünde	1998	15,89	2,22
		1999	10,83	2,97
		2000	13,30	4,69
		2001	13,83	0,57
		2002	9,33	1,45
		2003	11,64	1,54
8	nördlich Zingst	2001	11,77	3,07
		2002	7,83	2,15
		2003	11,45	2,85
11	nördlich Usedom	2001	11,07	2,11
		2002	15,63	1,33
		2003	10,38	0,80

■ **Tab. 8:**

Konditionsindices der
untersuchten Miesmuschelproben

[25-30 Individuen/Probe]

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n *	MW	STABW	Min	Max	Median	unteres Quartil	oberes Quartil
1	Wismar	1999	3	272,7	57,6	236,0	339,0	243,0		
		2000	9	263,9	65,4	174,5	363,7	274,0	206,4	292,4
		2001	9	219,2	33,6	159,9	271,0	223,9	199,7	239,1
		2002	8	173,4	80,4	76,5	312,6	146,4	134,8	189,0
		2003	9	183,8	32,1	137,7	229,8	187,1	158,8	206,7
3	Poel	1999	3	226,0	36,6	184,0	251,0	243,0		
		2000	9	219,1	44,5	145,3	282,6	224,8	217,5	226,1
		2001	9	180,6	28,4	137,3	235,0	180,0	164,1	188,0
		2002	9	133,5	22,7	95,2	165,8	133,9	122,4	150,2
		2003	9	113,5	26,0	79,4	150,0	122,4	89,6	128,9
5	Breitling	1999	3	248,0	49,5	210,0	304,0	230,0		
		2000	9	220,3	21,2	191,7	245,7	221,1	206,4	243,3
		2001	9	202,4	40,3	165,7	284,7	190,5	179,2	199,7
		2002	9	135,7	33,2	75,4	170,8	143,0	117,2	165,9
		2003	32	206,4	45,7	94,1	242,0	222,8	200,9	235,4
6	nördlich Warnemünde	1999	3	249,3	24,1	229,0	276,0	243,0		
		2000	9	246,3	77,6	176,9	430,0	226,1	189,2	265,4
		2001	9	150,4	40,8	90,5	200,3	140,9	125,4	188,6
		2002	9	201,6	58,6	123,5	317,6	218,4	164,2	224,1
		2003	9	126,8	10,6	109,5	142,5	126,7	120,5	132,9
8	nördlich Zingst	2001	9	203,3	20,4	174,9	246,4	198,8	193,0	204,4
		2002	9	174,6	64,0	101,8	315,4	152,5	133,5	207,9
		2003	9	139,2	10,2	124,8	150,3	140,6	131,0	148,2
11	nördlich Usedom	2001	9	251,3	36,6	192,0	321,1	256,0	227,8	259,5
		2002	9	183,2	34,4	127,8	239,6	181,2	158,0	209,3
		2003	9	272,4	40,5	211,7	332,9	276,4	240,9	298,6

■ **Tab. 9:**

Metallothionein Konzentrationen
in der Mitteldarmdrüse von *Mytilus edulis*

[Konzentrationen in µg/ Feuchtgewicht]

* Anzahl Sammelproben

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	MW	STABW	Min	Max	Median	unteres Quartil	oberes Quartil
1	Wismar	1998	28	42,0	19,3	13,8	97,0	38,4	29,9	53,6
		1999	30	23,6	13,3	5,9	52,5	24,3	12,3	31,2
		2000	30	19,6	12,8	3,2	50,9	16,8	8,9	26,2
		2001	29	10,5	6,7	3,7	28,8	8,3	6,0	13,0
		2002	32	6,8	6,0	0,5	26,1	5,0	2,5	8,7
		2003	33	8,4	6,5	1,9	33,6	7,4	4,6	9,4
3	Poel	1998	27	40,2	29,0	5,0	116,4	29,5	21,9	56,0
		1999	29	18,0	9,9	5,4	47,3	15,3	11,6	21,6
		2000	30	10,7	6,0	2,7	26,6	9,9	5,3	13,9
		2001	30	6,1	3,2	0,6	14,3	5,6	4,3	6,9
		2002	30	3,7	6,1	0,3	33,9	2,3	1,5	3,7
		2003	33	9,1	11,3	1,7	67,2	6,3	4,4	8,8
5	Breitling	1999	30	19,1	10,3	6,3	45,2	15,6	13,1	25,1
		2000	30	12,2	6,1	2,5	29,1	11,3	8,2	15,0
		2001	28	7,8	5,6	2,9	32,3	6,8	4,9	9,5
		2002	31	3,1	2,8	0,1	11,5	2,3	1,2	3,7
		2003	32	10,4	21,0	0,4	119,6	5,5	3,3	8,5
6	nördlich Warnemünde	1998	26	44,2	37,4	1,2	149,7	35,1	15,1	65,0
		1999	30	25,0	15,1	6,2	64,1	20,5	15,3	30,4
		2000	30	10,3	6,1	0,7	23,8	9,2	5,5	13,3
		2001	30	7,8	4,6	2,6	20,2	6,0	4,7	8,8
		2002	29	0,7	0,5	0,1	2,4	0,5	0,3	0,9
		2003	33	10,2	8,8	2,0	36,9	7,6	3,9	13,9
8	nördlich Zingst	2001	30	6,9	2,5	2,5	12,8	6,7	5,0	8,2
		2002	30	5,0	3,4	0,3	13,4	4,4	2,3	7,0
		2003	33	14,1	7,9	1,7	37,3	14,0	8,6	17,5
11	nördlich Usedom	2001	30	5,6	4,4	0,5	23,2	5,6	2,0	7,3
		2002	27	8,1	5,0	1,7	21,1	6,5	4,9	12,7
		2003	33	9,1	5,3	0,8	21,2	9,5	5,4	12,5

■ Tab. 10:

Acetylcholinesterase-Aktivität im Kiemengewebe von *Mytilus edulis*

[nmol/min/mg Protein]

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	MW	STABW	Min	Max	Median	unteres Quartil	oberes Quartil
1	Wismar	1999	30	13667	11131	3441	41941	8469	5130	18675
		2000	30	8297	9801	3385	38077	4485	3794	5652
		2001	30	23325	16252	5091	62940	18904	11585	32097
		2002	33	7206	5220	3074	20801	4823	4217	7644
		2003	33	6442	6301	1918	27331	4203	2849	6205
3	Poel	1999	30	9897	7349	3921	34847	6953	4548	14282
		2000	29	16926	15341	2595	52250	7869	4555	29615
		2001	30	14882	9372	4188	38585	11656	7852	19088
		2002	33	16805	13045	4597	50995	11762	9392	20463
		2003	33	17216	8981	6121	36173	15809	9392	20392
5	Breitling	1999	30	14043	10973	3441	41941	9012	5415	18675
		2000	30	19728	22347	3074	67565	9844	4950	22353
		2001	30	15803	7874	6755	33310	11973	10499	18845
		2002	33	18544	10577	6050	44790	16218	9833	23953
		2003	33	19272	9839	4485	42308	17276	12742	23985
6	nördlich Warnemünde	1999	30	16502	15234	3413	58399	9822	4763	26590
		2000	28	13220	14069	3554	49599	5712	4026	15650
		2001	30	19380	10561	6135	48062	18030	10792	27123
		2002	33	18326	12975	5556	57905	15894	8871	22606
		2003	33	4752	4090	1721	15372	2877	2242	5712
8	nördlich Zingst	2001	30	13921	9190	5105	41715	10316	8232	18302
		2002	33	7271	5124	2172	19687	4879	3088	10281
		2003	33	12160	9656	3385	31519	6713	4174	19123
11	nördlich Usedom	2001	30	14797	14843	3554	49599	5782	4065	19987
		2002	28	7690	6759	2313	28318	4767	3575	9146
		2003	33	7765	9805	1410	33564	2708	1833	6628

■ Tab. 11:

Lipidperoxidation in der
Mitteldarmdrüse von *Mytilus edulis*

[Angaben in MDA ($\mu\text{mol/g}$ Feuchtgewicht)]

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	Konditionsindex		LSI		GSI	
				MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
1	Wismar Brücke	2003	25	0,45	0,11	3,11	0,84	0,98	0,41
		2003	25	0,46	0,040	2,85	0,61	1,34	0,98
	Wismar Klärwerk	2004	14	0,45	0,029	2,87	0,42	0,84	0,90
			10	0,43	0,040	2,80	0,47	1,22	1,3
			6	0,44	0,017	2,52	0,73	1,22	0,51
			7	0,45	0,043	3,03	1,0	1,25	0,37
4	Salzhaff	2003	21	0,42	0,074	2,08	0,54	1,32	0,51
		2004	8	0,42	0,052	2,02	0,37	0,51	0,22
				17	0,45	0,048	2,14	0,56	0,82
5	Breitling	2003	28	0,47	0,065	3,07	0,79	1,00	0,43
7	Darßer Ort	2003	13	0,40	0,12	1,87	1,36	0,68	0,46
		2004	26	0,42	0,047	1,75	0,45	0,63	0,24
8	Zingst	2003	37	0,43	0,036	2,08	0,56	0,97	0,43

■ Tab. 12:

Biometrische Daten der im Frühjahr/ Sommer untersuchten weiblichen Aalmuttern [Konditionsindex (KI), Lebersomatischer Index (LSI) und Gonadosomatischer Index (GSI)]

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	Konditionsindex		LSI		GSI	
				MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
1	Wismar Brücke	2003	13	0,44	0,022	2,37	0,53	2,81	0,70
		2003	17	0,43	0,037	2,75	0,76	3,01	0,88
	Wismar Klärwerk	2004	3	0,43	0,25	2,32	0,74	3,92	0,54
			1	0,48	-	2,07	-	3,15	-
			7	0,41	0,030	3,12	0,70	2,19	0,74
			5	0,45	0,046	2,76	1,24	2,34	0,65
4	Salzhaff	2003	32	0,42	0,087	1,80	0,47	2,03	0,53
		2004	25	0,47	0,050	2,24	0,89	2,43	0,78
				15	0,46	0,042	1,97	0,57	2,26
5	Breitling	2003	17	0,47	0,045	3,07	1,3	2,47	0,83
7	Darßer Ort	2003	8	0,41	0,028	1,46	0,35	2,27	0,53
		2004	20	0,40	0,047	1,6	0,42	1,95	0,72
8	Zingst	2003	14	0,41	0,071	1,57	0,25	1,62	0,70

■ Tab. 13:

Biometrische Daten der im Frühjahr/Sommer untersuchten männlichen Aalmuttern [Konditionsfaktor (KI), Lebersomatischer Index (LSI) und Gonadosomatischer Index (GSI)]

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	Konditionsindex		LSI		ESI	
				MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
1	Wismar Wendorf	1998	23	0,502	0,38	1,68	0,43	-	-
		1999	21	0,515	0,039	1,83	0,42	-	-
		2000	20	0,520	0,053	1,81	0,42	15,94	2,72
		2000	20	0,530	0,072	2,08	0,63	28,05	6,29
		2001	34	0,454	0,041	1,7	0,34	9,34	2,38
		2002	24	0,41	0,050	1,79	0,38	6,74	2,9
		2003	18	0,46	0,059	1,9	0,516	21,7	8,94
3	Eggers Wiek/ Walfisch	1999	22	0,521	0,073	1,66	0,32	-	-
		2000	21	0,468	0,046	1,74	0,49	26,39	6,06
		2003	4	0,42	0,035	1,58	0,318	24,28	17,39
5	Salzhaff	1998	25	0,469	0,45	1,60	0,38	-	-
		2001	7	0,470	0,043	1,58	0,33	11,72	4,87
		2002	22	0,40	0,04	1,45	0,25	7,27	3,1
		2003	30	0,45	0,043	1,54	0,377	16,17	6,98
6	Breitling	1998	19	0,474	0,41	1,85	0,31	-	-
		2000	11	0,492	0,024	2,16	0,34	6,69	1,32
8	Darßer Ort	1999	29	0,471	0,060	1,39	0,29	-	-
11	Gager	2001	19	0,470	0,055	1,59	0,25	13,00	2,79

■ **Tab. 14:**

Biometrische Daten der im Herbst untersuchten Proben trächtiger Aalmuttern

[Konditionsindex (KI), Lebersomatischer Index (LSI) und Embryosomatischer Index (ESI)]

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	total (%)	schwach (%)	moderat (%)	stark (%)
1	Wismar Wendorf	1999	24	25,0	16,7	0,0	8,3
		2001	18	22,3	16,7	5,6	0,0
		2002	17	11,8	5,9	5,9	0,0
		2003	30	43,4	30,0	6,7	6,7
		2004	14	35,7	35,7	0,0	0,0
2	Eggers Wiek/ Walfisch	2001	6	33,3	33,3	0,0	0,0
		2002	27	18,5	18,5	0,0	0,0
4	Salzhaff	1999	18	27,8	22,2	0,0	5,6
		2001	28	10,7	10,7	0,0	0,0
		2002	31	16,1	16,1	0,0	0,0
		2003	32	43,7	21,9	15,5	6,3
		2004	40	10,0	10,0	0,0	0,0
5	Breitling	2000	17	23,5	17,6	0,0	5,9
		2003	16	43,8	31,3	12,5	0,0
7	Darßer Ort	2000	16	0,0	0,0	0,0	0,0
		2003	8	37,5	25,0	0,0	12,5
		2004	39	25,7	18,0	5,1	2,6
8	Zingst	2003	13	23,1	23,1	0,0	0,0

■ **Tab. 15:**

Prävalenz und Ausprägung von Intersex bei männlichen Aalmuttern

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	total (%)	schwach (%)	moderat (%)	stark (%)
1	Wismar Wendorf	2001	20	70	30	20	20
		2002	22	50	27,3	9,1	13,6
		2003	45	53,3	22,2	15,6	15,6
		2004	37	64,7	37,8	18,9	8,1
2	Eggers Wiek/ Walfisch	2001	22	81,8	31,8	9,1	41
		2002	21	57,1	23,8	23,8	9,5
4	Salzhaff	2001	19	0	0	0	0
		2002	21	14,3	9,5	0	4,8
		2003	21	19,1	14,3	4,8	0
		2004	24	45,8	37,5	4,2	4,2
5	Breitling	2003	28	46,4	17,9	21,4	7,14
7	Darßer Ort	2003	13	46,2	23,1	7,7	15,4
		2004	37	43,2	13,5	13,5	16,2
8	Zingst	2003	36	38,9	19,4	11,1	8,3

