

Abschließender Sachbericht

Titel des Vorhabens:

Die Rolle von Mikroplastik als Träger mikrobieller Populationen im Ökosystem Ostsee (MikrOMIK)

| | |
|----------------------|--|
| Leibniz-Einrichtung: | IOW: Leibniz-Institut für Ostseeforschung Warnemünde an der Universität Rostock |
| Aktenzeichen: | SAW-2014-IOW-2 |
| Projektlaufzeit: | 01.04.2014 bis 31.12.2017 |
| Ansprechpartner: | PD Dr. Matthias Labrenz Leiter AG Umweltmikrobiologie Telefon: +49 (0)381 5197 378 Fax: +49 (0)381 5197 440 E-Mail: matthias.labrenz@io-warnemuende.de |

Inhaltverzeichnis

| | |
|--|----|
| Beteiligte Einrichtungen..... | 3 |
| Executive summary..... | 4 |
| Ausgangsfragen und Zielsetzung des Vorhabens..... | 5 |
| Entwicklung der durchgeführten Arbeiten einschließlich Abweichungen vom ursprünglichen Konzept, wissenschaftliche Fehlschläge, Probleme in der Vorhabenorganisation oder technischen Durchführung..... | 7 |
| Darstellung der erreichten Ergebnisse und Diskussion im Hinblick auf den relevanten Forschungsstand, mögliche Anwendungsperspektiven und denkbare Folgevorhaben..... | 11 |
| Stellungnahme, ob Ergebnisse des Vorhabens wirtschaftlich verwertbar sind und ob eine solche Verwertung erfolgt oder zu erwarten ist; Angaben zu möglichen Patenten oder Industriekooperationen..... | 20 |
| Angabe der Beiträge von möglichen Kooperationspartnern im In- und Ausland, die zu den Ergebnissen des Vorhabens beigetragen haben..... | 20 |
| Qualifikationsarbeiten, die im Zusammenhang mit dem Vorhaben entstanden sind..... | 20 |
| Liste der Publikationen aus dem Vorhaben..... | 22 |
| Darstellung der Maßnahmen zur Sicherung und Verfügbarmachung der im Vorhaben produzierten Forschungsdaten..... | 24 |
| Liste möglicher Pressemitteilungen und Medienberichte..... | 24 |
| Literatur außerhalb von MikrOMIK..... | 25 |

Beteiligte Einrichtungen

Leibniz-Institut für Ostseeforschung Warnemünde (IOW)

Priv. Doz. Dr. Matthias Labrenz (Projektleiter)

Dr. Sonja Oberbeckmann (Koordinatorin)

Apl. Prof. Dr. Joanna J. Waniek

Prof. Dr. Gerald Schernewski

Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e. V. (IPF)

Dr. Klaus-Jochen Eichhorn

Dr. Dieter Fischer

Leibniz-Institut für Gewässerökologie und Binnenfischerei (IGB)

Prof. Dr. Hans-Peter Grossart

Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ)

Prof. Dr. Jörg Overmann

Leibniz Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie e.V. Hans-Knöll-Institut (HKI)

Prof. Dr. Axel A. Brakhage

Universität Rostock

Priv. Doz. Dr. Stefan Forster

Universität Greifswald

Prof. Dr. Thomas Schweder

Universität Oldenburg/Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM)

Dr. Barbara Scholz-Böttcher

Alfred Wegener Institut für Polar- und Meeresforschung (AWI)

Dr. Gunnar Gerdts

Universität Bayreuth

Prof. Dr. Christian Laforsch

Universität Aarhus, Dänemark

Dr. Jakob Strand

RMIT University, Australien

Prof. Dr. Mark Osborn

Executive summary

Seit etwa 10 Jahren wird die Bedeutung von Mikroplastik (MP), Plastikpartikel mit einer Größe von <5mm, für die marine Umwelt zielgerichteter untersucht; bis heute ist die Datenlage aber unbefriedigend. Ein Gefahrenpotential für marine Ökosysteme geht allerdings nicht allein von MP aus, sondern auch von der potentiellen Bildung von pathogenen Biofilmen auf MP-Oberflächen. Ziel von MikrOMIK war es, die gesundheitlichen Risiken für Ostseeanrainer durch MP als Vektor pathogener Mikroorganismen einschätzen zu können. Dazu führte MikrOMIK eine erstmalige Analyse zur Verteilung, sowie potentieller Quellen und Senken von MP im Warnowästuar durch und ermittelte die Rolle von Mikroplastik als Träger spezifischer mikrobieller Populationen und deren Funktionen. Da das Forschungsgebiet um MP noch recht jung war, konnte man zu Projektbeginn kaum auf Literatur oder Erfahrung in der internationalen Wissenschaftsgemeinschaft zurückgreifen, wie MP z. B. am effektivsten aus Umweltproben zu extrahieren, prozessieren oder identifizieren ist. Basis von MikrOMIK war daher eine grundlegende Optimierung der Aufarbeitung von Umweltproben, der spektroskopischen Identifizierung, sowie der Validierung von MP-Verbreitungsmodellen über die Ermittlung bestimmter MP-Eigenschaften. So wurde ein neuer Si Filter entwickelt, der im gesamten mittleren Infrarot-Bereich IR-transparent ist und die eindeutige Unterscheidung von verschiedenen Polymeren über FT-IR- und Raman-Mikroskopie ermöglicht. Die Vergleichbarkeit von FT-IR- und Raman-Mikroskopie zur MP-Identifizierung wurden ermittelt. Es wurden erstmals zur Modellierung validierte Daten zu Sinkgeschwindigkeiten von Polymerpartikeln unterschiedlicher Dichte, Größe und Form bei unterschiedlichem Salzgehalt sowie Biofouling bestimmt. Die Untersuchung von MP-Transportprozessen im Sediment (Bioturbation) ergaben, dass jene den von Sedimentpartikeln gleichen und das Potential mariner Wirbelloser zur Vergrabung von MP aus bereits existierenden Bioturbationsleistung-Daten abgeleitet werden kann. Basierend auf den Validierungen wurde für Mündungssedimente der Warnow $MP \geq 500 \mu m$ spektroskopisch quantifiziert und identifiziert und die MP-Verteilung auf hydrodynamische Parameter und die Wirkung lokaler Quellen bezogen. Es wurden signifikante Korrelationen zwischen dem Auftreten spezifischer Sedimentkorngrößenklassen und MP-Fractionen gefunden, mit der Folge, dass sich MP-Verteilungsmuster weitgehend aus einfachen sedimentologischen Daten ableiten lassen. Schlussfolgerung ist, dass die untersuchten Sedimente der Warnow wie auch der zentralen Ostsee als potenziell dauerhafte geografische Senke für MP angesehen werden können. Es ist hervorzuheben, dass ein großer Anteil der identifizierten MP-Partikel in der Nähe von Häfen oder Marinas Farbpartikel waren, welche analog auch in Bereichen dichten Schiffverkehrs in der zentraleren Ostsee gefunden wurden. Anhand der Matrix Scoring Methode konnte zudem nachgewiesen werden, dass Tourismus und Erholungssuchende hauptverantwortlich für die Verschmutzung der deutschen Ostsee-strände sind.

Im Zuge des Projektes wurde ein *in situ* Experiment durchgeführt, um die mikrobielle Gemeinschaften und deren Aktivitäten auf MP entlang eines Umweltgradienten kultivierungsabhängig und -unabhängig zu untersuchen. Über Laborexperimente wurde zudem der Einfluss höherer Organismen auf MP-Biofilme bestimmt. Im Vergleich zu natürlichen Partikeln lässt sich zusammenfassen, dass für das von MikrOMIK verwendete MP kein erhöhtes Potential als Vektor für pathogene Mikroorganismen abgeleitet werden konnte. Folglich sind die gesundheitlichen Risiken für Ostseeanrainer durch MP als Vektor pathogener Mikroorganismen als gering einzustufen. Es gibt aber Taxa, die Plastik spezifisch besiedeln und auch der Gentransfer, bzw. Gene die typisch für anthropogene Umwelteinflüsse sind, können auf MP signifikant erhöht sein. Zudem ist in den von MikrOMIK untersuchten Ökosystemen MP z. T. in hohen Konzentrationen gefunden worden. Was dies für ein aquatisches Ökosystem in Konsequenz bedeutet, sollte in zukünftigen Studien näher untersucht werden.

Ausgangsfragen und Zielsetzung des Vorhabens

Die Anreicherung von MP ist für küstennahe (Dubai & Liebezeit, 2013) und küstenferne marine Systeme (Lavender Law et al., 2010) nachgewiesen. Senken und Ausbreitungswege dieser Partikel sind aber noch weitgehend unbekannt, was unter anderem an der erschweren Nachweisbarkeit, sowie unklaren Sedimentationsmechanismen und Verbreitungswegen im Nahrungsnetz liegt. Auch wenn belastbare Einschätzungen zur Bedeutung von MP für das marine Nahrungsnetz noch fehlen, ist dessen Aufnahme durch marine Organismen dokumentiert und reicht von filtrierenden Copepoden (Pfaffenhöfer & Van Sant, 1985) bis zu Fischen (Boerger et al., 2010; Lusher et al., 2012; Rummel et al., 2016). Während einige marine Organismen aufgenommenes MP ohne sichtbare Schäden wieder ausscheiden (Andrady, 2011), kann es bei anderen Organismen vom Körper absorbiert werden und eine heftige Immunantwort auslösen (Köhler, 2010).

Biodegradation von MP, insbesondere über mikrobielle Zersetzung, ist, falls es überhaupt stattfindet, ein äußerst langwieriger Prozess (Andrady, 2011). Die Wechselwirkungen zwischen marinen Mikroorganismen und Plastikpartikeln sind aber nicht auf dessen potentiellen Abbau beschränkt. Im Vergleich zum Pelagial können sich auf Plastikoberflächen Mikroorganismen auch selektiv anreichern. Handelt es sich dabei um potentielle Humanpathogene wie *Vibrio* spp., welche bis zu 25 % aller an einer Plastikoberfläche assoziierten Bakterien der Sargassosee ausmachten (Zettler, 2013), kann dies Auswirkungen auf das Erreichen einer kritischen Infektionsdosis pathogener Bakterien in Gewässern, und damit eine direkte gesellschaftliche Relevanz, haben. Die Gründe für selektiven Bewuchs sind bisher weitgehend unbekannt. Eine Hypothese ist, dass MP als ein Substratanalogon fungiert und über Fäkalkontakt mit pathogenen Bakterien angereichert wird. Der anthropogene Einfluss findet dabei überwiegend indirekt, aber massiv, über die gemeinsame Einleitung von Fäkalien und MP in Abwassersysteme statt, bevor MP in die Umwelt gelangt. Den Verdauungstrakt von filtrierenden Organismen wie Zooplankton, Würmern, oder Muscheln, kann MP in Gewässern direkt passieren und dort selektiv beimpft werden. Es ist bekannt, dass Copepoden oder Muscheln z. B. *Vibrio*-Arten im Vergleich zum Umgebungswasser stark anreichern können (Sochard et al., 1979; Turner et al., 2009; Pruzzo et al., 2005). So könnten höhere Organismen eine herausragende Rolle als potentielles Bindeglied zwischen MP und *Vibrio* spielen. Dies kann insbesondere für die südliche Ostsee mit verhältnismäßig hohen *V. vulnificus* bzw. *V. cholerae*-Humaninfektionen mit z.T. tödlichen Verläufen (Brennholt et al., 2010), bedeutend sein. Neben Vibrionen mag dies auch für andere pathogene Mikroorganismen, inklusive eukaryotischer Pilze, auf MP gelten.

In Abhängigkeit von der eigenen Dichte und der Umgebungsdichte tritt MP in der gesamten Wassersäule auf und ist besonders an den Grenzflächen Atmosphäre/Wasser bzw. Sediment/Wasser angereichert. Dabei beeinflusst die mikrobielle Besiedlung in Form von Biofilmen das Auftriebs- und Sedimentationsverhalten stark (Cole et al., 2011) und es werden gleichzeitig mikrobielle Populationen auf MP anders im marinen Milieu verbreitet, als es unter natürlichen Bedingungen der Fall wäre. Es ist möglich, dass sich für pathogene Mikroorganismen auf diesem Wege potentielle Aktivitätsmuster und Infektionsrisiken verschieben. In Bezug auf die Ostsee liegen zurzeit nur wenige tragfähigen Daten zur Verbreitung, Abundanz, Art oder Besiedlung von MP vor. Da in ihrem Einzugsgebiet aber etwa 85 Mio. Menschen leben, deren Abwässer nahezu alle in die Ostsee abgeführt werden, erscheint es naheliegend, dass auch MP in höheren Konzentrationen in die Ostsee gelangt, sich dort anreichert und als Träger bestimmter Mikroorganismen oder gar pathogener Keime deren Verbreitung und damit das Infektionsrisiko stark erhöhen kann. Es war das Ziel des Projektes MikrOMIK, dies fundiert bewerten zu können. Als Meilensteine waren dafür vorgesehen:

- (I) Eine erstmalige Analyse zur Verteilung, sowie potentieller Quellen und Senken von Mikroplastik in der Ostsee.
- (II) Die Ermittlung der Rolle von Mikroplastik als Träger spezifischer mikrobieller Populationen und deren Funktionen.

(III) Die Einschätzung gesundheitlicher Risiken für Ostseeanrainer durch Mikroplastik als Vektor pathogener Mikroorganismen.

