

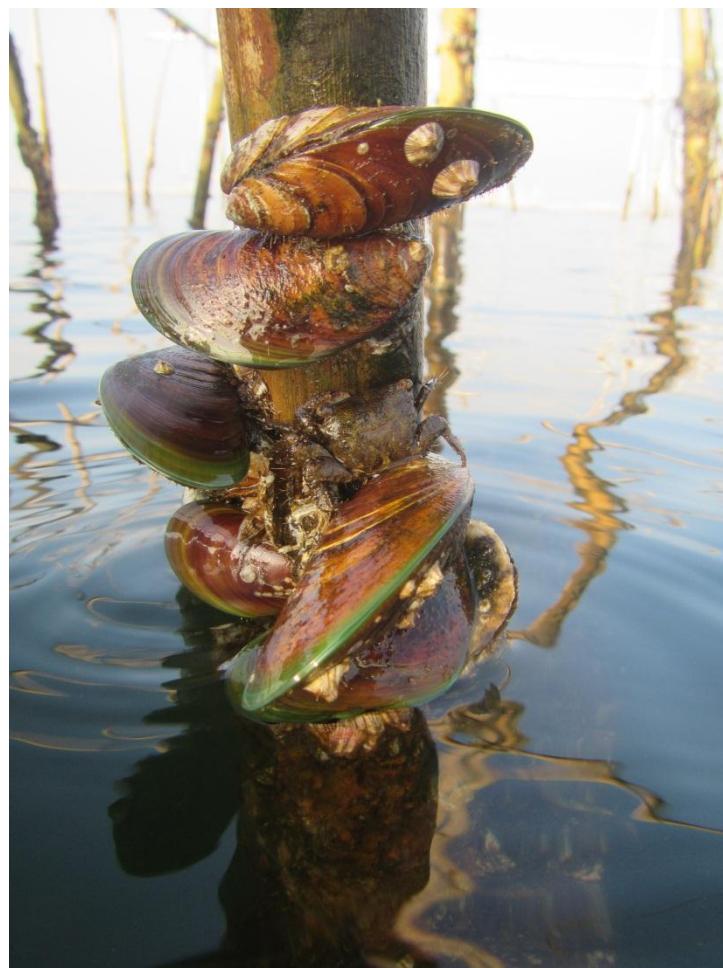


Abschlussbericht GAME XIV

Erhöht Wärmestress die Empfindlichkeit benthischer Filtrierer gegenüber Mikroplastik?

Ein Projekt im Rahmen des internationalen Forschungs- und Ausbildungsprogramms GAME (Globaler Ansatz durch Modulare Experimente)

Autor: Dr. Mark Lenz, GEOMAR Helmholtz-Zentrum für Ozeanforschung Kiel, Marine Ökologie,
Benthische Systeme, Düsternbrooker Weg 20, 24105 Kiel, mlenz@geomar.de



1.0 Einleitung

Plastikmüll ist eine Komponente des Globalen Wandels in marinen Ökosystemen. Er hat das Potential, Meeresorganismen über seine direkten Auswirkungen oder über indirekte Wechselwirkungen mit anderen Umweltstressoren, wie Sauerstoffmangel, Erwärmung oder Ozeanversauerung, zu schädigen. Plastikmüll stellt ein schnell wachsendes Problem dar, denn die Menge, die jedes Jahr in die Meere gelangt, soll Prognosen zufolge von derzeit geschätzten 8 Millionen Tonnen auf bis zu 150 Millionen Tonnen im Jahre 2025 anwachsen (Jambeck et al. 2015). Und ein Ende dieses Trends ist nicht abzusehen, denn das Maximum der globalen Müllproduktion wird erst für das 22. Jahrhundert erwartet (Hoornweg et al. 2013).

Plastik gelangt vor allem durch schlecht gesicherte Müllwege in die terrestrische und aquatische Umwelt. Aus offenen Deponien tragen Wind, Regen und Flüsse Plastik aus und verfrachten es in Flüsse oder direkt ins Meer. Dort angekommen stellt Plastikmüll eine hochmobile Verschmutzungsform dar, eine Eigenschaft die Plastik von vielen anderen Formen der Umweltverschmutzung unterscheidet. Viele Plastikpolymere haben eine geringere Dichte als Meerwasser und treiben an der Oberfläche oder es handelt sich bei den Plastikgegenständen um luftgefüllte Hohlkörper. Dies und die Tatsache, dass Plastik praktisch nicht biologisch abgebaut werden kann, sind der Grund dafür, dass dieser Müll durch die Meeresströmungen über weite Strecken transportiert wird. So erreicht er auch marine Ökosysteme, die weitab menschlicher Zivilisation liegen.

Obwohl er nicht abbaubar ist, verändert sich Plastikmüll im Meer dennoch. Durch chemische und mechanische Einflüsse zerfällt er in immer kleinere Fragmente und es entsteht Mikroplastik (Barnes et al. 2009). Dies ist definitionsgemäß kleiner als 5 mm (Arthur et al. 2009). Neben der Fragmentierung werden Plastikteile zudem von Meeresorganismen besiedelt, die dessen stabile Oberfläche als Lebensraum nutzen (Ye & Andrade 1991, Lobelle & Cuncliff 2011). Bei diesen Aufwuchsorganismen handelt es sich um Bakterien, Protozoen und einzellige Algen aber auch um

wirbellose Tiere wie Seepocken und Muscheln. Durch die Besiedlung verändert sich das spezifische Gewicht der Plastikfragmente und sie sinken ab. Dies bewirkt einen vertikalen Transport des Plastiks zum Meeresboden, wo es sich anreichert (Vannela 2012, Van Cauwenberghe et al. 2013).

Die Auswirkungen großer Plastikteile, 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, Katsanevakis et al 2007, Mallory 2008). Diese Tiere verwechseln treibendes Makroplastik mit ihrer natürlichen Beute und verschlucken es, was Darmverschluss und Pseudosättigung zur Folge haben kann. Beides kann zum Tod der betroffenen Tiere führen. Weiterhin können sie sich in Folien oder Tüten verfangen, was zu Verletzungen oder zum Ersticken führt (Laist 1997). Auf diese Weise gefährdet Plastikmüll marine Tierarten, die oft auch schon aufgrund anderer menschlicher Einflüsse in ihrem Bestand bedroht sind.

