

Hochschule Bremerhaven
Alfred-Wegener-Institut, Helmholtz-Zentrum für Polar- und
Meereisforschung Bremerhaven

Prof. Dr. Astrid Gärdes (HS Bremerhaven) und Bérenger Colsoul (AWI)

Bachelorarbeit

Titel:

Methodenentwicklung zur Bohrung der Schale von Austern und
anschließender Endoskopie der Mantelhöhle

Vorgelegt von

Helena Kolb

Matrikelnummer: 36689

Zusammenfassung

Ökosysteme unserer Erde befinden sich durch anthropogene Einflüsse im stetigen Wandel. Durch indirektes Eingreifen, aber auch durch direkte Interaktion der Meeresressourcen mit den Menschen, ist die Gewinnung solcher Güter aus dem Meer zunehmend gemindert. Dies hat die Notwendigkeit von Alternativen in der Beschaffung und Kultivierung der Ressourcen, sowie deren Erhalt zur Folge. In der Zukunft könnten interne Abläufe und Unterschiede in den Austern, sowohl während als auch außerhalb der Brutphase für Forschungszwecke verfolgt werden. Des Weiteren kann durch den Einsatz von reproduzierbaren Endoskopie-Methoden bei der Bohrung von Austernschalen die Rolle der Larvenbewegung und deren Einfluss auf den Nahrungstransport und die Partikelselektion, analysiert und bestimmt werden.

In einem Versuchszeitraum von 24 Tagen werden die zwei Austernarten *Crassostrea gigas* und *Ostrea edulis* vor Eintritt in die Versuchsbecken gesäubert und desinfiziert. Für die Bohrung wird durch Testbohrungen an den Austernschalen verstorbener Tiere eine Auswahl an sechs Bohrern bzw. Fräsern erprobt und ihrer Eignung ausgewertet. Es werden anterior und ventrale Bohrpositionen zwischen und auf der oberen Schalenhälften im Kiemenbereich gebohrt. Dabei werden unterschiedliche Bohrwinkel an den Versuchstieren der Austernarten *C. gigas* und *O. edulis* getestet.

Die Endoskopie der Mantelhöhle unter Verwendung eines Industrie-Endoskops, ermöglicht die Bewertung der Anwendbarkeit, sowie die Bohrpositionen und -winkel in den Austernschalen.

Für die Bohrung der Schale mit einem Durchmesser von 4 mm stellt sich der vierschneidige Fräser mit Zentrumschnitt als die Methode heraus. Die Bohrposition zwischen den Schalenhälften ermöglicht weitläufige Bilder des Kiemenbereichs bis hin zu den Palpen. Mit der Industrie-Endoskop-Kamera (1080P HD-Endoskop) inklusive automatischem Fokus kann in einem Zeitfenster von bis zu 7 min qualitatives Bildmaterial aufgezeichnet werden, wo eine deutliche Strömung innerhalb der Mantelhöhle der Austern sichtbar ist. Die zwischen den Schalenhälften ventral gebohrten Austern wiesen einen im Vergleich stärkeren Einstrom und die ventral an der oberen Schale gebohrten Austern wiesen umgekehrt einen stärkeren Ausstrom durch das Bohrloch auf. Die Versiegelung des Bohrlochs in der Austernschale mit einem künstlichen Verschluss, bestehend aus einer Plastikschrabe und Silikonkleber bzw. Bienenwachs ermöglicht eine beschleunigte Heilung.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	2
Abbildungsverzeichnis.....	4
Tabellenverzeichnis.....	4
Abkürzungsverzeichnis.....	5
1 Theorie.....	1
1.1 Crassostrea gigas.....	2
1.2 Ostrea edulis.....	3
1.3 Schale der Austern.....	4
1.4 Austernbrutstätte Helgoland.....	5
1.5 Inhalt und Ziel der Arbeit.....	6
2 Material und Methoden.....	7
2.1 Pflege der Austern.....	7
2.2 Bohrung und Endoskopie der Mantelhöhle.....	8
2.3 Künstlicher Verschluss der Bohrung und dessen Einfluss auf die Reparatur der Schale.....	9
3 Ergebnisse.....	11
3.1 Gesundheit der Austern.....	11
3.2 Vorversuche zur Wahl eines geeigneten Bohrers.....	11
3.3 Bohrposition und -winkel.....	13
3.4 Endoskopie.....	15
3.5 Auswirkungen eines offenen bzw. künstlich verschlossenen Bohrlochs einer Auster	17
4 Diskussion.....	20
4.1 Auswahl der Bohraufsätze und der Bohrposition.....	20
4.2 Bohrposition und -winkel.....	21
4.3 Endoskopie.....	22
4.4 Vergleich des Verschlussmaterials der Bohrung und dessen Einfluss auf die Reparatur der Schale.....	23
5 Vergleich <i>C. gigas</i> und <i>O. edulis</i>	25
6 Danksagung.....	27
7 Literaturverzeichnis.....	28
8 Eidesstaatliche Erklärung.....	30

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schritt-für-Schritt-Schema für die Reproduktion von Austern in einer Austernaufzuchtanlage	5
Abbildung 2: Bohrungen der Austern mit der Standbohrmaschine Optimum B23Pro.	8
Abbildung 3: Die Aufnahmen zeigen mit Silikon künstlich verschlossene Austern.	9
Abbildung 4: Beispiel einer zugeschnittene Kunststoffschraube ($\varnothing = 4$ mm) mit entgrateter Schnittkante.	9
Abbildung 5: Künstlicher Verschluss des Bohrlochs mit Bienenwachs bei <i>O. edulis</i>	10
Abbildung 6: a) Holzbohrer b) Holzbohrer mit Hohlschliff c) Steinbohrer d) Metallbohrer e) Diamantbohrkrone f) Diamantbohrkrone aus der Vogelperspektive g) vierschneidiger Fräser mit Zentrumschnitt.....	11
Abbildung 7: Erste Bohrversuche an alten Schalen der <i>O. edulis</i> (F= Fräser, MB= Metallbohrer, SB= Steinbohrer, DB= Diamantbohrkrone, HB= Holzbohrer).	12
Abbildung 8: <i>C. gigas</i> mit Bohrung im Inhalationsbereich.....	14
Abbildung 9: <i>O. edulis</i> mit ventraler Bohrposition im Inhalationsbereich	15
Abbildung 10: Ausschnitt der Endoskopaufnahme in der Mantelhöhle der <i>O. edulis</i> (40).	15
Abbildung 11: <i>O. edulis</i> (22) links mit ausgestülptem Mantelrand durch das Bohrloch ($\varnothing = 4$ mm) und rechts mit zurückgezogenem Mantelrand aufgrund mechanischer Reize.....	16
Abbildung 12: Ausschnitt der Endoskopaufnahme (27.03.22- 40/ 18 sek.): Kiemen und Palpen in der <i>O. edulis</i> (40).....	16
Abbildung 13: Endoskopaufnahme von den Kiemen in der Mantelhöhle der <i>O. edulis</i> (40).....	16
Abbildung 14: <i>C. gigas</i> 17 Tage nach der Bohrung.....	18
Abbildung 15: Ausschnitt vom Ausstrom des zuvor inhalierten Uranins durch das ventrale Bohrloch an der oberen Schalenhälfte der <i>O. edulis</i> (70) im 40° Winkel (Videomaterial 29.03.22-70/ 24 sek.)	18
Abbildung 16: Ausschnitt des Uranin-Einstroms aus der Umgebung des ventralen Bohrlochs an der oberen Schalenhälfte bei <i>C. gigas</i> (2.2) im 40° Winkel (26.03.22-2.2/ 21 sek.).....	18

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Die Tabelle beinhaltet die Bohrposition, den Bohrwinkel, sowie zusätzliche Anmerkungen bezüglich der Verschlussart von den Versuchstieren der <i>C. gigas</i> (1.1-2.6)....	13
Tabelle 2: Die Tabelle beinhaltet die Bohrposition, den Bohrwinkel, sowie zusätzliche Anmerkungen bezüglich der Verschlussart von Versuchstieren der <i>O. edulis</i> (14, 22, 37, 40, 62, 70, 83, 95).....	14

Abkürzungsverzeichnis

- °C – Grad Celsius
- AWI – Alfred-Wegener-Institut Helmholtz Zentrum für Polar- und Meeresforschung
- bzw. – beziehungsweise
- *C. gigas* - *Crassostrea gigas*
- cm – Centimeter
- g – Gramm
- GB – Gigabyte
- h – Stunde
- Hz – Hertz
- km² – Quadratkilometer
- lb – Pfund
- l – Liter
- lb – libra
- m – Meter
- mg – Milligramm
- min – Minuten
- ml – Milliliter
- mm – Millimeter
- *O. edulis* – *Ostrea edulis*
- psu – Practical Salinity Units
- sek. – Sekunde
- v.a. – vor allem
- V – Volt
- W -Watt

1 Theorie

Die globalen Ökosysteme unserer Erde befinden sich in einem stetigen Wandel. Einige werden von der Kraft der Natur moduliert, viele andere hingegen durch anthropogene Einflussnahmen (Pogoda 2019b).

Durch die enorme Fläche der marinen Ökosysteme von $362 \cdot 10^6 \text{ km}^2$ und deren Vielfalt (Gerdes 2009), werden Veränderungen der Gegebenheiten oftmals erst mit einer großen zeitlichen Verzögerung erkannt. Benthische Organismen, wie die Austern, sind in ihrer adulten Lebensphase sessile Lebewesen und ortsgebunden (Haelters 2009; Wegmüller 2014), weshalb ihre Observation im Gegensatz zu mobilen Organismen zugänglicher und damit eindeutiger ist und ein Rückgang leichter verzeichnet werden kann.

Durch indirektes Eingreifen, aber auch durch direkte Interaktion der Meeresressourcen mit den Menschen, ist die Gewinnung solcher Güter aus dem Meer zunehmend gemindert. Das macht die Notwendigkeit von Alternativen in der Beschaffung und Kultivierung bedeutend.

Eine Alternative bietet die Aquakultur, welche in ganz Europa aber explizit auch in Deutschland großes Wachstum und soziokulturelle, aber auch wirtschaftliche Bedeutung erlebt. Dies wird bei der robusten Austernart *Crassostrea gigas* deutlich, die unter den Austern die wichtigste wirtschaftliche Bedeutung weltweit hat und im Jahr 2020 über dreiundzwanzigmal mehr Tonnen in der Produktion durch die Aquakultur erlangt hat, als durch die Fischerei erreicht wurde (FAO 2021, 2022; Gercken und Schmidt 2014). Um der wachsenden Nachfrage nach marinen Ressourcen im Lebensmittel-, Kosmetik- und Medizinsektor, aber auch in der Technik nachkommen zu können, bedarf es einer ständigen Entwicklung neuer Verfahren und neuer Prozesswege, sowie Optimierungen für die Steigerung der Wirtschaftlichkeit und des Ertrages. Eine Optimierung dieser Aquakulturprozesse stellt nicht nur eine wirtschaftliche Chance dar, sondern auch eine Chance für die Ökologie und deren Diversität.

1.1 *Crassostrea gigas*

Heute zählt die *Crassostrea gigas* zu den am stärksten globalisierten wirbellosen Meerestieren, welche in vielen Regionen die Aquakultur von Muscheln und wilden Populationen dominieren. Die Art etabliert sich zunehmend, mit dem destruktiven Potential, einheimische Arten zu verdrängen und Lebensräume sowie Ökosysteme zu verändern (FAO 2016; Ruesink u. a. 2005).

