

Abschlussbericht CONMAR-Ecology - AWI

Zuwendungsempfänger: AWI	Förderkennzeichen: 03F0912B
Vorhabenbezeichnung:	CONMAR-Ecology - CONcepts for conventional MARine MUnition Remediation in the German North and Baltic Sea – Gesundheits-effekte von STVs auf marine Modellorganismen
Laufzeit des Vorhabens:	01.12.2021-30.11.2024
Berichtszeitraum	01.12.2021-30.11.2024



Munitionskisten mit Seesternen in der Lübecker Bucht (© Jana Ulrich @GEOMAR)

Inhalt

Zusammenfassung.....	3
Summary	4
1) Aufzählung der wichtigsten wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ergebnisse	5
AP 3: Verteilung von Munitionsobjekten und STVs im Feld, Untersuchung von Umwelteinflüssen auf chemische Quellstärken, Alterungsprozesse und Umlagerung von Munitionsobjekten.....	5
Task 3.1: Kartierung von Munitionsverklappungsgebieten und Referenzflächen; Dichte/Zustand/Migration von Munition und geologische Charakterisierung	5
AP 4: Ökologische und biologische Untersuchungen in Referenz- und Munitions-Versenkungsgebieten	5
Task 4.1 Gebietsauswahl und Benthosuntersuchungen.....	5
Task 4.2 Habitatkartierung und -modellierung	5
Task 4.3: STVs in marinen Organismen – Gesundheitsbewertung und Vergleich mit Referenzgebieten	7
Task 4.4 Feldexperimente: Biomonitoring von STVs mit Miesmuscheln	9
Task 4.5 Laborexposition: Auswirkung von STVs auf den Metabolismus und die Gesundheit.....	11
Task 4.6: STV-Transport zwischen marinen Arten und trophischen Ebenen – Nahrungsnetzanalyse	13
Task 4.7: Auswirkungen des Klimawandels auf die STV-Belastung der Fauna.....	13
AP 8: Projektkoordination und Missionsmitgestaltung	15
Task 8.3: Öffentlichkeitsarbeit ermöglichen und unterstützen.....	15
2) Vergleich des Vorhabenstandes mit der ursprünglichen Arbeits-, Zeit- und Ausgabenplanung	17
3) Haben sich die Aussichten für das Erreichen der Vorhabensziele gegenüber dem ursprünglichen Antrag geändert.....	17
4) Sind inzwischen von dritter Seite Ergebnisse bekannt geworden, die für die Durchführung des Vorhabens relevant sind?	17
5) Sind oder werden Änderungen in der Zielsetzung notwendig?	17
6) Fortschreibung des Verwertungsplans.....	17

Zusammenfassung

Im Teilprojekt CONMAR-Ecology des CONMAR Projekts der DAM Mission sustainMare wurden biologische Effekte von austretenden /gelösten-Sprengstoff-typischen-Verbindungen (STV) auf marine Organismen untersucht, die in Verklappungsgebieten leben. Ziel war es Organismen aus verschiedenen repräsentativen trophischen Stufen zu untersuchen. Insbesondere bei Muscheln und Fischen werden darüber hinaus in enger Zusammenarbeit mit den Partnern des Gesamtvorhabens die Stoffwechselwege von STVs genauer untersucht. Ein weiterer Schwerpunkt bei Muscheln und Fische war die Korrelation der identifizierten Gewebekonzentrationen in Labor- und Feldversuchen mit Gesundheitsparametern der Tiere. Im Fokus standen dabei STV-Konzentrationen im Bereich der gemessenen Umweltkonzentrationen, wie sie in den Verklappungsgebieten im Wasser und in den Organismen gemessen werden. Zusätzlich kooperierte das AWI bei der Frage ob und wenn ja wie der mögliche Transport von STVs durch die Nahrungskette funktioniert.

Beantragung, Planung und Durchführung von FS Heincke Expeditionen in die deutsche Nordsee: Im Rahmen des CONMAR Projektes wurden zwei Heincke Expeditionen (HE622 und HE635) mit den Projektpartnern zusammen geplant, vom AWI beantragt und unter AWI Leitung mit den Partnern durchgeführt. Auf den Ausfahrten wurden Daten und Proben für das Konsortium generiert und Versuche zur TNT Degradation durchgeführt. Die Ausfahrten waren Grundlage für eine erste systematische Erfassung der Belastung der südlichen Nordsee durch Munitionsaltlasten.

Felduntersuchungen an Fischen zur Bewertung der biologischen Effekte gelöster Explosivstoffe: Im Rahmen der genannten FS Heincke Expeditionen wurden mit Grundschleppnetzen bodenlebende Fische am Rande der bekannten Verklappungsgebiete in der Nordsee gefischt und mit Hilfe eines Multi-Biomarker Ansatzes auf Gesundheitseffekte durch die Exposition mit gelösten Explosivstoffen untersucht. Dabei wurde eine erhöhte Anzahl von Fischen mit Leberanomalien rund um die Verklappungsgebiete im Vergleich zu einem unbelasteten Referenzgebiet festgestellt. Darüber hinaus konnten im Rahmen der Ausfahrten auch Proben zur Untersuchung von gelösten Explosivstoffen im Nahrungsnetz genommen werden. Dabei wurden Infauna-, Benthos- und verschiedene Fischarten beprobt. Die Auswertung dieser Untersuchungen ist jedoch noch nicht abgeschlossen.

Laboruntersuchung von Miesmuscheln: Miesmuscheln wurden im Labor verschiedenen Konzentrationen von gelösten TNT exponiert um anschließend die Verstoffwechslung des TNT und die Ausscheidung über die Zeit hin zu dokumentieren. Dabei wurde ersichtlich, dass das TNT im Miesmuschelgewebe verstoffwechselt wird und anschließend in einem Zeitraum von 8-12 Stunden ausgeschieden wird. Dabei findet eine Bio-konzentration aber keine Bio-Akkumulation der Explosivstoffe statt. Darüber hinaus wurden die Miesmuscheln in einem weiteren Versuch einer Kombination von runterschiedlichen TNT Konzentrationen und Temperaturen ausgesetzt. Dieser Versuch diente der Simulation von Klima bedingter Erwärmung und zeigte im Rahmen vorläufiger Ergebnisse, dass die Gesundheitseffekte von TNT und Temperatur synergistisch sind und die Organismen zusätzlichem Stress ausgesetzt sind.

Zusammenfassend hat das Projekt CONMAR-Ecology sämtliche Arbeitsbereiche erfolgreich bearbeitet. Einige Arbeiten und Auswertungen werden jedoch erst im Rahmen von Phase-II vollständige ausgewertet werden können.

Summary

In the CONMAR-Ecology subproject of the CONMAR project of the DAM mission sustainMare, biological effects of leaking / dissolved explosive-typical compounds (STV) on marine organisms living in dumping areas were investigated. The aim was to study organisms from different representative trophic levels. In addition, the metabolic pathways of STVs in mussels and fish in particular are being studied in more detail in close cooperation with the partners in the overall project. Another focus in mussels and fish was the correlation of the identified tissue concentrations in laboratory and field tests with the animals' health parameters. The focus here was on STV concentrations in the range of the measured environmental concentrations, as measured in the dumping areas in the water and in the organisms. In addition, the AWI cooperated on the question of whether and, if so, how the possible transport of STVs through the food chain works.