Bislang wissen wir aber nur sehr wenig darüber, wie kleine Plastikpartikel Meeresorganismen schädigen. Diese können sich aufgrund ihrer geringen Größe vor allem auf die Basis der marinen Nahrungsnetze auswirken. Sie werden wohl vor allem von wirbellosen Tieren, aber auch von Fischen, aufgenommen, die oftmals selbst eine wichtige Nahrungsquelle für andere Meeresorganismen und auch für den Menschen darstellen (Betts 2008, Wright et al. 2013). So nehmen Depositfresser wie der Wattwurm *Arenicola marina*, der Sediment verschluckt, um ihm die organischen Bestandteile zu entziehen, Mikroplastik auf (Thompson et al. 2004). Während der Passage durch den Darm der Würmer, dessen chemisches Milieu stark vom Seewasser abweicht, können sich anhaftende organische Substanzen ablösen und ins Gewebe der Tiere übergehen (Teuten et al. 2009, Bakir et al. 2014). Auch benthische Filtrierer, wie Muscheln oder Seepocken, nehmen Mikroplastikpartikel zusammen mit Nahrungspartikeln auf (Browne et al. 2008, Rist et al. 2016). Bei dieser Tiergruppe spielt wohl auch der rein mechanische Effekt der Plastikpartikel eine wichtige Rolle. Sie können sich im Kiemenapparat von Muscheln verfangen und die Nahrungsaufnahme und die Atmung der Tiere einschränken. Zwar können Muscheln ihre Kiemen reinigen, beispielsweise über die Abgabe von

Schleim, aber dies ist energieaufwendig und schwächt die Tiere. Über diese Mechanismen – und möglicherweise weitere, die noch nicht erkannt wurden - können Mikroplastikpartikel Meeresorganismen schädigen. Sollte sich dies auf das Überleben der Tiere und auf ihren Fortpflanzungserfolg auswirken, können sich die negativen Effekte bis auf die Ebene von Populationen und Ökosystemen fortpflanzen. Hierzu liegen aber noch keine Erkenntnisse vor.

Obwohl zahlreiche Laborexperimente und auch einige Freilandstudien belegt haben, dass eine Vielzahl von marin Wirbellosen Mikroplastik aufnimmt, sind nur in wenigen Studien negative Auswirkungen dokumentiert worden (Von Moos et al. 2012, Wegner et al. 2012, Wright et al. 2013, Rist et al. 2016, Sussarellu et al. 2016). Allerdings wurde in diesen Versuchen oft mit einer unrealistisch hohen Dosis an Mikroplastik gearbeitet, so dass die Verschmutzung, der die Tiere ausgesetzt waren, nicht der derzeitigen Umweltbelastung in marin Habitaten entspricht (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 auf sie einwirkt. Die ökologische Interpretierbarkeit dieser Studien ist daher begrenzt.

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 zu vermeiden. Daher wurden in beiden Globalstudien Expositionsversuche mit benthischen Wirbellosen mit realistischen Mikroplastikbelastungen und über den Zeitraum von mehreren Monaten durchgeführt. Während in 2013 nur mit Depositfressern gearbeitet wurde, wurde das Artenspektrum in 2014 dann auch auf benthische Filtrierer wie Miesmuscheln, Austern und Seepocken ausgeweitet. In beiden Studien wurden negative Effekte des Mikroplastiks auf die Versuchstiere beobachtet (Brennecke et al. 2015, Rist et al. 2016). Besonders deutlich waren diese bei den Miesmuscheln, bei denen in einigen Fällen negative Effekte auf das Überleben, die Respiration, die Filtrationsleistung und die Byssusproduktion gefunden wurden. Jedoch war das Bild nicht homogen und nicht alle Arten erwiesen sich als sensitiv

gegenüber der Mikroplastikbelastung. Vielmehr variierte die Effektstärke mit dem Untersuchungssystem. Besonders deutlich Effekte stellten sich in Indonesien ein, wo mit der Grünen Miesmuschel *Perna viridis* gearbeitet wurde (Rist et al. 2016). Die Wassertemperaturen liegen dort ganzjährig bei 27°C – 29°C. Dies hat zur Folge, dass die wechselwarmen Muscheln hohe metabolische Raten aufweisen, was das Eintreten negativer Effekte beschleunigen sollte. Zudem wurde in früheren GAME-Studien an diesem Standort bereits beobachtet, dass die Muscheln sehr empfindlich auf äußere Einflüsse wie Schwankungen im Sauerstoff- oder Salzgehalt reagieren. Dies ist ungewöhnlich für eine Tiergruppe, die sonst sehr robust gegenüber Umweltstress ist. Dies könnte daran liegen, dass die Tiere sich in diesen Breiten bereits am oberen Ende ihres thermischen Toleranzbereiches befinden und dadurch einem permanenten Wärmestress ausgesetzt sind. Diese Dauerbelastung macht sie dann besonders anfällig für andere Umweltstressoren, wie beispielsweise Mikroplastikpartikel.

Diese Überlegungen legen nahe, dass Mikroplastik mit anderen Umweltstressoren interagieren kann und dass sich das negative Potential dieses Verschmutzungstyps eventuell erst im Wechselspiel mit anderen Umweltfaktoren entfaltet. Diesem Aspekt wurde in der Forschung zu den biologischen Effekten von Mikroplastik bislang wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Lediglich zwei Studien widmeten sich den möglichen Effekten von Mikroplastik, Temperatur und Goldpartikeln (Ferreira et al. 2016) bzw. Mikroplastik, Temperatur und einem Antibiotikum (Fonte et al. 2016) auf die Strandgrundel *Pomatoschistus microps*. Fonte et al. (2016) fanden dabei, dass die negativen Effekte des Mikroplastiks mit steigender Umgebungstemperatur zunahmen.

Im hier vorgestellten Folgeprojekt ging es daher darum, die Frage zu beantworten, ob Wärmestress, als ein Beispiel für einen häufig auftretenden Umweltstress in Flachwassersystemen, die Empfindlichkeit benthischer Filtrierer gegenüber Mikroplastik erhöhen kann. Aufbauend auf den Ergebnissen und Erfahrungen aus dem Jahr 2014 wurde der experimentelle Ansatz in einigen Punkten modifiziert und um die Komponente Wärmestress erweitert. Hinsichtlich des Mikroplastiks wurden mehrere Verschmutzungsszenarien simuliert, wobei die Partikelkonzentrationen entlang

eines logarithmischen Gradienten angeordnet waren. Gegenüber dem Jahr 2014 wurden alle Konzentrationswerte jedoch um eine Zehnerpotenz herabgesetzt, um noch realistischere Behandlungen zu realisieren. Im Gegensatz zu 2014 wurde in 2016 nur mit benthischen Filterierern, wie Muscheln und Seepocken gearbeitet. Diese Tiere können vor allem dann einer hohen Belastung durch Mikroplastik ausgesetzt sein, wenn bereits sedimentiertes Plastikmaterial resuspendiert wird und sich für kurze Zeit in der bodennahen Wasserschicht befindet. Solche Resuspensionseignisse können beispielsweise durch Gezeitenströme ausgelöst werden (De Jonge & Van Beusekom 1995). Zusätzlich zu den Mikroplastikbelastungen wurden 3 Temperaturregime realisiert und mit den Plastikbehandlungen in einem orthogonalen Versuchsdesign kombiniert. Die erste Temperaturstufe entsprach dem langjährigen Mittel der Wassertemperatur an den jeweiligen Versuchsstandorten während der Zeit der Versuchsdurchführung. Zusätzlich wurden zwei Stufen oberhalb dieser Durchschnittstemperatur realisiert. Für das 14. GAME-Projekt stand die Frage im Mittelpunkt, ob es eine Interaktion zwischen dem Wärmestress und der Mikroplastikbelastung gibt. Die Hypothese die getestet wurde, war, dass die Stärke eines möglichen negativen Effekts des Mikroplastiks mit steigender Umgebungstemperatur zunimmt.