Obwohl, dass in der heutigen Zeit nach Rilov G, Crooks JA (2009) kein marines Taxon infolge der Einführung invasiver Arten ausgestorben ist, wird ein Rückgang der einheimischen Arten durch die direkte oder indirektere Einflussnahme dieser vernommen. Es kann zur Dezimierung der Art führen, bis hin zu lokalem Artensterben, welches durch Konkurrenz ausgelöst wird (Byers 2009).

Die Einführung der *C. gigas* aus Japan spielte für die Küstenwirtschaften auf der ganzen Welt eine wichtige Rolle und dient zur Aufrechterhaltung der Kultur und Traditionen der Austernfischerei und des Anbaus (Herbert u. a. 2016; IUCN 2000). Gleichzeitig gelten die nicht heimischen Arten als eines der wichtigsten Biosicherheitsprobleme der Moderne (Herbert u. a. 2016; Humphreys u. a. 2014; IUCN 2000). Durch die Einführung *C. gigas* und deren Resistenzfähigkeit gegenüber Krankheiten, konnte das Problem der Austernaufzucht zunächst gelöst werden. Außerdem zeichnet sie sich durch eine hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen und eine enorme Anpassungsfähigkeit aus, was zu einer weltweiten Verbreitung führte und somit *C. gigas* zu der wichtigsten Auster der Wirtschaft machte (FAO 2021; Humphreys u. a. 2014; Möhl 2008).

Im Gegensatz zu den meisten Muscheln sind Austern alternierende Hermaphroditen, weshalb sie ihr Geschlecht im Laufe ihres Lebens mehrfach wechseln können (Möhl 2008). Die Pazifische Auster wächst im ersten Jahr als Männchen heran, während sich im zweiten Jahr ein Teil der Population in Weibchen umwandelt und überwiegend in dieser Geschlechteraufteilung verbleibt (Möhl 2008).

Die Eier und Spermien der *C. gigas* werden gleichzeitig in das Meerwasser abgegeben und die Befruchtung findet im freien Wasser statt (Möhl 2008). Da es sich bei der Pazifischen Auster um eine Mündungsart handelt, werden sie sich am Ende des, je nach Ernährung und Temperatur 2-4 Wochen andauernden, pelagischen Larvenstadiums an festen Bodensubstraten, Felsen, Schutt und anderen Muscheln von der unteren Gezeitenzone bis in Tiefen von 40 m anhaften (FAO 2016; Troost 2010).

1.2 *Ostrea edulis*

In Europa zählt die Europäische Austernart *Ostrea edulis* mit ihrer einzigartigen ökologischen Bedeutung als Schlüsselart und trägt damit maßgeblich zu Biodiversität, Erhalt und Stabilität des Ökosystems bei (Pogoda 2019b; Schmitt u. a. 2022).

Außerdem ist die *O. edulis* neben einer wertvollen Schlüsselart auch ein Ökosystem-Ingenieur, weil sie durch ihrer Ansammlungen Ökosystem-Strukturen aufbauen und Riffe entstehen lassen (Schmitt u. a. 2022). Diese Austernbänke werden als Hotspots der Biodiversität bezeichnet, da sie als Siedlungssubstrat einen Laichgrund, sowie zahlreiche Versteck- und Nahrungsmöglichkeiten für andere Lebewesen bieten (Pogoda 2019a). Die Europäische Auster kommt in flachen Küstenregionen bis in Meerestiefen von 30-50 m vor und wächst mit der unteren Schale auf einem harten Untergrund fest, während sie mit der typisch flachen Schale oben schließt (Schmitt u. a. 2022).

Indem die Muscheln ihre Schalen leicht öffnen und Meerwasser durch ihre Kiemen strömt, reduzieren sie als Filtrierer toxische Algenblüten und verbessern die Wasserqualität. Durch das Filtrieren des Wassers gewinnen Muscheln daraus Sauerstoff, aber vor allem Nahrung in Form von mikroskopisch kleinen Algen. Pro Tag kann eine Europäische Auster bis zu 240 Liter filtrieren (Schmitt u. a. 2022), was sie zu einem wichtigen Bindeglied zwischen Benthos und Pelagial macht. Indem sie loses Sediment in Form von Plankton oder organischen Schwebestoffen festigen, erreichen sie eine Wertsteigerung des umliegenden Ökosystems (Beck u. a. 2011; Pogoda 2019a).

Eine erhöhte Nachfrage sowie verbesserte Fangtechniken führten in der Vergangenheit zum Ressourcenabbau und zur Zerstörung von Austernbänken und ihren Riffstrukturen innerhalb der europäischen Nordsee (Korringa 1946; Pogoda 2019a). Um den Rückgang der Austernpopulationen zu verhindern, fanden mehrere Bestandsaufstockungsprojekte statt, die hauptsächlich auf Umsiedlungen basierten. Der stetige Rückgang der Bestände der *O. edulis* konnte durch diese Maßnahmen jedoch nicht verhindert werden. Im Gegenteil, neben Krankheiten, wie auch durch den Mensch initiierte Transfere von Austern innerhalb, sowie zwischen den Kontinenten (Bromley u. a. 2016), verstärkten invasive Arten, wie z.B. die Pazifische Auster, das Verschwinden der *O. edulis* zusätzlich. Die Küstenzerstörung verschärfte die Situation zusätzlich. Austernriffe wurden weltweit bis heute an den Rand des funktionalen Aussterbens gebracht (Beck u. a. 2011; Gercken und Schmidt 2014). Dies führte dazu, dass auch die Fischerei im 19. Jahrhundert einen Rückgang erlitt (Korringa 1946; Yonge 1960). Heute gibt es nur noch vereinzelt natürliche Austernbänke der *O. edulis* in Großbritannien, Irland, Frankreich, den Niederlanden, Dänemark und in Norwegen (Beck u. a. 2011; Haelters 2009). Aus diesem Grund und wegen ihrer besonderen ökologischen Funktion wird heute versucht den Erhaltungszustand der Riffe zu bewahren, oder diesen wieder herzustellen (BfN 2008).

Die Europäischen Austern sind konsekutiv rhythmische Hermaphroditen, weshalb sie ihr Geschlecht immer wieder zwischen männlich und weiblich wechselt (Colsoul u. a. 2021; Möhl 2008). Bei der Fortpflanzung geben die Männchen ihre Spermapakete ins Wasser ab, die dann

in den Weibchen die Eier befruchten (Möhl 2008; Schmitt u. a. 2022). Die Brutphase der Larven in den Elterntieren kann je nach Temperatur 7-17 Tage andauern, bevor die 10- 15 tägige pelagische Larvenphase und später die Niederlassung auf geeignetem Substrat folgt (Colsoul u. a. 2021).

1.3 Schale der Austern

Die Austern besitzen eine ovale bis birnenartige Form, bestehend aus zwei Schalenhälften mit einer rauen Oberfläche. Bedingt durch das Anhaften, bildet sich die untere Schale eher flach aus und wird mit dem oberen Deckel verschlossen, weshalb sie zu den Rudisten gezählt werden (Remane, Storch, und Welsch 1986). Die Schale dient als Schutz der Mollusken vor Räubern und bildet das Skelett und den Verankerungspunkt der Muskeln (Gosling 2003).

Für eine Befestigung der Schale am Substrat sorgen die sich im Fuß befindenden Fußdrüsen, welche eine Flüssigkeit ausscheiden, die anschließend erstarrt und für eine feste Anzementierung sorgt. Nur frei liegende Austern sind in der Lage sich aktiv durch das Rückstoßprinzip fortzubewegen.

Die Schale selbst besteht aus drei Lagen. Dem äußeren und dünnen Periostracum, welches die Bruchsicherheit erhöht und vor bohrenden Fraßfeinden oder dem Einfluss von Wasser schützt. Beim Periostracum handelt sich um eine organische Schicht aus Conchiolin, die wiederkehrend zum Zusammenhalt zwischen den übrigen Schalenschichten auftaucht (Remane, Storch, und Welsch 1986; Wehner und Gehring 1995). Darunter folgt die Prismenschicht, die aus Argonit und Calcit besteht. Im Anschluss folgt das sogenannte Ostracum, welches eine dünne Perlmutter-schicht im Inneren der Auster ist, die sich das Conchiolin als Bindemittel für die Argonitkristalle zu Nutze macht (Remane, Storch, und Welsch 1986).

Die Farbe und Form der Austernschale variiert je nach Art. Während die obere Schalenhälfte bei der Europäischen Auster flach geformt ist, zeigt sich die untere gewölbt. Bei der Pazifischen Auster sind die ungleichen Schalenhälften dagegen länger ausgezogen und die untere Schalenhälfte fällt im Vergleich tiefer aus.

Das Ligament sorgt für das Spreizen der Schalenhälften und ist somit der Antagonist zum Schließmuskel.

Insgesamt sind die Schalen fest und dick und zeigen konzentrische Ringe auf ihrer Oberfläche. Bei Embryonen ist die Schale noch als einheitliches Plättchen angelegt, wird jedoch während der Larvenphase zu einer paarigen Klappe geknickt (Remane, Storch, und Welsch 1986; Wehner und Gehring 1995). Von den Wirbeln aus beginnt die Verkalkung und schreitet an den Rändern voran, während die Larvenschale an den Wirbeln erhalten bleibt (Möhl 2008). Dieser Schalenaufbau benötigt nach K. Möhl (2008) einen nicht unerheblichen Teil des gesamten Energiebedarfs.

1.4 Austernbrutstätte Helgoland

Das Alfred-Wegener- Institut ist eine Stiftung des öffentlichen Rechts und gehört der Helmholtz- Gemeinschaft, der größten Wissenschaftsorganisation Deutschlands an. Als Helmholtz-Zentrum für Polar- und Meeresforschung arbeitet das AWI überwiegend in den kalten und gemäßigten Regionen auf der Erde. Durch ihre Zusammenarbeit mit nationalen und internationalen Partnern können komplexe Prozesse der Erde entschlüsselt oder lang- bzw. kurzfristige Schwankungen entdeckt werden.

Das AWI hat bereits 2016 mit dem RESTORE-Projekt zur Wiederherstellung der Bestände der Europäischen Auster *O. edulis* in der deutschen Nordsee, begonnen (AWI 2022b). Mit Hilfe des PROCEED- Projekts folgte im Jahr 2018 der Versuch, die bedrohte Art der *O. edulis*, mit dem Aufbau einer nachhaltigen Produktion von Saataustern ein langfristiges Wiederansiedlungsprogramm in der Nordsee zu schaffen (AWI 2022a). Dazu werden in der Brutstätte Helgoland jedes Jahr etwa 180 adulte Europäische Austern aus Schottland und Großbritannien durch Temperatur- und Futteranpassung zur Fortpflanzung konditioniert, um im Anschluss der simulierten Saison Millionen von Larven zu erhalten. Diese Larven durchlaufen die planktonische Larvenphase, worauf im Anschluss, mit Hilfe der Zementdrüse, die Ansiedlung auf alten Austernschalen folgt. Im letzten Schritt der Projekte ist das RESTORE-Team für die Aussiedlung der Saataustern im Borkumer Riffgrund zuständig (Abbildung 1)(AWI 2019).