Application, planning and execution of FS Heincke expeditions to the German North Sea: Within the CONMAR project, two Heincke expeditions (HE622 and HE635) were planned together with the project partners, applied for by AWI and carried out under AWI leadership with the partners. During the expeditions, data and samples were generated for the consortium and experiments on TNT degradation were carried out. The cruises were the basis for the first systematic recording of the pollution of the southern North Sea.

Field studies on fish to assess the biological effects of dissolved explosives: During the aforementioned FS Heincke expeditions, bottom-dwelling fish were fished with bottom trawls at the edge of the known dumping areas in the North Sea and examined for health effects due to exposure to dissolved explosives using a multi-biomarker approach. An increased number of fish with liver abnormalities was found around the dumping areas compared to an unpolluted reference area. In addition, samples were also taken during the trips to investigate dissolved explosives in the food web. Infauna, benthos and various fish species were sampled. However, the evaluation of these investigations has not yet been completed.

Laboratory examination of mussels: mussels were exposed to various concentrations of dissolved TNT in the laboratory in order to subsequently document the metabolism of TNT and excretion over time. It became apparent that the TNT is metabolized in the mussel tissue and then excreted over a period of 8-12 hours. There is a bio-concentration but no bio-accumulation of the explosives. In addition, the mussels were exposed to a combination of different TNT concentrations and temperatures in a further experiment. This experiment served to simulate climate-induced warming and showed in preliminary results that the health effects of TNT and temperature are synergistic and that the organisms are exposed to additional stress.

In summary, the CONMAR-Ecology project has successfully completed all areas of work. However, some work and evaluations will only be able to be fully evaluated in Phase II.

1) Aufzählung der wichtigsten wissenschaftlich-technischen Ergebnisse und anderer wesentlicher Ergebnisse

Im Folgenden werden einzelne wichtige Ergebnisse zu den Arbeitspaketen (hiernach AP) von *CONMAR-Ecology* beschrieben. Das AWI war an allen Arbeitspaketen des CONMAR Projektes beteiligt, die wichtigsten Aufgaben wurden jedoch im Rahmen des AP3 mit der Planung und Durchführung der Schiffsexpeditionen und im Rahmen der AP4-Leitung mit Fokus auf die biologischen und ökologischen Untersuchungen durchgeführt. Auf erzielte Milestones und fertige Deliverables wird jeweils am Ende der Abschnitte verwiesen.

AP 3: Verteilung von Munitionsobjekten und STVs im Feld, Untersuchung von Umwelteinflüssen auf chemische Quellstärken, Alterungsprozesse und Umlagerung von Munitionsobjekten

Task 3.1: Kartierung von Munitionsverklappungsgebieten und Referenzflächen; Dichte/Zustand/Migration von Munition und geologische Charakterisierung

Aufgaben AWI im WP3/ Task 3.1:

- Beantragung von Ausfahrten für FK Uthörn und Antragstellung für Ausfahrten von FS Heincke
- Planung und Durchführung von Ausfahrten mit Fahrtleitung und Fahrtbericht Abfassung (M3.1-2, D3.1-1)
- Organisation der Untersuchungen und Probennahmen an Bord der AWI-Schiffe
- Zurverfügungstellung aller erhobener Daten und Proben
- Datenmanagement von Expeditionsdaten

AP 4: Ökologische und biologische Untersuchungen in Referenz- und Munitionsversenkungsgebieten

Task 4.1: Gebietsauswahl und Benthosuntersuchungen

Aufgaben AWI im WP4/ Task 4.1:

- Auswahl der Untersuchungsareale innerhalb der bekannten Munitionsversenkungsgebieten sowie Auswahl der Referenzgebiete
- Basierend auf den Ergebnissen zur Gebietsauswahl, werden entsprechende Ausfahrten geplant

Task 4.2: Habitatkartierung und -modellierung

Aufgaben AWI im WP4/ Task 4.2:

- Organisation der Untersuchungen und Probennahmen an Bord der AWI-Schiffe
- Zurverfügungstellung aller erhobener Daten und Proben
- Datenmanagement von Expeditionsdaten

Zu Task 3.1, 4.1 & 4.2: Im Rahmen des CONMAR Projektes wurden zwei Heincke Expeditionen (HE622 und HE635) beantragt, mit den Projektpartnern zusammen geplant und vom AWI unter Beteiligung der Partner durchgeführt (Abbildung 1). Auf den Ausfahrten wurden Wasser- und

Sedimentproben (GEOMAR) entsprechend geplanter Transekten durch die südliche Deutsche Bucht und rund um die bekannten Verklappungsgebiete genommen. Die Verklappungsgebiete wurden darüber hinaus mit Side-Scan-Sonar kartiert (GEOMAR) und auszugswise mit Hilfe von Unterwasser Magnetometern auch hinsichtlich Magnetanomalien untersucht. Im Anschluss wurde mit Schleppnetzen am Rande der Verklappungs- und in Referenzgebieten nach Plattfischen (*Limanda limanda*) gefischt. Diese wurden im Anschluss zur weiteren Untersuchung ans AWI verbracht bzw. kamen in die chemische Analytik nach Kiel (UKSH). Darüber hinaus wurde das Sediment von Munitions-Hotspots, wie Kriegswracks und Verklappungsgebiet, in der Deutschen Bucht auch auf die Zusammensetzung von Infauna und Makrozoobenthos untersucht (Senckenberg). (M3.1-2).