2.0 Material und Methoden

2.1 Standorte

Im Rahmen des 14. GAME-Projektes wurden an insgesamt 5 Standorten Experimente durchgeführt.

Dies waren Valdivia im südlichen Chile (Südpazifik), Funchal auf Madeira, Portugal (Nordatlantik),

Menai Bridge in Wales (Nordatlantik), Akkeshi auf Hokkaido, Japan (Nordpazifik), und Bogor auf der

Insel Java, Indonesien (Indopazifik) (Abbildung 1). An diesen Stationen wurden die binationalen

Studententeams von lokalen Wissenschaftlern betreut.



Abbildung 1: Die Standorte des 14. GAME-Projektes. Die Einzelprojekte wurden an GAME-Partnerinstituten in Valdivia (Chile), Funchal (Portugal), Bangor (Wales), Bogor (Indonesien) und Akkeshi (Japan) durchgeführt.

2.2 Plastikmaterial

Wie im Jahr 2014 wurde Polyvinylchlorid (PVC) als Modellpolymer für die Expositionsversuche verwandt. PVC gehört mit einem Anteil von 19% an der Weltproduktion zu den häufigsten Polymertypen (Andrade 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. Es wurden die gleichen PVC-Partikel im Größenbereich 1,5 – 50,0 µm von einem Hersteller in Deutschland (PyroPowders)

bezogen, die auch für die Experimente mit den Filtrierern im Jahr 2014 benutzt wurden (Abbildung 2). Dies erhöht die Vergleichbarkeit der beiden Studien. Das PVC-Pulver enthält laut Hersteller geringe Mengen an Zinn-Stabilisatoren (< 1%) und während der Produktion wird ein Emulgator aus Natrium-Alkyl-Sulfonat (Mersolan E30) hinzugefügt. Es beinhaltet jedoch keine weiteren Additive.

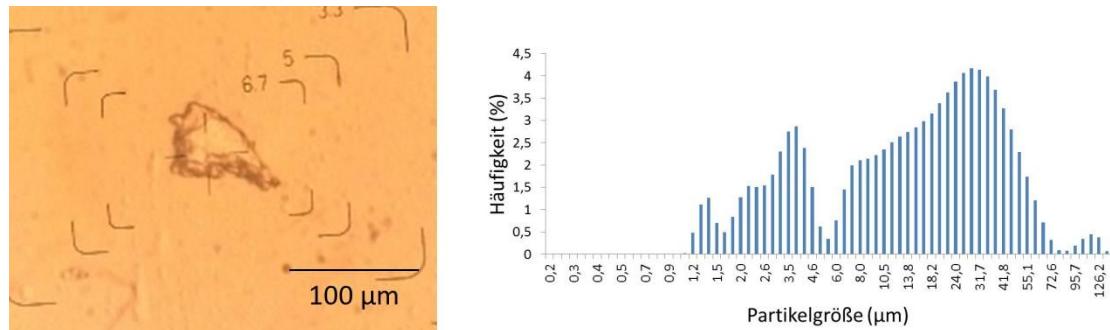


Abbildung 2: Für die Versuche wurden PVC-Partikel im Größenbereich 1,5 – 50,0 μm verwandt. Dieser Bereich deckt sich mit dem Nahrungsspektrum von Miesmuscheln und Seepocken.

Auf eine Befrachtung der Partikel mit dem organischen Schadstoff Fluoranthen, so wie in 2014 geschehen, wurde in 2016 verzichtet. Um jedoch die Besiedlung der PVC-Partikel durch einen bakteriellen Biofilm zu ermöglichen, wurde das Material 5 Tage in Seewasser gelagert bevor es in den Versuchen eingesetzt wurde.

2.3 Versuchsorganismen

An den meisten Standorten wurde mit Arten aus der Familie der Mytilidae gearbeitet. Dies waren: die Grünlippmuschel *Perna viridis* in Indonesien, *Choromytilus chorus* und *Mytilus chilensis* in Chile, die Brackwasser-Miesmuschel *Mytilus trossulus* in Japan und die Gemeine Miesmuschel *Mytilus edulis* in Wales. Außerdem wurden an den Standorten in Japan und Wales Versuche mit der pazifischen Auster *Crassostrea gigas* durchgeführt. Am Hochseestandort Madeira sind epibenthische Muscheln kaum zu finden, daher hat das Team dort mit der Seepocke *Megabalanus azoricus* und mit der Seeanemone *Aiptasia diaphana* gearbeitet (Tabelle 1). Die Seeanemone stellt in dieser Gruppe von Organismen eine Ausnahme dar, da es sich bei ihr um einen Tentakelfänger und nicht um einen Filtrierer handelt. Seeanemonen „fischen“ mit Hilfe ihrer Tentakeln und Nesselzellen Partikel und Planktonorganismen aus der Wassersäule. Sie benutzen also kein Filtersystem für die

Nahrungsaufnahme.

Tabelle 1: Übersicht über die Arten, mit denen an den verschiedenen Standorten gearbeitet wurde.

Standort	Art
Chile	<i>Mytilus chilensis</i>
	<i>Choromytilus chorus</i>
Indonesien	<i>Perna viridis</i>
Japan	<i>Mytilus trossulus</i>
	<i>Crassostrea gigas</i>
Portugal	<i>Aiptasia diaphana</i>
	<i>Megabalanus azoricus</i>
Wales	<i>Mytilus edulis</i>
	<i>Crassostrea gigas</i>

2.5 Expositionsversuche

Während der Experimente wurden die Tiere in kleinen experimentellen Einheiten gehältert. Dabei handelte es sich in den meisten Fällen um Plastikbehälter mit einem Volumen von 0,5 -1,5 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 Ausströmer mit Druckluft versorgt, um eine maximale Sauerstoffsättigung des Wassers zu erreichen. Jedem der Becken wurde eine vorher festgelegte Menge an PVC-Pulver zugefügt (siehe 2.6). Die 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 (Abbildung 2). Während dieser Resuspensionsereignisse wurden die Becken vom Seewasserdurchfluss – wenn vorhanden- abgekoppelt, um einen Austrag des Plastiks zu verhindern. Das Plastikmaterial in den Becken wurde alle 4 Tage erneuert und dabei die Partikelkonzentration neu eingestellt. Während der gesamten Versuchsphase wurden die Tiere mit einzelligen Algen gefüttert.