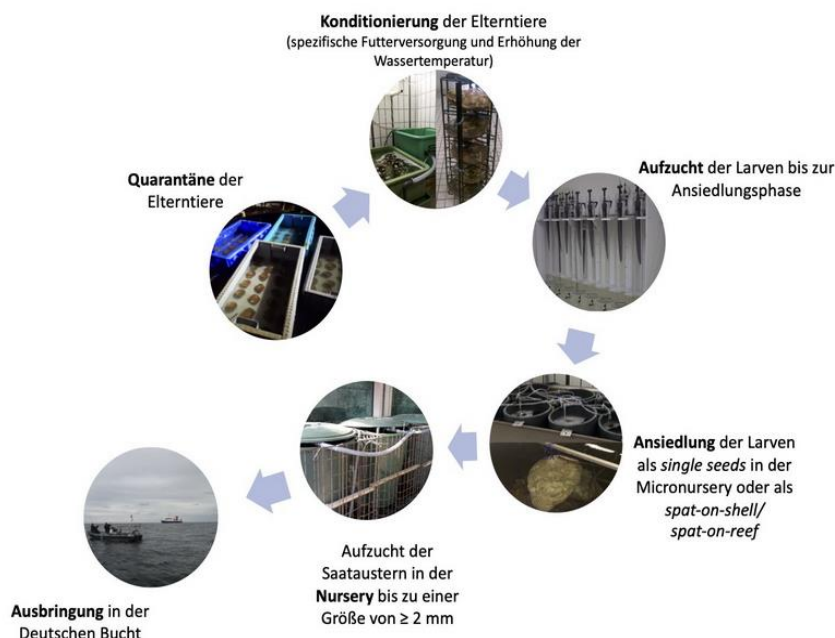


Abbildung 1: Schritt-für-Schritt-Schema für die Reproduktion von Austern in einer Austernaufzuchtanlage. Von der Quarantäne über die Konditionierung, Aufzucht und Ansiedlung der Larven, sowie Aufzucht und Ausbringung der Saataustern. © B. Colsoul und C. Zapitis (AWI)

1.5 Inhalt und Ziel der Arbeit

Die nachfolgende Arbeit untersucht Bohrungsmöglichkeiten von Austernschalen lebender Tiere und eine anschließende Endoskopie zur Verfolgung interner Abläufe bzw. des Larvenfortschritts bei brütenden Gattungen.

Das Ziel der Bachelorarbeit ist die Methodenentwicklung für eine reproduzierbare Bohrung der Schale einer lebenden Auster im Bereich der Kiemen und anschließender Endoskopie der Mantelhöhle.

Zur Beurteilung dessen werden folgende Hypothesen aufgestellt und untersucht:

- Ein künstlich geschaffenes Bohrloch führt zu einer maßgeblichen Veränderung der durch die Atmung initiierten Strömung in der Mantelhöhle (H1).
- Ein künstlicher Verschluss des Bohrlochs trägt zu einer kürzeren Reparaturzeit der Schale bei (H2).
- Die Verwendung eines halbstarren Industrie-Endoskops ermöglicht eine detaillierte Einsicht der Mantelhöhle im Bereich der Kiemen (H3).
- Ein Bohrloch in der Austernschale und die Einführung eines Endoskops, ohne die Verletzung der Organe, verursacht keine Einschränkungen für die Austern (H4).

Durch die Ergebnisse dieser Arbeit können interne Abläufe und Unterschiede, speziell bei der brütenden Gattung *Ostrea*, sowohl während als auch außerhalb der Brutphase für Forschungszwecke verfolgt werden. Des Weiteren kann die Rolle der Larvenbewegung und deren Einfluss auf den Nahrungstransport und die Partikelselektion in Zukunft, durch den Einsatz von reproduzierbaren Endoskopie Methoden, analysiert und bestimmt werden.

Im Zeitraum vom 21.03.2022 bis zum 11.04.2022 wurden die Experimente für diese Bachelorarbeit in Kooperation mit dem Alfred-Wegener-Institut und der zugehörigen Austernbrutstätte auf Helgoland durchgeführt.

2 Material und Methoden

Im Nachfolgenden Kapitel wird die Beschaffung der Versuchs-Austern, deren Akklimatisierung und Pflege während des Versuchs, sowie die verwendeten Materialien zur Bohrung und des künstlich eingesetzten Verschlusses erläutert und das Vorgehen aller Schritte erklärt.

2.1 Pflege der Austern

Die acht Austern der *C. gigas* (7-16 cm Schalenlänge) wurden im März 2022 im Helgoländer Hafenbecken gesammelt, während elf Tiere der *O. edulis* (7-9 cm Schalenlänge) aus einer Farm in Loch Ryan (Schottland) importiert wurden. Die Tiere wurden von Bewuchs befreit und die Außenschale in einem 3,6-prozentigem (*C. gigas*) bzw. 2,0-prozentigem (*O. edulis*) Natrium Hypochlorit Bad desinfiziert. Die Desinfektion wurde auf Grund des natürlichen Herkunftsortes der *C. gigas* und dem Arbeitsplatz in einer Zuchtanlage höher konzentriert, um Kontaminationen innerhalb der Gebäude vorzubeugen.

Beide Arten wurden zu Beginn in einem thermokonstanten Raum bei einer Wassertemperatur von 8 °C ($\pm 0,5$) und zehn Tage später bei einer Wassertemperatur von 12,5 °C (± 1), einem Salzgehalt von 32 psu (± 1), einem pH-Wert von 8,0 ($\pm 0,3$) und einer O₂-Sättigung von 11 mg/l (± 2) gehältert. Pro Becken (10 l) wurden vier bis fünf Austern in einem Durchflusssystem gehalten und alle zwei Tage mit der verdünnten „Shellfish Diet 1800“ gefüttert.

In Anbetracht der Besonderheit, dass die Gattung *Ostrea* ihre Nachkommen ausbrütet und speziell die Larven der *O. edulis* als sehr empfindlich gelten, ist ab der Befruchtung der Gameten besondere Vorsicht bei der Einhaltung der erforderlichen Bedingungen im System der Brutstätte, aber auch in der zeitlichen Vorbereitung der nachfolgenden Arbeitsschritte für einen Bruterfolg geboten.

Nach der Brutphase der Larven in den Elterntieren folgt die pelagische Larvenphase und später die Niederlassung der Larven. Für die Niederlassung auf dem Substrat ist in der Brutstätte Helgoland eine Vorbereitungszeit von genau zwei Wochen notwendig. Durch eine Bohrung und der Verwendung eines Endoskops kann in diesem Arbeitsbereich bereits während der Konditionierung festgestellt werden, ob oder wie weit entwickelt die Larven zu diesem Zeitpunkt bereits vorhanden sind.

2.2 Bohrung und Endoskopie der Mantelhöhle

Die Bohrung der Austernschale wurde mit einer Standbohrmaschine (Optimum B23Pro) und einem Fräser mit Zentrumschnitt (\varnothing : 4 mm, Typ N, 30°) durchgeführt. Zur Stabilisierung und zur Fixierung der Tiere während der Bohrung, dienten ein Schraubstock, zwei kleine Kanthölzer (20 cm x 6 cm x 2cm), sowie zwei Softbleikissen (5 lb). Diese wurden je nach Form der Austern in Position gebracht und manuell mit dem Schraubstock und Kanthölzern fixiert, bevor mit der Fräsung in die Schale begonnen wurde (Abbildung 2). Während der Bohrung wurde der Bohrpunkt kontinuierlich mit Meerwasser aus einer 250 ml Spritzflasche gespült. Die Bohrung mit dem Standbohrer erfolgte Millimeter für Millimeter, bis kein Widerstand mehr zu spüren bzw. zu hören war und das Spülwasser in das Innere abgelaufen ist.

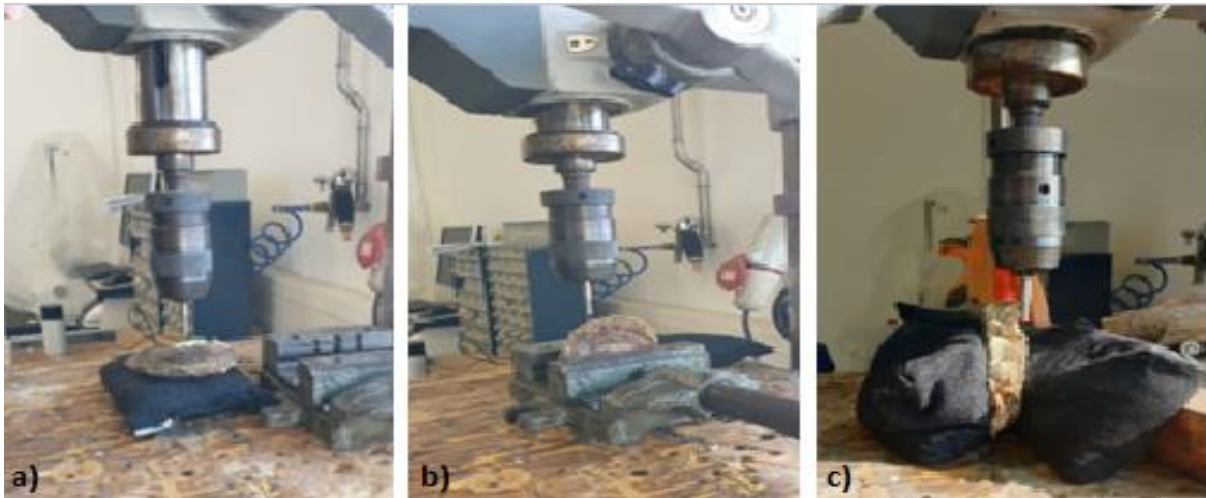


Abbildung 2: Bohrungen der Austern mit der Standbohrmaschine Optimum B23Pro. a) Horizontale Positionierung einer *O. edulis* (22) auf einem Bleikissen (5 lb) für eine ventrale Bohrung auf der oberen Schalenhälfte. b) Vertikale Ausrichtung und Fixierung der *O. edulis* (40) mit einem Schraubstock für eine ventrale Bohrung zwischen den Schalenhälften. c) Vertikale Fixierung der *C. gigas* (2.4) mit Kanthölzern (20 cm x 6 cm x 2cm) und zwei Bleikissen (5 lb) für eine anterior-ventrale Bohrung. ©Helena Kolb

Die Fräsposition wurde bei allen Tieren im Inhalationsbereich des Atemwassers gewählt. Bei einigen wurden die Löcher in die obere Schalenhälfte gefräst, während bei anderen die Position zwischen den Schalenhälften erprobt wurde, um anschließend die Endoskop-Kamera einführen zu können.

Für die Beobachtung der Mantelhöhle wurde der Versuchsaufbau in Anlehnung an den Aufbau von J.E. (Ward u. a. 1991) durchgeführt und die Spitze des Endoskops mit einem Durchmesser von 3,9 mm (1080P HD-Endoskop), durch das entsprechende Loch in der Schale, eingeführt. Als Lichtquelle dienten acht LEDs um die wasserdichte IP67-Inspektionskamera herum, die durch drei Helligkeitsstufen genügend Licht für dunklere Gegebenheiten lieferte. Das mit dem Industrie-Endoskop aufgenommene Material konnte auf einem 4,3-Zoll-Vollfarb-LCD-Bildschirm mit einer Auflösung von 1920 x 1080P-Pixeln verfolgt werden und anschließend auf einer 32 GB Speicherkarte gesichert werden.

Die Positionierung des Endoskops im Inneren wurde manuell durchgeführt.

Die Aufnahme des Bildmaterials begann mit dem Einführen des Endoskops in das Innere und dauerte zwischen 0,5-2 h an. Die Pumpaktivität konnte teilweise bereits 5 min nach der Endoskopeinführung identifiziert werden und durch Zugabe von Uranin mit einer 5 ml Pipette in der Nähe des Inhalationsbereichs bzw. der Perforation visualisiert werden.

Zur Beobachtung der Atmungsaktivität nach der Bohrung bzw. Endoskop-Einführung, wurde eine GoPro (Hero 4) vor die Aquarien gestellt und das Video-/ Bildmaterial auf einer 64 GB Speicherkarte gesichert.

