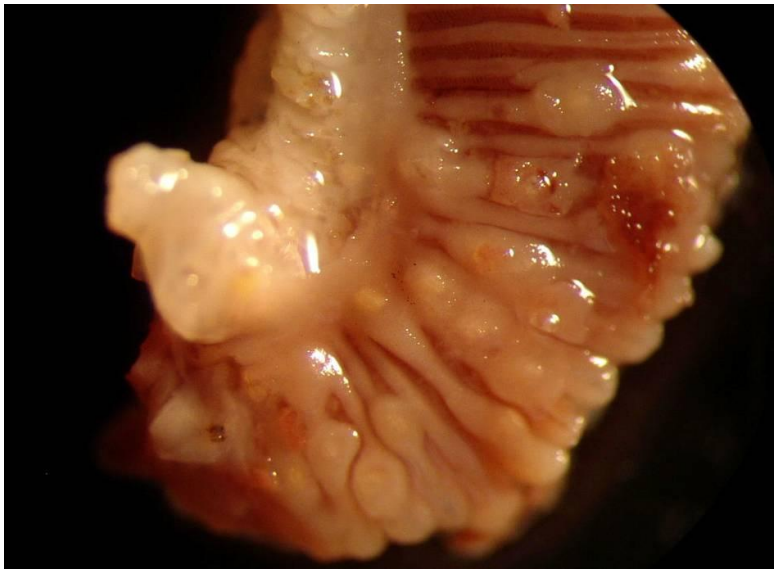
Samspelet mellan fiskar och stormusslor

Vilka värdfiskar utnyttjas av den tjockskaliga målarmusslan *Unio crassus*?



Niklas Wengström

Examensarbete för naturvetenskaplig magisterexamen i Biologi

Ekologisk Zoologi, 30 hp, vt 2009
Zoologiska institutionen
Göteborgs Universitet

Handledare: Johan Höjesjö (GU)
Pia Eldenäs (NRM)
Stefan Lundberg (NRM)
Lennart Johansson (LST Kalmar)

Examinator: Lotta Kvarnemo

Naturvetenskapliga fakulteten

GÖTEBORGS UNIVERSITET

Abstract

The aim of this study is to identify suitable hosts to the endangered unionoid freshwater mussel species thick-shelled river mussel, *Unio crassus*. Molecular methods were used to identify the different species of unionoid mussels from glochidia. Glochidia from *U. crassus* were found on bleak, *Alburnus alburnus*, roach *Rutilus rutilus* and burbot, *Lota lota*. Specimens of fish have been collected during spring and summer from the River Virån in the County of Småland, Sweden. The river is inhabited by a population of *U. crassus* with recruitment. 163 encysted glochidia on fish gills from 21 individuals from six out of seven different fish species were taken for further DNA-analyze at the Swedish Museum of Natural History. 51% of the analyzed glochidia belonged to the species swollen river mussel, *Unio tumidus*, 35 % *U. crassus*, 13 % painter´s mussel, *Unio pictorum*, and 1 % swan mussel, *Anodonta cygnea*. Glochidia from *U. pictorum* were found on ruffe *Gymnocephalus cernuus*, *L. lota*, perch *Perca fluviatilis* and *R. rutilus*. Glochidia from *A. cygnea*, were found on *P. fluviatilis*. Glochidia from *U. tumidus* were found on pike, *Esox lucius*, *G. cernuus*, *P. fluviatilis*, and *R. rutilus*. The results show that *A.alburnus* is the most important host fish to *U.crassus* in the River Virån.

Sammanfattning

Syftet med studien är att ta reda på möjliga värdfiskar till den utrotningshotade arten tjockskalig målarmussla, *Unio crassus*. För artbestämning av de olika mussellarverna (glochidier) har molekylära metoder använts. Glochidier från *U. crassus* är funna på löja, *Alburnus alburnus*, mört, *Rutilus rutilus* och lake, *Lota lota*. Fisk har insamlats under vår och sommar från Virån i Småland, Sverige. I ån förekommer ett reproducerande bestånd av *U. crassus*.163 glochidier från 21 fiskar från sex olika fiskarter har DNA-anlyserats vid Naturhistoriska Riksmuseets molekylärlaboratorium. 51 % av de analyserade glochidierna tillhörde arten spetsig målarmussla, *Unio tumidus*, 35 % *U. crassus*, 13 % äkta målarmussla, *Unio pictorum* och 1 % större dammussla, *Anodonta cygnea*. Glochidier från *U. pictorum* är funna på gärs, *Gymnocephalus cernuus*, lake, *Lota lota*, abborre, *Perca fluviatilis* och *R. rutilus*. Glochidier från *A. cygnea* är funna på *P. fluviatilis*. Glochidier från *U. tumidus* är funna på gädda, *Esox lucius*, *G. cernuus*, *P. fluviatilis* och *R. rutilus*. Resultaten visar att *A. alburnus* är den viktigaste värdfisken för *U. crassus* i Virån.

Introduktion

Detta examens arbete i ekologisk zoologi 30hp har finansierats med medel av Riksmusei vänner. Studien syftar till att förbättra kunskapen om limniska stormusslor, vilket kan leda till ett effektivare bevarandearbete för de i Sverige hotade stormusselarterna. Studien fokuserar främst på den tjockskaliga målarmusslans (*Unio crassus*) reproduktionsbiologi och på värdfiskproblematiken enligt intentionerna i det nationella åtgärdsprogrammet för arten.

Tjockskalig målarmussla

Den tjockskaliga målarmusslan tillhör familjen *Unionidae* och formgruppen stormusslor (Appendix 1). *U. crassus* beskrevs av Philipsson 1788 i Sverige och är därmed *Terra typica* (dvs. det område där arten först beskrevs) vilket också innebär att *U. crassus crassus* är nominatras (dvs. den underart som alla andra underarter har beskrivits efter) (Lundberg *et al.*, 2006). Den bildar en rad underarter i alla de stora flodsystemen i Europa och dessutom förekommer det lokala varianter i de flesta vattensystem. Mycket av den kunskap vi har idag bygger på studier från sydtyskland och underarten *Unio crassus cytherea* (Hochwald, 1997).

Den tjockskaliga målarmusslans utbredningsområde omfattar stora delar av Europa med utlöpare till Svartahavsområdet och främre orienten enligt IUCN:s globala rödlista från 1996. Musslan har även hittats på den Iberiska halvön (Pe´rez-Quintero, 2007). Dess utbredning i Europa är mycket fragmenterad och arten saknas helt i Storbritannien, Italien och nordliga och västliga delarna av Skandinavien (von Proschwitz, 2001).

I Sverige förekommer tjockskalig målarmussla regionalt i Skåne, nordöstra Småland - Östergötland, östra Södermanland och nordvästra Uppland – sydöstra Dalarna (von Proschwitz, 1999b). Tjockskalig målarmussla förekommer företrädelsevis i rinnande vatten men några fynd har även gjorts i sjöar, då endast i strömutsatta delar, i direkt anslutning till in- eller utlopp till sjön. En sammanställning av äldre (fynd före 1950) och nyare fynd (fynd senare än 1950) ger ett totalt antal av cirka 140 lokaler. Dessa är fördelade på 24 avrinningsområden och cirka 60 enskilda vattendrag. Om enbart nyare fynd räknas är cirka 100 lokaler fördelade på 17 avrinningsområden och cirka 48 enskilda vattendrag.

Till och med 2006 är föryngring känd i endast åtta vattendrag (förekomst av musslor <20mm) (Lundberg *et al*. 2006) men nyare uppgifter från 2008 räknar med att det nu finns 15 bestånd med föryngring (<40mm) i Sverige (Bergengren, 2008). I Tyskland anges juvenila musslor (Bild 1) vara mellan 10-30 mm (Zettler & Jueg, 2007). Antalet rekryterande bestånd i Sverige har sakta ökat i takt med genomförandet av nya inventeringar.

Den tjockskaliga målarmusslan är starkt hotad i hela sitt utbredningsområde (Lundberg *et al.*, 2006; Zettler & Jueg, 2007) och upptagen på IUCN:s (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) globala rödlista. Tjockskalig målarmussla (EN), flodpärlmussla (*Margaritifera margaritifera*) (VU) och flat dammussla (*Pseudanodonta complanata*)(NT) är alla

upptagna på den Svenska rödlistan (Gärdenfors, 2005) och troligen kommer även den äkta målarmusslan (*Unio pictorum*) införas på 2010 års lista i kategorin ”nära hotad” (NT) (Stefan Lundberg muntligt).

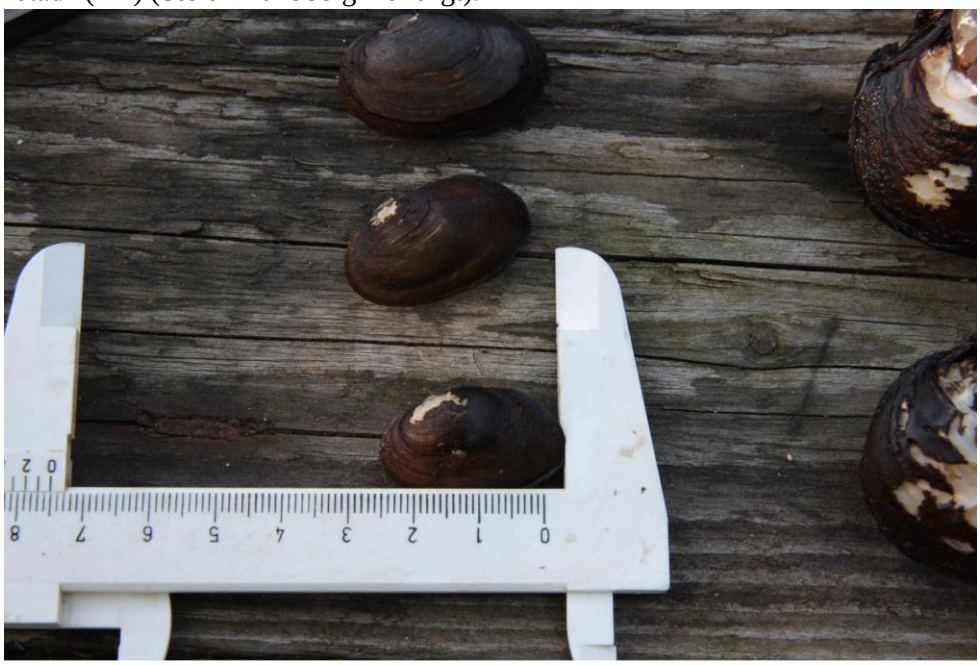


Bild 1. Juvenila tjockskaliga målarmusslor (*Unio* crassus) från Virån, alla tre är runt 30 mm. Foto: Niklas Wengström.

Hotbilden och orsaker till musslans tillbakagång i Sverige kan tillskrivas försurning, eutrofiering och förorening, fysisk påverkan av vattendragen som rensning och muddring, försämring av vattenkvalitén i form av ändrad markanvändning, vandringshinder för värdfiskar och avsaknad av eller minskande kantzoner mot vattendragen. Det är framförallt i de tidiga stadierna av livscykeln som hoten är som störst. Juvenila musslor ligger nedgrävda interstitiellt i bottnen i flera år och är därmed känsliga för grumling och sedimentering och det är således viktigt för musslornas överlevnad som juvenila att turbiditeten är låg (Österling, 2006). Misslyckad nyrekrytering är ett stort problem i Sverige för flera populationer av tjockskalig målarmussla (Lundberg, 2006) men det är också ett problem för de övriga stormusselarterna (Gustavsson, 2007). I Tyskland framhålls att i vattendrag med höga halter (>2mg/l) av nitrat (NO_3^-) är musslornas reproduktion negativt påverkad (Hochwald & Bauer, 1990; Köhler, 2006). Naturvårdsarbetet med stormusslor startades i Sverige på 1980-talet och då med fokus på flodpärlmussla (Lundberg & Bergengren, 2008). Det är först under den senaste 10-årsperioden som den tjockskaliga målarmusslan har börjat uppmärksammas. Ett åtgärdsprogram för artens bevarande upprättades 2006 (Lundberg *et al*., 2006).

