

# Toleranz der Pazifischen Auster (*Crassostrea gigas*) gegenüber Klimawandel relevanten, multiplen Umweltstressoren

Bachelorarbeit im Einfach-Bachelorstudiengang Biologie  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von Susanne Machura

Erstgutachter: Prof. Dr. Ulrich Sommer  
Zweitgutachter: Prof. Dr. Wolfgang Bilger

Kiel im Dezember 2010



# Inhaltsverzeichnis

|   |           |
|---|-----------|
| Inhaltsverzeichnis.....   | 2         |
| Vorwort.....  | 5         |
| <b>1. Einleitung.....</b>   | <b>6</b>  |
| 1.1 Klimawandel und Umweltstress.....   | 6         |
| 1.2 Definition und Bedeutung invasiver Organismen.....  | 6         |
| 1.3 Invasionsgeschichte von <i>C. gigas</i> im europäischen Wattenmeer.....   | 6         |
| 1.4 Die Biologie von <i>C. gigas</i> .....  | 8         |
| 1.5 Vergleich der Toleranz gegenüber Umweltstress innerhalb der Art <i>C. gigas</i> .....   | 8         |
| 1.6 Das Stresskonzept bei Tieren.....   | 9         |
| 1.7 Einzelne und multiple Stressoren.....   | 10        |
| 1.8 Wahl der Stressoren für die Experimente.....  | 10        |
| 1.8.1 Wärmestress.....  | 10        |
| 1.8.2 Hypoxie.....  | 11        |
| 1.9 Die Stressantwort von <i>C. gigas</i> .....   | 11        |
| 1.9.1 Allgemeine Stressantwort .....  | 11        |
| 1.9.2 Spezifische Stressantwort bei Wärmestress.....  | 11        |
| 1.9.3 Spezifische Stressantwort bei Hypoxie.....  | 12        |
| 1.10 Die Fragestellungen der Bachelorarbeit.....  | 13        |
| <b>2. Material und Methoden.....</b>  | <b>14</b> |
| 2.1 Beschaffung und Akklimatisierung der Versuchstiere.....   | 14        |
| 2.1.1 Adulte <i>C. gigas</i> aus dem Intertidal bei Sylt, Deutschland.....  | 14        |
| 2.1.2 Juvenile <i>C. gigas</i> von einer Austernfarm auf Guernsey, UK.....  | 14        |
| 2.1.3 Juvenile <i>C. gigas</i> aus einer Austernfarm in Akkeshi, Japan.....   | 15        |
| 2.2 Experimentelles Design.....   | 15        |
| 2.2.1 Toleranz adulter <i>C. gigas</i> gegenüber multiplen Umweltstressoren.....  | 15        |
| 2.2.2 Vergleich der Toleranz von eingeführten und nativen, juvenilen <i>C. gigas</i><br>gegenüber multiplen Umweltstressoren..... | 16        |
| 2.2.2.1 Eingeführte, juvenile <i>C. gigas</i> .....   | 16        |
| 2.2.2.2 Native, juvenile <i>C. gigas</i> .....  | 17        |
| 2.3 Experimente .....   | 18        |
| 2.3.1 Toleranz adulter <i>C. gigas</i> gegenüber multiplen Umweltstressoren .....   | 18        |
| 2.3.2 Toleranz juveniler <i>C. gigas</i> gegenüber multiplen Umweltstressoren .....   | 19        |
| 2.3.2.1 Juvenile <i>C. gigas</i> aus einer Austernfarm auf Guernsey, UK .....   | 19        |
| 2.3.2.2 Juvenile <i>C. gigas</i> aus einer Austernfarm in Akkeshi, Japan .....  | 20        |
| 2.4 Tabellarische Zusammenfassung .....   | 22        |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.5 Statistische Analyse .....  | 23        |
| <b>3. Ergebnisse .....</b>  | <b>23</b> |
| 3.1 Toleranz adulter Austern einer invasiven Population gegenüber Wärmestress und Hypoxie .....                               | 23        |
| 3.1.1 Mortalität während der ersten Versuchsphase .....   | 23        |
| 3.1.2 Mortalität während der zweiten Versuchsphase .....  | 23        |
| 3.2 Vergleich der Toleranz juveniler Austern gegenüber Hypoxie gefolgt von Wärmestress .....                                  | 27        |
| 3.2.1 Mortalität während der ersten Stressphase .....   | 27        |
| 3.2.1.1 Eingeführte <i>C. gigas</i> aus Guernsey,UK.....  | 27        |
| 3.2.1.2 Native, juvenile <i>C. gigas</i> aus Akkeshi, Japan .....   | 27        |
| 3.2.1.3 Direkter Vergleich der beiden Populationen .....  | 27        |
| 3.2.2 Mortalität während der zweiten Stressphase .....  | 29        |
| 3.2.2.1 Eingeführte <i>C. gigas</i> aus Guernsey,UK .....   | 29        |
| 3.2.2.2 Native, juvenile <i>C. gigas</i> aus Akkeshi, Japan .....   | 29        |
| 3.2.2.3 Direkter Vergleich beider Populationen .....  | 30        |
| <b>4. Diskussion.....</b>   | <b>33</b> |
| 4.1 Toleranz invasiver, adulter <i>C. gigas</i> gegenüber multiplen Umweltstressoren.....                                     | 33        |
| 4.1.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....   | 33        |
| 4.1.2 Beantwortung der Fragestellung.....   | 33        |
| 4.1.3 Interpretation des Ergebnisse.....  | 33        |
| 4.1.4 Fazit .....   | 34        |
| 4.1.5 Ausblick.....   | 34        |
| 4.2 Vergleich der Toleranz von eingeführten und nativen, juvenilen <i>C. gigas</i> gegenüber multiplen Umweltstressoren.....  | 34        |
| 4.2.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....   | 34        |
| 4.2.2 Beantwortung der Fragestellung.....   | 35        |
| 4.2.3 Einordnung in das Forschungsgebiet.....   | 35        |
| 4.2.3.1 Genetische Diversität in eingeführten und nativen Populationen von <i>C. gigas</i> .....                              | 35        |
| 4.2.3.2 Kreuztoleranz.....  | 36        |
| 4.2.4 Fazit .....   | 37        |
| 4.2.5 Ausblick .....  | 37        |
| 4.3 Vergleich der Toleranz von juvenilen und adulten <i>C. gigas</i> gegenüber einzelnen und multiplen Umweltstressoren ..... | 37        |
| 4.3.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....   | 37        |

|   |           |
|---|-----------|
| 4.3.2 Beantwortung der Fragestellung.....     | 38        |
| 4.3.3 Einordnung in das Forschungsgebiet..... | 38        |
| 4.3.4 Fazit.....                              | 39        |
| 4.3.5 Ausblick.....                           | 39        |
| <b>5. Literaturverzeichnis.....</b>           | <b>41</b> |
| <b>6. Danksagung.....</b>                     | <b>48</b> |
| <b>7. Erklärung.....</b>                      | <b>49</b> |

## Vorwort

Diese Bachelorarbeit wurde im Rahmen des Projekts „Global Approach by Modular Experiments“ (GAME) durchgeführt, das vom Leibniz-Institut für Meereswissenschaften (IFM-GEOMAR) in Kiel (Prof.Dr. Martin Wahl, Dr.Mark Lenz) in Kiel koordiniert wird. Das 8.GAME Projekt befasst sich mit der Frage ob invasive Populationen verschiedenster Meeresorganismen toleranter gegenüber Umweltstress sind als Populationen derselben Art aus dem Ursprungsgebiet. Ein Teil der in dieser Bachelorarbeit verwendeten Rohdaten wurden von Haruka Kagiwada und Andreas Pansch in der Marine Station der Universität Hokkaido in Akkeshi erhoben. Die Verwendung dieser Daten geschieht mit ihrem Einverständnis.

## 1. Einleitung

### 1.1 Klimawandel und Umweltstress

Eine zentrale Forschungsfrage des 21. Jahrhunderts ist, wie sich der Klimawandel auf die Ökosysteme und ihre Bewohner auswirken wird. Denn durch den Klimawandel hervorgerufen, werden für dieses Jahrhundert extreme Wetter- und Klimaereignisse prognostiziert. Dazu gehören etwa eine höhere maximale Lufttemperatur, eine niedrigere, minimale Lufttemperatur, eine Zunahme der Niederschläge sowie der Anstieg des Meeresspiegels (IPPC, 2001). Überschreiten solche Extremereignisse die Toleranzgrenze eines Organismus, erfährt dieser einen lethalen Umweltstress. Aus diesem Grunde hat die Erforschung der Toleranz von Organismen gegenüber Umweltstress wieder an Relevanz gewonnen. Grundlagenforschung auf diesem Gebiet soll helfen, die Auswirkungen, die der Klimawandel auf die Lebewesen haben wird, abzuschätzen. Für diese Bachelorarbeit wurde als Modellorganismus die Pazifische Auster (*Crassostrea gigas*) gewählt.

### 1.2 Definition und Bedeutung invasiver Organismen

*C. gigas* ist keine einheimische Art in Deutschland, es handelt sich vielmehr um eine invasive Art. Nach Kolar & Lodge (2001) ist der Gebrauch des Begriffs „invasive Art“ nicht einheitlich. Die beiden Autoren definieren den Begriff folgendermaßen: „Eine invasive Art ist eine nicht einheimische Art, die sich ausgehend von dem Ort ihrer Einführung[in einem Ökosystem] ausbreitet und abundant wird.“ Der entscheidende Unterschied zwischen einer eingeführten und einer invasiven Art besteht also im Grad der Ausbreitung ausgehend vom Ort der Einführung. Die eingeführte Art bleibt auch nach Jahren oder Jahrzehnten auf die nähere Umgebung des Ortes der Einführung beschränkt, während die invasive Art neue Gebiete für sich erschließt. Eine alternative Definition nach Roman & Darling (2007) formuliert es so: „Eine invasive Art ist eine eingeführte Art, die sich außerhalb ihres einheimischen Verbreitungsgebiet etablieren kann und vermutlich ökologischen oder wirtschaftlichen Schaden anrichten wird.“ Zu den ökologischen Schäden zählt man etwa die physikalische Veränderung des Substrats durch das Wachstum von Seegräsern oder die Entstehung von Riffen durch riffbildende Arten. Auch eine chemische Veränderung des Habitats gehört dazu, wie sie durch invasive Algen und Filtrierer entsteht, die den Nährstoffzyklus verändern können. Arten, die dazu in der Lage sind, bezeichnet man auch als Habitatsbildner (Wallentinus & Nyberg, 2007). Wirtschaftliche Schäden sind vor allem aus der Aquakultur, Landwirtschaft und Tierzucht bekannt, wenn invasive Arten die kultivierten Arten infizieren bzw. Töten (Lockwood et al., 2007). Um ökologischen und wirtschaftlichen Schaden abzuwenden, gehen die wissenschaftlichen Anstrengungen in die Richtung, die allgemeinen Eigenschaften eines Organismus, die er für eine erfolgreichen Invasion benötigt, benennen zu können (Sakai et al., 2001). Denn nicht jede eingeführte Art besitzt das Potential sich in einem fremden Lebensraum zu etablieren. Es stellt sich also die Frage wodurch ein potentiell invasiver Organismus gekennzeichnet ist, so dass man voraussagen kann welcher Organismus in welchem

Ökosystem invasiv werden könnte (Kolar & Lodge, 2001).

### 1.3 Invasionsgeschichte von *C. gigas* im europäischen Wattenmeer

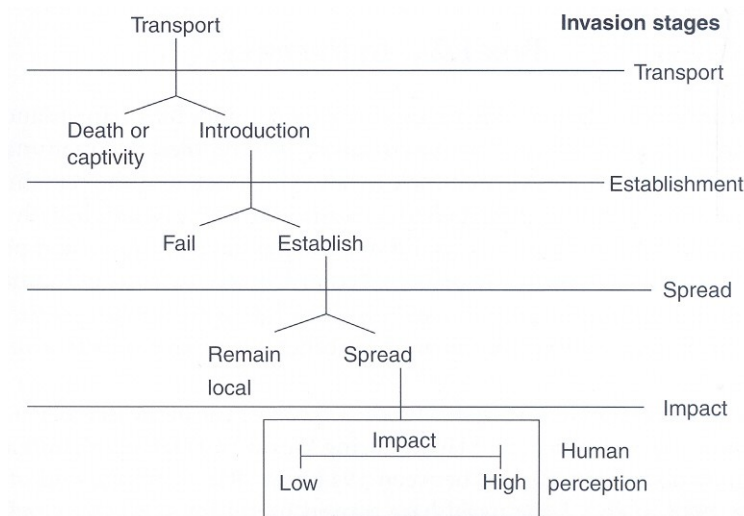


Abbildung 1.1 Die einzelnen Schritte des Invasionsprozesses. Quelle: Lockwood et al. (2007)

Die Dokumentation der Invasionsgeschichte von *C. gigas* im nordfriesischen Wattenmeer beginnt 1991 mit der Beobachtung des ersten, freilebenden Individuums (Reise, 1998). Dieses wurde in der Nähe einer Austernfarm bei List auf Sylt gefunden. Die besagte Austernfarm kultiviert dort seit 1986 *C. gigas*. Zu diesem Zweck wurden juvenile Austern von britischen und irischen Aufzuchtstationen importiert (Drinkwaard, 1999). Seitdem werden sowohl Laich als auch juvenile Austern eingeführt. Nach der Phase des Transports und der Einführung folgt im Invasionsprozess die Etablierung in dem neuen Ökosystem. Die Zeit, die die nicht-einheimische Population ausgehend von der Etablierung benötigt, um die nächste Stufe im Invasionsprozess, nämlich die Ausbreitung, zu erreichen, nennt man Lag-Phase. Während dieser bis 2000 andauernden Phase war *C. gigas* ungleichmäßig im nordfriesischen Wattenmeer verteilt und die Individuendichte war nicht höher als  $3.71 \pm 3.79$  Individuen pro Quadratmeter. Nach drei aufeinanderfolgenden Sommern, 2001-2003, mit untypisch hohen Wassertemperaturen wurde die Lag-Phase überwunden und die Population galt mit  $244.44 \pm 172.84$  Individuen pro Quadratmeter im Jahr 2004 als etabliert (Diederich, 2005). Somit befindet sich *C. gigas* momentan in der Phase der Ausbreitung und die ökologischen und ökonomischen Auswirkungen der Art auf das Ökosystem Wattenmeer sind abzuwarten.

#### 1.4 Die Biologie von *C. gigas*

Die Biologie von *C. gigas* kann wie folgt zusammengefasst werden (Troost, 2010):

Lebenszyklus: Während der jährlich höchsten Wassertemperatur auf der Nordhemisphäre, im Juli und August, laicht *C. gigas* nachdem die Entwicklung der Gonaden abgeschlossen wurde. Die Befruchtung von Eiern durch Spermien findet im Wasser statt. Aus den befruchteten Eiern entwickelt sich innerhalb von zwei Tagen über das Zwischenstadium der Trochophora-Larve die planktonische Veliger-Larve. Diese schwimmt aktiv, um nach Futter zu suchen. Sobald sie einen Augenfleck und einen Fuß entwickelt hat, nennt man sie Pediveliger-Larve. Jetzt beginnt das Velum zu degenerieren, so dass ihre Schwimmfähigkeit eingeschränkt ist. Allerdings ist sie nun in der Lage sich auf einem geeigneten harten Substrat anzusiedeln. Damit wird die Metamorphose eingeleitet. Die benthisch lebenden Juvenilen wachsen zu Adulten heran.

