

Restoration of *Unio crassus* rivers in the Luxemburgish Ardennes LIFE11 NAT/LU/857



August 2014

Zuchtprotokoll für *Unio crassus*



LE GOUVERNEMENT
DU GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG
Ministère du Développement durable
et des Infrastructures
Département de l'environnement



LE GOUVERNEMENT
DU GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG
Ministère de l'Agriculture, de la Viticulture
et du Développement rural



Zuchtprotokoll für *Unio crassus*

Reporting Date
August 2014

« Restoration of *Unio crassus* rivers in the Luxemburgish Ardennes »
Resto-unio / <http://www.unio.lu>

Autoren:

Tanja Eybe, Alexandra Arendt, Leo Klein, Sonja Heumann & Frankie Thielen

natur & ëmwelt / Fondation Hëllef fir d'Natur

Kierchestross 2

L-9753 Heinerscheid

Luxembourg

Email: f.thielen@naturemwelt.lu

INHALT

INHALT	4
1 EINLEITUNG	6
1.1 Die Bachmuschel.....	6
1.2 Anatomie	7
1.3 Fortpflanzungszyklus.....	7
1.4 Ernährung	8
1.5 Lebensraum, Habitat.....	8
1.6 Schutz der Bachmuschel.....	9
2 METHODEN	10
2.1 Erzeugung juveniler Bachmuscheln für die Zucht.....	10
2.1.1 Wirtsfischinfektion mit Glochidien der Bachmuschel.....	10
2.1.2 Gewinnung der juvenilen Bachmuscheln.....	11
2.2 Futter für die Aufzucht der Bachmuschel	11
2.2.1. Detritus	11
2.2.2 Algen	12
2.2.3 Nährstoffzusammensetzung von Algen und Detritus.....	12
2.2.3.1 Proteine.....	12
2.2.3.2 Lipide.....	13
2.2.3.3 Kohlenhydrate	13
2.2.3.4 Asche	13
2.3 Aufzucht der Bachmuschel.....	14
2.3.1 Aufzucht in Plastikboxen	14
2.3.2 Aufzucht in Aquarien	15
2.3.3 Aufzucht in einer Fließrinne mit Kieskörben	15
2.3.4 Aufzucht im Zuchtgraben mit Kieskörben.....	16
3 ERGEBNISSE	18
3.1 Erzeugung juveniler Bachmuscheln für die Zucht.....	18
3.1.1 Bachmuscheln Gewinnung	18
3.2 Futter für die Aufzucht der Bachmuschel	18
3.2.1 Nährstoffzusammensetzung von Algen und Detritus.....	18
3.3 Aufzucht der Bachmuschel.....	20
3.3.1 Aufzucht in Plastikboxen.....	20
3.3.2 Aufzucht in Aquarien	21
3.3.3 Aufzucht in einer Fließrinne in Kieskörben.....	23
3.3.4 Aufzucht im Zuchtgraben in Kieskörben	24
4 DISKUSSION	25
4.1. Erzeugung juveniler Bachmuscheln für die Zucht.....	25
4.1.1 Wirtsfischinfektion mit Glochidien der Bachmuschel.....	25
4.1.2 Gewinnung der juvenilen Bachmuscheln.....	25
4.2 Futter für die Aufzucht der Bachmuschel	26

4.2.1 Nährstoffzusammensetzung von Algen und Detritus.....	26
4.3 Aufzucht der Bachmuschel.....	27
4.3.1 Aufzucht in Plastikboxen.....	27
4.3.2 Aufzucht in Aquarien.....	28
4.3.3 Aufzucht in einer Fließrinne mit Kieskörbchen.....	28
4.3.4 Aufzucht im Zuchtgraben mit Kieskörben.....	28
5 ZUSAMMENFASSUNG, AUSBLICK	30
6 REFERENZEN.....	31

1 EINLEITUNG

Süßwassermuscheln sind wichtige Zeigerorganismen unserer Fließ- und Stillgewässer. Ihr Vorkommen deutet auf einen intakten Lebensraum hin (Brim Box et al., 2006). Zusätzlich erfüllen sie durch ihre enorme Filterleistung eine wichtige ökologische Funktion und ihr Vorhandensein reflektiert den Gesundheitsstatus von Gewässern.

Obwohl die ökologische Bedeutung von vielen Süßwassermuscheln noch unbekannt sind, beinhalten die Muscheln (Bivalvia) die am meisten gefährdeten Arten aller Süßwasserorganismen (Neves et al., 1997). Die meisten Süßwassermuscheln in Europa werden als gefährdet eingestuft (Bauer & Wächtler, 2001). Zu ihnen gehört auch die Bachmuschel, deren Rückgang gut dokumentiert wurde. Die Bachmuschel wird in Luxemburg und den meisten anderen europäischen Ländern als bedrohte Art gelistet (Nagel, 1988) und ist ebenfalls in Annex II der Direktive (92/43/EEC) aufgeführt. Zudem hat man sie in die IUCN (Welt Rote Liste) aufgenommen (www.Redlist.org). Die Bachmuschel war bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts überall in ihrem Verbreitungsgebiet beheimatet (Ehrmann, 1933; Jäckel, 1962), oft in sehr hohen Populationsdichten in Flüssen unterschiedlicher Art (Schnitter, 1922; Tudorancea and Gruia, 1968). Sie war in Nebenflüssen von nahezu allen Flüssen präsent (Nagel, 1988) und wurde als die häufigste *Unio*-Spezies bezeichnet (Geyer, 1927; Hochwald & Bauer, 1990; Zwanziger, 1920). So folgern zum Beispiel Zettler & Jueg (2007), dass ungefähr 90% der deutschen Bachmuschelpopulation während der letzten Jahrzehnte verloren ging. Ebenfalls in Luxemburg kam es bei der Bachmuschel zu einem dramatischen Rückgang der Populationen (Groh & Weitmann, 2004). Bis auf ein Restvorkommen in der Our und Sauer ist die Bachmuschel in Luxemburg ausgestorben.

1.1 Die Bachmuschel

Die Bachmuschel (*Unio crassus*, Philipsson, 1788) (vergleiche Abbildung 1) ist eine Muschelart die hauptsächlich im Süßwasser, selten auch im Brackwasser, vorkommt. Der Name „Bachmuschel“ ist zum Teil irreführend, da die Muschel früher auch in größeren Flüssen wie z.B. Elbe, Rhein, Donau häufig war. Mittlerweile ist ihr Vorkommen in Mitteleuropa jedoch eher auf die Oberläufe und kleinere Bäche beschränkt, was ihr den Namen „Bachmuschel“ einbrachte. Auf Deutsch wird sie zusätzlich Gemeine oder Kleine Flussmuschel genannt.



Abbildung 1: Adulte Bachmuscheln auf dem Gewässergrund des Flusses Our

1.2 Anatomie

Die Bachmuschel besitzt eine bauchige, eiförmige, zweiklappige Schale, welche von gelbgrün über braungrün bis zu schmutzig braun gefärbt sein kann (Abbildung 1). Sie erreicht eine Größe von bis zu 10 cm Länge. Die Schale wird bis zu 2,5 cm dick und 5 cm hoch. Im Inneren der Schale befinden sich zwei kräftige Schließmuskeln, die für das Öffnen und Schließen der Schalen zuständig sind. Die zwei paarigen Kiemen im Inneren der Muschel dienen der Atmung sowie dem Erwerb der Nahrung, da sie als Filterorgan fungieren. Zusätzlich befinden sich in den Kiemen der weiblichen Tiere die Bruttaschen (Marsupien), in denen die Larven heranreifen. Der muskulöse Fuß der Bachmuschel ist meistens von weiß-gelblicher Farbe, seltener kann er aber auch orange gefärbt sein. Er dient der Verankerung und Ausrichtung der Muschel im Gewässer, zusätzlich kann sich die Muschel damit fortbewegen.

1.3 Fortpflanzungszyklus

Die Bachmuschel ist getrenntgeschlechtlich und erreicht ihr fortpflanzungsfähiges Alter mit 4 bis 5 Jahren. Im Frühjahr geben die Männchen ihre Spermien ins Wasser ab, die von den Weibchen aufgenommen werden und die Eier befruchten. In den Bruttaschen reifen nun die Larven innerhalb der nächsten 4 bis 6 Wochen heran (abhängig von der Wassertemperatur). Gesunde, fitte Weibchen können zwischen 50.000 und 100.000 Larven, die man auch Glochidien nennt, produzieren. Zwischen Mai und Juni werden die Glochidien über die Atemöffnung des Weibchens ausgestoßen. Im freien Wasser sind die nur 0,2 mm großen Glochidien nur wenige Tage überlebensfähig und müssen schnellstmöglich einen Wirtsfisch finden.

Atmet ein Wirtsfisch larvenhaltiges Wasser ein, schnappen die Glochidien blitzartig zu und heften sich an die Kiemen des Wirtsfisches. Hier wird die Larve durch eine Wundreaktion innerhalb von 2 Tagen von einer Gewebezyste des Fisches umgeben und reift zur Jungmuschel innerhalb von 10 bis 35 Tagen heran (abhängig von der Wassertemperatur). Während dieser parasitären Phase entwickelt sich die Larve zu einer Jungmuschel mit bewimpertem Fuß, Verdauungssystem, Nervensystem und Kiemenansätzen, nimmt aber nicht merklich an Größe zu. Ist die Umwandlung komplett, so fallen die Jungmuscheln vom Wirtsfisch ab und entwickeln sich im Kieslückensystem des Gewässergrundes in den nächsten Jahren zu einer geschlechtsreifen Bachmuschel (Gum et al., 2012; Hochwald, 1997). Der Fortpflanzungszyklus wurde in Abbildung 2 dargestellt.

Für die Bachmuschel wurden bereits Groppe (*Cottus gobio*) (Hochwald, 1997), Bachforelle (*Salmo trutta*) (Engel, 1990), Döbel (*Leuciscus cephalus*), Elritze (*Phoxinus phoxinus*), Rotfeder (*Scardinius erythrophthalmus*) (Bednarczuk, 1986; Engel, 1990; Hochwald, 1997; Maaß, 1987), Stichling (*Gasterosteus aculeatus* und *Pungitius pungitius*) (Engel, 1990; Hochwald, 1997) und Kaulbarsch (*Gymnocephalus cernuus*) (Maaß, 1987) als geeignete Wirte genannt, wobei letztere drei Fischarten nicht in der Our in Luxemburg vorkommen.

Im Gebiet von Eifel und Ardennen dürften hauptsächlich die Elritze, der Döbel sowie Groppen als Wirtsfische fungieren. Da die Wirtsfische nach mehrmaliger Infektion mit Bachmuscheln eine gewisse Immunität entwickeln (Hochwald, 1997), sind hauptsächlich Jungfische für den Erhalt der Bachmuschel wichtig.