Reproduktion

Alla svenska arter inom ordningen Unionoida har ett parasitiskt glochidielarvstadie med produktion av upp till miljonen larver per reproduktionstillfälle (Bauer & Wächtler, 2001). Glochidielarven är den morfologiska struktur som utgör det

intermediära ektoparasitiska stadiet mellan embryo och juvenil mussla i unionoida musslors livscykel.

Alla arter inom familjen Unionidae startar sin fortplantning på våren med att ägg och spermier börjar mogna. Arterna inom släktet *Anodonta* anlägger dock sina spermier och ägg något senare på sommaren och bär dem fram till vårvintern året därpå. I Tyskland startar fortplantningstiden för den tjockskaliga målarmusslan i april och pågår till juli och en hona kan ha flera graviditeter under perioden (Hochwald, 1997). Hos honorna utvecklas äggen inne i kroppen för att sedan vandra till de yttre kamgälarna (marsupier) vilka fungerar som yngelfickor. Hanen släpper ut sina spermier i vattnet och vissa av spermierna hamnar i honan via inströmningsvattnet där de befruktar äggen, embryona i marsupierna utvecklas till glochidier. Enligt en studie i ett engelskt vattendrag bär honmusslor av de närbesläktade arterna äkta målarmussla och spetsig målarmussla (*Unio tumidus*) på mogna glochidier under månaderna maj och juni (Aldridge & McIvor, 2002). Den tjockskaliga målarmusslans dräktighetsperiod är relativt kort och varar endast i några veckor, så lite som 19 dagar har noterats av Lang (1998), även de övriga arterna inom släktet är kortidsdräktiga. Den tjockskaliga målarmusslan är strikt skildkönad och kan inte övergå till hermafrodism som exempelvis flodpärlmusslan kan göra då den lever i små populationer (Bauer & Hochwald, 1988; 1990).

När glochidierna har mognat i marsupierna är det dags för honan att släppa ut dem i vattnet. Kemiska substanser och/eller metaboliter från värdfiskar har föreslagits som utlösande faktorer för frisläppet (Bauer & Wächtler, 2001). Närvaro av värdfisk har visats inducera och öka graden av glochidiefrisläppande under akvarieförsök med honor av större dammussla (*Anodonta cygnea*) (Trűbsbach, 1998). Andra akvarieförsök visar dock på motsatsen, dvs. att honor av allmän dammussla (*Anodonta anatina*) kan släppa sina glochidier utan närvaro av värdfisk (Panini *et al.*, 2009).

Troligen påverkar vattentemperaturen frisläppandet av glochidierna. Vid ett akvarieförsök släppte allmän dammussla sina glochidier vid 15ºC (Panini *et al.*, 2009). Syrebrist är en annan faktor som förmodligen kan påverka honor till att släppa glochidier. I ett experiment utfört av Nagel och Castagnolo (1991) släppte honor av *Unio mancus* sina glochidier efter två dagar då de hållits i små boxar utan syretillgång. Syrebrist kan också leda till att honor aborterar omogna glochidier (Aldridge & McIvor, 2002).

En glochidie består av två skalhalvor och är till formen trekantig. Skalhalvorna, vilka ej är synonyma med skalet hos den färdigbildade musslan, sitter ihop i basen av triangeln och hålls samman av en muskel. I den spetsiga delen av glochidien sitter i varje skalhalva en inåtgående hake. I den frilevande fasen är skalhalvorna inte hopslagna, vilket först inträffar när glochidien når kontakt med något att fästa sig på (Arey, 1932). I varje skalhalva sitter känselhår (cilier) som vid beröring utlöser en reflex som gör att skalhalvorna slår ihop och hakarna fäster i fiskvärden. Detta sker med hjälp av den muskel som håller ihop skalhalvorna. Glochidier kan delas upp i två grupper, med och utan hakar (Pekkarinen & Englund, 1995). De med hakar tros vara mindre värdfiskspecifika än de utan hakar (Bauer & Wächtler, 2001). Alla glochidier från våra inhemska stormusselarter, med undantag av flodpärlmusslan, har hakar. Arter tillhörande underfamiljen Anodontinae har större

hakar än arter från underfamiljen Unioninae (Pekkarinen & Englund, 1995). De med hakar kan fästa på både gälar och fenor, medan arter utan hakar oftast fäster enbart på fiskens gälar (Arey, 1932). När glochidien väl fäst på värdfisken utöser detta en immunförsvarsreaktion hos fisken och det bildas en cysta runt denna (Arey, 1932). Immuniteten ökar med ökad infektionsgrad, men den avtar också relativ snabbt om infektionerna upphör (Bauer & Vogel, 1987). Att fiskar utvecklar immunitet kan innebära konkurrens om värdfiskar mellan musselarter som anses ha låg eller intermediär värdspecificitet (Dodd *et al.*, 2005). Kapaciteten hos fiskars immunförsvar varierar under livscykeln och den anses minska under lekperioden, vilket medför en ökad risk för parasitangrepp (Kortet *et al*., 2004).

Storleken på en glochidie varierar mellan de olika familjerna. Störst glochidier har arter i underfamiljen Anodontinae (300-400 µm), därefter kommer arter tillhörande Unioninae (200-230 µm) och Margaritiferidae som har de minsta glochidierna (47,5-71,4 µm). Storleken varierar geografiskt inom arterna, men också beroende på om arten lever i ett vattendrag eller en sjö (Pekkarinen & Englund, 1995). Sjövarianten av glochidien är större än vattendragvarianten. Glochidielarver tillhörande den tjockskaliga målarmusslan är cirka 145 – 230 µm långa och 145 – 210 µm höga enligt en sammanställning av Pekkarinen och Englund (1995).

När glochidierna har släppt från honmusslans marsupier har de en kort frilevande period innan de hamnar på en värdfisk. Glochidierna kan inte påverka var de hamnar efter frisläppandet. Däremot kan honmusslor i viss mån påverka infektionsgraden hos glochidierna genom att på olika sätt locka till sig fisk. Det finns flera observationer på hur musslans mantel används som ett lockbete, framförallt hos arter av nordamerikanska stormusslor inom underfamiljen Lampsilinae (van der Schalie, 1970; Kraemer, 1970; Mackie, 1984). När fisken närmar sig och försöker ta lockbetet släpper musselhonan ut glochidierna och fisken hamnar i ett moln av dessa, med infektion som följd. Det är inte känt om de svenska arterna av stormusslor har något speciellt lockbeteende. Hos släktena *Unio* och *Anodonta* hålls glochidierna ihop av en lång, maskliknande, slemtråd (conglutinat) som förmodligen kan vara anlockande på fisk. *U. crassus cytherea*, en underart till *U. crassus crassus*, har ett beteende som förmodligen lockar fisk. Musslan förflyttar sig till den grunda strandzonen mycket nära land, där den upprepade gånger under dagen sprutar ut en vattenstråle med glochidier i en vid båge över vattenytan (von Gelei, 1933; Vicentini, 2005). Ett annat sätt att öka överlevnaden är att producera mycket avkomma vid varje reproduktionstillfälle. Antalet producerade glochidier skiljer sig åt mellan de olika svenska musselarterna; flodpärlmussla 3-4 miljoner, tjockskalig målarmussla 20 000–300 000, äkta målarmussla ca 200 000, spetsig målarmussla ca 200 000, större dammussla 310 000–370 000 och flat dammussla 8 000–16 000 (Bauer & Wächtler, 2001).

Glochidielarven är beroende av en värdfisk för att utvecklas till en liten mussla och detta samband inleddes troligen för ca 245-65 miljoner år sedan (Bauer & Wächtler, 2001). En frilevande glochidie överlever i bara några dagar om den inte kommer i kontakt med en värdfisk (Mackie, 1984). Men även när glochidien sitter fast på en lämplig värd är mortaliteten hög och mer än 50 % dör (Jansen *et al*., 2001; Hastie & Young, 2001).

Under den parasitiska perioden, då glochidien sitter på en värdfisk, utvecklas larven till en juvenil mussla. Hos de flesta musselarterna ökar inte storleken på glochidien under utvecklingen till juvenil mussla, däremot ökar kolinnehållet hos de flesta arterna. Under utvecklingen sker en omorganisering av somatiska strukturer. Larvens aduktormuskel omvandlas till två permanenta muskler, manteln bildas, matspjälkningsapparaten och nervsystem likaså (Bauer & Wächtler, 2001). Parasitstadiet är olika långt beroende på musselart och glochidier av den tjockskaliga målarmusslan är parasiter i ungefär en månad, dammusslor i cirka 20 dagar och flodpärlmussla cirka 10 månader (Bauer & Wächtler, 2001; Bednarczuk, 1986).

Värdfiskar

Värdfiskar spelar en viktig roll för hur musslor fördelar sig i vattendragen och i fisktomma vatten påträffas generellt inga stormusslor. En värdfisk kan vandra långa sträckor i ett vattendrag och på så vis sprida musslor över stora områden. Här förekommer stora variationer i migrationsbeteende beroende på fiskart men också mellan ålderskategorier och kanske t.o.m. mellan fiskar av olika kön.

De olika släktena *Anodonta, Unio* och *Margaritifera* kan delas in i tre grupper beroende på de olika arternas värdspecificitet (låg, intermediär respektive hög värdspecificitet). Allmän dammussla kan parasitera flera olika värdfiskar och tillhör gruppen med låg värdspecificitet. I en sammanställning av Bauer & Wächtler (2001) är 15 fiskarter från sju olika familjer noterade som värdar för musslan, men listan är förmodligen undervärderad. Den tjockskaliga målarmusslan är kopplad till 12 fiskarter från fem olika familjer och anses därmed hamna i gruppen med intermediär specificitet. Flodpärlmusslan (Margaritiferidae) parasiterar bara laxfiskar (öring och lax) och är således en art med hög specificitet, som endast är noterad för fyra fiskarter från en familj.

I Sverige anses arterna stensimpa (*Cottus gobio*) och elritsa (*Phoxinus phoxinus*) vara lämpliga värdfiskar till den tjockskaliga målarmusslan (Lundberg *et al*., 2008). Hypotesen bygger på att fiskarterna är dominerande i ett flertal vattendrag med föryngring av tjockskalig målarmussla. I tyska studier beskrivs färna (*Leuciscus cephalus*), elritsa (*P. phoxinus*), sarv (*Scardinius erythrophtalmus*), stäm (*Leuciscus leuciscus*), storspigg (*Gasterosteus aculeatus*), småspigg (*Pungitius pungitius*), stensimpa (*C. gobio*), abborre (*Perca fluviatilis*) och gärs (*Gymnocephalus cernuus*), som lämpliga värdfiskar (Hochwald, 1997; Nagel, 2002). Det bör poängteras att det råder stor oenighet mellan forskare om vilka fiskarter som är lämpliga värdar till den tjockskaliga målarmusslan (Appendix 2). Hochwalds värdfiskstudier är dessutom kopplade till underarten *U. crassus cytherea* och i vad mån dess värdfiskspecificitet skiljer sig från *U. crassus crassus* är okänt. Bednarczuk (1986) har i akvarieexperiment visat att färna, sarv och abborre kan vara fungerande värdar till *U. crassus crassus*, efter 27 dagar hade samtliga fiskarter släppt fullt utvecklade juvenila musslor från sina gälar. Nagel (1991) har visat på motsatsen, att abborre inte kan vara fungerande värd då den snabbt utvecklar immunitet mot glochidieinfektioner. Infektionsgraden och antalet glochidier per fisk är i naturen oftast lägre på äldre fisk än vad den är på yngre fisk (Bauer, 1987; Hastie & Young, 2001). Engel och Wächtler (1989) har visat att värdfiskspecificiteten kan vara olika mellan åtskilda populationer av tjockskalig

målarmussla. Detta innebär att regionala skillnader förmodligen kan förekomma även i Sverige.

Kunskapen om de svenska stormusselarterna har länge varit mycket begränsad med undantag av flodpärlmusslan som har inventerats sedan början av 1980-talet . På senare tid har tre doktorsavhandlingar om flodpärlmusslan presenterats (Henriksson 1996; Dunca 1999; Österling 2006) och det vore önskvärt att också de övriga Svenska arterna av stormusslor kunde få samma uppmärksamhet. I en undersökning från 2008 uppger 15 av Sveriges 21 länsstyrelser att kunskapsläget (förekomst) gällande stormusslor i allmänhet är bristfälligt (Lundberg & Bergengren, 2008).