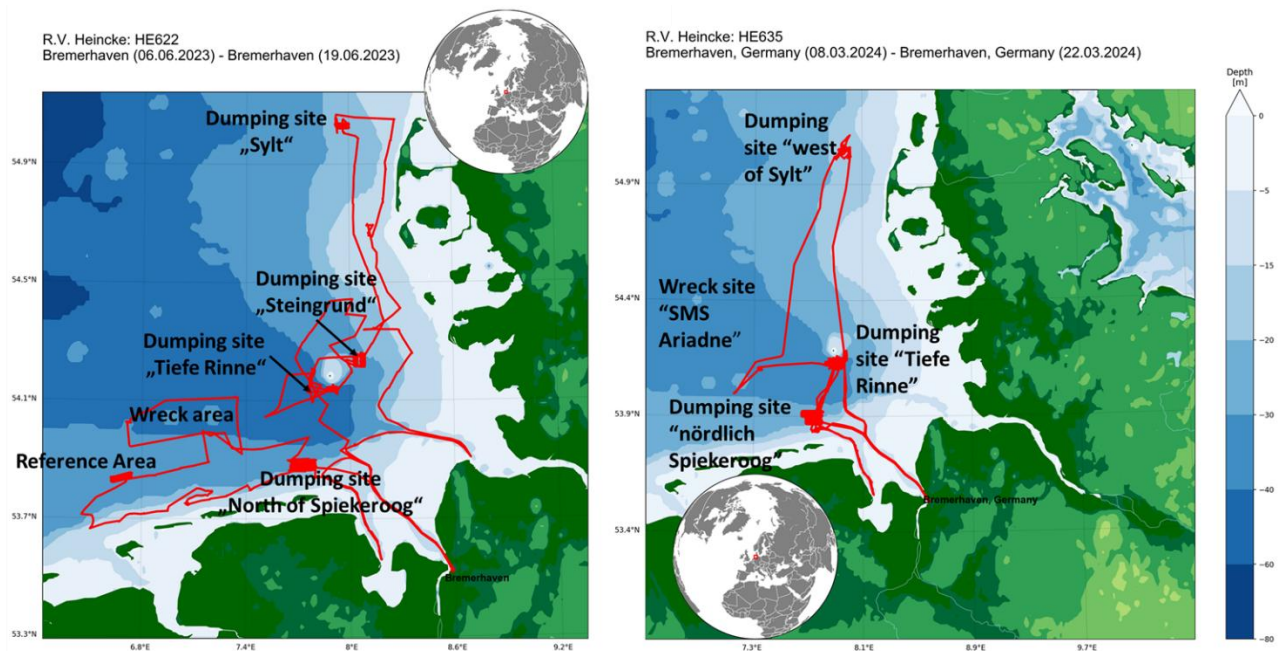


Abbildung 1: Master Tracks der beiden FS Heincke Ausfahrten HE622 und HE635

Zusätzliche Expeditionen mit FK Uthörn konnten weder beantragt noch durchgeführt werden, da das Schiff immer noch nicht einsatzfähig ist. Küstennahe Ausfahrten zur Probennahme beispielsweise im Jade-Ästuar wurden deswegen in Kooperation mit dem Projektpartner Senckenberg am Meer durchgeführt.

Expeditionsdaten und Fahrtberichte wurden gemäß den Vorgaben der GPF veröffentlicht:
Daten HE622:

<https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.962878>

Fahrtbericht HE622:

<https://www.tib.eu/de/suchen/id/awi:c04e7c95514d8ec3373273266545712b0a05aa74>

Daten HE635:

<https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.967469>

Fahrtbericht HE635:

<https://www.tib.eu/de/suchen/id/awi:ff99ac28ff3da31d5ace8ddffbcf6c5cd88aa9f5>

Task 4.3: STVs in marinen Organismen – Gesundheitsbewertung und Vergleich mit Referenzgebieten

Aufgaben AWI im WP4/ Task 4.3:

- **Bewertung von biologischen Effekten von Feldexponierten Organismen mit Multi-Biomarker-Ansatz**
- **Kooperation bei der Gesundheitsbewertung von Fischen**
- **Korrelation der Biomarker Ergebnisse mit den Konzentrationsmessungen**

Biologische Effekte bei Fischen gefangen rund um Verklappungsgebiete in der Deutschen Bucht: In den Küstengewässern der Nordsee gibt es mehrere bekannte Verklappungsstellen. Drei der Gebiete, das Verklappungsgebiet nördlich Spiekeroog, die Verklappungsstelle westlich Sylt und Steingrund in der Nähe der Insel Helgoland sind mit unserem Forschungsschiff Heincke zugänglich und wurden auf Klieschen (*Limanda limanda*) befischt. Im Fokus der Untersuchungen standen mögliche Auswirkungen der Munitionskemikalien auf bodenlebende Fische. Darüber hinaus wurde ein munitionsfreies Referenzgebiet südlich des Naturschutzgebietes Borkum Riffgrund ausgewählt, um die Fische aus den Verklappungsgebieten vergleichen zu können. In allen drei Verklappungsgebieten werden noch tausende Tonnen konventioneller Munition unterschiedlichen Typs und Kalibers vermutet. Im Gegensatz zur Ostsee ist die Munition an den genannten Verklappungsstellen jedoch von mehreren Metern Sediment bedeckt, so dass eine quantitative Überprüfung und Zustandsbewertung der Munition nicht möglich war. Sonar-Scans des Gebietes bestätigten, dass keine Munition auf dem Sediment liegt. Im Gegensatz dazu ergaben magnetometrische Untersuchungen, die an der Verklappungsstelle nördlich von Spiekeroog durchgeführt wurden, große magnetische Anomalien im östlichen Teil des Gebietes, die höchstwahrscheinlich auf das Vorhandensein von Munitionsgehäusen zurückzuführen sind.

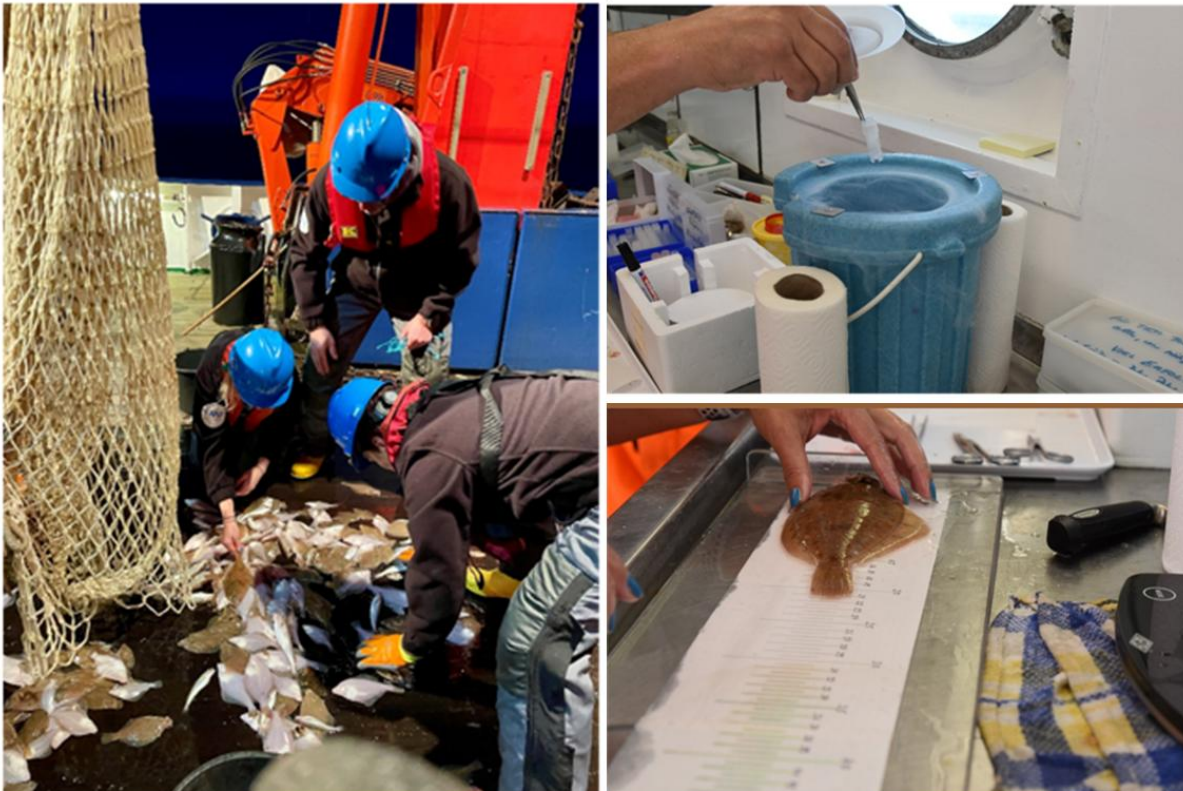


Abbildung 2: Grundschieppnetzfüge von Klieschen an Bord von FS Heincke (©Ute Marx/AWI)

Um die potenziellen biologischen Auswirkungen dieser Verklappungsstellen auf exponierte Organismen in dem Gebiet zu bewerten, wurde während zweier 14-tägiger RV Heincke-Expeditionen für das CONMAR-Projekt (HE622 - März 2023 und HE635 Juni 2024) am Rande der Gebiete gefischt (Abbildung 2). Mit Grundschleppnetzen wurden Klieschen, ein ortstreuer, Boden lebender Plattfisch, gefangen. An der Verklappungsstelle Steingrund musste die Fischerei jedoch eingestellt werden, da die Netze vermutlich durch Steine auf dem Boden beschädigt wurden. Rund um die Verklappungsgebiete Westlich Sylt und nördlich Spiekeroog sowie und an der Referenzstelle konnten jedoch jeweils ca. 50 Exemplare mit einer Mindestgröße von 21 cm gefangen und an Bord seziiert werden. Die makroskopische Untersuchung der Leber wurde unmittelbar nach dem Töten der Fische durchgeführt. Die Lebern wurden auf Gewebeanomalien, Fettgehalt und Knötchen untersucht, die an der Oberfläche oder unter der Oberfläche des Organs sichtbar waren (Abbildung 3).