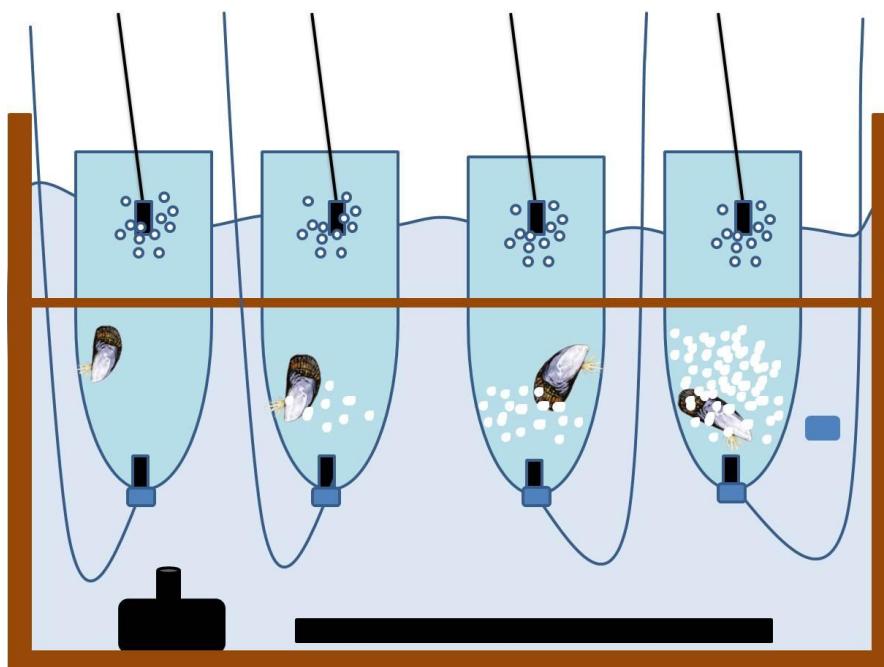


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus. Ausströmsteine am Boden der Versuchsbehälter erzeugten einen Luftstrom, der das Mikroplastik aufwirbelte.

Die einzelnen experimentellen Einheiten wurden in Wasserböden platziert, deren Temperatur über Heizstäbe und Thermoregulatoren eingestellt werden konnte. Tauchpumpen in den Wasserböden verhinderten die Ausbildung von Temperaturgradienten. Außerdem wurde in jedem Wasserbad ein Temperaturlogger platziert, der es ermöglichte den Temperaturverlauf in den Becken später nachzuvollziehen. So konnte geprüft werden, ob die beabsichtigten Temperaturregime auch tatsächlich realisiert wurden und ob es größere Schwankungen in der Temperatur gab. Das Wasser in den einzelnen experimentellen Einheiten stand nicht mit dem Wasserkörper in den Bädern im Kontakt.

2.5.3 Experimentelles Design

Es wurden insgesamt 4 Mikroplastik-Behandlungsstufen realisiert, die sich hinsichtlich der Partikelkonzentration unterschieden. Ausgangspunkt waren dabei die logarhytmisch skalierten Konzentrationen, die im Jahr 2014 benutzt wurden (Rist et al. 2016). Um jedoch noch realistischere Versuchsbedingungen zu erreichen, wurde auf die höchste in 2014 applizierte Stufe (2210 mg/l) verzichtet und dafür eine Stufe am unteren Ende des Konzentrationsspektrums realisiert (2 mg/l). Die Versuchsdauer betrug maximal 3 Monate, wobei sich die Länge der Versuche aber zwischen den verschiedenen Standorten unterschied.

2.5.4 Antwortvariablen

Vor, während und nach dem Expositionsversuch wurden verschiedene Antwortvariablen erhoben, um mögliche Auswirkungen der Mikroplastikbelastung und der Wärmebehandlung auf die Versuchsorganismen zu erfassen. Hierzu gehörte die Sterblichkeit der Tiere, die während des gesamten Expositionsversuchs erfasst wurde. Außerdem wurden die Filtrationsleistung und die Sauerstoffkonsumption gemessen. Bei den Miesmuscheln wurde zudem die Produktion von Byssusfäden quantifiziert. Die Auswertung dieser Daten geschah mittels gängiger statistischer Verfahren, beispielsweise durch Varianzanalysen bzw. Generalisierten Linearen Modellen denen eine Gamma oder Poisson-Verteilung zugrundlag. Außerdem wurden Überlebens-Analysen, Cox-

Regressionen und Log-Rang Tests, herangezogen. Die Auswertung der Daten erfolgte mit der freien Statistiksoftware R (R Core Development Team 2016).

3.0 Ergebnisse und Diskussion

In diesem Bericht können aus Platzgründen nicht alle Ergebnisse des 14. GAME-Projekts dargestellt werden. Alle Teams haben ihre Experimente erfolgreich durchführen können, so dass Daten zu 9 Tierarten und zu zahlreichen Antwortvariablen vorliegen. Der Bericht konzentriert sich daher auf die Auswirkungen auf die Respiration der Tiere, denn diese Daten stehen repräsentativ für das Bild, das in dieser Studie gewonnen wurde. Der Sauerstoffverbrauch ist zudem eng an die metabolische Aktivität eines Organismus gekoppelt und liefert somit zudem Informationen über den Gesamtzustand eines Tieres.

Nicht bei allen untersuchten Arten wurden Auswirkungen des Mikroplastiks auf den Sauerstoffverbrauch festgestellt. Grundsätzlich nahm jedoch, immer wenn ein Effekt eintrat, die Respiration mit steigender Mikroplastikkonzentration ab. Dies deutet auf eine metabolische Depression hin, die belegt, dass das Mikroplastik als Stressor wirkt, der die physiologische Leistungsfähigkeit der Tiere beeinträchtigt. Dies entspricht dem allgemeinen Bild wie es im Jahr 2014 beobachtet wurde und dies obwohl die gewählten Mikroplastikkonzentrationen teilweise niedriger waren als in der Vorgängerstudie. Effekte der simulierten Ozeanerwärmung auf den Sauerstoffverbrauch zeigten sich ebenfalls nicht bei allen getesteten Arten. Hier überraschte außerdem die Beobachtung, dass ein Anstieg der Temperatur bei einigen Arten zu einer Abnahme der Sauerstoffkonsumption führte, während sie bei anderen einen Anstieg bewirkte. Letzteres entsprach den Erwartungen, denn bei wechselwarmen Tieren hängt die metabolische Rate und damit die Sauerstoffkonsumption unmittelbar von der Umgebungstemperatur ab. Das Wirken der Wärmebehandlungen als Stressor war aber eine wichtige Grundvoraussetzung für das Testen der Kernhypothese dieser Studie: der Annahme dass Wärmestress die Tiere empfindlicher gegenüber Mikroplastik macht. Für die Antwortvariable Respiration konnte nur bei 3 Arten ein statistisch signifikanter Effekt sowohl der Temperatur als auch der Mikroplastikbelastung beobachtet werden. Dies waren die Grüne Miesmuschel *Perna viridis* aus Indonesien, die Brackwasser-Miesmuschel *Mytilus trossulus* und die Pazifische Auster *Crassostrea gigas*, die beide in Japan untersucht wurden. Nur für die beiden letztgenannten Arten wurde auch eine statistisch signifikante Interaktion zwischen