■ **Tab. 16:**

Prävalenz und Ausprägung von degenerativen Veränderungen (Atresie) im Ovar weiblicher Aalmuttern

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	% (total)	1-5 %	5,1-10 %	10,1-20 %	> 20,1 %
1	Wismar Wendorf	2000	38	57,9	42,1	13,2	0,0	2,6
		2001	31	77,5	51,6	9,7	9,7	6,5
		2002	22	50,0	9,1	18,2	18,2	4,5
2	Eggers Wiek/ Walfisch	2000	20	55,0	40,0	15,0	0,0	0,0
4	Salzhaff	2001	6	83,3	83,3	0,0	0,0	0,0
		2002	17	29,4	23,5	5,9	0,0	0,0
		2003	26	65,4	50,0	15,4	0,0	0,0
5	Breitling	2000	10	90,0	20,0	60,0	10,0	0,0
9	Gager	2001	18	50,0	33,3	11,1	5,6	0,0

■ **Tab. 17:**

Prävalenz von Weibchen mit missgebildeten, entwickelten Larven in der Brut (% total) sowie Darstellung der Intensität der Schädigung (Kategorien Anteil (%) missgebildeter Larven in einer Brut)

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	% (total)	1-5 %	5,1-10 %	10,1-20 %	> 20,1 %
1	Wismar Wendorf	2000	38	57,9	47,4	7,9	0,0	2,6
		2001	31	54,8	35,5	12,9	3,2	3,2
		2002	22	22,6	13,6	0,0	4,5	4,5
		2003	18	35,0	16,7	11,1	5,6	1,6
2	Eggers Wiek/ Walfisch	2000	20	50,0	35,0	15,0	0,0	0,0
4	Salzhaff	2001	6	66,7	66,7	0,0	0,0	0,0
		2002	17	23,5	17,6	0,0	5,9	0,0
		2003	26	30,8	23,1	7,7	0,0	0,0
5	Breitling	2000	10	80,0	40,0	30,0	10,0	0,0
9	Gager	2001	18	38,9	22,2	11,1	5,6	0,0

■ **Tab. 18:**

Prävalenz von Weibchen mit toten, normal entwickelten Larven in der Brut (% total) sowie Darstellung der Intensität der Schädigung

(Kategorien Anteil (%) toter Larven in einer Brut)

Stat. Nr.	Stat. Name	Jahr	n	Ausfall der Brut
1	Wismar Wendorf	2000	39	0,00
		2001	31	0,00
		2002	24	8,33
		2003	18	0,00
2	Eggers Wiek/ Walfisch	2000	21	4,17
4	Salzhaff	2001	0	0,00
		2002	22	22,27
		2003	30	13,33
5	Breitling	2000	12	8,33
9	Gager	2001	19	0,00

■ **Tab. 19:**

Prävalenz der Schädigung „Totaler Ausfall der Brut“



IV Biologische Effektstudien an Organismen aus Binnengewässern und dem Oderästuar

BIOLOGISCHE EFFEKTSTUDIEN AN ORGANISMEN AUS BINNENGEWÄSSERN UND DEM ODERÄSTUAR

Nachdem im vorliegenden Bericht schwerpunktmäßig die wesentlichen Befunde der in den Küstengewässern erfolgten Effektmonitoring-Pilotstudien vorgestellt wurden, folgen auf den nächsten Seiten kurze, zusammenfassende Darstellungen der wichtigsten Ergebnisse verschiedener kleinerer Biomarker-Studien, die vorwiegend in Fließgewässern von Mecklenburg-Vorpommern durchgeführt wurden. Diese Übersicht soll

dem Leser einen Eindruck von den Anwendungsmöglichkeiten des biologischen Effektmonitorings in Binnengewässern vermitteln.

Die Felduntersuchungen wurden vom Institut für Angewandte Ökologie GmbH (IfAÖ) im Auftrag verschiedener Behörden des Landes Mecklenburg-Vorpommern durchgeführt (Tab. 20).

Projekttitle	Jahr der Untersuchung	Auftraggeber	Bericht
Schadstoff- und Schadstoffeffektmonitoring an der Dreikantmuschel (<i>D. polymorpha</i>) aus Gewässern in Mecklenburg-Vorpommern. - Binnengewässer und Oderästuar -	2000	LUNG M.-V.	Sordyl & Gercken, 2001
	2001		Sordyl & Gercken, 2002
Untersuchung von Indikatororganismen am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd.	1998	StAUN Schwerin	Gercken & Sordyl, 1998
	1999/2000		Gercken, 2000a
Untersuchung von Indikatororganismen im Kraaker Mühlenbach.	2001/2002	StAUN Schwerin	Gercken, 2003a
Pilotstudie zur Bewertung des Gewässerzustandes von Uecker und Randow.	1999	StAUN Ueckermünde	Gercken & Sordyl, 2000
	2000		Gercken & Sordyl, 2001a

Tab. 20:

Effektstudien an Organismen aus Binnengewässern und dem Oderästuar
„Totaler Ausfall der Brut“

IV.1 INTEGRIERTES MONITORING AN DER DREIKANTMUSCHEL AUS GEWÄSSERN IN MECKLENBURG-VORPOMMERN

IV.1.1 Veranlassung und Umfang der Untersuchungen

Analog zur Verwendung der Miesmuschel im marinen Bereich hat sich die Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*) als gut geeigneter Bioindikator für das biologische Monitoring in Binnengewässern erwiesen (Kraak et al., 1991; Mersch et al., 1992). Als Filtrierer von Bakterien, einzelligen Algen und

anderen suspendierten Partikeln steht sie auf der untersten Ebene der limnischen Konsumentenhierarchie. Ihr Nahrungserwerb und die Lebensweise auf dem Sediment langsam fließender und stehender Gewässer begünstigt die Aufnahme von gelösten und an Partikel gebundenen Schadstoffen. Wegen dieser vorteilhaften Eigenschaften wurde die Dreikantmuschel beispielsweise im

Rahmen der Schadstoffüberwachung der Elbe untersucht (Krieg & Gaumert, 1998). Außerdem wurde *D. polymorpha* als limnischer Bioindikator für das Schadstoffkonzentrationsmonitoring der Umweltprobenbank ausgewählt (UBA, 1999). Im Ausland durchgeführte Feldstudien haben gezeigt, dass die Dreikantmuschel auch für ein biologisches Effektmonitoring gut geeignet ist (Binelli et al., 2006; Lafontaine et al., 2000; Quinn et al., 2004). Mit Blick auf die zunehmende Bedeutung integrierter, biologisch basierter Monitoringkonzepte vergab das LUNG Mecklenburg-Vorpommern einen Auftrag zur Durchführung eines integrierten Schadstoffkonzentrations- und -effektmonitorings an der Dreikantmuschel an das IfAÖ. Die Auswahl der im Weichkörper ermittelten Schadstoffrückstände erfolgte in Anlehnung an das an Miesmuscheln durchgeführte Schadstoffmonitoring (BLMP). Bei den biologischen Parametern handelte es sich um Biomarker, die im Rahmen der Pilotstudien in Küstengewässern verwendet wur-

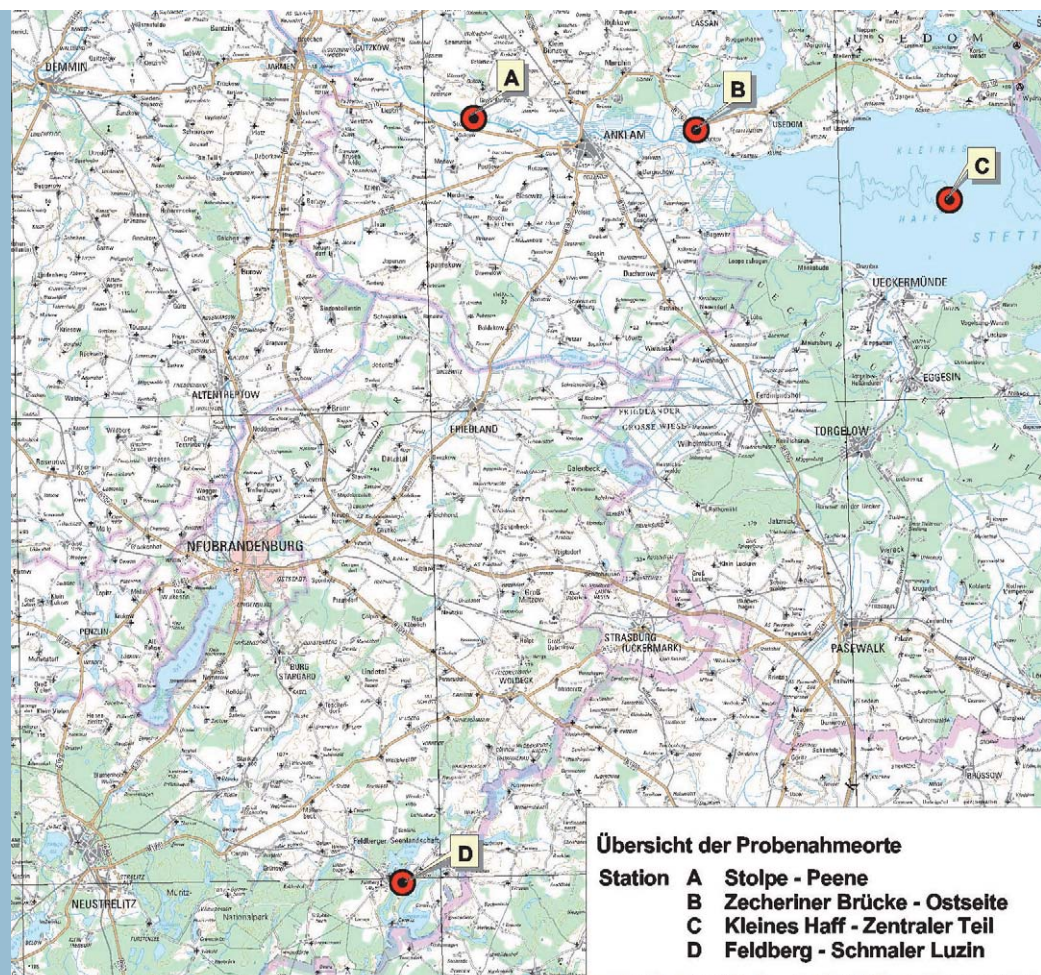
den. Es wurden Beprobungskampagnen in den Jahren 2000 und 2001 durchgeführt, die hinsichtlich der Probenahmestationen und des Umfangs der Untersuchungsparameter identisch waren.

IV.1.2 Probenahmestationen und Untersuchungsparameter

Das Monitoring der Dreikantmuscheln erfolgte jeweils im Oktober an vier Stationen im östlichen Teil des Landes. Mit einer Station im zentralen Bereich des Kleinen Haffs und einer weiteren bei der Zecheriner Brücke, lagen zwei Probenahmeorte im Gebiet des westlichen Oderästuars. Nicht weit davon entfernt befand sich die Station „Stolpe“ am Unterlauf der Peene. Die vierte Station im relativ weit entfernten Schmalen Luzin bei Feldberg wurde als „Referenzstation“ gewählt, da hier eine vergleichsweise geringe anthropogene Belastung vorausgesetzt wurde.

■ **Abb. 33:**

Beprobungsstellen des Schadstoff- und Effektmonitorings an der Dreikantmuschel



An Weichkörpersammelproben (jeweils 120 oder 200 Individuen) wurden die Konzentrationen folgender Schadstoffe chemisch analysiert:

- Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)
- Polychlorierte Biphenyle (PCB: Nr. 28, 52, 90+101, 110, 118, 153, 138+163+164, 180, 194)
- Organochlorpestizide (OCP: mit den Verbindungen: α -, β -, γ -, δ -HCH, HCB), DDT und Metabolite (o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD)
- Spurenmetalle Arsen, Blei, Cadmium, Chrom, Kupfer, Nickel, Quecksilber und Zink

Außerdem wurden folgende Biomarker untersucht:

- AChE-Aktivität im Weichkörper
- Lipidperoxidation im Weichkörper
- Lysosomenstabilität der Mitteldarmdrüse
- Histologie von Mitteldarmdrüse und Gonade

IV.1.3 Ergebnisse und Bewertung

Die Ergebnisse der biologischen Effektuntersuchungen sind in schematisierter Form in Tab. 21 dargestellt. Eine rötliche Färbung der Zellen repräsentiert eine „nachteilige“ Biomarker-Reaktion im Vergleich mit den anderen Probenahmestationen. Die grüne Färbung repräsentiert einen positiven Befund oder besagt, dass keine erheblichen Unterschiede zwischen den Stationen auftraten.

Anhand dieser Darstellung ist ersichtlich, dass die Dreikantmuscheln an der Station im Schmalen Luzin bei Feldberg insgesamt betrachtet am wenigsten „auffällig“ waren. An den anderen Stationen ergaben die Biomarker ein differenziertes Reaktionsmuster. So wurde bei den Tieren vom Unterlauf der Peene bei Stolpe bei beiden Kampagnen eine geringere Stabilität der Lysosomenmembran ermittelt. Die AChE-Aktivität

war hingegen insbesondere im Kleinen Haff und im Jahr 2001 auch bei der Zecheriner Brücke erniedrigt. Hinsichtlich des histologischen Zustandes der Mitteldarmdrüse traten keine deutlichen Unterschiede zwischen den Proben auf. Dagegen wurden an der Gonade, mit Ausnahme der Muscheln aus dem Schmalen Luzin, an allen anderen Stationen mehr oder weniger auffällige degenerative Veränderungen beobachtet. Die parallel zum Effektmonitoring durchgeführte Schadstoffanalytik ergab in Bezug auf die Gesamtheit aller untersuchten Schwermetalle ein relativ einheitliches Belastungsniveau an allen Probenahmestationen. Überraschenderweise wurden in Dreikantmuscheln aus dem Schmalen Luzin u.a. hohe Kupfer- und Cadmiumgehalte gemessen. Bei den PAKs fielen Muscheln aus dem Schmalen Luzin ebenfalls durch hohe Konzentrationen von PAK-Einzelverbindungen auf. Gleiches galt auch für DDT und einzelne seiner Metabolite.