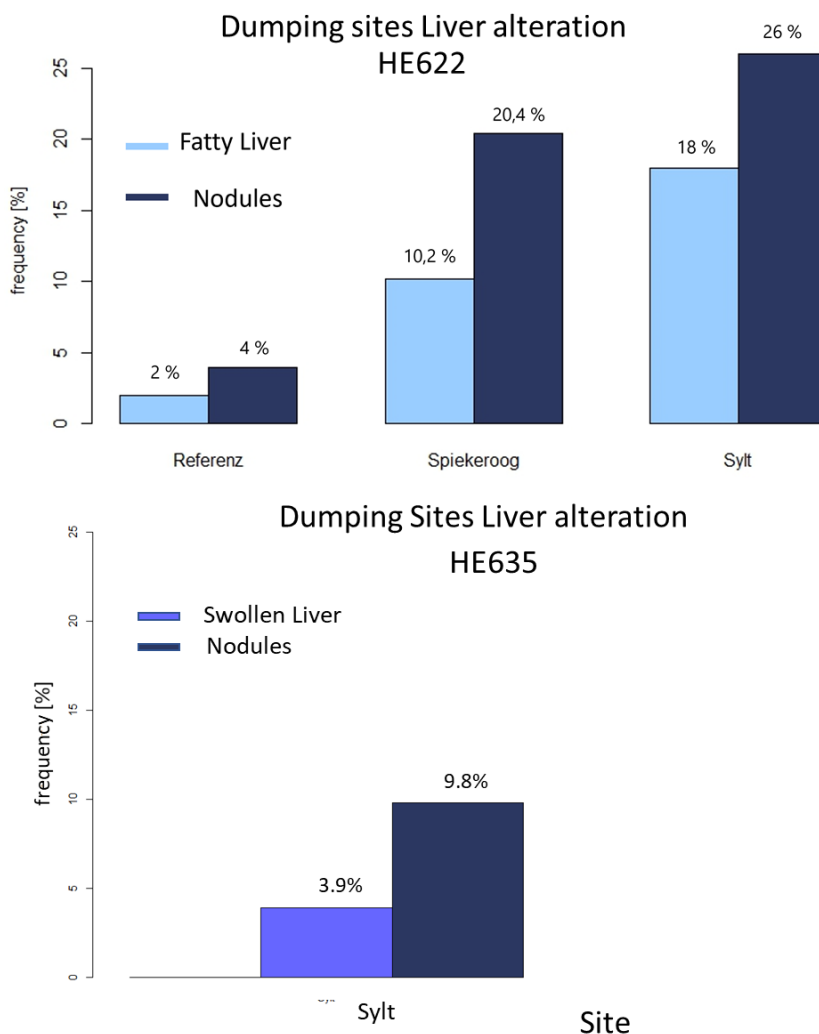


Abbildung 3: Makroskopisch sichtbare Leberanomalien in Klieschen gefangen an den Verklappungsgebieten westlich Sylt, nördlich Spiekeroog und im Referenzgebiet südlich von Borkum Riff.

Anschließend wurden Blut-, Urin-, Kiemen-, Leber-, Filet- und Nierenproben zur chemischen Analyse entnommen. Darüber hinaus wurde Lebergewebe für die Analyse von Biomarkern und die Gewebepathologie entnommen. Vorläufige Ergebnisse der makroskopischen Leberuntersuchung zeigten, dass die Fische, die am Rande der Deponie gefangen wurden, mehr

Anomalien aufwiesen als die Fische, die im Referenzgebiet gefangen wurden. Die Unterschiede sind signifikant und vergleichbar mit den Ergebnissen, die an anderen Munitions-Hotspots wie Kriegswracks und der Verklappungsstelle Kolberger Heide in der Ostsee erzielt wurden. Allerdings sind weitere Biomarker und mikroskopische Untersuchungen erforderlich, um die vorläufigen makroskopischen Untersuchungen zu überprüfen (**D4.5-1 & D4.5-3**).

Siehe auch CONMAR Final Report – Phase I, Kapitel 4.2.2.

Task 4.4 Feldexperimente: Biomonitoring von STVs mit Miesmuscheln

Aufgaben AWI im WP4/ Task 4.4:

- **Exposition und Beprobung von Muscheln in den Versenkungs- und Referenzgebieten**
- **Bewertung von biologischen Effekten von Feldexponierten Organismen mit Multi-Biomarker-Ansatz**

Biologische Effekte von Miesmuscheln exponiert an konventionellen Munitionskörpern und Sprengstoffbrocken in der Kolberger Heide: In dieser Feldstudie wurden Miesmuscheln (*Mytilus spp.*) in Nylonsäcken im Untersuchungsgebiet Kolberger Heide in der Nähe eines Seeminen-Haufens exponiert. Zusätzlich wurden Miesmuscheln in Netzen an einem Sprengkrater mit großen Sprengstoffbrocken ohne Metallhüllen ausgebracht (Abbildung 4). In dieser Studie wurde die Aufnahme von gelöstem TNT und mögliche gesundheitliche Auswirkungen auf die exponierten Miesmuscheln untersucht. Die Miesmuscheln wurden aus von einer kommerziellen Muschelzucht in der Kieler Bucht bezogen. Die Miesmuscheln wurden in gekühlten Isolierboxen mit Meerwasser zum Forschungsschiff transportiert und an den Untersuchungsort Kolberger Heide gebracht.