den Faktoren ‚Mikroplastik‘ und ‚Temperatur‘ festgestellt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Effekte des Mikroplastiks und der Temperatur auf die Respiration der Brackwasser-Miesmuschel *Mytilus edulis* und der Pazifischen Auster *Crassostrea gigas*. Für die Analyse wurde ein Generalisiertes Lineares Modell mit einer Gamma-Verteilung benutzt.

<i>Mytilus trossulus</i>		
Varianzquelle	F	p
Mikroplastik	8,15	< 0,001
Temperatur	11	< 0,001
Mikroplastik x Temperatur	4,30	< 0,001

<i>Crassostrea gigas</i>		
Varianzquelle	F	p
Mikroplastik	13,39	< 0,001
Temperatur	7,27	< 0,01
Mikroplastik x Temperatur	3,65	< 0,01

Die bei der Miesmuschel und der Auster beobachteten Änderungen in der Wirkweise des Mikroplastiks mit steigender Umgebungstemperatur konnten aber die Ausgangshypothese dieser Studie nicht bestätigen. Es kam zu keiner Zunahme in der Effektstärke des Mikroplastiks mit steigender Umgebungstemperatur. Vielmehr wurde in beiden Fällen ein bei normaler Umgebungstemperatur deutlich sichtbarer Effekt des Mikroplastiks bei höheren Temperaturen vom Wärmestress überlagert. Während bei 17°C Wassertemperatur eine Abnahme der Respiration mit steigender Mikrobelastung zu beobachten war, war dieser Effekt bei 20°C deutlich schwächer aber noch erkennbar. Bei 23°C trat dieser Trend dann nicht mehr auf (Abbildung 4 & 5). Das Verschwinden des Mikroplastikeffekts bei höheren Temperaturen führte dann zu dem statistisch signifikanten Interaktionsterm. Das lag daran, dass die Respiration bei erhöhter Umgebungstemperatur insgesamt zurückging – auch in der Gruppe von Tieren, die keiner Mikroplastikbelastung ausgesetzt waren. Dies zeigt, dass der Wärmestress eine deutlich stärkere Wirkung auf die Tiere hatte als die Mikroplastikbelastung.

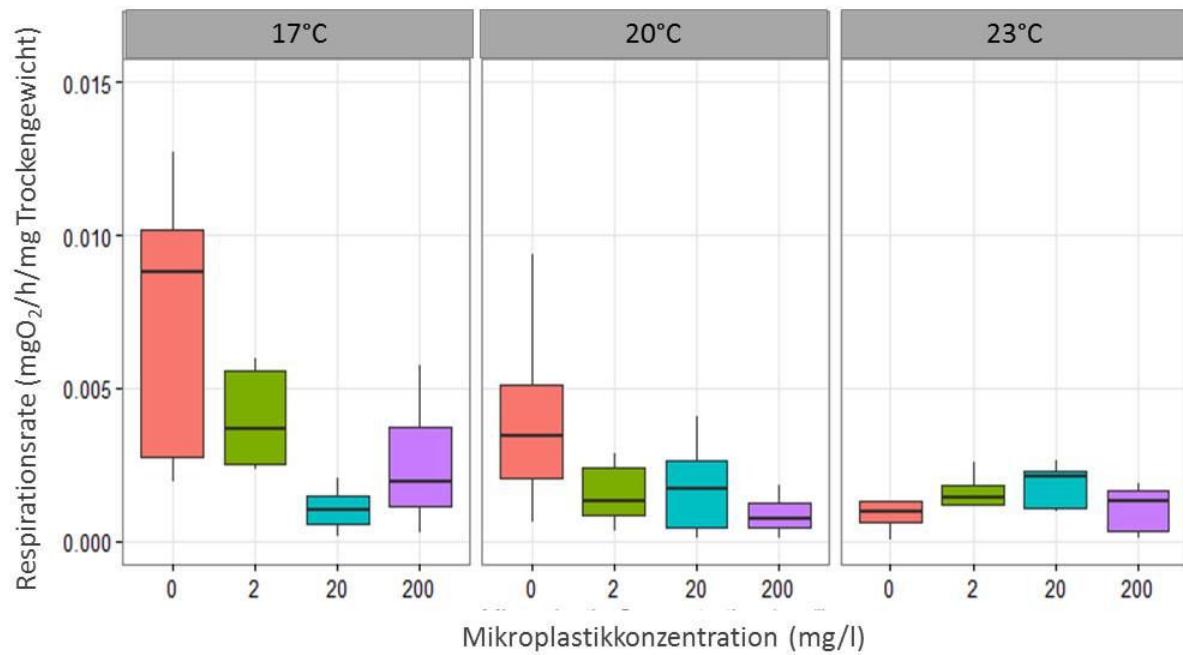


Abbildung 4: Einfluss der Mikroplastikbelastung auf den Sauerstoffverbrauch der Brackwassermiesmuschel *Mytilus trossulus* bei verschiedenen Umgebungstemperaturen. Die Boxen zeigen Mediane, Interquartile und den Nicht-Ausreißerbereich. Ausreißer sind nicht dargestellt.