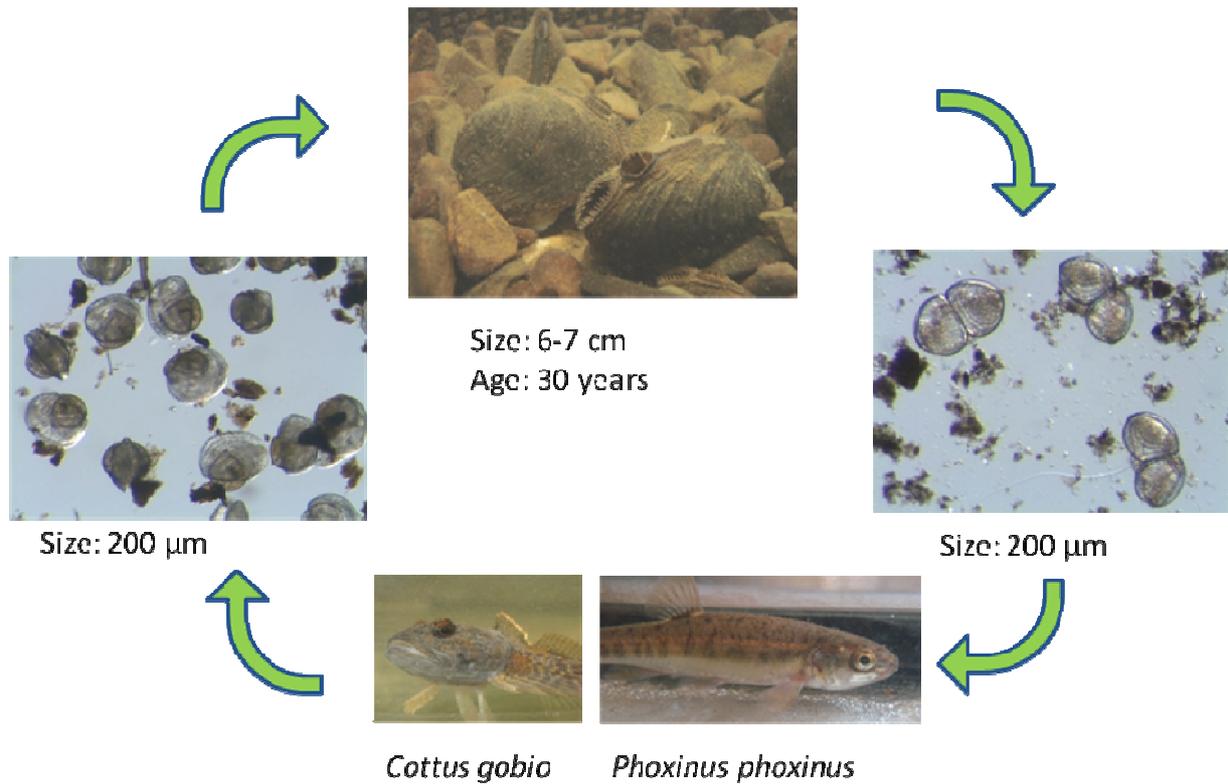


Abbildung 2: Fortpflanzungszyklus der Bachmuschel (*Unio crassus*)

1.4 Ernährung

Im Kieslückensystem können sich die Jungmuscheln mit ihrem bewimperten Fuß fortbewegen und gleichzeitig Nahrungspartikel in ihrer Mantelhöhle zur Mundöffnung strudeln. Ist nach einiger Zeit der Kiemenapparat fertig ausgebildet, übernehmen die Kiemen mit ihrem Wimperschlag das „Heranstrudeln“ der Nahrung. Die Nahrung der Bachmuschel besteht aus belebten oder unbelebten organischen Partikeln. Hierbei handelt es sich um Bakterien, Einzeller, Algen und feines abgestorbenes Pflanzenmaterial (Detritus). Erwachsene Tiere können 3 bis 4 Liter Wasser pro Stunde filtrieren. Besitzt ein Fluss oder Bach eine gesunde Bachmuschelpopulation, wird ein Großteil des Wassers filtriert und somit die Selbstreinigungskraft des Gewässers unterstützt.

1.5 Lebensraum, Habitat

Die Bachmuschel besiedelt kleine Gräben bis größere Flüsse. Sie bevorzugt sandige bis kiesige Bereiche, in denen sich die adulten Tiere fast komplett eingraben, so dass nur die Ein- und Ausströmöffnung noch sichtbar ist. Das Substrat kann von einer dünnen Schlammschicht überlagert sein, das Kieslückensystem darf aber, insbesondere für die Jungmuscheln, nicht verstopft sein. In größeren Bächen oder Flüssen werden oft die Uferbereiche bevorzugt, die aber nicht zu flach oder zu steil sein sollten. Natürlicher Uferbewuchs mit einheimischen Laubbäumen schafft mit seinem Wurzelwerk zusätzlich Mikrohabitate, die den Bachmuscheln aber auch den Jungstadien ihrer Wirtsfische als Lebensraum dienen.

Gegenüber der Gewässerqualität und dem Nährstoffgehalt zeigt sich die Bachmuschel sehr empfindlich. Dagegen ist sie in Bezug auf die Temperatur, den pH-Wert, den Kalkgehalt oder die Strömungsgeschwindigkeit wesentlich toleranter als die empfindliche Flussperlmuschel.

1.6 Schutz der Bachmuschel

Es existieren vier generelle Strategien, um Muschelpopulationen zu schützen. Diese beinhalten a) die Erschaffung von geschützten Gebieten, b) den Transfer von adulten Muscheln aus Flüssen mit gesunden in Flüsse mit gefährdeten Populationen, c) das Freilassen von Wirtsfischen, die künstlich mit Glochidien infiziert wurden und d) die Aufzucht von juvenilen Muscheln (Ziuganov *et al.*, 1994). In Gebieten, wo Muschelpopulationen stark zurückgegangen sind, wird die Muschelzucht als einzige mögliche Option angesehen, um die Muscheln zu retten (Gum *et al.*, 2011; Preston *et al.*, 2007; Ziuganov *et al.*, 1994) und es ist bekannt, dass die Wahrscheinlichkeit, die Geschlechtsreife zu erreichen, bei Flussperlmuscheln größer ist, wenn die sie ihre kritische Lebensphase unter kontrollierten Bedingungen in Gefangenschaft durchleben (Bolland *et al.*, 2010). Zudem kann die Aufzucht die letzte Möglichkeit („last-minute rescue tool“) darstellen, um das evolutionäre Potential von Populationen zu retten (Gum *et al.*, 2011).

2 METHODEN

2.1 Erzeugung juveniler Bachmuscheln für die Zucht

2.1.1 Wirtsfischinfektion mit Glochidien der Bachmuschel

Die Elritzen, die für die Infektion der Bachmuschel (*Unio crassus*) verwendet wurden, stammten nicht aus einer Fischzucht, sondern wurden stets im Frühjahr (normalerweise im April) vor der jeweiligen Infektion durch Elektrofischung aus der Our gefangen. Für die Infektion wurden Elritzen verwendet, weil von ihnen in Vorversuchen mit verschiedenen Fischarten aus der Our (Bachforelle (*Salmo trutta*), Elritze (*Phoxinus phoxinus*), Groppe (*Cottus gobio*)) am meisten juvenile Muscheln gewonnen werden konnten. Sowohl bei Bachforellen als auch bei Groppen, war die Infektion weniger erfolgreich und es excystierten weniger juvenile Muscheln (Daten nicht aufgeführt). Die gefangenen Elritzen wurden nach dem Einfangen direkt in einen 200 Liter Tank, der mit einem Sprudelstein belüftet wurde, gesetzt. Sie wurden mit Fischfutterpellets (Biomar Inicio Plus, 0.8 mm, Plaidt, Deutschland) gefüttert und konnten sich bis zum Beginn der Infektion an die neue Umgebung gewöhnen. Um Stress zu vermeiden, wurden die wilden Elritzen nicht genau vermessen, ihre geschätzte Totallänge betrug jedoch zwischen 5-10 cm.

Fünzig adulte Bachmuscheln wurden während der Ausstoßzeit der Glochidien in mit Kies gefüllten Körben gehältert (Kieshöhe ca. 3-4 cm). Die Körbe waren in einer mit Ourwasser durchströmten Fließrinne platziert und die Muscheln wurden nicht zusätzlich gefüttert. Die Bachmuscheln waren zuvor auf ihre Trächtigkeit hin überprüft worden. Dies geschieht durch vorsichtiges Öffnen der Schalen. Eine Verdickung der Kiemen (angeschwollene Marsupien (Kiementaschen)) deutet auf die Trächtigkeit hin. Jeden Tag wurde der Untergrund nach Glochidien abgesucht. Hierbei handelt es sich um weiße oder orange schleimige Pakete, die, wenn sie unreif sind, oft eine maiskolbenförmige Struktur aufweisen. Die Pakete wurden mit einer Plastikpipette aufgenommen und in ein Becherglas mit Ourwasser überführt. Nach visueller Inspektion mit einem Stereomikroskop wurde die Infektion erst durchgeführt, wenn die meisten Glochidien frei vorlagen (ohne Eihülle) und ihre Vitalität durch gelegentliches Zuklappen angezeigt wurde. Das erste Ausstoßen von Glochidien findet in der Our zwischen Ende April bis Mitte Mai statt. Die reifen Larven wurden alle aus der Fließrinne abgesammelt und in ein Becherglas überführt. Bevor die Larven zu den Elritzen gegeben werden, wurde ihre Anzahl bestimmt. Hierzu wurde die Anzahl der Glochidien im Becherglas ermittelt, indem fünf mal alle Larven in 100µl Probe ausgezählt wurden. Anhand des Durchschnittes aus den fünf 100µl Proben und des Bechervolumen konnte dann die Anzahl der Larven bestimmt werden.

Für die Infektion wurden die Elritzen mit einem Netz gefangen und in einen belüfteten 15 Liter Eimer gesetzt. Die Anzahl der Fische richtete sich dabei nach der Anzahl der vorhandenen Larven wobei eine Glochidiendichte von etwa 200 Individuen pro Fisch im Infektionseimer angestrebt wurde. Dann wurden die Glochidien vorsichtig in den Eimer gegeben. Über einen Infektionszeitraum von insgesamt 45 Minuten wurde alle 5 Minuten vorsichtig das Wasser mit der Hand umgerührt. Sofort nach der Infektion wurden die Elritzen zurück in den 200 Liter Tank gesetzt, von wo aus die Muschelgewinnung stattfand.

2.1.2 Gewinnung der juvenilen Bachmuscheln

Juvenile Bachmuscheln wurden nach dem Heranreifen in einer Gewinnungsanlage gesammelt (vergleiche Abbildung 3). Hierbei gelangten die Jungmuscheln über Rohre in Auffangnetze. Die Anzahl der Wirtsfische in der Anlage betrug zwischen 100 bis maximal 200 Fische. Die Maschenweite der zum Auffangen verwendeten Netze (Retch, Düsseldorf, Deutschland) betrug wegen der geringeren Größe der Juvenilen (ca. 200 μm) nur 68 μm . Die ersten juvenilen Bachmuscheln fielen an der Our stets zwischen Ende Mai und Mitte Juni ab.

In einem Experiment im Jahr 2012 mit 110 infizierten Fischen (Elritzen) wurde eine Excystierungsperiode genauestens untersucht. Hierfür wurden alle 2-3 Tage die juvenilen Muscheln aus den Sammelnetzen gespült, gezählt und mit der Computersoftware ImageJ ausgemessen.

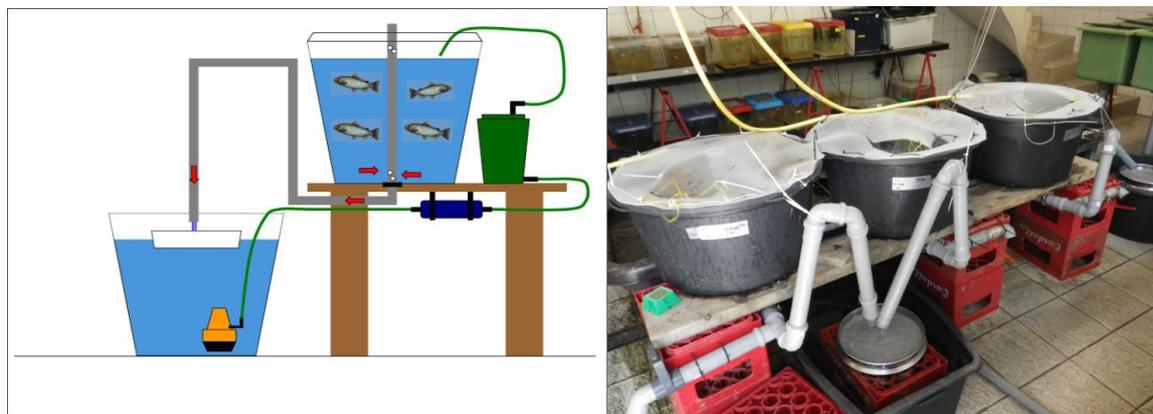


Abbildung 3: Gewinnungsanlage. Links: Schematische Darstellung: Die Glochidien gelangen aus dem Fischbecken über ein Rohr in ein Sammelnetz (Maschenweite 68 μm). Rechts: Tank mit Elritzen, die als Gewinnungsanlage funktionieren.