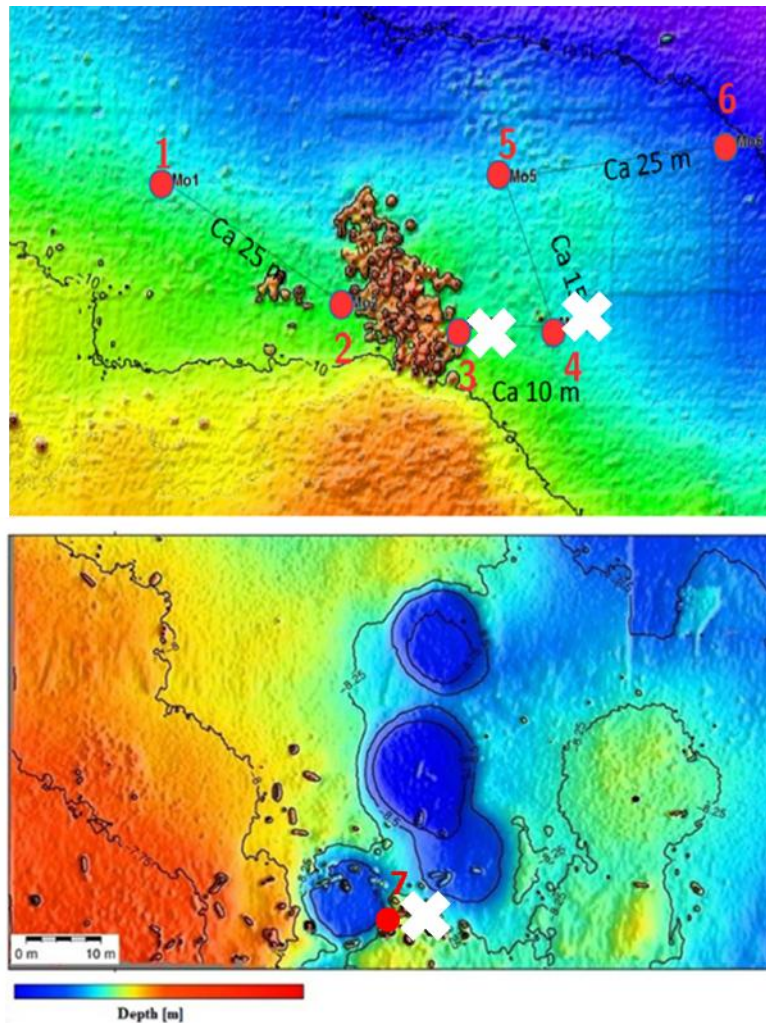


Abbildung 4: Minenhafen mit Mooring-Stationen (oben) und Sprengkrater mit Schießwolle-Brocken und Mooring in der Kolberger Heide/ Kieler Bucht. Die weißen Kreuze markieren die untersuchten Stationen (Karten ©GEOMAR)

Dort wurden sie von Tauchern in der Nähe eines Minenhafens ausgebracht, der aus ca. 100 Seeminen aus dem Zweiten Weltkrieg in unterschiedlichen Korrosionszuständen besteht. Sechs Verankerungen mit je zwei Muschelsäcken, eine direkt auf dem Boden (P0) und eine 1 m über dem Boden (P1), wurden in unterschiedlichen Abständen vom Minenhafen ausgebracht. Eine weitere identische Verankerung wurde an den Rand des Detonationskraters gestellt. Jeder Muschelbeutel wurde mit ca. 80 Muscheln befüllt (Abbildung 5). Die Muscheln wurden zwischen März und Juni ausgesetzt, anschließend durch neue Muscheln aus dem Betrieb ersetzt und von Juni bis September erneut drei Monate lang ausgesetzt. Am Ende der Expositionsphase wurden Referenzmuscheln aus der Muschelzucht zusammen mit den Muscheln aus dem Minenhafen und dem Krater beprobt. Die Beprobung wurde von wissenschaftlichen Tauchern der Universität Kiel durchgeführt. Nach der Bergung wurden die Muscheln sofort ins Labor transportiert und sezirt. Die Gewebeproben wurden in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur weiteren Verarbeitung bei -80 °C gelagert.



Abbildung 5: Vermessung von Miesmuscheln in Vorbereitung zur Ausbringung in Nylonsäcken an Moorings in der Kolberger Heide/ Kieler Bucht (© Matthias Brenner/AWI)

Mit Hilfe eines Multi-Biomarker-Ansatzes wurden Muscheln auf ihren Energiespeicherstatus (Glykogenkonzentrationen), die Anreicherung von Lipofuszin und neutralen Lipiden untersucht, die schadstoffbedingte Stoffwechselstörungen anzeigen. Außerdem wurden Lysosomen als Zellorganellen, die an der Entgiftung beteiligt sind, auf Membranbeeinträchtigungen untersucht.

Muscheln vom Referenzstandort hatten einen niedrigeren Glykogengehalt als Muscheln am Expositionsstandort weiter draußen in der Kieler Bucht. Offensichtlich spiegelt dies die besseren Bedingungen für die Nahrungssuche weiter draußen in der Bucht wider, verglichen mit der Situation auf den Farmen in der Kieler Förde. Im Gegensatz dazu wurde in Muscheln, die gelöstem TNT ausgesetzt waren, signifikant mehr Lipofuscin akkumuliert als am Referenzstandort. Es sind jedoch keine Unterschiede zwischen Muscheln, die am Detonationskrater, und Muscheln, die am Minenhafen exponiert waren, erkennbar. Ein Anstieg der Konzentrationen von neutralen Lipiden in exponierten Muscheln konnte nicht nachgewiesen werden. Beeinträchtigungen waren jedoch auf der Ebene der Zellorganellen sichtbar. Sowohl primäre (Peak 1) als auch sekundäre Lysosomen (Peak 2) zeigten niedrige Membran-Labilisierungszeiten in Muscheln, die an den Minen oder am Detonationskrater exponiert wurden, im Vergleich zu den Muscheln aus der Muschelfarm. Dies deutet auf Vorschädigungen der Membranen durch oxidativen Stress hin, der von austretenden Munitionskemikalien ausgelöst worden sein könnte (D4.5-1 & D4.5-3).

Anmerkung: Im Rahmen von CONMAR wurden Teile der Probenaufbereitung und die Auswertung der Proben vorgenommen. Das Ausbringen der Muscheln wurde bereits vor CONMAR durchgeführt.

Siehe auch CONMAR Final Report – Phase I, Kapitel 4.1.2.

Task 4.5 Laborexposition: Auswirkung von STVs auf den Metabolismus und die Gesundheit

Aufgaben AWI im WP4/ Task 4.5:

- **Planung, Durchführung und Auswertung von Labor-Expositionsexperimenten mit Muscheln**
- **Gesundheitsbewertung durch Multi-Biomarker-Ansatz**

Ausscheidungskinetik von TNT und seinen Metaboliten in Miesmuscheln: Um die Kinetik der potentiellen Metabolisierung und/oder des Abbaus von gelöstem TNT in Miesmuschelweichkörpern zu testen, wurden zwei Laborexperimente durchgeführt (Abbildung 6).

Dazu wurden Miesmuscheln (*Mytilus edulis*) aus der deutschen Nordsee in zwei Laborexperimenten verschiedenen TNT-Konzentrationen ausgesetzt (erstes Experiment, 48-stündige Exposition gegenüber TNT-Konzentrationen von 0, 0,625, 1,25 und 2,5 mg/L; zweites Experiment, 24-stündige Exposition mit 0 und 5 mg/L deuteriertem TNT), gefolgt von Erholungsphasen in sauberem künstlichem Meerwasser (erstes Experiment, 60-stündige Erholung; zweites Experiment, 12-stündige Erholung). Wasserproben und Muschelweichkörper wurden auf TNT und seine Metaboliten 2-Amino-4,6-Dinitrotoluol (2-ADNT), 4-Amino-2,6-Dinitrotoluol (4-ADNT) und 2,4-Diamino-6-Nitrotoluol (2,4-DANT) mittels GC-MS/MS Q11-Techniken analysiert. Die Ergebnisse zeigten eine kontinuierliche Aufnahme von gelöstem TNT während der Exposition und einen schnellen Abbau während der Erholungsphase, unabhängig von den ursprünglichen TNT-Expositionskonzentrationen. Darüber hinaus wurde die Biotransformation von TNT durch das Vorhandensein von markierten ADNTs sowohl in Muschelweichkörpern, die während der Erholungsphase analysiert wurden, als auch in Wasserproben, die während der Erholungsphase entnommen wurden, nachgewiesen. Insgesamt wurden 57% bis 76% der gemessenen Konzentration innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Exposition biotransformiert.

