



# Mikroplastik in Talsperren und Staubereichen: Sedimentation, Verbreitung, Wirkung (MikroPlaTaS)

## Abschlussbericht

**Laufzeit:** 01.01.2018-30.09.2021

**Förderkennzeichen:** 02WPL1448A

**Zuwendungsgeber:** Bundesministerium für Bildung und Forschung  
über den Projektträger Karlsruhe (PTKA-WTE)

**Autor:innen:**

Katrin Wendt-Potthoff<sup>1</sup>, Claudia Drago<sup>2</sup>, Peter Ebke<sup>3</sup>, Hendrik Fueser<sup>4</sup>, Friederike Gabel<sup>5</sup>,  
Arne Hägerbäumer<sup>4</sup>, Sebastian Höss<sup>6</sup>, Rense Jongma<sup>7</sup>, Lukas Kruckenfellner<sup>3</sup>, Rico Leiser<sup>1</sup>,  
Diana Michler-Kozma<sup>5</sup>, Bodo Philipp<sup>7</sup>, Marie-Theres Rauchschalbe<sup>4</sup>, Walter Traunspurger<sup>4</sup>,  
Corinna Völkner<sup>1</sup>, Guntram Weithoff<sup>2</sup>, Martin Wieprecht<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department Seenforschung, Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ)

<sup>2</sup>Institut für Biochemie und Biologie, Universität Potsdam

<sup>3</sup>Institut für Gewässerschutz Mesocosm GmbH

<sup>4</sup>Bereich Tierökologie, Universität Bielefeld

<sup>5</sup>Institut für Landschaftsökologie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

<sup>6</sup>Ecosa

<sup>7</sup>Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie, Westfälische Wilhelms-Universität Münster

**DOI: <https://doi.org/10.57699/ct6d-cd27>**

**Danksagung & Disclaimer**

Das diesem Bericht zugrundeliegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen O2WPL1448A gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei den Autor:innen.

## Beteiligte Institute und Personen

### Verbundpartner

#### 1. Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ)

Koordinatorin: PD Dr. Katrin Wendt-Potthoff | 0391-81 09 810 | [katrin.wendt-potthoff@ufz.de](mailto:katrin.wendt-potthoff@ufz.de)

Brückstraße 3a | 39114 Magdeburg

#### 2. Universität Münster (WWU)

Stellvertretende Koordinatorin: Dr. Friederike Gabel | 0251-83 30 004 | [gabelf@uni-muenster.de](mailto:gabelf@uni-muenster.de)

Prof. Dr. Bodo Philipp | 0251-83 39 827 | [bodo.philipp@uni-muenster.de](mailto:bodo.philipp@uni-muenster.de)

Schlossplatz 2 | 48149 Münster

#### 3. Universität Bielefeld (UB)

Prof. Dr. Walter Traunspurger | 0521- 10 62 702 | [traunspurger@uni-bielefeld.de](mailto:traunspurger@uni-bielefeld.de)

Konsequenz 45 | 33615 Bielefeld

#### 4. Universität Potsdam (UP)

PD Dr. Guntram Weithoff | 0331-97 71 949 | [weithoff@uni-potsdam.de](mailto:weithoff@uni-potsdam.de)

Am Neuen Palais 10 | 14469 Potsdam

#### 5. Ecosa

Dr. Sebastian Höss | 08151-55 09 172 | [hoess@ecossa.de](mailto:hoess@ecossa.de)

Giselastr. 6 | 82319 Starnberg

#### 6. Institut für Gewässerschutz Mesocosm GmbH (Mesocosm)

Prof. Dr. Peter Ebke | 06633-64 27 40 | [ebke@mesocosm.de](mailto:ebke@mesocosm.de)

Neu-Ulrichstein 5 | 35315 Homberg (Ohm)

### Assoziierte Partner

#### 1. Landestalsperrenverwaltung des Freistaates Sachsen (LTV)

Dr. Karin Freier, Dr. Tilo Hegewald, Elisa Brode | 03501-79 63 58 | [Tilo.Hegewald@ltv.sachsen.de](mailto:Tilo.Hegewald@ltv.sachsen.de)

Bahnhofstr. 14 | 01796 Pirna

#### 2. Untere Wasser- und Landschaftsbehörde der Stadt Hamm

Dr. Oliver Schmidt-Formann | 0238-11 77 137 | [schmidtformann@stadt.hamm.de](mailto:schmidtformann@stadt.hamm.de)

Gustav-Heinemann-Straße 10 | 59065 Hamm

#### 3. Natur- und Umweltschutz-Akademie NRW (NUA)

Eva Pier | 02361 30 53 316 | [eva.pier@nua.nrw.de](mailto:eva.pier@nua.nrw.de)

Postfach 101051 | 45610 Recklinghausen

## Inhalt

Beteiligte Institute und Personen.....	iii
Verbundpartner.....	iii
Assoziierte Partner .....	iii
Abbildungsverzeichnis.....	vi
Tabellenverzeichnis .....	xi
1. Aufgaben und Ziele des Verbundes.....	12
2. Rahmenbedingungen .....	13
2.1 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde .....	13
2.2 Planung und Ablauf des Vorhabens .....	14
2.3 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde.....	17
2.4 Zusammenarbeit mit anderen Stellen.....	19
2.5. Vorstellung der Projektpartner und Vorarbeiten.....	20
3. Wichtigste Ergebnisse aus den Teilprojekten und Arbeitspaketen.....	23
3.1 TP1 Verbreitung von Mikroplastik und Fauna.....	24
3.1.1 Arbeitspaket 1: Survey Plastik u. Meio-/Mikrofauna in Talsperren und Stauhaltungen .....	24
3.1.1.1 Mikroplastik in Talsperren und Stauhaltungen .....	26
3.1.1.2 Meiofauna in den Sedimenten .....	33
3.1.1.3 Makrozoobenthos .....	42
3.1.2 Arbeitspaket 2: In situ-Experimente zu Sedimentationsraten und Besiedlung .....	44
3.1.2.1 Gesamt-Sedimentation und Mikroplastik .....	45
3.1.2.2 Meiobenthos in Sedimentfallen aus der Lippe .....	48
3.1.2.3 In situ-Besiedlung von Mikroplastik .....	51
3.2 TP2 Biofilme.....	53
3.2.1 Arbeitspaket 3: Charakterisierung der Biofilme auf verschiedenen Polymeren.....	53
3.2.1.1 Mikrobielle Besiedlung von ausgelagertem Mikroplastik .....	55
3.2.1.2 Erzeugung von stabilen mikrobiellen Gemeinschaften für Laboruntersuchungen.....	57
3.2.2 Arbeitspaket 4: Einfluss von Biofilmbesiedlung, Licht und Redoxprozessen auf Mikroplastik-Sedimentation.....	61
3.3 TP3 Wirkung .....	69
3.3.1 Arbeitspaket 5.1 und 5.2: Direkte Wirkung von Plastikpartikeln auf Invertebraten .....	69
3.3.1.1 Aufnahme von Mikroplastik in aquatische Invertebraten .....	69
3.3.1.2 Ausscheidung von Mikroplastik: Verweildauer im Organismus.....	76
3.3.1.3 Quantifizierung ökotoxikologischer Effekte von Mikroplastik-Partikel auf aquatische Invertebraten.....	78
3.3.1.4 Herausforderungen bei der Risikobewertung von Mikroplastik .....	88
3.3.2 Arbeitspaket 5.3: Modellökosysteme .....	100

3.3.2.1 Mikrokosmen.....	101
3.3.2.2 Mesokosmos-Versuch .....	103
3.3.3 Arbeitspaket 6: Einfluss von Plastik auf die Nahrungsqualität von Biofilm für Meio- und Makro-Grazer .....	120
3.4 TP4 Gesellschaft .....	123
3.4.1 Arbeitspaket 7: Koordination, Öffentlichkeitsarbeit, Wissenstransfer .....	123
4. Schlussfolgerungen und Empfehlungen.....	126
4.1 Freiland-Untersuchungen.....	126
4.2 Experimente zur Quantifizierung der Effekte von Mikroplastik.....	127
5. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen und Produkte.....	129
5.1 Publikationen.....	129
5.2 Produkte .....	131
5.3 Akademische Qualifizierungsarbeiten.....	131
5.4 Tagungsbeiträge und populärwissenschaftliche Vorträge .....	135
6. Literaturverzeichnis.....	136

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zeitlicher Ablauf des MikroPlaTaS-Projektes. MP: Mikroplastik.....	15
Abbildung 2: Konzept der Untersuchungsschwerpunkte und ihre Zuordnung zu den in 2.2 definierten Arbeitspaketen. MP = Mikroplastik, AP = Arbeitspaket, ● Biofilm .....	23
Abbildung 3: Untersuchungsgewässer mit Probennahepunkten (nicht maßstabsgerecht).....	26
Abbildung 4: Am 6.09.2019 an der Vorsperre Oehna aufgesammler Müll. Foto: UFZ.....	29
Abbildung 5: Summe der Mikroplastikstoffe in der 100-500 µm-Fraktion der Sedimente bezogen auf die Trockenmasse. ....	31
Abbildung 6: Anteil der 100-500 µm-Fraktion am gesamten Sedimentgewicht, bezogen auf Trockenmasse.....	32
Abbildung 7: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Lippe. Dargestellt sind hier die Anzahl der Organismen pro 10 cm <sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-4, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), jeweils unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen. ....	35
Abbildung 8: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Ems Dargestellt sind hier die Anzahl der Organismen pro 10 cm <sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-4, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen. ....	36
Abbildung 9: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Talsperre Bautzen. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm <sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-5, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), entsprechend unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen. ....	37
Abbildung 10: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Talsperre Malter. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm <sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-4, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen.....	38
Abbildung 11: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Talsperre Quitzdorf. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm <sup>2</sup> der Sedimentschicht 0-2 cm der jeweiligen Standorte (1-3, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne) mit entsprechender Unterteilung nach meiobenthischen Organismengruppen.....	39
Abbildung 12: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in den Rieselfeldern Münster. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm <sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-3, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne) mit entsprechender Unterteilung nach meiobenthischen Organismengruppen.....	40
Abbildung 13: Zahl der Nematodenarten, sowie die prozentualen Anteile der verschiedenen Ernährungstypen der Nematoden an den verschiedenen Standorten. Bakterienfresser (D), Epistratfresser (Algen) (E), Saugfresser (Pflanzen-/Hyphenfresser - S-PHF), Saugfresser (Allesfresser - S-Om) und Räuber (C) .....	41
Abbildung 14: Zusammensetzung der Nematodenarten in den Sedimenten der Talsperren und Stauhaltungen. nMDS-Analyse zum Vergleich der Nematodengemeinschaften in den verschiedenen Standorten (L = Lippe, Q = Quitzdorf, E = Ems, M = Münster Rieselfelder, Ma = Malter, B = Bautzen) auf der Grundlage der Bray- Curtis-Ähnlichkeiten der quadratwurzeltransformierten relativen Abundanzdaten der Nematodenarten. Signifikante Cluster wurden in einer Clusteranalyse in Kombination mit SimProf-Analyse ( $p < 0,05$ ) identifiziert und sind mittels der Kreise dargestellt. ....	42
Abbildung 15: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Makrozoobenthosfauna in Abhängigkeit der Standorte. Er- läuterung der Standortkürzel: L= Lippe, E=Ems, R=Rieselfelder, B=Bautzen, M= Malter, Q=Quitzdorf; E1=Emsee. Standort 1 ist jeweils am nächsten zu der Staumauer/dem Wehr verortet.....	43
Abbildung 16: Sedimentationsraten in der Vorsperre Oehna (A, B) und der Hauptsperre Bautzen (C, D) in den Jahren 2018 (A, C) und 2020/2021 (B, D). Weiße Symbole: Sedimentationsrate aus separater Filtration, schwarze Symbole: Sedimentationsrate aus Addition der Nasssiebungs-Fraktionen, POC: partikulärer organischer Kohlenstoff.....	46
Abbildung 17: Gesamtsedimentationsraten (kg/m <sup>2</sup> /Jahr) in der Lippe oberhalb des Wehres in Hamm ohne Hochwassermonate. Für September 2020 liegen keine Daten vor.....	46
Abbildung 18: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in den Sedimentfallen der Lippe. Dargestellt sind hier die absolute Anzahl der Organismen pro Sedimentfalle über die Zeit (von November	

2019 bis April 2021) mit entsprechender Unterteilung nach meiobenthischen Organismengruppen. na = nicht analysiert .....	49
Abbildung 19: Prozentuale Anteile der verschiedenen Ernährungstypen der Nematoden in den Sedimentfallen der Lippe über die Zeit. Bakterienfresser (D), Epistratfresser (Algen) (E), Saugfresser (Pflanzen-/Hyphenfresser - S-PHF), Saugfresser (Allesfresser - S-Om) und Räuber (C). na = nicht analysiert. ....	50
Abbildung 20: Zusammensetzung der Nematodenarten in den Sedimenten der Talsperren und Stauhaltungen im Vergleich zu Sedimentfallen der Lippe. nMDS-Analyse zum Vergleich der Nematodengemeinschaften in den verschiedenen Standorten (SF = Sedimentfalle; Sed = Sediment) auf der Grundlage der Bray-Curtis-Ähnlichkeiten der quadratwurzeltransformierten relativen Abundanzdaten der Nematodenarten. Signifikante Cluster wurden in einer Clusteranalyse in Kombination mit SimProf-Analyse ( $p < 0,05$ ) identifiziert und sind mittels der Kreise dargestellt. ....	51
Abbildung 21: Zusammensetzung der Biofilme auf PE-Mikroplastik im Epilimnion der Talsperren Bautzen (eutroph, links) und Malter (mesotroph, rechts). Die Ausbringungsdauer betrug 29 beziehungsweise 22 Tage).....	52
Abbildung 22: Aufbau zur Auslagerung von Plastikpartikeln an natürlichen Standorten (Ems, Emssee, Rieselfelder). Plastikpartikel ( $4 \times 4 \times 0.125$ mm) wurden in kugelförmigen Stahlsieben („Teeieier“) mit 5 cm Durchmesser in einer Tiefe von 30 cm für 5 Wochen inkubiert. Wöchentlich wurden von den ca. 100 Partikeln pro Sieb Aliquote für die Bestimmung von Chlorophyllfluoreszenz und angehefteter Biomasse entnommen. ....	54
Abbildung 23: Analyse der Biofilme auf den ausgelagerten Plastikpartikeln. Wöchentlich wurden 12 Partikel aus den in Abbildung 22 gezeigten Stahlsieben entnommen und zuerst auf Chlorophyllfluoreszenz (■) und dann auf Biofilmbiomasse durch Kristallviolett färbung (■) untersucht. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung ( $n = 12$ Partikel). ....	55
Abbildung 24: Analyse der Zusammensetzung von mikrobiellen Gemeinschaften auf ausgelagerten Plastikpartikeln mittels 16S rDNA Amplicon-Sequencing. Die Balken zeigen die relative Abundanz von Bakterien auf Klassenebene an. Die Analyse erfolgte mit je 15 Plastikpartikeln pro Polymer und Standort (Ems [E], Emssee [ES] und Rieselfelder [R])......	56
Abbildung 25: Hauptkomponentenanalyse zur Auswertung der bakteriellen Diversität in Biofilmen aus dem Auslagerungsexperiments im Rahmen des großen Mesokosmos-Versuchs. Biofilme auf den jeweiligen Materialien (PET, PLA, Glas) wurden nach 1, 3, 36 und 86 Tagen entnommen und über 16S rDNA Amplicon Sequencing analysiert.....	57
Abbildung 26: Analyse der Biofilmbildung auf Plastikpartikeln durch domestizierte mikrobielle Konsortien. Von den domestizierten Konsortien Co_1 bis Co_6 wurden von Agarplatten inokulierte Flüssigkulturen erzeugt, die mit Plastikpartikeln für 7 Tage unter photoautotrophen Bedingungen inkubiert wurden. Die Biofilmbildung wurde zuerst mit Chlorophyllfluoreszenz (■) und dann mit Kristallviolett färbung (■) untersucht. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung ( $n = 8$ Partikel). ....	59
Abbildung 27: Analyse der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft des domestizierten Konsortiums Co_3 mittels 16S rDNA Amplicon-Sequencing im zeitlichen Verlauf. Die Balken zeigen die relative Abundanz von Bakterien auf Gattungsebene an.....	60
Abbildung 28: Biovolumina von Bakterien, Cyanobakterien und Algen auf schwimmenden (braun) und sinkenden (grün) PE-Quadraten nach 29 Tagen Inkubation in der Talsperre Bautzen (Leiser et al. 2021a). ....	63
Abbildung 29: Eigenschaften von Cyanobakterien-Aggregaten unter mittleren (60 mg/L) und hohen (220 mg/L) Calciumkonzentrationen. Sterne zeigen das Signifikanzniveau, * $p < 0,05$ und *** $p < 0,001$ (Leiser et al. 2021a).....	65
Abbildung 30: Plastikgehalt, Größe und Sinkgeschwindigkeit von Eisenflocken, die in Wasser aus der Talsperre Bautzen bei einer Eisenkonzentration von 300 $\mu\text{mol/L}$ gebildet wurden. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Leiser et al. 2021b).....	66
Abbildung 31: Fe- und Mn-Konzentrationen, pH-Wert und Freisetzung (Wasseroberfläche) von roten PE-Kugeln aus großen 300 $\mu\text{M}$ Fe-Flocken. Mittelwerte und Standardabweichungen bei 5 (anoxisch) oder 6 (oxisch) inkubierten Kernen (Zwei unabhängige Versuche für welche die Kerne im Juli und Oktober aus der Talsperre Bautzen entnommen wurden). Drei Wiederholungen liegen für die Freisetzung von gelben PE-Kugeln aus kleinen 100 $\mu\text{M}$ Fe Flocken (Oktober) zugrunde. Die rote Umrahmung zeigt das letzte Datum der Probenahme an, bei der die Anzahl der Kugeln in der gesamten Wasserphase über dem Sediment erfasst wurde (Leiser et al. 2021b). ....	67

Abbildung 32: Freisetzung bzw. Rückhalt im Sediment von PE-Kugeln aus großen (oben, rote Mikroplastikkugeln) und kleinen (unten, gelbe Mikroplastikkugeln) Eisenflocken (Leiser et al. 2021b). .....	68
Abbildung 33: Aufgenommenes Mikroplastik in (A) Chironomus riparius (Setyorini et al., 2021); angefärbte 50- $\mu$ m PET Fasern) und (B) Brachionus calyciflorus (Rotifera) mit Polyamidgranula; Detektion mittels Lichtmikroskopie.....	70
Abbildung 34: Aufgenommene PS Beads der Größe 3 $\mu$ m in (A) Rotatorien (hier die Art Brachionus calyciflorus und (B) Nematoden (hier die Art Caenorhabditis elegans). Detektion mittels Fluoreszenzmikroskopie. ....	70
Abbildung 35: Aufnahme von PS-Beads durch das Rädertier Brachionous calyciflorus in Abhängigkeit der Aggregation; modifiziert aus Drago et al. (2020). .....	72
Abbildung 36: Durchschnittliche Pumpraten von Caenorhabditis elegans in Anwesenheit von Bakterien (Escherichia coli) und 1,0- $\mu$ m-Polystyrol- (PS) und Silikatpartikeln. Die durchschnittlichen Pumpraten von C. elegans wurden auf Gelrite®-Pads aufgezeichnet, die eine der folgenden Substanzen enthielten: 0 (reines K-Medium), $10^6$ (nur E. coli), $10^7$ , $10^8$ (nur E. coli), $5 \times 10^8$ , $10^9$ und $10^{10}$ (nur E. coli) Bakterien bzw. Partikel/ml. n = 15. Boxplots: unterschiedliche Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede hin (one-way repeated-measures ANOVA, Post-Hoc: Holm-Sidak-Methode, $p < 0,05$ ). Der Median wird durch die durchgezogene Linie und der Mittelwert durch die gepunktete Linie dargestellt. Die Kästchen repräsentieren 50 % (Interquartilsbereich) und jeder Whisker 25 % der Daten. (SigmaPlot 12; Systat Software Inc., USA).....	73
Abbildung 37: Anzahl (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) von 1- $\mu$ m PS-Beads im Darm von C. elegans mit zunehmender Expositionsdauer in Wasser und verschiedenen Sedimenten, die mit $10^7$ Beads/ml bzw. g Sediment (Nassgewicht) dotiert wurden. Diese Aufnahmeversuche wurden in 5 verschiedenen Sedimenttypen (Quarzsand [SS], künstliches Kontrollsediment [ISO] nach ISO 10872, sowie 3 natürlichen Sedimenten aus dem Furlbach [FB], der Rhone [Schweiz; SC] und dem Steekputbeek [Belgien; SB]) und zum Vergleich auch in Wasser durchgeführt; modifiziert nach Höss et al. (2022). .....	76
Abbildung 38: Anzahl ausgeschiedener PE-Fasern in Abhängigkeit der Körpergröße von Gammarus roeseli. ....	77
Abbildung 39: Theoretisches Modell der Aufnahme und Ausscheidung von PS Beads durch Nematoden. Modifiziert nach Fueser et al. (2020b). .....	78
Abbildung 40: Aufnahme von Mikroplastik durch freilebende Meiofaunaorganismen sowie potenzieller Mikroplastiktransfer im aquatischen Nahrungsnetz; aus Rauchschalbe et al. (2021b). .....	79
Abbildung 41: Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Wirkung von Polystyrol-(PS)-Beads auf die Reproduktion von Caenorhabditis elegans nach 96 h Exposition in wässrigem Medium (die Kurven wurden mit einem sigmoidal-logistischen Modell an Datenpunkte angepasst); die Hemmung der Reproduktion wurde dabei gegen (a) die Partikeldichte (Partikel $ml^{-1}$ ), (b) die Polystyrol-Konzentration ( $mg\ ml^{-1}$ ) und die Gesamtoberfläche aller Partikel pro Volumen ( $cm^2\ ml^{-1}$ ) aufgetragen; modifiziert nach Mueller et al. (2020b). .....	81
Abbildung 42: Hemmung der Reproduktion (%) von C. elegans nach 96 h Exposition in verschiedenen Sedimenten, die mit 1- $\mu$ m PS-Beads dotiert wurden; bezogen auf (a) die PS-Konzentration im Sediment und (b) das Verhältnis der Anzahl von Beads und Bakterien im Testsystem; für (b) wurden Wirkungsdaten aus Versuchen mit Wasserexposition (W) (Mueller et al. 2020b) zum Vergleich dazu genommen; modifiziert nach Höss et al. (2022). .....	83
Abbildung 43: Zusammenhang der Wirkung (EC50 bezogen auf das Verhältnis von Beads/Bakterien) der 1 $\mu$ m-PS-Beads mit deren Anzahl im Verdauungstrakt von C. elegans nach 96 h Exposition ( $r^2 = 0.79$ , $p = 0.047$ ). ....	84
Abbildung 44: Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Wirkung von verschiedenen Mikroplastik-Partikeln auf die Reproduktion von Caenorhabditis elegans nach 96 h Exposition in wässrigem Medium, bezogen auf (A) die Polymerkonzentration ( $mg/ml$ ) und (B) die Gesamtoberfläche aller Partikel im Medium ( $cm^2/ml$ ). .....	85
Abbildung 45: Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Wirkung von verschiedenen Referenz-Partikeln aus natürlich vorkommenden Materialien auf die Reproduktion von Caenorhabditis elegans nach 96 h Exposition in wässrigem Medium, bezogen auf (A) die Konzentration ( $mg/ml$ ) und (B) die Gesamtoberfläche aller Partikel im Medium ( $cm^2/ml$ ). .....	86
Abbildung 46: Zusammenhang von EC50-Werten (log) für verschiedene Mikropartikel aus Plastik und natürlichen Materialien auf Basis (A) von massenbezogenen Konzentrationen ( $mg/ml$ ) und (B) der Gesamtoberfläche aller Partikel im Testsystem ( $cm^2/ml$ ) mit dem Durchmesser (log) der Partikel.....	87
Abbildung 47: Tage bis zur Emergenz von männlichen (A) und weiblichen (B) C. riparius sowie Expression des Stressproteins HSP70 in juvenilen (C) und adulten (D) C. riparius nach Exposition mit PET-Fasern. ....	88
Abbildung 48: Herausforderungen für eine zuverlässige Risikobewertung von Mikroplastik in der Umwelt .....	89

Abbildung 49: Mögliche Mechanismen, die für die Wirkung der Polystyrolpartikel (z.B. auf die Re-produktion von <i>C. elegans</i> ) in Frage kommen; modifiziert nach Mueller et al. (2020).....	89
Abbildung 50: Prozent Hemmung der Reproduktion von <i>C. elegans</i> (N2; <i>sod-2</i> ) nach 96 h Exposition in Suspensionen von PS-Partikeln unterschiedlicher Größe und einer Lösung von Paraquatdichlorid (Positivkontrolle); Daten aus Mueller et al. (2020b).....	90
Abbildung 51 (A) Reproduktion von <i>C. elegans</i> nach 96 h Exposition in Eluaten aus PS-Partikeln und (B) % Hemmung der Reproduktion nach 96 h Exposition in Styrol in wässriger Lösung (via passives Dosieren über die Gasphase). .....	91
Abbildung 52: Test-Design und Ergebnisse zum experimentellen Ausschlussverfahren der Toxizität von Styrol auf <i>C. elegans</i> in Polystyrol-Suspensionen. ....	92
Abbildung 53: (a) % Hemmung der Reproduktion von <i>C. elegans</i> nach 96 h Exposition in Suspensionen von 1 $\mu\text{m}$ PS-Partikeln ( $0,55 \text{ mg ml}^{-1} = 1 \cdot 10^9 \text{ Partikel ml}^{-1}$ ) in Anwesenheit von Bakterien in unterschiedlichen Dichten (BD1: $2,5 \cdot 10^8$ , BD2: $5 \cdot 10^8$ , BD3: $1 \cdot 10^9$ (Standard), BD4: $2 \cdot 10^9$ , BD5: $4 \cdot 10^9$ Bakterien/ml); (b) % Hemmung der Reproduktion vs. das Verhältnis von Partikel und Bakterien aus zwei verschiedenen Experimenten (schwarze Symbole: konstante Futterdichte bei steigenden Partikeldichten; weiße Symbole: konstante Partikeldichte bei abnehmenden Futterdichten). ....	93
Abbildung 54: Dosis-Wirkungskurven basierend auf dem Verhältnis von PS- oder Silikat- ( $\text{SiO}_2$ )- Partikeln zu Bakterien. Hemmung (%) der Reproduktion von <i>C. elegans</i> die für 96 h verschieden großen PS- und $\text{SiO}_2$ -Partikeln bei unterschiedlichen Bakteriendichten ausgesetzt waren, aufgetragen gegen das Partikel/Bakterienverhältnis, hinsichtlich (A) der Gesamtanzahl und (B) der gesamten Oberfläche der Partikel bzw. Bakterienzellen, Kreise = Experiment A: konstante Bakteriendichte bei unterschiedlichen Partikeldichten; Dreiecke = Experiment B: konstante Partikeldichte bei unterschiedlichen Bakteriendichten. Die Kurven wurden an die Daten mit einer sigmoidal logistischen Funktion gefittet; für alle Kurven gilt: $r_2 \geq 0,8$ , $p < 0,01$ (Ausnahme: PS $10,0 \mu\text{m}$ , $r_2 = 0,62$ , $p = 0,056$ ). ....	94
Abbildung 55: Veränderung der Bakteriendichte durch den Konsum von <i>C. elegans</i> ( $n=50$ ) in Abwesenheit von PS-Beads (mit <i>C. elegans</i> ) und in Anwesenheit von 1- und 6- $\mu\text{m}$ PS-Beads im Vergleich zu Gefäßen ohne <i>C. elegans</i> (= ohne Bakterienkonsum; <i>E. coli</i> 7 h); <i>E. coli</i> 0 h = Bakteriendichte zu Beginn des Versuchs.....	96
Abbildung 56: Pumpraten von <i>C. elegans</i> (Pumps/min) in Anwesenheit von Bakterien in verschiedenen Dichten ( $5 \cdot 10^8$ , $10^9$ Zellen/ml) und in Mischung mit PS-Beads (A: 1- $\mu\text{m}$ ; B: 6- $\mu\text{m}$ ); Mischungsverhältnis bei 50 % Hemmung der Reproduktion von <i>C. elegans</i> (Mueller et al. 2020); zum Vergleich sind die Pumpraten in Anwesenheit von PS-Beads ohne Bakterien dargestellt. ....	97
Abbildung 57: Hinweise für futterbedingte Effekte von MP bei Rotatorien ( <i>Brachionus calyciflorus</i> ) und Muscheln. Links: MP, Mikroplastik; Mono, Monoraphidium minutum (Futteralge).....	98
Abbildung 58: Versuchsaufbau in sogenannten Mikrokosmen. 1 Glas entspricht einem Replikat mit der freilebenden Meiofauna-Lebensgemeinschaft (Sediment aus der Lippe), welche durchgängig belüftet wurde. ....	101
Abbildung 59: Prozentuale Anteile der verschiedenen meiobenthischen Gruppen (Nematoda, Rotatoria, Oligochaeta, Harpacticoida (Copepoda), Gastrotricha, Nauplien) an der gesamten meiobenthischen Abundanz (A) und Biomasse (B) in den verschiedenen Behandlungen (C = Kontrolle, LC = niedrige MP-Konzentration, HC = hohe MP-Konzentration) zu den jeweiligen Zeitpunkten ( $T_0$ = Anwendung, $T_1$ = 4 Wochen nach Anwendung, $T_2$ = 12 Wochen nach Anwendung). Modifiziert nach Rauchschalbe et al., 2022 .....	103
Abbildung 60: Prozentuale Anteile der verschiedenen Nematoden-Fütterungstypen: Bakterienfresser (DF), Epistrafresser (Algen) (EF), Saugfresser (Pflanzen-/Hyphenfresser - S-PHF), Saugfresser (Allesfresser - S-Om) und Räuber (Ch); $T_0$ = vor der Anwendung; C = Kontrolle, LC = niedrige MP-Konzentration, HC = hohe MP-Konzentration. Modifiziert nach Rauchschalbe et al., 2022 .....	103
Abbildung 61: Aufbau des Mesokosmenversuchs. 1-5 (grün): Kontrolle; 6+7 (blau): $\text{SiO}_2$ -Partikelkontrolle; 8-10 (orange): 1,5 mg/l PA-6; 11-13 (rot): 15 mg/l PA-6; 14-16 (dunkelrot): 150 mg/l PA-6; ID 1, 6, 12, 19, 21 (grau): entfallen.....	104
Abbildung 63: Messpunkte der Gliederfüßer in Länge, Breite, Höhe für zwei Beispieltaxa ( <i>Chaoborus</i> spp., <i>Corixidae</i> spp.). Verändert nach Fladerer (2021, unveröffentlicht) .....	106
Abbildung 64: Schema eines Modellökosystems (Querschnitt) mit stationären Probenahmetechniken. ....	107
Abbildung 65: Physikalische Parameter (von oben nach unten. Leitfähigkeit, Temperatur, Sauerstoffgehalt, pH-Wert) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation.....	108

Abbildung 66: Nephelometrischer Trübungswert (NTU) der verschiedenen Behandlungen in drei Tiefen bis Studientag 20. Gestrichelte vertikale Linien: Polyamid-Applikation.....	109
Abbildung 67: Chlorophyllgehalt der Phytoplanktongemeinschaft (von oben nach unten Gesamtgehalt, Grünalgen, Kieselalgen) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation.....	110
Abbildung 68: Principal response curve (PRC) der Phytoplanktongemeinschaft. Dargestellt sind nur Taxa mit einem species score > 10,5l.....	111
Abbildung 69: Principal response curve (PRC) der Zooplanktongemeinschaft. Dargestellt sind nur Taxa mit einem species score > 10,5l. ....	112
Abbildung 70: Zooplanktonabundanzen (v.o.n.u. Gesamtzahl, Keratella quadrata, Nauplia, Synchaeta spp., Daphnia longispina, Ostracoda spp.) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation .....	113
Abbildung 71: Makroinvertebratenabundanzen (von oben nach unten Gesamtzahl, Chaoborus spp., Cloeon dipterum, Planorbidae, Naididae spp., Asellus aquaticus) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation .....	115
Abbildung 72: Biovolumen (log-transformiert) von Chaoborus spp. Larven an drei Probenahmetagen. Kontrolle (grün), Partikelkontrolle (blau), Polyamid (150 mg/l, rot).....	116
Abbildung 73: Biovolumen (log-transformiert) von Cloeon dipterum Larven an drei Probenahmetagen. Kontrolle (grün), Partikelkontrolle (blau), Polyamid (150 mg/l, rot).....	117
Abbildung 74: Embryonenzahl von P. antipodarum aus Bio-Assays .....	117
Abbildung 75: Abundanzen der emergierenden Insekten (v.o.n.u. Gesamtzahl, Chaoborus spp., Tanipodinae spp., Cloeon dipterum) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation.....	118
Abbildung 76: Zusammensetzung der Biofilme auf verschiedenen Polymertypen und Glas und deren Auswirkungen auf das Wachstum und die Reproduktion der Quellblasenschnecken im Winter und im Frühjahr .....	122
Abbildung 77: Wachstum der Schnecken mit domestizierten Biofilmen auf verschiedenen Oberflächen .....	123

## Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Konzentration verschiedener Kunststoffe in der 100-500 <math>\mu\text{m}</math> Fraktion von Wasserproben (<math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>). Genauere Position der Standorte siehe Karten oben (Abbildung 3). Nullbefunde sind wegen der besseren Übersicht weggelassen. ....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 2: Vorkommen verschiedener Kunststoffe in der 100-500 <math>\mu\text{m}</math>-Fraktion der untersuchten Sedimente.....</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 3: Gewichtete Mikroplastik-Konzentrationen im Sediment der Vorsperre Oehna, ausgehend von den bereits für den Faktor der Dichteseperation angepassten Konzentrationen der Einzelfractionen. Die Daten sind Mittelwerte aus zwei Probennahmepunkten. Die Grobfraktionen erhielten keine sichtbaren Partikel mit dem Erscheinungsbild von Kunststoffen. ....</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 4: Artabhängige Aufnahme von 0,5, 1 und 6 <math>\mu\text{m}</math> PS Beads (Mittelwert <math>\pm</math> Standardfehler) durch sechs Nematodenarten in Einzelspezies-tests. <math>n = 15</math> (Fueser et al. 2019).....</i>	<i>71</i>
<i>Tabelle 5: Aufnahme von 1 <math>\mu\text{m}</math> Polystyrolpartikeln durch drei Nematodenarten in Multigenerationen Experimenten. Mittlere Anzahl <math>\pm</math> Standardfehler an aufgenommenen PS-Beads von Caenorhabditis elegans (<math>n = 5-10</math>), Acrobeloides nanus (<math>n = 6-10</math>) und Plectus acuminatus (<math>n = 4-10</math>) an den verschiedenen Unterprobenagen sowie der gesamte Mittelwert für alle Probenagen; aus Mueller et al. 2020a. ....</i>	<i>75</i>
<i>Tabelle 6: Für Toxizitätstests verwendete Mikroplastik-Partikel; PS = Polystyrol; Daten aus Mueller et al. (2020b). ....</i>	<i>80</i>
<i>Tabelle 7: EC50-Werte für die Wirkungen der verschiedenen Partikel auf die Reproduktion von C. elegans, bezogen auf Partikeldichte (<math>\text{part ml}^{-1}</math>) und Polystyrol-Konzentration (<math>\text{mg PS ml}^{-1}</math>), sowie statistische Kennwerte für die Qualität der Anpassung der Dosis-Wirkungskurven an die Daten (signifikant: <math>p &lt; 0.05</math>; <math>r^2 =</math> Regressionskoeffizient).....</i>	<i>81</i>
<i>Tabelle 8: Beschreibung der Sedimente, die mit 1-<math>\mu\text{m}</math> PS Beads dotiert wurden; mittlerer TEC-Q: mittlerer Quotient aus gemessenen Sedimentkonzentrationen von prioritären Schadstoffen (Metalle, PAKs, PCBs) und der jeweiligen Sediment-Umweltqualitätsnorm (SQG nach de Deckere et al., 2011; n.b. = nicht bestimmt); Informationsquellen: SS: Hersteller: <a href="https://www.quarzwerte.com">https://www.quarzwerte.com</a>; ISO: ISO (2020); FB: Brüchner-Hüttemann et al. (2021); SB: Persönliche Information Raf Elst, Flanders Environment Agency, Alst, Belgium; SC: Beauvais et al. (2020); Daten aus Höss et al. (2022). ....</i>	<i>82</i>
<i>Tabelle 9: Effektkonzentrationen (EC10 and EC50; Mittelwert <math>\pm</math> Standardabweichung) berechnet auf Grundlage des Sediment-Trockengewichts (<math>\text{mg PS/g Trockengewicht [TG]}</math>; links) und des Verhältnisses von PS-Beads zu Bakterien (rechts); unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb einer Spalte (<math>\frac{1}{2}Z\frac{1}{2} &lt; 1.645</math>); Daten aus Höss et al. (2022). ....</i>	<i>83</i>
<i>Tabelle 10: Aufnahme von 1,0 <math>\mu\text{m}</math> Polystyrolpartikeln durch die drei Nematodenarten. Mittlere Anzahl <math>\pm</math> Standardfehler an aufgenommenen Polystyrolpartikeln von Caenorhabditis elegans (<math>n = 5-10</math>), Acrobeloides nanus (<math>n = 6-10</math>) und Plectus acuminatus (<math>n = 4-10</math>) an den verschiedenen Unterprobenagen sowie der gesamte Mittelwert für alle Probenagen. ....</i>	<i>99</i>
<i>Tabelle 11: Populationswachstumsparameter (<math>r =</math> Populationswachstumsrate pro Tag; <math>K =</math> Kapazitätsgrenze; <math>T_{mid}</math> in Tagen = Zeitpunkt, bei der die Hälfte der Kapazitätsgrenze erreicht ist; <math>T_{gen}</math> in Stunden = Verdopplungszeit) von Caenorhabditis elegans, Acrobeloides nanus und Plectus acuminatus. Mittelwerte <math>\pm</math> Standardabweichung (<math>n = 5-6</math>) für jede Behandlung. Mann-Whitney U-test oder t-test (signifikante Unterschiede [<math>p &lt; 0,05</math>] sind in fett hervorgehoben). ....</i>	<i>100</i>
<i>Tabelle 12: Biomassen der weiblichen und männlichen Büschelmücken (Chaoborus spp.) und Eintagsfliegen (Cloeon dipterum) an jeweils drei Tagen der Studie .....</i>	<i>119</i>

## 1. Aufgaben und Ziele des Verbundes

Die Verbreitung von Mikroplastik in Flüssen verdeutlicht, dass sich Plastik nicht nur im Meer, sondern auch in Binnengewässern nachweisen lässt. Wichtige und bisher wenig untersuchte Kompartimente des Gewässersystems sind Talsperren und Stauhaltungen, deren Funktion im Projekt MikroPlaTaS untersucht wurde.

Das Verbundprojekt analysierte zum einen das Verhalten und Vorkommen von Mikroplastik in diesen strömungsberuhigten Fließgewässerbereichen. Da sich Mikroplastik auf dem Gewässergrund ablagern kann, stellen Talsperren und Staubereiche mögliche Senken für Mikroplastik dar. Besonders interessant war dabei die Frage, warum Mikroplastik gerade dort absinkt. So sollte das Projekt dazu beitragen, diese Gewässerbereiche als Senke für Plastik zu bewerten. In diesem Zusammenhang wurde weiterhin untersucht, wie sich Biofilme auf Plastik bilden und warum sich diese bewachsenen Partikel am Boden ablagern. Dies schließt auch die Bewertung der Nahrungsqualität von Plastik-assoziierten Biofilmen ein.

Schließlich wurden auch die Auswirkungen auf verschiedene wirbellose Wasserlebewesen untersucht. Dies diente dazu, ein besseres Verständnis der physikalischen Wechselwirkungen zwischen Mikroplastik, mikrobieller Besiedlung, Meio- und Makrofauna im Plankton und Benthos dieser Gewässer zu erreichen.

Die sechs beteiligten Institutionen widmeten sich zusammenfassend folgenden Forschungszielen:

- Bestimmung und Charakterisierung von Mikroplastik in Wasser, Sediment und Aufwuchs von Stauhaltungen
- Verständnis der Bildung von Biofilmen auf Plastik und der Sedimentation dieser Partikel
- Erfassung der Wirkung und Aufnahme von Mikroplastik bei Einzelorganismen im Labor bis hin zu Lebensgemeinschaften in Modellökosystemen und im Freiland

Auf Basis dieser Erkenntnisse sollte eine Risiko-Nutzenbewertung für die Sedimentation von Plastik in Talsperren und Stauhaltungen vorgenommen und Handlungsempfehlungen formuliert werden. Ein mechanistisches Verständnis der Sedimentationsprozesse eröffnet die Abschätzung eines „natürlichen Selbstreinigungspotentials für Mikroplastik“ in Flüssen, Talsperren und Stauhaltungen. Diese Erkenntnisse sollen für Gewässermanagement und künftige bauliche Maßnahmen nutzbar gemacht werden.

## 2. Rahmenbedingungen

### 2.1 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Konsortium von MikroPlaTaS bestand aus drei Universitäten, einer außeruniversitären Forschungseinrichtung sowie zwei KMU (Kleine und mittlere Unternehmen). Somit waren einerseits die Voraussetzungen gegeben, um wissenschaftlich zusammenzuarbeiten (vgl. auch 2.5). Durch die zusätzliche Einbindung von Partnern aus Politik, Wirtschaft und der Verbandsebene wurden andererseits im Sinne eines transdisziplinären Forschungsansatzes Fragestellungen an die Praxis adressiert, um umsetzbare Lösungen zu erarbeiten.

Die Durchführung des Verbundvorhabens MikroPlaTaS erfolgte über das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) sowie insbesondere über den Projektträger Karlsruhe (PTKA-WTE). Im Rahmen des Forschungsschwerpunktes „Plastik in der Umwelt – Quellen • Senken • Lösungsansätze“ wurde das Vorhaben dem Schwerpunktthema „2.1.3 Eintragspfade, Transport, Zersetzung und Verbleib in limnischen Systemen“ zugeordnet.

Dieser Forschungsschwerpunkt wurde durch das BMBF eingerichtet, um das Wissen hinsichtlich des Plastikproblems in der Umwelt weiter zu erforschen. Damit unterstützt das BMBF den Übergang zu einer ressourcen- und umweltschonenden Wirtschaftsweise, die im Mittelpunkt der Leitinitiative „Green Economy“ des Rahmenprogramms „Forschung für Nachhaltige Entwicklung“ ([FONA<sup>3</sup>](#)) steht, und erweitert die bereits begonnenen Maßnahmen: das im Rahmen von JPI OCEANS international abgestimmte Förderprogramm zu Mikroplastik im Meer, das im Förderschwerpunkt Nachhaltiges Wassermanagement (NaWaM) geförderte Verbundprojekt Mikroplastik im Wasserkreislauf (MiWa) sowie die wissenschaftliche Nachwuchsgruppe PlastX in der sozial-ökologischen Forschung.

PlastikNet wurde in diesem Rahmen als Begleitvorhaben eingerichtet, um die Vernetzung zwischen den Projekten sowie den Wissensaustausch zu fördern. Dies geschah maßgeblich in Form der **Querschnittsthemen (QST)**. Akteure des Verbundes MikroPlaTaS engagierten sich vor allem im QST2: Ökotoxikologie („Kümmerer“, Erarbeiten von (populär)wissenschaftlichen Produkten, Veranstaltungen, gemeinsame Tagungsbeiträge). Zu den QST1: Analytik und Referenzmaterialien, QST3: Begriffe und Definitionen und QST7: Bioabbaubarkeit wurden ebenfalls Beiträge aus dem Verbund geliefert. Über die QST hinaus unterstützte PlastikNet hinsichtlich der Kommunikation und Verwertung der Forschungsergebnisse. Bei der Umsetzung wirkten zudem ein Begleitkreis und ein Lenkungskreis mit. Während sich der Lenkungskreis aus den Koordinator:innen aller 20 Verbundprojekte zusammensetzte und vorrangig der Vernetzung und Diskussion übergreifender wissenschaftlicher Fragestellungen

diente, sollte der Begleitkreis auch wichtige Akteure aus Kommunen, Bund, Ländern, Wirtschaft, Verbänden und Gesellschaft einbeziehen, um weitere Impulse aus der Praxis zu erhalten (vgl. Plastik in der Umwelt 2021).

## 2.2 Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Projektlaufzeit des Verbundprojektes MikroPlaTaS war ursprünglich auf drei Jahre angelegt und wurde für drei zusätzliche Monate kostenneutral verlängert (01.01.2018-30.09.2021). Regelmäßige Projekttreffen innerhalb der Laufzeit begleiteten das Vorhaben und ermöglichten einen Austausch über Fortschritt und Ergebnisse mit den Projektpartnern. Das Abschlusstreffen am 23.06.2021 wurde aufgrund der Pandemie-Situation digital durchgeführt und beabsichtigte darüber hinaus den Austausch mit der Praxis.

Das Projekt wurde in einzelne Teilprojekte (TP) und darunterliegende Arbeitspakete (AP) untergliedert, die integriert bearbeitet wurden. Die Teilprojekte und Arbeitspakete bauten aufeinander auf, wiesen aber auch Überschneidungen der Arbeitsphasen auf. Meilensteine markierten konkrete Zwischen- bzw. Endergebnisse des Projektes (Abbildung 1).

### Teilprojekte im Detail:

- TP 1: Verbreitung von Mikroplastik und Fauna
- TP 2: Biofilme
- TP 3: Wirkung
- TP 4: Gesellschaft

### Arbeitspakete im Detail (farblich den Teilprojekten zugeordnet):

- AP 1: Survey Plastik u. Meio-/Mikrofauna in Talsperren u. Stauhaltungen
- AP 2: In situ-Experimente zu Sedimentationsraten u. Besiedlung
- AP 3: Charakterisierung der Biofilme auf verschiedenen Polymeren
- AP 4: Einfluss von Biofilmbesiedlung, Licht u. Redoxprozessen auf Mikroplastik-Sedimentation
- AP 5: Direkte Wirkung von Plastikpartikeln auf Invertebraten
- AP 6: Einfluss von Plastik auf die Nahrungsqualität von Biofilm für Meio- u. Makro-Grazer
- AP 7: Koordination, Öffentlichkeitsarbeit, Wissenstransfer

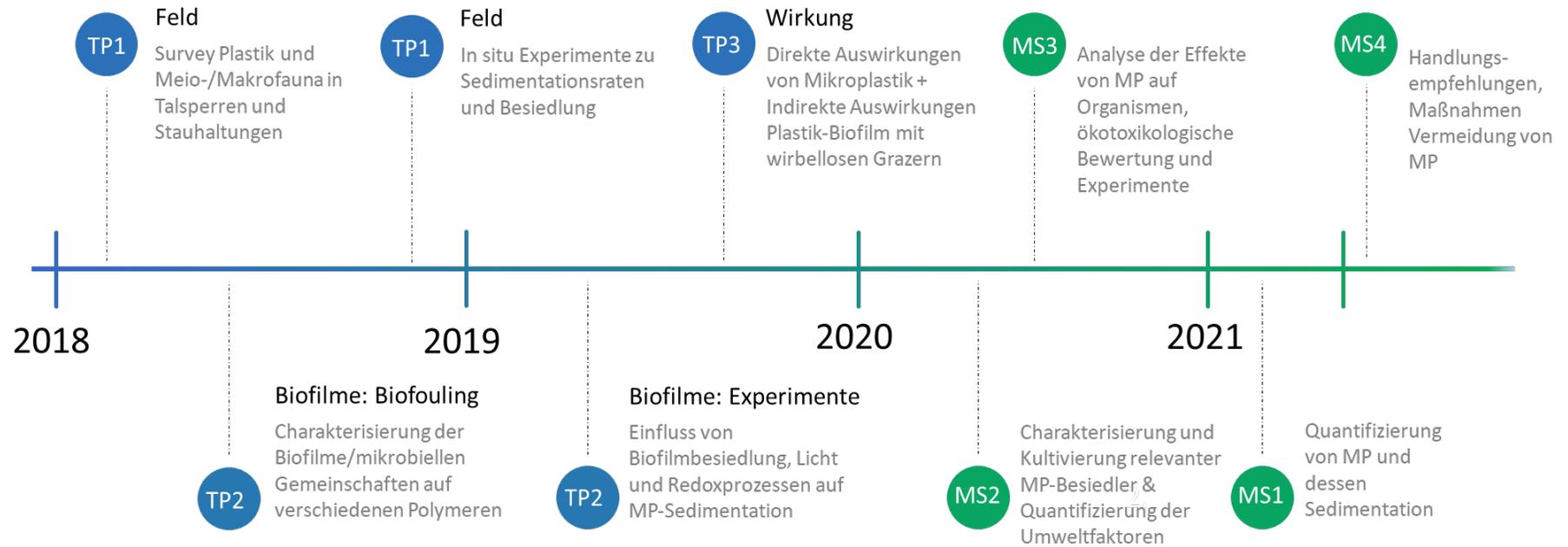


Abbildung 1: Zeitlicher Ablauf des MikroPlaTaS-Projektes. MP: Mikroplastik

Das **Teilprojekt 1** (TP1) beschäftigte sich mit der Verbreitung von Mikroplastik und der Fauna in Talspalten und Stauhaltungen. Beteiligte Projektpartner waren UFZ, WWU und UB. Das entsprechende Survey zu Plastik und Meio-/Makrofauna (AP1) konnte wegen kurzfristiger Bewilligung und strengem Frost nicht sofort begonnen werden. Zudem war die Proben-Aufbereitung aufwändiger als erwartet, da die Proben relativ viel mikrobielle Biomasse enthielten. Die *In situ* Experimente zu Sedimentationsraten und Besiedlung (AP2) erforderten zunächst eine Auswahl der Schwerpunkt-Gewässer. Darüber hinaus war die Nutzung von Sedimentfallen für Mikroplastik methodisch neu und es bestand ein größerer Testbedarf. Vandalismus und Schlechtwetter sorgten ebenfalls für Verzögerung.

Im **Teilprojekt 2** (TP2) wurden Biofilme/mikrobielle Gemeinschaften auf verschiedenen Polymeren (Biofouling) charakterisiert (AP3). Bei diesen Arbeiten waren UFZ, WWU, UP sowie UB beteiligt. Durch neu eingestellte Personen konnte hiermit erst im Mai 2018 begonnen haben. In Experimenten wurde der Einfluss von Biofilmbesiedlung, Licht und Redoxprozessen auf Mikroplastik-Sedimentation durch UFZ, WWU und UB untersucht (AP4). Feldexperimente mussten teilweise wegen Wetter/Vandalismus wiederholt werden.

**Teilprojekt 3** (TP3) untersuchte zum einen direkte Auswirkungen von Mikroplastik (AP5). Hier waren die WWU, UP, UB, Ecosa sowie Mesocosm beteiligt. Die Personaleinstellung bei UP war erst zum Juni 2018 möglich und teilweise konnte AP5 wegen der Vegetationsperiode erst in 2019 begonnen werden. Die Mesokosmosprüfung wurde daraufhin auf die Saison 2020 verschoben. Indirekte Auswirkungen von Mikroplastik über die Interaktion des spezifischen Plastik-Biofilms mit wirbellosen Grazern (Zooplankton, Meio- und Makrofauna; AP6) wurden durch UFZ, WWU, UP und UB analysiert. Die Versuchsdauer musste wegen schwieriger Vorbereitung der definierten Biofilme verlängert werden.

Das **Teilprojekt 4** (TP4) bezieht sich auf die Gesellschaft und begleitete das Projekt über den gesamten Zeitraum. Alle Partner waren beteiligt, um insbesondere Aufgaben zu Koordination, Öffentlichkeitsarbeit und Transfer zu realisieren (AP7). In diesem Rahmen wurde beispielsweise eine Wanderausstellung zum Thema (Mikro-)Plastik in der Umwelt entwickelt, die in Kapitel 3.4 näher beschrieben wird.

Als **Meilenstein 1** (MS1) wurde die Quantifizierung von MP und dessen Sedimentation in den Untersuchungsgewässern definiert (AP1 und AP2). Dass dieser erst nach dem MS2 und MS3 abgeschlossen werden konnte, lag einerseits an der späten Beprobung der Rieselfelder aus Vogelschutzgründen. Andererseits war die Probenvorbereitung für die Polymer-Analysen aufwändiger als erwartet. Für die Sedimentationsraten konnten bis Ende 2020 keine vollständigen Jahregänge erarbeitet werden, da auch Wetter und Vandalismus zu Probenverlust geführt hatten.

**Meilenstein 2 (MS2)** umfasst die Charakterisierung und Kultivierung relevanter Mikroplastik-Besiedler sowie die Quantifizierung der steuernden Umweltfaktoren für den Besiedlungs- und Sedimentationsprozess (AP3 und AP4). Die Durchführungsphase musste verschoben werden, weil die dafür eingestellten Personen erst im Mai 2018 ihre Arbeit aufnehmen konnten.

**Meilenstein 3 (MS3)** verweist auf das Verständnis der direkten und indirekten Effekte von Mikroplastik auf planktische und benthische Organismen und die ökotoxikologische Bewertung sowie Entwicklung des Versuchsdesigns für Mikro- und Mesokosmenexperimente (AP5 und AP6). Biogen gesteuertes Aggregationsverhalten von Mikroplastik verlängerte außerdem die Versuchsdurchführung. Die Mesokosmosprüfung konnte erst ab Ende der Saison 2020 bewertet werden.

**Meilenstein 4 (MS4)** beinhaltet das Herausgeben von Handlungsempfehlungen, Maßnahmen zur Vermeidung/Entfernung von Mikroplastik (AP7) und basiert auf den Ergebnissen der vorigen Meilensteine, so dass er sich an das neue Projektende anpasste.

### 2.3 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Plastik wird in allen Gewässern mit menschlicher Nutzung gefunden, selbst in entlegenen mongolischen Bergseen (Free et al. 2014). In großen Flüssen (z. B. Donau, Rhein) nimmt die Plastikkonzentration jedoch nicht stetig flussabwärts zu, was auf **Senken oder Umwandlungsprozesse im Flussverlauf** schließen lässt (Lechner et al. 2014; Mani et al. 2015). Stauhaltungen könnten dabei als Senken fungieren, da das Plastik dort sedimentieren kann. Ähnliche Prozesse wurden auch in Talsperren vermutet. Obwohl fast jeder größere Fluss mehrfach aufgestaut wird, war über den Einfluss der Stauhaltungen auf den Transport von Plastikpartikeln nichts bekannt (internationale Tagung BfG /UBA, Dokumentation 08/2016, ISSN 2199-6571).

Außerdem kann **Biofouling**, also Bewuchs von Oberflächen mit mikrobiellen Gemeinschaften, die Dichte der Partikel ändern, zu Aggregatbildungen führen und damit Transport- bzw. Sedimentationsprozesse beeinflussen. In aquatischen Systemen werden Plastikpartikel wie praktisch alle Oberflächen schnell von Mikroorganismen besiedelt, die dort Biofilme ausbilden (Hoellein et al. 2014). Oft sind heterotrophe Bakterien die Erstbesiedler, in belichteten Zonen auch Diatomeen (Zettler et al. 2013; McCormick et al. 2014). Bei der bakteriellen Biofilmbildung kommt der Bildung extrazellulärer polymerer Substanzen (EPS), welche für die Verankerung und Viskoelastizität von Biofilmen verantwortlich sind, eine entscheidende Rolle zu (Flemming & Wingender 2010). Zellen in Biofilmen interagieren und sind resistenter gegenüber toxischen Substanzen; somit könnte die Biofilmbildung auch das Überleben und Wachstum auf den ggf. schadstoffbelasteten Plastikoberflächen ermöglichen. Plastikflächen werden schon lange in der aquatischen Ökologie als Aufwuchsträger eingesetzt, auch bei den Projektpartnern (Lawrence et al. 2002; Staudt et al. 2004; Peters et al. 2005).

Trotz der raschen mikrobiellen Besiedlung gibt es bisher nur wenige Hinweise auf einen effizienten **mikrobiellen Abbau von Plastik in der Umwelt**. Im Jahr 2014 wurde der mikrobielle Abbau von PE durch Stämme von *Enterobacter* und *Bacillus* nachgewiesen (Yang et al. 2014a), und 2016 wurde eine Studie zum mikrobiellen Wachstum auf Polyethylen-Terephthalat (PET) veröffentlicht (Yoshida et al. 2016). Allerdings fand der Abbau der Polymere bei 30 °C statt, so dass nicht mit einer kurzfristigen Entfernung des in der Umwelt befindlichen Mikroplastiks gerechnet werden kann.

Biofilme dienen als Futterquelle für Protozoen und Invertebraten. Für die Futterqualität der Biofilme sind Sterole und mehrfach ungesättigte Fettsäuren, also das Vorkommen von Eukaryoten im Biofilm wichtig (Martin-Creutzburg et al. 2008). Nach Ergebnissen des Ostsee-Projekts MikrOMIK beeinflussen die verschiedenen Plastiktypen den auf ihnen wachsenden Biofilm (Oberbeckmann et al. 2016). Eigene Versuche im limnischen Bereich bestätigen dies (Vosshage et al. 2018), was Auswirkungen auf höhere trophische Ebenen verursachen könnte. Neben diesen indirekten Wirkungspfaden können Plastikpartikel direkt von Organismen aufgenommen werden und diese dadurch beeinflussen. Dies trifft für viele marine Tiergruppen zu, bei denen das aufgenommene Mikroplastik zu reduzierter Nahrungsaufnahme, geringerem Wachstum, erhöhtem Stress und weiteren physiologischen Schäden bis zu erhöhter Mortalität führte (Duis & Coors 2016). Auch limnische Organismen nehmen Mikroplastik auf, wie an wenigen Arten des Planktons und der Makrofauna exemplarisch gezeigt wurde (Imhof et al. 2013; Setälä et al. 2014; Desforges et al. 2015). **Auswirkungen von Mikroplastik auf Meiofauna** (u. a. Nematoden, Rotatorien, Tardigraden) waren noch nicht publiziert, obwohl die Meiofauna Schlüsselstellen im Benthos und in Biofilmen besetzt (Majdi & Traunspurger 2015; Peters et al. 2007). Allerdings war belegt, dass Nematoden nanoskalige Partikel aufnehmen und diese toxisch wirken können (Höss et al. 2015; Yang et al. 2014b). **Auswirkungen der Plastikaufnahme bei limnischen Organismen** waren zu Projektbeginn kaum bekannt (Duis & Coors 2016), wurden aber seinerzeit im Projekt MiWa ([www.wrh.tu-berlin.de/miwa](http://www.wrh.tu-berlin.de/miwa)) untersucht. Hohe Konzentrationen von Mikroplastik (Größe um 1 µm) führten bei Daphnien zu Immobilität (Rehse et al. 2016). Marine Garnelen (*Mysis relicta*) konnten Mikroplastik über Beute aufnehmen, die zuvor Plastik ingestiert hatte (Setälä et al. 2014). Somit können kleine **Plastikpartikel entlang der Nahrungskette weitergegeben** werden. Die Identifizierung und Lokalisierung von Plastikpartikeln in Organismen ist weiterhin eine Herausforderung. **Sehr kleine Plastikpartikel (< 10 µm) können in biologischem Gewebe mithilfe mikroskopischer Techniken (Fluoreszenzmikroskopie, Raman-Spektroskopie)** analysiert werden (Cole et al. 2013; Huser & Chan 2015). Vor allem in kleinen Organismen mit transparentem Körper ist es möglich, nicht-destruktiv unmarkierte Moleküle im Gewebe zu lokalisieren und zu quantifizieren (Hellerer et al. 2007). So können Aufnahme und Transport von Mikroplastik in Biofilmen und benthischen und planktischen Nahrungsnetzen untersucht werden. Eine weitere ungeklärte Frage, die Gegenstand des Projektes war, ist inwieweit das Biofouling den Nährwert oder die Aufnahmeraten der Partikel beeinflussen kann. Für Mikroplastik sind

verschiedene Wirkmechanismen möglich: **(1)** Der Partikel selbst ist toxisch (durch Weichmacher, Pigmente etc.), **(2)** der Partikel ist weitgehend inert, d.h. er füllt den Verdauungstrakt und behindert somit die Aufnahme und Resorption „echter“ Nahrung, oder **(3)** der Partikel ist durch den Biofilmaufwuchs zumindest teilweise als Nahrung nutzbar. Welcher Wirkmechanismus in limnischen Planktern, der Meio- und Makrofauna auf unterschiedlichen trophischen Ebenen eine Rolle spielt, sollte untersucht werden.

#### 2.4 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Zusammenarbeit fand insbesondere mit den assoziierten Partnern, der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) sowie weiteren Departments des UFZ statt. Verbundübergreifende Zusammenarbeit wurde über die Querschnittsthemen (s.o.) organisiert und fand insbesondere mit PLAWES und MicroCatchBalt statt.

- Der Austausch mit der **Landestalsperrenverwaltung** sowie der **Stadt Hamm** konzentrierte sich auf die Probenahme. Hier verhalf die lokale Expertise den Forschenden zur Auswahl der Probenahmestellen, Zugang zu Arbeitsplätzen für empfindliche Messungen und zu Hintergrunddaten der Gewässer.
- Darüber hinaus arbeiteten die Forschenden mit der **NUA** im Bereich der Umweltbildung zusammen. So wurden (pandemiebedingt) vor allem zu Projektbeginn gemeinsame Veranstaltungen organisiert, um Kinder und Jugendliche über Mikroplastik und Plastik zu informieren.
- Die Zusammenarbeit mit der **BAM** bezog sich auf die Probenaufbereitung. Die BAM betreibt methodische Entwicklungen seit MiWa ([www.wrh.tu-berlin.de/miwa](http://www.wrh.tu-berlin.de/miwa)) und ist spezialisiert auf thermochemische Methoden zur Polymeranalytik, bei denen keine Isolation einzelner Partikel notwendig ist (Dümichen et al. 2015). Die entsprechenden Analysen wurden im Rahmen eines Unterauftrags abgewickelt.
- Mit den UFZ-Kolleg:innen der Projekte WEATHER-MIC und MiWa (Departments Analytik, Ökologische Chemie, Bioanalytische Ökotoxikologie) bestand eine fachliche Beratung zur Probenaufbereitung und ein Austausch von Modellpartikeln, also reinen Plastikpolymeren in Forschungsqualität für methodische Versuche. Diese Zusammenarbeit wurde im Rahmen des gemeinsam beantragten Projektes MICRO-FATE (<https://www.ufz.de/index.php?en=48342>) fortgesetzt und intensiviert.
- Das UFZ-Schülerlabor bietet verschiedene Lernmodule für Schüler:innen im Bereich von MINT-Fächern an. Das Modul Mikroplastik wurde durch ein Standort-Exemplar der im Projekt entwickelten Wanderausstellung ergänzt (vgl. 3.4.1). Zudem bot das Projekt zusammen mit Münsters Experimentierlabor ExperiMINTe (MExLab ExperiMINTe) der WWU (<https://www.uni-muenster.de/MExLab/organisation/experiminte/>) Workshops für Schüler:innen an.



Freilandexperimenten wurden die Ingestion, der Verbleib im Tier und die Exkretion von Mikroplastikpartikeln an bisher nicht untersuchten Arten von Schnecken, Flohkrebse und Muscheln nachgewiesen. An einer dieser Studien war die Stadt Hamm beteiligt. Versuche zu den Interaktionen zwischen Plastik, Biofilmen und Primärkonsumenten (*Radix balthica*, *Gammarus roeseli*) zeigten, dass sich der Biofilm auf zwei Plastikarten deutlich von dem auf Glas unterschied, und dass Schnecken (*R. balthica*), die mit diesen Biofilmen gefüttert wurden, signifikant langsamer wuchsen (Vosshage et al. 2018). Individuen von *G. roeseli* ingestierten signifikant mehr PET-Partikel, wenn diese mit Biofilm bewachsen waren (Scholten 2015). Auch im Zusammenhang mit anderen Stressoren wurden subletale Effekte auf die Physiologie benthischer Makrofauna nachgewiesen (Gabel et al. 2011).

### Universität Potsdam



An der Universität Potsdam wurde die Aufnahme von Polylactid-Partikeln (ca. 4 µm; Institut für Biomaterialforschung Teltow) durch Rotatorien (*Brachionus calyciflorus*) und Daphnien (*Daphnia magna*) untersucht. Kurzzeitversuche zeigten die Aufnahme der Partikel durch *B. calyciflorus*, nicht jedoch durch *D. magna*. Längere Expositionen führten auch bei *D. magna* (gleicher Stamm) zu einer deutlichen Aufnahme von Polystyrolpartikeln (Rehse et al. 2016).

### Universität Bielefeld



Die Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Traunspurger, einem der weltweit führenden Nematodentaxonomen und -ökologen (Eyualem et al. 2006) an der Uni Bielefeld (Bereich Tierökologie), untersucht seit Langem die ökologische Rolle der Meiofauna (vorherrschende Größenklasse: 200-2000 µm) in benthischen Nahrungsnetzen (Bergtold & Traunspurger 2005; Majdi & Traunspurger 2015) und Biofilmen (Peters et al. 2007). Der Quellbereich der Ems und des Furlbaches wurde hinsichtlich der Verteilung der Meiofauna, der Diversität der Nematoden sowie der Produktion der benthischen Gemeinschaft untersucht (Traunspurger et al. 2015; Majdi et al. 2017). Die Meiofauna-Besiedlung von künstlichen Hartsubstraten zeigte bereits innerhalb von 2 Monaten eine hohe Dichte von Nematoden und anderen benthischen Organismen sowohl unmittelbar über dem Sediment als auch in der Wassersäule (30 cm über dem Sediment) des Bodensees (Peters et al 2007).