Habitat: Intertidal, Subtidal, Ästuare

Ursprungsgebiet: Das Herkunftsgebiet von *C. gigas* erstreckt sich vom 48° Breitengrad Nord, also von der russischen Insel Sakhalin und dem russischen Gebiet Primorskiy Kray bis zum 30° Breitengrad Nord, also bis zur japanischen Insel Kyushu und der Ostküste Chinas. Individuen aus Populationen dieses Gebiets werden als nativ bezeichnet.

Verbreitung: Aufgrund der Nutzung in der Aquakultur ist die Art heute in vielen Ländern der Welt invasiv. Zu den betroffenen europäischen Ländern gehören Deutschland, Niederlande, Belgien, Dänemark, Schweden und Norwegen.

Nahrung: *C. gigas* ist ein Suspensionsfiltrierer. Sie konsumiert Mikroalgen und Detritus aus dem umgebenden Wasser.

#### 1.5 Vergleich der Toleranz gegenüber Umweltstress innerhalb der Art *C. gigas*

Eine zentrale Frage der Invasionsökologie ist, welche Eigenschaften eine Art besitzen muss, um in fremden Habitaten invasiv zu werden. Es wurde eine Reihe von Eigenschaften vorgeschlagen, darunter eine breite Toleranz gegenüber Fluktuationen in einer Vielzahl von Umweltfaktoren (Ehrlich, 1984). Dies bedeutet eine hohe Anpassungsfähigkeit und Resistenz gegenüber Umweltstress (McMahon, 2002). Und tatsächlich konnte gezeigt werden, dass invasive Arten toleranter gegenüber Umweltstress sein können als einheimische Arten desselben Habitats. So fanden Zardi et al. (2008), dass *Mytilus galloprovincialis*, die in Südafrika invasiv ist, toleranter gegenüber Stress durch Sedimentation ist als die einheimische Art *Perna perna*. Eine aus dieser Beobachtung abgeleitete Fragestellung ist, ob eine hohe Toleranz gegenüber Umweltstress artspezifisch ist, also bei allen Teilpopulationen einer Art in gleichem Maße gegeben ist, oder ob invasive Populationen grundsätzlich eine höhere Toleranz gegenüber Umweltstress aufweisen. In diesem Falle wäre die Toleranz also auch populationsspezifisch. Um eine Antwort auf diese Frage zu finden, soll die Toleranz von *C. gigas* Individuen aus dem Ursprungsgebiet der Art mit der von



*C. gigas* aus einer eingeführten Population verglichen werden. Es ist möglich, dass Individuen aus der eingeführten Population toleranter sind als die Individuen der nativen Population. Ein Modell, das dieses Szenario vorhersagt, erklärt dies durch Vorselektion. Nicht alle Individuen überleben den stressreichen Transport und können sich anschließend akklimatisieren. Werden Individuen mit dem Ballastwasser eines Schiffes transportiert, erfahren sie physikalischen Stress durch schwankenden Sauerstoffgehalt, wechselnde Wassertemperatur und Lichtmangel. Organismen hingegen, die sich am Schiffsrumpf festsetzen und so mittransportiert werden, erfahren während des Transports Stress durch Salinitätsschwankungen und Temperaturwechsel während der Reise. Demnach wird Einführung als Selektionsprozess für stressresistente Individuen betrachtet. Für den gegenteiligen Fall, dass die Individuen der eingeführten Population weniger tolerant sind als die Individuen der ursprünglichen Population, gibt es ebenfalls ein erklärendes Modell. Diesem Modell zufolge ist die genetische Diversität in der eingeführten Population geringer und somit auch die Vielfalt der Gene, die Toleranz gegenüber Stress vermitteln können. Der Grund für die genetische Verarmung ist darin zu sehen, dass nur eine zufällig ausgewählte Gruppe der ursprünglichen Population eingeführt wird. Durch diesen Flaschenhalseffekt können Gene, die relevant für die Toleranz gegenüber Stress sind, verloren gegangen sein.

## 1.6 Das Stresskonzept bei Tieren

Eine Definition für Stress bei Tieren gab Brett (1958): Demnach ist Stress ein Zustand, der durch die Ausprägung eines Umweltfaktors hervorgerufen wird, der das Vermögen eines Tieres sich zu akklimatisieren übersteigt oder die normale Körperfunktion zu einem Grad stört, dass die Überlebenschancen signifikant gesenkt wird. Die Stress hervorrufenden Faktoren werden als Stressoren bezeichnet und die Reaktion eines Tieres, die durch die Stressoren hervorgerufen wird, als Stressantwort (Selye, 1973). Die Stressantwort beinhaltet biochemische und physiologische Veränderungen sowie Verhaltensänderungen (Bayne, 1985). Bei der Untersuchung der Auswirkungen von Stress auf Tiere, unterscheidet man drei Ebenen (1) die allgemeine Stressantwort, unabhängig vom Stressor, (2) die spezifische Reaktion auf bestimmte Stressoren und (3) das Ausmaß der Fitnessreduktion durch einzelne oder mehrere Stressoren (Bayne, 1985). Unter Fitness versteht man den Erfolg eines Individuums seine Gene an die nächste Generation weiterzugeben, es ist also ein Maß für seine Fähigkeit sich zu reproduzieren. Außerdem wird die Stressantwort auch im Zusammenhang mit dem Energiebudget eines Organismus diskutiert. Denn es muss Energie für die Akklimatisierung aufgewendet werden (Broom & Johnson, 1993). Unter Akklimatisierung versteht man die Anpassung an veränderte Umweltbedingungen, so dass die Ausprägung von Körperfunktionen wie Atmung oder Exkretion derjenigen vor dem Eintreten der Veränderung entspricht (Bayne, 1985). Anhand von drei unterschiedlichen Indikatorrentypen lässt sich die Stressantwort eines Organismus ablesen (Adams, 2005). Dazu gehören die Biomarker für Stress wie DNA-Schäden, Antioxidans- und

Entgiftungsenzyme sowie Stressproteine. Krankhaftes Gewebe, Stoffwechsellumstellung und erworbene Immunkompetenz zeigen als Bioindikatoren die Auswirkungen des Stresses auf den Organismus an (Adams, 2005). Indirekte Hinweise auf Stress sind verzögertes oder ausbleibendes Wachstum, gestörte Reproduktion und Verhaltensänderung. Ein Stress kann tödlich (lethal) für den Organismus sein oder sublethal, also die Fitness beeinträchtigen aber nicht zum Tod führen. Weiter unterscheidet man periodischen Stress, der kurzzeitig aber mehr oder minder regelmäßig auftritt und chronischen Stress, der konstant über einen längeren Zeitraum andauert (Pörtner & Langenbuch, 2005).

## 1.7 Einzelne und multiple Stressoren

Klassischerweise hat sich die Stressökologie bei der Erforschung von Toleranz gegenüber Stress auf einzelne Stressoren konzentriert. So kennt man die Toleranzgrenzen vieler mariner Organismen für Temperatur, Salinität, Trockenfallen, Licht sowie toxische Substanzen. So ist für einzelne Stressoren auch das Phänomen der Stressabhärtung bekannt. Hierbei ist ein Organismus nach Erfahrung eines Stresses in niedriger Dosierung anschließend toleranter gegenüber einer wiederholten Exposition (Kültz, 2005). Die Untersuchung der Toleranz gegenüber mehreren Stressoren, die entweder gleichzeitig oder nacheinander auftreten, ist jedoch eine relativ junge Entwicklung. Eine grundlegende Annahme diese multiple Stressoren betreffend ist, dass sie miteinander interagieren können (Folt et al., 1999). Bei einer synergistischen Interaktion ist der kombinierte Effekt von mehreren Stressoren größer als die Summe aus den Effekten der einzelnen Stressoren. Ist der kombinierte Effekt von mehreren Stressoren jedoch kleiner als die Summe der einzelnen Stressoren, ist die Interaktion antagonistisch. Summieren sich die Effekte der einzelnen Stressoren lediglich auf, spricht man vom additiven Effekt (Darling & Côté, 2008). Dies bedeutet, dass falls klimawandel-basierte Stressoren synergistisch miteinander interagieren, auf additiven Modellen basierende Vorhersagen, die tatsächlichen ökologischen Auswirkungen des Klimawandels unterschätzen werden. Sollten sie jedoch unabhängig voneinander agieren, würden additive Modelle eine ausreichende Aussagekraft besitzen (Darling & Côté, 2008). Für multiple Stressoren ist außerdem bekannt, dass Kreuztoleranz auftreten kann. In diesem Fall macht die Erfahrung eines ersten Stressors den Organismus toleranter für einen sich anschließenden zweiten Stressor. Die molekulare Grundlage hierfür wird in der Aktivierung und Induktion von Stressproteinen durch den ersten Stressor gesehen, die ebenso relevant sind für eine Toleranz gegenüber dem zweiten Stressor (Kültz, 2005).

## 1.8 Wahl der Stressoren für die Experimente

### 1.8.1 Wärmestress

Während des letzten Jahrhunderts hat sich das globale Klima um durchschnittlich 0.6°C erwärmt.

Für das nächste Jahrhundert wird eine Erhöhung um weitere 1,4-5,8°C prognostiziert (IPPC, 2001). Damit verbunden wird auch eine erhöhte Wassertemperatur des Meeres sein (Petes et al., 2007).

### 1.8.2 Hypoxie

Die globale Erwärmung bringt weiter mit sich, dass mehr Meeresgebiete als heute von Hypoxie betroffen sein werden (Kennedy, 1990). Vor allem küstennahe, flache Meeresgebiete, die als Laichplätze und Aufzugsgebiete von Bedeutung sind, sind hiervon bedroht (Sandberg, 1997). In diesem Habitat kann es natürlicherweise periodisch zu niedriger Sauerstoffsättigung kommen, etwa wenn sauerstoffarme Wasserschichten aus tieferen Bereichen durch den Wind landwärts getrieben werden. Auch eine ausgeprägte Thermokline im Küstenbereich oder organische Anreicherung mit anschließender bakterieller Sauerstoffzehrung können dazu führen (Jewett et al., 2005).

## 1.9 Stressantwort von *C. gigas*

### 1.9.1 Allgemeine Stressantwort

Welche Form der Verhaltensänderung Tiere zeigen hängt davon ab, ob sie beweglich sind oder nicht. Die Auster als sessiler Organismus kann ihren Standort nicht verlassen und höchstens ihre Schalen schließen. Die physiologische Stressantwort hängt von dem jeweiligen Stressor ab (Broom & Johnson, 1993). Bei der zellulären Stressantwort hingegen ist bekannt, dass die meisten Organismen auf chemischen oder physikalischen Stress mit der Produktion von sogenannten Hitzeschock- oder Stressproteinen reagieren (Snyder et al., 2001). Hitzeschockproteine sind molekulare Chaperone mit zwei unterschiedlichen Funktionen in der Zelle (1) Hilfe bei Faltung und Transport neu synthetisierter Proteine (2) korrigierende Faltung von denaturierten Proteinen. Es werden zwei Typen von Hitzeschockproteinen unterschieden, solche die konstitutiv exprimiert werden und solche, deren Bildung als Antwort auf Stress induziert wird. Dabei ist die Menge an Hitzeschockproteinen proportional zur Stressstärke (Ueda et al., 2009). Entsprechend ihrem molekularen Gewicht werden die Hitzeschockproteine klassifiziert. Bis jetzt kennt man HSP90, HSP70, HSP60 und HSP20-30 (Snyder et al., 2001).

### 1.9.2 Spezifische Stressantwort bei Wärmestress

In einer Studie über die differentielle Genexpression bei adulten *C. gigas* (Länge 85±5 mm) unter chronischem Wärmestress (24 Tage bei 25°C, die Kontrollgruppe bei 13°C) untersuchten Meistertzheim et al. (2007) die Stressantwort auf zellulärer Ebene. Dazu wurde die Genexpression in Mantel und Kieme analysiert. Folgendes konnte u.a. beobachtet werden: (1) nach 24 Tagen unter Wärmestress wurden Gene, die an der Proteinsynthese beteiligt sind, runterreguliert, (2) die Gene für die konstitutiven Hitzeschockproteine HSP70 und HSP23 wurden in Mantel und Kieme

stark hochreguliert, das Gen für das Hitzeschockprotein HSP12A nur in der Kieme; (3) das Expressionsmuster von Strukturkomponenten des Cytoskeletts sowie Proteine mit kontraktilen Funktionen wie Aktin, Tubulin und Myosin veränderten sich; (4) die  $\Delta 9$ desaturase, die an der Synthese von ungesättigten Fettsäuren und Cholesterin beteiligt ist, wurde hoch reguliert; dies ist auch bei Hypoxie der Fall (Parsell & Lindquist, 1993) und deutet auf einen Umbau der Membranstruktur hin; (5) in den Kiemen wurde zu Beginn des Wärmestress eine erhöhte Konzentration an Lactatdehydrogenase festgestellt, was als Hinweis auf eine Umstellung auf einen anaeroben Stoffwechsel gewertet werden kann. Die Auswirkungen von Wärmestress (35 Tage bei 30°C, Kontrollgruppe bei 8-15°C) auf die Physiologie einjähriger Austern wurde von Shpigel et al. (1992) bearbeitet. Dabei stellten die Autoren fest, dass der Sauerstoffverbrauch von 500-600  $\mu\text{l g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  bei 8-15°C auf 1400-1500  $\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  bei 30°C anstieg und die Ammonium-Ausscheidung ausgehend von 8-9  $\mu\text{mN g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  bei 8-15°C auf 16-17  $\mu\text{m N g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  zunahm. Beides belegt eine erhöhte Stoffwechselrate bei 30°C.

### 1.9.3 Spezifische Stressantwort bei Hypoxie

Um mögliche Biomarker für Hypoxie in *C. gigas* zu identifizieren setzten David et al. (2005) adulte Austern einer 24-tägigen Hypoxie (30% (v/v) Sauerstoffsättigung) aus. Sie beprobten dann die Mitteldarmdrüse, Kieme und Mantel. So konnte u.a. gezeigt werden (1) dass die Expression von HSP70 in der Verdauungsdrüse signifikant anstieg. Die Hochregulierung von HSP70 bei Hypoxie ist von Fruchtfliegen und Ratten bereits bekannt (Ueda et al., 2009), (2) dass sich die mRNA der Glykogen Phosphorylase anhäufte. Dieses Enzym ist am Abbau von Glykogen in der Glykogenolyse beteiligt, (3) dass die Carboanhydrase hochreguliert wird. Die Carboanhydrase beschleunigt bei Vertebraten die Umwandlung von Kohlenstoffdioxid und Wasser zu Kohlensäure. So wird der Partialdruck von Kohlenstoffdioxid in den roten Blutzellen, den Endothelzellen und dem Plasma gesenkt. Dadurch kann Kohlenstoffdioxid leichter aus diesen hinaus und in die Erythrozyten hinein diffundieren. Das Peroxiredoxin 6 Gen wurde später als Biomarker für Hypoxie bestätigt (David et al., 2007). Peroxiredoxin 6 ist ein Antioxidans, das eine Peroxidase Aktivität besitzt ( $\text{ROOH} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$ ). Von Le Moullac (2007) wird die physiologische Stressantwort wie folgt beschrieben: Durch eine erhöhte Pumprate wird bei niedriger Sauerstoffkonzentration den Kiemen mehr Sauerstoff zur Verfügung gestellt und eine verbesserte Verteilung in den Geweben ermöglicht. Auf diese Weise versuchen Muscheln ihre Sauerstoffverbrauchsrate konstant zu halten, unabhängig von der Sauerstoffkonzentration im Wasser. Aus diesem Grund bezeichnet man sie als Oxyregulatoren. Sobald aber ein hypoxischer Grenzwert, der etwa bei 2mg Sauerstoff pro Liter liegt, unterschritten wird, ist dies nicht mehr möglich. Bei Unterschreitung dieses Wertes, kommt es zur Umstellung des Stoffwechsels von aerob auf anaerob. So dass per umgesetzte Glucoseeinheitweniger ATP gewonnen wird. Um Energie zu sparen werden viele ATP-abhängige Prozesse in der Zelle runter reguliert. Außerdem beobachtet man eine

abnehmende Nahrungsaufnahme.