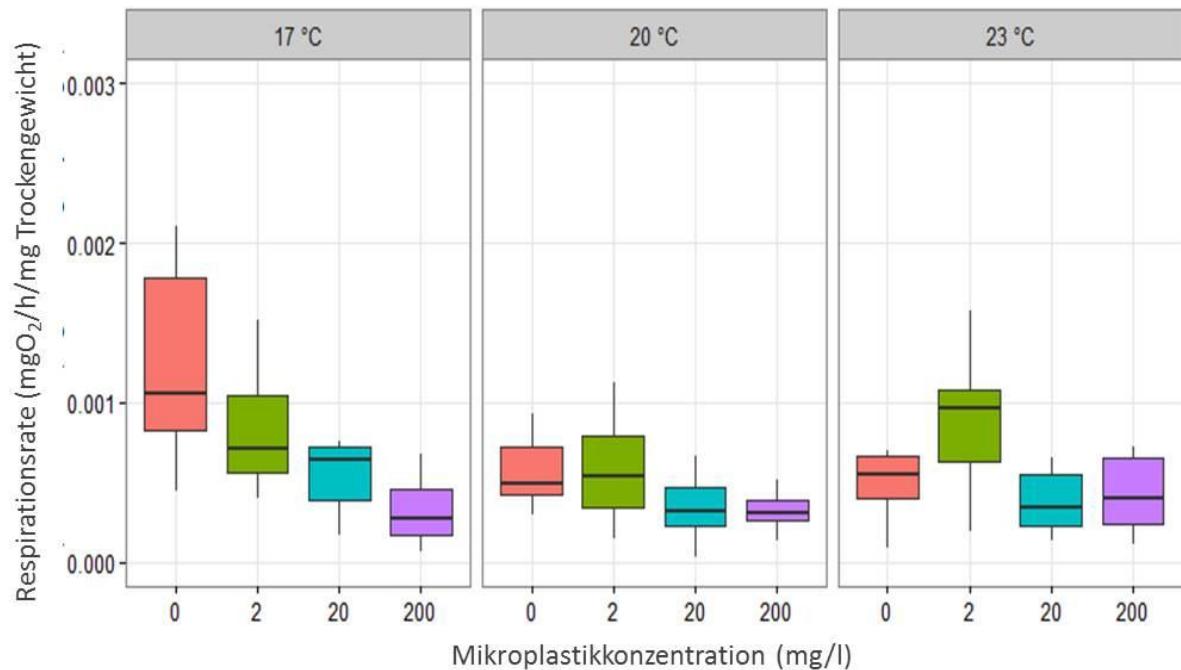


Abbildung 5: Einfluss der Mikroplastikbelastung auf den Sauerstoffverbrauch der Pazifischen Auster *Crassostrea gigas* bei verschiedenen Umgebungstemperaturen. Die Boxen zeigen Mediane, Interquartile und den Nicht-Ausreißerbereich. Ausreißer sind nicht dargestellt.

Die Tatsache, dass der Wärmestress die Effekte des Mikroplastiks komplett überlagerte, unterstützt einerseits die unter Ökologen weit verbreitete Ansicht, dass Mikroplastik als Komponente des Globalen Wandels in marinen Ökosystemen eine weniger gewichtige Rolle spielt als beispielsweise

Wärmestress, Ozeanversauerung oder Sauerstoffmangel. Dies ist aufgrund der Wirkweise von Mikroplastik, dass bei Muscheln wahrscheinlich vor allem dazu führt, dass diese mehr Energie in die Reinigung ihrer Kiemen und in die Bildung von Pseudofäzes investieren müssen, auch zu erwarten. Eine Mikroplastikverschmutzung bewirkt zwar, dass weniger Energie für andere Prozesse zur Verfügung steht, bedeutet aber wohl nur bei sehr hohen Partikelkonzentrationen eine direkte Gefahr für die Tiere. Der Wärmestress hatte da, zumindest bei den Arten, die sensitiv auf die gewählten Temperaturregime reagierten, einen stärkeren Effekt. Dies deutet darauf hin, dass die gewählten Temperaturstufen (3°C und 6°C über der durchschnittlichen jahreszeitlichen Umgebungstemperatur) wahrscheinlich bereits zu stark in ihrer Wirkung waren, um auf eine mögliche Interaktion testen zu können. Dies muss bei zukünftigen Studien zu diesem Thema berücksichtigt werden. Um die möglichen Wechselwirkungen zwischen Mikroplastik und anderen Umweltstressoren zu testen, sollten dann eventuell andere Stressoren herangezogen werden oder die Stressintensität, d.h. der Temperaturanstieg, sollten moderater gewählt werden.

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Frage, warum sich nur am Standort in Japan diese Interaktion einstellte. Der Ort an dem die Tiere dort gesammelt und untersucht wurden liegt auf der japanischen Nordinsel Hokkaido und im Einflussgebiet einer kalten Strömung die Wassermassen aus subpolaren Gebieten nach Süden führt. Daher sind die Wassertemperaturen in diesem Gebiet ganzjährig niedrig und die dort lebenden Organismen an kalte Bedingungen angepasst. Der applizierte Wärmestress hatte in diesem System daher wohl eine besonders starke Wirkung auf die Tiere, während sie gleichzeitig sensitiv gegenüber der Mikroplastikbelastung waren. Im Falle der Muscheln aus Indonesien hatten ebenfalls sowohl der Wärmestress als auch die Mikroplastikbelastung einen signifikanten Einfluss auf den Sauerstoffverbrauch der Tiere, aber es kam zu keiner Interaktion (Tabelle 3). Das heißt der Effekt des Mikroplastiks änderte sich nicht mit der Umgebungstemperatur. Daher kann auch dieses Experiment die Ausgangshypothese, dass Wärmestress die Sensitivität benthischer Filtrierer gegenüber Mikroplastik erhöht, nicht bestätigen. Dass die Muscheln aus der Bucht von Jakarta empfindlich gegenüber einer Belastung ihres Habitats durch Mikroplastik sind, hatte sich bereits 2014 gezeigt. Auch auf eine Erhöhung der

Umgebungstemperatur reagierten sie deutlich (Abbildung 6). Das liegt wahrscheinlich daran, dass sie sich in diesem tropischen System mit einer Durchschnittstemperatur von 28°C bereits am oberen Ende ihres thermischen Toleranzbereichs befinden. Aus diesem Grunde wurden in Indonesien auch geringere Temperaturanstiege gewählt (2°C und 4°C über der durchschnittlichen Umgebungstemperatur) als an den anderen Standorten dieser Studie. Nichtsdestotrotz stellte sich ein deutlicher Temperatureffekt ein.

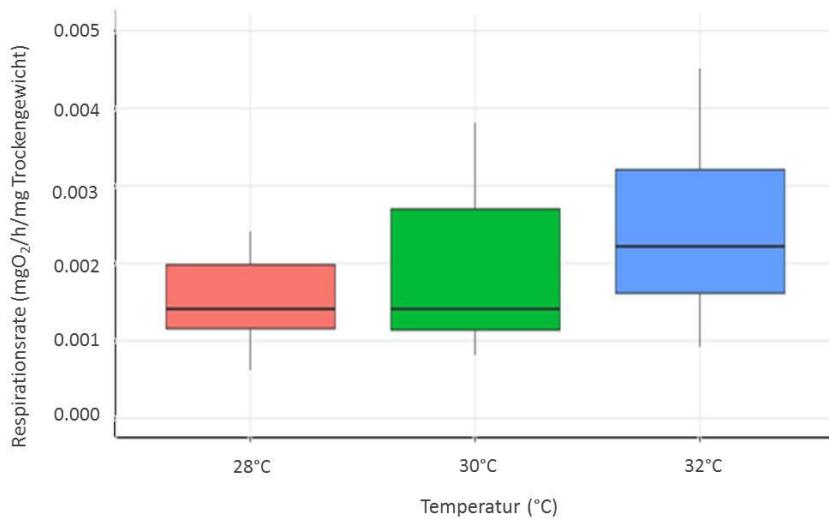


Abbildung 6: Einfluss der Umgebungstemperatur auf den Sauerstoffverbrauch der Grünen Miesmuschel *Perna viridis*. Die Boxen zeigen Mediane, Interquartile und den Nicht-Ausreißerbereich. Ausreißer sind nicht dargestellt.

