



## **Abschlussbericht zum 12. GAME-Projekt**

### **Auswirkungen von Mikroplastik auf die physiologische Leistungsfähigkeit von benthischen Filtrierern und Depositfressern**

**Dr. Mark Lenz, GEOMAR Helmholtz-Zentrum für Ozeanforschung Kiel, Marine Ökologie, Benthische Systeme, Düsternbrooker Weg 20, 24105 Kiel, [mlenz@geomar.de](mailto:mlenz@geomar.de)**

#### **1.0 Einleitung**

Plastikmüll ist eine Komponente des Globalen Wandels in marinen Ökosystemen. Ähnlich wie andere Emissionen des Menschen, z.B. Treibhausgase, Stickstoffverbindungen, Schwermetalle und organische Schadstoffe, hat Plastikmüll das Potential, Meeresorganismen über seine direkten Auswirkungen oder über indirekte Wechselwirkungen mit anderen Stressoren zu schädigen. Dabei stehen wir vor einem schnell wachsenden Problem, denn die Menge an Plastikmüll, die jedes Jahr in die Ozeane gelangt, soll von derzeit geschätzten 8 Millionen Tonnen auf 150 Millionen Tonnen im Jahre 2025 anwachsen (Jambeck et al. 2015). Das Maximum der weltweiten Müllproduktion wird erst für das nächste Jahrhundert erwartet (Hoornweg et al. 2013).

Plastik gelangt vor allem durch eine schlecht gesicherte Müllentsorgung in die Natur. Aus offenen Deponien beispielsweise wird durch Wind, Regen und Flüsse Plastik ins Meer getragen. Dort stellt es eine hochmobile Verschmutzungsform dar, denn viele Plastikpolymere haben eine geringere Dichte als Meerwasser und treiben an der Oberfläche. Dies und die große Haltbarkeit von Plastik sorgen dafür, dass dieser Müll durch die Meeresströmungen über weite Strecken transportiert wird und so auch marine Ökosysteme erreicht, die weit von jeder größeren menschlichen Siedlung entfernt liegen.

Auf seinem Weg durch die Meere verändert sich das Plastik. Durch Witterungseinflüsse und Wellenschlag zerfällt es in immer kleinere Fragmente und aus dem Makroplastik entsteht sogenanntes Mikroplastik (Barnes et al. 2009). Diese Fraktion ist definitionsgemäß kleiner als 5 mm (Arthur et al. 2009). Gleichzeitig wird das Plastik aber auch von Meeresorganismen besiedelt, die die stabile Oberfläche dieses Materials als Lebensraum nutzen (Ye & Andrady 1991, Lobelle & Cuncliff 2011). Die Palette von Besiedlern reicht von Bakterien über einzellige Algen bis hin zu Seepocken und Muscheln. Durch die Besiedlung verändert sich das Gewicht der Plastikfragmente und sie können absinken. Dadurch kommt es zu einem vertikalen Transport des Plastiks und der Müll erreicht den Meeresboden, wo er sich nachweislich anreichert (Vannela 2012, Van Cauwenberghe et al. 2013). Schließlich kommt es im Meer auch zur Anlagerung von organischen Schadstoffen auf den hydrophoben Oberflächen von Plastikpartikeln. Diese können laut Laboruntersuchungen die Konzentration von Schadstoffen wie DDT oder PCBs um den Faktor 1:1 Million gegenüber dem umgebenden Meerwasser erhöhen (Mato et al. 2000). Dadurch werden Plastikteile zu Schadstoffmagneten, die die Bioverfügbarkeit solcher Substanzen stark erhöhen und sie so in die marine Nahrungskette einbringen können.

Die Auswirkungen großer Müllteile, des sogenannten Makroplastiks, auf Meeresorganismen sind bereits relativ gut untersucht. Sie gefährden vor allem große Räuber, wie Haie, Knochenfische, Schildkröten, Vögel und Säuger, die an der Spitze mariner Nahrungsnetze stehen (Laist 1997, Mallory 2008, Katsanevakis et al 2007). Diese Tiere verwechseln treibendes Makroplastik mit ihrer natürlichen Beute und verschlucken es, was zum Tod durch Darmverschluss oder Verhungern führen kann. Weiterhin können sie sich darin verfangen was zu Verletzungen oder zum Ersticken führt (Laist 1997). Auf diese Weise bedroht Plastikmüll Arten, die oftmals schon durch andere menschliche Aktivitäten in ihrem Bestand bedroht sind.

Weitestgehend unverstanden ist aber bislang, wie sich kleine Plastikpartikel auf Meeresorganismen auswirken. Sie greifen aufgrund ihrer Größe am entgegengesetzten Ende der Nahrungskette an, in dem sie von wirbellosen Tieren, aber auch von Fischen, aufgenommen werden, die wiederum eine

wichtige Nahrungsquelle für andere Meeresorganismen darstellen (Betts 2008, Wright et al. 2013). So verschlucken Depositfresser, die umgebendes Sediment in ihren Magen-Darmtrakt aufnehmen, um ihm die organischen Bestandteile zu entziehen, auf diesem Wege auch Mikroplastik (Thompson et al. 2004). Während der Passage durch Verdauungstrakt der Tiere, dessen chemisches Milieu stark vom umgebenden Seewasser abweicht, können sich dann anhaftende organische Verbindungen ablösen und so zu einer Belastung der Tiere mit Schadstoffen führen (Teuten et al. 2009, Bakir et al. 2014). Auch benthische Filtrierer, wie Muscheln oder Seepocken, können Mikroplastikpartikel mit ihrer Nahrung aufnehmen (Browne et al. 2008). Bei ihnen kommt zu der möglichen Belastung durch anhaftende Schadstoffe noch der rein mechanische Effekt der Plastikpartikel hinzu. Diese können sich beispielsweise im empfindlichen Kiemenapparat von Muscheln verfangen und diesen verschmutzen. Dies kann die Nahrungsaufnahme und die Atmung der Tiere beeinträchtigen und die dann notwendige Reinigung der Kiemen, beispielsweise über die Abgabe von Schleim, ist energieaufwendig und schwächt die Tiere. Über diese Mechanismen – und vielleicht weitere, die noch nicht erkannt wurden – können Mikroplastikpartikel Meeresorganismen schädigen. Sollte sich dies auf das Überleben der Tiere und auf ihren Fortpflanzungserfolg auswirken, könnten sich solche Effekte bis auf die Ebene von Populationen und Ökosystemen fortpflanzen. Hierzu liegen aber noch keinerlei Erkenntnisse vor.

Obwohl zahlreiche Laborexperimente und auch einige Freilandstudien belegt haben, dass eine Vielzahl von marinen Wirbellosen Mikroplastik aufnimmt, sind nur in wenigen Fällen auch negative Auswirkungen beobachtet worden (Von Moos et al. 2012, Wegner et al. 2012, Wright et al. 2013). Allerdings wurde in diesen Versuchen oft mit einer unrealistisch hohen Dosis an Mikroplastik gearbeitet, so dass die Belastung, der die Tiere ausgesetzt waren, nicht dem entspricht was zurzeit in Küstensedimenten zu erwarten ist (Thompson et al. 2004, Vianello et al. 2013). Auch wurden die Tiere in den meisten Fällen nur für kurze Zeit einer Belastung durch Mikroplastik ausgesetzt, während diese in ihren natürlichen Habitaten oft für die Dauer ihres Lebens einer solchen Belastung ausgesetzt sind. Die ökologische Interpretation dieser Studien ist daher schwierig.