### Ecossa



Die Entwicklung von kleinräumigen Mikrokosmossystemen zur ökotoxikologischen Untersuchung von Meiofauna in Sedimenten der Universität Bielefeld gemeinsam mit Ecossa erlaubte den Nachweis direkter toxischer Effekte sowie indirekter Nahrungsnetzeffekte von Schadstoffen auf das Meiobenthos (Hägerbäumer et al. 2016; Höss et al. 2015). Die AG Traunspurger konnte in Kooperation mit Ecossa zeigen, dass Nematoden Schadstoffe vor allem mit Futter über den Darm aufnehmen

(Höss et al. 2011a) und an Bakterien (also partikulär) gebundene Schadstoffe einen deutlichen Beitrag zur Toxizität leisten (Fischer et al. 2016; Höss et al. 2011b). Ecosa hat auch standardisierte ökotoxikologische Testverfahren mit dem Nematoden *Caenorhabditis elegans* für Süßwasser-Sedimente entwickelt (DIN ISO 10872; Höss et al. 2012). Durch die Kooperation mit dem Institut für Biophysik und Nanowissenschaften der Fakultät Physik an der Universität Bielefeld stehen modernste Detektionsmethoden zur Verfügung. Insbesondere die kohärente Anti-Stokes-Raman-Streuung („CARS“) erlaubt als nicht-invasive Spektroskopie- und Mikroskopietechnik genaue Aussagen über das Verhalten und den Verbleib von Mikroplastik in Organismen. Für die analytische Bestimmung spezifischer Moleküle in Gewebe und Zellen lebender Organismen bietet die Raman-Spektroskopie sehr gute Möglichkeiten (Huser & Chan 2015; Schie & Huser 2013; Jaeger et al. 2016). Diese Techniken sind sehr vielversprechend in Bezug auf den Nachweis von Mikroplastik in Nematoden.

### **Mesocosm GmbH**



Die Mesocosm GmbH, eine mittelständische, GLP-zertifizierte Auftragsforschungseinrichtung mit dem Schwerpunkt Aquatische Ökotoxikologie, Mesokosmos- und Non-Standard-Studien im Rahmen der Zulassung von Chemikalien und Pflanzenschutzmitteln, hat in den letzten Jahren zahlreiche Projekte zu Auswirkungen von anthropogenem Stress auf aquatische Ökosysteme in Kooperation mit Universitäten, Hochschulen und Forschungseinrichtungen erfolgreich durchgeführt (z. B. BMBF-Projekt Nano-POP, ZIM-Kooperationsprojekt KF2806902RH1, Hessenagentur-Projekte Nr. 269/11-14 und 155/08-17). Dabei wurden direkte Effekte auf Phytoplankton, Periphyton, Makrophyten, Zooplankton und Makroinvertebraten und indirekte Effekte entlang der Nahrungskette erfasst.

### 3. Wichtigste Ergebnisse aus den Teilprojekten und Arbeitspaketen

Das Projekt basierte auf der Kombination von Freiland- und Laborarbeiten, die eng miteinander verbunden waren. In Testsystemen mit steigender Komplexität wurden Verhalten und Wirkung von Mikroplastikpartikeln in Wasser und Sediment untersucht und in Bezug auf die Freilanddaten ihre ökologische Relevanz bewertet (Abbildung 2). Um dies zu gewährleisten, war neben der Erfassung der Mikroplastikbelastung auch die Charakterisierung der Meiofauna im Feld wichtig, zu der keine systematischen Kenntnisse in Bezug auf Stauhaltungen vorlagen. Technisch gesehen wurden Modellorganismen für Laborversuche an den Freilandstandorten gewonnen, intakte Sedimentkerne im Labor inkubiert und auch Aufwuchsflächen und Mikroplastikpartikel im Freiland an den Projektstandorten exponiert.

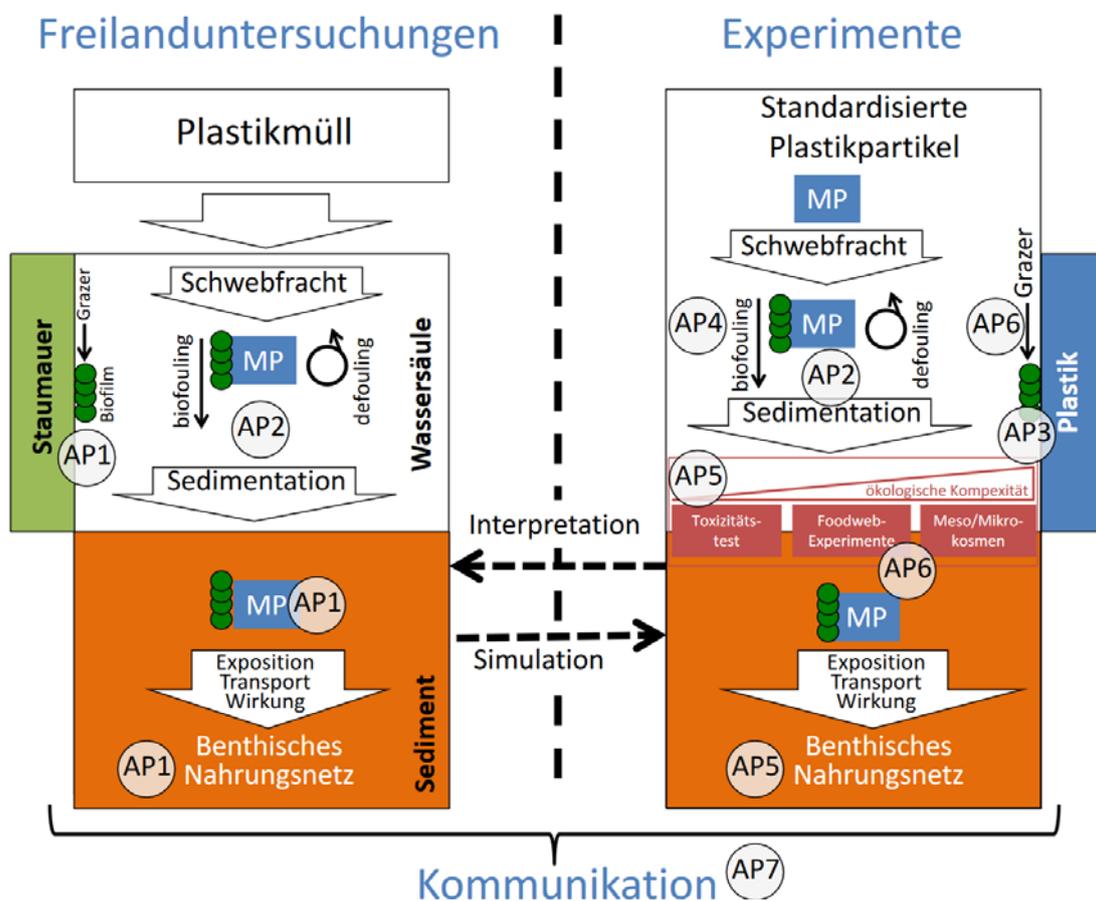


Abbildung 2: Konzept der Untersuchungsschwerpunkte und ihre Zuordnung zu den in 2.2 definierten Arbeitspaketen. MP = Mikroplastik, AP = Arbeitspaket, ● Biofilm

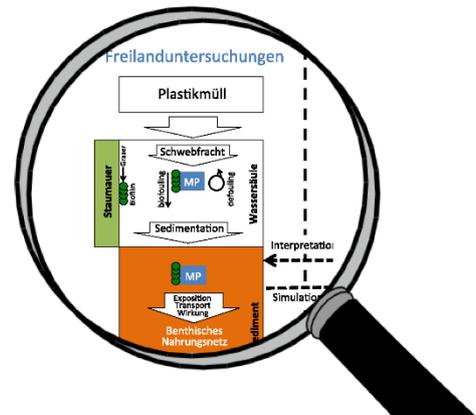
### 3.1 TP1 Verbreitung von Mikroplastik und Fauna

#### 3.1.1 Arbeitspaket 1: Survey Plastik u. Meio-/Mikrofauna in Talsperren und Stauhaltungen

**UFZ Magdeburg (Lead), Universität Münster, Universität Bielefeld**

#### Beschreibung

Für das Projekt wurden sechs verschiedene gestaute Gewässer als Untersuchungsstandort ausgewählt. Aufgrund von Beratungen mit der LTV wurden die sächsischen Brauchwasser-Talsperren Bautzen, Quitzdorf und Malter ausgewählt. In NRW wurden in Abstimmung mit der Stadt Hamm die gestaute Ems, die Lippe bei Hamm und die ehemaligen Rieselfelder von Münster als Untersuchungsgebiete definiert. Die Untersuchungen fanden unter Beteiligung von jeweils mindestens vier Partnerinstitutionen im Jahr 2018 statt.



#### Ziele

Die Untersuchung sollte die verschiedenen gestauten Gewässer hinsichtlich ihrer Belastung mit Mikroplastik und der biologischen Beschaffenheit ihrer Sedimente einordnen. Vor allem sollten relevante Plastikpolymere identifiziert werden und die Zusammensetzung der Meio- und Makrofauna aufgeklärt werden. Diese Sedimentbewohner sind Plastikeinträgen direkt oder indirekt ausgesetzt und spielen eine wichtige Rolle im Nahrungsnetz. Im Ergebnis sollten Intensiv-Untersuchungsstandorte für die Ermittlung von Sedimentationsraten ausgewählt werden.

#### Methoden für untersuchte Stauhaltungen und Talsperren

Zur Quantifizierung von Mikroplastik in der Wasserphase wurden von einem Schlauchboot aus jeweils etwa 1000 Liter Wasser durch 500 µm und 100 µm Edelstahlsiebe in ein Edelstahlfass und anschließend durch einen 10 µm-Kerzenfilter gepumpt. Die mit der Probenahme befassten Personen trugen Baumwollkleidung. Die Analyse der aufbereiteten Fraktionen erfolgte mittels TED-GC-MS an der BAM.

Sedimente wurden jeweils transektartig an mehreren Stellen mithilfe eines Schwerkraft-Sedimentstachers (uwitec) entnommen. Ein intakter Kern wurde für die Messung von Sauerstoffprofilen verwendet, von den übrigen Kernen wurden für physikalisch-biogeochemische Charakterisierung, Meiofauna und Mikroplastik die oberen 5 cm abgeteilt und in jeweils geeignete Gefäße abgefüllt. Außer für Mikroplastik wurden die oberen 5 cm in die Schichten 0-2 cm und 2-5 cm aufgeteilt.

Bei der physikalisch-biogeochemischen Charakterisierung wurden Feuchtdichte, Trockengewicht, Glühverlust und Lagerungsdichte sowie die mikrobielle Biomasse ermittelt und Korngrößenverteilungen für den Bereich 0,04-2500 µm in 100 Klassen (Cilas 1190 Partikelanalysator) aufgenommen. Die

für Mikroplastikanalysen vorgesehenen Proben wurde mittels Nasssiebung fraktioniert (10-20, 20-50, 50-100, 100-500 und >500  $\mu\text{m}$ ). Die Vielzahl der Fraktionen war schon aus technischen Gründen notwendig, um die Siebe nicht zu überladen. Anschließend erfolgte eine Dichteseperation mit Natriumpolywolframat ( $1,9 \text{ g/cm}^3$ ). Auch diese angereicherten Fraktionen wurden an der BAM mittels TED-GC-MS auf Plastikpolymere untersucht.

### **Methoden Meiofauna und Makrozoobenthos**

Entlang von ausgesuchten Transekten wurden pro Standort 3-5 Sedimentkerne der oberen 5 cm entnommen und auf meiobenthische Organismen untersucht. Die Sedimente wurden mit Formaldehyd fixiert (Endkonzentration 4 %) und die (meio)benthischen Organismen anschließend im Labor mittels Dichtezentrifugation aus dem Sediment extrahiert. Die Abundanz der Organismengruppen und die Zusammensetzung der jeweiligen Lebensgemeinschaften wurden im Berichtszeitraum für die Sedimentschichten 0-2 cm und 2-5 cm analysiert und final ausgewertet. Dazu wurden die extrahierten (meio)benthischen Organismen gezählt und entsprechend ihrem Taxon zugeordnet (Erfassung der Abundanz nach Organismengruppe/Taxa). An denselben Transektpunkten der jeweiligen Gewässer wurden ebenfalls Makrozoobenthosproben genommen. Dazu wurden im Frühjahr 2018 an den fünf Transektpunkten pro Gewässer drei Greiferproben (Eckman-Birge Greifer) des Sediments mit einer Fläche von  $225 \text{ cm}^2$  in der Gewässermittle genommen.

### **Ergebnisse**

Die Probenstandorte wurden gemeinsam vor Ort definiert und (außer Rieselfelder Münster) als GPS-Punkte gespeichert. Mit einer Multiparametersonde wurden Profile von Temperatur, Sauerstoff und Chlorophyll a aufgenommen. An ein bis drei Positionen je Ort wurde das Wasser auf Mikroplastik beprobt, Sedimentproben wurden jeweils an mindestens drei Positionen entnommen, um wesentliche Punkte beziehungsweise einen Strömungsgradienten abzubilden (Abbildung 3).

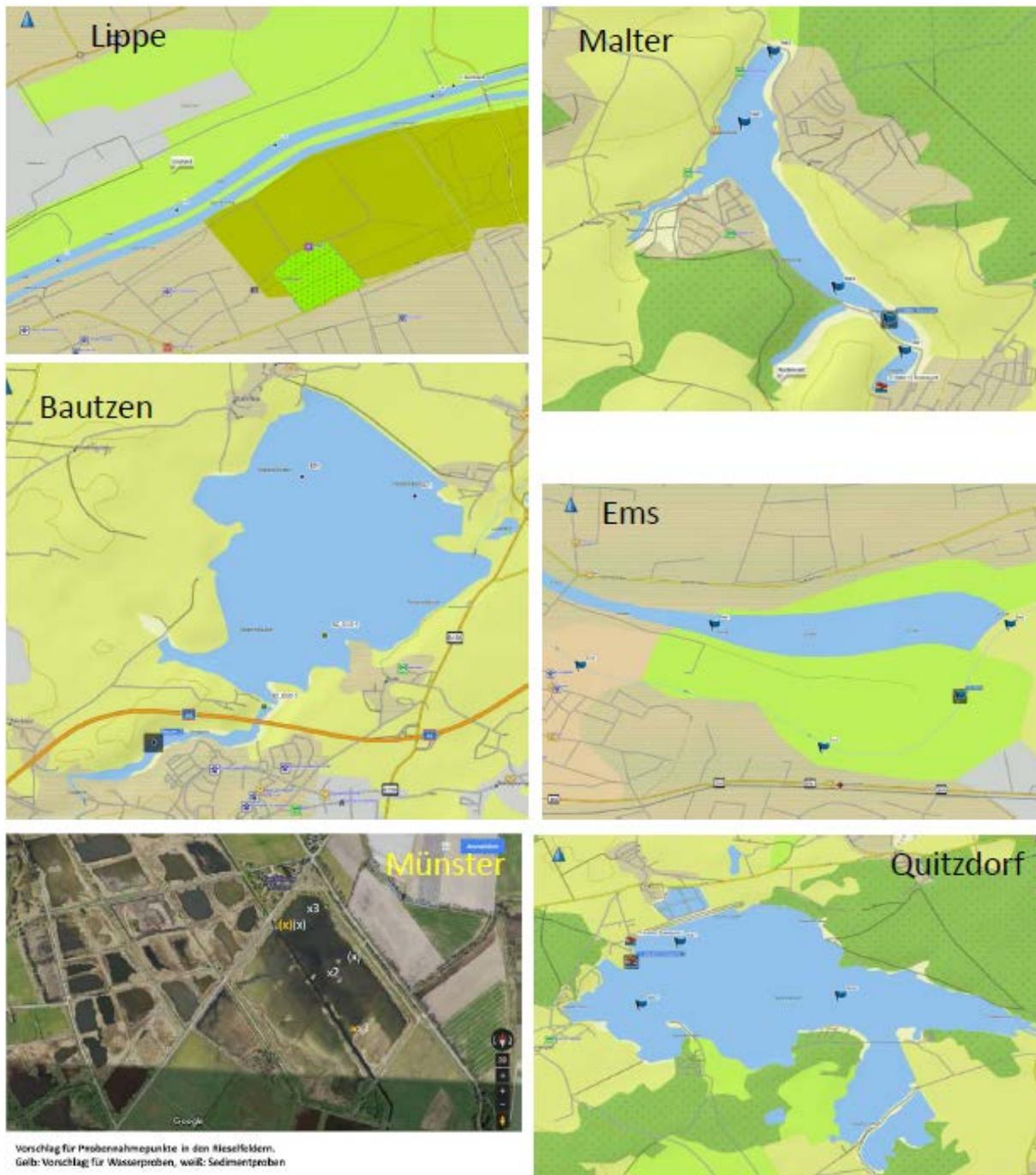


Abbildung 3: Untersuchungsgewässer mit Probennahmepunkten (nicht maßstabsgerecht).

### 3.1.1.1 Mikroplastik in Talsperren und Stauhaltungen

**Wasser.** Die in 2018 gewonnenen Wasserproben wurden auf PE, PP, SBR (styrene butadiene rubber; Reifenmaterial), NR (natural rubber; Naturgummi), PS, PA6/66 (Polyamide, z.B. Nylon) und PET untersucht. Schwerpunktmäßig wurden die Fraktionen >500 µm und 100-500 µm betrachtet. In Einzelfällen wurden auch die 10-100 µm-Fraktionen ausgewertet, die Ergebnisse wurden aber wegen der Behandlung mit Wasserstoffperoxid, die zu der Zeit Stand der Technik war, nicht als gesichert angesehen. PET fand sich nur in einer einzigen Probe der >500 µm-Fraktion und kann damit als untypisch für die untersuchten Gewässer angesehen werden, auch wenn natürlich die Beprobungen nur Momentaufnahmen

darstellen. Polystyrol wurde am häufigsten detektiert (Tabelle 1), obwohl seine Dichte ( $1050 \text{ kg/m}^3$ ) über der von Wasser liegt. Es ist aber nicht bekannt, ob die nachgewiesenen Anteile als geschäumtes Polystyrol vorgelegen haben. Die Lippe wies das diverseste Polymermuster auf. Das Polymermuster der Wasserproben von MikroPlaTaS deckt sich gut mit Befunden von Flusswässern aus NRW, die ebenfalls mit TED-GC-MS analysiert wurden und bei denen ebenfalls PE und PS dominierten (Dümichen et al. 2017). Auch im Elbewasser wurden vorrangig PE, PP und PS gefunden (Scherer et al. 2020). Eine Untersuchung des Lake Superior führte zu häufigen Funden von PVC (Hendrickson et al. 2018), welches in unserem Survey nicht gesucht wurde, weil es mit TED-GC-MS nicht identifiziert werden kann (Goedde et al. 2020).

Tabelle 1: Konzentration verschiedener Kunststoffe in der 100-500  $\mu\text{m}$  Fraktion von Wasserproben ( $\mu\text{g/m}^3$ ). Genaue Position der Standorte siehe Karten oben (Abbildung 3). Nullbefunde sind wegen der besseren Übersicht weggelassen.

Standort	PE	PP	SBR	NR	PS	PA6/66	Summe
Lippe 1 (vor Wehr)		7,21	1	2,64	0,55	16,54	27,94
Lippe 4	71,60	13,74			0,10	0,76	86,20
Malter 1 (Vorsperre)		17,90	0,61		3,79		22,30
Malter 2 (Hauptsperre)					0,43		0,43
Ems 1 (Emssee)					1,73		1,73
Ems 4				1,19	1,41		2,60
Ems 2		6,21			0,89		7,10
Bautzen Vorsperre Oehna	436,10	111,03					547,13
Bautzen Hauptsperre							0
Quitzdorf						36,13	36,13
Münster Rieselfelder 1	17,24				0,17	9,24	26,65
Münster Rieselfelder 3	928,93	376,45			11,50		1.316,88

Bei den Konzentrationen erreichte nur die Stelle 3 der ehemaligen Rieselfelder eine Gesamtmasse von mehr als  $1 \text{ mg/m}^3$  Mikrokunststoffe. Interessanterweise ergab das Pumpen an einer anderen Stelle des Gewässers eine um fast den Faktor 50 niedrigere Gesamtkonzentration. Die letztere Stelle 1 befindet sich dort, wo Wasser aus der Kläranlage in die Rieselfelder gelangt. Die Stelle 3 liegt am Ende der Fließstrecke und auch am nordöstlichen Ende der Rieselfelder, so dass mit dem Wind Plastik dorthin getrieben werden könnte. Ein Vergleich der Konzentrationen mit publizierten Untersuchungen ist nur eingeschränkt möglich, da es noch nicht viele Studien zur massenbasierten Analyse von Mikrokunststoffen gibt und die partikelbasierten Analysen häufig andere Größenklassen angeben. Auch wo Massenangaben flächenbezogen verfügbar sind (z.B.  $1200 \text{ mg/km}^2$  für den Lake Superior; Hendrickson et al. 2018) ist ein Vergleich zwischen einem streckenbezogenen Manta-Zug mit dem von uns durchgeführten Pumpen an einer Stelle nicht vergleichbar. Der Befund aus einem dänischen Regenrückhaltebecken (Fraktion 10-500  $\mu\text{m}$ :  $4,2 \text{ mg/m}^3$ , Olesen et al. 2019) liegt noch deutlich oberhalb des im Rahmen des

Projektes gefundenen Höchstwertes, so dass die Wasserphasen der betrachteten Gewässer wahrscheinlich als gering moderat belastet einzuordnen sind.

Die häufigen Nachweise von Polystyrol in unserem Untersuchungsgebiet unterstützen ebenso wie die oben genannten Befunde aus der Literatur die Relevanz des Materials für die Experimente zu möglichen direkten Wirkungen von Mikroplastik auf Organismen (Kapitel 3.3). Polyethylen wurde nicht in allen Wasserproben gefunden, in der Vorsperre Oehna und der Stelle 3 in den Riesefeldern aber in sehr hohen Konzentrationen. Im Fall von Oehna korreliert dies mit einem hohen Aufkommen an sichtbarem Müll. Die Vorsperre Oehna wurde im Jahr 2019 im Mai und September auf Makroplastik untersucht, indem mit einem Schlauchboot die Uferlinie abgefahren und mit dem bloßen Auge sichtbare Teile eingesammelt wurden. Sie wurden nach der Dokumentation teilweise für die Anreicherung von Bakterien aus den vorhandenen Biofilmen und für Polymerbestimmungen genutzt. Auch die nicht weiter benötigten Teile wurden nach Magdeburg mitgenommen und entsorgt, so dass das im September gefundene Material (Abbildung 4) zumindest nach dem 9. Mai dort abgelagert worden sein muss. Da auch kommunale Verantwortliche Müllsammelaktionen organisieren und durchführen, ist der Zeitraum der Ablagerung eventuell noch kürzer gewesen.

Auch an der Hauptsperre Bautzen wurden einzelne Teile Plastikmüll im Uferbereich gesichtet, was aber im Vergleich zur Größe des Wasserkörpers weniger ausmacht. Da man Mikroplastik nicht mit vertretbarem Aufwand aus einem Gewässer entfernen kann und auch Mikroplastik-Einträge nicht lokal verhindern kann, sollte die Möglichkeit genutzt werden, den Müll an der Vorsperre Oehna, der vermutlich zum großen Teil über die Spree herangetragen wird, weiterhin regelmäßig zu entfernen, um eine weitere Fragmentierung der Gegenstände zu Mikroplastik zu vermeiden.

Im Teichwasser der Firma Mesocosm konnte kein Mikroplastik nachgewiesen werden. Dies bedeutet, dass die Experimente in einer Umgebung ohne nennenswerte Hintergrundbelastung durchgeführt wurden. Polyamide wurden an drei der untersuchten Standorte in der 100-500  $\mu\text{m}$ -Fraktion nachgewiesen (Tabelle 2) und zusätzlich einmal bei  $>500 \mu\text{m}$  in der Ems. Somit kann auch der Einsatz von Polyamidpartikeln in den Mesokosmen-Versuchen als umweltrelevant betrachtet werden.



Abbildung 4: Am 6.09.2019 an der Vorsperre Oehna aufgesammelter Müll. Foto: UFZ.

**Sedimente.** Die Sedimente waren mit Ausnahme des fließenden Teils der Ems sehr feinkörnig und wiesen hohe mikrobielle Biomassen auf. Bei den Stellen Ems 2-4 lagen 80 % der Sedimentpartikel oder mehr in der Größenklasse  $>63 \mu\text{m}$ , also im sandigen Bereich. Die mikrobielle Biomasse der fließenden Ems lag unterhalb von  $100 \text{ nmol P je Gramm Trockengewicht}$ , was typisch für natürliche Flüsse ist und einer Bakteriendichte von etwa  $10^9$  Zellen pro Gramm Trockengewicht entspricht. Die Sedimentoberfläche war an allen Stellen zum Zeitpunkt der Untersuchung oxidisch. Auch hier fiel die Stelle Ems 2 durch die höchste Sauerstoffeindringtiefe auf ( $6,7 \pm 1,9 \text{ mm}$ ), die niedrigsten Werte von weniger als 1 mm hatten die ehemaligen Rieselfelder gefolgt von der Talsperre Bautzen mit weniger als 2 mm (M. Koschorreck, unveröffentlicht). Im Emssee und in den Rieselfeldern konnte benthische Photosynthese nachgewiesen werden. Es ist bemerkenswert, dass die Meiofauna trotz der geringen Sauerstoffversorgung an allen Standorten so zahlreich vertreten war (s.u.), was auf eine wahrscheinlich noch nicht in diesem Ausmaß bekannte Toleranz gegenüber anoxischen Bedingungen hindeutet.

Bei der Untersuchung von Sedimenten auf Plastik wurde auf PE, PP, PS, PET, Acrylate und SBR geprüft. Wie bei den Wasserproben wurde auf die  $100\text{-}500 \mu\text{m}$ -Fraktion fokussiert. Nur von der Vorsperre Oehna wurden bisher Proben feinerer Fraktionen ausgewertet, die  $>500 \mu\text{m}$ -Fraktion war für die Sedimentproben durchgehend nicht relevant. Es wurde in allen Sedimenten PE nachgewiesen, während in keiner der Proben PET oder Polyamide detektiert wurden. Allerdings gibt es Seen, in deren Sedimenten Polyamide zu den dominanten Kunststoffen gehören (Yan et al. 2022). SBR wurde nur in den feineren Fraktionen  $<100 \mu\text{m}$  aus Oehna gefunden. Dies passt zu dem Befund, dass die dafür verantwortlichen

Reifenabriebpartikel typischerweise kleiner als 100  $\mu\text{m}$  sind (Kreider et al. 2010). Eine Belastung mit Reifenabrieb ist an diesem Standort naheliegend, da die A4 auf einer Brücke direkt über die Vorsperre führt (siehe Abbildung 3). Auch das Sediment des Mesocosm-Teiches wurde vor dem Feldversuch auf Mikroplastik untersucht. Es enthielt PE, PS und Acrylate, war aber in Bezug auf das im Großexperiment eingesetzte Polyamid unbelastet. Acrylate waren sonst nur in der fließenden Lippe und in der Vorsperre Oehna nachweisbar. Sie werden im Baubereich sowie für Farben und Lacke eingesetzt, so dass eigentlich eine weite Verbreitung erwartet werden könnte.

Tabelle 2: Vorkommen verschiedener Kunststoffe in der 100-500  $\mu\text{m}$ -Fraktion der untersuchten Sedimente.

Standort	PE	PP	PS	Acrylate
Lippe 1 (vor Wehr)	+	+	+	+
Lippe 2	+	+	+	+
Lippe 3	+	+	+	+
Lippe 4	+	+	+	+
Malter 1 (Vorsperre)	+	+	+	+
Malter 2 (Hauptsperre)	+	+	+	+
Malter 3 (Hauptsperre)	+	+	+	+
Malter 4 (Hauptsperre)	+	+	+	+
Ems 1 (Emssee)	+	+	+	+
Ems 2	+	+	+	+
Ems 3	+	+	+	+
Ems 4	+	+	+	+
Bautzen Vorsperre Oehna 1	+	+	+	+
Bautzen Vorsperre Oehna 2	+	+	+	+
Bautzen Hauptsperre 1	+	+	+	+
Bautzen Hauptsperre 4	+	+	+	+
Bautzen Hauptsperre I4	+	+	+	+
Münster Rieselfelder 1	+	+	+	+
Münster Rieselfelder 2	+	+	+	+
Münster Rieselfelder 3	+	+	+	+
Sediment Mesocosm-Teich	+	+	+	+

Die gefundenen Polymere zeigten keine systematischen Unterschiede zwischen Orten, Regionen oder hydrologischen Eigenschaften der Probennahmestellen. Das Sediment der Talsperre Quitzdorf wurde aus Kapazitätsgründen bisher nicht ausgewertet. Die übrigen Standorte zeigen ein den Wasserproben ähnliches Polymere. PE, PP und PS waren auch die häufigsten Polymere in Elbe-Sedimenten (Scherer et al. 2020), wobei dort auch das von uns nicht erfasste PVC in geringen Anteilen auftrat.

In Sedimenten des Rheins wurde neben den auch hier dominanten PE, PP und PS auch Polyamide gefunden (Klein et al. 2015), die an den MikroPlaTaS-Standorten nur im Wasser nachweisbar waren (Tabelle 1).

Um von den in den dichteseparierten Fraktionen der Sedimentproben nachgewiesenen Konzentrationen auf eine Gesamtbelastung mit Kunststoffen zu kommen, musste zunächst der Anteil der dichteseparierten Masse an der Gesamtfraktion berücksichtigt werden. Die folgenden Ergebnisse zeigen nur die Konzentrationen in der 100-500  $\mu\text{m}$ -Fraktion (Abbildung 5).

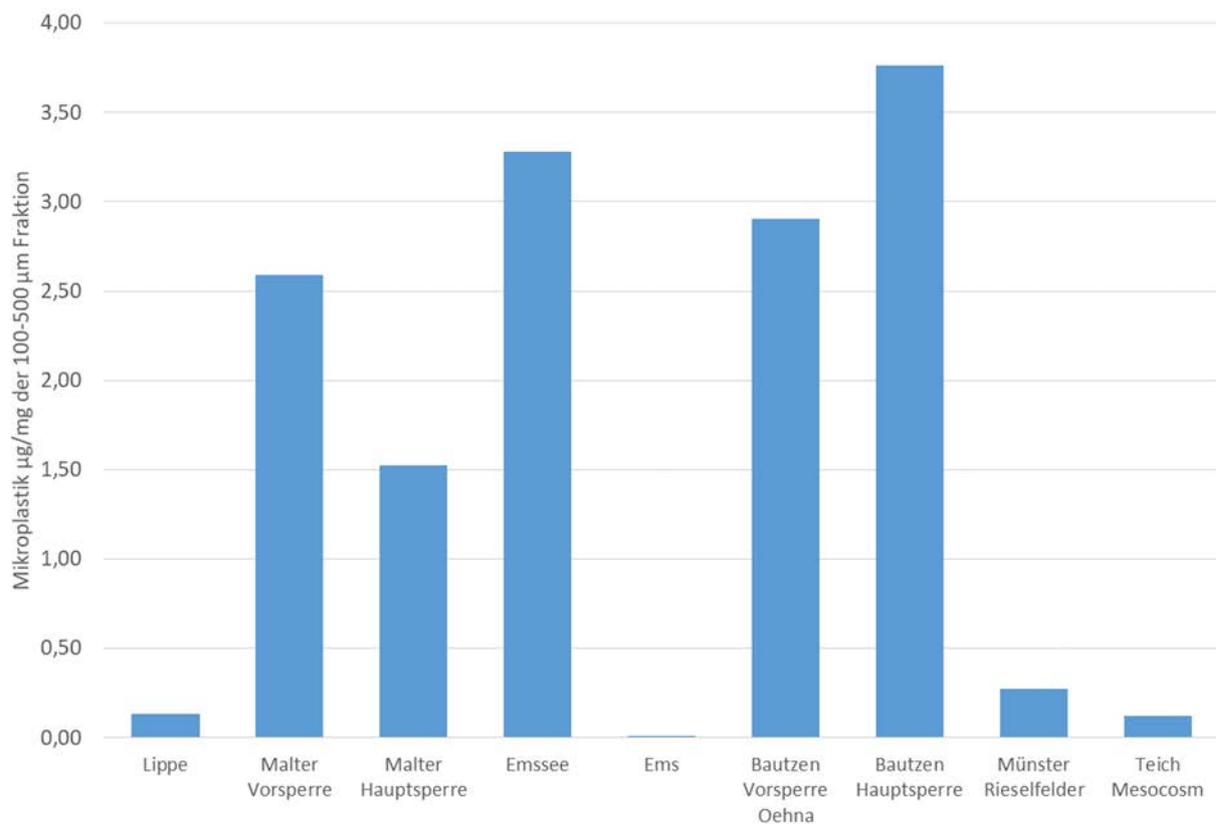


Abbildung 5: Summe der Mikroplastikstoffe in der 100-500  $\mu\text{m}$ -Fraktion der Sedimente bezogen auf die Trockenmasse.

Auffällig waren die hohen Konzentrationen in den stehenden Gewässern mit Ausnahme des Mesocosm-Teichs. Anders als in den Wasserproben waren aber nur in Malter die Konzentrationen der Vorsperre höher als in der Hauptsperre. Dies legt nahe, dass es zumindest in Bautzen andere wesentliche Eintragsquellen als den Zufluss über die Spree geben muss. Die Talsperre Bautzen ist sehr windexponiert, und es wurde auch im Uferbereich der Hauptsperre Plastikmüll gesehen. Sehr gering mit Mikroplastikstoffen belastet war die fließende Ems (10 ng/mg, also 10 mg/kg), deren Sediment eine andere Korngrößenverteilung aufweist als die der anderen Gewässer. Die Konzentrationen sind nur dann vergleichbar mit denen anderer limnischer Sedimente, wenn man annimmt, dass die Korngrößenverteilung der Mikroplastikpartikel sich so verhält wie die der entsprechenden Sedimente. Die Untersuchung eines dänischen Regenrückhaltebeckens auf Mikroplastikstoffe von 10-500  $\mu\text{m}$  ergab mit

0,4 g/kg eine mit den niedrig belasteten Standorten unseres Projekts vergleichbare Konzentration (Olesen et al. 2019). Dies Sedimente der Elbe wiesen je nachdem welche Kornfraktion betrachtet wurde, Gehalte von 10-50 g/m<sup>3</sup> (125-5000 µm) beziehungsweise 10-500 g/m<sup>3</sup> (20-125 µm) auf (Scherer et al. 2020), was bei aller Unsicherheit auch wegen der verschiedenen Bezugsgrößen niedriger als die in den stehenden Gewässern gefundenen Gehalte ist. In Ufersedimenten des Rheins wurden bis zu 1 g/kg nachgewiesen (Klein et al. 2015). Gut vergleichbare massenbezogene Daten zu Mikroplastikstoffen in Seen sind bisher nicht verfügbar. Es ist nach jetzigem Kenntnisstand davon auszugehen, dass die Sedimentbelastung im Emssee und den Talsperren Malter und Bautzen als eher hoch einzustufen ist, auch wenn die vollständige Auswertung einer Probe aus der Vorsperre Oehna eine zehnfach geringere Gesamtkonzentration an Mikroplastikstoffen ergab (0,24 gegenüber 2,9 g/kg, siehe unten).

Der Anteil der 100-500 µm-Fraktion am Sediment variierte sehr stark zwischen den verschiedenen Standorten und sogar zwischen den Probennahmepunkten an einer Fließstrecke (siehe Fehlerbalken in Abbildung 6). Damit ist auch die Relevanz der 100-500 µm-Fraktion unterschiedlich zu bewerten. Ein hoher Anteil der 100-500 µm-Fraktion sagt nicht aus, dass auch das im Sediment vorhandene Mikroplastik vorrangig in dieser Fraktion zu finden wäre, es gibt schlicht keine Daten, um dies bewerten zu können.

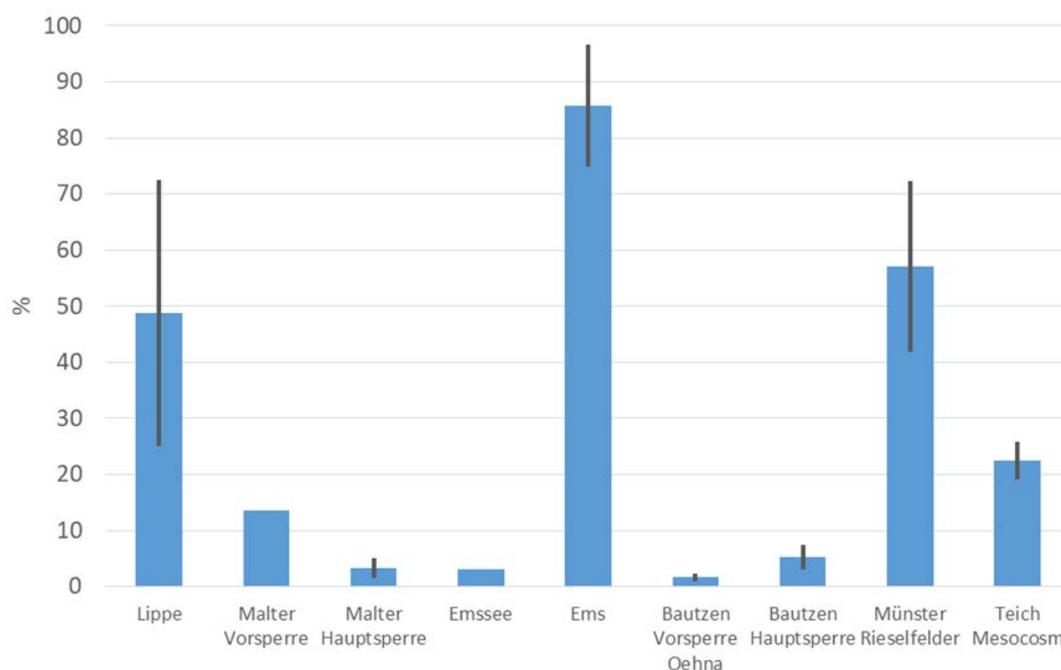


Abbildung 6: Anteil der 100-500 µm-Fraktion am gesamten Sedimentgewicht, bezogen auf Trockenmasse.

Rechnet man die Konzentrationen aus der untersuchten Fraktion auf die gesamte Sedimentmasse hoch, ignoriert man die möglicherweise abweichenden Konzentrationen in den anderen Kornfraktionen. Geht man davon aus, dass das Mikroplastik im Sediment und seinen Fraktionen gleich verteilt ist,

ergibt sich ein Widerspruch zu den Wasserproben (siehe oben) und den Sedimentfallenproben (Kapitel 3.1.2), deren Analysenergebnisse auf geringere Gehalte in den kleinen Fraktionen hinweisen. Geht man im Sinne einer konservativen Schätzung davon aus, dass die anderen Fraktionen kein Mikroplastik enthalten, erhält man Mindestwerte. Diese sind höchstwahrscheinlich nicht korrekt, die stichprobenartige Untersuchung der <100 µm-Sedimente aus der Vorsperre Oehna ergab neben dem bereits erwähnten SBR auch PE und PS. Die folgende Tabelle zeigt eine exemplarische Summenrechnung für die Vorsperre Oehna.

*Tabelle 3: Gewichtete Mikroplastik-Konzentrationen im Sediment der Vorsperre Oehna, ausgehend von den bereits für den Faktor der Dichteseparation angepassten Konzentrationen der Einzelfraktionen. Die Daten sind Mittelwerte aus zwei Probenahmepunkten. Die Grobfraktionen erhielten keine sichtbaren Partikel mit dem Erscheinungsbild von Kunststoffen.*

Größenfraktion	Mikroplastik [µg/mg]	Anteil der Fraktion [%]	Anteil relativ	Mikroplastik gewichtet [µg/mg]
10-20 µm	0,06	56,84	0,568	0,036
20-50 µm	0,36	30,39	0,304	0,108
50-100 µm	0,36	9,37	0,094	0,033
100-500 µm	2,90	2,24	0,022	0,065
500-5000 µm	Nicht gemessen	1,06	0,011	0,000
>5000 µm	Nicht gemessen	0,09	0,001	0,000
<b>Summe</b>		100	1,000	<b>0,243</b>

Die aus allen Messwerten berechnete Mikroplastikkonzentration des Gesamtsedimentes von Oehna liegt also um Faktor 10 niedriger als die nur aus der Fraktion 100-500 µm geschätzte Konzentration (0,243 µg/mg gegenüber 2,90 µg/mg). Dies ist unter den im Projekt MikroPlaTaS beprobten Gewässern wahrscheinlich die größtmögliche Diskrepanz, da an diesem Standort der Massenanteil der 100-500 µm-Fraktion am geringsten war und gleichzeitig die Mikroplastikkonzentration in dieser Fraktion relativ hoch lag. Doch auch wenn die Abweichungen geringer ausfallen, wären sie immer noch zu groß, um auf der Basis unvollständiger Analysen Expositionskonzentrationen für Tiere verschiedener Größenklassen abzugeben oder einen Abgleich mit Schwellenwerten vorzunehmen, die sich nicht auf vergleichbare Kornverteilungen beziehen. Um also die Mikroplastikkonzentrationen der Standorte fundiert bewerten zu können, wäre es also sehr wünschenswert, alle Fraktionen des Sediments analysieren zu können.

### 3.1.1.2 Meiofauna in den Sedimenten

Im Hinblick auf die erfassten meiobenthischen Organismen bzw. Lebensgemeinschaften lässt sich generell feststellen, dass über alle Standorte und Replikate hinweg mehr als drei Viertel aller Organismen (77,5 %) in den obersten 2 cm der Sedimente zu finden waren. Meiobenthische Organismen waren in den untersuchten Sedimenten sehr abundant, wobei im Mittel 459 Organismen ( $\pm 530$ ) erfasst werden

konnten. In den obersten 2 cm der analysierten Sedimente wurden 356 ( $\pm$  483) Organismen gezählt, während in der unteren Sedimentschicht 148 ( $\pm$  145) Organismen aufgefunden wurden.

Die Zusammensetzung der meiobenthischen Organismen unterschied sich zwischen den einzelnen Standorten in natürlichem Maße und bilden im Großen und Ganzen sehr übliche Lebensgemeinschaften in bekannten limnischen Gewässern ab, wobei explizite wissenschaftliche Untersuchungen zur Meiofauna in Talsperren und Stauhaltungen in dieser Studie erstmals durchgeführt wurden. Insgesamt war das Meiobenthos der analysierten Sedimente von Nematoden dominiert, welche im Mittel ca. 70 % aller erfassten Organismen ( $69,2 \pm 23,7$  %) ausmachten. Nachfolgend sollen die einzelnen Standorte separat betrachtet werden:

Im Vergleich zwischen den verschiedenen Standorten zeichneten sich die Sedimente der **Lippe** durch eine besonders hohe Abundanz meiobenthischer Organismen aus (Abbildung 7). In dem analysierten Transekt wurden im Mittel 1327 ( $\pm$  545) meiobenthische Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> gefunden. Hierbei war die Abundanz der Organismen mit 1209 ( $\pm$  541) in der oberen Sedimentschicht besonders hoch (Abbildung 7, oben). Über alle Unterproben stellten die Nematoden mit 79,6 % ( $\pm$  13,5) aller Organismengruppen die deutliche Mehrheit dar. Insbesondere in der unteren Sedimentschicht zwischen 2 und 5 cm waren die Nematoda das mit Abstand häufigste Taxon ( $84,6 \pm 14,4$  %; Abbildung 7, unten). Diese Ergebnisse decken sich mit bisherigen wissenschaftlichen Untersuchungen, welche die Nematoden als häufigste Organismengruppe bezüglich der Abundanz im Bereich der meiobenthischen Organismen ausmachen.

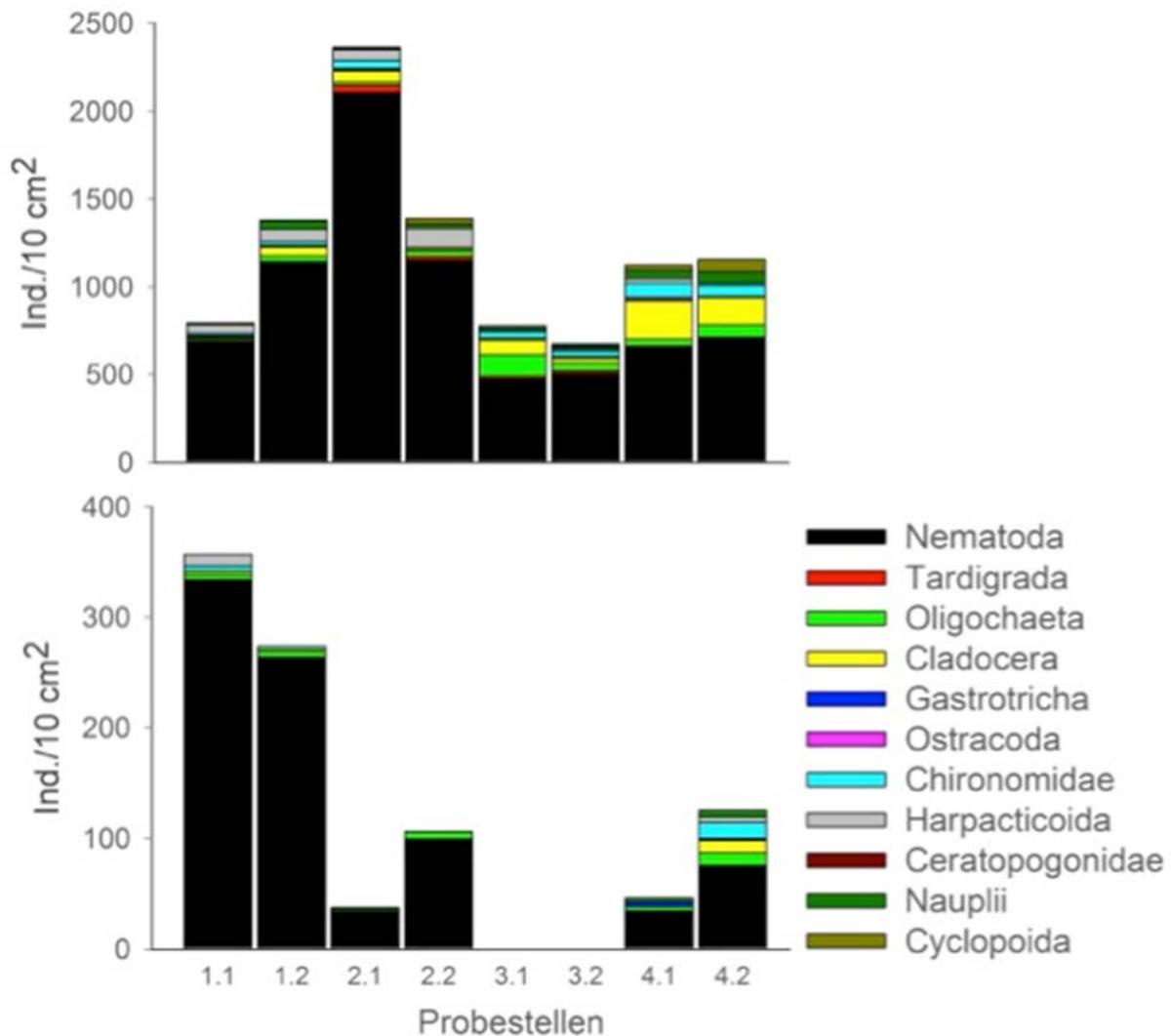


Abbildung 7: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Lippe. Dargestellt sind hier die Anzahl der Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-4, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), jeweils unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen.

In den Sedimenten der **Ems**, inkl. Emssee, wurden im Vergleich zur Lippe weniger meiobenthische Organismen vorgefunden (Abbildung 8). In den analysierten Sedimentkernen wurden im Mittel 414 ( $\pm$  402) meiobenthische Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> nachgewiesen. Der Großteil der aufgefundenen Organismen am Standort Ems konnte ebenfalls in der oberen Sedimentschicht gefunden werden (Abbildung 8, oben). Im Hinblick auf die Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften unterscheiden sich die Emsedimente stark von denen der Lippe, wobei Nematoden insgesamt mit 62,8 % ( $\pm$  13,5) ebenfalls die dominante Organismengruppe darstellen. Hier waren sie mit 184 ( $\pm$  269) Individuen pro 10 cm<sup>2</sup> insbesondere in der unteren Sedimentschicht besonders abundant (Abbildung 8, unten) und machen fast 90 % ( $88,4 \pm 7,0$  %) der analysierten Organismen aus. In der oberen Sedimentschicht der Ems bzw. des Emssees sind des Weiteren auch andere Organismengruppen stark vertreten (z.B. Tardigraden 14,9 %; Cladoceren 19,4 %; Abbildung 8, oben).

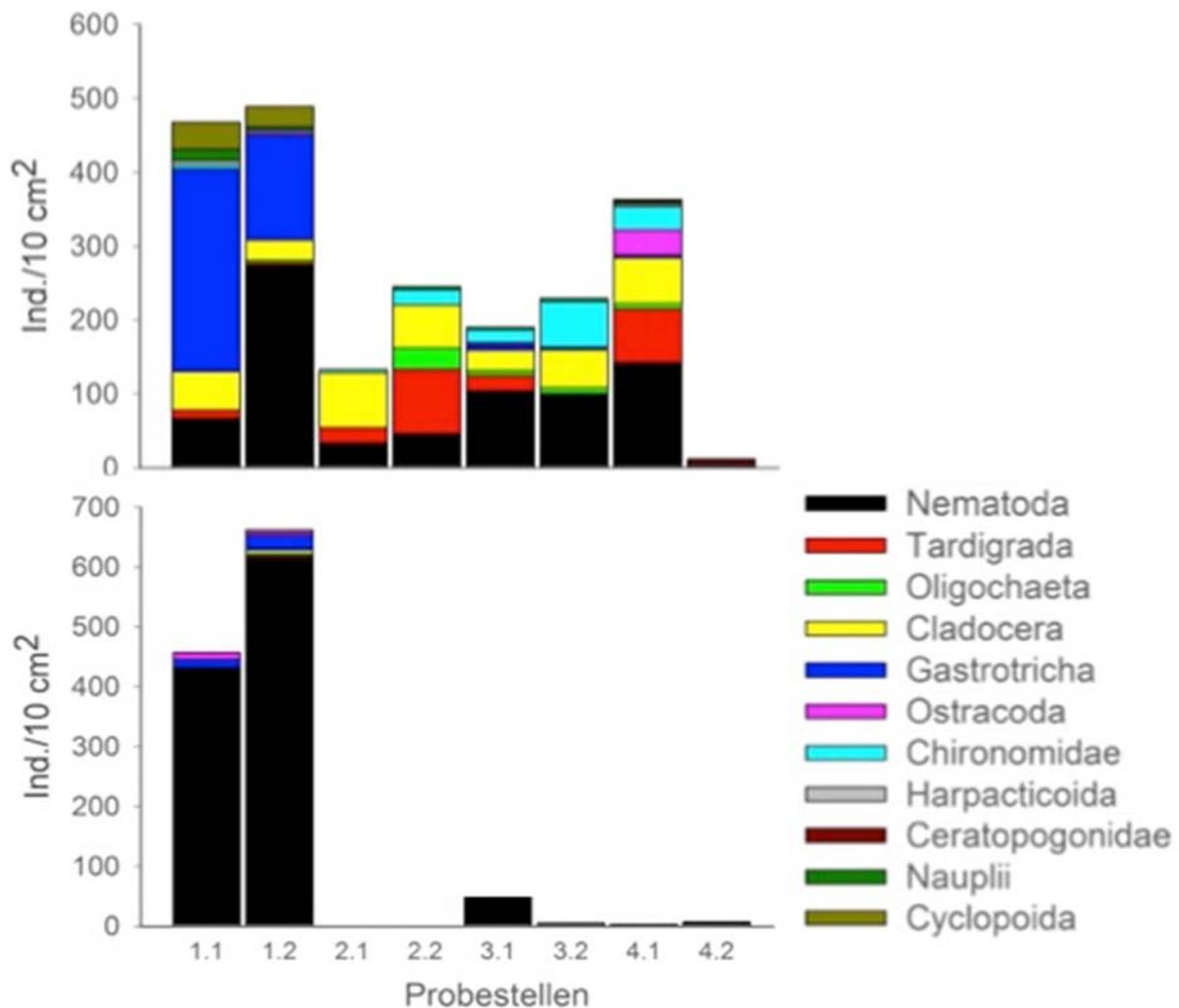


Abbildung 8: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Ems Dargestellt sind hier die Anzahl der Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-4, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen.

Die analysierten Sedimentkerne der Talsperre **Bautzen** zeichneten sich generell ebenfalls durch diverse meiobenthische Lebensgemeinschaften aus, wobei im Mittel 148 (± 63) Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> aufgefunden wurden (Abbildung 9). Der Großteil der Organismen (102 ± 27 pro 10 cm<sup>2</sup>) konnte in Bautzen hierbei in den unteren Sedimentschichten erfasst werden, während nur gut 30 % (67 ± 36) aller Organismen in den oberen zwei Zentimetern der Sedimente zu finden war. Die Nematoda dominierten auch in diesen Sedimenten, da sie im Mittel 70,1 % (± 22,9) aller analysierten Organismen ausmachten. Für dieses spezielle Taxon konnten ebenfalls mehr Individuen zwischen 2 und 5 cm erfasst werden (Abbildung 9, unten).

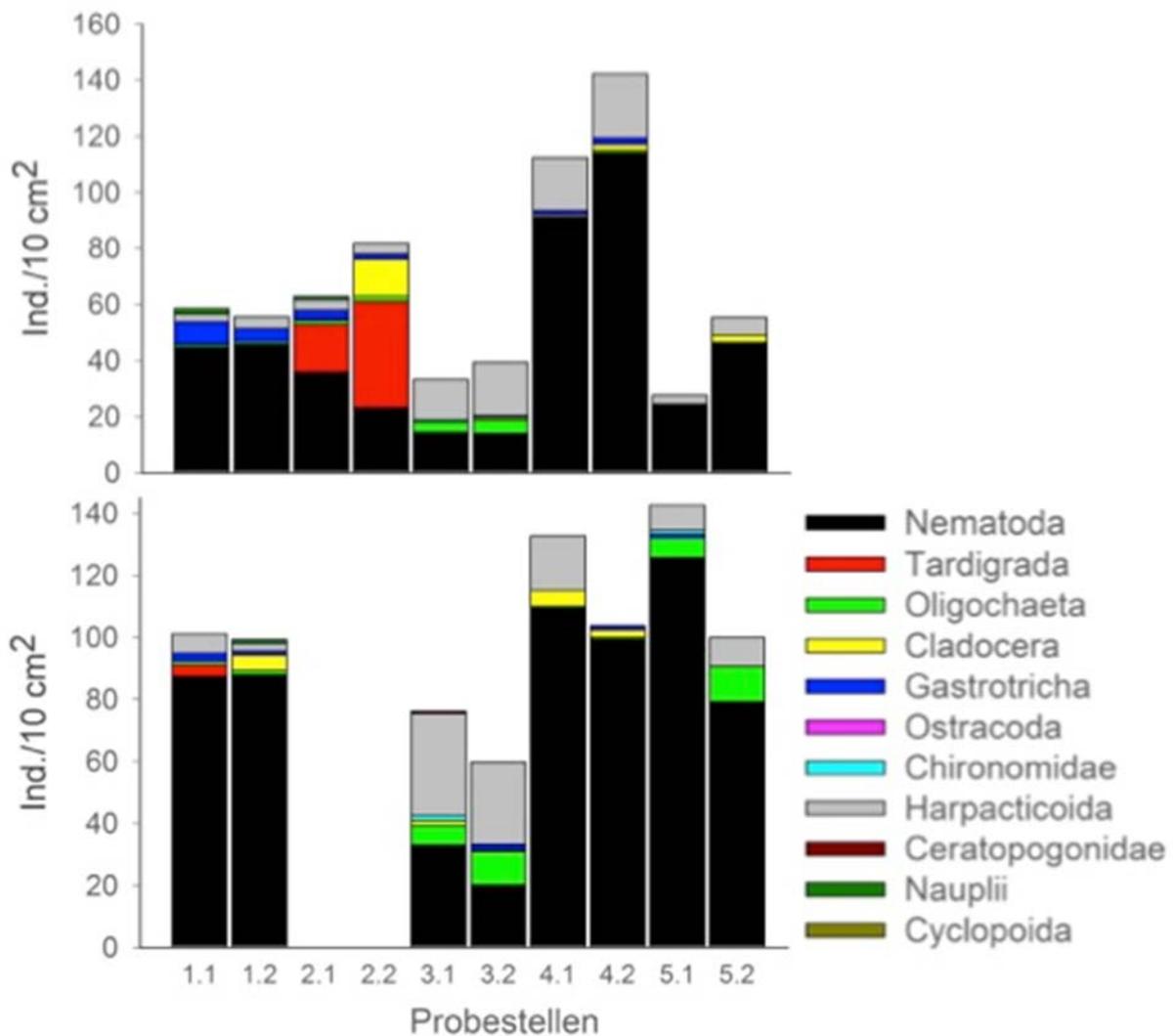


Abbildung 9: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Talsperre Bautzen. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-5, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), entsprechend unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen.

Die Sedimente der Talsperre **Malter** waren ebenso durch eine hohe meiobenthische Abundanz charakterisiert, wobei mit gemittelt 548 ( $\pm$  327) Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> die zweithöchste Individuendichte über alle Standorte festgestellt wurde (Abbildung 10). Die hohe Dichte der Organismen war insbesondere in den obersten zwei Zentimetern der Sedimente vorzufinden, in denen im Mittel 403 ( $\pm$  240) Individuen erfasst wurden (Abbildung 10, oben). Mit ca. 80 % ( $77,4 \pm 22,9$ ) aller Organismen stellten die Nematoden erneut das häufigste meiobenthische Taxon dar, wobei sich diesbezüglich keine Unterschiede zwischen den Sedimentschichten zeigten (Abbildung 10).

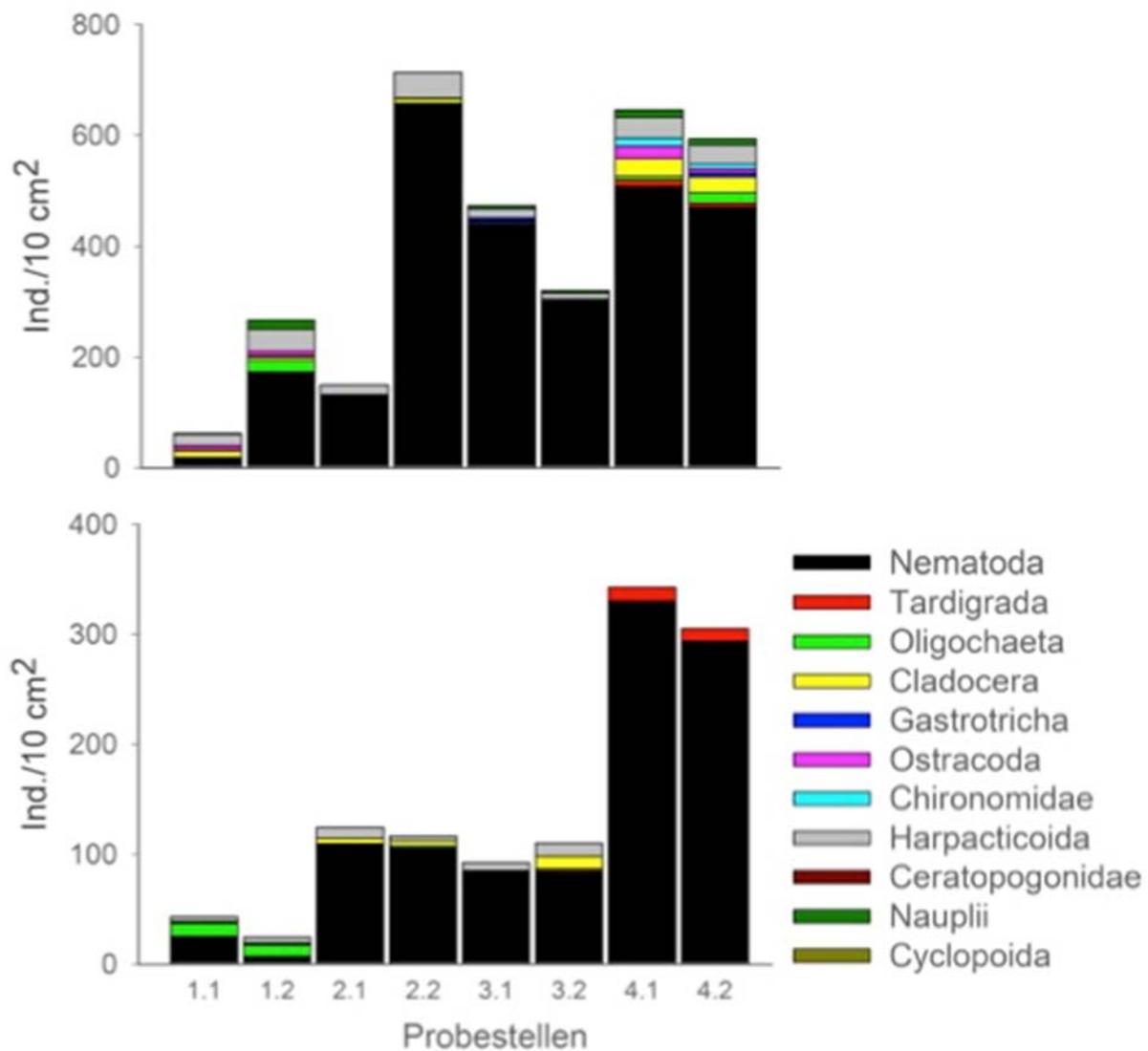


Abbildung 10: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Talsperre Malter. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-4, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne), unterteilt nach meiobenthischen Organismengruppen.

Als letzte Talsperre wurde der Standort **Quitzdorf** beprobt (Abbildung 11). Hierbei ergab sich die Situation, dass lediglich Sedimente der oberen 2 cm analysiert werden konnten, da eine Beprobung tieferer Schichten nicht möglich war. Die Sedimente der Talsperre Quitzdorf stellen generell einen Sonderfall dar, da sich an diesem Standort die meiobenthischen Lebensgemeinschaften stark von denen der anderen Standorte unterschieden. Mit gemittelt 46 ( $\pm 9$ ) Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> waren die Sedimente aus Quitzdorf, diejenigen mit der geringsten meiobenthischen Abundanz aller Beprobungsstandorte. Des Weiteren konnte in den Sedimenten eine Dominanz von Cladoceren festgestellt werden, die über alle Sedimentkerne hinweg rund 50 % ( $45,8 \pm 25,0$ ) der erfassten Organismen ausmachten (Abbildung 11).

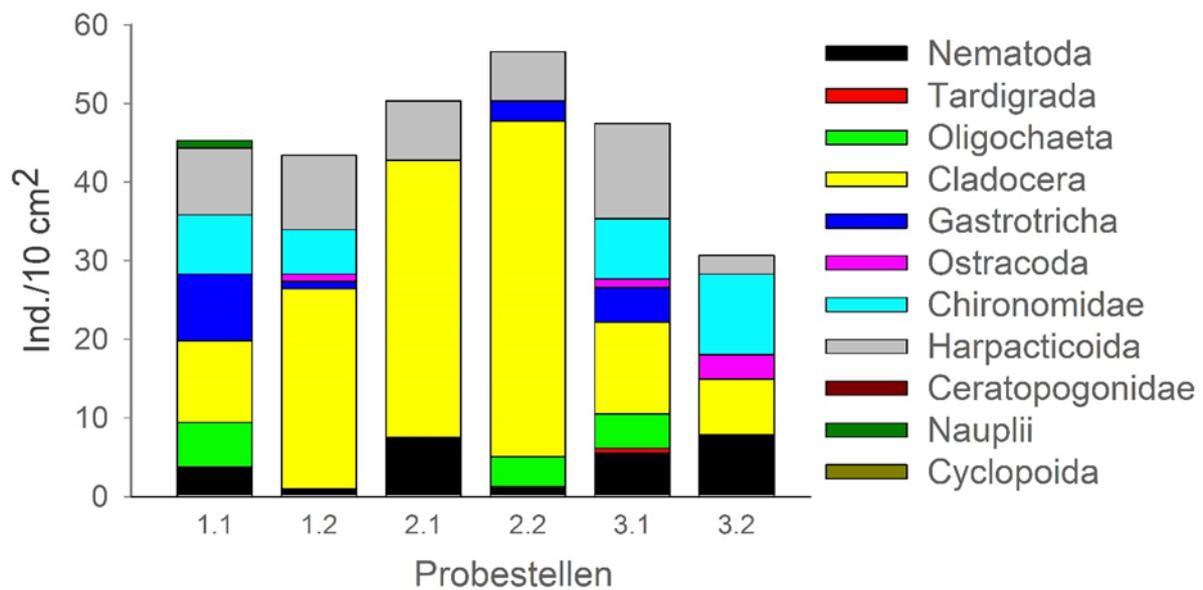


Abbildung 11: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in der Talsperre Quitzdorf. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> der Sedimentschicht 0-2 cm der jeweiligen Standorte (1-3, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne) mit entsprechender Unterteilung nach meiobenthischen Organismengruppen.

In den ehemaligen Rieselfeldern der Stadt **Münster** wurden an drei Probestellen Sedimentkerne entnommen. Im Mittel waren 174 ( $\pm 100$ ) meiobenthische Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> in diesen Sedimenten vorzufinden, wobei mehr als 70 % ( $71,2 \pm 24,6$  %) aller Organismen in den unteren Sedimentschichten erfasst wurden (Abbildung 12, unten). Die Sedimente der ehemaligen Rieselfelder waren abermals durch hohe Abundanzen von Nematoden charakterisiert, die mit 55 ( $\pm 22$ ) und 112 ( $\pm 63$ ) Individuen pro 10 cm<sup>2</sup> vorkamen, bzw. 82,8 % ( $\pm 7,2$ ) und 69,1 % ( $\pm 10,2$ ) aller Organismen ausmachten (Abbildung 12).