Diese Meilensteine sollten durch eine Verknüpfung von Labor-/Freilandexperimenten und Analysen von Umweltproben erreicht werden. Das Programm von MikrOMIK setzte sich entsprechend aus fünf Arbeitsschwerpunkten(AP) zusammen:

AP1. Prinzipielle Aufklärung der Zusammensetzung von MP in der Ostsee. Neben Sediment- und Wasserproben sollten Sinkstofffallen-Proben, welche für eine 15 jährige Zeitspanne aus dem Gotland-Tief im IOW vorlagen, die Dynamik der MP-Sedimentation wiedergeben. Um im AP1 Redundanzen schnellstmöglich Arbeitsprozesse und Analytik zu etablieren, war es Ziel, die bereits an den Universitäten Bayreuth und Oldenburg (ICBM), sowie dem Alfred-Wegener-Institut (AWI) vorhandene Expertise im Bereich Probenahme von MP, Extraktion und Aufreinigung im Labor sowie der nachfolgenden spektroskopischen Analyse, in enger Kooperation zu integrieren und an neue Ökosysteme anzupassen.

AP2. Methodenoptimierungen und Eigenschaften von MP. Für eine validierte qualitative und quantitative Erfassung von MP in marinen Umweltproben sollten, zeitgleich zu (AP1), zunächst bestehende etablierte analytische Methoden (z.B. basierend auf Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (FTIR)) optimiert und neue Verfahren/Techniken (z.B. basierend auf Raman-Mikroskopie) entwickelt, etabliert und miteinander verglichen werden. Parallel sollte in Laborexperimenten das Verhalten von MP in unterschiedlichen Wasserkörpern der Ostsee ermittelt werden. In einem ersten Schritt war geplant, das Sinkverhalten verschiedener Polymere in Wasser unterschiedlichen Salzgehaltes zu untersuchen und zu klären, ob sich dieses Verhalten durch theoretische Berechnungen vorhersagen lässt. In Folgeschritten sollte der Einfluss einzelner Faktoren bewertet werden, die das Sinkverhalten von Mikroplastik grundlegend beeinflussen.

AP3. Biofilme auf MP. Ziel war, die Biofilmbildung/-eigenschaften auf MP in kombinierten Freiland- und Laborexperimenten darzustellen, da diese die Vektoreigenschaft von MP bestimmt. Als Freilandexperiment war geplant, den anthropogenen Einfluss auf die mikrobielle Besiedlung und Aktivität von MP über einen Transekt unterschiedlich anthropogen beeinflusster Gebiete der Ostseeküste experimentell zu untersuchen. Zur Darstellung der *in situ* Biofilmbildung an den unterschiedlichen Standorten sollte in Größe, Dichte, und Zusammensetzung definiertes MP ins Freiland ausgesetzt und in zeitlichen Abständen die gebildeten Biofilme über 16S/18S rRNA sowie Metagenomik Analysen in ihrer mikrobiellen Struktur und Funktionen aufzuklären. Dabei sollte insbesondere auf Unterschiede in der mikrobiellen Gemeinschaftszusammensetzung (Pro- und Eukaryonten) zwischen verschiedenen Substrattypen unterschiedlicher Standorten eingegangen werden. Es galt zu testen, ob es MP-spezifische Indikatororganismen gibt, aber auch, ob sich die Biodiversität zwischen den Substrattypen und Standorten unterscheidet bzw. welche Interaktionsmöglichkeiten für Prokaryoten und Eukaryoten auf MP bestehen. Mikrobielle Aktivitäten sollten über die metaproteomische Analyse von MP-assoziierten mikrobiellen Gemeinschaften dargestellt werden. Es sollte insbesondere untersucht werden, welche Stoffwechselforgänge prominente Rollen spielen und ob Proteine potentiell pathogener Mikroorganismen bzw. Virulenz-assoziierte Proteine nachweisbar sind. Daran gekoppelt wurde die Isolierung von Bakterien, um Aktivitätsmuster bakterieller Gemeinschaften in Abhängigkeit des besiedelten Substrates, sowie die Sukzession bakterieller Gemeinschaften auf Plastik zu untersuchen. Ziel war es zu ermitteln, welche Ansprüche biofilmbildende Bakterien auf Plastik an ihre Umwelt haben. Diese Versuche sollten dazu dienen, die Zusammensetzung und Funktion bakterieller Gemeinschaften auf MP besser zu verstehen, um so mit MP verbundene Risiken besser bewerten zu können.

Völlig unklar war die Frage, ob höhere Organismen einen Einfluss auf Biofilmbildung auf MP haben. Daher sollte der Einfluss mariner Schlüsselorganismen des Pelagials (Copepoden), der Sedimentoberfläche (*Mytilus*) und des Sediments (*Arenicola*) auf die mikrobielle Besiedlung und Aktivität von MP über Laborexperimente ermittelt werden. Diese Untersuchungen waren mit der Untersuchung der Bioturbation von MP in Sedimenten und dem Resuspensi-

onsverhalten verknüpft. Insbesondere das Potential mariner Wirbelloser zur Vergrabung von MP stand hierbei im Vordergrund. Ziel war es, mögliche Transportprozesse auf und in marinen Sedimenten zu beobachten und systematisch zu beschreiben. Dabei sollte geklärt werden, welchen Einfluss physikalische Eigenschaften der MP-Partikel (bspw. Größe, Form, Dichte) auf die Transportgeschwindigkeit sowie die Vergrabungstiefe haben. Hinsichtlich ihrer Aktivität am Meeresboden können Wirbellose in verschiedene Bioturbationstypen eingeteilt werden, deren individuelle Vergrabungsleistungen von Partikeln sich zum Teil erheblich unterscheiden können. In Laborexperimenten sollte daher weiterhin der Einfluss verschiedener Vertreter ausgewählter Bioturbationstypen auf die Verteilung von MP untersucht werden, mit dem Ziel potentielle Schlüsselarten oder -gruppen für eine besonders tiefe, schnelle oder allem voran dauerhafte Vergrabung von Plastikpartikeln benennen zu können.

AP4. Beständigkeit der mikrobiellen Besiedlung und Aktivität. Zur Simulation der Verbreitung und Anreicherung bestimmter mikrobieller Populationen und deren Aktivitäten auf MP *in situ* ist die Kenntnis um deren taxonomische und funktionelle Beständigkeit essentiell. Dies ist insbesondere für jenes MP interessant, welches mit höchster Wahrscheinlichkeit auch von pathogenen Mikroorganismen besiedelt ist. Um diese Beständigkeit der Biofilme abschätzen zu können, sollten einige aus einem Klärwerk sowie aus dem Faeces der Schlüsselorganismen entnommenen MP-Partikel daher weiter im Labor ohne weitere Umwelteinflüsse inkubiert und über einen längeren Zeitraum analysiert werden.

AP5. Transportverhalten von MP. Ziel von AP5 war die Verknüpfung der Konzentrationen, Verteilung, Quellen und des Transportverhalten von MP in der Ostsee. These war, dass insbesondere Strände eine Senke (Strandanwurf) von Mikroplastik sein würden. Dieser Bereich sollte daher mit neuen und weniger spezifischen Methoden hochauflösender untersucht werden. So sollten Monitoring Ansätze entwickelt werden, mit denen neben der Abundanz, Emissionsquellen und Akkumulationsbereiche abgeschätzt werden können. Des Weiteren sollte ein Modell entwickelt werden, welches die physikalischen Prozesse im Warnow-Ästuar abbildet und so Rückschlüsse auf das Transportverhalten von Mikroplastik ermöglicht.

Abschließend war es erklärtes Ziel von MikrOMIK, dieses Netzwerk über weitergehende Projekte und Kooperationen zu verstetigen, um ökologisch-relevante Fragestellungen in Bezug auf MP, mikrobielle Funktionen und Aktivitäten in der Ostsee zu untersuchen.

Entwicklung der durchgeführten Arbeiten einschließlich Abweichungen vom ursprünglichen Konzept, wissenschaftliche Fehlschläge, Probleme in der Vorhabenorganisation oder technischen Durchführung

Zum Zeitpunkt der Zusammenstellung des Abschlussberichtes sind 26 Publikationen, 25 Qualifikationsarbeiten, sowie 6 Folgeprojekte aus MikrOMIK heraus entstanden; weitere Manuskripte sind bei wissenschaftlichen Zeitschriften eingereicht. Das ist eine beachtliche Leistung für ein Netzwerkprojekt, welches sich mit einem für die meisten Partner recht neuen Thema beschäftigte. Dies führte konsequenterweise aber auch dazu, dass oft nicht auf etablierte Methoden, Protokolle oder Erfahrungen zurückgegriffen werden konnte. Daher musste gerade in den ersten 12 Monaten sehr viel Entwicklungsarbeit geleistet und einzelne Ziele modifiziert bzw. angepasst werden. Diese sind für die einzelnen APs im Folgenden erläutert:

AP1. Prinzipielle Aufklärung der Zusammensetzung von MP in der Ostsee. Zu Projektbeginn konnte man auf keine Literatur oder Erfahrung in der internationalen Wissenschaftsgemeinschaft zurückgreifen, wie MP am effektivsten aus Umweltproben zu extrahieren ist. So tauchten ungeahnte Probleme auf, was die Probenaufbereitung verzögerte und zu weniger aufgearbeiteten Proben im Projekt führte als geplant. Insbesondere die Trennung von MP und organischem Material, was für eine spektroskopische Analyse unabdingbar ist, verursachte Schwierigkeiten. Dies war auch bei anderen nationalen und internationalen MP-Projekten der Fall, mit denen MikrOMIK von Beginn an im Informationsaustausch stand. Die Schwierigkei-

ten führten dennoch dazu, dass keine so hohen Probenanzahlen untersucht werden konnten, wie es für den gesamten Ostseeraum notwendig gewesen wäre. So beschränkte sich MikrOMIK meist auf das Ästuar der Warnow und Strände ihres Einzugsgebietes: Wasser- sowie Sedimentproben wurden im Juli 2014 an 10 Stationen im Warnow-Mündungsbereich entlang eines Transektes (Schleuse Rostock bis 2 km nach der Mündung in der offenen Ostsee) und weitere Proben aus dem gesamten Ostseebereich genommen, die letzteren aber aus Zeitgründen zunächst nicht untersucht. Sediment- und Sinkstofffallen-Proben konnten aus dem Gotland- und dem Arkonabecken aufgearbeitet werden, welche jeweils einen Sedimentationszeitraum von etwa 10 Monaten abdeckten. Eine an den Stränden zur Probenahme eingesetzte Stechrohrmethode erwies sich als ungeeignet, da bei einem Beprobungsvolumen von 6 Litern nur wenige Plastikpartikel gefunden wurden. Zudem stellte sich heraus, dass die Aufarbeitung der Sedimentproben, mit denen Plastikpartikel (< 2 mm) untersucht wurden, sehr zeitintensiv waren. Das lag vor allem an der großen Menge an Organik in den Proben, welche bei der Dichteseparation mit dem Microplastic Sediment Separator (MPSS) aufstiegen und so einen enzymatischen Verdau der Probe nötig machten. Andernfalls war eine Sichtung von MP < 2mm nicht möglich.

Zur Extraktion von MP aus Sedimentproben wurde generell der MPSS (Imhof et al., 2012) verwendet. Die Proben wurden in zwei Größenfraktionen eingeteilt: Fraktion 1 deckte die Größen 5 mm – 500 µm ab, Fraktion 2 500 – 10 µm. Partikel und Fasern der Fraktion 1 wurden anhand von visuellen Merkmalen händisch isoliert, die Fraktion 2 wurde filtriert und einer enzymatischen Reinigungsprozedur unterworfen (Biniasch, 2014, 2016).

Trotz der oben kurz beschriebenen Herausforderungen konnten erfolgreich mehrere Qualifikationsarbeiten zu dem Thema Eigenschaften von MP im Ästuar der Warnow abgeschlossen und ein Manuskript verfasst werden (Enders et al. 2019, in revision). Die im Zuge des Projektes gewonnenen methodischen Erkenntnisse waren zudem Basis für die mittlerweile bereits laufenden Folgeprojekte BONUS Micropoll, BMBF-FONA MicroCatch_Balt, BMBF-FONA PLASTRAT, UBA - Verbundprojekt: Meeresmüll und ERA.Net RUS -Verbundprojekt BalticLitter. Wichtig für AP1 war eine intensive Zusammenarbeit mit der Uni Bayreuth, dem ICBM, und dem AWI bezüglich der Methodenweiterentwicklung zur Probenahme, der Extraktion, der Aufreinigung, sowie der Identifizierung von Mikroplastik, welche bis heute anhält und in weiterführenden FONA-Projekten MicroCatch_Balt und PLAWES praktisch verstetigt wurde.

AP2. Methodenoptimierungen und Eigenschaften von MP. Es stellte sich schnell heraus, dass die Identifizierung von MP auf jenen Filtern, welche üblicherweise zum Transmission FTIR-Imaging genutzt werden, keine qualitativ ausreichende Identifizierung erlaubte, da die Analytik durch einen zu hohen Hintergrund gestört wurde. Daher wurde zunächst ein IR-transparenter Silizium (Si)-Filter für die Analyse von filtrierten MP-Proben mittels Transmission FTIR-Imaging in Kooperation mit der Fraunhofer Institut für Zuverlässigkeit und Mikrointegration (IZM) entwickelt und produziert. Die Vorzüge und Anwendbarkeit dieses Filters wurden anhand von MP-Modell-Proben und nachfolgend an realen Umweltproben getestet. Die beiden Methoden Raman- und FTIR-Spektroskopie wurden anhand realer Umweltproben aus dem MikrOMIK-Projekt kritisch mit einander verglichen und verifiziert. Dies erfolgte zum einen für isolierte Einzelteilchen > 500 µm als auch für filtrierte Proben < 400 µm (Käppler et al., 2015, 2016). Darüber hinaus wurden FTIR und Pyrolyse-Gaschromatografie-Massenspektrometrie (py-GCMS) in Kooperation des IPF mit dem ICBM für MP aus Warnow Sedimenten mit einander verglichen und die Möglichkeiten der Vergleichbarkeit veröffentlicht (Käppler et al., 2018).