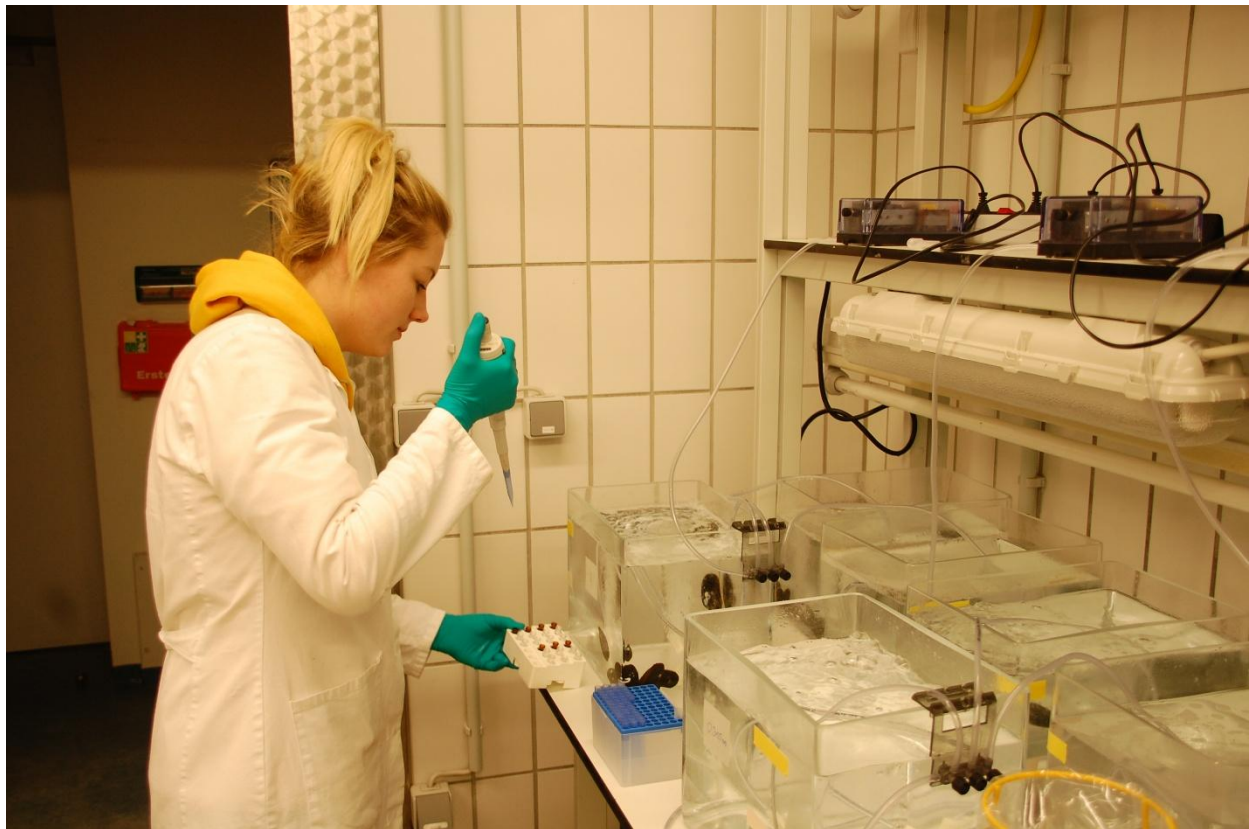


Abbildung 6: Expositionsversuch mit Miesmuscheln zum Test der Ausscheidungs-Kinetik von gelösten TNT aus dem Muschelgewebe (© Matthias Brenner/AWI)

Die in der vorliegenden Studie erzielten Ergebnisse zeigen, dass TNT in *M. edulis* je nach TNT-Behandlungskonzentration aufgenommen und rasch biologisch umgewandelt wird. Insgesamt wurden 40 bis 75 % des TNT im Weichkörper der Muschel bereits in den ersten 4 Stunden in 2-ADNT, 4-ADNT und 2,4-DANT umgewandelt. Die höchste TNT-Behandlung (2,5 mg/L im ersten und 5 mg/L im zweiten Versuch) hatte die höchste TNT-Aufnahme und die höchste Konzentration an Metaboliten. Alle Metabolite wie auch die Ausgangsverbindung TNT nahmen im Laufe der Zeit in den Weichkörpern der Muscheln ab, was auf eine weitere Umwandlung oder Ausscheidung hindeutet. Wasserproben aus der Erholungsphase zeigten einen Anstieg der ADNT-Konzentration

im Wasser, was die Annahme einer Ausscheidung bestätigt. Die Ergebnisse stimmen mit anderen Studien überein, die ähnliche Ausscheidungsmuster von energetischen Verbindungen bei *Mytilus galloprovincialis* nachgewiesen haben (D4.5-4).

Siehe auch CONMAR Final Report – Phase I, Kapitel 4.4.2.3

Die in dieser Studie präsentierten Daten werden als Open Access veröffentlicht:
Binder et al. 2024, PANGAEA: <https://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.972751>

Publikation:

Binder, F.I., Schuster, R.M., Bünning, T.H., Strehse, J.S., Brockmann, M., Herges, R., Maser, E., Brenner, M. (under review). Depuration kinetics of TNT and its metabolites in exposed blue mussels (*Mytilus edulis*, L.), *Frontiers in Marine Science*, doi: 10.3389/fmars.2025.1582441

Task 4.6: STV-Transport zwischen marinen Arten und trophischen Ebenen - Nahrungsnetzanalyse

Aufgabe AWI im WP4/ Task 4.6:

- **Planung, Durchführung und Auswertung von Labor-Expositionsexperimenten, die die Aufnahme, Anreicherung und potentielle Weitergabe in der Nahrungskette simulieren können**

Transfer von Explosivstoffen über das Nahrungsnetz: Aufgrund des Verlustes von Proben auf der HE635 wegen des Ausfalls eines Kühlraumes, hat das CONMAR Konsortium weitere 4 Seetage bekommen und diese organisiert durch das AWI im Rahmen der HE655-2 durchgeführt. Während dieser Expedition wurde am Verklappungsgebiet nördlich Spiekeroog, am Wrack der SMS Ariadne und an einem Referenzgebiet zwischen beiden Munitionshotspots gefischt, sowie Wasser und Sedimentproben genommen. Ziel war es, neben der abiotischen Analytik von Wasser und Sediment auch möglichst viele Organismen aus verschiedenen trophischen Stufen zu beproben. Mit diesem Ansatz konnten Infauna-Organismen (Muscheln, Krebse & Würmer), Makro-Zoobenthos (Seeigel, Krebse & Seesterne), bodenlebende Fische (Flundern, Knurrhähne & Klieschen) und pelagische Organismen wie Wittling und Makrelen gefangen und nach Geweben differenziert sezirt werden. Damit möchten wir die Fragen zu Aufnahmewegen, Orten der Metabolisierung und zum potentiellen Transfer von Explosivstoffen über die Nahrungsbeziehungen beantworten. Im Anschluss sollen die Ergebnisse der Analytik mit denen aus Labor-Fütterungsversuchen verglichen werden.

Die Proben konnten bisher noch nicht vollständig analysiert werden. Dies wird aber im Rahmen der zweiten Projektphase nachgeholt.