2.2 Futter für die Aufzucht der Bachmuschel

2.2.1. Detritus

Der Detritus, der in vielen Aufzuchtexperimenten verwendet wurde, stammte von einer Feuchtwiese in Wilwerdange, Luxemburg. Im Gegensatz zum Detritus aus dem Fluss Our ist er einfacher und in größerer Menge zu gewinnen. Hierfür wurden durch Hin- und Hertreten an feuchten Stellen der Wiese Detrituspartikel aufgewirbelt und möglichst konzentriert mit einem Becher aufgenommen (vergleiche Abbildung 4).

Frischer Detritus wurde alle zwei bis drei Wochen gesammelt und im Keller der Aufzuchtstation in einem mit einem Sprudelstein belüfteten Eimer aufbewahrt. Bevor Detritus bei der Muschel aufzucht in Boxen oder anderen Zuchtssystemen verwendet wurde, wurde er stets direkt vor seiner Verwendung durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 180 μm gefiltert.

Der gesammelte Detritus ist eine natürliche Mischung aus variierenden Bestandteilen, abhängig z.B. von der Jahreszeit, Temperatur, Regenmenge und Pflanzen im Sammelgebiet. Unter normalen Bedingungen bestehen mehr als 50% der Algen im Detritus aus Diatomeen, gefolgt von Grünalgen sowie Algenbruchstücken. Er besteht außerdem aus organischem Material, Zooplankton, vielen verschiedenen Bakterien und Pilzen und Sedimenten (Ton, Lehm und feiner Sand in variablen

Verhältnissen). Eine Analyse des für die Muschelzucht verwendeten Detritus im Rahmen des Projektes „Schutz und Erhalt der Flussperlmuschel in NRW“, Deutschland, zeigte zum Beispiel ein Trockengewicht von 1.1%, 48.9% Aschegehalt (vom Trockengewicht), einen pH von 6.5 (gemessen in der wässrigen Phase), eine Leitfähigkeit von $90 \mu\text{S cm}^{-1}$, einen TOC von $225\ 000 \text{ mg kg}^{-1}$ und einen Gesamtstickstoffgehalt von $11\ 400 \text{ mg kg}^{-1}$ (Messungen vom Juli 2010).



Abbildung 4: Detritus. Links: Frisch gesammelter Detritus. Rechts: Feuchte Wiese, in der Detritus durch Auf- und Abtreten aufgewirbelt wird.

2.2.2 Algen

Die Algen, die für die Aufzucht der Jungmuscheln in verschiedenen Aufzuchtssystemen verwendet wurden, sind käuflich erworbene Produkte. Es handelt sich hierbei um Nanno3600 (Nanno) und Shellfishdiet1800 (SFD) (beide von Reed Mariculture Inc., Campbell, Kalifornien, USA). Nanno besteht ausschließlich aus *Nannochloropsis* sp., deren Zellen einen Durchmesser von 1-2 μm haben. SFD besteht aus einer Mischung von verschiedenen Algen: *Isochrysis* sp., *Pavlova* sp., *Thalassiosira weissflogii* und *Tetraselmis* sp.. Die Zellen haben einen Durchmesser von 4-20 μm . Während Nanno direkt nach dem Öffnen der Verpackung in kleinen Portionen eingefroren und bei Bedarf aufgetaut wurde, wurde die Futtermischung SFD im Kühlschrank bei 7°C aufbewahrt und ungefähr wöchentlich in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen (Roth, Karlsruhe, Deutschland) umgefüllt, woraus die gewünschte Menge schließlich abpipettiert werden konnte. Nachdem das vom Hersteller angegebene Mindesthaltbarkeitsdatum abgelaufen war, wurde SFD nicht mehr als Futter eingesetzt.

2.2.3 Nährstoffzusammensetzung von Algen und Detritus

Die Nährstoffzusammensetzung von Detritus, Shellfishdiet und Nanno, die in verschiedenen Experimenten zur Fütterung der Bachmuschel verwendet wurden, wurde im CRP-Gabriel Lippmann, Luxemburg, ermittelt. Hierfür wurden der Gesamtproteingehalt, Gesamtfettgehalt, Kohlenhydratgehalt und der Aschegehalt in % vom Trockengewicht bestimmt. Außerdem gab es bereits Daten zu den Algen von der Herstellerfirma (Reed Mariculture Inc., Campbell, Kalifornien, USA).

Aufgrund der komplizierten Analysemethoden wurde darauf verzichtet, die Aminosäurezusammensetzung zu bestimmen. Da der Lipidgehalt in Detritus sehr gering ist, wurde außerdem auf die Bestimmung der Fettsäureverteilung (gesättigt und ungesättigte Fette) verzichtet.

2.2.3.1 Proteine

Der Proteingehalt der Proben wurde mit Hilfe der Methode nach Kjeldahl bestimmt, mit der zunächst der totale Stickstoffgehalt ermittelt werden kann. Für diese Methode wurden für eine Doppelbestimmung zwei genau abgewogene Proben durch Kochen in einem offenen

Erlenmeyerkolben mit einem Überschuss an Schwefelsäure aufgeschlossen. Hierbei wurden die organischen Anteile der Probe entfernt und der Stickstoff in Ammoniumsulfat umgewandelt. Schließlich wurde der Stickstoff in der Aufschlusslösung als Ammoniak titrimetrisch mit 0.01 molarer Salzsäure bestimmt.

Da der so bestimmte Stickstoffgehalt im Zusammenhang mit dem Proteingehalt einer biologischen Probe steht konnte dieser mit einem Empirischen Faktor von 6.25 berechnet werden.

2.2.3.2 Lipide

Die Bestimmung des Gesamtlipidgehalts wurde über Soxleth-Extraktion, einer Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes in Lebensmitteln und Futtermitteln, ermittelt. Da eine große Probenmenge benötigt wurde, konnte nur eine Einfachbestimmung durchgeführt werden. Hierfür wurde die genau abgewogene Probe zunächst lyophilisiert (Christs, Alpha 2-4 LSC, SciQuip Ltd., Newtown, UK). Danach wurde die getrocknete Probe mit einem Fettlösemittel (Petrolether, Merck, Germany) in einem Soxleth-Extraktor (Extractor Unit E-816, Büchi Labortechnik AG, Flawil, Schweiz) extrahiert. Hierbei wurden durch den Lösemitteldampf die Lipide aus dem Detritus herausgelöst. Schließlich wurden die Lipide durch Destillation vom Lösemittel befreit. Die Lipidmenge wurde am Ende gravimetrisch bestimmt.

2.2.3.3 Kohlenhydrate

Der Anteil der Kohlenhydrate wurde mit der Methode nach Edwards bestimmt. Um eine Dreifachbestimmung zu machen, wurden drei genau abgewogene Proben lyophilisiert (Christs, Alpha 2-4 LSC, SciQuip Ltd., Newtown, UK) und anschließend 0.5 ml 80% Ethanol hinzugefügt und in einem Vortexmixer vermischt. Die Proben wurden dann auf 60°C erhitzt. Anschließend wurden die Proben bei 12 000 g in einer Mikrozentrifuge zentrifugiert und der Überstand abgenommen. Diese Extraktion wurde noch zwei Mal wiederholt. Der gesammelte Überstand wurde dann in einer Vakuumzentrifuge (Speedvac Plus, Savant Instruments, Farmingdale, USA) getrocknet um ihn so auf die Analyse der löslichen Kohlenhydrate vorzubereiten. Nach dem Trocknen wurden die Proben in 1 ml deionisiertem Wasser resuspendiert. Ein 50 ml Aliquot wurde jeweils in ein Mikrozentrifugenröhrchen überführt. Diese wurden auf Eis gekühlt und dabei Anthron-Reagenz (0.2% Antron in 70%ig konzentrierter Schwefelsäure) hinzugefügt. Die Mischung wurde gevortext und danach 10 min auf Eis gekühlt, dann auf 85 °C erhitzt. Nach diesem Schritt konnten die Proben bestimmt werden, indem ihre Absorption bei der Wellenlänge von 600 nm gemessen wurde (Labtech FLUOstar Optima microplate reader, BMG Labtech, Mornington, Australien). Um dies zu tun, wurde zunächst auf dieselbe Weise, wie oben beschrieben, eine Glucose-Standardkurve in Anthron erstellt, mit deren Hilfe die Probenwerte ermittelt werden konnten. Von jeder Probe wurden Dreifachmessungen durchgeführt, wobei der Regressionskoeffizient der Standardkurve stets ein Bestimmtheitsmaß von mindestens 0.99 hatte.

2.2.3.4 Asche

Der Aschegehalt der Futterproben wurde bestimmt, indem jeweils drei Proben zunächst genau eingewogen und danach lyophilisiert wurden (Christs, Alpha 2-4 LSC, SciQuip Ltd., Newtown, UK). Danach wurden die Proben in einem Muffelofen (Barnstead 62700 Furncace, Alpha multiservices, Conroe, USA) mehrmals bei 550°C unter Zugabe von 2 ml Wasserstoffperoxid (30%) (Roth, Karlsruhe, Deutschland) verascht. Schließlich wurde der Aschegehalt nach dem Abkühlen gravimetrisch bestimmt. Der Ascheanteil ergab sich aus der Gewichts-differenz der Probe vor und nach der Veraschung.

2.3 Aufzucht der Bachmuschel

2.3.1 Aufzucht in Plastikboxen

Juvenile Bachmuscheln wurden mit einem Abstand von 1-3 Tagen an acht verschiedenen Tagen während einer 14 Tage andauernden Excystierungsperiode gesammelt. An jedem Tag, an dem die Muscheln aus dem Sieb gespült wurden, wurde die Anzahl der Individuen unter einem Stereomikroskop gezählt und nach dem Fotografieren mit der Computersoftware ImageJ ausgemessen. Um Nahrungskonkurrenz zu verhindern, wurden jeweils maximal 100 zufällig ausgewählte Juvenile in eine Plastikbox gesetzt. Wurden weniger als 100 Individuen an einem Tag gesammelt, so wurden alle zusammen in einer Plastikbox aufgezogen. Insgesamt gab es acht Boxen, für jeden Sammeltag eine.

Das Wasservolumen und die Futterkonzentrationen wurden an die Größe beziehungsweise das Alter der Muscheln angepasst. Tabelle 1 zeigt das Wasservolumen und die Futterzusammensetzungen, die für verschiedene Muschelalter verwendet wurden. Die Muscheln wurden einmal wöchentlich während des Wasserwechsels gefüttert. Die Deckel der Boxen wurden locker obenauf gelegt aber nicht fest verschlossen, um eine Luftzirkulation zu ermöglichen. Die Boxen enthielten Flusswasser (Our, Luxemburg) und wurden bei 17-18 °C in einer Klimakammer (Grand cru, Liebherr, Deutschland) aufbewahrt.