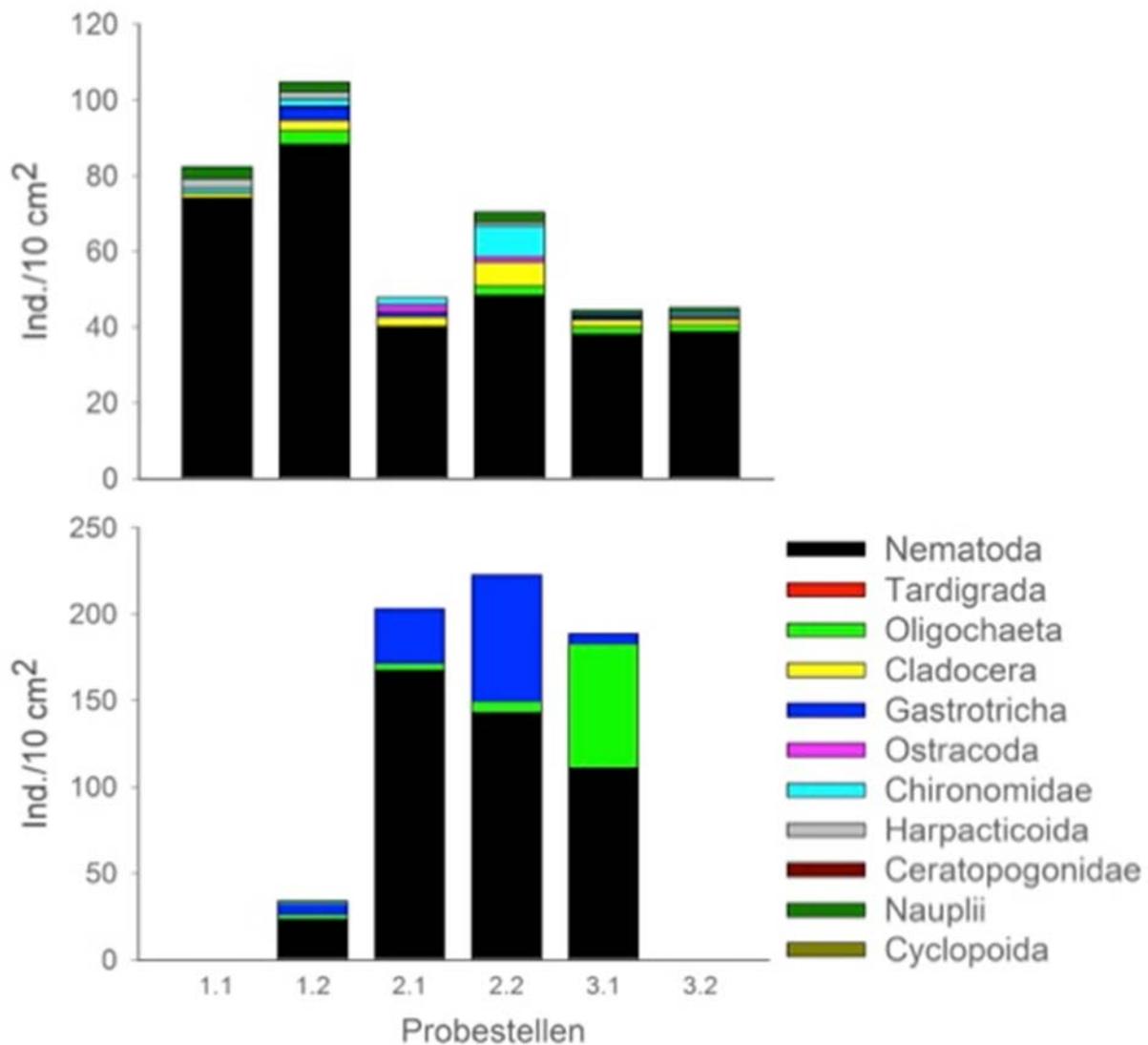


Abbildung 12: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in den Rieselfeldern Münster. Dargestellt sind die Anzahl der Organismen pro 10 cm<sup>2</sup> der Sedimentschichten 0-2 cm (obere Abbildung) sowie 2-5 cm (untere Abbildung) der jeweiligen Standorte (1-3, je zwei x.1 und x.2 Sedimentkerne) mit entsprechender Unterteilung nach meiobenthischen Organismengruppen.

#### Strukturelle und funktionelle Diversität der Nematoden

Für die weitere Nematodenanalyse wurden die beiden Sedimentschichten (0-2 cm und 2-5 cm) und die beiden Sedimentkern-Replikat zusammengefasst. Über alle 6 Standorte wurden zwischen 10 (Quitzdorf) und 55 (Lippe) Nematodenarten detektiert (Abbildung 13). Die Verteilung der fünf Ernährungstypen der Nematoden ist in allen Standorten außer den Rieselfeldern in Münster ähnlich (Abbildung 13). Den dominierenden Nahrungstyp bildeten die bakterienfressenden Nematoden, da sie mehr als 80 % der gesamten Nematoden ausmachten. Zusätzlich dazu wurden in den angesprochenen fünf Standorten die weiteren vier Ernährungstypen detektiert, wohingegen die Rieselfelder in Münster von

nur drei Ernährungstypen geprägt sind: bakterienfressende, saugende allesfressende sowie räuberische Nematoden. Am Standort Münster war auffällig, wie hoch der Anteil an räuberischen Nematoden war (fast 40 %).

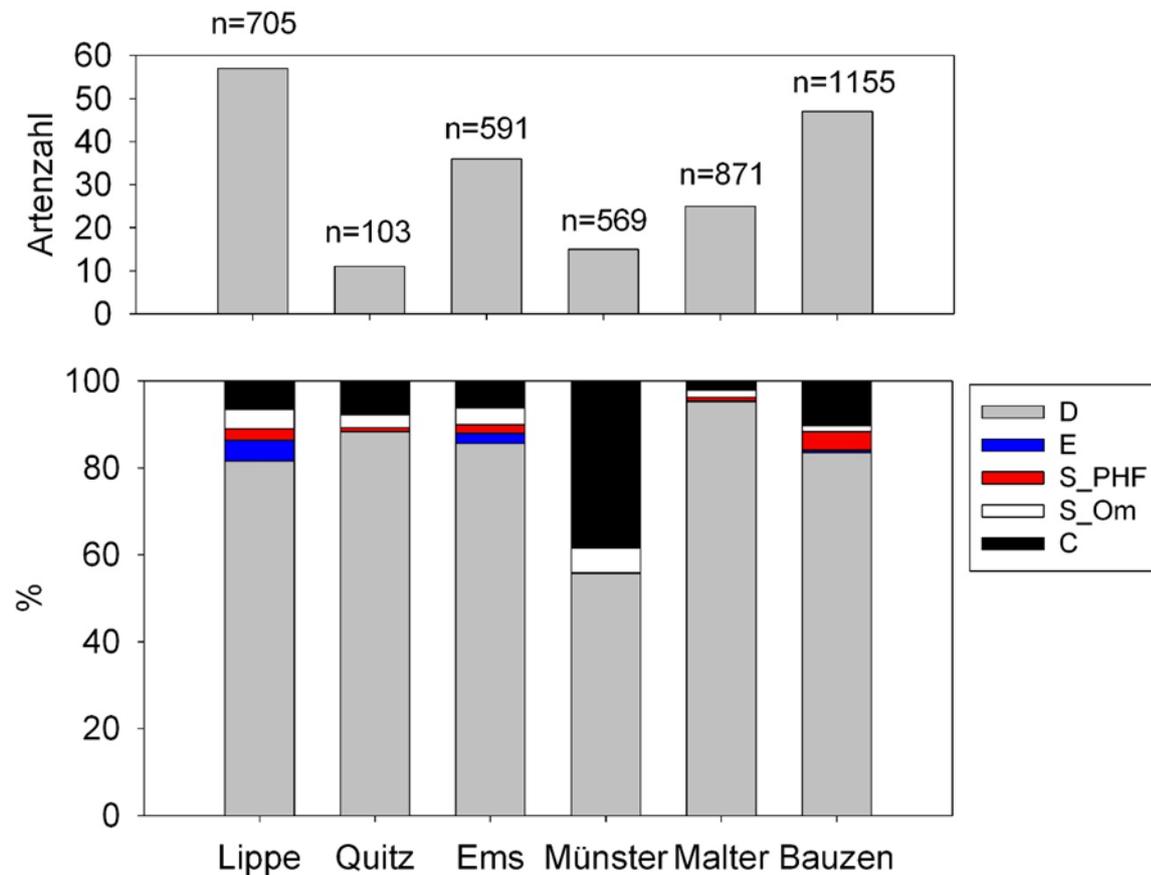


Abbildung 13: Zahl der Nematodenarten, sowie die prozentualen Anteile der verschiedenen Ernährungstypen der Nematoden an den verschiedenen Standorten. Bakterienfresser (D), Epistatfresser (Algen) (E), Saugfresser (Pflanzen-/Hyphenfresser - S-PHF), Saugfresser (Allesfresser - S-Om) und Räuber (C).

Bei der Betrachtung der Artenzusammensetzung mittels multivariater Analyse (nMDS = non-metric multidimensional scaling kombiniert mit einer Clusteranalyse) wurde deutlich, dass sich die untersuchten Standorte hinsichtlich der Nematodengemeinschaften unterscheiden (Abbildung 14). So gruppieren sich die Datenpunkte (mit wenigen Ausnahmen) der einzelnen Transekte der Lippe, Ems, Münster und Malter signifikant (SimProf:  $p < 0,05$ ). Nur die Stellen von Bauzen und Quitzdorf unterschieden sich nicht hinsichtlich der Nematodenartenzusammensetzung.

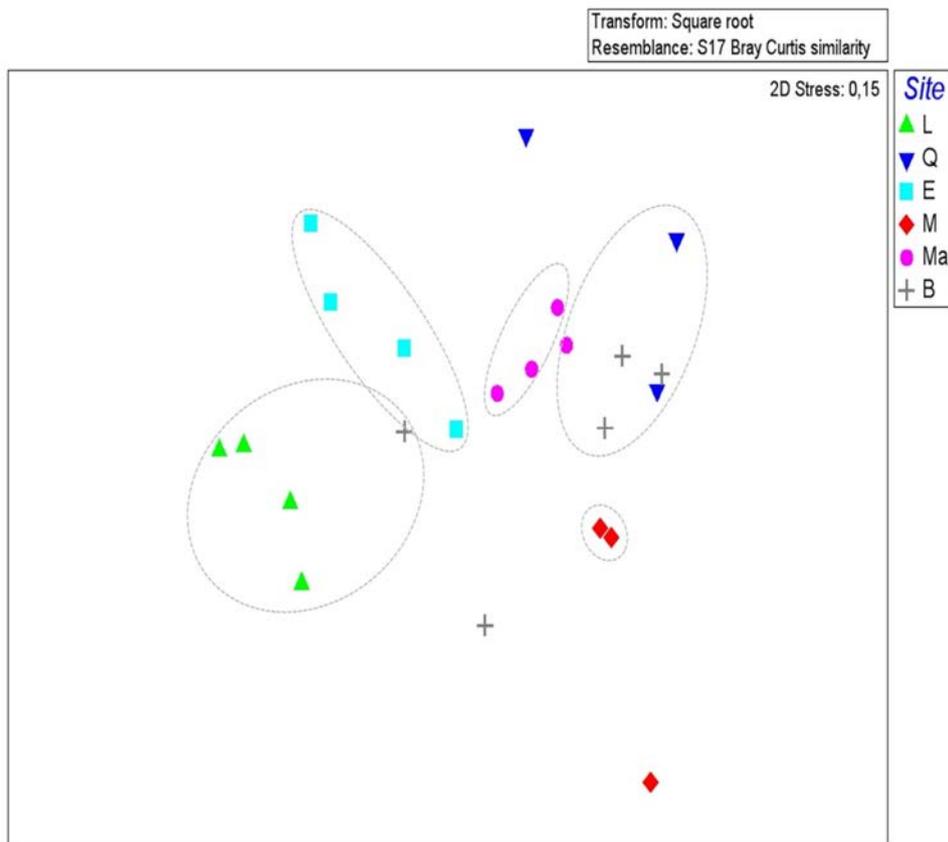


Abbildung 14: Zusammensetzung der Nematodenarten in den Sedimenten der Talsperren und Stauhaltungen. nMDS-Analyse zum Vergleich der Nematodengemeinschaften in den verschiedenen Standorten (L = Lippe, Q = Quitzdorf, E = Ems, M = Münster Rieselfelder, Ma = Malter, B = Bautzen) auf der Grundlage der Bray-Curtis-Ähnlichkeiten der quadratwurzeltransformierten relativen Abundanzdaten der Nematodenarten. Signifikante Cluster wurden in einer Clusteranalyse in Kombination mit Sim-Prof-Analyse ( $p < 0,05$ ) identifiziert und sind mittels der Kreise dargestellt.

### 3.1.1.3 Makrozoobenthos

Die Hauptkomponentenanalyse zeigt, dass die Artengemeinschaften ähnlich wie die Meiobenthosgemeinschaften, in Abhängigkeit der Strömung und der einzelnen Gewässern ähnliche Zusammensetzungen aufweisen. So gruppieren sich die Flüsse Ems und Lippe bzw. die Stauhaltungen Malter, Quitzdorf und Bautzen miteinander, wobei die Artgemeinschaft des Emssees (E1) den Stauhaltungen ähnelt, was auf ähnliche Bedingungen hindeutet (Abbildung 15). Die Rieselfelder unterscheiden sich in ihren Makrozoobenthosgemeinschaften wiederum von den Flüssen und den Talsperren. Haupttreiber der Unterschiede sind die unterschiedlichen Chironomidengruppen.

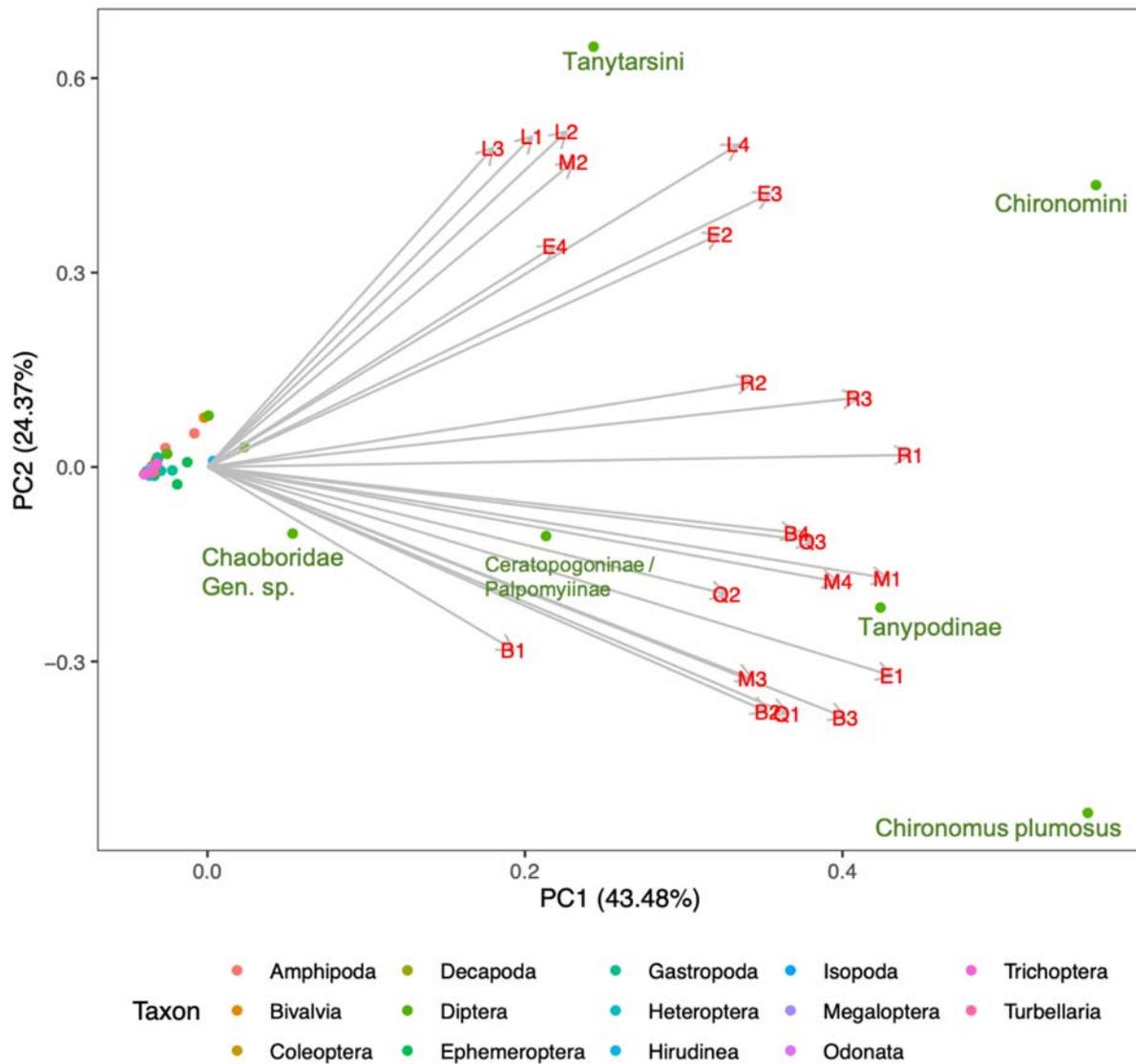
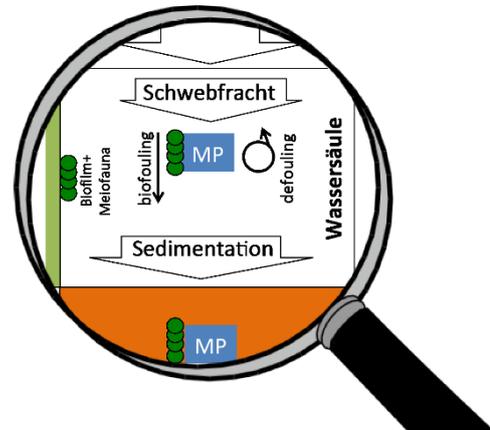


Abbildung 15: Hauptkomponentenanalyse (PCA) der Makrozoobenthosfauna in Abhängigkeit der Standorte. Er-läuterung der Standortkürzel: L= Lippe, E=Ems, R=Rieselfelder, B=Bautzen, M= Malter, Q=Quitzdorf; E1=Emssee. Standort 1 ist jeweils am nächsten zu der Staumauer/dem Wehr verortet.

### 3.1.2 Arbeitspaket 2: In situ-Experimente zu Sedimentationsraten und Besiedlung UFZ Magdeburg (Lead), Universität Münster (Lead), Universität Bielefeld

#### Beschreibung

Zu Beginn des Projektes war nur bekannt, dass Mikroplastikpartikel in strömungsberuhigten Zonen sedimentieren können. Ob dies ein kontinuierlicher oder situationsbedingter Prozess ist, und ob er in verschiedenen Gewässertypen ähnlich abläuft, war unbekannt. Eine erprobte Methodik, wie und mit welchen Probenmengen man Mikroplastik in Seston quantifizieren kann, lag ebenfalls nicht vor. Die Ermittlung von Sedimentationsraten steht auch im Zusammenhang mit der Frage, ob eine Vorsperre geeignet ist, Mikroplastik ähnlich wie Nähr- und Trübstoffe von der Hauptsperre fernzuhalten. Basierend auf den Erfahrungen der Übersichtsbeprobung in 2018 wurde entschieden, die Sedimentationsraten nur in zwei Gewässern zu untersuchen, nämlich in der Talsperre Bautzen und der gestauten Lippe. Die Auswahl wurde anhand der möglichen Übertragbarkeit auf ähnliche Standorte, der regelmäßigen Zugänglichkeit der Gewässer und der Vielfalt der im Wasser gefundenen Polymersorten getroffen. Die ehemaligen Rieselfelder in Münster und die Talsperre Quitzdorf schieden als Vogelschutzgebiete von vorneherein aus; Quitzdorf besitzt zudem keine Vorsperre.



Um die in situ Besiedlung von Mikroplastik über die Zeit zu verstehen, wurden Mikroplastikpartikel in verschiedenen Gewässern exponiert und in zeitlichen Abständen geborgen, um Sukzessionen bei der Biofilmentwicklung zu versehen. In den Talsperren Malter und Bautzen wurden verschiedene Expositionstiefen genutzt, um die Auswirkungen von Licht und verschiedenen Sauerstoffgehalten auf die Primär- und Sekundärbesiedlung in situ zu untersuchen.

Um die in situ Besiedlung von Mikroplastik über die Zeit zu verstehen, wurden Mikroplastikpartikel in verschiedenen Gewässern exponiert und in zeitlichen Abständen geborgen, um Sukzessionen bei der Biofilmentwicklung zu versehen. In den Talsperren Malter und Bautzen wurden verschiedene Expositionstiefen genutzt, um die Auswirkungen von Licht und verschiedenen Sauerstoffgehalten auf die Primär- und Sekundärbesiedlung in situ zu untersuchen.

#### Ziele

Es sollte an zwei Standorten jeweils ein Jahrgang der Sedimentationsraten aufgenommen werden, um saisonale Unterschiede zu erkennen, die Konsequenzen für Vermeidungsstrategien oder die Exposition der benthischen Fauna haben könnten. Im Ergebnis sollte eine Beziehung hergestellt werden zwischen Plastikbelastung in der Wassersäule, Gesamt-Sedimentationsrate und Plastik-Sedimentationsrate. Im Sinne einer Bilanz sollte auch die Plastikkonzentration im Sediment betrachtet werden, um die Repräsentativität und Plausibilität der eher stichprobenartigen Wasser- und Sestonuntersuchungen einordnen zu können. Die Untersuchung der in situ Biofilmbildung sollte die zeitliche Dynamik der Besiedlung aufklären und Hinweise geben, ob und nach welcher Verweildauer die Biofilmbildung zum Sedimentieren von Mikroplastik beitragen kann.

## Methoden

### Sedimentationsraten und Meiofauna

In der Talsperre **Bautzen** wurden Sedimentfallen der Firma uwitec mit Sammelflaschen aus PP von zwei Litern Fassungsvermögen ausgebracht und ungefähr monatlich gewechselt. Zur Vermeidung von Plastikabrieb wurde beim Aufschrauben des Flaschendeckels eine Aluminiumfolie zwischengelegt. Die Sedimentationsrohre bestanden aus PVC, welches nicht im Fokus der Mikroplastik-Analysen bei der BAM stand. Jeweils eine Flasche wurde für Analysen von Mikroplastik eingesetzt, die zweite Flasche für alle anderen Bestimmungen. Die in der **Lippe** eingesetzten kurzen Röhrenfallen bestanden aus PVC und fassten ein Volumen von 0,8 Litern. Auch sie wurden ungefähr monatlich beprobt. Aus diesen Proben wurde auch die Meiofauna analysiert, indem sie wie in Kapitel 3.1.1 beschrieben fixiert und aufbereitet wurden. Zur Quantifizierung von Mikroplastik wurde das Material aus den Sedimentfallen mittels Nasssiebung fraktioniert (10-20 µm, 20-100 µm, 100-500 µm). In einzelnen Fällen, wenn in der Lippe viel mineralisches Material sedimentiert war, wurde zusätzlich mit Natriumpolywolframat (Dichte 1,9 g/mL) dichtesepariert. An der BAM wurde mittels TED-GC-MS nach folgenden Kunststoffen gesucht: PE, PP; PS, PET, SBR, Acrylate und PA.

### In situ-Besiedlung von Mikroplastik

Zylindrische Edelstahl-Käfige mit 3 mm Maschenweite (Arias-Andres et al. 2018) mit 4 x 4 mm großen Partikeln aus PE, PS und PET wurden im Epilimnion, Metalimnion und Hypolimnion der Talsperren **Malter** und **Bautzen** ausgebracht, um sowohl belichtete und dunkle als auch oxische und hypoxische Bedingungen zu realisieren. Die mikrobielle Besiedlung durch Bakterien, Cyanobakterien und Algen sowie weitere fluoreszenzmikroskopisch zugängliche Parameter wurden durch Konfokale Laserscanningmikroskopie (CLSM) erfasst und quantifiziert (Leiser et al. 2020, Leiser et al. 2021a, siehe auch Kapitel 3.2.1, das sich mit der Taxonomie der Besiedler befasst).

## Ergebnisse

### 3.1.2.1 Gesamt-Sedimentation und Mikroplastik

In der Talsperre **Bautzen** und ihrer Vorsperre Oehna variierte die Sedimentationsrate im Jahreslauf mit Maxima im Sommer und im Spätherbst bis Winter in beiden Untersuchungsperioden (Abbildung 16). Insgesamt war die Sedimentationsrate in der Hauptsperre deutlich höher und mehr auf den Winter konzentriert. Mit einer Ausnahme (Oehna, November 2018) folgte der Gehalt an organischer Substanz dem Trend der Gesamt-Sedimentation. Zusätzlich zu der separat zu diesem Zweck abfiltrierten Teilprobe wurde die Sedimentationsrate durch Addition der aus der Nasssiebung gewonnenen Fraktionen bestimmt. Dieser ursprünglich zum Ausgleich eines Datenverlusts verfolgte Ansatz zeigt im Gesamtbild, dass die Nasssiebung das sedimentierte Material trotz der vielen Bearbeitungsschritte überwiegend vollständig erfasst.

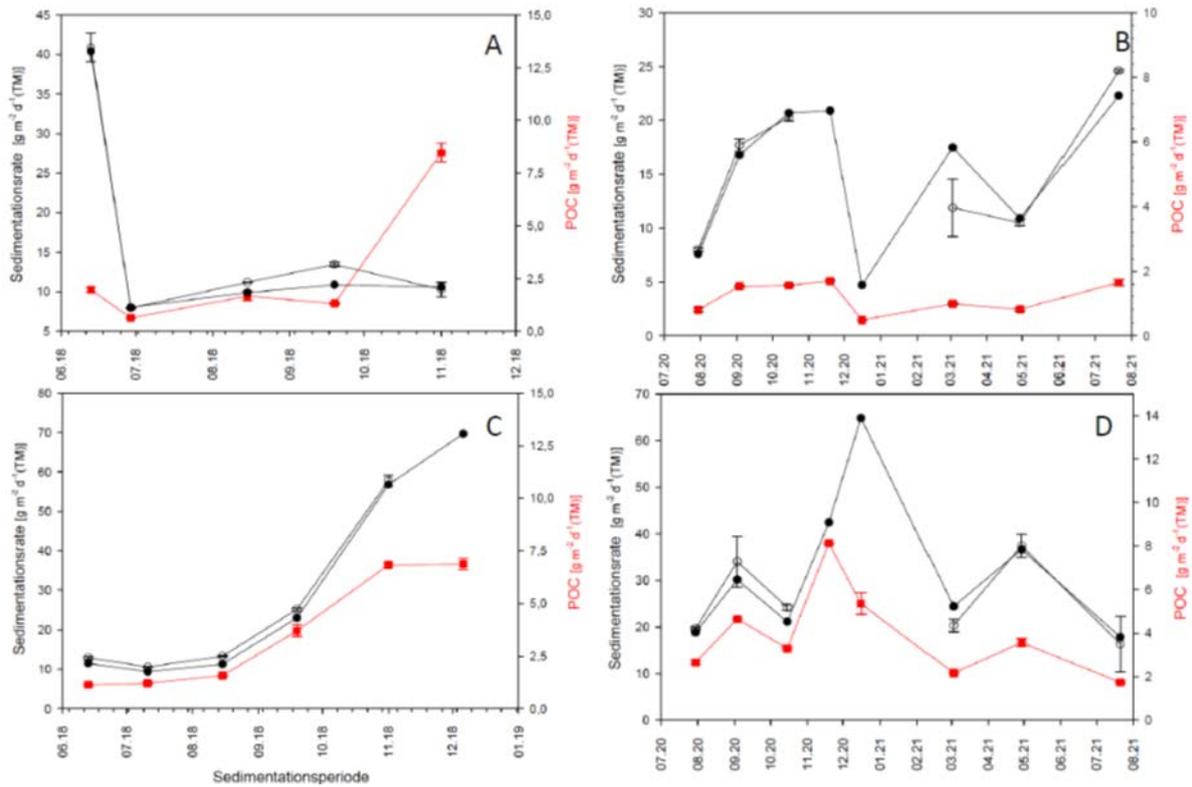


Abbildung 16: Sedimentationsraten in der Vorsperre Oehna (A, B) und der Hauptsperre Bautzen (C, D) in den Jahren 2018 (A, C) und 2020/2021 (B, D). Weiße Symbole: Sedimentationsrate aus separater Filtration, schwarze Symbole: Sedimentationsrate aus Addition der Nasssiebungs-Fractionen, POC: partikulärer organischer Kohlenstoff.

Die Sedimentationsraten der **Lippe** zeigen eine erhöhte Sedimentationsrate in den Sommermonaten während sie im Frühjahr und Herbst deutlich niedriger liegen. Die Daten für Januar bis April 2021 sind derzeit noch in der Auswertung. Für September 2020 gibt es leider keine Daten, da die Fallen verloren gegangen sind (Abbildung 17).

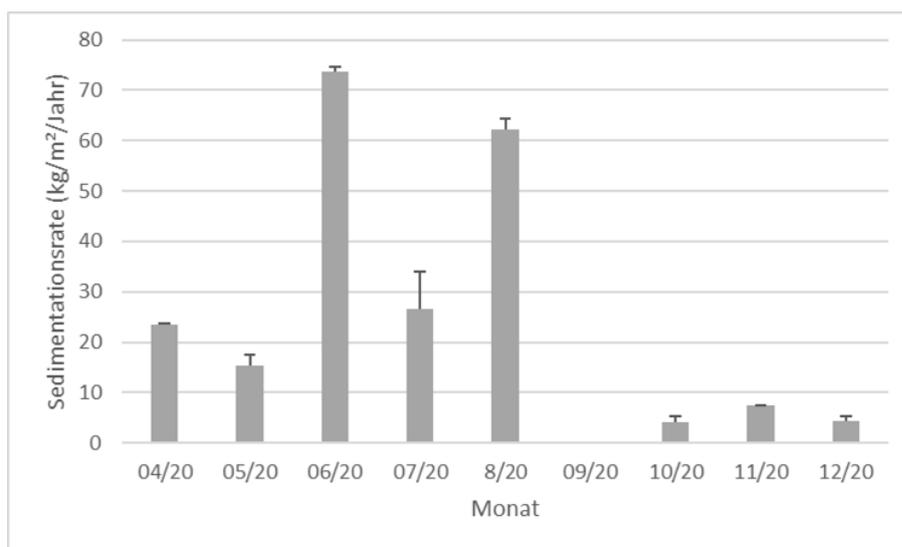


Abbildung 17: Gesamtsedimentationsraten (kg/m<sup>2</sup>/Jahr) in der Lippe oberhalb des Wehres in Hamm ohne Hochwassermomente. Für September 2020 liegen keine Daten vor.

Die Analyse von Sestonmaterial auf Plastikpolymere war technisch Neuland, es war nicht bekannt, ob die Probenmatrix eher wie eine Wasserprobe oder wie ein Sediment zu behandeln ist und ob das innerhalb eines Monats sedimentierende Material überhaupt für einen quantitativen Nachweis von Kunststoffen ausreicht. Zum Projektende lagen die Analysen der 100-500  $\mu\text{m}$ -Fraktion teilweise (aus 2018) vor, von den Fraktionen 10-20  $\mu\text{m}$  und 20-100  $\mu\text{m}$  gab es jeweils eine stichprobenartige Messung von der Vorsperre Oehna und der Lippe.

In den fast allen Fällen konnte nach etwa einem Monat Mikroplastik im Sedimentfallenmaterial nachgewiesen werden, auch wenn manche Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen. Eine im November 2018 in der Hauptsperre Bautzen ausgebrachte Falle enthielt kein Mikroplastik, was aber zum Fehlen von Mikroplastik in der Wasserphase im Juni 2018 passt. Die Zeit von einem Monat ist also bezüglich Plastiksedimentation als grenzwertig zu betrachten. Sollten gleichzeitig biologische Parameter erfasst werden, für die eine längere Expositionszeit zu Fehlern führt, müssen separate Fallen ausgebracht werden. Auffällig war die Übereinstimmung der Polymere und ihrer Konzentrationsverteilung in den beiden unterschiedlichen und geografisch weit voneinander entfernten Gewässern. In den Fraktionen 10-20  $\mu\text{m}$  und 20-100  $\mu\text{m}$  wurde jeweils nur Polystyrol in ähnlich geringen Konzentrationen nachgewiesen (0,03-0,04  $\mu\text{g}/\text{mg}$  bezogen auf das untersuchte Material). Anders als das abfiltrierte Material der Wasserproben wurde das Sedimentfallenmaterial zu keinem Zeitpunkt mit Wasserstoffperoxid behandelt. Es ist also nicht davon auszugehen, dass die kleineren Partikel im Laufe der Probenaufbereitung angegriffen oder zerstört wurden. Bezogen auf die Wasserproben ist das Fehlen mancher Polymere oder die geringeren Konzentrationen gegenüber der 100-500  $\mu\text{m}$ -Fraktion also auch nicht unbedingt mit einer Schädigung durch die Probenvorbereitung zu erklären. Möglicherweise sind die im Süßwasser transportierten Fragmente vieler Kunststoffe einfach nicht so klein, oder die kleinen Partikel werden stark in natürliche Aggregate eingebunden, die dann sedimentieren oder an Gewässerstrukturen festgehalten werden.

In der Fraktion 100-500  $\mu\text{m}$  wurden sowohl in der Lippe als auch in der Vorsperre Oehna PE, PP und PS gefunden, wobei PE massenmäßig überwog und PS am wenigstens detektiert wurde. Das Vorkommen dieser drei Kunststoffe im Seston unterstützt die Relevanz der für die Experimente im Rahmen von MikroPlaTaS ausgewählten Polymere PS und PE, die auch generell häufig in Umweltproben gefunden werden (Klein et al. 2015, Blettler et al. 2017, Scherer et al. 2020). Lediglich in einem Einzelfall (Mai 2018) wurden bisher in der Vorsperre Oehna auch Acrylate nachgewiesen.

Ein Bezug der Mikroplastik-Funde zur Gesamt-Sedimentation ist bisher nicht zu erkennen. Trends könnten wegen des grundsätzlich verschieden starken Sedimentationsgeschehens auch nur innerhalb



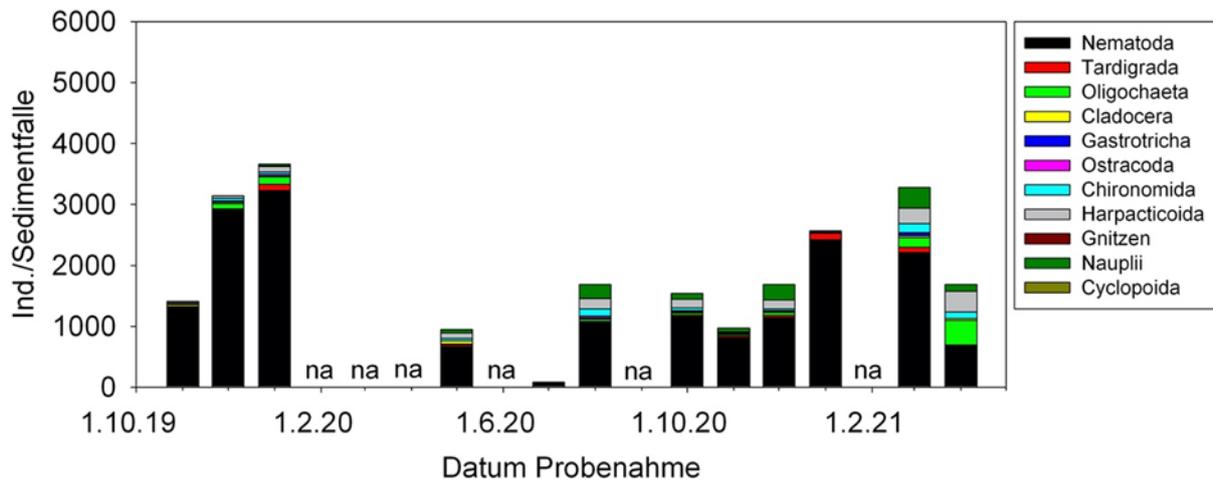


Abbildung 18: Zusammensetzung der meiobenthischen Lebensgemeinschaften in den Sedimentfallen der Lippe. Dargestellt sind hier die absolute Anzahl der Organismen pro Sedimentfalle über die Zeit (von November 2019 bis April 2021) mit entsprechender Unterteilung nach meiobenthischen Organismengruppen. na = nicht analysiert.

#### Strukturelle und funktionelle Diversität der Nematoden

Da die Nematoden die am häufigsten auftretende meiobenthische Organismengruppe repräsentierten, wurden diese weiter auf Artniveau bestimmt und konnten aufgrund ihrer unterschiedlich auftretenden Mundapparate in verschiedenen auftretende Ernährungstypen eingeteilt werden. In den Sedimentfallen der Lippe wurden über die Zeit fünf Ernährungstypen der Nematoden identifiziert (Abbildung 19), was in Übereinstimmung mit der Transekt-Beprobung ist (Abbildung 13). Bakterienfressende Nematoden bildeten über die Zeit den dominierenden Nahrungstyp, da ihr prozentualer Anteil durchschnittlich an allen vorkommenden Ernährungstypen 68 % betrug (Minimum von 28% bis Maximum von 90 %). Die zweithäufigste Gruppe waren die Epistratfresser mit einem durchschnittlichen Anteil von 22 % (Minimum von 2 % bis Maximum von 53 %). Den geringsten Anteil machten saugende und räuberische Nematoden aus.

In den Sedimentfallen waren typische Süßwasserarten vertreten. Obwohl sich die Artenzusammensetzung in den Sedimentfallen signifikant von allen anderen Nematodengemeinschaften in den Sedimenten aller Standorte (inklusive Lippe) unterschied (SimProf:  $p < 0,05$ ), zeigte sie am meisten Ähnlichkeit zum Sediment der Lippe (Abbildung 20). Auch in den Sedimentfallen zeigten bestimmte dominante Arten der Lippe relative hohe Abundanzen: z.B. *Daptonema dubium*, *Eumonhystera vulgaris*, *Monhystrella paramacrura*. Der Unterschied der Sedimentfallen zum Sediment der Lippe ist vor allem durch höhere Dichten der Algen fressenden Art *Chromadorina bioculata* zu erklären.

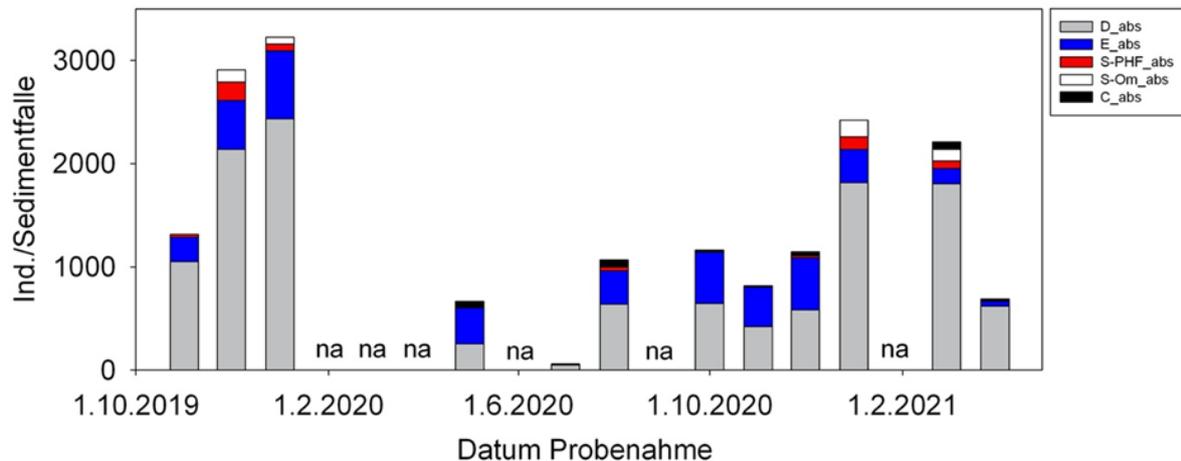


Abbildung 19: Prozentuale Anteile der verschiedenen Ernährungstypen der Nematoden in den Sedimentfallen der Lippe über die Zeit. Bakterienfresser (D), Epistratfresser (Algen) (E), Saugfresser (Pflanzen-/Hyphenfresser - S-PHF), Saugfresser (Allesfresser - S-Om) und Räuber (C). na = nicht analysiert.

In den Sedimentfallen waren typische Süßwasserarten vertreten. Obwohl sich die Artenzusammensetzung in den Sedimentfallen signifikant von allen anderen Nematodengemeinschaften in den Sedimenten aller Standorte (inklusive Lippe) unterschied (SimProf:  $p < 0,05$ ), zeigte sie am meisten Ähnlichkeit zum Sediment der Lippe (Abbildung 20). Auch in den Sedimentfallen zeigten bestimmte dominante Arten der Lippe relative hohe Abundanzen: z.B. *Daptonema dubium*, *Eumonhystra vulgaris*, *Monhystrrella paramacrura*. Der Unterschied der Sedimentfallen zum Sediment der Lippe ist vor allem durch höhere Dichten der Algen fressenden Art *Chromadorina bioculata* zu erklären.

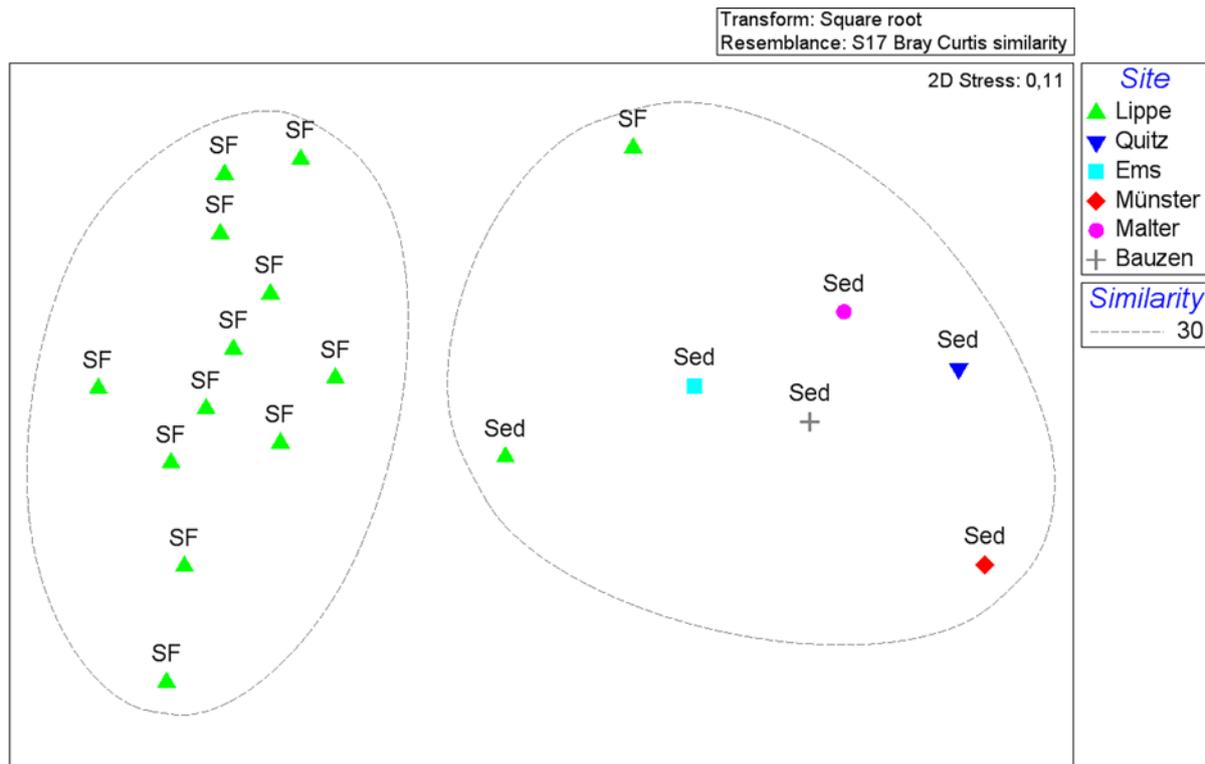


Abbildung 20: Zusammensetzung der Nematodenarten in den Sedimenten der Talsperren und Stauhaltungen im Vergleich zu Sedimentfalle der Lippe. nMDS-Analyse zum Vergleich der Nematodengemeinschaften in den verschiedenen Standorten (SF = Sedimentfalle; Sed = Sediment) auf der Grundlage der Bray-Curtis-Ähnlichkeiten der quadratwurzeltransformierten relativen Abundanzdaten der Nematodenarten. Signifikante Cluster wurden in einer Clusteranalyse in Kombination mit SimProf-Analyse ( $p < 0,05$ ) identifiziert und sind mittels der Kreise dargestellt.

### 3.1.2.3 In situ-Besiedlung von Mikroplastik

Biofilmbildung kann das Transportverhalten von Mikroplastik in Gewässern durch Änderung der Dichte (Kaiser et al. 2017), der Form (Shang et al. 2014) und der Klebrigkeit (Michels et al. 2018) beeinflussen. Wie stark diese Mechanismen jeweils wirken, hängt unter anderem von der Beschaffenheit des umgebenden Wassers und den Jahreszeiten ab (Leiser et al. 2021c). Neben der Trophie des Wasserkörpers hat die Wassertiefe, in welcher sich ein Mikroplastikpartikel befindet, einen Einfluss auf Zusammensetzung und Dicke des Biofilms. In den meisten Seen und Talsperren Deutschlands dringt das Sonnenlicht nur wenige Meter tief in den Wasserkörper ein. Auf Plastikpartikeln, die sich unterhalb der photischen Zone befinden, entwickeln sich Biofilme, welche deutlich weniger phototrophe Mikroalgen oder Cyanobakterien enthalten. Stattdessen werden diese Biofilme noch stärker von heterotrophen Bakterien dominiert (Leiser et al. 2020). Im Rahmen von MikroPlaTaS wurden die Dicke und Zusammensetzung von Biofilmen auf Mikroplastik in der mesotrophen Talsperre Malter und der eutrophen Talsperre Bautzen verglichen. In beiden Talsperren waren die Biofilme im Epilimnion am dicksten und enthielten am meisten phototrophe Organismen. Trotzdem dominierten auch hier die heterotrophen Bakterien (Abbildung 21). Die Biofilmdicke betrug in Bautzen ca. 100  $\mu\text{m}$ , während der Biofilm in Malter

nur etwa 30  $\mu\text{m}$  dick war. Da die mittlere spezifische Dichte von Bakterien und Cyanobakterien mit etwa  $1080 \text{ kg/m}^3$  nur wenig über der Dichte von Wasser liegt (Guerrero et al. 1985), würden entsprechend dicke Biofilme benötigt, um Mikroplastikpartikel zum Absinken zu bringen. Bei den in Malter und Bautzen exponierten PE-Partikeln von  $4 \times 4 \times 0,125 \text{ mm}$  wäre ein durchgehender Biofilm von mindestens 75  $\mu\text{m}$  Dicke notwendig, um sie zum Absinken zu bringen. Dies gilt für einen kompakten Biofilm ohne größere Hohlräume. Solche Biofilme entwickeln sich aber typischerweise in stark durchströmten Systemen, während unter geringer Wasserbewegung gewachsene Biofilme eher locker strukturiert sind. Immerhin waren die 100  $\mu\text{m}$  dicken Biofilme auf den in Bautzen exponierten Partikeln ausreichend, um ein Absinken auszulösen. Hier können aber auch anorganische Bestandteile der Biofilm-Matrix wie Eisen oder Calcium zur Dichte beigetragen haben (Leiser et al. 2021c, siehe auch 3.2.2).

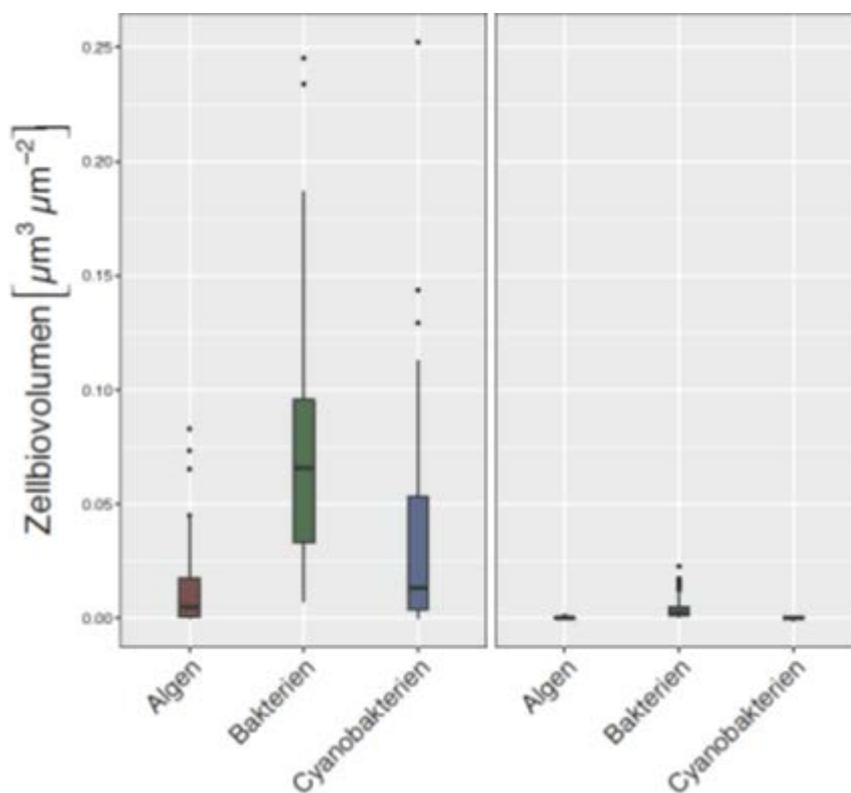


Abbildung 21: Zusammensetzung der Biofilme auf PE-Mikroplastik im Epilimnion der Talsperren Bautzen (eutroph, links) und Malter (mesotroph, rechts). Die Ausbringungsdauer betrug 29 beziehungsweise 22 Tage).

Von Plastikteilen, die zufällig in der Vorsperre Oehna gefunden wurden (Abbildung 4), wurden im Rahmen einer Masterarbeit (Tatjana Gaudl) auf einem Süßwasser-Medium Bakterienstämme isoliert und später mithilfe von 16S rDNA-Sequenzen Gattungen zugeordnet. Die meisten Isolate waren Alpha-Proteobakterien der Gattung *Rhizobium*, aber auch ein *Gemmobacter*-Stamm wurde gefunden (vergleiche 3.2.1.1). Alpha-Proteobakterien spielten auch in Biofilmen von in der Ems und dem Emssee ausgelagertem Plastik (Abbildung 24) sowie in dem definierten Konsortium Co\_3 (Abbildung 27) eine wichtige Rolle.

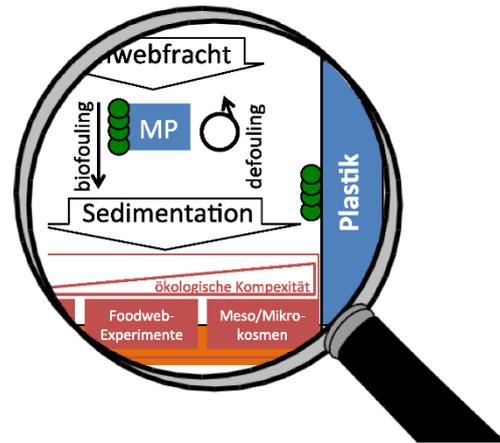
## 3.2 TP2 Biofilme

### 3.2.1 Arbeitspaket 3: Charakterisierung der Biofilme auf verschiedenen Polymeren

**Universität Münster (Lead), UFZ, Universität Potsdam, Universität Bielefeld**

#### Beschreibung

Plastik, das in aquatische System eingetragen wird, erfährt sehr rasch eine Besiedelung durch Mikroorganismen. Diese Biofilmbildung wurde dabei sowohl für marine als auch für limnische Systeme beschrieben. In diesen Biofilmen finden sich neben heterotrophen Bakterien auch Mikroalgen und Pilze. Da Biofilme auf natürlichen Hartsubstraten wie Steinen oder Muschelschalen eine wichtige Nahrungsgrundlage für viele Grazer sind,



stellt sich die Frage, ob Biofilme auf Plastik ebenfalls genutzt werden können und ob diese die Grazer in irgendeiner Form beeinflussen können. Gemäß den Beobachtungen von Vossage et al. (2018) kann das vom Biofilm besiedelte Plastikmaterial im Gegensatz zu Biofilmen auf Glas die Fitness von Grazern negativ beeinflussen. Diese verminderte Fitness könnte darauf beruhen, dass

1. das Plastikmaterial die Besiedlung durch Mikroorganismen mit einer geringen Futterqualität oder durch für die Grazer pathogenen Mikroorganismen fördert
2. der Biofilm die Mobilisierung von Additiven oder von an das Plastik adsorbierten Umweltchemikalien fördert, so dass diese die Grazer schädigen
3. der Biofilm die Mobilisierung von Mikro- und Nanoplastikpartikeln fördert, die die Grazer schädigen.

Alternativ wären aber auch positive Effekte auf die Grazer denkbar, in dem genau im Gegenteil zu den oben aufgeführten Mechanismen die Absiedelung von Mikroorganismen mit guter Futterqualität gefördert bzw. die Mobilisierung von schädlichen Chemikalien durch die Biofilme vermindert wird. Zudem ergeben sich durch bewachsene Plastikpartikel generell größere Oberflächen, so dass Grazer mehr Substrate finden können. Weiterhin werden bewachsene (Mikroplastik-)Partikel nachweislich von filtrierenden aquatischen Invertebraten (Windsor et al. 2019) sowie von Fischen aufgenommen, so dass nicht nur Grazer von den oben beschriebenen positiven oder negativen Effekten betroffen sein können.

Zur Untersuchung der ökologischen Auswirkung von mit Biofilm bewachsenen Plastikpartikeln stellt sich also die Frage, ob es eine Spezifität von Mikroorganismen für die Besiedelung unterschiedlicher

Plastikmaterialien gibt bzw. ob unterschiedliche Plastikmaterialien die Bindung spezifischer Mikroorganismen fördern. Um dann die Auswirkungen von Biofilmen auf Grazer zu untersuchen, werden zudem Modellsysteme benötigt, die die Analyse von Mechanismen unter naturnahen und gleichzeitig ökologisch relevanten Laborbedingungen reproduzierbar ermöglichen.

## Ziele

In TP2 sollte zum einen untersucht werden, ob sich eine Material- und Organismenspezifität bei der mikrobiellen Biofilmbildung auf (Mikro-)Plastik feststellen lässt. Zum anderen sollten dann definierte mikrobielle Gemeinschaften erzeugt werden, mit denen sich dann ökotoxikologische Auswirkungen von biofilmbewachsenen Plastikoberflächen auf Grazer im Labor untersuchen lassen.

## Methoden

Um die mikrobielle Gemeinschaft von Biofilmen zu analysieren, die sich unter Standortbedingungen auf verschiedenen Plastikmaterialien bilden, wurden 5 mm<sup>2</sup>-Plättchen bzw. größere Oberflächen aus PE, PET, PS, PLA sowie Glas als Vergleich an verschiedenen Standorten ausgelagert (Abbildung 22). Zur Analyse wurden kultivierungsabhängige und kultivierungsunabhängige Methoden eingesetzt. Für die Kultivierung wurden Mikroorganismen aus diesen Biofilmen direkt auf Festmedien ausgebracht, die für das Wachstum von limnischen Bakterien förderlich sein sollten; die kultivierungsunabhängige Analyse erfolgte durch die molekularbiologische Methode der Amplicon-Sequenzierung. Um aus diesen mikrobiellen Gemeinschaften definierte Gemeinschaften für ökotoxikologische Untersuchung zu generieren, wurde zum einen die aus der direkten Kultivierung gewonnene Stammsammlung genutzt. Zum anderen wurden die an dem jeweiligen Standort gebildeten Biofilme durch neu konzipierte Anreicherungsstrategien im Labor propagiert, um stabile biofilmbildende mikrobielle Gemeinschaften zu selektieren.

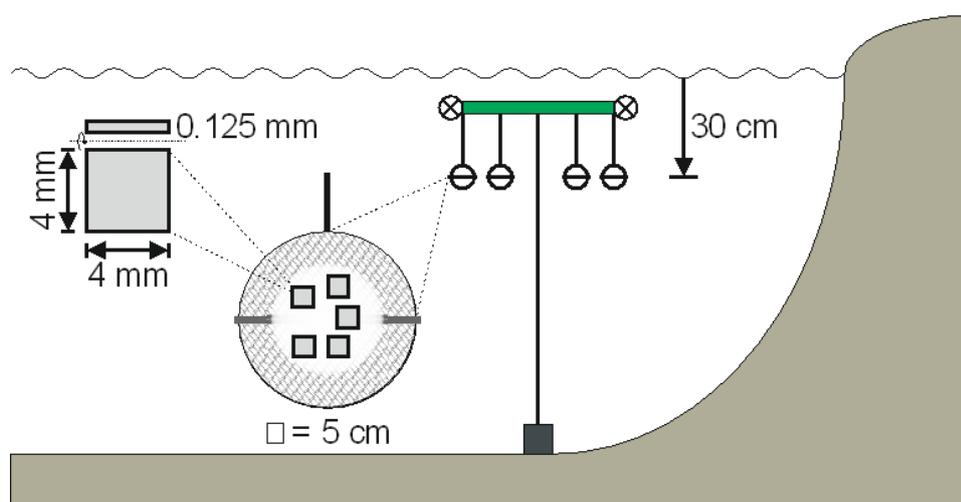


Abbildung 22: Aufbau zur Auslagerung von Plastikpartikeln an natürlichen Standorten (Ems, Emssee, Rieselfelder). Plastikpartikel (4 × 4 × 0.125 mm) wurden in kugelförmigen Stahlsieben („Teeer“) mit 5 cm Durchmesser in einer Tiefe von 30 cm für 5 Wochen inkubiert. Wöchentlich wurden von den ca. 100 Partikeln pro Sieb Aliquote für die Bestimmung von Chlorophyllfluoreszenz und angehefteter Biomasse entnommen.

## Ergebnisse

### 3.2.1.1 Mikrobielle Besiedelung von ausgelagertem Mikroplastik

Die ersten Auslagerungen wurden gemäß des in Abbildung 22 dargestellten Aufbaus in der **Ems**, im **Emssee** sowie in den **Rieselfeldern** mit Partikeln aus PE, PET und PS im Sommer 2018 durchgeführt. Die regelmäßige Beprobung zeigte, dass sich auf allen Materialien über die Zeit Biofilme bildeten, die auch chlorophyllhaltige Mikroorganismen beinhalteten (Abbildung 23).

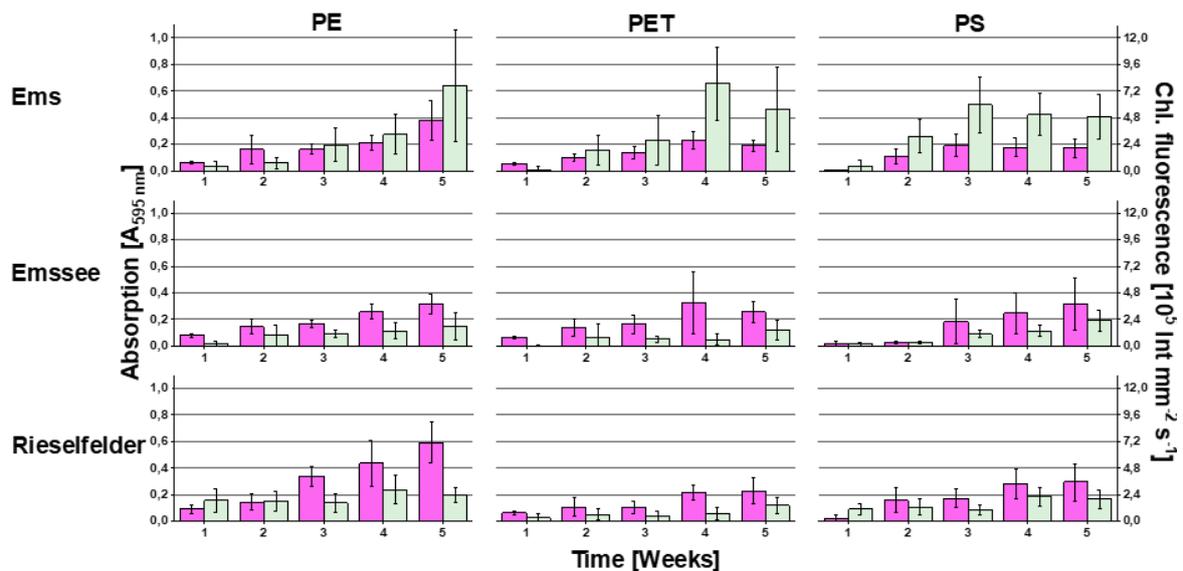


Abbildung 23: Analyse der Biofilme auf den ausgelagerten Plastikpartikeln. Wöchentlich wurden 12 Partikel aus den in Abbildung 22 gezeigten Stahlsieben entnommen und zuerst auf Chlorophyllfluoreszenz (■) und dann auf Biofilmbiomasse durch Kristallviolett färbung (■) untersucht. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung ( $n = 12$  Partikel).

Die zweite Auslagerung wurde parallel zum Großversuch in der **Mesokosmos-Anlage** (siehe 3.3.1) durchgeführt. Dabei wurden außerhalb der Enclosures Streifen aus PET, PLA und Glas ausgebracht und nach 1, 3, 26 bzw. 86 Tagen entnommen und tiefgefroren. Eine dritte Auslagerung mit PLA-Plättchen in den Rieselfeldern erfolgte im Sommer 2021 gemäß des in Abbildung 22 gezeigten Aufbaus.

#### Kultivierungsabhängige Analyse: Stammsammlung

Bei den Auslagerungen im Frühjahr/Sommer 2018 wurden Proben entnommen, um daraus Bakterien zu kultivieren. Diese Kultivierungsversuche, welche durch Direktplattierungen auf für limnische Bakterien geeigneten Festmedien vorgenommen wurden, führten zu einer Erstellung einer Stammsammlung mit ca. 50 heterotrophen Bakterienstämmen. Eine taxonomische Einordnung dieser Stämme durch Sequenzierung des Gens für die 16S rRNA zeigte, dass diese hauptsächlich den Alpha-, Beta- und Gammaproteobakterien sowie zum kleineren Teil auch den *Bacteroidetes* zuzuordnen waren. Unter den Alphaproteobakterien traten Stämme aus dem bisher noch wenig untersuchten Genus *Gemmobacter* häufig auf. Unsere physiologischen Untersuchungen zeigten, dass die von uns isolierten *Gemmobacter*-Stämme ähnlich wie ihre marinen Verwandten metabolische Interaktionen mit Mikroalgen eingehen können (Zecher et al. 2020).

### Kultivierungsunabhängige Analyse: Amplicon-Sequencing

Am Ende der Inkubationen der Plastikpartikel an den jeweiligen Standorten wurde aus den Biofilmen genomische DNA isoliert, um daraus die Sequenzen der darin befindlichen Gene für die 16S rRNA nach PCR-Amplifikation durch DNA-Sequenzierung zu analysieren. Dieses so genannte Amplicon-Sequencing, welches bei einer Firma in Auftrag gegeben wurde, zeigte erwartungsgemäß eine wesentlich größere mikrobielle Diversität als die Stammsammlung (Abbildung 24). An allen Standorten fanden sich z.B. Vertreter aus der Klasse der Planctomyceten als abundante Mitglieder der mikrobiellen Gemeinschaften, von denen bei der kultivierungsabhängigen Analyse kein einziger Vertreter isoliert werden konnte. Für diese Organismen sind spezielle Kulturverfahren notwendig (Kallscheuer et al. 2020a, b). Eine Hauptkomponentenanalyse der Daten aus dem Amplicon-Sequencing zeigte zudem, dass die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaften vom jeweiligen Standort und nicht vom jeweiligen Plastikmaterial abhing. Der statistisch abgesicherte Einfluss des Standorts zeigte sich besonders deutlich bei den Proben aus den Rieselfeldern, die als einziger Standort eine große Abundanz von Sequenzen aus der Klasse der *Nitrospira* aufwiesen (Abbildung 24). Das deutliche Vorkommen dieser nitrifizierenden Bakterien lässt sich mit der Nähe zum Vorfluter der kommunalen Kläranlage in Münster-Coerde plausibel erklären.

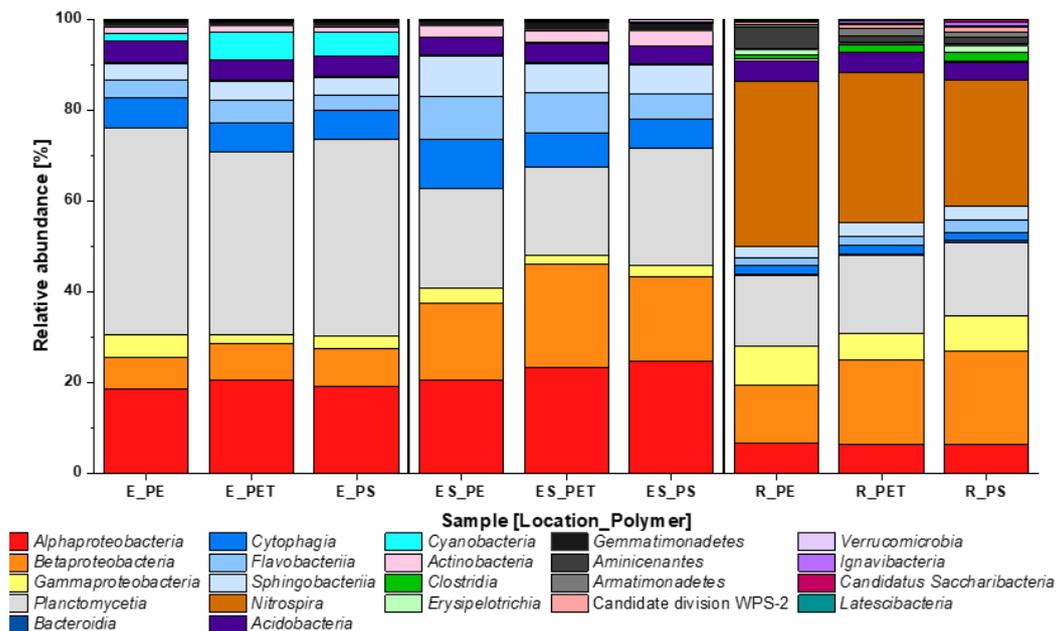


Abbildung 24: Analyse der Zusammensetzung von mikrobiellen Gemeinschaften auf ausgelagerten Plastikpartikeln mittels 16S rDNA Amplicon-Sequencing. Die Balken zeigen die relative Abundanz von Bakterien auf Klassenebene an. Die Analyse erfolgte mit je 15 Plastikpartikeln pro Polymer und Standort (Ems [E], Emssee [ES] und Rieselfelder [R]).