I Tyskland bedrivs ett naturvårdsarbete med arten tjockskalig målarmussla och en metod man använder för att stärka bestånden är att tvångsinfektera fisk (Henker *et al*., 2003), metoden beskrivs också i Degerman (2009). Efter infektionen släpps fisken tillbaka till vattendraget där den fördelar sig naturligt. I samband med detta har ofta vattendraget restaurerats på något sätt, exempelvis genom bottenförbättringar eller borttagning av vandringshinder. Fördelen med metoden är att man kan maximera infektionsgraden jämfört med det naturliga förloppet. Metoden fungerar förmodligen för andra arter av stormusslor förutsatt att man vet vilka fiskarter som skall infekteras. En metod för att utreda möjliga värdfiskar i ett vattendrag är att DNA-analysera glochidier på fiskarnas gälar, metoden har prövats tidigare i liten skala vid Naturhistoriska Riks Museet med gott resultat. 2007 analyserades glochidier på gädda och abborre från Virån, Kalmar län, resultaten visade på infektion av spetsig målarmussla hos både abborre och gädda, samt infektion av äkta målarmussla hos abborre (Lundberg *et al*., 2008). Virån beskrivs i åtgärdsprogrammet för tjockskalig mussla (Lundberg, 2006) som ett lämpligt vattendrag för värdfiskstudier enligt, *”ett vattendrag där relativt ostörda och reproducerande populationer förekommer*”. Förhoppningsvis kan detta arbete ge värdefull information om vilka fiskarter som utnyttjas av de Svenska stormusselarterna i Virån.

Frågeställningar

1. Vilken eller vilka värdfiskarter utnyttjas av den tjockskaliga målarmusslan?

2. Vilka musselarters glochidier kan påträffas och vilka fiskarter är infekterade?

Material och Metoder

Provlokalen och områdesbeskrivning

Viråns (SMHI vattendrag nr:73) avrinningsområde täcker en yta av 591 km^2. Ån startar i Hultsfreds kommun och rinner ut i Östersjön, fallhöjden från källorna till mynningen är 83 meter (Holm, 1999) och medelflödet är 3,3 m^3/s (Länsstyrelsen Kalmar län). Ån rinner genom ett mosaikartat landskap av jordbruksmark, lövskog och produktionsskog.

Den provfiskade delen av ån utgör en yta av 320 m^2 och ligger uppströms Bosjön på fastighet Sulegång 1:36 (Bild 2). Närområdet utgörs av produktionsskog där delar av skogen är avverkad ända in till vattendraget. Kantzonen består av trädslagen al (*Alnus glutinosa*), asp (*Populus tremula*) och vårtbjörk (*Betula pendula*). I strandkanten växer kabbleka (*Caltha palustris*) och svärdslilja (*Iris pseudacorus*), tillsammans med *Carex* sp. och mannagräs (*Glyceria flúitans*). Bottensubstratet domineras av sten (60-200 mm). Medelvattennivå rådde vid alla provfisken. I ån förekommer, med undantag av flodpärlmussla, alla inhemska arter av stormusslor.

Bild 2. Vy över Virå lokalen med Bosjön högst upp i bild. I bilden visas också hur fiskemetoden med landvad har utförts. Foto: Niklas Wengström

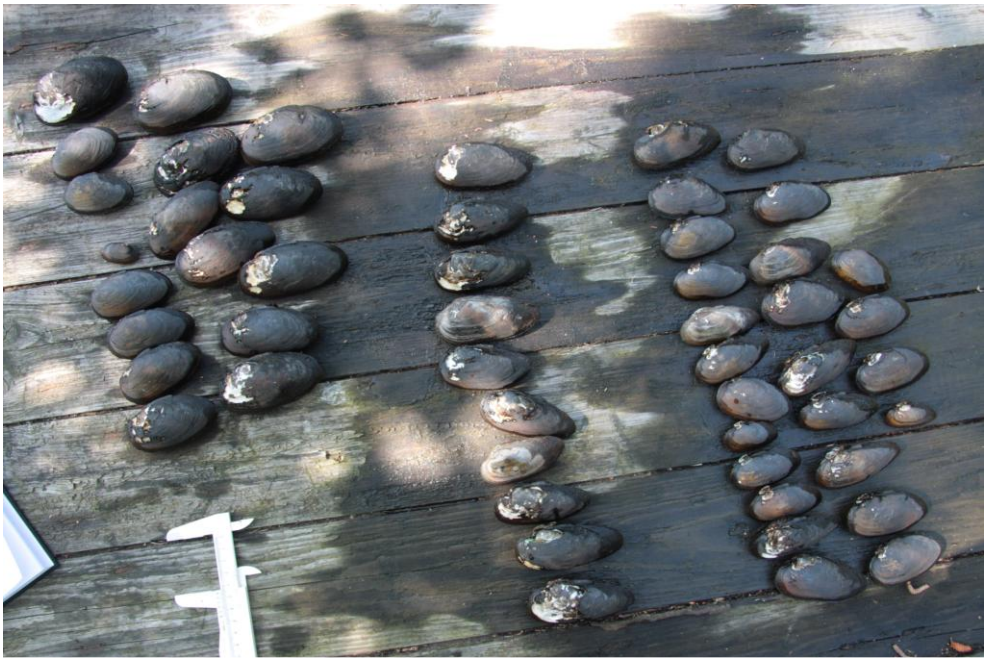


Bild 3. Undersökta målarmusslor från lokalen i Virån. Tjockskalig målarmussla *U. crassus* med sin rundade kroppsform till vänster i bild. I mitten av bilden förekommer äkta målarmussla *U. pictorum* med sin långsmala skalform och till höger spetsig målarmussla *U. tumidus* som har en spetsig bakända. Notera likheter och skillnader i skalmorfologi mellan och inom arterna. Foto: Niklas Wengström.

Det finns totalt ett 30-tal fiskarter i Virån (Länsstyrelsen Kalmar län) och två av dessa, nissöga (*Cobitis taenia*) och stensimpa, är upptagna på EU's habitatdirektivlista för skyddsvärda arter. Andra förekommande fiskarter i Virån är exempelvis abborre, lake, löja, mört, öring, gädda och gärs (Fiskeriverket).

Ett lokalbeskrivningsprotokoll (version 1:6:2006-04-26) fylldes i vid första fisketillfället. Insamling av vattenprover för kemisk analys togs vid flera tillfällen (Appendix 4).

Fältarbetet

Musselförekomst och artbestämning

För att få en uppfattning om fördelningen av stormusslor på lokalen så har en mindre yta (32m^2) undersökts. Levande stormusslor (Bild. 3) har artbestämts i fält med hjälp av artbestämningsnyckeln (von Proschwitz, 1999a). Dessutom har tomskal från avlidna individer på lokalen använts vid artidentifieringen. Artbestämningen av fiskar i fält har skett med hjälp av boken "Fiskar" (Pethon, & Svedberg, 2004) och "Artbestämningsguide svenska karpfiskar" (Grahn, 1991).

Insamling av glochidier

Fisket med landvad bedrevs under tre månader med två fisken i maj (14/5 och 26/5), ett fiske den 15 juni och ett fiske i juli (8/7). Två nät har använts och de är båda av måtten 5,5 x 2 meter men med olika maskstorlekar, 2 och 5 millimeter. Fisket med nettingfällor (Bild 4) utfördes under 12 nätter, vittjningsdatum 4/7, 8/7, 10/7, 14/7. En nettingfälla är en sorts mjärde med öppningar i båda ändar (2 x 2 cm) och de är tillverkade av perforerad rostfri plåt och har måtten 20 x 20 x 80 centimeter (bredd, höjd och längd). Nettingfällorna placerades ut på bottnen med öppningarna i med- och motströms riktning.

Bild 4. En nettingfälla, en sorts mjärde byggd av rostfri plåt, i bilden är toppluckan öppen.

Fiskemetoden med landvaden (Lundberg & Delling, 2004) är kvalitativ, dvs. man får en uppfattning av fiskafaunan på lokalen. Vid varje fisketillfälle upprepades fisket flera gånger inom den avgränsade sträckan.

Alla fiskar och glochidier har sparats för analys och därefter tillförts Naturhistoriska riksmuseets vetenskapliga samlingar. Fiskarnas gälar och fenor undersöktes med stereolupp på laboratorium. Alla glochidieinfekterade fiskar fripreparerades från mussellarver för DNA-analys av glochidierna. Fisk och glochidier hölls svalt i 96 % etanol fram till DNA-analysen. Det noterades lokal, datum för fisketidpunkt, ID-nummer, fiskart,

fiskarnas längd (TL), vikt, konditionsindex (KI) och antal glochidier/fisk samt spår av glochidier. KI är beräknat enligt följande, KI=100 x vikt/längd^3

Statistiska test

Antalet glochidier på varje fiskart har testats med ett Kruskal Wallis test och korrelation mellan fisklängd/temperatur och glochidieantal har undersökts med hjälp av Spearman rank correlation test. I resultatdelen nedan är den kritiska signifikansnivån satt till 0.05 (α=0.05) och enbart statistik där $p<0,100$ har redovisats.

DNA-Analys

Studiematerial

Glochidierna (163 st.) är tagna från 21 individer tillhörande sex fiskarter (Tabell 1).

Tabell 1. Tabellen visar hur många glochidier som har analyserats från varje fiskart. Inom parentes visas antalet fisk de tagits ifrån. Tabellen visar också vilken månad glochidierna har fångats.

	Abborrre *(Perca fluviatilis)*	Gädda *(Esox lucius)*	Gärs *(Gymnocephalus cernuus)*	Lake *(Lota lota)*	Löja *(Alburnus alburnus)*	Mört *(Rutilus rutilus)*
Maj	24 (2)		7 (1)		11 (2)	23 (4)
Juni	16 (1)			3 (1)	30(4)	8 (2)
Juli	16 (1)	5 (1)	8 (1)	12 (1)		

Utförande

Glochidier och svårbedömd fisk har artbestämts med hjälp av DNA-sekvenser från olika genetiska markörer. För konfirmering av fisk användes den mitokondriella genen cytokromoxidas I (COI) och för glochidier användes den nukleära ribosomala ITS-regionen (Källersjö *et al.*, 2005). Urvalet av glochidier har gjorts med tanke på att den reproduktiva säsongen sträcker sig från maj till juli. Fiskar med många glochidier har valts ut på grund av att fiskar kan infekteras av mer än en musselart. Utförandet består av tre steg, extraktion, PCR-amplifiering (Mullis & Faloona, 1987) och sekvensering (Murray 1989).

Extraktion: För att kunna artbestämma en organism med hjälp av DNA-teknik måste man först rena fram organismens DNA. DNA hittar man i cellkärnan och mitokondrierna hos eukaryota organismer. Vid extraktion bryts cellväggen ner varefter membraner, proteiner och andra oönskade ämnen renas bort. Det färdiga extraktet innehåller rent s.k. total-DNA (både mitokondriellt- och kärn-DNA).

Extraktionen av total-DNA för detta arbete utfördes med en extraktionsrobot av fabrikat GeneMole Instruments och tillhörande kemikaliekit (Appendix 3). För glochidieanalysen har hela larven använts. För fiskanalysen har en bit av bröstfenan använts.

PCR: De genregioner som utvalts för artbestämningen amplifieras (kopieras och mångfaldigas) med hjälp av PCR (Polymerase Chain Reaction (Mullis & Faloona, 1987). PCR är DNA-replikation utförd i provrör (*in vitro*) med hjälp av temperaturändringar, DNA-polymeras-enzym och primrar (Appendix 2). Primrar är korta nukleotidkedjor som utformas att fästa på ömse sidor av den utvalda regionen

och tillsammans med polymeraset möjliggöra syntesen (markerar "start" resp "stopp").

Jag använde Illustra Hot Start RTG-PCR-kitet enligt medföljande instruktioner. Termocyklingsprogrammet som användes var: inledande denaturering 95ºC i 3 min (dubbelsträngat DNA blir enkelsträngat); följt av 40 cykler med 95ºC i 45sek (denaturering), 52ºC i 45sek (annealing, primrar fäster på målregionen), 72ºC i 45sek (extension, uppbyggnad av DNA-kopior av den önskade regionen); samt en avslutande extension med 72ºC i 8 min (alla påbörjade DNA-kopior avslutas). Resultatet från PCR-reaktionerna kontrollerades med elektrofores på agarosgel (se bild 5). Därefter renades PCR-produkterna (från oönskade restprodukter) med Exo-FAP, en mix av två enzym.

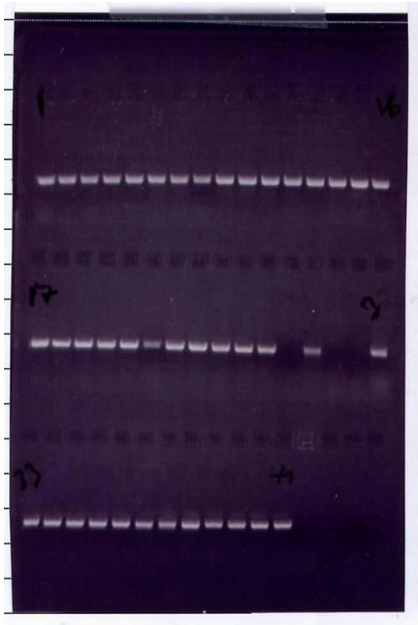


Bild 5. PCR-produkten kontrolleras på en agarosgel. Gelen belyses med UV-ljus. Produkten avtecknar sig som ett vitt band. Starka band indikerar en god produkt.

Sekvensering: I det sista steget tas de slutliga DNA-sekvenserna fram med "cycle sequencing" (Murray 1989); en PCR-baserad process, men där man bl.a. använder en speciell fluorescensfärgmärkning av nukleotiderna (DNA-byggstenarna ACGT) för att i en efterföljande elektrofores kunna "läsa" deras ordningsföljd med en laser. Denna mycket specifika elektrofores körs numera oftast på ett särskilt automatiserat sekvenseringsinstrument.

Jag använde BigDye TRR-kitet för sekvenseringsreaktionerna; dessa renades med DyeEx-kitet (ett slags filter-kolonn-rening) och överfördes till en mikrotiterplatta, varefter de kördes på MSLs sekvenseringsinstrument (ABI 3130xl).

De resulterande DNA-sekvenserna för glochidierna jämfördes med referenssekvenser från GenBank för att fastställa arttillhörighet (Appendix 3).

För DNA-analysen rekommenderas att försöka preparera fram hela glochidier för att få ut största mängd DNA ur varje prov. Det lättaste är att ta bort hela den cysta med glochidieinnehåll som bildas ytligt i fiskens gälepitel. Eftersom de primers som nyttjas vid DNA-analysen är organismspecifika gör det inget att vävnad från fisken också följer med.

Resultat

Fältarbetet

För att få en uppfattning om antalet musslor på lokalen har en mindre yta med en täthet av 4,5 ind/m^2 (blandade arter). undersökts, Förekomsten av målarmusslor är god och den dominerande arten är tjockskalig målarmussla (*U.crassus*) (Tabell 2).

Tabell 2. På en yta av 32 m^2 på Virå lokalen förekom alla målarmusselarter och en dammusselart. Förekomsten antas representativ för hela lokalen.

Svenskt namn	**Vetenskapligt namn**	**Förekomst (%)**
Tjockskalig målarmussla	*Unio crassus*	47
Spetsig målarmussla	*Unio tumidus*	38
Äkta målarmussla	*Unio pictorum*	14
Allmän dammussla	*Anodonta anatina*	1

.

Fyra ordningar är representerade bland de infångade fiskarna, abborrartade (Perciformes[1]), gäddartade (Esociformes[2]), karpartade (Cypriniformes[3]) och torskartade (Gadiformes[4]) (Tabell 3). Sex av sju fiskarter har infekterats av glochidier och en ny intressant upptäckt är att lake (*L. lota*) har infekterats av glochidier (Fig. 1).

Tabell 3. Tabellen redovisar det totala antalet fångade fiskar av respektive art och antal art per månad

Svenskt namn	**Vetenskapligt namn**	**Totalt antal**	**Maj**	**Juni**	**Juli**
Abborre[1]	*Perca fluviatilis*	5	2	1	2
Gärs[1]	*Gymnocephalus cernuus*	3	1	0	2
Gädda[2]	*Esox lucius*	2	1	0	1
Lake[4]	*Lota lota*	4	1	1	2
Löja[3]	*Alburnus alburnus*	46	22	21	3
Mört[3]	*Rutilus rutilus*	41	24	14	3
Nissöga[3]	*Cobitis taenia*	3	1	0	2

Av det fångade fiskarna i Virån (Tabell 3) hör de flesta individer till arterna löja (*A. alburnus*) och mört (*R. rutilus*) och de utgör tillsammans mer än 50 % av fångsten vid varje provfiske (Fig, 1).

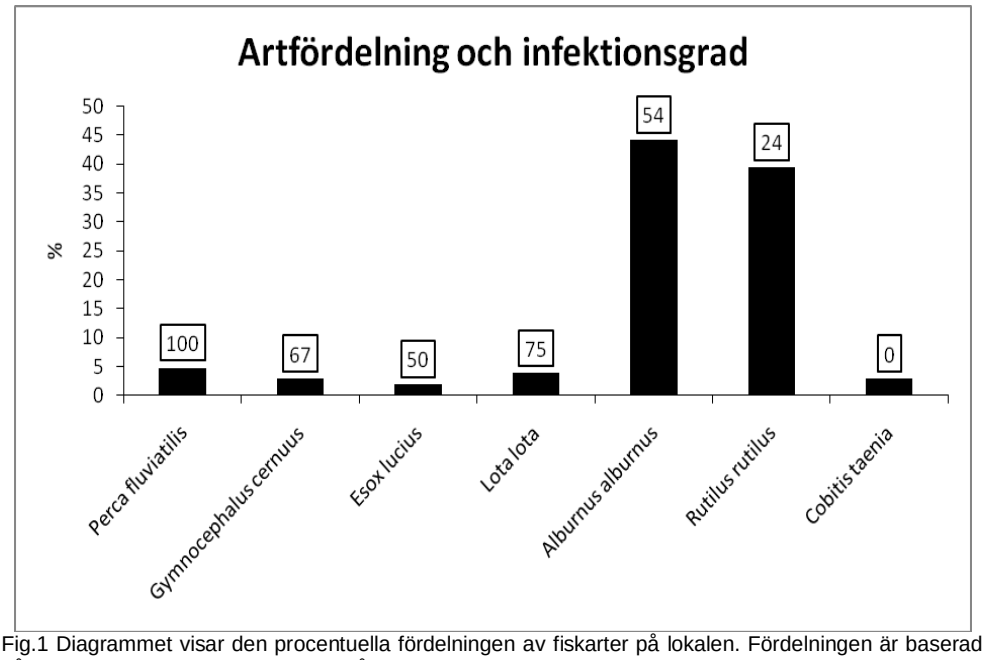


Fig.1 Diagrammet visar den procentuella fördelningen av fiskarter på lokalen. Fördelningen är baserad på alla provfisken under studien. Båda metoderna (nät och fälla) medräknade. I boxarna ovanför staplarna presenteras infektionsgraden för respektive fiskart.

Trots det relativt höga antalet musslor/m^2 så är det förhållandevis få glochidier per fiskindivid (Fig. 2). Totalt har 1 139 stycken glochidier noterats på de undersökta fiskarna vilket är en mycket låg siffra med tanke på hur många glochidier en hona kan producera. Antalet glochidier som observerades skilde sig också åt mellan fiskarterna (Kruskal Wallis, U=23.52, p=0,001) där abborre (*P. fluviatilis*) hade

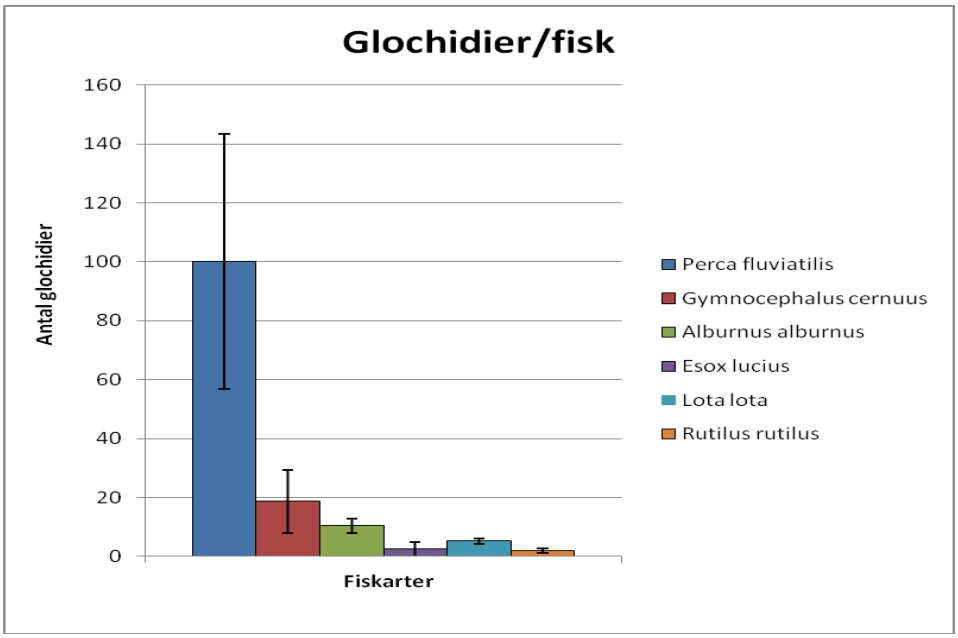


Fig. 2 Medelvärdet av glochidier/fiskart i Virån. Felstaplar visar standard fel (s.e.).

flest larver (fig 2).

Alla infångade arter förutom nissöga uppvisade glochidier men infektionsgraden hos övriga varierade mellan 24 och 100 % (fig 1). Abborren utmärker sig även här då alla infångade abborrar också var infekterade av glochidielarver (100 %). Löja (*A. alburnus*) och mört (*R. rutilus*), de vanligaste fångade arterna skilde sig också åt vad gällde infektionsgraden där över hälften av löjorna var infekterade men bara en fjärdedel av mörtarna (Fig. 1), däremot så uppvisade 54 % av mörten spår av tidigare infektioner.

För att få en uppfattning om vilka årsklasser av fisk som blir infekterade i Virån gjordes histogram baserade på frekvensen av de fångade fiskarnas längd (Fig. 3 a-f). Abborre (*P. fluviatilis*) förefaller att tillhöra tre olika årsklasser (Fig.3a) och den minsta är förmodligen en fjolårsunge. Gärs (*G. cernuus*) tillhör samma årsklass och de är förmodligen årsungar (Fig. 3b). Gädda (*E. lucius*) förefaller tillhöra två årsklasser (Fig. 3c), detsamma gäller för löja (*A. alburnus*), grupperna inom 5-8 cm och 9-15 cm antyder att två årsklasser har fångats (Fig. 3d). För mört (*R. rutilus*) visar histogrammet på två, eventuellt tre, årsklasser (Fig. 3e) och histogrammet för lake (*L. lota*) (Fig. 3f) visar att det fångades två årsklasser under sommarens provfisken.

Det finns också ett positivt samband mellan fisklängd och antal glochidier/fiskindivid för samtliga arter (Fig. 3 g-i & l), sambandet är dock bara signifikant för löja (n=46, X^2 = 5,586, df=1, p=0,018) och mört (n=41, X^2 = 5,957, df=1, p=0,015) (Fig. 3j & k).

Antalet glochidier tenderade att vara lägre vid högre temperaturer på mört (r=-0.28, p=0,071) men det fanns ingen effekt av temperaturen på antalet glochidelarver hos de övriga arterna (p > 0.1). Det fanns också ett positivt samband mellan konditionsindex (KI) hos mört och antal glochidielarver (r=0,384, p=0,013) men inte hos övriga arter (p>0.1).

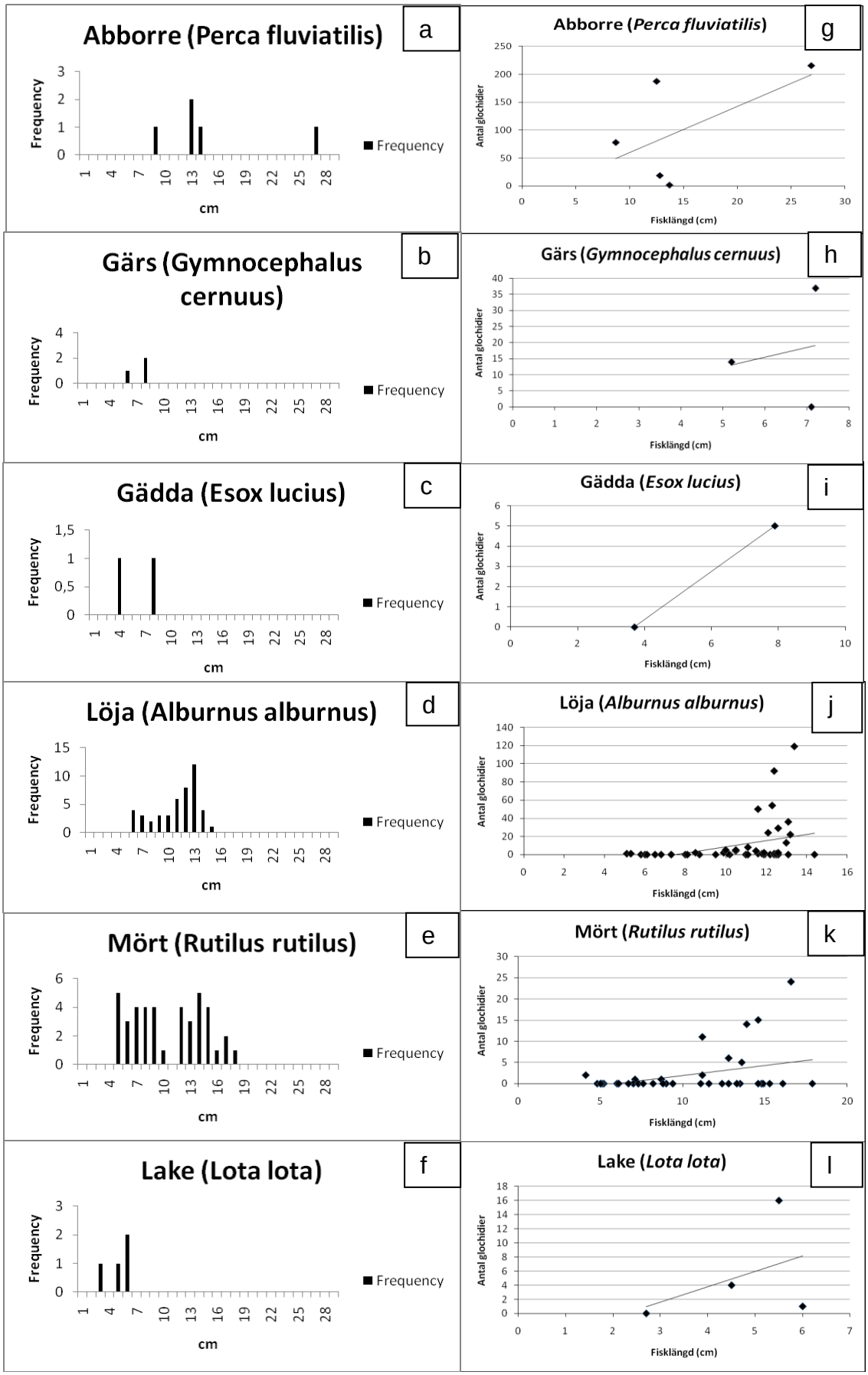


Fig. 3 Histogram för alla fiskarter presenteras i graferna a-f, förhållandet mellan antal glochidier och fisklängd presenteras i g-l.

DNA-analys

Med metodens hjälp kan jag visa på sex möjliga värdfiskar till fyra olika arter av stormusslor (Fig. 5a-f). Tjockskalig målarmussla (*U. crassus*) infekterar löja (*A. alburnus*), mört (*R. rutilus*) och lake (*L. lota*) (Fig. 5c, d & e).

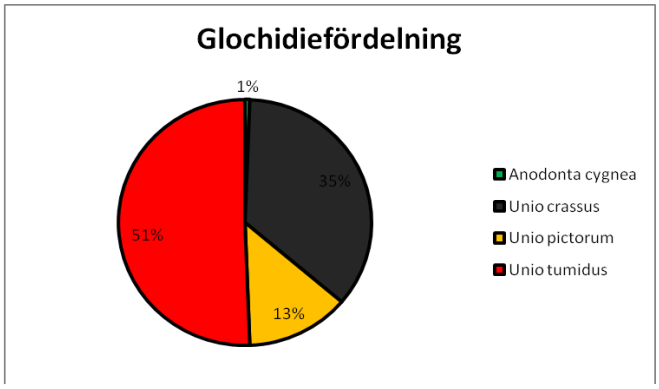


Fig. 4 Fördelningen av stormusselarter hos de analyserade glochidierna (n=163) från Virån

Alla målarmusslor har överlappande värdfiskförhållanden och de förekommer över alla de undersökta månaderna (Fig. 5a-f). Löja (*A. alburnus*) (Fig. 5d) och gädda (*E. lucius*) (Fig. 5f) är de enda fiskarter som enbart infekterats av en musselart.

Större dammussla (*A. cygnea*) (Fig. 5a) tillkom jämfört med musselinventeringen (Tabell 2). Det är ett omvänt förhållande mellan glochidieförekomst på fisk (Fig.4) jämfört med musselförekomsten på lokalen (Tabell 2). Dominerande art av glochidier på fisk är spetsig målarmussla (*U. tumidus*) följt av tjockskalig målarmussla (*U. crassus*) (Fig. 4).

Infektionsgraden på de olika fiskarterna och fördelningen av musselarter på respektive fiskart kunde på grund av ett litet stickprov inte testas statistiskt.

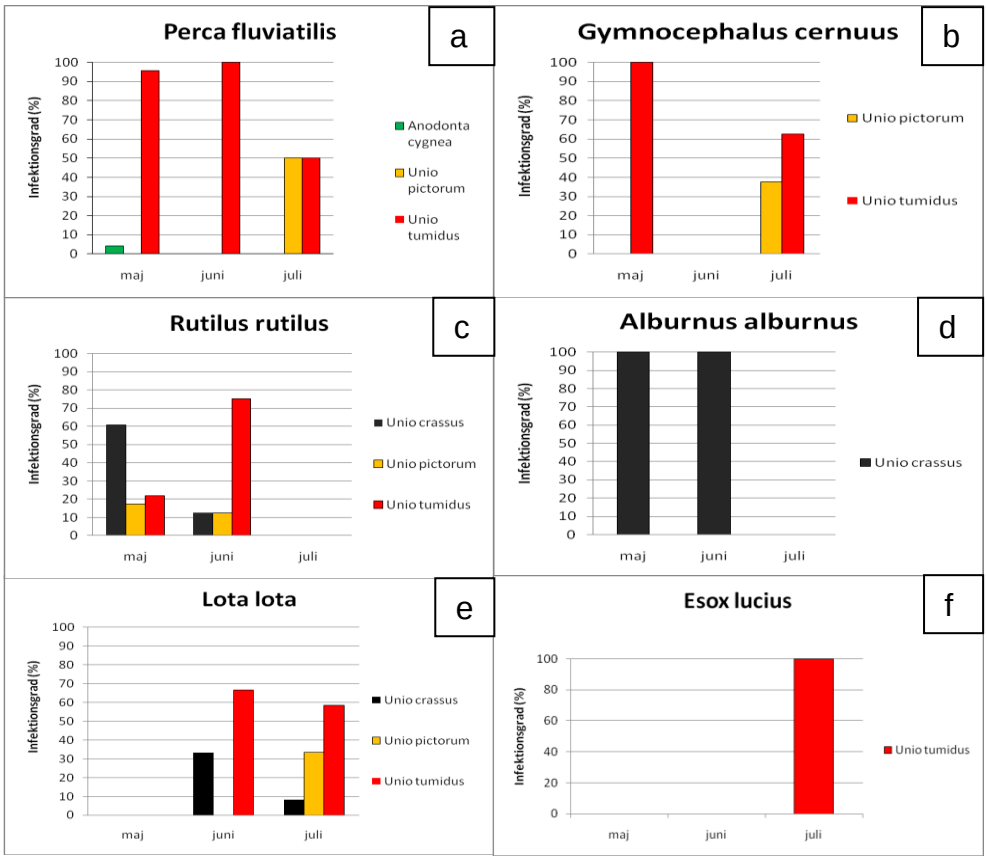


Fig. 5 a-f visar hur glochidierna fördelar sig mellan de olika fiskarterna i Virån under månaderna maj, juni och juli.

Diskussion

Studiens syfte var att försöka svara på vilka möjliga värdfiskar som utnyttjas av de olika musselarterna i Virån. Med utgångspunkt från resultaten kan tjockskalig målarmussla kopplas till arterna löja, mört och lake. Spetsig målarmussla utnyttjar abborre, gärs, mört, lake och gädda och äkta målarmussla parasiterar abborre, gärs, mört och lake. Den större dammusslan har endast noterats på abborre men det beror förmodligen på att dammusslor släpper sina glochidier tidigare på säsongen (Panini, 2009) och att de därför är underrepresenterade i proven.

Vid en jämförelse av resultaten i denna undersökning med tyska värdfiskstudier är det framförallt skillnaderna i möjliga värdfiskarter till den tjockskaliga målarmusslan som utmärker sig. Varken löja, mört eller lake har tidigare varit med i diskussionen som möjliga värdfiskar till den tjockskaliga målarmusslan (Hochwald, 1997; Nagel, 2002). Det kan vara så att de fiskarterna inte är lika vanligt förekommande i de Tyska vattendragen som undersökts, jämfört med Virån. Det kan också bero på att i de tyska studierna har främst underarten *U. crassus cytherea* studerats (Hochwald, 1997) och dessutom har *in vivo*-teknik tillämpats, dvs. infektionsgraden hos glochidierna har testas på fångad fisk i ett akvarium. Föreliggande studie har gjorts *in situ*, dvs. infekterad fisk har fångats i musslornas naturliga habitat. Fördelen med den tyska metoden är att det är lättare att påvisa vilka fiskarter som bär glochidierna under hela utvecklingsfasen. Nackdelen är en osäkerhet i om resultaten är ekologiskt relevanta, dvs. att man vet inte hur det ser ut i verkligheten. Fördelen med den metod som tillämpats i Viråstudien är att den ger en bra bild över hur glochidieinfektionen faktiskt ser ut i ett vattendrag. Nackdelen är att man inte vet om hela utvecklingen från glochidie till juvenil mussla förekommer på respektive fiskart. Därför bör metoden kompletteras med akvarieförsök samt upprepade försök i fält under olika tider på säsongen.

Jag tycker det saknas studier som förklarar fiskens roll vid infektionen, hittills har det bara konstaterats att fisken blir infekterad. Det är fullt möjligt att fisken blir infekterad av en ren slump men för mig låter det inte särskilt sannolikt. Det jag kan visa är att större fisk kan hålla ett större antal glochidier/fisk, åtminstone vad gäller löja och mört men trenden är genomgående för alla de övriga infekterade fiskarterna i studien. Detta skiljer sig gentemot tidigare studier (Bauer, 1987; Hastie & Young, 2001) där resultaten främst rört flodpärlmusslans värdfiskar, öring och lax. Här skiljer sig frisläppningsperioden mellan målarmusslorna och flodpärlmusslorna (Bauer och Wächtler, 2001), vilket innebär för målarmusslorna som har en tidigare frisläppning att antalet fiskar i årsklass 0+ vid själva frisläppningsperioden är mycket lågt. Det finns förmodligen flera hypoteser som kan förklara detta och exempel på det kan vara, beteendeskillnader mellan åldersklasser hos värdfiskarter, intraspecifik konkurrens om en födoresurs (glochidier), fiskens habitatpreferenser kopplat till musselförekomst. Jag kan inte se att fiskens kondition påverkar antalet glochider/fisk på någon art förutom hos mört där det finns ett positivt förhållande mellan hög konditionsfaktor och högt antal glochidier/fisk.

Mörten är en intressant fisk i sammanhanget eftersom arten är den enda som uppvisar spår av tidigare infektioner. Dessa tidigare infektioner kan hypotetiskt öka

mörtens immunförsvar (Bauer & Vogel, 1987) och det kan vara en förklaring till varför mörten har en något lägre infektionsgrad och värre glochidier/infektionstillfälle vid en högre vattentemperatur (Fältarbetstiden). Förmodligen är det en dammusselart som orsakat spåren, dammusslor släpper sina glochidier tidigare på säsongen än målarmusslorna. Att individer med högt KI (konditionsindex) har fler glochidier per infektion än artfränder med lägre KI är lite svårtolkat men det kan tolkas som att det förekommer någon form av konkurrens inom arten. En annan hypotes är att musslorna kan välja vilken fisk de skall infektera.

Gärs, lake, nissöga är bottenlevande arter och de har alla, förutom nissögat, en relativt hög infektionsgrad (Fig. 1). Dock har ingen av dessa fiskarter infekterats av speciellt många glochidier per individ (Fig.2), utan det verkar vara andra faktorer än fiskens habitatval som påverkar antalet glochidier per infektion. Här kan man tänka sig att flera faktorer spelar in, hur fisken födosöker och hur fisken uppehåller sig i habitatet i förhållande till den gravida musslan, honmusslans presentation av glochidierna (conglutinatet), diffusionshastighet av conglutinatet. Under sommarens fältarbete har jag vid flera tillfällen observerat hur musslor har legat uppe på bottnen med skalhalvorna öppna och exponerat glochidiefyllda marsupier, detta beteende beskrivs också i Bauer och Wächtler (2001). De mogna glochidierna i marsupierna lyser med en gul färg som syns väldigt tydligt trots att vattnet är färgat av humusämnen. Detta beteende är förmodligen ett sätt för musslan att locka till sig fisk med.

Tanken med arbetet är att det ska kunna tillämpas i det befintliga bevarandearbetet med arten. Än så länge är det arbetet främst inriktat på kartering och övervakning av arten men i framtiden kommer förhoppningsvis dessa och liknande resultat från andra vattendrag att användas i beståndsförstärkande åtgärder liknande de man gör i Tyskland (Henker *et al*., 2003). För att den typen av arbete skall vara möjligt och effektivt måste varje tilltänkt vattendrag undersökas med avseende på värdfiskar. Med tanke på hur viktig fisken är för musslornas spridning inom ett vattensystem är det bra att veta vilka fiskarter som är aktuella i systemet eftersom dessa har olika habitatpreferenser, olika migrationsbeteende etc, vilket påverkar musslornas chans till nyrekrytering i ett vattendrag. Metoden kan med fördel användas för att upptäcka nya musselförekomster i samband med nätprovfisken eller el-fisken. Med metoden får man en god uppfattning om vilka fiskar som är möjliga värdfiskar i det undersökta vattendraget och hypoteser kan antingen antas eller förkastas.

I ett vattendagssystem med flera olika arter av stormusslor är det viktigt att värna vattendragens ursprungliga fiskfauna. Det betyder att man som fiskerättsinnehavare inte skall introducera nya arter till ett vattensystem, eftersom de kan fördärva rådande ekologi i vattendraget. Det innebär också att fiskevårdande aktörer bör arbeta för att fler arter uppmärksammas inom fiskevården, dvs. att fokus inte enbart ligger på de rödlistade och sportfiskeintressanta arterna utan även på de ”vanliga” arterna löja och mört.

Förslag till ytterligare studier

Studien har gett mer frågor än svar gällande sambandet mellan musslor och fisk och nedanstående frågor kan endast besvaras med ytterligare studier.

- Är det fungerande värdfiskar som studien redovisar?
- Hur ser det ut i andra vattendrag, med avseende på värdfiskförhållanden?
- Glochidier av målarmusslor har förekommit från maj-juli, hur lång är säsongen i Sverige?
- Varför förekommer det inte glochidier av andra musselarter på löja och gädda?
- Varför har större fisk fler glochidier/individ än mindre fisk?
- Är glochidier en födoresurs att konkurrera om?
- Hur snabbt diffunderar glochidierna ut i vattenmassan?
- Leder det överlappande värdfiskförhållanden till konkurrens mellan musselarterna över resursen värdfisk och hur yttrar sig det?

Slutsatser

Studien innebär att ny kunskap erhållits om stormusslornas värdfiskspektrum, baserad på svenska förhållanden. Löja, mört och lake är viktiga möjliga värdfiskar till den tjockskaliga målarmusslan i Virån, Kalmar län. Abborre, gärs, gädda och mört är dessutom viktiga möjliga värdfiskar till både äkta- och spetsig målarmussla i Virån. Studien visar också att det är viktigt att samla in data från Svenska vattendrag eftersom det uppenbarligen förekommer internationella värdfisk-skillnader mellan populationer av tjockskalig målarmussla. Antalet glochidier ökar med ökad längd för arterna mört och löja.

Stort Tack till:

Riksmusei vänner, Ragne Bogholt och Rune- Nilsson (provfiske), Pia Eldenäs och Stefan Lundberg (handledning), Johan Höjesjö (handledning), Lennart Johansson (handledning), Ted von Proschwitz (litteratur), Fredrik Palm (material), Bodil Cronholm (laborations hjälp), Jari Parkkonen (etanol), Daniel Melin (nettingfällor), Fiskerättsinnehavarna och markägare, Lars Karlsson, Lars Ekström, Anders Johansson och Sven-Erik Carlsson (fisketillstånd). Familjen.

Referenser

Aldridge, D & McIvor, A.L. 2002. Gill evacuation and release of glochidia by *Unio pictorum* and *Unio tumidus* (Bivalvia : Unionidae) under thermal and hypoxic stress. J. Moll. Stud. 69:55-59

Arey, L.B. 1932. The formation and structure of the glochidial cyst. Biol. Bull (1932), 62: 212-221

Bauer, G. 1987. The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.)II. Susceptibility of brown trout. Archiv für Hydrobiologie Supplementband 76:403-412

Bauer, G & Vogel, C. 1987. The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (*Margaritifer margaritifera* L.)I. Host response to glochidiosis. Archiv für Hydrobiologie Supplementband 76:393-402

Bauer, G & Wächtler, K. 2001. Ecology and evolution of the freshwater mussels unionoida. Springer-Verlag, Berlin

Bednarczuk, J. 1986. Untersuchungen zu wirtsfischspektrum und entwicklung der Bachmuschel Unio crassus. Inaugural-dissertation zur erlangung des grades eines doctor medicinae veterinariae durch die Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.

Bergengren, J. 2008. Inventering av stormusselfaunan i Svartån, Egebylund, Mjölby, Östergötland. Kompletterande utredning inför byggandet av ny järnvägsbro över Svartån sträckan Mjölby-Hallsberg. Ekologigruppen AB

Bergengren, J., Lundberg, S. 2009. Nationell musselövervakning – Förslag till val av nationella musselvatten. Avrapportering enligt avtal 216 0832. PM 2009:1. Länsstyrelsen, Jönköping

Degerman, E., Alexanderson, S., Bergengren, J., Henriksson, l., Johansson, B-E., Larsen, B.M. & Söderberg, H. 2009. Restaurering av flodpärlmusselvatten. Världsnaturfonden WWF, Solna

Dodd, B.J., Barnhart, M.C., Rogers-Lowery, C.L., Fobian, T.B & Dimock, R.V. 2005. Cross-resistance of largemouth bass to glochidia of unionoid mussels. Journal of parasitology 91:1064-1072

Dunca, E. 2006. Flodpärlmusslor. En skalanalys av fem flodpärlmusslor från Lärjeån i Göteborg. *Göteborgs Stads miljöförvaltning. Rapport 2006: 12*. 20 sid.

Dunca, E. 1999. Bivalve shells as environmental archives. Introduction. – (48 pp.). In: Dunca, E.: Bivalve shells as environmental archives. – (PhD Thesis. Department of Earth Sciences. Historical Geology and Palaeontology. Uppsala University). 168 pp. Uppsala.

Engel, H & Wächtler, K. 1989. Some perculiarities in developmental biology of two forms of the freshwater bivalve *Unio crassus* in Northern Germany. Archiv für Hydrobiologie 115 (3): 441-450

Fiskeriverket. Elfiskeregistret [http://www.fiskeriverket.se]. Hämtningsdatum 2009-05-07.

Von Gelei, J.1933. Über die Sprtztätigkeit der Malermuschel. Natur und museum 63 (8): 283-288

Grahn, J. 1991. Artbestämningsguide svenska karpfiskar. Sportfiske

Gustavsson, A. 2007. Föryngring hos stormusslor i olika vattensystem i Västra Götalands län 2007. Länsstyrelsen Västra Götalands län, rapport 2007:88

Gärdenfors, U. (ed.) 2005. Rödlistade arter i Sverige 2005 – The 2005 Red List of Swedish Species. ArtDatabanken SLU, Uppsala.

Hastie, L.C & Young, M.R. 2001. Freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera*) glochidiosis in wild and farmed salmonid stocks in Scotland. Hydrobiologigia 445:109-119

Henker, A., Hochwald, S., Ansteeg, O., Audorff, V., Babl, A., Krieger, B., Krödel, B., Potrykos, W., Schlumprecht, H. & Strätz, C. 2003. Zielorientierte Regeneration zweier Muschelbäche in Oberfranken. Angewandte Landschaftsökologie 56. Bundesamt füraturschutz

Henrikson, L. 1996. The freshwater pearl mussel *Margaritifera margaritifera* (L.) (Bivalvia) in southern Sweden - effects of acidification and liming. – (12 pp.). In: Henrikson, L.: Acidification and Liming of Freshwater Ecosystems – Examples of Biotic Responses and Mechanisms. (PhD Thesis, Zoologiska Institutionen, Göteborgs Universitet). 78 pp.

Hochwald, S. 1997. Populationsökologie der Bachmuschel (*Unio crassus*). (zugl. Diss., Univ. Bayreuth). – Bayreuther Forum Ökologie

Hochwald, S., Bauer, G. 1988. Gutachten zur Bestandssituation und zum Schutz der Bachmuschel *Unio crassus* (Phil.) in Nordbayern. *Fischer & Tiechwirt 12*: 366-371.

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

Holm, B. 1999. Naturvärdesbedömning av sjöar och vattendrag 1999 del.4: Sjöar och vattendrag i Viråns avrinningsområde. Miljö och byggnadskontoret, Hultsfreds kommun.

Jansen, W., Bauer, G. & Zahner-Meike, E. 2001. Glochidial mortality in freshwater mussels. I Bauer & Wächtlers, Ecology and evolution of the freshwater mussel unionoida. pp 185-211

Kalmar länsstyrelse. [http://www.lst.se/NR/rdonlyres/88C985DF-00A8-46C4-8B30-9B2C24EBC7AC/85803/73_Viran.pdf]. Hämtningsdatum 2009-05-08.

Koli, L.1990. Suomen kalat. [Fishes of Finland] Werner Söderström Osakeyhtiö. Helsinki. 357 p.

Kortet, R., Vainikka, A., Rantala, M & Taskinen, J. 2004. Sperm quality, secondary sexual characters and parasitism in roach (*Rutilus rutilus* L.). Biological Journal of the Lennean Society 81:111-117

Kottelat, M. & Freyhof, J. 2007 Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol, Switzerland. 646 p.

Kraemer, L.R. 1970.The mantle flap in three species of *Lampsilis* (Pelecypoda: Unonidae)- Malacologia 10:225-282

Källersjö, M., von Proschwitz, T., Erséus, C., Lundberg, S. & Eldenäs, P. 2005. Evaluation of ITS rDNA as a complement to mitochondrial gene sequences for phylogenetic studies in freshwater mussels: an example using Unionidae from north-western Europe. Zoologica Scripta 34 (4): 415-424.

Köhler, R. 2006. Observations on impaired vitality of *Unio crassus* (Bivalvia: Najadae) populations in cinjunction with elevated nitrate concentration in running water. Acta hydrochim. hydrobiol 34:346-348

Lang, K. 1998. Die Bachmuschel *Unio crassus* (Philipsson, 1788) im Niederbach: Bestandssituation, Fortpflanzungsbiologie und Wanderverhalten. Diplomarbeit, Lehrstuhl für Ökologie, Morphologie und Evolutionsbiologie, Universität Freiburg

Lundberg, S. & Bergengren, J. 2008. Miljöövervakningsstrategi för stormusslor. Utveckling av nationell miljöövervakning för sötvattenslevande stormusslor 2008. PM från Naturhistoriska riksmuseet. 2008:1. Naturhistoriska riksmuseets småskriftserie.

Lundberg, S., Bergengren, J. & von Proschwitz, T. 2006. Åtgärdsprogram för bevarande av tjockskalig målarmussla (*Unio crassus*). – *Naturvårdsverket. Rapport 5658*. 43 sid.

Lundberg, S. & Delling, B. 2004. Inventering av Nissöga (Cobitis taenia) i Edsviken, Stockholms län, 2004. Basinventering inom Edsvikensamarbetet och Natura 2000. PM från Forskningsavdelningen, Naturhistoriska riksmuseet. 2004:1. Naturhistoriska riksmuseets småskriftserie.

Lundberg, S., Pettersson, U., Tapper, J. 2008. Inventering av stormusslor i Svennevadsån-Skogaån, Örebro län, 2007-2008: Miljöövervakning och utredning av åtgärdsbehov. PM från Naturhistoriska riksmuseet. 2008:2. Naturhistoriska riksmuseets småskriftserie

Länsstyrelsen. Hämtat från [http://www.lst.se/NR/rdonlyres/BE239659-028A-48C9-8AD4-361D67FCDE9B/69862/BAplan_inkl_karta_EMAH004.pdf]. Hämtningsdatum 2009-05-07.

Mackie, G.L. 1984. Bivalves. In: Wilbuer KM (Editor in chief). The Mollusca, vol 7. Reproduction. Academic Press, London, pp 351-418

Mullis, K.B. & Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction. Methods of Enzymology 155: 335-350.

Murray, V. 1989. Improved double-stranded DNA sequencing using the linear polymerase chain reaction. Nucleic Acids Research 17: 8889.

Nagel, K.O. 1991. Gefährdete Flussmuscheln in Hessen. 1. Wachstum. Reproduktionbiologie und schutz der Bachmuschel (Bivalvia:Unionidae:*Unio crassus*). Zeitschrift für angewandte Zoologie 78:205-218

Nagel, K.O. 2002. Muschel, Mench und Landschaft. Zusammenhänge zwischen Landnutzung und Bestandsentwicklung bei Flussmuscheln. Na-turschutz und Landschaftsplanung. – Z. angew. Ökol. 34(9):261-269.

Nagel, K.O & Castagnolo, L. 1991. Fish hosts for the glochidium of Unio mancus. Rivista di idrobiologia 1991, 30: 238-346

Panini, E., Sicuro, B., Dapra, F & Forneris, G. 2009. Preliminary considerations for freshwater mussel reproduction and possible application for extensive rearing in Italy. Journal of conchology 2009, 39 (6): 709-716

Pekkarinen, M., Englund, V.P.M. 1995. Sizes of intramarsupial unionacean glochidia in Finland. Arch.Hydrobiol 1995,134:379-391

Pekkarinen, M & Hasten, C. 1998.Success of metamorphosis of the lake mussel (Anodonta anatina) glochidia in different hosts and in vitro In E.L. Punnonen & E. Heiknheimo (ed) proceedings on the 50th annual meeting of Scandinavian society for electron microscopy 115-116 Espoo, Sweden

Pe´rez-Quintero, J.C. 2007. Diversity, habitat use and conservation of freshwater molluscs in the lower Guadiana River basin (SW IberianPeninsula). Aquatic Conser*v*: Mar. Freshw. Ecosyst. 17: 485–501 (2007)

Pethon, P & Svedberg, U. 2004. Fiskar. Prisma, Stockholm
ISBN 91-518-4389-7

Söderberg, H., Norgrann, O., Törnblom, J., Andersson, K., Henrikson, L & Degerman, E. 2008. Vilka faktorer ger svaga bestånd av flodpärlmussla? – En studie av 111 vattendrag i Västernorrland. Länsstyrelsen i Västernorrland, rapport 2008:8. Kultur och naturavdelningen, Härnösand.

Vasek, M & Kubecka, J. 2004. *In situ* diel patterns of zooplankton consumption by subadult/adult roach *Rutilus rutilus*, bream *Abramis brama* and bleak *Alburnus alburnus*. Folia Zool. 53(2): 203-214

von Proschwitz, T. 1999a. De nordeuropeiske arterne av malermusling (*Unio*) og vandrermusling (*Dreissena*), samt en bestemmelsetabell for de limniske stormuslingarterne i Norden. – *Fauna 52(1):* 92-95.

von Proschwitz, T. 1999b. ArtDatabanken 2001-02-19. Faktablad: *Unio crassus* – tjockskalig målarmussla. – ArtDatabanken, SLU 2001.

Von Proschwitz, T. 2008. Faunistical news from the Göteborg Natural History Museum 2007 – snails, slugs and mussels – with some notes on *Vertigo ultimathule* von

Proschwitz – a landsnail species from northernmost Sweden new to science. – Göteborgs Naturhistoriska Museum Årstryck 2007:51-72

von Proschwitz, T. 2001. Svenska sötvattensmollusker (snäckor och musslor) - en uppdaterad checklista med vetenskapliga och svenska namn. World Wide Web elektronisk publikation; Naturhistoriska riksmuseet. [http://www.nrm.se/sv/meny/faktaomnaturen/djur/ryggradslosadjur/snackorochmusslor/svenskasotvattensmusslor/svenskasotvattensmolluskerenchecklistamedvetenskapliganamn/systematisklistamusslor.8073.html]. Hämtningsdatum 2009-05-04.

von Proschwitz, T., Lundberg, S., Bergengren, J. 2006. Guide till Sveriges stormusslor. Länsstyrelsen i Jönköpings län, Naturhistoriska museet och Göteborgs Naturhistoriska museum.

Saarinen, M., Taskinen, J. 2003. Burrowing and crawling behaviour of three species of unionidae in Finland. J. Moll. Stud. 69: 81-866

Silverin, B. 2002. Zoologisk morfologi – systematik och fylogeni. Studentlitteratur, Lund.

Strayer, D.L. 1999. Use of flow refuges by unionid mussels in rivers. Journal of the North American Benthological Society 18(4): 468-476

Strayer, D.L. 2008. Freshwater mussel ecology – A multifactor approach to distribution and abundance. Freshwater ecology series; vol.1. University of California press, Berkley. ISBN 978 0 520 25526 5

Timm, H & Mutvei, H. 1993. Shell growth of the freshwater unionid *Unio crassus* from Estonian rivers. Proc. Estonian Acad. Sci. Biol, 42, 1:55-67

Trübsbach, J. 1998. Fortpflanzungsbiologie und mortalität der Gemeinen Techmumuschel *Anodonta anatina* (Linneaus 1758). MS Thesis, University Freiburg, 58 pp

Van der Schalie, H. 1970. Mussels in the Huron River above Ann Arbor in 1969. Sterkiana 39:17-22

Vaughn, C.C., Nichols, S. J., Spooner, D.E. 2008. Community and foodweb ecology of freshwater mussels
Journal of the North American Benthological Society 27: 409-423

Vicentini, H. 2005. Unusual spurting behavior of the freshwater mussel *Unio crassus*. Journal of Molluscan studies 2005, 71:409-410

Ward, R.D., Zemlak, T.S. Innes, B.H., Last, P.R. & Hebert, P.D.N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, 360: 1847-1857.

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

Österling, M. 2006. Ecology of freshwater mussels in disturbed environments. – (PhD Thesis). Karlstad University, Faculty of Social and Life Sciences, Biology. Karlstad University Studies, 2006:53. 31 pp. + 10 pp. + 16 pp. + 12 pp. + 15 pp. + 18 pp.

Österling, M, Greenberg, Larry A & Arvidsson , Björn L.. 2008. Relationship of biotic and abiotic factors to recruitment patterns in Margaritifera margaritifera. Biologicalconservation 141 (2008) 1365-1370

Appendix 1. Musslor

Småmusslor och stormusslor

Musslor (Bivalvia) tillhör den monofyletiska djurgruppen blötdjur (Mollusca) (Bauer & Wächtler, 2001). I Sverige finns det minst 35 olika arter av sötvattenlevande musslor (von Proschwitz 2001; Lundberg & Bergengren, 2008). De delas upp i två formgrupper, småmusslor (1 – 12 mm) och stormusslor (större än 12 mm) där längdmåtten utgår från vuxna exemplar. Systematiskt delas småmusslor och stormusslor in i två skilda ordningar, Veneroida och Unionoida. Vandrarmusslan (*Dreissena polymorpha*) (Pallas, 1771) tillhör storleksmässigt gruppen stormusslor men utgör ett undantag då den systematiskt tillhör ordningen Veneroida (Tabell 4).

Tabell 4. Systematisk tabell över de svenska sötvattenmusslorna (von Proschwitz, 2001).

	Småmusslor	**Stormusslor**	**Stormusslor**	**Stormusslor**
Stam	Mollusca		Mollusca	
Klass	Bivalvia		Bivalvia	
Underklass	Eulamellibranchia		Eulamellibranchia	
Överordning	Heterodonta		Palaeoheterodonta	
Ordning	Veneroida		Unionoida	
Överfamilj	Sphaerioidea	Dreissenoidea	Unionoidea	
Familj	Sphaeriidae	Dreissenidae	Margaritiferidae	Unionidae
Underfamilj	Sphaeriinae			Unioninae Anodontinae
Släkte	*Sphaerium* *Musculium* *Pisidium*	*Dreissena*	*Margaritifera*	*Unio* *Anodonta* *Pseudanodonta* *Sinanodonta*
Art		*Dreissena polymorpha*	*Margaritifera margaritefera*	*Unio crassus* *Unio pictorum* *Unio tumidus* *Anodonta anatina* *Anodonta cygnea* *Pseudanodonta complanata* *Sinanodonta woodiana*

Av de i Sverige förekommande arterna av sötvattenlevande musslor tillhör de flesta formgruppen småmusslor. Alla arter bland småmusslorna ingår i familjen ärt- och klotmusslor, Sphaeriidae. Arterna inom denna familj är mycket små (2-12 mm) och svåra att både finna och artbestämma (von Proschwitz *et al*., 2006).

Den andra formgruppen, stormusslor, innehåller två invandrade arter och sju inhemska arter. De invandrande arterna är vandrarmussla (*D. polymorpha*) och kinesisk dammussla [*Sinanodonta woodiana* (Lea, 1834)]. Vandrarmusslan har förmodligen kommit till Sverige med hjälp av sjöfarten. Den upptäcktes så tidigt som 1920 i Mälaren (von Proschwitz *et al*., 2006). Den kinesiska dammusslan sprids troligen via importerade och glochidieinfekterade karpfiskar (Lundberg & Bergengren, 2008). Än så länge har man i Sverige bara hittat skal från döda

individer av kinesisk dammussla (von Proschwitz, 2008). I Sverige förekommer nio arter av stormmusslor och sju av dessa är inhemska. De sju arterna är uppdelade på två familjer och fyra släkten (Tabell 4). I familjen Unionidae finns i Sverige sex inhemska arter, uppdelade på tre släkten *Unio, Anodonta* och *Pseudanodonta*. De tillhörande sex arterna är tjockskalig målarmussla [*Unio crassus* (Philipsson, 1788)], äkta målarmussla [*Unio pictorum* (Linnaeus, 1758)] och spetsig målarmussla [*Unio tumidus* (Philipsson, 1788)], allmän dammussla [*Anadonata anatina* (Linnaeus, 1758)], stor dammussla [*Anadonta cygnea* (Linnaeus, 1758)] och flat dammussla [*Pseudanodonta complanata* (Rossmässler, 1835)]. Inom familjen Margaritiferidae återfinns en art i Sverige, flodpärlmussla [*Margaritifera margaritifera* (Linnaeus, 1758)].

Stormusslor är bottenlevande djur som gräver ner sig och fäster sig med sin framände i bottensubstratet med hjälp av en kraftig och tungformad muskel, även kallad ”fot”. Denna används till att gräva ned sig i substratet och till förflyttning (Saarinen & Taskinen, 2002). Fotens storlek och form kan ändras genom att den fylls eller töms på hemolymfa (musslans blod) (Silverin, 2002). Stormusslor kan förekomma i både sjöar och vattendrag även om vissa arter anses vara strikt strömvattenkrävande. Strömvattenkrävande arter som hittas i sjöar, påträffas uteslutande i strömutsatta delar, nära inlopp och utlopp till sjöar.
Stormusslor är bottenlevande djur som fäster sig med sin framände i bottensubstratet med hjälp av en kraftig och tungformad muskel, även kallad ”fot”. Denna används till att gräva ned sig i substratet och till förflyttning (Saarinen & Taskinen, 2002). Fotens storlek och form kan ändras genom att den fylls eller töms på hemolymfa (musslans blod) (Silverin, 2002). Stormusslor kan förekomma i både sjöar och vattendrag även om vissa arter, t.ex. tjockskalig målarmussla, anses vara strikt strömvattenkrävande. Då dessa sällsynt påträffas även i sjöar, är det uteslutande i strömutsatta delar, i direkt anslutning till sjöns in- eller utlopp.

En strömvattenlevande art har oftast ett tjockare skal än en artfrände som lever i en sjö. Det tjockare skalet fungerar som barlast och hjälper till att hålla djuret kvar på bottnen under högvattenperioderna vår och höst. Kunskapsnivån är låg kring vilka habitatpreferenser musslor har för exempelvis bottensubstratets storlek, vattendjup och strömhastighet. De gånger tester har utförts har resultaten inte varit övertygande (Strayer, 1999). En alternativ hypotes till de enskilda faktorerna, är att musslor föredrar bottnar som är stabila under högvattenperioder och vattenhållande under torrperioder (Strayer, 1999). De data som hittills samlats in kring den tjockskaliga målarmusslans habitat i Sverige visar att djuren kan påträffas i flera olika typer av bottensubstrat, från näringsrika lerbottnar till rena stenbottnar.

Skalets utseende (färg och form) och dess låsapparat utgör karaktärer som används för artbestämning. Till sin hjälp använder man lämpligen ”Bestämningstabellen för nordiska arter av sötvattenlevande stormusslor” (von Proschwitz, 1999a). Observera att låsapparaten bara kan studeras på döda exemplar. En interaktiv identifieringsnyckel finns även på Internet; www.nrm.se/sotvattensmusslor. Vid NRM’s molekylärsystematiska laboratorium har det genom forskning på kärn-DNA (ITS rDNA) från stormusslor framställts en DNA-profil (fingeravtryck) för artidentifiering av alla svenska stormusselarter (Källersjö *et al.* 2005). Metoden är också tillämplig för artbestämning av musslornas glochidielarver.

Alla målarmusslor (släktet *Unio*), samt flodpärlmusslan (*M. margaritifera*), är utrustade med låständer i skalet, till skillnad från dammusslorna (släktena *Anodonta/Pseudanodonta*) som saknar dessa. Skallängden hos tjockskalig målarmussla (*U. crassus*) varierar mellan 4 – 7 cm, men kan i undantagsfall bli upp till 10 cm långt. Skalet är som namnet antyder mycket tjockt och ofta mindre än dubbelt så långt som det är högt. Det är mycket variabelt både till färg och till form. Färgen går från mörkt grön – brun – svart, men blir ofta mörkare på äldre individer. Skalformen är elliptisk till svagt oval. Fram- och bakänden har ungefär samma rundade form och bakänden är svagt nedåtböjd (von Proschwitz, 1999b). Tjockskalig målarmussla kan även förväxlas med flodpärlmusslan. Det som skiljer arterna åt är omkretsen på skalet, som är mycket större hos den tjockskaliga målarmusslan, jämfört med flodpärlmusslan. Äldre individer kan även förväxlas med spetsig målarmussla (Lundberg *et al*., 2006). Döda exemplar av stormusslor kan vara lättare att artbestämma då man även får tillgång till artspecifika karaktärer hos låsapparaten. Denna korroderar dock snabbt i ett rinnande vatten, vilket gör att även döda individer blir svåra att artidentifiera. Låsapparaten hos den tjockskaliga målarmusslan har både huvudtänder och sidotänder. Huvudtänderna är kraftiga och kilformade, de vänstra sidotänderna är separerade från varandra och ligger på en linje.

Den tjockskaliga målarmusslan är, likt de övriga svenska stormusselarterna, en filtrerande omnivor som förmodligen äter bakterier, alger, detritus, zooplankton och eventuellt upplöst organiskt material (Vaughn *et al*., 2008). Vilka födokomponenter musslor äter och vilka ämnen som assimileras är dåligt kända (Strayer, 2008). Musslan tar sin näring via det vatten som tas in genom inströmningsöppningen i musslans bakände. Musslans gälar har flera funktioner och används dels till att syresätta hemolymfan, ta upp näring från inkommande vatten och som yngelkammare (Hochwald, 1997). Tillväxthastigheten hos stormusslor varierar mellan arterna och vissa arter lever väldigt länge. Den äldsta flodpärlmussla som påträffats var 280 år. Maximala åldern i flodsystem i Estland varierar mellan 19 och 90 år för tjockskalig målarmussla (Timm & Mutvei, 1993).

Göteborgs naturhistoriska museum (GNM) och Naturhistoriska riksmuseet (NRM) har sedan början av 1990-talet karterat limniska stormusslor utifrån de samlingar som finns i Stockholm, Göteborg, Lund och Uppsala. Sedan slutet av 1990-talet har även åtskilliga inventeringar genomförts i museernas regi. Dessa nya fynd och kollekt från nationella inventeringar har väsentligt ökat kunskapen om förekomster av stormusslor i Sverige. Svenskt naturvårdsarbete gällande sötvattnens stormusslor har bara börjat och ett nationellt miljöövervakningsprogram (Bergengren & Lundberg, 2009) med fokus på stormusslor håller på att ta form. Det kan hävdas att musselbestånd med en fungerande nyrekrytering är en bra indikator på ett vatten av god status enligt EU's vattendirektiv (Lundberg & Bergengren, 2008; Nagel 2002).

Fyra arter av småmusslor och tre arter av stormusslor är med på den nationella rödlistan från 2005; lappländsk ärtmussla (*Pisidium hinzi*) (VU), *Pisidium subtilestriatum* (DD), trekantig ärtmussla (*Pisidium supinum*) (DD), dvärgärtmussla *(Pisidium tenuilineatum)* (DD), tjockskalig målarmussla (EN), flat dammussla (NT) och flodpärlmussla (VU) (Gärdenfors, 2005).

Appendix 2. Värdfiskar

Tabellen nedan redovisar ett urval ur den sammanställning som Nagel (2002) gjort över Tyska värdfiskstudier. Engel och Wächtler (1989) har visat att värdfiskspecificiteten kan vara olika mellan åtskilda populationer av tjockskalig målarmussla. Detta innebär att regionala skillnader förmodligen kan förekomma även i Sverige.

Tabell 1 Värdfisktabell enligt Tyska studier för stormusselarterna *Unio crassus* (Uc), *U. pictorum* (Up), *U. tumidus* (Ut), *Anodonta anatina* (Aa), *A. cygnea* (Ac) och *Pseudanodonta complanata* (Pc). x=värdfisk, (x)= hög glochidie mortalitet, -=ej värdfisk, -/x=motsatta resultat

Svenskt namn	Vetenskapligt nam	Uc	Up	Ut	Aa	Ac	Pc
Havsöring	*Salmo trutta*	-/x	-	-	x	x	x
Bäckröding	*Salvelinus fontinalis*	(x)					
Regnbåge	*Oncorhynchus mykiss*	-			x	x	x
Harr	*Thymallus thymallus*	-					
Gädda	*Esox lucius*				-/x	x	
Ål	*Anguilla anguilla*				-	-	
Karp	*Cyprinus carpio*	-	-	-			
Ruda	*Carassius carassius*	-	-	-			
Sutare	*Tinca tinca*	-	x	x	-/x	-	
Sandkrypare	*Gobio gobio*	-	x	-	x	-/x	-
Elritsa	*Phoxinus phoxinus*	-/x				x	
Färna	*Leuciscus cephalus*	x	x	-	x		
Stäm	*Leuciscus leusiscus*	-/x			x	x	
Id	*Leusiscus idus*		-		x	x	
Mört	*Rutilus rutilus*	-	-/x	-/x	-/x	-	-
Sarv	*Scardinius erythrophthalmus*	-/x	-/x	-/x	x	x	
Groplöja	*Leucaspius delineatus*	-/x			x	-	-
Löja	*Alburnus alburnus*					x	
Braxen	*Abramis brama*			-		x	-

Björkna	*Blicca bjoerkna*				x	x	
Asp	*Aspius aspius*						-
Lake	*Lota lota*					-	
Abborre	*Perca fluviatilis*	-/x	x	x	x	x	x
Gös	*Stizostedion lucioperca*	-			x	x	x
Gärs	*Gymnocephalus cernuus*	x		x	-	-/x	
Stensimpa	*Cottus gobio*	-/x	-	-	x	x	
Storspigg	*Gasterosteus aculeatus*	x	x	x	x	x	x
Småspigg	*Pungitius pungitius*	x					x

Appendix 3. DNA-analys

Material (reagenskit och instrument)

Extraktion: MoleStrips DNA Tissue-kit och GeneMole extraktionsrobot [www.molegenetics.com].
PCR-amplifiering: Illustra Hot Start RTG-PCR-kit [GE Healthcare] och GeneAmp 2720 termocyklingsinstrument [Applied Biosystems]; ExoI-FastAP enzymatisk PCR-rening [Fermentas].
Sekvensering: BigDye Terminator Ready Reaction mix v. 3.1 och ABI Genetic Analyzer 3130xl kapillärsekvenserare [Applied Biosystems]; DyeEx-96-kit för sekvensreaktionsrening [QIAGEN].

Lista på primrar använda för PCR och sekvensering:

Musselglochidier, ITS (Källersjö *et al.*, 2005)

mussITS1F 5'-CCGTCTCGTTCGTTGCCGGACGG-3'

ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

Fisk, COI (Ward et al., 2005)

FishF1 5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'

FishR1 5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'

FishR2 5'-ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA-3'

Tabell 5. I tabellen visas de GenBanknummer som använts vid artbestämningen av de DNA-analyserade glochidierna.

Anadonta anatina	DQ060178, DQ060179
Pseudanodonta anatina	DQ060182,DQ060184
Anodonta cygnea	DQ060185, DQ060186
Unio crassus	DQ060187, DQ060188
Unio pictorum	DQ060189, DQ060190
Unio tumidus	DQ060191, DQ060192

Appendix 4. Vattenkemi

Vattenkemi

Vid alla fisketillfällen togs vattenprov för kemisk analys av alkalinitet, turbiditet, färgtal, nitrat och fosfat. Vattentemperatur, lufttemperatur, pH och konduktivitet noterades vid alla tillfällen i fält med en Hanna combo, produktnummer HI98130. Prover för analys av nitrat (LCK 339), alkalinitet (LCK 362) och fosfor (LCK 349) mättes med en spektrofotometer (Hach Lange DR2800) i enlighet med standard ISO 846-1/DIN 38402 A51. Turbiditeten mättes med HI 93703 och färgtal med HI 93727.

Vattenkemi

Resultaten från mätningen av de vattenkemiska parametrarna (Tabell 6) visar att Virån har en mycket hög vattenkvalité inom den provfiskade lokalen. Alkaliniteten visar på en mycket god buffertkapacitet och pH är nära neutralt. Vattendraget är endast obetydligt grumlat (låg turbiditet). Både nitrat- och fosfat halten bedöms som måttligt höga. Det är bara färgtalet som är avvikande och vattendraget bedöms därför som ett betydligt färgat vatten (Bydén *et.al*, 2000).

Tabell 6 Antal prov och medelvärdet av alla vattenkemiska parametrar som mätts i samband med undersökningen i Virån. Min, max och standard error (s.e.)

	Antal prov	Medel	Min	Max	s.e.
Vatten temperatur (º C)	7	19,3	14,3	23,9	1,2
Lufttemperatur (º C)	7	21,2	13,2	25,4	1,5
Alkalinitet (mmol/l)	5	1	0,6	1,1	0,1
pH	7	7,2	7,1	7,3	4,20E-09
Konduktivitet (mS/m)	7	0,015	0,007	0,018	0,002
Fosfat (mg/l PO_4^{3-})	5	0,015	0,007	0,018	0,002
Nitrat (mg/l NO_3^-N)	5	0,43	0,37	0,49	0,027
Turbiditet (FTU)	5	0	0	0	0
Färgtal (mg Pt/l)	5	76	60	88	4,83