#### 1.10 Fragestellungen der Bachelorarbeit

Im Rahmen der Bachelorarbeit wurden drei verschiedene Fragestellungen bearbeitet:

- 1) Wie tolerant sind adulte *C. gigas* aus dem nordfriesischen Wattenmeer gegenüber multiplen Stressoren? Beeinflusst das Erfahren eines ersten Stressors die Toleranz gegenüber einernachfolgenden, zweiten Stressor?
- 2) Gibt es Unterschiede in der Toleranz gegenüber multiplen Stressoren bei juvenilen *C. gigas* zwischen einer japanischen Population aus dem Ursprungsgebiet der Art und einer europäischen Population, die zur Kultivierung eingeführt wurde?
- 3) Unterscheiden sich juvenile und adulte *C. gigas* in ihrer Toleranz gegenüber einzelnen und multiplen Stressoren?

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Beschaffung und Akklimatisierung der Versuchstiere

#### 2.1.1 Adulte *C. gigas* aus dem Intertidal bei Sylt, Deutschland

Es wurden 202 adulte *C. gigas* am 20. April 2010 in einem Austernriff im Königshafen in der Nähe von List auf der Nordseeinsel Sylt gesammelt. Bis zum 27. April 2010 wurden die Austern im Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung in List auf Sylt gelagert und dann in Kühlboxen per Auto nach Kiel gebracht. Um mit Tieren einer ähnlichen Größenklasse zu arbeiten, wurden die Austern vermessen und 140 Austern in der Größenordnung 8-11 cm für das Experiment ausgewählt. Die Akklimatisierungsphase in Kiel betrug 40 Tage. Während dieses Zeitraums wurden die Austern zu 70 Tieren in zwei 68 Liter Fässern in einer Klimakammer gehältert. Die Salinität des Wassers betrug 32 psu und die Wassertemperatur lag bei 15°C. Über Belüftungssteine wurden die Austern mit Sauerstoff versorgt. Um zu verhindern, dass das ausgeschiedene Ammonium als chemischer Stressor wirkt, wurde der Ammoniumgehalt alle zwei Tage gemessen. Dazu wurde ein Ammonium/Ammoniak Test-Kit (JBL, Neuhofen) verwendet. Sobald der Grenzwert von 0.2 mg Ammonium pro Liter überschritten wurde, fand ein Wasserwechsel statt. Eine Woche vor Beginn des Versuchs wurde erstmals ein Mix aus lebendem, marinen Phytoplankton (DT's Premium Brend Live Phytoplankton, Coralsands, Wiesbaden) gefüttert. Der Mix besteht aus den Arten *Nannochloropsis oculata*, *Phaeodactylum sp.* und *Chlorella sp.* Entsprechend der Herstellerangabe wurde jeden zweiten Tag mit 6ml der Phytoplankton suspension pro Fass gefüttert.

#### 2.1.2 Juvenile *C. gigas* von einer Austernfarm auf Guernsey, UK

Bei Guernsey Sea Farms Limited wurden am 6. Juli 2010 etwa 1000 diploide, juvenile *C. gigas* der Größenklasse 12-16 mm bestellt. Am 7. Juli kamen die Tiere in Kiel an und wurden während der 24 Tage langen Akklimatisierungsphase zu je 500 Tieren in zwei 14 Liter Eimern in der Klimakammer gehältert. Das Wasser in den Eimern hatte eine Salinität von 32 psu und eine Temperatur von 15°C. Über je einen Belüftungsstein wurde das Wasser mit Sauerstoff versorgt. Die Fütterung erfolgte jeden zweiten Tag mit einem Mix aus lebendigem, marinen Phytoplankton (DT's Premium Brend Live Phytoplankton, Coralsands, Wiesbaden). Der Mix enthält die Arten *N. oculata*, *Phaeodactylum sp.* und *Chlorella sp.* Den Angaben des Herstellers entsprechend wurden pro Eimer 1,2 ml der Phytoplankton suspension hinzugefügt. Der Ammoniumgehalt wurde mithilfe eines Ammonium-Testkit (JBL, Neuhofen) überwacht. Sobald der Grenzwert von 0,2mg Ammonium pro Liter überschritten wurde, wurde das Wasser gewechselt.

### 2.1.3 Juvenile *C. gigas* von einer Austernfarm in Akkeshi, Japan

Die juvenilen *C. gigas* mit denen Haruka Kagiwada und Andreas Pansch an der Akkeshi Marine Station of Hokkaido University im Rahmen des 8. GAME-Projektes gearbeitet haben, kamen von einer Austernfarm vor Ort. Die Individuen waren zwischen 10 und 25 mm groß. Sie erhielten die Versuchstiere am 12. August 2010 und begannen direkt mit den Experimenten.

## 2.2 Experimentelles Design

### 2.2.1 Toleranz adulter *C. gigas* gegenüber multiplen Umweltstressoren

Tabelle 1. Das Experimentelle Design für das Experiment, das die Toleranz adulter *C. gigas* gegenüber multiplen Umweltstressoren untersucht. Das Experiment wurde vom 11.06-19.07.2010 am IFM-GEOMAR in Kiel durchgeführt.

| Versuchsgruppen       | Nr.1                   | Nr.2        | Nr.3                   | Nr.4 |
|-----------------------|------------------------|-------------|------------------------|------|
| Individuen pro Gruppe | 40                     | 40          | 40                     | 40   |
| Anzahl der Replikate  | 10                     | 10          | 10                     | 10   |
| Erster Stressor       | Wärmestress            | Wärmestress | -                      | -    |
| Stresslevel           | 24°C                   | 24°C        | -                      | -    |
| Dauer des Stress      | 11 Tage                | 11 Tage     | -                      | -    |
| Zweiter Stressor      | Hypoxie                | -           | Hypoxie                | -    |
| Stresslevel           | 1 mg O <sub>2</sub> /l | -           | 1 mg O <sub>2</sub> /l | -    |
| Dauer des Stress      | 27 Tage                | -           | 27 Tage                | -    |

#### Die Wahl des Stresslevels

Beim Alfred-Wegener-Institut für Polar- und Meeresforschung in List auf Sylt wurden die mittleren Wasseroberflächentemperaturen vor Sylt im Monat Juni für die letzten zehn Jahre (2000-2009) eingeholt. Auf Basis dieses Datensets wurde ein Mittelwert für die vergangene Dekade berechnet (15,8°C). Ausgehend von einer mittleren Wasseroberflächentemperatur von 16°C, wurden 24°C für den Wärmestress gewählt, was einem Anstieg um 50%, also 8°C, entspricht. Die Wahl der Sauerstoffkonzentration erfolgte nach den Angaben von Johnson et al. (2009). So ist eine

Sauerstoffkonzentration von weniger als 2 mg pro Liter Wasser, eine schwere Stresssituation für marine Muscheln.

## 2.2.2 Vergleich der Toleranz der von eingeführten und nativen, juvenilen *C. gigas* gegenüber multiplen Umweltstressoren

### 2.2.2.1 Eingeführte, juvenile *C. gigas*

Tabelle 2. Das experimentelle Design, das dem Experiment mit den juvenilen *C. gigas* aus der eingeführten Population zugrunde liegt. Das Experiment wurde am IFM-GEOMAR in Kiel vom 1.08.-5.09.2010 durchgeführt.

| Versuchsgruppen       | Nr.1                   | Nr.2                   | Nr.3        | Nr.4 |
|-----------------------|------------------------|------------------------|-------------|------|
| Individuen pro Gruppe | 200                    | 200                    | 200         | 200  |
| Anzahl Replikate      | 10                     | 10                     | 10          | 10   |
| Erster Stressor       | Hypoxie                | Hypoxie                | -           | -    |
| Stresslevel           | 1 mg O <sub>2</sub> /l | 1 mg O <sub>2</sub> /l | -           | -    |
| Dauer des Stress      | 14 Tage                | 14 Tage                | -           | -    |
| Zweiter Stressor      | Wärmestress            | -                      | Wärmestress | -    |
| Stresslevel           | 32°C                   | -                      | 32°C        | -    |
| Dauer des Stress      | 8 Tage                 |                        | 8 Tage      |      |

#### Die Wahl des Stresslevels

Die Wahl der Sauerstoffkonzentration entsprach den Angaben von Johnson et al. (2009), nach denen eine Sauerstoffkonzentration von weniger als 2 mg pro Liter Wasser, eine schwere Stresssituation für marine Invertebraten darstellt. Die Höhe der Wassertemperatur wurde auf Basis des ersten Experiments mit den adulten *C. gigas* gewählt. Da in diesem bei 24°C keine Mortalität auftrat, sollte die Wassertemperatur bei diesem Experiment deutlich höher sein und wurde auf 32°C festgelegt.



### 2.2.2.2 Native, juvenile *C. gigas*

Tabelle 3. Für das Experiment mit den juvenilen *C. gigas* aus der japanischen Population fasst diese Tabelle das experimentelle Design zusammen. Im Gegensatz zu den beiden vorhergehenden Experimenten wurde dieses vom 12.08.-16.09.2010 an der Marine Station der Universität Hokkaido in Akkeshi von Haruka Kagiwada und Andreas Pansch durchgeführt.

| Versuchsgruppen       | Nr.1                   | Nr.2                   | Nr.3 | Nr.4 |
|-----------------------|------------------------|------------------------|------|------|
| Individuen pro Gruppe | 220                    | 220                    | 220  | 220  |
| Anzahl Replikate      | 11                     | 11                     | 11   | 11   |
| Erster Stressor       | Hypoxie                | Hypoxie                | -    | -    |
| Stresslevel           | 1 mg O <sub>2</sub> /l | 1 mg O <sub>2</sub> /l | -    | -    |
| Dauer des Stress      | 6 Tage                 | 6 Tage                 | -    | -    |

Es folgte eine zehntägige Erholungsphase auf den ersten Stressor.

|                  |             |   |             |   |
|------------------|-------------|---|-------------|---|
| Zweiter Stressor | Wärmestress | - | Wärmestress | - |
| Stresslevel      | 34°C        | - | 34°C        | - |
| Dauer des Stress | 11 Tage     | - | 11 Tage     | - |

#### Die Wahl des Stresslevels

Die Wahl der Sauerstoffkonzentration erfolgte nach den Angaben von Johnson et al. (2009) nach denen, eine Sauerstoffkonzentration von weniger als 2 mg pro Liter Wasser, schweren Stress für marine Muscheln darstellt. Die Höhe der Wassertemperatur wurde auf Grundlage des Experiments mit den juvenilen, eingeführten *C. gigas* gewählt. Sie wurde auf 34°C, also 2°C höher als bei den Juvenilen aus Guernsey festgelegt, da die Gewässer vor Japan durchschnittlich wärmer sind als die vor Guernsey.

## 2.3 Experimente

### 2.3.1 Toleranz adulter *C. gigas* gegenüber multiplen Umweltstressoren

Während des Experiments (11.06.-19.07.2010) befanden sich die Austern zu je vier Tieren in einem vier Liter Behälter aus Polypropylen. Jeder Behälter stellte eine experimentelle Einheit (Replikate) dar. Die Tiere wurden alle zwei Tage mit 0.7 ml des Phytoplankton-Mixes (DT's Premium Blend Live Phytoplankton, Coralsands, Wiesbaden) gefüttert. Der Ammoniumgehalt wurde mit dem Ammonium-Testkit (JBL, Neuhofen) gemessen und sobald der Grenzwert von 0,2 mg Ammonium/l überschritten wurde, das Wasser gewechselt. Dies war in der Regel nach einer Woche der Fall. Das Wasser wurde auch gewechselt sobald ein Individuum starb. Die Behälter wurden über Belüftungssteine mit Sauerstoff versorgt. Während des Sauerstoffmangelstress wurden die vom Stress betroffenen Replikate nicht belüftet. Es wurde täglich überprüft ob Mortalität auftrat.

#### Anwendung des ersten Stressors

Für die erste Stressbehandlung wurden die entsprechenden Replikate (Gruppe 1 und 2, siehe Tabelle 1) in eine Wanne gestellt in dem sie von Wasser umgeben waren. Die Wanne befand sich in einer Klimakammer, bestand aus Kunststoff und hatte eine Grundfläche von 1 m<sup>2</sup> sowie eine Wandhöhe von einem Meter. Im Boden war ein Abfluss eingelassen, der mit einem Gummistopfen verschlossen werden kann. Um das Wasser zu erhitzen, wurde ein Heizstab, der an einen Temperaturregulator angeschlossen war, in der Wanne platziert. Zwei Umwälzpumpen sorgten dafür, dass das Wasser zirkulierte und die Wärme gleichmäßig verteilt wurde. Die Temperatur wurde ausgehend von 15°C täglich um 2°C und im letzten Schritt um 1°C erhöht, bis 24°C erreicht wurden. Die anderen Replikate (Gruppe 3 und 4), die währenddessen keine Stressbehandlung erfahren haben, erfuhren eine Wassertemperatur von 15°C, was der durchschnittlichen Oberflächenwassertemperatur vor Sylt im Juni entspricht. Diese erste Versuchsphase hatte eine Länge von 11 Tagen.

#### Anwendung des zweiten Stressors

Den Sauerstoffmangelstress haben zwei von vier Gruppen erfahren- eine zuvor durch die erhöhte Wassertemperatur gestresste Gruppe und eine zuvor nicht gestresste Gruppe (Tabelle 1). Die beiden anderen Gruppen wurden bei einer Wassertemperatur von 15°C gehalten. Um den Sauerstoffmangel zu erzeugen, wurde aus einer 200 bar Stickstoffflasche solange Stickstoff in einen Vorratstank geleitet bis eine Konzentration von 1 mg Sauerstoff pro Liter erreicht wurde. Das sauerstoffarme Wasser wurde von dort in die Behälter mit den Austern weitergeleitet. Das

Austreiben des Sauerstoffs durch den Stickstoff wurde mit einem Oximeter (Oxi 3205, WTW, Weilheim) überwacht. Um eine Reoxygenierung durch Diffusion zu verhindern, wurden die Behälter mit Deckeln verschlossen. Täglich wurde die Sauerstoffkonzentration gemessen. Sobald durch Atmung der Sauerstoffgehalt unter 1mg Sauerstoff/Liter abgefallen war, wurde mithilfe des Belüftungssteins reoxygeniert, um die Konzentration von 1 mg Sauerstoff pro Liter wieder herzustellen. Nach 27 Tagen, als die Mortalität etwa bei 50% in den gestressten Gruppen lag, wurde die Behandlung abgebrochen.