Task 4.7: Auswirkungen des Klimawandels auf die STV-Belastung der Fauna

Aufgabe AWI im WP4/ Task 4.6:

- **Planung, Durchführung und Auswertung von Labor-Expositionsexperimenten unter verschiedenen Temperatur-Regimen**

Effekte von Miesmuscheln exponiert mit gelöstem TNT bei unterschiedlichen Temperaturen: Expositionsversuche wurden unter kontrollierten Laborbedingungen durchgeführt, um den Einfluss der Temperatur auf die Aufnahme und die biologischen Wirkungen von 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) in *Mytilus edulis* zu untersuchen und so Erkenntnisse über mögliche

Auswirkungen der zukünftigen globalen Erwärmung zu gewinnen. Vor der Exposition wurden die Muscheln schrittweise von der Temperatur am Probenahmeort auf der Insel Sylt von 9 °C an die drei Zieltemperaturen akklimatisiert: 11 °C, 15 °C und 18 °C. Die Temperatur wurde alle zwei Tage um 1 °C erhöht, bis das Zielniveau erreicht war. Die Muscheln wurden dann vier weitere Tage bei der jeweiligen Temperatur gehalten. Sechs Muscheln pro Temperaturgruppe (insgesamt 18 Tiere) wurden seziiert, um den anfänglichen Gesundheitszustand vor der Expositionsphase zu beurteilen. Die Muscheln wurden gemessen (Schalenlänge), durch Aufschneiden des Adduktorenmuskels geöffnet und nach Ablassen des restlichen Meerwassers gewogen. Kiemen, Mantelgewebe und Verdauungsdrüse wurden extrahiert. Kiemen und Mantel wurden jeweils in zwei Teilproben und die Mitteldarmdrüse in drei Teilproben aufgeteilt. Alle Gewebeproben wurden in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bis zur weiteren Analyse bei -80 °C gelagert. Zusätzlich wurde für jede Temperaturgruppe eine Muschel für die chemische Analyse seziiert. Die Experimente wurden in 10-Liter-Aquarien durchgeführt, die jeweils mit einer Pumpe für die Luft-/Sauerstoffversorgung ausgestattet waren. Während des gesamten Versuchs wurde ein Licht-Dunkel-Zyklus von 8:16 Stunden eingehalten. Dreizehn Muscheln wurden in jedes Becken gesetzt. Für jede Temperatur wurden vier Expositionskonzentrationen getestet: eine Kontrolle (0 ng/L TNT) und drei TNT-Konzentrationen (100 ng/L, 50 µg/L und 500 µg/L), wobei für jedes Treatment jeweils drei Aquarien verwendet wurden. Die TNT-Lösungen wurden täglich aufgefrischt, um die nominalen Konzentrationen aufrechtzuerhalten. Dazu wurde das Aquarienwasser vollständig durch frisch zubereitete TNT-Lösungen ersetzt. Die Muscheln wurden alle drei Tage mit Phytoplankton gefüttert; vor der Fütterung wurden die Pumpen abgeschaltet, um eine angemessene Suspension des Futters zu ermöglichen. Nach 10 Tagen der Exposition wurden vier Muscheln pro Aquarium für biologische Analysen seziiert, wobei das gleiche Verfahren wie bei der Akklimatisierung angewandt wurde. Eine weitere Muschel pro Aquarium wurde für die chemische Analyse entnommen und in RNAlater konserviert. Die verbleibenden Muscheln (bis zu sieben pro Aquarium) wurden am 21. Tag des Experiments seziiert, wiederum einschließlich eines Individuums pro Becken für die chemische Analyse und die Konservierung in RNAlater. Während der gesamten Exposition wurden die Aquarien auf Anzeichen von Laichaktivität (Freisetzung von Eiern oder Gameten) sowie auf den allgemeinen Zustand der Muscheln (z. B. Verhalten beim Öffnen der Schale) überwacht. Die Sterblichkeit wurde täglich überprüft, und tote Individuen wurden umgehend entfernt.

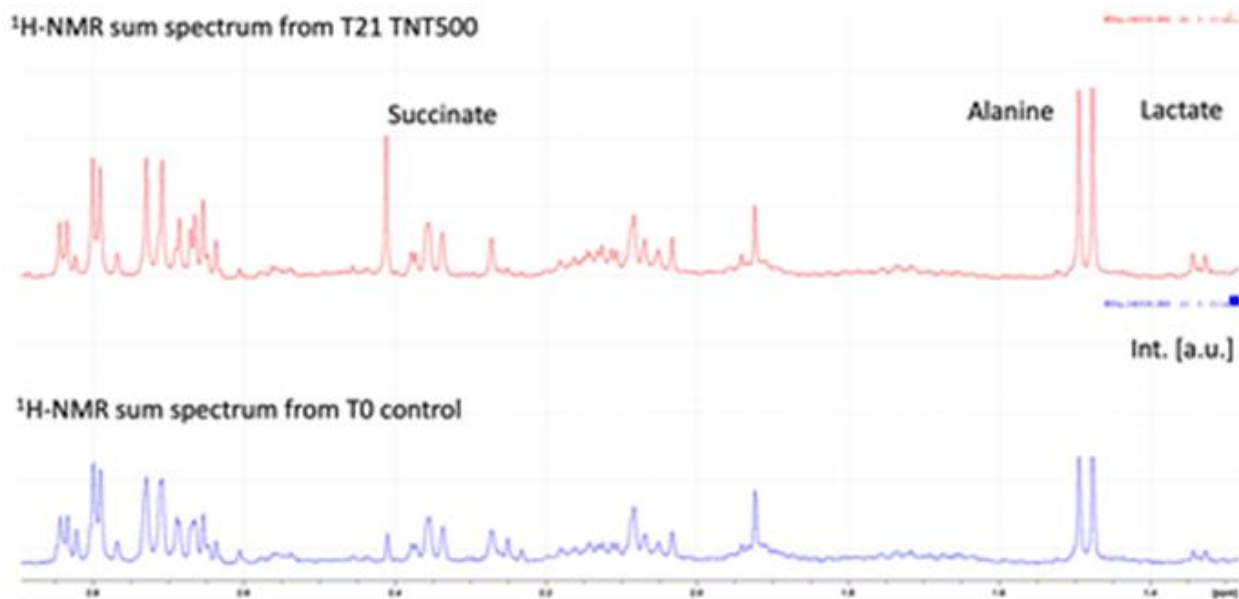


Abbildung 7: Vergleich der ¹H-NMR-Kiemenspektren unter Kontrolle (blau) und nach Inkubation unter Erwärmung

und TNT (rot). Man beachte die Zunahme der anaeroben Markermetaboliten Succinat und Lactat, während der Metabolit Alanin abnahm

Das entnommene Gewebe wurde in flüssigem Stickstoff eingefroren und bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C gelagert. Das extrahierte Kiemen- und Verdauungsdrüsengewebe der Muscheln wurde mit einem NMR-Spektrometer gemessen.

Beim Vergleich der ¹H-NMR-Spektren von Kiemengewebe von *M. edulis* unter Kontrollbedingungen und nach 21 Tagen Inkubation unter 500 mg/l TNT zeigen sich deutliche Unterschiede bei energierelevanten Metaboliten wie Succinat, Lactat und Alanin. Der Anstieg von Laktat und Succinat sowie die Abnahme des Alaninspiegels deuten auf eine Energielimitierung in den Kiemen nach der Inkubation unter Erwärmung und TNT hin (Abbildung 7) (D4.9-1).