Die ersten gereinigten MP-Proben aus der Warnow wurden mittels ATR-FTIR-Mikroskopie (ATR: attenuated total reflection) und teilweise mittels Raman-Spektroskopie untersucht. Entgegen der ursprünglichen Intention war es aus Zeit- und Ressource-Gründen nicht möglich, jeweils den gesamten Probenfilter zu untersuchen. Daher wurden zufällig ausgewählte Teilbereiche des Filters analysiert.

Für die Bestimmung von Sinkgeschwindigkeiten von Polymerpartikeln unterschiedlicher Dichte und Größe wurden zwei Systeme etabliert. Für größeres MP im Bereich $> 0,3 \text{ mm} < 4 \text{ mm}$ wurden Atterberg-Zylinder verwendet und das Absinken der Plastikteilchen innerhalb eines definierten Bereiches ($2 \times 10 \text{ cm}$) mittels Stoppuhr gemessen. Für kleines MP ($< 0,3 \text{ mm}$) wurde ein von Glockzin et al. (2014) etabliertes und für die oben genannte Fragestellung angepasstes Shadowgraphy Setup genutzt. Das Absinken mikroskopisch kleiner Plastikpartikel in einer Photometrie-Küvette, die sich für das Erreichen einer stabileren Umgebungstemperatur in einem weiteren Gefäß mit Wasser befindet, wurde mit einer hochauflösenden CCD-Kamera aufgenommen und die Sinkgeschwindigkeit anschließend mittels Bildauswertung bestimmt (Glockzin et al., 2014).

Zur Prüfung der Frage, wie sich UV-Licht auf die Eigenschaften von MP auswirkt, wurde ein Setup mit einer Metaldampflampe mit UV-Anteil, der dem des natürlichen Sonnenlichts angenähert ist, aufgebaut. Die Lampe stellte sich als sehr geeignet heraus, um weitestgehend natürliche Verhältnisse zu simulieren. Um während der Projektlaufzeit sichtbare Effekte zu erzielen, die über ein Yellowing der Partikel hinausgehen, sind allerdings andere Methoden notwendig, wie z. B. die Behandlung in einem Witterungstester (UV-Test-Kammer). Um die Auswirkung von mechanischem Stress auf MP in der Brandungszone entlang der Küsten zu untersuchen, wurden Plastikpartikel zusammen mit natürlichem Meerwasser und Strandsand in verschließbare Gläser gefüllt und für 6 Monate auf einem Laborschüttler in Bewegung gehalten. Bereits nach einem Monat Schütteln konnte man deutliche Spuren per REM-Analyse erkennen. Im Sommer 2016 begann ein Inkubationsexperiment, in dem MP für 14 Wochen in der Warnow und in Heiligendamm ausgebracht wurde. In Heiligendamm musste die Inkubation nach zwei Wochen neu gestartet werden, da angebrachte Seile bei einem Unwetter gerissen waren. Nach regelmäßiger Probennahme wurden MP-Partikel unter dem Licht- und Rasterelektronenmikroskop aufgenommen und ihre Sinkgeschwindigkeit gemessen (Kowalski et al., 2016; Kaiser et al., 2017).

AP3. Biofilme auf MP. Das Warnow-Freilandexperiment, bei dem MP-Pellets im Vergleich zu einem natürlichen Material (Holz) an verschiedenen Stationen mit unterschiedlichem anthropogenem Einfluss exponiert wurden, konnte problemlos durchgeführt werden. Die im Antrag vorgeschlagenen Methoden, hier Illumina MiSeq Sequenzierung, kamen wie erwartet zur Anwendung. Schwierigkeiten gab es anfänglich bei der DNA-Extraktion von den MP-Proben, da die DNA-Ausbeute wesentlich geringer ausfiel als erhofft. Durch die Optimierung des Extraktions-Protokolls konnte dieses Problem jedoch aus dem Weg geräumt werden. Die gebildeten Biofilme wurden schließlich mittels 16S (Oberbeckmann et al., 2018) und 18S rRNA Amplikonanalyse (Kettner et al., 2017, 2019) in ihrer Zusammensetzung charakterisiert. Weiterführende funktionelle Analysen mittels Metagenomik konnten bisher nicht abgeschlossen werden, da die gleichzeitige Prozessierung von pro- und eukaryotischen Daten eine große bioinformatische Herausforderung darstellt. Es ergab sich, dass zwei zusätzliche Experimente durchgeführt werden konnten, welche jedoch nicht im Ökosystem Ostsee durchgeführt wurden, sondern als Freiland- und Laborversuche mit Wasserproben aus Süßgewässern in Deutschland und Italien (Arias-Andres et al., 2018b; Eckert et al., 2018). Hier wurde die Auswirkung von Bakteriengemeinschaften aus dem Kläranlagen-Ablauf auf Süßwasser-Bakterien-Gemeinschaften unter steigenden MP-Konzentrationen untersucht und die Hypothese getestet, ob MP den horizontalen Gentransfer zwischen Bakterien begünstigt.

Um das Metaproteom der MP-assoziierten mikrobiellen Gemeinschaften zu analysieren, wurde zunächst eine Extraktionsmethode entwickelt, die die effiziente Anreicherung des Gesamtproteoms der Biofilme ermöglichte. Die Proteinextrakte wurden anschließend verdaut, aufgereinigt und in sehr hoher Auflösung massenspektrometrisch vermessen. Obwohl mehr als 400.000 Spektren pro Probe aufgenommen werden konnten, blieben die Identifizierungsraten hinter den Erwartungen zurück. Grund hierfür war mutmaßlich, dass hoch abundante eukaryotische Proteine weniger abundante bakterielle Proteine überlagerten und so eine geringere Protein-Diversität vermittelten als in den Proben tatsächlich vorlag. Zudem zeigte sich, dass die Metagenom-Datenbank sehr viele kurze ORFs enthielt, die nur einen Bruchteil

des Proteins darstellen, zu dem sie gehören. Daher konnten viele der in den Proben vorhandenen Proteine nicht identifiziert werden. Die starke Fragmentierung der Peptidsequenzen in der Datenbank erschwerte eine valide taxonomische und funktionelle Zuordnung. Unter den identifizierten Proteinen finden sich viele hypothetische Proteine und Proteine ohne Annotation in den Datenbanken (COG/KOG; TIGRFAM). Nichtsdestotrotz erlaubten die Metaproteomanalysen einen umfassenden Überblick über die taxonomische und funktionelle Zusammensetzung der Biofime, der mit anderen Methoden nicht möglich gewesen wäre (Oberbeckmann, Schweder, et al., in prep.).

Um die Physiologie und die Ansprüche bakterieller Gemeinschaften auf Plastik und Holz zu untersuchen, wurde ein Substrattest angesetzt, der ein immunozytochemisches Verfahren basierend auf dem Einbau des Thymidinanalogs 5-Brom-2-desoxyuridin (BrdU) in die genomische DNA wachsender Bakterienzellen nutzt. Dazu wurden die *in situ* Biofilme des Warnow-Freilandexperimentes genutzt. Im Substrattest wurden 31 Substanzen getestet, darunter organische Säuren, Mono- und Disaccharide und Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen. Die Proben aus dem BrdU-Experiment wurden anschließend für BrdU-Immunocapture genutzt, um so Schlüssel-Organismen spezifischer Substratnutzungen zu identifizieren. Die Sukzession bakterieller Gemeinschaften und die damit verbundene Identifizierung der biofilmbildenden Schlüsselarten von Bakterien wurden über ein Oberflächen-Transfer-Experiment untersucht. Dazu wurden Plastik-Oberflächen in ausgewählten Medien bereitgestellt und mit Wasser der *in situ* Biofilm-Standorte inokuliert und nach Inkubationsperioden mehrfach transferiert. Die bakteriellen Gemeinschaften aller Oberflächen wurden sequenziert. Es konnten mehrere Stämme von *in situ* und *in vitro* Biofilmen von Plastik isoliert und identifiziert werden, allerdings steht eine detaillierte Beschreibung der Isolate noch aus.

In Bezug auf Bioturbation wurde zu Projektbeginn eine Methode zur Extraktion von MP aus Sedimenten entwickelt. Hierbei erwies sich die Dichtentrennung von Sediment und Plastik in Rolltanks als einfach und sehr effizient. Größere Probleme zeigten sich bei der weiteren Aufbereitung der extrahierten Partikel, die aufgrund ihrer hohen Adhäsionsfähigkeit oft in den verwendeten Gefäßen verblieben und die Effizienz der verwendeten Methode z.T. deutlich beeinträchtigten. Auch weiterführende Maßnahmen, wie der Einsatz dichter Trennmittel (Natriumpolywolframat) oder die Verwendung speziell entwickelter Gefäße und –aufsätze erbrachten keine Verbesserung. Die Vermahlung des in vielen Teilprojekten eingesetzten Plastiks (Polystyrol, PS 143 E, BASF) am IPF Dresden erwies sich als technisch aufwändig und konnte keine definierten Größenfraktionen erzeugen, sondern lediglich ein Gemisch aus vielen verschiedenen Größenklassen. Eine nachträgliche Siebung der Partikel wurde erprobt, führte jedoch aufgrund starker Anziehungskräfte der Partikel untereinander oder mit anderen Oberflächen zu keinem befriedigenden Ergebnis. In Kooperation mit der Micromod Partikeltechnologie GmbH wurde eine Fluoreszenz-beschichtung des gemahlene PS mit verschiedenen Farbstoffen (Rhodamin, Fluorescein) erprobt, jedoch erwiesen sich die verwendeten Farbstoffe als nicht langlebig genug für den Einsatz in Langzeit-Bioturbationsexperimenten. Aufgrund der genannten Probleme im Umgang mit MP wurden für die durchgeführten Experimente letztlich PS 143 E (Partikeldurchmesser 1000 µm) sowie weitere Polymere in verschiedenen Größenklassen verwendet (Trofil PA 6, 500 µm, Monofil-Technik GmbH; fluoreszentes Polyethylen, 130 µm, Cospheric). Die Verwendung von makroskopisch sichtbarem bzw. fluoreszente MP erlaubte die Anwendung bereits etablierter Techniken zur Probenahme und Partikelquantifizierung, wie sie für Bioturbationsexperimente mit Luminophoren (fluoreszierende Sedimentpartikel) bereits existieren. Protokolle zur Probenbearbeitung und computergestützte Partikelzählung anhand von Fotografien konnten erstellt und u.a. auch für Qualifikationsarbeiten erfolgreich eingesetzt werden. Aufgrund der steigenden Zahl an Literatur, welche die Interaktion von filtrierenden Organismen, besonders Bivalvia, mit MP behandelt, wurden für die Laborexperimente zwei Vertreter der Polychaeta eingesetzt (*Arenicola marina*; *Hediste diversicolor*), da für diese Organismengruppe bisher sehr wenige Daten zur Wechselwirkung mit MP verfügbar, aufgrund der Lebensweise der Tiere andererseits hohe Transportraten zu erwarten sind. Die Laborversuche selbst wurden ohne größere Probleme durchgeführt (Gebhardt et al., 2018).

AP4. Beständigkeit der mikrobiellen Besiedlung und Aktivität. Es wurden ohne Probleme Untersuchungen zum Einfluss von *A. marina* (Kesy et al., 2016) und *M. edulis* (Kesy et al., 2017) auf Biofilmbildung auf MP-Partikel durchgeführt und veröffentlicht; eine Analyse von Copepoden war aus zeitlichen Gründen nicht mehr möglich.

AP5. Transportverhalten von MP. Im Projekt wurde früh deutlich, dass die methodisch komplexe und zeitaufwändige Aufbereitung und Analyse von MP aus Umweltproben keine umfassende Bereitstellung von Daten geeignet zur Simulation erlauben würde. Um eine umfassende Beurteilung der Belastung des Warnowästuars und seiner Ufer mit kleinen Plastikfraktionen zu ermöglichen, wurden ergänzend einfache Monitoringmethoden für Plastikfraktionen >2 mm Größe für Strände entwickelt, getestet und eingesetzt. Bei der Rahmenmethode (Fläche von 9 m²) wurden mehr Partikel gefunden, allerdings deckte diese Methode nicht den ganzen Strand ab, so dass es zur Weiterentwicklung der Rechenmethode kam. Die Rechenmethode stellte sich als am besten geeignet da, weil die größte Fläche (von der Wasserlinie bis zum Dünenfuß) in kürzester Zeit beprobt werden konnte. Zudem wurde hier die höchste Anzahl an Müllpartikeln gefunden, was für die Quellenbestimmung der Verschmutzung wichtig ist. Für die Bestimmung der seeseitigen Verschmutzung der Strände wurde zudem die 10 m² Spülsaummethode entwickelt und eingesetzt (Haseler et al., 2018).

MP-Modellierung wurde mit dem General Estuarine Transport Model (GETM, www.getm.eu) durchgeführt. Das Modell berechnet, auf Grundlage der inkompressiblen Navier-Stokes Gleichungen, Zeitserien der 3D Strömungsfelder und physikalischen Zustandsgrößen wie Salinität und Temperatur. Ersteres wurde benutzt um die Position von Lagrangen Tracern zu berechnen, welche die MP-Partikel repräsentierten. Anders als angedacht, wurde ein größerer Bereich um die Warnow-Mündung mit in das Modellgebiet integriert, um den Transport durch die Flussfahne besser abbilden zu können. Im Zuge dessen wurde auch die räumliche Auflösung auf 20 m vergrößert, um kleinskalige Ablagerungen von MP modellieren zu können. Die vertikale Diskretisierung mit 25 bodenfolgenden Schichten erwies sich als ausreichend.