Die endoskopischen Beobachtungen der Mantelhöhle von *O. edulis* bzw. *C. gigas* konzentrierten sich auf den Kiemenbereich, da dort der Futtertransport stattfindet und die Atmungsaktivität festgestellt werden kann. Außerdem werden die Embryonen und Veliger-Larven in den Kiemen der Gattung *Ostrea* ausgebrütet.

2.3 Künstlicher Verschluss der Bohrung und dessen Einfluss auf die Reparatur der Schale

Neben der Bohrung der Schale und der Einführung eines Endoskops wurde zusätzlich die Auswirkung eines künstlichen Verschlusses mittels zwei verschiedener Materialien auf ihre Anwendbarkeit getestet und die Auswirkungen auf die Reparatur der Schale beobachtet.

An vier Austern (Abbildung 4 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) wurde ein künstlicher Verschluss aus einer Kunststoffschraube mit einem 4 mm Durchmesser und einer Länge von 3-7 mm (je nach Schalendicke) getestet. Die Schraube wurde erst auf die entsprechende Länge zugeschnitten und anschließend die Schnittkanten entgratet (Abbildung 3). Danach wurden die Schrauben im Trockenen mit einem Tropfen Silikonkleber (WACKER Elastosil E43) in das Bohrloch der Austern geklebt und nach einer Stunde in das Durchflusssystem gelegt.



Abbildung 4: Die Aufnahmen zeigen mit Silikon künstlich verschlossene Austern. Links *C. gigas* mit dem ventralen Verschluss auf der oberen Schalenhälfte (1.2 u. 1.5) und rechts *O. edulis* mit ventralem Verschluss an der oberen Schale (37) bzw. zwischen den Schalenhälften (95). ©Helena Kolb

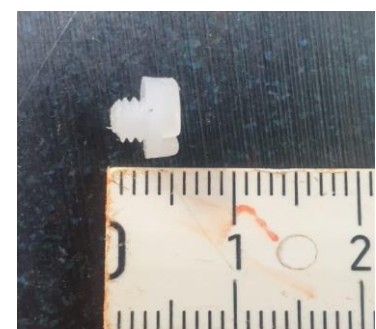


Abbildung 3: Beispiel einer zugeschnittene Kunststoffschraube ($\varnothing= 4$ mm) mit entgrateter Schnittkante. ©Helena Kolb

Nach dem Ablösen der Silikon-Verschlussvariante wurde eine weitere Verschlussart mit derselben Kunststoffschraube und erwärmten Bienenwachs an zwei Europäischen Austern (37, 95) getestet. Dazu wurden 20 g Bienenwachs-Pellets in einem Becherglas erwärmt, bis diese durch den Magnetrührer zu einer homogenen Flüssigkeit wurde. Zum Verschließen der

Perforation wurde das Gewinde der zugeschnittenen Schraube (Abbildung 3) mit Hilfe einer Pinzette in das flüssige Bienenwachs getunkt und mit einem leichten Wachsüberschuss in das ventrale Bohrloch auf der oberen Schale (37) bzw. zwischen den Schalenhälften (95) eingesetzt und angedrückt (Abbildung 5). Die Austern konnten im Anschluss direkt ins Durchflusssystem gelegt werden, wo das Bienenwachs weiter erhärtete.

Im Falle der Ablösung eines Verschlusses, wurde dieser mit identischem Vorgehen wieder an der Auster erneuert und zurück ins Becken gelegt.



Abbildung 5: Künstlicher Verschluss des Bohrlochs mit Bienenwachs bei *O. edulis*. Links die ventrale Verschlussposition zwischen den Schalenhälften (95) und rechts auf der oberen Schale (37). ©Helena Kolb

3 Ergebnisse

3.1 Gesundheit der Austern

In Vorversuchen wurden im ersten Schritt alte Schalen der *O. edulis* mit unterschiedlichen Bohrern bzw. Fräsern getestet. Dabei wurde speziell auf die Handlichkeit der Bohrer und auf die Feinheit der Bohrlöcher geachtet. Die Feinheit der Bohrung ist sowohl für eine reibungslose Einführung des Endoskops als auch für einen möglichst geringen Flächenschaden in Form von Rissen in der Schale der Tiere wichtig, weshalb außerdem auf mögliche Vibrationen und Erschütterung während der Bohrung mit unterschiedlichen Bohrern geachtet wurde. Der Stress sollte dadurch möglichst gering für die Austern gehalten werden.

Bei den Pazifischen Austern wurden, bei einer Dauer von 17 Tagen, zwei tote Tiere verzeichnet. Ein Kontrolltier der *C. gigas* ohne Bohrloch (2.5) starb einen Tag nach der Desinfizierung mit der Chlorlösung. Eine weitere verstorbene Pazifische Auster mit Bohrloch (1.1) wurde zwei Tage nach der Bohrung aus dem Becken entfernt.

Bei der Europäischen Art wurde drei Tage nach der Bohrung eine kontinuierlich schlechter werdende Reaktionsgeschwindigkeit des Versuchstiers Nummer 70 festgestellt, was nach dem Versuch zum Tod führte.

3.2 Vorversuche zur Wahl eines geeigneten Bohrers

Die Auswahl des geeignetsten Bohrers erfolgte aus fünf verschiedenen Bohr- bzw. Fräser-Typen. Hierzu gehörten der Metall-, Stein- und Holzbohrer, sowie eine Diamantbohrkrone und ein Fräser mit Querschnitt (Abbildung 6 **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**).



Abbildung 6: a) Holzbohrer b) Holzbohrer mit Hohlschliff c) Steinbohrer d) Metallbohrer e) Diamantbohrkrone f) Diamantbohrkrone aus der Vogelperspektive g) vierschneidiger Fräser mit Zentrumschnitt. ©Helena Kolb

In Vorversuchen wurden im ersten Schritt alte Schalen der *O. edulis* mit unterschiedlichen Bohrern bzw. Fräsern getestet (Abbildung 7). Dabei wurde speziell auf die Handlichkeit der Bohrer und auf die Feinheit der Bohrung geachtet.

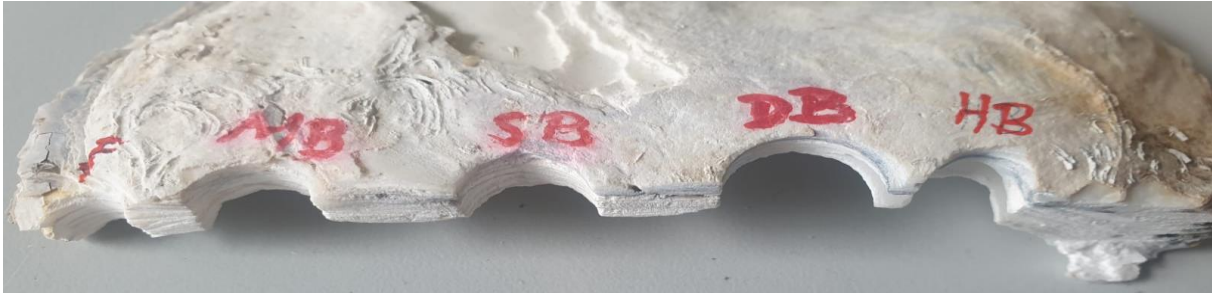


Abbildung 7: Erste Bohrversuche an alten Schalen der *O. edulis* (F= Fräser, MB= Metallbohrer, SB= Steinbohrer, DB= Diamantbohrkrone, HB= Holzbohrer). ©Helena Kolb

Erste Versuche mit dem Steinbohrer zeigten mit seiner keilförmigen Spitze und den vergleichsweise stumpferen Schneiden ein anfänglich erschwertes Ansetzen des Bohrkopfs auf der Schale und sorgten im Vergleich zu anderen Bohrtypen für eine zerschmetterte Oberfläche des Kalkgehäuses.

Die scharfen Kanten des Holzbohrers erreichten ein feineres Bohrprofil und ermöglichten am Anfang der Bohrung, durch die herausragende Spitze des Bohrers, eine gezielte Anvisierung und Bohrung der gewünschten Position. Die Spitze des Holzbohrers steht einige Millimeter hervor und geht dem eigentlichen Bohrdurchmesser von 4 mm voran, weshalb Verletzungen des unterliegenden Gewebes innerhalb der Austern entstehen können.

Als Weiterentwicklung wurde ein Holzbohrer mit Hohlschliff erstellt und getestet. Mit diesem kann das vorher erwähnte Problem vermieden und gleichzeitig das feine Bohrprofil des Holzbohrers erzielt werden.

Mit Hilfe des Metallbohrers wurde, ähnlich wie beim Holzbohrer, ein feineres Ergebnis im Bohrprofil erreicht. Doch die kegelförmig zulaufende Spitze des Bohrers erschwert zu Beginn ein sauberes Ansetzen des Bohrers durch weniger Auflagefläche. Außerdem war ähnlich wie bei dem Stein- und Holzbohrer eine stärkere Fixierung der Austernschalen nötig, damit diese nicht der Rotation der Bohrung folgten.

Die Diamantbohrkrone und der vierschneidige Fräser mit Zentrumschnitt zeigen beim Ansetzen des Bohrers, durch ihre große Auflagefläche, eine höhere Stabilität und laufen während der Bohrung weniger Gefahr von der Bohrposition abzurutschen. Sowohl die Diamantbohrkrone als auch der Fräser erhielten unter allen Bohroptionen die feinste Oberflächenbeschaffenheit.

Unterschiede wiesen sie jedoch bei der Art der Durchführung als Bohrung bzw. Fräsung auf. Die Bohrkrone bohrt bei geeignetem Material einen Bohrkern mit dem Durchmesser von 4 mm heraus, welcher ganz oder teilweise bis zum Ende der Bohrung in der Krone verweilt. Das für die Kontrolle des Bohrfortschritts nötige An- und Absetzen der Krone, führte teilweise zum Ablösen bereits herausgebohrter Schichten des Bohrkerns und verstärkte damit den aufkommenden Eintrag an Schalensplittern, die beim Durchbohren der Perlmuttertschicht, wegen fehlendem Widerstand aus der Mantelhöhle, in das Innere der Austern gedrückt wurde. Bei Bohrungen mit der Bohrkrone gelangen deshalb vermehrt Splitter mit einer Dicke von ± 1 mm und einem Durchmesser von ± 2 mm in das Innere der Organismen.

Aufgrund der Bewertung der Ergebnisse wurde für den weiteren Verlauf der Untersuchung der Fräser mit Zentrumschnitt ausgewählt. Dieser fräst das Material der Kalkschale vollständig heraus, sodass dieses in Form von Staub bzw. dickflüssiger Masse kontinuierlich durch das Schneidprofil abgeleitet werden konnte. Der Abtransport des Materials konnte durch die Spülung mit Seewasser unterstützt werden und trug gleichzeitig zur Kühlung der Bohrstelle bei.

3.3 Bohrposition und -winkel

Die nachfolgende Tabelle beinhaltet die Informationen über die Bohrpositionen, sowie den Bohrwinkel und den teilweise angebrachten künstlichen Verschluss an den Pazifischen Austern (Tabelle 1).