Der Auslagerungsversuch im Rahmen des großen Mesokosmosversuchs (3.3.1) unterstützte den Befund, dass das jeweilige Material (hier: PET, PLA und Glas) keinen signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft hatte. Hier zeigte die Hauptkomponentenanalyse des

Amplicon-Sequencings zusätzlich, dass sich Gemeinschaften über einen zeitlichen Verlauf zwar unterschieden, für die jeweiligen Materialien aber zu jedem Zeitpunkt aber relativ homogen blieben (Abbildung 25).

Insgesamt lassen die Ergebnisse der Auslagerungsexperimente die Schlussfolgerung zu, dass Plastikoberflächen an den jeweiligen Standorten materialunabhängig von einer vom Standort geprägten mikrobiellen Gemeinschaft besiedelt werden.

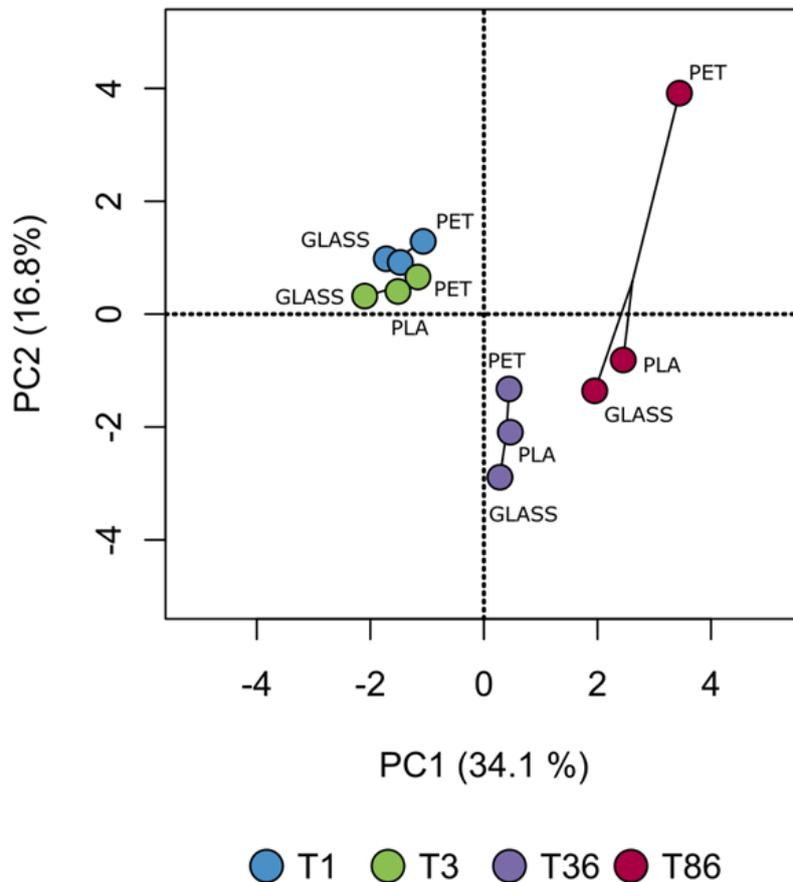


Abbildung 25: Hauptkomponentenanalyse zur Auswertung der bakteriellen Diversität in Biofilmen aus dem Auslagerungsexperiments im Rahmen des großen Mesokosmos-Versuchs. Biofilme auf den jeweiligen Materialien (PET, PLA, Glas) wurden nach 1, 3, 36 und 86 Tagen entnommen und über 16S rDNA Amplicon Sequencing analysiert.

### 3.2.1.2 Erzeugung von stabilen mikrobiellen Gemeinschaften für Laboruntersuchungen

Um die unter den Zielen genannten ökotoxikologischen Untersuchungen durchführen zu können, sollten im nächsten Schritt definierte mikrobielle Gemeinschaften erzeugt werden, mit denen sich reproduzierbar Biofilme anzüchten lassen, die dann für Fütterungsexperimente mit Invertebraten eingesetzt werden können.

**Anreicherungskulturen zur Erzeugung domestizierter Mikrobengemeinschaften.** Die Auslagerungen in Ems, Emssee und Rieselfeldern hatten gezeigt, dass Mikroplastik in der photischen Zone immer chlo-

rophyllhaltige Biofilme sowie eine hohe Diversität an heterotrophen Bakterien aufwies. Diese Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass in diesen Biofilmen photoautotrophe Mikroorganismen Primärproduktion betreiben und über exudierte Assimilate die assoziierten Bakterien miternähren. Diese metabolische Interaktion von photoautotrophen und heterotrophen Mikroorganismen ist für Biofilme auf natürlichen Oberflächen der photischen Zone (Periphyton) charakteristisch. Um im nächsten Schritt möglichst standortrelevante mikrobielle Gemeinschaften für die ökotoxikologischen Experimente zu erzeugen, wurde eine neuartige Anreicherungsstrategie genutzt. Konkret wurden Biofilme von Mikroplastikpartikeln aus den Auslagerungen als Inokulum genutzt, um mikrobielle Gemeinschaften anzureichern, die unter photoautotrophen Bedingungen auf Plastikpartikeln immer wieder reproduzierbar Biofilme bilden. Nachdem solche Gemeinschaften nach mehrmaliger Übertragung vorlagen, wurde diese auf Festmedien übertragen und unter photoautotrophen Bedingungen weiter inkubiert (d.h., es wurde keine organische C-Quelle zugegeben). Tatsächlich wurden auf diese Weise sechs Konsortien erhalten (Co\_1 bis Co\_6), die stabil auf lichtinkubierten Agarplatten übertragen werden konnten. Eine Analyse dieser Konsortien durch Amplicon-Sequencing zeigte eine gegenüber den Standortbiofilmen bereits reduzierte Diversität der heterotrophen Bakterien. Im Vergleich zur Stammsammlung war die Diversität aber deutlich größer, und neben den Planctomyceten hielten sich in diesen Konsortien auch bisher unkultivierte Bakterien aus dem Taxon WPS-2 auf.

Um ein geeignetes Konsortium zu finden, das aus einem Flüssigmedium, welches von der Agarplatte inokuliert wurde, wiederum deutliche Biofilme auf Plastikoberflächen bildet, wurden Re-Kolonisierungsexperimente mit Oberflächen aus PE, PET und PS durchgeführt. Bei diesen Experimenten zeigte das Konsortium Co\_3 die besten Ergebnisse (Abbildung 26), weshalb dann Co\_3 auch für alle weiteren Experimente verwendet wurde. Dieses Konsortium wurde zudem sowohl durch Amplicon-Sequencing als auch durch Kultivierung charakterisiert. Es zeigte sich, dass die Diversität in Co\_3 im Verlauf von 14 Monaten abnahm und leider auch die Vertreter aus WPS-2 verloren gingen (Abbildung 27). Dennoch manifestierte sich eine Kerngemeinschaft von Bakterien, die aus den Gruppen der Alpha-, Beta-, und Gammaproteobakterien sowie aus den Bacteroidetes stammten. Einige aber noch nicht alle dieser Stämme konnten wir bisher als Reinkulturen aus Co\_3 gewinnen. Ferner gelang es uns, aus Co\_3 eine axenische Kultur der Mikroalge zu gewinnen, welche offenbar für die Primärproduktion in dieser Gemeinschaft verantwortlich ist und als *Chlamydomonas* sp. Stamm Co\_3 bezeichnet wurde. Im Rahmen von MikroPlaTaS wurde Co\_3 für Grazing-Experimente mit der Schnecke *Physa fontinalis* eingesetzt (siehe 3.3.2). Aktuell findet Co\_3, welches jetzt seit mehr als zwei Jahren regelmäßig auf Agarplatten übertragen wird, auch als Modellbiofilm auf Plastik-Mulchfolien, die in Grazing-Experimenten mit verschiedenen Invertebraten eingesetzt werden, weitere Verwendung.

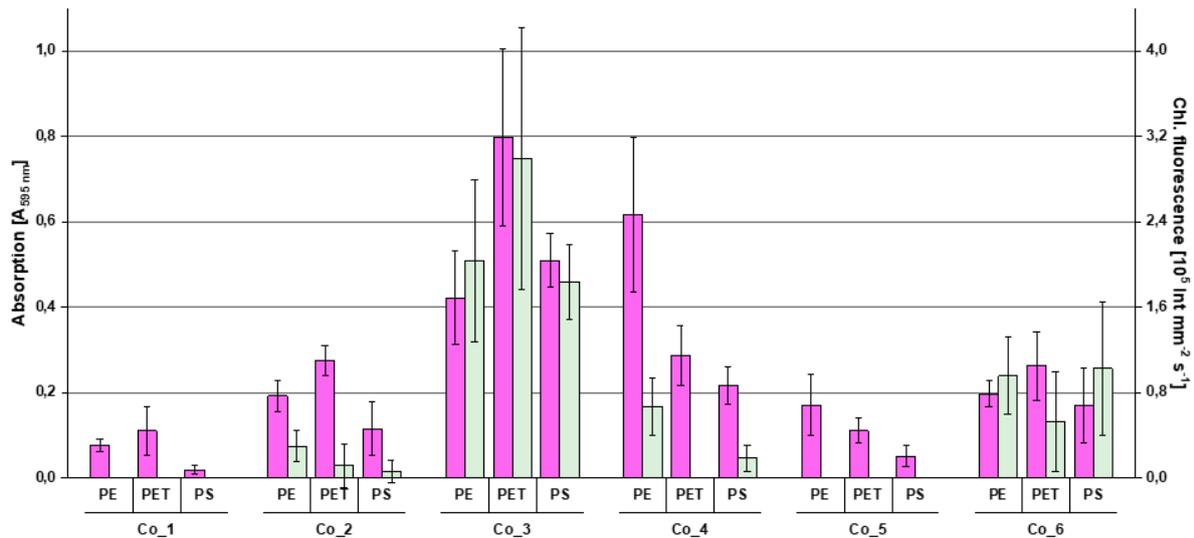


Abbildung 26: Analyse der Biofilmbildung auf Plastikpartikeln durch domestizierte mikrobielle Konsortien. Von den domestizierten Konsortien Co\_1 bis Co\_6 wurden von Agarplatten inokulierte Flüssigkulturen erzeugt, die mit Plastikpartikeln für 7 Tage unter photoautotrophen Bedingungen inkubiert wurden. Die Biofilmbildung wurde zuerst mit Chlorophyllfluoreszenz (■) und dann mit Kristallviolett färbung (■) untersucht. Die Fehlerbalken zeigen die Standardabweichung (n = 8 Partikel).

Der experimentelle Ansatz, der zu Co\_3 geführt hat, wurde mittlerweile für photoautotrophe Biofilmgemeinschaften wiederholt, die auf PLA-Plättchen in den **Rieselfeldern** gewonnen wurden. Alternative Experimente, bei denen eine axenische Mikroalge mit ausgesuchten heterotrophen Bakterien aus der oben beschriebenen Stammsammlung zusammengebracht wurde (insb. *Gemmobacter*-Stämme), bildeten zwar ausgeprägte Biofilme; allerdings wurden diese definierten zusammengesetzten Biofilmgemeinschaften nicht von *P. fontinalis* als Futter akzeptiert. Diese synthetischen Biofilme mit definierten Mitgliedern erwiesen sich also bisher als nicht geeignet. Im Gegensatz dazu erwies sich der Anreicherungsansatz, der zu von uns als domestizierte Biofilme bezeichneten Gemeinschaften geführt hat, als neue viel versprechende Strategie für die Generierung von ökologisch relevanten und gleichzeitig experimentell kontrollierbaren Modellsystemen.

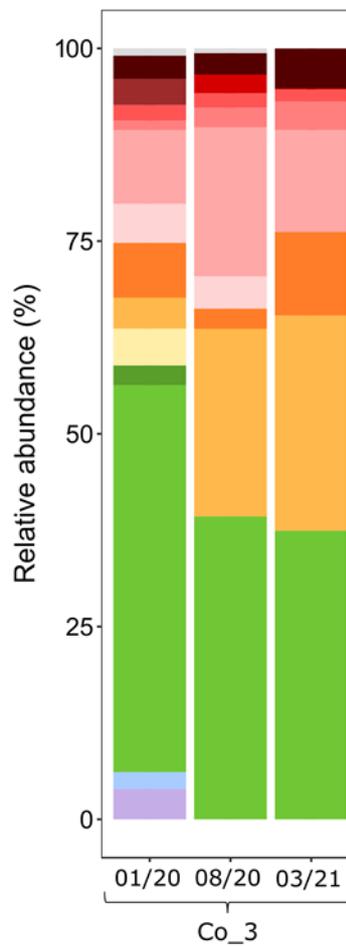
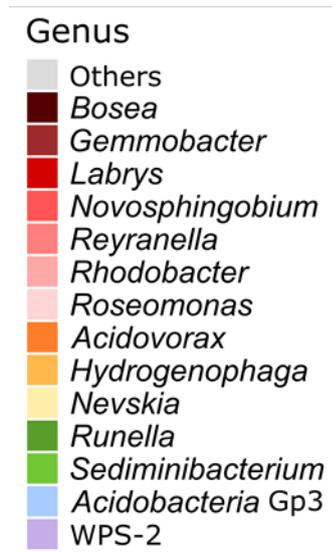


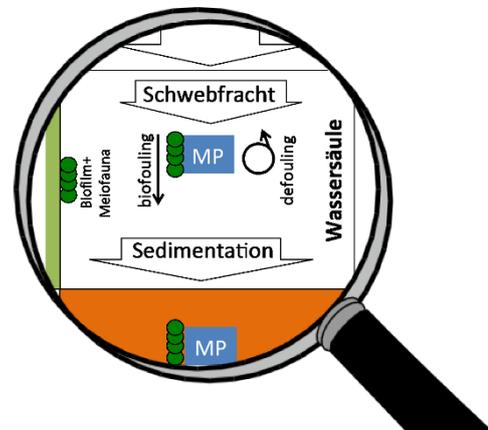
Abbildung 27: Analyse der Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft des domestizierten Konsortiums Co\_3 mittels 16S rDNA Amplicon-Sequencing im zeitlichen Verlauf. Die Balken zeigen die relative Abundanz von Bakterien auf Gattungsebene an.

### 3.2.2 Arbeitspaket 4: Einfluss von Biofilmbesiedlung, Licht und Redoxprozessen auf Mikroplastik-Sedimentation

**UFZ Magdeburg (Lead), Universität Münster, Universität Bielefeld**

#### Beschreibung

Aus dem marinen Milieu ist bekannt, dass sogenanntes „Biofouling“ zum Absinken von umhertreibenden Plastikpartikeln führt. Außerdem zeigten erste Untersuchungen von Sedimenten auf Mikroplastik, dass sich hier Plastikpolymere finden, die eigentlich aufgrund ihrer spezifischen Dichte schwimmen sollten. Da die im Süßwasser typischen Organismen im Gegensatz zu den marinen weniger über harte, dichte Strukturen verfügen, wurde vermutet, dass eine Biofilmbildung allein im Süßwasser nicht grundsätzlich zum Absinken von leichtem Mikroplastik führt. Allerdings kommen auch im Süßwasser Mineralbildungsprozesse vor, die einen Beitrag zur Dichte leisten könnten (Eisenfällung, Calcitfällung, damit verbundene Aggregation von natürlichem Material und Mikroplastik). Deren Einfluss sollte ebenso untersucht werden wie die Folgen einer möglichen Auflösung von Mineralen oder des Absterbens von Biofilm-Organismen.



vermutet, dass eine Biofilmbildung allein im Süßwasser nicht grundsätzlich zum Absinken von leichtem Mikroplastik führt. Allerdings kommen auch im Süßwasser Mineralbildungsprozesse vor, die einen Beitrag zur Dichte leisten könnten (Eisenfällung, Calcitfällung, damit verbundene Aggregation von natürlichem Material und Mikroplastik). Deren Einfluss sollte ebenso untersucht werden wie die Folgen einer möglichen Auflösung von Mineralen oder des Absterbens von Biofilm-Organismen.

#### Ziele

Durch Experimente unter kontrollierten Bedingungen sollten die Mechanismen ermittelt werden, mittels derer Licht und Redoxverhältnisse direkt oder über die Steuerung der Besiedlung die Sedimentation von Plastikpartikeln beeinflussen. Auch das „De-fouling“ infolge einer Verfrachtung von bewachsenen Plastikpartikeln in andere Milieus sollte anhand kontrollierter Experimente bewertet werden. Hier wurde gegenüber dem Antrag aus Kapazitätsgründen eine Anpassung vorgenommen und bei der Wiederfreisetzung bzw. Aufsteigen von Mikroplastik auf Anoxie und mikrobielle Eisenreduktion als Mechanismen fokussiert.

#### Methoden

Da die Expositionsversuche in den Talsperren Malter und Bautzen umfangreiche und realitätsnahe Datensätze zu Biofilmbildung unter hellen/dunklen sowie oxischen/suboxischen Bedingungen erbracht haben, wurde auf eine separate Biofilmmotivzucht hinsichtlich Licht/Redoxbedingungen verzichtet. Von den großen Mikroplastikpartikeln (4 x 4 mm) aus verschiedenen Kunststoffen, die in den Talsperren Malter und Bautzen exponiert und von Biofilmen besiedelt wurden, wurden im Labor Sinkgeschwindigkeiten in einer hohen Wassersäule bestimmt. Die Zusammensetzung der Biofilme wurde über Konfokale Laserscanningmikroskopie (CLSM) und Bildanalyse (ImageJ; Staudt et al. 2004) quantifiziert.

Nachdem sich die Eisenfällung als ein wichtiger Prozess für das Absinken von großem PE-Mikroplastik herausgestellt hatte (Leiser et al. 2020), wurde dieser Prozess im Labormaßstab genutzt, um kleine kugelige fluoreszenzmarkierte PE-Partikel in Eisenflocken einzubauen und deren Interaktion mit intakten Sedimentkernen aus der Talsperre Bautzen zu studieren (Leiser et al. 2021b). Die Inkubationen fanden unter oxischen und anoxischen Bedingungen statt. Im überstehenden Wasser wurde über die Zeit beobachtet, wieviele PE-Partikel aus dem Sediment wieder freigesetzt wurden. Am Versuchsende wurde die Wiederfindung der eingesetzten Partikel in verschiedenen Tiefen des Sediments bestimmt.

Um dem in der Natur vorkommenden Spektrum an Mikroplastik-Formen und –Größen besser gerecht zu werden, wurden Eisenfällungen auch mit verschiedenen großen PE-Fragmenten und mit PE-Fasern durchgeführt und die Flockengröße, Anzahl der eingebauten PE-Partikel und die Sinkgeschwindigkeit bestimmt (Leiser et al. 2021b).

Die mikrobielle Eisenreduktion als potentieller Mechanismus für die Freisetzung und Remobilisierung ausgefällter PE-Partikel wurde in anoxischen Mikrokosmen mit dem fakultativ anaeroben Süßwasser-Bakterium *Shewanella oneidensis* studiert (Leiser & Wendt-Potthoff 2022).

## Ergebnisse

In der mesotrophen Talsperre **Malter** inkubierte einzelne Quadrate (4 x 4 mm) aus PE blieben über die gesamte Inkubationsdauer von 47 Tagen schwimmfähig, obwohl sich ein deutlicher, von Bakterien dominierter Biofilm gebildet hatte, der auch Eisen enthielt (bis zu 1,64 µg/mg Partikelgewicht). Der Eisengehalt war allerdings um mindestens eine Größenordnung zu gering, um den Auftrieb der Partikel zu überwinden. Die Sinkgeschwindigkeiten bewachsener PS- und PET-Quadrate unterschieden sich meist nicht signifikant von denen der unbewachsenen Partikel. Lediglich nach 47 Tagen enthielt der Biofilm von 9 % der PS-Quadrate und 10 % der PET-Quadrate mehrzellige Organismen wie Süßwasserpolyphen, die die Sinkgeschwindigkeit veränderten. Dabei nahm die Sinkgeschwindigkeit der betreffenden PS-Partikel um 4 % zu, während die der PET-Partikel sich um 1 % verringerte. Im Spätsommer, zwischen Tag 6 und Tag 22 des in situ-Versuchs, kam es in der Talsperre Malter zu einer Durchmischung und Eisenausfällung. Die gebildeten Eisenkolloide enthielten neben 12 % Eisen 40 % organische Substanz. Gleichzeitig wurde im Hypolimnion ein stabiles Aggregat aus 4 PE-Quadraten gefunden, das im Wasser zu Boden sank. Die Biovolumina von Bakterien, Algen und Cyanobakterien waren höher als bei den einzelnen Quadraten, und der Eisengehalt betrug 11 µg/mg Partikelgewicht. Noch deutlicher unterschied sich die Biomasse des Aggregats von der auf einzelnen Quadraten (124-149 µg/mg gegenüber 8 µg/mg), was der entscheidende Faktor für das Absinken war (Leiser et al. 2020). Die Bildung heterogener Aggregate aus PE-Mikroplastik, organischer Substanz und Mineralen kann also ein Mechanismus sein, spezifisch leichte Mikroplastikpartikel ausreichend zu beschweren. Einschränkend ist zu beachten, dass die Aggregatbildung nur im Hypolimnion beobachtet wurde, so dass kein Absinken

von PE durch die gesamte Wassersäule nachgewiesen wurde. Außerdem stellt die Inkubation in Stahlkäfigen eine künstliche Situation dar, die die Partikel in einer gegebenen Wassertiefe festhält und durch Bewuchs an der Käfig-Außenseite für veränderte Lichtverhältnisse sorgt. Andererseits kann es in nährstoffreicheren, produktiveren Gewässern durchaus zum Absinken von PE-Partikeln durch Cyanobakterien-Biomasse kommen (Chen et al. 2019), wobei hier auch Minerale aus dem umgebenden Wasser eingebaut wurden.

Also wurden in einem weiteren Versuch PE-Quadrate über 29 Tage in der eutrophen Talsperre **Bautzen** exponiert (Leiser et al. 2021a). In diesem Gewässer spielt wie in vielen mesotrophen und eutrophen Gewässern die Calcitfällung im Zusammenhang mit sommerlichen Phytoplanktonblüten eine Rolle. Am Versuchsende hatte sich auf den Stahlkäfigen und den PE-Partikeln ein bräunlicher Biofilm gebildet, der etwa 78 % Calcit enthielt und eine Feuchtdichte von  $1,18 \text{ g/cm}^3$  aufwies. Etwa 10-15 % der exponierten PE-Quadrate hatten am Versuchsende ihren Auftrieb verloren. Diese sinkenden Partikel wiesen deutlich mehr Biofilmbewuchs auf als die schwimmenden Partikel (Abbildung 28). Aufgrund des hohen Anteils an Calcit in den Biofilmen ist davon auszugehen, dass dieses Mineral einen höheren Dichtebeitrag lieferte als die ebenfalls enthaltene mikrobielle Biomasse.

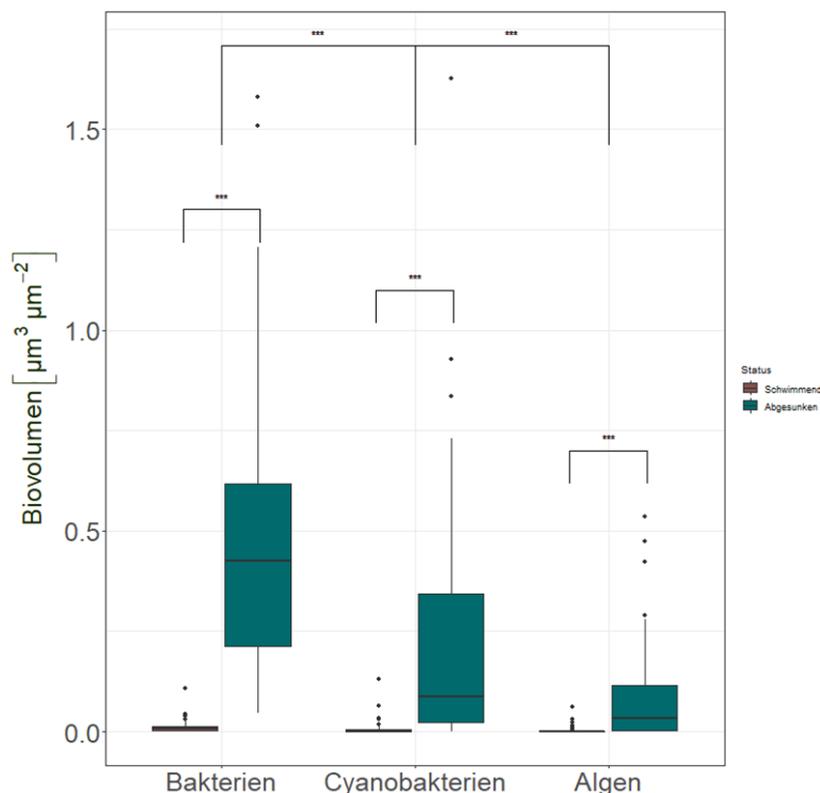


Abbildung 28: Biovolumina von Bakterien, Cyanobakterien und Algen auf schwimmenden (braun) und sinkenden (grün) PE-Quadraten nach 29 Tagen Inkubation in der Talsperre Bautzen (Leiser et al. 2021a).

Unsere Daten unterstützen die Annahme, dass die Calcitfällung im Wesentlichen durch die Cyanobakterien bedingt war. Nur 10 % der CLSM-Bilddateien enthielten Diatomeen und andere eukaryontische Mikroalgen. Des Weiteren überstieg das Cyanobakterien-Biovolumen das der Algen deutlich (Abbildung 28). Die dominierenden Cyanobakterien, kugelige *Chamaesiphon* spp. und fädige *Leptolyngbya* spp. sind aus calcifizierenden Süßwasser-Biofilmen bekannt. Solche benthischen Organismen würden kleinere Plastikpartikel eventuell nicht besiedeln können. Generell ist die Form- und Größenvielfalt beim Mikroplastik hoch, was das Verhältnis von Oberfläche und Volumen und damit das physikalische Verhalten der Partikel beeinflusst. Deshalb wurde in einem Laborversuch die Interaktion von planktischen Cyanobakterien (*Microcystis* sp.) mit PE-Partikeln von 10-100 µm Größe und verschiedenen Calcium-Konzentrationen (10, 60 und 220 mg/L) studiert. Natürliche Calciumkonzentrationen in Seen liegen bei 10-100 mg/L (Wang et al. 2011). *Microcystis* kommt in der Talsperre Bautzen vor und hat dort wie in vielen anderen Gewässern in den vergangenen Jahren wiederholt Blüten gebildet. Bei mittleren (60 mg/L) und hohen (220 mg/L) Calcium-Konzentrationen bildeten sich innerhalb von 2 Tagen beziehungsweise knapp 2 Stunden sinkende Aggregate, die PE-Partikel eingeschlossen hatten (im Mittel 2 Partikel je Aggregat; Abbildung 29). Auf diese Weise wurden 0,4 % der zugegebenen Partikel aus der Wasserphase entfernt.

Die beobachteten Sinkgeschwindigkeiten würden dafür sorgen, dass entsprechende Aggregate in 34-42 min zum Grund der Talsperre Bautzen befördert würden. Die Calciumkonzentration in der Talsperre Bautzen liegt bei 35 mg/L, was diesen Wert beeinflussen könnte. Die Bildung von calcithaltigen Cyanobakterien-Aggregaten scheint also für die Entfernung von kleinen PE-Partikeln aus dem Talsperrenwasser relevant zu sein, wobei der begrenzende Faktor in diesem Versuch eher die Bildung von Aggregaten (im Mittel 130 Aggregate je Liter) als der Einschluss von Mikroplastik je Aggregat war. Geht man davon aus, dass während einer *Microcystis*-Blüte bis zu  $3,5 \cdot 10^5$  Aggregate je Liter vorliegen können (Feng et al. 2019), ergibt sich ein großes Potential für die Mikroplastik-Sedimentation. Auch durch Diatomeen (Long et al. 2015) und andere eukaryontische Algen (Lagarde et al. 2016) können sinkende, mikroplastikhaltige Aggregate gebildet werden. Dies kann ein wesentlicher Mechanismus für das regelmäßige Auftreten von PE in limnischen Sedimenten sein, der über die Phytoplanktonentwicklung mit dem Faktor Licht zusammenhängt.

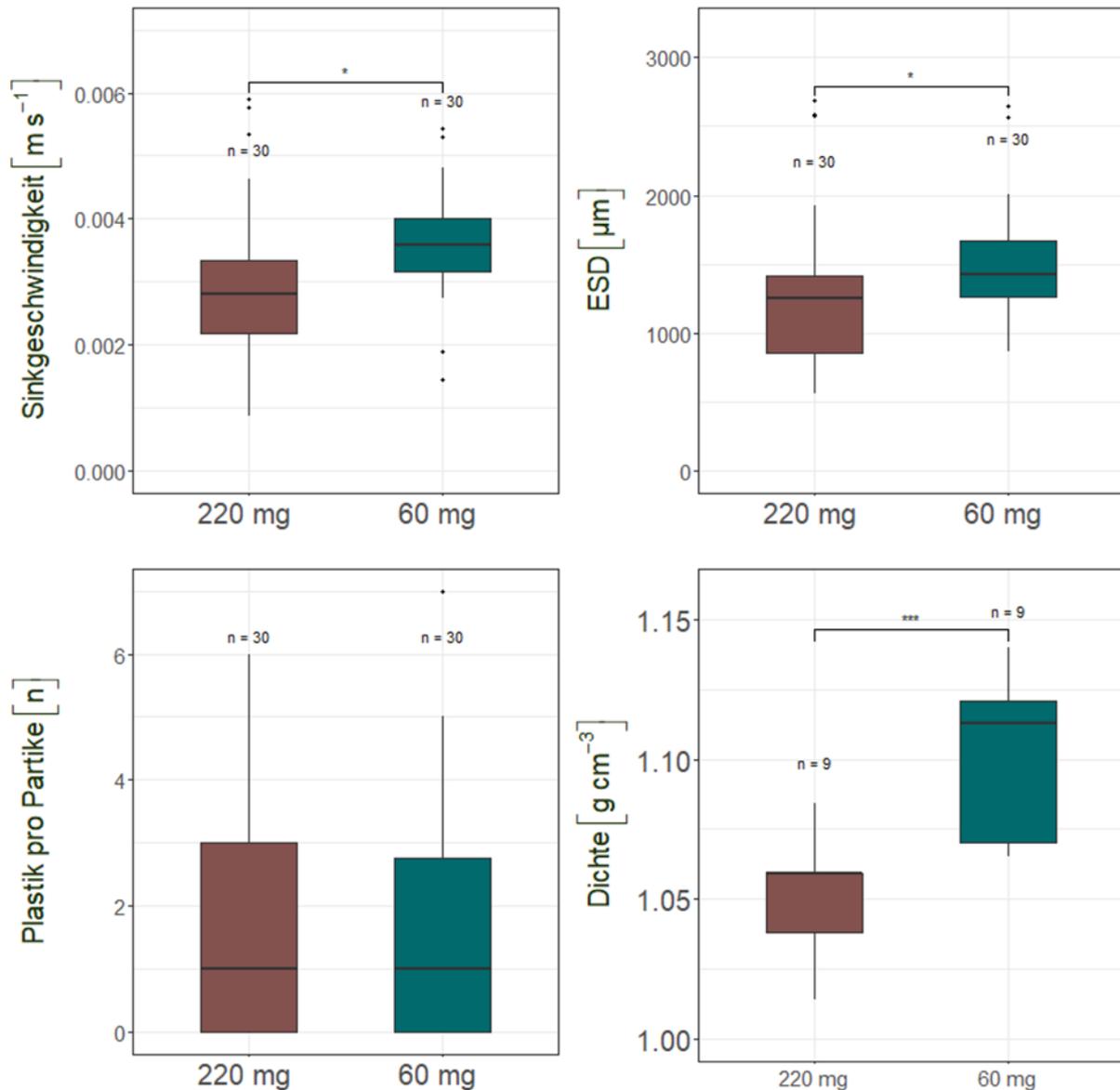


Abbildung 29: Eigenschaften von Cyanobakterien-Aggregaten unter mittleren (60 mg/L) und hohen (220 mg/L) Calciumkonzentrationen. Sterne zeigen das Signifikanzniveau, \*  $p < 0,05$  und \*\*\*  $p < 0,001$  (Leiser et al. 2021a).

Die Bildung und Eigenschaften von Mikroplastik-haltigen Aggregaten hängen stark von der Form und Größe der Mikroplastikpartikel ab. In Gegenwart von 300 μmol/L Eisen und verschiedenen PE-Partikeln gebildete Aggregate sanken signifikant langsamer als PE-freie Aggregate (Abbildung 30). Dabei wurden von kleinen Fragmenten (10-100 μm) und sphärischen Partikeln (106-125 μm) die meisten pro Aggregat eingeschlossen, während von PE-Fragmenten in der Größe von 100 bis >500 μm nur wenige inkorporiert wurden. Die Flockengröße zeigte einen Trend, mit der PE-Partikelgröße zuzunehmen. Generell waren aber die Flocken mehrfach größer als die einzelnen eingesetzten PE-Partikel, was man bei der Betrachtung von Expositions-Konzentrationen, die auf chemisch gereinigten Partikeln beruhen, bedenken sollte.

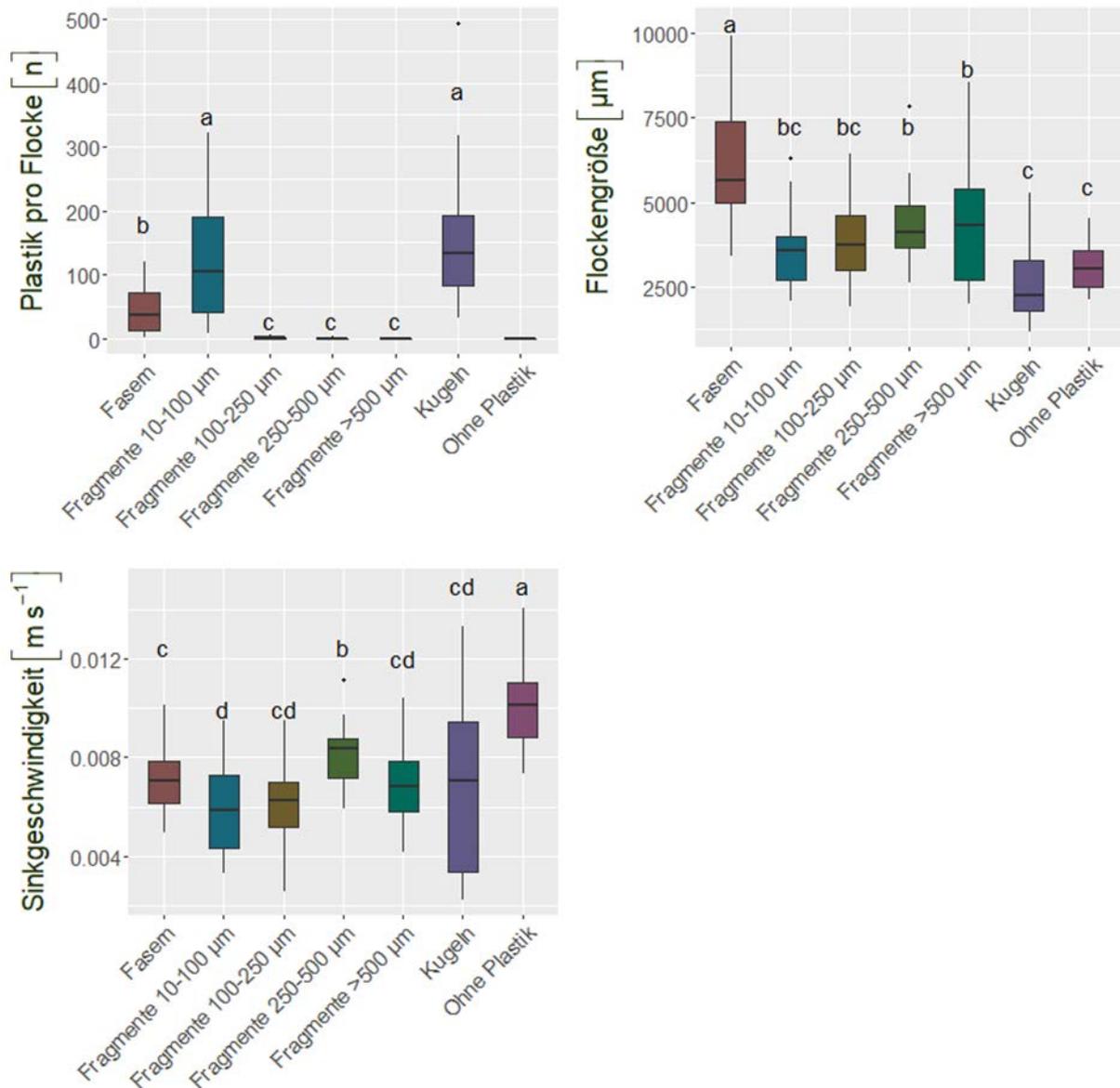


Abbildung 30: Plastikgehalt, Größe und Sinkgeschwindigkeit von Eisenflocken, die in Wasser aus der Talsperre Bautzen bei einer Eisenkonzentration von 300 µmol/L gebildet wurden. Unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede an (Leiser et al. 2021b).

Eine wesentliche Hypothese zu Projektbeginn war, dass Mikroplastik durch reduktive Prozesse aus Sedimenten wieder freigesetzt werden kann. Dies wurde in einem Versuch mit intakten Sedimentkernen aus der Talsperre Bautzen getestet (Leiser et al. 2021b). Ein Teil der Sedimentkerne wurde oxisch inkubiert, der andere anoxisch, was durch N<sub>2</sub>-Begasung und spezielle Aufsätze (Dadi et al. 2015) realisiert wurde. Eisenflocken mit fluoreszenzmarkierten PE-Kugeln (106-125 µm) wurden bei einer Eisenkonzentration von 100 oder 300 µmol/L hergestellt, indem Bautzen-Wasser mit den PE-Kugeln und entsprechenden Mengen Eisensulfatlösung auf einem Rollenmischer inkubiert wurde. Bei 100 µmol/L bildeten sich kleine, bei 300 µmol/L große Flocken. Um die Herkunft der PE-Kugeln unterscheiden zu

können, waren sie in den unterschiedlich konzentrierten Ansätzen mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert (rot große, gelb kleine Flocken). Die Flocken wurden vorsichtig mit Wasser gewaschen und in das überstehende Wasser der Sedimentkerne gegeben. Sie sanken schnell in das Sediment ein. Im Folgenden wurde das überstehende Wasser wöchentlich beprobt und auf Fe, Mn und freigesetzte PE-Kugeln untersucht (Abbildung 31).

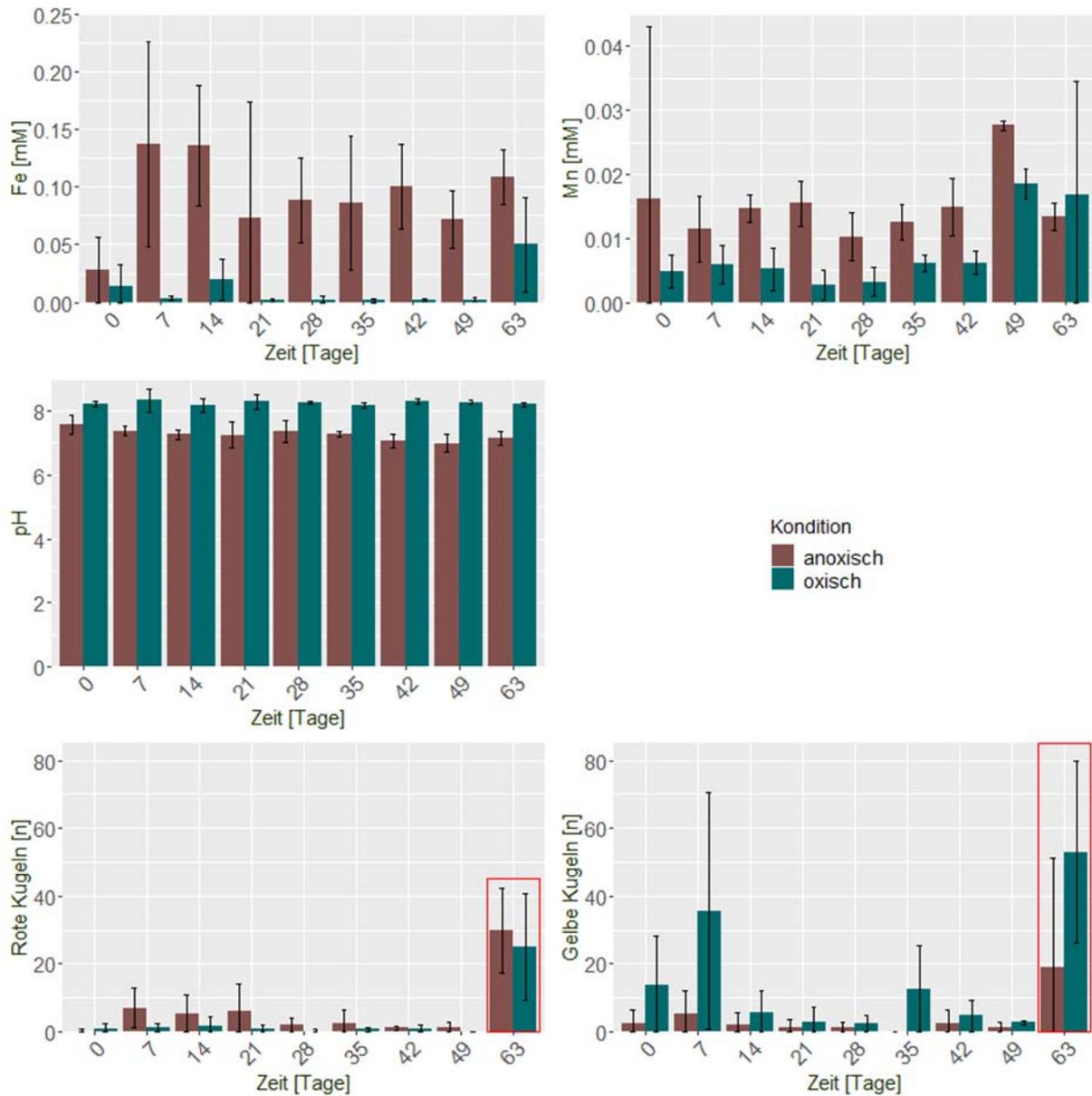


Abbildung 31: Fe- und Mn-Konzentrationen, pH-Wert und Freisetzung (Wasseroberfläche) von roten PE-Kugeln aus großen 300  $\mu\text{M}$  Fe-Flocken. Mittelwerte und Standardabweichungen bei 5 (anoxisch) oder 6 (oxisch) inkubierten Kernen (Zwei unabhängige Versuche für welche die Kerne im Juli und Oktober aus der Talsperre Bautzen entnommen wurden). Drei Wiederholungen liegen für die Freisetzung von gelben PE-Kugeln aus kleinen 100  $\mu\text{M}$  Fe Flocken (Oktober) zugrunde. Die rote Umrahmung zeigt das letzte Datum der Probenahme an, bei der die Anzahl der Kugeln in der gesamten Wasserphase über dem Sediment erfasst wurde (Leiser et al. 2021b).

Die erhöhten Eisen- und Mangankonzentrationen in den anoxisch inkubierten Kernen zeigen Eisen- und Manganreduktion an. Über die gesamte Versuchsdauer wurden nur relativ wenige PE-Kugeln freigesetzt. Die Freisetzung aus kleinen Flocken war höher, und bei diesen war im Gegensatz zu den großen Flocken die PE-Freisetzung im oxischen Milieu höher. Die große Mehrheit der PE-Kugeln verblieb aber im Sediment (Abbildung 32).

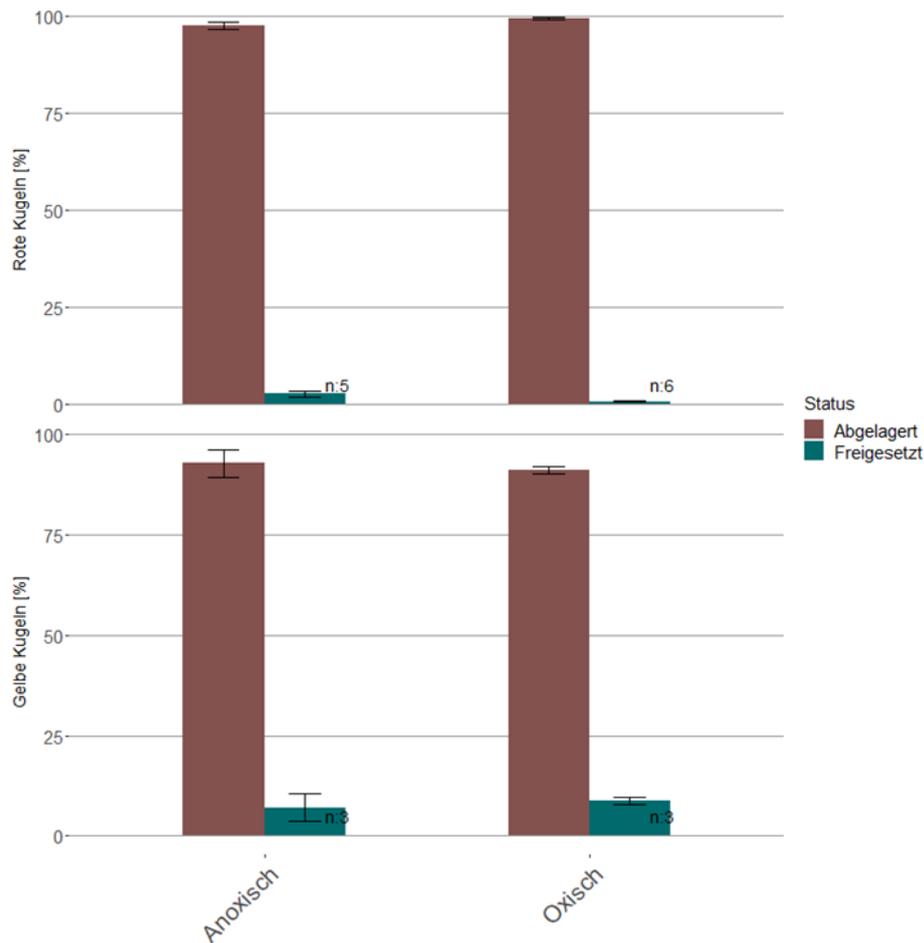


Abbildung 32: Freisetzung bzw. Rückhalt im Sediment von PE-Kugeln aus großen (oben, rote Mikroplastikkugeln) und kleinen (unten, gelbe Mikroplastikkugeln) Eisenflocken (Leiser et al. 2021b).

Bei der Untersuchung der Sedimente am Versuchsende stellte sich heraus, dass die überwiegende Mehrzahl der PE-Kugeln in den oberen 2 cm wiedergefunden wurde, es wurden aber in den oxischen Kernen in bis zu 11 cm Tiefe welche gefunden. Tiefere Schichten wurden nicht untersucht. Die tiefere Verfrachtung in den oxischen Kernen kann mit einer Bioturbation durch Zuckmückenlarven (Chironomidae) erklärt werden. In den anoxischen Kernen konnten diese den Versuch nicht überleben.

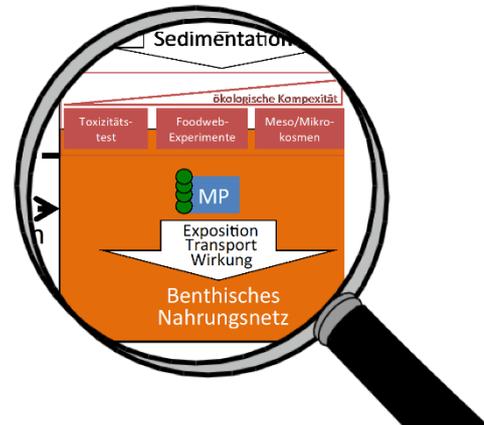
### 3.3 TP3 Wirkung

#### 3.3.1 Arbeitspaket 5.1 und 5.2: Direkte Wirkung von Plastikpartikeln auf Invertebraten

**Universität Bielefeld (Lead), Universität Münster, Universität Potsdam, Ecosa (Lead), Mesocosm GmbH**

#### Beschreibung

Die ursprüngliche Aufteilung in Arbeitspaket 5.1 Single-species Tests und Arbeitspaket 5.2 Räuber-Beute-Systeme und Wirkung im Nahrungsnetz wurde bei der Ergebnisdarstellung aufgehoben, da auch in Tests mit Einzelarten sinnvollerweise Futterorganismen präsent sein mussten und die Testung in verschiedenen Matrices (Wasser, gelartige Medien, Sedimente) für zusätzliche Komplexität sorgte.



#### Ziele

In diesem Teilprojekt sollte die Wirkung von Mikroplastik auf verschiedene Invertebratengruppen wie Nematoden, Rotatorien, Insekten und Gastropoden untersucht werden. Die Wirkung wurde bei vielfältigen Rahmenbedingungen wie z.B. Nahrungsverfügbarkeit und -qualität aber auch Jahreszeit untersucht. Neben Experimenten zur Ermittlung der LC 50 Werten wurden auch zahlreiche Versuche durchgeführt, die die Wirkung im sub-letalen Bereich quantifizierten.

#### Methoden

Es wurden Laborexperimente zu Wachstum, Reproduktion und Überleben angepasst an die jeweiligen Testorganismen durchgeführt. Zudem wurden nicht-Plastik Referenzmaterialien wie z.B. Glas in die Untersuchungen einbezogen. Darüber hinaus wurden Experimente unter naturnahen Bedingungen durchgeführt bis hin zu einem großen Freiland Mesokosmos-Experiment.

#### Ergebnisse

##### 3.3.1.1 Aufnahme von Mikroplastik in aquatische Invertebraten

##### Qualitative Detektion von Mikroplastik im Körper

Innerhalb des MikroPlaTaS Projekts wurde deutlich, dass verschiedene Organismen der Meio- als auch Makrofauna Mikroplastik aufnehmen können. Mittels Lichtmikroskopie wurden beispielsweise angefärbte PET-Fasern der Länge 50 µm in der Zuckmückenlarve *Chironomus riparius* oder 5–25 µm große PA-Fragmente in Rotatorien detektiert (Abbildung 33A und B). Fluoreszierende Mikroplastikpartikel in Form von 3 µm PS Beads wurden mittels Fluoreszenzmikroskopie in Rotatorien (Abbildung 34A) als auch im Darm der Nematoden (Abbildung 34B) nachgewiesen.

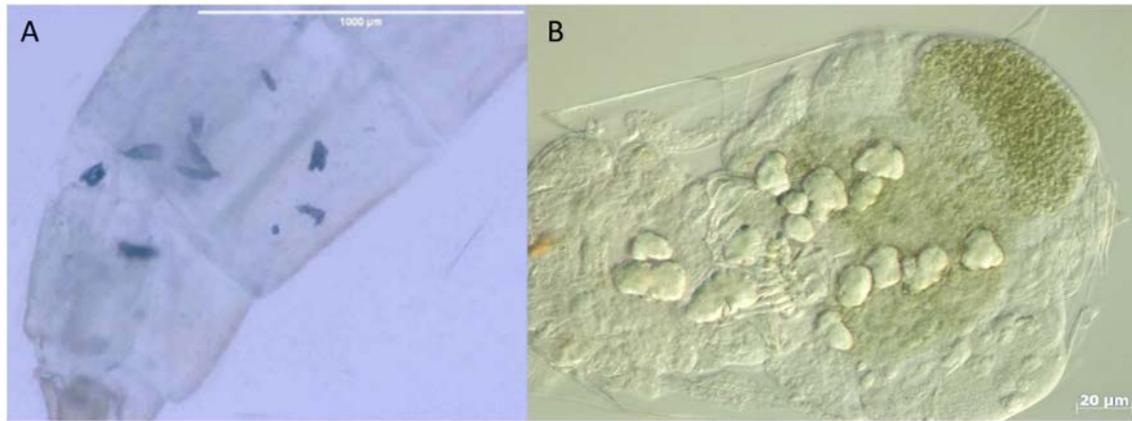


Abbildung 33: Aufgenommenes Mikroplastik in (A) *Chironomus riparius* (Setyorini et al., 2021); angefärbte 50-µm PET Fasern) und (B) *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) mit Polyamidgranula; Detektion mittels Lichtmikroskopie.

Mit CARS Mikroskopie als eine bildgebende Technik der Raman-Mikroskopie konnte gezeigt werden, dass selbst kleinste, nicht fluoreszierende Mikroplastikpartikel ( $< 10 \mu\text{m}$ ) im Körper von Kleinstorganismen nachgewiesen werden können. Neben infrarotspektroskopischen Methoden zählen Raman mikroskopische Methoden daher zu den wichtigsten Detektionsmethoden für Mikroplastik in Organismen, da ihre Auflösungsgenauigkeit oft die der Infrarotspektroskopie übersteigt. Zudem kann simultan die Lipidverteilung in einzelnen Individuen und damit die Auswirkungen von Mikroplastik auf die Lipidspeicher von Kleinstorganismen untersucht werden (Fueser et al. 2022).

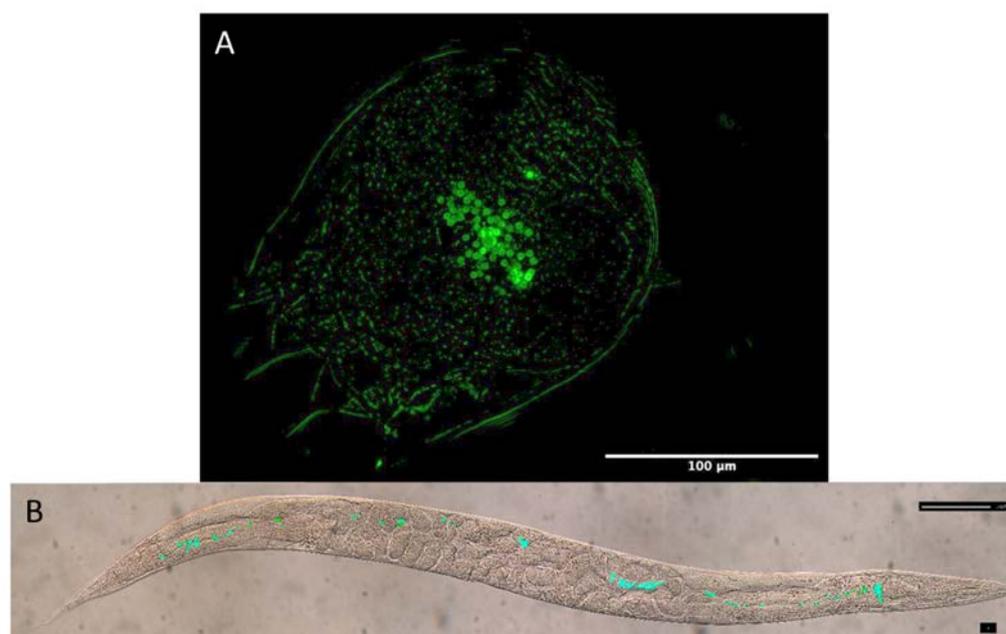


Abbildung 34: Aufgenommene PS Beads der Größe  $3 \mu\text{m}$  in (A) Rotatorien (hier die Art *Brachionus calyciflorus*) und (B) Nematoden (hier die Art *Caenorhabditis elegans*). Detektion mittels Fluoreszenzmikroskopie.

### Faktoren, die die Aufnahme von Mikroplastik beeinflussen

Im weiteren Projektverlauf fand man mittels detaillierter Experimente heraus, dass die Mikroplastikaufnahme durch Organismen von verschiedenen Faktoren (z.B. Größe und Konzentration des Mikroplastiks, Nahrungstyp der Organismen) abhängig ist.

So wurde in einem Aufnahmeversuch mit kultivierten Labornematoden und PS Beads verschiedener Durchmesser (0,5–6 µm) deutlich, dass die Mikroplastikaufnahme vom Nahrungstyp (Nematoden mit Nahrungsaufnahme über Mundhöhle (Bakterienfresser) vs. Stachel) abhängig war. Bei den bakterienfressenden Arten zeigte sich eine artspezifische Aufnahme aller drei Mikroplastikgrößen im Darm, die von der Mundhöhlenbreite der Nematoden abhängig war (Tabelle 4). Alle fünf bakterienfressenden Nematodenarten konnten Partikel der Größe 0,5 µm aufnehmen: die höchste Partikelanzahl konnte im Körper von *Plectus acuminatus* gefunden werden ( $153 \pm 15$  Partikel; Mittelwert  $\pm$  Standardfehler), wobei *Panagrolaimus thienemanni* am wenigsten Partikel aufnahm ( $6 \pm 2$ ). Vier von den fünf bakterienfressenden Nematoden waren in der Lage, Partikel der Größe 1 µm aufzunehmen. Bezüglich der 1 µm großen Partikel hatte nach 24 Stunden die Art *Pristionchus pacificus* die wenigsten ( $24 \pm 6$ ) und *C. elegans* die meisten ( $102 \pm 20$ ) Partikel aufgenommen. Aufgrund der voluminösen Mundhöhle war *P. pacificus* als einzige getestete Nematodenart in der Lage einzelne Partikel von 6 µm Größe in die Mundhöhle zu nehmen. *Aphelenchoides parietinus*, eine Nematodenart mit einem kleinen Mundstachel, konnte im Gegensatz dazu unabhängig von der Expositionszeit keine applizierte Mikroplastikgröße aufnehmen, da der Mundstachel mit einer Öffnung von ca. 0,2 µm zum Anstechen von Pilzhypen zu klein für die applizierten Mikroplastikgrößen war. Es konnte gezeigt werden, dass die Mundhöhlenweite eines Nematoden mindestens das 1,3-fache des Partikels betragen muss, damit eine ungehinderte Aufnahme durch die Nematoden gewährleistet wird.

Tabelle 4: Artabhängige Aufnahme von 0,5, 1 und 6 µm PS Beads (Mittelwert  $\pm$  Standardfehler) durch sechs Nematodenarten in Einzelspezies-tests.  $n = 15$  (Fueser et al. 2019).

Kulturnematodenarten	0,5 µm	1 µm	6 µm
<i>Aphelenchoides parietinus</i>	-	-	-
<i>Panagrolaimus thienemanni</i>	$5,53 \pm 1,84$	-	-
<i>Poikilolaimus regenfussi</i>	$31,12 \pm 7,74$	$31,00 \pm 6,17$	-
<i>Plectus acuminatus</i>	$153,19 \pm 14,99$	$69,33 \pm 14,15$	-
<i>Caenorhabditis elegans</i>	$48,35 \pm 4,69$	$119,27 \pm 21,29$	-
<i>Pristionchus pacificus</i>	$15,87 \pm 3,02$	$23,58 \pm 6,29$	$0,46 \pm 0,14$

Im Projektzeitraum wurde deutlich, dass die Organismen (Nematoden und Rotatorien) das Mikroplastik nicht zielgerichtet, sondern mit der Nahrung aufnahmen. Beispielsweise nahmen Nematoden mehr

1  $\mu\text{m}$  PS Beads auf, je höherer die angebotene Mikroplastikkonzentration im Medium war (Fueser et al. 2019). In Übereinstimmung mit (Fueser et al. 2020a) zeigte sich, dass die im Verdauungstrakt freilebender Nematoden zu findende Anzahl von PS Beads ebenfalls mit abnehmender Expositionskonzentration sinkt (Fueser et al., 2020a). So waren bei einer Konzentration von  $10^7$  PS Beads  $\text{ml}^{-1}$  bei 56 % der Nematoden im Mittel noch ca. 43 Partikel zu finden, während bei  $10^5$  PS Beads  $\text{ml}^{-1}$  bei 23 % der Nematoden im Mittel noch ca. 2 Partikel und bei  $10^3$  PS Beads  $\text{ml}^{-1}$  nur noch bei 2 % der Nematoden im Mittel  $<1$  Partikel gefunden werden konnte.

Außerdem wurde in dem oben genannten Aufnahmeversuch von (Fueser et al. 2019) deutlich, dass bakterienfressende Nematoden vermehrt Mikroplastik aufnehmen, das eine ähnliche Größe wie dessen Futterbakterium *Escherichia coli* aufweist ( $\sim 1 \mu\text{m}$ ; Rauchschnalbe et al., 2021a). Ähnliche Ergebnisse konnten auch Drago et al. (2020) für die Rotatorienart *Brachionus calyciflorus* erzielen, welche vor allem PS-Beads aufnahmen, die in der Größenordnung ihrer Futteralge ( $\sim 3 \mu\text{m}$ ) lagen. So wurden kleinere Mikroplastikpartikel der Größe  $1 \mu\text{m}$  in aggregiertem Zustand vermehrt aufgenommen, wobei größere Partikel ( $6 \mu\text{m}$ ) als Einzelpartikel von den Rotatorien bevorzugt wurden (Abbildung 35). In gleicher Größenordnung mit dessen Futteralge nahmen die Rädertierchen in allen getesteten Kombinationen ähnliche viele  $3 \mu\text{m}$  PS-Beads auf, weshalb die Mikroplastikaufnahme hier unabhängig der Aggregation erfolgte.

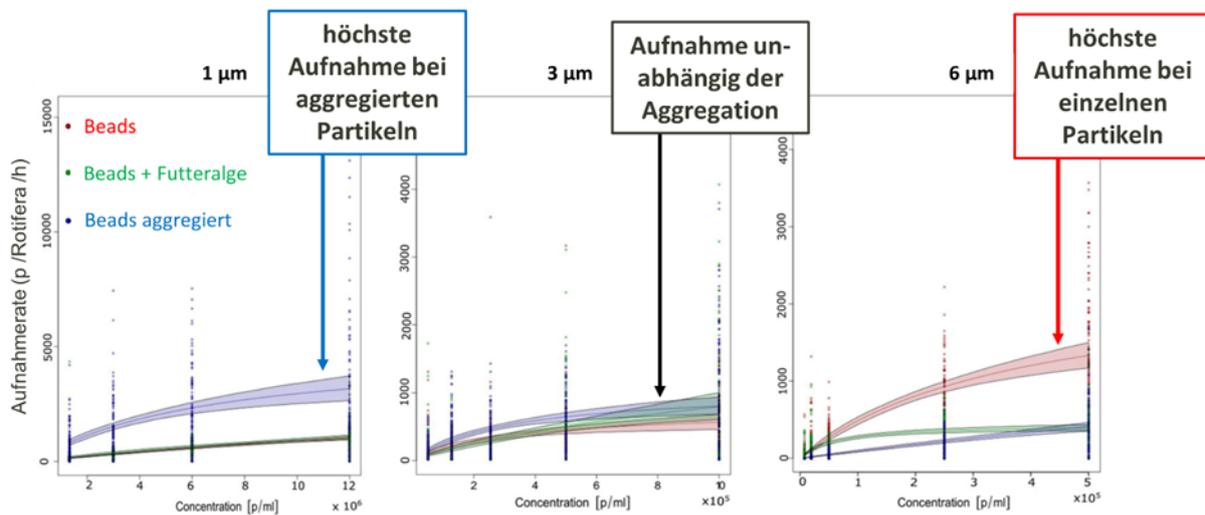


Abbildung 35: Aufnahme von PS-Beads durch das Rädertier *Brachionus calyciflorus* in Abhängigkeit der Aggregation; modifiziert aus Drago et al. (2020).

*Caenorhabditis elegans* nimmt als bakterienfressende Nematodenart die suspendierte Nahrung in flüssiger Umgebung über rhythmische Pumpbewegungen des Rachens (Pharynx) auf. Die Pumprate des Pharynx stellt dabei den wichtigsten Indikator für die Nahrungsaufnahme dar. Um zu überprüfen, ob *C. elegans* genauso schnell pumpt, wenn anstatt der üblichen Bakterien auch künstliche, gleich große

Partikel anwesend sind, wurde die Pumprate von *C. elegans* bei 6 verschiedenen Bakteriendichten (*Escherichia coli*:  $10^6$ – $10^{10}$  Zellen/ml) sowie synthetisch hergestellten Partikeln ( $10^7$ – $10^9$  Polystyrol- oder Silikatpartikel) gleicher Größe (1  $\mu\text{m}$ ) auf Gelrite-Pads beobachtet.

Bei Abwesenheit von Nahrung (nur Testmedium; entspricht K-Medium) lag die Basispumprate von *C. elegans* bei  $99 \pm 9$  Pumps/min, wobei bereits bei der niedrigsten Bakteriendichte ( $10^6$  *E. coli*/ml) die Pumprate um das 1,2-fache signifikant anstieg (Abbildung 36). Die Pumprate steigerte sich dann kontinuierlich mit zunehmender Bakteriendichte von  $123 \pm 14$  Pumps/min bei  $10^6$  *E. coli*/ml bis zur maximalen Pumprate von  $210 \pm 17$  Pumps/min bei  $10^9$  *E. coli*/ml.