Das Schadstoffmonitoring mit *Dreissena polymorpha* hat somit als ein wesentliches Resultat gezeigt, dass die ursprünglich als „Referenz“ ausgewählte Station im Schmalen Luzin bei Feldberg eine stärkere Schadstoffbelastung als angenommen aufwies.

Insgesamt gesehen hat sich die Dreikantmuschel als Bioindikator für ein integriertes Schadstoff- und Effektmonitoring bewährt. In Bezug auf die Schadstoffbelastung und die Biomarkerreaktionen wurde ein regional differenziertes Muster ermittelt. Bei einem zukünftigen Monitoring mit *Dreissena polymorpha* sollte das Spektrum der untersuchten Biomarker erweitert werden. Ein ökotoxikologisch relevanter Parameter ist das Vorkommen von gentoxischen Schäden. Wie Arbeiten des IfAÖ gezeigt haben, steht mit dem Comet-Assay eine Methode zur Verfügung, mit der Schäden an der DNA leicht erfasst werden können (Wirzinger et al., 2007; Zorn, 2002).

		„moderate“ Beeinträchtigung				deutlich negativer Biomarkerbefund			
Parameter	Matrix	Kleines Haff (zentral)		Zecheriner Brücke		Stolpe (Peene)		Schmaler Luzin (Feldberg)	
		2000	2001	2000	2001	2000	2001	2000	2001
Lysosomenstabilität	Mitteldarmdrüse	Yellow	Green	Green	Green	Orange	Yellow	Green	Green
Lipidperoxidation	Weichkörper	Green	Green	Yellow	Green	Yellow	Green	Yellow	Green
AChE-Aktivität	Weichkörper	Orange	Orange	Green	Orange	Green	Yellow	Green	Green
Mitteldarmdrüse (Histologie)	Mitteldarmdrüse	Green	Green	Green	Yellow	Green	Yellow	Green	Green
Gonade (Histologie)	Gonade	Yellow	Yellow	Yellow	Orange	Orange	Yellow	Green	Green

■ **Tab. 21:**
Schematisierte Darstellung der Befunde der Effektuntersuchungen an *D. polymorpha*

IV.2 UNTERSUCHUNG VON BIOINDIKATOREN AM ABLAUF DER KLÄRANLAGE SCHWERIN-SÜD UND IM KRAAKER MÜHLENBACH

IV.2.1 Veranlassung und Umfang der Untersuchungen

Die meisten der in der industriellen Produktion und im täglichen Leben genutzten Chemikalien gelangen früher oder später in das Abwasser und damit auch in die Kläranlagen. Dass sie dort nicht vollständig abgebaut werden, sondern oftmals relativ „unbeschadet“ in den Vorfluter gelangen, haben Untersuchungen zur Herkunft der zahlreich in Oberflächengewässern nachgewiesenen hormonell aktiven Substanzen gezeigt. In den letzten Jahren gerieten besonders die vorwiegend in Fließgewässern gemessenen unerwartet hohen Konzentrationen von Human- und Veterinärarzneimitteln sowie von Pflanzenschutzmitteln in den Blickpunkt des Interesses (Bachor et al., 2008).

Vor diesem Hintergrund wurde das IfAÖ durch das StAUN Schwerin mit der Durchführung von biologischen Effektuntersuchungen an Organismen aus dem Ableitergraben der Kläranlage Schwerin-Süd beauftragt. Als Referenz wurde

jeweils eine Station in der Sude (Vorfluter) und dem als weitgehend unbelastet geltenden Kraaker Mühlenbach gewählt. Als Resultat einer ersten Begutachtung der Probenahmeorte wurden der Dreistachlige Stichling (*Gasterosteus aculeatus*) und ein Flohkrebs (*Gammarus pulex*) als Bioindikatoren gewählt.

In einer weiteren vom StAUN Schwerin beauftragten Studie wurden Biomarker-Untersuchungen an Stichlingen und Flohkrebsen aus dem im Landkreis Ludwigslust gelegenen Kraaker Mühlenbach durchgeführt. Dieses kleine Fließgewässer besitzt in großen Abschnitten noch eine gute Wasserqualität und eine große Struktur- und Artenvielfalt. Derart naturnahe Gewässer sind auch in Mecklenburg-Vorpommern relativ selten anzutreffen, weshalb sie eines besonderen Schutzes bedürfen. Die Gewässerqualität des Kraaker Mühlenbaches ist jedoch nicht in seinem gesamten Verlauf zufriedenstellend. Im strukturarmen, begradigten Oberlauf ist die Gewässergüte schlechter und die

Belastung mit Nährstoffen größer als im naturnah geprägten Mittel- und Unterlauf. Außerdem befinden sich in diesem ohnehin abflussärmeren Bereich mehrere punktuelle Einleiter, zu denen auch die kommunale Kläranlage bei Rastow als größter Einleiter von geklärtem Abwasser zählt.

Die wesentlichen Ergebnisse der Untersuchungen am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd und am Kraaker Mühlenbach werden im Folgenden gemeinsam vorgestellt.

IV.2.2 Probenahmestationen und Untersuchungsparameter

Bei den Untersuchungen von Bioindikatoren am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd befanden sich zwei der Probenahmestationen im Ableitergraben der Klärwerksabwässer. Die Station „Neu Sülstorf“ war am nächsten beim Klärwerk gelegen, während die Station „Verteilerbauwerk“ das dort bereits stärker verdünnte Abwasser auf zwei Gräben verteilt, die nah beieinander in die Sude münden. Nicht weit unterhalb befand sich die Station „Sude“, die den Vorfluter repräsentierte. Sie wurde im Rahmen der zweiten Studie (1999/2000) erstmalig beprobt. In keiner direkten Verbindung zum Ableitergraben stand die Station „Kraaker Mühlenbach“. Dort wurden die Bioindikatoren bei der Ortschaft Moraas entnommen (Abb. 34). Während der ersten Untersuchung (1998) wurden die Stichlinge im August/ September beprobt. Bei der zweiten Studie erfolgte die Untersuchung von Stichlingen im September (1999) und März (2000). Flohkrebse wurden nur im September gesammelt.

Für die Effektuntersuchungen an Stichlingen und Flohkrebse aus dem Kraaker Mühlenbach wurden vier Probenahmestationen gewählt. Im Oberlauf wurden jeweils Beprobungen oberhalb und unterhalb der Kläranlage Rastow durchgeführt. Die anderen Stationen lagen bei Kraak im Mittellauf und bei Moraas im Unterlauf des Baches (Abb. 35). Die Beprobung der Flohkrebse wurde im Juli (2001) durchgeführt, während die Stichlinge im September (2001) und im Frühjahr (2002) gefangen wurden.

Biomarker, die bei den Effektuntersuchungen am Klärwerksablauf untersucht wurden: (sofern keine Jahreszahl angegeben ist, wurde der Parameter in beiden Jahren untersucht)

- *Flohkrebs*: AChE-Aktivität im Totalhomogenat (1999/2000)
- *Stichling*: AChE-Aktivität und Lipidperoxidation (1999/2000), Vitellogenin im Plasma, Histologie Leber und Milz (1998), Histologie Ovar und Hoden (1999/2000)

(Befunde zu Blutbild und Organindizes wurden in dieser Kurzdarstellung nicht berücksichtigt)

Biomarker, die bei den Effektuntersuchungen am Kraaker Mühlenbach untersucht wurden:

- *Flohkrebs*: AChE-Aktivität im Totalhomogenat
- *Stichling*: Gentoxizität, AChE-Aktivität; Lipidperoxidation, Histologie Leber und Milz, Histologie Ovar und Hoden

IV.2.3 Ergebnisse und Bewertung

Die Ergebnisse beider Effektstudien am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd und der Untersuchung am Kraaker Mühlenbach sind in schematisierter Form gemeinsam in Tab. 22 dargestellt. Hierzu ist anzumerken, dass die Farbgebung der Zellen immer nur relative Unterschiede zwischen den Biomarker-Befunden an miteinander verglichenen Stationen repräsentiert.

Befunde Ableitergraben Klärwerk Schwerin-Süd

Anhand der Farbgebung in Tabelle 21 ist sofort zu erkennen, dass die Stichlinge an der am stärksten mit Kläranlagenabwasser belasteten Station Neu Sülstorf hinsichtlich aller aufgeführten Endpunkte nachteilige Befunde aufwiesen. So war der durch Lipidperoxidation, Leberhistologie und Makrophagen-Aggregaten der Milz repräsentierte allgemeine Gesundheitsstatus dieser Tiere deutlich beeinträchtigt. Ein ähnlich schlechter Zustand wurde auch noch bei der einige Kilometer Fließstrecke entfernten Station Verteilerbauwerk gefunden, wenngleich das Ausmaß an Lipidperoxidation hier signifikant geringer und die Aktivität

der AChE etwas höher war. Im Gegensatz zu den Tieren im Ableitergraben lebenden Tieren wiesen die Stichlinge im Vorfluter (Sude) und dem Kraaker Mühlenbach einen deutlich besseren Gesundheitszustand auf.

An der Station Neu Sülstorf erwies sich auch die Reproduktion der Stichlinge als am stärksten beeinträchtigt. Bei 2 von 16 männlichen Tieren traten weibliche Eizellen im Hodengewebe auf (Intersex). Außerdem ließ sich bei mehreren Männchen das Dotter-Vorläuferprotein „Vitellogenin“ im Blut elektrophoretisch nachweisen. Beide Befunde sind ein Indiz für die Präsenz von hormonell aktiven Stoffen im Ableitergraben. Interessanterweise wurde auch bei einem Männchen aus dem Kraaker Mühlenbach Intersex und bei mehreren Individuen auch Vitellogenin ermittelt. Bei den weiblichen Stichlingen von der Station Neu Sülstorf wurden relativ häufig atretische Eizellen im Ovar gefunden. Dies traf in geringerem Umfang auch für die Weibchen vom Verteilerbauwerk zu. Die Stichlinge aus der Sude waren in Bezug auf die Gonadenentwicklung und Vitellogenin im Blut „unauffällig“.

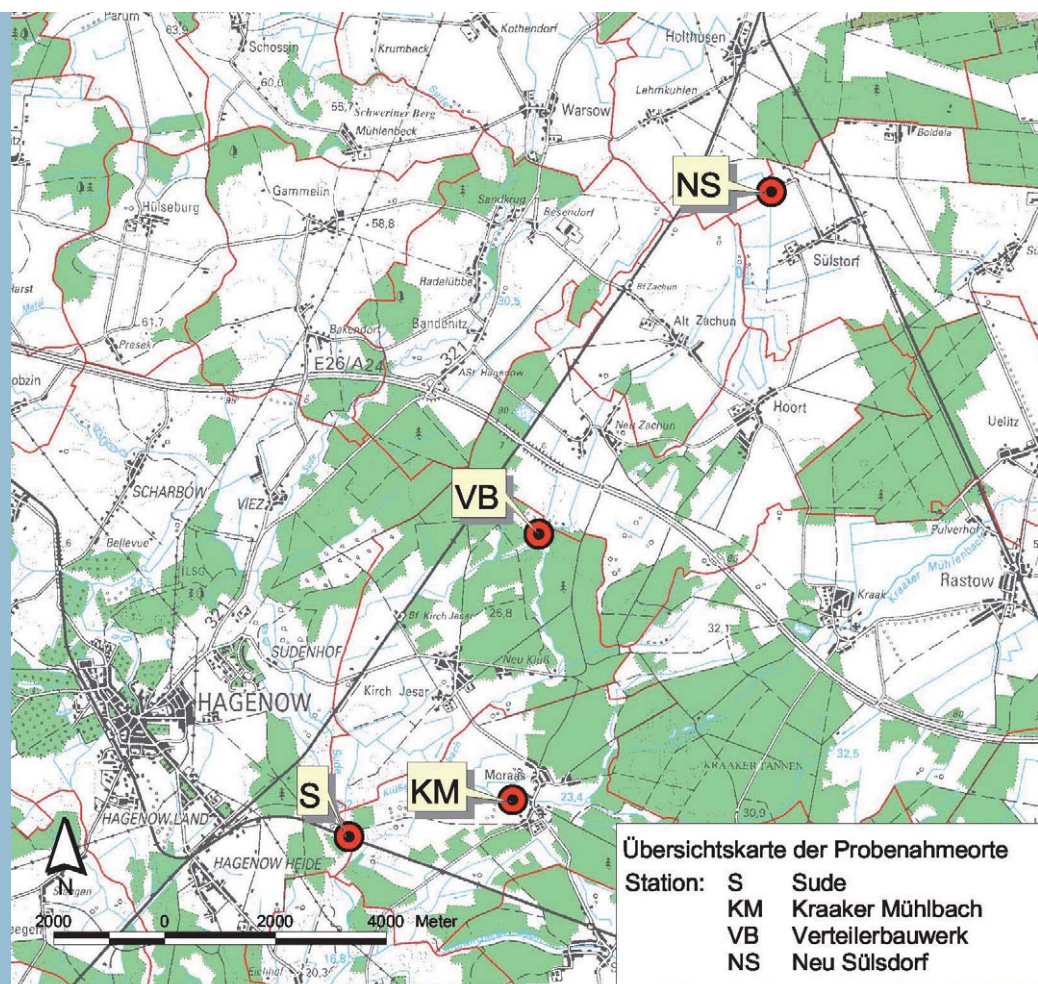
Insgesamt betrachtet wurde anhand der Biomarker-Befunde eine erhebliche Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes der im Ableitergraben lebenden Stichlinge nachgewiesen. Es ist offenkundig, dass dies auf die Belastung mit dem Abwasser der Kläranlage Schwerin-Süd zurückzuführen ist. Die Befunde der an Sammelproben von *Gammarus pulex* ermittelten AChE-Aktivität weisen auf eine Belastung des Abwassers mit neurotoxisch wirkenden Substanzen hin.