Bereits in 2013 hat sich das internationale Forschungs- und Ausbildungsprogramm GAME (Globaler Ansatz durch Modulare Experimente) mit dem Thema ‚Mikroplastik im Meer‘ beschäftigt und dabei versucht die beiden oben angesprochenen Schwachpunkte vorhergehender Studien zu umgehen. So sollten Expositionsversuche mit benthischen Wirbellosen mit realistischen Mikroplastikbelastungen und über den Zeitraum von mehreren Monaten durchgeführt werden. Dies ist in 2013 auch gelungen, wobei sich die Experimente auf die Gruppe der marinen Depositfresser beschränkten. Bei einer geringen Partikeldichte im Sediment und über einen Zeitraum von 2 Monaten ließen sich dabei keine negativen Auswirkungen des Mikroplastiks feststellen. Untersucht wurden 9 verschiedene Arten aus den Gruppen der Borstenwürmer (Polychaeta), Muscheln (Bivalvia), Seegurken (Holothuria), Schlangensterne (Ophiura), und Krebstiere (Crustacea, Dekapoda).

Im hier vorgestellten Folgeprojekt ging es dann darum, den experimentellen Ansatz auszuweiten und eine weitere Tiergruppe mit einzubeziehen. Aufbauend auf den Ergebnissen und Erfahrungen aus dem Vorjahr wurde die Methodik in einigen Punkten modifiziert. So wurden mehrere Verschmutzungsszenarien simuliert, die entlang eines logarithmischen Gradienten angeordnet waren. Dies sollte vor allem dazu dienen, einen Schwellenwert zu identifizieren, ab dem eine Mikroplastikbelastung nachweisbare Auswirkungen hat. Als weitere Tiergruppe wurden neben den Depositfressern in 2014 auch benthische Filterierer einer Mikroplastikbelastung ausgesetzt. Hierfür wurden epibenthische Muscheln und eine Seepockenart verwandt. Diese Tiere können vor allem dann einer hohen Belastung durch Mikroplastik ausgesetzt sein, wenn bereits absedimentiertes Material resuspendiert wird und sich für kurze Zeit in den bodennahen Wasserschichten aufhält. Solche Resuspensionsereignisse können beispielsweise durch Gezeitenströme ausgelöst werden (De Jonge & Van Beusekom 1995). Da Filtrierer auf gänzlich andere Weise mit den Partikeln in Kontakt kommen, stand die Frage im Vordergrund ob diese beiden Tiergruppen grundsätzlich unterschiedlich auf eine Belastung durch Mikroplastik reagieren. Damit ergaben sich für das 12. GAME-Projekt 3 Kernfragen, die mit Hilfe des globalen Versuchsansatzes beantwortet werden sollten:

1. Lassen sich negative Auswirkungen von Mikroplastikpartikeln auf benthische Filterierer und Depositfresser nachweisen?
2. Ab welcher Belastung des Sediments mit Mikroplastik treten – im Rahmen der gewählten Versuchsbedingungen – nachweisbare Auswirkungen auf?
3. Reagieren Filtrierer und Depositfresser unterschiedlich auf die Belastungsszenarien?

## 2.0 Material und Methoden

### 2.1 Standorte

Im Rahmen des 12. GAME-Projektes wurden an insgesamt 7 Standorten Experimente durchgeführt. Dies waren Coquimbo im zentral-nördlichen Chile (Südpazifik), Niterói an der Bucht von Guanabara in Brasilien (Südatlantik), Puerto Morelos auf der Halbinsel Yucatan in Mexiko (Karibik), Funchal auf Madeira, Portugal, Menai Bridge/Menai Strait in Wales, Akkeshi auf Hokkaido, Japan, und Bogor auf der Insel Java, Indonesien (Abbildung 1). An diesen Stationen wurden die binationalen Studententeams von lokalen Wissenschaftlern betreut. Die Standorte sind also die gleichen wie bei der Vorgängerstudie, wobei der Standort Finnland in 2014 nicht vertreten war.



Abbildung 1: Die Standorte des 12. GAME-Projektes.

### 2.2 Plastikmaterial und Schadstoffkontamination

Im Gegensatz zum Vorgängerprojekt wurde in 2014 kein Polystyrol (PS) sondern Polyvinylchlorid (PVC) als Modellpolymer für die Expositionsversuche verwandt. PVC gehört mit einem Anteil von 19% an der Weltproduktion zu den häufigsten Polymertypen (Andrady 2011) und hat wie PS und PET eine höhere Dichte als Meerwasser. Es sinkt daher ab, auch ohne dass vorher eine Besiedlung durch

Aufwuchsorganismen stattgefunden hat. Dies war für die geplanten Versuche ein entscheidendes Kriterium. Weiterhin kann man PVC in verschiedenen Größenklassen auch unterhalb 500  $\mu\text{m}$  beziehen, während PS meist als Rohpellets gehandelt wird, die in einem Größenbereich von 700-900  $\mu\text{m}$  streuen. Partikel dieser Größe werden von den meisten benthischen Filterierern jedoch nicht aufgenommen. Für die Versuche wurden schließlich PVC-Partikel in zwei Größenklassen ausgewählt. Das waren einmal Partikel im Bereich 1,5 - 50  $\mu\text{m}$ , die für die Experimente mit den Filterierern benutzt wurden, und zum anderen Teilchen von 50 – 200  $\mu\text{m}$ , die für die Versuche mit den Depositfressern geeignet waren (Abbildung 2). Dieses Material konnte zu einem relativ günstigen Preis von der Firma PyroPowders aus Erfurt bezogen werden. Es enthält geringe Mengen an Zinn-Stabilisatoren (< 1%) und während der Produktion wird ein Emulgator aus Natrium-Alkyl-Sulfonat (Mersolan E30) verwendet. Es beinhaltet jedoch keine weiteren Additive.

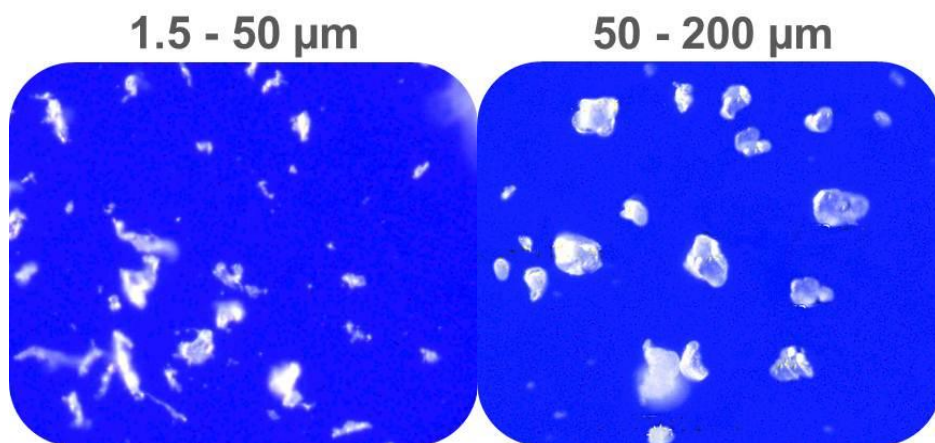


Abbildung 2: Für die Versuche wurden PVC-Partikel in 2 Größenklassen verwendet. Dadurch wurde den unterschiedlichen Nahrungsspektren der beiden Tiergruppen (Filterierer/Depositfresser) Rechnung getragen.