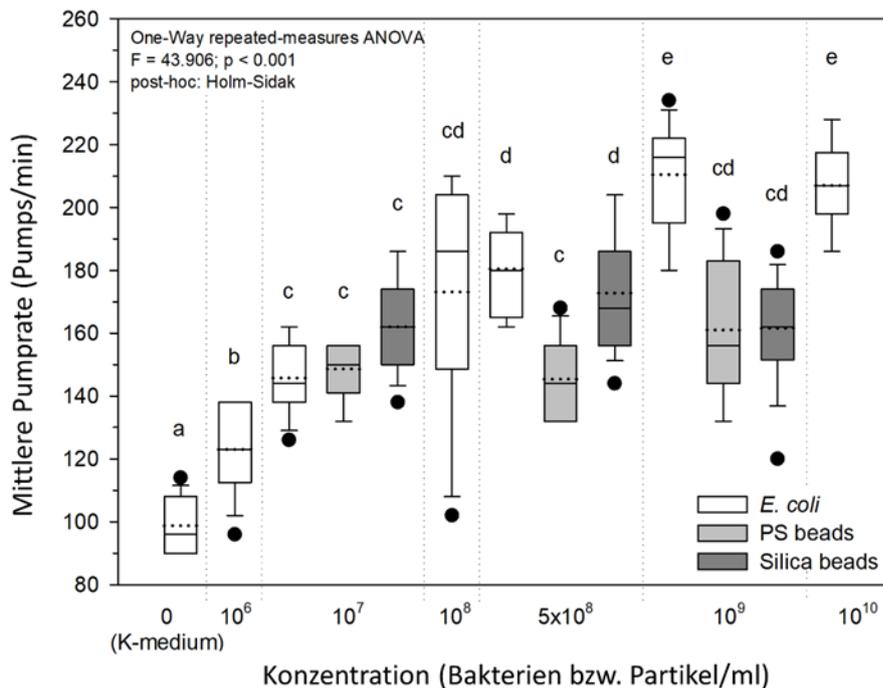


Abbildung 36: Durchschnittliche Pumpraten von *Caenorhabditis elegans* in Anwesenheit von Bakterien (*Escherichia coli*) und 1,0- $\mu\text{m}$ -Polystyrol- (PS) und Silikatpartikeln. Die durchschnittlichen Pumpraten von *C. elegans* wurden auf Gelrite®-Pads aufgezeichnet, die eine der folgenden Substanzen enthielten: 0 (reines K-Medium),  $10^6$  (nur *E. coli*),  $10^7$ ,  $10^8$  (nur *E. coli*),  $5 \times 10^8$ ,  $10^9$  und  $10^{10}$  (nur *E. coli*) Bakterien bzw. Partikel/ml.  $n = 15$ . Boxplots: unterschiedliche Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede hin (one-way repeated-measures ANOVA, Post-Hoc: Holm-Sidak-Methode,  $p < 0,05$ ). Der Median wird durch die durchgezogene Linie und der Mittelwert durch die gepunktete Linie dargestellt. Die Kästchen repräsentieren 50 % (Interquartilsbereich) und jeder Whisker 25 % der Daten. (SigmaPlot 12; Systat Software Inc., USA).

Auch in Anwesenheit von künstlichen Partikeln ( $10^7$  Partikel/ml) steigerten die Nematoden ihre Pumprate im Vergleich zum reinen Medium um das 1,5 bis 1,6-fache auf  $147 \pm 9$  (PS-Beads) und  $162 \pm 14$  (Silikat-Beads) Pumps/min (Abbildung 36). Auch mit Bakterien konnte bei dieser Konzentration keine höhere Steigerung der Pumprate erzielt werden ( $146 \pm 11$  Pumps/min). Mit zunehmenden Konzentrationen wurde deutlich, dass *C. elegans* seine Pumprate nur steigerte, wenn Bakterien im Medium waren. Während die Pumprate bei einer Konzentration von  $10^9$  Bakterien pro ml bei  $210 \pm 17$  Pumps/min lag, konnte für PS- und Silikatpartikel die Pumprate auch bei Erhöhung der Konzentration nicht weiter gesteigert werden (Abbildung 36).

Aus diesen Ergebnissen wird deutlich, dass bei steigenden Konzentrationen von synthetisch hergestellten oder natürlich vorkommenden Partikeln (ohne Nährwert) die Pumprate von *C. elegans* nicht erhöht wird, was ein Hinweis ist, dass die Nematoden die Bakterienzellen chemosensorisch wahrnehmen können. Zudem wird die Pumprate für Partikel mit geringem Nährwert auf eine Basisrate beschränkt, wodurch *C. elegans* verhindert, dass er durch hochfrequentes Pumpen Energie verschwendet, was aber dennoch ein Screening der Nahrungsqualität bei geringen Nahrungsmengen ermöglicht.

#### Mikroplastik-Aufnahme in verschiedenen Medien

Da viele Organismen der Meiofauna bzw. Nematodenarten in aquatischen Sedimenten beheimatet sind, sollte auch die Aufnahmefähigkeit von Mikroplastikpartikeln mit Nematoden in weiteren Medien (Gelrite und Sedimente) untersucht werden. Innerhalb eines Mehrgenerationenexperiments (Mueller et al., 2020a) wurde deutlich, dass Nematoden auch Mikroplastik im halbfesten Medium (Gelrite) als Verbindung zwischen Wasser und Sediment aufnehmen können. So nahmen alle drei Kultur-Nematodenarten über den Versuchszeitraum von 3 bis 24 Tagen ungehindert die PS Beads der Größe 1  $\mu\text{m}$  auf, wobei die Aufnahmefähigkeit zwischen den Arten variierte (Tabelle 5), was eine artspezifische Aufnahmefähigkeit bestätigt (Fueser et al., 2019). Im Körper von *C. elegans* wurden im Mittel ( $\pm$  Standardfehler)  $92 \pm 18$ , bei *Acrobelloides nanus*  $21 \pm 3$  und bei *P. acuminatus*  $91 \pm 15$  PS-Beads gefunden.

Außerdem zeigte sich, dass die Nematoden in Sedimenten deutlich später mit der Aufnahme der PS Beads begannen (Höss et al., 2022) als in vorangegangenen Studien bei der Exposition in Wasser beobachtet wurde (Fueser et al., 2020b). Erst nach 24 h konnten nennenswerte Zahlen an Beads im Körper gefunden werden ( $>1$ ; Abbildung 37). Anders als bei den Versuchen von Fueser et al. (2019) und Fueser et al. (2020b) wurden bei den Experimenten juvenile *C. elegans* des ersten Stadiums (J1) verwendet. Obwohl die Mundhöhle von J1-Nematoden mit  $1,3 \pm 0,1 \mu\text{m}$  theoretisch groß genug ist, um 1- $\mu\text{m}$  PS Beads aufzunehmen (Mueller et al., 2020b), ist eine ungehinderte Aufnahme erst ab der 3,6-fachen Größe der Mundhöhle im Verhältnis zum Partikel möglich (Fueser et al., 2020b). Dies deutet darauf hin, dass die Nematoden und damit ihre Mundhöhle erst wachsen müssen, um PS-Beads ungehindert aufnehmen zu können.

Tabelle 5: Aufnahme von 1  $\mu\text{m}$  Polystyrolpartikeln durch drei Nematodenarten in Multigenerationen Experimenten. Mittlere Anzahl  $\pm$  Standardfehler an aufgenommenen PS-Beads von *Caenorhabditis elegans* ( $n = 5-10$ ), *Acroboloides nanus* ( $n = 6-10$ ) und *Plectus acuminatus* ( $n = 4-10$ ) an den verschiedenen Unterproben tagen sowie der gesamte Mittelwert für alle Proben tagen; aus Mueller et al. 2020a.

Zeit (Tage)	<i>C. elegans</i>	<i>A. nanus</i>	<i>P. acuminatus</i>
3	93,5 $\pm$ 18,7		
6	40,0 $\pm$ 9,8		
7			31,0 $\pm$ 5,8
9	34,5 $\pm$ 11,4		
12	76,0 $\pm$ 15,3	18,6 $\pm$ 6,5	
14			85,3 $\pm$ 20,7
15	114,2 $\pm$ 19,3		
18	184,1 $\pm$ 45,7	13,1 $\pm$ 4,0	
21	100,8 $\pm$ 20,8		91,5 $\pm$ 17,4
24		18,0 $\pm$ 4,6	
27		33,6 $\pm$ 8,8	
28			60,0 $\pm$ 16,8
31		12,8 $\pm$ 7,9	
35		16,9 $\pm$ 3,9	74,6 $\pm$ 9,8
38		28,8 $\pm$ 5,6	
42		16,6 $\pm$ 4,2	152,0 $\pm$ 40,8
45		23,8 $\pm$ 9,8	
49		41,1 $\pm$ 9,1	142,5 $\pm$ 26,2
56		11,2 $\pm$ 4,3	
<b>Mittelwert</b>	91,9 $\pm$ 17,7	21,3 $\pm$ 2,7	91,0 $\pm$ 15,1

Werden die verschiedenen Sedimente miteinander verglichen, sind auch deutliche Unterschiede hinsichtlich der Mikroplastikaufnahme zu erkennen. In den meisten Sedimenten (Ausnahme Sedimenttyp EC1) kann bis 72 h eine langsame Aufnahme, zwischen 72 und 96 h dann eine schnellere Aufnahme beobachtet werden. Ein Fließgleichgewicht mit dem Außenmedium scheint sich auch nach 96 h noch nicht eingestellt zu haben, da die Kurven noch nicht in die Sättigung gehen. Am Ende des Versuchs (nach 96 h) wurden in den Sedimenten Quarzsand (SS), künstliches Kontrollsediment (ISO; nach ISO 10872) und Furlbach (FB) >100 Beads, in dem belgischen Sediment (Steekputbeek; SB) 65 Beads und im schweizerischen Sediment aus der Rhone (SC) <20 Beads durchschnittlich in jedem Nematoden gefunden. Die geringe Aufnahme in EC1-Sediment kann evtl. durch eine etwas schlechtere Entwicklung

der Nematoden in diesem Sediment im Vergleich zu den anderen Sedimenten erklärt werden. Die geringere Bead-Aufnahme in SB im Vergleich zu SS, ISO und FB könnte hingegen mit der feineren Korngröße von SB im Vergleich zu den anderen Sedimenten erklärt werden (stärkere Verdünnung der Beads mit Sedimentpartikeln  $< 2 \mu\text{m}$ ).

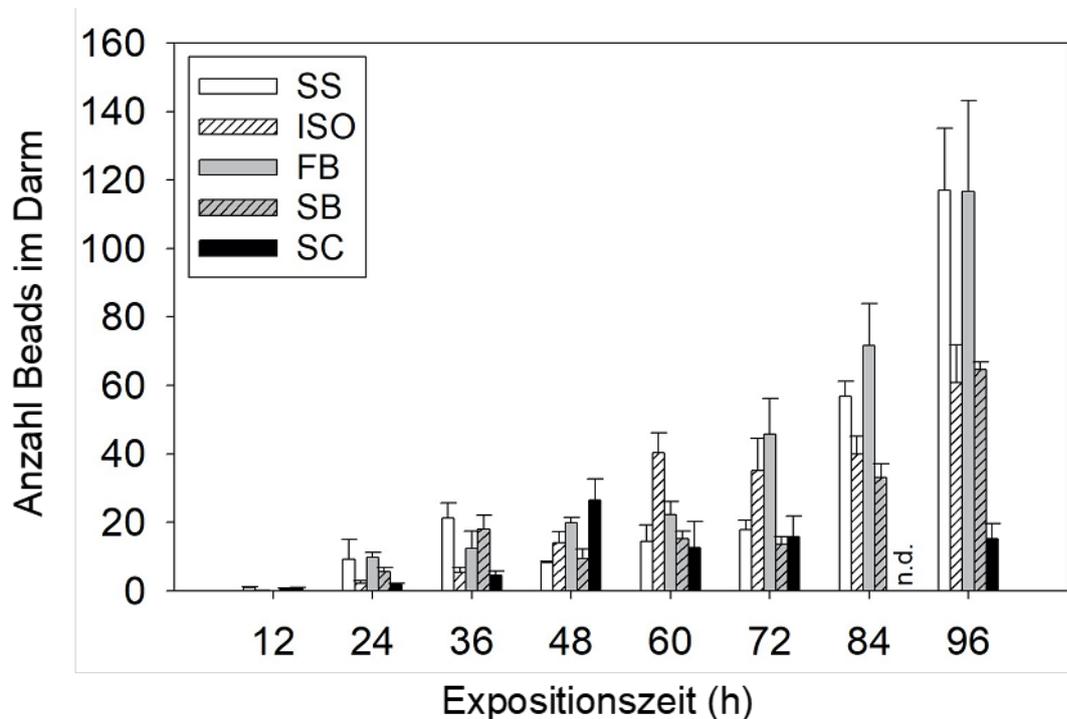


Abbildung 37: Anzahl (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) von 1- $\mu\text{m}$  PS-Beads im Darm von *C. elegans* mit zunehmender Expositionszeit in Wasser und verschiedenen Sedimenten, die mit  $10^7$  Beads/ml bzw. g Sediment (Nassgewicht) dotiert wurden. Diese Aufnahmeversuche wurden in 5 verschiedenen Sedimenttypen (Quarzsand [SS], künstliches Kontrollsediment [ISO] nach ISO 10872, sowie 3 natürlichen Sedimenten aus dem Furlbach [FB], der Rhone [Schweiz; SC] und dem Steekputbeek [Belgien; SB]) und zum Vergleich auch in Wasser durchgeführt; modifiziert nach Höss et al. (2022).

### 3.3.1.2 Ausscheidung von Mikroplastik: Verweildauer im Organismus

Unabhängig von ihrem Aufnahmeweg unterliegen Mikroplastikpartikel der Translokation durch den Verdauungstrakt des Organismus (wo sie innere Organe verletzen können und vom Kreislaufsystem weiter aufgenommen werden können), der Akkumulation oder der Abgabe (z.B. Bour et al., 2020; Briar, 2007; Cole et al., 2013; Frydkjær et al., 2017; Triebskorn et al., 2019).

Die Aufnahme und Abgabe von PE-Fasern (Länge der Fasern) wurde daher unter anderem anhand eines Makrozoobenthos-Vertreter, des Flohkrebse *Gammarus roeselii*, im Projektzeitraum untersucht. Dabei konnte ein Anstieg der Ingestion und Egestion von Mikrofasern in Abhängigkeit der Körpergröße festgestellt werden. Weiterhin zeigte sich, dass Gammariden in der Lage sind, mehrere PE-Fasern aufzunehmen, die länger als ihre Körperlänge sind, was wichtige Informationen zur Aufnahme von Mikroplastik in Gewässern durch das Makrozoobenthos liefert (Abbildung 38).

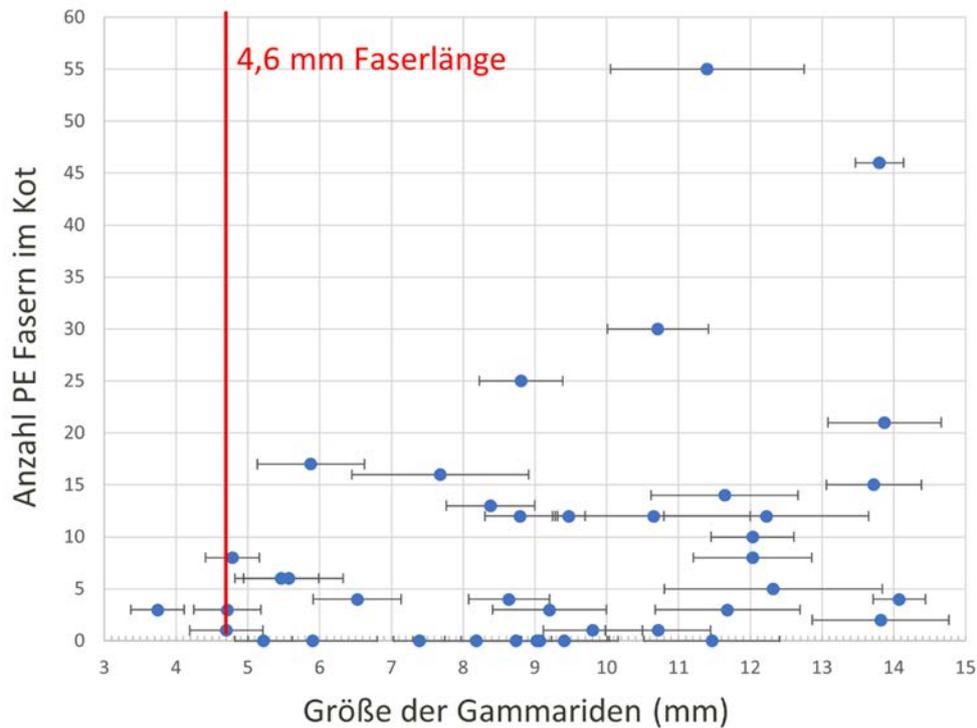


Abbildung 38: Anzahl ausgeschiedener PE-Fasern in Abhängigkeit der Körpergröße von Gammarus roeseli.

Da in den vorangegangenen reinen Aufnahme-Experimenten deutlich wurde, dass Nematoden und Rotatorien Mikroplastik in bestimmten Größen aufnehmen können, wurde im Folgenden die Geschwindigkeit der Aufnahme und Ausscheidung von Mikroplastik im plastikfreien Medium untersucht. Dazu wurden stellvertretend zwei hinreichend etablierte und bakterienfressende Nematoden, *Caenorhabditis elegans* und *Pristionchus pacificus*, und das Rädertier *Brachionus calyciflorus* untersucht. Die Aufnahme und Ausscheidung von Mikroplastik (0,5 und 1  $\mu\text{m}$  PS Beads für Nematoden und 1, 3, und 6  $\mu\text{m}$  Beads für Rotatorien) wurde in einer Zeitreihe quantifiziert. Bei Nematoden wurde bereits nach 30 Minuten die maximale Anzahl von Polystyrolpartikeln beider Größen (0,5  $\mu\text{m}$ :  $70 \pm 18$  [Mittelwert  $\pm$  Standardfehler]; 1  $\mu\text{m}$ :  $203 \pm 15$ ) in *C. elegans* gefunden. Die Nematodenart *P. pacificus* nahm am meisten 0,5  $\mu\text{m}$  Polystyrolpartikel ( $28 \pm 2$ ) und 1  $\mu\text{m}$  Polystyrolpartikel ( $69 \pm 4$ ) nach 200 Minuten auf. Beide Arten nahmen mehr 1  $\mu\text{m}$  als 0,5  $\mu\text{m}$  große Polystyrolpartikel auf. Zwischen beiden Arten konnten artspezifische Unterschiede bezüglich ihrer Aufnahme festgestellt werden. Die Abgabe von runden PS-Beads beider Größen in plastik-freiem Medium folgte einer exponentiellen Abnahme bei beiden Modellarten. Innerhalb der ersten 20 bis 40 Minuten konnten nahezu alle zuvor aufgenommenen PS Beads wieder ausgeschieden werden. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch für *Brachionus calyciflorus* gefunden: Binnen einer Stunde wurde der Großteil der aufgenommenen Beads bereits wieder in partikelfreies Medium ausgeschieden. Man kann davon ausgehen, dass die Ausscheidung bei Anwesenheit von Futteralgen beschleunigt wird.

Es konnte geschlossen werden, dass runde PS Beads eine hohe Aufnahme- und Abgaberate bei gleichzeitiger hoher Abgaberate aufweisen (Abbildung 39) und demnach den Darm der Tiere sehr schnell passieren. Das heißt, bei konstanter Umweltkonzentration pendelt sich nach Beginn der Abgabe eine Netto-Konzentration an Mikroplastik in den Tieren ein. Auch an der Plastikoberfläche adsorbierte Schadstoffe können auf diese Weise gleichzeitig in die Organismen gelangen (Verla et al. 2019), wodurch Konsumenten durch die kontinuierliche Darmpassage vieler mikroskopisch kleiner Partikel potenziell diesen Schadstoffen zusätzlich ausgesetzt sind. Doch für dieses regulär geformte Mikroplastik konnte kein Akkumulationspotential bei Nematoden und Rotatorien ausfindig gemacht werden. Allerdings werden sich die Aufnahme- und Ausscheidungsraten von unregelmäßig geformtem Mikroplastik (z. B. Fragmente, Fasern) vermutlich stark von denen der runden PS Beads unterscheiden, so dass bei einer verringerten Ausscheidungsleistung durch das irregulär geformte Mikroplastik auch die Anzahl des im Körper gefundenen Mikroplastiks deutlich höher sein wird. Tatsächlich wurde beim Wasserfloh *Daphnia magna* eine langsamere Egestion von unregelmäßig geformten 10- bis 75- $\mu\text{m}$ -PE-Fragmenten als von kugelförmigen 10- bis 106- $\mu\text{m}$ -PE-Beads beobachtet (Frydkjær et al. 2017).

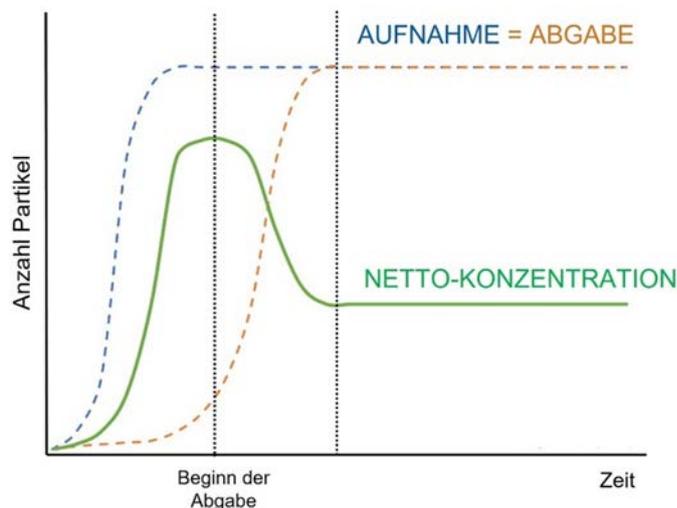


Abbildung 39: Theoretisches Modell der Aufnahme und Ausscheidung von PS Beads durch Nematoden. Modifiziert nach Fueser et al. (2020b).

### 3.3.1.3 Quantifizierung ökotoxikologischer Effekte von Mikroplastik-Partikel auf aquatische Invertebraten

Mikroplastik-Aufnahme durch Organismen unter realistischen Expositionsbedingungen: Relevanz für einen Transfer von Mikroplastik im Nahrungsnetz

In einem abschließenden Schritt wurden sowohl meiobenthische als auch planktische Gemeinschaften (bestehend aus Nematoden, Rotatorien, Chironomidenlarven, Copepoden, Cladoceren) in kleinen Mikrokosmen („Pikokosmen“ für Nematoden) Mikroplastikpartikeln ausgesetzt (Fueser et al. 2020a). In der benthischen Studie zeigte sich nach der Untersuchung von 419 Individuen (davon 46 Arten), dass

PS Beads sehr schnell durch eine Vielzahl von natürlich vorkommenden Nematodenarten aufgenommen werden können. Bereits nach einem Tag konnten in etwa 30 % aller Individuen und in mehr als 50 % aller Arten unabhängig von der Expositionszeit PS Beads der Größe 1 µm im Verdauungstrakt detektiert werden. Wie auch bereits aus Experimenten mit Nematodenarten aus Kultur bestätigte sich auch hier, dass pilzfressende Nematoden in der Natur keine Mikroplastikpartikel  $\geq 0,5$  µm aufnehmen können. Etwa 96 % aller Arten mit PS Beads im Verdauungstrakt waren bakterienfressende und 4 % algenfressende Nematodenarten.

Nach einer Untersuchung von 156 Individuen (verteilt auf 21 Arten) zeigte sich, dass die Aufnahme von verschiedenen Partikelgrößen ebenfalls von der Ernährungsform der Nematoden abhängt. Größen von 0,5–1 µm wurden am meisten von bakterienfressenden Arten wie *Eumonhystera vulgaris*, *Plectus opisthocirculus*, *Plectus parvus* und *Ceratoplectus armatus*, die Größe 3 µm von *E. vulgaris*, *Plectus aquatilis* und *Achromadora ruricola* (algenfressende Art) und die Größen  $>6$  µm von räuberischen Arten (*Mononchus*, *Anatonchus*, *Prionchulus*) aufgenommen. Neben bakterien- und algenfressenden Nematodenarten sind somit räuberische Arten ebenfalls von einer Mikroplastikaufnahme betroffen.

Nicht nur freilebende Nematoden waren in der Lage, Mikroplastikpartikel aufzunehmen, sondern auch Rotatorien, Copepoden und Chironomidenlarven (Abbildung 40). Durch bereits nachgewiesene Nahrungsnetzinteraktionen zwischen diesen genannten Organismengruppen (Ptatscheck et al. 2015; Weber & Traunspurger, 2015, 2014a, 2014b) kann das in der Umwelt am Gewässergrund abgesunkene Mikroplastik wieder in das pelagische System zurückgebracht werden. Ein weiterer interessanter Hinweis ergab sich aus der Studie von (Setyorini et al. 2021), in der die Mitnahme von Mikroplastik aus den Chironomidenlarven in die Adultphase dieser Zuckmücken nachgewiesen wurde, was demnach auf eine aquatisch-terrestrische Kopplung hindeutet.

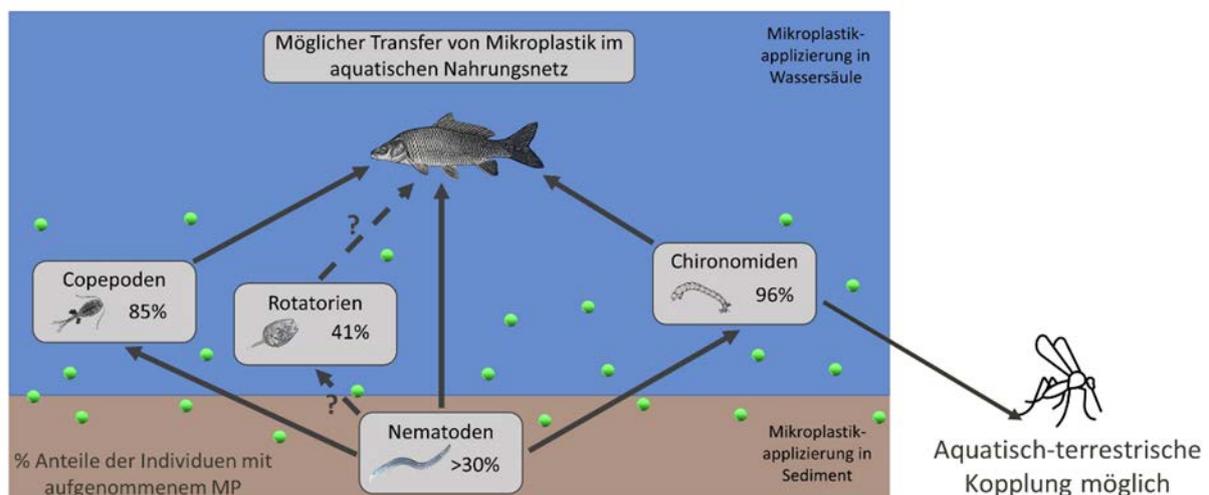


Abbildung 40: Aufnahme von Mikroplastik durch freilebende Meiofaunaorganismen sowie potenzieller Mikroplastiktransfer im aquatischen Nahrungsnetz; aus Rauchschalbe et al. (2021b).

In der planktischen Studie wurden die Befunde der benthischen Studie bestätigt bzw. ergänzt. Der Großteil der vorhandenen Tiere aus den unterschiedlichen Gruppen (Rotatorien, Cladoceren, Copepoden, Ostracoden) nahm bei Angebot hoher Mikroplastikkonzentrationen beads in alle angebotenen Größen (1, 3, 6  $\mu\text{m}$ ) auf. Bei niedrigen Konzentrationen sank der Anteil der Tiere, die Polystyrolpartikel aufgenommen haben: Der höchste Prozentsatz (ca. 40 %) wurde bei Cladoceren gefunden. Dies lässt sich mit der unselektiven, filtrierenden Ernährungsweise erklären. Konsumenten, die eher Beutegreifer sind können bei niedrigen Bead-konzentrationen offensichtlich teilweise die Aufnahme vermeiden (Drago & Weithoff, submitted).

Nematoden: Wirkung von sphärischen Polystyrol-Partikeln verschiedener Größe auf *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in wässrigem Medium (siehe auch Mueller et al., 2020)

Sphärische Polystyrol (PS)-Partikel (Microspheres; Polysciences, Inc., Hirschberg, Deutschland) wurden in 6 verschiedenen Größen (Durchmesser: 0,1; 0,5; 1; 3; 6 und 10  $\mu\text{m}$ ) mit dem standardisierten Toxizitätstest mit *C. elegans* (nach DIN ISO 10872:2021; DIN, 2012) untersucht (siehe Tabelle 3). Als Material wurde in einem ersten Schritt aus folgenden Gründen Polystyrol verwendet: (1) PS-Partikel werden vor allem in Süßwassersedimenten häufig gefunden (Klein et al. 2015) und sind deshalb für benthische Organismen relevant; (2) PS-Partikel haben eine spezifische Dichte von  $> 1 \text{ g/ml}$  und sinken deshalb ins Sediment; (3) PS-Partikel, vor allem im Nano- bis Mikromaßstab (0,1 bis 10  $\mu\text{m}$ ) sind einfach kommerziell zu erwerben. Um Toxizitätsschwellenwerte (Konzentrationen bei einer mittleren (50 % Hemmung) und geringen (10 % Hemmung) Wirkung) ermitteln zu können, wurden Konzentrationsreihen für die Partikel hergestellt (Konzentrationsbereich: siehe Tabelle 6). Für *C. elegans* wurden zwei subletale Toxizitätspunkte verwendet: Wachstum und Reproduktion. Die Tests wurden nach DIN ISO 10872:2012 durchgeführt. Die Organismen wurden den Partikeln in wässrigem Medium (Phosphatpuffer) in Anwesenheit von Bakterien als Futter (*E. coli* OP50; 500 FAU entspricht ca.  $10^9$  Bakterien/ml) für 96 Stunden exponiert. Die Exposition deckt einen gesamten Generationszyklus vom ersten Juvenil-Stadium (J1) bis zum erwachsenen Hermaphroditen, der bereits wieder reproduziert hat.

Tabelle 6: Für Toxizitätstests verwendete Mikroplastik-Partikel; PS = Polystyrol; Daten aus Mueller et al. (2020b).

Durchmesser ( $\mu\text{m}$ )	Polymer	Volumen/Partikel ( $\mu\text{m}^3$ )	Masse/Partikel (pg)	Konzentrationsbereich ( $\text{mg l}^{-1}$ )
0,1	PS	0,000524	0,000549	0,02 – 0,64
0,5	PS	0,0654	0,0687	0,11 – 3,4
1	PS	0,524	0,549	0,074 – 2,0
3	PS	14,1	14,9	0,23 – 6,3
6	PS	113	119	0,39 – 6,3
10	PS	524	549	0,39 – 6,3

Die PS-Partikel aller Größen zeigten bei relativ hohen Konzentrationen deutliche dosis-abhängige Effekte auf die Reproduktion von *C. elegans* (Tabelle 7), obwohl die größeren Partikel (6 und 10  $\mu\text{m}$ ) auf Grund der kleinen Mundhöhle (ca. 4  $\mu\text{m}$  Mundhöhlenbreite) von adulten *C. elegans* gar nicht aufgenommen werden können (siehe oben). Bezogen auf Partikeldichte (Partikel/ml) und PS-Konzentration (mg PS/ml), zeigten sich deutliche Unterschiede in den Wirkschwellen zwischen den verschiedenen Partikelgrößen. Für die Partikeldichte erstreckten sich die Effektkonzentrationen, bei der eine 50%ige Hemmung der Reproduktion hervorgerufen wurde (= EC50) über vier Größenordnungen, wobei die EC50-Werte mit zunehmender Partikelgröße abnahmen (Abbildung 41a; Tabelle 7). Bezogen auf die PS-Konzentration betrug der Bereich immer noch mehr als zwei Größenordnungen, wobei die EC50-Werte mit zunehmender Partikelgröße zunahmen (Abbildung 41b; Tabelle 7). Bezieht man die Wirkung auf die Gesamtoberfläche aller Partikel im Testsystem, sieht man, dass sich alle Datenpunkte mit einer Dosis-Wirkungskurve beschreiben lassen (Abbildung 41c). Unabhängig von der Partikelgröße beobachtet man bei 54  $\text{cm}^2 \text{ml}^{-1}$  Gesamtoberfläche aller Partikel eine 50%ige Hemmung der Reproduktion.

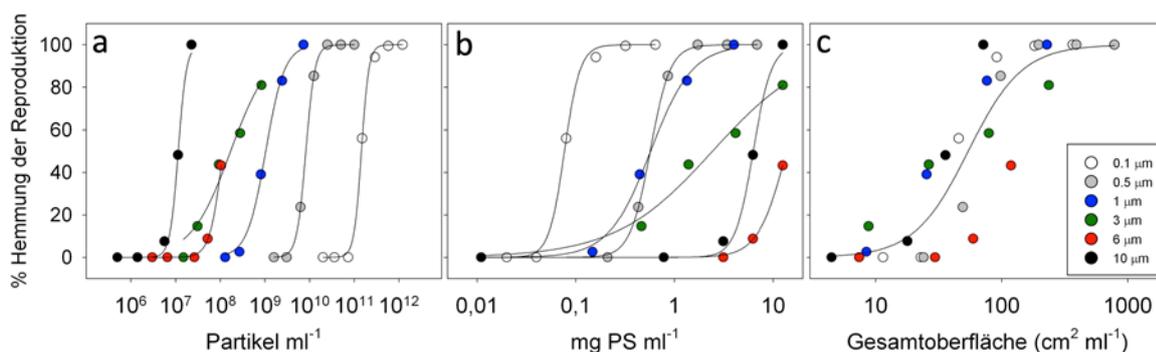


Abbildung 41: Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Wirkung von Polystyrol-(PS)-Beads auf die Reproduktion von *Caenorhabditis elegans* nach 96 h Exposition in wässrigem Medium (die Kurven wurden mit einem sigmoidal-logistischen Modell an Datenpunkte angepasst); die Hemmung der Reproduktion wurde dabei gegen (a) die Partikeldichte (Partikel  $\text{ml}^{-1}$ ), (b) die Polystyrol-Konzentration (mg  $\text{ml}^{-1}$ ) und die Gesamtoberfläche aller Partikel pro Volumen ( $\text{cm}^2 \text{ml}^{-1}$ ) aufgetragen; modifiziert nach Mueller et al. (2020b).

Tabelle 7: EC50-Werte für die Wirkungen der verschiedenen Partikel auf die Reproduktion von *C. elegans*, bezogen auf Partikeldichte (part  $\text{ml}^{-1}$ ) und Polystyrol-Konzentration (mg PS  $\text{ml}^{-1}$ ), sowie statistische Kennwerte für die Qualität der Anpassung der Dosis-Wirkungskurven an die Daten (signifikant:  $p < 0.05$ ;  $r^2$  = Regressionskoeffizient).

Partikeldurchmesser	EC50		Replikanzahl (n)	p	$r^2$
	part $\text{ml}^{-1}$	mg PS $\text{ml}^{-1}$			
0.1 $\mu\text{m}$	$1,4 \cdot 10^{11}$	0,077	4	<0,001	0,998
0.5 $\mu\text{m}$	$8,3 \cdot 10^9$	0,56	4	<0,001	1,000
1.0 $\mu\text{m}$	$1,0 \cdot 10^9$	0,57	4	0,0024	0,997
3.0 $\mu\text{m}$	$1,7 \cdot 10^8$	2,4	4	0,0146	0,985
6.0 $\mu\text{m}$	$1,5 \cdot 10^8$	13,7	4	0,0010	0,999
10.0 $\mu\text{m}$	$1,5 \cdot 10^7$	6,3	4	0,0042	0,996

Wirkung von sphärischen Polystyrol-Partikeln (1- $\mu\text{m}$ ) auf *Caenorhabditis elegans* in verschiedenen Süßwassersedimenten (siehe auch Höss et al., 2022)

Da viele Nematodenarten in aquatischen Sedimenten beheimatet sind, sollte auch die Interaktion von Mikroplastik-Partikeln mit Nematoden (Aufnahme; Wirkung) im Sediment untersucht werden. Hierfür wurden Toxizitätstests (DIN EN ISO 10872:2021) in fünf verschiedenen Sedimenttypen durchgeführt: in zwei künstlichen Sedimenten (Quarzsand [SS], Kontrollsediment nach ISO 10872 [ISO]), sowie in drei natürlichen Sedimenten aus dem Furlbach [FB], der Rhone [Schweiz; SC] und dem Steekputbeek [Belgien; SB]). In Tabelle 8 sind einige physiko-chemische und ökotoxikologische Daten der Sedimente zusammengefasst.

Tabelle 8: Beschreibung der Sedimente, die mit 1- $\mu\text{m}$  PS Beads dotiert wurden; mittlerer TEC-Q: mittlerer Quotient aus gemessenen Sedimentkonzentrationen von prioritären Schadstoffen (Metalle, PAKs, PCBs) und der jeweiligen Sediment-Umweltqualitätsnorm (SQG nach de Deckere et al., 2011; n.b. = nicht bestimmt); Informationsquellen: SS: Hersteller: <https://www.quarzwirke.com>; ISO: ISO (2020); FB: Brüchner-Hüttemann et al. (2021); SB: Persönliche Information Raf Elst, Flanders Environment Agency, Alst, Belgium; SC: Beauvais et al. (2020); Daten aus Höss et al. (2022).

Parameter	SS	ISO	FB	SB	SC
	silica sand	ISO 10872	Furlbach	Steekputbeek	Stockalper Channel
<b>River Coordinates</b>	artificial sediments		51.895223° N; 8.715505° E	50.723347° N; 4.284685° E	46.25627° N; 6.97728° E
<b>Total organic carbon (TOC)</b>	% < 0,1	2,10	< 0,1	1,65	2,72
<b>Fine fraction (&lt;63 <math>\mu\text{m}</math>)</b>	% 1	59	0,4	39,8	49,5
<b>Clay (&lt;2 <math>\mu\text{m}</math>)</b>	%	4,5		4,2	0,4
<b>Silt (2 – 63 <math>\mu\text{m}</math>)</b>	%	54,5		35,6	49,1
<b>Sand (63 – 2000 <math>\mu\text{m}</math>)</b>	% 99	41	99,5	60,2	50,5
<b>fine (63 – 250 <math>\mu\text{m}</math>)</b>	% 97	41	26,0		43,1
<b>medium (250 – 500 <math>\mu\text{m}</math>)</b>	% 2		71,8		6,7
<b>coarse (500 – 2000 <math>\mu\text{m}</math>)</b>	% 0		1,6		0,7
<b>mean TEC-Q</b>	n.b.	n.b.	0,21	1,2	1,1

Bezieht man die Wirkung der 1- $\mu\text{m}$  PS-Beads auf die PS-Konzentration im Sediment, kann man sehen, dass die Nematoden in allen Sedimenten ähnlich auf die Beads reagieren (EC50-Werte von 4,8 bis 11,3 mg/g Sediment TG; Abbildung 42a; Tabelle 9). Die Nematoden reagierten damit empfindlicher auf PS-Partikel als makrobenthische Arten (*Gammarus pulex* als empfindlichste Art: 35 mg/g Sediment TG; Redondo-Hasselerharm et al. 2018), obwohl diese Effekt-Konzentrationen immer noch höher sind als Mikroplastikkonzentrationen, die in Sedimenten tatsächlich gefunden wurden (Scherer et al., 2020). Wird die Wirkung aber auf das Verhältnis von Beads zu Bakterien bezogen, verschwindet der Unterschied zwischen Sediment und Wasser (EC50: 0,79 – 1,50 Beads/Bakterien; Abbildung 42, Tabelle 9). Dies ist ein Hinweis darauf, dass auch im Sediment die Wirkung durch eine Verringerung der Futterverfügbarkeit hervorgerufen wurde (siehe oben).

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Wirkung der PS-Beads im Sediment mit der Aufnahme der Beads in den Verdauungstrakt zusammenhängt. Je mehr Beads nach 96 h im Verdauungstrakt der Nematoden gefunden wurde, desto höher war auch die Toxizität im entsprechenden Sediment (Abbildung 43). Dieser Zusammenhang ist ein weiteres Indiz dafür, dass die Wirkung der Beads durch eine geringere Futterverfügbarkeit erklärt werden kann. Eine vermehrte Aufnahme von Beads bedeutet gleichzeitig eine reduzierte Aufnahme von Futterbakterien (siehe oben).

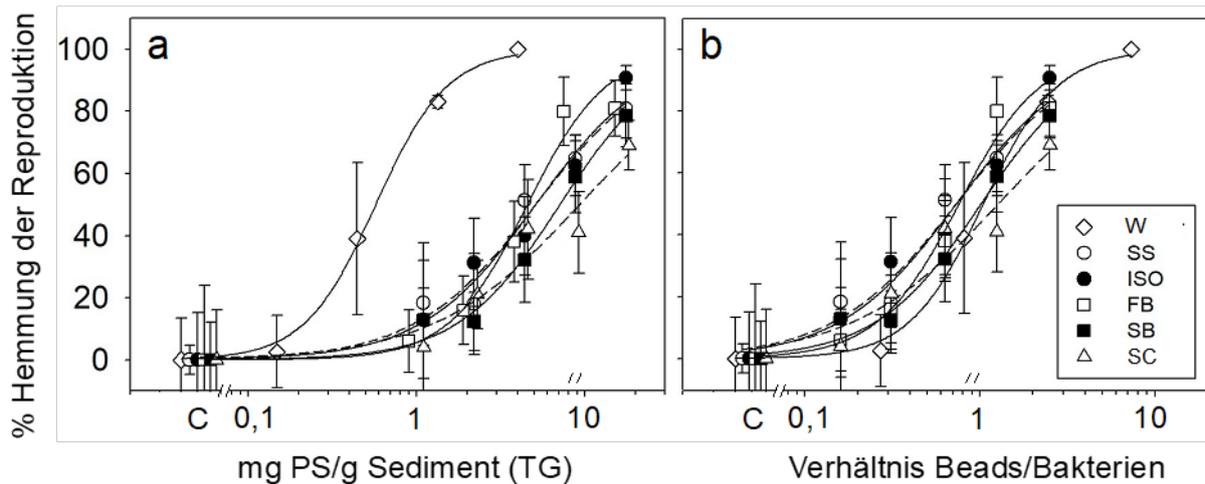


Abbildung 42: Hemmung der Reproduktion (%) von *C. elegans* nach 96 h Exposition in verschiedenen Sedimenten, die mit 1- $\mu$ m PS-Beads dotiert wurden; bezogen auf (a) die PS-Konzentration im Sediment und (b) das Verhältnis der Anzahl von Beads und Bakterien im Testsystem; für (b) wurden Wirkungsdaten aus Versuchen mit Wassereexposition (W) (Mueller et al. 2020b) zum Vergleich dazu genommen; modifiziert nach Höss et al. (2022).

Tabelle 9: Effektkonzentrationen (EC10 und EC50; Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung) berechnet auf Grundlage des Sediment-Trockengewichts (mg PS /g Trockengewicht [TG]; links) und des Verhältnisses von PS-Beads zu Bakterien (rechts); unterschiedliche Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede innerhalb einer Spalte ( $\%Z\% < 1.645$ ); Daten aus Höss et al. (2022).

Sedi- ment	Sedimentkonzentration mg/g TG		Verhältnis Beads/Bakterien	
	EC10	EC50	EC10	EC50
SS	0,87 ( $\pm$ 0,72) <sup>AB</sup>	6,0 ( $\pm$ 3,8) <sup>A</sup>	0,12 ( $\pm$ 0,10)	0,83 ( $\pm$ 0,54)
ISO	0,99 ( $\pm$ 0,77) <sup>AB</sup>	5,9 ( $\pm$ 3,6) <sup>A</sup>	0,13 ( $\pm$ 0,11)	0,87 ( $\pm$ 0,57)
FB	1,4 ( $\pm$ 0,72) <sup>A</sup>	4,8 ( $\pm$ 1,7) <sup>A</sup>	0,22 ( $\pm$ 0,11)	0,79 ( $\pm$ 0,27)
SB	1,6 ( $\pm$ 0,84) <sup>A</sup>	8,0 ( $\pm$ 3,6) <sup>A</sup>	0,22 ( $\pm$ 0,11)	1,1 ( $\pm$ 0,47)
SC	2,0 ( $\pm$ 2,5) <sup>AB</sup>	11,3 ( $\pm$ 14,9) <sup>A</sup>	0,30 ( $\pm$ 0,39)	1,5 ( $\pm$ 1,9)
Wasser	0,19 ( $\pm$ 0,04) <sup>B</sup>	0,57 ( $\pm$ 0,05) <sup>B</sup>	0,35 ( $\pm$ 0,06)	1,1 ( $\pm$ 0,10)

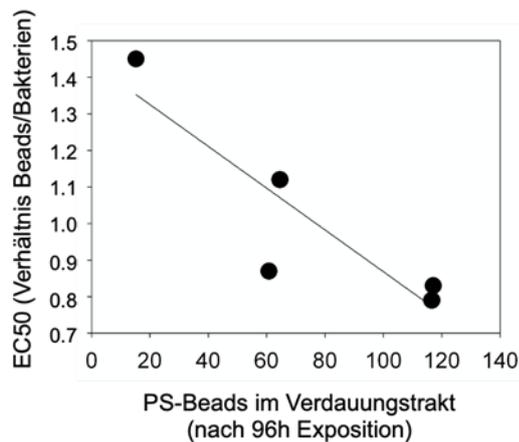


Abbildung 43: Zusammenhang der Wirkung (EC50 bezogen auf das Verhältnis von Beads/Bakterien) der 1  $\mu\text{m}$ -PS-Beads mit deren Anzahl im Verdauungstrakt von *C. elegans* nach 96 h Exposition ( $r^2 = 0.79$ ,  $p = 0.047$ ).

Wirkung von diversen Mikroplastik-Typen (verschiedene Polymere, Formen, Größen) auf *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in wässrigem Medium und Sediment

Auch Mikropartikel aus anderen Polymeren als Polystyrol und anderen Formen als Beads sollten im Rahmen dieses Projekts hinsichtlich ihrer Wirkung auf *C. elegans* untersucht werden. Toxizitätstests mit Polyamid-Partikeln (PA; Fragmente mit einem Durchmesser von 5 bis 50  $\mu\text{m}$ ; Fasern: 104  $\times$  14  $\mu\text{m}$ ), Teflon-Partikeln (Polytetrafluorethylen, PTFE; Fragmente mit einem Durchmesser von 0.2 bis 0.3  $\mu\text{m}$ ), sowie Polyethylenterephthalat-Partikel (PET; Fragmente mit einem Durchmesser von 2 bis 100  $\mu\text{m}$ ). Wie aus den Ergebnissen der Versuche mit PS-beads erwartet, reagierten die Nematoden deutlich empfindlicher auf die PTFE-Fragmente als auf die 100 bis 300-mal größeren PA-Fragmente und -Fasern und PET-Fragmente (Abbildung 44A), auch wenn die EC50-Werte z.T. niedriger waren als die Durchmesser der Partikel erwarten ließen (PA: 2.7 mg/ml; PTFE: 0.061 mg/ml; vergleiche mit Werten für PS-Beads in Tabelle 7). Bezieht man die Wirkung der Partikel auf die Gesamtoberfläche aller Partikel im Testsystem, kann man, wie bei den PS-Beads (Abbildung 41C und Abbildung 42C), auch für die Fragmente sehen, dass die Dosis-Wirkungskurven zusammenrutschen (Abbildung 44), die Oberflächenbezogenen Toxizitätsschwellenwerte also unabhängig von Material und Größe der Partikel sind. Im Vergleich zu PS-Beads, die einen größen-unabhängigen  $\text{EC}_{50\text{Oberfläche}}$  von 54  $\text{cm}^2/\text{ml}$  aufwiesen, zeigten die PA-, PET- und PTFE-Fragmente einen 10-mal geringeren größen-unabhängigen  $\text{EC}_{50\text{Oberfläche}}$  von 5,9  $\text{cm}^2/\text{ml}$ , während die PA-Fasern einen den PS-Beads sehr ähnlichen  $\text{EC}_{50\text{Oberfläche}}$  zeigten (67  $\text{cm}^2/\text{ml}$ ). Es kann zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht aufgeklärt werden, ob dieser Unterschied tatsächlich von einer anderen Wirkung der Fragmente im Vergleich zu den sphärischen PS-Partikeln herrührt (z.B. Verletzungen im Darm). Die Unterschätzung der Oberfläche von Fragmenten, die, im Vergleich zu Fasern und Beads, keine glatten, sondern etwas zerklüftete Oberflächen aufweisen können, könnte ein weiterer plausibler Grund für den Unterschied sein.

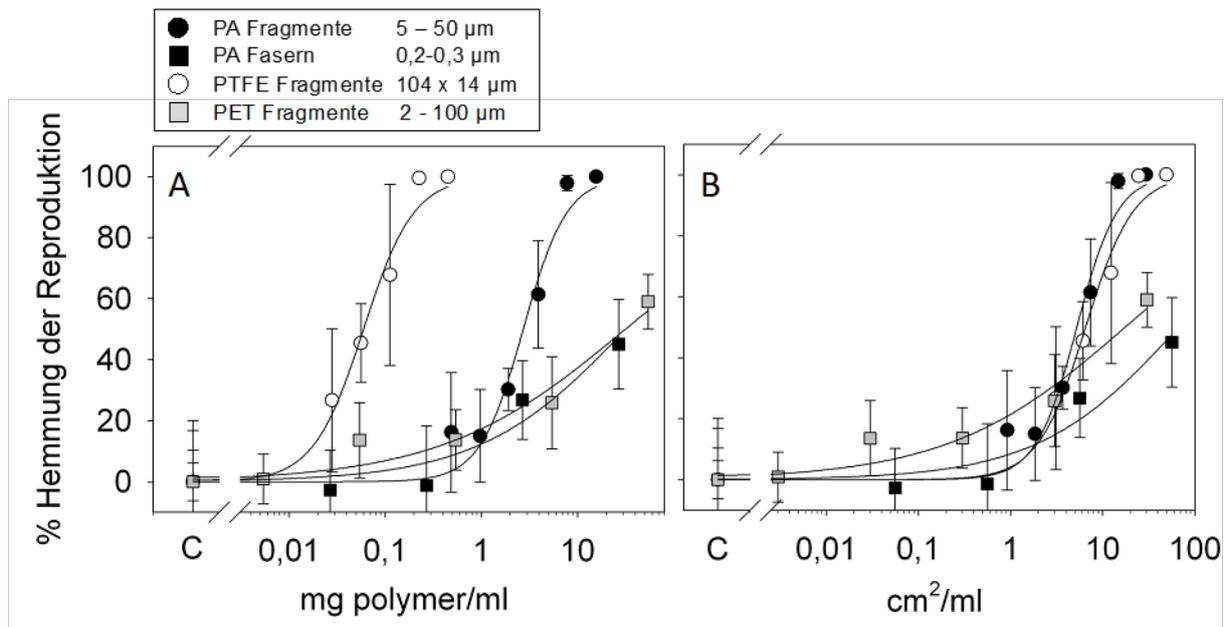


Abbildung 44: Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Wirkung von verschiedenen Mikroplastik-Partikeln auf die Reproduktion von *Caenorhabditis elegans* nach 96 h Exposition in wässrigem Medium, bezogen auf (A) die Polymerkonzentration (mg/ml) und (B) die Gesamtoberfläche aller Partikel im Medium ( $\text{cm}^2/\text{ml}$ ).

Wirkung von diversen Mikropartikeln aus natürlichen Materialien auf *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) in wässrigem Medium und Sediment

Im natürlichen Lebensraum der Nematoden, dem Sediment, sind die Organismen einer Vielfalt an Mikropartikeln ausgesetzt, die sehr viel abundanter sind als man es von Mikroplastik-Partikeln erwarten kann. Deshalb ist es für die Interpretation von ökotoxikologischen Effekten von Mikroplastik-Partikeln wichtig, auch die Wirkung von natürlichen Referenz-Partikeln zu untersuchen. Im Rahmen dieses Projekts wurden deshalb sphärische Mikropartikel aus  $\text{SiO}_2$  in verschiedenen Größen ( $\text{SiO}_2$ -Beads; 1, 10, 25  $\mu\text{m}$ ), Mikropartikel aus zwei Tonmineralien (Dolomit: 0,3 – 0,8  $\mu\text{m}$ ; Kaolin: 0,6 – 4  $\mu\text{m}$ ) und Sporen des Bärlapps (*Lycopodium*), die sich durch eine sehr regelmäßige, sphärische Form auszeichnen, hinsichtlich ihrer Wirkung auf *C. elegans* untersucht.

Die Partikel zeigten ein großes Spektrum an Effektkonzentrationen ( $\text{EC}_{50}$ : 0,22 bis >40 mg/ml), wobei, wie auch für die synthetischen Mikroplastik-Partikel beobachtet, die  $\text{EC}_{50}$ -Werte mit zunehmender Partikelgröße zunahm (Abbildung 45A). Bezogen auf die Gesamtoberfläche aller Partikel, sieht man einen deutlichen Unterschied der  $\text{EC}_{50}$ -Werte zwischen  $\text{SiO}_2$ -Beads ( $\geq 100 \text{ cm}^2/\text{ml}$ ) und den Ton-Partikeln (7,5 – 10,6  $\text{cm}^2/\text{ml}$ ), die hinsichtlich ihrer Form eher als Fragmente betrachtet werden können (Abbildung 45B). Die sphärischen Sporen zeigten allerdings mit 4,5  $\text{cm}^2/\text{ml}$  einen überraschend niedrigen  $\text{EC}_{50}$ -Oberfläche (Abbildung 13B). Die Sporen haben allerdings im Gegensatz zu  $\text{SiO}_2$ -Beads keine glatte Oberfläche, sondern sind porös. Auch hier ist es, ähnlich wie bei Fragmenten, denkbar, dass andere Wirkmechanismen als bei sphärischen Partikeln beteiligt waren oder dass die Oberfläche unterschätzt wurde.

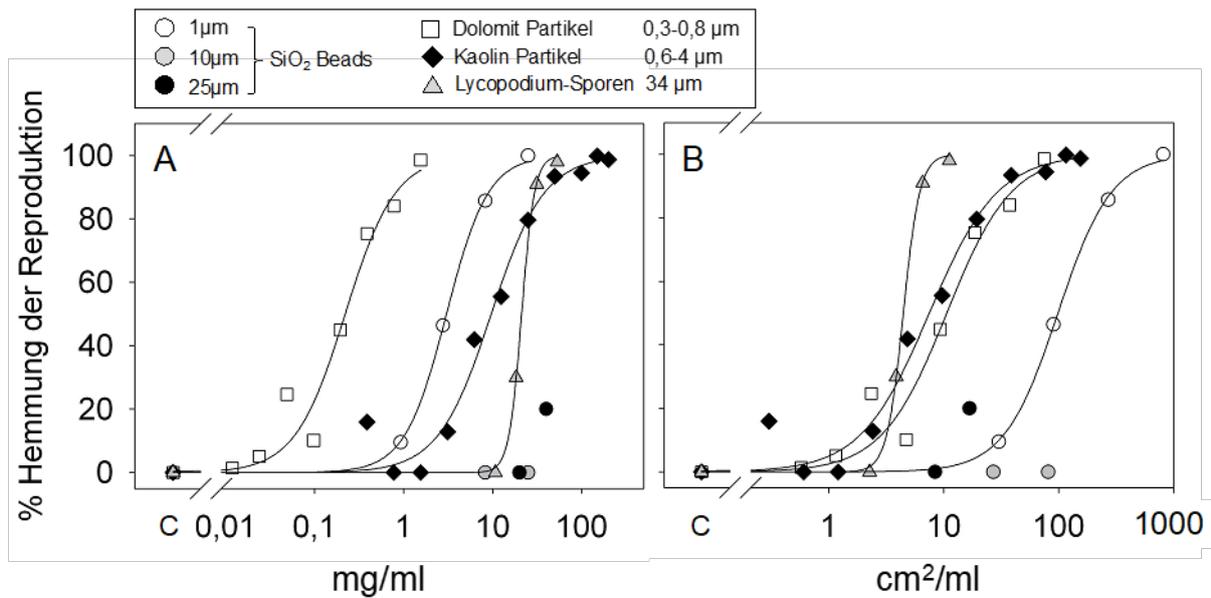


Abbildung 45: Dosis-Wirkungsbeziehungen für die Wirkung von verschiedenen Referenz-Partikeln aus natürlich vorkommenden Materialien auf die Reproduktion von *Caenorhabditis elegans* nach 96 h Exposition in wässrigem Medium, bezogen auf (A) die Konzentration (mg/ml) und (B) die Gesamtoberfläche aller Partikel im Medium (cm<sup>2</sup>/ml).

Vergleich der Wirkungen verschiedener Mikroplastik-Partikel mit Nicht-Plastik-Referenz-Partikeln Trägt man den EC50 (bezogen auf die Konzentration [mg/ml]) aller getesteten Partikel gegen ihren (z.T. abgeschätzten) Durchmesser (bzw. Länge bei Fasern) auf, sieht man einen deutlichen Zusammenhang: Unabhängig von Material (Plastik oder Nicht-Plastik) und Form (Beads, Fragmente, Fasern), zeigen größere Partikel eine stärkere Wirkung als kleinere (Abbildung 46A). Obwohl die Streuung der EC50-Werte nicht allein durch die Größe erklärt werden kann, ist die Vorhersagbarkeit der Wirkung eines Partikels durch dessen Größe ziemlich gut (Abbildung 46A;  $r^2 = 0.80$ ,  $p < 0.001$ ). Abbildung 46B zeigt deutlich, dass, unabhängig von Größe und Material der Mikroplastik-Partikel, die Gesamtoberfläche der Partikel die Wirkung bestimmt. Dies scheint allerdings von der Form der Partikel, bzw. der Beschaffenheit der Oberfläche abhängig zu sein (siehe Abbildung 46).

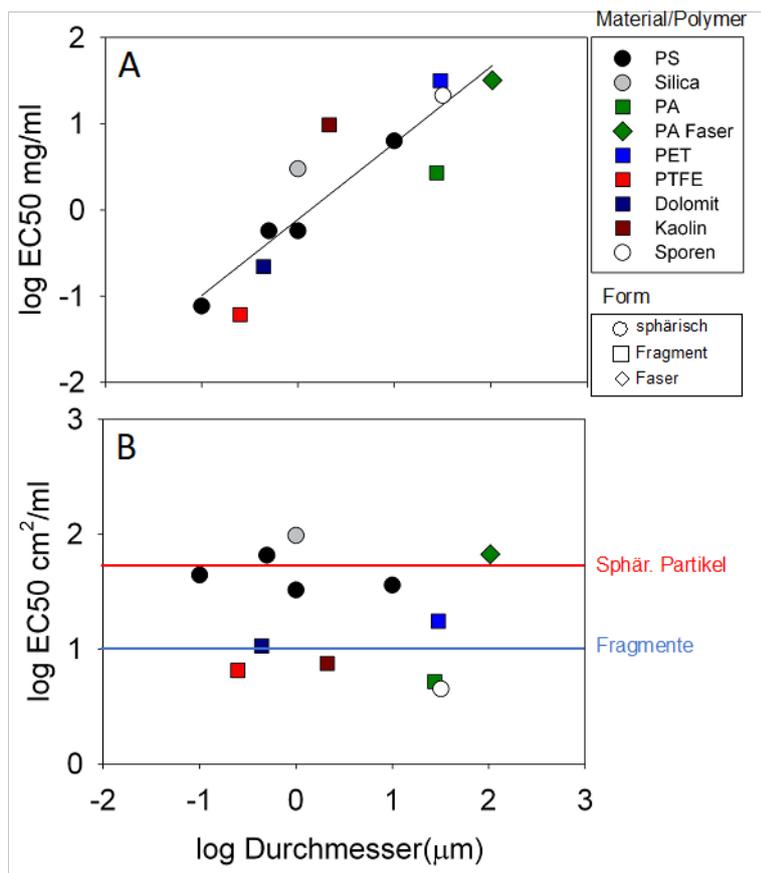


Abbildung 46: Zusammenhang von EC50-Werten (log) für verschiedene Mikropartikel aus Plastik und natürlichen Materialien auf Basis (A) von massenbezogenen Konzentrationen (mg/ml) und (B) der Gesamtoberfläche aller Partikel im Testsystem (cm<sup>2</sup>/ml) mit dem Durchmesser (log) der Partikel.

Ein weiterer Aspekt zum Wirkungsmechanismus konnte überprüft werden: Anhand der Ergebnisse für die PS- und SiO<sub>2</sub>-Beads wurde spekuliert, dass die geringere Toxizität der SiO<sub>2</sub>-Beads im Vergleich zu PS-Beads auf deren höhere spezifische Materialdichte (SiO<sub>2</sub>: 1,85 g/ml; PS: 1,05 g/ml) zurückzuführen ist. Die Dichte der PS-Beads ist mit der der Futterbakterien vergleichbar, so dass beide Partikeltypen bei Bewegung der Nematoden leicht aufgewirbelt werden und sich einige Zeit in der Wassersäule halten können, während SiO<sub>2</sub>-Beads deutlich schneller wieder absinken. Dies könnte eine stärkere Interaktionsmöglichkeit der PS-Beads mit den Bakterien und dadurch eine stärkere Beeinträchtigung der Futteraufnahme durch PS-Beads ermöglichen (Mueller et al. 2020). Diese Theorie konnte allerdings nicht bestätigt werden. Partikel mit noch höheren Materialdichten als SiO<sub>2</sub>, wie z.B. PTFE- oder Dolomit-Partikel, zeigten ähnliche Wirkungen wie der Größe entsprechende PS-Beads (Abbildung 46).

### Insekten

Ein weiterer Versuch wurde mit *Chironomus riparius*, einer Zuckmückenart, durchgeführt, da diese oder nah verwandte Arten in allen untersuchten Gewässern nachgewiesen werden konnten. Hier wurden ebenfalls PET-Fasern von 50 µm Länge genutzt und in Konzentrationen von 500, 5.000 und 50.000 MPF Fasern pro kg Sediment eingesetzt. Die Zuckmückenlarven wurden kurz nach dem Schlupf bis zur

Emergenz in den gespickten Sedimenten gehältert. Als Endpunkte des Toxizitätstests wurden die Dauer bis zur Emergenz, die Größe der emergierten Individuen sowie die Expression des Stressproteins HSP70 gewählt. In keinem der Endpunkte konnten signifikante Unterschiede zur Kontrollgruppe festgestellt werden (Abbildung 47).

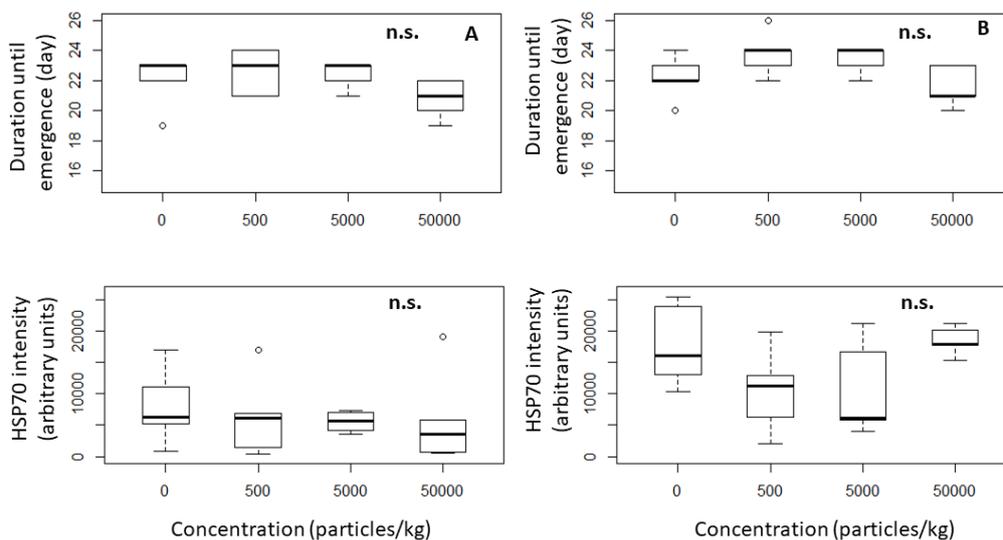


Abbildung 47: Tage bis zur Emergenz von männlichen (A) und weiblichen (B) *C. riparius* sowie Expression des Stressproteins HSP70 in juvenilen (C) und adulten (D) *C. riparius* nach Exposition mit PET-Fasern.

### 3.3.1.4 Herausforderungen bei der Risikobewertung von Mikroplastik

Die Schwierigkeiten, die man momentan noch bei der Umwelt-Risikobewertung von Mikroplastik hat, soll am Beispiel der Sedimenttoxizität von verschiedenen Mikroplastiktypen (50- $\mu\text{m}$  PET-Fasern; 1- $\mu\text{m}$  PS-Beads) und verschiedenen Testorganismen (Chironomiden, Nematoden) gezeigt werden. Eine Risikobewertung kann nur vorgenommen werden, wenn sowohl Wirk-Schwellenwerte (NOEC, ECx) als auch erwartete Expositionskonzentrationen (PEC = predicted environmental concentration) verfügbar sind. Das ist aber leider sehr selten der Fall.

Für die Wirkungen von PET-Fasern auf Chironomiden ist nur bekannt, dass sie bis zu einer Konzentration von 50.000 Fasern/kg Sediment keine Wirkung haben (Abbildung 48). Da sich daraus keine Wirk-Schwellenwerte ableiten lassen, ist keine zuverlässige Risikoabschätzung möglich. Bei momentan bekannten Konzentrationsbereichen von MP in Sedimenten (z.B. Scherer et al., 2020), kann man davon ausgehen, dass Chironomiden wohl nicht beeinträchtigt werden. Für Nematoden und 1  $\mu\text{m}$  wurden erst bei sehr viel höheren Konzentrationen Effekte gefunden ( $> 10^{12}$  Partikel/kg). Hier konnten zwar Toxizitätsschwellenwerte abgeleitet werden. Für diese kleinen Partikel ( $< 10 \mu\text{m}$ ) gibt es aber keine gemessenen Umweltkonzentrationen, da dafür die Analysemethoden nicht zur Verfügung stehen. Modellhafte Versuche der Extrapolation (Lenz et al., 2016) zeigen zwar, dass unter Worst-Case-Szenarien durchaus sehr hohe Konzentrationen in Sedimenten vorkommen könnten (bis hin zur Wirkschwelle für

die Nematoden), der Unsicherheitsbereich der Expositionskonzentrationen ist allerdings sehr groß (viele Größenordnungen; Abbildung 48).