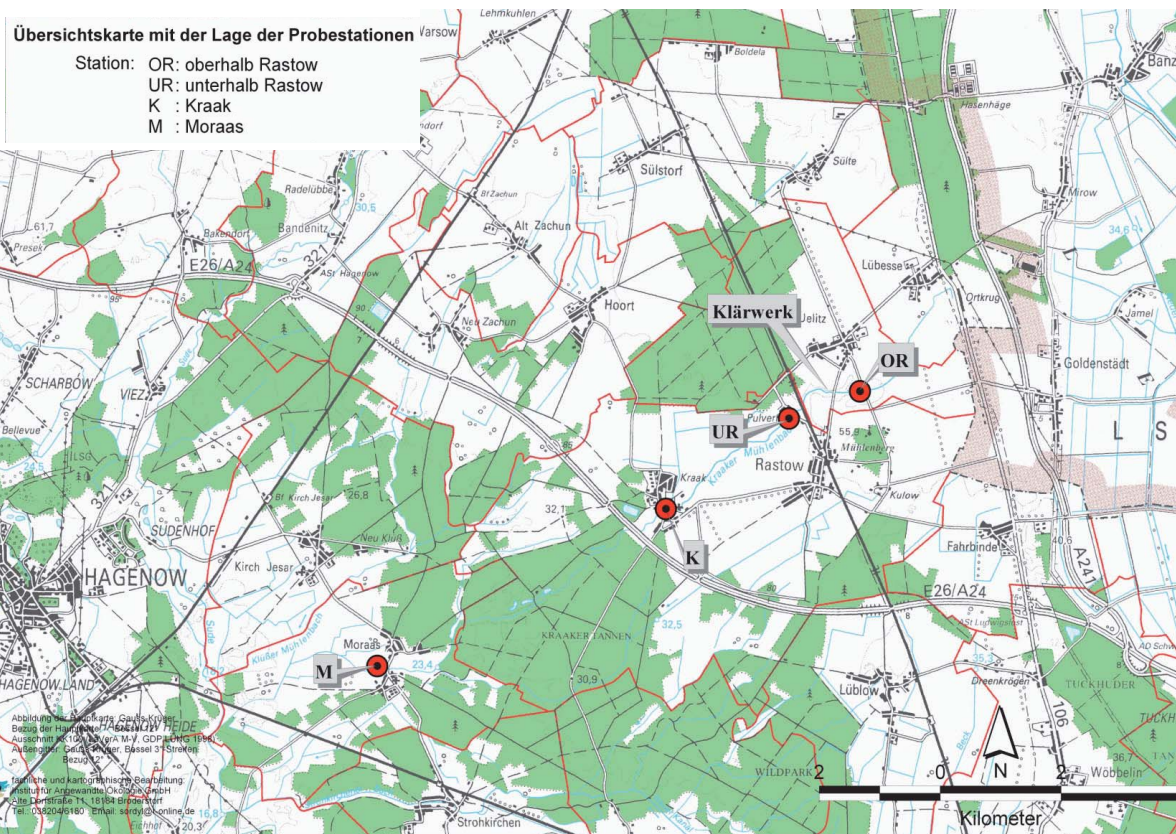
Befunde Kraaker Mühlenbach

Die Untersuchung von Stichlingen und Flohkrebse aus dem Kraaker Mühlenbach ergab ein differenzierteres Bild über das Auftreten von Stress Effekten an den Probenahmestationen. Insgesamt gesehen war der Gesundheitszustand der Stichlinge an allen Stationen nicht wesentlich beeinträchtigt. Effekte akuter (Abwasser) einflüsse traten nicht auf. Dies wurde durch den weitgehend histologisch unauffälligen Zustand der Leber dokumentiert. Im deutlich degradierten Oberlauf oberhalb Rastow wiesen die Stichlinge vermehrt nekrotische Herde in der Leber und Makrophagen-Aggregate in der Milz auf. Die Lipidperoxidationsrate war ebenfalls leicht erhöht.

■ **Abb. 34:**

Lage der Probenahmestationen am Ableitergraben der Kläranlage Schwerin-Süd (NS, VB), dem Kraaker Mühlenbach (KM) und der Sude (S).





■ **Abb. 34:**

Lage der Probenahme-
stationen am Ableiter-
graben der Kläranlage
Schwerin-Süd
(NS, VB), dem Kraaker
Mühlenbach (KM) und
der Sude (S).

Unterhalb des Klärwerks zeigten die Stichlinge keine auffallend nachteiligen Biomarker-Reaktionen. Vielmehr wurden einige Kilometer unterhalb, bei Kraak, häufiger nekrotische Leberveränderungen und Makrophagen-Aggregate sowie Degenerationen von Eizellen (Atresie) beobachtet. Atretische Oocyten traten seltener auch bei Tieren im Unterlauf bei Moraas auf. Die Hoden der Männchen wiesen an allen Stationen ein vergleichbares histologisches Bild auf. Interessanterweise wurde aber bei einem Tier von der Station Moraas Intersex gefunden. Nach der Beprobung im Jahr 1999 (s.o.) war dies bereits der zweite Nachweis an dieser Station.

Erstmalig wurde der Comet-Assay an roten Blutzellen des Stichlings durchgeführt. Er lieferte keinen Hinweis für das Vorkommen von erhöhten Konzentrationen genotoxisch wirkender Substanzen an einer der vier Stationen.

Die Untersuchung der AChE-Aktivität beim Flohkrebs *G. pulex* ergab eine signifikant erniedrigte Enzymaktivität unterhalb von Rastow und bei Kraak. Dieses Ergebnis war das einzige deutliche Indiz für einen negativen Effekt der Kläranlage Rastow auf einen der beiden Bioindikatoren. Zusammengefasst betrachtet spiegeln die Befunde der Biomarker-Studie die heutige Situation kleiner Fließgewässer gut wieder. So hat sich die Wasserqualität infolge des intensiven Ausbaus von Kläranlagen vielerorts spürbar gebessert und akute Abwassereinflüsse gehören weitgehend der Vergangenheit an. Dementsprechend hat sich die üblicherweise mit dem Saprobien-system beschriebene Gewässergüte auch verbessert. Anhand von Biomarkern lässt sich aber dennoch aufzeigen dass Organismen – auch bei einem vermeintlich guten Gewässerzustand – z.B. auf chronisch wirkende Stressfaktoren differenziert reagieren.

positiver Biomarkerbefund bzw. kein Unterschied zwischen den Stationen		„moderate“ Beeinträchtigung				deutlich negativer Biomarkerbefund			
Bioindikator/ Matrix	Parameter	Ableitergraben		Sude	Kraaker Mühlenb.	Kraaker Mühlenbach (2001/2002)			
		Neu Sülstorf	Verteilerbauwerk	Bahnbrücke Hagenow-LWL	Moraas	oberhalb Rastow	unterhalb Rastow	Kraak	Moraas
Stichling/ Blut	DNA-Brüche (Comet-Assay)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.				
Stichling/ Muskel	AChE-Aktivität	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.				
Flohkrebs/ Totalextrakt	AChE-Aktivität				n.d.				
Stichling/ Blutserum	Vitellogenin (Männchen)					n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Stichling/ Muskel	Lipidperoxidation								
Stichling/ Leber (Histol.)	Parenchym/ Vakuolisierung								
	nekrotische Degeneration								
Stichling/ Milz (Histol.)	Makrophagen-Aggregate								
Stichling/ Hoden	Intersex								
Stichling/ Ovar	Atresie								

■ Tab. 22:

Schematisierte Darstellung der Befunde von Effektuntersuchungen an Organismen aus dem Ableitergraben der Kläranlage Schwerin, der Sude und dem Kraaker-Mühlenbach

IV.3 UNTERSUCHUNG VON BIOINDIKATOREN AUS UECKER UND RANDOW

IV.3.1 Veranlassung und Umfang der Untersuchungen

Die Uecker und die Randow sind im östlichen Landesteil von Mecklenburg-Vorpommern gelegene Fließgewässer. Die Randow ist ein Nebenfluss der Uecker und mündet nördlich von Eggesin in diese. Im Unterlauf der Uecker ist das 1995 modernisierte größere Klärwerk bei Hoppenwalde eine Punktquelle der anthropogenen Gewässerbelastung. Im Einzugsgebiet der Randow befinden sich militärische Liegenschaften, die potenziell zur Gewässerbelastung beitragen können.

Vor dem Hintergrund der wachsenden Bedeutung biologischer Effektparameter im Rahmen ei-

ner integrierten Gewässeranalyse beauftragte das StAUN Ueckermünde das IfaÖ in den Jahren 1999 und 2000 mit der Durchführung zweier biologischer Effektstudien an Bioindikatoren aus Uecker und Randow.

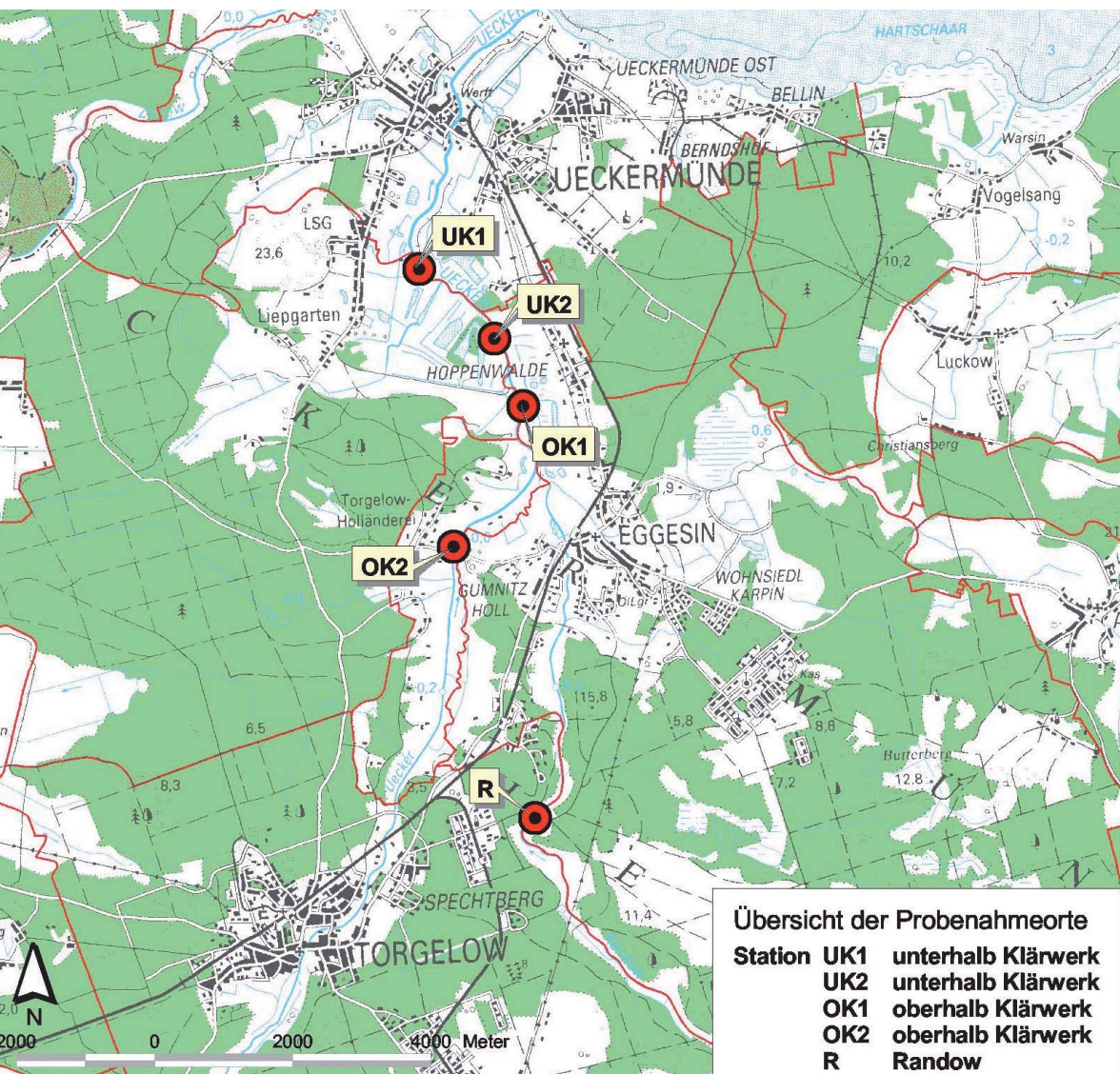
Der Untersuchungsumfang war relativ klein gehalten und umfasste lediglich die Beprobung von zwei Stationen an der Uecker und einer Station an der Randow, die als „Referenz“ fungieren sollte. Als Resultat einer ersten Inspektion der Gewässer wurden der Barsch (*Perca fluviatilis*) und ein Flohkrebs (*Gammarus roeselii*) als Bioindikatoren ausgewählt.

IV.3.2 Probenahmestationen und Untersuchungsparameter

In der Uecker wurden die Probenahmen oberhalb und unterhalb der Abwassereinleitung der Kläranlage Hoppenwalde durchgeführt. Das Sammeln der ortsgebundenen Flohkrebse erfolgte relativ nah oberhalb und unterhalb der Einleitungsstelle. Die weniger stationären Barsche wurden in größerer Entfernung beprobt. Vergleichsproben aus der Randow wurden auf dem Gelände der Schill-Kaserne bei Torgelow entnommen (Abb. 36). Die Beprobung der Flohkrebse wurde Anfang Oktober (1999) und Ende August (2000) durchgeführt, während die Barsche beide Male im November gefangen wurden.