*Tabelle 1: Die Tabelle beinhaltet die Bohrposition, den Bohrwinkel, sowie zusätzliche Anmerkungen bezüglich der Verschlussart von den Versuchstieren der C. gigas (1.1-2.6). Die mit * gekennzeichneten Tiere wurden in vertikaler Position gebohrt, während die übrigen Bohrungen in horizontaler Lage durchgeführt wurden.*

Nummerierung	Bohrposition	Bohrwinkel	Anmerkung
1.1	ventral, obere Schale	90°	offenes Bohrloch
1.2	ventral, obere Schale	90°	verschlossenes Bohrloch mit Silikon
1.3	ventral, obere Schale	90°	offenes Bohrloch
1.4	ventral, obere Schale	90°	offenes Bohrloch
1.5	ventral, obere Schale	90°	verschlossenes Bohrloch mit Silikon
2.1	ventral zw. Schalen	30° *	offenes Bohrloch
2.2	ventral, obere Schale	40°	offenes Bohrloch
2.3	Kontrolle	-	-
2.4	anterior zw. Schalenhälften	30° *	offenes Bohrloch
2.5	Kontrolle	-	-
2.6	Kontrolle	-	-

Für die Bohrung der Pazifischen Art, sind die Bleikissen zur Positionierung und Fixierung besser geeignet. Dort schmiegen sich die Unebenheiten der Schale ideal an das Bleikissen an, welches neben weniger Erschütterungen auch für eine bessere Handlichkeit sorgt.

Die Schalen der *C. gigas* (1.1-1.5) wurden in horizontaler Lage im 90° Winkel gebohrt, während die Auster (2.2) für ein 40° Bohrwinkel in eine Schiefelage mit Hilfe der Bleikissen gebracht werden musste, um eine stabile und zielgerichtete Bohrung zu erreichen. Zur Unterstützung der Positionierung wurden bei Bedarf Kanthölzer zugezogen. Eine weitere Bohrposition für die Bohrung zwischen den Schalenhälften im 30° Winkel (2.1 u. 2.4) wurde getestet, indem sich die Austern während der Bohrung in vertikaler Position befanden und von beiden Seiten durch Bleikissen gestützt wurden.

Abbildung 8 zeigt die fotografische Darstellung der Pazifischen Austern nach der Bohrung mit einem Fräser (\varnothing : 4mm) und die zusätzliche Verschließung des Bohrlochs bei zwei der Versuchstiere (1.2 u. 1.5).



Abbildung 8: *C. gigas* mit Bohrung im Inhalationsbereich, ventral an der oberen Schalenhälfte im 90° Winkel (1.2- 1.5), ventral zwischen den Schalenhälften (2.1) im 30° Winkel, ventral an der oberen Schalenhälfte im 40° Winkel (2.2). *C. gigas* mit anteriorer Bohrposition zwischen den Schalenhälften im 30° Winkel (2.4). ©Helena Kolb

Die folgende Tabelle beinhaltet die Informationen über die Bohrpositionen, sowie den Bohrwinkel und den teilweise angebrachten künstlichen Verschlüssen an den Europäischen Austern (Tabelle 2).

Tabelle 2: Die Tabelle beinhaltet die Bohrposition, den Bohrwinkel, sowie zusätzliche Anmerkungen bezüglich der Verschlussart von Versuchstieren der *O. edulis* (14, 22, 37, 40, 62, 70, 83, 95). Die mit * gekennzeichneten Tiere wurde in vertikaler Position gebohrt, während die übrigen Bohrungen in horizontaler Ausrichtung durchgeführt wurden.

Nummerierung	Bohrposition	Bohrwinkel	Anmerkung
14	Kontrolle	-	-
22	ventral, obere Schale	90°	offenes Bohrloch
37	ventral, obere Schale	90°	verschlossenes Bohrloch mit Silikon bzw. Bienenwachs
40	ventral zw. Schalenhälften,	30° *	offenes Bohrloch
62	Kontrolle	-	-
70	ventral, obere Schale	40°	
83	ventral zw. Schalenhälften,	30° *	offenes Bohrloch
95	ventral zw. Schalenhälften	30° *	verschlossenes Bohrloch mit Silikon bzw. Bienenwachs

Bei der Europäischen Auster bietet der Schraubstock für die Bohrungen zwischen den Schalenhälften eine zusätzliche Fixierungsmöglichkeit, da dieser bei einer flacheren Schale mehr Angriffsfläche hat und besser greift als bei den welligen Formen der Pazifischen Schale. Die Austern dürfen nicht unter zu viel Druck in den Schraubstock eingespannt werden, da eine hohe Spannung zu Beschädigungen der Schale führen kann.

Die Schalen der *O. edulis* (22, 37) wurden in horizontaler Lage im 90° Winkel gebohrt, während die Auster mit der Nummer 70 für ein 40° Bohrwinkel in Schiefelage mit Hilfe der Bleikissen

gebracht wurde, um eine zentrierte Bohrung im ventralen Bereich der oberen Schale zu erhalten. Für die ventrale Bohrung im 30° Winkel zwischen den Schalenhälften (40, 83, 95), wurden die Austern in vertikaler Ausrichtung in den Schraubstock gespannt und nach Bedarf an den Seiten mit den Bleikissen zur Fixierung unterstützt.

Die tabellarisch aufgeführten Informationen zur Bohrung wurden fotografisch festgehalten und in Abbildung 9 aufgeführt.



Abbildung 9: *O. edulis* mit ventraler Bohrposition im Inhalationsbereich an der oberen Schalenhälfte im 90° Winkel (22, 37), an der oberen Schalenhälfte im 40° Winkel (70), zwischen den Schalenhälften im 30° Winkel (40, 83,95). ©Helena Kolb

3.4 Endoskopie

Bei der Endoskopie mit dem 1080P HD-Endoskop konnte eine deutliche Strömung innerhalb der Mantelhöhle der Austern aufgezeichnet werden (Abbildung 10). Beim Abspielen des Videomaterials in dreifacher Geschwindigkeit, wird die Bewegung in den Kiemen und die der Palpen (Abbildung 12) erkennbar.

Neben dem beigefügten Uranin werden kleine unscharfe Partikel beim Durchströmen auf dem Bild- bzw. Videomaterial verzeichnet. Das und bewegliches Gewebe der Austern kann unter anderem eine unerwünschte Fokusveränderung verursachen.

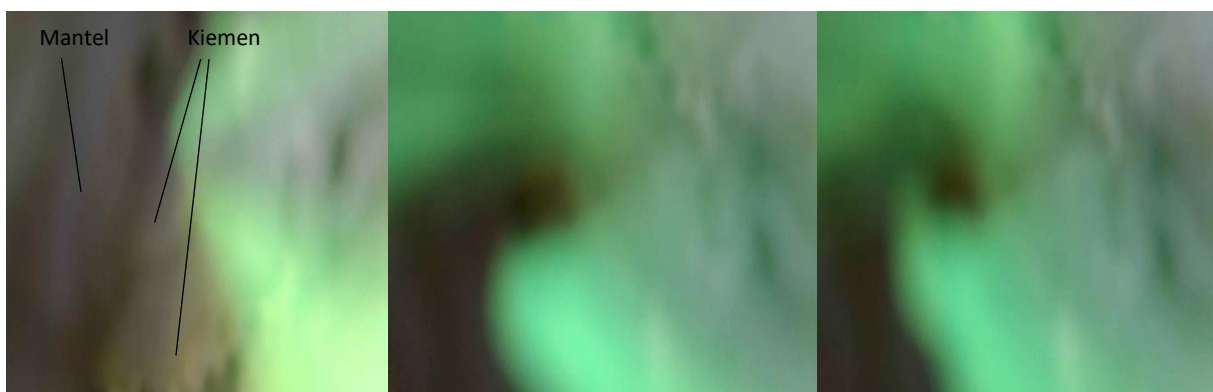


Abbildung 10: Ausschnitt der Endoskopieaufnahme in der Mantelhöhle der *O. edulis* (40). Die Bilder zeigen von links nach rechts einen mit Uranin grün gefärbten und durch die Pumpaktivität initiierten Sog zwischen den Kiemen und dem Mantel (Videomaterial 30.03.22- (2) 40/ 7,39-7,44 sek.). © Helena Kolb

Bei dem Einführen des Endoskops musste darauf geachtet werden, dass dieses die Austernschale passiert und sich zusätzlich hinter dem Mantel befindet, sodass dieser nicht in weniger als 5 min das Kamerabild verdeckt.

Die Bohrung durch das Mantelgewebe war nicht gezielt möglich, da sich das weiche Gewebe bei leichten Berührungen stark zurückzog, was eine gezielte und reproduzierbare Bohrung unmöglich machte.

Bei der Europäischen Auster (22) konnte nach der Bohrung vermehrt die Beobachtung eines durch das Bohrloch ausgestülpten Mantelrands gemacht werden, sodass von außen die Cilien auf den Innenseiten der Mantellappen sichtbar waren. Der ausgestülpte Mantel reagierte auf mechanische Reize und starke Strömungen von außen, woraufhin er sich zurückzog (Abbildung 11).

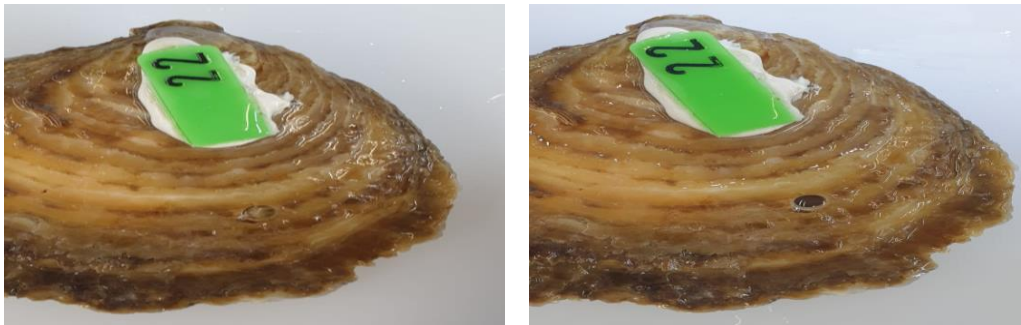


Abbildung 11: *O. edulis* (22) links mit ausgestülptem Mantelrand durch das Bohrloch ($\varnothing = 4 \text{ mm}$) und rechts mit zurückgezogenem Mantelrand aufgrund mechanischer Reize.

Der automatische Fokus in der Inspektionskamera wurde durch einen zu großen Beobachtungsabstand von 4-5 cm und durch Strömung verursachte Bewegungen des umliegenden Gewebes, sowie von Partikel kontinuierlich leicht verändert bzw. irritiert, was zu überwiegend unscharfen Aufnahmen führte. Die Qualität des Bildmaterials kann durch zusätzliches Licht von außen optimiert werden und ermöglicht eine bessere Einsicht in das Innere der Austern (Abbildung 13).