Es bleibt also eine Aufgabe für die Zukunft der Chemiker und Ökotoxikologen, zum einen zuverlässige Daten zu Umweltkonzentrationen von Mikroplastik, zum anderen zuverlässige Daten zu Effektschwellenwerten zu liefern. Hier besteht dringender Handlungsbedarf, um in der Zukunft eine zuverlässige Risikobewertung zu ermöglichen.

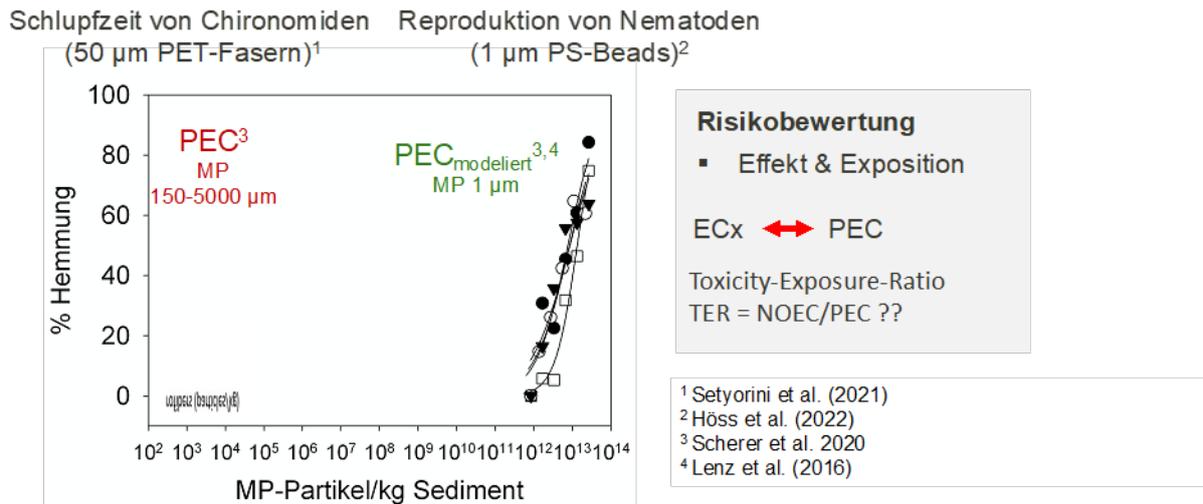


Abbildung 48: Herausforderungen für eine zuverlässige Risikobewertung von Mikroplastik in der Umwelt

Aufklärung des Wirkungsmechanismus (siehe auch Mueller et al. 2020)

Für eine umfassende Risikobewertung eines potentiellen Gefahrenstoffs ist es hilfreich, den der Wirkung zu Grunde liegenden Mechanismus zu verstehen. Für Mikroplastik kommen zahlreiche Wirkmechanismen in Frage (de Ruijter et al., 2020). Für Polystyrol-Partikel und *C. elegans* sind in Abbildung 49 mögliche Wirkpfade schematisch dargestellt, die im Rahmen dieses Projekts untersucht wurden.

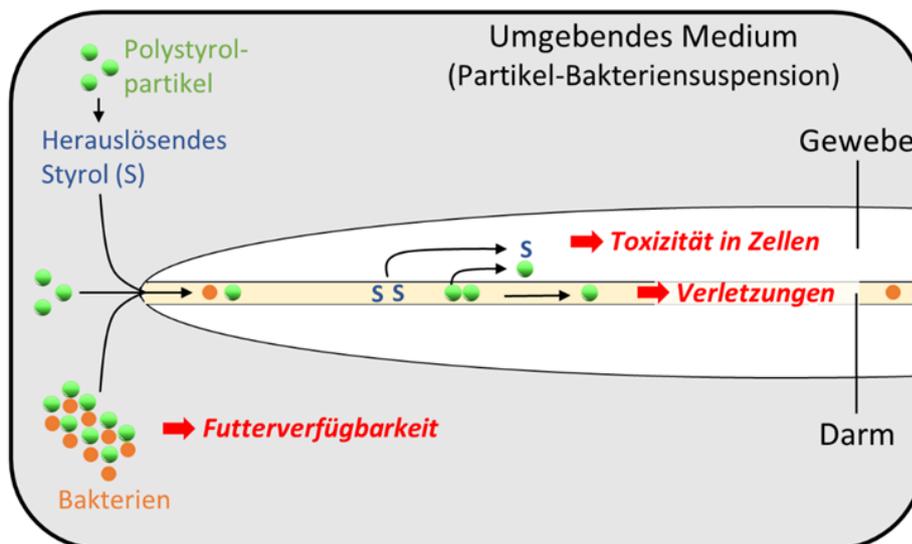


Abbildung 49: Mögliche Mechanismen, die für die Wirkung der Polystyrolpartikel (z.B. auf die Re-produktion von *C. elegans*) in Frage kommen; modifiziert nach Mueller et al. (2020).

### Oxidativer Stress

Da die Toxizität mit der Gesamtoberfläche der PS-Partikel im Zusammenhang steht, sollten mögliche Wirkmechanismen untersucht werden, die mit der Oberfläche der PS-Partikel im Zusammenhang stehen. Oxidativer Stress wurde oft als Ursache für Nano- und Mikropartikel berichtet (Hussain et al. 2009; Jeong et al. 2016).

Um zu ermitteln, ob die Wirkung der Partikel auf oxidativen Stress im Testmedium zurückzuführen ist, wurden einige Partikel (0,1 bis 3  $\mu\text{m}$ ) mit einem mutanten Stamm von *C. elegans* (*sod-2*) getestet, der hypersensitiv gegenüber oxidativem Stress ist. Diesem Stamm fehlt eines von mehreren Enzymen, die für den Abbau und damit die Detoxifizierung von ROS (reactive oxygen species) benötigt werden. Ein Vergleich der Sensitivität des *sod-2*-Stamms mit dem Wildtyp (N2) erlaubt eine Einschätzung, ob die getestete Substanz oxidativen Stress ausübt. Bis auf die Auswahl des *C. elegans*-Stamms wurden die Tests nach DIN ISO 10872:2012 durchgeführt.

Als Positivkontrolle wurde Paraquatdichlorid (PQ; 14 mg/L) mitgeführt, eine Substanz, die bekanntermaßen oxidativen Stress auslöst. In Abbildung 20 ist zu sehen, dass PQ beim Wildtyp N2 keine Wirkung hervorruft, während der hypersensitive Stamm deutlich gehemmt wird. Für die PS-Partikel konnte dieses Phänomen nicht beobachtet werden (Abbildung 50), was dagegenspricht, dass die Wirkung durch oxidativen Stress hervorgerufen wurde.

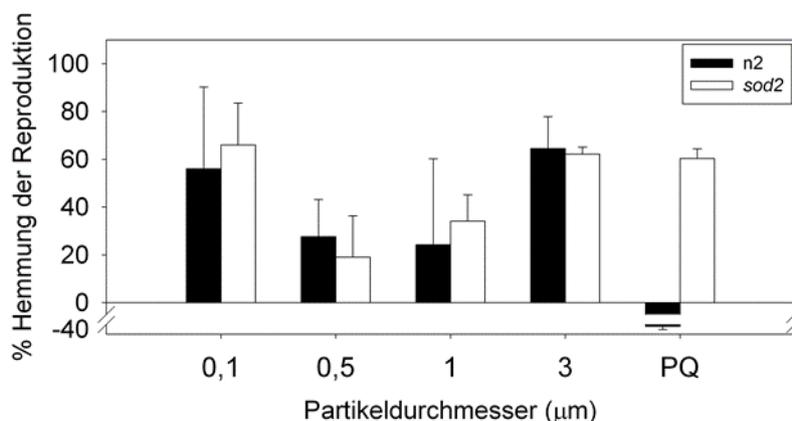


Abbildung 50: Prozent Hemmung der Reproduktion von *C. elegans* (N2; *sod-2*) nach 96 h Exposition in Suspensionen von PS-Partikeln unterschiedlicher Größe und einer Lösung von Paraquatdichlorid (Positivkontrolle); Daten aus Mueller et al. (2020b).

### Gelöste Chemikalien als toxisches Agens

Eine andere Möglichkeit, wie die Toxizität mit der Gesamtoberfläche der PS-Partikel im Zusammenhang stehen kann und auch von Partikeln ausgeht, die nicht in den Körper der Nematoden aufgenommen werden konnten, ist die Wirkung von chemischen Substanzen (z.B. Styrol), die sich in Lösung befinden, bzw. während des Versuchs aus den Partikeln herausgelöst haben. Das Monomer Styrol, sowie andere Zusatzstoffe, die sich im Medium der suspendierten PS-Partikel befinden, können ebenfalls

eine toxische Wirkung auf die Testorganismen entfalten. Um abzuklären, ob die Toxizität über diese Pfade hervorgerufen wurde, wurden zwei Experimente durchgeführt:

(a) Es wurde ein Eluat der Partikel hergestellt. Dafür wurden PS-Partikel (1 und 6  $\mu\text{m}$ ; 75  $\text{cm}^2/\text{ml}$ ) für 96 h im Testmedium exponiert und dann wieder abzentrifugiert (4'15 min, 4500 g). Der partikelfreie Überstand (Eluat) wurde hinsichtlich der Toxizität auf *C. elegans* getestet. Das Ergebnis zeigte, dass die Eluate der 1 und 6  $\mu\text{m}$ -Partikel keine hemmende Wirkung auf *C. elegans* hatten (Abbildung 51a). Gelöste Substanzen können die Toxizität der Partikelsuspension also nicht erklären.

(b) Das Monomer von Polystyrol, Styrol, wurde hinsichtlich der Toxizität auf die Reproduktion von *C. elegans* getestet. Da die Toxizität des schwer löslichen (300 mg/L) aber flüchtigen Styrols (6,4 mm Hg bei 25°C) mit einem klassischen Testdesign (aktives Dotieren über Lösungsvermittler) nur unzureichend erfasst werden kann, wurde deshalb eine neuentwickelte Methode des passiven Dosierens über die Luftphase gewählt (Trac et al. 2019). Um zu erfassen, wie viel Styrol sich tatsächlich in den PS-Suspensionen befand, wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von der Technischen Universität Kopenhagen (DTU; Prof. Philipp Mayer) die Konzentrationen von gelöstem Styrol in den Stammsuspensionen von 0,1- $\mu\text{m}$ , 1- $\mu\text{m}$  und 10- $\mu\text{m}$  PS-Partikeln bestimmt (Mueller et al. 2020b). Das flüchtige Styrol wurde in der Gasphase über der Polystyrol-Suspension erfasst, wo das gasförmige Styrol mit der frei-gelösten Styrol-Phase in der Polystyrolsuspension im Gleichgewicht steht. Das Testsystem ist schematisch in Abbildung 52 dargestellt. Die chemische Analyse ergab, dass sich in den Stammlösungen der Partikel in verschiedenen Größen Styrol in Konzentrationen von 0,45 bis 0,90  $\mu\text{g}/\text{ml}$  befand. Durch die Verdünnungen in den Toxizitätstests kann man von 4-300-mal niedrigeren Konzentrationen im Testsystem ausgehen. Die Toxizitätsanalyse mittels passiven Dosierens ergab einen EC50-Wert für die Reproduktion von *C. elegans* von 24  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Abbildung 51B). Da die Styrol-Konzentrationen in den Testsystemen mit PS-Suspensionen 145-67000-fach niedriger waren als der EC50, konnte ein Styrol-induzierter Effekt ausgeschlossen werden (Mueller et al., 2020b).

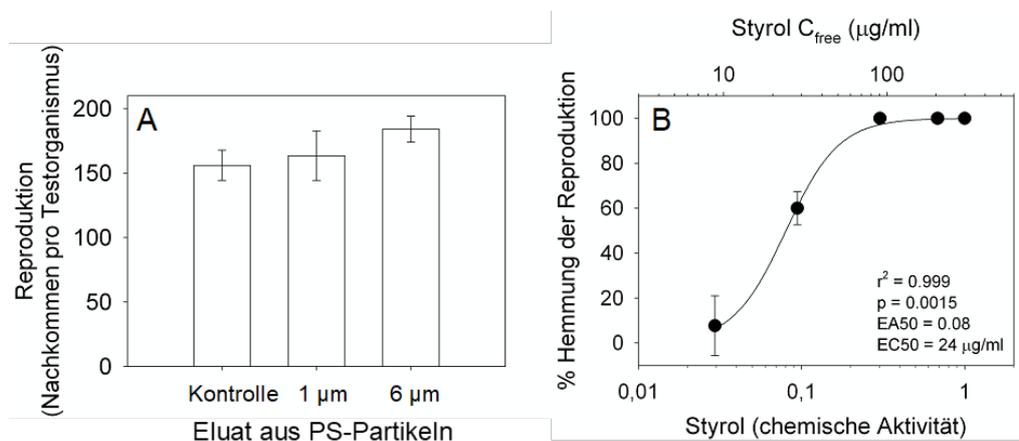


Abbildung 51 (A) Reproduktion von *C. elegans* nach 96 h Exposition in Eluaten aus PS-Partikeln und (B) % Hemmung der Reproduktion nach 96 h Exposition in Styrol in wässriger Lösung (via passives Dosieren über die Gasphase).

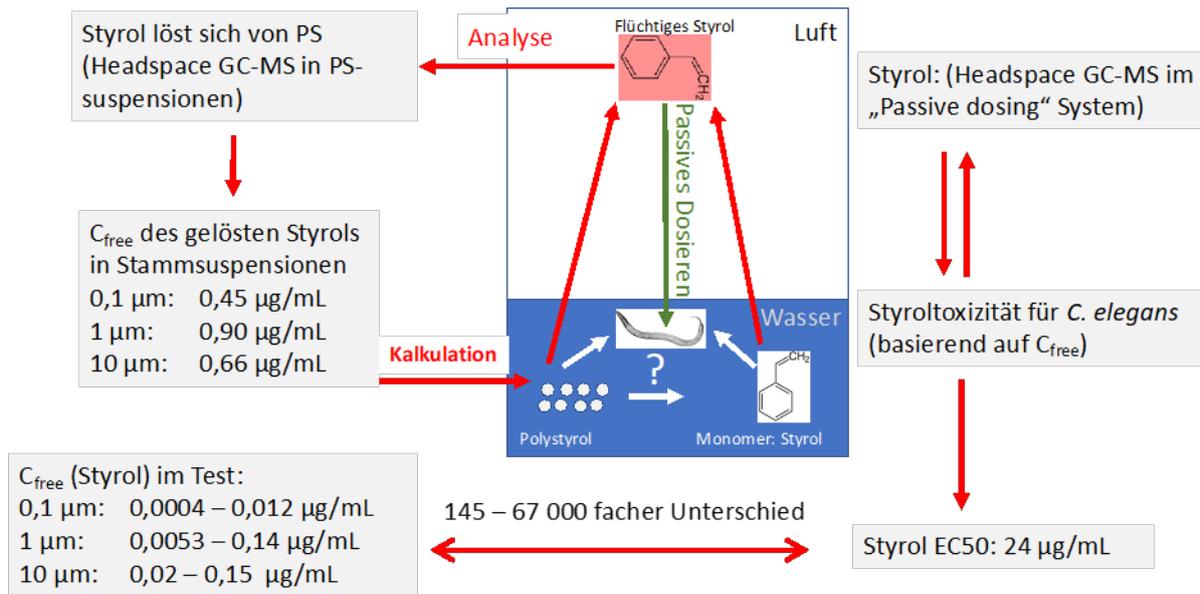


Abbildung 52: Test-Design und Ergebnisse zum experimentellen Ausschlussverfahren der Toxizität von Styrol auf *C. elegans* in Polystyrol-Suspensionen.

Einfluss der Futterdichte auf die Toxizität von Mikroplastik-Partikel (siehe auch Drago and Weithoff, 2021; Mueller et al. 2020b; Rauchschalbe et al. 2021a)

**Toxizität von PS- und SiO<sub>2</sub>-Beads auf Nematoden bei unterschiedlichen Futterdichten.** Da einige Partikel ( $\leq 3 \mu\text{m}$ ) mit der Nahrung (Bakterien) aufgenommen werden, liegt es nahe, dass die Futterdichte bzw. Bakteriendichte sich auch auf die Wirkung der PS-Partikel auswirkt. Deshalb wurde die Wirkung von PS-Partikeln ( $0,55 \text{ mg ml}^{-1}$ ; bzw.  $1 \cdot 10^9 \text{ Partikel ml}^{-1} = \text{EC}_{50}$ ) bei verschiedenen Futterdichten getestet. Folgende 5 Bakteriendichten wurden dafür eingestellt:  $2,5 \cdot 10^8$ ;  $5 \cdot 10^8$ ;  $1 \cdot 10^9$  (Standard),  $2 \cdot 10^9$ ;  $4 \cdot 10^9$  Bakterien/ml. Die ersten Ergebnisse liegen für 1 µm-Partikel bereits vor.

Die Futterdichte hat einen starken Einfluss auf die Wirkung der 1-µm PS-Partikel auf die Reproduktion der Nematoden. Mit steigender Bakteriendichte nahm die Wirkung der PS-Partikel deutlich ab (Abbildung 53a). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die PS-Partikel für den unselektiven Partikelfresser, *C. elegans*, das Futter verdünnen und somit die Futtermenge verringern. Trägt man die Wirkung (% Hemmung der Reproduktion) gegen das Verhältnis von Partikeln zu Bakterien auf, sieht man, dass man vergleichbare Dosis-Wirkungskurven erhält, egal ob man die Partikeldichte oder die Futterdichte variiert (Abbildung 53b). Dieser indirekte Effekt könnte für die Hemmung der Reproduktion verantwortlich sein.

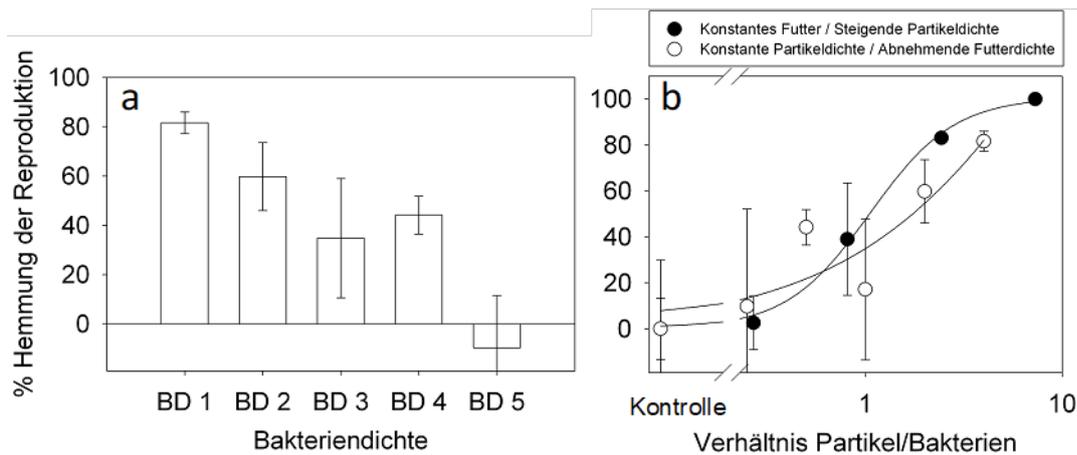


Abbildung 53: (a) % Hemmung der Reproduktion von *C. elegans* nach 96 h Exposition in Suspensionen von 1  $\mu\text{m}$  PS-Partikeln ( $0,55 \text{ mg ml}^{-1} = 1 \cdot 10^9 \text{ Partikel ml}^{-1}$ ) in Anwesenheit von Bakterien in unterschiedlichen Dichten (BD1:  $2,5 \cdot 10^8$ ; BD2:  $5 \cdot 10^8$ , BD3:  $1 \cdot 10^9$  (Standard), BD4:  $2 \cdot 10^9$ , BD5:  $4 \cdot 10^9$  Bakterien/ml); (b) % Hemmung der Reproduktion vs. das Verhältnis von Partikel und Bakterien aus zwei verschiedenen Experimenten (schwarze Symbole: konstante Futterdichte bei steigenden Partikeldichten; weiße Symbole: konstante Partikeldichte bei abnehmenden Futterdichten).

Die ersten Versuche zum Einfluss der Futterdichte auf die Wirkung von 1- $\mu\text{m}$  PS-Partikeln auf *C. elegans* zeigten, dass die Reproduktion der Nematoden klar mit dem Verhältnis der Anzahl von Partikeln zur Anzahl der Bakterien zusammenhängt. Die Futterverfügbarkeit schien also ein wesentlicher Faktor für die Wirkung der PS-Partikel gewesen zu sein. Deshalb wurden die Versuche, die mit den 1- $\mu\text{m}$ -PS-Partikeln durchgeführt wurden, ebenfalls mit 0,1- $\mu\text{m}$ , 0,5- $\mu\text{m}$ , 3- $\mu\text{m}$ , 6- $\mu\text{m}$  und 10- $\mu\text{m}$ -Partikeln, sowie mit 1- $\mu\text{m}$  und 10- $\mu\text{m}$  SiO<sub>2</sub>-Partikeln durchgeführt. Die Wirkung der PS-Partikel (0,1- $\mu\text{m}$  PS: 0.19 mg/mL; 0,5- $\mu\text{m}$  PS: 0.56 mg/mL; 3- $\mu\text{m}$  PS: 2.27 mg/mL; 6 and 10- $\mu\text{m}$  PS: 12,5 mg/mL; 1- $\mu\text{m}$  SiO<sub>2</sub>: 2.8 mg/mL; 10- $\mu\text{m}$  SiO<sub>2</sub>: 25 mg/mL) wurde bei verschiedenen Futterdichten getestet. Folgende 5 Bakteriendichten wurden dafür eingestellt:  $2,5 \cdot 10^8$ ;  $5 \cdot 10^8$ ,  $1 \cdot 10^9$  (Standard),  $2 \cdot 10^9$ ,  $4 \cdot 10^9$  Bakterien/mL.

Die Ergebnisse bestätigen den Einfluss der Bakteriendichte auf die Wirkung von künstlichen Partikeln auch für die PS- und SiO<sub>2</sub>-Partikel anderer Größe: Je höher die Bakteriendichte desto geringer die Wirkung. Abbildung 54A zeigt, dass das Verhältnis von Partikeln zu Bakterien über das Ausmaß der Wirkung der Partikel auf *C. elegans* entscheidet, egal, ob die Partikeldichte erhöht, oder die Bakteriendichte verringert wird. Dies legt nahe, dass die Wirkung der Partikel tatsächlich mit einer Reduzierung der Futterverfügbarkeit im Testsystem erklärt werden kann. Nimmt man nicht die zahlenmäßigen Verhältnisse von Partikeln und Bakterien als Grundlage für die Wirkungskurven (Abbildung 54A), sondern das Verhältnis der Gesamtoberfläche, sieht man, dass die Wirkungskurven aller PS-Partikel nahe zusammenrücken (Abbildung 54B). Man kann beschreiben, dass, unabhängig von der Partikelgröße, eine 50% Hemmung der Reproduktion von *C. elegans* dann auftritt, wenn die Gesamtoberfläche der Partikel genauso groß ist wie die der Bakterien. Dies gilt allerdings nicht für SiO<sub>2</sub>-Partikel. Hier muss das Oberflächenverhältnis 10:1 (1- $\mu\text{m}$  SiO<sub>2</sub>) bzw. 200:1 (10- $\mu\text{m}$  SiO<sub>2</sub>) betragen, um eine 50 %

Hemmung der Reproduktion von *C. elegans* zu bewirken (Abbildung 54B). Hierfür werden Unterschiede in der Materialbeschaffenheit von PS und SiO<sub>2</sub> verantwortlich gemacht. Die PS-Partikel besitzen mit 1.05 g/mL eine ähnliche spezifische Dichte wie die Futterbakterien (1.07 – 1.11 g/mL) und können deshalb besser mit den Bakterien zu interagieren als die dichteren SiO<sub>2</sub>-Partikel (ca. 1.9 g/mL).

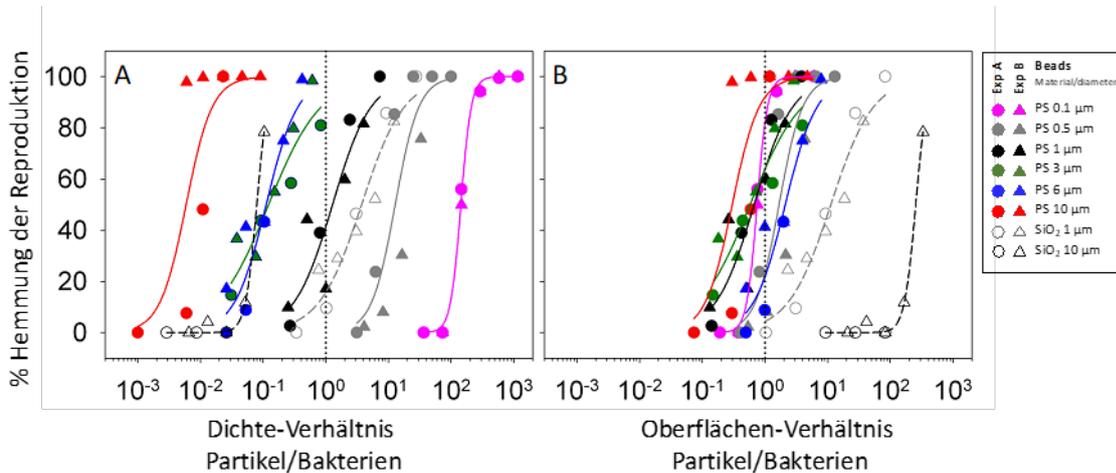


Abbildung 54: Dosis-Wirkungskurven basierend auf dem Verhältnis von PS- oder Silikat- (SiO<sub>2</sub>)- Partikeln zu Bakterien. Hemmung (%) der Reproduktion von *C. elegans* die für 96 h verschieden großen PS- und SiO<sub>2</sub>-Partikeln bei unterschiedlichen Bakteriendichten ausgesetzt waren, aufgetragen gegen das Partikel/Bakterienverhältnis, hinsichtlich (A) der Gesamtanzahl und (B) der gesamten Oberfläche der Partikel bzw. Bakterienzellen, Kreise = Experiment A: konstante Bakteriendichten bei unterschiedlichen Partikeldichten; Dreiecke = Experiment B: unterschiedliche Partikeldichten bei unterschiedlichen Bakteriendichten. Die Kurven wurden an die Daten mit einer sigmoidal logistischen Funktion gefittet; für alle Kurven gilt:  $r_2 \geq 0.8$ ,  $p < 0.01$  (Ausnahme: PS 10.0 µm,  $r_2 = 0.62$ ,  $p = 0.056$ ).

Toxizität von PS- und SiO<sub>2</sub>-Beads auf Rotatorien bei unterschiedlicher Futterdichte und -qualität (Drago & Weithoff, 2021)

Wie für Nematoden, so wurde auch für Rotatorien nachgewiesen, dass die Futterdichte einen Einfluss auf die Wirkung von PS-Beads hat. Bei der Rotatorie *Brachionus fernandoi* wurde eine Wachstumshemmung im Vergleich zur Kontrolle nur bei niedrigen, limitierenden Futterdichten nachgewiesen, während bei hohen, nicht limitierenden Futterdichten keine Hemmung nachgewiesen wurde. Bei der nahe verwandten Art *Brachionus calyciflorus* hingegen, war der Effekt der Futterdichte nicht so eindeutig. In diesem Fall wurde jedoch ein Effekt der Futterqualität gefunden. Bei einer Mischung aus verschiedenen Futteralgen, von der bekannt ist, dass sie eine sehr gute Futterqualität für Rotatorien darstellt, war keine Wachstumshemmung durch Polystyrolbeads nachweisbar wohingegen eine Hemmung bei gleicher Futtermenge einer weniger guten Futteralge auftrat.

In der gleichen Versuchsserie wurde auch der Effekt von SiO<sub>2</sub>-Beads auf das Wachstum der beiden *Brachionus*-Arten untersucht. In diesem Experiment wurde kein Effekt von SiO<sub>2</sub> auf das Wachstum gefunden. Eine mögliche Erklärung ist, dass die SiO<sub>2</sub>-Beads eine hohe spezifische Dichte haben und schnell zu Boden sanken, obwohl die Ansätze auf einem Kippschüttler standen. Dadurch waren sie möglicherweise nicht mehr für die Rotatorien verfügbar. In einer weiteren Versuchsreihe, wurde der Effekt von SiO<sub>2</sub> Beads mit Hilfe eines rotierenden Rades untersucht, so dass die Beads permanent im

Medium suspendiert waren. In diesem Versuchsansatz wurde eine Wachstumshemmung vergleichbar mit der durch Polystyrol-Beads gefunden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass es für *Brachionus* vornehmlich einen Partikeleffekt gibt, der unabhängig des Materials wirkt (Pawlak et al. submitted).

Einfluss von PS-Partikeln auf die Nahrungsaufnahme von *C. elegans* (siehe auch Rauchschalbe et al. 2021)

Die Experimente der ersten zwei Projektjahre haben gezeigt, dass die Wirkung der PS- und SiO<sub>2</sub>-Beads auf *C. elegans* mit der Dichte der angebotenen Futterbakterien im Zusammenhang steht. Unabhängig davon, ob die Konzentration an Beads bei gleichbleibender Futterdichte in den Experimenten erhöht wurde, oder, ob die Bakteriendichte bei gleichbleibender Bead-Konzentration gesenkt wurde, die Wirkung nahm mit zunehmendem Verhältnis von Beads/Bakterien zu (Mueller et al. 2020). Dies war bei allen getesteten Partikelgrößen der Fall, auch bei den größeren Beads, die nicht von *C. elegans* aufgenommen werden konnten. Es wurde angenommen, dass die Verfügbarkeit des Futters in Anwesenheit der Beads herabgesetzt und dadurch die geringere Reproduktionsleistung erklärt werden kann.

In anschließenden Experimenten sollte nun geklärt werden, ob die Wirkung der Beads tatsächlich damit zusammenhängt, dass die Bakterienaufnahme durch die Nematoden in Anwesenheit der Beads gestört wurde. Dafür wurde die Abnahme der Bakteriendichte durch Konsum der Nematoden innerhalb von 7 h unter verschiedenen Voraussetzungen untersucht: (1) Nur Bakterien (ohne *C. elegans*; Kontrolle); (2) Bakterien + *C. elegans* (Positivkontrolle ohne Störung); (3) Bakterien + *C. elegans* + Beads (1 µm PS und SiO<sub>2</sub> sowie 6 µm PS Beads). Die Bakterien wurden in einer Dichte von  $5 \cdot 10^8$  Zellen/ml angeboten. Es wurden 50 adulte Nematoden dazugegeben. Die PS-Beads wurden in einem Bead/Bakterien-Verhältnis dazugegeben, bei dem ein 50%-Effekt auf die Reproduktion beobachtet wurde (1 µm: 1:1; 6 µm: 1:10). Die SiO<sub>2</sub>-Beads (1 µm) wurden im gleichen Verhältnis wie die 1-µm-PS-Beads dazugegeben. Dort war kein Effekt beobachtet worden, so dass auch keine Störung des Bakterienkonsums erwartet wurde.

Die Ergebnisse entsprachen ziemlich genau den Erwartungen. (1) Die Bakteriendichte wurde in Abwesenheit der Beads durch den Fraßdruck der Nematoden signifikant dezimiert. Dies konnte sowohl im Versuch mit PS-Beads (Abbildung 55A) als auch mit SiO<sub>2</sub>-Beads (Abbildung 55B) beobachtet werden. (2) In Anwesenheit von PS-beads (1- und 6-µm) wurden signifikant weniger Bakterien konsumiert als in den Behandlungen ohne Beads. (3) In Anwesenheit von SiO<sub>2</sub>-Beads wurden gleich viele Bakterien konsumiert wie in den Behandlungen ohne Beads. Diese Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass die Wirkung von PS-Partikeln tatsächlich auf eine Störung der Futteraufnahme zurückzuführen ist (siehe auch Rauchschalbe et al. 2021).

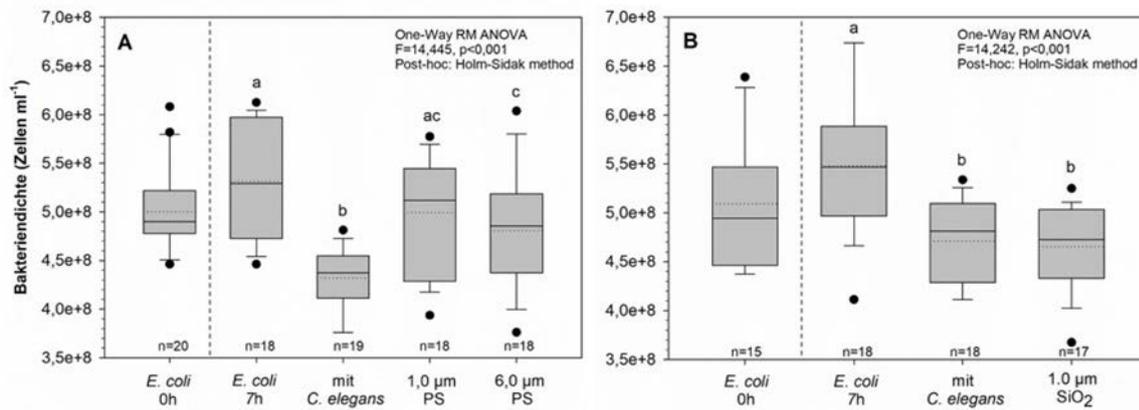


Abbildung 55: Veränderung der Bakteriendichte durch den Konsum von *C. elegans* ( $n=50$ ) in Abwesenheit von PS-Beads (mit *C. elegans*) und in Anwesenheit von 1- und 6- $\mu\text{m}$  PS-Beads im Vergleich zu Gefäßen ohne *C. elegans* (= ohne Bakterienkonsum; *E. coli* 7 h); *E. coli* 0 h = Bakteriendichte zu Beginn des Versuchs.

In einem zweiten Experiment sollte geklärt werden, ob der Pumpmechanismus, mit dem *C. elegans* maßgeblich die Futteraufnahme regelt, für den geringeren Bakterienkonsum verantwortlich war. Dafür wurde die Pumprate bei verschiedenen Bedingungen gemessen (dreifache manuelle Zählung unter dem Mikroskop für 10 Sekunden bei jeweils 5 Individuen): (1) Bakterien ( $5 \cdot 10^8$  Zellen/ml); (2) Bakterien ( $10^9$  Zellen/ml); (3) Bakterien + 1  $\mu\text{m}$ -PS-Beads (je  $10^9$  Zellen bzw. Beads/ml); (4) 1  $\mu\text{m}$ -PS-beads ( $5 \cdot 10^8$  Beads/ml); (5) 1  $\mu\text{m}$ -PS-beads ( $10^9$  Beads/ml); (6) Bakterien ( $10^9$  Zellen/ml) + 6  $\mu\text{m}$ -PS-beads ( $10^8$  Beads/ml); (7) 6  $\mu\text{m}$ -PS-beads ( $10^8$  Beads/ml).

Mit den Experimenten konnte gezeigt werden, dass die Pumprate von *C. elegans* von der Bakteriendichte abhängt: Nematoden, die weniger Futter zur Verfügung hatten, pumpten auch langsamer (siehe Kapitel 3.3.1.1 und Fueser et al. 2021). Aufgrund dieser Ergebnisse wurde vermutet, dass durch eine Verdünnung der Bakterien durch PS-Beads der gleichen Größe (1  $\mu\text{m}$ ) eine Abnahme der Bakteriendichte simuliert und dadurch die Pumprate gesenkt wird.

Für 1- $\mu\text{m}$  PS Beads konnte das aber nicht beobachtet werden. Die Pumprate von Nematoden in einer reinen Bakteriensuspension mit  $10^9$  Bakterien/ml unterschied sich nicht von der Pumprate, die in einer Mischung von  $10^9$  Bakterien und  $10^9$  PS-Beads pro ml gemessen wurde (Abbildung 56A). Nur wenn keine Bakterien vorhanden waren, sondern ausschließlich Beads, waren die Pumpraten niedriger (Abbildung 56A: letzte zwei Boxen). Für die 1- $\mu\text{m}$  PS Beads spielte die Pumprate also keine Rolle für die geringere Futteraufnahme (Abbildung 56A). Hier kann geschlussfolgert werden, dass allein die Verdünnung durch die nicht nahrhaften Beads bewirkt hat, dass weniger Bakterien von *C. elegans* aufgenommen werden konnten. Da die Nematoden nicht selektiv fressen, werden bei gleicher Pumprate Bakterien und Beads in einem Verhältnis von 1:1 aufgenommen, also letztlich nur die Hälfte an nahrhaften Partikeln, was sich wiederum negativ auf die Reproduktionsleistung auswirkt (Mueller et al. 2020).

In Anwesenheit der 6- $\mu\text{m}$  Beads konnte tatsächlich eine Hemmung der Pumprate festgestellt werden (Abbildung 56B). Die 23%-ige Hemmung der Pumprate im Vergleich zur Kontrolle ohne Beads ( $10^9$  Bakterien/ml) könnte durchaus einen Teil der beobachteten Reduzierung der Futteraufnahme durch 6- $\mu\text{m}$  Beads erklären (Abbildung 55A).

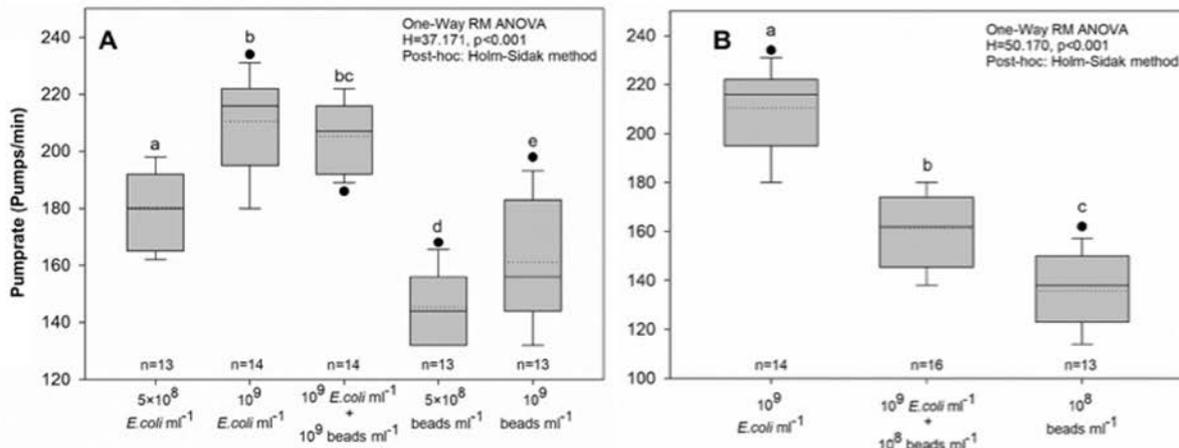


Abbildung 56: Pumpraten von *C. elegans* (Pumps/min) in Anwesenheit von Bakterien in verschiedenen Dichten ( $5 \times 10^8$ ;  $10^9$  Zellen/ml) und in Mischung mit PS-Beads (A: 1- $\mu\text{m}$ ; B: 6- $\mu\text{m}$ ); Mischungsverhältnis bei 50 % Hemmung der Reproduktion von *C. elegans* (Mueller et al. 2020); zum Vergleich sind die Pumpraten in Anwesenheit von PS-Beads ohne Bakterien dargestellt.

**Störung der Futteraufnahme durch Mikroplastik bei Rotatorien und Muscheln.** Für die Nematoden konnte experimentell belegt werden, dass die Futterverfügbarkeit ein wichtiger Schlüssel für die Erklärung der ökotoxikologischen Wirkung von MP ist. Im Verbundprojekt wurden aber auch für andere Organismen Hinweise gefunden, dass MP die die Nahrungsaufnahme stören kann. Für Rotatorien konnte gezeigt werden, dass vor allem MP-Partikel in der Größe der bevorzugten Nahrung, der Alge *Monoraphidium minutum*, 3- $\mu\text{m}$  PS-Beads, deutliche Effekte auf die Fekundität von *Brachionus calyciflorus* hatten, während größere 6- $\mu\text{m}$  PS-Beads bei gleicher Konzentration keinen Effekt zeigten (Abbildung 57). Hier kann man davon ausgehen, dass, ähnlich wie bei den Nematoden, die Rotatorien die PS-Beads mit den Algen verwechselten und dadurch die Nahrung mit nicht-nahrhaften Partikeln verdünnt wurde.

Bei der Körbchenmuschel (*Corbicula fluminea*) wurde festgestellt, dass nach Exposition in Plastikfasern die Exkretion von Pseudofaeces, die zur „Vorsortierung“ der Nahrung dient, anstieg (Abbildung 57). Dies könnte bedeuten, dass auch die Aufnahme von Nährstoffen gestört ist und außerdem mehr Energie kostet.

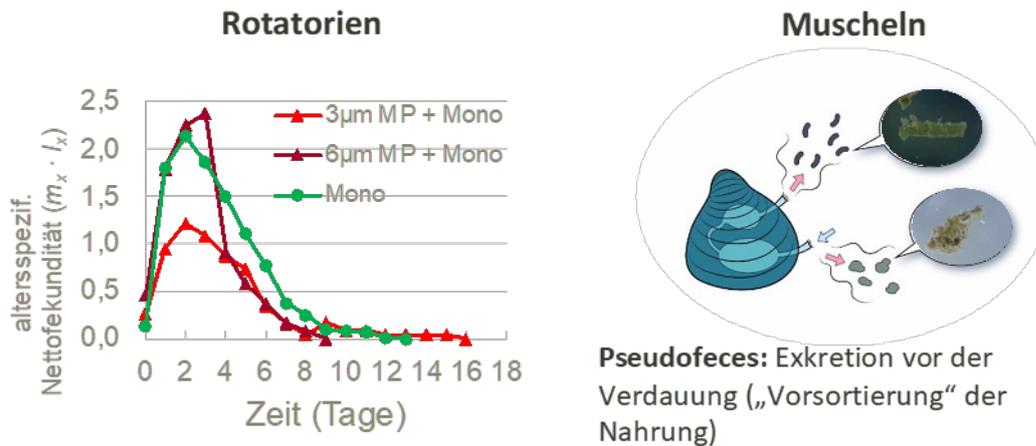


Abbildung 57: Hinweise für futterbedingte Effekte von MP bei Rotatorien (*Brachionus calyciflorus*) und Muscheln. Links: MP, Mikroplastik; Mono, Monoraphidium minutum (Futteralge)

Einfluss von Mikroplastik-Partikeln auf das Populationswachstum mehrerer Nematodenarten  
 Nachdem relativ hohe Konzentrationen von Polystyrolpartikeln verschiedener Größen dosis-abhängige Effekte auf die Reproduktion der Nematodenart *Caenorhabditis elegans* gezeigt haben (Zwischenbericht April 2019), wurde in diesem Versuch getestet, ob eine geringere Konzentration an Polystyrolpartikeln stärkere Langzeit-Effekte auf das Populationswachstum von drei Kultur-Nematodenarten, die sich in ihren Lebenszyklus-Strategien unterscheiden, erwirken kann.

Dazu wurden die drei bakterienfressenden Arten (*C. elegans*, *Acrobelloides nanus*, *Plectus acuminatus*) über eine Versuchsdauer von 21–49 Tagen (abhängig vom jeweiligen Lebenszyklus)  $1,0 \mu\text{m } 10^7$  Polystyrolpartikeln  $\text{ml}^{-1}$  ausgesetzt. Mikroplastik in einer Größe von  $1,0 \mu\text{m}$  wurde verwendet, da bekannt ist, dass alle drei Arten diese aufnehmen können (Fueser et al. 2019). Dazu wurden je nach Art Untertypen der Populationen durchgeführt, um die Populationsentwicklung dokumentieren zu können. Um Effekte der Polystyrolpartikel auf die Populationsdynamiken zu bewerten, wurden Populationswachstumsraten ( $r$ ), Kapazitätsgrenzen ( $K$ ), Verdopplungszeitpunkte ( $T_{\text{gen}}$ ) und Zeitpunkte, bei der die Hälfte der Kapazitätsgrenze erreicht ist ( $T_{\text{mid}}$ ), berechnet. Zusätzlich dazu wurde die Aufnahme der  $1,0 \mu\text{m}$  Polystyrolpartikel durch die Nematoden über die Zeit mittels Fluoreszenzmikroskopie detektiert und quantifiziert.

Alle drei Kultur-Nematodenarten nahmen über den Versuchszeitraum problemlos die Polystyrolpartikel auf, wobei die Aufnahmefähigkeit zwischen den Arten variierte (Tabelle 10). Im Körper von *C. elegans* wurden im Mittel ( $\pm$  Standardfehler)  $92 \pm 18$  gefunden, bei *A. nanus*  $21 \pm 3$  und bei *P. acuminatus*  $91 \pm 15$ .

Tabelle 10: Aufnahme von 1,0  $\mu\text{m}$  Polystyrolpartikeln durch die drei Nematodenarten. Mittlere Anzahl  $\pm$  Standardfehler an aufgenommenen Polystyrolpartikeln von *Caenorhabditis elegans* ( $n = 5-10$ ), *Acroboloides nanus* ( $n = 6-10$ ) und *Plectus acuminatus* ( $n = 4-10$ ) an den verschiedenen Unterproben tagen sowie der gesamte Mittelwert für alle Proben tage.

Zeit (Tage)	<i>C. elegans</i>	<i>A. nanus</i>	<i>P. acuminatus</i>
3	93,5 $\pm$ 18,7		
6	40,0 $\pm$ 9,8		
7			31,0 $\pm$ 5,8
9	34,5 $\pm$ 11,4		
12	76,0 $\pm$ 15,3	18,6 $\pm$ 6,5	
14			85,3 $\pm$ 20,7
15	114,2 $\pm$ 19,3		
18	184,1 $\pm$ 45,7	13,1 $\pm$ 4,0	
21	100,8 $\pm$ 20,8		91,5 $\pm$ 17,4
24		18,0 $\pm$ 4,6	
27		33,6 $\pm$ 8,8	
28			60,0 $\pm$ 16,8
31		12,8 $\pm$ 7,9	
35		16,9 $\pm$ 3,9	74,6 $\pm$ 9,8
38		28,8 $\pm$ 5,6	
42		16,6 $\pm$ 4,2	152,0 $\pm$ 40,8
45		23,8 $\pm$ 9,8	
49		41,1 $\pm$ 9,1	142,5 $\pm$ 26,2
56		11,2 $\pm$ 4,3	
<b>Gesamter Mittelwert</b>	91,9 $\pm$ 17,7	21,3 $\pm$ 2,7	91,0 $\pm$ 15,1

Generell unterschieden sich die Populationswachstumsparameter stark zwischen den Arten (Tabelle 11), was die unterschiedlichen Lebenszyklen der drei Nematodenarten widerspiegelt. *Caenorhabditis elegans* wuchs beispielsweise am schnellsten ( $r = 1,59 \pm 0,34$ ), gefolgt von *A. nanus* ( $r = 0,21 \pm 0,01$ ) und *P. acuminatus* ( $r = 0,18 \pm 0,04$ ).

Die Polystyrolpartikel hatten einen signifikant negativen Einfluss auf die Kapazitätsgrenze von *C. elegans* (Tabelle 11), denn unter Kontrollbedingungen erreichten die Populationen fast doppelt so viele Individuen als mit Mikroplastik. Auf der anderen Seite profitierte *A. nanus* von der Anwesenheit der Polystyrolpartikel, da diese Art signifikant schneller in Mikroplastik gewachsen ist (bezüglich  $r$ ,  $T_{\text{mid}}$  und  $T_{\text{gen}}$ ). Obwohl die langsam wachsende Nematodenart *P. acuminatus* gleiche Mengen an Polystyrolpartikeln aufgenommen hat wie die schnell wachsende Art *C. elegans* (Tabelle 10), hatte das Mikroplastik keinerlei Effekte auf das Populationswachstum (Tabelle 11).

Abschließend lässt sich festhalten, dass im Vergleich zu kurzzeitigen Experimenten Langzeit-Mehrge-nerationen-Versuche mit einer deutlich geringeren Konzentration feinere Effekte an *C. elegans* aufzei-gen.

Tabelle 11: Populationswachstumsparameter ( $r$  = Populationswachstumsrate pro Tag;  $K$  = Kapazitätsgrenze;  $T_{mid}$  in Tagen = Zeitpunkt, bei der die Hälfte der Kapazitätsgrenze erreicht ist;  $T_{gen}$  in Stunden = Verdopplungszeit) von *Caenorhabditis ele-gans*, *Acroboloides nanus* und *Plectus acuminatus*. Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung ( $n = 5-6$ ) für jede Behandlung. Mann-Whitney U-test oder t-test (signifikante Unterschiede [ $p < 0,05$ ] sind in fett hervorgehoben).

Parameter	<i>C. elegans</i>		<i>A. nanus</i>		<i>P. acuminatus</i>	
	Kontrolle	Mikroplastik	Kontrolle	Mikroplastik	Kontrolle	Mikroplastik
$R$	1,59 $\pm$ 0,34 t = -0,485; p = 0,643	1,76 $\pm$ 0,58	0,21 $\pm$ 0,01 t = -3,463; <b>p = 0,009</b>	0,27 $\pm$ 0,04	0,18 $\pm$ 0,04 U = 10,0; p = 0,429	0,24 $\pm$ 0,12
$K$	21.266 $\pm$ 2.070 t = 5,218; <b>p <math>\leq</math> 0,001</b>	12.045 $\pm$ 2.865	7.829 $\pm$ 641 t = 0,709; p = 0,498	7.481 $\pm$ 742	834 $\pm$ 98 t = 0,960; p = 0,362	765 $\pm$ 118
$T_{mid}$ (Tage)	10,60 $\pm$ 0,48 t = 0,934; p = 0,378	10,26 $\pm$ 0,57	38,14 $\pm$ 0,95 t = 2,809; <b>p = 0,023</b>	34,12 $\pm$ 2,70	26,35 $\pm$ 2,49 t = 0,920; p = 0,381	24,24 $\pm$ 4,29
$T_{gen}$ (Stunden)	11,21 $\pm$ 3,08 t = 0,576; p = 0,580	9,86 $\pm$ 3,53	118,99 $\pm$ 6,61 t = 4,352; <b>p = 0,002</b>	83,42 $\pm$ 14,95	134,16 $\pm$ 40,40 t = 0,185; p = 0,857	126,34 $\pm$ 82,52

### 3.3.2 Arbeitspaket 5.3: Modellökosysteme

#### Beschreibung

Im Gegensatz zu Laborstudien können in sogenannten Higher Tier Studien, wie Mikro- oder Mesokos-mosexperimenten, Effekte möglicher Stressoren nicht nur auf Ebene der Individuen, sondern auch auf Populations- bis hin zur biozönotischen Ebene untersucht werden. Mit steigender Realitätsnähe steigt hierbei auch die Komplexität und Varianz der einzelnen Testsysteme. Um einen Einblick über direkte und indirekte Effekte des Stressors auf die Biozönose zu bekommen, können in Higher Tier Testsystemen verschiedene trophische Ebenen und unterschiedliche Entwicklungsstadien beprobt und unter-sucht werden.

#### Ziele

Die Komplexität der Testsysteme sollte gesteigert werden, um zunächst Effekte einer realistischeren-Mischung von Mikroplastik-Partikeln auf meiobenthische Gemeinschaften über mehrere Wochen zu erforschen, die sich in definierten Toxizitätstest nicht simulieren lassen. Das Ziel des großen Mesokos-mos-Experimentes war, Wirkungen von Mikroplastik auf eine vollständige Süßwasser-Lebensgemein-schaft über eine gesamte Vegetationsperiode zu bewerten.

## Methoden Mikrokosmen

In kleinen Modellökosystemen (Mikrokosmen; Abbildung 58) sollte untersucht werden, ob eine Mischung aus verschieden zusammengesetztem Mikroplastik (50 % PS-Beads der Größe 1 µm, 37 % Polyethylenterephthalat (PET) Fasern der Länge 32'21 µm, 13 % Polyamid (PA) Fragmente der Länge 104 \* 84 µm) in zwei Konzentrationen (niedrige Konzentration =  $4,11 \cdot 10^5$  Partikel/kg Sediment-Trockengewicht (TG) und hohe Konzentration =  $4,11 \cdot 10^7$  Partikel/kg Sediment TG) einen Einfluss auf die Taxazusammensetzung des Meiobenthos bzw. der Nematoden hat. Nach 4 und 12 Wochen wurden die Mikrokosmen beprobt und hinsichtlich folgender Parameter analysiert: Abundanzen und Biomasse der wichtigsten Gruppen der Meiofauna, sowie Abundanz der Protozoen und Nematoden auf Artniveau.

## Ergebnisse

### 3.3.2.1 Mikrokosmen

Bei der Auswertung stand die Frage im Fokus, ob Effekte, die sich durch eine Verdünnung des natürlichen Futters erklären lassen (Kapitel 3.3.1), auch in Langzeitversuchen auf Populationsebene nachweisbar sind.



Abbildung 58: Versuchsaufbau in sogenannten Mikrokosmen. 1 Glas entspricht einem Replikat mit der freilebenden Meiofauna-Lebensgemeinschaft (Sediment aus der Lippe), welche durchgängig belüftet wurde.

Es wurden sechs meiobenthische Gruppen in den Mikrokosmen aller Behandlungen gefunden: Nematoden, Rädertierchen, Oligochaeten, harpacticoiden Copepoden, Gastrotrichen, Nauplien (Abbildung 59). Dabei machten die Nematoden den Hauptbestandteil aus (57–77 %), gefolgt von den Rotatorien (15–24 %) und Oligochaeten (5–17 %). Generell wurden diese Organismengruppen auch bereits bei den Untersuchungen der Stauhaltungen und Talsperren in der Lippe detektiert (siehe TP1).

Während die Mikroplastik-Mischung nach 12 Wochen Exposition die Abundanz von Protozoen (Ciliaten und Flagellaten) nicht veränderte, wurden signifikante, aber nicht dosisabhängige Wirkungen auf die Abundanz und Biomasse von Nematoden, Oligochaeten und harpacticoiden Copepoden festgestellt (teils Zu- als auch Abnahme in Mikroplastikmikrokosmen; Abbildung 59). Dementsprechend wurden mittels multivariater Statistik (nMDS-Analysen) auch nach 12 Wochen signifikante Veränderungen in der meiobenthischen Zusammensetzung aufgezeigt. Basierend auf Abundanzdaten unterschied sich die hoch konzentrierte Mikroplastikbehandlung signifikant von den Kontrollmikrokosmen, wobei sich die Biomassedaten der beiden Mikroplastikbehandlungen jeweils signifikant von der Kontrolle unterschieden. Darüber hinaus sind die (teilweise signifikanten oder tendenziellen) Unterschiede in der Struktur der meiobenthischen Gemeinschaft zwischen den mit Mikroplastik versetzten Mikrokosmen und den Kontrollmikrokosmen auf Veränderungen in letzteren zurückzuführen. Weder die Artenvielfalt der Nematoden als abundantestes Meiofauna Taxon (Artenreichtum, Shannon-Wiener-Index und Eveness) noch der NemaSPEAR[%]-Index (verschmutzungsempfindlicher Index auf der Grundlage von Süßwassernematoden; Höss et al., 2017, 2011) veränderten sich als Reaktion auf die Zugabe von Mikroplastik. Auch bei den Nematoden zeigte sich ein ähnliches Bild wie bei den Meiofauna Taxa: Es wurden zwar Verschiebungen der Nematodengemeinschaft beobachtet, doch waren diese nicht dosisabhängig. Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen früherer Studien, die zeigen, dass die Abundanzen (und damit die Biomasse) meiobenthischer Organismen in Süßwasserumgebungen schwanken können, was aufgrund der hochdynamischen Natur von Bächen und Flüssen zu erwarten wäre (z.B. Brüchner-Hüttemann et al. 2020; Majdi et al. 2011; Traunspurger et al. 2015). Vermutlich wurden daher die beobachteten Verschiebungen in der Zusammensetzung der Meiobenthos- und Nematodenarten nicht durch direkte schädliche Auswirkungen der Mikroplastikpartikel verursacht, sondern durch andere, unbestimmte Veränderungen der biotischen oder abiotischen Bedingungen (z. B. Verschiebungen im Nahrungsnetz). Durch die Störung der Futterverfügbarkeit in Anwesenheit von Mikroplastik (Wirkmechanismus in TP3 AP5.1) könnten die Veränderungen in der Zusammensetzung der Nematodenarten erklärt werden, was auch in Übereinstimmung mit dem Rückgang der sich von Bakterien ernährenden Nematoden in den Mikroplastikbehandlungen nach 12 Wochen ist, zugunsten von Nematoden anderer Ernährungstypen (Abbildung 60).

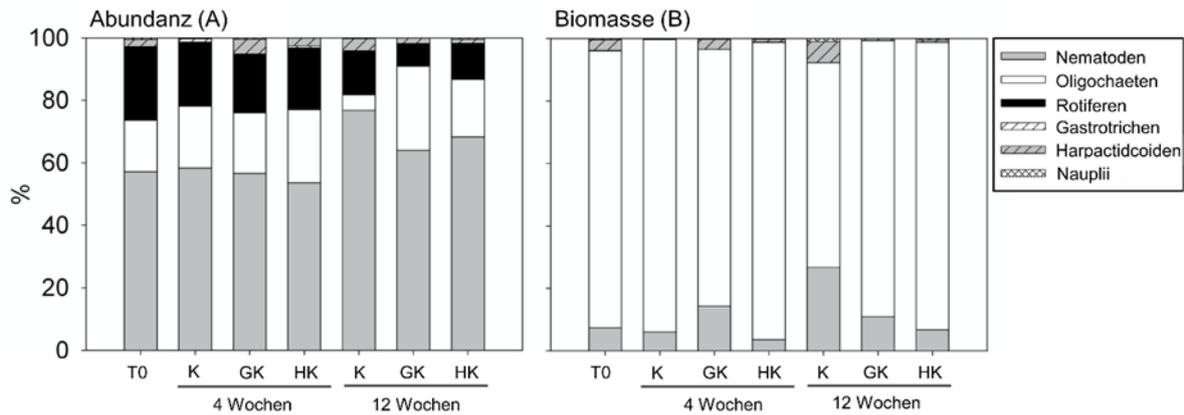


Abbildung 59: Prozentuale Anteile der verschiedenen meiobenthischen Gruppen (Nematoda, Rotatoria, Oligochaeta, Harpacticoida (Copepoda), Gastrotricha, Nauplien) an der gesamten meiobenthischen Abundanz (A) und Biomasse (B) in den verschiedenen Behandlungen (C = Kontrolle, LC = niedrige MP-Konzentration, HC = hohe MP-Konzentration) zu den jeweiligen Zeitpunkten (T0 = Anwendung, T1 = 4 Wochen nach Anwendung, T2 = 12 Wochen nach Anwendung). Modifiziert nach Rauchschalbe et al., 2022

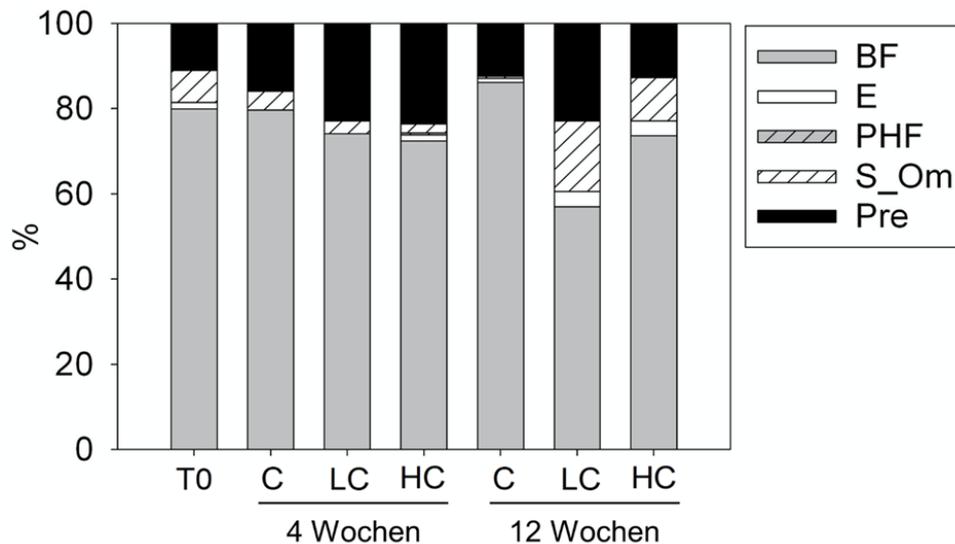


Abbildung 60: Prozentuale Anteile der verschiedenen Nematoden-Fütterungstypen: Bakterienfresser (BF), Epistrafresser (Algen) (E), Saugfresser (Pflanzen-/Hyphenfresser - S-PHF), Saugfresser (Allesfresser - S-Om) und Räuber (Ch); T0 = vor der Anwendung; C = Kontrolle, LC = niedrige MP-Konzentration, HC = hohe MP-Konzentration. Modifiziert nach Rauchschalbe et al., 2022

Abschließend kann jedoch festgehalten werden, dass geringfügige Veränderungen in der Struktur der meiobenthischen als auch der Nematoden-Gemeinschaft in Anwesenheit von umweltrelevanten Mikroplastik-Mischungen nicht ausgeschlossen werden können, so dass Mikrokosmen-Experimente für den Nachweis feiner, indirekter Auswirkungen von Mikroplastik von Nutzen sein können.

### 3.3.2.2 Mesokosmos-Versuch

#### Methoden Mesokosmosversuch

Der Mesokosmosversuch wurde 2020 auf dem Versuchsgelände der Mesocosm GmbH durchgeführt. Hierbei wurden in einen in 2018 aufgesetzten Teich 21 Edelstahl-Enclosures eingesetzt, die vergleichbare Ökosysteme voneinander abgrenzen. Jedes der so neu entstandenen Modellökosysteme bestand

aus je einer 10 cm mächtigen Lehm und Sedimentschicht. Bei einem Wasserstand zu Versuchsbeginn von 110 cm betrug das Wasservolumen in jedem System ~1050 Liter. Nach einem umfassenden Pre-monitoring wurden die 16 Systeme für den späteren Versuch ausgewählt, in denen die untersuchten Endpunkte am homogensten verteilt waren. Alle Kontrollen und Belastungen wurden willkürlich nach Position im Teich, physikalischen Parametern und Artzusammensetzung während des Premonitorings verteilt (Abbildung 61).

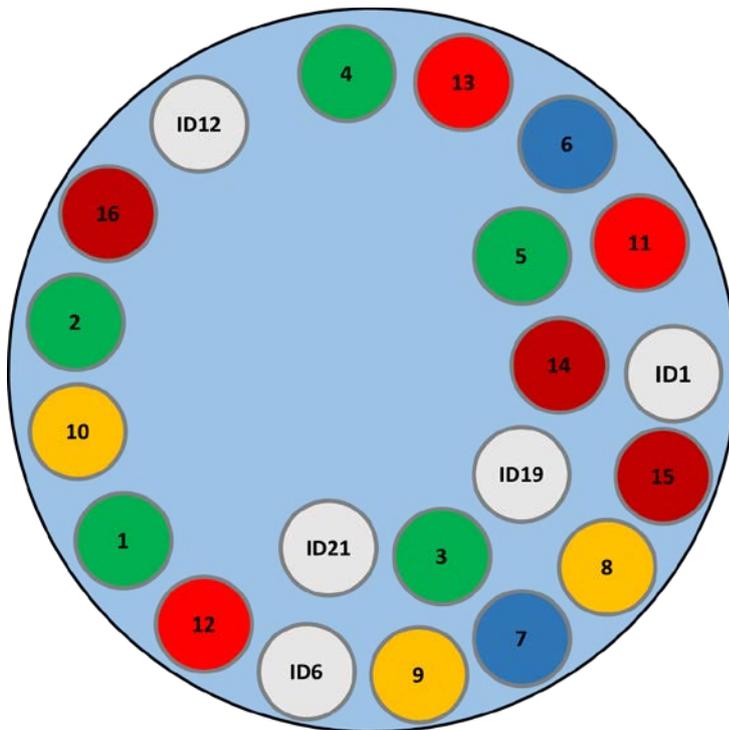


Abbildung 61: Aufbau des Mesokosmenversuchs. 1-5 (grün): Kontrolle; 6+7 (blau): SiO<sub>2</sub>-Partikelkontrolle; 8-10 (orange): 1,5 mg/l PA-6; 11-13 (rot): 15 mg/l PA-6; 14-16 (dunkelrot): 150 mg/l PA-6; ID 1, 6, 12, 19, 21 (grau): entfallen

#### Physikochemische Parameter

Die Leitfähigkeit ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), der pH-Wert, die Wassertemperatur ( $^{\circ}\text{C}$ ) und die Sauerstoffsättigung (%) wurden in allen Mesokosmen mindestens wöchentlich mit einem Multimeter gemessen. Der Nephelometrische Trübungswert (NTU) wurde tiefenintegriert in drei Tiefen gemessen. Jeweils 20 cm, 50 cm und 80 cm unterhalb der Wasseroberfläche wurde mit einer Kugelpipette eine Wasserprobe gezogen, die anschließend mit einem Photometer gemessen wurde. Als sich eine homogene Trübung über die gesamte Wassersäule eingestellt hatte, wurde in den folgenden Probenahmen eine Wassermischprobe gemessen.

Photometrische Messungen der chemischen Parameter Härte, Nitrat-, Nitrit- und Phosphatgehalte wurden vor während und nach der laufenden Studie durchgeführt. Die Wetterdaten am Standort wurden durch eine circa 200 m (Luftlinie) entfernt liegende Wetterstation des Deutschen Wetterdienstes (DWD; ID:7410) erfasst. Auf eine Darstellung der chemischen Parameter und des Wetters wurde im Folgenden verzichtet.