Tabelle 1: Futterzusammensetzung und Boxenvolumen für verschiedene Altersklassen von Bachmuscheln (Anzahl maximal 100 Individuen pro Box)

Alter der Muscheln	Volumen des Flusswassers in den Boxen	Menge Shellfishdiet1800 pro 1 ml Wasser	Menge Nano3600 pro 1 ml Wasser	Menge Detritus insgesamt
0 - 30 Tage	500 ml	ca. 24 000 Zellen	ca. 1 836 000 Zellen	25 ml
30 -110 Tage	500 ml	ca. 48 000 Zellen	ca. 3 772 000 Zellen	25 ml
110 - 120 Tage	500 ml	ca. 72 000 Zellen	ca. 4 608 000 Zellen	25 ml
120 - 200 Tage	1600 ml	ca. 72 000 Zellen	ca. 4 608 000 Zellen	25 ml
200 Tage - 1 Jahr	4000 ml	ca. 72 000 Zellen	ca. 4 608 000 Zellen	25 ml

Die Anzahl und Länge der überlebenden Individuen wurden nach 110 Tagen und nach einem Jahr ermittelt. Die Länge der Muscheln wurde außerdem regelmäßig zu verschiedenen Zeitpunkten bestimmt. Aus den Daten wurden Wachstumsgeraden (x-Achse: Alter in Tagen, y-Achse: Länge in mm) mit Hilfe der Computersoftware Microsoft Excel erzeugt. Das Bestimmtheitsmaß (R^2) dieser Wachstumsgeraden wurde durch lineare Regression ermittelt. Jede Wachstumsgerade enthielt sechs bis sieben Messungen während 110 Tagen und 9-10 Messungen während eines Jahres. Zudem wurde mit Hilfe der Formel der Regressionsgeraden errechnet, nach wie vielen Tagen die Muscheln eine Länge von einem Millimeter erreichten.

2.3.2 Aufzucht in Aquarien

Ein Aquarium (Abbildung 5) bestand aus einer Plastikbox (Sunware, Q-line Box, 40x30x26 cm), in der eine Sandschicht (Rosi's Aquarienkies, weiß, 0.1 - 0.9 mm, Quarzverpackungswerk Rosnerski, Königslutter, Deutschland) von ungefähr 0.5 cm Höhe ausgebracht war, in dem sich die Muscheln aufstellen und eingraben konnten. Eine Pumpe (Swordfish 200 Multifilter, Flamingo, Geel, Belgien) sorgte für eine Strömung im Aquarium.

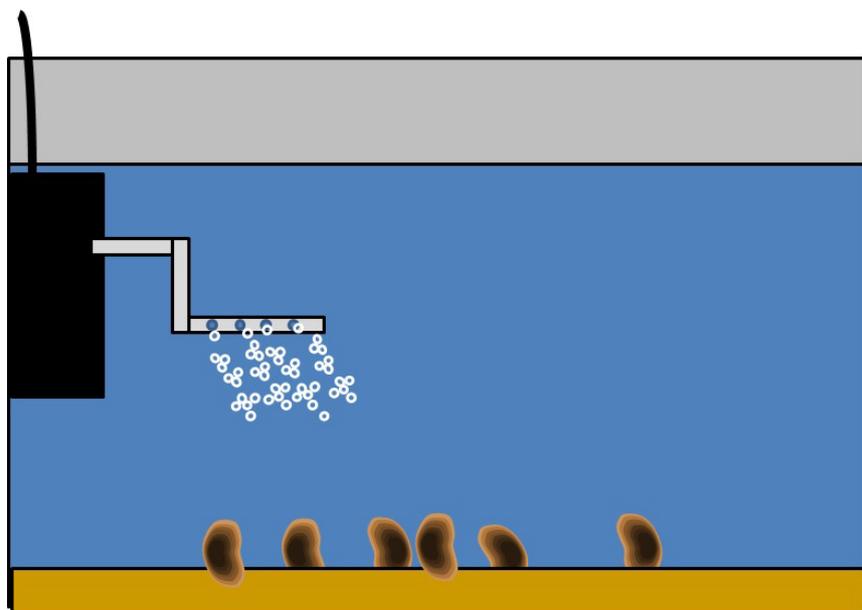


Abbildung 5: Aquarium mit Sand und Pumpe.

Jeweils 60 Bachmuscheln im Alter von maximal 24 Stunden nach der Excystierung mit der durchschnittlichen Größe von 0.22 ± 0.02 mm wurden Ende Juni 2013 in sechs Aquarien gesetzt. Die Fütterung erfolgte fünfmal wöchentlich an den Werktagen mit Algen. Zunächst bekamen die juvenilen Bachmuscheln jeweils 200 μ l Shellfishdiet und 2 Tropfen Nanno. Drei Monate später wurde die Shellfishdietmenge auf 280 μ l und nach weiteren zwei Monaten nochmals auf 350 μ l pro Tag erhöht. Die Menge Nanno blieb während dieser Zeit mit zwei Tropfen pro Fütterungstag gleich. Bei Verschmutzung wurden die Ausströmröhrchen mechanisch und mit Wasser gereinigt. Dies erfolgte etwa alle 3-4 Wochen. Der Sand in den Aquarien wurde zweimal während Experiments gereinigt (im Januar und April). Hierzu wurden alle Muscheln entnommen und der Sand wurde mit Leitungswasser drei Mal ausgewaschen. Danach wurden die Aquarien erneut mit Ourwasser gefüllt und die Muscheln zurückgesetzt.

2.3.3 Aufzucht in einer Fließrinne mit Kieskörben

Verschiedene Muschelgrößen und Stückzahlen (vergleiche Tabelle 2) wurden in Körbe (FIAB Teichpflanzenkorb 230x230 mm, Conrad, Essen, Deutschland) gesetzt, die mit Kies gefüllt waren. Der Kies stammte aus dem Fluss Our und wurde vor dem Auffüllen der Körbe auf eine Größe von ca. 2-20 mm gesiebt. Die Füllhöhe der Körbe betrug etwa 5 cm. Die Kieskörbe wurden in eine Fließrinne gehängt, die kontinuierlich mit Flusswasser durchströmt wurde. Wenn sich zu viel Sediment auf dem Kies abgesetzt hatte, so dass man einzelne Steine nicht mehr erkennen konnte, wurden die Kieskörbe vorsichtig durch Schütteln davon befreit, da die Muscheln überdeckt zu werden drohten. Eine

Reduktion der Sedimente, die in die Fließrinne gelangten, wurde außerdem durch die Verwendung eines Trommelfilters erzielt. So wurden Partikel, die größer als 100 µm waren aussortiert. Eine Fließrinne mit Kieskörben wurde in Abbildung 6 dargestellt. Die Muscheln wurden nicht zusätzlich gefüttert und erhielten auf diese Weise nur das natürlich vorkommende Futter aus der Our. Zudem waren die Muscheln den natürlichen jahres- und tageszeitlichen Schwankungen verschiedener Parameter wie z.B. der Temperatur oder dem pH-Wert ausgesetzt.

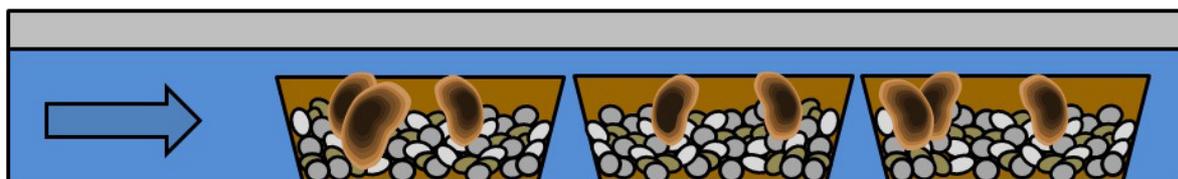


Abbildung 6: Fließrinne mit Kieskörben

Insgesamt wurden 77 Bachmuscheln in vier Kieskörben in einer Fließrinne gehältert. Verschiedene Muschelgrößen und Stückzahlen (siehe Tabelle 2) wurden in die verschiedenen Körbe gesetzt. Die Auszählungen der Muscheln und ihr Vermessen fand zu verschiedenen Zeitpunkten statt, wobei diese Entnahme aus den Kieskörben die Gefahr barg, dass Bachmuscheln zwischen dem Kies Quetschungen erlitten. Deshalb wurde der Bestand der Muscheln so selten wie möglich kontrolliert.

Tabelle 2: Verschiedene Größen und Anzahlen von Bachmuscheln, die über mehrere Monate in Kieskörben in einer Fließrinne gehältert wurden

Korb	A	B	C	D
Start	Juli 11	Juli 12	September 12	September 12
Dauer in Monaten	23	10	20	9
Größe bei Start (in mm)	5.99	15.13	11.1	10.2
SD	1.01	2.21	1.7	2.2
Anzahl	17	10	30	20

2.3.4 Aufzucht im Zuchtgraben mit Kieskörben

Ähnlich wie bei der Aufzucht in der Fließrinne, wurden die Muscheln in Kieskörbe gesetzt, die mit Kies gefüllt waren. Die Kieskörbe wurden aus Plastikboxen mit Deckel (Sunware, Q-line Box) gefertigt, aus deren Wänden insgesamt sechs ca. 10 x 10 cm große Fenster herausgeschnitten und mit Gaze (Maschenweite von 2 mm) verklebt wurden, um eine Wasserströmung durch die Kieskörbe zu ermöglichen (siehe Abbildung 7).



Abbildung 7: Kieskorb zur Aufzucht von Muscheln im Zuchtgraben

Der Kies stammte aus dem Fluss Our und hatte eine Größe von ca. 2-30 mm. Die Füllhöhe der Körbe betrug etwa 5 cm. Die Körbe wurden für eine seminaturelle Auswilderung in den Zuchtgraben an der Kalborner Mühle gesetzt, welcher mit einer Breite von 50-60 cm über eine Mähwiese verläuft und vom Mühlengraben gespeist wird. Ca. 3-5 Meter vor der Stelle, an der die Körbe ausgebracht wurden, befindet sich ein gebaggerter Teich (ca. 5 x 6 m), in dem viel Wasserpest (*Elodea nuttallii*) und Rohrkolben (*Typha latifolia*) wachsen.

Insgesamt 32 Bachmuscheln (vergleiche Tabelle 3) wurden für eine seminaturelle Auswilderung in Kieskörben in den Zuchtgraben hinter den Teich an der Kalborner Mühle gesetzt. Die Muscheln wurden nicht zusätzlich gefüttert und erhielten auf diese Weise nur das natürlich vorkommende Futter aus der Our, beziehungsweise das Futter, welches aus dem Mühlengraben und dem Teich stammte. Zudem waren die Muscheln den natürlichen jahres- und tageszeitlichen Schwankungen verschiedener Parameter wie z.B. der Temperatur oder dem pH-Wert ausgesetzt.

Tabelle 3: Anzahl und Größe der Bachmuscheln, die für ein Jahr im Zuchtgraben in Kieskörben gehältert wurden

Bezeichnung	A	B	C
Kieskorb			
Größe bei Start in cm	2.32	1.98	1.85
StDev	0.23	0.32	0.21
Anzahl	12	10	10

3 ERGEBNISSE

3.1 Erzeugung juveniler Bachmuscheln für die Zucht

3.1.1 Bachmuschelgewinnung

Die untersuchte Excystierungsperiode aus dem Jahr 2012 dauerte 14 Tage. Während diesem Zeitraum fielen insgesamt 833 juvenile Muscheln von 110 Elritzen in der Gewinnungsanlage. Die Anzahl der excystierten Muscheln pro Sammeltag wurde in Abbildung 8 dargestellt. Die meisten Muscheln excystierten in der ersten Hälfte der Excystierungsperiode.

