

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Probenahmen – technische Erläuterungen

Das Stationsnetz umfasste 69 verschiedene Probenahmestellen. Sie verteilten sich auf ein großflächiges Nordseegebiet und die Ästuare von sieben einmündenden Flüssen. Nachfolgend werden die eingesetzten Fischereifahrzeuge, Bezeichnungen der Stationen und die Erfassung hydrographischer Parameter erläutert.

2.1.1 Fischereifahrzeuge und Fangtechnik

Die Probenahmen wurden mit Forschungsschiffen mehrerer wissenschaftlicher Einrichtungen sowie mit kommerziellen Fischereifahrzeugen durchgeführt (Tab. 1, Abschnitt 2.2 und Tab. 3, Abschnitt 2.3). Das Forschungsschiff (FS) „Heincke“ der Biologischen Anstalt Helgoland (BAH) stand im Winter und Sommer 1991 für die Beprobung von Stationen in der Nordsee zur Verfügung. 1992 fanden die Probenahmen im Rahmen einer Routinefahrt des Fischereiforschungsschiffes (FFS) „Walther Herwig“ der Bundesforschungsanstalt für Fischerei (BFA) statt.

In den Mündungen der deutschen Flüsse Eider, Elbe und Weser wurden der Forschungskutter (FK) „Uthörn“ (BAH) und örtliche Krabbenkutter eingesetzt. In der Weser wurde 1992 an der weit stromauf gelegenen Station bei Brake (F030) zusätzlich mit einem Hamenkutter gefischt. Diese Art der Fischerei kann als passiv bezeichnet werden. Während der Kutter in der Tidenströmung vor Anker liegt, werden ein oder zwei Netze (Hamen) seitlich zwischen einem Ober- und Unterbaum ausgebracht. In der Weser wurde mit zwei Netzen im ablaufenden Wasser gefischt. Für Probenahmen in den Flüssen Schelde und Themse standen ebenfalls gecharterte Krabbenkutter zur Verfügung. Am Tyne konnte das FS „Bernicia“ von der Universität Newcastle und am schottischen Firth of Forth der Kutter „Forth Ranger“ vom Forth Ranger Purification Board benutzt werden.

Die deutschen Forschungsschiffe waren mit unterschiedlich großen Grundschieppnetzen ausgestattet, mit einer Maschenweite von 7 mm bis 10 mm im Steert. Die „Bernicia“ setzte wie die Kutter eine Baumkurre ein, schleppte diese jedoch am Heck. Die Netze hatten im Steert Maschenweiten von 45 mm bzw. 10 mm. Die Schleppegeschwindigkeit betrug jeweils 2 bis 3 Knoten (kn) über Grund. Pro Hol wurde 30 Minuten lang geschleppt. Die Netze des Hamenkutters wurden 3 Stunden nach dem Ausbringen entleert.

2.1.2 Erfassung nautischer Parameter und Bezeichnung der Stationen

Sämtliche eingesetzten Fischereifahrzeuge bestimmten ihre Position über Satellitennavigation mit Hilfe eines GPS-Navigators (Global Positioning System). Als Stationskoordinaten (Anhang B)

werden Anfangs- und Endkoordinaten eines Schleppstrichs angegeben, die den Schiffspositionen nach dem Fieren (Niederlassen) des Netzes und bei Beginn des Hievens (Netz heben) entsprachen. Stationskoordinaten geben die geographische Breite und Länge in Grad (°) und Minuten (') an.

Zur eindeutigen Bezeichnung der Probenahmestellen diente ein vierstelliger Code, der bereits im FuE-Vorhaben „Fischkrankheiten im Wattenmeer“ (Wahl et al. 1995) Verwendung fand. Er setzte sich aus einer Buchstabenkennung und einer anschließenden dreistelligen Nummer zusammen. Die Buchstaben stehen für Nordsee-Station (T), Küsten-Station (K) und Ästuar-Station (F). Wie sich erst während der Probenahmen zeigte, waren einzelne zuvor festgelegte Stationen, insbesondere Stationen der NSTF, nicht oder nur eingeschränkt befischbar. Diese wurden verlegt und erhielten einen Stern (*) als Ergänzung (z. B. Nordsee-Station T016*) (vgl. Anhang B, Tab. B1, B2).

Stationen in den Mündungsgebieten von Eider, Elbe und Weser waren bereits Bestandteil des im FuE-Vorhaben „Fischkrankheiten im Wattenmeer“ untersuchten Stationsnetzes, weshalb die dort verwandten Stationsnummern beibehalten wurden (vergl. Wahl et al. 1995). Die Nummern für Stationen in der niederländischen Schelde und in den untersuchten britischen Ästuaren (Themse, Tyne, Firth of Forth) sind im Rahmen des FuE-Vorhabens „Fischkrankheiten in der Nordsee“ (Landwüst et al. 1996) zugeteilt worden und wurden ebenfalls unverändert übernommen.

2.1.3 Erfassung hydrographischer Parameter

Angaben über die Wassertemperatur und den Salzgehalt (Anhang B, Tab. B1 bis B3) beziehen sich in der Regel auf die Wasseroberfläche. Auf der „Heincke“ waren die Messfühler zur Erfassung beider Parameter in etwa 3 m Wassertiefe angebracht. Während der Routinefahrt des FFS „Walter Herwig“ im Januar 1992 wurden u. a. Temperatur- und Salzgehaltsprofile aufgenommen. Für die untersuchten Stationen liegen daher Daten für die Wasseroberfläche und den Grund vor.

2.2 Probenahmen in der Nordsee

In der Nordsee wurden im Verlauf von zwei Jahren Klieschen von 37 verschiedenen Stationen (Abb. 1, Abb. 2) untersucht, bei denen es sich zu einem großen Teil um Probenahmestellen der NSTF handelte. Die Proben wurden im Rahmen von drei Forschungsfahrten genommen. Eine Zusammenfassung der Probenahmen gibt Tabelle 1. Die nautischen Stationskoordinaten sind im Anhang B (Tab. B1, B2) zusammengefasst.

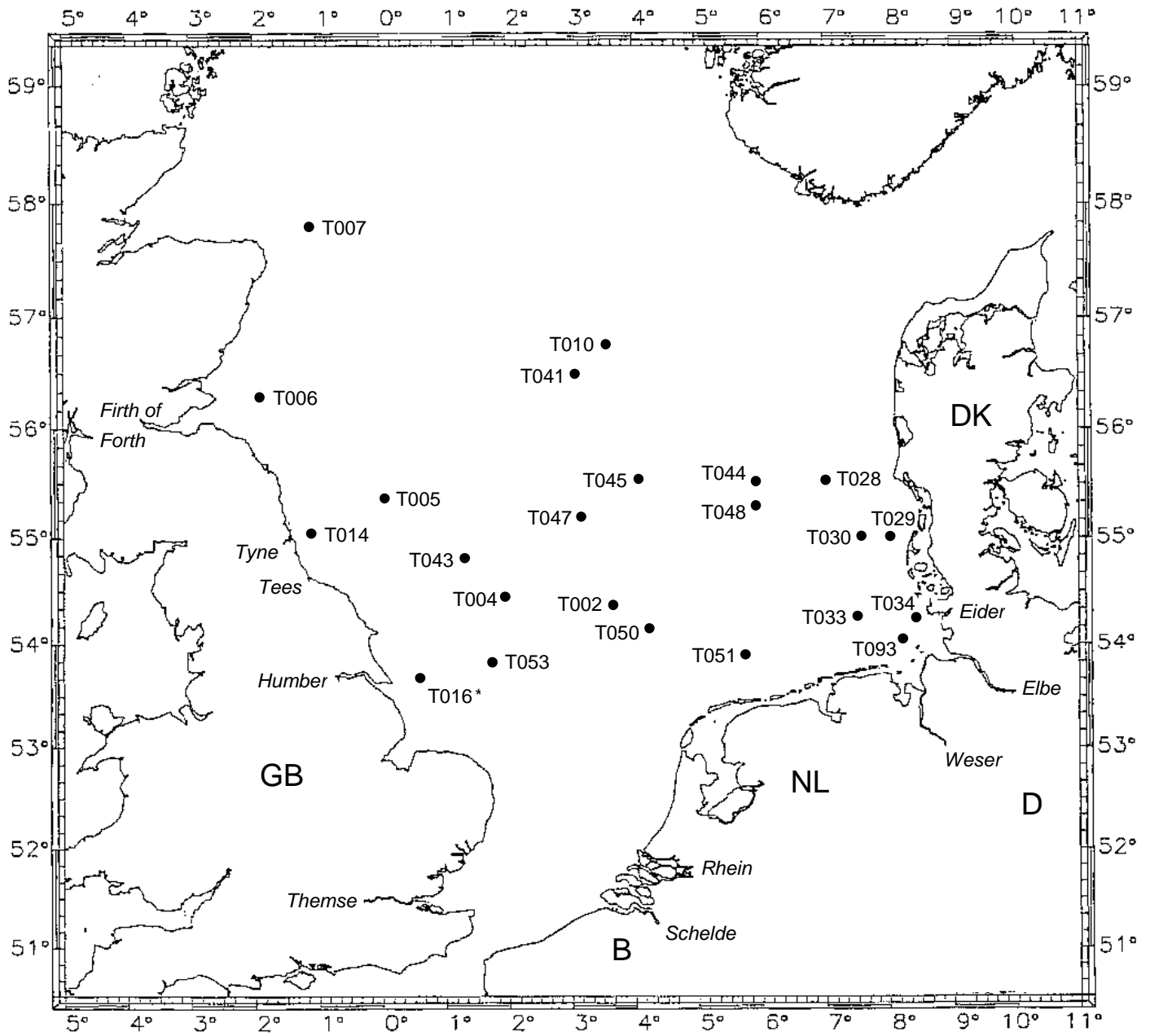


Abbildung 1: Geographische Lage der im Januar 1991 und 1992 beprobten Nordsee-Stationen

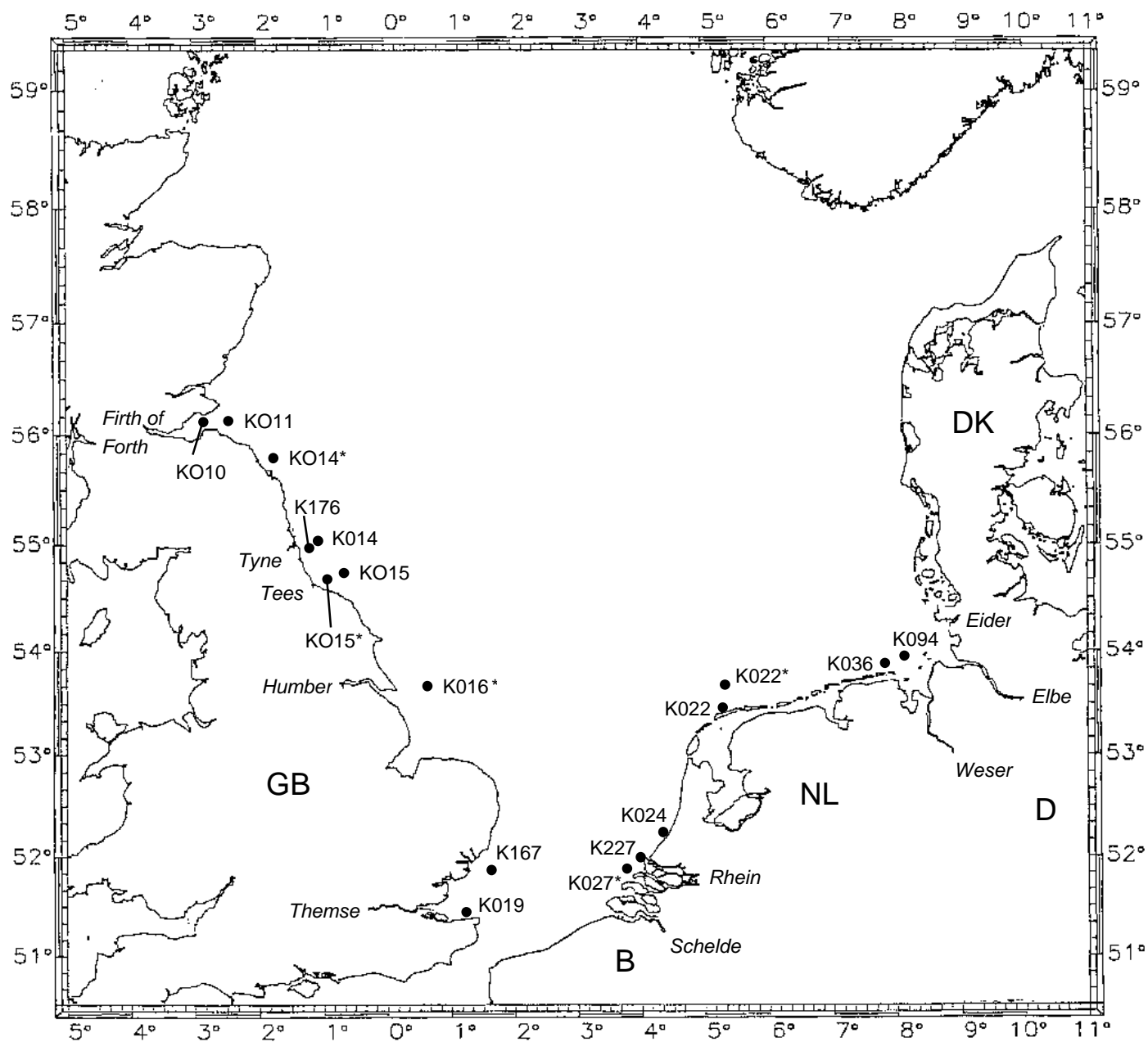


Abbildung 2: Geographische Lage der im August 1991 beprobten Nordsee-Stationen (Küsten)

Die jeweils Januar 1991 und 1992 untersuchten Stationen verteilten sich auf das Nordseegebiet zwischen 53° und 58° nördlicher Breite (Abb. 1). Januar 1991 wurden 18 Stationen entlang zweier Transekte befischt, die von der dänischen Küste durch die zentrale Nordsee einschließlich Doggerbank und Ekofisk-Ölfeld bis zur britischen Küste und von dort zurück in die Deutsche Bucht verliefen. Die zweite Winterprobenahme fand 1992 während einer Routinefahrt des FFS „Walther Herwig“ statt. Außerhalb des Routineprogramms (Stundenhols für epidemiologische Untersuchungen) wurde an 17 Stationen ein zweiter Hol über 30 Minuten durchgeführt und die gefangenen Klieschen ausschließlich für die biochemischen und weiteren Untersuchungen im Rahmen des Projekts „Fischkrankheiten in der Nordsee“ präpariert. Fünf dieser Stationen wurden regelmäßig von der BFA beprobt und in das Programm des EROD-Monitorings aufgenommen (Tab. 1). Für Probenahmen im August 1991 mit dem FS „Heincke“ waren 16 Stationen (z. T. NSTF) vor der britischen, niederländischen und deutschen Nordseeküste ausgewählt worden (Abb. 2).

Tabelle 1: Probenahmen in der Nordsee in den Jahren 1991 und 1992 (vgl. Anhang B)

Untersuchungsgebiet	östliche Nordsee, zentrale Nordsee, westliche Nordsee	Gewässer vor der a) schottischen, b) englischen, c) niederländischen, d) deutschen Küste	östliche Nordsee, zentrale Nordsee, westliche Nordsee
Zeitraum	24.01.91 bis 04.02.91	31.07.91 bis 08.08.91	03.01.92 bis 17.01.92
Gebietskoordinaten	53°22'N – 56°30'N 01°06'W – 08°24'E		53°52'N – 57°57'N 01°59'W – 07°42'E
Stationen	T014, T053, T016*, T043, T004, T047, T045, T044, T048, T050, T051, T033, T093, T034, T030, T029, T028, T041 NSTF-Stationen außer T004	a) K011, K010 b) K014*, K014, K176, K015, K015*, K016*, K167, K019 c) K027*, K227, K024, K022, K022* d) K036, K094 NSTF-Stationen: K011, K014, K015, K019, K024, K022	T007, T006, T005, T014#, T053, T043, T004#, T047, T002, T045, T050, T051#, T033, T030, T028, T041, T010 NSTF-Stationen außer T007, T006, T005, T004, T002 und T010
Spezies	<i>Limanda limanda</i>	<i>Limanda limanda</i> <i>Platichthys flesus</i> (K019)	<i>Limanda limanda</i>
Geschlecht	Weibchen, Männchen (adult und juvenil)	Weibchen, Männchen (adult)	Weibchen, Männchen (adult und juvenil)
Fischereifahrzeug (Eigner)	FS „Heincke“ (BAH)	FS „Heincke“ (BAH)	FFS „Walther Herwig“ (BFA)

*: verlegte NSTF-Station

#: Station war weiter als 7 sm von den 1991 beprobten Stationskoordinaten entfernt (vgl. Abschnitt 2.2.3)

identisch: T014 = K014, T016* = K016*

2.2.1 Gebietsdefinitionen

Einzelne Gebiete in der Nordsee haben keine Eck-Koordinaten im Sinne einer geographischen Einteilung und werden deshalb häufig projektgebunden definiert. Die Zuordnung der in dieser Arbeit angesprochenen geographischen Regionen erfolgt in Anlehnung an den Monitoring Master Plan (MMP) der NSTF und die dort festgelegten Teilgebiete (Tab. 2). Die Teilgebiete 7a und 7b der NSTF einschließlich Doggerbank werden zusammen als zentrale Nordsee und das Teilgebiet 5 südlich 55° N als Deutsche Bucht bezeichnet (Motamedi, BSH, persönliche Mitteilung). Teilgebiet 5 nördlich 55° N wird im Folgenden als dänische Küste bezeichnet. Deutsche Bucht und dänische Küste werden nachfolgend als östliche Nordsee zusammengefasst. Mit dem Begriff südliche Nordsee wird das Teilgebiet 4 mit der niederländischen Küste angesprochen. Analog wird für das Nordseegebiet vor der britischen Ostküste (Teilgebiete 3a, 3b) auch die Bezeichnung westliche Nordsee verwendet.

2.2.2 Stationsnetz und Gebietszuordnungen

Die 37 Nordsee-Stationen lassen sich sechs verschiedenen NSTF-Gebieten zuordnen (Tab. 2).

Tabelle 2: Zuordnung der beprobten Nordsee-Stationen zu NSTF-Gebieten

NSTF-Gebiet	Station									
3a	<i>T006</i>	<i>T007</i>	<i>K010</i>	K011	<i>K014*</i>					
3b	<i>T005</i>	T014	<i>T016*</i>	K014	K015	<i>K015*</i>	<i>K016*</i>	<i>K167</i>	K176	
4	<i>K022</i>	<i>K022*</i>	<i>K024</i>	<i>K027*</i>	<i>K227</i>					
5	T028	T029	T030	T033	T034	<i>T093</i>	<i>K036</i>	<i>K094</i>		
7a	T010	T041	T043							
7b	<i>T002</i>	<i>T004</i>	T044	T045	T047	T048	T050	T051	T053	

Sperrdruck: NSTF-Station, *kursiv*: keine NSTF-Station, identisch: T014=K014, T016* =K016*

Die Nordsee-Stationen werden nachfolgend unter Berücksichtigung der NSTF-Gebiete den oben genannten geographischen Gebieten zugeordnet. Die in eckige Klammern [] gesetzten Abkürzungen werden in den graphischen Darstellungen im Ergebnisteil verwandt, um als Orientierungshilfe Stationen gebietsweise zusammenzufassen.

- **Westliche Nordsee mit britischer Küste (NSTF-Gebiete 3a und 3b) [wN]:**

T007 vor der schottischen Küste nordöstlich von Aberdeen, T006 vor der Mündung des Firth of Forth, T014 vor der Tyne-Mündung, T005 nordöstlich von T014, T016* vor der Humber-Mündung und T053 (NSTF 7b) nordöstlich von T016* und südwestlich der Doggerbank.

K011, K010 im Mündungsgebiet des Firth of Forth, K014* vor der Tweed-Mündung, K014 (entspricht T014) und K176 vor der Tyne-Mündung, K015, K015* vor der Tees-Mündung, K016* (entspricht T016*) vor der Humber-Mündung und K167 im Themse-Ästuar.

- **Zentrale Nordsee mit Doggerbank (NSTF-Gebiete 7a und 7b):**
T043, T004 (westliche Doggerbank), T047 (Zentrum), T045 (Ostrand der Bank) [Doba];
T044 und T048 lagen zwischen der dänischen Küste und dem Ostrand der Bank [oDoba];
Südlich der Doggerbank wurden T002 (im ehemaligen internationalen Gebiet für die Verbrennung hochgiftiger chlorierter Industrieabfälle), T050 (östlich des ehemaligen Verbrennungsgebiets) und T051 beprobt [sDoba].
- **Östliche Nordsee mit Deutscher Bucht und dänischer Küste (NSTF-Gebiet 5) [oN]:**
T029 und T030 (westlich von Sylt), T033 (nordwestlich von Helgoland im ehemaligen Verklappungsgebiet für Abfälle aus der Titandioxidproduktion) und T034 (östlich von T033 und querab Eiderstedt), T093 in der Elbe-Mündung und T028 vor der dänischen Küste (etwa querab Esbjerg).
K036 lag nördlich von Langeoog und K094 in der Elbe-Mündung.
- **Zentrale Nordsee im Norden der Doggerbank (NSTF-Gebiet 7a) [Eko]:**
Station T041 im Ekofisk-Ölfeld lag etwa 2 Seemeilen (sm) nördlich eines aufgelassenen Feldes und war rund 11 sm von den nächsten noch aktiven Bohrinseln entfernt. Station T010 befand sich nordöstlich von T041 und etwa 22 sm nordöstlich des Ekofisk-Zentrums.
- **Südliche Nordsee (niederländische Küste) (NSTF-Gebiet 4) [sN]:**
K027* vor den Mündungen von Wester- und Oosterschelde, K227 vor der Maas-Mündung, K024 (nördlich von Rotterdam), K022, K022* (nördlich von Terschelling).

2.2.3 Vergleichbarkeit der Stationen

Während der Routinefahrt des FFS „Walther Herwig“ im Januar 1992 war es nicht immer möglich, auf den 1991 beprobten Koordinaten zu fischen. Sie wichen u. a. etwas ab, weil aus Sicherheitsgründen entweder nicht zu nah an einer Bohrinselfischung werden konnte (Station T041) oder das Schleppen an der Vorjahresposition wegen des steinigen Untergrunds ohne so genannte „rockhopper“ nicht möglich war (Station T030).

Damit die in beiden Jahren im Januar beprobten Stationen zusammengefasst und verglichen werden konnten, wurden um die im Jahr 1991 befischten Stationen quadratische Boxen mit jeweils 10 sm Kantenlänge definiert. Die Vorgehensweise, für Probenahmen eine „Gebietsbox“ zu definieren anstatt punktförmige Positionskoordinaten anzugeben, wie es bei der NSTF üblich ist, entspricht auch den Vorgaben von MUDAB (Meeresumwelt-Datenbank) und ICES (Nast, BSH, persönliche Mitteilung). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zwei in beiden Jahren untersuchte Stationen dann als übereinstimmend bezeichnet, wenn sie innerhalb der Box lagen, deren Mittelpunkt von den Koordinaten der 1991 beprobten Station gebildet wurde. Auf 55° nördlicher Breite entspricht eine Kreisbogenminute einer Entfernung von etwa 1,1 km. Bei einer 10 sm breiten Box beträgt die Distanz zwischen einem Eckpunkt und dem Mittelpunkt 7,1 sm (entspricht etwa 13 km). Unter Berücksichtigung dieser Definition waren die Positionen von neun Nordsee-Stationen in beiden Jahren identisch (Anhang B, Tab. B1). Lediglich drei Stationen wichen 1992 um mehr als 13 km von der Vorjahresposition ab.

2.3 Probenahmen in Ästuaren

In den Mündungsgebieten der Flüsse Eider, Elbe, Weser, Schelde (Westerschelde), Themse, Tyne und Firth of Forth wurden im tidebeeinflussten Flussabschnitt insgesamt 32 Stationen beprobt. Mehrere Eider-Stationen lagen im Küstengebiet vor der Mündung. Die Lage der Probenahmestellen in den Flussmündungen können den Kartenausschnitten in Abbildung 3 entnommen werden. Eine Zusammenfassung der in den Jahren 1991 und 1992 durchgeführten Probenahmen gibt Tabelle 3. Die geographischen Koordinaten der Stationen sind in Anhang B (Tab. B3) zusammengefasst.

Tabelle 3: Probenahmen in Ästuaren in den Jahren 1991 und 1992 (vgl. Anhang B)

Ästuar	Zeitraum	Station	Spezies	Geschl.	Fischereifahrzeug (Eigner)
Eider	a) 22.05.91 b) 25.06.-27.06.91	a) F015, F016 b) F010, F011, F012 F013, F014	<i>L. limanda</i> <i>P. flesus</i>	w _a , m _a w _a , m _a	a) FK „Uthörn“ (BAH) b) Krabbenkutter „Capella“
Elbe	a) 21.05., 23.05.91 b) 12.06.91 c) 04.07.91	a) F001, F003 b) F102 c) F100	<i>P. flesus</i>	w _a , m _a	a) FK „Uthörn“ (BAH) b) c) Krabbenkutter „Ramona“
Weser	18.06.-19.06.91	F031, F032, F033, F035	<i>P. flesus</i> <i>L. limanda</i>	w _a , m _a w _a	Krabbenkutter „Land Wursten“
Schelde	08.07.-10.07.91	F153, F154, F155	<i>P. flesus</i>	w _a , m _a	Krabbenkutter „Magdalena“
Themse	16.07.-18.07.91	F163, F164, F165, F166 K019 (mit FS „Heincke“)	<i>P. flesus</i>	w _a , m _a	Krabbenkutter „Ina-K“
Tyne	23.07.-25.07.91	F170, F171, F172	<i>P. flesus</i>	w _a , m _a	FS „Bernicia“ (Uni Newcastle)
Eider	a) 06.04.-07.04.92 b) 13.04.92	a) F010, F011, F012 b) F015	<i>P. flesus</i> <i>L. limanda</i>	w _a , m _a w _a , m _a	a) Krabbenkutter „Capella“ b) FK „Uthörn“ (BAH)
Elbe	08.04.-10.04.92, 14.04.92	F102, F001, F003, F005 F005	<i>P. flesus</i> <i>L. limanda</i>	w _a , m _a	FK „Uthörn“ (BAH)
Weser	a) 14.04.92 b) 05.05.-07.05.92	a) F033, F035 b) F030, F031, F032, F033	<i>L. limanda</i> <i>P. flesus</i>	w _a , m _a w _a , m _a	a) FK „Uthörn“ (BAH) b) Hamenkutter „Freiheit“, Krabben- kutter „Heimatland“
Schelde	01.04.-03.04.92	F153, F155	<i>P. flesus</i>	w _a , m _a	Krabbenkutter „Magdalena“
Themse	16.03.-18.03.92	F163, F169, F165	<i>P. flesus</i>	w _a , m _a	Krabbenkutter „Ina K“
Tyne	04.03.-06.03.92	F170, F171, F173 F173	<i>P. flesus</i> <i>L. limanda</i>	w _a , m _a w _a	FS „Bernicia“
Firth of Forth	10.03.-11.03.92	F202	<i>P. flesus</i>	w _a , m _a	FS „Forth Ranger“ (Forth River Purification Board)

Geschl.: Geschlecht, w_a: Weibchen (adult), m_a: Männchen (adult)

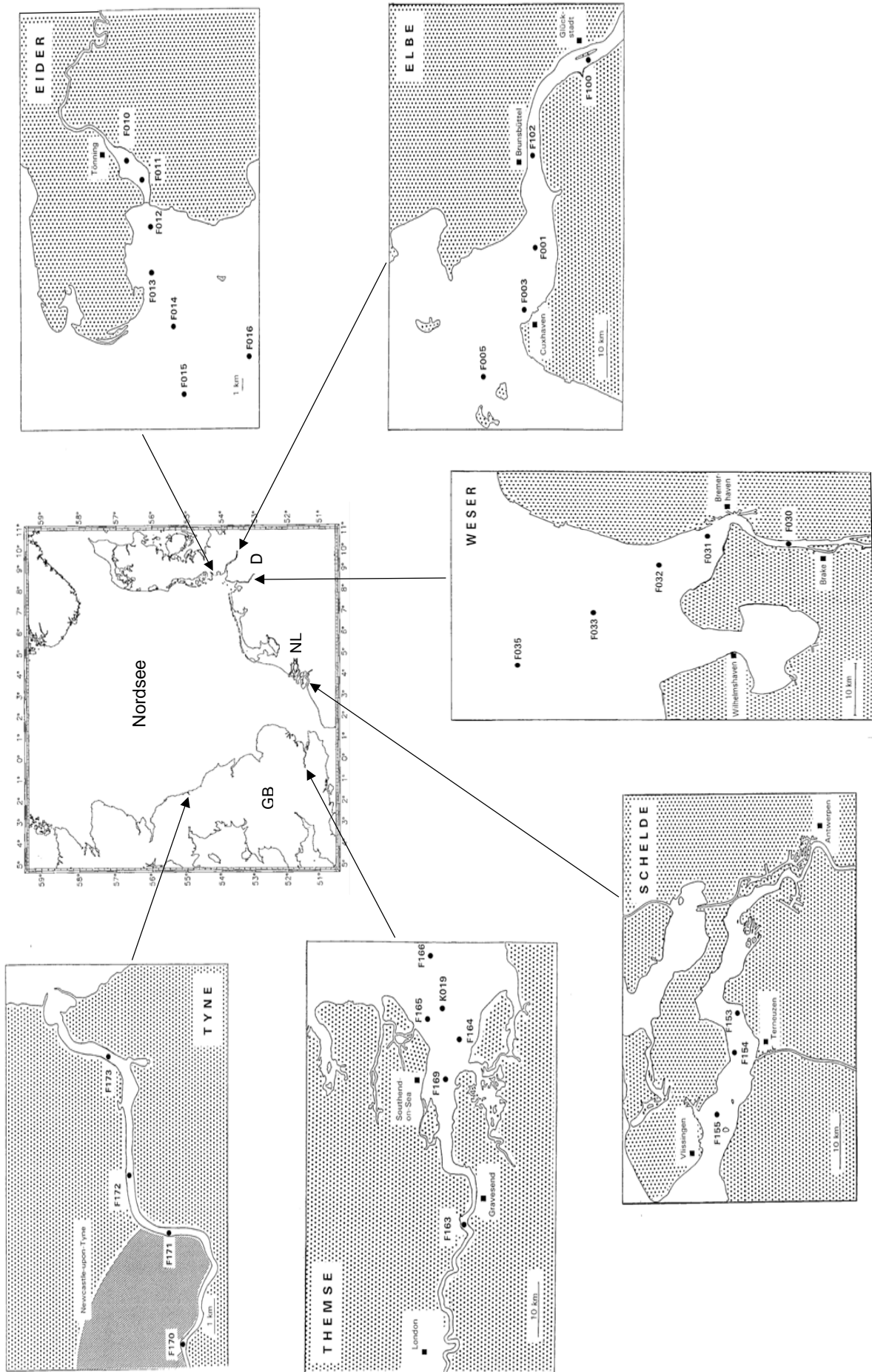


Abbildung 3: Untersuchte Ästuare und geographische Lage der Probenahmestellen

Im Jahr 1991 fanden die Probenahmen an insgesamt 25 Stationen in sechs Ästuaren (ohne Firth of Forth) im Zeitraum Mitte Mai bis Ende Juli statt (Tab. 3). Dabei kamen sieben verschiedene Fischereifahrzeuge zum Einsatz. In der Regel dauerte die Probenahme je Gebiet nicht länger als zwei Wochen. Allein in den Flüssen Eider und Elbe war ein etwas längerer Zeitraum erforderlich (Tab. 3), weil der FK „Uthörn“ nur für einen begrenzten Zeitraum zur Verfügung stand und während dieser Zeit wegen ungünstiger Wetterverhältnisse einzelne Stationen nicht angelaufen werden konnten. 1992 wurden die Probenahmen an 23 Stationen in allen sieben Ästuaren durchgeführt (Tab. 3). Zu diesem Zweck standen acht verschiedene Fischereifahrzeuge zur Verfügung. In sechs Flussmündungen war es möglich, die Befischung der vorgesehenen Stationen jeweils innerhalb einer Woche abzuschließen. In der Weser lagen zwischen erster und letzter Probenahme etwa drei Wochen. Aus organisatorischen Gründen mussten 1992 die Probenahmen in Ästuaren gegenüber 1991 insgesamt vorverlegt werden. Sie erfolgten in den Monaten März und April (Tab. 3).

Nachfolgend wird für jedes Ästuar die Lage der beprobten Stationen beschrieben, und tabellarisch die Entfernungen zwischen Stationen in km (Ziffer jeweils zwischen zwei Stationen kursiv und in Klammern) angegeben (vgl. Abb. 3).

Eider: Sieben Stationen (F010 bis F016) waren ausgewählt worden. Oberhalb des an der Küste gelegenen Eider-Sperrwerks befanden sich die Stationen F010 und F011. Sie waren vom Sperrwerk 8 km (F010, nahe Tönning) bzw. 3 km (F011) entfernt. Die übrigen Stationen lagen unterhalb des Sperrwerks. Diesem am nächsten positioniert war Station F012 (2 km Entfernung). Die Probenahmestellen F015 und F016 lagen im Vorküstenbereich und waren mit jeweils etwa 23 km am weitesten vom Sperrwerk entfernt. F016 befand sich südlich von F015 auf der Höhe von Büsum.

Station:	F010	F011	F012	F013	F014	F015	F016
Entfernung:		(5)	(5)	(6)	(7)	(8)	(13)

Elbe: Das Ästuar der Elbe war durch insgesamt fünf Probenahmestellen vertreten. Die am weitesten stromauf gelegene Station F100 befand sich bei Glückstadt (Stromkilometer 675) im Bereich der oberen Brackwassergrenze. Etwa 63 km stromab wurde am anderen Ende des untersuchten Stromabschnitts in der Außen-Elbe zwischen Gelbsand und Scharhörn Station F005 untersucht.

Station:	F100	F102	F001	F003	F005
Entfernung:		(23)	(19)	(13)	(15)

Weser: In der Weser wurden an insgesamt fünf Stationen Probenahmen durchgeführt. Die am weitesten flussauf befischte Station F030 bei Brake, etwa 30 km oberhalb von Bremerhaven, war deutlich durch Süßwasser beeinflusst. Unterhalb von Bremerhaven wurden Proben an den Stationen F031 (zwischen Wremen und Imsum), F032 (nordwestlich von Wremen) und F033 genommen. Weiter stromab in der Nähe des Leuchtturms „Alte Weser“ befand sich Station F035, die rund 46 km von Bremerhaven entfernt war.

Station:	F030	F031	F032	F033	F035
Entfernung:		(30)	(10)	(9)	(15)

Schelde: Probenahmestellen in der Schelde waren die Stationen F153, F154 und F155. F153 lag östlich von Terneuzen etwa 40 km unterhalb von Antwerpen. F155 befand sich querab Vlissingen. Beide Stationen waren etwa 22 km voneinander entfernt.

Station:	F153	F154	F155
Entfernung:		(8)	(14)

Themse: Alle sechs Stationen (F163, F169, F164, F165, K019, F166) befanden sich östlich und somit in Fließrichtung unterhalb von London. F163 war etwa 18 km von der Stadtgrenze entfernt. Der gesamte untersuchte Flussabschnitt war etwa 60 km lang. Die Stationen F165, K019 und F166 lagen nicht in einer Linie östlich von F164. Von dieser Station waren die beiden am weitesten flussab beprobten Stationen K019 und F166 etwa 10 km bzw. 15 km entfernt.

Station:	F163	F169	F164	F165	K019	F166
Entfernung:		(25)	(10)	(10)	(8)	(10)

Tyne: Die vier im Tyne untersuchten Stationen waren über einen etwa 12 km langen Gewässerabschnitt zwischen der Tynebridge (F170) im Zentrum von Newcastle-upon-Tyne und der Nordseeküste (F174) verteilt.

Station:	F170	F171	F172	F173	F174
Entfernung:		(3,5)	(2)	(3)	(3,5)

Firth of Forth: Die einzige Station F202 befand sich nahe Port Edgar, oberhalb der Forthbridge.

2.4 Probengewinnung

2.4.1 Hälterung der Fische an Bord

Nach dem Hieven und Entleeren des Netzes wurden Klieschen und/oder Flundern der zu untersuchenden Längen (s. u.) sofort aussortiert und bis zur Präparation ihrer Lebern in Wannen oder Balgen, gegebenenfalls nach Stationen getrennt, im Durchfluss gehältert. Die Hälterung in den belüfteten Becken dauerte in der Regel nicht länger als zwei Stunden. Auf den Forschungsschiffen stand ausreichend Arbeitsfläche zur Verfügung, so dass die Aufarbeitung der Fische bereits an Bord erfolgen konnte. Bei Probenahmen mit Kuttern war es aus räumlichen Gründen nicht möglich, die Fische an Bord aufzuarbeiten. In diesen Fällen wurden die Tiere ebenfalls so lange im Durchfluss gehältert, bis ihre Lebern an Land präpariert werden konnten.

2.4.2 Auswahl der Fische

Die Leberproben wurden ausschließlich Tieren ohne erkennbare äußerliche Krankheitserscheinungen entnommen. Darüber hinaus wurden nur Leberproben untersucht, die keine makroskopisch erkennbaren, möglicherweise bereits krankhaften Veränderungen wie Verfettung und Knoten aufwiesen. Diese Auswahl war geboten, weil einerseits ein Zusammenhang zwischen der Höhe der

EROD-Aktivität und dem Fettgehalt diskutiert wird und die hepatische Biotransformation andererseits durch degenerative Leberschäden beeinträchtigt werden kann (Wahl et al. 1995).

2.4.3 Längenbereiche

Die biologischen Untersuchungen an Lebern adulter Klieschen und Flundern beschränkten sich im Wesentlichen auf Tiere mit einer Gesamtlänge (L_G) zwischen 18,0 cm und 25,0 cm. Der Längenbereich war aufgrund der Empfehlungen des FuE-Vorhabens „Fischkrankheiten im Wattenmeer“ gewählt worden (Wahl et al. 1995). Während der umfangreichen Probenahmen war es trotz häufig mehrerer Hols je Station nicht immer möglich, diesen Längenbereich abzudecken. Daher war es vereinzelt erforderlich, auch Fische ab einer Gesamtlänge von 17,0 cm in die Untersuchungen einzubeziehen, um einen ausreichenden Stichprobenumfang zu erhalten. Die im Winter an Nordsee-Stationen aufgearbeiteten juvenilen Klieschen hatten eine Gesamtlänge von ≤ 12 cm. Die Länge der Fische wurde jeweils mit einem Messbrett auf 0,5 cm genau (below) gemessen.

2.4.4 Stichprobenumfang und Geschlecht

Ziel war es, an jeder Station Leberproben von jeweils $n = 6$ bis 25 adulten Weibchen und Männchen zu entnehmen. An Nordsee-Stationen, die im Winter beprobt wurden, wurden darüber hinaus auch juvenile Klieschen beiderlei Geschlechts untersucht. In den Ästuaren und während der Probenahme in der Nordsee im Sommer 1991 wurden ausschließlich adulte Tiere gefangen und aufgearbeitet. Der gewählte Stichprobenumfang sollte eine ausreichende Datenbasis für die statistische Auswertung gewährleisten. Er entsprach den Empfehlungen des ICES (1992) zur Durchführung eines biologischen Effekt-Monitorings und den Erfahrungen des Projekts „Fischkrankheiten im Wattenmeer“ (Wahl et al. 1995).

An den meisten Stationen war es möglich, den maximalen Stichprobenumfang ($n = 25$) zu erzielen. Aufgrund des umfangreichen Arbeitsprogramms des Projekts „Fischkrankheiten in der Nordsee“, der engen Terminplanung der Schiffseigner und fest vereinbarten Schiffszeiten musste jedoch an einigen Stationen die Probenahme bei einem kleineren Stichprobenumfang abgebrochen werden, wenn auch wiederholte Hols nicht den gewünschten Erfolg brachten.

2.4.5 Reifegrad der Gonaden

Der Entwicklungsgrad der Gonaden wurde an jedem adulten Fisch bestimmt, dem Lebergewebe für die Untersuchung der Enzymaktivität entnommen wurde. Die Klassifizierung erfolgte makroskopisch anhand einer von Maier (zit. in Bückmann 1929) entwickelten achtstufigen Tabelle der Reifegrade (RG) für Fische. Die wesentlichen histologischen Merkmale der verschiedenen Entwicklungsstadien sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Reifegrade der Gonaden von Fischen (nach Maier aus Bückmann, 1929, verändert)

Reifegrad	Weibchen	Männchen
I (jugendlich)	das Ovar juveniler Fische ist klein, glashell durchsichtig und in der Regel farblos; mit dem bloßen Auge sind Eier nicht erkennbar	Hoden glashell durchsichtig, farblos bis grau, klein
II (Ruhe)	Ovar trübe durchscheinend, von rötlicher bis rötlichgrauer Farbe, klein mit straffen Wänden; Eier mit der Lupe erkennbar	Hoden trübe, graurötlich durchscheinend, klein
III und IV	Ovar undurchsichtig, orange bis rötlichweiß, wenig größer als in II, reich an Blutgefäßen; in IV wird die Hälfte der definitiven Länge erreicht, Ovar dann prall mit Eiern gefüllt	Hoden undurchsichtig, reich an Blutgefäßen, klein; Farbe wird in IV weiß, noch klein; kein Sperma beim Drücken
V (Streckung)	Ovarien erreichen ihre definitive Länge und Dicke, sie sind prall, mit brüchigen Wänden; vereinzelt sind bereits glashelle, laichreife Eier erkennbar	Hoden undurchsichtig, weiß, definitive Länge erreicht; auf Druck fließt Sperma ab (Milch); Wände weich
VI (Laichreife)	Beginn der eigentlichen Laichreife, Ovar durchscheinend graurötlich; Lumen ist mit fließendem Laich erfüllt; Mehrzahl der Eier voll entwickelt (glashell); Eier fließen auf Druck leicht ab	Sperma fließt beim Drücken ab (Milch)
VII	ein Großteil der Geschlechtsprodukte ist bereits abgegeben, die Wände der sich verkürzenden Ovarien sind schlaff und reich an Blutgefäßen	Hoden undurchsichtig weiß, und bereits verkürzt; Sperma fließt aus; Wände schlaff und weich
VIII (ausgelaicht)	Ovarien stark verkürzt, mit sehr schlaffen Wänden, Laichprodukte sind nicht mehr vorhanden; Reifegrad VIII geht allmählich in Stadium II über	Hoden dunkelrot bis graurötlich, stark verkürzt, kein Sperma, Wände schlaff; in II übergehend

2.4.6 Präparation und Konservierung der Leber

Die Fische wurden mittels Durchtrennung der Wirbelsäule im hinteren Kopfbereich getötet. Während der anschließenden Leberpräparation wurde jedes Beschädigen der Gallenblase vermieden. Für die Bestimmung der Enzymaktivität wurde bei adulten Tieren ausschließlich Gewebe des ventralen Leberlappens verwendet, der von der Einmündung des Ductus hepaticus in die Leber weit genug entfernt ist, wodurch ein Kontakt mit Gallenflüssigkeit vermieden wurde. Darauf wurde bei juvenilen Fischen gleichermaßen geachtet, wenn es auch oft erforderlich war, nahezu das gesamte Organ zu präparieren, um genügend Untersuchungsmaterial zur Verfügung zu haben.

Das Leberstück wurde sofort nach seiner Entnahme in eine mit der Stations- und Individuenummer gekennzeichneten Aluminiumfolie verpackt und in flüssigem Stickstoff (-196 °C) schockgefroren. Große Probenstücke wurden vor dem Einfrieren zerteilt, um einen gleichmäßig verlaufenden Gefrierprozess zu gewährleisten. Im Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene wurden die Leberproben später stationsweise in verschließbare Kunststoffgefäße überführt und bis zur Messung der EROD-Aktivität in einer Tiefkühltruhe bei -80 °C aufbewahrt.

An mehreren Stationen wurden von denselben adulten Fischen, denen Leberproben für die biochemische Untersuchung aufgearbeitet wurden, weitere Proben entnommen. An diesem Material wurde von anderen Arbeitsgruppen des FuE-Vorhabens „Fischkrankheiten in der Nordsee“ (Landwüst et al. 1996) der Gehalt verschiedener Organochlorverbindungen bestimmt.

2.5 Bestimmung der hepatischen EROD-Aktivität

2.5.1 Gewinnung der Mikrosomenfraktion

Die am Fremdstoffmetabolismus beteiligten CYP1A-abhängigen Monooxygenasen der Wirbeltiere kommen in unterschiedlichen Organen vor. Sie sind in der Leber am stärksten induzierbar. Sie sind dort am glatten ER lokalisiert, wobei Cytochrom P450 nur locker, mittels transmembraner Peptidsegmente mit der ER-Membran verbunden ist (Brown und Black 1989). Das aktive Ende des Enzyms ragt in das Cytoplasma. Zur quantitativen Bestimmung der CYP1A-Aktivität ist es erforderlich, die Mikrosomenfraktion der Leberzellen zu gewinnen, die vorwiegend aus Bruchstücken von Membranen des ER besteht.

Die Gewinnung der Mikrosomenfraktion erfolgte entsprechend dem von Pluta et al. (1991) beschriebenen Verfahren. Zunächst wurden 100 mg bis 500 mg Leberprobe in 3 ml Phosphatpuffer mit Hilfe einer mechanisch angetriebenen Teflon-Pistille homogenisiert. Dabei wurde der Stab immer in gleicher Weise 3- bis 5-mal kurz in das Homogenisat eingetaucht, um eine Erwärmung der Enzyme zu vermeiden. Anschließend wurden die Zellorganellen im Homogenisat durch differenzielle Zentrifugation in zwei Schritten getrennt: Gewinnung des postmitochondrialen Überstandes und aus diesem Abtrennung der Mikrosomenfraktion. Nach der zweiten Zentrifugation wurde die resuspendierte Mikrosomenfraktion in ein Eppendorfgefäß überführt, das in einem Alublock (Eisbad) mit entsprechenden Bohrungen aufbewahrt war, um die Enzymaktivität nicht zu beeinträchtigen. Ebenso wurden Lösungen und sämtliche verwendeten Geräte (z. B. Handhomogenisator, Zentrifugenröhrchen, Zentrifugenrotor) im Eisbad gekühlt oder bis zu ihrer Verwendung bei +4 °C aufbewahrt. Für die vorliegende Untersuchung erfolgten die Aufarbeitung der Proben und die Messung der Enzymaktivität immer am selben Tag. Die Arbeitsschritte und ergänzende Hinweise zur Ausführung sind nachfolgend tabellarisch zusammengefasst (Tab. 5).

2.5.2 Individual- und Mischproben

Die Enzymaktivitäten adulter Klieschen und Flundern wurden an einzeln aufgearbeiteten Leberproben (Individualprobe) gemessen. Davon ausgenommen waren Flundermännchen aus britischen Ästuaren und Klieschenmännchen von Küsten-Stationen (Probenahmen Juli, August 1991) sowie sämtliche juvenile Klieschen. Deren Lebern wurden stationsweise jeweils als Mischprobe (Poolprobe) untersucht. Zu diesem Zweck wurden Leberstücke der entsprechenden Individuen zu gleichen Gewichtsanteilen zusammengefasst und gemeinsam wie oben beschrieben aufgearbeitet.

Tabelle 5: Aufarbeitung von Leberproben zur Bestimmung der EROD-Aktivität

Arbeitsschritt	Ausführung/Erläuterung		Gerät, Firma
Probe behutsam auf Eis auftauen	Probe im Alubriefchen auf Eis		
Probengewicht ermitteln und protokollieren	Leberstück gegebenenfalls verkleinern	min. 0,1 g, max. 0,5 g (Individualprobe)	Präzisionswaage (Sartorius)
Homogenisieren	Probe in Homogenisator überführen		Potter-Elvehjem-Gewebebehandlungshomogenisator aus Borsilikatglas (B. Braun), Teflonstempel mit Edelstahlstab
	3 ml Phosphatpuffer (0,1 M) pipettieren	28,65 g Na ₂ HPO ₄ * 12 H ₂ O 2,72 g KH ₂ PO ₄ 11,18 g KCl auf 1 l in A. bidest. lösen, pH 7,4 für Flunder und Kliesche	Chemikalien: Merck
	Teflonstempel 3- bis 5-mal eintauchen		Mechanischer Antrieb, 2.800 U/min (Bosch)
1. Zentrifugationsschritt (Gewinnung des postmitochondrialen Überstands)	Überstand vollständig dekantieren		Zentrifugenglas: Polycarbonatröhrchen (Beckman)
		20 Minuten bei 10.000 * G, +4 °C	Kühlzentrifuge J-21 (Beckman), mit Rotor JA-20: 10.000 * G = 11.500 U/min
			Bechergläser: Schott Duran
2. Zentrifugationsschritt (Gewinnung der Mikrosomenfraktion)	Überstand dekantieren und werfen		
	mikrosomales Pellet vorsichtig resuspendieren		Zentrifugenglas: Polycarbonatröhrchen (Beckman)
	Mikrosomenfraktion in ein Eppendorfgefäß überführen und das Volumen ermitteln	bei Bedarf: eine Unterprobe (etwa 1 ml) für die Bestimmung des Gesamtproteins abnehmen 60 Minuten bei 105.000 * G, +4 °C entspr. 50.000 U/min	Ultrazentrifuge Optima TL (Beckman) Festwinkelrotor TL 100.4
	das darunterliegende feste, gelartige Pellet möglichst nicht lösen	mit 1 ml 20%igem Glycerin-Phosphatpuffer (0,1 M) aufnehmen	Glycerin: Merck
	mehrmaliges Pumpen mit einer 1000-µl-Pipette, Vortex; vor der Messung noch einmal durchmischen (# Pipettenspitzen nicht wegwerfen)	eine Unterprobe für die Proteinbestimmung erst nach der Messung der Enzymaktivität abnehmen (daher s. #)	

Juvenile Klieschen wurden 1992 nach Geschlechtern getrennt untersucht, weshalb je Station bis zu zwei Messwerte vorliegen. 1991 erfolgte die Untersuchung juveniler Weibchen und Männchen gemeinsam stationsweise in einer Mischprobe. Leberproben von Flundermännchen aus britischen Ästuaren und Klieschenmännchen von Küsten-Stationen wurden je Station in mehreren Mischproben mit jeweils $n = 5$ Proben aufgearbeitet.

2.5.3 Bestimmung der EROD-Aktivität

Grundlage zur Bestimmung der Cytochrom-P450-Aktivität *in vitro* war das von Burke und Mayer (1974) beschriebene und entsprechend Addison und Edwards (1988) sowie Pluta et al. (1991) modifizierte Verfahren. Den in der Mikrosomenfraktion angereicherten Enzymen wurde als Modellsubstrat 7-Ethoxyresorufin (7-ER) (Pierce) im Überschuss angeboten, das in einer biochemischen Reaktion durch die 7-Ethoxyresorufin-O-Deethylase (EROD) der Fischleber oxidiert wird. Das Reaktionsprodukt Resorufin wurde kontinuierlich fluorimetrisch gemessen. Die Fluoreszenzintensität entspricht der während der enzymatischen Reaktion entstandenen Resorufin-Konzentration. Diese ist wiederum proportional zur EROD-Aktivität der Probe.

Von 7-Ethoxyresorufin wurde zunächst eine 50 μ molare Stammlösung hergestellt (1 mg des Substrats in 83 ml Methanol p. a. (Merck) gelöst). Diese Stammlösung kann in Einheiten von jeweils 5 ml im Gefrierschrank gelagert werden. Kurz vor der Messung wurde eine Substratverdünnung aus 1 Teil Stammlösung und 4 Teilen Phosphatpuffer hergestellt, die höchstens 2 Stunden lang verwendet und bei Bedarf neu angesetzt wurde. Ebenfalls erst unmittelbar vor der Messung wurde die NADPH-Lösung (8 mg NADPH/ml Phosphatpuffer) (NADPH: Boehringer) angesetzt. Die Gefäße mit dem gelösten NADPH und 7-Ethoxyresorufin wurden zum Schutz vor direktem Lichteinfall mit Alufolie umwickelt und im Eisbad aufbewahrt.

Die EROD-Aktivität wurde am Fluoreszenz-Spektralphotometer LS-3 von Perkin Elmer (Excitationswellenlänge: 530 nm, Emissionswellenlänge: 586 nm) bestimmt, das geschützt vor direktem einfallendem Tageslicht in einem abgedunkelten Raum aufgestellt war. Der Küvettenhalter des Geräts wurde mit Hilfe eines Thermostats (Lauda) temperiert und war zusätzlich mit einem Magnetrührer ausgestattet. Sämtliche Messungen wurden bei +20 °C durchgeführt. Vor jeder Messreihe wurden die Gerätefunktion und die angesetzten Lösungen mit 1.890 μ l Phosphatpuffer, 100 μ l Substrat und 10 μ l NADPH-Lösung überprüft. Zur Messung der EROD-Aktivität wurden in einer Einmal-Kunststoffküvette (Sarstedt) folgende Substanzen in der angegebenen Reihenfolge pipettiert:

1.840 μ l	Phosphatpuffer (+20° C)
100 μ l	Substrat (7-Ethoxyresorufin)
50 μ l	Probe (Mikrosomenfraktion)
	(je nach Enzymaktivität sind 25 μ l oder 100 μ l möglich, Puffervolumen anpassen)
10 μ l	NADPH-Lösung

Die Fluoreszenzintensität wurde mit einem Schreiber (R100A, Perkin Elmer) über eine Minute graphisch aufgezeichnet (Papiervorschub am Schreiber: $60 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$). Die Verstärkung am LS-3 wurde so gewählt, dass die Steigung der Geraden nicht weniger als 45° betrug, um Ablesefehler beim Ausmessen gering zu halten.

Jede Probe wurde dreimal gemessen. Für die Angabe der gesuchten ERODM- bzw. ERODL-Aktivität (s. u.) wurde zunächst die Enzymaktivität ausgedrückt als Menge gebildetes Resorufin bezogen auf das eingesetzte Probenvolumen (Mikrosomenfraktion, ml) nach folgender Formel berechnet:

$$P \cdot H \cdot T^{-1} \cdot X^{-1} \cdot F \cdot V^{-1} = \text{EROD-Aktivität} [\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{ml}^{-1}]$$

wobei:

P	Papiervorschub des Schreibers [$\text{mm} \cdot \text{min}^{-1}$]
H	Fluoreszenzlevel gemessen nach T [mm] (Steigung)
T	Zeitintervall (1 min), nach dem das Fluoreszenzlevel gemessen wurde [mm]
X	Verstärkung; ergibt sich für das Fluoreszenzspektralphotometer LS-3 aus: $\text{Fix scale} \cdot \text{Range}^{-1} \cdot 1000$
F	Berechnungsfaktor aus der Eichgeraden [$\text{pmol} \cdot \text{mm}^{-1}$]
V	eingesetztes Probenvolumen (Mikrosomenfraktion) [ml]

Als Ergebnis wird die EROD-Aktivität entsprechend Hodson et al. (1991) bezogen auf den Proteingehalt in der Mikrosomenfraktion ($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) als spezifische Aktivität (ERODM-Aktivität) und als Gesamtaktivität (ERODL-Aktivität) pro Gramm Lebergewebe angegeben:

ERODM: [$\text{pmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$]

ERODL: [$\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$].

Bei dreifacher Messung betrug die maximale Messungenauigkeit $\pm 5 \%$.

Geräteeichungen wurden in regelmäßigen Abständen mit Resorufin (7-Hydroxy-3H-phenoxazin-3-on-Natriumsalz, 1 Mol = 213,90 g) (Pierce) durchgeführt. Für die Stammlösung wurde 1 mg Resorufin in 250 ml gekühltem Phosphatpuffer (pH 7,4) gelöst. Resorufin ist lichtempfindlich, weshalb der Messkolben mit Aluminiumfolie umwickelt und lichtgeschützt aufbewahrt wurde. Von der Stammlösung wurden unterschiedliche Volumina, z. B. 1, 5, 10, ..., 70 μl usw. in die Messküvette pipettiert, mit Phosphatpuffer auf jeweils 2.000 μl aufgefüllt und am Fluoreszenzspektralphotometer LS-3 gemessen (Excitation: 530 nm, Emission: 586 nm). Es wurden sowohl der jeweilige digitale Messwert als auch die mit einem Schreiber graphisch ermittelte Erhöhung des Fluoreszenzniveaus notiert. Die Eichgerade ergibt sich aus den Eichvolumina (umgerechnet in pmol Resorufin) einerseits und den entsprechenden graphisch ermittelten bzw. den abgelesenen digitalen Messwerten andererseits.

2.5.4 Proteinbestimmung

Die Bestimmung der Proteinkonzentration in der Mikrosomenfraktion erfolgte nach einer Arbeitsvorschrift von Diercking und Pluta (Pluta, persönliche Mitteilung). Grundlage war das von Lowry et al. (1951) entwickelte Verfahren. Sein Prinzip beruht auf einer durch Proteine herbeigeführten Reduktion des Phosphormolybdat-Wolframat-Komplexes, die von einer charakteristischen Farbänderung von gelb nach blau begleitet wird. Die Unterprobe für die Proteinbestimmung wurde der Mikrosomenfraktion im Anschluss an die Messung der EROD-Aktivität entnommen. Die Angabe der Proteinkonzentration in den Tabellen in Anhang A erfolgt in $\text{mg} \cdot \text{g Leber}^{-1}$ (= MPROT).

Benötigte Chemikalien (Merck) und Lösungen:

- Reagenz A: 20 g Na_2CO_3 + 100 ml 1M NaOH in 1000 ml A. bidest.
- Reagenz B: 1,63 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ + 7,68 g K-Na-Tartrat + 50 ml 1M NaOH in 1.000 ml A. bidest. (alkalische Kupferlösung)
- Reagenz C: Mischung von A und B im Verhältnis 50:1
- Reagenz D: Folin-Ciocalteus Phenolreagenz zu gleichen Teilen mit A. bidest. verdünnt, Lösung ist lichtempfindlich

Die Lösungen A und B sind mehrere Monate im Kühlschrank (+4 °C) haltbar. Lösungen C und D wurden vor jeder Messung frisch angesetzt. Die Proteinbestimmung erfolgte bei Raumtemperatur.

Für die Bestimmung der Proteinkonzentration wurden in der Regel 100 μl Probe im Reagenzglas vorgelegt und mit 1.950 μl A. bidest. verdünnt (1:20). Bei sehr geringem Proteingehalt wurde das doppelte Probenvolumen bei entsprechend geringerem Verdünnungsverhältnis eingesetzt. Unter Einhaltung konstanter Zeitabstände wurden anschließend 300 μl der verdünnten Probe mit 5.000 μl Lösung C gemischt und 10 Minuten nach Zugabe von Lösung C 300 μl Lösung D hinzupipettiert. Nach 30 Minuten Reaktionszeit wurde die Extinktion am Photometer bei 750 nm gegen den Leerwert gemessen. Nach jedem Pipettierschritt und noch einmal kurz vor der Messung wurde jedes Reagenzglas am Vortex gut geschüttelt. Die Färbung ist etwa 1 Stunde stabil. Für die Erstellung der Eichkurve wurde als Standard Rinderserum-Albumin (Serva) (Stammlösung: 1 g/ml A. bidest.) verwendet.

2.6 Statistische Verfahren, graphische Darstellung und verwendete Software

Das Tabellenkalkulationsprogramm EXCEL[®] (Microsoft) diente zur Messwerterfassung und für grundlegende Berechnungen. Umfangreiche statistische Analysen wurden mit SAS[®] (Statistical Analysis System) durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit SIGMA PLOT[®] graphisch dargestellt. Grundlage der statistischen Auswertungen waren die Standardwerke von Sachs (1969), Lienert (1973) und Bortz et al. (1990).

Die biologischen Messwerte waren in der Regel nicht normalverteilt, sondern linksseitig (positiv) schief verteilt, wie entsprechende Tests mit dem Statistikprogramm SAS zeigten. Daher war für sämtliche statistische Auswertungen die Anwendung nichtparametrischer (verteilungsfreier) statistischer Testverfahren geboten. Solche Verfahren können eingesetzt werden, wenn Daten mit mindestens ordinalem Messniveau, das sind z. B. Rangzahlen, vorliegen (Bortz et al. 1990). Für die Ermittlung signifikanter Unterschiede zwischen Stichproben bzw. Medianen wurden Rangordnungstests (U-Test, H-Test) und ein varianzanalytisches Verfahren (Rangtest nach Nemenyi) angewandt. Die Untersuchung einer korrelativen Beziehung zwischen den Messwerten zweier Parameter erfolgte mit Hilfe einer Rangkorrelation. Wenn innerhalb einer Reihe von Messwerten Bindungen (mehrmals gleiche Werte) auftraten, wurden Rangaufteilungen vorgenommen und die Tests mit den bindungskorrigierten Rängen durchgeführt.

2.6.1 Vergleich der Stichproben

Unterschiede zwischen zwei Stichproben, beispielsweise Weibchen und Männchen von einer Station, zwei benachbarte Stationen, Messwerte zu einer Station aus zwei Jahren, wurden mit dem parameterfreien Rangtest nach Wilcoxon, Mann und Whitney (U-Test) auf Signifikanz geprüft. Der U-Test ist empfindlich gegenüber Medianunterschieden und eines der schärfsten nichtparametrischen Prüfverfahren (Sachs 1969). Die Nullhypothese, kein signifikanter Unterschied zwischen den geprüften Stationen, wurde gegen die Alternativhypothese immer zweiseitig und bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % und 1 % (Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ bzw. $\alpha = 0,01$) geprüft.

Bei mehr als zwei Stationen ($k > 2$) erfolgte die Prüfung, ob beobachtete Unterschiede zwischen den zu vergleichenden k Stichproben der Stationen als signifikant anzusehen waren, mit dem H-Test nach Kruskal und Wallis. Diese parameterfreie Varianzanalyse ist eine Verallgemeinerung des U-Tests von zwei auf k Stichproben (Bortz et al. 1990). Der H-Test prüft Unterschiede in der zentralen Tendenz zwischen k Stichproben. Ein signifikantes Ergebnis dieses Tests (Signifikanzprüfung: zweiseitige Fragestellung auf dem 5 %- und 1 %-Niveau) besagt lediglich, dass die Nullhypothese nicht zutrifft, d. h., mindestens eine der k Stichproben entstammt nicht der gleichen Grundgesamtheit. Deshalb wurde anschließend der multiple („post hoc“) Vergleich nach Nemenyi (Nemenyis D_{ij} -Test) angewandt, um aus einer Anzahl Stationen diejenige(n) zu ermitteln, die sich signifikant von anderen unterschied(en). Dieser Test ist formallogisch nur zweiseitig anwendbar (Lienert 1973).

Die an Klieschen von Nordsee-Stationen erhobenen Messwerte wurden in zwei Schritten nach dem oben beschriebenen Verfahren (H-Test) statistisch ausgewertet. Zunächst wurden die nach Geschlecht und Jahr getrennten Messergebnisse sämtlicher untersuchten Stationen miteinander verglichen (globaler Vergleich). In einer zweiten Untersuchung wurden die Gegenüberstellungen schrittweise regional vorgenommen, indem jeweils die zu einem Gebiet zusammengefassten Stationen (z. B. östliche Nordsee mit Deutscher Bucht und dänischer Küste, westliche Nordsee mit britischer Küste, Doggerbank) miteinander verglichen wurden. Bei den Ästuaren wurden jeweils die Messwerte von allen in einem Ästuar untersuchten Stationen miteinander verglichen.

2.6.2 Zusammenhänge zwischen zwei Reihen von Messwerten

Die Analyse möglicher korrelativer Beziehungen zwischen der ERODM- bzw. ERODL-Aktivität einerseits und der Laichreife bzw. der Totallänge der untersuchten Fische andererseits erfolgte mit Hilfe der Spearman-Rangkorrelation. Die Signifikanzprüfung erfolgte bei zweiseitiger Fragestellung auf dem 5 %- und 1 %-Niveau. Der berechnete Rangkorrelationskoeffizient r_s wurde auf dem jeweiligen Signifikanzniveau gegen den Tabellenwert r_s^* (Sachs 1969) geprüft.

Zur Ermittlung von Zusammenhängen zwischen der Laichreife und EROD-Aktivität wurden nur Stationen herangezogen, an denen mindestens drei Reifegrade mit jeweils mehreren Individuen vertreten waren. Auf diese Weise sollten Schein-Korrelationen vermieden werden. Eine zusätzliche graphische Prüfung diente dem Zweck, Klarheit über den Charakter der Datenverteilung zu gewinnen und so falschpositive Ergebnisse aufgrund der Verteilung der Messwerte zu erkennen. Sämtlichen Berechnungen liegen Messungen an Individualproben zugrunde.

2.6.3 Darstellung der Messwerte

Aus den gleichen Überlegungen, die die Anwendung nichtparametrischer Tests nahe legten, wurde zur Charakterisierung einer Stichprobe anstelle des arithmetischen Mittelwertes der Medianwert berechnet. Das ist bei ungerader Anzahl von Messwerten derjenige mittlere Wert in der nach der Größe der Einzelwerte geordneten Reihe, der die Reihe halbiert. Der Medianwert bleibt im Gegensatz zum arithmetischen Mittel von Extremwerten vollkommen unbeeinflusst (Sachs 1969). Die graphisch dargestellten „Box- und Whisker-Plots“ geben den Medianwert (Linie in der Box), das untere Quartil (Q_1 , Untergrenze der Box) sowie das obere Quartil (Q_3 , Obergrenze der Box) an (Abb. 4). Innerhalb der Box liegen daher 50 % der Beobachtungen. Die Begrenzungen der ausgezogenen Linien (Whisker) geben das 1. Dezil (unten) und das 9. Dezil (oben) an. Diese Grenzen schließen somit 80 % der Beobachtungen ein. Bei kleinem Probenumfang kann nur die Box, nicht aber die Whisker dargestellt werden. Das ist zum Beispiel bei der Darstellung der in mehreren Mischproben untersuchten Lebern der Klieschenmännchen von Küsten-Stationen (August 1991) der Fall.

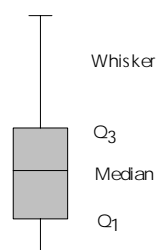


Abbildung 4: Box- und Whisker-Plot

Wenn nachfolgend im Zusammenhang mit den Enzymaktivitäten adulter Fische von mittleren oder medianen ERODM- oder ERODL-Aktivitäten die Rede ist, dann ist mit dieser Formulierung der Medianwert gemeint. Lebern juveniler Klieschen aus der Nordsee wurden ausnahmslos in Mischproben untersucht, weshalb je Station höchstens zwei Messwerte, jeweils ein Wert für Weibchen und Männchen, vorliegen. Diese Messwerte werden als Balkendiagramme dargestellt.

2.6.4 Vergleich anhand von Rangzahlen

Für Vergleichszwecke werden die Medianwerte der EROD-Aktivitäten von Klieschen an Nordsee-Stationen auch durch Rangzahlen dargestellt. Dazu wurden die Medianwerte in Anlehnung an die parameterfreien Verfahren jeweils der Größe nach sortiert und durch aufsteigende Rangzahlen ersetzt. Einem hohen Rang entspricht ein hoher Messwert. Die Rangreihen sind nach oben offen, d. h., Rang 1 steht in jedem Fall für den niedrigsten Wert. Die höchste Rangzahl hängt dagegen von der Anzahl (n) miteinander verglichener Stationen ab. Bei der Interpretation der Daten ist immer zu beachten, dass sich je Vergleichsgruppe die Rangzahlen allein aus dem Ranking der Messwerte dieser Gruppe ergeben (z. B. EROD-Aktivität von Klieschenmännchen an einer bestimmten Station). Die Rangplätze geben somit relative Unterschiede zwischen den Medianwerten innerhalb jeder Gruppe (z. B. Weibchen) wieder, weshalb die geographischen Verteilungen direkt miteinander vergleichbar sind. Weil die Ränge nur relative Bezüge zwischen Stationen wiedergeben, kann von der Rangnummer nicht auf den absoluten Messwert geschlossen werden. Daher können auch die für beide Jahre getrennt berechneten Ränge völlig unterschiedliche Messwerte repräsentieren. Dennoch ist es in jedem Fall möglich, die Verteilungsmuster der Rangzahlen (und somit die der verschieden hohen Enzymaktivitäten) miteinander zu vergleichen.

Das Rang-Verfahren ermöglichte z. B. direkte Vergleiche geographischer Verteilungen der EROD-Aktivitäten von z. B. adulten und juvenilen Klieschen aus der Nordsee anhand der auf relativen Unterschieden beruhenden Rangzahlen. Voraussetzung war, dass die Vergleichsgruppen an den zu vergleichenden Stationen (= Stichproben) parallel untersucht wurden. Zusätzlich wurden die regionalen Verteilungen der Medianwerte durch Berechnung des Spearman'schen Rang-Korrelationskoeffizienten beurteilt, der ebenfalls die auf Ränge reduzierten Werte miteinander vergleicht. Diese Prüfung wurde schrittweise vorgenommen, indem jeweils zwei der maximal vier möglichen Vergleichsgruppen von Nordsee-Stationen (adulte Weibchen und Männchen, juvenile Weibchen und Männchen) jeweils für ERODM und ERODL gegenübergestellt wurden. Die Prüfung erfolgte für die einseitige Fragestellung, weil die Gleichheit der Verteilungen untersucht werden sollte. Es muss hervorgehoben werden, dass mit dieser Prüfung keine kausale Korrelation (Zusammenhang zwischen zwei Parametern), sondern nach Sachs (1969) eine Gemeinsamkeitskorrelation (gemeinsame Abhängigkeit von dritten Größen) untersucht wurde.

2.6.5 Vergleich benachbarter Stationen

Neben der Signifikanzprüfung wurden relative Unterschiede zwischen den Stichproben verschiedener Stationen untersucht. Dazu wurden Stationspaare gebildet und die prozentualen Unterschiede zwischen den Medianwerten berechnet. In Ästuaren wurde jeweils beginnend mit der am weitesten stromauf untersuchten Station die Änderung des Medianwertes zur nächsten unterhalb davon gelegenen Station berechnet. Nordsee-Stationen wurden ebenfalls paarweise gegenübergestellt. Die Vergleiche beschränkten sich auf räumlich benachbarte Stationen, z. B. Stationen in der Deutschen Bucht. Die Anzahl der mit Nordsee-Stationen gebildeten Paare ist größer als die Summe tatsächlich untersuchter Stationen, weil teilweise eine Station mit mehreren benachbarten Stationen verglichen wurde.

Die Untersuchung prozentualer Unterschiede zwischen den Medianwerten sollte in Ergänzung zu den oben beschriebenen Verfahren weitere Hinweise auf die Verteilung der Messwerte geben. So wurde anhand dieser Berechnungen ermittelt, wie sich die EROD-Aktivitäten zwischen küstenfernen und -nahen Stationen und parallel zu Küsten änderten, ob die prozentualen Änderungen der ERODM- und ERODL-Aktivitäten ähnlich waren und ob sich die Medianwerte beider EROD-Parameter bei Weibchen und Männchen zwischen zwei Stationen in gleicher Weise änderten.