Darstellung der erreichten Ergebnisse und Diskussion im Hinblick auf den relevanten Forschungsstand, mögliche Anwendungsperspektiven und denkbare Folgevorhaben

MikrOMIK hat richtungsweisende Ergebnisse zu allen drei vorgesehenen Meilensteinen generiert und auch bereits veröffentlicht. Die Ergebnisse sind im Folgenden den angestrebten drei Meilensteinen zugeordnet:

(I) Erstmalige Analyse zur Verteilung, sowie potentieller Quellen und Senken von Mikroplastik in der Ostsee.

Die für die Studie potentieller Quellen, Verteilung und Senken notwendigen Daten konnten nach erheblicher Optimierung der Aufarbeitung von Proben über Natriumpolywolframat (Binasch, 2014, 2016; Stollberg, 2016) bzw. der spektroskopischen Identifizierung erhoben werden. MikrOMIK hat Neuentwicklungen & Validierungen vornehmen können, die bereits veröffentlicht wurden und internationale Aufmerksamkeit erfahren haben. Dies betrifft z.B. die gesicherte Identifizierung von MP über Transmission FTIR-Imaging, ein spektroskopisches Verfahren, über das filtrierte MP-Proben direkt auf dem Filter ohne visuelle Vorsortierung automatisch analysiert werden können. Dafür wird ein IR-transparenter Filter benötigt; der vor MikrOMIK gewöhnlich genutzte Aluminiumoxid-Gewebefilter (Anodisc) zeigt allerdings im Wellenzahlbereich von 1250 – 600 cm⁻¹ eine sehr starke Eigenabsorption, wodurch eine Detektion von charakteristischen Polymerbanden in diesem spektralen Bereich nicht möglich war. Zudem ist der Anodisc leicht brüchig und nicht vollständig planar, was zu Fokussierungsproblemen bei der FTIR- und Raman-Mikroskopie führen kann. Daher wurde ein neues Filtermaterial für IR-mikroskopische Verfahren in Transmission (z.B. Imaging) entwickelt und etabliert. Dazu wurden in einen Si-Wafer in Kooperation mit dem Fraunhofer IZM durch litho-

grafisches Ätzen durchgehende Poren eingebracht. Die so erhaltenen Si-Filter verfügen über einen Porendurchmesser von 10 μm , sind mechanisch stabil und erlauben die Filtration von wässrigen MP-Proben. Er ist im gesamten mittleren Infrarot-Bereich ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) IR-transparent und ermöglicht somit die eindeutige Unterscheidung von verschiedenen Polymeren anhand von charakteristischen Banden im Fingerprintbereich. Dieser Filter ist auch als Messsubstrat für die Raman-Mikroskopie geeignet. Die spektroskopische Anwendbarkeit (FTIR in Transmission und Raman) der Si-Filter wurde mit Hilfe von MP-Modell-Partikeln sowohl für Einzel- als auch für Imaging-Messungen erfolgreich getestet und für die Filtration und Analyse realer MP-Proben aus dem MikrOMIK-Projekt genutzt (Käppler et al., 2015).

Für eine sichere und zuverlässige Identifizierung von MP sind chemisch-analytische Verfahren, wie FTIR und Raman-Spektroskopie oder py-GCMS, unerlässlich. Diese wurden auch bereits in einigen Studien verwendet (Oberbeckmann et al., 2015). Allerdings fand bislang kein Vergleich der verschiedenen Untersuchungsverfahren statt. Daher wurden die mittels ATR-FTIR und Raman-Mikroskopie erhaltenen Identifizierungsergebnisse von isolierten MP-Partikeln und -Fasern ($> 500 \mu\text{m}$) kritisch miteinander verglichen und verifiziert. Es wurde deutlich, dass beide spektroskopischen Verfahren zur Identifizierung von MP in marinen Proben geeignet sind. Insbesondere bei farbigen Partikeln ist es für eine vollständige und sichere Identifizierung allerdings nötig, beide Verfahren anzuwenden. Im zweiten Schritt wurden daher MP-Proben $< 400 \mu\text{m}$ mittels FTIR-Imaging in Transmission sowie Raman-Imaging untersucht und hinsichtlich der Anzahl, der Größe und der Polymerart der identifizierten MP-Partikel verglichen. Zudem wurde die Spektrenqualität, Messzeit und das Handling in den Vergleich einbezogen. Dabei konnten mittels Raman-Imaging deutlich mehr (ca. 35 %) MP-Partikel, v.a. sehr kleine Partikel ($< 20 \mu\text{m}$), detektiert werden. Allerdings war die Messzeit im Vergleich zum FTIR-Imaging bei gleicher Messfläche deutlich höher. In Zusammenarbeit des IPF mit dem ICBM fand ein Vergleich zwischen ATR-FTIR und py-GCMS statt. In einer Blindstudie wurden die jeweiligen Identifizierungsergebnisse von isolierten Partikeln $> 500 \mu\text{m}$ und Fasern beider Verfahren miteinander verglichen. Es stellte sich heraus, dass beide Verfahren in den meisten Fällen zu dem gleichen Ergebnis hinsichtlich der Einteilung „Kunststoff“ vs. „nicht-Kunststoff“ führten. Somit wurden im Rahmen des MikrOMIK-Projektes erstmals unterschiedliche chemisch-analytische Verfahren zur MP-Identifizierung miteinander verglichen und validiert. Die detaillierten Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen können den entsprechenden Veröffentlichungen entnommen werden (Käppler et al., 2016, 2018).

Die oben beschriebenen Neuentwicklungen waren aber die Basis für validierte und gut abgesicherte Datenerhebungen zu MP aus Strand, Sediment und Wasser der Ostsee bzw. Warnow. Zur weitergehenden validierten Simulation bzw. Modellierung des Eintrages, Verbreitung, und Sedimentation von MP muss allerdings zudem der passive Transport von Mikroplastik ergänzt werden mit dynamischem Auftrieb bedingt durch die Dichte von MP und die hohe Variabilität der Dichte des Warnowwassers. Grund ist, dass Sinkgeschwindigkeiten von MP-Partikeln in Brackwassersystemen wie einem Ästuar stark variieren. Aber auch hier konnte MikrOMIK bereits wichtige neue Erkenntnisse generieren. So wurden erstmals Sinkgeschwindigkeiten von Polymerpartikeln unterschiedlicher Dichte (PS, Polyamid (PA), Polymethylmethacrylat (PMMA), Polyethylenterephthalat (PET), Polyoxymethylen (POM) und Polyvinylchlorid (PVC), $1050-1560 \text{ kg m}^{-3}$) und variierend in der Größe (Größenbereiche: $< 0,3 \text{ mm}$ und $0,3-3,6 \text{ mm}$) und Form im Wasser mit unterschiedlichem Salzgehalt (Sal 0, 15, 36 mit den Dichten 998, 1010 und 1026 kg m^{-3}) gemessen (Kowalski et al., 2016). Mit zunehmender Partikeldichte und -größe konnte, wie erwartet, ein Zunehmen der Sinkgeschwindigkeiten beobachtet werden. Zudem besaß aber die Partikelform einen großen Einfluss, denn starke Abweichungen von der Kugelform sowie eine zusätzliche Abflachung der Partikel führten zu einer deutlichen Reduzierung der Sinkgeschwindigkeiten. Dadurch konnten signifikante Unterschiede zwischen den experimentell gemessenen und kalkulierten Daten basierend auf theoretischen Formeln für die Sinkgeschwindigkeit von sphärischen Körpern auftreten. Experimentell konnte mittlerweile nachgewiesen werden, dass die Abhängig-

keit der Sinkgeschwindigkeit von der MP-Partikelgröße relativ gut durch eine quadratische lineare Regression beschrieben werden kann (Kaiser et al., 2019).

Diese Resultate widerlegen die Annahme, dass theoretische Berechnungen basierend auf dem Sinkverhalten von perfekten Sphären ausreichend sind, um die Sinkgeschwindigkeit von Mikroplastik abzuschätzen. Die Ergebnisse sind jedoch nur für neue, nicht gealterte Partikel gültig. Verbleiben die Partikel länger in der Umwelt, sind sie verschiedenen Verwitterungsprozessen, wie z. B. biologischer Verwitterung (Biofouling) ausgesetzt, die ihre physikalischen Eigenschaften verändern könnten. Die Ergebnisse eines entsprechenden Inkubationsexperiments zeigten, dass die biologische Besiedlung von MP einen gravierenden Einfluss auf das Sinkverhalten der Partikel hat (Kaiser et al., 2017). MP mit einer Dichte höher als die des Umgebungswassers erfuh durch den Bewuchs eine Beschleunigung der Sinkgeschwindigkeit. MP von dem ein Sinken aufgrund niedriger Dichte nicht zu erwarten ist, kann durch den Bewuchs, vor allem durch die Ansiedlung von Makroinvertebraten, zum Sinken gebracht werden. Diese Verstärkung des Absinkens von MP durch Biofouling wurde bisher mehrfach als mögliche Erklärung für eine offensichtlich herrschende Diskrepanz zwischen Plastikeintrag und Plastikauftreten in Meeresoberflächenwasser herangezogen (Cozar et al., 2014, Eriksen et al., 2014). Außerdem wurde vermutet, dass sie das Vorkommen von MP niedriger Dichte am Meeresboden erklärt. Allerdings basierten diese Schlussfolgerungen bisher auf theoretischen Ansätzen, die bestenfalls durch Beobachtungen deutlich größerer Plastikobjekte unterstützt wurden. Die Objektgröße spielt jedoch eine entscheidende Rolle, da sie den Bewuchs maßgeblich beeinflusst. Auch diese Erkenntnisse zum Effekt natürlichen Bewuchses auf die MP-Sinkgeschwindigkeit von Kaiser et al. (2017) fließen in Modellberechnungen ein.

Der letzte wichtige Faktor um die Verbreitung von MP im aquatischen Milieu realitätsnah abschätzen zu können, ist die Kenntnis um deren Transportprozesse im Sediment, oft katalysiert über höhere marine Organismen. In diesem Zusammenhang konnte anhand von Laborexperimenten sowohl für *A. marina* als auch für *H. diversicolor* die Vergrabung von MP verschiedener Größe und Zusammensetzung als Folge der Bioturbationsaktivität der Tiere nachgewiesen werden. Herauszustellen ist dabei, dass für beide Spezies, die unterschiedlichen Bioturbationstypen angehören, verschiedene Transportprozesse und –effizienzen beobachtet wurden:

Für den conveyor belt-feeder *A. marina* ist ein Vergraben, aber auch ein gleichzeitiger Aufwärtstransport aufgenommener MP-Partikel an die Sedimentoberfläche bereits aus der wissenschaftlichen Literatur bekannt (Valdemarsen et al., 2011; Green et al., 2016; Van Cauwenberghe, 2015). Die Hypothese, dass durch den größenabhängigen Partikelfraß von *A. marina* größeres MP in das Sediment gelangt, dort allerdings nicht aufgenommen wird und so dauerhaft im Sediment verbleibt, konnte nun experimentell bestätigt werden. Die Bioturbation von *A. marina* stellt damit einen Weg dar, MP $\geq 500 \mu\text{m}$ in kurzer Zeit vergleichsweise tief in das Sediment zu bringen und es dort für lange Zeiträume zu belassen. Aufgrund des charakteristischen Fraßmechanismus des Polychaeten zeigte sich für dieses MP ein typischer Akkumulations-horizont in 10 – 14 cm Sedimenttiefe. Hinsichtlich der Vergrabungsgeschwindigkeit konnte zwischen großem MP ($\varnothing 1000 - 500 \mu\text{m}$) und kleineren Luminophoren ($\varnothing 130 \mu\text{m}$) keinerlei Unterschied festgestellt werden, trotz unterschiedlicher Größe und Dichte beider Partikeltypen. Der mögliche Unterschied im Transport von Sedimentpartikeln und MP war ebenfalls ein Hauptfokus in den Experimenten, die mit *H. diversicolor* durchgeführt wurden. Der Partikeltransport von Luminophoren und gleich großen oder größeren Plastikpartikeln wurde hierbei in einem mechanistischen Bioturbationsmodell verarbeitet und mittels entsprechender Transportkoeffizienten quantifiziert. Hinsichtlich des Vergrabungsverhaltens konnte auch hier kein Unterschied zwischen den Partikeltypen festgestellt werden. Bei dem gallery-diffuser *H. diversicolor* findet der hauptsächliche Partikeltransport nicht durch Fraß, sondern durch zufälliges Verschleppen der Partikel in den Bau statt. Durch das charakteristische Verhalten des Polychaeten während der Nahrungssuche wurde in kurzer Zeit ein Großteil der auf der Sedimentoberfläche befindlichen MP-Partikel erfasst und verschieden tief in

das Sediment transportiert. Typische Akkumulationshorizonte waren waagrecht oder vertikal verlaufende Abschnitte des Baus, in denen sich die Partikel anlagern bzw. hineinfallen. Es konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die Bioturbation von Sediment im Allgemeinen, wie die von MP im Speziellen, durch eine Erhöhung des Nahrungsangebotes stimuliert werden kann.

Diese Ergebnisse unterstreichen die Rolle, die marinen Sedimenten als potentielle Senke für MP zukommt. Da 80% (Duis & Coors, 2016) der in die Meere eingetragenen MP-Partikel die Meeresböden erreichen kann, kann davon ausgegangen werden, dass Bioturbationsprozesse eine wichtige Rolle bei der weiteren Verteilung dieser Partikel auf dem Meeresgrund spielen. Einerseits mögen derart vergrabene Partikel schwerer zugänglich für marine Organismen sein, andererseits verzögert die Anreicherung im Sedimentkörper unter Licht- und Sauerstoffabschluss den Zerfall der schwer abbaubaren Polymere weiterhin und kann so zu einer langfristigen Konservierung von MP in der marinen Umwelt führen. Der Nachweis der Bioturbation von MP vervollständigt das Wissen um den Transport dieser Partikel in den Ozeanen und kann helfen, die Diskrepanz zwischen der in die Meere eingetragenen MP-Menge und der mit bisher zur Verfügung stehenden Methoden wiedergefundenen Menge zu erklären. Darüber hinaus demonstrieren die gewonnenen Erkenntnisse die Notwendigkeit, bei der Evaluierung der MP-Belastung mariner Sedimente auch tiefere Sedimentbereiche zu berücksichtigen. Bereits existierende Zahlen zu MP-Konzentrationen von Sedimenten könnten daher die tatsächliche MP-Belastung unterschätzen.