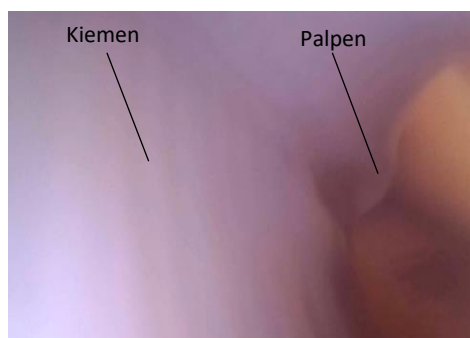


Abbildung 12: Ausschnitt der Endoskopaufnahme (27.03.22- 40/ 18 sek.): Kiemen und Palpen in der *O. edulis* (40). ©Helena Kolb

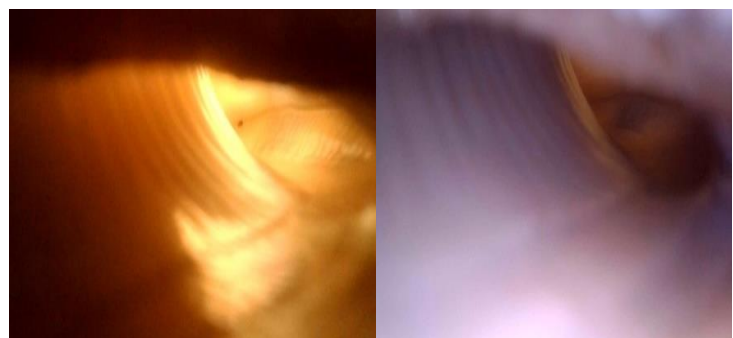


Abbildung 13: Endoskopische Aufnahme von den Kiemen in der Mantelhöhle der *O. edulis* (40). Links mit zusätzlichem Licht von außen (Videomaterial 26.03.22- (2) 40/ 06 sek.), rechts mit integrierter LED- Beleuchtung der Endoskop-Kamera (Videomaterial 26.03.22- (3) 40/ 07 sek.). ©Helena Kolb

Die manuelle Positionierung eines halbstarren Endoskop-Kabels ohne Mikromanipulator stellt sich als keine passende Methode für eine reproduzierbare Endoskopie der Mantelhöhle beider Austernarten heraus, da nur eine grobe manuelle Ausrichtung des Endoskops möglich ist und damit die Gefahr der Beschädigung empfindlicher Organe im Inneren der Austern erhöht ist. Das halbstarre Kabel bildete die größte Herausforderung bei dieser Arbeit, da dieses nach der Einführung der Kamera nur leicht von der umliegenden Schale des Bohrlochs umschlossen ist

und sich nicht völlig freischwebend bzw. fixiert, im Bohrloch befindet. Die von den Austern verursachten Bewegungen führen dementsprechend vermehrt zur Verschiebung und damit zu unscharfen und durch Gewebe verdeckten Aufnahmen der Inspektionskamera.

3.5 Auswirkungen eines offenen bzw. künstlich verschlossenen Bohrlochs einer Auster

Der ventral angebrachte Silikon-Verschluss konnte bei der Art *C. gigas* (1.2) an acht und bei *O. edulis* (37) an vier Versuchstagen im aktiven Einsatz verzeichnet werden. Dann löste sich der Stöpsel beim Reinigen der Becken (1.5) durch zu starke Strömung bzw. durch die reguläre Atmungsaktivität (37). Bei *C. gigas* (1.2) wurde der Silikon-Verschluss wieder identisch angebracht, während bei *O. edulis* (37) der Bienenwachsverschluss für weitere sieben Versuchstage getestet wurde.

Insgesamt wurde der Silikonverschluss für einen Zeitraum von 16 Tagen bis zum Ende des Versuchs an der Pazifische Auster (1.5) gelassen und beobachtet.

Der Einsatz eines künstlichen Verschlusses zwischen den Schalenhälften stellt sich als ungeeignet heraus, da dieser in diesem Versuch bereits nach 3 h durch die Atmungsaktivität der Europäischen Auster (95) vollständig ausgestoßen wurde.

Die unebenen Schalen der Austern verursachten bei dem Anbringen der Silikon- bzw. Bienenwachsverschlüsse Schwierigkeiten. Es musste sauber mit den Klebmaterialien gearbeitet werden, damit diese nicht an Händen oder Arbeitsmaterialien festkleben und wieder aus dem Bohrloch herausgezogen werden. Zum anderen benötigte das Silikon eine lange Trocknungszeit an der Luft, die in dem Versuch auf 3 h verkürzt wurde.

Insgesamt stellt sich die Befestigung des Pfropfens an der Pazifischen Auster aufgrund der stark ausgeprägten Unebenheiten der Schale leichter dar als bei der Europäischen Auster.

Wie ein Farbversuch mit Uranin zeigte, sorgte der Silikon- und Bienenwachsverschluss sowohl bei der Art *O. edulis*, als auch bei der Art *C. gigas* für einen überwiegend lückenlosen Verschluss des Bohrlochs. Während der Atmung der Tiere konnte kein durch das Loch induzierter Ein- bzw. Ausstrom beobachtet werden.

Die Versuchstiere mit einem künstlich angefügten Verschluss waren über den gesamten Zeitraum des Versuchs verschlossen, ohne dass der Profen entfernt wurde. Bei *C. gigas* mit einem offenen Bohrloch konnten bereits 13-17 Tage nach der Bohrung erste Schalenreparaturen (2.1 u. 2.4) an offenen Bohrlöchern verzeichnet werden, die im Vergleich zu künstlich verschlossenen Austernschalen (1.2 u. 1.5) jedoch deutlich geringer und weicher ausfielen (Abbildung 14). Außerdem konnte bei den verschlossenen Pazifischen Austern eine erste vollständig reparierte Schicht deutlich erkannt werden, während bei offenen Bohrlöchern nur erste Reparaturansätze sichtbar waren. Die Entfernung der künstlichen Verschlüsse gelang sowohl mit dem Silikon als auch mit dem Bienenwachs als Abdichtungsmaterial, ohne dass die nachgebildeten Schichten dabei verletzt wurden.



Abbildung 14: C. gigas 17 Tage nach der Bohrung. Die Tiere 1.2 und 1.5 verweilten mit einem Silikon- Verschluss und führten zu großflächigen Reparaturen der Bohrlöcher. Die Pazifischen Austern 2.1 und 2.4 verweilten bis zum Ende des Versuchs mit einem offenen Bohrloch, die lediglich Reparaturansätze in der Schale ermöglichten. ©Helena Kolb

Zusätzlich wurden Farbversuche mit Uranin im Bereich der Perforationen durchgeführt, bei denen Strömungsmuster visualisiert werden sollten. Dazu wurde das Uranin in der Nähe der Bohrlöcher und im Inhalationsbereich mit Hilfe einer Pipette in das umliegende Wasser gegeben. Diese Versuche zeigten während der Atmungsaktivität der Austern einen geringen Ein- (Abbildung 16) bzw. Ausstrom (Abbildung 15) durch das Bohrloch. Solange der Mantel der Tiere noch intakt war und sich in ausgeweiteter Form vor oder in das Bohrloch schob, konnte der künstlich induzierte Ein- bzw. Ausstrom weitestgehend eingedämmt werden.

Der Mantel reagierte jedoch speziell auf große durch das Bohrloch eintretende Fremdkörper, woraufhin er sich für mindestens 5 min stark im Inneren zusammenzog, während die Perforation offen lag.

Außerdem reagierten die Austern sehr empfindlich auf die von der Pipette verursachten Strömungen und verschlossen ihre Schalenhälften, wenn das Uranin mit zu viel Druck in das umliegende Wasser befördert wurde.



Abbildung 15: Ausschnitt vom Ausstrom des zuvor inhalierten Uranins durch das ventrale Bohrloch an der oberen Schalenhälfte der O. edulis (70) im 40° Winkel (Videomaterial 29.03.22-70/ 24 sek.). ©Helena Kolb



Abbildung 16: Ausschnitt des Uranin-Einstroms aus der Umgebung des ventralen Bohrlochs an der oberen Schalenhälfte bei C. gigas (2.2) im 40° Winkel (26.03.22-2.2/ 21 sek.). ©Helena Kolb

Bei ausbleibender Atmungsaktivität der Austern konnte ein geringer Einstrom des Uranins in das Bohrloch der Austern erzwungen werden, indem die Flüssigkeit aktiv durch eine Pipette in das künstlich geschaffene Bohrloch gepumpt wurde. Auf dieses Vorgehen reagierten die Austern ebenfalls mit dem Verschluss ihrer Schalenhälften und einem herausgezögerten Beginn ihrer Atmungsaktivität.

Insgesamt zeigten die zwischen den Schalenhälften ventral gebohrten Austern einen im Vergleich stärkeren Einstrom und die ventral an der oberen Schale gebohrten Austern wiesen umgekehrt einen stärkeren Ausstrom durch das Bohrloch auf (Abbildung 15).

4 Diskussion

4.1 Auswahl der Bohraufsätze und der Bohrposition

Der Steinbohrer ist mit seiner keilförmigen Spitze und den stumpferen Schneiden am wenigsten für eine präzise Bohrung in die Austernschale geeignet, da das Kalkgehäuse regelrecht zerschmettert wird und v.a. am Anfang der Bohrung durch Abrutschen eine genaue Arbeit deutlich erschwert wurde.

Durch die scharfen Kanten des Holzbohrers kann bereits ein feineres Schnittprofil erreicht werden. Außerdem ermöglicht die herausragende Spitze des Bohrers am Anfang der Bohrung eine gezielte Anvisierung der gewünschten Bohrstelle, weshalb es zu weniger Vertuschung während des Bohrvorganges kommt. Die Spitze bildet aber zugleich einen großen Nachteil, da bei der Erreichung des benötigten Durchmessers die Spitze bereits einige Millimeter tiefer in der Bohrung liegt, wodurch das Gewebe der *O. edulis* verletzt wird. Dieses Problem wurde durch einen Hohlschliff behoben, wobei die herausragende Spitze abgeschliffen wurde, um von der Schärfe der Schneiden für weicherer Material zu profitieren.

Der Metallbohrer ermöglichte mit seiner kegelförmigen Spitze und den scharfen Schneiden bereits ein präziseres Ergebnis der Bohrung. Doch ähnlich wie beim Stein- und Holzbohrer stellte die Fixierung der Muschel sowohl zu Beginn als auch während der Bohrung eine Schwierigkeit dar. Dies könnte auf die Spitzen der Bohrer zurückzuführen sein, da diese kegelförmig bzw. spitz zulaufen und damit zu Beginn eine geringere Auflagefläche haben, was die Fixierung für eine saubere Bohrung erschwert.

Insgesamt bilden die Diamantbohrkrone, sowie der Fräser mit vier Schneiden und Zentrumschnitt die geeignetsten Varianten für eine präzise und möglichst fixierte, sowie ruhige Bohrung. Durch ihre im Vergleich zu den anderen Bohrern große Auflagefläche, kann die Schale durch gleichmäßig verteilten Druck besser fixiert werden und droht weniger abzurutschen. Die Diamantbohrkrone sowie der Fräser haben außerdem ein sehr feines Bohrprofil und keine herausragende Spitze, die das Innere Gewebe verletzen könnte. Zum Austrag des Materials während der Bohrung gewährleistet der Fräser durch sein Schneidprofil mit vier Vertiefungen einen kontinuierlichen Abtransport des gefrästen Materials.

Auch die Diamantbohrkrone hat seitlich zwei Öffnungen, um feineres Material entweichen lassen zu können, der eigentliche Bohrkern verweilt im Inneren der Krone und wird nachträglich entfernt. Da es sich bei dieser Arbeit allerdings um lebende Organismen handelt, musste der Bohrfortschritt in regelmäßigen Abständen überprüft werden. Dazu wurde die Bohrung mehrfach unterbrochen und der Bohrer neu angesetzt, weshalb die Bohrkrone nicht den vollständigen Bohrkern enthielt, sondern nur Teile davon. Dadurch wurden größere Splitter mit ± 1 mm Dicke, speziell am Ende der Bohrung, in das Innere der Organismen gedrückt.

Die größere Auflagefläche bei der Diamantbohrkrone und dem Fräser, welche anfangs eine zentrierte Bohrung ermöglichte, erzeugt auf der anderen Seite durch Hitzebildung einen Nachteil. Diesem wurde durch eine Nassbohrung mit Seewasser entgegenwirkt.