Folgende Biomarker wurden untersucht: (sofern keine Jahreszahl angegeben ist, wurde der Parameter in beiden Jahren untersucht)

- *Flohkrebs*: AChE-Aktivität im Totalhomogenat
- *Barsch*: Blutbild (1999), AChE-Aktivität (2000), Lipidperoxidation, Histologie Leber und Milz (1999), Histologie Ovar (1999), Histologie Hoden



■ **Abb. 36:**

Lage der Probenahmestationen an Uecker und Randow. In der Uecker wurden Flohkrebse in der Nähe der Abwassereinleitung des Klärwerks Hoppenwalde beprobt (OK1, UK2). Die Barsche wurden in größerer Entfernung vom Einleiter gefangen (OK2, UK1).

positiver Biomarkerbefund bzw. kein Unterschied zwischen den Stationen		„moderate“ Beeinträchtigung		deutlich negativer Biomarkerbefund
Bioindikator/ Matrix	Parameter	Uecker		Randow
		oberhalb Klärwerk	Unterhalb Klärwerk	Torgelow (Schillkaserne)
Barsch/ Muskel/Leber	Lipidperoxidation	deutlich erhöht (1999 & 2000)	deutlich erhöht (1999 & 2000)	gering
Barsch/ Bblutausstrich	Erythrocyten	o.B.	o.B.	o.B.
	Leukozyten	sehr aktives weißes Blutbild	aktives weißes Blutbild	normales weißes Blutbild
Barsch/ Leber (Histologie)	nekrotische Degeneration	häufig	häufig	selten
	Makrophagen-Aggregate	moderat	selten	häufig
Barsch/ Milz (Histologie)	Makrophagen-Aggregate	selten	häufig	häufig
Barsch/ Milz (Histologie)	Intersex (1999)	o.B.	1 Ind. Intersex	1 Ind. Intersex
Barsch/ Hoden	Intersex (2000)	o.B.	o.B.	o.B.
Barsch/ Ovar	Atresie	o.B.	o.B.	o.B.
Flohkrebs/ Totalhomogenat	AChE-Aktivität	Aktivität gehemmt (1999 & 2000)	Aktivität gehemmt (1999 & 2000)	Aktivität hoch

■ **Tab. 23:**

Schematisierte Darstellung der Befunde von Effektuntersuchungen an Flohkrebs und Barsch aus Uecker und Randow

IV.3.3 Ergebnisse und Bewertung

Die Ergebnisse beider Studien sind in Tab. 23 in schematisierter Form dargestellt. Sie zeigt, dass Barsche in beiden Jahren in stärkerem Ausmaß oxidativem Stress (Lipidperoxidation) ausgesetzt waren, als Tiere aus der Randow. Der Status des weißen Blutbildes (Leukozyten) war bei Barschen aus der Uecker deutlich aktiviert und die Leber dieser Tiere wies häufiger nekrotische Degenerationen auf. Bei den Barschen der Randow-Station fielen hingegen die häufigen Makrophagen-Aggregate in Leber und Milz auf. Sie wurden ebenfalls bei Tieren unterhalb des Klärwerks vermehrt in der Milz beobachtet. Makrophagen-Aggregate sind ein Indikator für die Aktivierung des unspezifischen Abwehrsystems. Bei der Untersuchung der Ovarien weiblicher Barsche wurden an allen Stationen keine auffälligen Veränderungen bemerkt. Bei den Männchen wies 1999 jeweils ein

Individuum aus der Randow und von der Station unterhalb des Klärwerks eine leichte Ausprägung von Intersex auf. Ein Jahr später wurde kein Barsch mit Intersex gefunden.

Bezüglich der AChE-Aktivität beim Flohkrebs *G. roeselii* haben die Messungen in beiden Jahren eine deutlich niedrigere Aktivität bei Tieren an beiden Stationen der Uecker im Vergleich zu den Artgenossen in der Randow ergeben.

Eine Gesamtbewertung der am Barsch ermittelten Befunde führt zu der Schlussfolgerung, dass die Tiere aus der Uecker an beiden Probenahmestationen mehr Beeinträchtigungen ihres allgemeinen Gesundheitsstatus aufwiesen als ihre Artgenossen aus der Randow. Dies wurde durch die histologischen Leberveränderungen und den Nachweis von oxidativem Stress belegt. Vermut-

lich sind die Tiere in der Uecker einer chronischen Belastungssituation ausgesetzt. Deutliche Anzeichen für Effekte von Stressfaktoren auf die Gonadenentwicklung der Barsche wurden in beiden Gewässern nicht gefunden. Der Nachweis von Intersex bei jeweils einem männlichen Barsch aus Uecker und Randow, sollte aber Anlass sein, die potenziellen Wirkungen von hormonaktiven Stoffen in beiden Gewässern intensiver zu untersuchen. Die AChE-Befunde beim Flohkrebs sind ein Indiz für die Anwesenheit von neurotoxisch wirkenden Substanzen in der Uecker. Als Ursache hierfür können diffuse Einträge aus der Landwirtschaft und/oder punktuelle Quellen wie die Klärwerke bei Torgelow und Hoppenwalde vermutet werden.

Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass die in Binnengewässern von Mecklenburg-Vorpommern durchgeführten Biomarker-Studien in der Lage waren, zwischen unterschiedlich anthropogen belasteten Gewässern zu unterscheiden. An

Stationen mit starker Umweltbelastung, wie z.B. durch Kläranlagenabwässer, wurde eine deutliche Beeinträchtigung des Gesundheitszustandes von Indikatororganismen festgestellt. Auch in Fließgewässern wie dem Kraaker-Mühlenbach, dessen Qualität anhand „traditioneller“ chemisch/biologischer Parameter als „naturnah und gut“ eingestuft wird, lieferte der Biomarker-Ansatz ein differenziertes Bild der Gewässergüte, wie die Befunde zum Gesundheitstatus von Stichling und Flohkrebs zeigten.

Biologische Effektstudien in Binnengewässern besitzen im Allgemeinen den Vorteil, dass die Punktquellen einer Schadstoffbelastung bekannt sind, so dass potenzielle biologische Effekte gezielt im Umfeld von z.B. Kläranlagen erfasst werden können. Mit Dreikantmuschel, Flohkrebs, Stichling und Barsch stehen weit verbreitet vorkommende Bioindikatoren für biologische Effektuntersuchungen zur Verfügung.



V

Literaturverzeichnis

LITERATURVERZEICHNIS

- A** Adams, S.M. [Hrsg.] (2002). Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, 644 S.
- Adams, S.M. (2005) Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems. *Mar. Poll. Bull.* 51: 649-657
- Adema, C.M., Van der Knaap, W.P.W. & Sminia, T. (1991) Molluscan Hemocyte-Mediated Cytotoxicity - the Role of Reactive Oxygen Intermediates. *Rev. Aquatic Sciences* 4: 201-223
- Ådjers, K., Appelberg, M., Eschbaum, R., Lappalainen, A. & Lozys, L. (2001) Coastal fish monitoring in Baltic reference areas 2000. Kala- ja riistaraportteja 229: 1-14, Helsinki, Finnland. Agenda item 3 at the HELCOM MONAS meeting 22-F24 March 2004 in Tallinn, Estonia.
- Alderdice, D.F., Forrester, C.R. (1971). Effects of salinity, temperature, and dissolved oxygen on early development of the Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *J. Fish. Res. Board Canada* 28: 883-902.
- Allen, Y., Scott, A.P., Matthiessen, P., Haworth, S., Thain, J.E. & S. Feist (1999) Survey of estrogenic activity in United Kingdom estuarine and coastal waters and its effects on gonadal development of the flounder *Platichthys flesus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 18: 1791-1800
- Allen, Y., Balaam, J., Bamber, S., Bates, H., Best, G., Bignell, J., Brown, E., Craft, J., Davies, I.M., Depledge, M., Dyer, R., Feist, S., Hurst, M., Hutchinson, T., Jones, G., Jones, M., Katsiadaki, I., Kirby, M., Leah, R., Matthiessen, P., Megginson, C., Moffat, C.F., Moore, A., Pirie, D., Robertson, F., Robinson, C.D., Scott, A.P., Simpson, M., Smith, A., Stagg, R.M., Struthers, S., Thain, J., Thomas, K., Tolhurst, L., Waldock, M. & Walker, P. (2002). Endocrine disruption in the marine environment (EDMAR). Report by the EDMAR Secretariat, UK Department of Environment, Food and Rural Affairs, London, 67 S.
- Ahmad, S. (1995) Antioxidant mechanisms of enzymes and proteins. In: Ahmad, S. (Hrsg.): Oxidative stress and antioxidant defences in biology. Chapman & Hall, S. 238-272
- Anders, K. & Landwüst, C. von (1996) Fischkrankheiten in der Nordsee. Texte: 57/96, Umweltbundesamt Berlin, 557 S.
- Apitz, S.E., Elliot, M., Foutain, M. & Galloway, T.S. (2006) European environmental management: moving to an ecosystem approach. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 2 (1): 80-85
- Arcand-Hoy, L.D. & Benson, W.H. (1998) Fish reproduction: an ecologically relevant indicator of endocrine disruption. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 49-57
- ARGE Elbe (1993) Schadstoffüberwachung der Elbe bei Schnackenburg mit der Dreikantmuschel. Aktives Biomonitoring 1990-1991. Wassergüte-stelle Elbe, Hamburg, 78 S.
- B** Bachor, A. (2005) Nährstoff- und Schwermetallbilanzen der Küstengewässer Mecklenburg-Vorpommerns unter besonderer Berücksichtigung ihrer Sedimente. Schriftenreihe des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern, Heft 2, 219 S. und Anlagen auf CD-Rom
- Bachor, A., Lemke, G. & A. Schumann (2008) Pflanzenschutz- und Arzneimittelbefunde in Oberflächengewässern und im Grundwasser Mecklenburg-Vorpommerns im Frühjahr 2008, Bericht des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie Mecklenburg-Vorpommern, 48 S.
- Bauer, B., Fioroni, P., Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J. & Kalbfus, W. (1997) The use of *Littorina littorea* for tributyltin (TBT) effect monitoring - results from the German TBT survey 1994/1995 and laboratory experiments. *Environ. Poll.* 96: 299-309

- Bayne, B.L., Livingstone, D.R., Moore, M.N. & Widdows, J. (1976) A cytochemical and a biochemical index of stress in *Mytilus edulis* L. Mar. Poll. Bull. 7: 221-224
- Bayne, B.L., Holland, D.L., Moore, M.N., Lowe, D.M. & Widdows, J. (1978) Further studies on the effects of stress in the adult on the eggs of *Mytilus edulis*. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 58, 825-841
- Bayne, B.L., Widdows, J., Moore, M.N., Salkeld, P., Worrall, C.M. & Donkin, P. (1982) Some ecological consequences of the physiological and biochemical effects of petroleum compounds on marine molluscs. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, S. 219-239
- Beck, I.-C., Bruhn, R. & Gandrass, J. (2006a) Bioassay-directed fractionation for analyzing estrogens in surface waters of the German Baltic Sea. Acta hydrochim. hydrobiol. 34: 560-567
- Beck, I.-C., Bruhn, R. & Gandrass, J. (2006b) Analysis of estrogenic activity in coastal surface waters of the Baltic Sea using the yeast estrogen screen. Chemosphere 63: 1870-1878
- BEQUALM (2000) Fish Reproductive Success – embryo development and survival in viviparous blenny *Zoarces viviparus*. Biological Effects Quality Assurance in Monitoring Programmes (BEQUALM). BEQUALM Newsletter 2000
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P. & Wahli, T. (1999) Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. J. Fish Dis. 22: 25-34
- Bettin, C., Oehlmann, J. & Stroben, E. (1996) TBT-induced imposex in marine neo-gastropods is mediated by an increasing androgen level. Helgoländer Meeresunters. 50: 299-317
- BFG (2000) Bundesanstalt für Gewässerkunde, Koblenz. Daten von Schadstoffuntersuchungen an der Miesmuschel. Mit freundlicher Genehmigung durch K. Grünwald.
- Binelli, A., Ricciardi, F., Riva, C. & Provini, A. (2006) Integrated use of biomarkers and bioaccumulation data in Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) for site-specific quality assessment. Biomarkers 11(5): 428-448
- Black, D.E., Gutjahr-Gobell, R., Pruell, R.J., Bergen, B., Mills, L., McElroy, A.E. (1998) Reproduction and polychlorinated biphenyls in *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus) from New Bedford Harbor, Massachusetts, USA. Environ. Toxicol. Chem. 17: 1405-1414
- Blazer, V.S. (2002) Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. Fish Physiol. Biochem. 26: 85-101
- BLMP (2005) Meeresumwelt 1999 - 2002. Hrsg. Bundesamt für Seeschifffahrt und Hydrographie (BSH), Hamburg und Rostock
- Bocquene, G., Bellanger, C., Cadiou, Y. & Galgani, F. (1995) Joint action of combinations of pollutants on the acetylcholinesterase activity of several marine species. Ecotoxicology 4: 266-279
- Bocquene, G. & Galgani, F. (1998) Biological effects of contaminants: Cholin-esterase inhibition by organophosphate and carbamate compounds. ICES Techniques in Mar. Environ. Sciences Nr. 22
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 77: 248-254
- Brockmann, C., Lange, U. & Murphy, D. (2007) Konzept für ein harmonisiertes Überwachungsprogramm für die deutsche Küsten- und Meeresgewässer (BLMP+), Endbericht Vers1.0, 18.01.2007, Brockmann Consult, 94 S.
- Buege, J.A. & Aust, S.D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 52: 302-310
- Burkhardt-Holm, P. (2001) Der Fisch - wie lässt er sich als Indikator für die Qualität seiner Umwelt einsetzen? GAIA: 10: 6-15