Ein Unterschied im Transportverhalten zwischen MP und Sedimentpartikeln konnte in keinem Experiment festgestellt werden, unabhängig von der Form oder Dichte des MP. Die Annahme, dass die geringere MP-Dichte im Vergleich zu natürlichen Sedimentpartikeln ein unterschiedliches Transportverhalten bedingt, konnte anhand der modellierten Transportkoeffizienten nicht bestätigt werden. In Bezug auf mögliche Interaktionen mit mariner Fauna scheint allein die Partikelgröße den weiteren Verbleib der Partikel zu bestimmen und so bspw. über Vergrabung oder Fraß zu entscheiden. Der Transport von MP im Sediment wiederum gleicht dem von Sedimentpartikeln bzw. Luminophoren. Die individuelle Bioturbationsleistung ist für viele marine Spezies in Form von spezifischen Transportkoeffizienten bereits bekannt. Das Potential einer Art bzw. einer Gemeinschaft aus marinen Wirbellosen zur Vergrabung von MP kann daher aus bereits existierenden Daten abgeleitet werden.

Basierend auf oben beschriebenen Validierungen wurde für Mündungssedimente der Warnow $MP \geq 500 \mu m$ spektroskopisch quantifiziert und identifiziert und die MP-Verteilung auf hydrodynamische Parameter und die Wirkung lokaler Quellen bezogen (Enders et al., 2019, in revision). Es wurden signifikante Korrelationen zwischen dem Auftreten spezifischer Sedimentkorngrößenklassen und MP-Fractionen gefunden, mit der Folge, dass sich MP-Verteilungsmuster weitgehend aus einfachen sedimentologischen Daten ableiten lassen. Die mittlere Korngröße (d_{50}) war der offensichtlich genaueste Proxy für High Density (HD) MP ($r = -0,9$, $p < 0,001$). Partikelförmige Polymere mit niedriger Dichte (LD) im untersuchten Größenbereich zeigten ein komplexeres Transportablagungsverhalten und erfordern weitere Untersuchungen. Die MP-Sediment-Beziehung im Transportverhalten wies einen Größenunterschied von durchschnittlich einer Größenordnung auf, der die Dichteunterschiede mit der Größe ausgleicht. Der Vergleich komplementärer Daten aus anderen Studien (in Enders et al., 2018, enthalten) ergab einen Einfluss der räumlich-zeitlichen Konnektivität des untersuchten Systems auf das Maß der Anpassung. Räumliche Vorkommen von typspezifischen High-Density-MP wurden mit ihrem Emissionsort in Beziehung gesetzt und dienten als lokaler Quellenindikator. Mittels eines verallgemeinerten linearen Modells (GLM) konnten MP-Punktquellen, wie Kläranlagen und Häfen, identifiziert werden. Die Bedeutung einer integrierten Analyse der Sedimentkorngröße zur Eliminierung hydrodynamischer Variabilität konnte dahingehend extrapoliert werden, dass anthropogene Einflüsse über Raum und Zeit ermittelt werden können. Der Langstreckentransport von MP in die Ostseebecken Arkonabecken und Gotland Tief wird anhand der Daten für faserige MP als möglich erachtet, der Ursprung anderer MP-Partikel scheint aber meerseitig zu sein (Schiffe etc.). MP-Sedimentationsraten (37

$\text{m}^{-2} \text{y}^{-1}$; $0 \text{ m}^{-2} \text{y}^{-1}$) wurden für die zentrale Ostsee bestimmt und zeigten Kohärenz mit dem darunter liegenden Sedimentkompartimenten. Die Schlussfolgerung ist, dass die untersuchten Sedimente der Warnow wie auch der zentralen Ostsee als potenziell dauerhafte geografische Senke für MP angesehen werden können.

Es ist hervorzuheben, dass ein großer Anteil der identifizierten Partikel Farbpartikel waren, analog zu Imhof et al. (2016), welche hauptsächlich aus Proben in der Nähe des Fischereihafens sowie am Alten Strom isoliert wurden. Außerdem wurden an verschiedenen Stationen erhebliche Mengen an PS-Kugeln detektiert, welche zum großen Teil aus Ionenaustauschern stammten. Weitere identifizierte Polymerarten waren Polypropylen (PP), Polyethylen (PE), Polyvinylacetat, Ethylvinylacetat (EVA), PA, PMMA, Polyacrylnitril und PVC.

Strandbeprobungen im Bereich Warnemünde ergaben Partikelanzahlen der MP-Fraktion $>2\text{mm}$ von $\varnothing 2,6$ Müllteile/ m^2 (Rechenmethode) bis zu 65 Müllteile/ m^2 (Spülsaummethode). Diese Daten reichten aus, um den Verschmutzungsgrad verschiedener Strände einzuschätzen. Vorteil der Spülsaummethode war, dass insbesondere Erkenntnisse über die seebasierte Verschmutzung der Strände nach Sturmereignissen in Erfahrung zu bringen war. Des Weiteren konnte durch die Spülsaummethode ein Verschmutzungsereignis aufgenommen werden: An dem Strand des IGA-Parks wurden am 17.03.2015 Tausende von Mikroplastik-Pellets angespült; auf 1 m^2 Spülsaum waren es ca. 2.500 Pellets. Davon abgesehen konnte anhand der Matrix Scoring Methode nachgewiesen werden, dass Tourismus und Erholungssuchende hauptverantwortlich für die Verschmutzung der Strände sind. Die Rechenmethode, mit der $50 - 60 \text{ m}^2$ Strand innerhalb von 2 Stunden beprobt werden können, zeigte dass Mikro- und Mesomüll an Ostseestrände ein Problem darstellen welches mit der Standard-Makromüllmonitoring (OSPAR-Methode 100 m) für Makromüll nicht adressiert wird. Strandnutzer sind hauptverantwortlich für die Verschmutzung der deutschen Ostseestrände und intensiv genutzte Strände sind Verschmutzungs-Hot-Spots. Mit der Rechenmethode und der Spülsaummethode wurden zwei kostengünstige und zuverlässige Methoden entwickelt, welche mit Wiederfindungsraten von etwa 60% geeignet sind die Verschmutzung der Strände wider zu spiegeln. Dabei können sie an allen Sandstränden eingesetzt werden, unabhängig davon ob eine Strandreinigung vorliegt oder nicht. Die große Mikro- und die Mesomüll-Fractionen werden bei Strandreinigungen so gut wie nicht erfasst, daher kann von einer andauernden mechanischen Zersetzung und einer stetigen Akkumulation in der Umwelt ausgegangen werden. So ist es auch möglich touristisch stark genutzte und gereinigte Strände zu untersuchen.

Durch die hohe räumliche Auflösung der oben beschriebenen Beprobungen konnten physikalische Prozesse, die Küstenlinie, als auch die Bathymetrie im Warnowästuar besser im GETM Modell abgebildet werden. Zu den physikalischen Prozessen zählt vor allem die laterale Zirkulation die eine stärkere Austauschströmung verursacht, wodurch der Einfluss von Wind auf den Transport abnimmt. Die akkuratere Bathymetrie ist insbesondere relevant, um den Einfluss der geplanten Vertiefung der Warnow-Fahrrinne in einer weiteren Modellstudie abschätzen zu können. Das Modell ist geeignet um weitere Partikel-Verfolgungs Studien durchzuführen, wie den Transport von biologischen Tracern (z. B. *E. coli* Bakterien), Tracern um das Alter vom Wasser abzuschätzen (Age-tracer) und Tracer um die Herkunft des Wassers zu bestimmen (Markierung von Wasserpaketen).

(II) Ermittlung der Rolle von Mikroplastik als Träger spezifischer mikrobieller Populationen und deren Funktionen

Mikrobielle Gemeinschaften auf MP sind bisher kaum erforscht, und es ist nur wenig über das Vektorpotential von MP für pathogene Mikroorganismen bekannt. Im Zuge des Projektes wurde daher ein *in situ* Experiment durchgeführt, um die mikrobielle Besiedelung von MP entlang eines Umweltgradienten zu untersuchen. PE, PS, und Holz-Pellets wurden für 14 Tage an 7 Stationen mit unterschiedlichem anthropogenem Einfluss im Fluß Warnow (Rostock), an der Ostseeküste, und in einer Kläranlage inkubiert. Die Biofilm-

Gemeinschaften wurden mittels 16S rRNA und 18S rRNA Hochdurchsatz-Sequenzierung identifiziert und mit den entsprechenden Wasser-Gemeinschaften verglichen (freilebend und Partikel-angeheftet). Besonderes Augenmerk lag dabei auf potentiell pathogenen Organismen. Es konnte gezeigt werden, dass sich nur in Gewässern mit geringer Nährstoffkonzentration und erhöhtem Salzgehalt Plastik-spezifische bakterielle Biofilm-Gemeinschaften entwickelten (Oberbeckmann et al., 2018), was die Bedeutung von nährstoffarmen MP-Akkumulationszonen, wie bspw. der Sargasso See, unterstreicht. Im Vergleich zu natürlichen Substraten wurden potentiell pathogene Taxa auf MP nicht angereichert, auch auf metagenomischer Ebene fanden sich bisher keine Hinweise auf besondere pathogene Faktoren. Allerdings konnten in der Kläranlage bestimmte Bakterien auf MP detektiert werden, die häufig mit Antibiotika-Resistenzen in Verbindung gebracht werden. Dies weist auf MP als potentiellen hotspot für horizontalen Gentransfer hin. Eine Ausdehnung des Versuchsansatzes auf den Salinitätsgradienten der südlichen Küstenregionen der Ostsee bestätigte diese Ergebnisse prinzipiell, ergab aber zudem dass *Vibrio* generell als Primärbesiedler von Partikel-Oberflächen anzusehen ist (Kesy et al., 2019, in revision). Eine erstmalige Studie zu bakteriellen Gemeinschaften auf Farbpartikeln aus dem Sediment der Warnow identifizierte eine signifikante Anreicherung von *Desulfatitalea tepidiphilia*, die Gründe dafür bedürfen aber noch weiterer Untersuchungen (Tagg et al., 2019).

Daran anknüpfend wurden in einem Laborversuch Bakteriengemeinschaften aus einem meso-oligotrophen See mit einer *E. coli*-Kultur, welche ein Plasmid für die Resistenz gegen das Antibiotikum Trimethoprim besitzt, gemischt (Arias-Andres et al., 2018b). Es wurde verfolgt, wie sich dieses Plasmid über horizontalen Gentransfer innerhalb der Bakteriengemeinschaft verbreitet, wenn (Fall a) diese Bakterien von einer MP-Oberfläche stammten (das MP wurde zuvor im See inkubiert) und wenn (Fall b) diese Bakterien aus dem umgebenden Seewasser stammten. Damit konnte nachgewiesen werden, dass der Gentransfer signifikant und um ein vielfaches erhöht war, wenn die Bakterien auf MP wuchsen. Bakterien verschiedenster phylogenetischer Gruppen waren in der Lage, das Plasmid aufzunehmen. Im umgebenden Seewasser verbreitete sich das Plasmid hingegen seltener bzw. langsamer. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Anwesenheit von Mikroplastik in aquatischen Systemen den Gentransfer zwischen den angehefteten Bakterien begünstigt und Mikroplastik damit die Gefahr der Ausbreitung von Antibiotika-Resistenzen um ein vielfaches erhöhen könnte. Da bereits potentielle Pathogene auf MP aus der Umwelt nachgewiesen werden konnten (Kirstein et al., 2016) und eine zusätzliche Antibiotika-Resistenz ein besonderes Risiko für Menschen darstellen würde, sind dringend weitere Studien nötig, um zunächst das Gefährdungspotential zu bestimmen und um daraufhin geeignete Gegenmaßnahmen zu finden. Denn trotz guter Reinigungsleistung, leiten z. B. Kläranlagen sowohl MP als auch Mikroorganismen, inklusive Antibiotika-resistenter Bakterien, in Seen, Flüsse oder Meere ein (Mintenig et al., 2017; Di Cesare et al., 2016). In einem Chemostaten-Experiment (zur kontinuierlichen Kultivierung) wurden Mikroorganismengemeinschaften – zu gleichen Teilen gemischt aus Kläranlagen-Ablauf und Seewasser – über einen Zeitraum von 15 Tagen kultiviert (Eckert et al., 2018). Die MP-Anzahl stieg von 0 im ersten Chemostaten bis auf 1600 im neunten Chemostaten. Zu Versuchsende wurde das Vorkommen von Integrase I – häufig verwendet als Marker für anthropogene Einflüsse, da es z.B. in Verbindung mit Antibiotika- und Schwermetall-Resistenzen auftritt – quantifiziert. Mit steigender MP-Konzentration stieg auch das Vorkommen von Integrase I unter MP-assoziierten Mikroorganismen. Zudem waren die MP-assoziierten Gemeinschaften am Ende, insbesondere bei höheren MP-Konzentrationen, den ursprünglichen Gemeinschaften aus dem Kläranlagen-Ablauf ähnlicher als denen aus dem See, obwohl das Kultivierungsmedium aus sterilem Seewasser bestand. Dies bedeutet, dass hohe MP-Konzentrationen das Anheften und Überleben von Bakterien aus Kläranlagen-Abläufen begünstigt und dass diese Bakterien vermehrt Gene in sich tragen, die typisch für anthropogene Umwelteinflüsse sind.