### Feststellung der Mortalität

Eine tote Auster ist durch offenstehende Schalenhälften gekennzeichnet, die sich auf Berührung hin nicht mehr schließen. Außerdem bleiben die Schalenhälften auch außerhalb des Wassers in derselben Position. Eventuell verbreiten tote Austern einen intensiven Geruch.

### 2.3.2 Toleranz juveniler *C. gigas* gegenüber multiplen Umweltstressoren

#### 2.3.2.1 Juvenile *C.gigas* aus einer Austernfarm auf Guernsey

Das Experiment fand vom 1.8.-5.09.2010 statt. Es wurden je 20 juvenile *C. gigas* in eine Plastikbox (1l) gesetzt. Sie wurden alle zwei Tage mit 0.1ml des Phytoplanktonmixes (DT'sBlend Live Phytoplankton, Coralsands, Wiesbaden) gefüttert. Belüftung, Überwachung des Ammoniumgehalts sowie Wasserwechsel entsprach dem Vorgehen wie zuvor bei den Experimenten mit den adulten *C. gigas* beschrieben. Täglich wurde nach toten Individuen geschaut.

### Anwendung des ersten Stressors

Um Sauerstoffmangel zu erzeugen, wurde aus einer 200 bar Stickstoffflasche Stickstoff in die Boxen geleitet, solange bis eine Konzentration von 1mg Sauerstoff pro Liter erreicht wurde. Das Austreiben des Sauerstoffs durch den Stickstoff wurde mit einem Oximeter (Oxi 3205, WTW, Weilheim) überwacht. Um eine Reoxygenierung durch Diffusion einzudämmen, wurden die Boxen mit Aluminiumfolie bedeckt. Aufgrund der Reoxygenierung durch Diffusion wurde der Sauerstoffgehalt täglich neu auf 1 mg Sauerstoff pro Liter eingestellt. Nach 14 Tagen wurde die Behandlung beendet.

## Anwendung des zweiten Stressors

Den Wärmestress haben zwei von vier Gruppen erfahren- eine zuvor durch die erhöhte Wassertemperatur gestresste Gruppe und eine zuvor nicht gestresste Gruppe (Tabelle 2). Die beiden anderen Gruppen wurden bei einer Wassertemperatur von 15°C gehalten. Für die erste Stressbehandlung wurden die entsprechenden Gruppen in eine Wanne gestellt in dem sie von Wasser umgeben waren. Um das Wasser zu erhitzen, wurde ein Heizstab, der an einen Temperaturregulator angeschlossen war, in der Wanne platziert. Zwei Pumpen sorgten dafür, dass das Wasser zirkulierte und die Wärme gleichmäßig verteilt wurde. Während der Akklimatisierungsphase wurde die Temperatur ausgehend von 15°C täglich um 2°C und im letzten Schritt um 1°C erhöht, bis 32°C erreicht wurden. Die beiden anderen Gruppen, die währenddessen keine Stressbehandlung erfahren haben, erfuhren eine Wassertemperatur von 15°C.

## Feststellung der Mortalität

Potentiell tote, juvenile Individuen ließen sich daran erkennen, dass ihre Schalenhälften im Wasser weit offen standen. Die entsprechenden Individuen wurden herausgenommen. Dabei kann es passieren, dass die Schalenhälften wieder zugeedrückt wurden. Um sicher zu gehen, dass sie tatsächlich tot waren, wurde mithilfe eines Skalpell unter leichtem Druck versucht die Schalenhälften zu öffnen. Bei lebenden *C. gigas* ist das nicht möglich, da der Schließmuskel nicht erschlafft ist, wie bei toten *C. gigas*.

### 2.3.2.2 Juvenile *C.gigas* aus einer Austernfarm in Akkeshi, Japan

Die Experimente wurden vom 12.08-16.09.2010 durchgeführt. Je 20 Individuen wurden in einem ein Liter Becken gehalten. Die Salinität betrug 32 psu und das Wasser wurde über Belüftungssteine oxygeniert. Das Wasser wurde täglich gewechselt und die Versuchstiere jeden zweiten Tag mit 0.1 ml Phytoplankton Mix (DT'sBlend Live Phytoplankton, Coralsands) gefüttert. Die Becken wurden täglich auf tote Individuen untersucht.

## Anwendung des ersten Stressors

Der Sauerstoffmangel wurde erzeugt, indem Stickstoff in das Wasser geleitet wurde. Durch den Stickstoff wurde der Sauerstoff aus dem Wasser getrieben. Dieser Prozess wurde mithilfe eines

Oximeters überwacht. Die Wassertemperatur betrug 17°C. Nachdem etwa 50% der Individuen gestorben waren, was nach 6 Tagen der Fall war, wurde die Behandlung abgeschlossen.

### Erholungsphase

Die Erholungsphase betrug 10 Tage, dann wurde mit der zweiten Stressbehandlung begonnen. Die Wassertemperatur betrug 17°C und es wurde wie während der ersten Versuchsphase gefüttert.

### Anwendung des zweiten Stressors

Eine zuvor durch Sauerstoffmangel gestresste Gruppe und eine zuvor nicht gestresste Gruppe erfuhren den Wärmestress (Tabelle 3). Die Wassertemperatur wurde täglich um 2°C erhöht, bis sie 34°C erreichte. Die zweite Stressphase dauerte elf Tage.

## 2.4 Tabellarische Zusammenfassung

Tabelle 4. Die Experimente der in der Übersicht.

| Herkunftsort                      | List (Königshafen)            | Guernsey                      | Akkeshi   |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|
| Population                        | Austernriff im Wattenmeer     | Guernsey Sea Farms            | Akkeshi oyster hatchery                         |
| Größenklasse                      | 800-1100mm                    | 12-16mm                       | 10-25mm   |
| Akklimatisierung                  | 40 Tage                       | 14 Tage                       | -   |
| Erster Stressor                   | Wärmestress                   | Sauerstoffmangel              | Sauerstoffmangel                                |
| Stresslevel des ersten Stressors  | 24°C                          | 1mg O <sub>2</sub> /l         | 1mg O <sub>2</sub> /l                           |
| Dauer des ersten Stressors        | 11 Tage                       | 14 Tage                       | 6 Tage  |
| Erholungsphase                    | Nein                          | Nein                          | Ja  |
| Dauer der Erholungsphase          | -                             | -                             | 10 Tage   |
| Zweiter Stressor                  | Sauerstoffmangel              | Wärmestress                   | Wärmestress                                     |
| Stresslevel des zweiten Stressors | 1mg O <sub>2</sub> /l         | 32°C                          | 34°C  |
| Dauer des zweiten Stressors       | 27 Tage                       | 8 Tage                        | 11 Tage   |
| Wassertemperatur                  | 15°C                          | 15°C                          | 17°C  |
| Futter                            | DT's Blend Live Phytoplankton | DT's Blend Live Phytoplankton | DT's Blend Live Phytoplankton                   |
| Zeitraum der Experimente          | 11.06.-19.07.2010             | 1.08.-5.09.2010               | 12.08.-16.09.2010                               |
| Ort der Experimente               | IFM-GEOMAR, Kiel              | IFM-GEOMAR, Kiel              | Akkeshi Marine Station der Universität Hokkaido |

## 2.5 Statistische Analyse

Die Daten wurden mit dem Statistikprogramm R, der Version 2.9.0, ausgewertet (R Development Core Team, 2010). Es wurden Überlebenskurven (Kaplan-Meier Kurven) erzeugt und diese mit den Methoden der Überlebensanalyse verglichen. Dabei wurden jeweils die Verläufe der Kaplan-Meier Kurven zweier Versuchsgruppen auf signifikante Unterschiede getestet. Bei der Erstellung der Überlebenskurven betrachtete ich alle Tiere einer Behandlungsgruppe als unabhängig voneinander und bezog alle Individuen in die Analyse mit ein. Inwiefern die Tatsache, dass jeweils mehrere Tiere in einer experimentellen Einheit zusammengefasst wurden, eine Pseudoreplikation darstellte, diskutiere ich im letzten Abschnitt meiner Arbeit. Überschneiden sich die Kaplan-Meier Kurven nicht, dann verwendete ich den Log-Rank Test. Gab es eine Überschneidung benutzte ich den Peto-Wilcoxon Test. In den Fällen, in denen derselbe Datensatz zweimal verwendet wurde (multiple Vergleiche), galt ein nach Bonferroni korrigiertes Signifikanzniveau: Das Testergebnis war bei  $p \leq 0,025$  signifikant.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Toleranz adulter Austern einer invasiven Population gegenüber Wärmestress und Hypoxie

#### 3.1.1 Mortalität während der ersten Versuchsphase (Stressor: erhöhte Umgebungstemperatur)

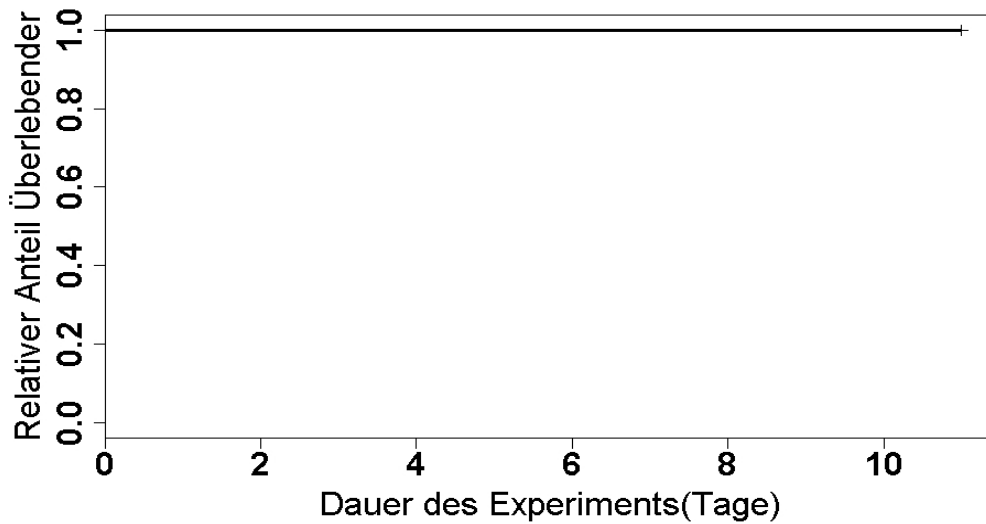
Bei 15°C Wassertemperatur (Gruppe Nr.3, Gruppe Nr.4) traten während der 11-tägigen Versuchsphase keine Todesfälle auf. Die Gruppen (Gruppe Nr.1, Gruppe Nr.2), die eine erhöhte Wassertemperatur von 24°C erfuhr, zeigte ebenfalls keine Mortalität (Abbildung 1.1).

#### 3.1.2 Mortalität während der zweiten Versuchsphase (Hypoxie)

Die Überlebenskurven zeigen über den 27 Tage andauernden Sauerstoffmangelstress (1 mg  $O_2/l$ ) für die Gruppe, die zuvor eine erhöhte Umgebungstemperatur erfahren hat (Gruppe Nr.1) und die, die das nicht hat (Gruppe Nr.3) hinweg nur leicht unterschiedliche Verläufe (Abbildung 1.2). So trat in der Versuchsgruppe Nr.3 das erste Todesereignis am achten Tag auf, während es in der vorhergehend der erhöhten Umgebungstemperatur ausgesetzten Gruppe vier weitere Tage dauerte bis Mortalität erstmalig auftrat. Für den Zeitraum vom 13. bis zum 23. Versuchstag zeigen die beiden Kurven einen identischen Verlauf. Am 23. Tag lag die Mortalität in beiden Gruppen bei 15%. Während in den letzten vier Tagen des Sauerstoffmangelstress etwa weitere 20% der Tiere in der vorbehandelten Gruppe starben, waren es in der zuvor nicht gestressten Gruppe hingegen nur 10%. So haben bis zum Ende der zweiten Stressphase 75% der Austern überlebt, die nicht vorgestresst wurden, aber nur etwa 65% der Tiere, die zuvor den Wärmestress erfahren haben. Die Unterschiede waren allerdings nicht signifikant ( $\chi^2=11,9; p=0,343$ ; Peto-Wilcoxon-Test). In der Kontrollgruppe, die weder während des ersten Teils noch während des zweiten Teils des Experiments Stress erfuhr, starben keine Individuen (Abbildung 1.3). Die zweite Kurve in

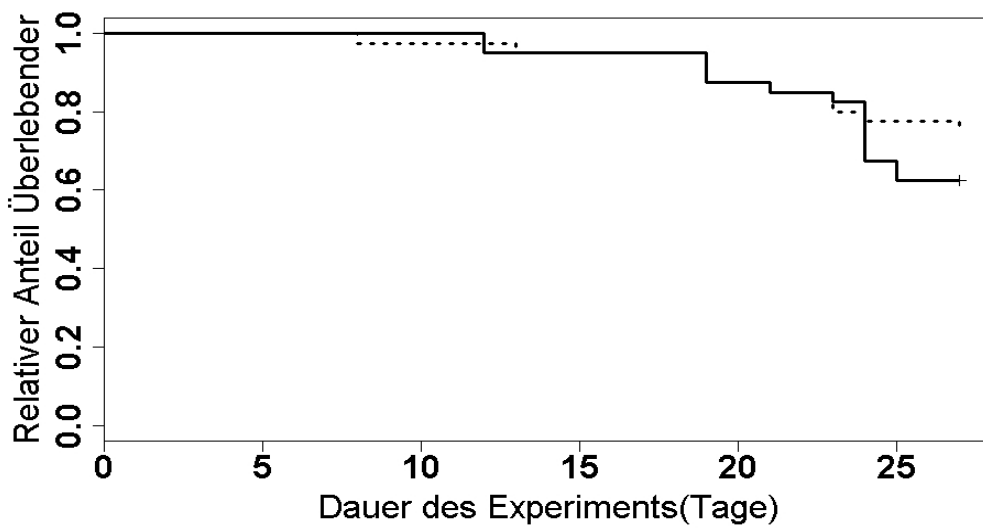
Abbildung 1.3 gibt den relativen Anteil Überlebender für die in diesem Versuchsteil erstmalig gestresste Gruppe wieder. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen ist signifikant ( $\chi^2=11,9$ ,  $p \leq 0.001$ ; Log-Rank Test).





\_\_\_\_\_ Wasserstemperatur von 24°C (Gruppe Nr.1, Gruppe Nr.2)  
 - - - - - Wassertemperatur von 15°C (Gruppe Nr.3, Gruppe Nr.4)

Abbildung 1.1. Überlebenskurven der adulten *C. gigas* während der ersten Versuchsphase. Die Kurve der gestressten Gruppe liegt deckungsgleich auf der Kurve der Kontrollgruppe. Replikate= 20.



\_\_\_\_\_ Wasserstemperatur von 24°C (Gruppe Nr.1, Gruppe Nr.2)  
 - - - - - Zuvor nicht behandelt (Gruppe Nr.3)

Abbildung 1.2. Relativer Anteil der Überlebenden unter den adulten Austern während der Sauerstoffmangelsituation. Die Kurvenverläufe waren nicht signifikant verschieden.  $\chi^2=0,9$ ;  $p=0,343$  (Peto-Wilcoxon-Test). Replikate=10.

