

# Undersøkelse av elvemuslinger, *Margaritfera margaritifera*, i forbindelse med dødelighet i bestanden i Haukåselven, Åsane, høsten 2017

Stein Mortensen



# Prosjektrapport

**Rapport:** RAPPORT FRA HAVFORSKNINGEN  
**Nr. – År:** 33-2017  
**Dato:** 24.10.2017

**Tittel (norsk og engelsk):**

Undersøkelse av elvemuslinger, *Margaritifera margaritifera*, i forbindelse med dødelighet i bestanden i Haukåselven, Åsane, høsten 2017

Examination of freshwater pearl mussels, *Margaritifera margaritifera*, during a mortality event in the Haukås river, Åsane, Western Norway, autumn 2017

**Forfattere:**

Stein Mortensen

**Distribusjon:** Åpen

**Havforskningsprosjektnr.:**  
15100

**Oppdragsgiver(e):**  
Vest pollitidistrikt

**Oppdragsgivers referanse:**  
Kristin Bysheim

**Program:**  
Akvakultur

**Forskningsgruppe:**  
428

**Antall sider totalt:**  
13

**Sammendrag (norsk):**

Haukåselven i Åsane har Bergens eneste gjenlevende bestand av elvemuslinger (*Margaritifera margaritifera*). I løpet av høsten 2017 er det observert høy dødelighet av muslinger, og en betydelig andel av bestanden er tapt. Årsakene til dødeligheten er ikke kjent. Det ble satt i gang ulike undersøkelser for å forsøke å oppklare dødeligheten. Ni muslinger ble bragt inn til Havforskningsinstituttet for undersøkelser. Elvemuslingene var svekket. Skader på gjellevev, ansamlinger av organisk materiale på gjellene og i kappehulen, samt nedbygget og passivt fordøyelsesvev tyder på at muslingene over en lengre tidsperiode – sannsynligvis måneder – ikke har hatt normalt fødeopptak. Det er sannsynlig at de har vært utsatt for en ytre påvirkning som har skadet gjellevev og blitt svekket i en slik grad at filtrering og cilieaktivitet har blitt redusert eller opphørt. Dette fører muslingene inni en "vond sirkel" hvor de sulter, gradvis svekkes, invaderes av bakterier og sopp og dør. Dødsprosesser hos muslinger som utsettes for skadelig ytre påvirkning eller suboptimale levekår er ofte langsomme. Årsaken til dødeligheten kan således ligge tilbake i tid. De undersøkelsene som er utført kan ikke fastslå hva som har forårsaket dødeligheten.

**Summary (English):**

The Haukås river in Åsane inhabits the only remaining population of freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera*) in Bergen. During the autumn 2017, this population has experienced heavy mortalities. An investigation has been initiated in order to identify potential causes of the mortalities. Nine mussels were brought to the Institute of Marine Research, disease laboratory in Bergen, for examination. The mussels were weakened, and probably moribund. Accumulation of organic material on the gill surface and in the pallial cavity, tissue damage in the gills and degenerative digestive tissues indicate that the mussels have not filtered normally and have starved over a time span of several months. Tissues may have been affected by an external factor, causing damage to the gills, weakening the mussels, thus blocking the normal food uptake and ciliated activity on gills and visceral ducts. Starvation and invasion by opportunistic bacteria and fungi(?) result in mortality – which may occur weeks or months after the fatal event(s).

**Emneord (norsk):**

1. Elvemusling, *Margaritifera margaritifera*, dødelighet, Haukås, Åsane, histologi, vevsskader

**Subject heading (English):**

1. Freshwater pearl mussels, *Margaritifera margaritifera*, mortality, Haukås, histology, tissue damage

# Innhold

<b>1</b>	<b>Bakgrunn .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Materiale og metoder .....</b>	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Resultater.....</b>	<b>7</b>
<b>4</b>	<b>Diskusjon.....</b>	<b>10</b>
<b>5</b>	<b>Konklusjon.....</b>	<b>12</b>

## 1 Bakgrunn

Elvemusling (*Margaritifera margaritifera*) er rødlistet i kategori *sårbar*. Arten er i sterk tilbakegang over hele utbredelsesområdet, hovedsakelig på grunn av tap av leveområder og forurensning av elvesystemene hvor arten fantes. Sverige og Norge har i dag de fleste gjenlevende bestandene, men et relativt fåtall av disse er regnet som levedyktige (selvrekrutterende).

Haukåselven i Åsane har Bergens eneste gjenlevende bestand av elvemuslinger. Bestanden består i hovedsak av gamle individer og var beregnet til rundt 1 000 individer. Bestanden fornyer seg i liten grad, og det drives derfor kultivering av bestanden, med utsetting av juvenile (unge) muslinger, som er produsert på kultiveringsanlegg i Austevoll og satt ut på utvalgte lokaliteter i elven. Målet er å tilføre bestanden unge individer, som kan bidra til fornyelse og en gradvis oppbygging av bestanden.

Elvemuslingene i Haukåsvassdraget har en sterk lokal verdi og bidrar til å styrke engasjementet rundt natur- og miljøvern i området. Vassdraget har vært sterkt belastet på grunn av forurensning og forsøpling i elven og vassdragets nedslagsfelt. Muslingebestanden blir fortløpende overvåket.

Høsten 2017 har det vært funnet rundt 300 døende og døde, gamle elvemuslinger. Det har også vært registrert dødelighet av utsatte juveniler. For å bidra til en oppklaring av dødeligheten ble ni døende og døde muslinger bragt inn til Havforskningsinstituttet for histologiske undersøkelser. Denne rapporten beskriver observasjonene som ble gjort ved obduksjon og mikroskopiske undersøkelser av vevsprøver fra syv døende muslinger.



**Figur 1:** Døende elvemusling

## 2 Materiale og metoder

Muslingene ble oppbevart og fraktet fuktig og kjølig og bragt levende inn til Havforskningsinstituttet av Håvard Bjordal, Bergen kommune, og obdusert ved mottak. Fem muslinger ble levert den 12.09 og fire muslinger den 27.09 (Tabell 1).

Muslingene ble målt og veid og deretter åpnet ved å trekke skalldelene forsiktig fra hverandre. Muskelfester og palliallinje ble varsomt kuttet ved bruk av en skalpell, tett inntil den ene skalldelen, slik at denne ble frigjort og deretter fjernet.

Det ble skåret ut en ca 5 mm vevsprøve fra dorsal (rygg) til ventral (buk)side (figur 3). Denne prøven skal ideellt sett dekke flere organer (gonade, fordøyelseskjertel, nyrer, lagringsvev, gjelle og kappe). Disse muslingene er imidlertid så store at en slik vevsprøve ikke får plass i en brikett som brukes under prosesseringen (se figur 4). Det ble derfor dissekert ut flere vevsprøver fra hvert individ som samlet dekker disse organene. Organprøvene ble fordelt i flere briketter, fiksert i en standard 4% formalinløsning og prosessert ihht standard prosedyrer til innstøpning i parafinblokker. Parafinblokkene ble snittet ved 3 – 4  $\mu\text{m}$ , farget med HES og PAS-farger og mikroskopert ved 40 – 400 x forstørrelse. Alle trinn i prosesseringen ble gjort ihht Havforskningsinstituttets prosedyrer for skjelldiagnostikk.



**Figur 2:** Åpnet elvemusling



**Figur 3:** Uttak av tverrsnitt av bløtdeler.



**Figur 4:** Vevsprøver fra dorsoventrale (tverrsnitt fra rygg til bukside) snitt, med indre organer.

### 3 Resultater

To av elvemuslingene som ble bragt inn den 27.09 var døde og ikke egnet for mikroskopiske undersøkelser. Fem muslinger bragt inn den 12.09 og to muslinger bragt inn den 27.09. var tydelig svekket, med svak og langsom lukkerespons.

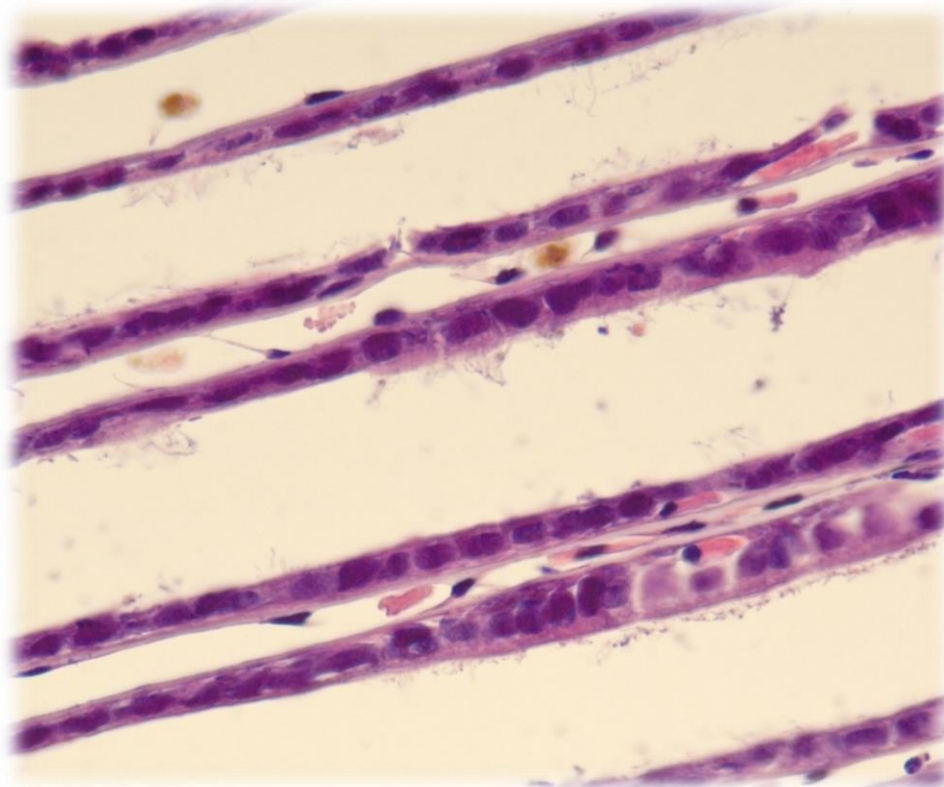
Det var ingen ytre tegn på sykdom (som sår, lesjoner i bløtvev eller synlige skader/erosjon på gjeller). Den ytterste delen av kappevevet, blottlagt ved fjerning av skallet, var tynt (Figur 1 og 2).

Musling 1 – 5 hadde varierende grad av ansamlinger av slam i gjellene. Ved mikroskopering ble det observert skader og tap av epitellag på gjellene (Tabell 1). Deler av gjellene var affisert (figur 5), mens andre deler var intakte.

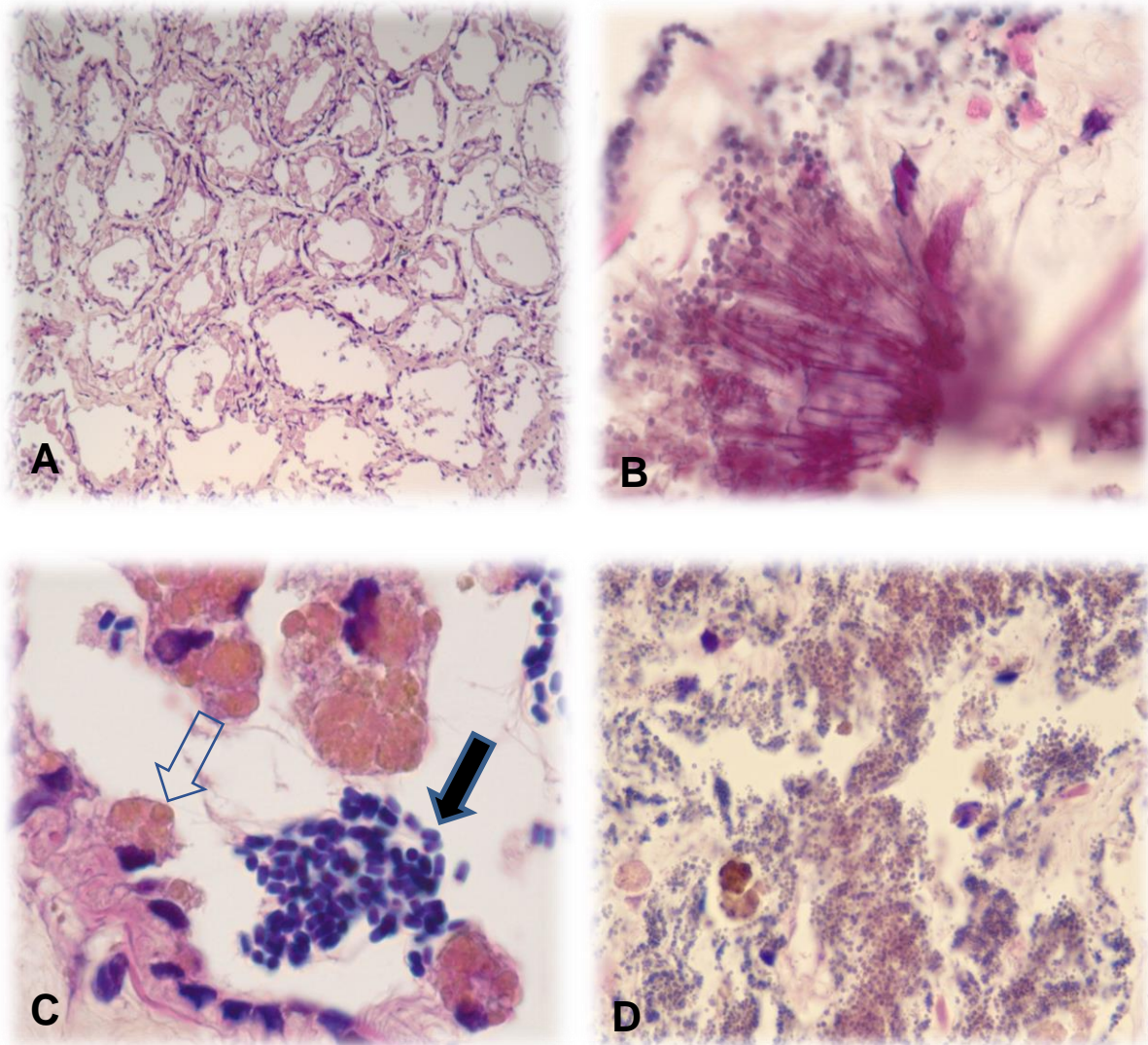
I bindevevet, som fungerer som lagringsvev/depot for opplagsnæring, var cellestrukturen uklar, sannsynligvis som resultat av celledød/autolyse. Spredning av runde, kraftig pigmenterte celler ble tolket som spermatogonier (hannlige kjønnsceller) som var lekket ut av folliklene og spredd i skadd vev (Figur 6D).

Fordøyelsesvevet var generelt nedbygget og passivt (figur 6A). Det var stedvise nekroser i fordøyelsestubuli.

Områder i oppløst eller skadd vev hadde diffuse felt av partikler som antas å være bakterier. Det ble observert fremmede celler i musling 1, 3 og 4, med kolonilignende strukturer i binde/lagringsvev som likner sopphyfer (Figur 6B). I musling 4 var det fremmede celler i hunnlige follikler (Figur 6C). Det var ingen synlig vertsrespons. Cellenes natur er ukjent.



**Figur 5:** Musling 17/27/4. gjellestaver hvor det cilierte epitellaget er borte. X 63.



**Figur 6:** A: Musling 17/27/4. fordøyelseskjertel. Tubuli med fordøyelsesvev er nedbygget og i nederste høyre del av utsnittet delvis oppløst. Forstørrelse x 10. B: 17/27/3 mulig ansamling av sopphyfer i lagringsvev, omliggende vev delvist oppløst/nekrotisk, x 100. C: 17/27/4. Detalj fra hunnlig follikkel. Hemocytter med resorbent oocytmasse (pil) og ansamling av fremmedceller (ukjent) (svart pil)x 100. D: Binde/lagringsvev, delvis oppløst, antatt spermatogonier spredd ut i vevet, x40.

Observasjoner ved obduksjon og mikroskopering av vev er oppsummert i Tabell 1.



**Tabell 1:** *Observasjoner av vevsprøver fra syv elvemuslinger, Margaritifera margaritifera, fra Haukåsvassdraget*

Nr	Prøve kode	Skall-lengde	Vekt	Observasjoner	Mikroskopering
1	17/27/1	114 mm	125 g		Gjellevev variabelt, områder med skadd vev. Bindevev ser ut til å være delvist oppløst. Passivt, nedbygget fordøyelsesvev. Mulige soppkolonier/hyfer i binde/lagringsvev.
2	17/27/2	110 mm	128 g		Uklart snitt, frynsete gjeller, antatt delvis skadd men også mulig artifakt. Noen oocytter i follikler – rest etter gyting?
3	17/27/3	115 mm	150 g		Skader på deler av gjellevev Hunnlige follikler tomme. Passive, resorpsjon etter gyting? Oppløst bindevev, hannlige follikler, spermatogonier fritt i vevet? Soppkolonier i binde/lagringsvev?
4	17/27/4	111 mm	132 g		Skader på deler av gjellevev Variabelt fordøyelsesvev. Passivt, men normalt noen steder, andre steder oppløst. Døende? Tomme hunnlige follikler, passivt. Soppkolonier i binde/lagringsvev? Spredde spermatogonier
5	17/27/5	115 mm	150 g		Variable gjeller, organisk materiale Bindevev oppløst? Spermatogonier spredd.
6	17/28/1	116 mm	150 g	Levende, langsom lukkerespons	Deler av gjellevevet er borte, noen områder er intakte. Vanskelig å tolke snittet. Tomme hunnlige follikler, passivt vev
7	17/28/2	124 mm	140 g	Levende, svært langsom lukkerespons, svekket	Tegn på vevsskader på gjeller og follikler. Muskulære vev er normale. Endringer i indre organer (lagringsvev og follikler)sannsynligvis autolyse koblet til dødsprosesser.
8		121 mm	100 g	Død	Ikke egnet for videre undersøkelser
9		105 mm	80 g	Død	Ikke egnet for videre undersøkelser

---

## 4 Diskusjon

Tolkningen av resultatene fra denne undersøkelse er basert på bruk av histopatologisk undersøkelse, det vil si en mikroskopering av vev fra ulike organer fra elvemuslingene. En usikkerhet i analysen er mangel på kontrollmateriale fra friske muslinger. Imidlertid vil det være helt generelle forhold knyttet til tolkning av vev i muslinger som gir informasjon om muslingenes allmenntilstand. Generelt vil skjell som utsettes for en negativ påvirkning ofte svekkes gradvis. Ulke vev har ulik robusthet. Effekter av ytre påvirkninger observeres først på gjellevev, som har kontakt med vannet, og som har tynne, sårbare cellelag. Videre brukes ofte fordøyelsesvev som en indikator på muslingenes allmenntilstand. Disse vevene viser om det foregår en aktiv fordøyelse, om skjellene er sultet (og derav har passive fordøyelsesvev) og om det er påvirkning som skader fordøyelsesvevene (cellene dør).

Det er alltid usikkerhet knyttet til vurdering av vev fra svekkede skjell. Dyrene har et nervesystem koordinert av flere uavhengige nervesentra, og kan erfaringsmessig ha en langsom svekkelse og dødsprosess. Mens noen vev og organer (særlig gjeller og fordøyelsesvev) gradvis nedbygges og dør, kan andre vev (kappe, fot, lukkemuskel og andre muskulære vev) være intakte lenger. Litt forenklet "dør muslingene langsomt eller gradvis".

På tross av utfordringer knyttet til tolkninger av vev hos elvemuslingene viser resultatene følgende: Muslingene som er undersøkt var åpenbart svekket. Langsom lukkerespons viste at muslingene var reduserte. Noen av muslingene hadde unaturlig store ansamlinger av slam på gjellene. Ved høy partikkeltetthet i vannet vil friske muslinger normalt lukke seg. Ved normal filtrering og pumpeaktivitet blir overskudd av partikler i tillegg vasket og pumpet ut av kappehulen. Ansamlingene av slam tyder på at på at muslingene var svekket da de sto i elvebunnen og ikke hadde den naturlige sirkulasjonen av vann gjennom kappehulen og over gjellene.

Det er skader på deler av gjellene. Gjellene hos elvemuslinger består av tynne men relativt robuste filamenter med tynne epitellag med cilierte områder som sørger for sirkulasjon og målrettede strømninger av føde som samles opp på definerte områder på gjellene. I noen områder står kun stammene i filamentene tilbake, mens epitellagene er borte (Figur 5). Dette vevet er sårbart, og skader som fører til celletap vil, når de kommer over en grense, føre til redusert fødeopptak. Hos svekkede skjell kan cilieaktiviteten svekkes, noe som fører til redusert vannstrøm, redusert fødeopptak, oksygenopptak og svekket forsvar (etter som bakterier og andre fremmedorganismer kan invadere bløtdelene via åpninger/kanaler (munn- mage, gonade, nyresystem) som normalt har utgående, ciliert vannstrøm.

Observasjonen av hannlige kjønnsceller spredd i vevene er overraskende og litt vanskelig å tolke. Det er mulig at årsaken er celledød og brutte membraner i hannlige follikler, med påfølgende spredning/flyt ut i omliggende vev. Dette bør studeres nærmere i prøver fra friske individer.

Mikroskopering av fordøyelsesvev viser tydelig at muslingene ikke har hatt et normalt fødeopptak. Områdene med fordøyelsesceller er nedbygget og helt passive. Dette tyder på at muslingene har sultet over tid. Vi har ikke tilgjengelige bakgrunnsstudier som kan belyse hvor lenge muslingene har sultet, men det er sannsynlig at denne prosessen har strukket seg over flere måneder.

Det er ikke observert primært sykdomsfremkallende organismer som har utløst en respons hos muslingene eller kan knyttes til akutte vevsskader. Det er imidlertid observert "fremmedceller" i flere muslinger. Ved en gradvis svekkelse og dødsprosess er det normalt at det vokser frem bakterier i vevene. Disse bidrar gjerne til å akselerere dødsprosessen. Koloniene som er vist i Figur 6B er muligvis sopp. Soppvekst innen i bløtdelene tolkes som et tegn på at skjellet er døende. Sopp vil normalt ikke klare å invadere vevene til et friskt skjell, men kun evt kolonisere overflater. De ukjente

organismene som er observert inne i hunnlige follikler (Figur 6C) har sannsynligvis også invadert vevet på grunn av svekket forsvar og tilgang via fordøyelsessystem, kjønnskanaler eller nephridier (nyrer).



## 5 Konklusjon

Elvemuslingene som er undersøkt var svekket. Skader på gjellevev, ansamlinger av organisk materiale på gjellene og i kappehulen, samt nedbygget og passivt fordøyelsesvev tyder på at muslingene over en lengre tidsperiode – sannsynligvis måneder – ikke har hatt normalt fødeopptak. Det er sannsynlig at de har vært utsatt for en ytre påvirkning som har skadet gjellevev, blitt svekket i en slik grad at filtrering og cilieaktivitet har blitt redusert eller opphørt. Dette fører muslingene inni en "vond sirkel" hvor de sulter, gradvis svekkes, invaderes av bakterier mm og dør. Dødsprosesser hos muslinger som utsettes for skadelig ytre påvirkning eller suboptimale levekår er ofte langsom. Årsaken til dødeligheten kan således ligge tilbake i tid. Den/de konkrete årsakene er ukjent, og de undersøkelsene som er utført kan ikke fastslå hva som har forårsaket dødeligheten.

## Takk

Takk til Lisbeth Sælemyr, Cecilie Skår og Ingrid U. Fiksdal for hjelp med uttak og prosessering av prøver og assistanse med mikroskopering og fotografering av preparatene.

Retur: Havforskningsinstituttet, Postboks 1870 Nordnes, NO-5817 Bergen



**HAVFORSKNINGSINSTITUTTET**  
**Institute of Marine Research**

Nordnesgaten 50 – Postboks 1870 Nordnes  
NO-5817 Bergen  
Tlf.: +47 55 23 85 00 – Faks: +47 55 23 85 31  
E-post: [post@imr.no](mailto:post@imr.no)

[www.hi.no](http://www.hi.no)