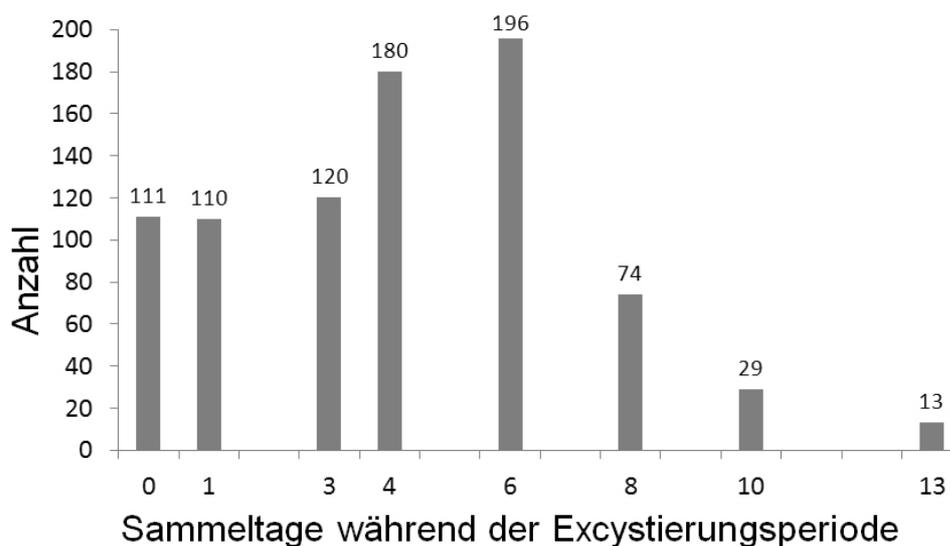


Abbildung 8: Anzahl der gesammelten juvenilen Bachmuscheln während einer Excystierungsperiode

3.2 Futter für die Aufzucht der Bachmuschel

3.2.1 Nährstoffzusammensetzung von Algen und Detritus

Zusätzlich zu den von der Herstellerfirma angegebenen Werten für Shellfishdiet und Nanno, wurden die Nährstoffwerte für beide Algenmischungen und Detritus durch eigene Analysen ergänzt. Detritus bestand zum größten Teil aus anorganischer Substanz (Asche) und enthält außerdem einen viel geringeren Gehalt an Proteinen, Lipiden und Kohlenhydraten, als die beiden Algenmischungen (sowohl vom CRP - Gabriel Lippmann ermittelt als auch vom Hersteller angegeben). In Tabelle 4 wurde der Gehalt von Proteinen, Lipiden, Kohlenhydraten und Asche von Nanno, Shellfishdiet und Detritus dargestellt. Die vom Hersteller angegebenen und selber ermittelten Werte unterscheiden sich teilweise deutlich.

Tabelle 4: Nährstoffzusammensetzung von Nanno3600, Shellfishdiet1800 und Detritus (in % vom Trockengewicht)

	Nanno3600*	Nanno3600**	Shellfishdiet1800*	Shellfishdiet1800**	Detritus**
Proteine	58.6	36.53	52.0	15.57	6.22
Lipide	14.5	0.438	16.1	1.173	0.003
Kohlenhydrate	20.0	3.484	22.0	1.551	Nicht detektierbar
Asche	5.9	27.53	9.9	68.88	65.73

*vom Hersteller Reed Mariculture Inc. angegeben

**im Rahmen dieser Arbeit gemessene Werte

3.3 Aufzucht der Bachmuschel

3.3.1 Aufzucht in Plastikboxen

Die untersuchte Excystierungsphase der Bachmuscheln dauerte 14 Tage an. Die frisch excystierten Muscheln hatten an verschiedenen Sammeltagen durchschnittliche Längen zwischen 0.21 und 0.24 mm (Abbildung 10 a). Nach 110 Tagen hatten dieselben Muscheln Längen zwischen 0.60 und 1.72 mm erreicht und zwischen 6.7 und 8.8 mm nach einem Jahr (Abbildung 10 b) Junge Bachmuscheln nach einigen Wochen Wachstum wurden in Abbildung 9 dargestellt.

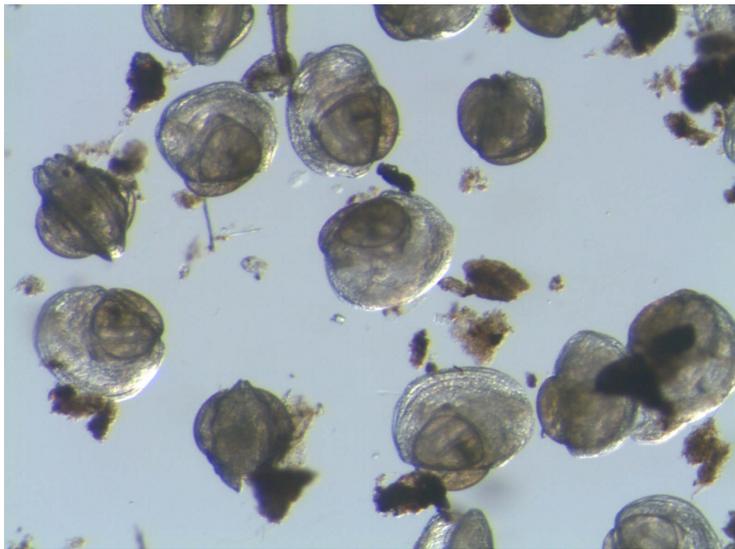


Abbildung 9: Junge Bachmuscheln nach einigen Wochen Wachstum

Die Überlebensrate nach 110 Tagen betrug für die verschiedenen Sammeltage zwischen 27 und 100% und nach einem Jahr zwischen 0 und 92 % (Abbildung 10 c).

Nach einem Jahr lebten insgesamt noch 152 von 833 Muscheln. Die Pearson-Korrelationskoeffizienten zeigten eine signifikante Korrelation sowohl zwischen dem Sammeltag und der Länge der Muscheln im Alter von 110 Tagen ($P=0.036$) sowie dem Sammeltag und der Überlebensrate nach 110 Tagen ($P<0.021$). Die Länge der Muscheln am Sammeltag war nicht signifikant korreliert mit dem Sammeltag.

Alle Muscheln, die nach dem ersten Tag der Excystierungsperiode gesammelt wurden, zeigten ein hohes lineares Wachstum, das durch lineare Regression ermittelt wurde, mit Regressionskoeffizienten (R^2) zwischen 0.97 und 1.00 während 110 Tagen (Abbildung 10 d). Muscheln, die am ersten Tag der Gewinnungsperiode gesammelt wurden, zeigten dagegen in den ersten 110 Tagen ein schwächeres Wachstum mit einer abflachenden Wachstumskurve ($R^2=0.75$). Das durch lineare Regression ermittelte Alter der Muscheln, in dem sie die durchschnittliche Größe von einem Millimeter erreichten, betrug vom Sammeltag 3 bis zum letzten Sammeltag (R^2 zwischen 0.98 und 1) zwischen 58 und 76 Tagen. Die Muscheln vom Sammeltag 1 (R^2 von 0.97) erreichten nach errechneten 105 Tagen die Länge von einem Millimeter und die Muscheln vom Sammeltag 0 (R^2 von 0.75) nach 231 Tagen.

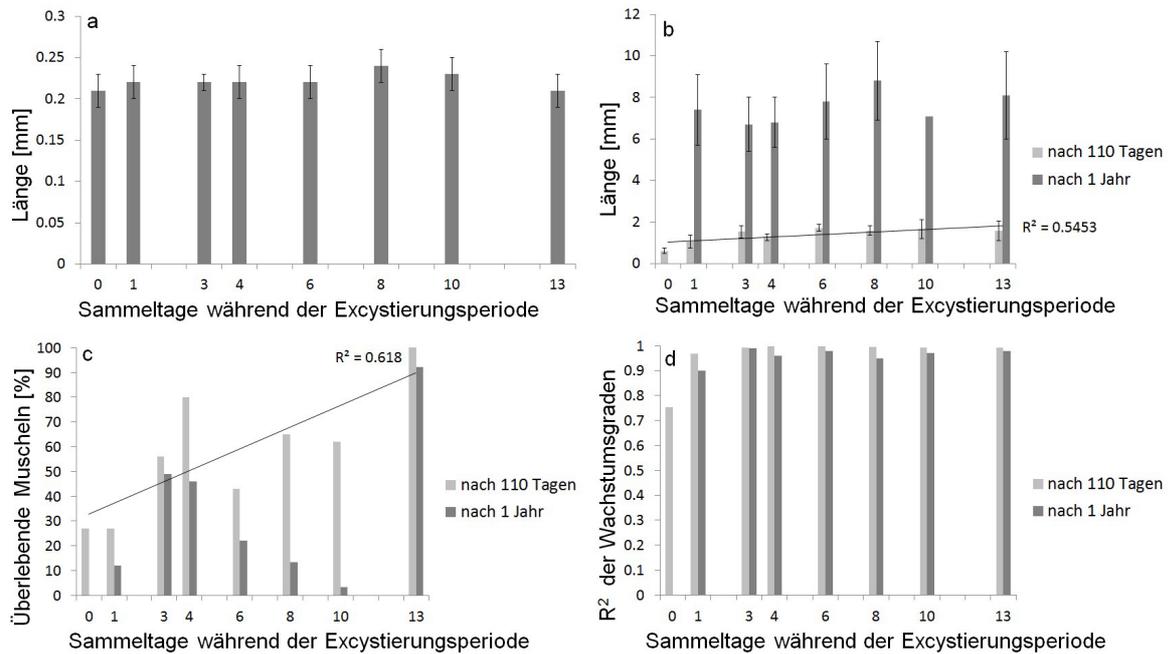


Abbildung 10: a: Durchschnittliche Länge (in mm) von juvenilen Bachmuscheln direkt nach der Excystierung, die während einer Excystierungsperiode gesammelt wurden b: Durchschnittliche Länge (in mm) der juvenilen Bachmuscheln im Alter von 110 Tagen und einem Jahr, c: Überlebensrate (in %) der juvenilen Bachmuscheln nach einer Zeitdauer von 110 Tagen und einem Jahr, d: Regressionskoeffizienten (R^2) der Wachstumsgraden der Muscheln nach 110 Tagen und einem Jahr. N= 110 Elritzen.

3.3.2 Aufzucht in Aquarien

In sechs Aquarien, in die direkt nach der Excystierung jeweils 60 juvenile Bachmuscheln gesetzt wurden, überlebten im Schnitt 59.17 % aller Muscheln innerhalb eines Jahres. Die überlebenden Muscheln in allen Aquarien hatten nach diesem Zeitraum eine durchschnittliche Größe von 1.07 cm (\pm 0.20) erreicht. In Abbildung 11 wurden sowohl die durchschnittlichen Längen der Muscheln als auch die Überlebensraten für jedes Aquarium dargestellt.

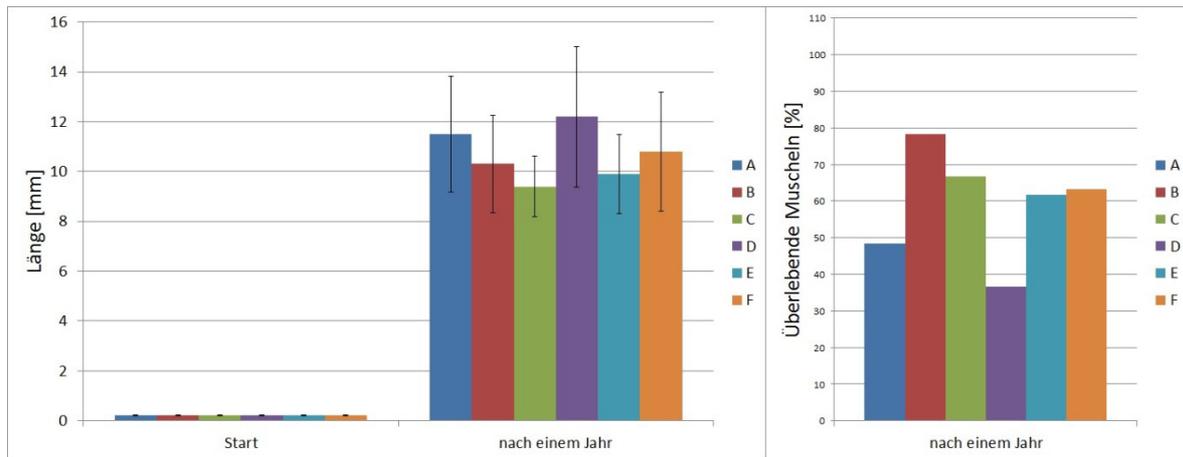


Abbildung 11: Durchschnittliche Längen und Überlebensraten von Bachmuscheln, die für ein Jahr in Aquarien (A-F) aufgezogen wurden (Anzahl pro Aquarium: 60 Muscheln).