Über 500 verschiedene Eukaryoten, darunter über 100 unterschiedliche Pilze, wurden auf den MP-Proben des Warnow *in situ* Experiment nachgewiesen. Die Gemeinschaften waren zusammengesetzt von Organismen verschiedener trophischer Ebenen, sprich von Primär-

produzenten über Konsumenten bis zu Destruenten (Kettner et al., 2017; 2019). Dominante Organismengruppen waren die Chloroplastida, Holozoa einschließlich Metazoa, Fungi sowie Eukaryoten der „SAR“-Gruppe (Stramenopiles, Alveolata und Rhizaria). Es konnte die Hypothese bestätigt werden, dass sich die MP-assoziierten Eukaryotengemeinschaften signifikant von denen auf Holz sowie denen im umgebenden Wasser unterscheiden. Ein Unterschied zwischen den jeweiligen Gemeinschaften auf PE und PS konnte statistisch nicht belegt werden. Die Zusammensetzung der Eukaryotengemeinschaften unterschied sich darüber hinaus von Station zu Station. Dies unterstützt Ergebnisse vorheriger Studien (Hoellein et al., 2014; Oberbeckmann, 2016), jedoch konnten wir diese Substrat- und Ortsabhängigkeit erstmalig im Ökosystem und Einzugsbereich der Ostsee nachweisen. Da vorangegangene Studien bevorzugt den Bakterien gewidmet waren, gehören unsere Experimente zu den wenigen, die detailliert Aufschluss über die Eukaryoten- und insbesondere Pilzgemeinschaften auf MP geben. Da Pilze dank ihrer Enzymsysteme auch schwer-abbaubare Substanzen degradieren können, kommen sie also potentielle Plastik-Abbauer in Frage (Krueger et al., 2015). Insgesamt wiesen die MP-gemeinschaften eine deutlich geringere Biodiversität auf als jene auf Holz und im Wasser. An zwei Stationen waren Dinoflagellaten der Gattung *Pfiesteria* überaus stark auf den MP-Proben vertreten. Zwei Arten dieser Gattung sind potentielle Fischpathogene und können toxische Algenblüten verursachen (Burkholder and Marshall, 2012). Netzwerkanalysen, die sowohl Prokaryoten und Eukaryoten einschloss, zeigten, dass viele Organismen positiv korreliert waren und verstärken die Annahme, dass die MP-assoziierten Organismen auf gleichen und verschiedenen trophischen Ebenen miteinander interagieren. Mögliche Interaktionen wären beispielsweise der gemeinsame Abbau komplexer Nährstoffquellen, Symbiose, Endobiose, Parasitismus, Genaustausch oder Räuber-Beute-Beziehungen.

Metaproteomanalysen der MP-assoziierten Biofilme ergaben, dass in allen die Spektren eukaryotischer Proteine überraschend hoch abundant, insbesondere in der Nähe des Klärwerks (PE: 84 % aller identifizierten Spektren; PS: 92 %) waren. Im Gegensatz dazu dominieren in den Holz-Biofilmen an allen Standorten Proteinspektren prokaryotischen Ursprungs (jeweils > 90 %). Eine erhöhte relative Abundanz von Proteinspektren potentiell gesundheitsgefährdender Taxa innerhalb der Plastik-Biofilme konnte nicht gezeigt werden. Zwar wurden Proteinspektren der Gattung *Vibrio* in einigen Plastikproben nachgewiesen, waren aber in den entsprechenden Holzproben höher abundant. Die Annotation der Proteinfunktionen erfolgte zunächst anhand der cluster of orthologous groups Datenbank (COG, bzw. KOG bei eukaryotischen Proteinen). Bezüglich der Verteilung von Funktionen bakterieller Proteine waren sowohl Standort- als auch Kunststoff-spezifisch kaum signifikante Unterschiede festzustellen. In allen MP-Proben waren Spektren zur Energiegewinnung und -umwandlung innerhalb des Metabolismus am abundantesten, vor allem am Standort nahe dem Klärwerk. Weiterhin entfielen vergleichsweise viele Spektren auf Proteine des Kohlenhydratstoffwechsels, vor allem auf PE am Standort Bootsterrassen (4,73 %) und auf den Transport und Metabolismus von anorganischen Ionen (5,27 % auf PE und 3,79 % auf PS an den Bootsterrassen und 3,14 % auf PS am Standort Heiligendamm). Auch bei bakteriellen Proteinen zur Speicherung und Prozessierung genetischer Informationen nahmen Proteine der Translation den Großteil der Spektren ein. Bei der Untersuchung der Proben auf Proteine zum Abbau von Xenobiotika (KEGG Datenbank) konnte eine spezifische „2-haloacid dehalogenase“ aus *Methylobacterium* sp. NC0032 detektiert werden, die in den Abbau von Chloroalkanen, Chloroalkanen, Chlorocyclohexanen and Chlorobenzenen involviert ist. Bei allen anderen diesem Stoffwechselweg zugeordneten Spektren handelt es sich um unspezifische Enzyme, die in mehreren Stoffwechselwegen eine Rolle spielen können. Ebenso konnten bezüglich der Antibiotika-Resistenz keine spezifischen Proteine nachgewiesen werden. Dies ist auch beim Quorum Sensing der Fall. Aufgrund einiger irreführender Annotationen in der COG Datenbank (Histon H3/H4 gehört zu den abundantesten Proteinen der Erythrobacteraceae) und einer akkurateren Beschreibung der Proteinfunktionen läuft zurzeit die Analyse der Proteinsequenzen anhand der „TIGRFAM“-Datenbank. Erste Ergebnisse deuten darauf hin, dass innerhalb der Transportprozesse vor allem *TonB*-abhängige Transportmechanismen

eine Rolle spielen. Proteine zum Austausch genetischer Informationen (Unterkategorie Konjugation bzw. Transformation) sind jedoch unterrepräsentiert. Unabhängig von der Auswahl der Datenbank bleibt festzuhalten, dass der Anteil an hypothetischen Proteinen bzw. von Proteinen ohne Annotation in allen Proben hoch ist, was bei marinen Metaproteom-Studien aber üblich ist.

Die Substratnutzung von Mikroorganismen auf MP wurde über die BrdU-Immunozytochemie quantitativ bestimmt. Dabei wurde deutlich, dass für jede Oberfläche spezifische Substrat-Präferenzen der besiedelnden Bakterien zu beobachten waren. Es konnte die Nutzung eines Substrats, sowie der Anteil der Substrat-nutzenden Bakterien bestimmt werden. So ließen sich nicht nur spezifische Nutzungsmuster für jede Oberfläche identifizieren, sondern auch Unterschiede in den durch alle Biofilme umgesetzten Substraten. Von HDPE isolierte Biofilme zeigten eine signifikante Nutzung der Substrate Acetat, Benzoat, Butyrat, Formiat, Propionat, Salicylsäure, Harnstoff, Harnsäure, Fucose, Glucose und Lactose. Von PS isolierte Biofilme zeigten eine signifikante Nutzung der Substrate Acetat, Butyrat, Formiat, Propionat, Salicylsäure, Harnstoff und Glucose. Von Holz isolierte Biofilme zeigten eine signifikante Nutzung der Substrate Acetat, Butyrat, Formiat, Propionat, Fucose, Glucose, Mannitol und Trehalose. Somit konnten unterschiedliche Nutzungsmuster ermittelt werden. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, dass für allgemein genutzte Substrate, wie z.B. Acetat, die Anzahl aktiver Bakterien variiert (HDPE: ~48%, PS: ~12%, Holz: ~41%). Ein Kruskal-Wallis-Test zeigte, dass kein signifikanter Unterschied in der Substratnutzung zwischen Biofilmen von Plastik bestand, allerdings waren Biofilme von beiden untersuchten Plastikoberflächen in ihrer Substratnutzung signifikant unterschiedlich zu Holz. Um die Sukzession bakterieller Gemeinschaften auf Plastik zu untersuchen, wurden in einem *in vitro* Experiment Plastik-Streifen (HDPE und PS) in gleicher Qualität wie die für *in situ* Experimente verwendeten Pellets in mehreren Stufen transferiert. Jeder Transfer hatte den Austausch des Mediums und den Austausch eines alten Plastik-Streifens durch einen neuen zur Folge. Durch dieses Experiment wurde der Selektionsdruck auf die Gemeinschaft erhöht. Nur Bakterien, die in der Lage waren zwischen planktonischer Lebensweise und Anhaftung zu wechseln, waren nach mehreren Transfers auf den Oberflächen wieder zu finden. Als primäre Inokulate wurden Wasserproben von den Standorten *der in situ* Experimente eingesetzt, um einen Vergleich zu den *in situ* Gemeinschaften herstellen zu können. Von 271 Plastik-Streifen wurde DNA extrahiert und für die Sequenzierung vorbereitet. Für alle DNA-Proben des *in vitro* Biofilm-Experiments wurden die 16S rRNA-Gene (V3-V4-Region) sequenziert.

Parallel zu den Substrat-Experimenten und *in vitro* Biofilm-Experimenten wurden bakterielle Stämme von den *in situ* und *in vitro* erzeugten Biofilmen isoliert. Es fanden mehrere Methoden Anwendung, darunter die Verwendung von Medien unterschiedlicher Nährstoffzusammensetzung und Salinität, sowie Ansätze in Verdünnungsreihen und direktes Ausplattieren von Biofilm-Proben. Es konnten 1325 bakterielle Stämme isoliert werden. Die 16S rRNA-Gene aller isolierten Stämme wurden mindestens partiell sequenziert und die nächsten Verwandten mittels BLAST bestimmt. Von den isolierten Stämmen zeigten ~7% nächste Verwandtschaft zu pathogenen und potentiell pathogenen Organismen, die mittels TRBA466 zugeordnet werden konnten. Den Großteil der isolierten Bakterien bildeten Alpha- und Gamma-Proteobakterien, gefolgt von Flavobakterien. Auf Grund der Informationen der partiellen 16S-rRNA-Sequenzen gehören über 90% der isolierten Stämme mindestens einer neuen Art an. Es konnten andere Bakterien von Plastik isoliert werden als von Holz. Allerdings hatte die Oberfläche weniger Effekt auf den Isolations-Erfolg, als die Nährstoff-Komposition und Konzentration der Medien, sowie der Ursprung (Standort) des Biofilms.

(III) Einschätzung gesundheitlicher Risiken für Ostseeanrainer durch Mikroplastik als Vektor pathogener Mikroorganismen

In situ 16S und 18S rRNA Gen- sowie Metagenom/-proteom Analysen von Biofilmen auf MP, Holz, und Umweltpartikeln entlang des Umweltgradienten im Bereich der Warnow ergaben

keine außergewöhnliche Anreicherung von pathogenen Mikroorganismen oder deren Funktionen auf synthetischen Polymeren. Es wurde daher der Frage nachgegangen, ob die bakterielle Gemeinschaft auf MP während einer Darmpassage durch die marine Schlüsselorganismen *Arenicola marina* und *Mytilus edulis* nachhaltig verändert wird und sich potentiell pathogene Darmbakterien auf MP etablieren können. Dabei zeigte sich, dass die bakteriellen Gemeinschaften auf PS, Glas und in den natürlichen Faeces von *A. marina* nach Durchlaufen des Verdauungstraktes ähnlicher waren als davor, besiedelt mit einigen typischen Sedimentorganismen. Die Gemeinschaften veränderten sich auch auf den ausgeschiedenen PS- sowie Glaspartikeln nach 24-stündiger Inkubation in Ostseewasser. Es konnte keine Anreicherung von potentiell pathogenen Bakterien auf PS weder nach Durchlaufen des Verdauungstraktes von *A. marina* noch in Nachinkubationen nachgewiesen werden. Jedoch zeigte sich eine substratspezifische Besiedlung durch das Oceanospirillum *Amphritea* sp., welches ausschließlich in den PS-Ansätzen, und dort in sehr hohen relativen Abundanzen, detektiert werden konnte. Auch in PA- sowie Chitin-assoziierten Biofilmgemeinschaften wurde nach Durchlaufen des Verdauungstraktes von *M. edulis* keine Anreicherung von potentiell pathogenen Bakterien nachgewiesen. Es fanden sich kaum Unterschiede zwischen den bakteriellen Gemeinschaften auf PA, Chitin, natürlichen Partikeln und den Faeces. Auch hier konnte eine hohe relative Abundanz von einem nahen Verwandten des Oceanospirillum *Neptunomonas* sp. auf PA detektiert werden.