Insgesamt ist die Nutzung von Seewasser während der Bohrung mit jeglichen Bohrern zu empfehlen, da ein verbesserter Gleitwert zu beobachten war, sowie die Ausspülung des abgetragenen Materials gewährleistet wird. Es bildet sich also kein Staubkranz um das Bohrloch, der die Sicht verdeckt. Außerdem kann durch das Fließverhalten des Wassers abgeschätzt werden, ob bzw. wie weit die Bohrung bereits vorangeschritten ist.

Die ausbleibende Mortalität unter den nach der Bohrung künstlich verschlossenen Austern deutet darauf hin, dass die Bivalven keinen erkennbaren Schaden durch die Bohrung selbst genommen haben und sowohl die Pazifische als auch die Europäische Auster diesem Stressfaktor standhalten kann.

4.2 Bohrposition und -winkel

Die Bohrpositionen wurden im Kiemenbereich von *O. edulis* bzw. *C. gigas* gewählt, da dort der Futtertransport stattfindet und die Atmungsaktivität festgestellt werden kann. Außerdem werden die Embryonen und Veliger- Larven in den Kiemen der adulten Austern ausgebrütet. Für die anschließende Endoskopie wurden unterschiedliche Bohrpositionen und -winkel auf der oberen Schale und zwischen den Schalenhälften auf ihre Anwendbarkeit getestet, um der Endoskop-Kamera einen möglichst weitläufigen Einblick im Kiemenbereich im Inneren der Austern zu ermöglichen.

Unter den angewandten Bohrmöglichkeiten stellte sich die ventrale Bohrung im 90° Winkel sowohl bei der Pazifischen als auch bei der Europäischen Auster als am reproduzierbarsten heraus. Diese Bohrung führte zu stabilen Bohrlöchern und die Verletzungen der Organe durch den Fräser konnten in der horizontalen Lage besser abgeschätzt werden.

Bei der ventralen Bohrung im 40° Winkel trat die Schwierigkeit auf, die Organe durch den schiefen Eintritt des Fräasers nicht zu beschädigen, da dieser bei schiefer Einführung am Eingang des Bohrlochs tiefer in der Mantelhöhle liegt als am Ende des Bohrlochs. Es konnten keine Unterschiede bezüglich der Bohrposition im 40° Winkel in ihrer Anwendbarkeit zwischen *O. edulis* und *C. gigas* festgestellt werden.

Ein deutlicher Unterschied in der Anwendbarkeit zwischen den Austernarten wurde bei der Bohrung zwischen den Schalenhälften festgestellt. Hier verursachten die welligen und abstehenden Formen der Pazifische Schalenschichten beim Ansetzen des Fräasers eine Instabilität, was zu Beginn eine stärkere Fixierung durch Bleikissen forderte. Die gewölbte Schalenform der *C. gigas* ermöglichte der fortlaufenden Bohrung jedoch eine verstärkte Fräsführung, was eine Reproduzierbarkeit fördert.

Bei der Europäischen Auster konnte der Fräser zu Beginn besser an die flachen und runden Formen der Schale angesetzt werden, jedoch führte die vergleichsweise dünnere und

brüchigere Schale speziell bei der oberen Schalenhälfte zu Splintern und unsauberen Bohrlochformen.

In Anbetracht der Endoskop-Aufnahmen stellte sich die Bohrposition zwischen den Schalenhälften als die geeignetste Variante für den Erhalt qualitativer und reproduzierbarer Aufnahmen heraus. In dieser Position konnte eine hohe Flexibilität in der Rangierfähigkeit der Endoskop-Kamera, sowie im Weitwinkel erreicht werden, da sich der Mantel eher um, anstatt vor die Kamera legte, wie es häufig bei dem Bohrloch an der oberen Schale der Fall ist.

4.3 Endoskopie

Die Verwendung eines Stativs inklusive einer Führung für das Kabel, ist bei der Verwendung einer Inspektionskamera mit halbstarrem Kabel nicht für die Reproduzierbarkeit förderlich. Zum einen hinderte der Kunststoff um das 2 m lange Endoskop Kabel das kontinuierliche und kontrollierte Gleiten über die Führung des Stativs. Außerdem hatten kleinste Kräfteeinwirkungen auf die positionierte Endoskop-Kamera und das halbstarre Kabel eine erhebliche Auswirkung auf die Ausrichtung und Qualität der produzierten Aufnahmen. Das halbstarre Kabel änderte seine Ausrichtung häufig nach der manuellen Positionierung, wegen natürlicher Atmungsaktivitäten oder weil das lange Kabel noch minimal unter Spannung stand. Ein Optimierungsansatz wurde durch die Fixierung der Endoskop-Kamera mit Silikonkleber bzw. Bienenwachs, ähnlich wie beim künstlichen Verschluss, im Bohrloch getestet. Diese Variante war jedoch nicht für die von der Auster während der Atmung initiierten Bewegung ausreichend belastbar, da sich die Fixierung löste oder das halbstarre Kabel für Widerstand sorgte und vermehrt zu einer unerwünschten Position des Endoskops führte.

Außerdem ist der Beobachtungsabstand mit 4-5 cm deutlich zu groß für den schmalen Spielraum in der Mantelhöhle im Inneren des Tieres. Für eine fokussierte und detailliertere Aufnahme sollte beim verwendeten Endoskop ein Beobachtungsabstand von maximal 1-2 cm garantiert sein.

Eine weitere Herausforderung am Endoskop stellte der automatische Fokus dar. Dieser ermöglichte keinen manuellen Eingriff, sodass beim Bildeintritt des umliegenden Gewebes wie z.B. der Mantel, sich der Fokus verändert und damit das Bild unscharf wurde. Dasselbe Problem trat ebenfalls auf, wenn das Endoskop an der Luft in die Versuchstiere eingeführt und sie erst anschließend ins Aquarium gesetzt wurden. Dadurch füllte sich die Mantelhöhle erst im Becken mit Wasser und das Gewebe veränderte durch den Auftrieb seine Position, wodurch der Fokus verändert wurde.

Für die Verwendung der Endoskopie in zukünftigen Forschungsarbeiten wird die Empfehlung gegeben, während den Aufnahmen helles Licht von außen auf die Austern zu strahlen, welches durch die Schale dringt und eine zusätzliche Beleuchtung ermöglicht. Der Vorteil bei diesem Vorgehen ist, dass trotz guter Beleuchtung kaum Spiegelungen durch das Wasser auf den Aufnahmen entstehen.

Zum Erhalt von endoskopischen Aufnahmen aus den Mantelhöhlen der Austern konnte das Industrie-Endoskop (1080P HD-Endoskop) genutzt werden, welches Bilder aus dem Inneren der Tiere lieferte. Die anfänglich gestellte Hypothese (H3), dass die Verwendung eines halbstarren Industrie-Endoskops eine detaillierte Einsicht der Mantelhöhle im Bereich der Kiemen ermöglicht, kann jedoch nur teilweise und für kurzzeitige Einsätze bestätigt werden.

Für detaillierte Langzeit-Aufnahmen aus dem Inneren der Mantelhöhle sollte in weiterführenden Arbeiten auf ein Boroskop, ein Endoskop mit starrem Kabel und einen Mikromanipulator zurückgegriffen werden. Zusätzlich sollte bei der Auswahl des Boroskops auf einen geringeren Beobachtungsabstand von 1-2 cm und einen manuellen Fokus geachtet werden, um durchströmende Partikel identifizieren zu können und qualitative Aufnahmen der Organe, der Gameten oder der Larven zu generieren. Von der Bohrung durch das Mantelgewebe ist auf Grund der sich darunter befindenden empfindlichen Organe und des ausbleibenden Erfolges an Bildmaterial abzusehen.

4.4 Vergleich des Verschlussmaterials der Bohrung und dessen Einfluss auf die Reparatur der Schale

Für einen schnelleren natürlichen Reparaturprozess der Austernschale ist ein künstlicher Verschluss des Bohrlochs bzw. einer Öffnung zu empfehlen, was durch den Vergleich von künstlich verschlossenen und offenen Bohrlöchern über die Dauer des Versuchs bei *C. gigas* deutlich wird.

Durch einen Verschluss können Strömungen des umliegenden Wassers oder andere Organismen nicht in die Öffnung eindringen und den Heilungsprozess der Schale behindern. Es kann in kürzerer Zeit eine dickere Schicht der Kalkschale produziert werden, was insgesamt zu einer schnelleren Heilung führt und die vorangegangene Hypothese (H2) bestätigt.

Bei der Wahl des Abdichtungsmaterials bzw. des Propfens sollte auf die Verträglichkeit mit den Versuchstieren geachtet werden. Bei der Wahl eines natürlichen Bienenwachses und eines synthetisch hergestellten Silikonkleber wurde vorab die Hypothese aufgestellt, dass letzteres zu einer verringerten Vitalität der Versuchstiere führen könnte. Dies konnte jedoch bei der geringen Menge an Silikonkleber weder bei *C. gigas* noch bei *O. edulis* verzeichnet werden. Bei der Arbeit mit empfindlicheren Larven sollte unter diesem Aspekt jedoch besondere Vorsicht möglichen Schadstoffe geboten sein.

Bei der Anbringung des künstlichen Verschlusses konnte eine geringere Haftung bei *O. edulis* festgestellt werden. Die erschwerte Anbringung des künstlichen Verschlusses an der flachen Schale der Europäischen Auster ist die Folge einer geringeren Oberfläche der Austernschale, welche zu weniger Kontaktfläche und damit zu einer schlechteren Haftung des Pfropfens bzw. des Klebematerials führt.

Bei der Verwendung von erwärmtem Bienenwachs als Abdichtungsmaterial, ist eine möglichst kühle Temperatur der Auster bzw. des Wassers von Vorteil, da das erhitzte Bienenwachs nicht

direkt in das Innere der Auster fließt, sondern schneller erhärtet und innere Verletzungen durch Hitze reduziert.

Beim Vergleich des Verschlussmaterials, stellte sich erwärmtes Bienenwachs als die geeignetere Variante heraus, da es um ein Vielfaches schneller erhärtet als Silikon, die Tiere nicht so lange trocken liegen müssen und außerdem die Zwischenräume zwischen Schale und Profen besser verschlossen sind. Zusätzlich kann geäußert werden, dass die Handlichkeit bei der Verwendung des Bienenwachses zum Verschließen eines kleinen Bohrlochs besser ausfällt, da es sich in flüssiger Form selbständig verteilt, während das Silikon aufwendiger um den Profen und das Loch verteilt werden muss und die Arbeit mit kleinen Mengen durch die Klebefähigkeit erschwert wird. Die Nutzung dieser Verschlussmöglichkeiten ist jedoch nur für den Einsatz ohne mechanische Belastung geeignet, da sich diese sonst leicht ablösen.

Im Hinblick auf eine relevante Veränderung der durch die Atmung verursachten Strömung in den Tieren, kann die zu Beginn aufgestellte Hypothese (H1) widerlegt werden. Die Uranin-Versuche zeigten zwar minimale, durch die Bohrlöcher neu entstandene Strömungszweige, die durch äußere Bedingungen beeinflusst wurden und teilweise nicht vollständig durch den Mantel kontrolliert werden konnten. Trotzdem war es den Austern während ihrer Atmungsaktivität weiterhin möglich, ihr gewöhnliches Strömungsmuster in der Mantelhöhle zu induzieren.