3.3.3 Aufzucht in einer Fließrinne in Kieskörben

Verschiedenen Anzahlen und Größen von Bachmuscheln wurden in vier Kieskörben in einer Fließrinne gehältert. Die Wachstums- und die Überlebensraten der Muscheln wurden in Abbildung 12 dargestellt.

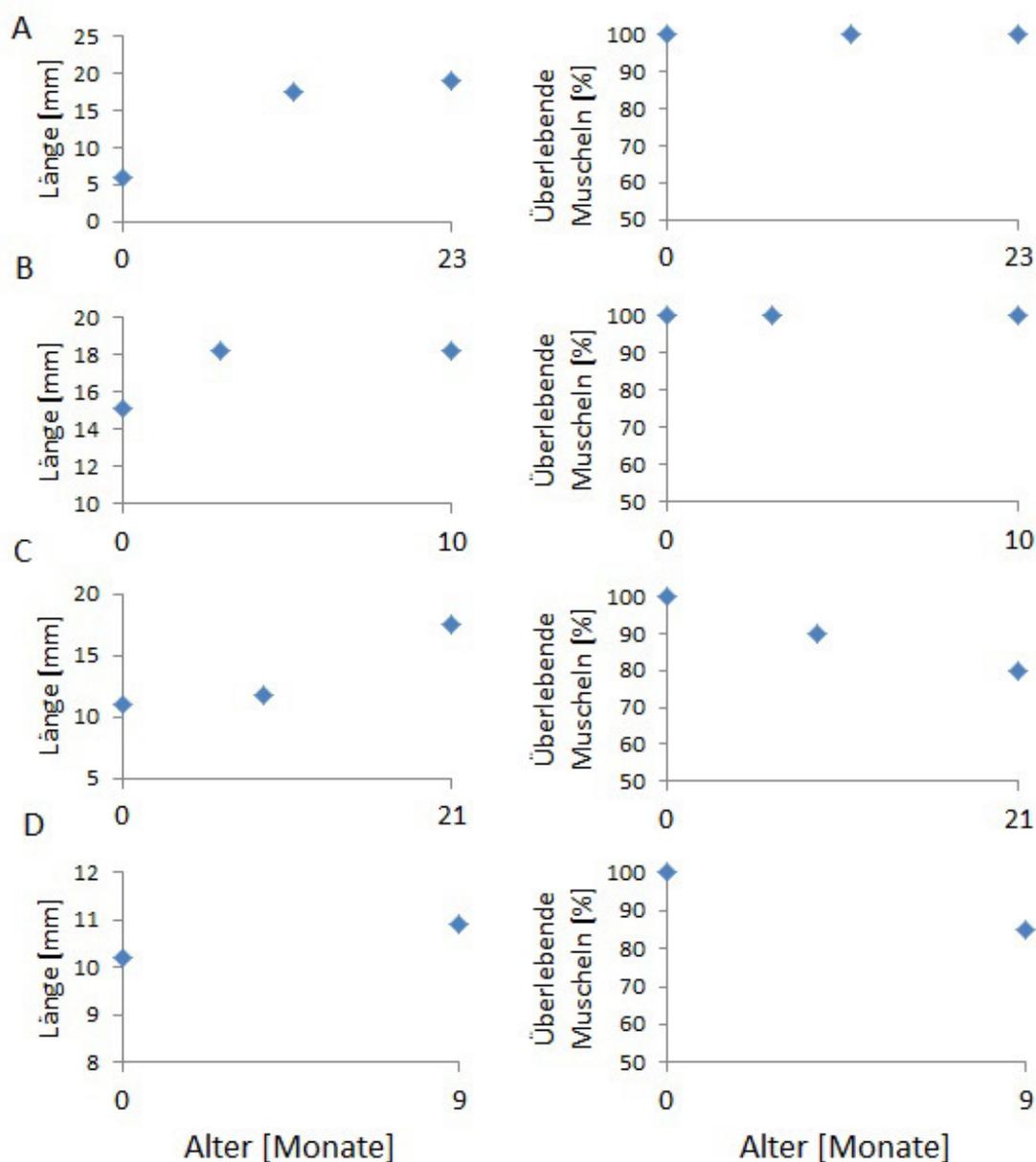


Abbildung 12: Durchschnittliche Länge und Überleben von Bachmuscheln, die in vier Kieskörben (A-D) in einer Fließrinne gehältert wurden.

Der erste der vier Körbe (A) wurde als einziger Korb im Jahr 2011 besetzt und zeigte im ersten Jahr ein Wachstum der Muscheln von durchschnittlich 11.48 mm. In den darauf folgenden 11 Monaten war der Zuwachs mit durchschnittlich 1.63 mm geringer.

In Korb B wuchsen die Bachmuscheln von Anfang Juli 2012 innerhalb von drei Monaten um durchschnittlich 3.07 mm, in den folgenden kälteren Monaten (Oktober bis Mai) erfolgte kein Wachstum.

Sowohl Korb C als auch in Korb D wurden im September 2012 mit Bachmuscheln besetzt, die ebenfalls innerhalb der kälteren Monate bis Ende Mai im Durchschnitt nicht mal einen Millimeter wuchsen. Bei Korb C fand in den darauffolgenden 12 Monaten ein Wachstum von durchschnittlich 5.88 mm statt.

In allen vier Körben gab es Überlebensraten von 85-100 % innerhalb der ersten 9-12 Monate. In Korb A hatten nach 23 Monaten alle Bachmuscheln überlebt.

3.3.4 Aufzucht im Zuchtgraben in Kieskörben

Von allen Bachmuscheln, die im Zuchtgraben gehalten wurden, überlebten 80 – 100 % pro Kieskorb (im Durchschnitt in allen Kieskörben 93.75 %). Die überlebenden Muscheln hatten nach einem Jahr pro Korb durchschnittliche Größen von 2.52 (± 0.17) bis 2.86 cm (± 0.2) erreicht. Dies entspricht durchschnittlichen Zuwachsraten zwischen 0.54 und 0.69 cm pro Kieskorb (im Schnitt 0.63 cm pro Kieskorb). Die Daten wurden in Abbildung 13 dargestellt.

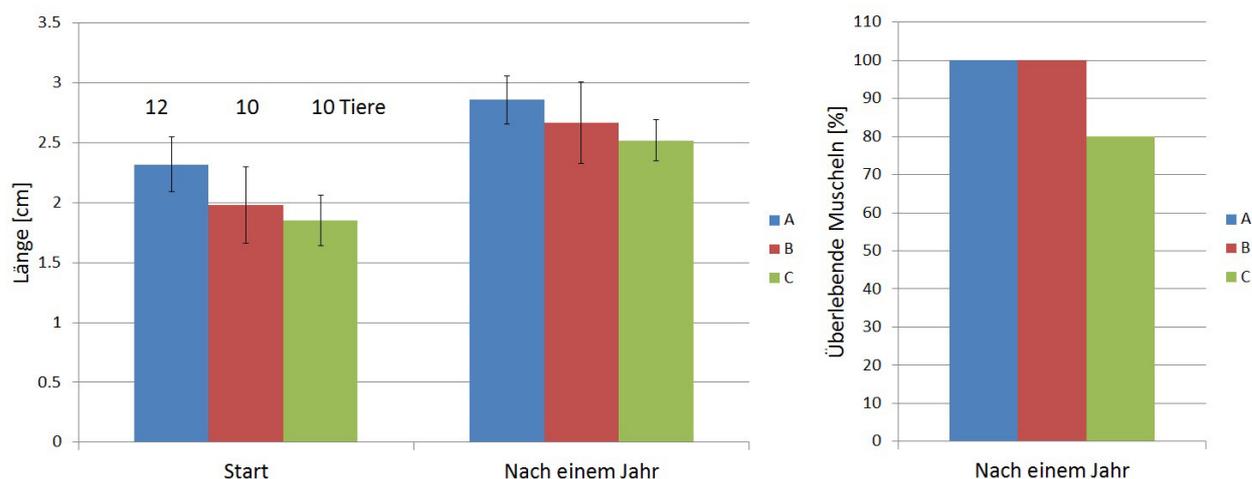


Abbildung 13: Längen und Überlebensraten von jungen Bachmuscheln, die für ein Jahr in Kieskörbchen (A-C) im Zuchtgraben an der Kalborner Mühle (Luxemburg) gehalten wurden.

4 DISKUSSION

4.1. Erzeugung juveniler Bachmuscheln für die Zucht

4.1.1 Wirtsfischinfektion mit Glochidien der Bachmuschel

Laut Hochwald (1997) sind weibliche Bachmuscheln in der Lage mehrmals im Jahr hintereinander Glochidien zu produzieren. Dieses Verhalten wurde auch für die Muschelarten *Unio pictorum* und *Unio tumidus* beobachtet (Fleischauer-Rössing, 1990). Dieses multiple Hervorbringen von Larven während eines Sommers würden Infektionen der Wirtsfische zu verschiedenen Zeitpunkten möglich machen und somit auch Excystierungsperioden zu verschiedenen Zeiten über den Sommer. Leider konnte das multiple Hervorbringen von Larven während eines Jahres für die Bachmuscheln in der Our nicht beobachtet werden.

Als mögliche Wirtsfische für die Bachmuschel kamen die Bachforelle (*Salmo trutta*), (Engel, 1990), Döbel (*Leuciscus cephalus*), Elritze (*Phoxinus phoxinus*), Rotfeder (*Scardinius erythrophthalmus*) (Bednarczuk, 1986; Hochwald, 1997; Maaß, 1987), Stichling (*Gasterosteus aculeatus* und *Pungitius pungitius*) (Engel, 1990; Hochwald 1997), Kaulbarsch (*Gymnocephalus cernua*) (Maaß, 1987) und Groppe (*Cottus gobio*) (Hochwald, 1997) in Frage. All diese Fische wurden bereits als geeignete Wirte für die Bachmuschel ermittelt. Durch Beprobung von Wildfängen an der Our ist bekannt, dass jedes Jahr wilde Elritzen, Groppen und Bachforellen natürlich mit Glochidien der Bachmuschel infiziert sind. Die Entscheidung, Elritzen für die Zucht der Bachmuschel zu nehmen, wurde deshalb getroffen, da sie in genügend hoher Anzahl in der Our vorhanden sind und man sie durch eine Elektrofischerei leicht fangen kann. Außerdem identifizierten Taeubert et al. (2011) und Taeubert et al. (2012) die Elritze (neben *S. cephalus*) als den besten Wirtsfisch für die Bachmuschel, wohingegen die Groppe und die Bachforelle weniger geeignet waren und ungefähr 90% der Glochidien innerhalb von sechzehn Tagen verlieren können (Taeubert et al., 2011). Ähnliches wurde in Vorversuchen an der Our bestätigt.

Die Elritzen, die als Wirtsfische für die Zucht der Bachmuschel an der Our verwendet wurden, hätten bereits in der Our vor ihrer Gefangenschaft mit Glochidien in Berührung kommen können. Die natürliche Prävalenz von Wildfängen betrug in zwei aufeinanderfolgenden Jahren 60% (Daten nicht aufgezeigt). Bei einer Zweitinfektion hätte es dadurch zu einem Glochidienverlust kommen können (Hochwald, 1997). Trotzdem war die Infektion erfolgreich und es konnten ausreichend juvenile Muscheln für die Zucht geerntet werden. Es spricht deshalb nichts gegen die Methode, die Elritzen für die Infektion aus dem Fluss zu entnehmen.

4.1.2 Gewinnung der juvenilen Bachmuscheln

Während der Gewinnungsperiode der Bachmuschel gab es einen „Peak“, zu dem die meisten Muscheln gesammelt werden konnten. Diesen Zeitpunkt für die Muschelsammlung zu finden ist von großem Nutzen, da mit wenig Aufwand an nur einem Tag sehr viele Muscheln für die Zucht gewonnen werden können. Die meisten juvenilen Muscheln konnten in der ersten Hälfte der zweiwöchigen Excystierungsperiode gesammelt werden. Um genug juvenile Bachmuscheln für die Zucht gewinnen zu können, darf dieser kurze Zeitraum von etwa einer Woche nicht verpasst werden.