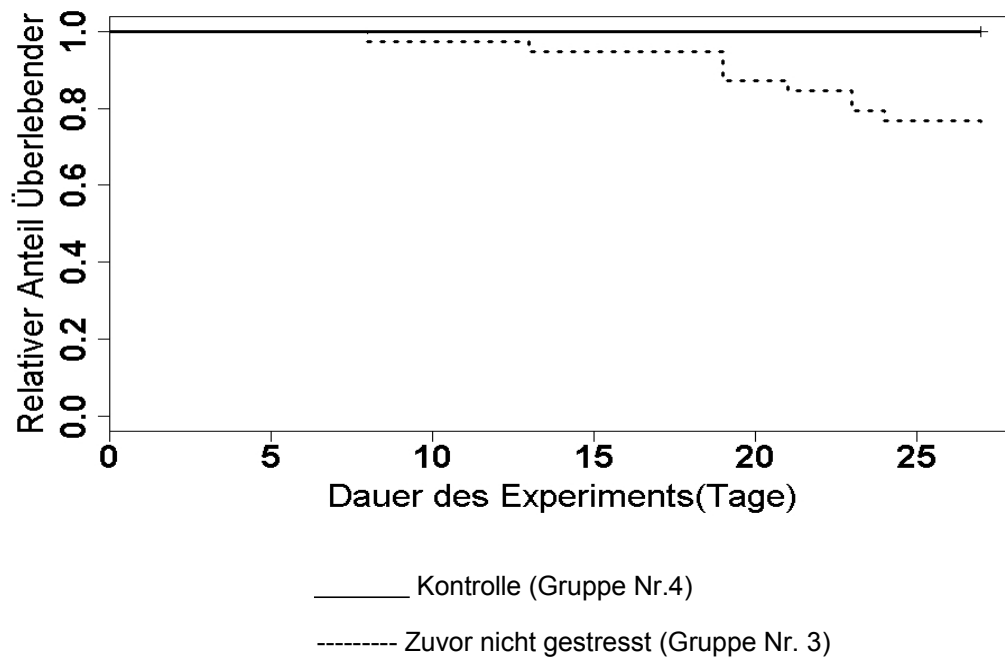


Abbildung 1.3. Relativer Anteil der Überlebenden unter den adulten Austernin der Kontrollgruppe (keine Behandlung in Versuchsphase 1 und 2) sowie in der durch erhöhte Wassertemperatur behandelten Gruppe während der zweiten Versuchsphase, der Sauerstoffmangelstoffsituation. Die Kurvenverläufe waren signifikant verschieden.  $\chi^2=11,9$ ;  $p \leq 0,001$  (Log-Rank Test). Replikate=10.

## 3.2 Vergleich der Toleranz juveniler Austern gegenüber Hypoxie gefolgt von Wärmestress

### 3.2.1 Mortalität während der ersten Stressphase (Hypoxie)

#### 3.2.1.1 Eingeführte *C. gigas* aus Guernsey, UK

Bei einer Sauerstoffkonzentration um 9 mg Sauerstoff pro Liter wurde während der vierzehntägigen Versuchsphase keine Mortalität beobachtet. In der anderen Gruppe, bei 1 mg O<sub>2</sub>/l, hingegen starb erstmals am fünften Tag der Behandlung ein Individuum. Am letzten Tag der Stressphase lag die Mortalität in dieser Gruppe bei 5% (Abbildung 2.1). Der Log-Rank Test stellte einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen fest ( $\chi^2=21.5$ ,  $p \leq 0.001$ ).

#### 3.2.1.2 Native *C. gigas* aus Akkeshi, Japan

Genau wie bei den juvenilen Austern aus Guernsey überlebten bei einer Sauerstoffkonzentration von 9 mg Sauerstoff pro Liter alle Individuen die 6-tägige Versuchsphase (Abbildung 2.2). In der Gruppe, die dem Sauerstoffmangelstress ausgesetzt war, zeigten sich hingegen Unterschiede zu den Tieren aus Guernsey. So starb das erste Individuum bereits am dritten Tag des Versuchs. Am darauffolgenden Tag wurde eine etwa 5%ige Mortalität beobachtet. Am vorletzten Tag der Stressphase sank der Anteil überlebender *C. gigas* um weitere 10% und am letzten Tag nochmals um 20%. Es überlebten also 60% der Tiere aus Japan den 6-tägigen Sauerstoffmangelstress (Abbildung 2.2) im Gegensatz zu 97,25% der Individuen aus Guernsey (Abbildung 2.1). Die Überlebenskurven für die sich um den Faktor 9 unterscheidenden Sauerstoffkonzentration waren laut Log-Rank Test signifikant verschieden ( $\chi^2=215$ ,  $p \leq 0,001$ ).

#### 3.2.1.3 Direkter Vergleich der beiden Populationen

Der statistische Vergleich zwischen den Populationen aus Guernsey und Akkeshi für die beiden Gruppen ( Nr.1 und Nr.2), die die Hypoxie erfahren haben, ergab einen signifikanten Unterschied ( $\chi^2=144$ ;  $p \leq 0,001$ ; Log-Rank Test).

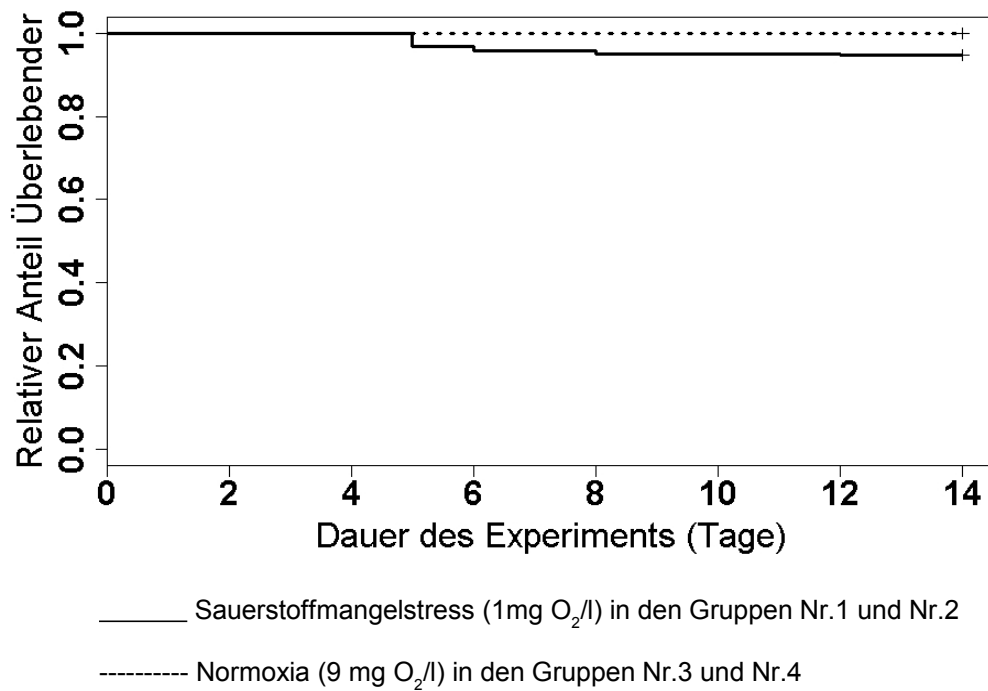


Abbildung 2.1. Überlebenskurven juveniler *C. gigas* aus einer Austerfarm auf Guernsey für das erste Teilexperiment. Die Kurvenverläufe waren signifikant verschieden.  $\chi^2=21,5$ ,  $p\leq 0,001$  (Log-Rank Test). Replikate= 20.

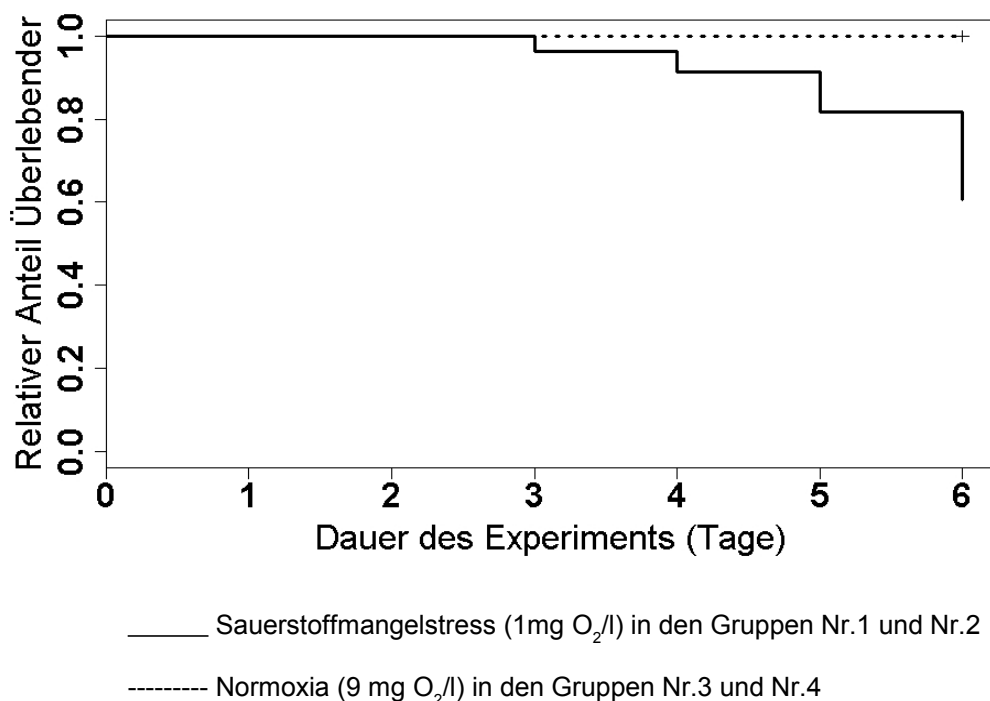


Abbildung 2.2. Überlebenskurven juveniler *C. gigas* aus einer Austerfarm in Akkeshi für die erste Versuchsphase. Die Kurvenverläufe waren signifikant verschieden  $\chi^2=215$ ,  $p\leq 0,001$  (Log-Rank Test). Replikate=22.

### 3.2.2 Mortalität während der zweiten Stressphase (erhöhte Umgebungstemperatur)

#### 3.2.2.1 Eingeführte *C. gigas* aus Guernsey, UK

Während der 8-tägigen Versuchsphase hatten beide Gruppen, vorbehandelt und nicht-vorbehandelt, ihre ersten Todesfälle am 4.Tag, allerdings war die Mortalität mit 12,5% in der vorgestressten Gruppe etwas niedriger als in der nicht vorgestressten Gruppe mit 15% (Abbildung 3.1a). Dieser Trend, dass die zuvor nicht gestresste Gruppe eine leicht bis deutlich höhere Mortalität zeigte, hielt für die folgenden Tage an. Am 5.Tag fand ein drastischer Anstieg der Mortalität in der vorgestressten Gruppe (40%ige Mortalität) und in der zuvor nicht gestressten Gruppe (67%ige Mortalität) statt. Während die Mortalität am nächsten Tag in der vorgestressten Gruppe weiterhin relativ hoch blieb (30%), war sie in der nicht vorgestressten Gruppe deutlich niedriger (10%). Über die nächsten zwei Tage sank der prozentuale Anteil der Überlebenden in der Gruppe, die zuvor den Sauerstoffmangelstress erfahren hatte, auf ca. 5% und in der anderen Gruppe auf ca. 2,5%. Die Überlebenskurven unterschieden sich signifikant ( $\chi^2=16,5$ ,  $p\leq 0,001$ ; Log-Rank Test). Abbildung 3.1b stellt die Überlebenskurven der Kontrollgruppe, die weder während des ersten noch des zweiten Teil des Experiments gestresst wurde, der Gruppe gegenüber, die nur im zweiten Teil durch erhöhte Wassertemperatur gestresst wurde. Wie auch während der ersten Phase des Experiments zeigte die Kontrollgruppe keine Mortalität. Es ist somit keine Hintergrundmortalität aufgetreten. Wie zuvor bei Abbildung 3.1a beschrieben, starben die juvenilen *C. gigas* der nicht vorgestressten Gruppe massiv während des Wärmestress. Das Ergebnis des Log-Rank Test war signifikant ( $\chi^2=406$ ,  $p\leq 0,001$ ).

#### 3.2.2.2 Native *C.gigas* aus Akkeshi

In der elftägigen Stressphase starb in der zuvor nicht gestressten Gruppe bereits ein Tier am 3.Tag des Wärmestress (Abbildung 3.2a) und somit zwei Tage früher als bei den Individuen aus Guernsey (Abbildung 3.1a). In der vorgestressten Gruppe allerdings dauerte es wie bei den Individuen aus Guernsey bis zum vierten Tag bis das erste Individuum starb. Die Mortalität war über die gesamte Stressphase hinweg aber deutlich niedriger als bei dem Experiment mit *C. gigas* aus Guernsey (Abbildung 3.1a, Abbildung 3.2a). Jedoch ließ sich derselbe Trend, nämlich dass die Mortalität pro Tag sowie die Gesamtmortalität in der zuvor nicht gestressten Gruppe prinzipiell höher war als in der vorgestressten Gruppe, beobachten. Einzige Ausnahme davon war der neunte Tag mit identischer Mortalität von ca.15%. Dies war die höchste für einen Versuchstag beobachtete Mortalität, einen vergleichbaren Einbruch wie bei den Juvenilen aus Guernsey am fünften Tag, gab es also nicht. Bis zum letzten Tag des Wärmestress überlebten 75% der vorgestressten Tiere und ca. 67,25% Tiereder nicht vorgestressten Gruppe. Der Log-Rank Test fand für die beiden Überlebenskurven keinen signifikanten Unterschied ( $\chi^2=1,2$ ,  $p=0,282$ ). Für die Überlebenskurve der Kontrollgruppe, die weder in der ersten noch in der zweiten Phase des Experiments Stress erfahren hat sowie die Kurve für die Gruppe, die nur den Wärmestress erfahren hat (Abbildung 3.2b), gab es einen signifikanten Unterschied laut Log-Rank Test

( $\chi^2=26,3$ ;  $p \leq 0,001$ ). Wie bei den *C. gigas* aus Guernsey gab es in der Kontrollgruppe keine Mortalität während des zweiten Telexperiments, die zuvor nicht gestressten Individuen allerdings zeigten Mortalität, die bei Beschreibung von Abbildung 3.1a bereits charakterisiert wurde.

### 3.2.2.3 Direkter Vergleich der beiden Populationen

Der statistische Vergleich zwischen den Populationen aus Guernsey und Akkeshi für die Gruppe (Nr.3), die den Wärmestress erfahren hat, ergab einen signifikanten Unterschied ( $\chi^2=157$ ;  $p \leq 0,001$ ; Peto-Wilcoxon Test). Auch für die Gruppe Nr.1, die die aufeinanderfolgende Behandlung von zwei Stressoren erlebte, war der statistische Vergleich zwischen den beiden Populationen signifikant verschieden ( $\chi^2=135$ ;  $p \leq 0,001$ ; Log-Rank Test).

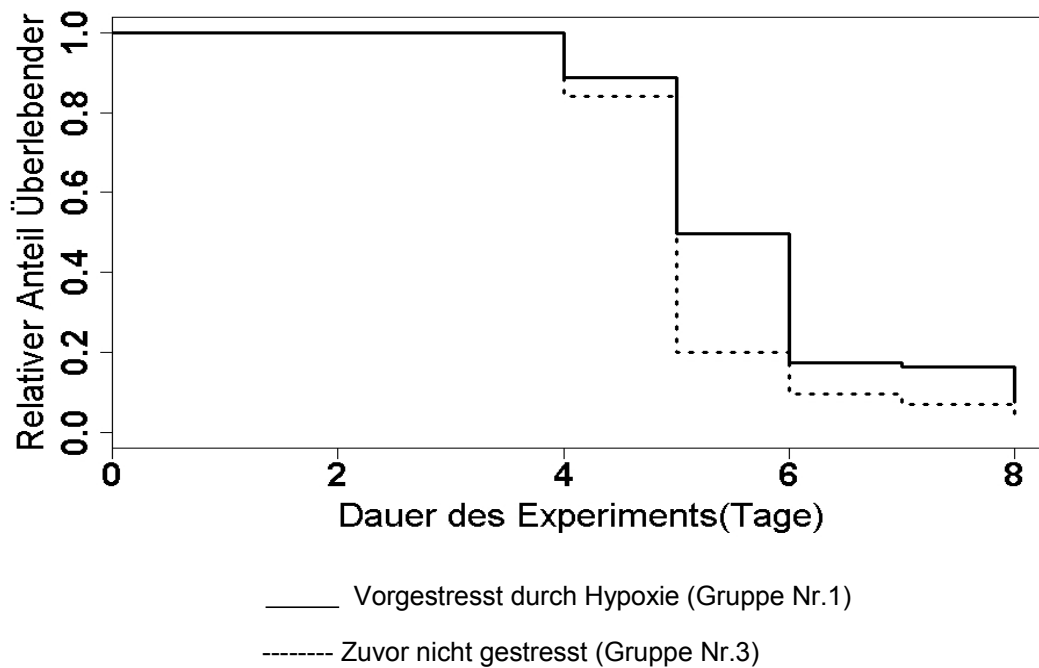


Abbildung 3.1a Überlebenskurven vorgestresster und nicht vorgestresster juveniler *C. gigas* aus einer Austernfarm auf Guernsey für den zweiten Stressor Wärme (32°C). Die beiden Kurvenverläufe sind signifikant verschieden.  $\chi^2=16,5; p \leq 0,001$  (Log-Rank Test). Replikate=10.

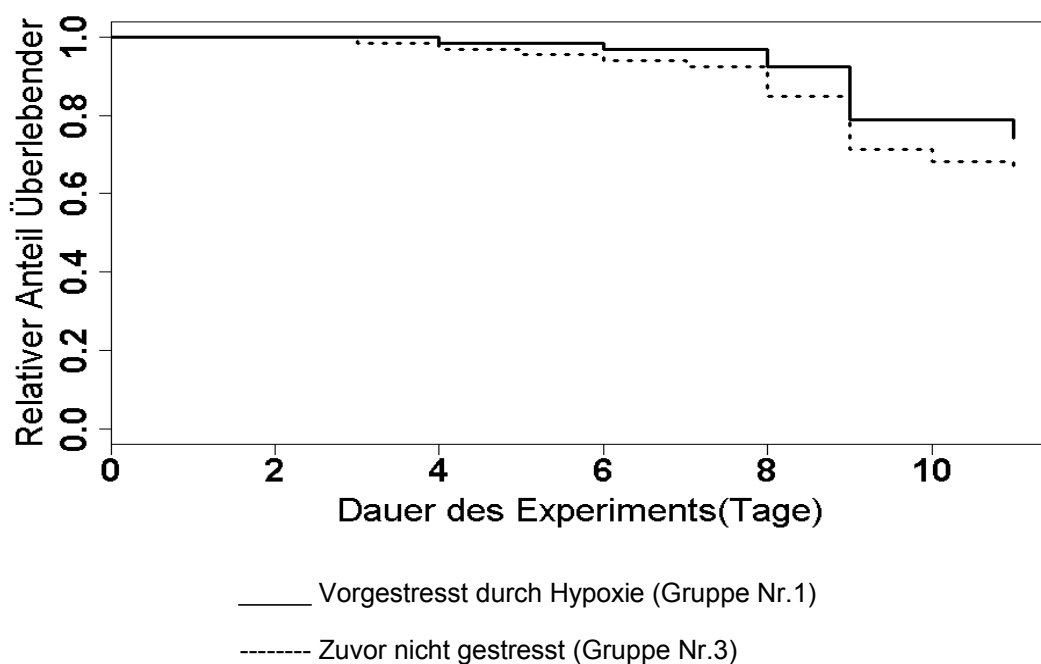


Abbildung 3.2a. Überlebenskurven vorgestresster und nicht vorgestresster juveniler *C. gigas* aus einer Austernfarm in Akkeshi für den zweiten Stressor Wärme (34°C). Die Kurvenverläufe sind nicht signifikant verschieden.  $\chi^2=1,2; p=0,282$  (Log-Rank Test). Replikate=11.

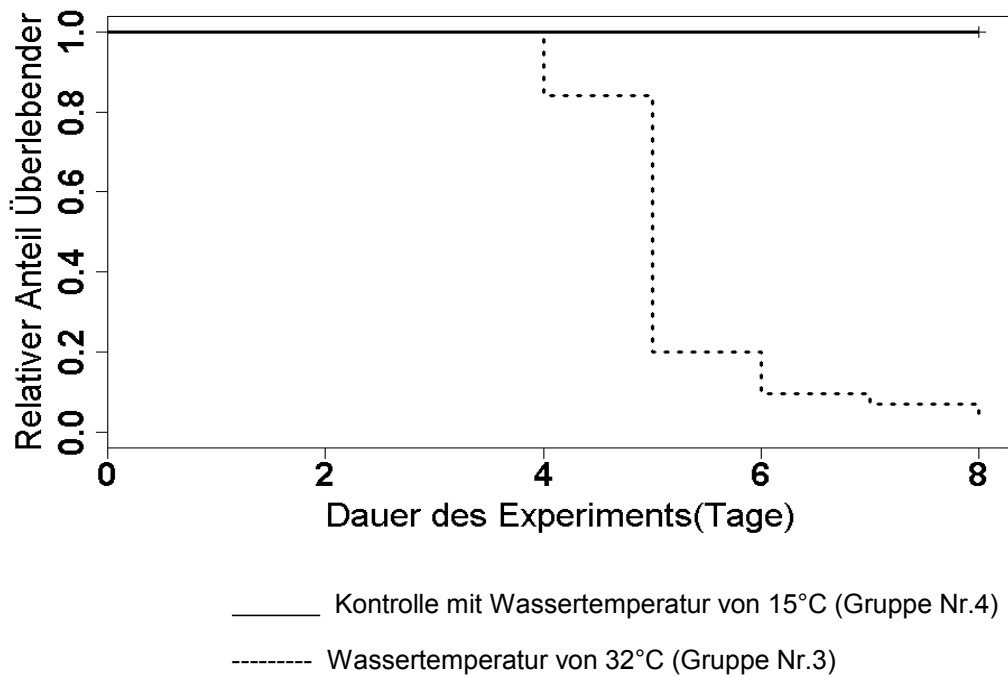


Abbildung 3.1b. Die Kurven stellen den relativen Anteil Überlebender juveniler *C. gigas* aus der Austernfarm auf Guernsey für die Wassertemperatur von 15°C (Kontrolle) und 32°C (Wärmestress) dar. Die Kurvenverläufe sind signifikant.  $\chi^2=406$ ;  $p \leq 0,001$  (Log-Rank Test). Replikate=10.

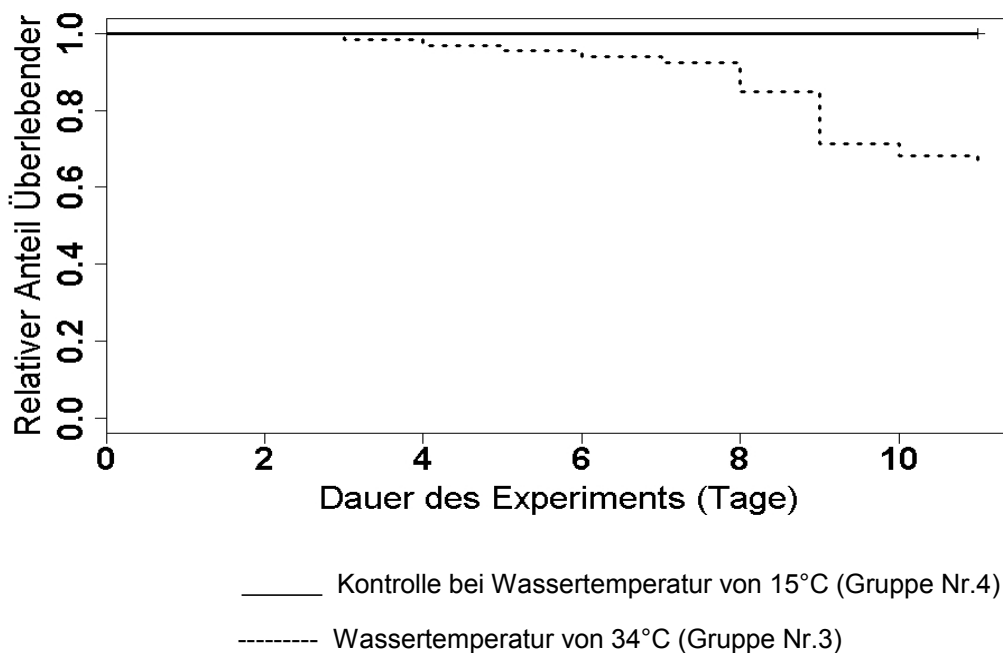


Abbildung 3.2b. Die Kurven zeigen den relativen Anteil Überlebender juveniler *C. gigas* aus der Austernfarm in Akkeshi für die Wassertemperatur von 15°C (Kontrolle) und 34°C (Wärmestress). Die Kurvenverläufe sind signifikant verschieden.  $\chi^2=26,3$ ,  $p \leq 0,001$  (Log-Rank Test). Replikate=10.



## 4. Diskussion

### 4.1 Toleranz invasiver, adulter *C. gigas* gegenüber multiplen Umweltstressoren

#### 4.1.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Wärmestressbehandlung von 24°C führte über einen Zeitraum von 11 Tagen zu keiner Mortalität. In der sich direkt anschließenden Stressphase durch Sauerstoffmangel gab es im Wesentlichen zwei Unterschiede zwischen der durch erhöhte Wassertemperatur vorgestressten Gruppe und der nicht vorgestressten Gruppe, die jedoch nicht zu einer statistisch signifikanten Differenz in den Kurvenverläufen führten. Die nicht vorgestresste Gruppe hatte ihr erstes Todesereignis vier Tage vor der anderen Gruppe. Außerdem war die Mortalität ab dem vierundzwanzigsten Tag in der vorgestressten Gruppe um 10-15% höher, so dass der Anteil der Überlebenden in der nicht vorgestressten Gruppe zum Ende des Experiments höher war.

#### 4.1.2 Beantwortung der Fragestellung

Adulte *C. gigas* aus dem Intertidal des Wattenmeers können aufeinanderfolgenden Wärme- und Sauerstoffmangelstress gut tolerieren. Zumindest für den Zeitraum von elf Tagen Wärmestress und sich anschließendem Sauerstoffmangel von siebenundzwanzig Tagen. Der zwischen der vorgestressten und nicht vorgestressten Gruppe auftretende Mortalitätsunterschied von zehn bis fünfzehn Prozent ab dem vierundzwanzigsten Tag lässt offen, ob sich bei einer längeren zweiten Stressphase doch noch ein signifikanter Unterschied gezeigt hätte.

#### 4.1.3 Interpretation der Ergebnisse

Bisher haben sich Experimente mit *C. gigas* auf einzelne oder gleichzeitig, in Kombination, angewendete Stressoren beschränkt, so dass kein direkter Vergleich meiner Ergebnisse mit anderen Studien möglich ist. Es ist allerdings bekannt, dass als Antwort auf den Wärmestress verschiedene Veränderungen auf zellulärer und physiologischer Ebene stattfinden, die Energie kosten (Meistertzheim et al., 2007). Die vorbehandelten Individuen können also durchaus geschwächt gewesen sein, was sich in der Antwortvariablen Mortalität aber nicht widerspiegelte. Eventuellwar die Stresstärke des Wärmestresses zu niedrig gewählt. Nichtsdestotrotz kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Erhöhung der Umgebungstemperatur eine sublethale Stresssituation für die Tiere dargestellt hat. Allerdings ist der beobachtete Unterschied in der Mortalität zu der zuvor nicht behandelten Gruppe mit zehn bis fünfzehn Prozent gering. Zu den im Experiment angewandten Stresssituation sei noch angemerkt, dass sie den Bedingungen, die im Subtidal herrschen, entsprachen, da der Gezeitenrhythmus nicht simuliert wurde und sich die Tiere permanent im Wasser befanden.

#### 4.1.4 Fazit

Die Effekte der beiden klimawandel-basierten Stressoren, erhöhte Wassertemperatur und Hypoxie, bei der Behandlung von adulten *C. gigas* wirkten in meinem Versuch nicht synergistisch oder antagonistisch. Es macht vielmehr keinen Unterschied, ob Hypoxie auf eine Phase von moderatem Wärmestress folgt oder die Hypoxie direkt erfolgt. Prognosen darüber, wie sich das Aufeinanderfolgen dieser beiden Stressoren auf die im Wattenmeer invasive *C. gigas* auswirken wird, können, ausgehend von meinen Ergebnissen, daher nur basierend auf dem Verhalten von *C. gigas* gegenüber den einzelnen Stressoren gemacht werden. Man muss annehmen, dass die Effekte der einzelnen Stressoren sich addieren werden. Das in dem Experiment verwendete Szenario ist durchaus realistisch- es ist möglich, dass im Juni oder Juli während einer elftägigen Hitzewelle eine Wassertemperatur von 24°C vor Sylt erreicht wird. Auch Sauerstoffmangel im Anschluss daran ist denkbar.

#### 4.1.5 Ausblick

*C. gigas* wurde freilebend im nordfriesischen Wattenmeer erstmals 1991 beobachtet (Reise, 1998). Seitdem breitet sich *C. gigas* aus, bildet Riffe und ist dabei *M. edulis*, die bis zur Invasion von *C. gigas* dominant war, zu verdrängen (Diederich, 2005). Eine interessante, neue Fragestellung wäre daher, wie sich *M. edulis* gegenüber multiplen Umweltstressoren verhält. Ist *C. gigas* resistenter als *M. edulis*? Wäre dies der Fall, so würde es die Theorie bekräftigen nach der sich erfolgreiche, invasive Organismen durch eine erhöhte Resistenz gegenüber Umweltstress auszeichnen. Es ist daher geplant, dasselbe Experiment mit *M. edulis* durchzuführen, um einen Vergleich zu ermöglichen.