Siehe auch CONMAR Final Report – Phase I, Kapitel 4.4.2.1.

AP 8: Projektkoordination und Missionsmitgestaltung

Das AWI hat an allen projektrelevanten Treffen teilgenommen und dort auch in regelmäßigen Abständen die Projektfortschritte vorgestellt. Vom 29. August bis 1. September 2023 hat Herr Brenner auf der Sustain-Mare Midterm-Konferenz in Kiel den Themenschwerpunkt „Impacts of pollution and munitions on marine ecosystems“ präsentiert und den dazugehörigen Workshop geleitet. Basierend auf den Ergebnissen der Midterm-Conference wurde eine Skizze für die Weiterführung der Mission am 13. Oktober beim PTJ eingereicht.

Task 8.3: Öffentlichkeitsarbeit ermöglichen und unterstützen

Herr Brenner informierte die Gesellschaft und die Fachwelt über das Thema Munition im Meer auf einer Vielzahl öffentlicher und nichtöffentlicher Veranstaltungen und im Rahmen von ausgewählten internationalen Fachkonferenzen. Darüber hinaus sind basierend auf zahlreichen Interviews viele Beiträge für Fernsehen, Radio, Internetformate und Tageszeitungen entstanden.

Fachvorträge auf Konferenzen und Workshops:

1. Brenner, M., Schuster, R., Binder, F.I., Bünning, T.H., Strehse, J.S., Maser, E. 2024. Depuration Kinetics of TNT and its Metabolites in lab Exposed Blue Mussels (*Mytilus edulis*, L.), Legacy of War: Environmental Contamination, Ecotoxicity and Human Health Concerns of Explosives and Chemical Warfare Agents, 34 Annual Meeting of Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Poster Spotlight, 07. May 2024, FIBES Sevilla Conference & Exhibition Centre, Sevilla, Spain
2. Strehse, J.S., Brenner, M., Kisiela, M., Maser, E. (2021). The explosive trinitrotoluene (TNT) induces carbonyl reductase in the blue mussel (*Mytilus* spp.) – a new promising biomarker for sea dumped war relicts? 6th German Pharm-Tox Summit, 87th Annual Meeting, German Society of Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT), 1.-3. March (digital), Bonn, Germany
3. Brenner, M. (2024). Impact of munitions on biota, NATO Science for Peace and Security Program – NATO Advanced Study Institute, Workshop Monitoring and Assessment of hazardous underwater objects in the global ocean: an integrated approach, 22 - 27 Apr 2024, Maritime Museum, Birgu, Malta

Posterbeiträge auf Fachkonferenzen

1. Binder, FI, Bünning, TH, Strehse, JS, Maser, E, Brenner, M (2023). Depuration kinetics of TNT and its metabolites in lab exposed blue mussels (*Mytilus edulis*, L.), General Assembly of the European Geosciences Union 2023 (EGU), Austria Center Vienna, 23.-28. April 2023, Vienna, Austria
2. Schultheiß, T.M., Strehse, J.S., Brenner, M., Maser, E. (2021). Evidence of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) to cause upregulation of the molecular oxidative stress response in *Mytilus* spp., 6th German Pharm-Tox Summit, 87th Annual Meeting, German Society of Experimental and Clinical Pharmacology and Toxicology (DGPT), 1.-3. March (digital), Bonn, Germany

Öffentliche Vorträge:

1. Brenner, M. (2024). Weltkriegsalllasten in Nord- und Ostsee. Jahrestagung des Wattführerverbandes, 23.03.2024, Weltnaturerbeportal, Ebo-Wiemken Straße 61, 26316 Varel-Dangast, Germany
2. Brenner, M. (2023). Bombs, Mines & War Wrecks - Legacies of war in German North- and Baltic Sea, Canadian Blue Economy Delegation visits Bremen & Bremerhaven-Business Matching, 16.11.2023, Nordseehotel Fischereihafen, Bremerhaven, Germany
3. Brenner, M. (2023). Bomben, Minen und Granaten – Ohne Ende Kriegsschrott in Nord- und Ostsee, Naturwissenschaftlicher Verein zu Bremen, Ocean Talk, 04.07.2023, Schwimmverein Bremen von 1910, Bremen, Germany
4. Brenner, M (2022). Bomben, Minen und Granaten - Munitionsalllasten im Meer und ihre Gefahren – Beispiele aus der Ostsee, Gastvortrag zum Stakeholder Dialog – Balt-Adapt Projekt, 08.12.2022, Stadtverwaltung Burg auf Fehmarn, Fehmarn, Germany
5. Brenner, M (2022). Munitionsalllasten im Meer – Ohne Ende Kriegsschrott in Nord- und Ostsee, Gastvortrag Rotary Club Bad Oldeslohe, 17.03.2022, Restaurant Mäcki, Bad Oldeslohe, Germany
6. Brenner, M (2021). Gastredner der Jahresversammlung, Oldenburgische Schiffergesellschaft von 1574: Munition im Meer - Giftiger Kriegsschrott in Nord- und Ostsee, 05.11.2021, Gasthaus Wöbken, Oldenburg/Hundsmühlen, Germany

Online Formate

1. Brenner, M. & Maser, E. (2023). Munition im Meer – Was sind die Auswirkungen auf Umwelt, Tiere und Menschen?, sustain mare Ringvorlesung, University of Hamburg, 31.05.2023, Hamburg (online), Germany
2. Brenner, M. (2022). Munition im Meer – Ohne Ende Weltkriegsschrott in Nord- und Ostsee, Wissenschaft im Wohnzimmer., Januar 2022, <https://www.youtube.com/watch?v=LVQPn1hn860>

2) Vergleich des Vorhabenstandes mit der ursprünglichen Arbeits-, Zeit- und Ausgabenplanung

Die Ausgabenplanung konnte eingehalten werden (Einreichung der AWI Projekt-Abrechnung über Profi-Online am 02.Juni 2025)

3) Haben sich die Aussichten für das Erreichen der Vorhabensziele gegenüber dem ursprünglichen Antrag geändert

Fast alle Vorhabensziele konnten innerhalb des Kosten- und Zeitplans umgesetzt werden. Lediglich ein Fütterungsversuch muss auf die 2. Phase verschoben werden (Task 4.6).

4) Sind inzwischen von dritter Seite Ergebnisse bekannt geworden, die für die Durchführung des Vorhabens relevant sind?

Während CONMAR-I wurden weitere komplementäre Projekte durch die EU gefördert. Im Ostseeraum sind das MUNIMAP, MUNI-RISK, MMinE-SwEEPER und BaltWreck. Darüber hinaus gibt es das REMARCO Projekt in der Nordsee. Das AWI koordiniert REMARCO und ist Partner in MUNIMAP. Es besteht ein enger inhaltlicher Austausch mit den übrigen Projekten und die Öffentlichkeitsarbeit wird in regelmäßigen Abständen zwischen den Projekten abgestimmt.

5) Sind oder werden Änderungen in der Zielsetzung notwendig?

Nein.

6) Fortschreibung des Verwertungsplans

Hierzu bitte auch den gesonderten Erfolgskontrollbericht einsehen.

6.1 Erfindungen/Schutzrechtsanmeldungen und erteilte Schutzrechte

Nein.

6.2 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende

Siehe Erfolgskontrollbericht.

6.3 Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende

Siehe Erfolgskontrollbericht.

6.4 Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Siehe Erfolgskontrollbericht.