4.2 Futter für die Aufzucht der Bachmuschel

Als Futter für Süßwassermuscheln wurde nach persönlicher Beratung (Lange, pers. comm. 2009) Detritus verwendet. Außerdem wurde diese Methode bereits von anderen Muschelzüchtern erfolgreich verwendet (Hruska (1999, 2001)). Als weitere Nahrungsquelle wurde eine Algenmischung aus SFD und Nanno verfüttert, da verschiedene Algenarten bereits in anderen Ländern erfolgreich eingesetzt wurden um verschiedene juvenile unionide Muscheln zu züchten (Hudson & Isom, 1984). So wurden zum Beispiel Algenarten wie *Nannochloropsis* sp. (Algenart in Nanno) in zirkulierenden Kultursystemen als primäre Nahrungsquelle verwendet (Gatenby *et al.*, 1996; O'Beirn *et al.*, 1998; Barnhart, 2006). Eine Mischung von verschiedenen Algenarten resultiert normalerweise in höheren Wachstums- und Überlebensraten im Vergleich zur Fütterung von nur einer einzigen Algenart (Brown *et al.*, 1997; Romberger & Epifanio, 1981). In dieser Arbeit wurden käuflich erworbene Algen für die Zucht der Muscheln bevorzugt, da die Algenzucht zeitaufwändig und deshalb teuer ist.

4.2.1 Nährstoffzusammensetzung von Algen und Detritus

Die vom Hersteller angegebenen und selber ermittelten Nährstoffwerte in den Algen unterschieden sich teilweise deutlich. Leider wurde vom Hersteller nicht angegeben, mit welchen Methoden die Nährstoffanalysen durchgeführt wurden, so dass hier kein direkter Vergleich gemacht werden kann. So könnte beispielsweise bei der Proteinbestimmung die Verwendung eines anderen empirischen Faktors das Ergebnis verändert haben, obwohl vielleicht ebenfalls die Methode nach Kjeldahl (Bock, 1972; Hoegger, 1998) verwendet wurde. Bei der Kohlenhydrat-Analyse ist außerdem nicht bekannt, ob bei der Herstellerangabe auch die Polysaccharide miteinbezogen wurden, diese wurden bei der eigenen Analyse nicht berücksichtigt. Und auch bei den Lipiden können unterschiedliche Methoden zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben. Der Hersteller hatte außerdem die Möglichkeit, die Nährstoffanalysen an frisch gezüchteten Algen vorzunehmen, während die selber durchgeführten Analysen an bereits älteren Produkten durchgeführt wurden. So war die SFD-Probe bereits seit über einem Monat im Kühlschrank bei 7°C gelagert worden und die Nanno-Probe bei -18°C einige Monate eingefroren, wodurch sich Veränderungen im Nährstoffgehalt ergeben haben könnten.

Der zur Zucht verwendete Detritus bestand zum größten Teil aus anorganischer Substanz (Asche) und enthielt außerdem einen viel geringeren Gehalt an Proteinen, Lipiden und Kohlenhydraten, als die beiden Algenprodukte, woraus sich schließen lässt, dass er als alleinige Futterquelle weniger gut geeignet ist. Als ergänzende Futterquelle könnte Detritus jedoch einige Stoffe zur Verfügung stellen, die in SFD und Nanno nicht vorkommen. So könnten z.B. zusätzliche Algenarten, Bakterien und Pilze andere Nährstoffe liefern als die Grünalgen und Kieselalgen in SFD und Nanno. Zudem haben die natürlicherweise im Detritus vorkommenden Tonminerale die Eigenschaft, Kalium, Kalzium und Magnesium zu binden und so einen Speicher für verschiedene Elemente zu bilden (Kelley, 1942). Zusätzlich können auch Verbindungen wie Aminosäuren und Zucker an die Oberfläche von Partikeln binden (Weiss, 1969), wodurch juvenile Muscheln, die Feinsediment aufnehmen, mit Mineralien und essentiellen Nährstoffen versorgt werden könnten, die sie für ein optimales Wachstum und Überleben brauchen.

4.3 Aufzucht der Bachmuschel

Während die Flussperlmuschel bereits von einigen Forschern erfolgreich gezüchtet wurde und wird gibt es für die Bachmuschel keine oder kaum Züchterfahrungen mit denen man die erzielten Ergebnisse vergleichen kann. Nach unserem Wissen, waren die Zuchtversuche an der Our die ersten ihrer Art, um Elritzen mit Bachmuschelglochidien künstlich zu infizieren und die gewonnenen Muscheln im Labor aufzuziehen.

4.3.1 Aufzucht in Plastikboxen

Mit der Boxenmethode wurden bereits gute Erfolge mit der Flussperlmuschel gemacht (Eybe, 2013). Um Nahrungskonkurrenz in den Boxen zu verhindern, wurden nur jeweils 100 Individuen pro Box gehältert. Die Bachmuscheln in den Boxen erreichten durchschnittliche Längen von 0.60 bis 1.72 mm nach 110 Tagen. Im Vergleich hierzu erreichten juvenile Flussperlmuscheln unter denselben Bedingungen eine durchschnittliche Länge von 0.86 bis 1.48 mm. Dadurch, dass die Bachmuscheln direkt nach der Excystierung durchschnittlich nur zwischen 0.21 und 0.24 mm groß waren, die Flussperlmuscheln jedoch zwischen 0.31 und 0.38 mm, zeigt sich, dass Bachmuscheln unter denselben Bedingungen (Anzahl Individuen, Futtermenge, 500-ml Boxen) schneller wachsen als Flussperlmuscheln. Dies bestätigte sich auch nach einem Jahr, in dem die Bachmuscheln durchschnittliche Längen von 6.7 bis 8.8 mm erreichten, jedoch Flussperlmuschel, die ebenfalls in Boxen aufgezogen wurden, nur eine Länge von etwa 4 mm.

Je später die Bachmuscheln in der Excystierungsperiode gesammelt wurden, desto besser waren die Zuchtaussichten. Sie waren nach 110 Tagen signifikant größer und hatten bessere Überlebensraten, verglichen mit den Muscheln, die am Anfang der Excystierungsperiode gesammelt wurden. So war an den ersten beiden Sammeltagen die Überlebensrate mit nur 27% innerhalb von 110 Tagen am niedrigsten. Die Überlebensraten waren für die anderen Sammeltage mit bis zu 100% gut.

Die Höhe der Regressionskoeffizienten der Wachstumsgeraden, die für die Bachmuscheln an verschiedenen Sammeltagen ermittelt wurden, korrelierte nicht nur mit dem Wachstum der Muscheln, sondern auch mit den Überlebensraten. So wurde für die Muscheln von Tag 0 der niedrigste Regressionskoeffizienten von 0.75 ermittelt (alle anderen zwischen 0.97 und 1.00) und nach einem Jahr war keine mehr von ihnen am Leben. Somit scheint ein niedriger Regressionskoeffizient auf eine geringere Fitness der Muscheln hinzuweisen.

Bei der Bachmuschel konnte man keinen signifikanten Anstieg der Länge feststellen, je länger die Muscheln auf den Fischen während der Excystierungsperiode blieben, was jedoch wahrscheinlich damit zusammen hing, dass Bachmuschelglochidien während ihrer parasitären Phase auf dem Wirtsfisch generell kaum wachsen (Maaß, 1987; Taeubert, 2011), so sind auch Bachmuscheln aus der Our bei der Excystierung kaum größer als die Glochidien bei der Encystierung (Glochidien: ca. 200 µm, juvenile Muscheln 0.21 bis 0.24 µm).

Das durch lineare Regression ermittelte Alter der Muscheln, in dem sie die durchschnittliche Größe von einem Millimeter erreichten, betrug, wenn man die ersten beiden Sammeltage vernachlässigt, nur zwischen 58 und 76 Tagen. Ob die Größe von einem Millimeter, ähnlich wie bei der Flussperlmuschel (Buddensiek, 1991; Lange & Selheim, 2011) ausschlaggebend für das Überleben der Bachmuscheln z.B. im ersten Winter ist, ist nicht bekannt, jedoch ist der Umgang mit den Muscheln für den Züchter ab dieser Größe einfacher, da sie mit bloßem Auge recht gut zu erkennen sind.

Nach einem Jahr hatte von allen in einer Gewinnungsperiode gesammelten Bachmuscheln nicht mal ein Viertel überlebt. Ein Grund für diese geringe Überlebensrate könnte zum Beispiel sein, dass die Futterkonzentration in den Boxen nicht hoch genug war. Außerdem liegen die Bachmuscheln in den

Plastikboxen ohne Substrat auf der Seite und müssen gegen die Schwerkraft ihre Schalen durch Muskelkraft öffnen, um Nahrung aufnehmen (filtrieren) zu können. Eventuell sind Bachmuscheln in diesem Alter aber auf ein Substrat angewiesen, in dem sie sich aufrichten können und auf eine Strömung, die ihnen Nahrung zuträgt.

Das Aussetzen der Fütterung der Wirtsfische während der Excystierungsperiode hatte scheinbar keinen negativen Effekt auf die juvenilen Bachmuscheln, da sogar die Muscheln, die später von den Fischen fielen und demzufolge noch auf Wirtsfischen parasitieren, die wahrscheinlich schon Hungerstress hatten, die besseren Überlebenschancen nach 110 Tagen zeigten und auch größer waren. Deswegen ist bei der Bachmuschelgewinnung das Aussetzen der Wirtsfischfütterung zu empfehlen.

4.3.2 Aufzucht in Aquarien

Innerhalb eines Jahres überlebten fast 60% aller Bachmuscheln in Aquarien. Möglicherweise wäre die Überlebensrate der Bachmuscheln noch besser gewesen, wenn sie zu Beginn des Experiments größer (ca. 1 mm) gewesen wären. Die Möglichkeit, dass eine Muschel beim Wasserwechsel oder beim Herabfallen einer Pumpe mit Sand verschüttet wurde und starb erscheint bei kleineren Muscheln größer zu sein, da sie eventuell Schwierigkeiten haben, sich wieder auszugraben.

Die Bachmuscheln erreichten innerhalb eines Jahres durchschnittliche Längen von 1.07 cm, was als gut zu bewerten ist, da sie mit dieser Größe problemlos in Kieskörbe gesetzt werden können.

4.3.3 Aufzucht in einer Fließrinne mit Kieskörben

Die Muscheln zeigten nach 9-12 Monaten Überlebensraten von 85 bis 100 % was als gut angesehen werden kann.

Der durchschnittliche Längenzuwachs der Bachmuscheln in zwei Körben um 5.88 und 11.48 mm innerhalb eines Jahres kann mit gut bewertet werden.

Warum die Bachmuscheln aus Korb A in den ersten 12 Monaten einen deutlich stärkeren durchschnittlichen Zuwachs erfuhren als in den darauf folgenden elf ist nicht eindeutig zu klären. Vermutlich verursachten wetterbedingte Schwankungen in beiden Jahren unterschiedliche Futterkonzentrationen.

Aus den Ergebnissen kann man außerdem entnehmen, dass die Hauptwachstumszeit von Bachmuscheln aus der Our in den warmen Monaten liegt (ca. Juni bis September), in den kalten Monaten (ca. Oktober bis Mai) findet kein beziehungsweise kaum Wachstum statt.

Die Bachmuscheln in den Körben C und D zeigten, trotzdem sie erst im September hineingesetzt wurden, gute Überlebensraten. Somit scheint der Bachmuschel das spätere Umsetzen im Jahr (im Gegensatz zur Flussperlmuschel) nicht zu schaden. Solange die Temperatur nicht mehr als 3°C von der vorherigen abweicht, können Bachmuscheln deshalb scheinbar problemlos von Boxen im klimatisiertem Labor in eine Fließrinne umgesiedelt werden, in der natürliche, mit den Jahreszeiten schwankende Temperaturen herrschen.