Um die im Meer stattfindende Befrachtung dieser Plastikpartikel mit organischen Schadstoffen zu simulieren, wurde das Material vor der Verwendung 3 Wochen lang in einer Fluoranthen-Meerwasserlösung inkubiert. Fluoranthen ist ein Polyzyklischer Aromatischer Kohlenwasserstoff und wird vor allem bei der unvollständigen Verbrennung von Erdölderivaten wie Schiffsdiesel frei. Fluoranthen ist einer der häufigsten organischen Schadstoffe im Meer und ist schädlich für aquatische Organismen (Rios et al. 2007). Die Konzentration in der Lösung betrug 2  $\mu\text{g}$  Fluoranthen pro Liter. Dies ist ein Wert, der nach Ölkatastrophen für das dem Fluoranthen sehr ähnliche Phenanthren im Meer nachgewiesen wurde (Jensen et al 2012). Ein Liter dieser Lösung wurde mit

200g PVC-Material versetzt und dieser Ansatz wurde mittels einer Tauchpumpe kontinuierlich umgewälzt. Zudem wurde die Fluoranthenlösung alle 4 Tage erneuert, um eine maximale Befruchtung des PVCs mit dem Schadstoff zu erreichen. Insgesamt wurde das Plastik 3 Wochen lang in dieser Lösung inkubiert, bevor es für die Expositionsversuche verwandt wurde.

## 2.3 Chemische Analyse

Um zu prüfen ob die Kontamination des Plastik mit dem Schadstoff Fluoranthen erfolgreich war und ob es zu einer Anreicherung dieser Substanz im Gewebe der Versuchstiere gekommen ist, wurden, wie im vergangenen Jahr, chemische Analysen in den Laboren des Instituts für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler an der Christian-Albrechts Universität zu Kiel durchgeführt. Hierfür wurden das Plastikmaterial bzw. das Gewebe mit einem Lösungsmittel extrahiert, um den organischen Schadstoff auszulösen und anschließend wurden diese Extrakte mittels einer Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) mit Fluoreszenznachweis analysiert (Abbildung 3). Ein zuvor etablierter Standard half dann die Anwesenheit von Fluoranthen nachzuweisen, außerdem ließ sich die Menge des vorhandenen Schadstoffs bestimmen.

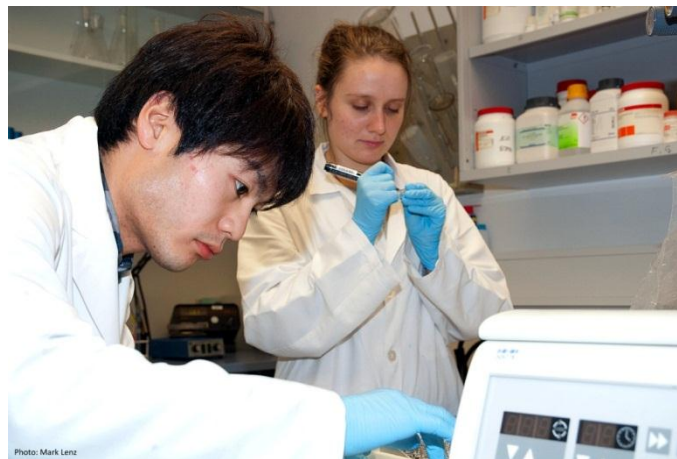


Abbildung 3: Die Aufbereitung und die Analyse der Proben fand am Institut für Toxikologie und Pharmakologie für Naturwissenschaftler an der Christian-Albrechts Universität Kiel statt.

## 2.4 Testorganismen

### 2.4.1 Filtrierer

An den meisten Standorten wurden Arten aus der Familie der Mytilidae als Vertreter der epibenthischen Filtrierer für die Versuche ausgewählt. Diese waren: die Grünlippmuschel *Perna*





*viridis* in Indonesien, *Perumytilus purpuratus* in Chile, die Braune Miesmuschel *Perna perna* in Brasilien, die Brackwasser-Miesmuschel *Mytilus trossulus* in Japan und die Gemeine Miesmuschel *Mytilus edulis* in Wales. Die letzten beiden Arten kommen auch in der Ostsee vor. Am tropischen Standort in Mexiko wurde die Mangrovenauster *Isognomon radiatus* als Versuchsorganismus benutzt, während auf Madeira Seepocken der Art *Megabalanus azoricus* verwandt wurden (Tabelle 1).

### 2.4.2 Depositfresser

Um Auswirkungen des Mikroplastiks auf die Gruppe der Depositfresser zu untersuchen wurden zum Teil die gleichen Arten herangezogen wie im Vorjahr. Dies waren: die Seegurke *Holothuria leucospilota* in Indonesien, der Igelwurm *Ochetostoma baronii* in Chile, die Winkerkrabbe *Uca rapax* in Brasilien, der Pazifische Wattwurm *Abarenicola pacifica* in Japan, der Wattwurm *Arenicola marina* in Wales, der Borstenwurm *Eupolymnia rullieri* in Mexiko und die Seegurke *Holothuria sanctori* auf Madeira (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die Arten der Sedimentfresser (Spalte 2) und der Filtrierer (Spalte 3), die an den verschiedenen Standorten untersucht wurden.

		
MEXICO	<i>Eupolymnia rullieri</i>	<i>Isognomon radiatus</i>
BRAZIL	<i>Uca rapax</i>	<i>Perna perna</i>
CHILE	<i>Ochetostoma baronii</i>	<i>Perumytilus purpuratus</i>
WALES	<i>Arenicola marina</i>	<i>Mytilus edulis</i>
PORTUGAL	<i>Holothuria sanctori</i>	<i>Megabalanus azoricus</i>
JAPAN	<i>Abarenicola pacifica</i>	<i>Mytilus trossulus</i>
INDONESIA	<i>Holothuria leucospilota</i>	<i>Perna viridis</i>

## 2.5 Expositionsversuche

### 2.5.1 Filtrierer

Während der Expositionszeiten wurden die Tiere in kleinen experimentellen Einheiten gehalten. Dabei handelte es sich in den meisten Fällen um Plastikbehälter mit einem Volumen von 0,5 -2 l. Diese waren entweder an einen Seewasserdurchfluss angeschlossen oder das Wasser wurde in Abständen von 1-3 Tagen manuell gewechselt, um eine Anreicherung von beispielsweise Ammonium

zu verhindern. Die Wasserqualität (Ammonium, Nitrat, Nitrit, Phosphat) wurde zudem regelmäßig mit Hilfe von in der Aquaristik gebräuchlichen Tests überprüft. Die Behälter wurden außerdem über Ausströmsteine mit Druckluft versorgt, um eine maximale Sauerstoffsättigung des Wassers zu gewährleisten.