5 Vergleich *C. gigas* und *O. edulis*

Die Methodenentwicklung zur Bohrung der Schale und anschließender Endoskopie wurde in Anbetracht der Zucht und Nutzung von Austern durchgeführt. Die Wahl der Europäischen Auster wurde aufgrund der Versuchsdurchführung in einer Produktionsstätte und deren Zusammenarbeit mit Wiederansiedlungsprojekten für *O. edulis* und dem diesbezüglichen Forschungsinteresse, getroffen. Im Sinne der Nachhaltigkeit wurden entsprechende Ressourcen vor Ort (Helgoland) genutzt, weshalb die Art *C. gigas* zusätzlich zu der Bearbeitung des Themas ausgewählt wurde. Außerdem bringen diese zwei Austernarten eine gewisse Gegensätzlichkeit in ihrer Robustheit, sowie den flachen bzw. geschwungenen Formen der Schale mit sich, die für die Erarbeitung des Themas von Bedeutung sind.

Da Pazifische Austern, bezogen auf die Umweltbedingungen, als robuster eingestuft werden (Gercken und Schmidt 2014) und sie ausreichend im Helgoländer Hafenbecken zur Verfügung sind, wurden erste Bohr- und Endoskopie Versuche an *C. gigas* durchgeführt.

Die Bohrung an der *C. gigas* ermöglicht mit Hilfe des Endoskops einen ersten Einblick in das Innere der Tiere. Für die Positionierung und Fixierung der pazifischen Schale während der Bohrung dienten Bleikissen. Aufgrund der geschwungenen und abstehenden Formen der Schale, mussten jedoch kleine Holzstücke für die Bohrung in Schiefelage (2.2) bzw. in vertikaler Ausrichtung (2.1, 2.4) zugezogen werden.

Für die ventralen Bohrlöcher der *O. edulis* im 90° bzw. 40° Winkel, war lediglich das Bleikissen ausreichend. Für die ventralen Bohrlöcher zwischen den Schalenhälften, stellte sich der Schraubstock als eine hilfreiche Erweiterung heraus, da die Fixierung mit den Bleikissen nicht für eine vertikale Positionierung der flachen Austern während der Bohrung ausreicht, sondern ständig verrutschte.

Als Reaktion auf die Bohrung konnten keine Unterschiede zwischen *C. gigas* und *O. edulis* festgestellt werden, da beide Arten bereits nach 5 min (2.1) - 15 min (1.3) nach der Bohrung wieder ihre Atmungsaktivität aufnahmen. Die Schwierigkeit lag deshalb darin, eine passende Bohrposition bzw. -winkel zu finden, bei dem die Kamera nicht bereits nach wenigen Minuten von dem Mantel verdeckt wird.

Bei der Endoskopie ermöglichten die gewölbten Formen der Pazifischen Schale eine höhere Flexibilität in der Einführung und Positionierung der Endoskop-Kamera, sodass ein geringeres Risiko für die Beschädigung der umliegenden Organe, speziell der Kiemen entstand.

Insgesamt weisen weder die Europäischen noch die Pazifischen Austern eine Abnahme in ihrer Vitalität auf, solange der Mantel und darunterliegende Organe noch intakt sind und der durch das Bohrloch induzierte Ein- bzw. Ausstrom weitestgehend durch den Mantel kontrolliert werden konnte. In Anbetracht der Tatsache, dass Austern in der freien Natur ständigen Bohrungen wie zum Beispiel durch Poriferas ausgesetzt sind und auch im Laufe des Versuchs bei der *O. edulis* Nummer 22 posterior- dorsal ein natürliches Loch entstanden ist, kann die Hypothese zur ausbleibenden Einschränkung in der Vitalität der Tiere bestätigt werden, solange der Prozess keine Beschädigungen der Organe verursacht hat. Die Gefahr des

ungehinderten Eintritts externer Substanzen, die mechanischen oder chemischen Schaden anrichten könnten, sollte bei weiteren Versuchen allerdings nicht außer Acht gelassen werden.

6 Danksagung

Ich möchte mich bei Prof. Dr. Astrid Gärdes bedanken, die mir im gesamten Prozess der Arbeit zur Seite stand und mich bei Fragen unterstützt hat.

Ich möchte mich zusätzlich bei Dr. Bérenger Colsoul für den Anstoß zur Idee und die Ermöglichung dieser Arbeit und für die Unterstützung in der Planung, Umsetzung und Auswertung dieses Versuchs bedanken.

Der Dank gebührt außerdem dem Alfred-Wegener-Institut, dem Biologischen Institut Helgoland und der Helgoländer Auzernzucht, die mir die Möglichkeit und Räumlichkeiten zur Verfügung stellten, um meine Forschung und Experimente durchzuführen.

Besonderer Dank gebührt außerdem dem Team des PROCEED Projekts auf Helgoland, bestehend aus Lennard Klingforth, Clemens Kozian-Fleck, Corina Peter, Martin Sackmann und Nicolás Araujo Piñeiro, die mich zu dieser Arbeit inspiriert haben und mir im gesamten Prozess mit Rat und Tat zur Seite standen.

7 Literaturverzeichnis

- AWI. 2019. „Heimische Austern: Austernaufzucht“. (16. Juli 2022).
- AWI. 2022a. „PROCEED: Wiederansiedlung der Europäischen Auster in der deutschen Nordsee: Aufbau einer nachhaltigen Produktion von Saataustern für ein langfristiges Wiederansiedlungsprogramm“. (16. Juli 2022).
- AWI. 2022b. „RESTORE: Wiederherstellung der Bestände der Europäischen Auster (*Ostrea edulis*) in der deutschen Nordsee“. (22. Juli 2022).
- Beck, Michael W. u. a. 2011. „Oyster Reefs at Risk and Recommendations for Conservation, Restoration, and Management“. *BioScience* 61(2): 107–16.
- BfN. 2008. „Bundesamt für Naturschutz: Erhaltungsziele für das FFH-Gebiet Borkum-Riffgrund (DE) in der deutschen AWZ der Nordsee“, Stand Januar 2008..
- Bromley, Cass, Ciarán McGonigle, Elizabeth Clare Ashton, und Dai Roberts. 2016. „Bad Moves: Pros and Cons of Moving Oysters – A Case Study of Global Translocations of *Ostrea Edulis* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Bivalvia)“. *Ocean & Coastal Management* 122: 103–15.
- Byers, James. 2009. *Biological Invasions in Marine Ecosystems: Competition in Marine Invasions*: Pp 245–260.
- Colsoul, Bérenger u. a. 2021. „Sustainable Large-Scale Production of European Flat Oyster (*Ostrea Edulis*) Seed for Ecological Restoration and Aquaculture: A Review“. *Reviews in Aquaculture* 13(3): 1423–68.
- FAO. 2016. *THE STATE OF WORLD FISHERIES AND AQUACULTURE- Contributing to Food Security and Nutrition for All*. Rome.
- FAO. 2021. *FAO Yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2019/FAO Annuaire. Statistiques Des Pêches et de l'aquaculture 2019/FAO Anuario. Estadísticas de Pesca y Acuicultura 2019*. FAO.
- FAO. 2022. „Fisheries and Aquaculture - Aquatic species - *Magallana gigas* Thunberg,1793“.
- Gercken, Jens, und Andreas Schmidt. 2014. *Bfn-Skripten 379, Current Status of the European Oyster (*Ostrea edulis*) and Possibilities for Restoration in the German North Sea 2014*. hrsg. Bundesamt für Naturschutz. Bonn: Bundesamt für Naturschutz.
- Gerdes, Albert. 2009. „Wie groß sind die sieben Weltmeere?“ *Wissenschaft im Dialog*.
- Gosling, E. M. 2003. *Bivalve Molluscs: Biology, Ecology, and Culture*. Oxford; Malden, MA: Fishing News Books.
- Haelters, J. 2009. „OSPAR: Background document for *Ostrea edulis* and *Ostrea edulis* beds. OSPAR Commission.“
- Herbert, Roger J. H. u. a. 2016. „Ecological Impacts of Non-Native Pacific Oysters (*Crassostrea Gigas*) and Management Measures for Protected Areas in Europe“. *Biodiversity and Conservation* 25(14): 2835–65.

- Humphreys, John, Roger J. H. Herbert, Caroline Roberts, und Stephen Fletcher. 2014. „Aquaculture: A Reappraisal of the History and Economics of the Pacific Oyster in Britain.“ (Aquaculture s 428–429 (3):117–124).
- IUCN. 2000. „IUCN Guidelines for the Prevention of Biodiversity Loss Caused by Alien Invasive Species“.
- Korringa, P. 1946. 10 Basteria: The decline of natural oyster beds p.36-41.
- Möhl, Katharina Bärbel Inge. 2008. „Bakterieller und viraler Kontaminationsstatus von Pazifischen Felsenaustrern (*Crassostrea gigas*)- einjähriges Monitoring des ‚Berliner Angebots‘“.
- Pogoda, Bernadette. 2019a. „Current Status of European Oyster Decline and Restoration in Germany“. *Humanities* 8(1): 9.
- Pogoda, Bernadette. 2019b. „Wiederansiedlung der heimischen Europäischen Auster in der Nordsee. Klarer Kurs - Naturschutz: Jahrbuch für Naturschutz und Landschaftspflege, p.74-83“. 62.
- Remane, A., V. Storch, und U. Welsch. 1986. *Zoologie: Mollusca*. 3. Aufl. Stuttgart-New York: Gustav Fischer.
- Rilov G, Crooks JA. 2009. *Biological Invasions in Marine Ecosystems : The Integration of Invasive Species into Marine Ecosystems* Pp 241–244.
- Ruesink, Jennifer u. a. 2005. „Introduction of Non-Native Oysters: Ecosystem Effects and Restoration Implications“. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 643–89.
- Schmitt, Valérie, Katrin Prinz, Bernadette Pogoda, und Corina Peter. 2022. „Die Wiederansiedlung der Europäischen Auster“ hrsg. Bundesamt für Naturschutz (BfN) und Abteilung Meeresnaturschutz.
- Troost, Karin. 2010. „Causes and Effects of a Highly Successful Marine Invasion: Case-Study of the Introduced Pacific Oyster *Crassostrea Gigas* in Continental NW European Estuaries“. *Journal of Sea Research* 64(3): 145–65.
- Ward, J. E., P. G. Beninger, B. A. MacDonald, und R. J. Thompson. 1991. „Direct Observations of Feeding Structures and Mechanisms in Bivalve Molluscs Using Endoscopic Examination and Video Image Analysis“. *Marine Biology* 111(2): 287–91.
- Wegmüller, Urs. 2014. „Palökologie von Muscheln aus den Belpberg-Schichten - Obere Meeresmolasse - oberes bis mittleres Burdigalium“.
- Wehner, R., und W. Gehring. 1995. *Zoologie: Mollusca (Weichtiere)*. 23. Aufl. Georg Thieme.
- Yonge, C. M. 1960. *Oysters*. London: Collins.

8 Eidesstaatliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass die vorliegende Arbeit über

„Methodenentwicklung zur Bohrung der Schale von Austern und anschließender Endoskopie der Mantelhöhle“

selbstständig von mir und ohne fremde Hilfe verfasst worden ist, dass keine anderen Quellen und Hilfsmittel als die angegebenen benutzt worden sind und dass die Stellen der Arbeit, die anderen Werken – auch elektronischen Medien – dem Wortlaut oder Sinn nach entnommen wurden, auf jeden Fall unter Angabe der Quelle als Entlehnung kenntlich gemacht worden sind. Mir ist bekannt, dass es sich bei einem Plagiat um eine Täuschung handelt, die gemäß der Prüfungsordnung sanktioniert werden kann.

Ich erkläre mich mit einem Abgleich der Arbeit mit anderen Texten zwecks Auffindung von Übereinstimmungen sowie mit einer zu diesem Zweck vorzunehmenden Speicherung der Arbeit in einer Datenbank einverstanden.

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit oder Teile daraus nicht anderweitig als Prüfungsarbeit eingereicht habe.

10.09.2022



Datum, Unterschrift