- C** Cajaraville, M.P., Abascal, I., Etxebarria, M. & Marigomez, I. (1995) Lysosomes as cellular markers of environmental Pollution: Time- and dose- dependent responses of the digestive lysosomal system of mussels after petroleum hydrocarbon exposure, *Environ. Toxicol. Water Qual.* 10: 1- 8
- Cameron, P., Berg, J. & von Westernhagen, H. (1996) Biological effects monitoring of the North Sea employing fish embryological data. *Environ. Monit. Assess.* 40: 107-124
- Cavaletto, M., Ghezzi, A., Burlando, B., Evangelisti, V., Ceratto, N. & Viarengo, A. (2002) Effect of hydrogen peroxide on antioxidant enzymes and metallothionein level in the digestive gland of *Mytilus galloprovincialis*. *Comp. Biochem. Physiol. C (Toxicol. & Pharmacol.)* 131: 447-455
- D** Depledge, M.H., Aagaard, A. & Györkös, P. (1995) Assessment of trace metal toxicity using molecular, physiological and behavioural biomarkers. *Mar. Poll. Bull.* 31: 19-27
- Dethloff, G.M. & Schmitt, C.J. (2000) Condition factor and organo-somatic indices. In: Schmitt, C.J. & Dethloff, G.M. (Hrsg.): *Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) programm: Selected Methods for Monitoring Chemical Contaminants and their Effects in Aquatic Ecosystems US Geological Survey Information and Technology Report USGS/BRD 2000-2005, Columbia, MO, S. 13-18*
- Domouhtsidou, G.P., Dailianis, S., Kaloyianni, M. & Dimitriadis, V.K. (2004) Lysosomal membrane stability and metallothionein content in *Mytilus galloprovincialis* (L.), as biomarkers - Combination with trace metal concentrations. *Mar. Poll. Bull.* 48: 572-586
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babut, M. & Vasseur, P. (1997) Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquat. Toxicol.* 39: 93-110
- E** Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, M. (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7: 88-95
- EU (2003) Common implementation strategy for the water framework directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 7, Monitoring under the Water Framework Directive, Europäische Kommission, Luxemburg
- F** Feist, S.W., Bateman, K.B., Bignell, J., Longshaw, M., Lyons, B. & Steniford, G.D. (2005) Biological effects of contaminants on estuarine organisms. Final report for Defra, Marine and Waterways Division, (CDEP 84/5/31 ME3016). 141 S.
- Felton, G.W. (1995) Antioxidant defenses of vertebrates and invertebrates. In: Ahmad, S. (Hrsg.) *Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology*. Chapman & Hall, S. 356-434
- Fent, K. (1996) Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* 26: 1-117
- Fent, K. (1998): *Ökotoxikologie*. - Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 288 S.
- Frasco, M.F., Fournier, D., Carvalho, F. & Guilhermino, L. (2005) Do metals inhibit acetylcholinesterase (AChE)? Implementation of assay conditions for the use of AChE activity as a biomarker of metal toxicity. *Biomarkers* 10(5): 360-375
- Frenzilli, G., Scarcelli, V., Del Barga, I., Nigro, M., Förlin, L., Bolognesi, C. & Sturve, J. (2004) DNA damage in eelpout (*Zoarces viviparus*) from Göteborg harbour. *Mutat. Res.* 552: 187-195
- Fulton, M.H. & Key, P.B. (2001) Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 37-45

- G** Galgani, F. & Bocquene, G. (1991) Semi-automated colorimetric and enzymatic assays for aquatic organisms using microplate readers. *Water Research* 25: 147-150
- Galloway, T.S., Millward, N., Browne, M.A. & Depledge, M.H. (2002) Rapid assessment of organophosphorous/carbamate exposure in the bivalve mollusc *Mytilus edulis* using combined esterase activities as biomarkers. *Aquat. Toxicol.* 61: 169-180
- Gercken, J. (1996) Muscheln als Indikatoren der marinen Schadstoffbelastung. Literaturstudie im Auftrag des Landesamtes für Umwelt und Natur, Stralsund, 81 S.
- Gercken, J. (1999) Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg - Vorpommern. Pilotstudie 1998. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 50 S.
- Gercken, J. (2000a) Untersuchung von Indikatororganismen am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd. Beprobung 1999/2000. Bericht im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Schwerin, 47 S.
- Gercken, J. (2000b) Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Pilotstudie 1999. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 54 S.
- Gercken, J. (2000c) Schadstoffuntersuchungen an Miesmuscheln in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Untersuchungsbericht 1999. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 51 S.
- Gercken, J. (2001) Schadstoffuntersuchungen an Miesmuscheln in den Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Untersuchungsbericht 2000. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 38 S.
- Gercken, J. (2002) Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Untersuchungsbericht 2001/2002. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 43 S.
- Gercken, J. (2003a) Untersuchung von Indikatororganismen im Kraaker Mühlenbach - Beprobung 2001/2002. Bericht im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Schwerin, 52 S.
- Gercken, J. (2003b) Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Untersuchungsbericht 2002/2003. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 35 S.
- Gercken, J. (2007) Biologische Untersuchungen im Greifswalder Bodden am Ablauf der Kläranlage Greifswald. Im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Ueckermünde, 53 S.
- Gercken, J. & Sordyl, H. (1998) Untersuchung von Indikatororganismen am Ablauf der Kläranlage Schwerin-Süd. Bericht im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Schwerin, 56 S.
- Gercken, J. & Sordyl, H. (1999) Untersuchungen zur Saisonalität von Schadstoffkonzentrationen und -effekten in Miesmuscheln. Untersuchung im Auftrag der Bundesanstalt für Gewässerkunde, Außenstelle Berlin, 84 S.
- Gercken, J. & Sordyl, H. (2000) Pilotstudie zur Beschreibung des Gewässerzustandes der Uecker. Biologische Untersuchungen am Barsch und Flohkrebs. Im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Ueckermünde, 48 S.
- Gercken, J. & Sordyl, H. (2001a) Bewertung des Gewässerzustandes von Uecker und Randow. Biologische Untersuchungen am Barsch und Flohkrebs. Beprobung 2000. Im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Ueckermünde, 36 S.
- Gercken, J. & Sordyl, H. (2001b) Biologisches Effektmonitoring in Küstengewässern von Mecklenburg-Vorpommern. Pilotstudie 2000. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 62 S.
- Gercken J. & Sordyl H. (2002a) Intersex in feral marine and freshwater fish from northeastern Germany. *Mar. Environ. Res.* 54: 651-655

- Gercken, J., Sordyl, H. (2002b). Evidence for effects of environmental hormones on organisms in the Baltic Sea. In: Richter and Olazabal (eds.) Proceedings Second Statusseminar Endocrine Disrupters, Berlin, April 2001, GSF München, S. 71-73.
- Gercken, J. & Sordyl, H. (2002c) Chemische und biologische Untersuchungen an schutzmittelimprägnierten Holzbuhnen. Versuchsbuhnenfeld Graal-Müritz – Beprobung 2001. Im Auftrag des Staatlichen Amtes für Umwelt und Natur Rostock Abteilung Küste, 29 S.
- Gercken, J. & Sordyl, H. (2003): Untersuchungen zur Saisonalität von Schadstoffkonzentrationen und -effekten in Miesmuscheln - Biologische Untersuchungen - Beprobung 2001/2002. - Im Auftrag der Bundesanstalt für Gewässerkunde Koblenz, 68 S.
- Gercken, J., Förlin, L. & Andersson, J. (2006). Developmental disorders in larvae of eelpout (*Zoarces viviparus*) from German and Swedish Baltic coastal waters. Mar. Poll. Bull. 53: 497-507
- Gerrits, P.O. (1992) Verfahren zur Färbung von Gewebe, das in 2-Hydroxyethyl Methacrylat eingebettet wird. Heraeus Kulzer GmbH, Wehrheim/Ts.
- Goldberg, E.D., Bowen, V.T., Farrington, J.W., Harvey, G., Martin, J.H., Parker, P., Risebrough, R.W., Robertson, W., Schneider, E. & Gamble, E. (1978) The Mussel Watch. Environ. Conserv. 5: 101-125
- Götting, K.J. (1976) Fortpflanzung und Oocyten-Entwicklung bei der Aalmutter (*Zoarces viviparus*). Helgoländer wiss. Meeresuntersuch. 28: 71-89
- Gosling, E. [Hrsg.] (1992) The mussel *Mytilus*: ecology, physiology, genetics and culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science 25, Elsevier, 589 S.
- Greeley, M.S.Jr. (2002) Reproductive indicators of environmental stress in fish. - In: Adams, S.M. (Hrsg.), Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, S. 321-377
- Gross, M.Y., Maycock, D.S., Thorndyke, M.C., Morrit, D. & Crane, M. (2001) Abnormalities in sexual development of the amphipod *Gammarus pulex* (L.) found below sewage treatment works. Environ. Toxicol. Chem. 20: 1792-1797
- H** Hagger, J., Gross, M.Y., Maycock, D.S., Thorndyke, M.C., Morrit, D. & Crane, M. (2001) Abnormalities in sexual development of the amphipod *Gammarus pulex* (L.) found below sewage treatment works. Environ. Toxicol. Chem. 20: 1792-1797
- Hagger, J.A., Jones, M.B., Leonard, D.R.P., Owen, R. & Galloway, T.S. (2006) Biomarkers and integrated environmental risk assessment: are there more questions than answers? Integrated Environ. Assess. Manag. 2: 312-329
- Handy, R.D., Galloway, T.S. & Depledge, M.H. (2003) A proposal for the use of biomarkers for the assessment of chronic pollution and in regulatory toxicology. Ecotoxicol., 12, 331-343
- Hahlbeck, E., Griffiths, R. & Bengtsson, B.-E. (2004a) The juvenile three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a model organism for endocrine disruption, I. Sexual differentiation. Aquatic Toxicology, 70: 287-310
- Hahlbeck, E., Katsiadaki, I., Mayer, I., Adolfsson-Erici, M., James, J. & Bengtsson, B.-E. (2004b) The juvenile three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a model organism for endocrine disruption II – kidney hypertrophy, vitellogenin and spiggin induction. Aquatic Toxicology, 70: 311-326
- Hamer, D.H. (1986) Metallothionein. Ann. Rev. Biochem. 55: 913-951
- Handy, R.D., Runnalls, T. & Russell, T.M. (2002) Histopathologic biomarkers in three spined sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*, from several rivers in Southern England that meet the freshwater fisheries directive. Ecotoxicology, 11: 467-479
- Harrison, F.L. & Berger, R. (1982) Effects of copper on the latency of lysosomal hexosaminidase in the digestive cells of *Mytilus-edulis*. Mar. Biol. 68: 109-116

HELCOM (2003) Manual for Marine Monitoring in the COMBINE Programme of HELCOM. <http://sea.helcom.fi/Monas/CombineManual2/Combine-Home.htm>

Hildebrandt, D. (2005) Organische Schadstoffbelastung in den Sedimenten der Küstengewässer Mecklenburg-Vorpommerns: Untersuchungen zur ökologischen Risikobewertung. Dissertation an der Universität Greifswald, 169 S.

I ICES (2004a) Recommended techniques for biological monitoring programmes at the national or international level - methods for fish. Report of the Working Group on Biological Effects of Contaminants. WGBEC meeting 22 - 26 March 2004 Ostend, Belgium

ICES (2004b) Biological effects of contaminants: Measurement of lysosomal membrane stability. By Moore, M.N., Lowe, D. & Köhler, A. . ICES Techniques in Mar. Environ. Sciences, No. 36, 31 S.

ICES (2004c) Biological effects of contaminants: Use of liver pathology of the European flatfish dab (*Limanda limanda* L.) and flounder (*Platichthys flesus* L.) for monitoring. By Feist, S.W., Lang, T., Stentiford, G.D. & Köhler, A. . ICES Techniques in Mar. Environ. Sciences, No.38: 42 pp.

ICES (2004d) Biological effects of contaminants: Use of intersex in the periwinkle (*Littorina littorea*) as a biomarker of tributyltin pollution. By Oehlmann, J. . ICES Techniques in Mar. Environ. Sciences, No. 37, 22 S.

ICES (2006) Report of the Second ICES/OSPAR Workshop on Integrated Monitoring of Contaminants and their Effects in Coastal and Open-sea Areas (WKIMON II), 17-19 January 2006, ICES Headquarters. ICES CM 2006/ACME:02., 157 S.

J Jacobsson, A.E. & Neuman, E. (1991) Fish recruitment around a petrochemical centre in the North Sea. Mar. Pollut. Bull. 22: 269-272

Janz, D.M., McMaster, M.E., Munkittrick, K.R. & Van der Kraak, G. (1997) Elevated Ovarian Follicular Apoptosis and Heat Shock Protein-70 Expression in White Sucker Exposed to Bleached Kraft Pulp Mill Effluent. Toxicol. and applied pharmacology 147: 391-398

Janz, D.M., McMaster, M.E., Weber, L.P., Munkittrick, K.R. & Van der Kraak, G. (2001) Recovery of ovary size, follicle cell apoptosis, and HSP70 expression in fish exposed to bleached pulp mill effluent. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58: 620-625

Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C.R., Brighty, G. & Sumpter, J.P. (1998) Widespread sexual disruption in wild fish. Environ. Sci. Technol. 32: 2498-2506

Jobling, S. & Tyler, C.R. (2003) Endocrine disruption in wild freshwater fish. Pure Appl. Chem. 75: 2219-2234
Josephy, P.D., Mannervik, B. & de Montellano, P.O. (1997) Molecular Toxicology, Oxford University Press, 365 S.

K Katsiadaki, I., Scott, A.P. & Mayer, I. (2002a). The potential of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) as a combined biomarker for oestrogens and androgens in European waters. Mar. Environ. Res. 54: 725-728

Katsiadaki, I., Scott, A.P., Hurst, M.R., Matthiessen, P. & Mayer, I. (2002b) Detection of environmental androgens: a novel method based on enzyme-linked immunosorbent assay of spiggin, the stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) glue protein. Environ. Toxicol. Chem. 21: 1946-1954

Katsiadaki, I., Morris, S., Squires, C., Hurst, M.R., James, J.D. & Scott, A.P. (2006) Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive in vivo test for detection of environmental antiandrogens. Environ. Health Perspect. 114 (Supplement 1): 115-121

Khan, R.A., Barker, D.E., Hooper, R., Lee, E.M., Ryan, K. & Nag, K. (1994) Histopathology in Winter Flounder (*Pleuronectes americanus*) Living Adjacent to a Pulp and Paper Mill, Environ. Contam. Toxicol. 26: 95-102

- Kelly, S.A. & Di Giulio, R.T. (2000) Developmental toxicity of estrogenic alkylphenols in killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 2564-2570
- Kelly, S.A., Havrilla, C.M., Brady, T.C., Abramo, K.H. & Levin, E.D. (1998) Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. *Environ. Health Perspectives.* 106: 375-384
- Kime, D.E. (1995) The effects of pollution on reproduction in fish. *Rev. Fish Biol. Fisheries* 5: 52-96
- Klingmüller, D. & Watermann, B. (2003) TBT - Zinnorganische Verbindungen - Eine wissenschaftliche Bestandsaufnahme. Texte: 16/03, Umweltbundesamt Berlin, 132 S.
- Klumpp, D.W., Humphrey, C., Hong, H., Tao, F. (2002). Toxic contaminants and their biological effects in coastal waters of Xiamen, China. II. Biomarker and embryo malformation rates as indicators of pollution stress in fish. *Mar. Biol. Bull.* 44: 761-769
- Köhler, A. (1990) Identification of contaminant-induced cellular and subcellular lesions in the liver of flounder (*Platichthys flesus* L.) caught at differently polluted estuaries. *Aquat. Toxicol.* 16: 271-294
- Köhler, A., Deisemann, H. & Lauritzen, B. (1992) Histological and cytochemical indices of toxic injury in the liver of dab *Limanda limanda* L. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 92: 141-153
- Kopecka, J., Lehtonen K.K., Baršienė J., Broeg K., Vuorinen P.J., Gercken, J. & Pempkowiak, J. (2006). Measurements of biomarker levels in flounder (*Platichthys flesus*) and blue mussel (*Mytilus trossulus*) from the Gulf of Gdańsk (southern Baltic). *Mar. Poll. Bull.* 53 (8-9): 406-421
- Korsgaard, B. (1986) Trophic adaptations during early intraovarian development of embryos of *Zoarcetes viviparus* (L.). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 98: 141-152
- Korsgaard, B. & Andersen, F.Ø. (1985) Embryonic nutrition, growth and energetics in *Zoarcetes viviparus* L. as indication of a maternal-fetal trophic relationship. *J. Comp. Physiol. B* 155: 437-444
- Kraak, M.H.S., Scholten, M.T.C., Peeters, W.H.M. & de Kock, W.C. (1991) Biomonitoring of heavy metals in the western European rivers Rhine and Meuse using the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. *Environ. Pollut.* 74:101-114
- Krieg, H.-J. & Gaumert, Th. (1998) Schadstoffüberwachung der Elbe mit der Dreikantmuschel – Ein Klassifizierungssystem. 1990-1997. Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe, 44 S.
- Krishnakumar, P.K., Casillas, E. & Varanasi, U. (1994) Effect of Environmental Contaminants on the Health of *Mytilus-Edulis* from Puget-Sound, Washington, Usa .1. Cytochemical Measures of Lysosomal Responses in the Digestive Cells Using Automatic Image-Analysis. - *Marine Ecology-Progress Series* 106, S. 249-261
- Ladewig, V., Jungmann, D. Köhler, H.-R., Schirling, M., Triebkorn, R. & Nagel, R. (2006) Population structure and dynamics of *Gammarus fossarum* (Amphipoda): upstream and downstream from effluents of sewage treatment plants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50: 370-383
- Lafontaine, Y.de, Gagne, F., Blaise, C., Costan, G., Gagnon, P. & Chan, H.M. (2000) Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada). *Aquat. Toxicol.* 50: 51-71
- Lam, P.K.S. & Wu R.S.S. (2003) Use of biomarkers in environmental monitoring. Review presented at STAP Workshop on: The use of bioindicators, biomarkers and analytical methods for the analysis of POPs in developing countries. STAP/GEF and Ministry of Environment, Government of Japan, 78 S.

- LANU (2001) Organozinnverbindungen in Hafensedimenten und biologische Effekte. Untersuchungen in Sedimenten und an der Strandschnecke (*Littorina littorea* L.) in schleswig-holsteinischen Küstengewässern. Landesamt für Natur und Umwelt des Landes Schleswig-Holstein, 55 S.
- Larsson, D.G.J., Hällman, H. & L. Förlin (2000) More male fish embryos near a pulp mill. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 2911-2917
- Larsson, D.G.J. & Förlin, L. (2002) Male-biased sex ratios of fish embryos near a pulp mill: temporary recovery after a short-term shutdown. *Environ. Health Perspect* 110: 739-742
- LeBlanc, G.A. (2007) Crustacean endocrine toxicology: a review. *Ecotoxicology* 16: 61-81
- Lehtonen, K.K., Schiedek, D., Köhler, A., Lang, T., Vuorinen, P.J., Förlin, L., Baršienė, J., Pempkowiak, J. & Gercken, J. (2006) The BEEP project in the Baltic Sea: Overview of results and outline for a regional biological effects monitoring strategy. *Mar. Poll. Bull.* 53: 523-537
- Leiniö, S. & Lehtonen, K.K. (2005) Seasonal variability in biomarkers in the bivalves *Mytilus edulis* and *Macoma balthica* from the northern Baltic Sea. *Comp. Biochem. Physiol., Part C* 140: 408-421
- Leipe, T., Kersten, M., Heise, S., Pohl, C., Witt, G., Liehr, G., Zettler, M. & Tauber, F. (2005) Ecotoxicity assessment of natural attenuation effects at a historical dumping site in the western Baltic Sea. *Mar. Poll. Bull.* 50: 446-459
- Lin, S. & Steichen Jr., D.J. (1994) A method for determining the stability of lysosomal membranes in the digestive cells of *Mytilus edulis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 115: 237-241
- Livingstone, D.R. (1993) Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 57: 195-211
- Lowe, D.M. & Pipe, R.K. (1994) Contaminant induced lysosomal membrane damage in marine mussel digestive cells: an *in vitro* study. *Aquat. Toxicol.* 30: 357-365
- Lowe, D.M., Fossato, V.U. & Depledge, M.H. (1995a) Contaminant-induced lysosomal membrane damage in blood cells of mussels *Mytilus galloprovincialis* from Venice Lagoon: an *in vitro* study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 129: 189-196
- Lowe, D.M., Soverchia, C. & Moore, M.N. (1995b) Lysosomal membrane responses in the blood and digestive cells of mussels experimentally exposed to fluoranthene. *Aquat. Toxicol.* 33: 105-112
- Lünneman, B. (2004) Bestimmung von estrogen wirksamen Schadstoffen in der Gallenflüssigkeit der Fischart Aalmutter. Diplomarbeit an der Universität Lüneburg, 162 S.
- LUNG (1995-2002) - Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie MV: Daten des Sedimentmonitorings. Mit freundlicher Genehmigung durch Dr. A. Bachor
- LUNG (2001) - Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie MV: Gewässergütebericht 1998/1999, Güstrow; 106 S. und Anlagen auf CD-Rom
- LUNG (2004) - Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie MV: Gewässergütebericht 2000/2001/2002, Güstrow; 159 S. und Anlagen auf CD-Rom
- LUNG (2008) - Landesamt für Umwelt, Naturschutz und Geologie MV: Gewässergütebericht 2003/2004/2005/2006, Güstrow; 204 S. und Anlagen auf CD-Rom
- M** Matthiessen, P. & Gibbs, P.E. (1998) Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environ. Toxicol. Chem.* 17: 37-43
- Mattson, K., Tana, J., Engström, C., Hemming, J. & Lehtinen, K.-J. (2001). Effects of wood-related sterols on the offspring of the viviparous blenny *Zoarces viviparus* L.. *Ecotox. Environ. Safety* 49: 122-130

Mersch, J., Jeanjean, A., Spor, H. & Pihan, J.C. (1992) The freshwater mussel *Dreissena polymorpha* as a bioindicator for trace metals, organochlorines and radionuclides. In: Limnologie aktuell, Band 4: The Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. Herausgeber: Neumann, D. & Jenner, A.; S. 227-244

Minier, C., Abarnou, A., Jaquen-Madoulet, A., Le Guellec, A.-M., Tutundjian, R., Bocquene, G. & Le Boulenger, F. (2006) A pollution-monitoring pilot study involving contaminant and biomarker measurements in the Seine estuary, France, using zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). Environ. Toxicol. Chem. 25: 112-119

Moore, M.N. (1976): Cytochemical Demonstration of Latency of Lysosomal Hydrolases in Digestive Cells of Common Mussel, *Mytilus edulis*, and Changes Induced by Thermal-Stress. - Cell and Tissue Research 175, S. 279-287

Moore, M.N. (1988) Cytochemical responses of the lysosomal system and NADPH-ferrihemoprotein reductase in molluscan digestive cells to environmental and experimental exposure to xenobiotics. Mar. Ecol. Prog. Ser. 46: 81-89

Moore, M.N., Wedderburn, R.J., Lowe, D.M. & Depledge, M.H. (1996) Lysosomal reaction to xenobiotics in mussel hemocytes using BODIPY-FL-Verapamil. - 8. International Symp. Pollutant Responses in Marine Organisms (PRIMO 8) @ Pacific Grove

Moore, M.N., Depledge, M.H., Readman, J.W. & Leonard D.R.P. (2004) An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. Mutation Research 552: 247-268

Myers, M.S. & Fournie, J.W. (2002) Histopathological biomarkers as integrators of anthropogenic and environmental stressors. - In: Adams, S. M. (Hrsg.), Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, S. 221-287

N

Najimi, S., Bouhaimi, A., Daubeze, M., Zekhnini, A., Pellerin, J., Narbonne, J.F. & Moukrim, A. (1997) Use of acetylcholinesterase in *Perna perna* and *Mytilus galloprovincialis* as a biomarker of pollution in Agadir Marine Bay (south of Morocco). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58: 901-908

Nasci, C., Da Ros, L., Nesto, N., Sperti, L., Passarini, F. & Pavoni, B. (2000) Biochemical and histochemical responses to environmental contaminants in clam, *Tapes philippinarum*, transplanted to different polluted areas of Venice Lagoon, Italy. Mar. Environ. Res. 50: 425-430

Neuman, E., Sandström, O. & Thoresson, G. (1999) Guidelines for coastal fish monitoring. National Board of Fisheries, Institute of Coastal Research, Öregrund, Schweden, 44 S.

Neuparth, T., Correia, A.D., Costa, F.O., Lima, G. & Costa, M.H. (2005) Multi-level assessment of chronic toxicity of estuarine sediments with the amphipod *Gammarus locusta*: I. biochemical endpoints. Mar. Environ. Res. 60: 69-91

NRC (National Research Council) (1999) Hormonally active agents in the environment. Committee on Hormonally Active Agents in the Environment, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences, National Research Council. National Academic Press. Washington, D.C.

O

OECD (2006) Detailed review paper on aquatic arthropods in life cycle toxicity tests with an emphasis on developmental, reproductive and endocrine disruptive effects. OECD Environ. Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No. 55, Paris, 125 S.

Oehlmann, J., Stroben, E., Schulte-Oehlmann, U., Bauer, B., Fioroni, P. & Markert, B. (1996) Tributyltin biomonitoring using prosobranchs as sentinel organisms. Fresenius J. Anal. Chem. 354: 540-545

Oehlmann, J., Schulte-Oehlmann, U., Bauer, B. & Markert, B. (1997) Einsatz TBT-induzierter Pathomorphosen bei Schnecken aus der Nord- und Ostsee zum biologischen Effektmonitoring. Dt. Hydrogr. Z. Suppl. 7: 77-98

Oehlmann, J., Bauer, B., Minchin, D., Schulte-Oehlmann, U., Fioroni, P. & Markert, B. (1998a) Imposex in *Nucella lapillus* and intersex in *Littorina littorea*: interspecific comparison of two TBT-induced effects and their geographical uniformity, *Hydrobiologia* 378: 199-213

Oehlmann, J., Ide, I., Bauer, B., Watermann, B., Schulte-Oehlmann, U., Liebe, S. & Fioroni, P. (1998b) Erfassung morpho- und histopathologischer Effekte von Organozinnverbindungen auf marine Mollusken und Prüfung ihrer Verwendbarkeit für ein zukünftiges biologisches Effektmonitoring. Texte: 46/98, Umweltbundesamt Berlin, 194 S.

Oehlmann, J. & Schulte-Oehlmann, U. (2002) Molluscs as bioindicators. In: Markert, B.A., Breure, A.M. & Zechmeister, H.G. (Hrsg.): *Bioindicators and biomonitoring*. Elsevier, Amsterdam, S.577-635

Oehlmann, J., Benedetto, P., Di, Tillmann, M., Duft, M., Oetken, M. & Schulte-Oehlmann, U. (2007) Endocrine disruption in prosobranch molluscs: evidence and ecological relevance. *Ecotoxicology* 16: 29-43

Oetken, M., Bachmann, J., Schulte-Oehlmann, U. & Oehlmann, J. (2004) Evidence for endocrine disruption in invertebrates. *Int. Rev. Cytol.* 236: 1-44

Oka, M., Arai, T., Shibata, Y. & Miyazaki, N. (2006) Reproductive transfer of organochlorines in viviparous surfperch, *Ditrema temminckii*. *Environ. Pollut.* 142: 383-387

Olsson, P.-E., Westerlund, L., Teh, S.J., Billsson, K., Berg, A.H., Tysklind, M., Nilsson, J., Eriksson, L.-O., Hinton, D.E. 1999. Effects of maternal exposure to estrogen and PCB on different life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Ambio* 28: 100-106

Oost, R. van der, Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13: 57-149

OSPAR (1997) JAMP guidelines for general biological effects monitoring. Technical Annex 10 - reproductive success in fish. http://www.ospar.org/eng/doc/Status_OSPAR_monitoring_guidelines.doc

P

Pait, A.S. & Nelson, J.O. (2002) *Endocrine Disruption in Fish. An Assessment of Recent Research and Results*. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS CCMA 149. Silver Spring, MD : NOAA, NOS, Center for Coastal Monitoring and Assessment, 55pp.

Pellerin-Massicotte, J. (1994) Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *J. Aquat. Ecosystem Health* 3: 101-111

Pfeifer, S. (2002) Untersuchungen zum Einfluss des Salzgehaltes und anderer Faktoren auf die Aktivität der Acetylcholinesterase im Kiemengewebe von *Mytilus sp.* Diplomarbeit an der Universität Rostock, 63. S.