Jedem der Becken wurde eine bestimmte Menge an PVC-Pulver zugefügt (siehe 2.6). Diese Partikel wurden 2mal täglich für die Dauer von je 2 Stunden resuspendiert, um sie für die Muscheln verfügbar zu machen. Dies geschah an den meisten Standorten mittels eines zusätzlichen Luftstroms, der die Partikel aufwirbelte. Während dieser Resuspensionsereignisse wurden die Becken vom Seewasserdurchfluss – wenn vorhanden- abgekoppelt, um einen Austrag des Plastiks zu verhindern. Das Plastikmaterial in den Becken wurde wöchentlich erneuert. Während der gesamten Versuchsphase wurden die Tiere mit einzelligen Algen gefüttert.

### **2.5.2 Depositfresser**

Diese Tiere wurden während des Versuchs ebenfalls einzeln in kleinen Becken gehältert und eine gute Wasserqualität wurde mit den gleichen Mitteln aufrechterhalten wie im Falle der Filtrierer. Im Gegensatz zu letzteren enthielten die Becken für die Depositfresser zusätzlich Sediment, dem ebenfalls PVC-Partikel beigemischt war. Die PVC-Mengen pro Becken waren in beiden Versuchsreihen identisch.

### **2.5.3 Experimentelles Design**

Es wurden insgesamt 6 verschiedene Behandlungsstufen realisiert, die sich vor allem hinsichtlich der beigefügten Plastikmenge unterschieden. Die Menge an Plastik wurde als Massenanteil am Sediment definiert. Ausgangspunkt war dabei ein Plastikanteil von 3%. Dies ist der höchste Wert, der bisher in der Natur gefunden wurde (Carson et al. 2011). Ausgehend davon wurden 4 weitere Behandlungsstufen entlang einer logarithmischen Skala festgelegt: 0%, 0,003%, 0,03% und 0,3% Massenanteil Plastik im Sediment. Ergänzt wurden diese noch um eine weitere Stufe bei der ebenfalls 3% Plastik hinzugefügt wurden, welches aber vorher nicht mit Fluoranthen kontaminiert

wurde.

Im Falle der Filtrierer wurde davon ausgegangen, dass 5% des Gesamtvolumens der jeweiligen Versuchsbehälter von Sediment eingenommen wurden. Ausgehend von dieser Menge an Sediment wurde dann wiederum die Menge an PCV festgelegt, die in die Becken gegeben wurde. Tatsächlich wurde den Versuchsbecken aber nur eine kleine Menge Sediment (<1%) hinzugefügt, da sich herausstellte, dass sich die ganzen 5% aufgrund des hohen Gewichts mit den vorhandenen technischen Mitteln nicht resuspendieren ließen. Somit befand sich in den Versuchsbecken letztendlich jeweils ein Versuchstier, ein kleine Menge Sand und eine, auf die nur angenommene Sedimentmenge bezogene Menge Plastikmaterial.

Für die Depositfresser war das Versuchsszenario einfacher: Dem vorhandenen Sediment wurde jeweils der entsprechende Anteil an PVC-Pulver beigefügt und beides gut miteinander vermischt. Danach wurde das Versuchstier hinzugefügt. Im Laufe des Versuchs wurden dann regelmäßig neue Lagen des Sediment-Plastikgemischs beigefügt, so dass die Gesamtmenge an Sediment in den Versuchsbehältern stetig zunahm. Dies gewährleistete, dass regelmäßig neues Plastikmaterial aber auch neue Nahrung für die Versuchstiere zur Verfügung gestellt wurde.

Die Expositionsversuche wurden maximal 3 Monate lang durchgeführt, wobei sich die Länge der Versuche aber zwischen den verschiedenen Stationen unterschied.

#### **2.5.4 Antwortvariablen**

Vor, während und nach den Expositionsversuchen wurden verschiedenen Antwortvariablen erhoben, um mögliche Auswirkungen der Mikroplastikbelastung auf die Versuchsorganismen zu erfassen. Hierzu gehörten die Sterblichkeit der Tiere, die während des gesamten Expositionsversuchs und während eines im Anschluss an diesen simulierten Sauerstoffmangelereignisses, erfasst wurde. Außerdem wurden die Filtrationsleistung (bei den Filtrierern) sowie die Fäzesproduktion (bei den Depositfressern) gemessen. Außerdem wurden der Sauerstoffverbrauch der Tiere und die Produktion an Byssusfäden (nur bei der Gruppe der Miesmuscheln) quantifiziert. Die Auswertung dieser Daten geschah mittels gängiger statistischer Verfahren, beispielsweise durch Varianzanalysen mit

anschließenden Post-hoc Tests (Tukey's HSD) und sogenannten Überlebens-Analysen (Cox-Regressionen und Log-Rang Tests).

### 3.0 Ergebnisse und Diskussion

Alle Ergebnisse dieser Studie hier darzustellen würde den Rahmen dieses Berichts bei weitem sprengen. Dieses GAME-Projekt war eines der produktivsten aber auch arbeitsintensivsten seit Beginn des Programms im Jahr 2002. Alle Studenten-Teams haben ihre Vorhaben erfolgreich abgeschlossen, so dass umfangreiche Daten zu allen 14 Tierarten vorliegen. Diese ergeben ein ausgesprochen komplexes aber auch uneinheitliches Bild. Zusammenfassend kann man sagen, dass sich durchaus deutlich negative Effekte des Mikroplastiks beobachten ließen. So zeigten einige Arten eine erhöhte Sterblichkeit, die Filtrationsleistung und der Sauerstoffverbrauch gingen zurück oder die Zahl der für die Anheftung am Substrat produzierten Byssusfäden sank. Deutlich wurde aber auch, dass die Art und auch die Stärke der Effekte sich von Tierart zu Tierart unterschieden. Dass die Tiere, die im umgebenden Sediment bzw. in der Wassersäule enthaltenen Partikel in ihren Magen-Darmtrakt aufgenommen haben, haben Analysen der Fäzes für alle Arten belegt. Während einige Arten sehr sensibel auf die Verschmutzung reagierten, zeigten sich andere robust. Entscheidend dafür könnte zum einen die Lebensweise sein. So reagierten die Filtrierer generell empfindlicher auf das partikuläre Material als die Depositfresser. Nimmt man die Daten zu den Überlebensraten aller Tiere und aller Behandlungsstufen (ohne die plastikfreien Replikate) zusammen, so zeigt sich, dass die Filtrierer eine höhere Sterblichkeit zeigten als die Depositfresser (Abbildung 4). Dieser Unterschied war statistisch signifikant (Cox-Regression:  $\chi^2 = 14,99$ ,  $p \leq 0,001$ ). Ein Vergleich zwischen jenen Filtrierern und Depositfressern, die keiner Mikroplastikbelastung ausgesetzt waren, zeigt, dass dieser Unterschied nicht auf eine unterschiedliche Empfindlichkeit der Gruppen gegenüber den Hälterungsbedingungen im Labor zurückging (Abbildung 5).

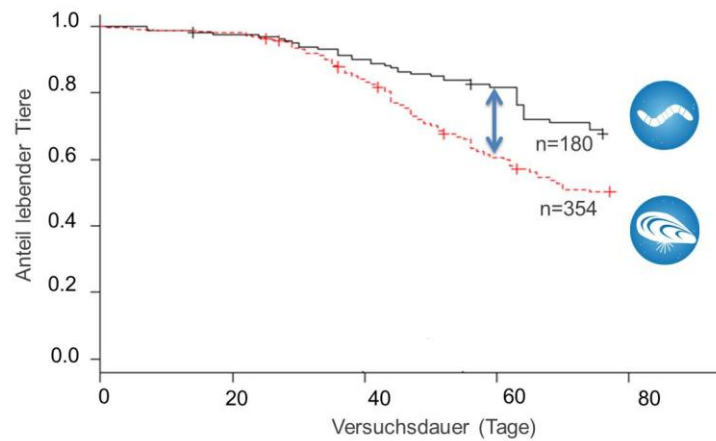


Abbildung 4: Sterblichkeit innerhalb der beiden Tiergruppen in Anwesenheit von Mikroplastik. Für diese Analyse wurden die Daten alle Behandlungsgruppen bis auf die Kontrollgruppe (kein Plastikzusatz) zusammengefasst.

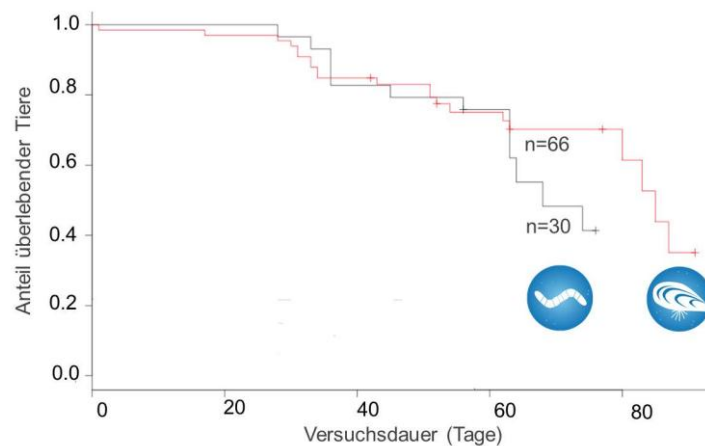


Abbildung 5: Sterblichkeit innerhalb der beiden Tiergruppen in Abwesenheit von Mikroplastik. Für diese Analyse wurden die Kontrollgruppen zusammengefasst.

Dieser Vergleich ist sicherlich mit Vorsicht zu betrachten, denn sehr viele Einflussgrößen wurden in dieser Modellierung nicht berücksichtigt. Dennoch erscheint das Ergebnis schlüssig, denn für die Filtrierer stellen die Mikroplastikpartikel eine zusätzliche Belastung ihres Energiebudgets dar, was für die Depositfresser wahrscheinlich nicht der Fall ist. Nehmen Filtrierer, wie beispielsweise Muscheln, Mikroplastikpartikel mit dem Atemwasserstrom in ihre Mantelhöhle auf, so können diese sich auch im empfindlichen Kiemenapparat verfangen und dadurch die Atmung und die Nahrungsaufnahme beeinträchtigen. Miesmuscheln säubern ihre Kiemen durch die Abgabe von Schleim, der die Fremdkörper umhüllt. Anschließend werden diese Pakete über Cilienbänder zum Ausströmsiphon transportiert und abgegeben. Diese sogenannten Pseudofäzes sind eine Anpassung an das Leben in

Meeresgebieten in denen permanent oder phasenweise anorganische oder organische Schwebeteilchen auftreten. Dies können beispielsweise Tonpartikel aus Flussabläufen sein. Eine erhöhte Produktion von Pseudofäzes wurde bei allen Mytiliden während der Versuchsphase beobachtet. Die Produktion der Pseudofäzes ist energieaufwendig und diese Energie steht dann nicht mehr für andere Prozesse zur Verfügung. Für Depositfresser stellt das Mikroplastik vermutlich keine solche Belastung dar, da sie die Partikel meist nicht selektieren und wieder absondern. Der Einfluss von Mikroplastik auf Meeresorganismen hängt daher sicherlich stark von deren Lebens- und Ernährungsweise ab.

Sehr deutliche negative Auswirkungen des Mikroplastiks fanden sich vor allem bei der Grünlippmuschel *Perna viridis* aus Indonesien. Bei dieser Art nahm die Sterblichkeit mit steigender Mikroplastikbelastung deutlich zu (Abbildung 6), während die Filtrationsleistung und die Produktion der Byssusfäden deutlich abnahmen (Abbildung 7 & 8). Zudem nahm auch die Respiration mit steigender Mikroplastikbelastung ab. Diese Daten wurden in der Mitte des Versuchs nach ungefähr 40 Tagen erhoben.

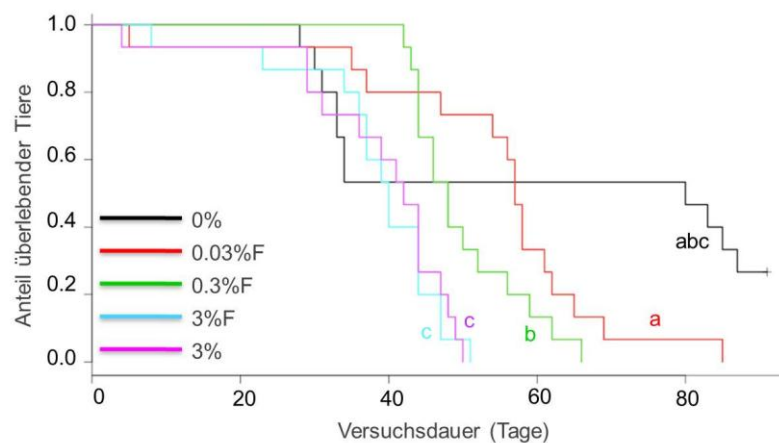


Abbildung 6: Sterblichkeit der Grünlippmuschel *Perna viridis* unter den verschiedenen Versuchsbedingungen. Die Farben geben den Massenanteil an Plastik im umgebenden Sediment an, während der Buchstabe F angibt, welche Behandlungsgruppen den organischen Schadstoff Fluoranthen enthielten. Die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen sind statistisch signifikant (Cox-Regression:  $\chi^2 = 30,55$ ,  $p \leq 0,05$ ). Gruppen, die keine Buchstaben miteinander teilen, sind signifikant verschieden (Log-Rang Test  $\leq 0,05$ ).

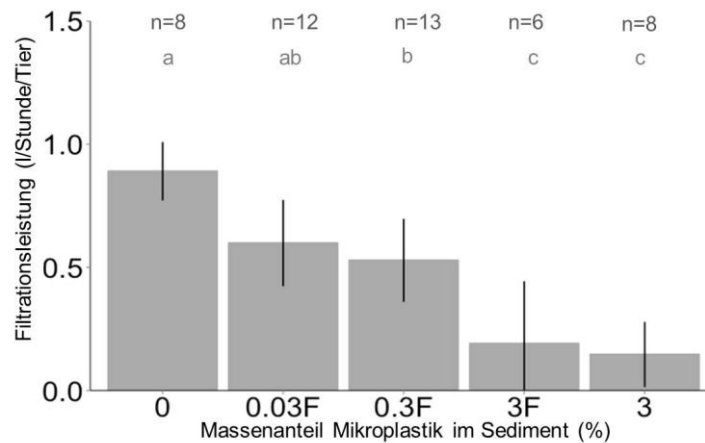


Abbildung 7: Filtrationsleistung der Grünlippmuschel *Perna viridis* unter den verschiedenen Versuchsbedingungen. Der Buchstabe F gibt an, welche Behandlungsgruppen den Schadstoff Fluoranthren enthielten. Die Mikroplastikbelastung hatte einen signifikanten Einfluss auf die Filtrationsleistung (ANOVA:  $F = 12,3$ ,  $p \leq 0,05$ ). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstabencodes sind signifikant voneinander verschieden (Tukey's HSD  $\leq 0,05$ ). Gezeigt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle.

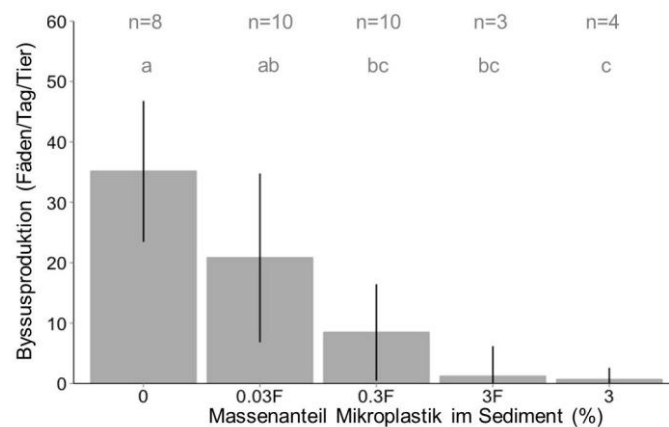


Abbildung 8: Byssuproduktion der Grünlippmuschel *Perna viridis* unter den verschiedenen Versuchsbedingungen. Die Mikroplastikbelastung hatte einen signifikanten Einfluss auf die Byssusproduktion (ANOVA:  $F = 4,39$ ,  $p \leq 0,01$ ). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstabencodes sind signifikant voneinander verschieden (Tukey's HSD  $\leq 0,05$ ). Gezeigt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle.

Bei keiner anderen Art fand sich ein so deutliches Bild. Interessant war dabei, dass sowohl die Filtrationsleistung als auch die Respiration in Abwesenheit von Mikroplastik gemessen wurden. Es lag also keine unmittelbare Reaktion auf eine Partikelbelastung vor, sondern es ist wohl zu einer langfristigen Anpassung der Tiere an die Hälterungsbedingungen gekommen, die dann auch in Abwesenheit der eigentlichen Belastung fortwirkte. Eine mögliche Erklärung dafür, warum gerade diese Art so empfindlich auf die Mikroplastikbelastung reagierte, könnte darin liegen, dass die Tiere aufgrund der hohen Umgebungstemperaturen deutlich höhere metabolische Raten aufwiesen als vergleichbare Arten an anderen Standorten. Die Wassertemperaturen sowohl im Habitat der



Muscheln als auch im Labor in Bogor bewegten sich zwischen 27°C und 29°C. Damit lagen sie um mehr als 10°C höher als beispielsweise am Standort Akkeshi in Japan. Entsprechend der Q10-Regel sollte die metabolische Aktivität der Muscheln aus Indonesien also das 2 bis 3-fache der Aktivität der Tiere aus Akkeshi betragen haben. Dieser deutliche Unterschied im Metabolismus der Versuchstiere könnte bewirkt haben, dass sich Effekte des Mikroplastiks bei den Muscheln aus Indonesien früher und deutlicher abgezeichnet haben als bei ähnlichen Arten an kälteren Standorten. Dies deutet auch daraufhin, dass die Verschmutzung mariner Habitate mit Mikroplastikpartikeln mit anderen Auswirkungen des globalen Wandels, wie beispielsweise der Ozeanerwärmung, der Versauerung oder der Ausbreitung von Sauerstoffminimumzonen interagieren könnte. Somit könnten sich negative Effekte gegenseitig verstärken. Dies könnte vor allem darauf zurückgehen, dass die Aufnahme von Mikroplastik das Energiebudget der Tiere zusätzlich belastet und sie somit empfindlicher macht gegenüber weiteren Stressoren. Zum einen könnte die Reinigung von Kiemen- oder Filterapparaten zusätzliche Energie erfordern und zum anderen könnte die Aufnahme von organischen Schadstoffen, die dem Mikroplastik anhaften, Entgiftungsreaktionen notwendig machen. Diese sind ebenfalls energieaufwendig. Dies deutet daraufhin, dass die weitere Erforschung der möglichen Auswirkungen von Mikroplastik auf marine Systeme stärker die Wechselwirkungen mit anderen Umweltstressoren berücksichtigen sollte. So könnte sich die Partikeldichte ab welcher mit negativen Effekten einer Mikroplastikverschmutzung gerechnet werden muss, in Anwesenheit eines weiteren Stressors deutlich nach unten verschieben.

Interessanterweise reagierte die Miesmuschel *Mytilus trossulus*, die am Standort Akkeshi in Japan untersucht wurde, teilweise gänzlich anders auf die Mikroplastikbelastung als die Tiere in Indonesien. So stieg bei dieser Art die Filtrationsleistung mit steigender Partikeldichte an (gemessen wurde diese wieder in Abwesenheit von Mikroplastikpartikeln) (Abbildung 9).

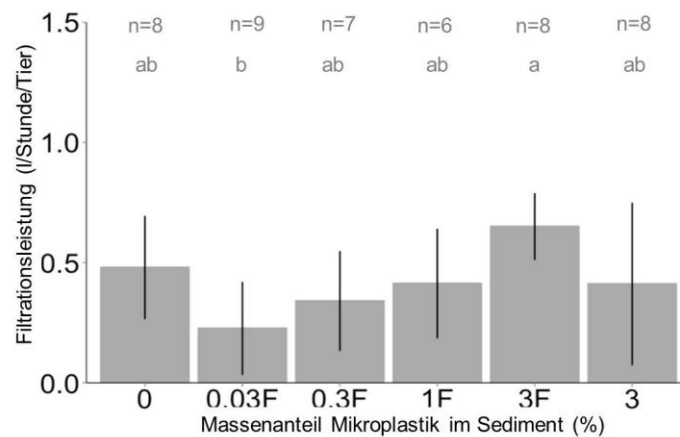


Abbildung 9: Filtrationsleistung der Miesmuschel *Mytilus trossulus* unter den verschiedenen Versuchsbedingungen. Der Buchstabe F gibt an, welche Behandlungsgruppen den Schadstoff Fluoranthren enthielten. Die Mikroplastikbelastung hatte einen marginal signifikanten Einfluss auf die Filtrationsleistung der Tiere (ANOVA:  $F = 2,3$ ,  $p = 0,059$ ). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstabencodes sind signifikant voneinander verschieden (Tukey's HSD  $\leq 0.05$ ). Gezeigt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle.

Dies könnte darauf zurückgehen, dass die Tiere versucht haben ihren, durch die Mikroplastikbelastung gesteigerten Energiebedarf dadurch zu decken, dass sie mehr Phytoplankton aus dem Wasser aufnehmen. Eventuell könnten die Mikroplastikpartikel in der Wassersäule auch als Stimulus gewirkt haben, der die Filtrationsleistung bei den Tieren langfristig gesteigert hat. Das sind jedoch alles Spekulationen, die sich anhand der gewonnenen Daten nicht überprüfen lassen. Es liegt also nahe, dass *M. trossulus* gänzlich anders auf Mikroplastik reagiert als die ökologisch und taxonomisch sehr ähnliche *P. viridis*. Dies könnte jedoch auch auf die unterschiedlichen Umweltbedingungen an den beiden Versuchsstandorten zurückgehen. Der experimentelle Ansatz erlaubt es in diesem Falle nicht, die beiden möglichen Einflussgrößen – Artzugehörigkeit und Umgebungstemperatur – voneinander zu trennen. Deutlich wird wiederum die Notwendigkeit von Experimenten, die sich gezielt damit beschäftigen wie eine Veränderung in den Umweltbedingungen die Wirkweise von Mikroplastikpartikeln auf Benthosorganismen modifizieren kann.

Die folgenden Antwortvariablen wurden im Rahmen dieser Studie bei den untersuchten Tierarten erhoben, allerdings konnten einige nur für eine der beiden funktionalen Gruppen erfasst werden. Die Zahlen in Klammern geben an bei wieviel Prozent der Arten jeweils ein signifikanter Einfluss der Mikroplastikbelastung auf die betrachtete Antwort gefunden wurde: Überleben während des Expositionsversuches (31%), Filtrationsleistung (nur Filtrierer: 71%), Fäzesproduktion (nur

Depositfresser: 56%), Byssusproduktion (nur Filtrierer ohne *Megabalanus azoricus* und *Isognomon radiatus*: 50%). Diese Darstellung schlüsselt jedoch nicht auf, ab welcher Mikroplastikbelastung jeweils Effekte auftraten.

Abschließend soll noch auf die Frage eingegangen werden, ob die Kontamination der Partikel mit dem organischen Schadstoff Fluoranthen eine Rolle für die biologische Wirkung der Partikel gespielt hat. Die toxikologischen Analysen konnten belegen, dass die Befruchtung der PVC-Partikel mit dem Schadstoff erfolgreich war und in einigen Fällen konnten auch erhöhte Fluoranthen-Konzentrationen im Gewebe der Tiere nachgewiesen werden (Daten sind hier nicht dargestellt). Insgesamt war das gewonnene Bild wiederum nicht einheitlich. Mit Blick auf die physiologischen Antwortvariablen zeigte sich in einigen wenigen Fällen eine deutliche Reaktion auf die Schadstoffbelastung. Beispielsweise bei der Mangrovenauster *I. radiatus* in Mexiko. Hier war die Sauerstoffkonsumption bei Tieren die Fluoranthen mit dem Plastik aufnahmen deutlich höher als bei Artgenossen, die keiner Fluoranthenbelastung ausgesetzt waren (Abbildung 10).

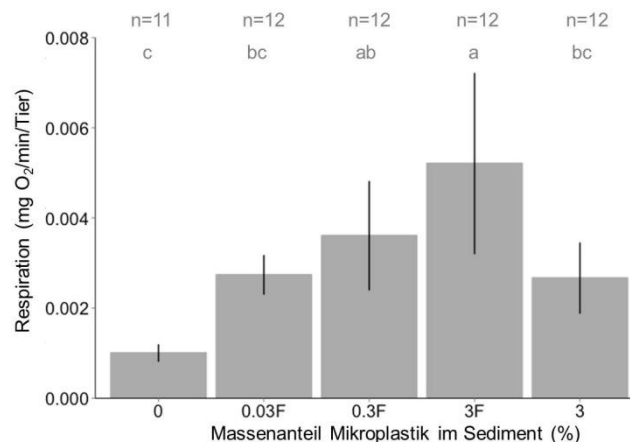


Abbildung 10: Respirationsraten der Mangrovenauster *Isognomon radiatus* unter den verschiedenen Versuchsbedingungen. Der Buchstabe F gibt an, welche Behandlungsgruppen den Schadstoff Fluoranthen enthielten. Die Mikroplastikbelastung hatte einen signifikanten Einfluss auf die Respiration der Tiere (ANOVA:  $F = 8,7$ ,  $p \leq 0,001$ ). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstabencodes sind signifikant voneinander verschieden (Tukey's HSD  $\leq 0,05$ ). Gezeigt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle.

Dies deckt sich mit den Ergebnissen früherer Studien, die gezeigt haben, dass Fluoranthen die Respirationsleistung bei aquatischen Organismen erhöht (Eertman 1995). Bei *P. viridis* aber ließ sich so ein Effekt beispielsweise nicht nachweisen (Abbildung 11).

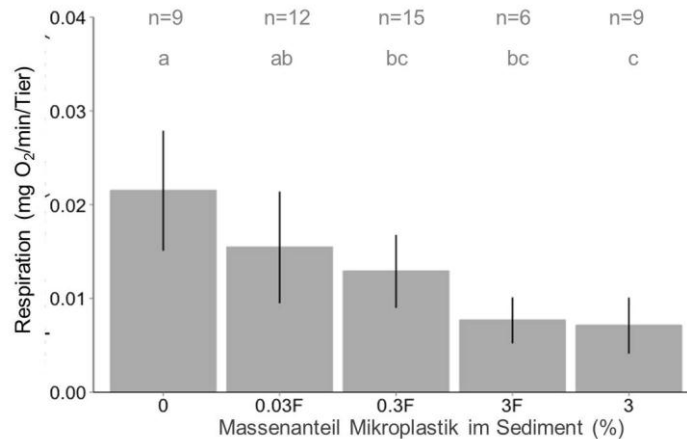


Abbildung 11: Respirationsraten der Grünlippmuschel *Perna viridis* unter den verschiedenen Versuchsbedingungen. Der Buchstabe F gibt an, welche Behandlungsgruppen den Schadstoff Fluoranthen enthielten. Die Mikroplastikbelastung hatte einen signifikanten Einfluss auf die Respiration der Tiere (ANOVA:  $F = 3,1$ ,  $p \leq 0,001$ ). Gruppen mit unterschiedlichen Buchstabencodes sind signifikant voneinander verschieden (Tukey's HSD  $\leq 0,05$ ). Gezeigt sind Mittelwerte und 95% Konfidenzintervalle.

Auch hier gilt also auch wieder, dass Art und Stärke der Auswirkungen sich zwischen den Versuchsorganismen unterschieden. Insgesamt fand sich nur bei einem geringen Teil der Arten ein Effekt des Fluoranthens auf die Überlebensrate (11%) und auf die Sauerstoffaufnahme (18%). Interessant ist aber, dass von den Arten, die signifikant auf die Fluoranthenbelastung reagierten, 83% zu den Depositfressern gehörten. Dies deutet an, dass diese Tiergruppe eventuell stärker von einer Belastung des Mikroplastiks durch Schadstoffe betroffen ist als die Filtrierer. Dies könnte damit zu tun haben, dass diese Tiere relativ zu ihrer Biomasse insgesamt mehr Mikroplastik in ihren Magendarmtrakt aufnehmen als die Filtrierer. Auch dies müsste experimentell überprüft werden. Im Gegensatz zu den Filtrierer selektieren aber Depositfresser das Material, das sie aufnehmen, nicht vor.

Abschließend lässt sich aufgrund der im Rahmen der 12. GAME-Studie gewonnenen Daten sagen, dass Mikroplastikpartikel durchaus negative Auswirkungen auf benthische Organismen haben können. Die Stärke der Effekte, ihre Richtung und auch die Partikeldichte ab der messbare Effekte auftraten, variierte jedoch zwischen den Versuchsstandorten. Ob dies auf die unterschiedlichen

Artzugehörigkeiten zurückgeht oder die unterschiedlichen Umweltbedingungen an den Versuchsstandorten den Ausschlag gaben, lässt sich anhand der Daten nicht klären. Dies muss im Rahmen zukünftiger Studien zu diesem Thema untersucht werden. Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Daten stellen hierfür eine hervorragende Ausgangsbasis dar.



Abbildung 12: Die TeilnehmerInnen des 12. GAME-Projekts (von links nach rechts): Myriam Perschke, Lisa Hentschel, Magdalena Gatta, Izchel Hernández, Laura Mazaira, Bruno Lobo, Malin Teegen, Hiromi Sugai, Denise Marx, Lena Heel, Sinja Rist und Khoirunnisa Assidqi.

## Literatur

Andrady, A.L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 62(8): 1596–605.

Arthur, C., Baker, J., Bamford, H. (Eds.) (2009). Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris. 9-11 September 2008. Tacoma, WA, USA.

Bakir, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C. (2014). Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution* 185: 16–23.

Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M.A. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364 (1526): 1985–1998.

Betts, K. (2008). Why small plastic particles may pose a big problem in the oceans. *Environmental Science & Technology* 42: 8995.

Browne, M.A., Dissanayake, A., Galloway, T.S., Lowe, D.M., Thompson, R.C. (2008). Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science & Technology* 42(13): 5026–5031.

Carson, H.S., Colbert, S.L., Kaylor, M.J., McDermid, K.J. (2011). Small plastic debris changes water movement and heat transfer through beach sediments. *Marine Pollution Bulletin* 62(8): 1708–1713.

Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., Janssen, C.R. (2013). Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution* 182: 495–499.

De Jonge, V.N., Van Beusekom, J.E.E. (1995). Wind- and tide-induced resuspension of sediment and microphytobenthos from tidal flats in the Ems estuary. *Limnology & Oceanography* 40: 842-852.

Eertman, R.H.M., Groenik-Van Emstede, M., Sandee, B., Hummel, H., Smaal, A.C. (1995). Response of the blue mussel *Mytilus edulis* L. following exposure to PAHs or contaminated sediment. *Marine Environmental Research* 39(1-4): 169-173.

Hoornweg D., Bhada-Tata, P., Kennedy, C. (2013). Waste production must peak this century. *Nature* 502: 615-617.

Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Lavender Law, K. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347(6223): 768-771.

Jensen, L. K., Honkanen, J. O., Jæger, I., Carroll, K. (2012). Bioaccumulation of phenanthrene and benzo[a]pyrene in *Calanus finmarchicus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 78: 225–231.

Katsanevakis, S., Verriopoulos, G., Nicolaidou, A., Thessalou-Legaki, M. (2007). Effect of marine litter on the benthic megafauna of coastal soft bottoms: a manipulative field experiment. *Marine Pollution Bulletin* 54: 771-778.

Laist, D. (1997): Impacts of marine debris: Entanglement of marine life in marine debris. Including a comprehensive list of species with entanglement and ingestion records. In: Coe, J. & Rogers, D. (eds.) *Marine Debris*. Springer New York.

Lobelle, D., Cunliffe, M. (2011): Early microbial biofilm formation on marine plastic debris. *Marine Pollution Bulletin* 62: 197-200.

Mallory, M.L. (2008), Marine plastic debris in northern fulmars from the Canadian high Arctic. *Marine Pollution Bulletin* 56: 1501-1504.

Mato, Y., Isobe, T., Takada, H., Kanehiro, H., Ohtake, C., Kaminuma, T. (2001). Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. *Environmental Science & Technology* 35: 318–324.

Rios, L. M., Moore, C. J., Jones, P. R. (2007). Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Marine Pollution Bulletin* 54 (8): 1230–1237.

Teuten, E.L., Saquing, J.M., Knappe, D.R.U., Barlaz, M.A., Jonsson, S., Björn, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., Galloway, T.S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Hung Viet, P., Seang Tana, T., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M.P., Akkavong, K., Ogata, Y., Hirai, H., Iwasa, S., Mizukawa, K., Hagino, Y., Imamura, A., Saha, M., Takada, H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 364(1526): 2027–2045.

Thompson, R. C., Olsen, Y., Mitchell, R. P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W. G., McGonigle, D., Russell, A. E. (2004). Lost at sea: where is all the plastic? *Science* 304: 838.

Vannela, R. (2012). Are we „Digging Our Own Grave“ Under the Oceans? Biosphere-level effects and global policy challenge from plastic(s) in the oceans. *Environmental Science & Technology* 46: 7932-7933.

Vianello, A., Boldrin, A., Guerriero, P., Moschino, V., Rella, R., Sturaro, A., Da Ros, L. (2013). Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: First observations on occurrence, spatial patterns and identification. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 130: 54-61.

von Moos, N., Burkhardt-Holm, P., Köhler, A. (2012). Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the Blue Mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. *Environmental Science & Technology* 46(20) 11327–11335.

Wegner, A., Besseling, E., Foekema, E. M., Kamermans, P., Koelmans, A. A. (2012). Effects of nanopolystyrene on the feeding behavior of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* 31(11): 2490–2497.

Wright, S.L., Rowe, D., Thompson, R.C., Galloway, T.S. (2013). Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology* 23: 1031-1033.

Ye, S., Andrady, A.L. (1991). Fouling of floating plastic debris under Biscayne Bay exposure conditions. Marine Pollution Bulletin 22: 608-613.

### Danksagung

Die GAME-Teilnehmer und das GAME-Team danken der Lighthouse Foundation und den unten aufgeführten Förderern sehr herzlich für die großzügige Unterstützung. Ihr Engagement hat dieses Projekt erst möglich gemacht. Weiterhin bedanken wir uns bei Prof. Edmund Maser und Dr. Hans-Jörg Martin vom Institut für Toxikologie und Pharmakologie der CAU Kiel für ihre Unterstützung und ihren fachlichen Rat bei der chemischen Analyse der Proben.