### Makrophyten

Alle Modellsysteme wurden vergleichbar mit Makrophyten (*Chara globularis*, *Ceratophyllum demersum*, *Potamogeton perfoliatus*, *Myriophyllum spicatum*) bepflanzt. Hierbei wurde darauf geachtet, dass die jeweiligen Arten an gleichen Stellen gepflanzt wurden. Zu Beginn der Studie lag der Flächenbedeckungsgrad der Makrophytengemeinschaft unter 35 %. Während der Studie wurden keine Makrophyten entfernt oder gepflanzt. In regelmäßigen Abständen wurde der Flächenbedeckungsgrad der einzelnen Arten kartiert. Aufgrund der geringen Variabilität des Endpunkts wurde im Folgenden auf eine Darstellung verzichtet.

### Phytoplankton

Mindestens wöchentlich wurden Wassermischproben aus jedem Mesokosmos entnommen und mit einem DF-Spektrometer der Chlorophyll-Gehalt ( $\mu\text{g/l}$ ) von vier Algenfarbklassen bestimmt. Differenziert wurde dabei in Grünalgen, Blaualgen (Cyanobakterien), Kieselalgen und Kryptomonaden.

### Zooplankton

Mithilfe einer eigens zur Zooplanktonbeprobung entwickelten Falle wurde wöchentlich eine definierte Wassersäule aus jedem Modellökosystem beprobt und durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 63  $\mu\text{m}$  gesiebt. Dabei wurde darauf geachtet, das jeweilige System während der Beprobung so wenig wie möglich zu stören. Die Proben wurden anschließend in 70 %-igem Ethanol fixiert und taxonomisch ausgewertet.

### Meiofauna

Mit einem Edelstahlrohr wurden je 3 Sedimentkerne ( $\varnothing$  5 cm) aus jedem Mesokosmos gestochen. Dabei wurde alles außer dem oberen 5 cm Horizont verworfen. Das Sediment jedes Systems wurde vereinigt und mit 4 %-igem Formalin fixiert und anschließend von den Projektpartnern der Universität Bielefeld und der ECOSSA analysiert.

### Makroinvertebraten

Die Makroinvertebratengemeinschaft wurde sowohl aktiv als auch passiv überwacht. Die pelagisch lebenden Arten wurden mit gleich gerichteten Kescherzügen gefangen. Außerdem wurde durch künstliche Substrate ein Habitat für die Organismen geschaffen, das beprobt wurde. Die Neuseeländische Zwergdeckelschnecke *Potamopyrgus antipodarum* wurde in Bio-Assays in den Mesokosmen exponiert und in einem 28 Tage-Rhythmus auf den Endpunkt Reproduktion untersucht. An drei Terminen wurden die Organismen zusätzlich zur Lebendzählung fixiert. Später wurde eine Stichprobe der Organismen ( $n \geq 40$ ) in Länge, Höhe und Breite (Abbildung 62) vermessen.

	Taxa	Länge	Breite	Höhe
ARTHROPODA	Coleoptera, Diptera, Ephemeroptera Hemiptera, Isopoda, Odonata, Trichoptera	Kopfansatz bis Abdomenende   (Dargestellt: Chaoborus sp. (o.), Corixidae Gen. sp. (u.))	Thoraxbreite  	Thoraxhöhe  

Abbildung 62: Messpunkte der Gliederfüßer in Länge, Breite, Höhe für zwei Beispieltaxa (*Chaoborus* spp., *Corixidae* spp.).  
Verändert nach Fladerer (2021, unveröffentlicht)

#### Emergierende Organismen

Um die Organismen, die eine flugfähige Adultphase durchlaufen zu beproben, wurden zwei konisch zulaufende Emergenzfallen in jeden Mesokosmos eingebaut. Alle Individuen, die sich unter der Fläche verpuppen, werden in eine Eklektordose geleitet, in der sich eine Fangflüssigkeit (Wasser mit Benetzungsmittel) befand. Die Fangbehälter wurden einmal wöchentlich paarweise vereinigt und die sich darin befindenden Organismen fixiert und taxonomisch analysiert. Die zwei dominantesten Taxa (*Chaoborus* spp. und *Cloeon dipterum*) wurden zudem nach Geschlechtern unterteilt, gemessen und gewogen. Ein Schema der Mesokosmen mit den statischen Probenahmetechniken ist in Abbildung 63 dargestellt.

#### Biofilmbewuchs

Rechteckige Scheiben aus drei verschiedenen Materialien (Glas, PET, PLA) wurden außerhalb der Mesokosmen im Versuchsteich in insgesamt sechs Haltern angebracht. Jeder Halter enthielt je 3 Scheiben aus allen Materialien. Diese waren nach dem Schema (ABC-ABC-ABC) angeordnet. An den Tagen 1, 3, 27 und 84 wurden jeweils die beiden Scheiben entnommen, die am linken Rand der Abfolge waren und direkt, nach Material getrennt, eingefroren (-20 °C). So wurden pro Probenahme je 4 Scheiben jedes Materials beprobt. Am Ende der Studie wurden alle Proben zum Projektpartner an der Universität Münster geschickt und analysiert. Die Ergebnisse sind unter 3.2.1 dargestellt.

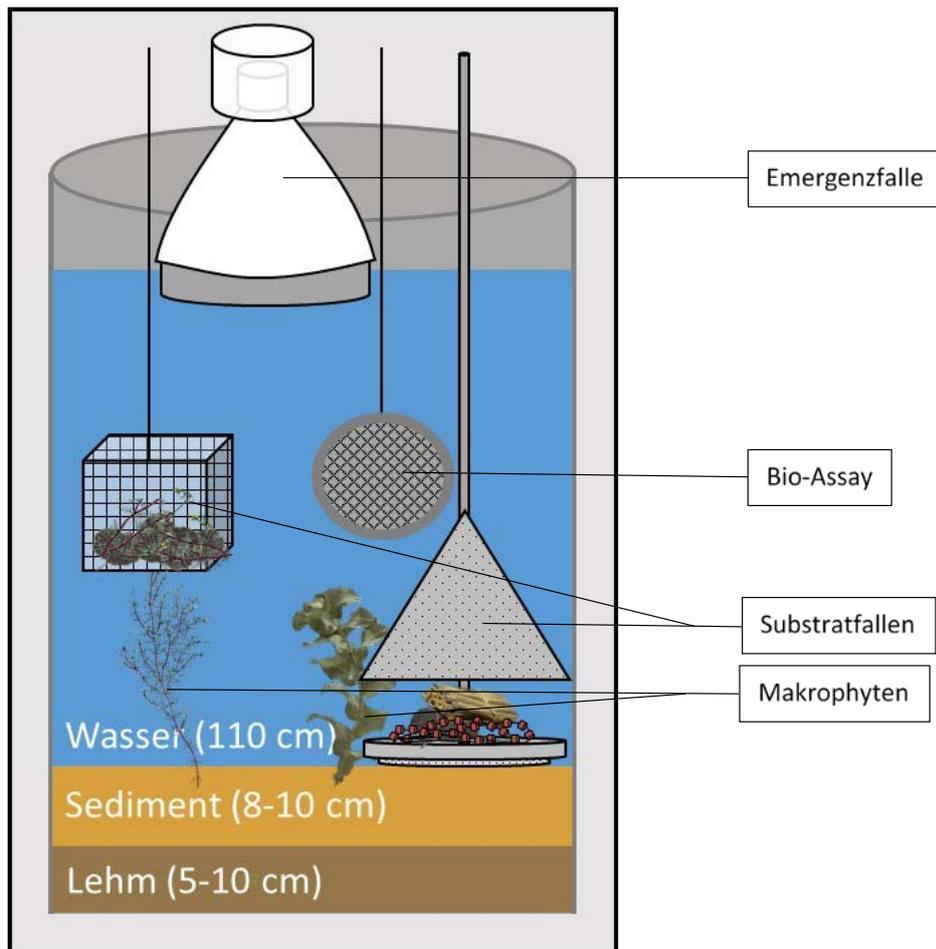


Abbildung 63: Schema eines Modellökosystems (Querschnitt) mit stationären Probenahmetechniken.

## Ergebnisse

### Begleitparameter

Abbildung 64 zeigt die physikochemischen Parameter der Mesokosmen über den Studienverlauf. Dargestellt sind die Behandlungsmittelwerte der Leitfähigkeit, der Wassertemperatur, des Sauerstoffgehaltes und des pH-Wertes. Die Leitfähigkeit der Polyamidbehandlungen (rot) und der Silikatbehandlungen verlaufen über den Studienzeitraum im Kontrollbereich (grau). An Tag 84 zeigten die 15 mg/l und 150 mg/l Mikroplastikbehandlung und die Silikatbehandlung eine nicht signifikant erhöhte Leitfähigkeit im Vergleich zur Kontrolle. Die Wassertemperatur verlief in allen Mesokosmen vergleichbar über den gesamten Zeitraum. Der Sauerstoffgehalt war an Tag 10 in der höchsten Mikroplastikbehandlung im Vergleich zur Kontrolle nicht signifikant verringert. Ab Tag 21 lagen die Werte im Kontrollbereich. Der Sauerstoffgehalt in allen anderen Behandlungen lag bis Tag 70 im Kontrollbereich. An Tag 70 lag der mittlere Sauerstoffgehalt der Silikatbehandlung unter dem Kontrollbereich, an Tag 77 der der 15 mg/l Mikroplastikbehandlung. Der pH-Wert aller Behandlungen lag bis Tag 21 im Kontrollbereich. Ab Tag 28 der Studie lagen die mittleren pH-Werte aller Behandlungen außerhalb des Kontrollbereichs. Sowohl die 15 mg/l Mikroplastik- als auch die Silikatbehandlung wichen in dem Zeitraum über 0,5 pH-Stufen vom Kontrollmittelwert ab.

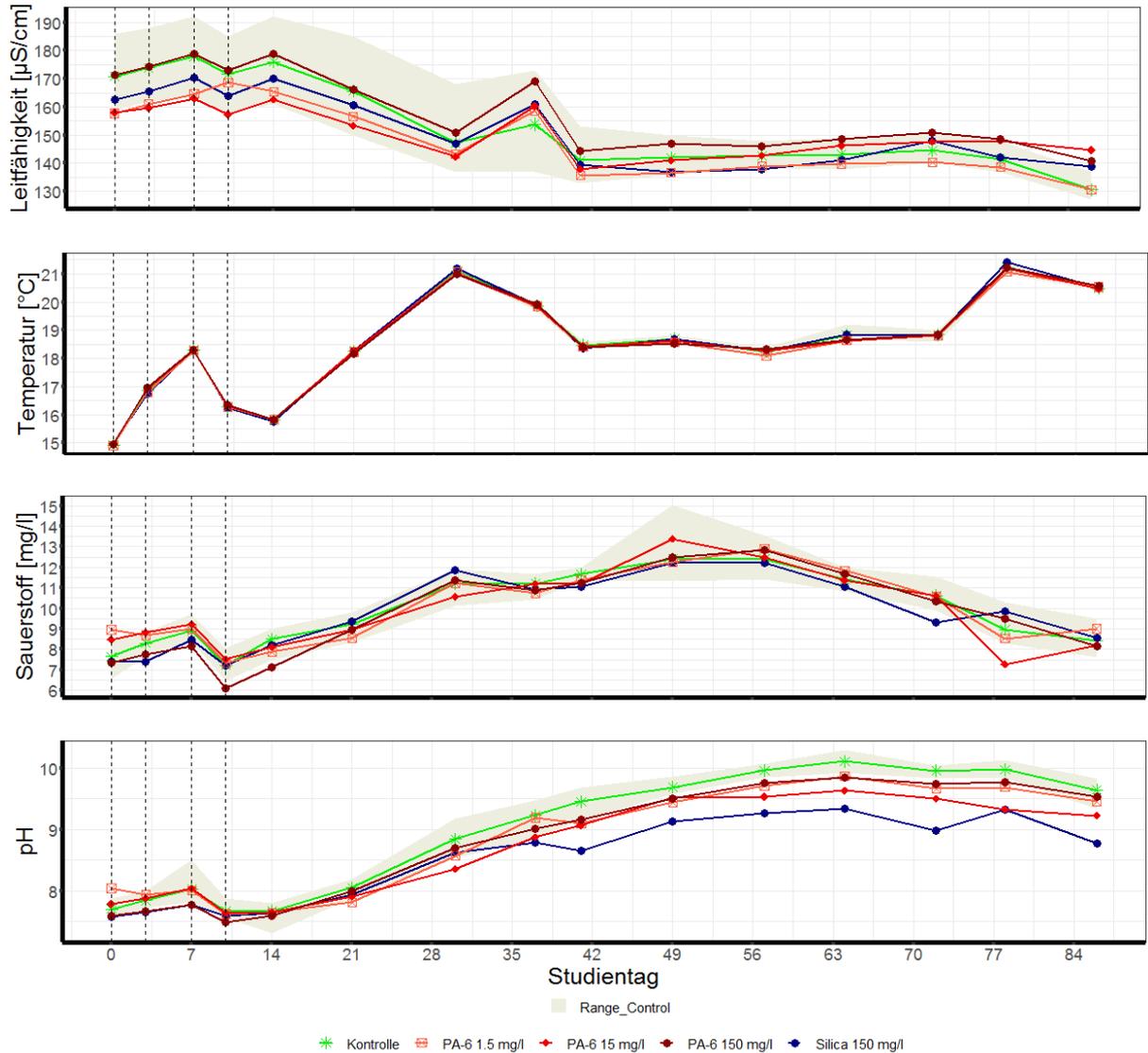


Abbildung 64: Physikalische Parameter (von oben nach unten: Leitfähigkeit, Temperatur, Sauerstoffgehalt, pH-Wert) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation

Die Trübung (Abbildung 65), ausgedrückt durch den Nephelometrischen Trübungswert (NTU), stieg in den Mikroplastikbehandlungen in der obersten untersuchten Wasserschicht (20 cm) nach jeder Applikation konzentrationsabhängig an. An Tag 10 war das Wasser in allen Behandlungen gleichmäßig trüb. Die Trübung in der Silikatbehandlung verhielt sich vergleichbar zu den Mikroplastikbehandlungen auf einem geringeren Niveau als die gleichkonzentrierte höchste Mikroplastikkonzentration. An Tag 20 befanden sich alle Trübungswerte in allen Schichten im Bereich der Kontrolle. Die Erhöhung und das Erreichen eines Plateaus des NTU-Werts nach Tag 11 kann durch starke Regenfälle und der damit einhergehenden Vermischung der Mesokosmen erklärt werden.

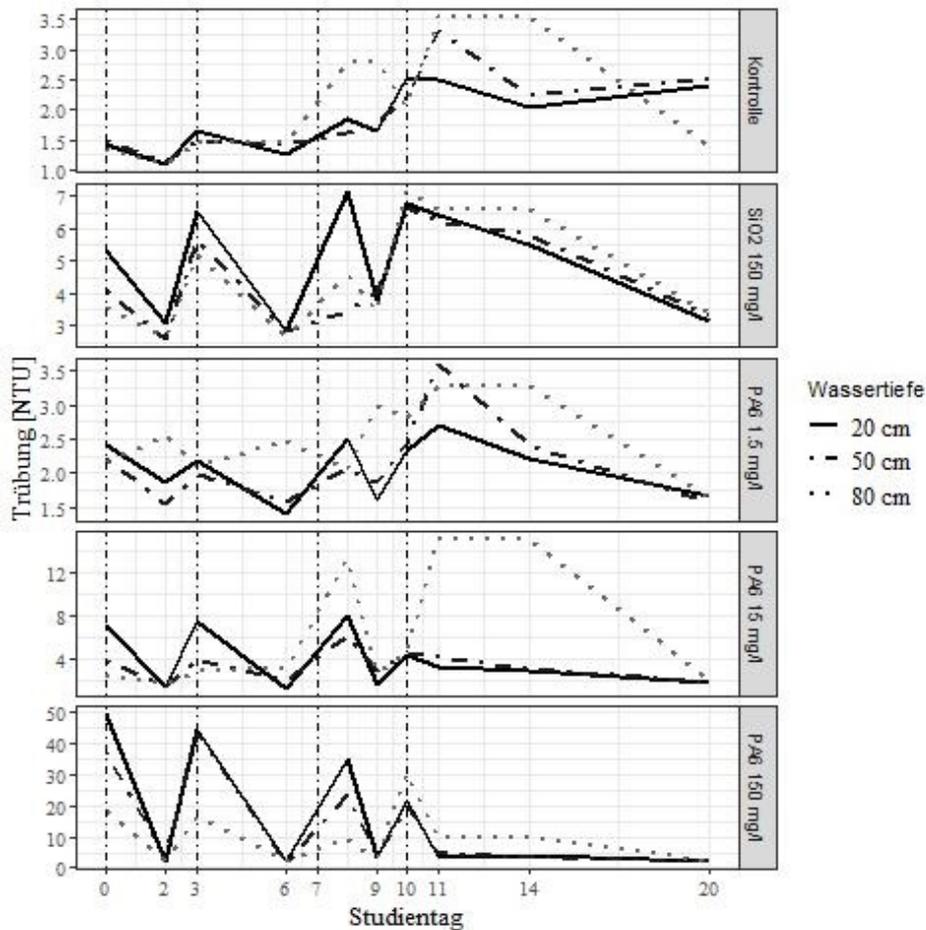


Abbildung 65: Nephelometrischer Trübungswert (NTU) der verschiedenen Behandlungen in drei Tiefen bis Studientag 20. Gestrichelte vertikale Linien: Polyamid-Applikation

Aus der Abbildung wird ersichtlich, dass die Mikroplastikpartikel aufgrund ihrer Dichte ( $1,13 \text{ g/cm}^3$ ) innerhalb von 2-3 Tagen nahezu vollständig in die unteren Wasserschichten abgesunken sind. Zum Zeitpunkt der vierten Applikation (Tag 10) waren die Partikel einheitlicher in der gesamten Wasserphase verteilt. Dies liegt aber auch an der durch starke Regenfälle geförderten Durchmischung des Wassers. Die steigenden Trübungswerte in den Kontrollen, besonders 80 cm unterhalb des Wasserspiegels, deuten auf eine Sedimentmobilisation hin, die wiederum in den Behandlungen auf eine Remobilisation der bereits sedimentierten Mikroplastik- und Silikatpartikel schließen lässt.

#### Phytoplankton

Das pflanzliche Plankton (Abbildung 66) zeigte einen steigenden Chlorophyllgehalt in allen Behandlungen und den Kontrollen ab der ersten Applikation (Tag 0). Im Fall der Kieselalgen lässt sich das in der Silikatbehandlung durch den in allen anderen Mesokosmen limitierenden Faktor, die Kieselsäure erklären. Durch den Überschuss an Kieselsäure konnten die Kieselalgen besser wachsen als in den Kontrollen und Mikroplastikbehandlungen. Ab Tag 21 lag der Chlorophyllgehalt der Silikatbehandlung wieder im Bereich der Kontrollen. Der stark steigende Chlorophyllgehalt in der 15 mg/l Mikroplastikbe-

handlung lässt sich durch eine Kugelalgenblüte in einer der Mesokosmen erklären, die an Tag 30 begann und sich bis zum Ende der Studie fortführte. Ein ähnliches Bild zeigt auch die Principal response curve (PRC) der Phytoplanktongemeinschaft (Abbildung 67). Die PRC zeigt für die Silikatbehandlung einen Anstieg nach der Applikationsphase und für die mittlere Mikroplastikbehandlung (15 mg/l) einen Anstieg ab der Mitte des Experiments. Sowohl Grünalgen (green) als auch Kieselalgen (diatom) tragen am meisten zu den Änderungen bei.

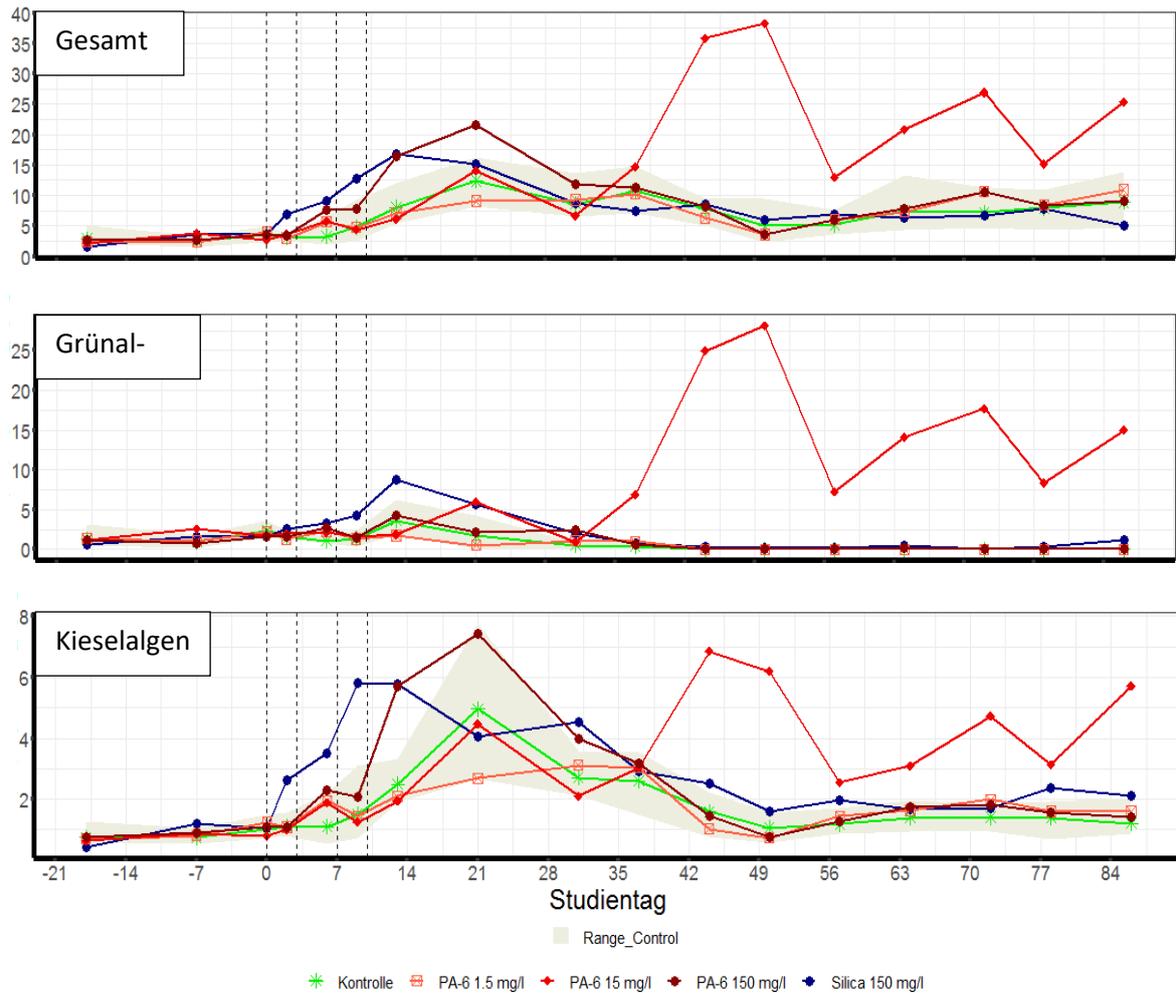


Abbildung 66: Chlorophyllgehalt der Phytoplanktongemeinschaft (von oben nach unten Gesamtgehalt, Grünalgen, Kieselalgen) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation

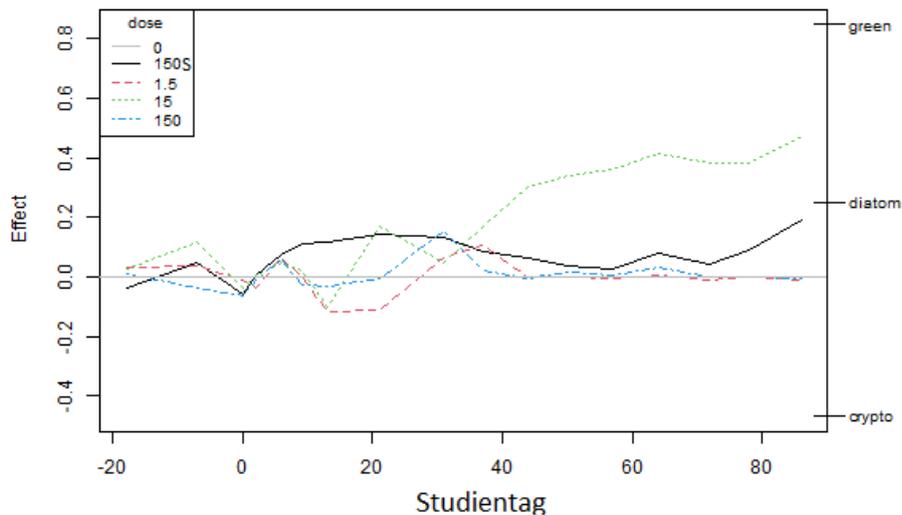


Abbildung 67: Principal response curve (PRC) der Phytoplanktongemeinschaft. Dargestellt sind nur Taxa mit einem species score > 10,51.

### Zooplankton

Wie in Abbildung 69 zu sehen ist, nahm die Zooplanktonabundanz im Verlauf der Studie kontinuierlich ab. An Studientag 41 lag die Gesamtabundanz in den niedrigen Mikroplastikbehandlungen (1,5 mg/l und 15 mg/l) unter dem Kontrollbereich. Ein ähnliches Bild lässt sich bei den Nauplien erkennen. Auch an Tag 63 wick die Abundanz der Nauplien in den beiden höchsten Mikroplastikbehandlungen (15 mg/l und 150 mg/l) signifikant von der Kontrolle ab. Die Rädertiere (*Synchaeta* spp.) zeigten an Tag 28 einen nicht signifikanten Anstieg der Abundanzen in zwei Behandlungen (1,5 mg/l Polyamid und 150 mg/l Silikat). Durch die hohe Varianz und den direkten Abfall der Abundanz zu Tag 35 ist von einer zufälligen Beobachtung auszugehen. Die Muschelkrebse (*Ostracoda* spp.) zeigten in allen Mikroplastikbehandlungen ab Tag 41 einen signifikanten Rückgang der Abundanzen. Ab Tag 56 war auch der Unterschied der Silikatbehandlung zur Kontrolle signifikant. Erst am Ende der Studie (Tag 84) konnte nur noch in den beiden höchsten Mikroplastikbehandlungen (15 mg/l und 150 mg/l) ein signifikanter Unterschied zur Kontrolle festgestellt werden. Auch die PRC der Zooplanktongemeinschaft zeigt, dass die Muschelkrebse, trotz vergleichbar geringer Abundanz einen hohen Einfluss auf die Änderungen der Gemeinschaft hatten (Abbildung 68). Der Wasserfloh *Daphnia longispina* zeigte, bis auf vereinzelte kurzzeitige Abweichungen, keine Unterschiede in der Abundanz zwischen den Behandlungen und der Kontrolle.

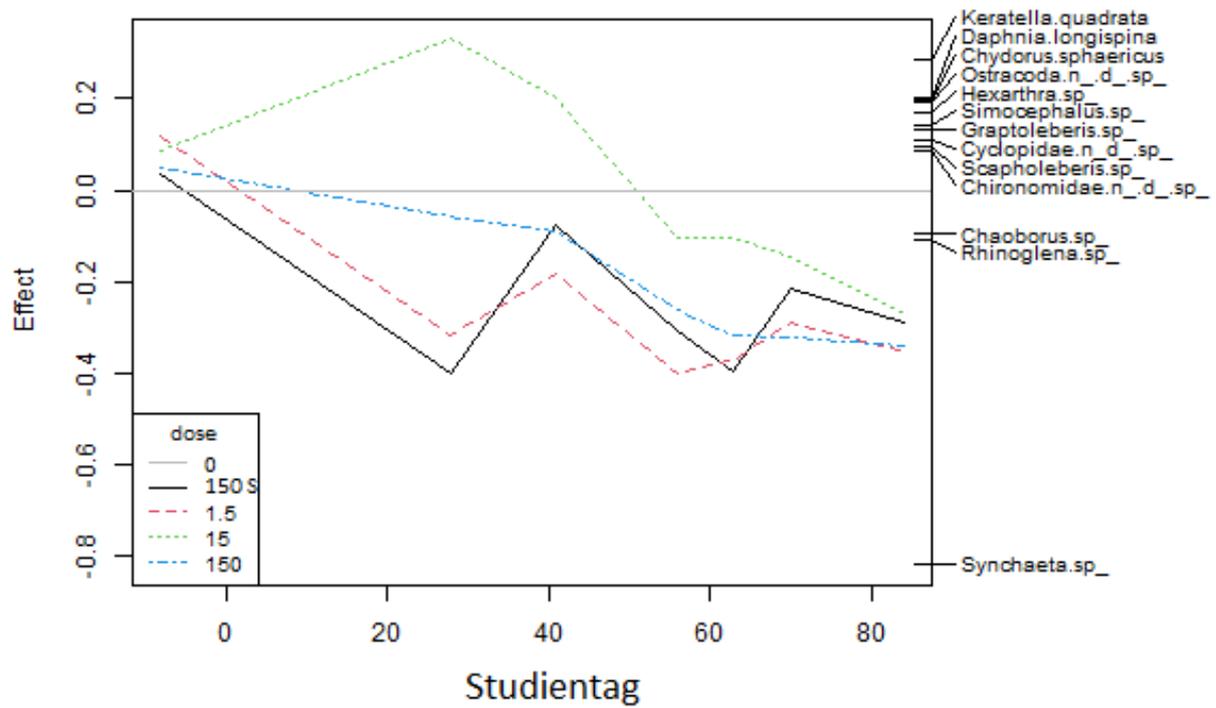


Abbildung 68: Principal response curve (PRC) der Zooplanktongemeinschaft. Dargestellt sind nur Taxa mit einem species score > 10,51.

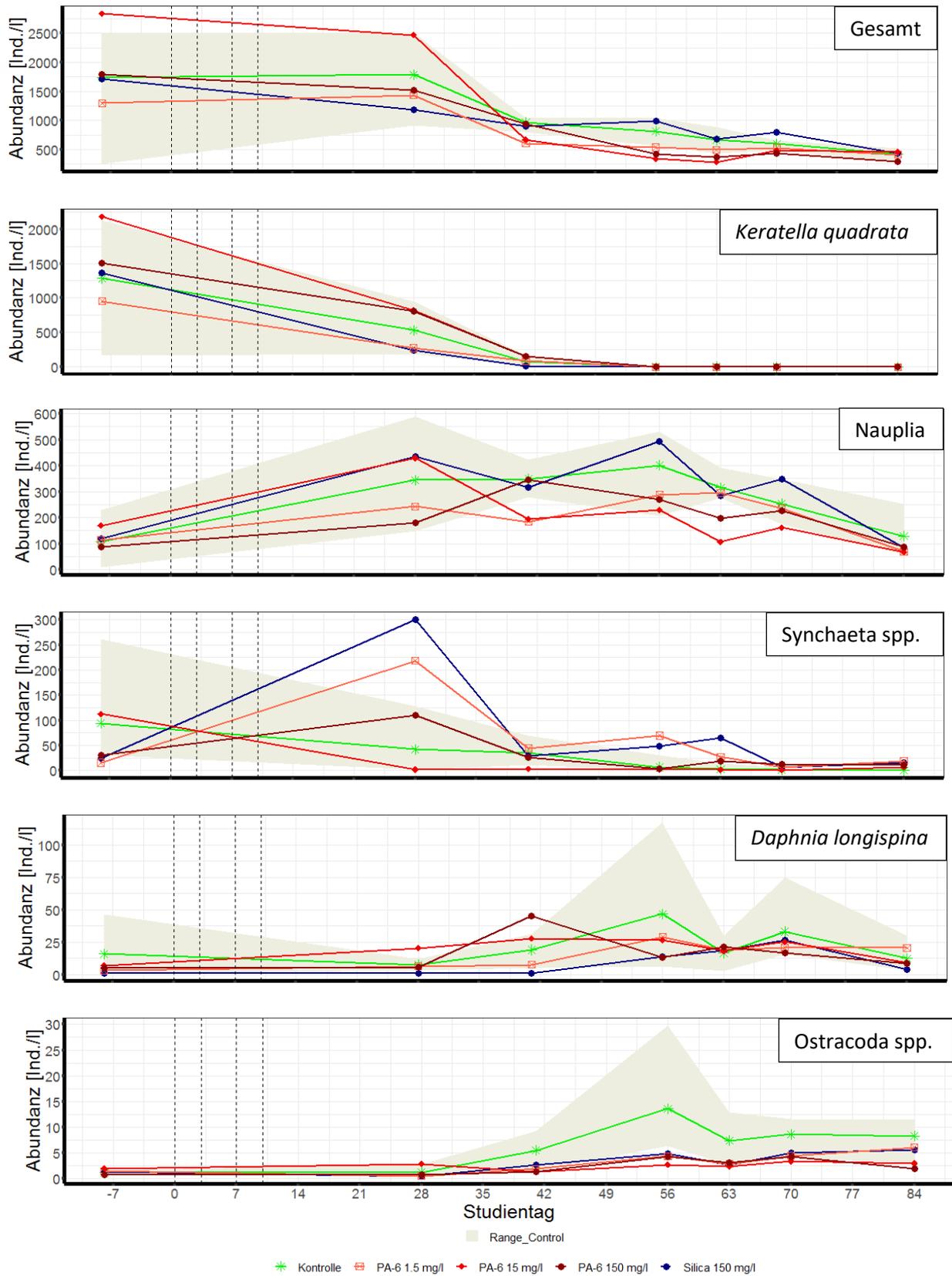


Abbildung 69: Zooplanktonabundanzen (v.o.n.u. Gesamtzahl, *Keratella quadrata*, *Nauplia*, *Synchaeta spp.*, *Daphnia longispina*, *Ostracoda spp.*) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation

### Makroinvertebraten

Die Makroinvertebratenabundanz wurde hauptsächlich durch die Büschelmücke *Chaoborus* spp. dominiert. Abbildung 70 zeigt deutlich, dass die Gesamtabundanz an Tag 35 der Studie einen Peak aufweist, von dem in den Kontrollen mehr als die Hälfte der Individuen auf die Büschelmückenlarven zurückzuführen ist. Die beiden niedrigen Mikroplastikbehandlungen (1,5 mg/l und 15 mg/l) weisen diesen Peak nicht auf. Dies liegt im Fall der 15 mg/l Behandlung an dem Mesokosmos, der die Kugelalgenblüte aufwies. In diesem Modellökosystem wurden ab dem Start der Algenblüte signifikant weniger Büschelmückenlarven in den Probenahmen detektiert als in den anderen Systemen mit vergleichbarer Partikellast. Dies kann daran liegen, dass die adulten Büschelmücken das trübere Modellsystem als nicht geeignet für die als Lauerjäger lebenden Larven betrachtet haben und weniger Eier abgelegt haben. Dies deckt sich mit der Hauptemergenzzeit von *Chaoborus* spp. in dieser Studie (Tag 21 bis Tag 35, Abbildung 70).

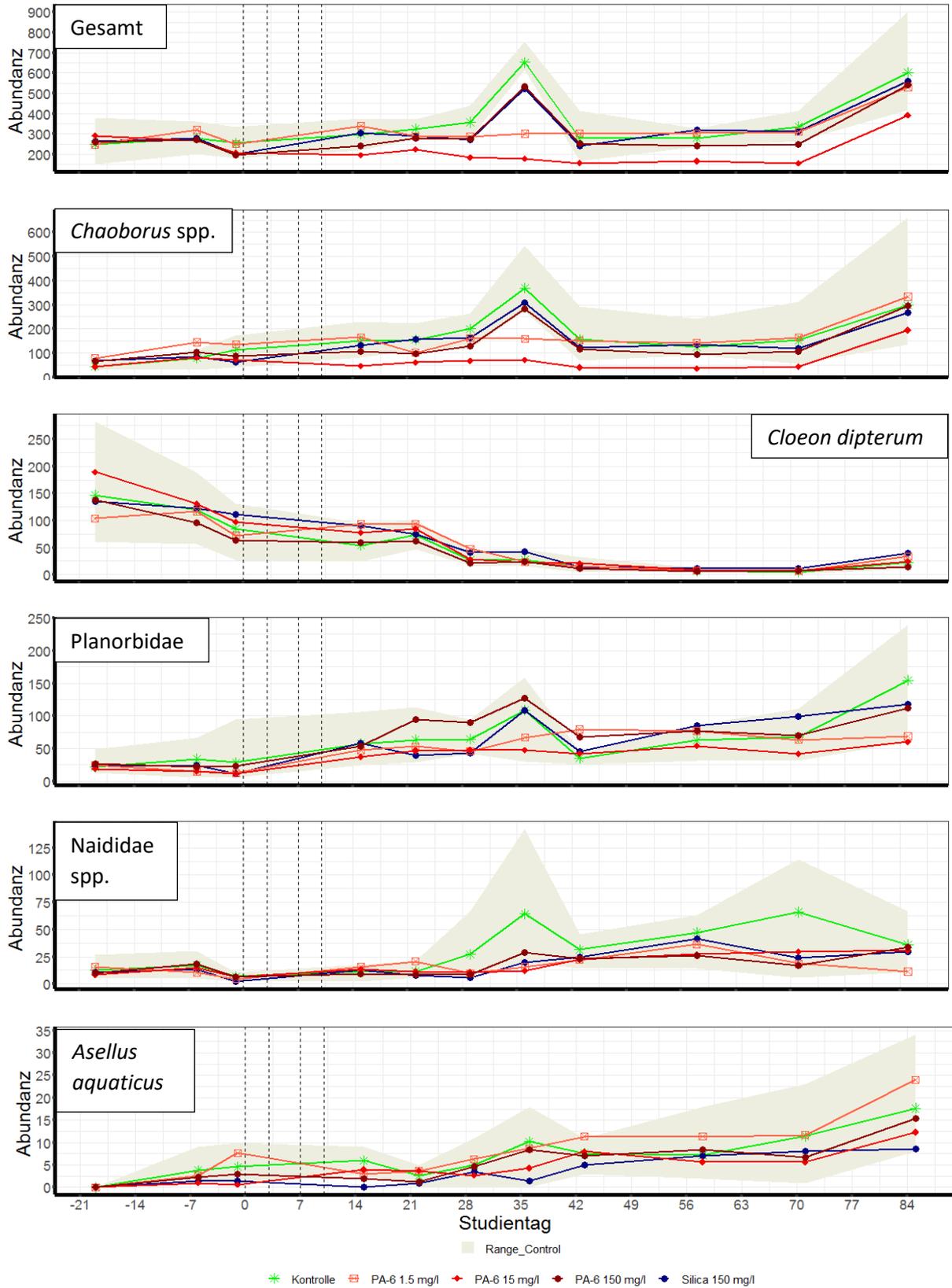


Abbildung 70: Makroinvertebratenabundanz (von oben nach unten Gesamtzahl, Chaoborus spp., Cloeon dipterum, Planorbidae, Naididae spp., Asellus aquaticus) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation

Abbildung 71 zeigt die Biovolumina der an drei Tagen fixierten Larven von *Chaoborus* spp.. Die Darstellung zeigt die log-transformierten Werte. Je breiter der Violin-Plot an einer Stelle, desto häufiger ist der Wert aufgetreten. Die Boxplots innerhalb der Plots zeigen den Median und die 25 und 75 % Perzentile an, die eine Betrachtung der Verteilung der Daten erlauben. Über den gesamten Verlauf der Studie kann zwischen den Behandlungen und der Kontrolle kein Unterschied festgestellt werden. Mit zunehmender Studiendauer sank der Anteil an kleinen Individuen. Dies liegt an der Überwinterungsstrategie der Büschelmücken. Die Larven überwintern in den größeren Larvenstadien (L3 und L4).

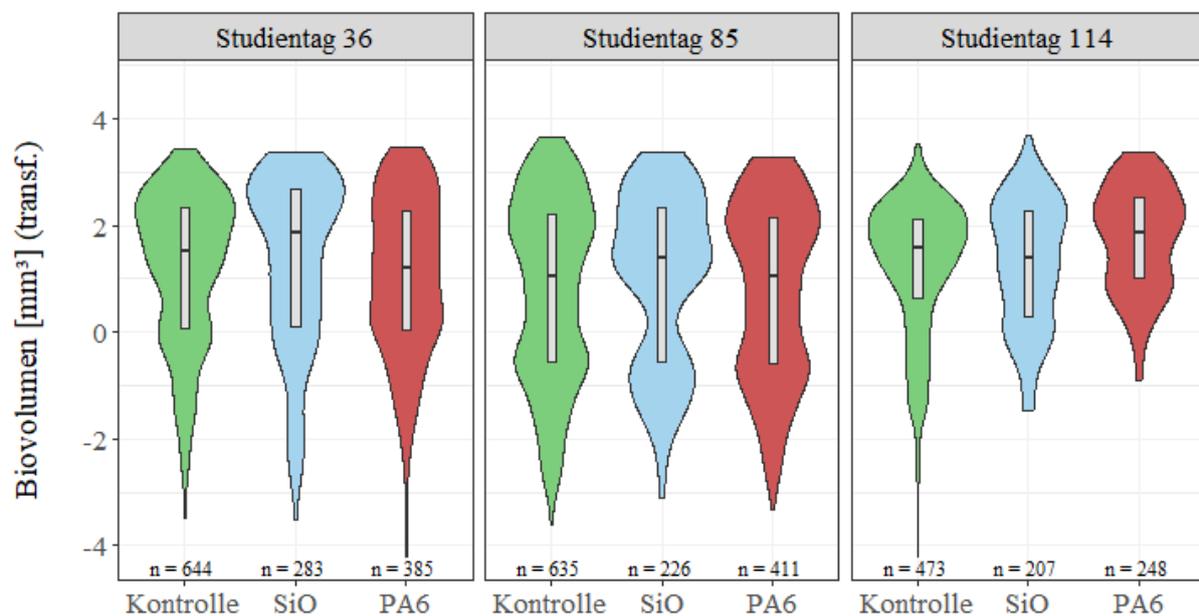


Abbildung 71: Biovolumen (log-transformiert) von *Chaoborus* spp. Larven an drei Probenahmetagen. Kontrolle (grün), Partikelkontrolle (blau), Polyamid (150 mg/l, rot).

In Abbildung 72 ist die Biovolumenverteilung der Eintagsfliegenlarven der Art *Cloeon dipterum* dargestellt. Zwischen Studientag 36 und 85 sieht man einen deutlichen Wechsel von großen zu kleinen Individuen. Dies deutet auf den Wechsel zwischen Winter- und Sommergeneration hin. Zum Ende der Studie stieg der Anteil an größeren Organismen. Die Larven überwintern in Larvenstadium 3 bis 5 (Cianciana, 1979).

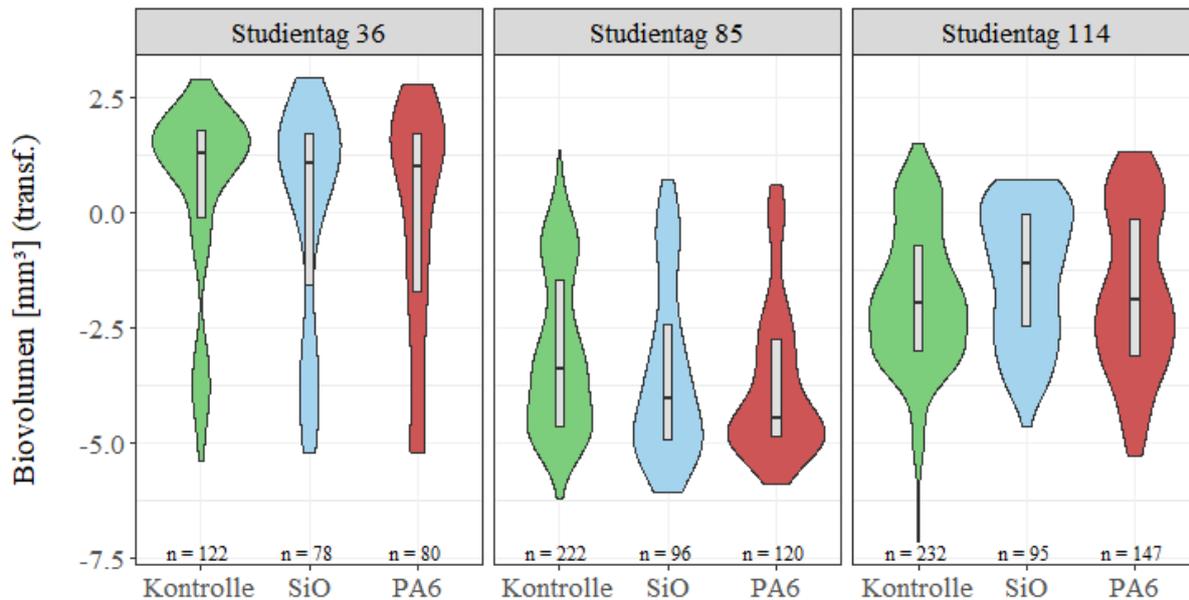


Abbildung 72: Biovolumen (log-transformiert) von *Cloeon dipterum* Larven an drei Probenahmetagen. Kontrolle (grün), Partikelkontrolle (blau), Polyamid (150 mg/l, rot).

#### Potamopyrgus-Assay

Abbildung 73 zeigt die mittlere Embryonenzahl der Zwergdeckelschnecken in den implementierten Bio-Assays über den Verlauf der Studie. Nach 28 Tagen zeigten sowohl die 150 mg/l Silikatbehandlung als auch die höchste Mikroplastikbehandlung (150 mg/l) einen Rückgang in der Embryonenzahl. Die niedrige (1,5 mg/l) und die mittlere (15 mg/l) Plastikbehandlungen zeigten keine Unterschiede zur Kontrolle. An Tag 56 befanden sich alle Behandlungen in einem Bereich und zeigten keine Unterschiede. An Tag 84 zeigten alle Behandlungen nicht signifikant erhöhte Embryonenzahlen im Vergleich zur Kontrolle. Die Embryonenzahl nahm im Laufe der Studie in allen Behandlungen kontinuierlich ab. Dies kann zum einen am zunehmenden Alter der Muttertiere, zum anderen auch am Rückgang der Nahrung in den Bio-Assays oder der steigenden Wassertemperatur zum Ende der Studie (OECD 2014, OECD 2016) liegen.

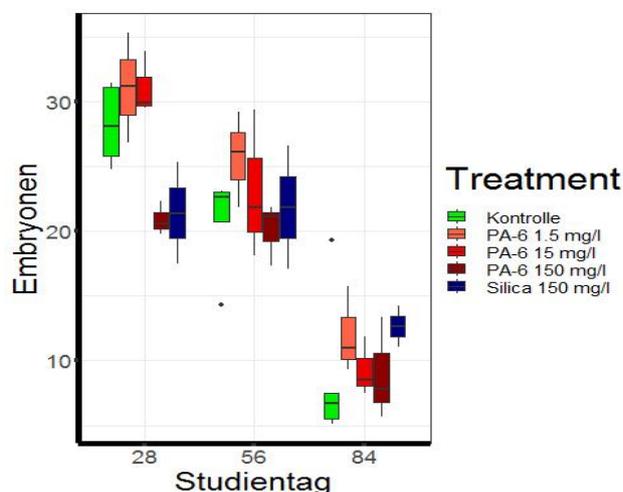


Abbildung 73: Embryonenzahl von *P. antipodarum* aus Bio-Assays

## Emergenzen

Die Schlupfrate pro Woche über den Studienverlauf ist in Abbildung 74 dargestellt. Während des Applikationszeitraums (Tag 0 – Tag 10) war die Gesamtabundanz durch die der Unterfamilie Tanyptodinae angehörigen Zuckmücken dominiert. Die Büschelmücke *Chaoborus* erreichte das Schlupfmaximum im Zeitraum von Tag 21 bis Tag 35 der Studie. *Cloeon dipterum* wies einen konstanten Schlupf von Tag -7 (Premonitoring) bis Tag 35 auf. Danach sank die Schlupfrate der Eintagsfliegen kontinuierlich ab. Der Schlupf in allen Mikroplastikbehandlungen zeigte keine Unterschiede zur Kontrolle. Einzig bei *Chaoborus* spp. wurde eine leicht erhöhte Schlupfrate an Tag 35 festgestellt. Die Gesamtheit der emergenten Insekten in der Silikatbehandlungen wies einen stark verzögerten Peak auf (Tag 59).

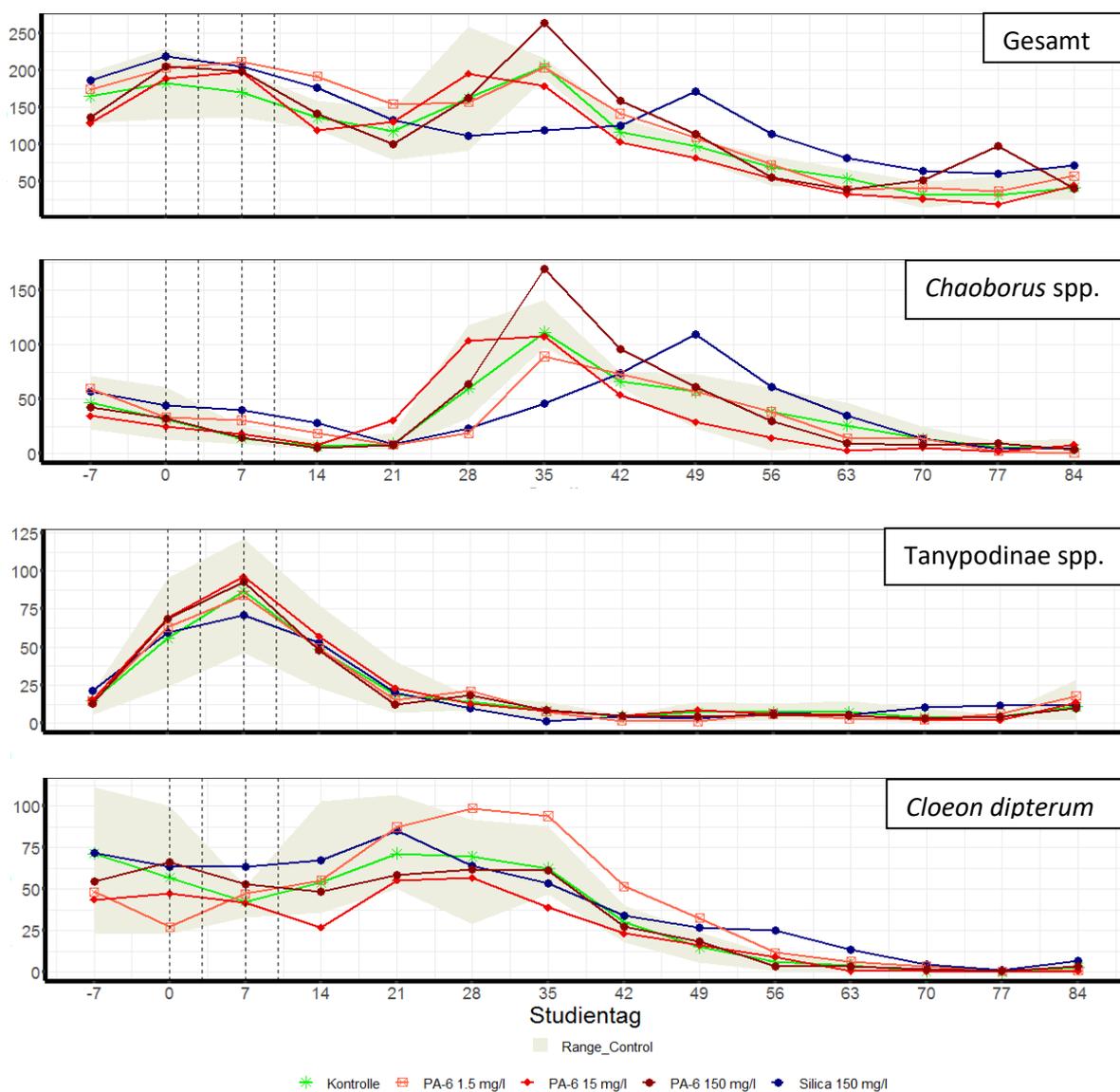


Abbildung 74: Abundanzen der emergierenden Insekten (v.o.n.u. Gesamtzahl, *Chaoborus* spp., Tanyptodinae spp., *Cloeon dipterum*) über den Verlauf der Studie. Gestrichelte Linien: Polyamid-Applikation

Tabelle 12 zeigt für die beiden Taxa *Cloeon dipterum* und *Chaoborus* spp. jeweils nach Geschlecht getrennt die mittleren Individualbiomassen der einzelnen Behandlungen an. Aufgrund der hohen Variabilität innerhalb der Behandlungen lassen sich keine signifikanten Unterschiede feststellen. Im Laufe der Studie nahmen bei beiden Taxa die Biomassen ab, was darauf zurückzuführen ist, dass die schneller wachsenden Sommergenerationen leichter sind, als die sich langsam über den Winter entwickelnden Überwinterungsstadien (McKee & Atkinson 2000). Dabei gab es keine Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Dennoch sind die Weibchen tendenziell schwerer als die Männchen, da sie nach dem Schlupf genug Energiereserven vorhalten müssen, um Eier zu produzieren (Almudi et al. 2019).

Tabelle 12: Biomassen der weiblichen und männlichen Büschelmücken (*Chaoborus* spp.) und Eintagsfliegen (*Cloeon dipterum*) an jeweils drei Tagen der Studie

<b><i>Cloeon dipterum</i> ♂</b>						
Konzentrationsstufe	Tag 0		Tag 21		Tag 42	
	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW
Kontrolle (n=5)	217.22	115.04	151.10	42.74	42.65	15.55
SiO <sub>2</sub> (n=2)	210.01	116.34	67.90	81.95	38.35	4.29
PA-6 1,5 mg/L (n=3)	127.52	57.28	99.73	27.46	72.49	42.39
PA-6 15 mg/L (n=3)	133.55	40.94	74.54	47.82	35.06	9.26
PA-6 150 mg/L (n=3)	172.93	104.18	73.65	50.18	34.48	16.82
<b><i>Cloeon dipterum</i> ♀</b>						
Konzentrationsstufe	Tag 0		Tag 21		Tag 42	
	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW
Kontrolle (n=5)	190.42	119.72	182.38	77.59	72.96	24.42
SiO <sub>2</sub> (n=2)	210.15	233.04	194.54	81.95	78.07	45.51
PA-6 1,5 mg/L (n=3)	105.43	39.02	196.31	35.25	105.81	70.62
PA-6 15 mg/L (n=3)	127.50	85.29	135.23	32.45	37.26	32.71
PA-6 150 mg/L (n=3)	200.39	134.62	150.40	52.96	64.53	24.44
<b><i>Chaoborus</i> spp. ♂</b>						
Konzentrationsstufe	Tag 0		Tag 42		Tag 56	
	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW
Kontrolle (n=5)	41.15	23.29	59.28	15.65	23.88	6.76
SiO <sub>2</sub> (n=2)	38.25	15.28	26.00	17.25	33.84	0.76
PA-6 1,5 mg/L (n=3)	37.47	24.31	64.33	23.21	16.39	11.33
PA-6 15 mg/L (n=3)	33.64	17.19	55.96	60.14	5.07	0.46
PA-6 150 mg/L (n=3)	40.55	4.70	77.28	53.61	24.94	18.53
<b><i>Chaoborus</i> spp. ♀</b>						
Konzentrationsstufe	Tag 0		Tag 42		Tag 56	
	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW	Mittelwert [mg]	StabW
Kontrolle (n=5)	50.26	23.13	62.96	30.81	15.95	15.95
SiO <sub>2</sub> (n=2)	108.68	17.17	26.00	17.25	51.90	5.79
PA-6 1,5 mg/L (n=3)	37.47	18.27	64.33	48.22	21.51	14.75
PA-6 15 mg/L (n=3)	34.29	17.94	73.99	44.74	13.05	0.14
PA-6 150 mg/L (n=3)	52.52	14.70	103.48	59.72	49.05	40.94

### Schlussfolgerung

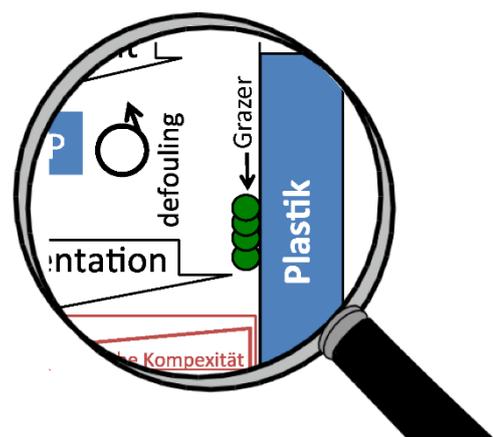
Da bisher häufig ausschließlich Labortests mit oft unrealistisch hohen Mikroplastik-Konzentrationen durchgeführt wurden, die nur schwer auf die natürlichen und komplexen Systeme in der Umwelt übertragbar sind (Scherer et al. 2018) wurde in diesem Experiment darauf geachtet, möglichst viele Endpunkte zu erfassen. Dabei wurden verschiedene trophische Ebenen, Populationen, Entwicklungsstadien und ganze Gemeinschaften untersucht. In einigen Studien zeigte sich bereits, dass Organismen verschiedenster trophischer Ebenen in den Ökosystemen MP-Partikel aufnehmen können (Imhof et al. 2013; Rehse et al. 2016). Unter anderem betrifft es einige Vertreter der Makroinvertebraten, wie bspw. Muscheln, Schnecken oder manche Insektenlarven, die unabhängig von Habitataffinität und ökologischer Nische von MP beeinflusst sein können und Partikel entweder direkt oder indirekt über Beute-Organismen aufnehmen (Windsor et al. 2019). Daher ist davon auszugehen, dass es auch in diesem Experiment zu einer Aufnahme der Partikel durch einige Organismen gekommen ist. Direkte negative Effekte konnten in dieser Studie nicht aufgezeigt werden. Dennoch ist ein potenzielles Risiko durch Mikroplastik in Form von anderen Polymeren, verschiedenen Partikelgrößen oder durch dessen Vektorfunktion nicht auszuschließen. Letztlich kann für das genutzte Polymer in den untersuchten Partikellasten in dieser Studie ein direkter schädlicher Effekt auf die untersuchten Taxa nicht nachgewiesen werden.

### 3.3.3 Arbeitspaket 6: Einfluss von Plastik auf die Nahrungsqualität von Biofilm für Meio- und Makro-Grazer

**Universität Münster (Lead), Universität Potsdam, Universität Bielefeld, UFZ**

#### Beschreibung

Biofilme (v.a. Bakterien, Pilze, Protozoen) bilden eine wichtige Nahrungsgrundlage für Makrofauna in Gewässern. Die Qualität der Nahrung kann daher einen wesentlichen Einfluss auf die Struktur der auf dem Biofilm weidenden Organismen haben. Ob und in welchem Ausmaß sich die Plastikqualität bzw. die Beschaffenheit des Plastikmaterials auf die Struktur des Biofilms auswirkt, wurde in AP2 und AP3 dieses Projekts untersucht. In diesen APs



wurden verschiedene Plastikpartikel bzw. Plastikstreifen in ausgewählten Freiland-Probenahmestellen (*in situ*-Besiedlung: AP2) und in den Mesokosmen (AP3) zur Besiedlung ausgebracht. Zusätzlich wurden dazu auch synthetische bakterielle Biofilmgemeinschaften aus der unter AP3 erstellten bakteriellen

Stammsammlung herangezogen, um spezifische und reproduzierbare Biofilme für die Fütterungsexperimente einsetzen zu können. Dazu können solche Bakterienstämme herangezogen werden, die sich besonders häufig auf bestimmten Plastikmaterialien finden und für diese charakteristisch sind.

Diese bewachsenen Plastikpartikel bzw. -streifen wurden in AP6 für Grazing-Experimente mit Makroinvertebraten (Schnecken) verwendet. Für die Grazing-Versuche wurden den Schnecken die unterschiedlichen bewachsenen Plastikstreifen ad libitum zum Beweiden angeboten (vgl. Vosshage et al. 2018). Dabei wurden die Ingestions- bzw. Exkretionsraten, das Wachstum und die Reproduktion der Organismen untersucht.

## Ziele

Im Rahmen dieses Arbeitspaketes sollte untersucht werden, ob natürliche Biofilme, die mit verschiedenen Polymertypen assoziiert sind, verschiedene Nahrungsqualitäten für makrobenthische Weidengänger (Schnecken) haben. Zusätzlich sollten die Ergebnisse aus diesen Versuchen durch den Einsatz von domestizierten Biofilmen verifiziert werden, indem standardisierte Fütterungsexperimente entwickelt wurden.

## Methoden

### Natürliche Biofilme

In einem eutrophen Kanal im Gebiet der Rieselfelder Münster wurden jeweils drei Wochen lang natürliche Biofilme auf Glas, Polystyrol, Polyethylen und Polyethylenterephthalat herangezogen. Dies wurde in zwei separaten Versuchszeiträumen (Winter und Frühjahr) durchgeführt, um den Einfluss von Umweltfaktoren (Licht und Wassertemperatur) vergleichen zu können. Die so bewachsenen Objektträger wurden im Labor als einzige Nahrungsquelle an Quellblasenschnecken (*Physa fontinalis*) verfüttert und über einen Zeitraum von jeweils 8 Wochen wurden Mortalität, Wachstum und Reproduktion der Schnecken dokumentiert. Zusätzlich wurden die Biofilmkomponenten mittels Confokaler Laser Scanning Mikroskopie analysiert.

### Domestizierte Biofilme

Die in AP 3 isolierte Biofilmgemeinschaft (Konsortium Co\_3) wurde im Labor wieder auf Glas, Polystyrol, Polyethylen und Polyethylenterephthalat-Plättchen für 2 Wochen kultiviert und dann den Quellblasenschnecken (*Physa fontinalis*) zum Abweiden für 3 Wochen exponiert. Auch hier wurden die Mortalität, Wachstum und Reproduktion der Schnecken aufgenommen.

## Ergebnisse

### Natürliche Biofilme

Die Versuche haben gezeigt, dass der Bewuchs von Plastik durch natürliche Biofilme und dessen Nahrungsqualität sich zwischen den Substraten unterscheidet, jedoch ist dies stark von den Umweltbedingungen während der Kultivierung abhängig (Abbildung 75; Michler-Kozma et al. 2022). Bei hoher Lichtverfügbarkeit und höheren Temperaturen, wie sie im Frühjahr vorkamen, konnte nach drei Wochen Biofilmwachstum kein Unterschied zwischen den Substraten festgestellt werden. Im Winter waren die Bedingungen dagegen weniger ideal und es wuchs auf allen Substraten weniger Biofilm. Zusätzlich wurde festgestellt, dass Schnecken, die auf PE und PET grasten, sich weniger reproduzierten als auf Glas und PS. Des Weiteren wurde auf PE ein verringertes Wachstum dokumentiert. Die Analyse mittels CLSM zeigte, dass das Algenwachstum auf PE und PET im Vergleich zu den anderen Substraten signifikant geringer war, was die Verringerung der Nahrungsqualität erklären könnte. Solche indirekten Effekte von Plastikverschmutzung wurden bisher unzureichend untersucht und die Ergebnisse geben neue wichtige Hinweise auf bisher übersehene Folgen von Plastik in Binnengewässern.

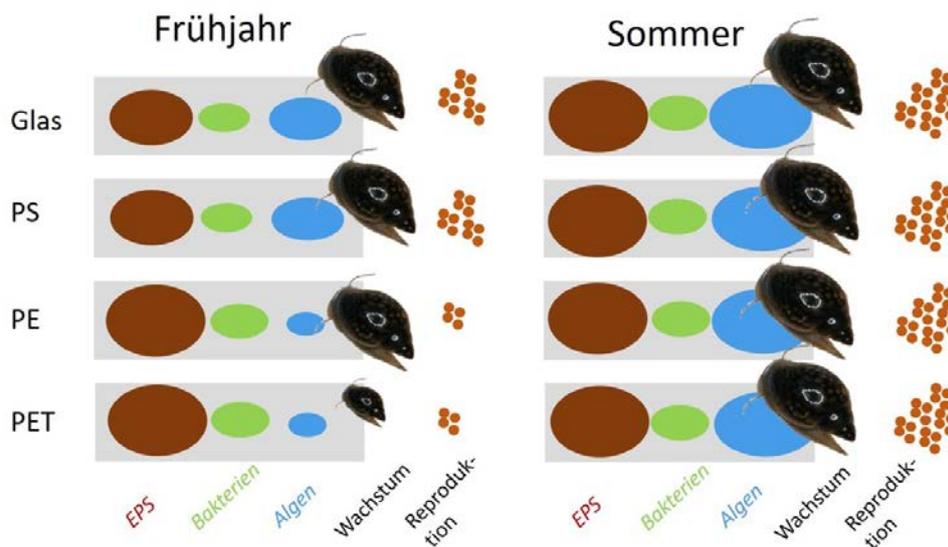


Abbildung 75: Zusammensetzung der Biofilme auf verschiedenen Polymertypen und Glas und deren Auswirkungen auf das Wachstum und die Reproduktion der Quellblasenschnecken im Winter und im Frühjahr

## Domestizierte Biofilme

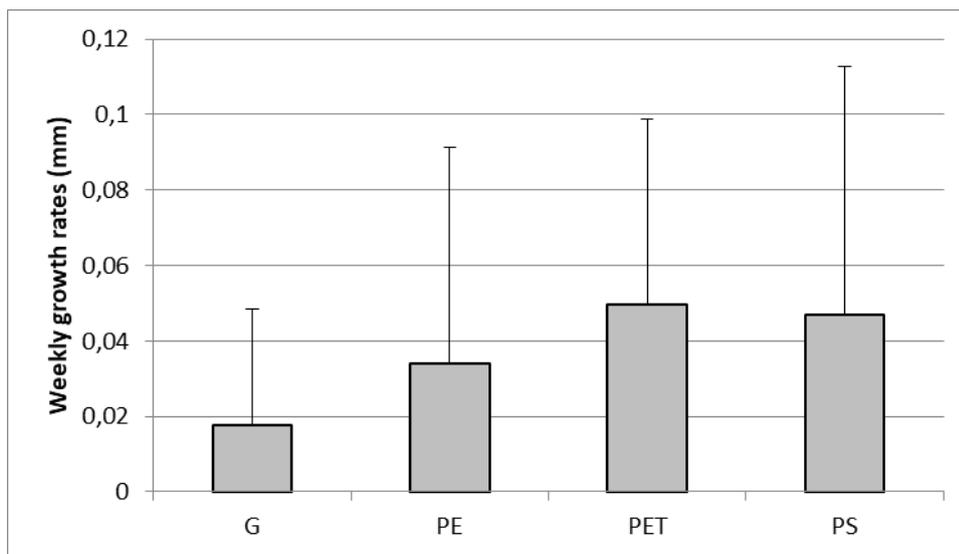


Abbildung 76: Wachstum der Schnecken mit domestizierten Biofilmen auf verschiedenen Oberflächen

Die Schnecken zeigten beim Abweiden der verschiedenen Substrate mit den kultivierten Biofilmen über drei Wochen ein geringes, aber stetiges Wachstum, das sich zwischen den einzelnen Polymertypen bzw. Glas nicht signifikant unterschied (Abbildung 76). Auch die anderen Parameter wie Reproduktion und Faecesmasse unterschieden sich nicht. Diese domestizierten Biofilme eignen sich somit für standardisierte Test zu den ökotoxikologischen Auswirkungen von Plastik.

