

Einsatz von Biomarkern zur Erfassung möglicher Wirkungen von elektromagnetischen Feldern und Temperaturen auf marine Organismen unter Laborbedingungen

FKZ 0329954



Institut für Angewandte Ökologie
Forschungsgesellschaft mbH
Alte Dorfstr. 11
18184 Neu Broderstorf

Fon 038204/618-0
Fax 038204/618-10
info@ifaoe.de
www.ifaoe.de

**Das dem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Ministeriums für
Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit unter dem Förderkennzeichen 0329954
gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt der Veröffentlichung liegt bei den Autoren.**

verantwortliche Autoren

Projektleitung: Prof. Dr. H. Sordyl

Feldmessungen Windpark: Dr. K. Meißner
Dipl. Ing. K. Brosda
Dipl. Geogr. H. Pehlke
Dipl. Ing. J. Bockhold (Technik; Fa. JeBo-Elektronik)

Biomarker-Untersuchung: Dr. J. Gercken
B. Bernau
C. B. Borrmann
M. Sundt

Untersuchung an
Immunzellen der Maus: PD. Dr. M. Simkó; FB Biologie, Universität Rostock

Inhaltsverzeichnis

1	Veranlassung und Zielsetzung der Studie	1
2	Feldmessungen der Meeresbodentemperatur an Seekabeln im Offshore-Windpark Nystedt	4
2.1	Einführung in die Untersuchung	4
2.2	Methoden	6
2.3	Ergebnisse	12
2.4	Zusammenfassende Diskussion	31
3	Biomarker als diagnostische Instrumente für Umweltstress	35
3.1	Biomarker-Ansatz	35
3.2	Zur Bedeutung der ausgewählten Biomarker	37
3.2.1	Stressproteine (Heat Shock Proteins)	37
3.2.2	Comet-Assay	38
3.2.3	Metallothionein-Induktion	38
3.2.4	Acetylcholinesterase-Hemmung	39
3.2.5	Lipidperoxidation	39
3.2.6	Stabilität der Lysosomenmembran (Neutralrot-Test)	40
3.2.7	Phagozytose-Aktivität	40
3.2.8	Histologische Untersuchung	41
4	Material und Methoden	42
4.1	Testorganismus und Untersuchungsmaterial	42
4.2	Probenmaterial und Zwischenhälterung	42
4.3	Entnahme von Gewebeproben für einzelne Untersuchungen	42
4.4	DNA-Schädigung (Comet-Assay)	43
4.5	Nachweis des Stressproteins-70 (Hsp70)	43
4.5.1	Nachweis der Hsp70-Expression im Western Blot	43
4.5.2	Nachweis der Hsp70-Expression mit der Durchflusszytometrie	45
4.6	Neutralrot-Test	45
4.7	Phagozytose-Aktivität	46
4.8	Metallothionein-Bestimmung	46
4.9	Lipidperoxidation	47
4.10	AChE-Aktivität	47
4.11	Histologische Untersuchungen	48
5	Wirkung thermischer Belastung auf marine Invertebraten	49
5.1	Biologische Wirkungen von thermischem Stress	49
5.2	Versuchsanlage zur thermischen Exposition mariner Invertebraten	51
5.3	Biomarker-Untersuchungen an der Miesmuschel <i>Mytilus edulis</i> nach Exposition auf erwärmtem Sediment – Ergebnisse und Diskussion	53
5.3.1	Zur Konzeption und Methodik der Temperatur – Versuche	53
5.3.2	Reaktion des Stressproteins Hsp70 in Hämocyten	54

5.3.2.1	Streulichtcharakterisierung der untersuchten Hämocyten	54
5.3.2.2	Nachweis von Hsp70 in Hämocyten mittels Immunoblot	56
5.3.2.3	Hsp70-Expression in Hämocyten bei starker thermischer Belastung	57
5.3.2.4	Hsp70-Expression in Hämocyten bei schwacher thermischer Belastung	58
5.3.2.5	Hsp70-Expression im Kiemengewebe	61
5.3.3	Biomarker für Effekte von oxidativem Stress	64
5.3.4	AChE-Aktivität im Kiemengewebe	67
5.3.5	Gentoxische Schädigung	68
5.3.6	Histologische Untersuchungen	70
5.4	Migrationsverhalten von <i>Corophium volutator</i> und <i>Marenzelleria neglecta</i> nach thermischer Exposition	72
5.4.1	Einleitung	72
5.4.2	Untersuchte Arten	72
5.4.3	Experimenteller Versuchsaufbau	73
5.4.4	Ergebnisse	76
5.4.4.1	Temperaturmessung	76
5.4.4.2	Reaktionsverhalten von <i>Corophium volutator</i>	76
5.4.4.3	Reaktionsverhalten von <i>Marenzelleria neglecta</i>	76
6	Versuche mit 50Hz-EMF – Ergebnisse und Diskussion	78
6.1	Biologische Wirkungen von elektromagnetischen Feldern	78
6.1.1	Wirkungen von ELF-EMF auf Wirbeltiere	78
6.1.2	Wirkungen von ELF-EMF auf wirbellose Organismen	79
6.2	Untersuchungen an Immunzellen der Maus	80
6.2.1	Methoden und Ergebnisse	80
6.3	50Hz-EMF-Exposition von Miesmuscheln	84
6.3.1	Versuchsanlage und Expositionsbedingungen	84
6.3.2	Durchführung der Befeldung und methodisches Vorgehen	84
6.3.3	Zur Konzeption und Methodik der EMF-Versuche	85
6.3.4	Ergebnisse und Diskussion	86
6.3.4.1	Expression von Hsp70 nach kurzzeitiger Magnetfeld-Exposition	86
6.3.4.2	Expression von Hsp70 nach längerer Magnetfeld-Exposition	88
6.3.5	Stabilität der lysosomalen Membran	89
6.3.6	Phagozytose-Aktivität von Hämocyten	91
6.3.7	Comet-Assay	92
7	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	94
8	Literaturverzeichnis	100
9	Anlage	108

Abkürzungsverzeichnis

AChE	Acetylcholinesterase
A.demin.	entionisiertes Wasser
AWZ	ausschließliche Wirtschaftszone
BSH	Bundesamt für Seeschifffahrt und Hydrografie
Comet-Assay	Einzelzell-Gelelektrophorese
DAB	3,3'-Diaminobenzidin-Tetrahydrochlorid
DHR	Dihydrorhodamin 123
DTNB	Dithiobisnitrobenzoat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELF-EMF	Extremly-Low-Frequency-EMF
EMF	Elektromagnetisches Feld
FI	Fluoreszenzintensität
FSC	Vorwärtsstreulicht
HELCOM	Helsinki-Kommission zum Schutz der Ostsee
HSP	Heat Shock Protein
ICES	International Council for the Exploration of the Sea (Internationaler Rat für Meeresforschung)
IfAÖ	Institut für Angewandte Ökologie GmbH Neu Broderstorf
K	Kelvin
kDa	Kilodalton
LPS	Lipopolysaccharid
MDA	Malondialdehyd
MDD	Mitteldarmdrüse
MF	Magnetfeld
MFI	Mittlere Fluoreszenzintensität
MG	Molekulargewicht
MT	Metallothionein
MTP	Mikrotiterplatten
NO	Stickoxide
NR	Neutralrot (Vitalfarbstoff)
NRR	Neutralrot-Retentions-Test
OSPAR	Oslo-Paris-Abkommen zum Schutz der Meeresumwelt von Nordost-Atlantik und Nordsee
SSC	Seitwärtsstreulicht
WEA	Windenergieanlage