Im Vergleich zu natürlichen Partikeln lässt sich zusammenfassen, dass für das in MikrOMIK verwendete MP kein erhöhtes Potential als Vektor für pathogene Mikroorganismen abgeleitet werden konnte. Ein Vergleich mit der international erschienenen Literatur erhärtet diese Schlussfolgerung (Oberbeckmann & Labrenz, 2019). Folglich sind die gesundheitlichen Risiken für Ostseeanrainer durch MP als Vektor pathogener Mikroorganismen als gering einzustufen. Es gibt aber Taxa, die Plastik spezifisch besiedeln, auch der Gentransfer, bzw. Gene die typisch für anthropogene Umwelteinflüsse sind, können auf MP signifikant erhöht sein. Zudem ist in den von MikrOMIK untersuchten Ökosystemen MP z. T. in hohen Konzentrationen gefunden worden, mit noch nicht abzusehenden Folgen für das aquatische Nahrungsnetz. Hier ist weiterer Forschungsbedarf gegeben. Konsequenterweise sind aus MikrOMIK heraus, über eine erfolgreiche Verstetigung des Netzwerkes, bereits Folgevorhaben ange laufen, welche die Eigenschaften von MP von einem Ostseeinzugsgebiet, über das Ästuar in die gesamte Ostsee untersuchen (inkl. Ökotoxikologie und Monitoringansätze):

- BONUS MICROPOLL, Juli 2017-Juni 2020 (Projektleitung: IOW; Partner IPF, AWI). Ziel: Mehrstufige Bewertung von MP und damit verbundenen Schadstoffen in der Ostsee.
- BMBF-FONA MicroCatch_Balt, August 2017-Juli 2020 (Projektleitung: IOW; Partner IPF). Ziel: Analyse von MP Quellen und Senken von Warnow-Einzugsgebiet bis in die Ostsee. Es besteht hier eine sehr enge Vernetzung mit BMBF-FONA PLAWES (Projektleitung: Uni Bayreuth, AWI. Partner ICBM), welches das Einzugsgebiet der Weser abdeckt.
- BMBF-FONA PLASTRAT, September 2017 – August 2020 (Projektleitung: Universität der Bundeswehr München; Partner: IOW, IPF). Ziel: Entwicklung von Lösungsstrategien zur Verminderung von Einträgen von urbanem Plastik in limnische Systeme
- UBA - Verbundprojekt: Meeresmüll (Koordination: AquaEcology; Partner: IOW). Ziel: Folgebewertung und Etablierung einer Langzeitüberwachung der Belastung verschiedener Meeresbereiche und Biota durch Meeresmüll.
- ERA.Net RUS -Verbundprojekt: BalticLitter (Koordination: Shirshov Institute of Oceanology of Russian Academy of Sciences (Atlantic Branch), Kaliningrad; Partner: IOW). Ziel: Entwicklung und Test von Monitoringmethoden für Meeresmüll mit Fokus auf die inneren Küstengewässer der Ostsee.
- Zudem wurde im Bereich Ausbildung über das vom Land Mecklenburg-Vorpommern geförderte Projekt „PlasticSchool“ (<https://plasticschool.de>) Lehrmaterialien für den Schulunterricht erstellt.

Stellungnahme, ob Ergebnisse des Vorhabens wirtschaftlich verwertbar sind und ob eine solche Verwertung erfolgt oder zu erwarten ist; Angaben zu möglichen Patenten oder Industriekooperationen

Aus MikrOMIK hat sich für die Entwicklung und Produktion von Si-Filtern für die MP-Analyse eine Kooperation mit dem IZM ergeben. Der Si-Filter wurde bereits von mehreren Interessenten angefragt. Die Inkubatoren aus dem Inkubationsexperiment bzw. ihr Konzept wird weiter verwendet und auch in anderen Projekten/Ländern angewandt. Ansonsten wird von keiner wirtschaftlichen Verwertbarkeit oder Patenten ausgegangen.

Angabe der Beiträge von möglichen Kooperationspartnern im In- und Ausland, die zu den Ergebnissen des Vorhabens beigetragen haben

Zusätzlich zu den Projektmitgliedern haben folgende Wissenschaftler konkret zum Vorhaben beigetragen: Keilor Rojas-Jimenez, Ester Maria Eckert, Andrea Di Cesare, Diego Fontaneto, Gianluca Corno und Uli Klümper (siehe Autoren in der Publikationsliste). Die Arbeitsgruppe Massenspektrometrie (Dörte Becher) des Instituts für Mikrobiologie der Universität Greifswald hat massenspektrometrische Messungen zum Projekt beigetragen.

Marie Therese Kettner wurde für einen ein-monatigen Forschungsaufenthalt in Italien (für Experiment B) finanziell unterstützt durch die COST-European Cooperation in Science and Technology, COST Action ES1403: New and emerging challenges and opportunities in wastewater reuse (NEREUS).

Durch eine Kooperation von G. Schernewski mit der Universität Klaipeda, Litauen, wurden vergleichende Studien an litauischen Stränden ermöglicht.

Am IPF wurden Modellpartikel aus den Polymeren PE und PS hergestellt und diese für verschiedene Teilprojekte innerhalb von MikrOMIK (Inkubationsexperimente, Substrate für Bakterienwachstum etc.) eingesetzt. Es wurden zylindrische Pellets ($1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$) sowie Rechteckstäbe ($127 \times 12,7 \times 0,8 \text{ mm}^3$) im Spritzgussverfahren hergestellt. Außerdem wurden die PE- und PS-Granulate ($5 \times 5 \times 5 \text{ mm}^3$) zu Fragmenten in unterschiedlichen Größenbereichen gemahlen. Eine besondere Herausforderung war die weitere Zerkleinerung von Plastikpartikeln zu einer Größe $< 5 \text{ mm}$, ohne die Eigenschaften des Plastiks zu verändern. Letztendlich stellte sich die Zerkleinerung von Industriepellets mittels Ultrazentrifugal- und Kryomühle als geeignet heraus. Die Zerkleinerung wurde von der BTU Cottbus durchgeführt.

In Kooperation mit der Micromod Partikeltechnologie GmbH wurde eine Fluoreszenzbeschichtung des gemahlene PS mit den Farbstoffen Rhodamin und Fluorescein erprobt.

Hochdurchsatz-Sequenzierungen wurden am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene (Universität Rostock, AG Kreikemeyer) durchgeführt.

Qualifikationsarbeiten, die im Zusammenhang mit dem Vorhaben entstanden sind

Promotion

1. Arias-Andrés, Maria (Abschluss voraussichtlich Mitte 2019): Microbial gene exchange on microplastic particles. Universität Potsdam
2. Gebhardt, Christopher (Abschluss voraussichtlich Mitte 2019): Der Einfluß von Bioturbation auf den Transport und Verbleib von Plastikpartikeln am Meeresboden. Universität Rostock.

3. Käßler, Andrea (2018): Charakterisierung von Mikroplastik in marinen Proben: Möglichkeiten und Grenzen der FTIR- und Raman-Spektroskopie. Technische Universität Dresden.
4. Kesý, Katharina (Abschluss voraussichtlich Mitte 2019): Influence of higher organisms (*Copepods*, *Mytilus*, *Arenicola*, *Homo sapiens*) on the composition of microbial biofilms on microplastic. Universität Rostock.
5. Kettner, Marie Therese (2018): Microbial colonization of microplastic particles in aquatic systems. Universität Potsdam

Diplom

1. Mathias Pfützner (2016): Weiterentwicklung der Probenaufbereitung von marinen Proben zur Identifizierung und Quantifizierung von Mikroplastik. Technische Universität Dresden

Master

1. Michael Beckers (2017): Bioturbation von Plastikpartikeln durch *Hediste diversicolor* (O.F. Müller, 1776). Universität Rostock. Diese Arbeit wurde am 07.12.2017 mit dem Fakultätspreis für die beste Arbeit der MNF im Fachbereich Biologie dieses Jahrganges ausgezeichnet.
2. Florian Krause (2017). Phylogenetische Zusammensetzung mikrobieller Biofilme auf Farbpartikeln, isoliert aus Sediment des "Alten Stroms" (Fluß Warnow, Deutschland). Universität Rostock
3. Daniel Bartosik (2017): Metaproteom-Analysen von Mikroplastik-assoziierten Biofilmen aus der Ostsee. Universität Greifswald
4. Oliver Biniash (2016): Identification of microplastics isolated from sediment traps of the Arkona Basin and the Gotland Deep. Universität Rostock
5. Mirco Haseler (2015): Marine Litter monitoring along sandy beaches of the Baltic Sea. Ostfalia Hochschule für angewandte Wissenschaften
6. Claudia Weder (2015): Meeresmüll an deutschen Ostseestränden: Neue methodische Ansätze, Quantifizierung sowie ökologische und praktische Konsequenzen. Hochschule Zittau/Görlitz
7. Franziska Klaeger (2014). Structure, composition and stability of biofilm communities on plastic particles after passing through the digestive tract of *Mytilus edulis* and *Arenicola marina*. Universität Rostock
8. Alexander Hentzsch (2013). Composition of microbial biofilms on microplastic particles after passage through the digestion tract of *Mytilus edulis*. Universität Rostock
9. Katharina Kesý (2013). Composition of microbial biofilms on microplastic particles after passage through the digestion tract of *Arenicola marina*. Universität Rostock

Bachelor

1. Nicole Stollberg (2016). Identification of microplastics > 500 µm in Warnow sediments. Universität Rostock
2. Philipp-Konrad Schätzle (2016): Transport von Plastikpartikeln durch *Arenicola marina*. Universität Rostock
3. Leonie Bushbeck (2016): A monitoring strategy for large micro- and meso- plastic waste at Baltic beaches Brandenburgische Technische Universität

4. Felix Müller (2015). Quantification of *Amphritea* sp. in microplastic biofilms using real-time PCR. Universität Rostock
5. Anne Breznikar (2015). Quantification of "Black particles" in different areas of the Baltic Sea. Universität Rostock
6. Reichardt, Aurelia M. (2015): Sinking velocity of new and aged microplastic particles. Universität Rostock
7. Florian Krause (2014). Composition of brackish microbial biofilms on microplastic. Universität Rostock
8. Julius Degenhardt (2014). Stability of brackish microbial biofilms on microplastic particles. Universität Rostock
9. Oliver Biniash (2014). Identification of microplastic originating from sediments traps of the Arkona basin. Universität Rostock
10. Stephanie Mothes (2014). Structure and composition of biofilm communities on plastic particles after passing through the digestive tract of *Mytilus edulis*. Universität Rostock

Liste der Publikationen aus dem Vorhaben

1. Oberbeckmann, S., Labrenz, M. (2019). Marine microbial assemblages on microplastics: diversity, adaptation, and role in degradation. *Annu Rev Mar Sci*, in press
2. Tagg, A. S., Oberbeckmann, S., Fischer, D., Kreikemeyer, B., Labrenz, M. (2019). Paint particles are a distinct and variable substrate for marine bacteria. *Mar Poll Bull*, in press
3. Kaiser, D., Estelmann, A., Kowalski, N., Glockzin, M., Waniek, J. J. (2019). Sinking velocity of sub-millimeter microplastic. *Mar Poll Bull*, 139, 214-220
4. Kettner, M. T., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Grossart, H.-P. (2019). The eukaryotic life on microplastics in brackish ecosystems. *Front Microbiol*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00538>.
5. Gebhardt, C., Forster, S. (2018). Size-selective feeding of *Arenicola marina* promotes long-term burial of microplastic particles in marine sediments. *Environ Poll*, 242, 1777-1786
6. Käßler, A., Fischer, M., Scholz-Böttcher, B. M., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Fischer, D., Eichhorn, K.-J., Voit, B. (2018). Comparison of μ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments. *Anal Bioanal Chem*, <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1185-5>.
7. Tagg, A. S., Labrenz, M. (2018). Closing microplastic pathways before they open: A model approach. *Environ Sci Technol*, 52, 3340–3341; DOI: 10.1021/acs.est.8b00961 (viewpoint paper)
8. Arias-Andres, M., Kettner, M. T., Miki, T., Grossart, H.-P. (2018a). Microplastics: New substrates for heterotrophic activity contribute to altering organic matter cycles in aquatic ecosystems. *Sci Total Environ* 635:1152-1159.
9. Oberbeckmann, S., B. Kreikemeyer, Labrenz, M. (2018). Environmental factors support the formation of specific bacterial assemblages on microplastics. *Front Microbiol*, 8, 2709; doi: 10.3389/fmicb.2017.02709.

10. Haseler, M., Schernewski, G., Balciunas, A., Sabaliauskaite, V. (2018). Monitoring methods for large micro- and meso-litter and applications at Baltic beaches. *J Coast Conserv*, 22: 27–50, DOI 10.1007/s11852-017-0497-5
11. Arias-Andres, M., Klümper, U., Rojas-Jimenez, K., Grossart, H.-P. (2018b). Microplastic pollution increases gene exchange in aquatic ecosystems. *Env Poll* 237:253-261.
12. Eckert, E. M-, Di Cesar, A., Kettner, M. T., Arias-Andres, M., Fontaneto, D., Grossart, H.-P., Corno, G. (2018). Microplastics increase impact of treated wastewater on freshwater microbial community. *Env Poll* 234:495-502.
13. Kaiser, David, Kowalski, Nicole, Waniek, Joanna, J. J., (2017): Effects of biofouling on the sinking behavior of microplastics. *Environ Res Lett* **12** 124003
14. Oberbeckmann, S., K. Keszy, B. Kreikemeyer, Labrenz, M. (2017). Hitchhiking microorganisms on microplastics in the Baltic Sea. In: MICRO 2016: fate and impact of Microplastics in marine ecosystems: from coastline to the open sea. Amsterdam: Elsevier: 72, 978-012-812271-6
15. Kettner, M. T., Rojas-Jimenez, K., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Grossart, H.-P. (2017) Microplastics alter composition of fungal communities in aquatic ecosystems. *Env Microbiol* 19, 4447-4459
16. Keszy, K., Hentzsch, A., Klaeger, F., Oberbeckmann, S., Mothes, S., Labrenz, M. (2017). Fate and stability of polyamide-associated bacterial assemblages after their passage through the digestive tract of the blue mussel *Mytilus edulis*. *Mar Poll Bull* 125, 132–138
17. Schernewski, G., Balciunas, A., Gräwe, D., Gräwe, U., Klesse, K., Schulz, M., Wesnigk, S., Fleet, D., Haseler, M., Möllman, N., Werner, S. (2018). Beach macro-litter monitoring on southern Baltic beaches: Results, experiences and recommendations. *J Coast Conserv*, 22: 5–25, DOI 10.1007/s11852-016-0489-x
18. Keszy, K., Oberbeckmann, S., Müller, F., Labrenz, M. (2016). Polystyrene influences bacterial assemblages in Arenicola-marina-populated aquatic environments in vitro. *Env Poll* 219, 219-227.
19. Kirstein, I. V., Kirmizi, S., Wichels, A., Garin-Fernandez, A., Erler, R., Löder, M., Gerdts, G. (2016). Dangerous hitchhikers? Evidence for potentially pathogenic *Vibrio* spp. on microplastic particles. *Mar Environ Res*, doi: 10.1016/j.marenvres.2016.07.004.
20. Käßpler A, Fischer, D, Oberbeckmann, S., Schernewski, G., Labrenz, M., Eichhorn, K.-J., Voit, B (2016). Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Anal Bioanal Chem*, DOI 10.1007/s00216-016-9956-3
21. Kowalski, N., Reichardt, A. M., Waniek, J. J. (2016). Sinking rates of microplastics and potential implications of their alteration by physical, biological, and chemical factors. *Mar Poll Bull* 109:310-319.
22. Gräwe, D., M. Haseler, G. Schernewski (2016). Meeresmüll an deutschen Ostsee-stränden. *Wasser u. Abfall* 18: 12-17
23. Käßpler A, Windrich F, Löder MG, Malanin M, Fischer D, Labrenz M, Eichhorn KJ, Voit B. (2015). Identification of microplastics by FTIR and Raman microscopy: a novel silicon filter substrate opens the important spectral range below 1300 cm⁽⁻¹⁾ for FTIR transmission measurements. *Anal Bioanal Chem* **407**, 6791-6801
24. Oberbeckmann, S., Löder, M. G. J., Labrenz, M. (2015). Marine microplastic-associated biofilms – a review. *Environ Chem*, 12, 551-562. <http://dx.doi.org/10.1071/EN15069>.