Tabelle 3: Effekte des Mikroplastiks und der Temperatur auf die Respiration der Grünen Miesmuschel *Perna viridis*. Für die Analyse wurde ein Generalisiertes Lineares Modell mit einer Gamma-Verteilung benutzt

<i>Perna viridis</i>		
Varianzquelle	F	p
Mikroplastik	4,19	< 0,05
Temperatur	5,63	< 0,01
Mikroplastik x Temperatur	0,81	0,57

An allen anderen Standorten wurde mit Blick auf die Respiration entweder kein signifikanter Effekt der Wärmebehandlung oder der Mikroplastikbelastung beobachtet. Daher waren diese Versuche nicht in der Lage die Ausgangshypothese dieser Studie zu testen. Nur bei 3 der 9 Testorganismen hatte der Temperaturanstieg einen signifikanten Effekt auf die Sauerstoffkonsumption – dies sind die 3 bereits besprochen Arten *Perna viridis* (Indonesien), *Mytilus trossulus* (Japan) und *Crassostrea gigas* (Japan). Im Falle der Grünlippmuschel bewirkte der Temperaturanstieg einen Anstieg der

Sauerstoffkonsumption, während bei den beiden anderen Arten, der Sauerstoffverbrauch mit steigender Umgebungstemperatur abnahm (Abbildung 7 & 8). Dies entspricht, wie bereits oben erläutert, nicht den Erwartungen und kann hier nicht zufriedenstellend erklärt werden.

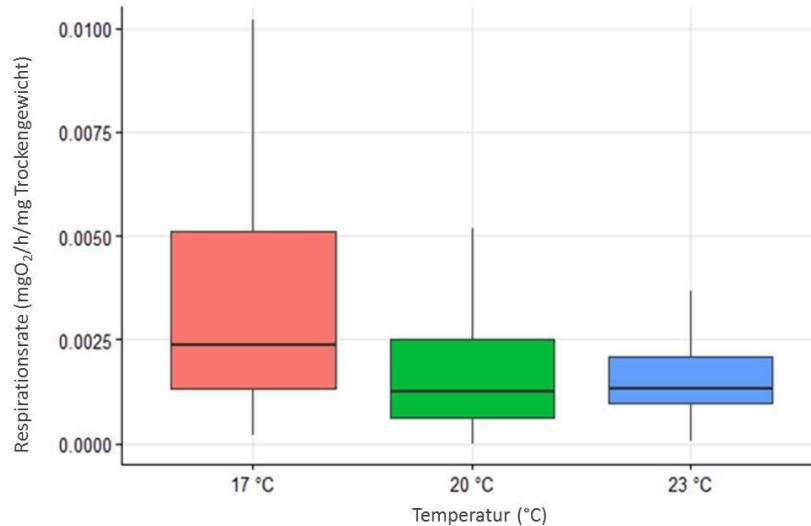


Abbildung 7: Einfluss der Umgebungstemperatur auf den Sauerstoffverbrauch der Brackwasser-Miesmuschel *Mytilus trossulus*. Die Boxen zeigen Mediane, Interquartile und den Nicht-Ausreißerbereich. Ausreißer sind nicht dargestellt.

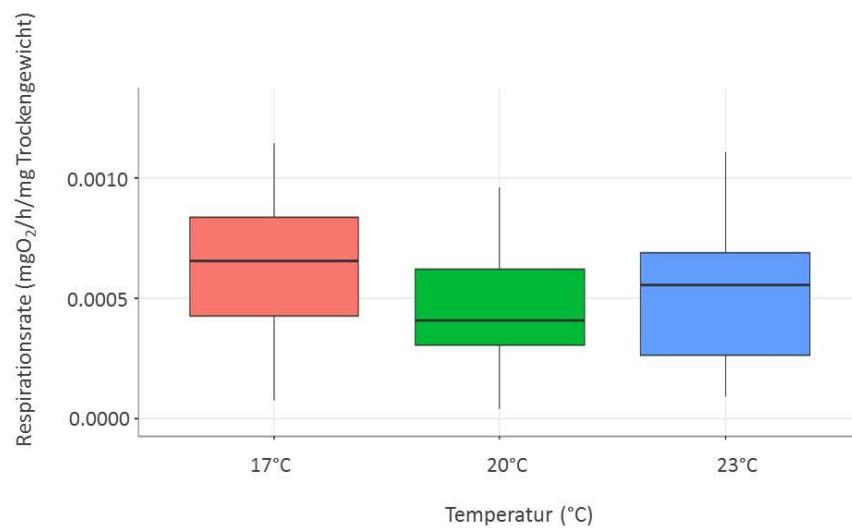


Abbildung 8: Einfluss der Umgebungstemperatur auf den Sauerstoffverbrauch der Pazifischen Auster *Crassostrea gigas*. Die Boxen zeigen Mediane, Interquartile und den Nicht-Ausreißerbereich. Ausreißer sind nicht dargestellt.

Bei insgesamt 4 der Testorganismen stellte sich ein statistisch signifikanter Effekt der Mikroplastikbelastung ein. Neben den 3 bereits erwähnten Arten, bei denen sich ebenfalls ein

signifikanter Temperatureffekt zeigte, war dies die chilenische Miesmuschel *Mytilus chilensis*. Wie bei den anderen 3 Arten auch nahm bei dieser Muschel die Respiration mit steigender Mikroplastikbelastung ab (Abbildung 9). Zudem fällt bei dieser Art auf, dass bereits die relativ geringe Konzentration von 2mg/l zu einer deutlichen Abnahme der Respiration führt. Dies ist ein weiteres Indiz dafür, dass Mikroplastik auch in geringen, durchaus umweltrelevanten Dosen negative Auswirkungen haben kann.