### 4.2 Vergleich der Toleranz von eingeführten und nativen, juvenilen *C. gigas* gegenüber multiplen Umweltstressoren

#### 4.2.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Der Sauerstoffmangelstress führte in einem vergleichbaren Zeitraum von 6 Tagen bei *C. gigas* aus Guernsey zu einer deutlich geringeren Mortalität (5%) als bei den *C. gigas* aus Akkeshi (40%). Aufgrund dieses Unterschieds folgte auf die erste Stressphase bei den *C. gigas* aus Akkeshi eine zehntägige Erholungsphase. Für die *C. gigas* aus Guernsey gab es so eine Erholungsphase jedoch nicht. Die normale Sauerstoffkonzentration führte weder bei den *C. gigas* aus Guernsey noch bei den *C. gigas* aus Akkeshi zu Mortalität. In der zweiten Stressphase ließ sich sowohl bei den Individuen aus Guernsey als auch bei denen aus Akkeshi der Trend beobachten, dass die zuvor nicht gestresste Gruppe eine signifikant höhere Mortalität zeigte als die vorgestresste. Jedoch waren die *C. gigas* aus Guernsey empfindlicher für den achttägigen Wärmestress bei 32°C: es überlebten nur ca. 2,5% in der nicht vorgestressten Gruppe und ca. 5% in der vorgestressten Gruppe. Bei den *C. gigas* aus Akkeshi überlebten den achttägigen Wärmestress

bei 34°C in der zuvor nicht gestressten Gruppe 85%, in der vorgestressten Gruppe 97,25%.

#### 4.2.2 Beantwortung der Fragestellung

##### Toleranz gegenüber einzelnen Stressoren

*C. gigas* aus Guernsey waren toleranter gegenüber Hypoxie als Individuen aus der nativen Population in Akkeshi. Für den Wärmestress zeigte sich hingegen ein anderes Bild: *C. gigas* aus Guernsey waren weniger tolerant als *C. gigas* aus Akkeshi. Das Modell, das voraussagt, dass eingeführte oder invasive Populationen stresstoleranter sind als die Ursprungspopulationen wird durch meine Beobachtung für Hypoxie bekräftigt. Den Wärmestress betreffend ist das Modell, das das Gegenteil postuliert, passender.

##### Toleranz gegenüber multiplen Stressoren

Bei der aufeinanderfolgenden Behandlung mit zwei Stressoren waren Austern aus Guernsey hingegen weniger tolerant als jene aus Akkeshi. Dieses Ergebnis stützt das Modell nachdem eingeführte oder invasive Populationen weniger tolerant gegenüber Stress sein sollten als native Populationen, möglicherweise weil sie genetisch verarmt sind. Die Individuen aus beiden Populationen waren jedoch insgesamt toleranter gegenüber multiplen als gegenüber einzelnen Stressoren.

#### 4.2.3 Einordnung in das Forschungsgebiet

##### 4.2.3.1 Genetische Diversität in eingeführten und nativen Populationen von *C. gigas*

*C. gigas* wurde zu Kultivierungszwecken in vielen Ländern eingeführt. Die Hypothese, dass die genetische Diversität in den eingeführten Populationen niedriger ist als in der Ursprungspopulation wurde in einer Reihe von Studien getestet. Gosling (1981) fand für *C. gigas* aus der Austernfarm Seasalter Shellfish Ltd in Kent (England), dass die Population im Allgemeinen ihre genetische Vielfalt im Vergleich zur nativen, japanischen Population nicht verloren hat. Jedoch war der Locus Pgi, der sehr polymorph in der Ursprungspopulation war, nur noch monomorph in der eingeführten Population. Für zufällig in Neuseeland eingeführte *C. gigas* konnte kein Verlust in der genetischen Variabilität festgestellt werden (Smith et al., 1986). Auch English et al. (2000) stellten keinen nennenswerten Verlust in der genetischen Diversität in der Population einer australischen Austernfarm fest. Schließlich untersuchten Li und Yu (2007) die genetische Variation von chinesischen, eingeführten Populationen konnten aber keinen signifikanten Unterschied zu den japanischen Populationen feststellen. Leider liegt keine Studie für die Population der Guernsey Sea Farms Ltd vor, so dass sich keine Aussage über die genetische Vielfalt machen lässt. Allerdings ist bekannt, dass die *C. gigas* der Guernsey Sea Farms aus einer Austernfarm aus British Columbia in Kanada stammen (Child et al., 1995). In British Columbia wurden zu Beginn des 20. Jahrhunderts *C. gigas* aus Japan eingeführt (Gosling, 1982). 1964 und 1972 wurden jeweils 76 adulte *C. gigas* aus British Columbia nach Großbritannien gebracht aus denen die

Population der Guernsey Sea Farms sowie alle Populationen der britischen Austernfarmen hervorgingen. Bis jetzt konnte also kein Flaschenhalseffekt für eingeführte Populationen von *C. gigas* festgestellt werden.

#### 4.2.3.3 Kreuztoleranz

Obwohl sich Unterschiede zwischen *C. gigas* aus Guernsey und Akkeshi in der Toleranz gegenüber den einzelnen als auch den multiplen Stressoren zeigten, waren die vorgestressten Individuen beider Populationen toleranter gegenüber dem zweiten Stressor als diejenigen Individuen, die erstmalig in dem Experiment Stress erfuhren (Abbildung 3.1a, Abbildung 3.2a). Statistisch konnte ein Unterschied zwischen den beiden Gruppen jedoch nur bei der Population aus Guernsey nachgewiesen werden. Der beobachtete Unterschied kann durch Kreuztoleranz (engl., cross-tolerance) bzw. Kreuzschutz (engl., cross-protection) erklärt werden. Beides ist bekannt aus der Zellkultur, von Bakterien und Insekten. Werden kultivierte, menschliche Zellen einem milden Stress, der ausreichend ist, um die Produktion von Hitzeschockproteinen zu induzieren, ausgesetzt, dann sind die Zellen dadurch vor einem nachfolgenden Stress geschützt (Alsbury et al., 2003). Stresste man das Bakterium *Vibrio parahaemolyticus* durch Nahrungsmangel, war es anschließend resistenter gegenüber Hitze-, Osmose- und Wasserstoffperoxidstress (Koga & Takumi, 1995). Ähnliches konnte für das Bakterium *Aeromonas hydrophila* gezeigt werden: Stress durch Nahrungsknappheit führte zu einer erhöhten Resistenz gegenüber Ethanolstress (Mary et al., 2003). Kreuztoleranz wurde auch bei *Locusta migratoria* gefunden (Wu et al., 2002). Die Erfahrung von Anoxie führte zu einer erhöhten Resistenz gegenüber nachfolgendem Wärmestress. Allerdings waren Individuen, die durch hohe Temperaturen gestresst wurden nicht toleranter gegenüber Anoxie. Bei *Musca domestica* hingegen fand man, dass Individuen, die Anoxie ausgesetzt wurden eine erhöhte Toleranz gegenüber Kältestress zeigten (Coulson & Bale, 1991). Eine Kreuztoleranz zwischen Hypoxie und Wärmestress bei *Drosophila melanogaster* konnte hingegen nicht nachgewiesen werden (Lighton, 2007). In dieser Bachelorarbeit wurde eine Kreuztoleranz für juvenile *C. gigas* gefunden: Individuen, die Hypoxie erfahren hatten, waren auch toleranter gegenüber nachfolgendem Wärmestress. Für die *C. gigas* aus Guernsey war der Unterschied signifikant, bei den Individuen aus Akkeshi hingegen nicht. Die molekulare Grundlage für diese Kreuztoleranz könnten Hitzeschockproteine sein, die sowohl bei Hypoxie als auch bei Wärmestress exprimiert werden. Bei *C. gigas* ist das zum Beispiel für HSP70 bekannt (David et al., 2005, Meistertzheim et al., 2007).

#### 4.2.4 Fazit

In anderen Studien konnte bereits gezeigt werden, dass invasive Arten toleranter gegenüber Umweltstress sind als native Arten, die in demselben Habitat vorkommen (z. B. Zardi et al., 2008). So wird der Erfolg einer invasiven Art u.a. auf diese Eigenschaft zurückgeführt. Eine sich daraus ergebende Fragestellung ist, ob die Art im Allgemeinen stresstoleranter ist, oder die hohe Stresstoleranz nur die invasive Population betrifft. Der Vergleich der Toleranz gegenüber einzelnen Stressoren sowie multiplen Stressoren zwischen einer nativen und einer eingeführten Population juveniler *C. gigas* zeigte, dass eingeführte *C. gigas* Hypoxie besser tolerieren, Wärmestress hingegen schlechter. Die multiplen Stressoren betreffend waren sie ebenfalls weniger tolerant als die nativen *C. gigas*. Um dieses Ergebnis erklären zu können, könnte man annehmen, dass durch Transport während der Einführung sowie durch die Kultivierung, Gene für die Toleranz von Wärmestress und aufeinanderfolgender Hypoxie und Wärmestress in der Gründerpopulation verloren gegangen sind (siehe 4.3.3.), diejenigen für die Toleranz für Hypoxie jedoch nicht. Eine weitere Kernaussage des Vergleichs war, dass juvenile *C. gigas*, die zuerst Hypoxie und dann Wärmestress erfuhren, toleranter waren, als solche Individuen, die den Wärmestress direkt erfahren haben. Für die Individuen aus Guernsey war dieser Unterschied signifikant, für die Individuen aus Akkeshiwar der Log-Rank Test nicht signifikant, obwohl die Überlebenskurven der beiden Gruppen eindeutig unterschiedlich verlaufen. Diese Beobachtung lässt sich durch Kreuztoleranz zwischen Hypoxie und Wärmestress erklären. Sublethale Hypoxie erhöht die Toleranz gegenüber nachfolgendem Wärmestress. Eine vergleichbare Kreuztoleranz zwischen Anoxie und Wärmestress wurde für *Locusta migratoria* dokumentiert.

#### 4 2.5 Ausblick

Es wäre aufschlussreich die experimentellen Beobachtungen mit der zellulären Stressantwort abzugleichen, d.h. die Genexpressionsmuster zwischen den vorgestressten und nicht vorgestressten Individuen zu vergleichen, um Hinweise darauf zu erhalten, welche Stressproteine für die Kreuztoleranz verantwortlich sind. Weiter wäre es aufschlussreich, dieselben Experimente mit juvenilen *C. gigas* aus einer invasiven Population durchzuführen.

### 4.3 Vergleich der Toleranz juveniler und adulter *C. gigas* gegenüber einzelnen und multiplen Umweltstressoren

#### 4.3.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ein unmittelbarer Vergleich zwischen juvenilen und adulten *C. gigas* ist nur für Hypoxie möglich. Denn für den Wärmestress unterschieden sich die Wassertemperaturen um 8-10°C. Auch für die multiplen Stressoren ist nur ein sehr eingeschränkter Vergleich möglich, da zwar die Stressoren dieselben waren, aber deren Reihenfolge zwischen den Versuchen differierte. So starben die

ersten Juvenilen aus Akkeshi bereits am 3. Tag und die ersten Juvenilen aus Guernsey am 5. Tag, während bei den Adulten für den möglichen, vergleichbaren Zeitraum von 6 Tagen Hypoxie kein Todesereignis eintrat. 60% (Akkeshi) bzw. 97% (Guernsey) der Juvenilen überlebten die sechstägige Hypoxie gegenüber 100% der Adulten. Für die multiplen Stressoren lässt sich unabhängig von der Reihenfolge der Stressoren festhalten, dass die Erfahrung eines ersten Stressors die Toleranz gegenüber einem zweiten Stressor bei adulten *C. gigas* nicht signifikant beeinflusst hat, bei den Juvenilen aus Akkeshi ebenso wenig, bei den Juvenilen aus Guernsey hingegen schon.

#### 4.3.2 Beantwortung der Fragestellung

Es gibt Unterschiede in der Toleranz gegenüber Umweltstress zwischen juvenilen und adulten *C. gigas*. Die Adulten waren toleranter gegenüber Hypoxie. Allerdings ist der Unterschied je nachdem aus welcher Population die Juvenilen stammen verschieden groß zu den Adulten. Dasselbe gilt auch für die Toleranz zwei aufeinanderfolgender Stressoren.

#### 4.3.3 Einordnung in das Forschungsgebiet

Mit zunehmendem Alter verändert sich der Stoffwechsel von Muscheln. Mehr Energie wird für die Produktion von Gameten aufgewendet. Daher vermutet man, dass ältere Individuen empfindlicher gegenüber Umweltstress sein sollten und ein niedrigeres Potential haben sich von der Stresssituation zu erholen (Hole et al., 1992). In ihren Experimenten mit drei verschiedenen Altersklassen (2-4 Jahre, 6-8 Jahre und  $\geq 10$  Jahre) von *Mytilus edulis* konnten Hole et al. (1995) dies beobachten. Die Versuchstiere wurden für 24h gleichzeitig Wärmestress (28° C) und Hypoxie ausgesetzt. 24h nach Ende des Stresses untersuchten sie die Stabilität der Lysosomen in Zellen der Verdauungsdrüse und die Rate des Sauerstoffverbrauchs. Dabei fanden sie, dass nur die jüngsten Muscheln die Integrität ihrer Lysosomen wieder hergestellt hatten und die Rate des Sauerstoffverbrauchs wieder auf Normal-Niveau abgesunken war. Weiter fanden Ivanina et al. (2008), dass mit zunehmendem Alter (7 Monate, 10 Monate, 1,5 Jahre, 2 Jahre, 2,5 Jahre und 4 Jahre) von *Crassostrea virginica* in der Kieme die Menge an HSP60 abnahm, die Menge von HSP 70 gleichblieb und die von HSP90 zunahm. Die Abnahme von HSP60 wurde signifikant um das Alter von 2 Jahren, dann also wenn die Tiere geschlechtsreif werden. Darüber hinaus weiß man von verschiedenen Insekten und Säugetieren, dass die Höhe von konstitutiven Hitzeschockproteinen je nach Tierart und Gewebe während des Alterns zu- oder abnehmen kann (Söti & Csermely, 2000, 2002). Mit zunehmendem Alter wird die Bildung von Hitzeschockproteinen jedoch weniger leicht induziert, was auch als Hinweis darauf gewertet wird, dass ältere Tiere weniger tolerant gegenüber Umweltstress sind. Das verschiedene Umweltparameter je nach Alter von *C. gigas* das Überleben unterschiedlich stark beeinflussen zeigten Soletchnik et al. (2007). Sie fanden, dass die Wassertemperatur ein bedeutenderer Faktor für die Mortalität einjähriger *C. gigas* war als für die der Zweijährigen. Während die Salinität eine größere Rolle für das Überleben

zweijähriger *C. gigas* spielte als für das Überleben einjähriger *C. gigas*. Man führt dies zurück auf die Veränderung des Stoffwechsels mit zunehmendem Alter. Die Vermutung liegt daher nah, dass *C. gigas* je nach Alter auch nicht gleichbleibend tolerant für Umweltstress ist und sich die Toleranz für ein und denselben Umweltstress verändert.

#### 4.3.4 Fazit

Die Experimente bestätigen, dass sich juvenile und adulte *C. gigas* in ihrer Toleranz gegenüber Umweltstress unterscheiden. Allerdings waren entgegengesetzt der Erwartung, die älteren Individuen toleranter. Möglicherweise hängt das spezifisch mit dem verwendeten Stressor Hypoxie zusammen und für andere Umweltstressoren sind dann doch die jüngeren Individuen toleranter. Die multiplen Stressoren betreffend kann dieses von der Theorie abweichende Ergebnis auch durch die nicht identische Reihenfolge der Stressoren für Juvenile und Adulte erklärt werden. Es ist möglich, dass Hypoxie mit anschließendem Wärmestress von juvenilen *C. gigas* gut toleriert wird, von adulten *C. gigas* jedoch nicht. Wärmestress mit darauffolgender Hypoxie jedoch von adulten *C. gigas* gut toleriert wird, von juvenilen *C. gigas* jedoch nicht. Auch, dass die Juvenilen sich je nach Population anders gegenüber dem Umweltstress verhalten, verhindert eine Verallgemeinerung der Ergebnisse. Falls in der Zukunft weitere Experimente zeigen, dass die Juvenilen empfindlicher sind als die Adulten, würde das bedeuten, dass die jungen Entwicklungsstadien verletzlicher gegenüber dem Klimawandel sind als die Älteren. Eventuell werden Juvenile verschiedener Populationen unterschiedlich stark von dem durch den Klimawandel hervorgerufenen Umweltstress betroffen sein. Mortalitätsraten sind ein sehr direktes Maß dafür, wie stark sich Fluktuationen in einem Umweltparameter auf die Fitness einer Gruppe von beispielsweise Tieren auswirken. Mit ihrer Hilfe lässt sich feststellen, ob überhaupt ein Stress vorliegt und die Interpretation dieser Daten ist eindeutig. Allerdings lassen sich sublethale Stresseffekte auf diese Weise nicht erfassen. In meinem Versuch befanden sich jeweils mehrere Individuen der Art *C. gigas* in einem Behälter und waren somit identischen Umweltbedingungen ausgesetzt. Im Rahmen der von mir durchgeführten Überlebensanalyse habe ich diese Individuen dennoch als unabhängige Replikate behandelt. Dies birgt das Risiko der Pseudoreplikation, beispielsweise wenn abgestorbene Austern die Wasserqualität in einem Behälter negativ beeinflussten und somit andere Individuen schädigten. Dem habe ich aber durch häufiges Kontrollieren und sofortiges Entfernen toter Individuen entgegengewirkt. Daher denke ich das solche Effekte bei der Analyse der Daten vernachlässigt werden können.

#### 4.5 Ausblick

Es stellt sich die Frage, ob das Alter entscheidender ist für die Toleranz von Umweltstress oder die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Population. Schließlich stammten die adulten *C. gigas* aus einer invasiven Population, die Juvenilen jeweils aus einer einheimischen und eingeführten Population. Um diese Frage beantworten zu können, könnte man die Stressexperimente jeweils

mit verschiedenen Altersklassen ein und derselben Population durchführen. Auch ob die Reihenfolge der Stressoren eine Rolle für die unterschiedlich alten Tiere spielt, wäre interessant zu erfahren.



## 5.Literaturverzeichnis

Adams,S.M,2005.Assessing cause and effect of multiple stressors on marine systems.

Mar Pol Bul 51:649-657.

Alsbury,S.,Papageorgiou,K.,Latchman,D.S.,2004. Heat shock proteins can protect aged human and rodent cells from different stressful stimuli.Mech Ageing Dev 94:233-249.

Bayne, B.L.,1985.Responses to environmental stresses: tolerance, resistance and adaptation.

In:European Marine Biology Symposium(18th:1983:University of Oslo) Marine biology of polar regions and effects of stress on marine organisms.

(Gray,J.S.,Christiansen,M.E.,eds.). John Wiley & Sons Ltd.,Great Britain.

Brett, J.R., 1958. Implications and assessment of environmental stress. In: Investigation of

fish-power problems(Larkins,P.A.,eds.). H.R.MacMillan Lectures in Fisheries,

University of British Columbia Press,Vancouver.

Broom, D.M., Johnson, K.G., 1993.Stress and animal welfare, erste Ausgabe,

Chapman&Hall, London.

Child,A.R.,Papageorgiou,P.,Beaumont,A.R.,1995. Pacific oyster *Crassostrea gigas*

(Thunberg) of possible French origin in natural spat in the British Isles.

Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystem 5:173-177.

Coulson,S.J.,Bale,J.S.,1991.Anoxia induces rapid cold hardening in the housefly *Musca*

*domestica*. J Insect Physiol 37:497-501.

Crain, C.M., Kroeker, K., Halpern, B.S.,2008. Interactive and cumulative effects of multiple

human stressors in marine systems. Ecol Let 11:1304-1315.

- Darling, E.S., Côté, I.M.,2008. Quantifying the evidence for ecological synergies.  
Ecol Lett 11: 1278-1286.
- Darling, E.S., McClanahan, T.R., Côté, I.M.,2010. Combined effects of two stressors on  
Kenyan coral reefs are additive or antagonistic, not synergistic.  
Conser Let 3: 122-130.
- David, E., Tanguy, A., Moraga, D., 2007. Peroxiredoxin 6 gene: A new physiological and  
genetic indicator of multiple environmental stress response in Pacific oyster  
*Crassostrea gigas*. A Toxicol 84:389-398.
- David, E., Tanguy, A., Pichavant, K., Moraga, D., 2005. Response of the Pacific oyster  
*Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions.FEBS J 272:  
5635-5652.
- Diaz, R.J., Rosenberg, R., 1995. Marine benthic hypoxia: a review of its ecological effects  
and the behavioral responses of benthic macro fauna. Oceanogr Mar Biol Annu Rev  
33: 245-303.
- Diederich, S.,2005. Invasion of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) in the Wadden Sea:  
Competitive advantage over native mussels.PhDthesis, Christian-Albrechts-  
Universität zu Kiel.
- Drinkwaard, A.C., 1999. Introductions and developments of oysters in the North sea area: a  
review. Helgoländer Meeresuntersuchungen 52:301-308.
- Ehrlich,P.R.,1984. Which animal will invade?In: Ecology of biological invasions of North  
America and Hawaii (Mooney, H.A., Drake, J.A.,eds.).Springer-Verlag,New York,  
S.79-85.

- English,L.J.,Maguire,G.B.,Ward,R.D.,2000. Genetic variation of wild and hatchery populations of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), in Australia. *Aquaculture* 187:283-298.
- Folt,C.L., Chen,C.Y.,Moore, M.V.,Burnaford, J., 1999. Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnol Oceanogr* 44:864-877.
- Gosling,E.M.,1982.Genetic variability in hatchery-produced Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg). *Aquaculture* 26:273-287.
- Hole,L.M.,Moore,M.N.,Bellamy,D.,1992. Age-related differences in the recovery of lysosomes from stress-induced pathological reactions in marine mussels. *Mar Environ Res* 34:75-80.
- Hole,L.M.,Moore,M.N.,Bellamy,D.,1995. Age-related cellular and physiological reactions to hypoxia and hyperthermia in marine mussels. *Mar Ecol Prog Ser* 122:173-178.
- IPCC, Houghton, J.T,Ding .,Y.,Griggs, D.J. et al.(eds.),2001. *Climate change 2001:the scientific basis*, Press syndicate of the University of Cambridge, Cambridge.
- Ivanina, A.V.,Sokolova, I.M.,Sukhotin, A.A.,2008.Oxidative stress and expression of chaperones in aging mollusks. *Comp Biochem Physiol B* 150:53-61.
- Jewett, E.B., Hines, A.H., Ruiz, G.M., 2005. Epifaunal disturbance by periodic low levels of dissolved oxygen: native vs. Invasive species response. *Mar Ecol Prog Ser* 304: 31-44.
- Johnson,M.W.,Powers,S.P.,Senne,J.,Park,K.,2009.Assesing in situ tolerances of Eastern Oysters (*Crassostrea virginica*) under moderate hypoxic regimes:implications for Restoration. *Shellfish Res* 28:185-192.

- Kennedy, V.S., 1990. Anticipated effects of climate change on estuarine and coastal fisheries. *Fisheries* 15: 15-25.
- Koga, T., Takumi, K., 1995. Nutrient starvation induces cross-protection against heat, osmotic, or H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> challenge in *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiol Immunol* 39:213-215.
- Kolar, C.S., Lodge, D.M., 2001. Progress in invasion biology: predicting invaders. *Trends Ecol Evol* 16:199-204.
- Kültz, D., 2005. Molecular and evolutionary basis of the cellular stress response. *Annu Rev Physiol* 67:225-257.
- Lang, R.P., Bayne, C.J., Camara, M.D., Cunningham, C., Jenny, M.J., Langdon, C.J., 2009. Transcriptome Profiling of selectively bred pacific oyster *Crassostrea gigas* families that differ in tolerance of heat shock. *Mar Biotechnol* 11: 650-668.
- Le Moullac, G., Quéau, I., Le Souchu, P., Pouvreau, S., Moal, J., Le Coz, J.R., Samain, J.F., 2007. Metabolic adjustments in the oyster *Crassostrea gigas* according to oxygen level and temperature. *Mar Biol Res* 3: 357-366.
- Lighton, J.R.B., 2007. Hot hypoxic flies: Whole-organism interactions between hypoxic and thermal stressors in *Drosophila melanogaster*. *J Thermal Biol* 32:134-143.
- Lockwood, J., Hoopes, M., Marchetti, M., 2007. *Invasion ecology*, erste Ausgabe. Blackwell Publishing, Oxford.
- Mary, P., Sautour, M., Chihib, N.E., Tierney, Y., Hornez, J-P., 2003. Tolerance and starvation induced cross-protection against different stresses in *Aeromonas hydrophila*. *Int J Food Microbiol* 63:169-173.

- McMahon, R.F., 2002. Evolutionary and physiological adaptations of aquatic invasive animals: r selection versus resistance. *Can J Fish Aquat Sci* 59: 1235-1244.
- Meistertzheim, A.-L., Tanguy, A., Moraga, D. Thébault, M.-T., 2007. Identification of differentially expressed genes of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to prolonged thermal stress. *FEBS J* 274:6392-6402.
- Parsell, D.A., Lindquist, S., 1993. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. *Annu Rev Genet* 27:437-496.
- Petes, L.E., Menge, B.A., Murphy, G.D., 2007. Environmental stress decreases survival, growth and reproduction in New Zealand mussels. *J Exp Mar Biol Ecol* 66: 83-91.
- Petraitis, P.S., Latham, R.E., Niesenbaum, R.A., 1989. The maintenance of species diversity by disturbance. *Q Rev Biol* 64: 393-418.
- Pörtner, H.O., Langenbuch, M., Michaelidis, B., 2005. Synergistic effects of temperature extremes, hypoxia and increases in CO<sub>2</sub> on marine animals: From Earth history to global change. *J Geophys Res* 110:C09S10.
- R Development Core Team (2010). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Reise, K., 1998. Pacific oysters invade mussel beds in the European Wadden Sea. *Senckenbergiana Maritima* 28: 167-175.
- Roman, J., Darling, J.A., 2007. Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trend Ecol Evol* 22:454-464.

- Sakai, A.K., Allendorf, F.W., Holt, J.S., Lodge, D.M., Molfsky, J. With, K.A., Baughman, S., Cabin, R.J., Cohen, J.E., Ellstrand, N.C., McCauley, D.E., O'Neil, P., Parker, I.M., Thompson, J.N., Weller, S.G., 2001. The population biology of invasive species. *Annu Rev Ecol Syst* 32:305-332.
- Sandberg, E., 1997. Benthic predator-prey relationships and abiotic stress: the effects of physical disturbance and oxygen deficiency. In: *Acta Academiae Aboensis Ser. B* 56.Nr.1. (Högnas, G., eds.) Åbo Akademi University Press.
- Selye, H., 1973. The evolution of the stress concept. *Amer Scient* 61:692-699.
- Shpigel, M., Barber, B.J., Mann, R., 1992. Effects of elevated temperature on growth, gametogenesis, physiology and biochemical composition in diploid and triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* Thunberg. *J Exp Mar Biol Ecol.* 161:15-25.
- Smith, P.J., Ozaki, H., Fujio, Y., 1986. No evidence for reduced genetic variation in the accidentally introduced oyster *Crassostrea gigas* in New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 20:569-574.
- Soletchnik, P., Ropert, M., Mazurié, J., Fleury, P.G., Le Coz, F., 2007. Relationships between oyster mortality patterns and environmental data from monitoring databases along the coasts of France. *Aquaculture* 271:384-400.
- Söti, C., Csermely, P., 2000. Molecular chaperones and the ageing process. *Biogerontology* 1:225-233.
- Söti, C., Csermely, P., 2002. Chaperones come of age. *Cell Stress Chaperon* 7:186-190.
- Synder, M.J., Girvetz, E., Mulder, E.P., 2001. Induction of marine mollusc stress proteins by chemical or physical stress. *Arch Environ Contam Toxicol* 41:22-29.

- Troost, K., 2010. Causes and effects of highly successful marine invasion: Case-study of the introduced Pacific Oyster *Crassostrea gigas* in continental NW European estuaries. J Sea Res 64: 145-165.
- Ueda, N., Ford, C., Scott, R., Wallace, R., Boettcher, A., 2009. Heat shock protein 70 expression in juvenile eastern oysters *Crassostrea virginica* exposed to anoxic conditions. J Shellfish Res 28:849-854.
- Vernberg, W.B., Vernberg, F.J., 1972. Environmental Physiology of Marine Animals, erste Ausgabe. Springer-Verlag, New York.
- Wallentinus, I., Nyberg, C.D., 2007. Introduced marine organisms as habitat modifiers. Mar Pol Bull 55:323-332.
- Wu, B.S., Lee, J.K., Thompson, K.M., Walker, V.K., Moyes, C.D., Robertson, R.M., 2002. Anoxia induces thermotolerance in the locust flight system. J Exp Biol 2005:815-827.
- Yu, H., Li, Q., 2007. Genetic variation of wild and hatchery populations of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* assessed by microsatellite markers. J Genet Genomics 34:1114-1122.
- Zardi, G.I., Nicasio, K.R., McQuaid, C., Erlandsson, J., 2008. Sand and wave induced mortality in invasive (*Mytilus galloprovincialis*) and indigenous (*Perna perna*) mussels. Marine biology 153: 853-858.

## 6.Danksagung

Für Unterstützung und Hilfe, ohne die diese Bachelorarbeit nicht möglich gewesen wäre, möchte ich mich an dieser Stelle herzlich bedanken. Mein Dank geht an

Prof.Dr.Martin Wahl für die unkomplizierte Aufnahme in die Arbeitsgruppe Benthosökologie.

Dr.Mark Lenz für die kompetente und engagierte Betreuung meiner Bachelorarbeit, die professionelle Begleitung bei meiner ersten Begegnung mit der experimentellen Meeresökologie und dem wissenschaftlichen Arbeiten sowie seine aufgeschlossene und motivierte Arbeitsweise.

Prof.Dr.Frank Melzner und Artur Fink für ihren Einsatz bei der Beschaffung der *C. gigas* aus dem Wattenmeer.

Björn Buchholz für die fachmännische Erweiterung des Weithalsfasses für die Deoxygenierung.

Christian Pansch für die Versorgung meiner Experimente mit dem nötigen Equipment.

Yasmin Appelhans für die spontane Aushilfe die *C. gigas* mit frischem Wasser zu versorgen.

Andreas Pansch und HarukaKagiwada für die Bereitstellung ihres Datensatzes für die japanische Population aus Akkeshi.

Dr.Inken Kruse, Dr.Florian Weinberger und Dr.Claas Hiebenthal für wertvolle Fachkommentare während meines Seminarvortrages.



## 7. Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe angefertigt und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Die eingereichte schriftliche Fassung der Arbeit entspricht der auf dem elektronischen Speichermedium. Weiterhin versichere ich, dass diese Arbeit noch nicht als Abschlussarbeit an anderer Stelle vorgelegen hat.