25. Fischer, D.; Käppler, A.; Eichhorn K.-J.: Identification of Microplastics in the Marine Environment by Raman Microspectroscopy and Imaging. American Laboratory (2015) <http://www.americanlaboratory.com/914-Application-Notes/173574-Identification-of-Microplastics-in-the-Marine-Environment-by-Raman-Microspectroscopy-and-Imaging/>
26. Labrenz M, Duckat R, Thorn M, Hollaender K. Microplastics in the Sea. GAIA (23/3), 281– 283 (2014)

Darstellung der Maßnahmen zur Sicherung und Verfügbarmachung der im Vorhaben produzierten Forschungsdaten

Meta- und Labordaten aus dem Projekt sind bei den individuellen Partnern sowie der IOW-Datenbank IOWDB hinterlegt. Die aus dem Projekt hervorgegangenen Nukleotid- und Protein-Sequenzen werden zur Veröffentlichung bei NCBI öffentlich hinterlegt (ist genauer den einzelnen Veröffentlichungen zu entnehmen).

Pressemitteilungen, Medienberichte, öffentlichkeitswirksame Aktivitäten

Erklärtes Ziel von MikrOMIK war, über die Verbindung von MP als Träger bestimmter mikrobieller Funktionen, Populationen, und ggf. Infektionsmöglichkeiten die Grundlage für Stellungnahmen zu aktuellen sozio-ökologischen Problemen des Ostseeraums zu liefern. Dies insbesondere, weil ein weiterer Anstieg der Plastikemissionen ins Meer, Klimawandel und stetiges Wachstum des Tourismus im Ostseeraum das Potential für Infektionsrisiken im Küstenraum erhöhen. MikrOMIK sollte hier wissenschaftlich fundierte Grundlagen zur Einschätzung des Gefährdungspotentials und sozio-ökonomischen Gewichts von MP für Fischerei und Tourismus an der deutschen Ostseeküste schaffen. Dieses Netzwerk sollte über den Projektrahmen hinaus als potenter Ansprechpartner für die Verbreitung von pathogenen Mikroorganismen im marinen Milieu und auch bei akuten Problemen zur Verfügung stehen.

Dieses Ziel wurde durch Pressemitteilungen, die Beantwortung zahlreicher Medienanfragen und weitere öffentlichkeitswirksame Aktivitäten von MikrOMIK-Expert*innen erreicht. So wurden zwischen 04/2014 und 06/2018 bundesweit mehr als 100 Medienberichte in allen Medienarten (Print, Online, Hörfunk, TV) erfasst, die Mikroplastik und seinen Einfluss auf mikrobielle Lebensgemeinschaften im Meer thematisieren und sich dabei auf MikrOMIK-Forschung berufen. Zu den bekanntesten Medien gehörten ARTE TV, WDR Fernsehen, Deutsche Welle, Spiegel online, Süddeutsche Zeitung, Stuttgarter Zeitung und Hörzu. Damit sind die MikrOMIK-Wissenschaftler*innen nicht nur in der Wissenschaft sondern auch – zumindest in Deutschland – in der allgemeinen Öffentlichkeit als zu den führenden Experten in diesem Themenfeld gehörend etabliert. Exemplarisch umfassten die Mitteilungen bzw. Aktivitäten:

Pressemitteilungen:

- **1.4.2014:** Krankheitserreger Huckepack? – Neues Leibniz-Netzwerk MikrOMIK widmet sich dem Gefährdungspotential von Mikroplastik (<https://bit.ly/2yteJhu>)
- **17.8.2015:** Von Mikroplastik und Mikroben: IOW leitet Ostsee-Expedition des Forschungsschiffs POSEIDON (<https://bit.ly/2K1OoZi>)
- **1.8.2016:** Gewicht ist nicht alles: Partikelform beeinflusst Sinkgeschwindigkeit von Mikroplastik (<https://bit.ly/2thkcSG>)
- **14.3.2017:** Forschung macht Schule: Die „PlasticSchool“ geht an den Start (<https://bit.ly/2nBf8nB>)
- **21.2.2018:** Neue IOW-Studie: Birgt Mikroplastik zusätzliche Gefahren durch Besiedlung mit schädlichen Bakterien? (<https://bit.ly/2HwHhXM>)

Aktivitäten (ausgewählt):

- Betreuung des Jugend-forscht-Projektes „Die unsichtbare Gefahr: Mikroplastik – die Auswirkungen unseres Abfalls am Beispiel *Hediste diversicolor* (<https://bit.ly/2K92Gug>). In Kooperation mit dem BiSE-Institut (Bildungs-Service für Europa) wurde seit Sommer 2014 von den Doktoranden Christopher Gebhardt (Uni Rostock) und Martin Albrecht (Uni Rostock, Institut für Biowissenschaften, AG Angewandte Ökologie und Phykologie) eine dreiköpfige Schülergruppe des Innerstädtischen Gymnasiums Rostock betreut, die sich mit der Auswirkung von MP auf Mikroalgen sowie einem möglichen MP-Transport durch *H. diversicolor* befassten. Die Ergebnisse des Projektes wurden im Jugend-Forscht-Wettbewerb 2017 vorgestellt. Das Projekt wurde wie folgt ausgezeichnet:
 - Landessieger Mecklenburg-Vorpommern 2017 im Themengebiet Biologie
 - Sonderpreis der Ernst A. C. Lange-Stiftung, Bremen (Jugend-Forscht-Bundeswettbewerb 2017, Erlangen)
- Verwertung von MikrOMIK-Erkenntnissen bei der Entwicklung des IOW-Schülerlabors MariSchool (<https://marischool.de>)
- Vorstellung von MikrOMIK-Expertise im Rahmen des Journalisten-Workshops „RADO – Ran an die Ostsee“ (<https://ran-an-die-ostsee.de>)
- Präsentation von MikrOMIK-Erkenntnissen bei öffentlichen Veranstaltungen wie den Ostseetagen 2014 und 2016 (analog zum kommenden Ostseetag 2018 <https://www.ostseetag.info>) und dem MV-Tag 2018 (<http://www.mvtag2018.de>)
- Präsentation von MikrOMIK-Erkenntnissen in besonderen Veranstaltungsformaten wie „Leibniz im Bundestag 2017“ (analog zur Vorjahresveranstaltung <https://bit.ly/2M4BI9Z>) und der I.C.E Expedition 2017 von Arved Fuchs (<https://bit.ly/2gPV7eq>)

Literatur außerhalb von MikrOMIK

- ANDRADY, A. L. (2011) Microplastics in the marine environment. *Mar Poll Bull* **62** 1596-1605
- BOERGER, C. M., LATTIN, G. L., MOORE, S. L. & MOORE, C. J. (2010) Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Mar Poll Bull* **60** 2275-2278
- BRENNHOLT N., et al. (2010) Pathogene Vibriolen in der marinen Umwelt – Bericht Workshop BfG 14./15. April 2010 *Umweltmedizin in Forschung und Praxis* **15**:343-351
- BURKHOLDER J.A.M., MARSHALL H.G. (2012) Toxigenic *Pfiesteria* species-Updates on biology, ecology, toxins, and impacts *Harmful Algae* **14** 196-230
- COLE M., LINDEQUE P., HALSBAND C., GALLOWAY T.S. (2011) Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Mar Poll Bull* **62** 2588-2597
- COZAR, A., ET AL. (2014) Plastic debris in the open ocean. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **111** 10239-10244
- DI CESARE, A., ECKERT, E.M., D'URSO, S., BERTONI, R., GILLAN, D.C., WATTIEZ, R., CORNO, G. (2016) Co-occurrence of integrase 1, antibiotic and heavy metal resistance genes in municipal wastewater treatment plants. *Water Res* **94** 208-214
- DUBAISH F., LIEBEZEIT G. 2013. Suspended microplastics and black carbon particles in the Jade System, Southern North Sea. *Water Air Soil Pollut* **224**:1352. DOI 10.1007/s11270-11012-11352-11279.
- DUIS, K., COORS, A. (2016) Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environ Sci Eur.* **28**(1): 2. doi: 10.1186/s12302-015-0069-y

- ERIKSEN, M., LEBRETON, L. C. M., CARSON, H. S., THIEL, M., MOORE, C. J., BORERRO, J. C., GALGANI, F., RYAN, P. G., REISSER, J. (2014) Plastic pollution in the world's oceans: More than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at Sea. *Plos One* **9** e111913.
- GLOCKZIN M., POLLEHNE F., DELLWIG, O. (2014) Stationary sinking velocity of authigenic manganese oxides at pelagic redoxclines, *Mar Chem* **160** 67-74
- GREEN, D.S., BOOTS, B., SIGWART, J.,JIANG, S., ROCHA, C. (2016) Effects of conventional and biodegradable microplastics on a marine ecosystem engineer (*Arenicola marina*) and sediment nutrient cycling. *Environ Pollut* **208** 426–434
- HOELLEIN, T., ROJAS, M., PINK, A., GASIOR, J., AND KELLY, J. (2014) Anthropogenic litter in urban freshwater ecosystems: distribution and microbial interactions. *PLoS One* **9** e98485
- IMHOF, H. K., LAFORSCH, C., WIESHEU, A. C., SCHMID, J., ANGER, P. M., NIESSNER, R. & IVLEVA, N. P. (2016) Pigments and plastic in limnetic ecosystems: A qualitative and quantitative study on microparticles of different size classes. *Water Res* **98** 64-74
- IMHOF, H. K., SCHMID, J., NIESSNER, R., IVLEVA, N. P. & LAFORSCH, C. (2012) A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments. *Limnol Oceanogr: Methods* **10** 524-537
- KÖHLER A. (2010) Cellular fate of organic compounds in marine invertebrates. *Comparative Biochem Physiol - Part A: Molecular & Integrative Physiology* **157** S8.
- KRUEGER, M.C., HARMS, H., AND SCHLOSSER, D. (2015) Prospects for microbiological solutions to environmental pollution with plastics. *Appl Microbiol Biotechnol* **99** 8857–8874
- LAW, K.L., ET AL. (2010) Plastic accumulation in the North Atlantic subtropical gyre. *Science* **329** 1185-1188
- LUSHER, A. L., MCHUGH, M. & THOMPSON, R. C. (2013) Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Mar Poll Bull* **67** 94-99
- MINTENIG, S.M., I. INT-VEEN, M.G.J. LÖDER, S. PRIMPKE, G. GERDTS (2017) Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging. *Water Res* **108** 365-372
- OBERBECKMANN, S., OSBORN, A.M., DUHAIME, M.B. (2016) Microbes on a bottle: substrate, season and geography influence community composition of microbes colonizing marine plastic debris. *Plos One* e0159289.
- PAFFENHÖFER G.A. & VAN SANT K.B. (1985) The feeding response of marine planktonic copepods to quantity and quality of particles. *Mar Ecol Progr Ser* **27** 55-65
- PRUZZO C., GALLO G., & CANESI L. (2005) Persistence of vibrios in marine bivalves: the role of interactions with haemolymph components. *Environ Microbiol* **7** 761–772
- RUMMEL, C.D., LÖDER, M.G.J., FRICKE, N.F., LANG, T., GRIEBELER, E-M., JANKE, M., GERDTS, G. (2015) Plastic ingestion by pelagic and demersal fish from the North Sea and Baltic Sea. *Mar Poll Bull* **102** 134-141
- SOCHARD M.R., WILSON D.F., AUSTIN B., COLWELL R.R. (1979) Bacteria associated with the surface and gut of marine copepods. *Appl Environ Microbiol* **37** 750-759
- TURNER J.W., GOOD B., COLE D., LIPP E.K. (2009) Plankton composition and environmental factors contribute to *Vibrio* seasonality. *ISME J* **3** 1082–1092
- VALDEMARSEN, T., WENDELBOE, K., EGELUND, J.T., KRISTENSEN, E., FLINDT, M.R. (2011) Burial of seeds and seedlings by the lugworm *Arenicola marina* hampers eelgrass (*Zostera marina*) recovery. *J Exp Mar Bio Ecol* **410** 45–52
- VAN CAUWENBERGHE, L., CLAESSENS, M., VANDEGEHUCHTE, M.B., JANSSEN, C.R. (2015) Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environ Poll* **199** 10–17
- ZETTLER, E.R., MINCER, T.J., AMARAL-ZETTLER, L.A. (2013) Life in the "Plastisphere": Microbial communities on plastic marine debris. *Environ Sci Technol* **47** 7137-7146