4.3.4 Aufzucht im Zuchtgraben mit Kieskörben

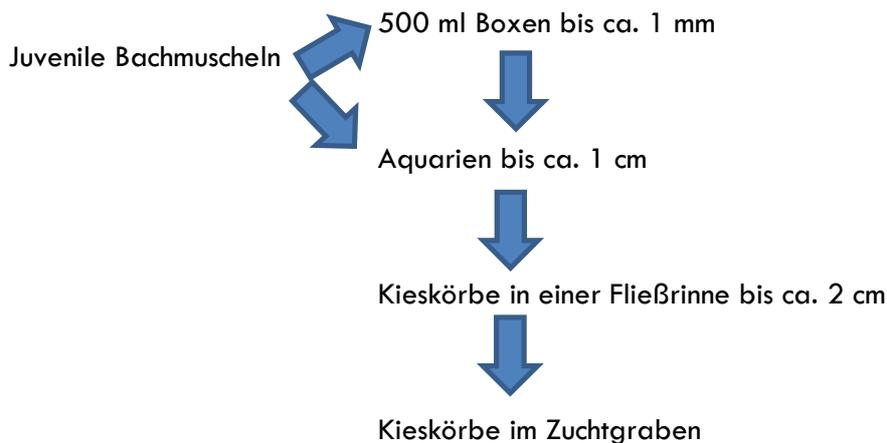
Im Gegensatz zur Flussperlmuschel, die sich in Kieskörben in der fließenden Welle meistens einige Zentimeter tief eingräbt, saßen die Bachmuscheln stets nahe der Kiesoberfläche und waren zu sehen. Normalerweise gelang es ihnen außerdem, ihre Ein- und Ausströmöffnungen an der Oberfläche des Schlammes zu halten, der regelmäßig den Kies überdeckte. Durch dieses Verhalten haben Bachmuscheln sicherlich einen Vorteil gegenüber Flussperlmuscheln, da sie nicht so leicht von Schlamm überdeckt werden können, der plötzlich, z.B. durch einen starken Regen, angespült wird. So kommen sie seltener in die Gefahr zu ersticken oder vom Futter abgeschnitten zu sein. Es überlebten im Zuchtgraben insgesamt 93.75% aller Bachmuscheln in einem Jahr. Dies ist ein sehr gutes Ergebnis.

Auch der Zuwachs (durchschnittlich 0.63 cm pro Kieskorb) der Bachmuscheln war zufriedenstellend. So hatten die Bachmuscheln nach einem Jahr durchschnittliche Größen von 2.52 (± 0.17) bis 2.86 cm (± 0.2) erreicht.

5 ZUSAMMENFASSUNG, AUSBLICK

Für die Zucht der Bachmuschel konnten folgende Erkenntnisse gewonnen werden:

- Die Glochidien-Infektion kann mit einheimischen, im Fluss gefangenen, Elritzen vorgenommen werden.
- Während der Gewinnung/Excystierungsperiode sollten die Wirtsfische nicht gefüttert werden, da die Sammelnetze sonst verstopfen. Die Muscheln haben dadurch scheinbar keine Nachteile.
- Die Muscheln, die in den allerersten Tagen während einer Excystierungsperiode von den Elritzen fallen, haben eine schlechte Überlebenschance und wachsen langsam. In sie sollte nicht zu viel Zeit für die Zucht investiert werden. Die etwas späteren Muscheln sind fit und für die intensive Zucht geeignet.
- Der kurze Zeitraum von etwa einer Woche, in dem die meisten Muscheln excystieren, sollte nicht verpasst werden.
- Für die Aufzucht ergibt sich folgende optimale Reihenfolge von Hälterungsmethoden:



6 REFERENZEN

- Barnhart MC. 2006. Buckets of muckets: A compact system for rearing juvenile freshwater mussels. *Aquaculture* 254: 227-233.
- Bauer G, Wächtler K. 2001. Ecology and evolution of the freshwater mussels Unionoida, *Ecological Studies*, Vol. 145. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Bednarczuk J. 1986. Untersuchungen zu Wirtsfischspektrum und Entwicklung der Bachmuschel *Unio crassus*. Dissertation im Fach Tiermedizin. Institut für Zoologie der tierärztlichen Hochschule Hannover.
- Bock R. 1972. Aufschlussmethoden der anorganischen und organischen Chemie, Verlag Chemie, Weinheim, S.142-145.
- Bolland JD, Bracken LJ, Marin R, Lucas MC. 2010. A protocol for stocking hatchery reared freshwater pearl mussel *Margarifera margaritifera*. *Aquaticconservation: Marine andFreshwaterEcosystems* 20: 695-707.
- Brim Box J, Howard J, Wolf D, O'Brien C, Nez D, Close D. 2006. Freshwater mussels (Bivalvia: Unionoida) of the Umatilla and Middle Fork John Day Rivers in Eastern Oregon. *Northwest Science* 80: 95-107.
- Brown MR, Jeffrey JSW, Vilkmann JK, Dunstan GA. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.
- Buddensiek V. 1991. Untersuchungen zu den Aufwuchsbedingungen der Flußperlmuschel *Margaritifera margaritifera* L. (Bivalvia) in ihrer frühen postparasitären Phase. PhD Thesis, University of Hannover, Germany.
- Ehrmann P. 1933. Mollusca. In: Brohmer, P., Ehrmann, P., Ulmer, G. *Die Tierwelt Mitteleuropas*, 2(1), 224-227.
- Engel H, Wächtler K. 1990. Ökologische Ansprüche und Gefährdungen von *Unio crassus* (Philipsson) und *Pseudoanadonta complanata* (Rossmässler). *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft* 85:16.
- Eybe T, Thielen F, Bohn T, Sures B. 2013. The first millimeter – rearing of juvenile freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) in plastic boxes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 23: 964-975.
- Fleischauer-Rössling S. 1990. Untersuchungen zur Autökologie von *Unio tumidus* Philipsson und *Unio pictorum* Linneus (Bivalvia) unter Berücksichtigung der frühen postparasitären Phase. Dissertation im Fachbereich Biologie an der Universität Hannover.
- Gatenby CM, Neves RJ, Parker BC. 1996. Influence of sediment and algal food on cultured juvenile freshwater mussels. *Journal of the North American Benthological Society* 15: 597-609.

Geyer D. 1927. Unsere Land- und Süßwassermollusken. Lutz, Stuttgart.

Gum B, Lange M, Geist J. 2011. Acritical reflection on the success of rearing and culturing juvenile freshwater mussels with a focus on the endangered freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.). Aquatic conservation: Marine and freshwater ecosystems 21: 743-751.

Gum B, Hochwald S, Rudolph BU, Sachteleben J. 2012. Leitfaden Bachmuschelschutz. Umwelt Spezial. Bayerisches Landesamt für Umwelt (LfU). 115pp.

Groh K Weitmann G. 2004. Najadenuntersuchung Luxembourg. Drittes Untersuchungsjahr. Unpublished report. Service de la Gestion de l'eau Luxembourg

Hochwald S. 1997. Populationsökologie der Bachmuschel (*Unio crassus*). Bayreuther Forum Ökologie, PhD thesis.

Hochwald S, Bauer G. 1990. Untersuchungen zur Populationsökologie und Fortpflanzungsbiologie der Bachmuschel *Unio crassus* (PHIL.) 1788. Schriftenreihe Bayerisches Landesamt für Umweltschutz Heft 97:31-49; München.

Hoegger R. 1998. Training Papers Nitrogen determination according to Kjeldahl, Büchi Labortechnik AG, Flawil, S. 1-18.

Hruska J. 1999. Nahrungsansprüche der Flußperlmuschel und deren halbnatürliche Aufzucht in der Tschechischen Republik. Helda 6/4: 69-79.

Hruska J. 2001. Experience of semi-natural breeding program of freshwater pearl mussel in the Czech Republic. Die Flussperlmuschel in Europa: Bestandssituation und Schutzmaßnahmen. Kongressband. WWA Hof, Albert-Ludwigs Universität: Freiburg; 69-75.

Hudson RG, Isom BG. 1984. Rearing juveniles of freshwater mussels (Unionidae) in a laboratory setting. Nautilus 98: 129-135.

Jäckel SH. 1962. Ergänzungen und Berichtigungen zum rezenten und quartären Vorkommen der mitteleuropäischen Mollusken. In: Brohmer, P., Ehrmann, P., Ulmer, G. Die Tierwelt Mitteleuropas, 2(1), 206-207.

Kelley WP. 1942. Modern clay researches in relation to agriculture. Journal of Geology 50: 307-319.

Lange M, Selheim H. 2011. Growing factors of juvenile freshwater pearl mussels and their characteristics in selected pearl mussel habitats in Saxony (Germany). Ferrantia 64: 30-37.

Maaß S. 1987. Untersuchungen zur Fortpflanzungsbiologie einheimischer Süßwassermollusken der Gattung *Unio*. Dissertation im Fach Tiermedizin am Zoologischen Institut der tierärztlichen Hochschule Hannover.

Nagel KO. 1988. Anatomische, morphologische und biolchemische Untersuchungen zur Taxonomie und Systematik der europäischen Unionacea (Mollusca: Bivalvia). Dissertation Gesamthochschule Kassel.

Neves RJ, Bogan AE, Williams JD, Ahlstedt SA, Hartfield PW. 1997. Status of aquatic mollusks in the southeastern United States: a downward spiral of diversity. In: Aquatic fauna in peril: The southeastern perspective. Special Publication 1, Southeast Aquatic Research Institute (Eds G.W. Benz and D.E. Collins), pp. 44-86, Lenz Design and Communications, Decatur, Georgia, USA.

O'Beirn FX, Neves RJ, Steg MB. 1998. Survival and growth of juvenile freshwater mussels (Unionidae) in a recirculating aquaculture system. *American Malacological Bulletin* 14: 165-171.

Preston SJ, Keys A, Roberts D. 2007. Culturing freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera*: a breakthrough in the conservation of an endangered species. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 17: 539-549.

Romberger HP, Epifanio CE. 1981. Comparative effects of diets consisting of one or two algal species upon assimilation efficiencies and growth of juvenile oysters, *Crassostrea gigas* (Gmelin). *Aquaculture* 25: 77-87.

Schnitter H. 1922. Die Najaden der Schweiz. *Revue d'Hydrobiologie, Supplement.*, II, 1-201.

Tæubert J, Gum B, Geist J. 2011. Host-specificity of the endangered thick-shelled river mussel (*Unio crassus*, Philipsson 1788) and implications for conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 22: 36-46.

Tæubert J, Posada Martinez AM, Gum B, Geist J. 2012. The relationship between endangered thick-shelled river mussel (*Unio crassus*) and its host fishes. *Biological Conservation* 155: 94-103.

Tudorancea C, Gruia L. 1968. Observations on the *Unio crassus* Philipsson Population from the Nera River. *Trav. Mus. Hist. Grig. Antipa*, 8, 381-394.

Weiss A. 1969. Organic derivatives of clay minerals, zeolites, and related minerals. In: *Organic geochemistry, methods and results* (Eds G. Elington and M.T.J. Murphy), pp. 737-775, Springer-Verlag, New York.

Zettler ML, Jueg U. 2007. The situation of the freshwater mussel *Unio crassus* (Philipsson, 1788) in north-east Germany and its monitoring in terms of the EC Habitats Directive. *Mollusca* 25 (2), 165-174.

Zwanziger G. 1920. Über die Verbreitung der Najaden im Gebiet der sächsischen Saale bei Hof. *Archiv für Molluskenkunde* 52: 14-33.

Ziuganov V, Zotin A, Nezlin L, Tretiakov V. 1994. The Freshwater Pearl Mussels and their relationships with salmonid fish. In: VNIRO Publishing House, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow.