

Freshwater mussels; State of the art & Barcoding

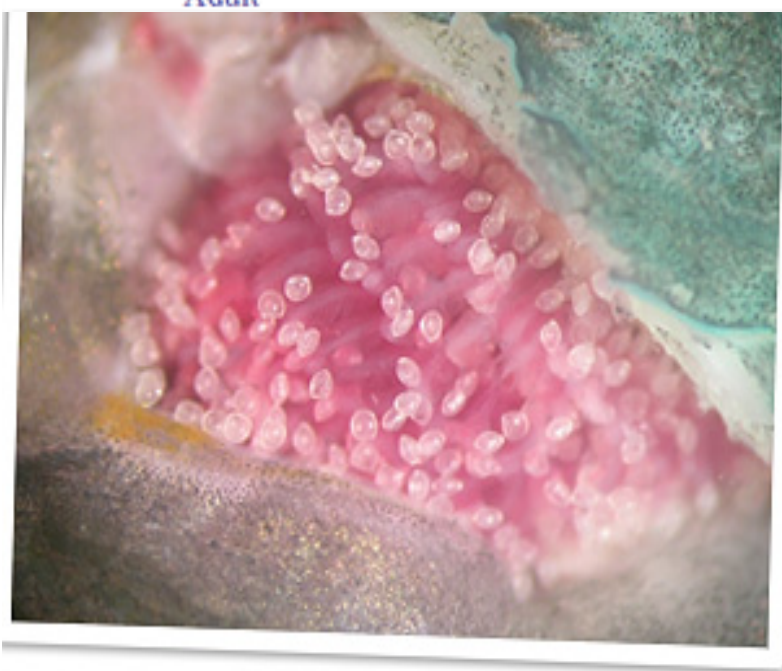
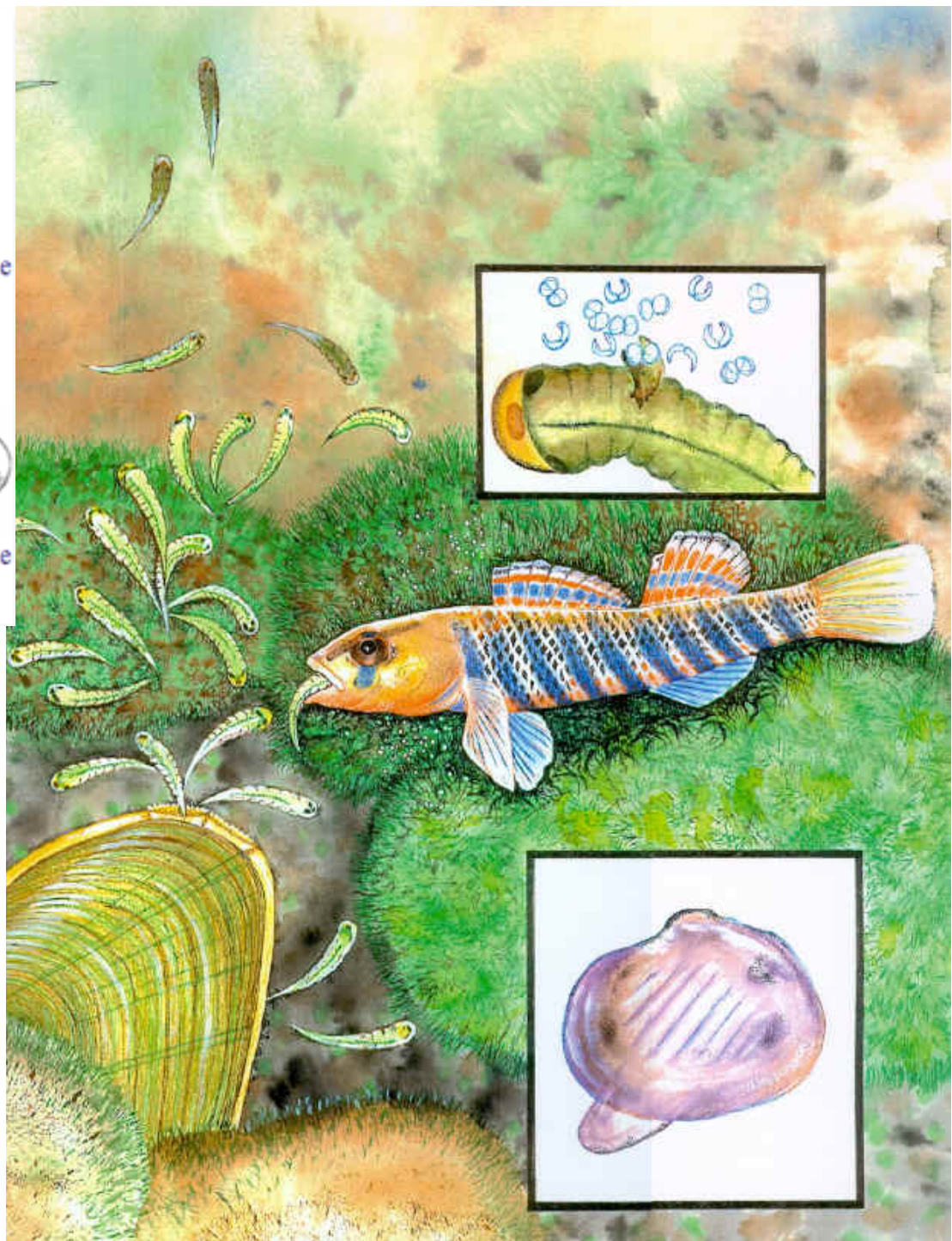
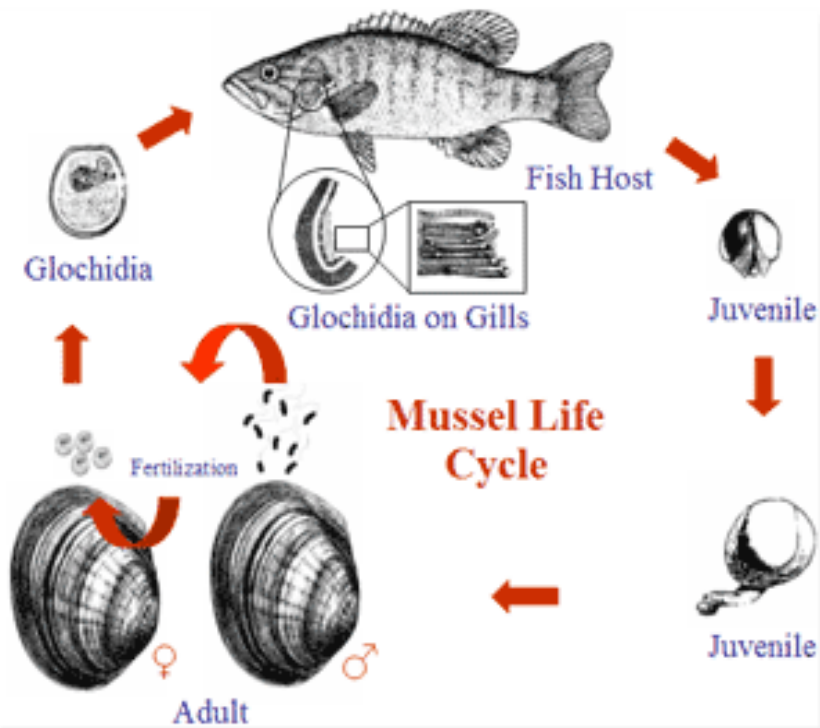
Stefan Lundberg
Swedish Museum of Natural History
Stockholm Sweden

*December 3, 2014
Department of Aquatic
Resources, Drottningholm*



Naturhistoriska
riksmuseet





Mussel glochidia encysted on a fish's gills.

Diversity of freshwater mussels:

Approx. 1000 species estimated worldwide

United States: 304 spp.

Africa: 96 spp.

China: 60 spp.

Europe: 16 spp.

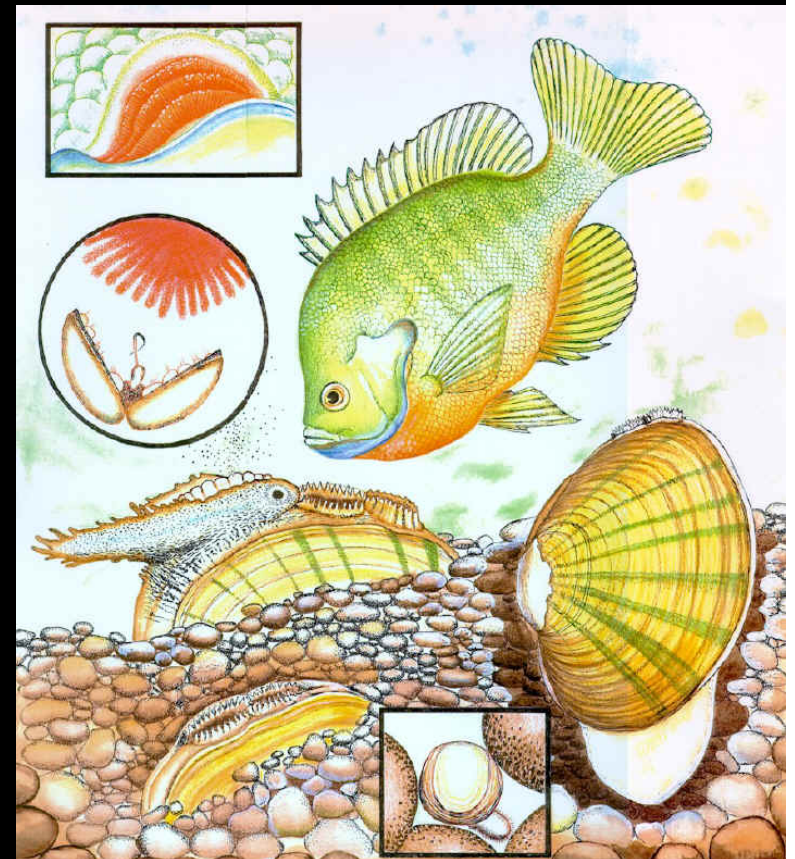
Essential components of rivers and streams.

By their siphoning actions, mussels filter bacteria, algae, and other small particles, which make them one of the few animals that improve water quality.

Serve as a food source to many species of fish, reptiles, birds, and mammals.

The outer shell of a live mussel is usually covered by aquatic insects, algae, and plants.

The empty shell functions as a nesting site for small fish like bullhead etc.



Filmtime !

Freshwater mussels (Bivalves) in Sweden

7 native species

2 introduced

Sveriges Stormusslor



Allmän dammussla
Anodonta anatina

Den allmänna dammusseln är den största av de ägglossor och ägglossor som lever i våra vatten. Den har en guldbrun färg och en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 10 cm. Den lever i alla typer av vatten, från rinnande vatten till stillastående vatten. Den är en mycket vanlig art i våra vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.

Äkta målarmussla
Unio pictorum



Skalen hos äkta målarmusseln är avrundat, 7-10 cm i diameter och har en guldfärgad yta med en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 10 cm. Den lever i alla typer av vatten, från rinnande vatten till stillastående vatten. Den är en mycket vanlig art i våra vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.



Större dammussla
Anodonta cygnea

Skalen hos större dammusseln är avrundat, 10-15 cm i diameter och har en guldfärgad yta med en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 15 cm. Den lever i alla typer av vatten, från rinnande vatten till stillastående vatten. Den är en mycket vanlig art i våra vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.



Flodpärlmussla
Margaritifera margaritifera

Flodpärlmusseln är en av de största och mest värdefulla av våra vattenlevande musslor. Den har en guldfärgad yta med en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 10 cm. Den lever i rinnande vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.

Tjockskalig målarmussla
Unio tumidiorum



Skalen hos tjockskalig målarmusseln är avrundat, 10-15 cm i diameter och har en guldfärgad yta med en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 15 cm. Den lever i alla typer av vatten, från rinnande vatten till stillastående vatten. Den är en mycket vanlig art i våra vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.



Flat dammussla
Frasodensioa conplanata

Den flata dammusseln är en av de största och mest värdefulla av våra vattenlevande musslor. Den har en guldfärgad yta med en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 10 cm. Den lever i rinnande vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.



Vandrarmussla
Dreissena polymorpha

Vandrarmusseln är en av de största och mest värdefulla av våra vattenlevande musslor. Den har en guldfärgad yta med en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 10 cm. Den lever i rinnande vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.

Spetsig målarmussla
Unio tumidiorum



Den spetsiga målarmusseln är en av de största och mest värdefulla av våra vattenlevande musslor. Den har en guldfärgad yta med en skulpterad yta som består av ett nät av små, höga berg. Skalen är avrundade och övergår i en kula vid ändarna. Den kan växa till en diameter på upp till 10 cm. Den lever i rinnande vatten och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja. Den är också en viktig art i vattenmiljöns ekologiska nätverk och är ett viktigt ledd i vattenmiljöns näringskedja.

WARNING

STOP THE INTRODUCTION OF THE ZEBRA MUSSEL

If introduced the Zebra Mussel may severely impact on the ecology of the lake



ONLY REGISTERED BOATS ALLOWED ON THESE WATERS

If your boat has come from another lake or river, please adhere to the following recommendations prior to using your boat on these waters:

- SCOUR THE HULL TO SCRAPE OFF THE MUSSELS
- HOSE AND BRUSH DOWN THE BOAT, WITH HOT WATER IF POSSIBLE
- ALLOW THE BOAT TO DRY OUT AND LEAVE IN SUNSHINE FOR A WEEK
- DRAIN BILGE AND ANY OTHER WATER
- CLEAN DOWN YOUR ENGINE
- REMOVE ALL WEED FROM BOAT AND TRAILER
- DRY LANDING NETS THOROUGHLY, OR DIP IN HOT WATER

NATIONAL PARKS AND WILDLIFE SERVICE

Warning sign from Ireland:

To avoid spread of hiking mussels (= zebra mussel) to more waters,

through the transport of boats and (fishing-) equipment.



Zebra mussel



Quagga mussel



Zebra mussel – different shell-morphs

A ninth unionid species, **Chinese pond mussel** (*Sinanodonta woodiana*) has been introduced in Sweden



Shells from the collections at SMNH

Shell from Province of Skåne, 2005



Glochidia are spread through import of Common carp (*Cyprinus carpio*) and related species

Threats !

Freshwater bivalves of the Superfamily Unionoidea provide important ecosystem functions and services, yet many of their populations are in decline.

Pollution

- eutrophication
- acidification
- toxics

Biotope degradation

- cleaning for timber floating etc.
- siltation
- water regulation

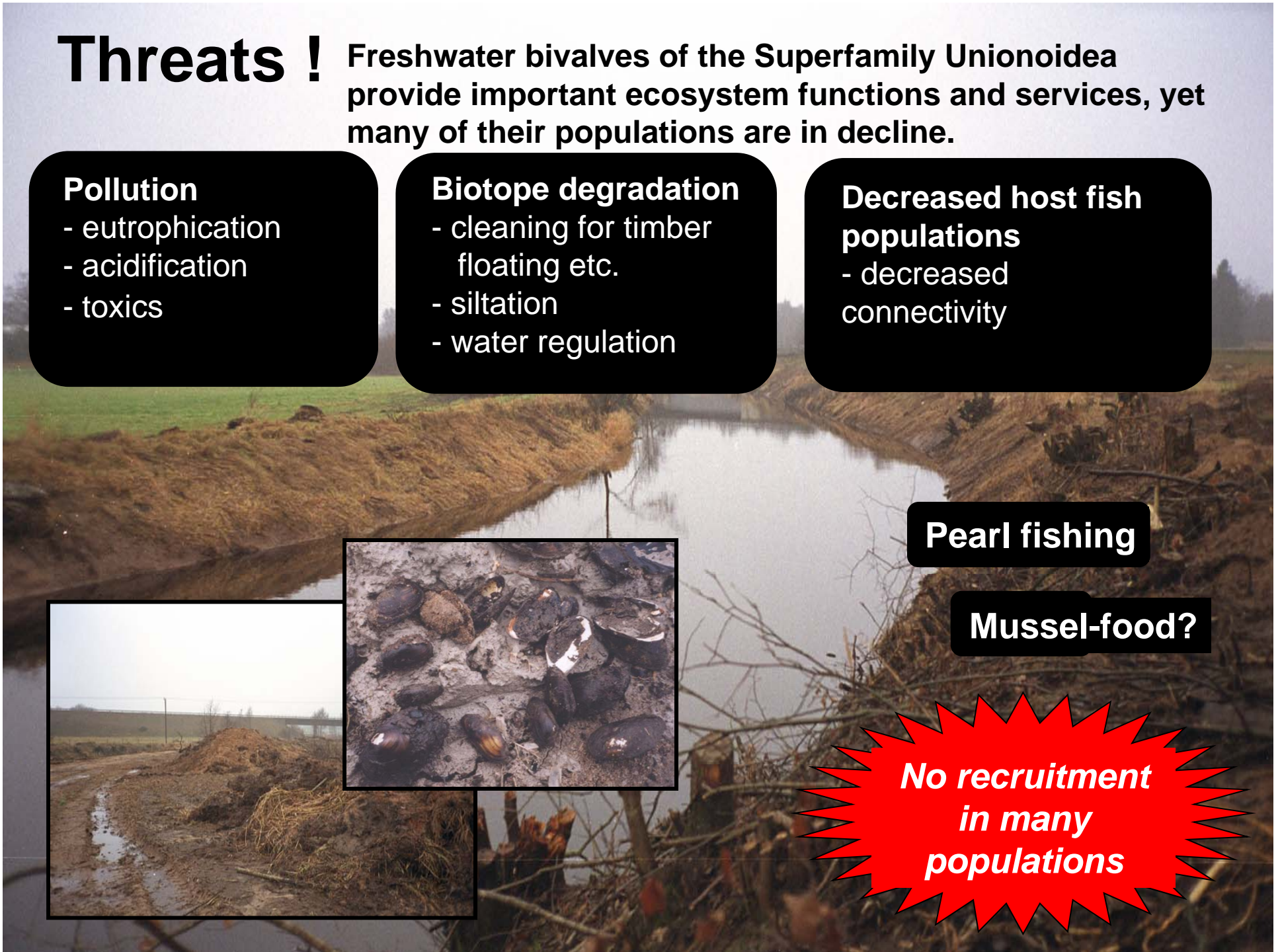
Decreased host fish populations

- decreased connectivity

Pearl fishing

Mussel-food?

*No recruitment
in many
populations*



Background – work with freshwater mussels in Sweden

Investigations of freshwater pearl mussels started in the middle of the 1980's

Mostly follow-up after lime-treatment

The first survey and monitoring work was performed in a small scale

A defined method for monitoring of freshwater pearl mussel established in 1991. Modified 1996 and 1999.

Since 2010 there is a complete method for monitoring both *Unio* spp., *Anodonta* spp. / *P. complanata* and *M. margaritifera* (3 different parts)

1. *M. margaritifera* in stream waters
2. *Unio* spp. and *Anodonta* spp. / *P. complanata* in stream waters
3. *Unio* spp. and *Anodonta* spp. / *P. complanata* in lakes





Swedish methods: Survey & Monitoring

M. margaritifera

Unio spp.

Anodonta spp. /

P. complanata.

Host fish

Water quality

Siltation/sedimentation



The presence of small (young, juvenile) mussels indicate a habitat without severe impact

Water telescope (aqua scope) in shallow streams

The occurring mussel species should be counted separately and the population size for each species determined.

When using the National Monitoring Standard, **18 sampling sites** should be delimited and carefully scrutinised. Special efforts should always be made in order to find juvenile mussels, as these indicate that the populations reproduce





Diving

If a water course consists of parts which are difficult to investigate, diving is recommended.

An advantage with diving is that the search for juvenile mussels becomes more effective.



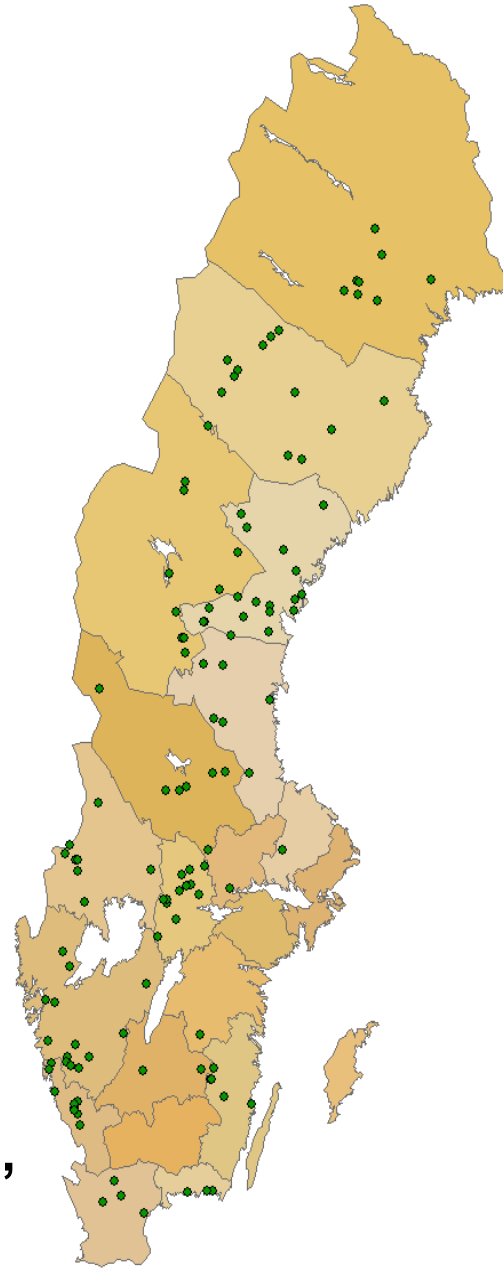
Even in agricultural areas...



**Including a method of diving in
small and shallow streams...**



127 streams monitored by the Swedish standard method



The result gives information on the range, density, number and reproduction

Double Uniparental Inheritance (DUI)

Unionoid freshwater mussels are holders of an unusual mitochondrial DNA inheritance mechanism (Double Uniparental Inheritance) in which **males have mitochondria inherited by both the maternal and paternal ancestors.**

Standard **maternal inheritance** of mtDNA is a rule in the animal kingdom. The most notable exception from this rule is the doubly uniparental inheritance (DUI) system discovered in some bivalve species. Under DUI, females pass their mtDNA (F-type) to the offspring, but heteroplasmic males pass one of their mtDNAs only to their sons.

Thus the paternal mtDNA (M-type) is present mainly in the germline of males.

DUI occurs when both mothers and fathers are capable of transmitting mitochondria to their offspring.

DUI occurs in some bivalve molluscs, in which two mitochondrial genomes are inherited, one through eggs, the other through sperm.

Molecular studies

Ribosomal genes (ITS region) were compared to mitochondrial genes (CO1).

DNA profiles (Barcodes) for unionid mussels were identified.

The method can also be used to identify mussel larvae (glochidia) on fish gills.

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

MARI KALLERSJÖ, TED VON PROSCHWITZ, STEFAN LUNDBERG, PIA ELDENÄS & CHRISTER ERSÉUS

Accepted: 13 April 2005
doi:10.1111/j.1463-6409.2005.00202.x

Källersjö, M., von Proschwitz, T., Lundberg, S., Eldenas, P. & Erséus, C. (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, 415–424.

Mitochondrial inheritance in the Unionidae is complex since mitochondria can be inherited from both parents. An increased rate of recombination could lead to erroneous homology assessments, which could cause problems for phylogenetic reconstruction. For this reason we investigated the possibility of using a nuclear marker, the ribosomal internal transcribed spacer region, for phylogenetic studies in the Unionidae, as a complement and comparison to two of the most widely used mitochondrial genes today. The nuclear ribosomal internal transcribed spacer region (*ITS1*, *5.8S*, *ITS2*) was sequenced from 72 specimens representing six of the seven species of Unionidae mussels occurring in NW Europe: *Unio pictorum*, *U. tumidus*, *U. crassus*, *Anodonta anatina*, *A. cygnea* and *Pseudanodonta complanata*. Sequences from *Margaritifera margaritifera* were used as an outgroup. The *ITS* sequences of all species were found to have low intragenomic and infraspecific variation. Compared to mitochondrial genes (*16S* and *COI*) they show an intermediate genetic diversity. Phylogenetic analyses produce tree topologies that are congruent with those resulting from analyses of the mitochondrial sequences. Likewise, an incongruence length difference (ILD) test showed no significant incongruence between data sets, indicating that if recombination has occurred it has not produced any conflicting patterns. Best-resolved and supported trees are obtained when gaps are treated as a fifth character state. A combined analysis of the three gene regions shows that *Unio crassus* and *U. pictorum* are more closely related than either to *U. tumidus*. *Pseudanodonta* is nested within *Anodonta* as sister taxon to *A. cygnea*. Advice on how to best preserve mussel material for DNA studies is provided.

Mari Källersjö & Pia Eldenas, Molecular Systematics Laboratory, Swedish Museum of Natural History, PO Box 50007, SE-104 05 Stockholm, Sweden. E-mail: mari.kallersjo@nrm.se; pia.eldenas@nrm.se
Ted von Proschwitz, Göteborg Natural History Museum, PO Box 7283, SE-402 35 Göteborg, Sweden. E-mail: ted.v.proschwitz@gam.se

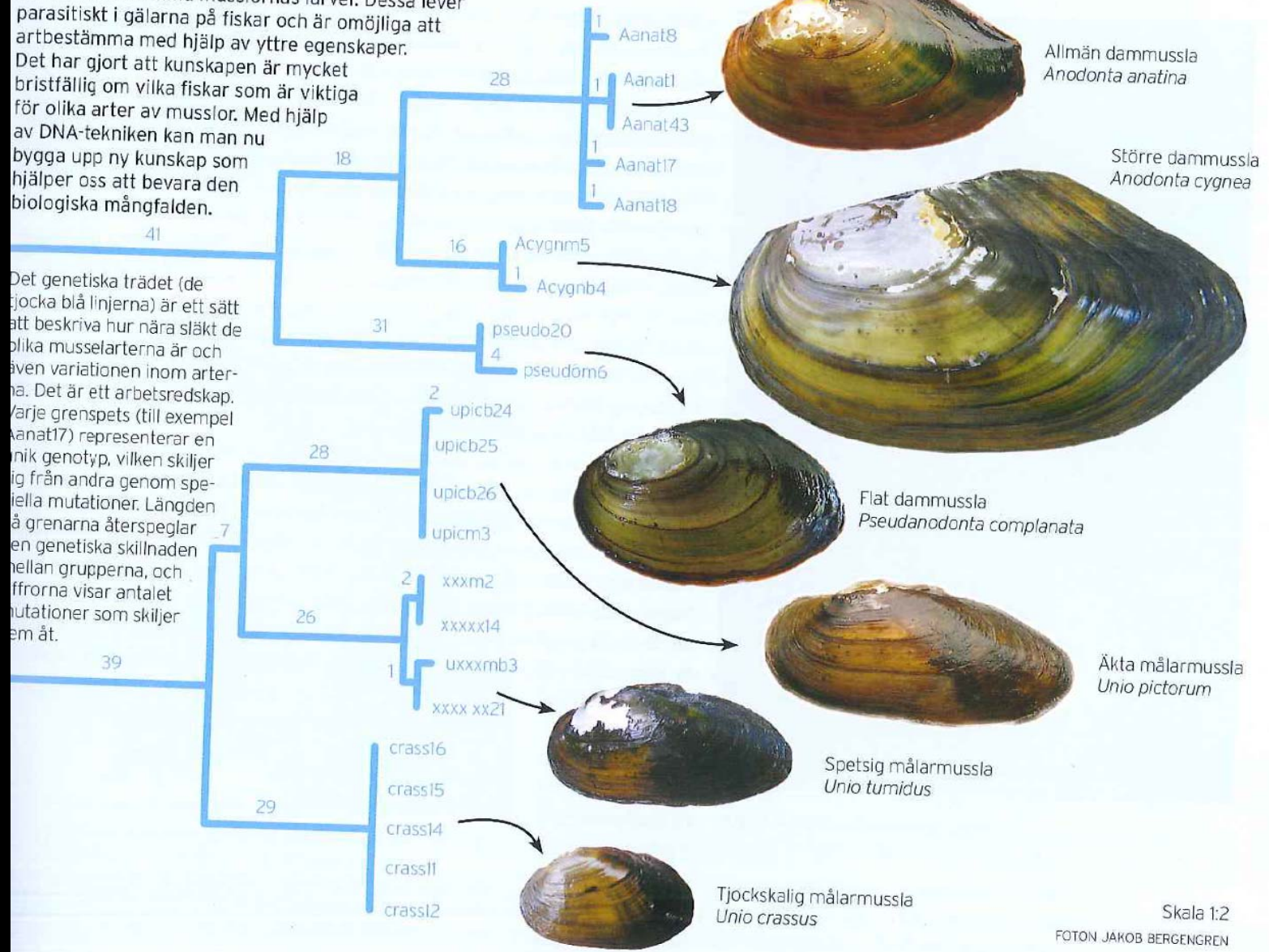
Stefan Lundberg, Department of Invertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, PO Box 50007, SE-104 05 Stockholm, Sweden. E-mail: stefan.lundberg@nrm.se

Christer Erséus, Department of Zoology, Göteborg University, PO Box 463, SE-405 30 Göteborg, Sweden. E-mail: christer.ersesus@zool.gu.se

Så här kan en DNA-studie genomföras

I en undersökning av Källersjö, M. m.fl. (2005) var syftet att hitta specifika gensekvenser för att säkert kunna identifiera svenska stormusslor. Särskilt viktigt var att kunna artbestämma musslornas larver. Dessa lever parasitiskt i gälarna på fiskar och är omöjliga att artbestämma med hjälp av yttre egenskaper. Det har gjort att kunskapen är mycket bristfällig om vilka fiskar som är viktiga för olika arter av musslor. Med hjälp av DNA-tekniken kan man nu bygga upp ny kunskap som hjälper oss att bevara den biologiska mångfalden.

Det genetiska trädet (de tjocka blå linjerna) är ett sätt att beskriva hur nära släkt de olika musselarterna är och även variationen inom arterna. Det är ett arbetsredskap. Varje grenspets (till exempel Aanat17) representerar en unik genotyp, vilken skiljer sig från andra genom specifika mutationer. Längden på grenarna återspeglar den genetiska skillnaden mellan grupperna, och siffrorna visar antalet mutationer som skiljer dem åt.



From 2009, a DNA-barcoding approach has been used at SMNH to identify different species of freshw. mussels from glochidia recovered from naturally infested host fishes

Naturvetenskapliga fakulteten

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 Eidenås (NRM)
Stefan Lundberg (NRM)
Lennart Johansson (LST Kalmar)

Examinator: Lotta Kvamemo



GÖTEBORGS UNIVERSITET

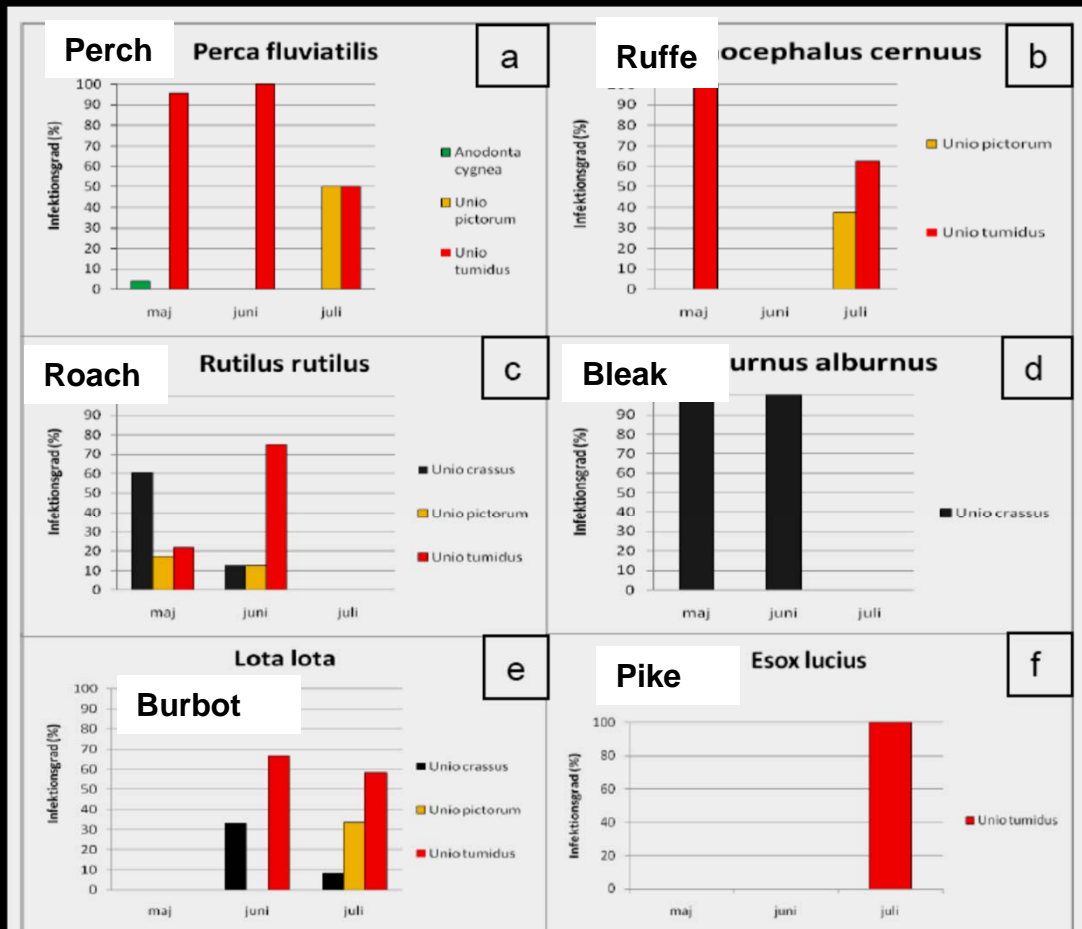


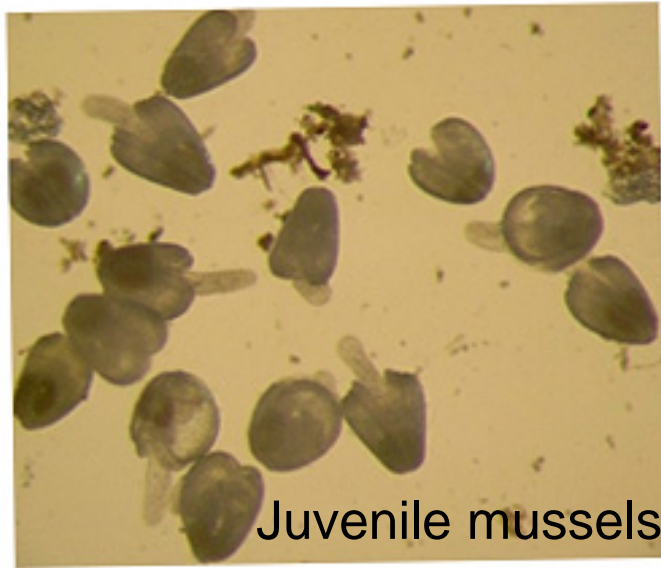
Fig. 5 a-f visar hur glochidierna fördelar sig mellan de olika fiskarterna i Virån under månaderna maj, juni och juli.

**A DNA-barcoding approach to identifying juvenile freshwater mussels
(Bivalvia:Unionidae) recovered from naturally infested fishes**

Author(s): Sarah L. Boyer, Alexander A. Howe, Nathan W. Juergens, and Mark C. Hove

Source: Journal of the North American Benthological Society, 30(1):182-194. 2011.

Published By: The Society for Freshwater Science



Juvenile mussels



Freshwater Drum (*Aplodinotus grunniens*), host to mussels from upper Mississippi River, USA.

DNA BARCODING

Identification of 'extinct' freshwater mussel species using DNA barcoding

DAVID C. CAMPBELL,* PAUL D. JOHNSON,† JAMES D. WILLIAMS,‡ ANDREW K. RINDSBERG,§
JEANNE M. SERB,¶ KORY K. SMALL* and CHARLES LYDEARD**

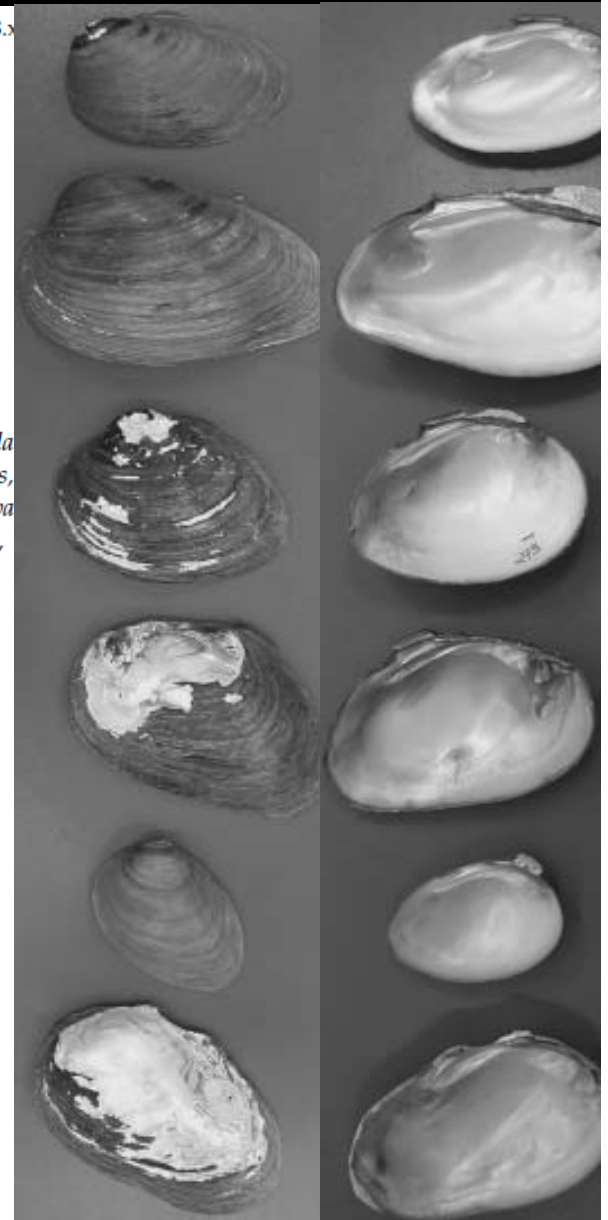
*Biodiversity and Systematics, Department of Biological Sciences, University of Alabama, 425 Scientific Collections Building, Box 870345, Tuscaloosa, AL 35487-0345, USA, †Alabama Aquatic Biodiversity Center, Route 3, Box 86, Marion, AL 36756, USA, ‡Florida Museum of Natural History, University of Florida, Gainesville, FL 32611, USA, §Department of Biological & Environmental Sciences, Station 7, University of West Alabama, Livingston, AL 35470, USA, ¶Department of Ecology, Evolution and Organismal Biology, Iowa State University, 253 Bessey Hall, Ames, IA 50011-1020, USA, **Smithsonian Tropical Research Institute, Smithsonian Institution, 1100 Jefferson Drive, Suite 3123, Washington, DC 20013, USA

Abstract

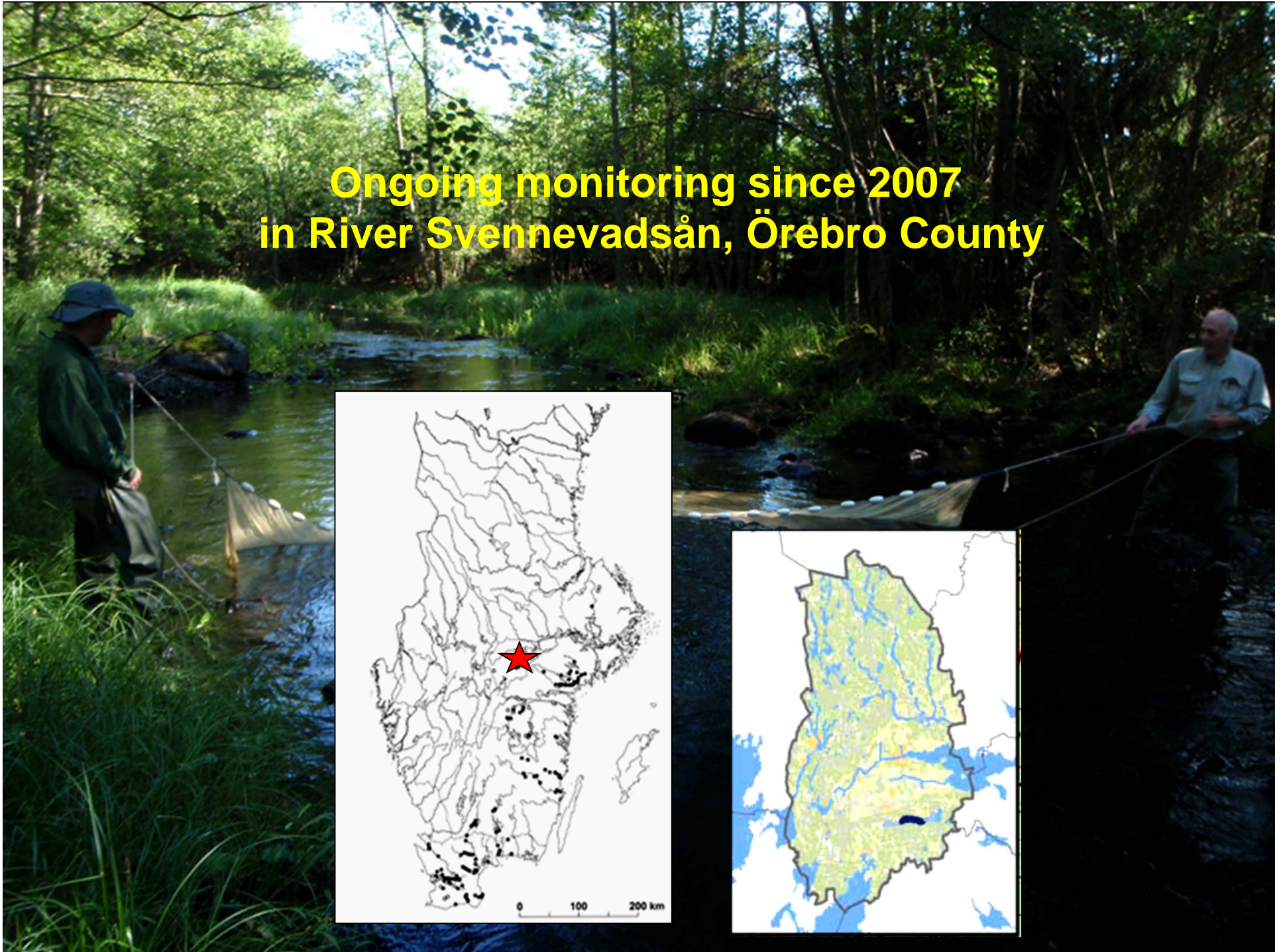
Freshwater mollusks are highly imperiled, with 70% of the North American species extinct, endangered, or at risk of extinction. Impoundments and other human impacts on the Coosa River of Alabama, Georgia and Tennessee of the southeastern USA alone are believed to have caused 50 mollusk species extinctions, but uncertainty over boundaries among several putatively closely related species makes this number preliminary. Our examination of freshwater mussels collected during an extensive survey of the upper-drainage basin, DNA barcoding and molecular phylogenetic analyses confirm the rediscovery of four morpho-species in the genus *Pleurobema* (Unionidae) previously thought to be extinct from the upper Coosa basin. A fifth 'extinct' form was found in an adjoining basin. Molecular data show that the Coosa morphologies represent at least three species-level taxa: *Pleurobema decisum*, *P. hanleyianum* and *P. stabile*. Endemism is higher than currently recognized, both at the species level and for multispecies clades. Prompt conservation efforts may preserve some of these taxa and their ecosystem.

Keywords: *cox1*, endangered species, molecular barcode, *Pleurobema*, Unionidae

Received 4 November 2007; revision accepted 12 December 2007



**Ongoing monitoring since 2007
in River Svennevadsån, Örebro County**



**Fish- and mussel diversity in River Svennevadsån
(obtained by electro-fishing and aqua scope survey)**

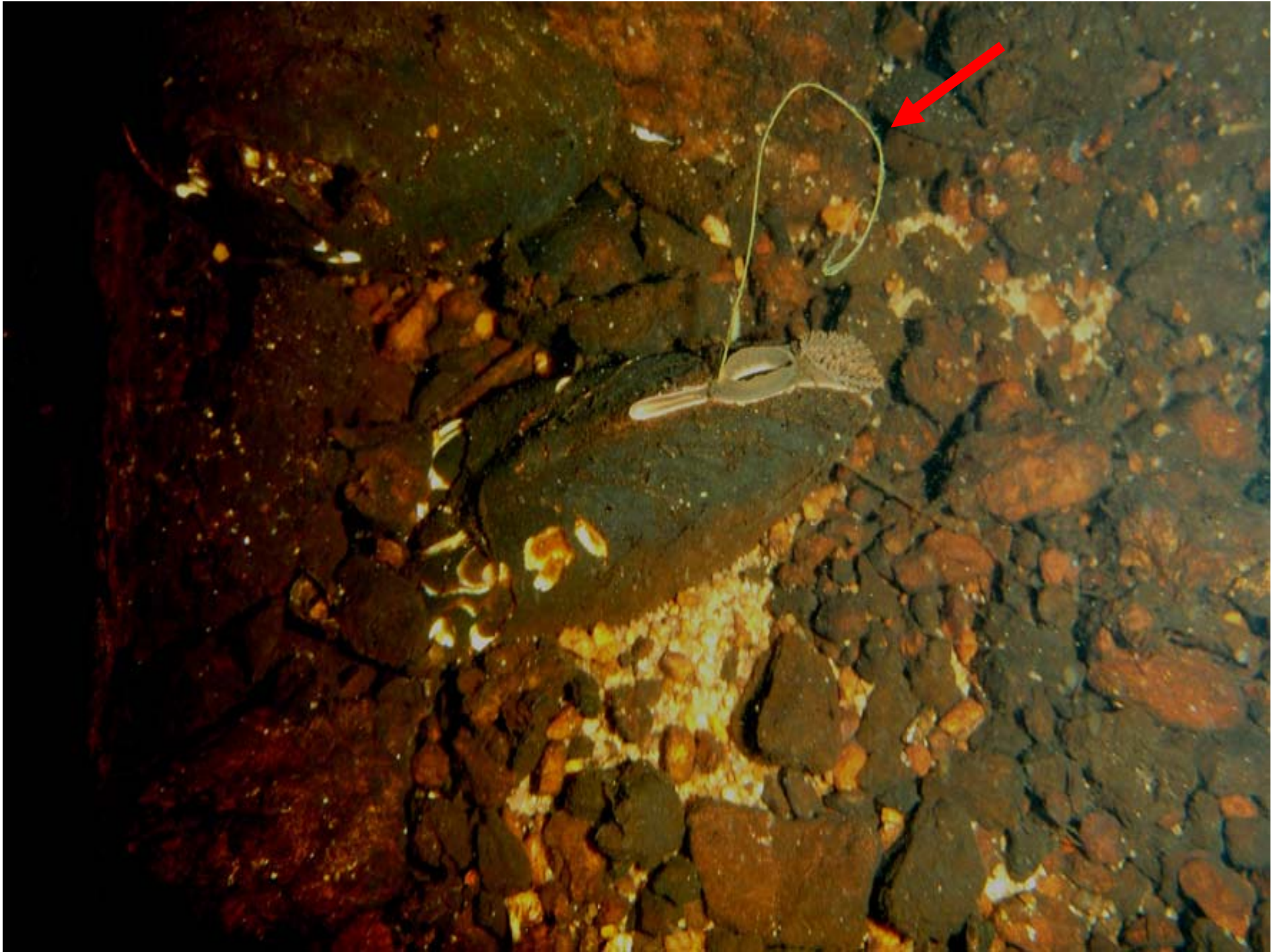


Bullhead, perch, pike, ruffe and burbot.

Bullhead is most abundant in closeness to mussels and their habitat !

No brown trout present.

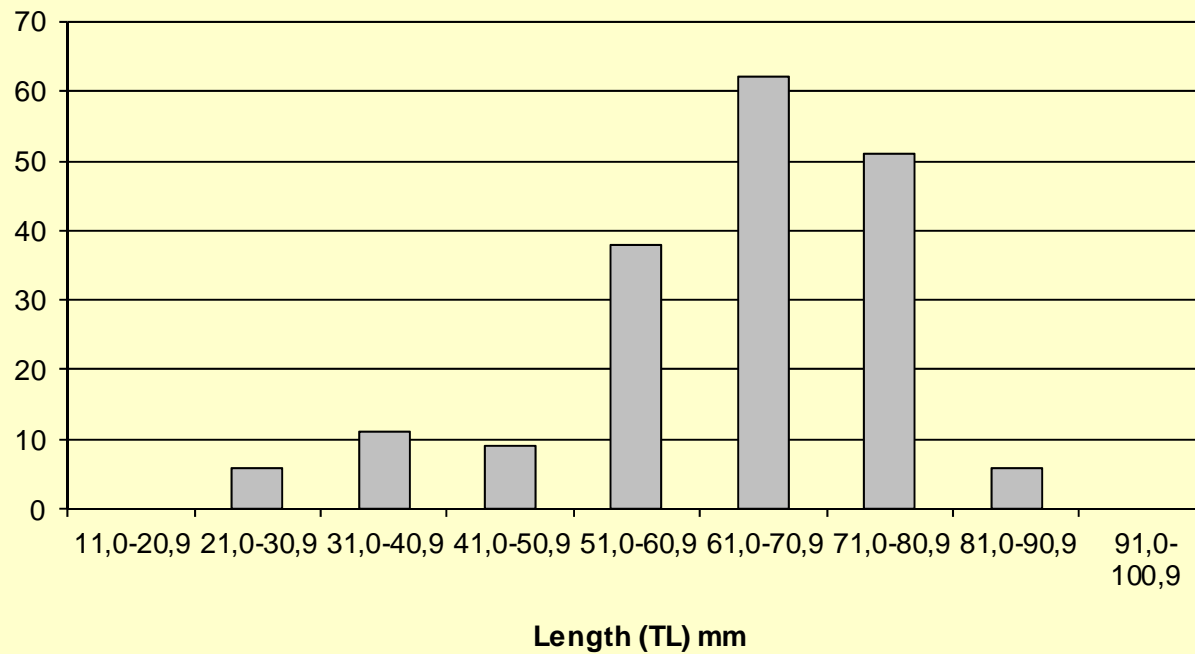
Five species of freshw. mussels



Viable mussel-population?

Total shell-length (TL) of thick-shelled river mussel *Unio crassus* in River Svennevadsån, Örebro County, 2007-2008 (N=183)

Abundance



**How old is a thick-shelled river mussel?
How fast do they grow?**

(Dunca, in prep.)

Shells of *U. crassus* from:


• **River Vramsån**
(Skåne County)

• **River Emån**
(Kalmar County)

• **River Svennevadsån**
(Örebro County)

105 individuals of *U. crassus*, collected in July 2009





All collected *U. crassus* have been labeled with an individual serial number (1 - 105) before they are subjected to a restored part of the river upstream.



In the summer of 2011 a young (37 mm) thick-shelled river mussel (*U. crassus*) was found just downstream of the restored stretch!

A first indication that the restoration has been positive!



A person wearing a black wetsuit and a headlamp is wading in a shallow stream. They are holding a blue net and a small fish. The stream is surrounded by lush green vegetation and trees. The water is clear and reflects the surrounding environment.

Thank's

***Any
questions?***