Pfeifer, S., Schiedek, D. & Dippner, J.W. (2005) Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity, a common pollution biomarker, in *Mytilus sp.* from the south-western Baltic Sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 320: 93-103

Pottinger, T.G., Carrick, T.R. & Yeomans, W.E. (2002) The three-spined stickleback as an environmental sentinel: effects of stressors on whole-body physiological indices. *J. Fish Biol.* 61: 207-229

Propp, C. (2006) Untersuchungen zur Sedimentologie und Umweltgeochemie des Salzhaffs (südwestliche Ostsee). Diplomarbeit Universität Greifswald, 110 S.

Q

Quinn, B., Gagne, F., Costello, M., McKenzie, C., Wilson, J. & Mothersill, C. (2004) The endocrine disrupting effect of municipal effluent on the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Aquat. Toxicol.* 66: 279-292

R

Rasmussen, T.H., Andreassen, T.K., Pedersen, S.N., Van der Ven, L.T.M., Bjerregaard, P. & Korsgaard, B. (2002) Effects of waterborne exposure of octylphenol and oestrogen on pregnant viviparous eelpout (*Zoarces viviparus*) and her embryos in ovario. *Jour. Experiment. Biol.* 205: 3857-3876

- Regoli, F. (1992) Lysosomal Responses As A Sensitive Stress Index In Biomonitoring Heavy-Metal Pollution. *Marine Ecology-Progress Series* 84, S. 63-69
- Regoli, F. & Orlando, E. (1993) *Mytilus galloprovincialis* as a bioindicator of lead pollution: Biological variables and cellular responses.
- Regoli, F. (2000) Total oxyradical scaving capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress. *Aquat. Toxicol.* 50: S. 351-361
- Regoli, F., Frenzilli, G., Nigro, M., Corsi, I., Focardi, S. & Winston, G.W. (2002) Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. *Mar. Environ. Res.* 54: S. 419-423
- Reimer, L.W. & Walter, U. (1998) Zur Parasitierung der Aalmutter *Zoarcres viviparus* (L.) in der Wismar-Bucht. *Mitt. Landesforschungsanstalt für Landw. und Fischerei M-V* 17: 114-120
- Rinderhagen, M., Ritterhoff, J. & Zauke, G.-P. (2000) Crustaceans as bioindicators. In: Gerhardt, A. (Hrsg.) *Biomonitoring of polluted water – Reviews on actual topics*. Trans Tech Publications, Environmental Research Forum Vol. 9: 161-194
- Roesijadi, G. (1992) Metallothioneins in metal regulation and toxicity in aquatic animals. *Aquatic Toxicol.* 22: 81-114
- Romeis, B. (1989) *Mikroskopische Technik*. 17. Auflage, hrsg. von P. Böck, Urban u. Schwarzenberg, München
- Ronisz, D., Lindesjö, E., Larsson, Å, Bignert, A. & Förlin, L. (2005) Thirteen years of monitoring selected biomarkers in eelpout (*Zoarcres viviparus*) at reference site in the Fjällbacka Archipelago on the Swedish west coast. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 8: 1-10
- Schiedek, D., Broeg, K., Baršienė, J., Lehtonen, K.K., Gercken, J., Pfeifer, S., Vuontisjärvi, H., Vuorinen, P.J., Dedonyte, V., Koehler, A., Balk, L. & Schneider, R. (2006) Biomarker responses as indication of contaminant effects in blue mussel (*Mytilus edulis*) and female eelpout (*Zoarcres viviparus*) from the southwestern Baltic Sea. *Mar. Poll. Bull.* 53: 387-405
- Schirling, M., Jungmann, D., Ladewig, V., Nagel, R., Triebkorn, R. & Köhler, H.-R. (2005) Endocrine effects in *Gammarus fossarum* (Amphipoda): influence of wastewater effluents, temporal variability and spatial aspects on natural populations. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 49: 53-61
- Schladot, J.D., Backhaus, F., Ostapczuk, P. & Emons, H. (1997) Eelpout (*Zoarcres viviparus* L.) as a marine bioindicator. *Chemosphere* 34: 2133-2142
- Schmitt, C.J. & Dethloff, G.M. [Hrsg.] (2000) *Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) Programm: selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems*. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Columbia, (MO): Information and Technology Report USGS/BRD-2000-0005. 81 S.
- Schröder, K. (1999) *Hybridzonen aquatischer Tiere unter besonderer Berücksichtigung des Mytilus edulis-Komplexes*. Diplomarbeit an der Universität Rostock
- Schulte-Oehlmann, U. (1997) Fortpflanzungsstörungen bei Süß- und Brackwasserschnecken – Einfluss der Umweltchemikalie Tributylzinn. *Wissenschaft und Technik Verlag, Berlin*, 203 S.
- Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., Bauer, B., Fioroni, P. & Leffler, U.-S. (1998) Toxicokinetic and – dynamic aspects of TBT-induced imposex in *Hydrobia ulvae* compared with intersex in *Littorina littorea* (Gastropoda, Prosobranchia). *Hydrobiologia* 378: 215-225
- Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., Fioroni, P. & Bauer, B. (1997) Imposex and reproductive failure in *Hydrobia ulvae* (Gastropoda: Prosobranchia). *Mar. Biol.* 128: 257-266

- Schulte-Oehlmann, U., Oehlmann, J., Watermann, B., Bauer, B., Ide, I. & Fioroni, P. (1996) Effekte von Tributylzinn (TBT) aus Antifoulinganstrichen auf Schneckenpopulationen in der Ostsee. In: Lozan, J.L., Lampe, R., Matthäus, W., Rachor, E., Rumohr, H. & von Westernhagen, H. (Hrsg.): Warnsignale aus der Ostsee: wissenschaftliche Fakten. Parey, Berlin. S.176-179
- Schwaiger, J., Wanke, R., Adam, S., Pawert, M., Honnen, W. & Triebkorn, R. (1997) The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recov.* 6: 75-86
- Sherry, J.P. (2003) The role of biomarkers in the health assessment of aquatic ecosystems. *Aquat. Ecosyst. Health & Manag.* 6: 423-440
- Smietanka, B., Zbawicka, M., Wołowicz, M. & Wenne, R. (2004) Mitochondrial DNA lineages in the European populations of mussels (*Mytilus* spp.). *Mar. Biol.* 146: 79-92
- Sordyl, H. (2000) Auswertung des Küstenmonitorings Mecklenburg-Vorpommern. Teil: Schadstoffmonitoring in Miesmuscheln 1994 bis 1999. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 50 S.
- Sordyl, H. & Gercken, J. (2001) Schadstoffkonzentrations- und Schadstoffeffektmonitoring an der Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*) aus Gewässern in Mecklenburg-Vorpommern. Beprobung 2000. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 58 S.
- Sordyl, H. & Gercken, J. (2002) Schadstoffkonzentrations- und Schadstoffeffektmonitoring an der Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*) aus Gewässern in Mecklenburg-Vorpommern. Beprobung 2001. Bericht im Auftrag des Landesamtes für Umwelt, Naturschutz und Geologie M.-V., 58 S.
- Stagg, R.M. (1998) The development of an international programme for monitoring the biological effects of contaminants in the OSPAR convention area. *Mar. Environ. Res.* 46: 307-313
- Stien, X., Percic, P., Gnassia-Barelli, M., Romeo, M. & Lafaurie, M. (1998) Evaluation of biomarkers in caged fishes and mussels to assess the quality of waters in a bay of the NW Mediterranean Sea. *Environ. Poll.* 99: 339-345
- Strand, J., Anderson, L., Dahllöf, I. & Korsgaard, B. (2004) Impaired larval development in broods of eelpout (*Zoarces viviparus*) in Danish coastal waters. *Fish Physiol. Biochem.* 30: 37-46
- Stentiford, G.D., Longshaw, M., Lyons, B.P., Jones, G., Green, M. & Feist, S.W. (2003) Histopathological biomarkers in estuarine fish species for the assessment of biological effects of contaminants. *Mar. Environ. Res.* 55: 137-159
- Sturve, J., Berglund, Å., Balk, L., Broeg, K., Böhmert, B., Massey, S., Savva, D., Parkkonen, J., Stephensen, E., Koehler, A. & Förlin, L. (2005) Effects of dredging in Göteborg Harbor, Sweden, assessed by biomarkers in eelpout (*Zoarces viviparus*). *Environ. Toxicol. Chem.* 24: 1951-1961
- Sumpter, J.P. (2005) Endocrine disruptors in the aquatic environment: an overview. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 33: 9-16
- T** Teh, S.J., Adams, S.M. & Hinton, D.E. (1997) Histopathologic biomarkers in feral freshwater fish populations exposed to different types of contaminant stress. *Aquat. Toxicol.* 37: 51-70
- Triebkorn, R., Jungmann, D., Köhler, H.-R., Ladewig, V., Ludwichowski, K.-U., Mösenfechtel, A., Scheil, V., Schirling, M. & Nagel, R. (2002) Das Projekt XehoGamm Endokrine Effekte bei Flohkrebse auf unterschiedlichen biologischen Ebenen. *Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft* 168: 83-102
- U** UBA (1999) Umweltprobenbank des Bundes. Ergebnisse aus den Jahren 1996 und 1997. UBA-Texte 61/99. Umweltbundesamt Berlin
- UNEP/RAMOGÉ (1999) Manual on the biomarkers recommended for the MED POL biomonitoring programme. UNEP, Athens, 1999

- V Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 13: 57-149
- Vergani, L., Grattarola, M., Borghi, C., Pondero, F. & Viarengo, A. (2005) Fish and molluscan metallothioneins a structural and functional comparison. *FEBS Journal* 272: 6014-6023
- Vetemaa, M. (1999) Reproduction biology of the viviparous blenny (*Zoarces viviparus* L.). *Fiskeriverket Rapport* 2: 81-96
- Vetemaa, M., Förlin, L. & Sandström, O. (1997) Chemical industry effluent impacts on reproduction and biochemistry in a North Sea population of viviparous blenny (*Zoarces viviparus*). *J. Aquat. Ecosystem Stress Recov.* 6: 33-41
- Vethaak, A.D. & Wester, P.W. (1996) Diseases of flounder *Platichthys flesus* in Dutch coastal and estuarine waters, with particular reference to environmental stress factors. II. Liver histopathology. *Dis. Aquat. Org.* 26: 99-116
- Viarengo, A. (1989) Heavy metals in marine invertebrates: mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. *CRC Critical Reviews in Aquatic Sciences* 1(2): 295-317
- Viarengo, A., Burlando, B., Cavaletto, M., Marchi, B., Ponzano, E. & Blasco, J. (1999) Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comp. Physiol.* 277: R1612-R1619
- Viarengo, A. & Canesi, L. (1991) Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture* 94: 225-243
- Viarengo, A., Pertica, M., Canesi, L., Accomando, R., Mancinelli, G. & Orunesu, M. (1989) Lipid peroxidation and level of antioxidant compounds (GSH, Vitamin E) in the digestive glands of mussels of three different age groups exposed to anaerobic and aerobic conditions. *Mar. Environ. Res.* 28: 291-295
- Viarengo, A., Canesi, L., Pertica, M., Livingstone, D.R. & Orunesu, M. (1991) Age-related lipid peroxidation in the digestive gland of mussels: the role of the antioxidant defence systems. *Experientia* 47: 454-457
- Viarengo, A., Moore, M.N., Mancinelli, G., Mazzucotelli, A., Pipe, R.K. & Farrar, S.V. (1987) Metallothioneins and lysosomes in metal toxicity and accumulation in marine mussels - the effect of cadmium in the presence and absence of phenanthrene. *Mar. Biol.* 94: 251-257
- Viarengo, A. & Nott, J.A. (1993) Mechanisms of heavy metal cation homeostasis in marine invertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.* 104C: 355-372
- Viarengo, A., Pertica, M., Canesi, L., Accomando, R., Mancinelli, G. & Orunesu, M. (1989) Lipid peroxidation and level of antioxidant compounds (GSH, Vitamin E) in the digestive glands of mussels of three different age groups exposed to anaerobic and aerobic conditions. *Mar. Environ. Res.* 28: 291-295
- Viarengo, A., Ponzano, E., Dondero, F. & Fabbri, R. (1997) A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to mediterranean and antarctic molluscs. *Mar. Environ. Res.* 44: 69-84
- W Wedderburn, J., McFadzen, I., Sanger, R.C., Beesley, A., Heath, C., Hornsby, M. & Lowe, D. (2000a) Biomarkers: the application of a suite of techniques to determine environmental quality. *Mar. Environ. Res.* 50: 431
- Wedderburn, J., McFadzen, I., Sanger, R.C., Beesley, A., Heath, C., Hornsby, M. & Lowe, D. (2000b) The field application of cellular and physiological biomarkers, in the mussel *Mytilus edulis*, in conjunction with early life stage bioassays and adult histopathology. *Mar. Poll. Bull.* 40: 257-267
- Westernhagen, H. von (1970) Erbrütung der Eier von Dorsch (*Gadus morhua*), Flunder (*Pleuronectes flesus*) und Scholle (*Pleuronectus platessa*) unter kombinierten Temperatur- und Salzgehaltsbedingungen. *Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 21: 21-102

Westernhagen, H. von (1988) Sublethal effects of pollutants on fish eggs and larvae. In: Hoar, W.S. & Randall, D.J. (Hrsg.), Fish Physiology, Vol. 11-A, Academic Press, London, S. 253-346

Winston, G.W. (1991) Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals. Comp. Biochem. Physiol. C- (Pharmacol. Toxicol. & Endocrinol.) 100: 173-176

Winston, G.W. & Di Gulio, R.T. (1991) Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. Aquat. Toxicol. 19: 137-161

Wirzinger, G., Weltje, L., Gercken, J. & Sordyl, H. (2007) Genotoxic damage in field-collected three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.): A suitable biomonitoring tool? Mutation Research 628: 19-30

Z Zander, C.D. (1991) Akkumulation von Helminthen-Parasiten in Aalmuttern *Zoarces viviparus* (L.) (Teleostei) der SW Ostsee. Seevögel 12: 70-73

Zorn, M. (2000) Genotoxizität und lysosomale Schädigung bei *Dreissena polymorpha* Pallas und *Mytilus edulis* L.. Diplomarbeit am Fachbereich Biowissenschaften an der Universität Rostock