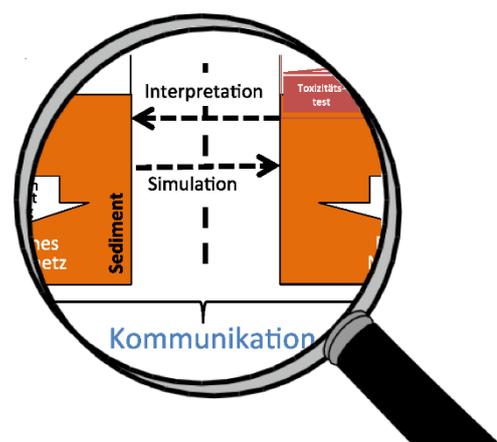
## 3.4 TP4 Gesellschaft

### 3.4.1 Arbeitspaket 7: Koordination, Öffentlichkeitsarbeit, Wissenstransfer

**Universität Münster (Lead), UFZ Magdeburg (Lead), Universität Potsdam, Universität Bielefeld, Ecosa, Mesocosm GmbH**

#### Beschreibung

Das Arbeitspaket 7 beinhaltet alle Maßnahmen in Hinblick auf Koordination, Öffentlichkeitsarbeit und Wissenstransfer. Die Koordination des Projektes wurde durch das UFZ übernommen. In enger Abstimmung mit allen Projektpartnern erfolgte die Kommunikation mit dem Zuwendungsgeber und dem Projektträger. Allgemeine Abstimmungsarbeiten im Konsortium und die Überwachung des Gesamtfortschritts wurden durch die Koordinatorin gesteuert, die dabei durch die Leitungen der Arbeitspakete/Teilprojekte aktiv unterstützt wurde. Ein regelmäßiger Austausch mit allen Partnern, die an bestimmten Arbeiten beteiligt waren, erfolgte durch Projekttreffen, in Telefonaten und



digitalen Webexmeetings. Die Koordinatorin war sowohl Ansprechpartnerin für die Beteiligung an übergreifenden Statustreffen, die durch das BMBF organisiert wurden, als auch für Verbände und Arbeitsgruppen im Bereich der Talsperren.

## Ziele

Ziel dieses Arbeitspaketes war es, die Projektergebnisse sowohl innerhalb des Konsortiums als auch der breiten Öffentlichkeit (z. B. Kindern, Studierenden, Behörden und Wissenschaftler:innen) zielgruppenspezifisch zu kommunizieren. Dabei sollten auch die assoziierten Partner im Sinne des transdisziplinären Arbeitens einbezogen werden, um Impulse aus der Praxis zu erhalten und gemeinsam ein Syntheseprodukt zu entwickeln, das Handlungsempfehlungen für Talsperrenbetreibende zusammenfasst.

## Ergebnisse

Die WWU entwickelte zu Projektbeginn eine **Projekt-Webseite** und war in Absprache mit den Projektpartnern auch redaktionell für die Inhalte zuständig. Hier wurden die Ergebnisse der einzelnen Arbeitspakete bzw. Meilensteine zielgruppenspezifisch dargestellt. Diese Informationen wurden einerseits für Wissenschaftler:innen und Expert:innen auf Deutsch und Englisch, zum anderen für Interessierte ohne Fachwissen und Journalist:innen aufbereitet. Ab 2020 ergänzte ein **Twitteraccount** die Öffentlichkeitsarbeit in den sozialen Medien, um sichtbarer zu werden und mit anderen Forschenden in den Austausch zu treten bzw. sich zu vernetzen. Durch eine **Wanderausstellung**, die im Projekt entwickelt und seit Ende 2020 Schulen und weiteren Akteuren der Umweltbildung kostenlos zur Verfügung gestellt wurde, sollen Schüler:innen über Mikroplastik sowie die Umweltwirkungen informiert und für den eigenen Umgang mit Kunststoffen sensibilisiert werden. Dazu hat das Projektteam eine virtuelle Eröffnungsveranstaltung für Lehrkräfte organisiert, in der die Poster vorgestellt wurden. In diesem Zusammenhang wurde die Ausstellung beispielsweise an das Landesinstitut für Lehrerbildung und Schulentwicklung Hamburg ausgeliehen, um dort Lehrkräfte auf die Ausstellung aufmerksam zu machen. Am Standort Münster besuchten Wissenschaftler:innen der WWU ausgewählte Schulen und arbeiteten mit den Schüler:innen persönlich an den Postern zu Fragen rund um Mikroplastik. Weiterhin erschienen eine Pressemitteilung sowie mehrere Artikel über die Wanderausstellung. Bisher haben mehrere Bildungsträger die Ausstellung ausgeliehen, und es gibt Anfragen bis in das Jahr 2023.

Zudem bot das Projekt zusammen mit dem Münsters Experimentierlabor ExperiMINTe (MExLab ExperiMINTe) der WWU (<https://www.uni-muenster.de/MExLab/organisation/experiminte/>) Veranstaltungen für Schüler:innen an. Die NUA bezog die Partner in ihre laufende Veranstaltungsplanung ein. Die NUA ist Mitherausgeber zweier Zeitschriften („Natur in NRW“ und „NUAncen“), in denen auf das Forschungsvorhaben hingewiesen wurde. Zielgruppen der NUAncen sind beispielsweise Erzieher:innen und Behörden. In der September-Ausgabe von 2021 ist in diesem Zusammenhang ein Bericht über

das Projekt erschienen. Für die Zeitschrift „Natur in NRW“ ist ein Beitrag in Vorbereitung, der im September 2022 erscheinen soll.

Durch den Austausch der Stakeholder wie die Stadt Hamm oder die LTV mit anderen Behörden und Kommunen sollten die Informationen in die Praxis transferiert werden. Dafür können beispielsweise die im Projekt entstandenen **Factsheets** über die Wirkung von Mikroplastik am Beispiel der Fadenwürmer sowie über das Verhalten und das Vorkommen von Mikroplastik in Talsperren und Staubecken genutzt werden.

Über die **Lehrtätigkeiten** der beteiligten Universitäten wurden außerdem Studierende unterschiedlichen Fachrichtungen (Biologie, Umweltwissenschaften, Geographie, Landschaftsökologie etc.) umfassend informiert. Dies erfolgte vor allem in Seminaren, Projekt- und Forschungsmodulen sowie 65 Abschlussarbeiten (Stand 25.04.2022, siehe auch 5.3). Auf wissenschaftlichen und anwendungsorientierten **Tagungen und über Publikation der Ergebnisse** wurden zudem Wissenschaftler:innen und Praktiker:innen erreicht (siehe 5.).

Zur digitalen **Abschlusskonferenz** des MikroPlaTaS-Projektes wurden neben den Projekt- und Praxispartnern sowie Vertreter:innen des Umweltbundesamtes und der BAM auch Vertreter:innen von PlastikNet und des Projektträgers eingeladen. Dort wurden die Projektergebnisse in drei übergreifenden Blöcken vorgestellt, Forschungslücken aufgezeigt sowie ein Ausblick auf Anschlussforschungen gegeben. Abschließend sollte eine Diskussion zum **Wissenstransfer** und der Austausch mit den Praxispartnern konkreteren Bedarf hinsichtlich Handlungsempfehlungen für die Praxis und die Politik eruieren. In bilateralen Gesprächen musste dies im Anschluss fortgeführt werden, um konkretere Maßnahmen zu diskutieren und zu formulieren.

Nicht zuletzt wurden die Ergebnisse auch für die **Webinar-Reihe** des Forschungsschwerpunktes Plastik in der Umwelt aufbereitet und einem breiten Publikum aus verschiedenen Fachbereichen vorgestellt.

## 4. Schlussfolgerungen und Empfehlungen

### 4.1 Freiland-Untersuchungen

Die moderaten Mikroplastik-Konzentrationen in den untersuchten Wasserproben stehen hohen Konzentrationen in den Sedimenten von Talsperren und Stauhaltungen gegenüber. Für Monitoring und Belastungsabschätzungen sollten diese Gewässerbereiche in Zukunft stärker in den Fokus rücken. Dabei sind weitere Untersuchungen zur räumlichen Verteilung verschiedener Partikelgrößen und -formen notwendig. Um dies leisten zu können, besteht substantieller Bedarf an der Weiterentwicklung der Methoden zur Quantifizierung und Charakterisierung von Mikroplastik im Freiwasser und in Sedimenten. Dies gilt sowohl für die Probenahme als auch für die Aufbereitung der Proben und die nachgeschaltete Bestimmung der Polymertypen. Es erscheint nicht realistisch, mittelfristig eine einheitliche Methodik für die verschiedenen Fragestellungen in Zusammenhang mit der Plastikbelastung von Umweltkompartimenten zu etablieren. Verfahren, die (1) die Vielfalt der Polymere erfassen können (z.B. für die Analyse von Quellen), die (2) die Form und Größe von Partikeln bis in den Submikrometerbereich bestimmen können (für die Risikoabschätzung gegenüber kleineren Sedimentorganismen) oder (3) die zuverlässig repräsentative Konzentrationen häufiger Polymere liefern (für die Klassifizierung von Standorten/Materialien und die Wirkungsanalyse von Sanierungsmaßnahmen) müssen komplementär weiterentwickelt werden.

Bislang ist der methodische Aufwand groß und eine sichere Charakterisierung der einzelnen Polymere mit geringer werdender Partikelgröße schwierig. Es muss daher davon ausgegangen werden, dass die Anzahl der Partikel in der Umwelt deutlich höher ist, als zurzeit durch die limitierten Analysemethoden gemessen wird. Verbesserte Abschätzungen der Konzentration und Verteilung von Mikroplastik sollten durch Modellierungen unter Einbeziehung von Felddaten und mechanistischen Experimenten mit verschiedenen relevanten Partikeltypen angestrebt werden. Zudem ist eine technische Entnahme von Mikroplastik aus Gewässern nicht realistisch. Der einzig sinnvolle Weg ist daher eine vorsorgliche Reduzierung des Eintrages. Da generell davon ausgegangen werden kann, dass größere Plastikpartikel (Müll, Flaschen, Umverpackungen etc.) mit der Zeit zu kleineren Partikeln zerfallen oder mechanisch zerrieben werden, ist eine Verringerung des Eintrages größerer Plastikteile unabdingbar.

Mikroplastik ist ein weiterer Bestandteil der großen Vielfalt an unbekanntem anthropogenen, potentiell toxischen Substanzen (inkl. Metabolite), die sich in unseren Gewässern befinden und nur mangelhaft mittels chemischer oder spektroskopischer Analyseverfahren identifiziert bzw. quantifiziert werden können. Deshalb ist es geboten, auf ökotoxikologische Verfahren bzw. ökologische Indikatoren zurückzugreifen, die auch Wirkungen unbekannter Substanzen integrieren und, wenn auch nicht immer spezifisch, eine Risikobewertung ermöglichen.

## 4.2 Experimente zur Quantifizierung der Effekte von Mikroplastik

Standardisierte ökotoxikologische Tests zur Ermittlung der Toxizität von Mikroplastik auf aquatische Lebewesen liefern wertvolle und vergleichbare Ergebnisse zur Einschätzung des Gefährdungspotenzials verschiedener Substanzen/Polymere. Um auf der einen Seite Wirkmechanismen aufklären zu können, und auf der anderen Seite realistische Expositionsszenarien zu berücksichtigen, sollten deshalb mehrere ökotoxikologische Verfahren verwendet werden, die hinsichtlich ihrer Komplexität und der realistischen Exposition aufeinander aufbauen. Es konnte gezeigt werden, dass die Verfügbarkeit und auch die Qualität von Nahrung den Effekt von Plastik auf Lebewesen verändern kann. Daher sollte in weiteren Untersuchungen versucht werden, die experimentellen Bedingungen an die reale Umwelt der Lebewesen anzupassen. Ein weiterer Aspekt ist, dass viele Experimente mit Modellorganismen durchgeführt werden, die nicht zwangsläufig repräsentativ für ihr Habitat sind. Experimente, in denen natürliche Plankton- oder Benthosgemeinschaften untersucht werden, liefern ökologisch relevante Ergebnisse, die eine bessere Vergleichbarkeit zwischen Einzelarten erlauben und außerdem eine realistischere Abschätzung der Effekte in der Umwelt ermöglichen.

Vielfach werden standardisierte Plastikpartikel, häufig Kügelchen, eingesetzt, die jedoch nur bedingt den in die Natur eingebrachten Partikeln ähneln. Häufig sind sie frei von Weichmachern und Farbstoffen oder sie sind mit Fluoreszenzfarbstoffen versetzt, die sonst nicht in handelsüblichen Polymeren vorkommen. Wie sich die Alterung/Verwitterung von Plastikpartikeln auf die Effekte gegenüber Lebewesen auswirken, muss insbesondere für limnische und terrestrische Habitate noch untersucht werden. Weiterhin ist es wichtig, die Rolle der Biofilme bei der Futteraufnahme, bei der Anlagerung von Substanzen und Auslaugung von Additiven etc. zu untersuchen.

Ein weiterer wichtiger Punkt bei der Quantifizierung der Effekte von Mikroplastik auf Lebewesen ist die Wahl der geeigneten Kontrolle bzw. Referenz. Hier gilt es, einen direkten Plastikeffekt von einem „allgemeinen“ Partikeleffekt zu unterscheiden. Dafür bietet es sich an, als plastikfreie Partikelkontrolle Siliziumdioxidpartikel einzusetzen. Methodisch ist dabei zu beachten, dass derartige Partikel eine höhere spezifische Dichte aufweisen und sich daher nicht identisch zu Plastikpartikeln verhalten. Für Makrozoobenthos bieten sich plastikfreie Substrate wie Holz oder ebenfalls Glas an. Um die Vielfalt von Mikroplastikpartikeln hinsichtlich für die Ökotoxizität relevanter Eigenschaften (Materialdichte, Oberflächenstruktur, Form, etc.) besser abzubilden, muss nach weiteren, den Plastikpartikeln in verschiedener Hinsicht ähnlicheren und standardisierbaren Materialien gesucht werden, und deren physikalische und ökotoxikologische Eigenschaften sind umfassend zu charakterisieren.

Über die akuten Toxizitätstests hinaus hat sich zudem gezeigt, dass Effekte auf den Lebenszyklus wie verminderte Reproduktion oder verkürzte Lebensdauer nur durch länger andauernde Experimente nachgewiesen werden können. Außerdem sind verhaltensbasierte Endpunkte (Futteraufnahme, Ausscheidungsprozesse, Bewegung) wichtig, um die hinter den Effekten stehende Wirkmechanismen aufzuschlüsseln. Dies und das Zusammenwirken mit Umweltfaktoren wie Temperatur, pH, Nahrungsverfügbarkeit sollte bei weiteren Experimenten berücksichtigt werden.

## 5. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen und Produkte

### 5.1 Publikationen

- Drago, C., Pawlak, J., Weithoff, G., 2020. Biogenic Aggregation of Small Microplastics Alters Their Ingestion by a Common Freshwater Micro-Invertebrate. *Frontiers in Environmental Science* 8, 1–11.
- Drago, C., Weithoff, G., 2021. Variable fitness response of two rotifer species exposed to microplastics particles: The role of food quantity and quality. *Toxics* 9, 1–13.
- Dunker, S. Boyd, M., Durka, W., Erler, S., Harpole, S., Henning, S., Herzsuh, U., Hornick, T., Knight, T., Lips, S., Mäder, M., Motivans, E., Mozarowski, S., Rakosy, D., Römermann, C., Schmitt-Jansen, M., Stoof-Leichsenring, K., Stratmann, F., Treudler, R., Virtanen, R., Wendt-Potthoff, K., Wilhelm, C. The potential of multispectral imaging flow cytometry for environmental monitoring. *Cytometry Part A*, revised.
- Eibes, P. M., Gabel, F. 2022. Floating microplastic debris in a rural river in Germany: Distribution, types and potential sources and sinks. *Science of The Total Environment*, 816, 151641.
- Fueser, H., Mueller, M.-T., Traunspurger, W., 2020a. Ingestion of microplastics by meiobenthic communities in small-scale microcosm experiments. *Science of the Total Environment* 746, 141276.
- Fueser, H., Mueller, M.-T., Traunspurger, W., 2020b. Rapid ingestion and egestion of spherical microplastics by bacteria-feeding nematodes. *Chemosphere* 261, 128162.
- Fueser, H., Mueller, M.-T., Weiss, L., Höss, S., Traunspurger, W., 2019. Ingestion of microplastics by nematodes depends on feeding strategy and buccal cavity size. *Environmental Pollution* 255, 113227.
- Fueser, H., Pilger, C., Kong, C., Huser, T., Traunspurger, W., 2022. Polystyrene microbeads influence lipid storage distribution in *C. elegans* as revealed by coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy. *Environmental Pollution* 294, 118662.
- Fueser, H., Rauchschalbe, M.-T., Höss, S., Traunspurger, W., 2021. Food bacteria and synthetic microparticles of similar size influence pharyngeal pumping of *Caenorhabditis elegans*. *Aquatic Toxicology* 235, 105827.
- Höss, S., Claus, E., Von der Ohe, P.C., Brinke, M., Güde, H., Heininger, P., Traunspurger, W., 2011. Nematode species at risk - A metric to assess pollution in soft sediments of freshwaters. *Environment International* 37, 940–949.
- Höss S, Ahlf W, Bergtold M et al. 2012. Interlaboratory comparison of a standardized toxicity test using the nematode *Caenorhabditis elegans* (ISO 10872). *Environ Toxicol Chem* 31: 1525–1535
- Höss S, Frank-Fahle B, Lüders T, Traunspurger W, 2015. Response of bacteria and meiofauna to iron oxide colloids in sediments of freshwater microcosms. *Environ Toxicol Chem* 34: 2660–2669
- Höss, S., Heininger, P., Claus, E., Möhlenkamp, C., Brinke, M., Traunspurger, W., Heininger, P., Claus, E., Brinke, M., Höss, S., Heininger, P., Claus, E., Möhlenkamp, C., Brinke, M., Traunspurger, W., 2017. Validating the NemaSPEAR[%]-index for assessing sediment quality regarding chemical-induced effects on benthic communities in rivers. *Ecological Indicators* 73, 52–60.
- Höss, S., Rauchschalbe, M.-T., Fueser, H., Traunspurger, W., 2022. Food Availability is Crucial for

- Effects of 1- $\mu$ m Polystyrene Beads on the Nematode *Caenorhabditis Elegans* in Freshwater Sediments. *Chemosphere* 298, 134101.
- Hübner, M.K., Michler-Kozma, D.N., Gabel, F. 2020. Microplastic concentrations at the water surface are reduced by decreasing flow velocities caused by a reservoir. *Fundamental and Applied Limnology / Archiv für Hydrobiologie* 194 (8) 49-56.
- Leiser, R., Wu, G.-M., Neu, T. R., Wendt-Potthoff, K. 2020. Biofouling, metal sorption and aggregation are related to sinking of microplastics in a stratified reservoir. *Water Research*, 176, 115748.
- Leiser, R., Jongsma, R., Bakenhus, I., Möckel, R., Philipp, B., Neu, T. R., Wendt-Potthoff, K. 2021a. Interaction of cyanobacteria with calcium facilitates the sedimentation of microplastics in a eutrophic reservoir. *Water Research*, 189, 116582.
- Leiser, R., Schumann, M., Dadi, T., Wendt-Potthoff, K. 2021b. Burial of microplastics in freshwater sediments facilitated by iron-organo flocs. *Scientific Reports*, 11(1), 24072.
- Leiser, R., Drago, C., Weithoff, G., Wendt-Potthoff, K. 2021c. Einfluss von Biofilmbesiedlung und biogeochemischen Prozessen auf die Aggregation und Sedimentation von Mikroplastik - Erste Erkenntnisse aus dem Projekt MikroPlaTaS. *Korrespondenz Wasserwirtschaft* 14(3), 162-167.
- Leiser, R., Wendt-Potthoff, K. 2022. Microbial iron reduction does not release microplastics from organo-metallic aggregates. *Limnology and Oceanography Letters*, <https://doi.org/10.1093/femsle/fny294>
- Michler-Kozma, D. N., Neu, T. R., Gabel, F. 2022. Environmental conditions affect the food quality of plastic associated biofilms for the benthic grazer *Physa fontinalis*. *Science of The Total Environment*, 816, 151663.
- Mueller, M.-T., Fueser, H., Höss, S., Traunspurger, W., 2020a. Species-specific effects of long-term microplastic exposure on the population growth of nematodes, with a focus on microplastic ingestion. *Ecological Indicators* 118, 106698.
- Mueller, M.-T., Fueser, H., Trac, L.N., Mayer, P., Traunspurger, W., Höss, S., 2020b. Surface-related toxicity of polystyrene beads to nematodes and the role of food availability. *Environmental Science & Technology* 54, 1790–1798.
- Rauchschwalbe, M.-T., Fueser, H., Traunspurger, W., Höss, S., 2021a. Bacterial consumption by nematodes is disturbed by the presence of polystyrene beads: The roles of food dilution and pharyngeal pumping. *Environmental Pollution* 273, 116471.
- Rauchschwalbe, M.-T., Fuser, H., Traunspurger, W., Höss, S., 2021b. Ökologische Wirkungen: Toxizität von Mikroplastik auf aquatische Sedimentbewohner – Fallbeispiel anhand der Nematoden -. *Korrespondenz Wasserwirtschaft* 14, 168–173.
- Rauchschwalbe, M.-T., Höss, S., Haegerbaeumer, A., Traunspurger, W., 2022. Long-term exposure of a free-living freshwater micro- and meiobenthos community to environmentally relevant microplastic mixtures in microcosms. *Science of The Total Environment*, 827, 154207.
- Setyorini, L., Michler-Kozma, D., Sures, B., Gabel, F., 2021. Transfer and effects of PET microfibers in *Chironomus riparius*. *Science of The Total Environment* 757, 143735.
- Vosshage, A. T. L., Neu, T. R., Gabel, F. 2018. Plastic Alters Biofilm Quality as Food Resource of the Freshwater Gastropod *Radix balthica*. *Environmental Science & Technology*, 52(19), 11387-11393. doi:10.1021/acs.est.8b02470.

## 5.2 Produkte

Die aus dem Verbund erarbeiteten Produkte sind Bildungsmaterialien. Die **Wanderausstellung** und das umfassende, verschiedene Unterrichtseinheiten unterstützende **Lehrerbegleitheft** sind dauerhaft über <https://www.uni-muenster.de/Mikroplatas/junge-forscher.html> erreichbar, die Wanderausstellung wird auch langfristig im Schülerlabor des UFZ präsentiert (<https://www.ufz.de/index.php?de=41611>). Aus dem Verbundprojekt wurden zwei **Factsheets** konzipiert, die unter als Factsheets 7.1 und 7.2 unter <https://www.bmbf-plastik.de/de/ergebnisse/factsheets> verfügbar sind. Ein aktuelles allgemeinverständliches **Poster** zur Schädlichkeit von Mikroplastik, das auch ein wesentliches Produkt des Querschnittsthemas 2 ist, findet sich unter <https://www.bmbf-plastik.de/de/publikation/ist-mikroplastik-schaedlich>.

## 5.3 Akademische Qualifizierungsarbeiten

2022

Blöthe, A. (2022): Toxizitätstest nach ISO-Richtlinie 10872 im Flüssigmedium mit Kaolin an *Caenorhabditis elegans* als Referenzstudie zu Mikroplastik, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Grandau, A. (2022): Aufnahme und Auswirkungen von Mikroplastik auf die Reproduktion und das Wachstum von *Caenorhabditis elegans* im Sediment und Wasser unter dem Aspekt der Futterverdünnung, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Klempert, T. (2022): Aufnahme von Mikroplastik durch freilebende Chironomidenlarven, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Pfennig, A.A. (2022) Interactions of microplastic fibers, freshwater bacteria and zooplankton. Masterarbeit Universität Potsdam in Kooperation mit UFZ.

Schlossmacher, S. (2022): Toxizitätstest nach ISO-Richtlinie 10872 im Flüssigmedium mit Dolomit an *Caenorhabditis elegans* als Referenzstudie zu Mikroplastik, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

2021

Bechstein, M. (2021): Effekte durch Mikroplastik auf aquatische Biozönosen - Zooplankton und Nylon-6 im Mesokosmos Masterarbeit. Justus-Liebig Universität Giessen in Kooperation mit dem Institut für Gewässerschutz Mesocosm GmbH.

Enns, D. (2021): Transfer of microplastic within the meiobenthic food web with nematodes and chironomids, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

Ernst, S. (2021): Aufnahme von Polyethylen-Mikroplastikfasern in Abhängigkeit zur Größe von *Gammarus roeselii*. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Fladerer, M. (2021): Effekte durch Mikroplastik auf aquatische Biozönosen - Makroinvertebraten und Nylon-6 im Mesokosmos. Masterarbeit. Justus-Liebig Universität Giessen in Kooperation mit dem Institut für Gewässerschutz Mesocosm GmbH.

Flottmann, M.M. (2021): Characterization of Microbial Communities in Biofilms on Microplastics, Bachelorarbeit, Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der WWU Münster.

Füser, H. (2021) The susceptibility of freshwater nematodes to ingest microplastics. Identifying key determinants limiting and promoting microplastic ingestion, body burdens, effects on reproduction and lipid storage distribution. Dissertation Universität Bielefeld.

Heitkamp, A. (2021): Optische Detektion von Polyamidpartikeln in Imagines von *Chaoborus spec.* und *Tanypodinae* anhand zweier selektiver Färbemethoden. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Kahlke, M. (2021): Effekte durch Mikroplastik auf aquatische Biozönosen - Emergierende Insekten und Nylon-6 im Mesokosmos Masterarbeit. Justus-Liebig Universität Giessen in Kooperation mit dem Institut für Gewässerschutz Mesocosm GmbH

Kucknat-Groß, J. (2021): Eine Untersuchung der Effekte von Reifenabriebpartikeln auf die aquatische Meiofauna-Gemeinschaft, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

Kuhls, M. (2021): Auswirkung von Metoprolol in Adsorption an Polyethylen-Partikel auf *Gammarus roeselii*. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Leiser, R. (2021) Biogeochemical processes governing microplastic transport in freshwater reservoirs. Dissertation Universität Potsdam in Kooperation mit UFZ.

Luther, T. (2021): Auswirkungen von Mikroplastik auf die Reproduktion und das Wachstum des Nematoden *C. elegans* in einem realitätsnahen Setting, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Möhrke, A.C.F (2021): The soil mesofauna: A key driver of the terrestrial ecosystem and subject to an underestimated microplastic pollution – A review and microcosm study analysing the impacts of the 'plastic age' on invertebrates, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

Rauchschwalbe, M-T. (2021) Ingestion, egestion, and effects of microplastics on freshwater nematodes – Risk assessment through several ecological levels. Dissertation, Universität Bielefeld.

Schäfer, L. (2021): Wechselwirkungen zwischen Bakterien und Mikroplastik. Masterarbeit, Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der WWU Münster.

Schmidt, P. (2021): Die Auswirkung von Mikroplastik auf die Wasserpflanze *Elodea canadensis*. Gealtertes und unbehandeltes Mikroplastik im Vergleich. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Tenger, H. (2021): Untersuchung der Sukzession von verschiedenen Kunststoffoberflächen anhand von Meiofauna und Biofilm, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

2020

Gaudl, T. (2020) Kultivierung und Identifizierung aquatischer Mikroorganismen aus Plastik-Biofilmen. Masterarbeit IHI Zittau der TU Dresden in Kooperation mit UFZ.

Klausmeier, J. (2020): Die Abgabe und der Transfer von Mikroplastik in einem Räuber-Beute- System am Beispiel von Chironomidenlarven und *Caenorhabditis elegans*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Markworth, L.T.C. (2020): Untersuchung des Transfers von 3 µm-Mikroplastikpartikeln innerhalb des Räuber-Beute-Systems von *Caenorhabditis elegans* und Chironomidenlarven in Abhängigkeit der Beutedichte, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Noetzel, D. (2020) Ökotoxikologische Effekte von Polystyrol und mineralischen Partikeln (SiO<sub>2</sub>) auf das Rädertierchen *Brachionus calyciflorus*. Masterarbeit, Institut für Biochemie und Biologie, Universität Potsdam.

Schareina, S. (2020): Der Einfluss von 1 µm Polystyrol-Kügelchen auf die Reproduktion im chronischen Toxizitätstest und auf das Populationswachstum des Modellorganismus *Caenorhabditis elegans*, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

Schöpfer, L. (2020): Der Einsatz von Mikroplastik in Kosmetikprodukten in Deutschland. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Stegink, D. (2020): Mikroplastik-Transfer von *Caenorhabditis elegans* und Chironomidenlarven in Abhängigkeit der Zeit, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Teschke, Y. (2020): Anreicherung und Isolierung von Bakterien mit erhöhter Affinität zu Polymilchsäure, Bachelorarbeit, Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der WWU Münster.

Wersig, L. (2020): Untersuchungen zur Aufnahme und Ausscheidung von Mikroplastikfasern und ihr Einfluss auf die Filtrationsleistung der Süßwassermuschel *Corbicula fluminea*. Masterarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Wiegand, H. (2020): Anreicherung und Isolierung von Bakterien mit erhöhter Affinität zu Polyethylenterephthalat (PET), Bachelorarbeit, Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der WWU Münster.

2019

Bunte, J. (2019): Ingestion of microplastic in four organism groups of the meiobenthos taken from a natural sediment of Lake Obersee, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

Coder, L. (2019): Ingestion of microplastic in natural nematode communities, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Enns, D. (2019): Microplastic uptake of two dipteran larvae and the influence of *C. elegans* on the particle ingestion, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Fels, L. (2019): Wirkung von Mikroplastik als Vektor für Cadmium auf den Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1899), Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Hölscher, L. (2019): Charakterisierung einer auf Plastikmaterialien biofilmbildenden photoautotrophen Mikrobengemeinschaft, Bachelorarbeit, Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der WWU Münster.

Hübner, M. (2019) Analytische Methoden zur Detektion von Mikroplastik in Makrozoobenthos. Masterarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Kerlfeld, K. (2019): Vergleich zweier Methoden zur Markierung von Mikroplastik in Chironomiden. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Kerwien, A. (2019): Charakterisierung von limnischen heterotrophen Bakterien aus Co-Kulturen mit Mikroalgen, Bachelorarbeit, Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der WWU Münster.

Kohler, F.K. (2019): Auswirkungen von Mikroplastikfasern auf die Süßwassermuschel *Dreissena bugensis*. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Kostanyanysky, D. (2019): Mikroplastik in Fließgewässern: Untersuchung von Eintragungspfaden in die Ems im Abschnitt Gimbe - Greven – Reckenfeld. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Lemper, A. (2019): Inwieweit haben Schülerinnen und Schüler ein Bewusstsein für die Auswirkungen der Umweltverschmutzung durch Plastik entwickelt? Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Meyer, L. (2019): Zeitreihe zur artspezifischen Abgabe von Mikroplastik bei dem Modellorganismus *Pristionchus pacificus*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Möllmann, B. (2019): Direkte und indirekte Auswirkungen von (Mikro-)Plastik auf Pflanzen in verschiedenen Ökosystemen. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Pawlak, J. (2019) Der Einfluss von Mikroplastik auf die Lebensparameter des Rädertierchens *Brachionus calyciflorus*. Masterarbeit. Institut für Biochemie und Biologie, Universität Potsdam.

Plöger, A. (2019): Eintragungspfade und Verbreitung von Mikroplastik in Nord- und Ostsee. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Reggelin, F. (2019) Partikel besiedelnde Mikroorganismen in einer Brauchwasser-Talsperre. Masterarbeit Hochschule Magdeburg-Stendel in Kooperation mit UFZ.

Ruschinski, J. (2019): Auswirkungen von verschiedenen großen Mikroplastikpartikeln auf die Toxizität von Kupfer im Organismus *Caenorhabditis elegans*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Schwarz, J. (2019): Einfluss von Biofilmen auf die Mikroplastikaufnahme durch *Gammarus roeselii*. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Setyorini, L. (2019): Testing the effects of polyethylene terephthalate microfibers on the growth and development of *Chironomus riparius*. Masterarbeit. Universität Duisburg-Essen in Kooperation mit dem Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Strotkötter, L. (2019): Mikroplastik als Vektor für das Schwermetall Nickel am Beispiel der Nematodenart *Caenorhabditis elegans*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Weiss, M. (2019) Mikroplastik im Sediment des Muldestausees. Masterarbeit Universität Leipzig in Kooperation mit UFZ.

Witte, V. (2019): Plastik als Gefahr für unsere Gesellschaft und Umwelt: Eine kritische Betrachtung verschiedener Lösungsansätze zur Vermeidung von Plastikmüll. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Wolf, M. P. (2019): Zeitreihe zur artspezifischen Abgabe von Mikroplastik-Partikeln bei der Nematodenart *Caenorhabditis elegans*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Wolter, N. (2019): Wirkung von Mikroplastik als Vektor für Kupfer am Modellorganismus *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900), Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

2018

Borghoff, M. (2018): Aufnahme von Mikroplastikpartikeln über Exposition anhand einer Zeitreihe der Nematoden Arten *C. elegans* und *P. pacificus*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Hildebrandt, I. (2018): Einfluss von Mikroplastik auf die Toxizität von Metallen und polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen auf *Caenorhabditis elegans*, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

Hoischen, J. (2018): Vergleich der Beeinflussung von Mortalität, Wachstum und Reproduktion durch Kunststoffpartikel aus Polyethylen und einem Biokunststoff bei *C. elegans*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Lutter, T. (2018): Zeitreihe zur Mikroplastikpartikelaufnahme durch die Nematodenart *Pristionchus pacificus*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Müller, A.K. (2018): Ökotoxikologische Auswirkungen von Polystyrol und Polyvinylchlorid auf *Caenorhabditis elegans*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Oest, L. (2018): Verteilung von Mikroplastik in der Sorpetalsperre. Bachelorarbeit. Institut für Landschaftsökologie der WWU Münster.

Weimer, L. (2018): Untersuchung zum Einfluss von Mikroplastik auf die Toxizität von Schadstoffen: Am Beispiel von Blei auf Nematoden, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

Weiß, L. (2018): Aufnahme von Mikroplastik in einer künstlich zusammengesetzten Nematoden-Lebensgemeinschaft, Masterarbeit, Universität Bielefeld.

Witte, C. (2018): Zeitreihe zur artspezifischen Mikroplastikaufnahme bei *Caenorhabditis elegans*, Bachelorarbeit, Universität Bielefeld.

#### 5.4 Tagungsbeiträge und populärwissenschaftliche Vorträge

Die Verbundpartner haben zahlreiche Möglichkeiten genutzt, Fragestellungen und Ergebnisse des Projektes auf nationalen und internationalen Tagungen vorzustellen. Teilweise wurden eigene Sessions zur Plastikproblematik in Binnengewässern konzipiert und moderiert. Besonders hervorzuheben sind die Tagungen der Deutschen Gesellschaft für Limnologie e. V. (DGL) in 2018, 2019, 2020 und 2021 sowie die MICRO2018 und MICRO2020 (<https://www.micro.infini.fr/>), deren Beiträge zum großen Teil online verfügbar sind. Auch die Tagungen der Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) und der Gesellschaft für Ökologie (GfÖ) waren wesentliche Foren, wirkungsbezogene Arbeiten aus dem Projekt vorzustellen.

Für das Jahr 2022 ist eine Session auf der Tagung der International Society of Limnology (SIL) geplant (<https://www.sil2022.org/program/sessions/>).

Außerdem wurden regelmäßige populärwissenschaftliche Vorträge nachgefragt und gehalten, vor allem bei Verbänden, Schulen und professionellen Netzwerken. Das über Plastiknet organisierte Webinar ist dauerhaft verfügbar (<https://www.bmbf-plastik.de/de/veranstaltung/webinar-mikroplastik-in-talsperren-und-staubereichen>) und ein weiteres Webinar zu ökotoxikologischen Wirkungen ist für Anfang Juni 2022 geplant.

## 6. Literaturverzeichnis

- Almudi, I. et al. 2019. Establishment of the mayfly *Cloeon dipterum* as a new model system to investigate insect evolution, *EvoDevo*, 10(1), p. 6. doi: 10.1186/s13227-019-0120-y.
- Beauvais, R., Vivien, R., Ferrari, B., Casado-Martínez, C., 2020. Évaluation de la qualité des sédiments des canaux Stockalper, du Bras-Neuf et des îles (Valais, Suisse) basée sur une approche de type triade. Lausanne, Switzerland.
- Bergtold M, Traunspurger W 2005. Benthic production by micro-, meio-, and macrobenthos in the profundal zone of an oligotrophic lake. *J North Am Benthol Soc* 24:321–329.
- Blettler, M. C. M., Ulla, M. A., Rabuffetti, A. P., Garello, N. 2017. Plastic pollution in freshwater ecosystems: macro-, meso-, and microplastic debris in a floodplain lake. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(11), 581.
- Bour, A., Hossain, S., Taylor, M., Sumner, M., Carney Almroth, B., 2020. Synthetic Microfiber and Microbead Exposure and Retention Time in Model Aquatic Species Under Different Exposure Scenarios. *Frontiers in Environmental Science* 8, 1–10.
- Briar, S.S., 2007. Nematodes as bioindicators of soil food web health in agroecosystems: a critical analysis. Ohio State University.
- Brüchner-Hüttemann, H., Höss, S., Ptatscheck, C., Brinke, M., Schenk, J., Traunspurger, W., 2021. Added value of the NemaSPEAR[%]-index to routinely used macrofauna-based indices for assessing the quality of freshwater sediments. *Ecological Indicators* 121, 107015.
- Brüchner-Hüttemann, H., Ptatscheck, C., Traunspurger, W., 2020. Meiofauna in stream habitats: temporal dynamics of abundance, biomass and secondary production in different substrate microhabitats in a first-order stream. *Aquatic Ecology* 54 (4), 1079–1095.
- Chen, X., Xiong, X., Jiang, X., Shi, H., Wu, C. 2019. Sinking of floating plastic debris caused by biofilm development in a freshwater lake. *Chemosphere*, 222, 856-864.
- Cianciara S., 1979. *Some study on the biology and bioenergetics of Cloeon dipertum (L.), Ephemeroptera (preliminary data)*. Proceeding Second International Conference of Ephemeroptera (ed. Pasternak, K., & Sowa,R.), pp 175-219. Krakow, Poland. [http://www.ephemeroptera-galactica.com/pubs/pub\\_c/pubcianciaras1979p501.pdf](http://www.ephemeroptera-galactica.com/pubs/pub_c/pubcianciaras1979p501.pdf)
- Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., Galloway, T. S. 2013. Microplastic Ingestion by Zooplankton. *Environmental Science & Technology*, 47(12), 6646-6655.
- Dadi, T., Völkner, C., Koschorreck, M. 2015. A sediment core incubation method to measure the flux of dissolved organic carbon between sediment and water. *Journal of Soils and Sediments*, 15(12), 2350-2358.
- Dadi, T., Friese, K., Wendt-Potthoff, K., Koschorreck, M. 2016. Benthic dissolved organic carbon fluxes in a drinking water reservoir. *Limnology and Oceanography*, 61(2), 445-459. doi:10.1002/lno.10224
- de Deckere, E., Cooman, W., Leloup, V., Meire, P., Schmitt, C., Von der Ohe, P.C., 2011. Development of sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Journal of Soils and Sediments* 11,

504–517.

- de Ruijter, V.N., Redondo-Hasselerharm, P.E., Gouin, T., Koelmans, A.A., 2020. Quality Criteria for Microplastic Effect Studies in the Context of Risk Assessment: A Critical Review. *Environmental Science & Technology* 54(19), 11692-11705.
- Desforges, J.-P. W., Galbraith, M., Ross, P. S. 2015. Ingestion of Microplastics by Zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(3), 320-330. doi:10.1007/s00244-015-0172-5
- DIN, 2012. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der toxischen Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum, Fertilität und Reproduktion von *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) (ISO 10872:2010).
- Drago, C., Pawlak, J., Weithoff, G., 2020. Biogenic Aggregation of Small Microplastics Alters Their Ingestion by a Common Freshwater Micro-Invertebrate. *Frontiers in Environmental Science* 8, 1–11.
- Drago, C., Weithoff, G., 2021. Variable fitness response of two rotifer species exposed to microplastics particles: The role of food quantity and quality. *Toxics* 9, 1–13.
- Dümichen, E., Barthel, A.-K., Braun, U., Bannick, C. G., Brand, K., Jekel, M., & Senz, R. 2015. Analysis of polyethylene microplastics in environmental samples, using a thermal decomposition method. *Water Research*, 85, 451-457.
- Dümichen, E., Eisentraut, P., Bannick, C. G., Barthel, A.-K., Senz, R., Braun, U. 2017. Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method. *Chemosphere*, 174, 572-584.
- Duis, K., Coors, A. 2016. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 2.
- Eibes, P. M., Gabel, F. 2022. Floating microplastic debris in a rural river in Germany: Distribution, types and potential sources and sinks. *Science of The Total Environment*, 816, 151641.
- Eyuaem, A, Traunspurger, W, Andrassy, I. 2006. *Freshwater Nematodes - Ecology and Taxonomy*. CABI Publishing, Cambridge, MA, USA
- Feller, F. M., Richtsmeier, P., Wege, M., Philipp, B., Zhou, N.-Y. 2021. Comparative Analysis of Bile-Salt Degradation in *Sphingobium* sp. Strain Chol11 and *Pseudomonas stutzeri* Strain Chol1 Reveals Functional Diversity of Proteobacterial Steroid Degradation Enzymes and Suggests a Novel Pathway for Side Chain Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(22), e01453-01421.
- Fischer F, Böhm L, Höss S et al. 2016. Passive dosing in chronic toxicity tests with the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environ Sci Technol* 50: 9708-9716.
- Fladerer, M, 2021. Effekte durch Mikroplastik auf aquatische Biozönosen – Makroinvertebraten und Nylon-6 im Mesokosmos (unveröffentlicht)
- Flemming HC, Wingender J 2010. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 8:623-33
- Friese, K., Schultze, M., Boehrer, B., Büttner, O., Herzprung, P., Koschorreck, M., . . . Rinke, K. 2014. Ecological response of two hydro-morphological similar pre-dams to contrasting land-use in the

- Rappbode reservoir system (Germany). *International Review of Hydrobiology*, 99(5), 335-349.
- Frydkjær, C.K., Iversen, N., Roslev, P., 2017. Ingestion and Egestion of Microplastics by the Cladoceran *Daphnia magna*: Effects of Regular and Irregular Shaped Plastic and Sorbed Phenanthrene. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 99, 655–661.
- Fueser, H., Mueller, M.-T., Traunspurger, W., 2020a. Ingestion of microplastics by meiobenthic communities in small-scale microcosm experiments. *Science of the Total Environment* 746, 141276.
- Fueser, H., Mueller, M.-T., Traunspurger, W., 2020b. Rapid ingestion and egestion of spherical microplastics by bacteria-feeding nematodes. *Chemosphere* 261, 128162.
- Fueser, H., Mueller, M.-T., Weiss, L., Höss, S., Traunspurger, W., 2019. Ingestion of microplastics by nematodes depends on feeding strategy and buccal cavity size. *Environmental Pollution* 255, 113227.
- Fueser, H., Pilger, C., Kong, C., Huser, T., Traunspurger, W., 2022. Polystyrene microbeads influence lipid storage distribution in *C. elegans* as revealed by coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy. *Environmental Pollution* 294, 118662.
- Fueser, H., Rauchschalbe, M.-T., Höss, S., Traunspurger, W., 2021. Food bacteria and synthetic microparticles of similar size influence pharyngeal pumping of *Caenorhabditis elegans*. *Aquatic Toxicology* 235, 105827.
- Gabel, F., Pusch, M.T., Breyer, P. et al. 2011. Differential effect of wave stress on the physiology and behaviour of native versus non-native benthic invertebrates. *Biol Invasions* 13:1843-1853
- Goedecke, C., Dittmann, D., Eisentraut, P., Wiesner, Y., Schartel, B., Klack, P., Braun, U. 2020. Evaluation of thermoanalytical methods equipped with evolved gas analysis for the detection of microplastic in environmental samples. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 152, 104961.
- Hägerbäumer A, Höss S, Ristau K et al. 2016. A comparative approach using ecotoxicological methods from single-species bioassays to model ecosystems. *Environ Toxicol Chem* 35:2987-2997.
- Hellerer, T., Axäng, C., Brackmann, C., Hillertz, P., Pilon, M., Enejder, A., 2007. Monitoring of lipid storage in *Caenorhabditis elegans* using coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy. *P. Natl. Acad. Sci. USA*. 104 (37),14658–14663.
- Hendrickson, E., Minor, E. C., Schreiner, K. 2018. Microplastic Abundance and Composition in Western Lake Superior As Determined via Microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR. *Environmental Science & Technology*, 52(4), 1787-1796.
- Hoellein, T., Rojas, M., Pink, A., Gasior, J., Kelly, J. 2014. Anthropogenic Litter in Urban Freshwater Ecosystems: Distribution and Microbial Interactions *PLoS ONE*, 9(6), e98485.
- Höss, S., Claus, E., Von der Ohe, P.C., Brinke, M., Güde, H., Heininger, P., Traunspurger, W., 2011. Nematode species at risk - A metric to assess pollution in soft sediments of freshwaters. *Environment International* 37, 940–949.
- Höss S, Ahlf W, Bergtold M et al. 2012. Interlaboratory comparison of a standardized toxicity test using the nematode *Caenorhabditis elegans* (ISO 10872). *Environ Toxicol Chem* 31: 1525–1535
- Höss S, Frank-Fahle B, Lüders T, Traunspurger W, 2015. Response of bacteria and meiofauna to iron oxide colloids in sediments of freshwater microcosms. *Environ Toxicol Chem* 34: 2660–2669

- Höss, S., Heininger, P., Claus, E., Möhlenkamp, C., Brinke, M., Traunspurger, W., 2017. Validating the NemaSPEAR[%]-index for assessing sediment quality regarding chemical-induced effects on benthic communities in rivers. *Ecological Indicators* 73, 52–60.
- Höss, S., Rauchschalbe, M.-T., Fueser, H., Traunspurger, W., 2022. Food Availability is Crucial for Effects of 1- $\mu$ m Polystyrene Beads on the Nematode *Caenorhabditis Elegans* in Freshwater Sediments. *Chemosphere* 298, 134101.
- Hübner, M.K., Michler-Kozma, D.N., Gabel, F. 2020. Microplastic concentrations at the water surface are reduced by decreasing flow velocities caused by a reservoir. *Fundamental and Applied Limnology / Archiv für Hydrobiologie* 194 (8) 49-56.
- Huser, T., Chan, J. 2015. Raman spectroscopy for physiological investigations of tissues and cells. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 89, 57-70.
- Hussain, S., Boland, S., Baeza-Squiban, A., Hamel, R., Thomassen, L.C.J., Martens, J.A., Billon-Galland, M.A., Fleury-Feith, J., Moisan, F., Paireon, J.-C., Marano, F., 2009. Oxidative stress and proinflammatory effects of carbon black and titanium dioxide nanoparticles: role of particle surface area and internalized amount. *Toxicology* 260, 142–149.
- Imhof, HK, Ivleva, NP, Schmid, J, Niessner, R, Laforsch, C 2013. Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles, *Current Biology* 23 (19), R867-R868.
- ISO, 2020. Water and soil quality - Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda).
- Jaeger D, Pilger C, Hachmeister H, Oberländer E, Wördenweber R, Wichmann J, Mussnug J, Huser T, Kruse O. 2016. Label-free in vivo analysis of intracellular lipid droplets in the oleaginous microalga *Monoraphidium neglectum* by coherent Raman scattering microscopy. *Sci. Rep.* 6:35340
- Jagmann, N., von Rekowski, K. S., Philipp, B. 2012. Interactions of bacteria with different mechanisms for chitin degradation result in the formation of a mixed-species biofilm. *FEMS Microbiology Letters*, 326(1), 69-75.
- Jeong, C.B., Won, E.J., Kang, H.M., Lee, M.C., Hwang, D.S., Hwang, U.K., Zhou, B., Souissi, S., Lee, S.J., Lee, J.S., 2016. Microplastic Size-Dependent Toxicity, Oxidative Stress Induction, and p-JNK and p-p38 Activation in the Monogonont Rotifer (*Brachionus koreanus*). *Environmental Science and Technology* 50, 8849–8857.
- Kallscheuer, N., Jogler, M., Wiegand, S., Peeters, S. H., Heuer, A., Boedeker, C., . . . Jogler, C. 2020a. *Rubinisphaera italica* sp. nov. isolated from a hydrothermal area in the Tyrrhenian Sea close to the volcanic island Panarea. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113(12), 1727-1736.
- Kallscheuer, N., Jogler, M., Wiegand, S., Peeters, S. H., Heuer, A., Boedeker, C., . . . Jogler, C. 2020b. Three novel *Rubripirellula* species isolated from plastic particles submerged in the Baltic Sea and the estuary of the river Warnow in northern Germany. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113(12), 1767-1778.
- Klein, S., Worch, E., Knepper, T.P., 2015. Occurrence and Spatial Distribution of Microplastics in River Shore Sediments of the Rhine-Main Area in Germany. *Environmental Science & Technology* 49, 6070–6076.
- Kreider, M. L., Panko, J. M., McAtee, B. L., Sweet, L. I., Finley, B. L. 2010. Physical and chemical

- characterization of tire-related particles: Comparison of particles generated using different methodologies. *Science of The Total Environment*, 408(3), 652-659.
- Lagarde, F., Olivier, O., Zanella, M., Daniel, P., Hiard, S., Caruso, A. 2016. Microplastic interactions with freshwater microalgae: Hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type. *Environmental Pollution*, 215, 331-339.
- Lawrence JR, Scharf B, Packroff G, Neu TR 2002. Microscale evaluation of the effects of grazing by invertebrates with contrasting feeding modes on river biofilms. *Microbial Ecology* 43: 199-207
- Lechner, A., Keckeis, H., Lumesberger-Loisl, F., Zens, B., Krusch, R., Tritthart, M., . . . Schludermann, E. 2014. The Danube so colourful: A potpourri of plastic litter outnumbers fish larvae in Europe's second largest river. *Environmental Pollution*, 188(0), 177-181.
- Leiser, R., Wu, G.-M., Neu, T. R., Wendt-Potthoff, K. 2020. Biofouling, metal sorption and aggregation are related to sinking of microplastics in a stratified reservoir. *Water Research*, 176, 115748.
- Leiser, R., Jongsma, R., Bakenhus, I., Möckel, R., Philipp, B., Neu, T. R., Wendt-Potthoff, K. 2021a. Interaction of cyanobacteria with calcium facilitates the sedimentation of microplastics in a eutrophic reservoir. *Water Research*, 189, 116582.
- Leiser, R., Schumann, M., Dadi, T., Wendt-Potthoff, K. 2021b. Burial of microplastics in freshwater sediments facilitated by iron-organo flocs. *Scientific Reports*, 11(1), 24072.
- Leiser, R., Drago, C., Weithoff, G., Wendt-Potthoff, K. 2021c. Einfluss von Biofilmbesiedlung und biogeochemischen Prozessen auf die Aggregation und Sedimentation von Mikroplastik - Erste Erkenntnisse aus dem Projekt MikroPlaTaS. *Korrespondenz Wasserwirtschaft* 14(3), 162-167.
- Leiser, R., Wendt-Potthoff, K. 2022. Microbial iron reduction does not release microplastics from organo-metallic aggregates. *Limnology and Oceanography Letters*, <https://doi.org/10.1093/femsle/fny294>
- Lenz, R., Enders, K., Nielsen, T.G., 2016. Microplastic exposure studies should be environmentally realistic. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113, E4121–E4122.
- Long, M., Moriceau, B. I., Gallinari, M., Lambert, C., Huvet, A., Raffray, J., Soudant, P. 2015. Interactions between microplastics and phytoplankton aggregates: Impact on their respective fates. *Marine Chemistry*, 175, 39-46.
- Majdi, N., Traunspurger, W. 2015. Free-living nematodes in the freshwater food web: a review. *Journal of nematology*, 47(1), 28-44.
- Majdi, N., Traunspurger, W., Boyer, S., Mialet, B., Tackx, M., Fernandez, R., Gehner, S., Ten-Hage, L., Buffan-Dubau, E., 2011. Response of biofilm-dwelling nematodes to habitat changes in the Garonne River, France: influence of hydrodynamics and microalgal availability. *Hydrobiologia* 673 (1), 229–244.
- Majdi N, I. Threis I Traunspurger W 2017. It's the little things that count: Meiofaunal density and production in the sediment of two headwater streams. *Limnology and Oceanography*, 62, 151-163.
- Mani, T., Hauk, A., Walter, U., Burkhardt-Holm, P. 2015. Microplastics profile along the Rhine River. *Scientific Reports*, 5, 17988.

- Martin-Creuzburg D, von Elert E, Hoffmann KH. 2008. Nutritional constraints at the cyanobacteria—*Daphnia magna* interface: the role of sterols. *Limnol Oceanogr* 53: 456–468
- McCormick, A., Hoellein, T. J., Mason, S. A., Schlupe, J., Kelly, J. J. 2014. Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river. *Environ Sci Technol*, 48(20), 11863-11871. doi:10.1021/es503610r
- McKee, D., Atkinson, D., 2000. The influence of climate change scenarios on populations of the mayfly *Cloeon dipterum*. *Hydrobiologia*, 441(1/3), 55–62. doi:10.1023/A:1017595223819.
- Michler-Kozma, D. N., Neu, T. R., Gabel, F. 2022. Environmental conditions affect the food quality of plastic associated biofilms for the benthic grazer *Physa fontinalis*. *Science of The Total Environment*, 816, 151663.
- Mueller, M.-T., Fueser, H., Höss, S., Traunspurger, W., 2020a. Species-specific effects of long-term microplastic exposure on the population growth of nematodes, with a focus on microplastic ingestion. *Ecological Indicators* 118, 106698.
- Mueller, M.-T., Fueser, H., Trac, L.N., Mayer, P., Traunspurger, W., Höss, S., 2020b. Surface-related toxicity of polystyrene beads to nematodes and the role of food availability. *Environmental Science & Technology* 54, 1790–1798.
- Neu, T.R., Manz, B., Volke, F., Dynes, J.J., Hitchcock, A.P., Lawrence, J.R. 2010. Advanced imaging techniques for assessment of structure, composition and function in biofilm systems. *FEMS Microbiol Ecol* 72: 1-21  
 Neu TR, Lawrence JR (2014) Investigation of microbial biofilm structure. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 1-51
- Neu T.R., Lawrence J.R. 2015. Innovative techniques, sensors and approaches for imaging biofilms at different scales. *Trends Microbiol* 23: 233-242
- Oberbeckmann S, Osborn AM, Duhaime MB 2016. Microbes on a bottle: substrate, season and geography influence community composition of microbes colonizing marine plastic debris. *PLoS ONE* e0159289
- OECD, 2014. Detailed Review Paper (DRP) on Molluscs Life-cycle Toxicity Testing, OECD Series on Testing and Assessment, No. 121, OECD Publishing, Paris, doi:10.1787/9789264221468-en. <https://www.oecd.org/env/detailed-review-paper-drp-on-molluscs-life-cycle-toxicity-testing-9789264221468-en.htm>
- OECD, 2016. Test No. 242: *Potamopyrgus antipodarum* Reproduction Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, doi:10.1787/9789264264311-en. [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-242-potamopyrgus-antipodarum-reproduction-test\\_9789264264311-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-242-potamopyrgus-antipodarum-reproduction-test_9789264264311-en)
- Olesen, K. B., Stephansen, D. A., van Alst, N., Vollertsen, J. 2019. Microplastics in a Stormwater Pond. *Water*, 11(7), 1466.
- Peters L, Scheifhacker N, Maria Kahlert M, Rothhaupt KO 2005. An efficient in situ method for sampling periphyton in lakes and streams, *Arch Hydrobiol.* 133, 133-141.
- Peters L, M. A. Wetzel, Traunspurger W, Rothhaupt KO 2007. Epilithic communities in a lake littoral: the role of water-column transport and habitat complexity for dispersal and colonisation of meiofauna, *Journal of North American Benthological Society*, 26, 232-243.
- Philipp, B., Schink, B. 2012. Different strategies in anaerobic biodegradation of aromatic compounds:

- nitrate reducers versus strict anaerobes. *Environmental Microbiology Reports*, 4(5), 469-478.
- Ptatscheck, C., Kreuzinger-Janik, B., Putzki, H., Traunspurger, W., 2015. Insights into the importance of nematode prey for chironomid larvae. *Hydrobiologia* 757, 143–153.
- Rauchschwalbe, M.-T., Fueser, H., Traunspurger, W., Höss, S., 2021a. Bacterial consumption by nematodes is disturbed by the presence of polystyrene beads: The roles of food dilution and pharyngeal pumping. *Environmental Pollution* 273, 116471.
- Rauchschwalbe, M.-T., Fuser, H., Traunspurger, W., Höss, S., 2021b. Ökologische Wirkungen: Toxizität von Mikroplastik auf aquatische Sedimentbewohner – Fallbeispiel anhand der Nematoden -. *Korrespondenz Wasserwirtschaft* 14, 168–173.
- Rauchschwalbe, M.-T., Höss, S., Haegerbaeumer, A., Traunspurger, W., 2022. Long-term exposure of a free-living freshwater micro- and meiobenthos community to environmentally relevant microplastic mixtures in microcosms. *Science of The Total Environment*, 827, 154207.
- Redondo-Hasselerharm, P.E., Falahudin, D., Peeters, E.T.H.M., Koelmans, A.A., 2018. Microplastic effect thresholds for freshwater benthic macroinvertebrates. *Environmental Science and Technology* 52, 2278–2286.
- Rehse, S, Kloas, W, Zarfl, C, 2016. Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*. *Chemosphere* 153, 91-99. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.02.133.
- Scherer, C., Weber A., Lambert, S., Wagner, M. 2018 'Interactions of Microplastics with Freshwater Biota', in Wagner, M., Lambert, S. (eds) *Freshwater Microplastics*. Cham: Springer International Publishing (The Handbook of Environmental Chemistry), pp. 153–180. doi: 10.1007/978-3-319-61615-5\_8.
- Scherer, C., Weber, A., Stock, F., Vurusic, S., Egerci, H., Kochleus, C., Arendt, N., Foeldi, C., Dierkes, G., Wagner, M., Brennholt, N., Reifferscheid, G., 2020. Comparative assessment of microplastics in water and sediment of a large European river. *Science of the Total Environment* 738, 139866.
- Schie IW, Huser T . 2013. Label-free analysis of cellular biochemistry by Raman spectroscopy and microscopy. *Compr Physiol* 3:941–956
- Scholten, P, 2015. Bachelorarbeit. Westfälische Wilhelms-Universität Münster.
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V., Lehtiniemi, M. 2014. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental Pollution*, 185(0), 77-83.
- Setyorini, L., Michler-Kozma, D., Sures, B., Gabel, F., 2021. Transfer and effects of PET microfibers in *Chironomus riparius*. *Science of The Total Environment* 757, 143735.
- Stasik, S., Wick, L. Y., Wendt-Potthoff, K. 2015. Anaerobic BTEX degradation in oil sands tailings ponds: Impact of labile organic carbon and sulfate-reducing bacteria. *Chemosphere*, 138, 133-139.
- Staudt C, Horn H, Hempel DC, Neu TR 2004. Volumetric measurements of bacterial cells and EPS glycoconjugates in biofilms. *Biotechnology and Bioengineering* 88: 585-592
- Stumpf, A. K., Vortmann, M., Dirks-Hofmeister, M. E., Moerschbacher, B. M., Philipp, B. 2018. Identification of a novel chitinase from *Aeromonas hydrophila* AH-1N for the degradation of chitin within fungal mycelium. *FEMS Microbiology Letters*, 366(1).

- Styp von Rekowski, K., Hempel, M., Philipp, B. 2008. Quorum sensing by N-acylhomoserine lactones is not required for *Aeromonas hydrophila* during growth with organic particles in lake water microcosms. *Archives of Microbiology*, 189(5), 475-482
- Suleiman, Zecher, Yücel, Jagmann, Philipp B (2016) Interkingdom cross-feeding of ammonium from marine methylamine-degrading bacteria to the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Appl Environ Microbiol* 82: 7113-7122.
- Trac, L.N., Schmidt, S.N., Holmstrup, M., Mayer, P., 2019. Headspace Passive Dosing of Volatile Hydrophobic Organic Chemicals from a Lipid Donor - Linking Their Toxicity to Well-Defined Exposure for an Improved Risk Assessment. *Environmental Science and Technology* 53, 13468–13476.
- Traunspurger, W., Threis, I., Majdi, N., 2015. Vertical and temporal distribution of free-living nematodes dwelling in two sandy-bed streams fed by helocrene springs. *Nematology* 17 (8), 923–940.
- Triebskorn, R., Braunbeck, T., Grummt, T., Hanslik, L., Huppertsberg, S., Jekel, M., Knepper, T.P., Kraus, S., Müller, Y.K., Pittroff, M., Ruhl, A.S., Schmiege, H., Schür, C., Strobel, C., Wagner, M., Zumbülte, N., Köhler, H.R., 2019. Relevance of nano- and microplastics for freshwater ecosystems: A critical review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 110, 375–392.
- Verla, A.W., Enyoh, C.E., Verla, E.N., Nwarnorh, K.O., 2019. Microplastic–toxic chemical interaction: a review study on quantified levels, mechanism and implication. *SN Applied Sciences* 1, 1–30.
- Vosshage, A. T. L., Neu, T. R., Gabel, F. 2018. Plastic Alters Biofilm Quality as Food Resource of the Freshwater Gastropod *Radix balthica*. *Environmental Science & Technology*, 52(19), 11387-11393. doi:10.1021/acs.est.8b02470.
- Wang, Y.-W., Zhao, J., Li, J.-H., Li, S.-S., Zhang, L.-H., Wu, M. 2011. Effects of Calcium Levels on Colonial Aggregation and Buoyancy of *Microcystis aeruginosa*. *Current Microbiology*, 62(2), 679-683.
- Weber, S., Traunspurger, W., 2014a. Top-down control of a meiobenthic community by two juvenile freshwater fish species. *Aquatic Ecology* 48, 465–480.
- Weber, S., Traunspurger, W., 2014b. Consumption and prey size selection of the nematode *Caenorhabditis elegans* by different juvenile stages of freshwater fish. *Nematology* 16, 631–641.
- Weber, S., Traunspurger, W., 2015. The effects of predation by juvenile fish on the meiobenthic community structure in a natural pond. *Freshwater Biology* 60, 2392–2409.
- Weber, M., Rinke, K., Hipsey, M. R., Boehrer, B. 2017. Optimizing withdrawal from drinking water reservoirs to reduce downstream temperature pollution and reservoir hypoxia. *Journal of Environmental Management*, 197, 96-105.
- Wendt-Potthoff, K., Kloß, C., Schultze, M., Koschorreck, M. 2014. Anaerobic metabolism of two hydro-morphological similar pre-dams under contrasting nutrient loading (Rappbode Reservoir System, Germany). *International Review of Hydrobiology*, 99(5), 350-362.
- Wendt-Potthoff, K., Imhof, H., Wagner, M., Primpke, S., Fischer, D., Scholz-Böttcher, B., Laforsch, C. 2017. Mikroplastik in Binnengewässern. In *Handbuch Angewandte Limnologie: Grundlagen - Gewässerbelastung - Restaurierung - Aquatische Ökotoxikologie - Bewertung - Gewässerschutz*: Wiley

- Windsor, FM, Tilley, RM, Tyler, CR, Ormerod, SJ, 2019. Microplastic ingestion by riverine macroinvertebrates, *Science of the Total Environment* 646, 68-74.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.271>
- Yan, M., Yang, J., Sun, H., Liu, C., Wang, L. 2022. Occurrence and distribution of microplastics in sediments of a man-made lake receiving reclaimed water. *Science of The Total Environment*, 813, 152430.
- Yang, J., Yang, Y., Wu, W. M., Zhao, J., Jiang, L. 2014a. Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms. *Environmental Science & Technology*, 48(23), 13776-13784.
- Yang X, Jiang C, Hsu-kim H et al. 2014b. Silver nanoparticle behavior, uptake, and toxicity in *Caenorhabditis elegans*: effects of natural organic matter. *Environ Sci Technol* 48: 3486–3495.
- Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., . . . Oda, K. 2016. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*, 351(6278), 1196-1199. doi:10.1126/science.aad6359.
- Zecher K, Aitha VP, Heuer K, Ahlers H, Roland K, Fiedel M, Philipp B. 2018. A multi-step approach for testing non-toxic amphiphilic antifouling coatings against marine microfouling at different levels of biological complexity. *J Microbiol Methods* 146:104-114.
- Zecher, K., Hayes, K. R., Philipp, B. 2020. Evidence of Interdomain Ammonium Cross-Feeding From Methylamine- and Glycine Betaine-Degrading Rhodobacteraceae to Diatoms as a Widespread Interaction in the Marine Phycosphere. *Frontiers in Microbiology*, 11. doi:10.3389/fmicb.2020.533894
- Zettler, E. R., Mincer, T. J., Amaral-Zettler, L. A. 2013. Life in the "Plastisphere": Microbial Communities on Plastic Marine Debris. *Environmental Science & Technology*, 47(13), 7137-7146.