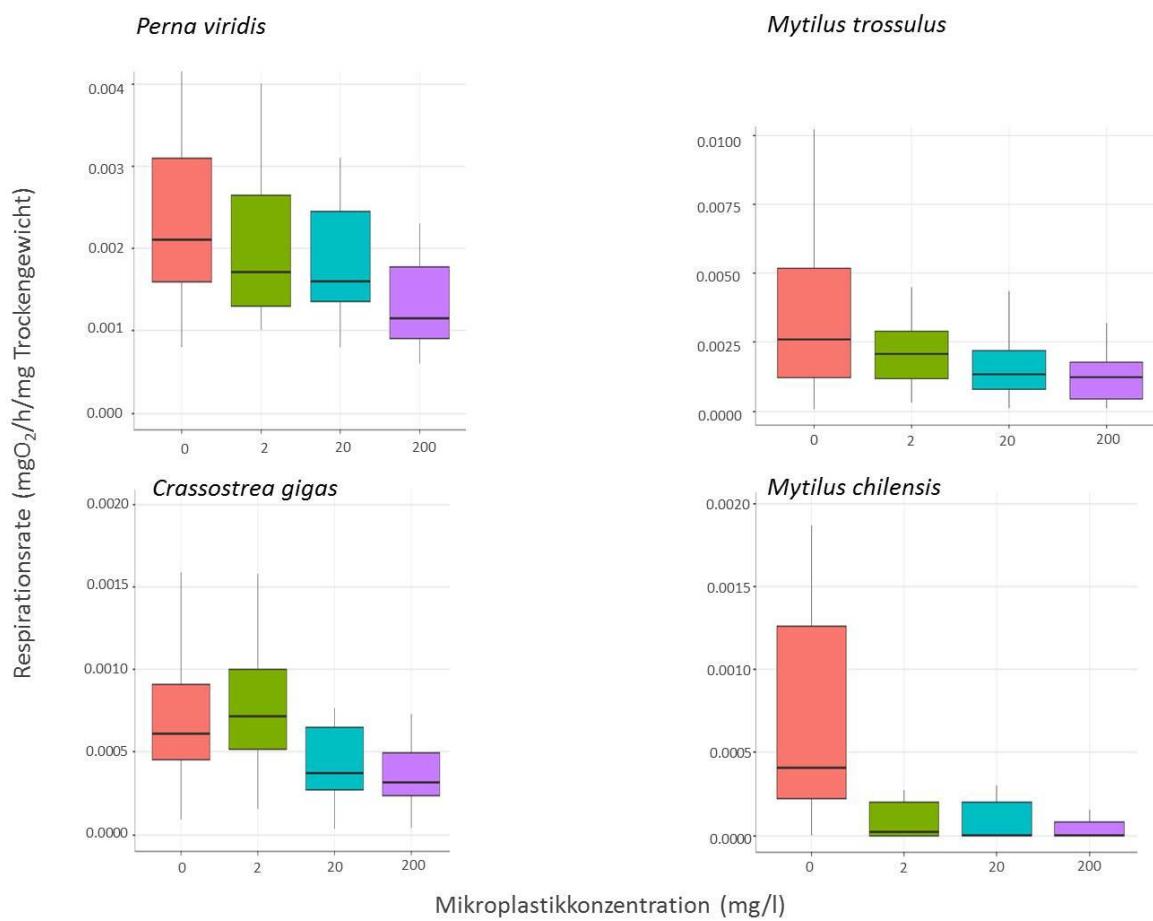


Abbildung 9: Einfluss der Mikroplastikbelastung auf den Sauerstoffverbrauch von 4 Muschelarten. Die Boxen zeigen Mediane, Interquartile und den Nicht-Ausreißerbereich. Ausreißer sind nicht dargestellt.

Bei der Interpretation dieses Befundes muss man berücksichtigen, dass die Respiration in Abwesenheit von Mikroplastikpartikeln gemessen wurde. Es lag also kein akuter Stress vor. Bei den beobachteten Effekten handelt es sich daher um Nachwirkungen der vorangegangenen Exposition gegenüber Mikroplastik. Die Tiere hatten im Laufe des Versuchs dauerhaft ihren Stoffwechsel als

Reaktion auf den Umweltstress reduziert.

Diese Studie war nicht in der Lage, die eingangs formulierte Hypothese über die Wechselwirkung von Mikroplastik mit anderen Umweltstressoren, zufriedenstellend zu testen. Dies lag daran, dass die gewählten Temperaturstufen an einigen Standorten bzw. bei einigen der Testorganismen keinen Wärmestress induzierten und an anderen Standorten bzw. für andere Testorganismen einen zu starken Stress darstellten. Auch die Mikroplastikbelastung hatte nicht bei allen Arten negative Auswirkungen auf die Respiration bzw. die physiologische Leistungsfähigkeit. Trotz dieser Einschränkung war die Studie hinsichtlich der gewonnenen Daten ein Erfolg. Es konnte erneut gezeigt werden, dass Mikroplastik negative Auswirkungen auf benthische Filtrierer hat und dass diese, wie im Falle der chilenischen Miesmuschel *Mytilus chilensis*, auch schon bei geringen Konzentrationen eintreten können.

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.
- Brennecke D., Ferreira E.C., Costa T.M.M., Appel D., da GAMA B.A.P., Lenz M. (2015) Ingested microplastics (> 100µm) are translocated to organs of the tropical fiddler crab *Uca rapax*. *Marine Pollution Bulletin* 96: 491-495.
- 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.
- Cauwenbergh, 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.
- Ferreira P., Fonte E., Soares M.E., Carvalho F., Guilhermino L. (2016). Effects of multi-stressors on juveniles of the marine fish *Pomatoschistus microps*: Gold nanoparticles, microplastics and temperature. *Aquatic Toxicology* 170: 89-103.
- Fonte E., Ferreira P., Guilhermino L. (2016). Temperature rise and microplastics interact with the toxicity of the antibiotic Cefalexin to juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): Post-

exposure predatory behaviour, acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation. *Aquatic Toxicology* 180: 173-185.

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., Andrade, A., Narayan, R., Lavender Law, K. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347(6223): 768-771.

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.

Rist S.E., Assidqi K., Zamani N.P., Appel D., Perschke M., Huhn M., Lenz M. (2016) Suspended micro-sized PVC particles impair the performance and decrease survival in the Asian green mussel *Perna viridis*. *Marine Pollution Bulletin* 111: 213-220.

Sussarellu R., Suquet M., Thomas Y., Lambert C., Fabioux C., Pernet M.E.J., Le Goïc N., Quilien V., Mingant C., Epelboin Y., Corporeau C., Guyomarch J., Robbens J., Paul-Pont I., Soudant P., Huvet A. (2016). Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113: 201519019.

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., Akkhavong, 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.

Vannella, 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., Andrade, 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 den Förderern des 14. GAME-Projektes sehr herzlich für die großzügige Unterstützung. Durch ihr Engagement konnten 10 Studierende am Programm teilnehmen und Daten an 5 Standorten sammeln.



Abbildung 10: Die Teilnehmer und Teilnehmerinnen des 14. GAME-Projektes waren (von links hinten nach rechts vorne): Kyra Paulweber, Vanessa Herhoffer, Nadine Müller, Anna Hohnheiser, Sabrina Schneider-Covacha, Pamela Olmedo Rojas, Mone Ota, Dea Fauzia Lestari, Catarina Serra Goncalves und Hernán Martin-Barbadillo Alonso.

GAME 2016 wurde gefördert durch:

