

Abschlussbericht

Methodische Weiterentwicklung der Probenrichtlinie für Böden im Rahmen der Umweltprobenbank des Bundes

FKZ: 301 02 006

Fraunhofer-Institut für
Molekularbiologie und Angewandte
Oekologie
57392 Schmallenberg

Institutsleitung

Prof. Dr. Rainer Fischer

Stellvertretung und Bereichsleitung Angewandte Oekologie

Prof. Dr. Andreas Schäffer

Projektleitung

Dr. Werner Kördel

Autoren

Dipl.-Ing. agr. Karlheinz Weinfurter
Dr. Peter Dreher
Dr. Kerstin Hund-Rinke
Dr. Susanne Scheid
Dr. Markus Simon

Auftraggeber

Umweltbundesamt
FG 1.4 S
14193 Berlin

Schmallenberg, Mai 2002

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. ZUSAMMENFASSUNG | 4 |
| 2. SCHLUSSFOLGERUNGEN UND AUSBLICK..... | 7 |
| 3. EINLEITUNG..... | 8 |
| 4. AUFGABEN UND ZIELSTELLUNG | 9 |
| 5. ERLÄUTERUNGEN ZU DEN AUFGABENSTELLUNGEN UND ZIELE DER EINZELNEN AUFGABENPAKETE..... | 10 |
| 5.1. AP 1: KONTAMINATION DER BODENPROBEN DURCH ENTNAHME- UND AUFBEREITUNGSGERÄTE | 10 |
| 5.2. AP 2: ENTWICKLUNG STRUKTURERHALTENDER PROBENAHE UND AUFBEREITUNGSVERFAHREN UNTER VERZICHT AUF DEN EINSATZ DER CRYOMÜHLE | 10 |
| 5.3. AP 3: ERMITTLUNG DER REPRÄSENTATIVITÄT DER SIEBFRAKTION < 2 MM BEI NICHT QUANTITATIVER SIEBUNG..... | 11 |
| 5.4. AP 4: ÜBERPRÜFUNG DER HOMOGENITÄT UND REPRÄSENTATIVITÄT DER EINGELAGERTEN TEILPROBEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG METHODISCHER ÄNDERUNGEN DER PROBENAHE | 11 |
| 5.5. AP 5: ERFASSUNG VON CHEMISCHEN UND BIOLOGISCHEN VERÄNDERUNGEN DER PROBEN ALS FOLGE VON AUFBEREITUNG UND TIEFKÜHLUNG..... | 11 |
| 5.6. AP 6: MÖGLICHKEITEN UND NOTWENDIGKEIT DER BEPROBUNG, UNTERSUCHUNG UND LAGERUNG VON UNTERBÖDEN | 12 |
| 5.7. AP 7: ABSCHLIEßENDE INHALTLICHE UND REDAKTIONELLE ÜBERARBEITUNG DER PROBENAHERICHTLINIE | 13 |
| 6. MATERIAL UND METHODEN | 14 |
| 6.1. MATERIAL..... | 14 |
| 6.1.1. <i>Auswahl der Böden.....</i> | 14 |
| 6.1.2. <i>Böden.....</i> | 14 |
| 6.2. METHODEN..... | 16 |
| 6.2.1. <i>AP 1: Kontamination der Bodenproben durch Entnahme- und Aufbereitungsgeräte.....</i> | 16 |
| 6.2.2. <i>AP 2: Entwicklung strukturerhaltender Probenahme und Aufbereitungsverfahren unter Verzicht auf den Einsatz der Cryomühle.....</i> | 17 |
| 6.2.3. <i>AP 3: Ermittlung der Repräsentativität der Siebfraction < 2 mm bei nicht quantitativer Siebung</i> | 18 |
| 6.2.4. <i>AP 4: Überprüfung der Homogenität und Repräsentativität der eingelagerten Teilproben unter Berücksichtigung methodischer Änderungen der Probenahme</i> | 18 |
| 6.2.5. <i>AP 5: Erfassung von chemischen und biologischen Veränderungen der Proben als Folge von Aufbereitung und Tiefkühlung.....</i> | 19 |

| | | |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 7. | ERGEBNISSE UND DISKUSSION..... | 25 |
| 7.1. | AP 1: KONTAMINATION DURCH PROBENAHME- UND AUFBEREITUNGSGERÄTE | 25 |
| 7.1.1. | AP 1a: Einfluss von Hülsenbohrer | 25 |
| 7.1.2. | Einfluss durch Siebgeräte | 29 |
| 7.2. | AP 2: ENTWICKLUNG STRUKTURERHALTENDER PROBENAHME- UND AUFBEREITUNGSVERFAHREN UNTER VERZICHT AUF DEN EINSATZ DER CRYOMÜHLE | 31 |
| 7.2.1. | Siebung | 31 |
| 7.2.2. | Schnelles Einfrieren nach der Siebung | 31 |
| 7.2.3. | Schonende Homogenisierung im Labor | 32 |
| 7.3. | ERMITTLUNG DER REPRÄSENTATIVITÄT DER SIEBFRAKTION < 2 MM BEI NICHTQUANTITATIVER SIEBUNG | 32 |
| 7.3.1. | Bodenkundliche Basisparameter | 33 |
| 7.3.2. | Schwermetalle..... | 33 |
| 7.3.3. | Chlorierte Kohlenwasserstoffe | 34 |
| 7.3.4. | Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe..... | 35 |
| 7.3.5. | Schlussfolgerungen..... | 36 |
| 7.4. | AP 4: ÜBERPRÜFUNG DER HOMOGENITÄT UND REPRÄSENTATIVITÄT DER EINGELAGERTEN TEILPROBEN UNTER BERÜCKSICHTIGUNG METHODISCHER ÄNDERUNGEN DER PROBENAHME | 37 |
| 7.4.1. | Bodenkundliche Basisparameter | 37 |
| 7.4.2. | Schwermetalle..... | 38 |
| 7.4.3. | Chlorierte Kohlenwasserstoffe (CKW) | 39 |
| 7.4.4. | Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) | 39 |
| 7.4.5. | Schlussfolgerungen..... | 42 |
| 7.5. | AP 5: ERFASSUNG VON CHEMISCHEN UND BIOLOGISCHEN VERÄNDERUNGEN DER PROBEN ALS FOLGE VON AUFBEREITUNG UND TIEFKÜHLUNG..... | 42 |
| 7.5.1. | AP 5a: Ermittlung von Effekten als Folge des Tiefgefrierens auf biologische Strukturen und Entwicklung geeigneter Lagerbedingungen für Bodenproben im Hinblick auf biologische Parameter..... | 42 |
| 7.5.2. | Ermittlung von Effekten des Tiefgefrierens auf abiotische Parameter und Entwicklung geeigneter Lagerbedingungen für Bodenproben im Hinblick auf bodenchemische Parameter | 75 |
| 7.6. | MÖGLICHKEITEN UND NOTWENDIGKEIT DER BEPROBUNG, UNTERSUCHUNG UND LAGERUNG VON UNTERBÖDEN | 84 |
| 7.7. | ÜBERARBEITUNG DER PROBENAHMERICHTLINIE | 84 |
| 8. | LITERATUR..... | 86 |
| 9. | ANHANG..... | 89 |
| 9.1. | TABELLEN:..... | 89 |
| 9.2. | ABBILDUNGEN | 103 |

1. Zusammenfassung

Problemstellung:

Im Rahmen der Umweltprobenbank soll das Umweltmedium Boden im Herbst 2002 erstmalig beprobt werden. Die dazu notwendige Richtlinie zur Beprobung von Böden wurde bereits 1993 vom Lehrstuhl für Biogeographie der Universität Saarbrücken erstmalig erstellt und in den Folgejahren mehrfach überarbeitet. Während der Ausarbeitungen zur Bodenprobenahme (Probenahmerichtlinie, Gebietsauswahl und –charakterisierung, Flächenauswahl) wurden jedoch in den letzten Jahren fachliche (z. B. Verabschiedung relevanter Normen) und rechtliche Rahmenbedingungen (Verabschiedung von BBodSchG, BBodSchV) weiterentwickelt, die einen abschließenden Abstimmungsprozess hinsichtlich methodischer Fragestellungen vor Beginn der routinemäßigen Probenahme und Einlagerung der Proben nötig machte. In einem Fachgespräch zwischen Vertretern des Umweltbundesamtes, des Auftragnehmers sowie externer Experten wurden mögliche Vorgehensweisen bei der Bodenprobenahme eingehend diskutiert und kritische Punkte, die einer weiteren Abklärung bedürfen, herausgestellt. Die in der folgenden Studie untersuchten Punkte waren insbesondere:

1. Eignung unterschiedlicher Gerätematerialien für die Probenahme und Probenaufbereitung im Gelände unter dem Aspekt möglicher Kontaminationen der Bodenproben.
2. Entwicklung von Möglichkeiten einer weitgehend die Struktur (Teilchen und primäre Gefüge) erhaltenden Probenaufbereitung unter Verzicht auf den Einsatz der Cryomühle als Grundlage für die Untersuchung biologischer sowie strukturabhängiger, chemischer (z.B. mobile Schwermetallgehalte) Parameter. Dabei müssen die Anforderungen an die Homogenität der einzulagernden Proben eingehalten werden.
3. Ermittlung der Repräsentativität der Siebfraction < 2mm bei nicht quantitativer Siebung.
4. Überprüfung der Homogenität der einzulagernden Teilproben unter Berücksichtigung methodischer Änderungen gemäß Punkt 2
5. Erfassung von (unerwünschten) chemischen und biologischen Veränderungen der Proben als Folge des Aufbereitungsprozesses im Vergleich zu frischen Proben
 - 5a. Effekte des Tiefgefrierens insbesondere auf organische und biologische Strukturen
 - 5b. sonstige Effekte auf physikalisch-chemische Parameter (z.B. extrahierbare Anteile)
6. Möglichkeiten und Notwendigkeit der Beprobung, Untersuchung und Lagerung von Unterböden (z.B. B-Horizonte) und Untergrund (C-Horizonte)

Lösungsansatz

Die aufgeführten Fragestellungen wurden in Form einzelner Arbeitspakete abgearbeitet. Die für die Untersuchung benötigten Böden wurden aufgrund der Anforderungen der einzelnen Arbeitspakete ausgewählt und in der Regel in direkter Nachbarschaft von geplanten Probenahmeflächen entnommen. Als Untersuchungsparameter wurden neben bodenkundlichen Basisdaten wie Körnung, pH und Gehalt an organischen Kohlenstoff Parameter die im Sinne des Bodenschutzes relevant sind (Schwermetalle, ausgewählte CKW und PAK) untersucht.

Ergebnisse

Eine Kontamination der Proben durch die Probenahme- und Aufbereitungsgeräte konnte nicht nachgewiesen werden. In einem Boden wurden zwar signifikant erhöhte Kupfer- und Bleikonzentrationen im Ammoniumnitrat-Aufschluss nach Verwendung eines Metallsiebes gegenüber einem Nylonsieb festgestellt, diese lassen sich jedoch nicht mit den Materialeigenschaften des Siebes begründen sondern ist eher auf die Siebgeometrie zurückzuführen. Bei den 2 mm Rundlochsieben können Teilchen passieren, die eine maximale Querschnittsfläche von 3,14 mm² haben, während bei Nylonsieben die maximale Querschnittsfläche 4 mm² beträgt. Daher kann – zumindest tendenziell – bei Nylonsieben das Korngrößenspektrum leicht zu größeren Korngrößen hin verschoben sein. Mit NH₄NO₃ werden nur leicht gebundene Kationen ausgetauscht und in Lösung gebracht. Die Menge der austauschbaren Kationen ist u. a. von der Korngröße abhängig und nimmt mit steigender Korngröße ab. Es ist daher möglich, dass die geringeren Mittelwerte bei den Nylonsieben durch einen höheren Anteil an grobkörnigem Material im Vergleich zu den Rundlochsieben verursacht werden

Zur Erhaltung der Struktur wurde ein einfaches Verfahren entwickelt, das die Siebung im Gelände und ein schnelles Einfrieren nach der Siebung ermöglicht. Dabei fällt das Material nach dem Sieben auf einen Auffangboden, der von unten durch Flüssig-Stickstoff gekühlt wird. Zur Kälteisolierung ist der Sieb-/Gefriersatz von einer Styroporisolierung umgeben, um den Verbrauch an Flüssig-Stickstoff zu verringern.

Die Analysenergebnisse einer Teilsiebung unterschieden sich nicht von denen einer Gesamtsiebung, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die nichtquantitative Siebung repräsentativ für die Gesamtsiebfraktion < 2 mm ist.

Beim Vergleich von Einzelarchivproben treten nur geringe Variationskoeffizienten auf, die zeigen, dass bei der verwendeten Methodik von Probenahme und – aufbereitung die Homogenität und Repräsentativität der Proben gegeben ist.

Für biologische Strukturen können Veränderungen durch eine Lagerung nicht ausgeschlossen werden. Die Art des Einfrierens, der Lagerung und des Auftauens wirkt sich dabei unterschiedlich stark auf einzelne biotische Parameter aus.

Generell wurden keine gravierenden Unterschiede hinsichtlich der Einfrier- und Lagerungstemperatur festgestellt, auch wenn tendenziell die Effekte bei einer Einfrier- und Lagerungs-Temperatur von –18 °C etwas geringer als bei flüssigem Stickstoff waren. Die Auftaugeschwindigkeit hatte dagegen einen deutlichen Einfluss auf die Bodenbiologie.

Bei den erfassten Parametern der mikrobiellen Aktivität führte schnelles Auftauen von Bodenproben im Gegensatz zu langsamem Auftauen – bis auf wenige Ausnahmen – zu Ergebnissen, die mit denen der Kontrolle aus frischem Boden nahezu vergleichbar waren (Abweichungen < 25 %).

Bei den erfassten Parametern der mikrobiellen Biozönose ist der Einfluss der Bodenbehandlung auf die Ergebnisse stark von der Bodenart abhängig. Es können keine eindeutigen Unterschiede bezüglich der Auftaumethodik festgestellt werden.

Die Gesamtabundanz und Zusammensetzung der Nematoden Biozönose wurde durch die Lagerung teilweise deutlich beeinflusst. Dabei war der Effekt wieder primär von der Bodenart sowie der Art des Auftauens abhängig. Die besten Ergebnisse wurden mit raschem Auftauen erzielt.

Wie zu erwarten zeigte die Lagerung unter tiefkalten Bedingungen keine gravierenden Auswirkungen auf die Analysenergebnisse von abiotischen Parametern. Dagegen beeinflussten

unterschiedliche Wassergehalte vor allem bei den Kationen die Analyseergebnisse. Dort wurden bei feuchteren Bedingungen jeweils niedrigere Gehalte gemessen.

Die Durchführung einer Unterbodenprobung erwies sich mit dem vorhandenen Material und der vorhandenen Probenahmetechnik als möglich. Allerdings macht die Beprobung des Unterbodens eine horizontgenaue Probenahme nötig.

2. Schlussfolgerungen und Ausblick

Die Ergebnisse zeigen, dass die vorgeschlagenen Geräte sowie Probenahme- und Aufbereitungsverfahren für die Durchführung der Routinebeprobung geeignet sind, da sie keinen Einfluss auf Analyseergebnisse ausüben. Zur Untersuchung biologischer Fragestellungen sollten die gelagerten Bodenproben schnell aufgetaut werden. Die Ergebnisse der Bodenfunktionsuntersuchungen sind nach dieser Behandlung weitgehend vergleichbar mit frischem Boden. Aussagen über die Struktur von Biozönosen können mit den zur Zeit zur Verfügung stehenden Methoden nur eingeschränkt getätigt werden. Ermittelte Dominanzen sollten nicht überbewertet werden. Die Interpretation der Ergebnisse sollte sich zur Zeit auf die Darstellung von Spektren (Vorliegen von einzelnen PLFAs, Tierarten, etc.) beschränken.

Damit kann im Herbst 2002 (September/Oktober) die erstmalige Probenahme im Routinebetrieb der Umweltprobenbank durchgeführt werden. An zwölf Standorten in unterschiedlichen Ökosystemen werden neben dem Auflagehorizont auch der Oberboden und der erste Unterbodenhorizont beprobt. Die Beprobung und Aufbereitung wird dabei so erfolgen, dass die Korn- und Feinaggregatstruktur weitgehend erhalten bleiben und die Proben unmittelbar nach dem Sieben in die tiefkalte Lagerung überführt werden.

Die Ergebnisse der darauf folgenden Untersuchungen dienen – wie bei den anderen Umweltmedien der Probenbank – zum Monitoring des aktuellen Zustandes sowie der zeitlichen Veränderungen der betrachteten Parameter. Die als Zeitreihen gelagerten Proben bieten darüber hinaus langfristig die Möglichkeit einer retrospektiven Betrachtung.

Da Böden aufgrund ihrer Pufferfunktion nur langsam auf veränderte Umweltbedingungen reagieren und die Probenahme sehr aufwändig ist, werden die Wiederholungen nicht im jährlichen Rhythmus stattfinden sondern nur alle vier Jahre.

3. Einleitung

Die Umweltprobenbank ist ein wichtiger Bestandteil der Umweltbeobachtung in Deutschland. Sie hat die Aufgabe, ökologisch repräsentative Umweltproben zu sammeln, auf umweltrelevante Stoffe zu untersuchen und veränderungsfrei einzulagern. Auf diese Lagerproben kann langfristig für retrospektive Untersuchungen und Trendanalysen zurückgegriffen werden.

Die Umweltprobenbank stellt wegen ihres Langzeitcharakters hohe Anforderungen an die Repräsentativität und Reproduzierbarkeit der Proben. Daher müssen für den gesamten Arbeitsablauf von der Probenahme über den Probentransport, die Probenaufbereitung und chemische Charakterisierung bis zur Einlagerung der Proben und Auswertung der Daten spezifische Verfahren angewendet werden, die in entsprechenden Richtlinien niedergelegt sind. Wesentlich dabei ist, dass die Probe schnellstmöglich nach der Probenahme über flüssigen Stickstoff eingefroren und die Kühlkette auch bei späteren Aufarbeitungsschritten und der Herstellung von Teilproben nie unterbrochen wird.

Bis heute fehlt die routinemäßige Bodenprobenahme. Diese sollte auf Grund des Stellenwertes des Kompartiments Boden im Ökosystem jedoch baldmöglichst aufgenommen werden. Als Zielvorgabe wurde das Jahr 2002 festgelegt.

Hinsichtlich der Bodenprobenahme wurden bereits vor der Einbindung des Instituts für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie in die Arbeiten zur Umweltprobenbank vom Institut für Biogeographie der Universität des Saarlandes (seit 2000: Universität Trier) Vorarbeiten geleistet und 1993 ein erster Entwurf erstellt, der 1996 und 1999 überarbeitet wurde.

Gegenstand dieser Richtlinie ist die Planung, Durchführung und Dokumentation der Probenahme. Während der Ausarbeitungen zur Bodenprobenahme (Probenahmerichtlinie, Gebietsauswahl und –charakterisierung, Flächenauswahl) wurden jedoch in den letzten Jahren fachliche (z. B. Verabschiedung relevanter Normen) und rechtliche Rahmenbedingungen (Verabschiedung von BBodSchG, BBodSchV) weiterentwickelt, die einen abschließenden Abstimmungsprozess hinsichtlich methodischer Fragestellungen vor Beginn der routinemäßigen Probenahme und Einlagerung der Proben nötig machte.

4. Aufgaben und Zielstellung

Um die Arbeiten zur Erstellung einer Richtlinie für die Bodenprobenahme auf ein breites wissenschaftliches Fundament zu stellen, wurden in einem Fachgespräch im Umweltbundesamt am 23.02.2000 wurden aus Sicht des Bodenschutzes mögliche Vorgehensweisen bei der Bodenprobenahme eingehend diskutiert und kritische Punkte, die einer weiteren Abklärung bedürfen, herausgestellt. Dies sind insbesondere:

1. Eignung unterschiedlicher Gerätematerialien für die Probenahme und Probenaufbereitung im Gelände unter dem Aspekt möglicher Kontaminationen der Bodenproben.
2. Entwicklung von Möglichkeiten einer weitgehend die Struktur (Teilchen und primäre Gefüge) erhaltenden Probenaufbereitung unter Verzicht auf den Einsatz der Cryomühle als Grundlage für die Untersuchung biologischer sowie strukturabhängiger, chemischer (z.B. mobile Schwermetallgehalte) Parameter und unter Beachtung der Anforderungen an die Homogenität der einzulagernden Proben.
3. Ermittlung der Repräsentativität der Siebfraction < 2mm bei nichtquantitativer Siebung.
4. Überprüfung der Homogenität der einzulagernden Teilproben unter Berücksichtigung methodischer Änderungen gemäß Punkt 2.
5. Erfassung von (unerwünschten) chemischen und biologischen Veränderungen der Proben als Folge des Aufbereitungsprozesses im Vergleich zu frischen Proben.
 - 5a. Effekte des Tiefgefrierens insbesondere auf organische und biologische Strukturen
 - 5b. sonstige Effekte auf physikalisch-chemische Parameter (z.B. extrahierbare Anteile)
6. Möglichkeiten und Notwendigkeit der Beprobung, Untersuchung und Lagerung von Unterböden (z.B. B-Horizonte) und Untergrund (C-Horizonte)
7. Überprüfung der Homogenität (Repräsentativität) der Probenahmeflächen anhand der Homogenität der Einzelproben (einzelne Einstiche vor der Mischprobenherstellung).

Ziel der Studie und des abschließenden Fachgesprächs ist es, eine Methode zu etablieren, die wissenschaftlich abgesichert und soweit möglich mit anderen Bodenprobenahmeverfahren und praktischen Durchführungen harmonisiert ist. Dabei muss die Probenahme und Probenaufbereitungsstrategie die Vorgaben der Richtlinien zur UPB erfüllen, d.h. homogene Teilproben sollen archiviert werden, mit einem höchstmöglichen Erhalt an Informationen. Dabei ist an derzeitige aber auch in Zukunft mögliche Analyseverfahren zu denken.

Die vorliegende Studie soll dem Abstimmungsprozess dienen und die aufgetretenen Fragen weitgehend klären. Teil der Studie ist weiterhin eine Überarbeitung der Probenahmerichtlinie hinsichtlich der Anforderungen geänderter Rahmenbedingungen.

5. Erläuterungen zu den Aufgabenstellungen und Ziele der einzelnen Aufgabenpakete

Die oben aufgeführten Fragestellungen wurden in Form einzelner Arbeitspakete (AP) ausgearbeitet, deren Hintergrund und Zielstellung im Folgenden näher erläutert wird.

5.1. AP 1: Kontamination der Bodenproben durch Entnahme- und Aufbereitungsgeräte

Während der Probenahme und –aufbereitung kommt das Probenmaterial mit einer Reihe von Gerätschaften (z. B. Hülsenbohrer, Stechrahmen, Messer, Mischwannen, Siebe etc.) in Kontakt. Es war deshalb zu prüfen, ob ein praxistypischer Kontakt der genannten Geräte zu einer nachweisbaren bzw. signifikanten Verunreinigung der Proben führt. Die Untersuchungen wurden auf Geräte beschränkt, die einer hohen mechanischen Beanspruchung bei ihrem Einsatz ausgesetzt sind, da nur dabei mit einer möglichen Verunreinigung des Probenmaterials durch Metallabrieb gerechnet wurde.

5.2. AP 2: Entwicklung strukturerhaltender Probenahme und Aufbereitungsverfahren unter Verzicht auf den Einsatz der Cryomühle

Bei der Untersuchung von Böden unter Gesichtspunkten ihrer Beurteilung als Umweltmedium spielen neben Gesamtgehalten an Stoffen häufig auch Fraktionen, die z. B. bestimmten Bindungsformen oder operationell definiert bestimmten Wirkungspfaden zugeordnet werden, eine Rolle. Entsprechende Methoden sind bereits seit längerem etabliert und haben Eingang in gesetzliche und untergesetzliche Regelungen gefunden (BBodSchV, Normen). Die Beurteilung von Bindungsverhältnissen und der potentiellen ökologischen Wirkung (z.B. Mobilität) von Stoffen in Böden erfordert die möglichst weitgehende Erhaltung der Struktur der festen Bodensubstanz (Mineralpartikel, Humus). Hierzu sollten zumindest die Primärpartikel des Feinbodens (Sand, Schluff, Ton) und wenn möglich Feinaggregate intakt bleiben. Das Zerreiben oder Zermahlen der Teilchen verändert sowohl physikalischen Eigenschaften wie die spezifische Oberfläche als auch die chemische Beschaffenheit der für den Stoffaustausch zur Verfügung stehenden Oberflächen (z.B. Erzeugung frischer Bruchkanten). Entsprechendes gilt auch für die in Böden enthaltenen Organismen, die durch einen Mahlvorgang ebenfalls zerstört oder verändert werden können und deren Archivierung im Rahmen der UPB gleichermaßen von Interesse ist. An Bodenmaterialien, die einen Mahlvorgang durch die Cryomühle erfahren haben, können keine Untersuchungen strukturgebundener Parameter durchgeführt werden. Damit würde ein erheblicher Verlust an archivierter Information verloren gehen.

Die Veranlassung in der Probenahmerichtlinie einen Mahlvorgang auch für Bodenproben vorzusehen, war die dabei erreichbare Homogenisierung der Mischprobe während des Mahlens und die Tatsache, dass sich aus feinkörnigen Materialien generell einfacher untereinander homogene Teilproben herstellen lassen als aus grobkörnigen. Je gröberkörniger ein Material ist, desto größer müssen die Teilprobenmengen sein, um repräsentativ für die Gesamtprobe zu sein.

Das Ziel dieses Arbeitspaketes war es deshalb eine Probenahme- und Aufbereitungstechnik zu entwickeln, die eine Homogenisierung des Feinbodens (< 2 mm) ohne Mahlung ermöglicht und gleichzeitig ein Einfrieren im Gelände zulässt, ohne dass Klumpen entstehen, die nur mit erheblichem mechanischen Aufwand zu zerkleinern sind.

5.3. AP 3: Ermittlung der Repräsentativität der Siebfraction < 2 mm bei nicht quantitativer Siebung

Mit Einführung eines Siebungsverfahrens zur Gewinnung der Feinbodenfraktion (< 2 mm) stellt sich die Frage nach der Repräsentativität einer gesiebten Teilmenge dieser Fraktion für die gesamte Siebfraction. Je nach Bodenzustand - insbesondere Feuchte - ist eine quantitative Siebung insbesondere unter Vermeidung starker mechanischer Beanspruchung von Boden und Gerät nicht möglich. Die Teilsiebung ist in ihrer Art nicht standardisierbar bzw. reproduzierbar (gleichbleibender Anteil der Gesamtfraction < 2 mm). Aus diesem Grund ist zu prüfen, ob sich hinsichtlich wesentlicher Parameter Unterschiede zwischen der Teilsiebfraction und der Gesamtsiebfraction ergeben. Ziel dieses Arbeitspaketes war es daher festzustellen, ob eine Teilsiebfraction < 2mm als repräsentativ für die Gesamtsiebfraction < 2mm angesehen werden kann.

5.4. AP 4: Überprüfung der Homogenität und Repräsentativität der eingelagerten Teilproben unter Berücksichtigung methodischer Änderungen der Probenahme

In der Diskussion der vorliegenden Probenahmerichtlinie und der erforderlichen Modifikationen und Ergänzungen zeigte sich methodischer Klärungsbedarf hinsichtlich der zu erwartenden bzw. der angestrebten Qualität der Archivproben, der sich teilweise aus methodischen Änderungen ergibt, teilweise auch ungeklärte Fragen der vorhandenen Richtlinie aufgreift. Insbesondere der Verzicht auf das Mahlen geht mit erhöhten Anforderungen an die Sicherstellung bzw. Repräsentativität der archivierten Einzelproben einher.

Im AP 4 sollte daher der Nachweis geführt werden, dass die Proben untereinander ausreichend homogen sind und damit jede Einzelprobe repräsentativ für die Gesamtprobe ist.

5.5. AP 5: Erfassung von chemischen und biologischen Veränderungen der Proben als Folge von Aufbereitung und Tiefkühlung

Bei der Aufarbeitung der Bodenproben kann es zur Veränderung von organischen, mineralischen und biologischen Strukturen kommen. Neben dem nunmehr aus dem Methodenspektrum herausgenommenen Cryo-Mahlvorgang, können vor allem während der Einfrier- und Auftauprozesse unerwünschte Veränderungen der Proben hervorgerufen werden, die gerade vor dem Hintergrund der Zielsetzung, die Materialstruktur weitgehend zu erhalten (Verzicht auf den Mahlvorgang) an Bedeutung gewinnt. Im vorliegenden Arbeitspaket geht es darum, diese Effekte zu untersuchen und davon ausgehend eine methodische Optimierung im Sinne der schonenden Probenbehandlung zu entwickeln.

AP 5a: Ermittlung von Effekten als Folge des Tiefgefrierens auf biologische Strukturen und Entwicklung geeigneter Lagerbedingungen für Bodenproben im Hinblick auf biologische Parameter

Bislang gibt es keine systematischen Untersuchungen, wie sich Einfrieren und Auftauen auf die Bodenmikroflora und Bodenfauna auswirkt. Im Freiland kommt es im Laufe eines Jahres in unseren Breiten im Boden zu Minustemperaturen, die von Bodenorganismen kompensiert werden müssen. Untersuchungen im Rahmen eines vom BMBF-geförderten Projektes (FKZ 1471075: Biologische Bodensanierung – Beurteilung des Langzeitverhaltens / der Remobilisierung festgelegter Schadstoffe) zeigten, dass bei der Simulation von Jahreszyklen kurzzeitige

Frostperioden (-20 °C) mit anschließenden Sommerperioden (+ 25 °C) die mikrobielle Aktivität (exemplarische Erfassung der Nitrifikation und mikrobiellen Atmung) in zwei Böden nicht negativ beeinträchtigen. Soll die mikrobielle Aktivität im Boden erhalten bleiben, wird empfohlen, die Proben bei -20 °C ungesiebt einzufrieren und sie vor der Analyse innerhalb von ca. 5 Tagen bei 4 °C aufzutauen. Zwischen Siebung bzw. Einstellen des Wassergehaltes und Analyse der Probe sollte ein Zeitraum von ca. einer Woche eingehalten werden [ÖHLINGER, 1993a]. Für Aktivitätsbestimmungen kann ein Lagerzeitraum von mindestens 24 h bei 20 °C notwendig sein (z. B. Bodenatmung, Nitrifikation [ÖHLINGER, 1993b]). Für Untersuchungen zur Struktur der Bodenmikroflora mit molekularbiologischen Methoden (DNA-Analysen) bzw. mit biochemischen Methoden (PLFA) liegen zur Zeit keine gesicherten Erkenntnisse über die Art des Auftauverfahrens vor. Die Erfassung der Bodenbiozönose erfolgt bisher grundsätzlich an frischen Bodenproben. Unklar ist, ob in cryokonservierten Bodenproben die Bodenfauna (z. B. Nematoden) nach längerer Lagerdauer noch bestimmbar ist.

Ziel dieses Arbeitspaketes ist es daher, exemplarisch an zwei unterschiedlichen Organismengruppen (Mikroorganismen, Nematoden) verschiedene Formen des Einfrierens und Auftauens zu untersuchen, um ein schonendes Verfahren zu ermitteln, das auch nach einer längeren Lagerperiode noch Informationen über Struktur und Funktion (Mikroorganismen) bzw. Struktur (Nematoden) der ursprünglichen Biozönose ermöglicht.

AP 5b: Ermittlung von Effekten des Tiefgefrierens auf abiotische Parameter (z.B. extrahierbare Anteile) und Entwicklung geeigneter Lagerbedingungen für Bodenproben im Hinblick auf bodenchemische Parameter

Die Einwirkung der Temperatur auf Bodenbestandteile zählt zu den sogenannten bodenbildenden Faktoren. Die unterschiedlichen mineralischen Bestandteile von Boden und Substrat/ Ausgangsgestein reagieren mit stoffspezifisch unterschiedlicher Ausdehnung und Kontraktion auf Temperaturunterschiede. Die Folge davon sind Spannungen in heterogenen Materialien (z.B. multimineralische Gesteinspartikel der Sandfraktion aus Granit), die wesentliche Ursache der physikalischen Verwitterung (z.B. Tonbildung) sind. Die Folge ist eine Veränderung der Korngrößenverteilung und, insbesondere relevant für die chemischen Eigenschaften von Böden, die Entstehung „frischer“ Mineraloberflächen. Die organische Substanz von Böden kann ebenfalls durch Gefrier- und Auftauvorgänge verändert werden. Hierbei spielt die Bildung von Eiskristallen und deren mechanische Einwirkung auf organische Strukturen eine Rolle. Die Folge kann beispielsweise die Freisetzung von komplexierenden oder lösungsvermittelnden, löslichen organischen Substanzen (Stichwort DOM, „dissolved organic matter“) sein. Derartige Veränderungen können bei oberflächengebundenen Reaktionen (Sorption, Desorption usw.) von Bedeutung sein.

In diesem Arbeitspaket sollte daher untersucht werden, ob die Lagerbedingungen einen Einfluss auf abiotische Bodenparameter haben.

5.6. AP 6: Möglichkeiten und Notwendigkeit der Beprobung, Untersuchung und Lagerung von Unterböden

Die bisherige in der Probenahmerichtlinie festgelegte Konzeption berücksichtigt ausschließlich den obersten Horizont des Mineralbodens (A-Horizonte) und zusätzlich bei Waldböden die darüber liegende Auflage. Diese Vorgehensweise begründet sich mit der Annahme, dass sich Veränderungen des Stoffbestandes der Böden, vor allem insofern sie im Zusammenhang mit anthropogenen Einträgen stehen, überwiegend in der obersten Bodenschicht widerspiegeln, während die Stoffkonzentrationen der Unterböden über längere Zeiträume konstant bleiben. Diese

Annahme ist allerdings zumindest in Hinblick auf die im UPB-Probenahmeprogramm Böden dominierenden Waldstandorte in Frage zu stellen. In den mäßig bis stark sauren Oberböden und Auflagen von Wäldern ist je nach Standort mit einem vergleichsweise intensiven Verwitterungs- und Auswaschungsmilieu zu rechnen. Wesentliche Ursache sind die hohe Acidität, die erhöhte Konzentration an organischen Komplexbildnern und Lösungsvermittlern, das hohe Austauschvermögen mehrwertiger Kationen (Al^{3+} , z.T. Fe^{3+}) an den Kationenaustauschplätzen und die u.U. intensive Verwitterung von Mineralen. Dies gilt insbesondere für niederschlagreiche Standorte auf Substraten, die der Versauerung einen geringen Widerstand entgegensetzen (z.B. Bayerischer Wald, Harz)

Die Einbeziehung tieferer Bodenschichten bringt diesbezüglich und generell einen deutlichen Zuwachs an Informationen mit sich. Folgende Aspekte haben im aktuellen Abstimmungsprozess an Bedeutung gewonnen:

1. Die Stoffkonzentrationen in Unterböden und Untergrund und deren zeitliche Veränderung werden aktuell im Zusammenhang mit der Verabschiedung der BBodSchV und dem als prioritär gekennzeichneten Forschungsbedarf im Bereich „Bodenschutz“ intensiv diskutiert (Stichwort „Vorsorgewerte Unterböden/ Untergrund“).
2. Die über Zeitreihenmessungen festgestellten Veränderungen des Stoffbestandes von Oberböden lassen sich kaum einer eindeutigen Ursache (z.B. Immission von Schwermetallen über den Luftpfad) zuordnen, wenn keine Stoffbilanzierung über eine ausreichende Profiltiefe möglich ist. Gerade in den mäßig bis stark sauren Oberböden von Wäldern, die einen erheblichen Anteil der UPB-Standorte ausmachen, ist auch in relativ kurzen Zeiträumen mit einer relevanten Verlagerung von Metallen in tiefere Bodenschichten zu rechnen.

Ziel dieses Arbeitspaketes war deshalb die Erarbeitung eines, mit vertretbarem Aufwand umsetzbaren, Konzeptes für die Gewinnung einer Unterbodenprobe im Rahmen der 4-jährigen Routinebeprobung.

5.7. AP 7: Abschließende inhaltliche und redaktionelle Überarbeitung der Probenahmerichtlinie

Die in den Arbeitspaketen 1 bis 6 erarbeiteten bzw. überarbeiteten Methoden sind abschließend in die Probenahmerichtlinie zu integrieren und zu erläutern. Die überarbeitete und abgestimmte Richtlinie wird dann zur Grundlage der Routinebeprobung und ermöglicht eine abschließende Kalkulation des Kostenaufwandes im Routinebetrieb.

6. Material und Methoden

6.1. Material

6.1.1. Auswahl der Böden

Die Auswahl der Böden erfolgte aufgrund der Anforderungen der einzelnen Arbeitspakete. Eine schnelle Übersicht ist der Tabelle 6.1 zu entnehmen.

Tabelle 6.1: *In den Arbeitspaketen verwendete Böden*

| Bezeichnung | AP1a | AP1b | AP2 | AP3 | AP4 | AP5a | AP5b |
|-----------------|------|------|-----|-----|-----|------|------|
| Institut | X | | | | | | |
| Großpalmberg I | X | | | | | | |
| Düben OB | | X | X | X | | | X |
| Düben UB | | X | X | X | | | X |
| Leipzig OB | | X | X | X | | | X |
| A17 OB | | X | X | X | | | X |
| A18 UB | | X | X | X | | | X |
| Klosterwald UB | | X | X | X | | | X |
| Kiel | | | | | | X | |
| Scheyern | | | | | | X | |
| Großpalmberg II | | | | | X | | |
| Düben 0-10 cm | | | | | X | | |
| Leipzig 0-10 cm | | | | | X | | |

Für AP 1a (Kontamination durch Hülsenbohrer) wurden zwei Böden mit hohem Skelettgehalt gewählt, da bei diesen mit einer großen mechanischen Belastung des Hülsenbohrers und einem verstärkten „Abrieb“ von Metallpartikeln gerechnet wurde. Der Bodenauswahl für AP 1b (Kontamination bei der Siebung), AP 2 und AP 3 sowie AP 5 mit Ausnahme der biologischen Untersuchungen wurde eine Matrix aus den drei Hauptbodenarten (Sand, Schluff, Ton) und zwei Humusgehalten (niedrig, hoch) zugrunde gelegt. Nach Sichtung des vorhandenen Datenmaterials zeigte sich jedoch, dass in den geplanten Probenahmegebieten keine Tonböden mit hohem Humusgehalten vorkommen. Daher wurde auf die Kombination Tonboden mit hohem Humusgehalt verzichtet und stattdessen drei schluffreiche Böden, davon ein Unterboden, mit niedrigem, mittlerem und hohem Humusgehalt beprobt. Die Böden für AP 1b sollten (weitgehend) skelettfrei sein, um in der Kontrollvariante auf eine Siebung verzichten zu können. Für die biologischen Fragestellungen (AP 5a) von AP 5 wurde aufgrund des hohen Untersuchungsaufwandes die Zahl der untersuchten Böden auf zwei reduziert, wobei je ein sandiger und ein schluffiger Oberboden ausgewählt wurden, die unabhängig von den übrigen Böden beprobt wurden. Bei der Auswahl der Böden für AP 4 (Homogenität von Archivproben) wurde neben unterschiedlichen Bodenarten auch die unterschiedliche Flächenheterogenität berücksichtigt.

6.1.2. Böden

Die bodenkundlichen Grundparameter der verwendeten Böden sind in Tabelle 6.2 dargestellt.

AP 1a

Beim Boden „Institut“ handelt es sich um den Oberboden eines Braunerde-Rankers auf dem Instituts-Gelände aus geschiefertem Tonstein mit hohem Skelettgehalt. Das Skelettmaterial besteht aus Schieferbruchstücken, die überwiegend vertikal ausgerichtet sind.

Der Boden „Großpalmberg I“ ist der Oberboden einer Braunerde aus Material der oberen Süßwassermolasse im Probenahmegebiet „Oberbayerisches Tertiärhügelland“. Beim Skelettmaterial handelt es sich um Kiese unterschiedlicher Korngrößen.

Tabelle 6.2: Bodenkundliche Grundcharakteristik der verwendeten Böden.

| Bezeichnung | Sand | Schluff | Ton | Skelett | pH | C _{org} |
|-----------------|------|---------|-----|---------|-------|------------------|
| Institut | 320 | 450 | 230 | 67 | n. b. | n. b. |
| Großpalmberg I | 599 | 306 | 95 | n. b. | 3,0 | 32 |
| Düben OB | 682 | 287 | 31 | n. b. | 3,4 | 70 |
| Düben UB | 778 | 195 | 27 | 9 | 3,8 | 6 |
| Leipzig OB | 190 | 513 | 297 | n. b. | 5,7 | 36 |
| A17 OB | 182 | 636 | 182 | n. b. | 5,8 | 15 |
| A18 UB | 163 | 642 | 195 | n. b. | 5,9 | 8 |
| Klosterwald UB | 113 | 443 | 444 | n. b. | 4,1 | 3 |
| Kiel | 834 | 114 | 52 | n. b. | 5,0 | 11 |
| Scheyern | 230 | 558 | 212 | 2 | 6,1 | 14 |
| Großpalmberg II | 443 | 433 | 124 | n. b. | 3,0 | 57 |
| Düben 0-10 cm | 780 | 179 | 41 | n. b. | 3,6 | 20 |
| Leipzig 0-10 cm | 178 | 458 | 364 | n. b. | 5,4 | 43 |

Angaben in g/kg Feinboden (Sand, Schluff, Ton, C_{org}), Skelett in %

AP 1b, 2, 3, 5a (abiotische Parameter)

Bei „Düben OB“ bzw. „Düben UB“ handelt es sich um den Ah- bzw. Bv-Horizont einer Braunerde aus pleistozänem Grundmoränenmaterial im Probenahmegebiet „Dübener Heide“. Beide Proben sind durch einen hohen Sandgehalt gekennzeichnet und haben einen niedrigen Skelettanteil.

Der Boden „Leipzig OB“ wurde aus dem Ah-Horizont einer Auenvega im Stadtpark Leipzig-Rosental entnommen. Das schluffreiche, skelettarme Material entstammt fluvialen Ablagerungen der Weißen Elster und weist einen hohen Gehalt an organischem Kohlenstoff auf.

Ebenfalls hohe Schluffgehalte, aber nur mittlere bzw. niedrige C_{org}-Gehalte weisen die Böden „A17 OB“ und „A18 UB“ auf. Sie wurden aus dem Ober- bzw. Unterboden zweier Schläge der FAM-Versuchsstation Klostergut Scheyern entnommen. Bei beiden Böden handelt es sich um nahezu skelettfreies Material von pseudovergleyten Braunerden aus Lößlehm.

Der aus dem Klosterwald Scheyern stammende Boden „Klosterwald UB“ hat – nach derzeitiger Datenlage – den höchsten Tongehalt aller Probenahmeflächen. Das Material wurde dem Unterboden einer Braunerde aus lehmiger Deckschicht über tonigem Molassematerial entnommen und ist weitgehend skelettfrei.

AP 5 (biotische Parameter)

Beim Boden „Scheyern“ handelt es sich um den Oberboden einer Braunerde aus Lößlehm auf der Versuchstation Kloostergut Scheyern. Der Boden entspricht in seiner Charakteristik weitgehend dem Boden „A17 OB“, der in einer Entfernung von ca. 250 m entnommen wurde.

Der Boden „Kiel“ wurde aus einer sandigen Ackerbraunerde im Bereich des Bornhöveder Seengebietes entnommen, die direkt an den geplanten Probenahmestandort für die Routinebeprobung angrenzt.

Für dieses Arbeitspaket wurde bewusst nur auf landwirtschaftlich genutzte Böden zurückgegriffen, da Waldböden für Nitrifikationsuntersuchungen aufgrund der häufig niedrigen pH-Werte ungeeignet sind. Des Weiteren können die teilweise hohen C_{org} -Gehalte die Aufreinigung für molekularbiologische Untersuchungen erschweren.

AP 4

Der Boden „Großpalmberg II“ ist der Oberboden einer Braunerde aus Material der oberen Süßwassermolasse im Probenahmegebiet „Oberbayerisches Tertiärhügelland“ und ist „Großpalmberg I“ sehr ähnlich. Allerdings ist der Skelettgehalt geringer.

„Leipzig 0-10 cm“ entspricht dem Boden „Leipzig OB“, die Probenahme war aber auf die oberen 10 cm begrenzt.

Der Boden „Düben 0-10 cm“ wurde ebenfalls aus einer Braunerde aus pleistozänem Grundmoränenmaterial im Probenahmegebiet „Dübener Heide“ entnommen. Bei der Beprobung wurden aber immer die obersten 10 cm beprobt, ohne Berücksichtigung der tatsächlichen Mächtigkeit des Ah-Horizontes. Dies ist auch am deutlich geringeren Gehalt an organischem Kohlenstoff festzustellen.

6.2. Methoden

6.2.1. AP 1: Kontamination der Bodenproben durch Entnahme- und Aufbereitungsgeräte

Die mögliche Kontamination der Bodenproben wurde nur für die Verfahrensschritte Probenahme mit Hülensbohrer (AP 1a) und Siebung (AP 1b) untersucht, da nur dabei mit relevanten Effekten aufgrund der mechanischen Beanspruchung gerechnet wurde.

6.2.1.1. Versuchsansatz

AP 1a: Um auch geringe Kontaminationen erkennbar zu machen, wurde versucht, Material von den Kontaktflächen von Gerät und Boden zu isolieren und die Kontamination dadurch relativ anzureichern. Verglichen wurden die Metallkonzentrationen mit denen aus der Referenzprobe.

AP 1b: Der Einfluss der Siebung auf eine mögliche Kontamination wurde untersucht, indem die Metallkonzentrationen von praxisüblich rundlochgesiebtem Boden mit Boden verglichen wurde, bei dem die Siebung mit einem Nylonsieb stattfand.

6.2.1.2. Probenahme

AP 1a: Die Böden „Institut“ und „Großpalmberg I“ wurden mit dem Hülsenbohrer (STS = **S**plit-**T**ube-**S**ampler) in sechsfacher Wiederholung beprobt. Je Wiederholung wurden drei Bohrkern bis ca. 30 cm Tiefe entnommen. Das Material an den Kontaktflächen (Kontaktboden) wurde durch vorsichtiges Abbürsten gewonnen. Als nichtkontaminierter Referenzboden wurde Material aus dem Inneren des Bohrkerns entnommen. Zusätzlich wurde für jede Wiederholung ein kompletter Bohrkern ohne Differenzierung in Kontaktboden und Referenzboden gewonnen. Die Proben wurden bis zur Weiterverarbeitung in Plastikbeutel bei 4 °C gelagert.

AP 1b: Die Probenahme für AP 1b sowie für AP 2, 3 und 5b erfolgte mit Kunststoffspateln nach Entfernung der Auflage bzw. des Grassodens soweit vorhanden. Die Proben wurden bis zur Weiterverarbeitung in Plastikbeutel bei 4 °C gelagert.

6.2.1.3. Probenaufbereitung

AP 1a: Die Teilproben wurden luftgetrocknet und die Massenanteile an der Gesamtprobe ermittelt. Anschließend wurde die Fraktion < 2 mm mit Nylonsieben von der Skelettfraktion getrennt. Beide Fraktionen wurden bei Raumtemperatur bis zum Aufschluss des Probenmaterials in Plastikbechern gelagert.

AP 1b: Von zwei Proben (Dübener Heide UB; Leipzig OB) wurden jeweils ca. 1,5 kg Material entnommen. Das Material wurde homogenisiert und je sechs Teilproben gebildet. Die einzelnen Teilproben wurden erneut homogenisiert und in zwei Teilproben geteilt. Bei Teilprobe A wurde die Fraktion < 2 mm mit einem Rundloch-Edelstahlsieb feuchtmäßig gesiebt und anschließend luftgetrocknet. Die Teilprobe B wurde zuerst luftgetrocknet und dann mit einem 2 mm Nylonsieb gesiebt. Beide Siebfraktionen wurden bei Raumtemperatur bis zum Aufschluss des Probenmaterials in Plastikbechern gelagert.

6.2.1.4. Analytik:

Für beide Teilpakete wurden die Gesamtgehalte bzw. die mobilen Gehalte an Cd, Cr, Cu, Fe, Mo, Ni, Pb, Zn und V im Königswasserauszug [DIN ISO 11466] bzw. im Ammoniumnitratextrakt [DIN 19730] mittels ICP-OES bzw. ICP-MS bestimmt. Die statistischen Auswertungen erfolgten durch einfaktorielle Varianzanalysen mit dem Programmpaket SPSS.

6.2.2. AP 2: Entwicklung strukturerhaltender Probenahme und Aufbereitungsverfahren unter Verzicht auf den Einsatz der Cryomühle

6.2.2.1. Versuchsansatz

Im AP 2 wurde ein alternatives Aufbereitungs- und Homogenisierungsverfahren entwickelt und geprüft werden, das ohne einen Mahlvorgang auskommt. Dabei die Siebung und das Einfrieren im Gelände erfolgen, die Homogenisierung unter tiefkalten Bedingungen im Labor.

Zur Verfahrensentwicklung wurden die Böden verwendet, die auch in den Arbeitspaketen 1 a, 3 und 5 a genutzt wurden.

6.2.3. AP 3: Ermittlung der Repräsentativität der Siebfraction < 2 mm bei nicht quantitativer Siebung

6.2.3.1. Versuchsansatz

Zur Klärung der Frage der Repräsentativität von Teilsiebfraktionen sollte von den Böden eine Teilsiebfraktion, die etwa 50 % der relevanten Fraktion < 2 mm erfasst, mit einer Gesamtsiebfraktion < 2 mm verglichen werden.

Für die Untersuchungen wurden die Böden eingesetzt, die auch in den Arbeitspaketen 1 a, 2 und 5 a verwendet wurden.

6.2.3.2. Probenaufbereitung

Von den Böden wurde eine Teilmenge entnommen und gründlich homogenisiert. Danach wurden die Teilmengen halbiert. Je eine Hälfte wurde feldfeucht komplett gesiebt, die andere Hälfte nur zu etwa 50 %. Anschließend wurde das Material in N_{lin} tiefgefroren und bis zur Analyse tiefkalt gelagert.

6.2.3.3. Analytik:

An den Proben wurden die Gesamtgehalte bzw. die mobilen Gehalte an Cd, Cr, Cu, Ni und Pb, im Königswasserauszug [DIN ISO 11466] bzw. im Ammoniumnitratextrakt [DIN 19730] mittels ICP-OES bzw. ICP-MS bestimmt. Die bodenkundlichen Basisparameter Korngrößenverteilung [DIN 18123], C_{org} -Gehalt [DIN ISO 10694] und pH-Wert [DIN ISO 10390] wurden von der Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie in Stuttgart-Hohenheim bestimmt. Die Untersuchungen auf PAK und CKW wurden von der ERGO Forschungsgesellschaft in Hamburg nach Richtlinien der Umweltprobenbank durchgeführt. Die statistischen Auswertungen erfolgten durch t-tests mit dem Programmpaket SPSS.

6.2.4. AP 4: Überprüfung der Homogenität und Repräsentativität der eingelagerten Teilproben unter Berücksichtigung methodischer Änderungen der Probenahme

6.2.4.1. Versuchsansatz

Der Nachweis der Homogenität der Archivproben sollte durch chemisch-analytischen Vergleich von praxisüblich, nach der modifizierten Richtlinie gewonnenen Einzel-Archivproben geführt werden.

6.2.4.2. Probenahme

Die Beprobung erfolgte analog der geplanten Vorgehensweise nach der Richtlinie zur Bodenprobenahme. Allerdings wurde zur Vereinfachung nicht horizontweise beprobt, sondern von 0-5 cm (Großpalmberg II) bzw. von 0-10 cm (Leipzig, Dübener Heide). An drei UPB-Standorten wurden aus einer 50 x 50 m großen Fläche je 16 Teilproben nach Abtragen der Auflage entnommen. Jede Teilprobe bestand aus sechs (Großpalmberg II) bzw. vier (Leipzig, Dübener Heide) Bohrkernen. Die Einzelproben wurden in einer Wanne vereinigt, gemischt und feldfeucht auf 2 mm gesiebt. Bereits während des Siebens wurde das Material über N_{lin} eingefroren und anschließend in Essensträger überführt und unter tiefkalten Bedingungen gelagert.

6.2.4.3. Probenaufbereitung

Das Probenmaterial wurde im Backenbrecher unter tiefkalten Bedingungen erneut zerkleinert und anschließend homogenisiert. Die Homogenisierung fand allerdings per Hand statt, da der Probenmischer noch nicht für einen Einsatz unter tiefkalten Bedingungen ausgerüstet war. Aus dem Homogenat wurden Einzel-Archivproben hergestellt, die bis zur Analytik unter N_{lin} gelagert wurden.

6.2.4.4. Analytik

An je zehn Einzel-Archivproben wurden die Gesamtgehalte bzw. die mobilen Gehalte an Cd, Cr, Cu, Fe, Mo, Ni, Pb, Zn und V im Königswasserauszug [DIN ISO 11466] bzw. im Ammoniumnitratextrakt [DIN 19730] mittels ICP-OES bzw. ICP-MS bestimmt. Die bodenkundlichen Basisparameter Korngrößenverteilung [DIN 18123], C_{org} -Gehalt [DIN ISO 10694] und pH-Wert [DIN ISO 10390] wurden von der Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie in Stuttgart-Hohenheim bestimmt. Die Untersuchungen auf PAK und CKW wurden von der ERGO Forschungsgesellschaft in Hamburg nach Richtlinien der Umweltprobenbank durchgeführt. Die statistischen Auswertungen erfolgten mit dem Programmpaket SPSS.

6.2.5. AP 5: Erfassung von chemischen und biologischen Veränderungen der Proben als Folge von Aufbereitung und Tiefkühlung

6.2.5.1. Versuchsansatz

Die Auswirkungen unterschiedlicher Einfrier- und Auftauvarianten auf abiotische und biotische Parameter sollten untersucht werden.

6.2.5.2. Probenahme

Für AP 5a (biotische Parameter) wurden im Frühjahr 2001 an zwei UPB-Standorten je ca. 60 kg feldfeuchter Boden entnommen. Für AP 5b (abiotische Parameter) wurden die bereits für den AP 1a, 2 und 3 verwendeten Böden genutzt.

6.2.5.3. Probenaufbereitung

AP 5a: Das Bodenmaterial wurde feldfeucht auf 2 mm gesiebt. Nach TS-Bestimmung und Bestimmung der Wasserhaltekapazität (WHK) wurde das Material auf 50% WHK eingestellt und zwei Wochen bei 20 °C unter 60-80% Luftfeuchtigkeit vorinkubiert. Anschließend erfolgte die Bildung von Teilproben und die Lagerung bei unterschiedlichen Bedingungen und Auftauvarianten nach Tabelle 6.3.

Die Untersuchungen wurden mit einer Lagerdauer von ca. drei Monaten wiederholt, um den Einfluss einer längeren Lagerdauer ansatzweise zu erfassen.

Die Lagerung der Bodenproben erfolgte in 2 l-Edelstahl-Essensträgern, in die jeweils 1 kg Boden (TM) eingefüllt wurde. Für jeden Probenahmetermin wurden pro Untersuchungsvariante 2 Gefäße vorbereitet.

Tabelle 6.3: Lagerbedingungen und Auftauvarianten für AP 5

| Probe | Auftauen |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| 1. Gesiebte Probe, Untersuchung innerhalb einer Woche nach Probenvorbereitung | entfällt |
| 2. Langsam einfrieren: -18 °C Lagerung: 14 d | 3 d 4 °C, 3 d Raumtemperatur 1 d Brutschrank (20 ± 2 °C) |
| 3. Langsam einfrieren (-18 °C), nach ca. 1 Woche mit N ₂ überschichten; Lagerung bei N ₂ für 1 Woche | 3 d 4 °C, 3 d Raumtemperatur 1 d Brutschrank (20 ± 2 °C) |
| 4. Schockgefrieren (N ₂) Lagerung: 14 d | 3 d 4 °C, 3 d Raumtemperatur 1 d Brutschrank (20 ± 2 °C) |

Die Probenbezeichnung der einzelnen Varianten lautet:

Ansatz A: 0-Wert-Bestimmung (Bezugsgröße)

Ansatz B I Einfrieren bei -18 °C, Lagerung zwei Wochen
 B1 *Auftauen*: 1 Tag bei 20 ± 2 °C, Aufarbeiten
 B2 *Auftauen*: 3 Tage bei 4 °C anschließend 3 Tage bei 20 ± 2 °C
 II Einfrieren bei -18 °C, Lagerung für einige Monate
 B3 *Auftauen*: 1 Tag bei 20 ± 2 °C, Aufarbeiten
 B4 *Auftauen*: 3 Tage bei 4 °C anschließend 3 Tage bei 20 ± 2 °C

Ansatz C I Einfrieren bei -18 °C, Lagerung eine Woche; anschließend eine Woche Lagerung in flüssigem N₂
 C1 *Auftauen*: 1 Tag bei 20 ± 2 °C, Aufarbeiten
 C2 *Auftauen*: 3 Tage bei 4 °C anschließend 3 Tage bei 20 ± 2 °C
 II Einfrieren bei -18 °C, Lagerung eine Woche.; Anschließend Lagerung für einige Monate in flüssigem N₂
 C3 *Auftauen*: 1 Tag bei 20 ± 2 °C, Aufarbeiten
 C4 *Auftauen*: 3 Tage bei 4 °C anschließend 3 Tage bei 20 ± 2 °C

Ansatz D I Schockgefrieren mit flüssigem N₂, Lagerung zwei Wochen
 D1 *Auftauen*: 1 Tag bei 20 ± 2 °C, Aufarbeiten
 D2 *Auftauen*: 3 Tage bei 4 °C anschließend 3 Tage bei 20 ± 2 °C
 II Schockgefrieren mit flüssigem N₂; Lagerung für einige Monate
 D3 *Auftauen*: 1 Tag bei 20 ± 2 °C, Aufarbeiten
 D4 *Auftauen*: 3 Tage bei 4 °C anschließend 3 Tage bei 20 ± 2 °C

AP 5b: Die Proben wurden ebenfalls feldfeucht auf 2 mm gesiebt und der Wassergehalt und die WHK bestimmt. Anschließend wurden Teilproben auf unterschiedliche Wassergehalte (ca. 10 % WHK bzw. 60 % WHK) eingestellt und für zwei Wochen in unterschiedlichen Varianten nach Tabelle 6-3 eingelagert. Weitere Teilproben wurden für ca. ein halbes Jahr gelagert, um Langzeiteffekte der Lagerung feststellen zu können.

6.2.5.4. Analytik

6.2.5.4.1. Mikrobiologische Aktivitätsbestimmungen

Mikrobielle Atmung

Die Atmung wurde nach der Richtlinie DIN ISO/DIS 17155 [2000] im Sapromaten bestimmt. Für die Bestimmung der Basalatmung wurden 100 g der Probe (Frischgewicht) eingewogen und bei 20 °C in einem geschlossenen System (Sapromat: Voith, Heidenheim) inkubiert. Die Respirationkurve wurde durch die kontinuierliche Messung der O₂-Aufnahme erstellt. Im Anschluss an die 5-tägige Messung der Basalatmung wurde die substratinduzierte Atmung bestimmt. Dazu wurde der Probe gemäß der Richtlinie 0,2 g eines Glukosegemischs [Glukose-Monohydrat (88 g) + (NH₄)₂SO₄ (13 g) + KH₂PO₄ (2 g)] je in der Einwaage enthaltenem Gramm organischer Substanz als Substrat zugesetzt und die Messung der O₂-Aufnahme fortgesetzt, bis eine exponentielle Phase eindeutig erkennbar war. Die exponentielle Phase charakterisiert die Vermehrung der Mikroorganismen.

Für die Auswertung wurde jeweils der lineare Bereich der Sauerstoffaufnahmekurve herangezogen. Die Untersuchungen wurden in drei Parallelen durchgeführt.

Potentielle Ammoniumoxidation

Die potentielle Ammoniumoxidation wurde nach der Richtlinie ISO/CD 15685 bestimmt. Die Methode basiert auf der Bildung von Nitrit aus Ammoniumsulfat, wobei der Zusatz von Natriumchlorat die Weiteroxidation des Nitrits zu Nitrat hemmt.

Es wurden 25 g der Probe (Trockengewicht) in 100 ml-Erlenmeyerkolben gefüllt, mit 100 ml Substratlösung versetzt, kurz mit der Hand geschüttelt und anschließend in einem Inkubationsschüttler bei 25 °C inkubiert. Die Probenahme erfolgte nach zwei und sechs Stunden. Aus der Suspension wurden 10 ml entnommen, diese sofort mit 10 ml Kaliumchlorid-Lösung versetzt und anschließend über einen Faltenfilter filtriert.

Für die Analyse des Nitrits wurden 5 ml des Filtrats mit 3 ml NH₄Cl-Puffer und 2 ml Farbreagenz versetzt, geschüttelt und die Absorption nach 15 min bei 530 nm am Photometer erfasst.

Als Maß für die potentielle Ammoniumoxidation dient die von einem Gramm Boden abgegebene Menge an NO₂-N (µg N*g TM⁻¹), die durch die Differenz des Nitrit-N-Gehalts nach sechs und nach zwei Stunden gebildet und durch die Zeit (4 h) dividiert wurde.

Die Untersuchungen fanden in drei Parallelen statt.

DMSO-Reduktion

Die Bestimmung der Dimethylsulfoxid-Reduktion erfolgte nach KANDELER [1993]. 0,5 g naturfeuchter Boden wurde in drei Reaktionsflaschen eingewogen und mit DMSO-Lösung versetzt. Eine vierte Probe wurde anstelle der Substratlösung Wasser zugegeben. Alle Flaschen wurden mit Septen gasdicht verschlossen und 3 h bei 30 °C inkubiert. Anschließend wurde ein geeignetes Volumen der Gasphase entnommen und gaschromatographisch bestimmt. Die Angabe des Ergebnisses erfolgte in ng DMS pro Gramm TM und Stunde.

6.2.5.4.2. Struktur der mikrobiellen Biozönose

PLFA-Bestimmung

50 g (entsprechend TM) einer frischen Bodenprobe werden nach Dotierung mit 1,2-Distearoyl-D70-3-sn-Glycerophosphatidylcholine (Deuterierter interner Standard) mit einem Gemisch aus 250 ml Methanol, 125 ml Chloroform und 100 ml 0,05 m Phosphat-Puffer pH 7,4 (Verhältnis 2 : 1 : 0,8) für zwei Stunden geschüttelt. Anschließend werden 125 ml Wasser und 125 ml Chloroform zugegeben um eine Phasentrennung zu erzielen. Die organische Phase wird abgetrennt, über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotationsverdampfer auf ca. 1 ml eingengt. Das Konzentrat wird auf eine SiO₂-Festphasensäule gegeben und fraktioniert mit Chloroform, Aceton und Methanol eluiert. Die Methanol-Fraktion, welche die Phospholipide enthält, wird am Rotationsverdampfer einrotiert und anschließend im Stickstoffstrom bis nahe zur Trockne eingengt.

Zur Freisetzung der den Fettsäuren entsprechenden Methylester aus den Phospholipiden, wird eine alkalische Hydrolyse mit Kaliumhydroxid in Methanol durchgeführt. Die Fettsäuremethylester werden anschließend nach Neutralisation des Reaktionsgemisches mit Essigsäure mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und für die GC-MS Analyse auf ca. 1 ml eingengt.

Die analytischen Bedingungen für Trennung und Nachweis der Fettsäuremethylester sind in der nachfolgenden Tabelle 6.4 zusammengefasst.

Tabelle 6.4: Analytische Bedingungen für Trennung und Nachweis der Fettsäuremethylester

| | |
|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Gaschromatograph: | HP 5890 Serie II plus |
| Injektor-Temperatur: | 280°C |
| Trennsäule: | CP WAX 52 CB, 15 m x 0,32 mm, 0,15 µm Filmdicke |
| Trägergas: | Wasserstoff |
| Temperaturprogramm: | Start 80°C, mit 4° pro min. auf 160°C |
| Massenspektrometer: | VG 70-250SE (VG Analytical) |
| Quantifizierung: | Fläche der detektierten Peaks relativ zur Peakfläche des internen Standards (D35 Octadecansäuremethylester) |

Durchführung der T-RFLP (Terminaler-Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus)

- DNA Isolierung aus den Bodenproben:
Nach dem Auftauen des Bodens wurden dreimal ca. 0,5 g Boden abgewogen und in ein 2 mL Reaktionsgefäß (Kit) überführt. Mit dieser Probe wurde mit dem UltraClean Soil DNA Isolation Kit von der Fa. Dionova (Cat. #12800-50 oder -100) nach dem Herstellerprotokoll verfahren und die isolierte genomische DNA in 50 µL Solution S5 (Kit) aufgenommen und mit destilliertem Wasser 1:10 verdünnt.
- Amplifizierung der 16S rDNA (=SSU rDNA, ribosomale DNA) mittels PCR (Polymerasekettenreaktion) aus der genomischen DNA:
Für die Amplifikation wurden folgende rDNA-Primer für bakterielle Domänen verwendet:
Primer 27 F: 5'-GAGTTTGATC(A/C)TGGCTCAG-3' (5'-FAM markiert)
Primer 1378 R: 5'-CGGTGTGTACAAGCCCCGGAACG-3'
Ansatz:
79 µL destilliertes Wasser
10 µL 10X-Reaktionspuffer
6 µL 25 mM MgCl₂ (Fa. Promega)
2 µL 10 mM dNTP-Mix (Fa.Promega)

1 µL Primer forward: 27 F
1 µL Primer reverse: 1378 R
1 µL Taq-Polymerase

Für eine Probe wurden 99 µL Reaktionsansatz in ein PCR-Reaktionsgefäß gegeben und 1 µL Probe zupipettiert. Die PCR wurde mit dem PCR-Cycler *Primus 96 plus* der Fa. MWG-Biotech bei folgenden Bedingungen ab: Denaturierung, 94°C, 3 min.; Zyklusbeginn; 94°C, 30 sec; Annealing, 48°C, 60 sec; Polymerisation, 72°C, 2 min; Zyklusende; 28 Zyklen, 72°C, 8 min.; Abkühlen auf 4°C.
Zur Kontrolle der PCR wurden 10 µL auf ein 1% Agarosegel aufgetragen und die DNA überprüft.

- Aufreinigen des PCR-Produkts mit dem QIAquick PCR Purifikation Kit der Fa. Qiagen:
Das PCR-Produkt wurde nach den Angaben des Herstellerprotokolls gereinigt und in 30 µL Elutions-Puffer (Kit) aufgenommen.
- Behandlung des aufgereinigten PCR-Produkts mit Restriktionsenzymen:
Das PCR-Produkt wurde 2 Stunden bei 37°C mit dem Enzym MSP I (Fa. Promega) inkubiert und in Restriktionsfragmente geschnitten. (MSP I Schnittstelle: 5'...CICGG...3' und 3'...GGCIC...5')
Ansatz für Restriktionverdau: 8 µL PCR-Produkt
1 µL 10X-Reaktionspuffer B (Fa.Promega)
1 µL MSP I (Fa.Promega)
- Durchführung der T-RFLP:
Für die Messung im Gerät wurden 10 µL des Restriktionsverdau mit 9 µL Formamid (Template Suppression Reagent, Fa. Applied Biosystems) und 1 µL „Gene-Scan™-500 TAMRA™ Size Standard“ (Applied Biosystems) pro Vertiefung einer 48er-Mikrotiterplatte vermischt. Die Messung erfolgte mit dem ABI PRISM 310 Genetic Analyzer und die Auswertung mit der Software 310 Gene Scan 3.1.2. von Applied Biosystem.

6.2.5.4.3. Nematodenbiozönose

Die Nematoden wurden nach der von GOORIS & D'HERDE [1972] entwickelten und von NIEMANN [1996] modifizierten Methode extrahiert.

Hierfür wurden die Proben mit ca. 75 ml Wasser und 4 g Kaolin aufgeschlämmt, anschließend abzentrifugiert (1.800 g; 5 min) und der Überstand durch ein Sieb (Maschenweite 0,45 µm) gegeben. Das Pellet wurde zwei weitere Male mit MgSO₄-Lösung (Dichte 1,2) aufgeschlämmt, abzentrifugiert und der Überstand abfiltriert. Die Überstände, in denen sich die Nematoden befanden, wurden vereinigt. Das Absetzen der Nematoden erfolgte unter wiederholtem leichtem Schütteln über einen Zeitraum von 1 h. Schwebende Bodenbestandteile und Wurzeln wurden von der Oberfläche entfernt und die Nematoden durch Absaugen der Flüssigkeit auf 10 ml eingengt. Nach Überführen der Restflüssigkeit in ein konisch zulaufendes Gefäß und erneutem Absetzen der Tiere erfolgte eine Einengung auf < 5 ml. Zur Fixierung der Tiere wurde 10 ml heiße (80 °C) Fixierlösung (88 ml H₂Odest + 11 ml Formalin 37 %-ig + 1 ml Propionsäure) zugegeben. Anschließend wurde das Volumen in ein Rollrandglas (20 ml) überführt, wobei das konisch zulaufende Gefäß mit Fixiermittel ausgespült wurde.

Die Erfassung der Nematodenfauna erfolgte durch 3-maliges Auszählen eines Aliquots. Die Zuordnung der Familien zu Ernährungstypen basierte auf BONGERS [1994], HUNT [1993] und SIDDIGI [2000], die Cp-Klassifizierung auf YEATES *et al.* [1993] sowie BONGERS & BONGERS [1998]. Aus arbeitstechnischen Gründen konnte die Nematodenfauna des Bodens „Scheyern“ nach Langzeitlagerung (3 Monate) allerdings nicht erfasst werden.

6.2.5.4.4. Abiotische Parameter

Von den Proben wurden nach dem Auftauen (nur Variante „Auftauen innerhalb 24 h bei 20 °C“) wässrige Eluate im Verhältnis Boden:Wasser von 1:2 hergestellt [ISO/TC 190] und nach 24 h Schütteln über Membranfilter mit 0,45 µm abfiltriert. Im Filtrat wurden Schwermetalle (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb und Zn) nach DIN EN ISO 11885 gemessen. Der DOC-Gehalt, Makronährstoffe (NO₃, NH₄, PO₄, K, Ca, Mg), der pH-Wert und die Leitfähigkeit wurden nach Fraunhofer-IME internen SOP bestimmt

7. Ergebnisse und Diskussion

7.1. AP 1: Kontamination durch Probenahme- und Aufbereitungsgeräte

7.1.1. AP 1a: Einfluss von Hülsenbohrer

Im Folgenden ist der Einfluss der Probenahme mit dem Hülsenbohrer auf die Schwermetallgehalte im Gesamtextrakt (Königswasser) bzw. auf die mobilen Gehalte (NH₄NO₃-Extrakt) dargestellt. Verglichen wurden jeweils die Mittelwerte aus sechs Wiederholungen der drei Varianten Kontaktboden (Material, das mit Hülsenbohrer direkten Kontakt hatte), Referenzboden (Material aus dem Inneren des Probenkerns) und Gesamtboden.

7.1.1.1. Gesamtgehalte (Königswasserextraktion)

In Tabelle 7.1 sind die Ergebnisse der Varianzanalysen für beide Böden dargestellt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten sind im Anhang A-1 aufgeführt.

Beim Boden „Institut“ traten keine signifikanten Unterschiede in den Mittelwerten zwischen den drei Varianten auf, da die Nullhypothese (h_0 =Mittelwerte der Varianten sind gleich) erst bei einer Signifikanz < 0,05 verworfen werden kann.

Tabelle 7.1: Signifikanzen der Varianzanalysen für die Gesamtgehalte

| | Böden | |
|----------|----------|----------------|
| | Institut | Großpalmberg I |
| Chrom | 0,472 | 0,001 |
| Molybdän | 0,259 | 0,001 |
| Nickel | 0,609 | 0,005 |
| Vanadium | 0,637 | 0,770 |
| Cadmium | 0,877 | 0,172 |
| Kupfer | 0,876 | 0,648 |
| Eisen | 0,269 | 0,616 |
| Blei | 0,638 | 0,047 |
| Zink | 0,340 | 0,019 |

(fett = signifikanter Unterschied)

Der Boden „Großpalmberg I“ zeigt dagegen statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte für die Elemente Cd, Mo, Ni, Pb und Zn. In den Abbildungen 7.1 und Abbildung 7.2 sind die Mittelwerte der drei Varianten und das 95 % Vertrauensintervall der Mittelwerte angegeben. Die unterschiedlichen Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte.

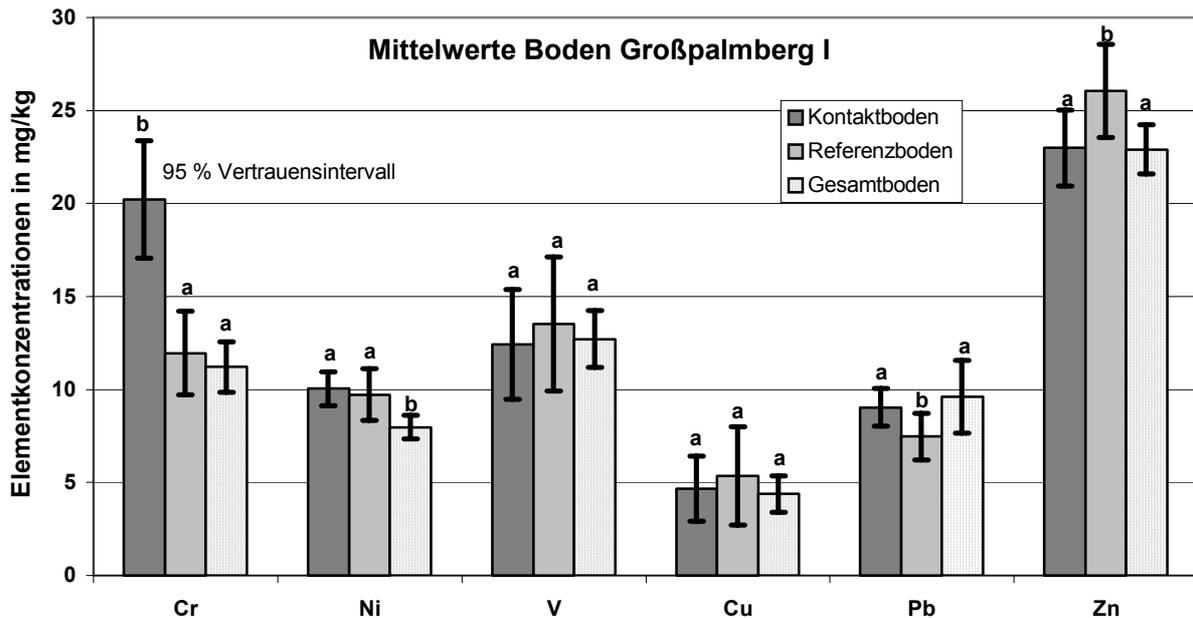


Abbildung 7.1: Mittelwerte und 95 % Vertrauensintervall der Mittelwerte der untersuchten Varianten für Chrom, Nickel, Vanadium, Kupfer, Blei und Zink

Bei Chrom und Molybdän weist der Kontaktboden erhöhte Konzentrationen im Vergleich zum Referenzboden, aber auch im Vergleich zum Gesamtboden auf. Für Nickel liegt der Mittelwert des Gesamtbodens signifikant unter den Mittelwerten für den Kontakt- und Referenzboden. Bei Blei und Zink sind die Gehalte im Referenzboden signifikant niedriger (Blei) bzw. höher (Zink) als im Kontakt- und Gesamtboden.

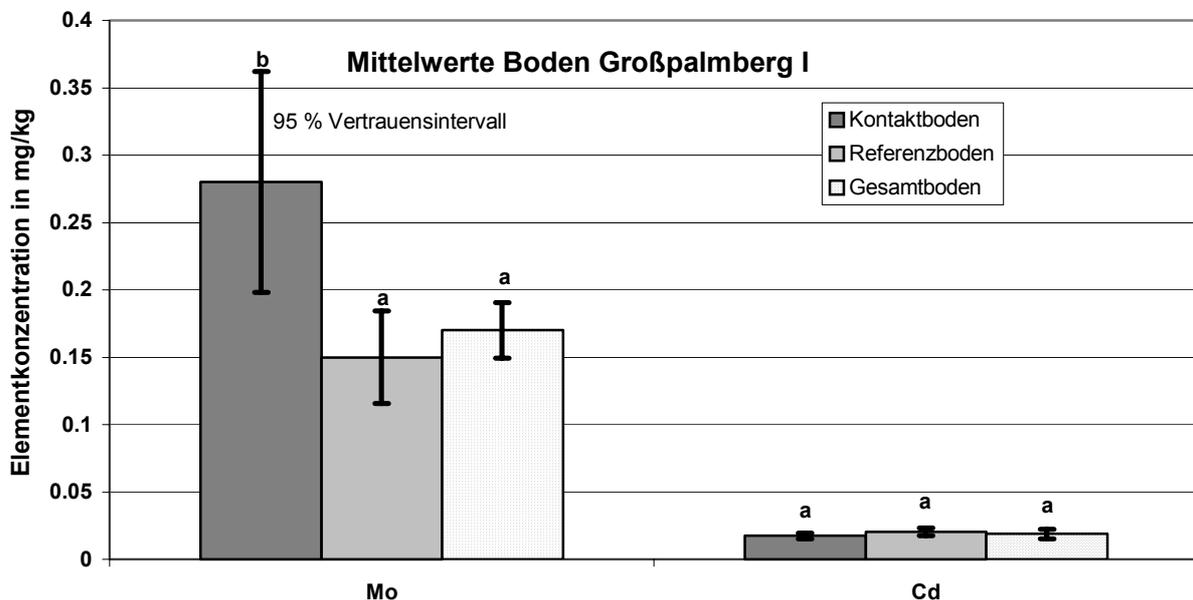


Abbildung 7.2: Mittelwerte und 95 % Vertrauensintervall der Mittelwerte der untersuchten Varianten für Molybdän und Cadmium

Die erhöhte Chromkonzentration im Kontaktboden könnte durch eine Kontamination durch den Hülensbohrer herrühren. Die Schneiden des Bohrers wurden bei der Probenahme durch das kiesige Material stark beansprucht, was durch Einkerbungen und Riefen im Schneidenteil des Hülensbohrers beobachtet werden konnte. Die mögliche Kontamination des Kontaktbodens führt allerdings nicht zu einer messbaren Erhöhung im Gesamtboden, da dieser sich im Mittelwert nicht

vom Referenzboden unterscheidet. Dies kann mit einem „Verdünnungseffekt“ erklärt werden. Der Kontaktboden umfasst nur ca. 5-7 % der Masse des Gesamtbodens < 2 mm, so dass im Gesamtboden mit einem Verdünnungseffekt um den Faktor 15 – 20 gerechnet werden kann. Die rechnerische Erhöhung der Chromkonzentration im Gesamtboden liegt damit innerhalb 95 % Vertrauensintervall und ist statistisch nicht zu erfassen.

Bei Nickel ist kein Unterschied zwischen Kontaktboden und Referenzboden festzustellen, obwohl der verwendete Stahl (Werkstoffnummer laut Gerätehersteller 1.4301) neben 18 % Chrom auch ca. 10 % Nickel enthält und dies analog zu Chrom zu einer Erhöhung der Nickelkonzentration im Kontaktboden um ca. 4 mg/kg führen müsste. Unklar bleibt, warum Nickel im Gesamtboden signifikant niedriger als in den beiden Vergleichsvarianten ist.

Die Erhöhung der Molybdänkonzentration im Kontaktboden ist kaum durch eine Kontamination zu erklären. Bei den geringen Gehalten in den Böden könnte wohl ein Molybdänanteil im Stahl im Bereich von 0,1 – 0,2 % bereits zu der festgestellten Erhöhung führen, ein Molybdänanteil in dieser Höhe müsste aber bereits in der Spezifikation des Materials [DIN EN 10088-2] angegeben werden. Der verwendete Stahl wird jedoch als molybdänfrei bezeichnet. Die Unterschiede bei Blei und Zink lassen sich ebenfalls nicht durch den Einfluss des Probenahmegerätes erklären.

7.1.1.2. Mobile Gehalte

Im NH₄NO₃-Extrakt konnte kein Molybdän bestimmt werden. Bei den statistischen Auswertungen wurden Eisen und Zink ebenfalls nicht berücksichtigt, da auf Grund von Interferenzen die Messergebnisse stärkeren Schwankungen unterlagen. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten sind im Anhang A-2 aufgeführt.

Bei den mobilen Gehalten konnten für den Boden „Institut“ keine signifikanten Unterschiede in den Mittelwerten beobachtet werden. Im Boden „Großpalmberg I“ trat nur für die Nickelgehalte ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte auf (Tabelle 7.2).

Der signifikant höhere Nickelgehalt im Kontaktboden deutet auf eine mögliche Kontamination durch den Hülsenbohrer hin, auch wenn bei Chrom keine signifikante Erhöhung zu beobachten ist (Abbildung 7.3). Ähnlich wie bei den Chromgesamtgehalten ist auch bei Nickel keine signifikante Erhöhung im Gesamtboden festzustellen. Auch hier dürfte ein Verdünnungseffekt eine Rolle spielen.

Tabelle 7.2: Signifikanzen der Varianzanalysen für die mobilen Gehalte

| | Böden | |
|----------|----------|----------------|
| | Institut | Großpalmberg I |
| Chrom | 0,956 | 0,251 |
| Nickel | 0,688 | 0,015 |
| Vanadium | 0,853 | 0,478 |
| Cadmium | 0,919 | 0,946 |
| Kupfer | 0,696 | 0,238 |
| Blei | 0,745 | 0,063 |

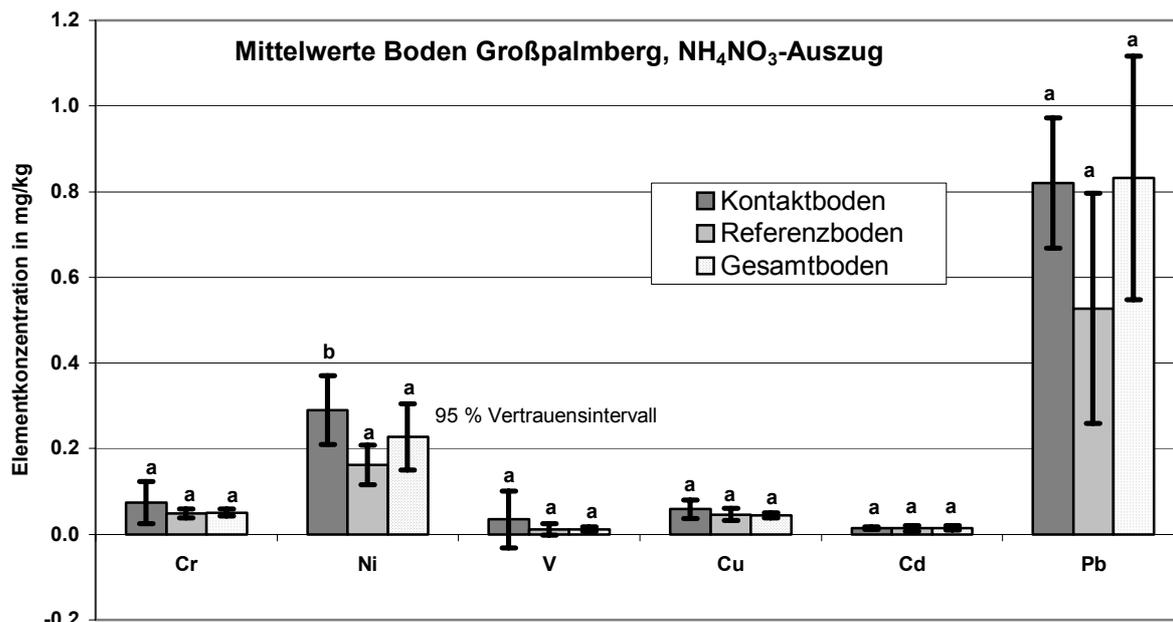


Abbildung 7.3: Mittelwerte und 95 % Vertrauensintervall der Mittelwerte der untersuchten Varianten für Chrom, Nickel, Vanadium, Kupfer, Cadmium und Blei

7.1.1.3. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der Untersuchungen lassen schließen, dass es durch den Hülsenbohrer nicht zu einer signifikanten Kontamination einer Bodenprobe kommt. Die erhöhten Werte der Chromgesamtgehalte und der mobilen Nickelgehalte im Kontaktboden in Großpalmberg weisen wohl darauf hin, dass es tatsächlich zu einem geringen Metallabrieb und dadurch zu einer Kontamination des Kontaktbodens kommen könnte. Diese Kontamination ist jedoch in Bezug auf die Gesamtprobe zu vernachlässigen, da durch den Verdünnungseffekt eine Kontamination in der Gesamtprobe nicht nachweisbar ist. In der Literatur ließen sich keine Untersuchungen zur möglichen Kontamination von Bodenproben durch die Probenahmegeräte finden. SCHULZ *et al.* [1996] weisen allerdings auf dieses Problem hin und sehen einen weiteren Forschungs- und Regelungsbedarf. In einer Verwaltungsvereinbarung zwischen der OFD Hannover und der BUNDESANSTALT FÜR MATERIALFORSCHUNG UND -PRÜFUNG [2001] wird ebenfalls auf dieses Problem eingegangen und vorgeschlagen nur das Innere des Bohrkerns zu beproben. Dies ermöglicht jedoch keine volumenbezogene Probenahme.

Im Rahmen der Probenahmeflächen der Umweltprobenbank ist der Boden „Großpalmberg I“ als Extremstandort in Bezug auf den Skelettgehalt anzusehen. Die bodenkundlichen Standortuntersuchungen lassen neben Großpalmberg nur noch an den Standorten im Harz bzw. im Nationalpark Berchtesgaden einen erheblichen Skelettanteil im Probenmaterial erwarten. Am Standort Nationalpark Berchtesgaden konnten beim Einsatz eines neuen Hülsenbohrers jedoch keine Beschädigungen in Form von Einkerbungen und Riefen festgestellt werden, die auf einen Metallabrieb schließen ließen. Möglicherweise spielen neben dem Skelettgehalt auch die Härte des Materials und die Korngröße eine Rolle. So bestand das Skelettmaterial in Großpalmberg vorwiegend aus Mittel- und Grobkies, während im Nationalpark Berchtesgaden ein höherer Feingrusanteil vorlag. Weiterhin bestehen die Kiese in Großpalmberg überwiegend aus Quarz, der eine höhere Härte aufweist als die Carbonate im Nationalpark Berchtesgaden. Es kann vermutet werden, dass die Kiese aufgrund ihrer Größe weniger leicht von der Schneide des Hülsenbohrers

verdrängt werden und dadurch und wegen ihrer größeren Härte eine stärkere Belastung auf die Schneiden ausüben als das feinkörnigere und weichere Material im Nationalpark Berchtesgaden.

7.1.2. Einfluss durch Siebgeräte

In den Königswasserextrakten konnte kein Molybdän bestimmt werden. Im NH₄NO₃-Auszug lagen die Konzentrationen für Molybdän, Chrom und Vanadium unterhalb der Bestimmungsgrenze. Die Eisen- und Zink-Konzentrationen im NH₄NO₃-Auszug wurden bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt, da auf Grund von Interferenzen die Messergebnisse unsicher waren. Verglichen wurden jeweils die Mittelwerte aus sechs Wiederholungen der beiden Varianten Teilsiebung bzw. Gesamtsiebung. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten sind in den Anhängen A-3 und A-4 aufgeführt.

7.1.2.1. Gesamtgehalte (Königswasserextrakt)

Für die Gesamtgehalte konnten im Boden „Düben UB“ keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Siebvarianten festgestellt werden (Tabelle 7.3). Beim Boden „Leipzig-Rosental“ weist Cd eine signifikante Erhöhung in der Variante „Metallsieb“ gegenüber der Variante „Nylonsieb“ auf, dies kann jedoch nicht mit einer Kontamination durch den Edelstahl begründet werden.

Tabelle 7.3: Signifikanzen der t-tests für Gesamtgehalte und mobile Gehalte

| | Gesamtgehalte | | Mobile Gehalte | |
|----------|---------------|------------------|----------------|------------------|
| | Düben UB | Leipzig-Rosental | Düben UB | Leipzig-Rosental |
| Chrom | 0,595 | 0,051 | | |
| Nickel | 0,105 | 0,511 | 0,083 | 0,860 |
| Vanadium | 0,180 | 0,518 | | |
| Cadmium | 0,829 | 0,035 | 0,374 | 0,605 |
| Kupfer | 0,978 | 0,271 | 0,002 | 0,438 |
| Eisen | 0,910 | 0,198 | | |
| Blei | 0,858 | 0,415 | 0,012 | 0,104 |
| Zink | 0,483 | 0,706 | | |

7.1.2.2. Mobile Gehalte

Im NH₄NO₃-Auszug unterscheiden sich beim Boden „Leipzig-Rosental“ die beiden Varianten nicht in den Mittelwerten. Beim Boden „Düben UB“ sind dagegen bei der Variante „Metallsieb“ erhöhte Kupfer- und Bleigehalte festzustellen (Tabelle 7.3, Abbildung 7.4).

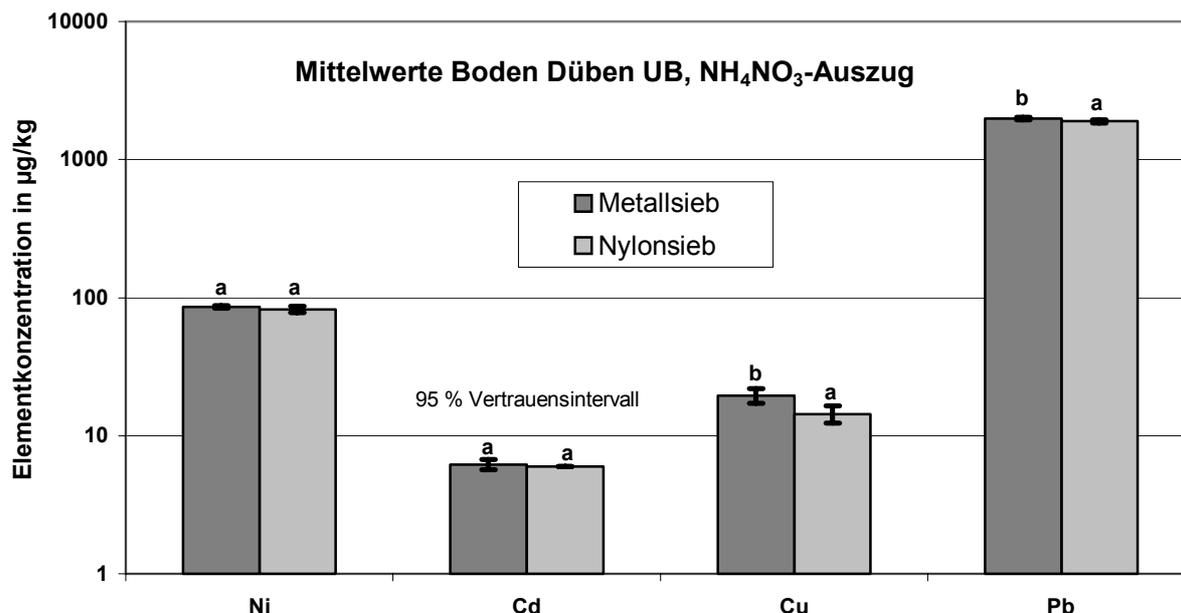


Abbildung 7.4: Mittelwerte und 95 % Vertrauensintervall der Mittelwerte der untersuchten Varianten für Nickel, Kupfer, Cadmium und Blei

Die höheren Werte für Kupfer und Blei in der Variante „Metallsieb“ können nicht mit den Materialeigenschaften der Siebe begründet werden, da diese frei von Kupfer und Blei sind. Möglicherweise sind sie jedoch auf die Siebgeometrie zurückzuführen. So fällt auf, dass bei beiden Böden die Mittelwerte der Variante „Metallsieb“ höher liegen als bei der Variante „Nylonsieb“ (Abbildung 7.4, Tabelle 7.4), auch wenn dies in der Regel nicht statistisch signifikant ist. Bei den 2 mm Rundlochsieben können Teilchen passieren, die eine maximale Querschnittsfläche von 3,14 mm² haben, während bei Nylonsieben die maximale Querschnittsfläche 4 mm² beträgt. Das heißt, dass – zumindest tendenziell – bei Nylonsieben das Korngrößenspektrum leicht zu größeren Korngrößen hin verschoben sein kann. Mit NH₄NO₃ werden nur leicht gebundene Kationen ausgetauscht und in Lösung gebracht. Die Menge der austauschbaren Kationen ist u. a. von der Korngröße abhängig und nimmt mit steigender Korngröße ab. Es ist daher möglich, dass die geringeren Mittelwerte bei den Nylonsieben durch einen höheren Anteil an grobkörnigem Material im Vergleich zu den Rundlochsieben verursacht werden. Dies könnte auch erklären warum die Unterschiede zwischen den Mittelwerten beim Boden „Düben UB“ größer sind als beim Boden „Leipzig-Rosental“, da Leipzig-Rosental überwiegend Schluff und Ton sowie kaum Skelettmaterial enthält und daher kaum eine Verschiebung des Korngrößenspektrums auftreten kann.

Tabelle 7.4: Mittelwerte (µg/kg) der mobilen Schwermetallgehalte im NH₄NO₃-Auszug

| | Düben UB | | Leipzig-Rosental | |
|---------|------------|-----------|------------------|-----------|
| | Metallsieb | Nylonsieb | Metallsieb | Nylonsieb |
| Nickel | 86,0 | 82,2 | 130,0 | 129,7 |
| Cadmium | 6,2 | 6,0 | 21,2 | 20,8 |
| Kupfer | 19,6 | 14,4 | 95,0 | 93,5 |
| Blei | 1981 | 1897 | 15,6 | 14,7 |

7.1.2.3. Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen zeigen keine Kontamination der Bodenproben bei Verwendung eines Metallsiebes, so dass keine Einwände gegen den Einsatz von Metallsieben bei der Probenaufbereitung bestehen und eine Siebung des feldfeuchten Materials im Gelände somit möglich ist. Die

bei einigen Elementen im NH_4NO_3 -Auszug statistisch absicherbaren Unterschiede in den Mittelwerten lassen sich eher auf die unterschiedliche Siebgeometrie der im Vergleich verwendeten Siebe zurückführen. Dies könnte durch den Einsatz von Drahtgewebesieben, welche die gleiche Geometrie wie die Nylonsiebe aufweisen, vermieden werden. Allerdings ist bei Drahtgewebesieben mit einem erhöhten Materialverschleiß aufgrund geringerer Stabilität der Siebe zu rechnen.

7.2. AP 2: Entwicklung strukturerhaltender Probenahme- und Aufbereitungsverfahren unter Verzicht auf den Einsatz der Cryomühle

Der Verzicht auf die Cryomahlung macht eine veränderte Probenaufbereitung nötig, die einen großen Teil des Aufbereitungsaufwandes vom Labor ins Gelände verlegt. Zur Homogenisierung des Materials muss eine Gewinnung der Feinfraktion < 2 mm im Gelände erfolgen. Gleichzeitig muss bei der Aufbereitung auch berücksichtigt werden, dass das Probenmaterial nach der Probenahme möglichst schnell in die tiefkalte Lagerung überführt wird. Im Rahmen des Arbeitspakets 2 wurde daher eine Aufbereitungstechnik entwickelt, die

- Eine Gewinnung der Feinfraktion < 2 mm durch Siebung im Gelände
- Schnelles Einfrieren nach der Siebung
- Schonende Homogenisierung der tiefgefrorenen Probe im Labor

umfasst.

7.2.1. Siebung

Zur Siebung der Proben werden Edelstahlrundlochsiebe mit einem Durchmesser von 2 mm verwendet. Bei Vorversuchen zeigte sich, dass eine Vorsiebung durch ein 5 mm Sieb von Vorteil ist, da dadurch gröbere Wurzelbestandteile und Grobskelettmaterial entfernt werden kann und die Siebung auf 2 mm erheblich erleichtert wird. Die Siebung war bei allen Proben möglich, der Zeitaufwand für die Siebung ist aber stark vom Korngrößenspektrum und der Bodenfeuchte abhängig. Sandige Böden (Dübener Heide OB, UB) konnten schnell gesiebt werden. Dies lag zum einen daran, dass diese Böden kaum bindig sind, zum anderen auch am relativ geringen Wassergehalt (20 bzw. 36 % der Wasserhaltekapazität (WHK)). Mit steigender Bindigkeit – Zunahme des Schluff- und Tongehalts – und steigendem Wassergehalt (40 – 60 % der WHK) stieg der Zeitbedarf für die Siebung an. Vor allem bei der tonreichsten Probe (Klosterwald, UB), die auch den höchsten Wassergehalt aufwies, musste das Material durch den Siebboden gedrückt werden. Dabei entstanden einige cm lange, „sphagetti“-ähnliche Bröckel, die nachträglich zerkleinert werden müssen. Bei den Probenahmen in Scheyern und Leipzig-Rosental für AP 4 zeigte sich, dass die Siebung auch bei leichten Regenfällen vor und während der Probenahme angewendet werden kann. Nach ergiebigen Niederschlägen und nahezu Wassersättigung ist eine Siebung aber nicht mehr möglich. Allerdings ist auch die eigentliche Probenahme bei sehr nassen Bedingungen nicht mehr durchführbar.

7.2.2. Schnelles Einfrieren nach der Siebung

Zum schnellen Einfrieren nach dem Sieben sollte ein einfaches Verfahren entwickelt werden, das auch im Gelände zum Einsatz kommen kann. Die in Abbildung 7.5 dargestellte Anordnung hat sich bei Versuchen als am günstigsten erwiesen. Dabei fällt das Material nach dem Sieben auf einen Auffangboden, der von unten durch Flüssig-Stickstoff gekühlt wird. Zur Kälteisolierung ist der Sieb-/Gefriersatz von einer Styroporisolierung umgeben, um den Verbrauch an Flüssig-Stickstoff zu verringern.

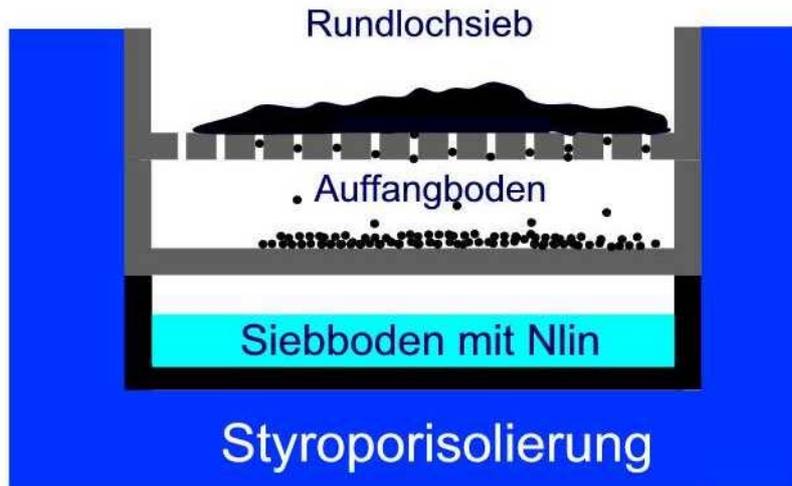


Abbildung 7.5: Schematischer Aufbau des Sieb-/Gefriersatzes

Das gefrorene Bodenmaterial kann mit Keramik oder Edelstahlspatel vom Auffangboden gelöst und in Essensträger zum Transport überführt werden. Die Schichtdicke des Material im Auffangboden sollte allerdings ca. 2 cm nicht überschreiten, da das Material sonst langsamer einfriert und es zu einer stärkeren Verklumpung der gefrorenen Bröckel kommt.

7.2.3. Schonende Homogenisierung im Labor

Die Homogenisierung der in Essensträgern gelagerten Proben erfolgt in zwei Schritten. In einem ersten Schritt werden die bei Transport und Lagerung zum Teil zusammengefrorenen Bodenpartikel durch einen Backenbrecher schonend zerkleinert. Dazu wird der Backenbrecher in einem eigens dafür konstruierten Container auf ca. -30°C heruntergekühlt. Der gesamte Bereich des Probendurchgangs (Einfülltrichter, Brechbacken) wird vor dem Brechvorgang durch Zugabe von Flüssigstickstoff auf ca. -150°C abgekühlt, so dass eine Verarbeitung der Proben im tiefkalten Zustand gewährleistet ist. Der Auffangbehälter steht in einem mit Flüssigstickstoff gefüllten zweiten Behälter, um das Probenmaterial nach dem Durchgang durch den Backenbrecher weiter tiefgekühlt zu halten. Die Bodenpartikel haben nach dem Durchgang eine Größe von ca. 2 mm und sind gut schütt- und rieselfähig.

Das Probenmaterial wird anschließend in einen Mischbehälter überführt, der ebenfalls durch einen ihn umgebenden zweiten, mit Flüssigstickstoff gefüllten Behälter gekühlt wird. In diesem Behälter erfolgt das eigentliche Homogenisieren des Materials durch ein mechanisches Rührwerk, das ebenfalls vor Einsatz tiefgekühlt wird.

Nach dem Homogenisieren können die Teilproben gebildet und in Duran-Glasflaschen zur langfristigen Lagerung eingefüllt werden.

7.3. Ermittlung der Repräsentativität der Siebfraction < 2 mm bei nichtquantitativer Siebung

Zur Klärung der Frage nach der Repräsentativität einer nichtquantitativen Siebung wurden die Mittelwerte der untersuchten Parameter einer Teilsiebfraktion mit den Mittelwerten der Gesamtsiebfraktion verglichen. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind in den Anhängen A-5 bis A-9 aufgeführt.

7.3.1. Bodenkundliche Basisparameter

Für die bodenkundlichen Basisparameter (pH, Gesamtkohlenstoff (Ct), Ton-, Schluff- und Sandgehalt) zeigten sich bei den untersuchten Böden mit einer Ausnahme keine Unterschiede zwischen den Ergebnissen einer Teil- bzw. Gesamtsiebung (Tabelle 7.5). Nur beim Boden A18, UB ist der Schluffgehalt in der teilgesiebten Proben signifikant niedriger als bei der komplettgesiebten Probe.

Tabelle 7.5: Signifikanzen der t-tests für Unterschiede in den Mittelwerten bei Teil- bzw. Gesamtsiebung für bodenkundliche Basisparameter

| Boden | pH | Ct | Sand | Schluff | Ton |
|-------------------|-------|-------|-------|--------------|-------|
| Dübener Heide, OB | 1,000 | 0,476 | 0,127 | 0,212 | 0,157 |
| Dübener Heide, UB | 1,000 | 0,199 | 0,730 | 0,604 | 0,507 |
| Leipzig, OB | 0,423 | 0,619 | 0,243 | 0,125 | 0,919 |
| A17, OB | 1,000 | 0,609 | 0,317 | 0,485 | 0,439 |
| Klosterwald, UB | 1,000 | 0,349 | 0,581 | 0,715 | 0,243 |
| A18, UB | 0,423 | 0,075 | 0,154 | 0,034 | 0,160 |

7.3.2. Schwermetalle

Da Chrom im NH_4NO_3 -Auszug bei allen Böden unterhalb der Bestimmungsgrenze lag, konnten die Ergebnisse nicht statistisch ausgewertet werden.

Tabelle 7.6: Signifikanzen der t-tests für Unterschiede in den Mittelwerten bei Teil- bzw. Gesamtsiebung für Schwermetalle

| Boden | Königswasseraufschluss | | | | | NH_4NO_3 -Auszug | | | |
|-------------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|-------|----------------------------------|-------|-------|--------------|
| | Cd | Cr | Cu | Ni | Pb | Cd | Cu | Ni | Pb |
| Dübener Heide, OB | 0,055 | 0,825 | 0,391 | 0,866 | 0,348 | 0,065 | 0,755 | 1,000 | 0,042 |
| Dübener Heide, UB | 1,000 | 0,405 | 0,313 | 0,543 | 0,608 | 1,000 | 0,939 | 0,359 | 0,742 |
| Leipzig, OB | 0,521 | 0,509 | 0,676 | 0,112 | 0,230 | 0,265 | 0,349 | 0,235 | 0,224 |
| A17, OB | 0,095 | 0,944 | 0,811 | 0,821 | 0,137 | 1,000 | 1,000 | 0,796 | 0,345 |
| Klosterwald, UB | 0,874 | 0,087 | 0,015 | 0,044 | 0,375 | 0,251 | 0,828 | 0,837 | 0,960 |
| A18, UB | 0,071 | 0,013 | 0,424 | 0,064 | 0,565 | 1,000 | 0,749 | 0,168 | 0,337 |

In den untersuchten Böden konnte bei den Schwermetallanalysen nur in vier von 54 Analysenvergleichen ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte zwischen teil- und komplettgesiebten Proben festgestellt werden (Tabelle 7.6). Im Königswasseraufschluss war der Chromgehalt bei der Gesamtsiebung des Bodens A18, UB signifikant höher als bei der Teilsiebung (Abbildung 7.6). Der Boden Klosterwald, UB wies bei der Teilsiebung signifikant höhere Werte für Kupfer und Nickel auf. Im Ammoniumnitrat-Aufschluss zeigte nur der Boden Düben, OB bei Blei einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Siebverfahren.

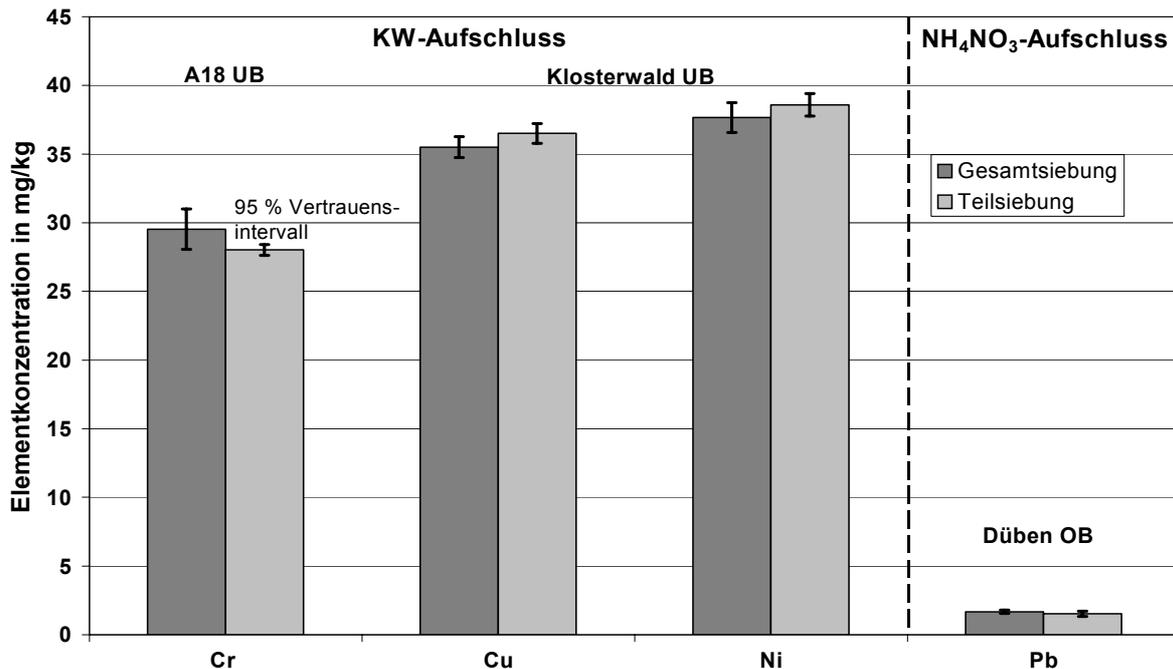


Abbildung 7.6: Mittelwerte und 95 % Vertrauensintervall der Mittelwerte bei signifikanten Unterschieden der Schwermetallkonzentration

7.3.3. Chlorierte Kohlenwasserstoffe

Chlorierte Kohlenwasserstoffe (CKW) wurden nur bei einigen Böden in geringen Konzentrationen nachgewiesen. In den Böden „Düben, UB“ und „Klosterwald, UB“ konnten keine CKW's gefunden werden. Nur Hexachlorbenzol und pp'-DDT bzw. pp'-DDE wurde in allen übrigen Böden nachgewiesen, wobei die Konzentrationen in den Böden aus dem Raum Leipzig deutlich höher lagen als die Konzentrationen im Raum Scheyern (Anhang A-8). Weitere DDT-Isomere und – Metaboliten sowie PCB 138 und PCB 153 fanden sich nur im Raum Leipzig. Die Böden „Düben, OB“ und „A17, OB“ enthielten darüber hinaus geringe Mengen an Pentachlorphenol.

Tabelle 7.7: Signifikanzen der t-tests für Unterschiede in den Mittelwerten bei Teil- bzw. Gesamtsiebung für CKW

| | Düben, OB | Leipzig, OB | A17, OB | A18, UB |
|------------------|-----------|-------------|---------|--------------|
| Pentachlorphenol | 0,791 | | 0,255 | |
| Hexachlorbenzol | 0,395 | 0,246 | 0,647 | 0,184 |
| PCB 138 | 0,525 | 0,785 | | |
| PCB 153 | 0,565 | 0,565 | | |
| α-HCH | 0,616 | | | |
| β-HCH | 0,746 | | | |
| γ-HCH | 0,428 | | | |
| δ-HCH | 0,083 | | | |
| op'-DDD | 0,499 | | | |
| pp'-DDD | 0,798 | 0,405 | | |
| op'-DDT | 0,426 | 0,504 | | |
| pp'-DDT | 0,398 | 0,174 | 0,395 | 0,247 |
| pp'-DDE | 0,059 | 0,671 | 0,476 | 0,049 |

Die statistischen Auswertungen zeigten in der Regel keine Unterschiede in den Mittelwerten der beiden Siebungsvarianten. Nur im Boden „A18, UB“ war die Konzentration an pp'-DDE in der Teilsiebfraktion signifikant gegenüber der Gesamtsiebfraktion erhöht (Tabelle 7.7).

7.3.4. Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe

Die Untersuchungen auf polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) zeigten deutliche Unterschiede im Vorkommen und Gehalt an PAK in den untersuchten Böden. In den Oberböden im Raum Leipzig konnten alle im Analysespektrum vorkommenden PAK nachgewiesen werden (Anhang A-9). Der Boden Leipzig-OB kann als belastet bezeichnet werden, da sowohl der Benzo(a)pyren-Gehalt wie auch die Summe der PAK₁₆ über den jeweiligen Vorsorgewerten nach Bundes-Bodenschutzverordnung liegen (0,3 mg/kg bzw. 3 mg/kg). Die Böden im Raum Scheyern und der Unterboden aus Düben weisen dagegen nur geringe PAK-Konzentrationen auf und nicht alle PAK konnten analytisch erfasst werden.

Tabelle 7.8: Signifikanzen der t-tests für Unterschiede in den Mittelwerten bei Teil- bzw. Gesamtsiebung für PAK

| | Düben, OB | Düben, UB | Leipzig, OB | A17, OB | Klosterwald, UB | A18, UB |
|------------------------------|--------------|-----------|--------------|---------|-----------------|--------------|
| Phenathren | 0,634 | | 0,797 | 0,781 | | 0,442 |
| Anthracen | 0,448 | | 0,615 | | | 0,716 |
| Fluoranthren | 0,553 | | 0,407 | 0,248 | | 0,438 |
| Pyren | 0,536 | | 0,835 | 0,278 | 0,105 | 0,540 |
| Benzo(b)naphto 2,1d thiophen | 0,852 | | 0,014 | | | |
| Benzo(c)phenanthren | 0,497 | | 0,476 | 0,197 | | 0,703 |
| Benzo(a)anthracen | 0,191 | | 0,760 | 0,312 | | 0,883 |
| Chrysen-Triphenylen | 0,166 | | 0,007 | 0,262 | 0,356 | 0,512 |
| Benzo(ghi)fluoranthren | 0,125 | | 0,110 | 0,431 | | 0,526 |
| Benzo(bjk)fluoranthren | 0,019 | | 0,932 | 0,317 | 0,488 | 0,955 |
| Benzo(e)pyren | 0,171 | 0,448 | 0,238 | 0,621 | 0,455 | 0,029 |
| Benzo(a)pyren | 0,042 | | 0,267 | 0,291 | | 0,589 |
| Indeno 1,2,3-cd pyren | 0,034 | | 0,085 | 0,437 | 0,698 | 0,660 |
| Benzo(ghi)perylen | 0,061 | | 0,897 | 0,321 | 0,899 | 0,870 |
| Anthanthren | 0,420 | | 0,135 | | | |
| Dibenz(ah)anthracen | 0,178 | | 0,072 | 0,744 | | 0,246 |
| Coronen | 0,435 | | 0,107 | 0,589 | | 0,505 |

In den untersuchten Böden konnte bei den PAK-Analysen nur in sechs von 70 Analysenvergleichen ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte zwischen teil- und komplettgesiebten Proben festgestellt werden (Tabelle 7.8), wobei die Abweichungen nicht gerichtet sind. Im Boden Düben, OB sind die Benzo(ghi)fluoranthren- und Benzo(e)pyren-Gehalte bei der Gesamtsiebung signifikant höher und der Benzo(a)pyren-Gehalt signifikant niedriger als bei der Teilsiebung (Abbildung 7.7). Beim Boden Leipzig, OB zeigen sich bei der Teilsiebung signifikant höhere Werte für Benzo(b)naphto 2,1d thiophen und Chrysen-Triphenylen, während bei A18, UB bei der Gesamtsiebung ein höherer Gehalt an Indeno 1,2,3-cd pyren gemessen wurde.

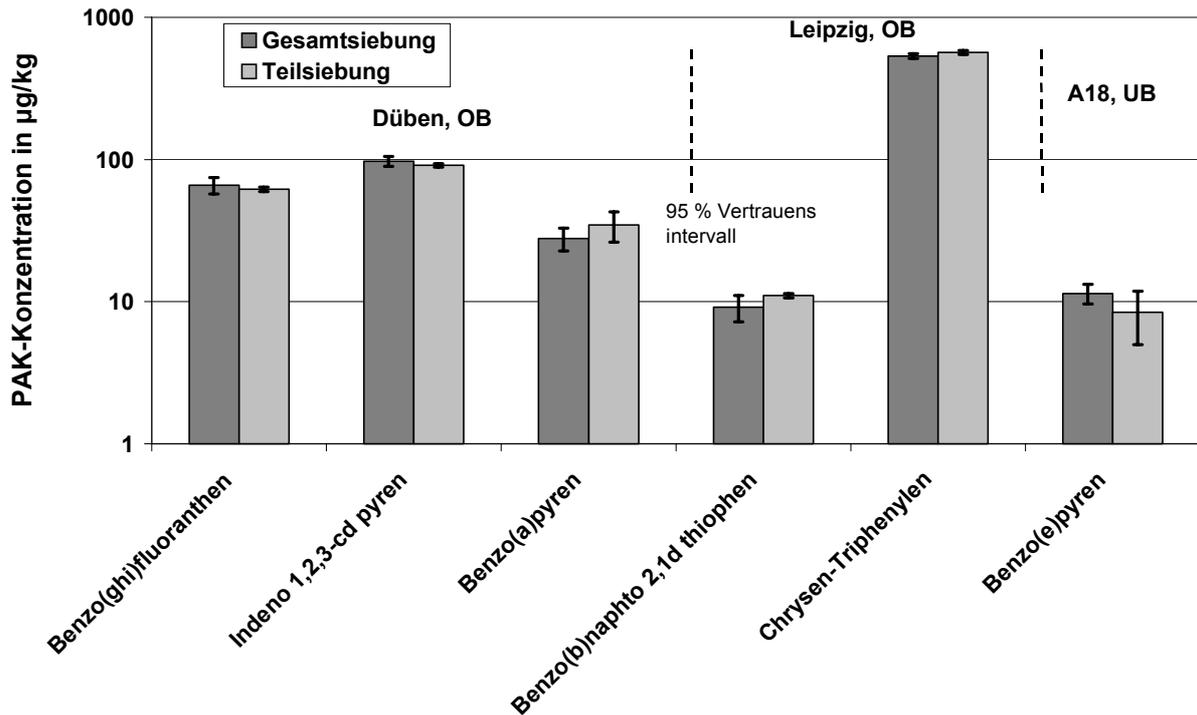


Abbildung 7.7: Mittelwerte und 95 % Vertrauensintervall der Mittelwerte bei signifikanten Unterschieden der PAK-Konzentration

7.3.5. Schlussfolgerungen

Der Einfluss des Siebverfahrens (Teil- bzw. Gesamtsiebung) auf die Analysenergebnisse ist insgesamt gering. Bei einzelnen der durchgeführten Tests konnten zwar statistisch signifikante Unterschiede festgestellt werden, ihr Anteil beträgt jedoch nur 6,6 % (zwölf Tests von 181). Eine gerichtete Abweichung ist nicht zu erkennen, da in je sechs Fällen bei der Teil- bzw. bei der Gesamtsiebung höhere Werte auftraten. Bei der Bewertung ist zu berücksichtigen, dass die Anzahl der Wiederholungen mit $n=3$ nur gering ist und dadurch zufällige Abweichungen stärker ins Gewicht fallen. Nach SACHS [1984] sind drei Wiederholungen nur dann zur Absicherung eines signifikanten Unterschieds zwischen zwei Mittelwerten ausreichend, wenn es keine Überschneidung von Einzelwerten gibt. Dies ist aber nur in zehn der zwölf Tests mit signifikanten Unterschieden der Fall (Tabelle 7.9). Daher wurde als Alternative zum t-Test bei diesen Mittelwertspaaren der Lord-Test [SACHS, 1984] durchgeführt, der bei kleiner Stichprobenanzahl angewendet werden kann.

Der Lord-Test zeigt nur bei neun der zwölf durchgeführten Tests einen signifikanten Unterschied der Mittelwerte (Tabelle 7.9). Keine signifikanten Unterschiede konnten bei den Vergleichspaaren festgestellt werden, bei denen es eine Überschneidung von Werten gibt. Damit reduziert sich der Anteil der Test mit signifikanten Unterschieden auf 5 %.

Zusammenfassend lässt sich daher schlussfolgern, dass die Teilsiebung als repräsentativ für die Gesamtsiebfraktion gelten kann.

Tabelle 7.9: *Testergebnisse bei t-Test bzw. Lord-Test und Spannweiten der untersuchten Parameter (sig. = signifikanter Unterschied der Mittelwerte, n.s. = nicht signifikant, GS = Gesamtsiebung, TS = Teilsiebung, NH₄NO₃ = NH₄NO₃-Aufschluß, KW = Königswasseraufschluß, Angaben ohne Einheiten)*

| | T-test | Lord-Test | Spannweite GS | Spannweite TS |
|-------------------------------------------------|--------|-----------|---------------|---------------|
| Schluff, A18 UB | Sig. | Sig. | 630-642 | 646-651 |
| Pb, NH ₄ NO ₃ , Düben, OB | Sig. | Sig. | 1,62-1,72 | 1,47-1,61 |
| Cr, KW, A18, UB | Sig. | Sig. | 28,90-30,08 | 27,86-28,18 |
| Cu, KW, Klosterwald, UB | Sig. | n.s. | 35,18-36,78 | 36,27-36,83 |
| Ni, KW, Klosterwald, UB | Sig. | n.s. | 37,24-38,12 | 38,27-38,93 |
| pp'-DDE, A 18 UB | Sig. | n.s. | 3,03-3,58 | 2,73-3,22 |
| Benzo(b)naphto 2,1d thiophen, Leipzig, OB | Sig. | Sig. | 8,45-9,96 | 10,82-11,13 |
| Chrysen-Triphenylen, Leipzig, OB | Sig. | Sig. | 525,7-542,4 | 559,0-573,3 |
| Benzo(bjk)fluoranthen, Düben, OB | Sig. | Sig. | 407,9-412,8 | 378,7-397,7 |
| Benzo(a)pyren, Düben, OB | Sig. | Sig. | 10,63-12,06 | 7,44-10,00 |
| Indeno 1,2,3-cd pyren, Düben, OB | Sig. | Sig. | 30,64-36,67 | 26,5-30,18 |
| Benzo(e)pyren, A18, UB | Sig. | Sig. | 93,74-100,04 | 89,76-92,00 |

7.4. AP 4: Überprüfung der Homogenität und Repräsentativität der eingelagerten Teilproben unter Berücksichtigung methodischer Änderungen der Probenahme

Eine zentrale Aufgabe bei der Überarbeitung der Probenahmerichtlinie war es nachzuweisen, dass die Archivproben trotz veränderter Probenaufbereitung und dem Verzicht auf die Cryomahlung homogen und repräsentativ sind. Daher wurde an drei der geplanten UPB-Standorte nach der vorgeschlagenen Richtlinie beprobt und aufgearbeitet. Die Untersuchungen auf Homogenität wurden an je zehn Einzelarchivproben durchgeführt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind in den Tabellen A-18 und A-19 im Anhang dargestellt.

7.4.1. Bodenkundliche Basisparameter

Die Streuung der Messwerte für die Basisparameter sind gering und meist deutlich unter 5 % (Abb. 7.8). Die stärkere Streuung von Corg in den Böden „Düben“ und „Großpalmberg II“ ist wahrscheinlich auf eine Vermischung von Ober- und Unterbodenmaterial bei der nicht-horizontgenauen Probenahme zurückzuführen. Eine deutlich höhere Streuung ist für den Tongehalt des Bodens „Düben“ zu beobachten. Dies ist aber methodenbedingt, da die Tongehaltsbestimmung mittels Schlämmanalyse bei niedrigen Tongehalten des Boden (Düben nur ca. 2,5 %) größere relative Messungenauigkeiten aufweist. Dieser Wert ist daher für die Ermittlung der Homogenität von Teilproben ungeeignet.

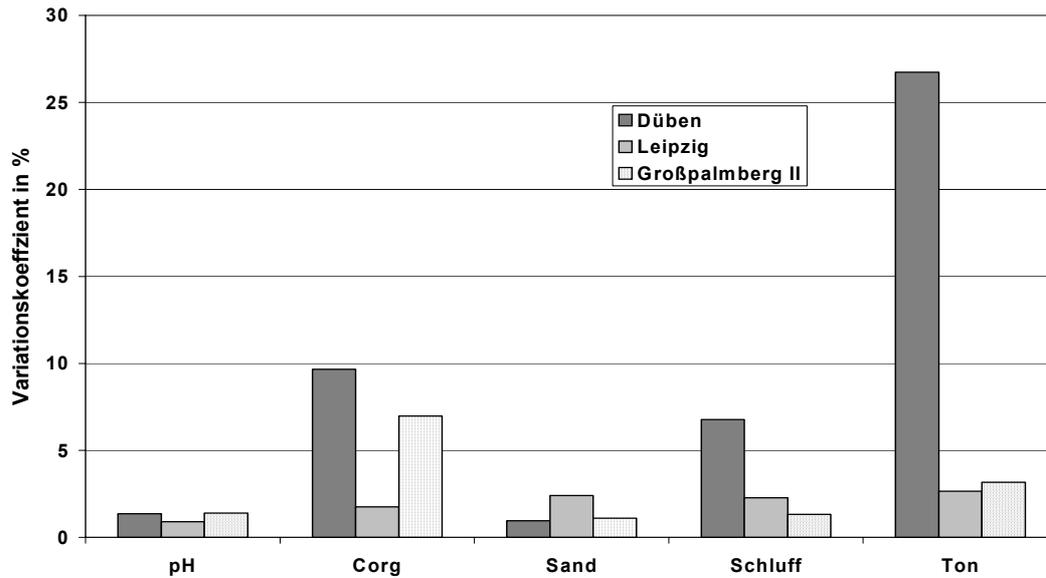


Abbildung 7.8: Variationskoeffizienten für bodenkundliche Basisparameter der untersuchten Böden

7.4.2. Schwermetalle

Königswasserextrakt:

Die Variationskoeffizienten für die Messwerte im Königswasserextrakt sind ebenfalls gering und liegen nur bei Nickel in den Böden „Düben“ und „Großpalmberg II“ über 5 % (Abb. 7.9). Generell weist der Boden „Leipzig“ immer die niedrigsten Variationskoeffizienten auf, was möglicherweise auf die jeweils absolut höchsten Schwermetallgehalte zurückzuführen ist, während besonders der Boden „Düben“ bei Nickel nur sehr geringe Gehalte knapp über der Bestimmungsgrenze enthält.

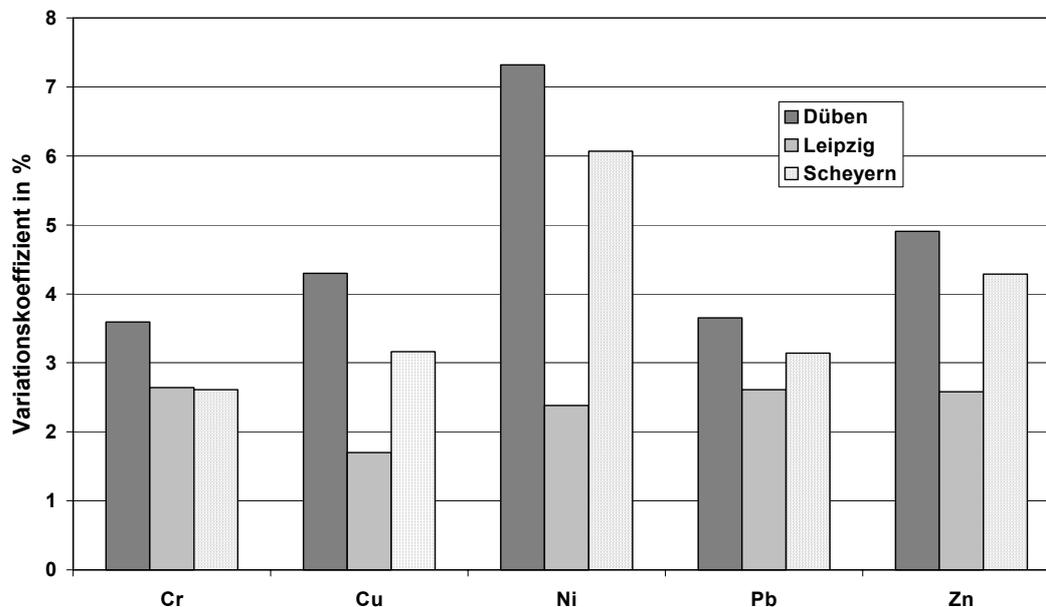


Abbildung 7.9: Variationskoeffizienten für Schwermetalle im Königswasserextrakt der untersuchten Böden

Ammoniumnitratextrakt:

Die Variationskoeffizienten in den Ammoniumnitratextrakten liegen etwas höher als bei Königswasserextrakt. Sie überschreiten aber die 5 % ebenfalls selten (Abb. 7.10). Die größten Abweichungen treten im Boden „Düben“ bei Cr und Cu auf. Beide Elemente liegen in der Konzentration aber nur knapp über der Bestimmungsgrenze. Im Boden „Leipzig“ konnte Chrom aufgrund niedriger Gehalte nicht bestimmt werden.

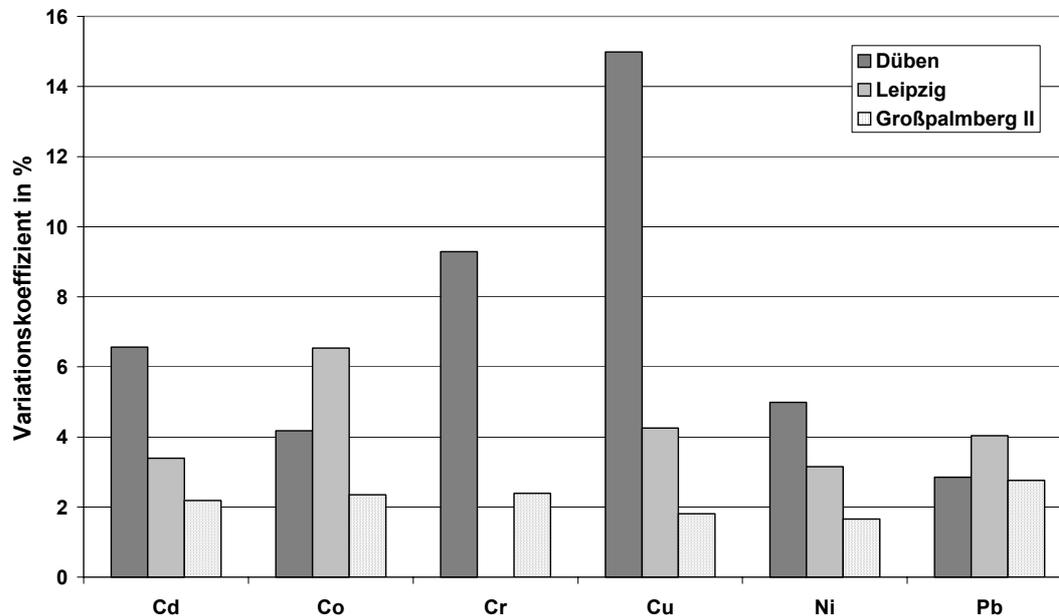


Abbildung 7.10: Variationskoeffizienten für Schwermetalle im Ammoniumnitratextrakt der untersuchten Böden

7.4.3. Chlorierte Kohlenwasserstoffe (CKW)

Für die chlorierten Kohlenwasserstoffe (CKW) ergeben sich in der Regel höhere Variationskoeffizienten als für die anorganischen Parameter (Abb. 7-11). Dies liegt in erster Linie am deutlich niedrigeren Konzentrationsbereich der CKW. Während die Schwermetalle in Konzentrationen im Bereich von mg/kg vorliegen, wurden für die CKW nur Konzentrationen von zwischen 1 und 10 µg/g gemessen. Nach Meyer & Majors (2002) ist bei solch niedrigen Konzentrationen mit Abweichungen von bis zu 30 % zu rechnen. Daher kann bei den untersuchten Proben von ausreichender Homogenität ausgegangen werden, zumal die meisten untersuchten Parameter nur wenig über den Bestimmungsgrenzen lagen.

7.4.4. Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)

Bei den PAK's treten zwischen den einzelnen Böden zum Teil deutliche Unterschiede in den Variationskoeffizienten auf. In der Regel weist der Boden „Großpalmberg II“ die niedrigsten Streuungen auf, obwohl er bei den meisten PAK's die geringsten Konzentrationen hat. Die größten Variationskoeffizienten treten beim Boden „Leipzig“ auf, der auch die höchsten Konzentrationen aufweist. Die Streuungen liegen bei „Leipzig“ noch innerhalb der von Meyer & Majors (2002) vorgegebenen Variationsbreite, dennoch sind sie im Vergleich zu den Böden „Düben“ und „Großpalmberg II“ unbefriedigend hoch. Als mögliche Ursache für die höheren Variationskoeffizienten in Leipzig lässt sich eine unzureichende Homogenisierung beim Mischen per Hand nicht ausschließen. Es wäre dann aber auch zu erwarten, dass bei den anderen gemessenen Parametern ebenfalls höhere Variationskoeffizienten im Boden „Leipzig“ auftreten.

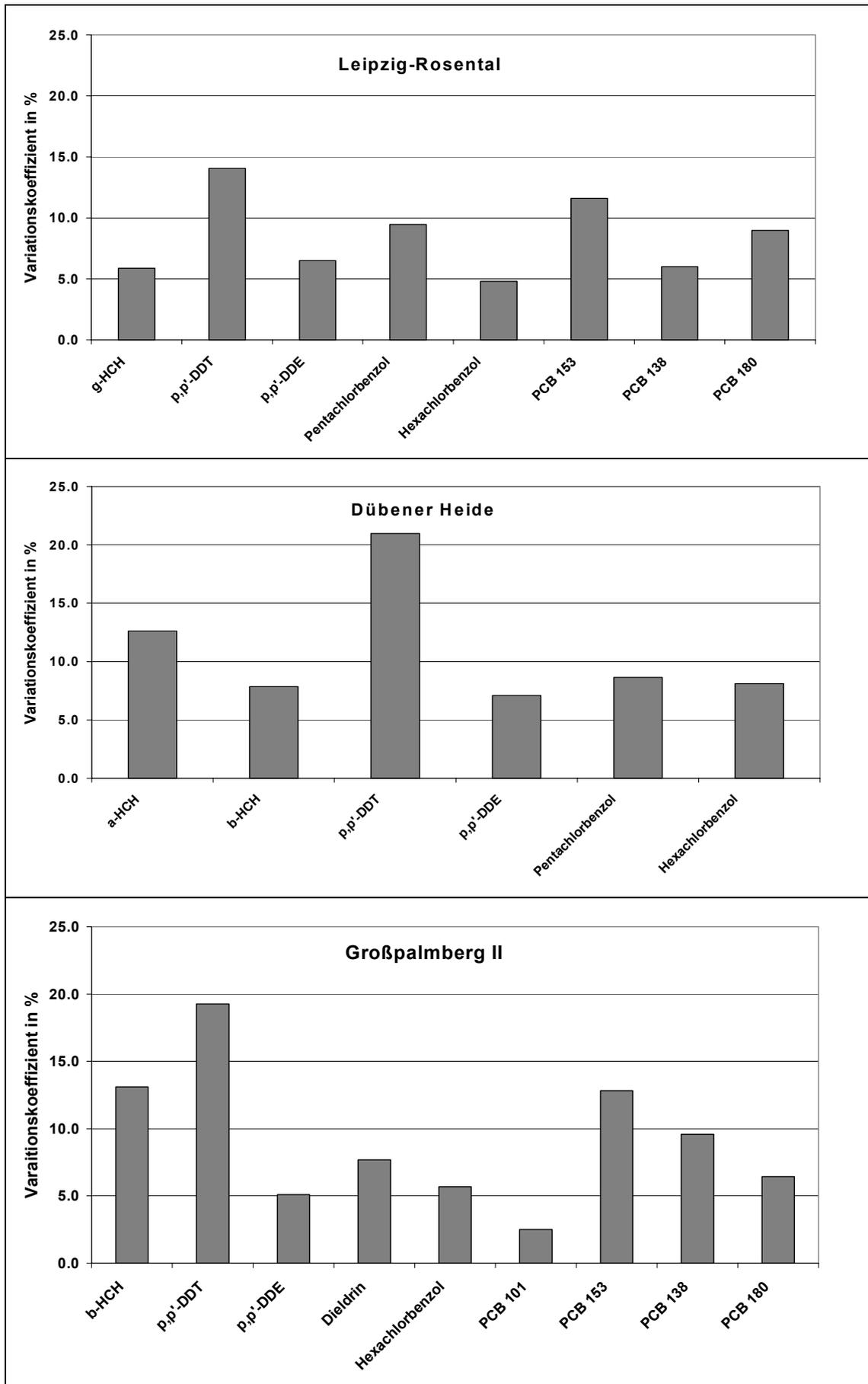


Abbildung 7.11: Variationskoeffizienten für CKW in den untersuchten Böden

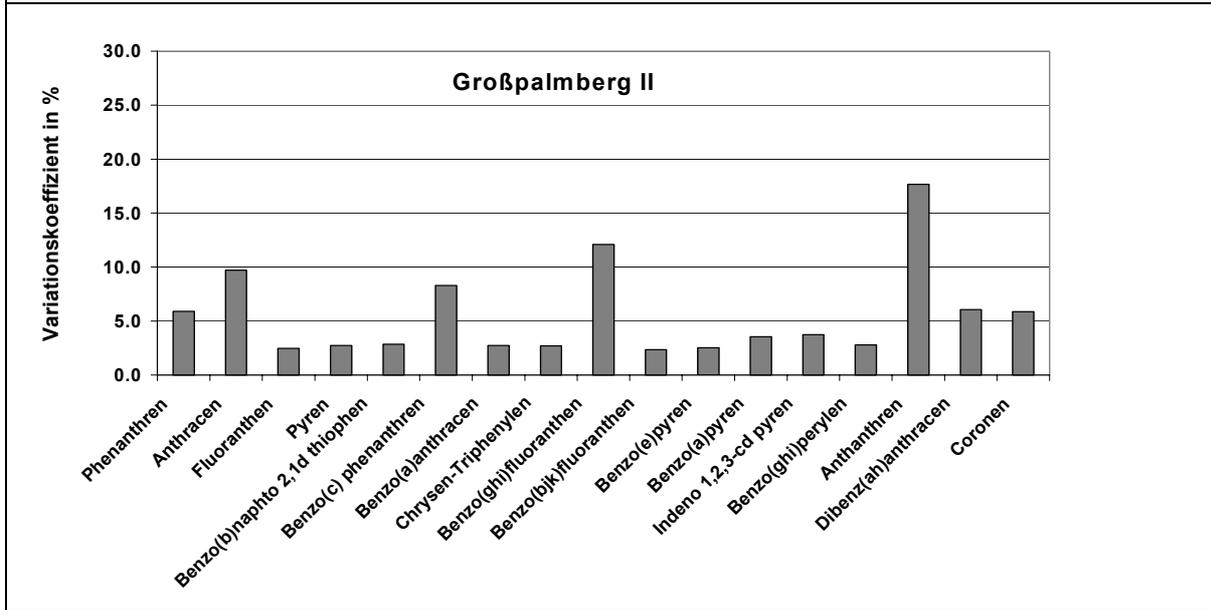
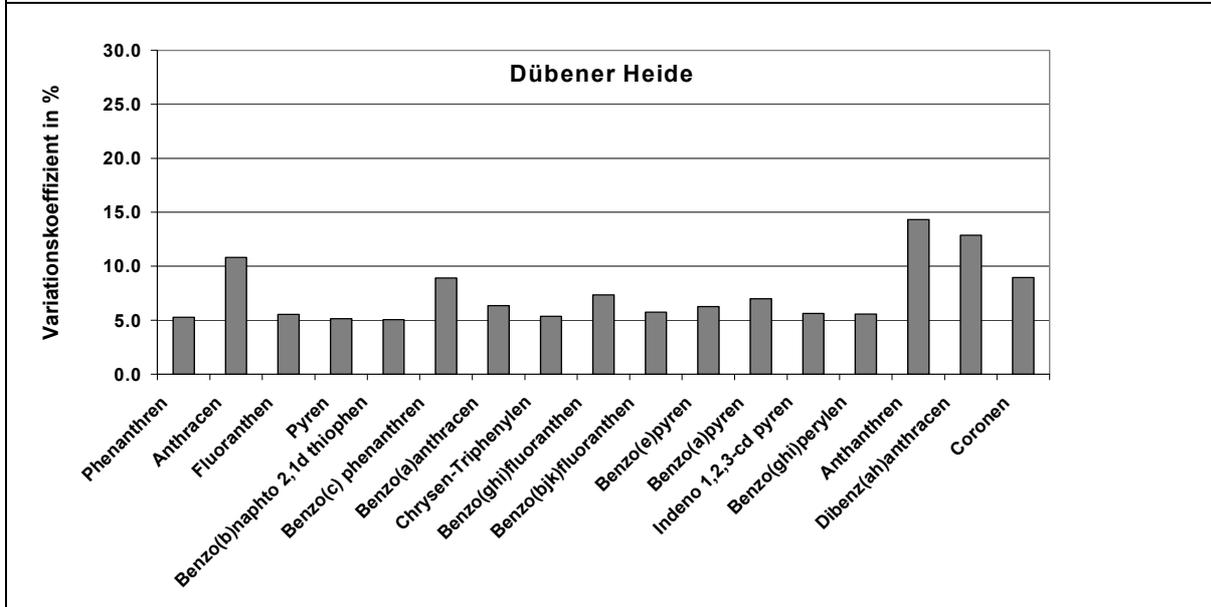
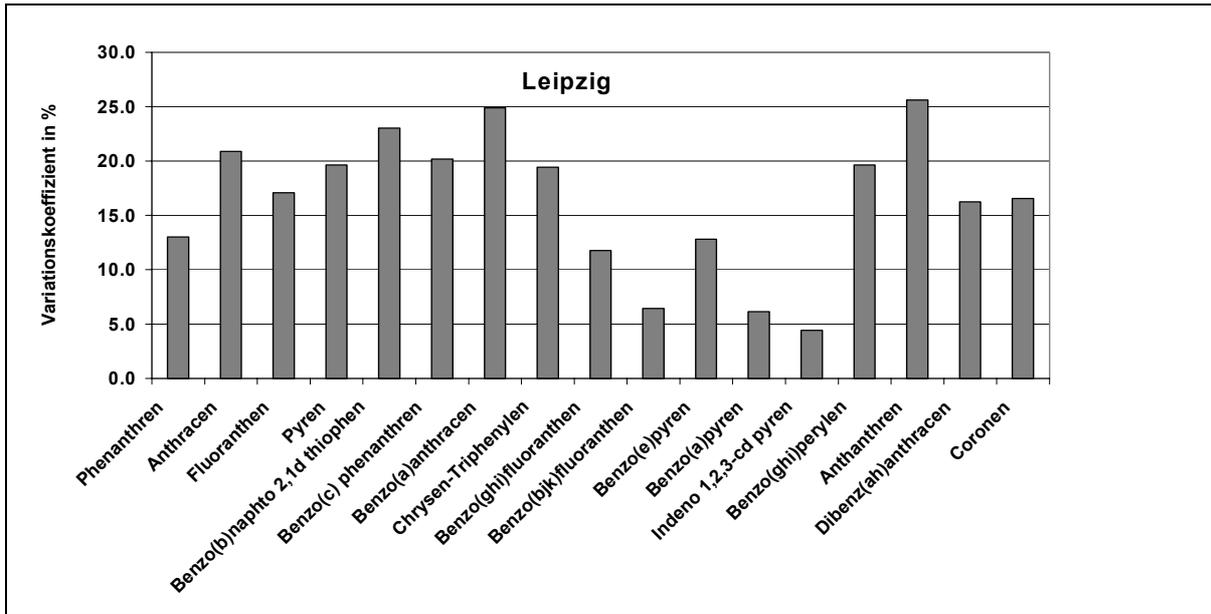


Abbildung 7.12: Variationskoeffizienten für PAK in den untersuchten Böden

7.4.5. Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen zeigen, dass bei den Einzelarchivproben von einer ausreichenden Homogenität und Repräsentativität ausgegangen werden kann. Die Variationskoeffizienten und damit die Streuungen liegen in der Regel unter 5 % (anorganische Parameter) bzw. unter 10 % (organische Parameter) und sind unter Berücksichtigung der auftretenden Konzentrationen gering. Variationskoeffizienten in vergleichbarer Höhe wurden auch bei Ringanalysen als intra-Laborvariationen festgestellt (LUFA Speyer, 1998). Höhere Variationskoeffizienten treten mit Ausnahme des Bodens „Leipzig“ nur dann auf, wenn die gemessenen Konzentrationen nahe der analytischen Bestimmungsgrenze liegen und sind deshalb vorwiegend auf nicht vermeidbare analytische Fehler zurückzuführen. Eine Ausnahme bildet der Boden „Leipzig“ bei den PAKs, dort werden Variationskoeffizienten von bis zu 25 % erreicht. Allerdings zeigen Auswertungen von Einzelarchivproben anderer Umweltmedien bei PAKs zum Teil noch erheblich größere Streuungen, so dass dieses Problem nicht auf Fehler während der Probenahme und Einlagerung zurückgeführt werden kann, zumal diese starken Streuungen nur bei einer Gruppe von analytischen Parametern auftreten.

7.5. AP 5: Erfassung von chemischen und biologischen Veränderungen der Proben als Folge von Aufbereitung und Tiefkühlung

7.5.1. AP 5a: Ermittlung von Effekten als Folge des Tiefgefrierens auf biologische Strukturen und Entwicklung geeigneter Lagerbedingungen für Bodenproben im Hinblick auf biologische Parameter

Im Folgenden sind die Ergebnisse der Versuche tabellarisch dargestellt. Werte, die erkannte Tendenzen besonders deutlich wiedergeben, werden zusätzlich graphisch dargestellt.

7.5.1.1. Mikrobiologische Aktivitätsbestimmungen

7.5.1.1.1. Atmung

Mit Hilfe der mikrobiellen Atmung werden Informationen über die aktiven (Basalatmung) bzw. aktivierbaren (substratinduzierte Atmung) aeroben und fakultativ anaeroben Mikroorganismen erhalten.

Generell kann gesagt werden, dass die Absolutwerte der Böden "Kiel" und "Scheyern" sich bei der Basalatmung nur gering, bei der SI-Atmung aber deutlich unterscheiden. Die SI-Atmung ist im Boden "Scheyern" um den Faktor 5 höher.

Boden "Kiel"

Die Ergebnisse der mikrobiellen Bodenatmung für den Boden "Kiel" sind in Tabelle 7.10 dargestellt. Es lassen sich unterschiedliche Auswirkungen der Bodenbehandlung auf Basal- und substratinduzierte Bodenatmung feststellen.

Auf die mikrobielle Basalatmung hat die Auftaugeschwindigkeit nach zweiwöchiger Lagerung einen großen Einfluss. Während nach schnellem Auftauen der Proben (1 Tag bei 20°C) vergleichbare Werte wie bei frischem Boden (Kontrolle) auftreten, ist die Basalatmung nach langsamem Auftauen (je 3 Tage bei 4°C und 20°C) der Proben signifikant um 15,4 – 28,8 % gesenkt ($p < 0,05$). Die Einfrier- und Lagerungstemperatur hat dabei keinen Einfluss auf die Ergebnisse (Abbildung 7.13).

Mit Ausnahme der Behandlungsvariante D 3 wurden auch nach dreimonatiger Probenlagerung vergleichbare Ergebnisse ermittelt. Wurden die Proben in flüssigem Stickstoff eingefroren und nach drei Monaten schnell aufgetaut, war die Basalatmung des Bodens um 19,2 % signifikant gegenüber der Kontrolle erhöht ($p < 0,05$).

Die substratinduzierte Bodenatmung wird im Gegensatz zur Basalatmung grundsätzlich durch die Bodenlagerung im Vergleich zur Kontrolle um 23,1 – 45,8 % erhöht ($p < 0,05$, Tabelle 7.10). Dabei haben weder die Art des Einfrierens, die Lagerungsdauer, noch die Auftaugeschwindigkeit einen Einfluss auf die Ergebnisse.

Tabelle 7.10: *Boden "Kiel" – Bodenatmung (MW ± Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.*

| Basalatmung [mg O ₂ / (100mg TM * h)] | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------------------------|---------|---------|----------|----------|-----------|---------|----------|--|--|--|---|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | |
| | 0,052 | 0,041 | ns 0,037 | ** 0,048 | ns 0,042 | * 0,053 | ns 0,044 | | | | * |
| | ± 0,004 | ± 0,002 | ± 0,003 | ± 0,002 | ± 0,003 | ± 0,001 | ± 0,001 | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | |
| | 0,052 | 0,049 | ns 0,041 | * 0,050 | ns 0,041 | * 0,062 | * 0,040 | | | | * |
| | ± 0,004 | ± 0,000 | ± 0,001 | ± 0,004 | ± 0,001 | ± 0,002 | ± 0,002 | | | | |
| SI-Atmung [mg O ₂ / (100mg TM * h)] | | | | | | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | |
| | 0,260 | 0,331 | * 0,375 | * 0,320 | *** 0,346 | * 0,355 | * 0,354 | | | | * |
| | ± 0,002 | ± 0,037 | ± 0,040 | ± 0,008 | ± 0,021 | ± 0,032 | ± 0,071 | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | |
| | 0,260 | 0,319 | * 0,362 | * 0,335 | * 0,327 | * 0,379 | * 0,375 | | | | * |
| | ± 0,004 | ± 0,038 | ± 0,042 | ± 0,013 | ± 0,014 | ± 0,028 | ± 0,033 | | | | |
| Respiratorischer Aktivierungsquotient (Q _R) | | | | | | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | |
| | 0,20 | 0,14 | 0,10 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,12 | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | |
| | 0,20 | 0,15 | 0,11 | 0,12 | 0,13 | 0,16 | 0,11 | | | | |

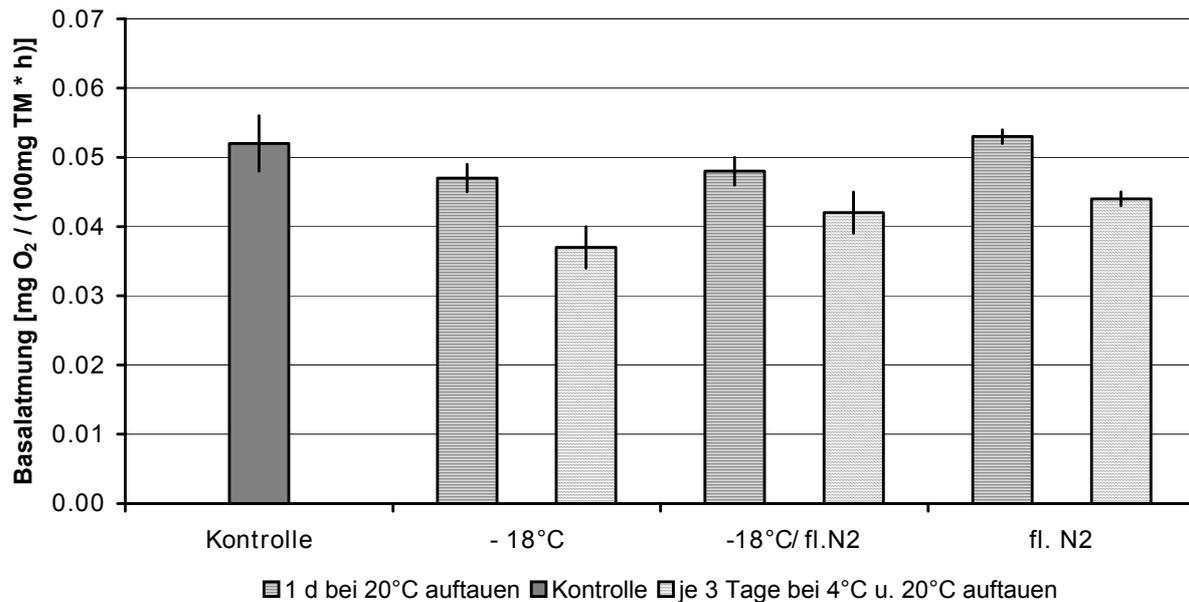


Abbildung 7.13: Boden "Kiel" bei Kurzzeitlagerung (2 Wo.) – Bodenmikrobielle Basalatmung. Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung

Der Respiratorische Aktivierungsquotient (Q_R) errechnet sich aus Basal- und SI-Atmung und zeigt die einheitlichsten Effekte der verschiedenen Einflussgrößen (Tabelle 7.10). Jede Probenlagerung senkt den Q_R im Vergleich zur Kontrolle, unabhängig von der Einfrier- und Lagerungstemperatur. Langsames Auftauen verstärkt den negativen Effekt (37,3 – 50,7 %) im Vergleich zu schnellem Auftauen (18,2 – 29,0 %). Die Lagerungsdauer hat keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

Boden "Scheyern"

Die Ergebnisse der mikrobiellen Bodenatmung für den Boden "Scheyern" sind in Tabelle 7.11 dargestellt. Auch bei diesem Boden lassen sich unterschiedliche Auswirkungen der Bodenbehandlung auf Basal- und SI-Atmung feststellen. Die Effekte unterscheiden sich jedoch von denen im Kieler Boden.

Auf die bodenmikrobielle Basalatmung im Boden Scheyern hat die Auftaugeschwindigkeit nach zweiwöchiger Lagerung einen großen Einfluss. Nach langsamem Auftauen (je 3 Tage bei 4°C und 20°C) der Proben sind die Werte mit Ausnahme des Ansatzes D 2 im Vergleich zu frischem Boden wieder signifikant um 12,5 – 14,7 % gesenkt ($p < 0,05$). Nach schnellem Auftauen der Proben (1 Tag bei 20°C) ist die Basalatmung des Bodens dagegen im Vergleich zur Kontrolle um 12,5 – 21,9 % signifikant erhöht ($p < 0,05$). Die Einfrier- und Lagerungstemperatur hat keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

Mit Ausnahme der Behandlungsvariante B 3 wurden auch nach dreimonatiger Probenlagerung erhöhte Werte (11,4 – 27,5 %) nach schnellem Auftauen ermittelt ($p < 0,05$). Alle Ansätze mit langsamer Auftauphase zeigten einen negativen Einfluss (13,0 – 18,7 %) auf die Basalatmung. Die Einfrier- und Lagerungstemperatur hat prinzipiell keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

Der Einfluss der Probenlagerung auf die substratinduzierte Bodenatmung ist abhängig von der Lagerungsdauer (Tabelle 7.11). Nach zweiwöchiger Probenlagerung waren alle Ergebnisse, mit Ausnahme des Ansatzes B 2 (+ 3,3 %), vergleichbar mit der Kontrolle. Weder Einfrier- und Lagerungstemperatur, noch Auftaugeschwindigkeit haben einen Einfluss.

Tabelle 7.11: Boden "Scheyern" – Bodenatmung (MW ± Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; ns: nicht signifikant; *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001.

| Basalatmung [mg O ₂ / (100mg TM * h)] | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------------------------|---------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--|--|--|--|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | |
| | 0,064 | 0,072 * | 0,055 ** | 0,078 ** | 0,056 * | 0,072 ** | 0,061 ns | | | | |
| | ± 0,003 | ± 0,004 | ± 0,001 | ± 0,002 | ± 0,003 | ± 0,009 | ± 0,002 | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | |
| | 0,064 | 0,069 ns | 0,052 ** | 0,071 * | 0,053 ** | 0,082 ** | 0,056 * | | | | |
| | ± 0,003 | ± 0,005 | ± 0,001 | ± 0,003 | ± 0,001 | ± 0,003 | ± 0,001 | | | | |
| SI-Atmung [mg O ₂ / (100mg TM * h)] | | | | | | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | |
| | 1,743 | 1,768 ns | 1,800 * | 1,639 ns | 1,824 ns | 1,710 ns | 1,753 ns | | | | |
| | ± 0,037 | ± 0,079 | ± 0,006 | ± 0,083 | ± 0,026 | ± 0,139 | ± 0,044 | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | |
| | 1,743 | 1,714 ns | 1,670 * | 1,733 ns | 1,639 ns | 1,792 ns | 1,622 * | | | | |
| | ± 0,037 | ± 0,048 | ± 0,011 | ± 0,046 | ± 0,054 | ± 0,014 | ± 0,043 | | | | |
| Respiratorischer Aktivierungsquotient (Q _R) | | | | | | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | |
| | 0,037 | 0,041 | 0,031 | 0,048 | 0,031 | 0,042 | 0,034 | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | |
| | 0,037 | 0,040 | 0,031 | 0,041 | 0,032 | 0,047 | 0,034 | | | | |

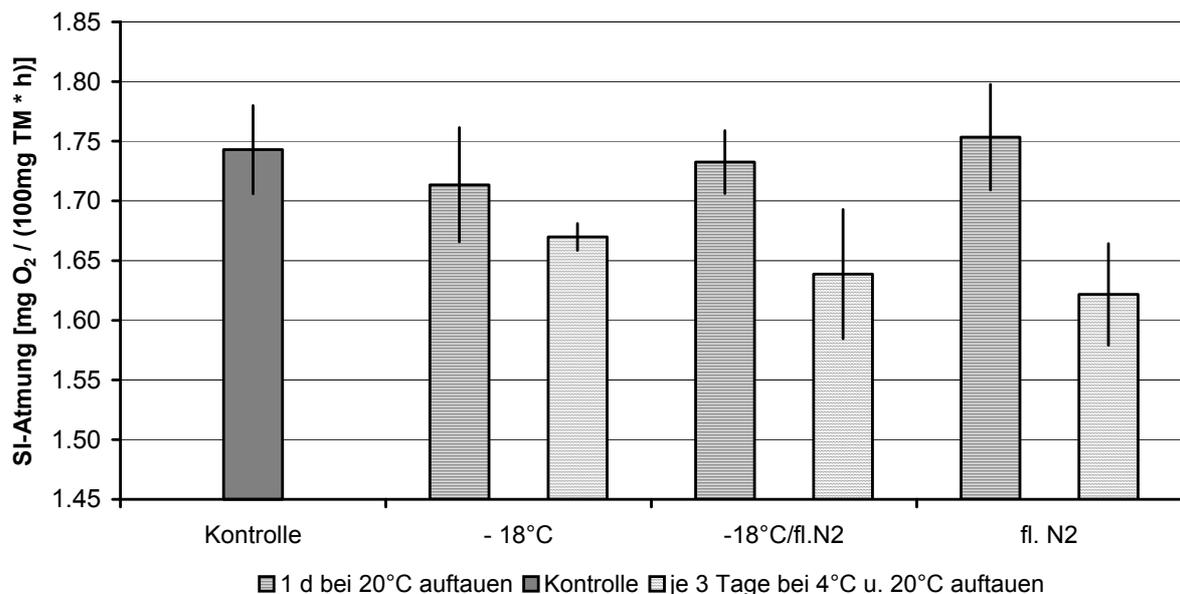


Abbildung 7.14: Boden "Scheyern" bei Langzeitlagerung (3 Mon.) – Substratinduzierte Bodenatmung. Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung

Nach dreimonatiger Probenlagerung sind die Ergebnisse der Proben nach schnellem Auftauen immer noch mit den Kontrollwerten vergleichbar. Langsames Auftauen dagegen führt mit Ausnahme des Ansatzes C 4 zu signifikant reduzierter SI-Atmung (4,2 – 7,0 %). Auch in Ansatz C 4 führt nur eine hohe Standardabweichung zu fehlender Signifikanz. Der Mittelwert dagegen bestätigt die negativen Auswirkungen des langsamen Auftauens (Abbildung 7.14).

Die Respiratorischen Aktivierungsquotienten (QR) des Bodens "Scheyern" unterscheiden sich nicht so deutlich in Abhängigkeit zur Probenaufarbeitung wie die des Bodens "Kiel". Trotzdem sind auch hier Tendenzen zu erkennen. Langsames

Auftauen senkt grundsätzlich den Quotienten um 6,4 – 16,8 % im Vergleich zur Kontrolle (Tabelle 7.2). Schnelles Auftauen der Proben dagegen erhöht den Quotienten um 12,1 – 29,6 % im Vergleich zur Kontrolle. Die Lagerungsdauer hat keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

7.5.1.1.2. Potentielle Ammoniumoxidation

Bei der potentiellen Ammoniumoxidation wird als Parameter des Stickstoffkreislaufs die Aktivität der verhältnismäßig kleinen Gruppe der Nitrifikanten erfasst.

Ähnlich wie bei der substratinduzierten Atmung unterscheiden sich die beiden Böden "Kiel" und "Scheyern" stark in den Absolutwerten der potentiellen Ammoniumoxidation. Die Ergebnisse des Bodens "Scheyern" sind um den Faktor 10² höher als die des Bodens "Kiel".

Boden "Kiel"

Die Ergebnisse der potentiellen Ammoniumoxidation für den Boden "Kiel" sind in Tabelle 7.12 dargestellt. In diesem Boden ist eine hohe Varianz der Ergebnisse aufgetreten, was an großen Standardabweichungen zu erkennen und durch die relativ niedrigen Absolutwerte zu erklären ist. Den deutlichsten Einfluss auf die potentielle Ammoniumoxidation hat die Lagerungsdauer der Proben.

Tabelle 7.12: Boden "Kiel" – Potentielle Ammoniumoxidation (MW ± Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; ns: nicht signifikant; *: p < 0,05; **: p < 0,01; *: p < 0,001.**

| Pot. Ammoniumoxidation [ng NO ₂ -N / (g TM * min)] | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------------------------------|-------|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|----|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | | B 2 | | C 1 | | C 2 | | D 1 | | D 2 | |
| | 0,170 | 0,289 | ns | 0,168 | ns | 0,227 | ns | 0,241 | ns | 0,182 | ns | 0,185 | ns |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | |
| | 0,034 | 0,069 | | 0,122 | | 0,048 | | 0,056 | | 0,034 | | 0,048 | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | | B 4 | | C 3 | | C 4 | | D 3 | | D 4 | |
| | 0,170 | 0,288 | ** | 0,254 | ns | 0,265 | * | 0,268 | ns | 0,296 | ** | 0,285 | ns |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | |
| | 0,034 | 0,027 | | 0,082 | | 0,048 | | 0,061 | | 0,022 | | 0,093 | |

Nach zweiwöchiger Lagerung treten unabhängig von der Einfrier- und Lagerungstemperatur und der Auftautemperatur keine Unterschiede zur Kontrolle auf (Tabelle 7.12). Nach dreimonatiger Lagerung tritt nach schnellem Auftauen eine um 55,9 – 74,1 % signifikant höhere Ammoniumoxidation als bei der Kontrolle auf (p < 0,05, Abbildung 7.15). Dabei hat die Einfrier- und Lagerungstemperatur keinen Einfluss auf die Ergebnisse. Die Ammoniumoxidation nach

langsamem Auftauen ist zwar vergleichbar mit den Werten nach schnellem Auftauen, unterscheidet sich aber aufgrund großer Standardabweichungen nicht signifikant von der Kontrolle.

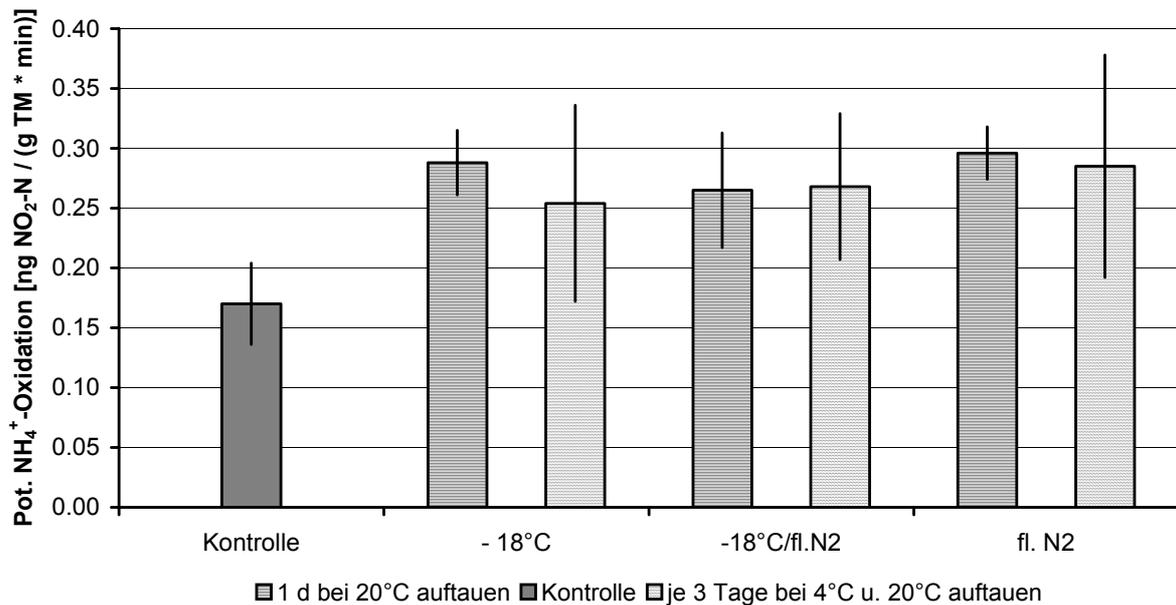


Abbildung 7.15 Boden "Kiel" bei Langzeitlagerung (3 Mon.) – Potentielle Ammoniumoxidation. Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Boden "Scheyern"

Tabelle 7.13: Boden "Scheyern" – Potentielle Ammoniumoxidation (MW ± Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle; A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; ns: nicht signifikant; *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001.

| | | Pot. Ammoniumoxidation [ng NO ₂ -N / (g TM * min)] | | | | | | | | | | | |
|------------------|-------|---------------------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--|--|--|--|--|--|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | | | |
| | 19,27 | 16,15 ** | 18,66 ns | 16,49 ** | 19,22 ns | 16,20 ** | 18,03 ns | | | | | | |
| | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | | | | |
| | 0,69 | 0,51 | 0,42 | 0,27 | 0,51 | 0,27 | 0,35 | | | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | | | |
| | 19,27 | 19,02 ns | 18,97 ns | 19,81 ns | 19,19 ns | 18,51 ns | 17,18 * | | | | | | |
| | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | | | | |
| | 0,69 | 0,85 | 0,56 | 0,54 | 0,81 | 0,79 | 0,56 | | | | | | |

Die Standardabweichung der Ergebnisse ist mit der des Bodens "Kiel" vergleichbar. Da aber im Boden "Scheyern" eine deutlich höhere potentielle Ammoniumoxidation stattfindet, werden eventuelle Einflüsse der Probenbehandlung klarer abgegrenzt (Tabelle 7.13).

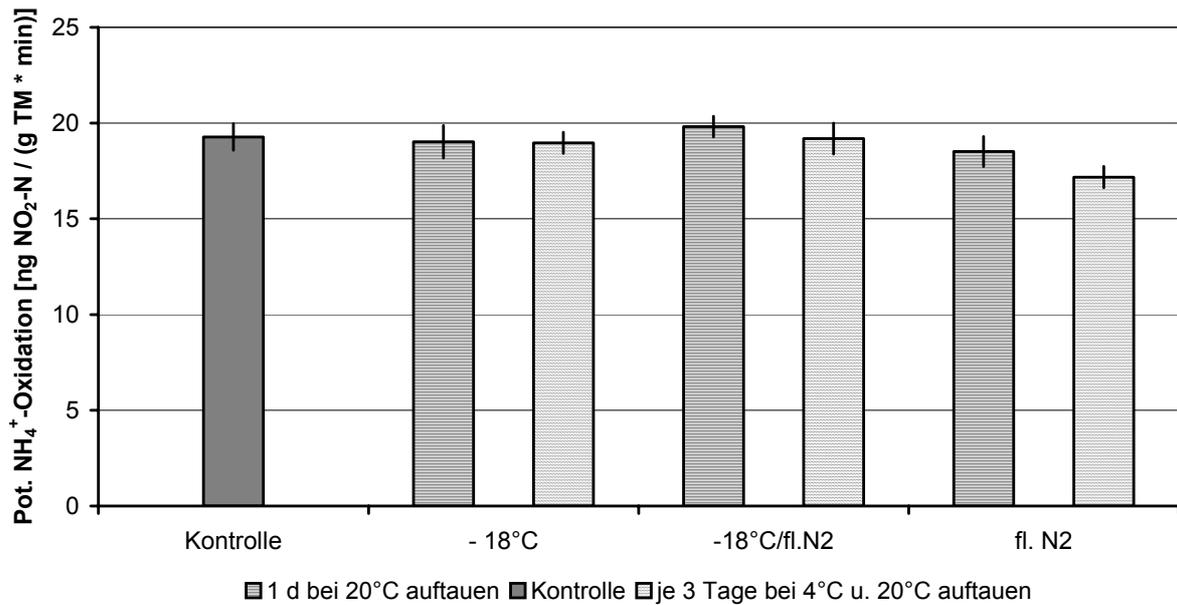


Abbildung 7.16: Boden "Scheyern" bei Langzeitlagerung (3 Mon.) – Potentielle Ammoniumoxidation. Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Nach zweiwöchiger Lagerung ist die potentielle Ammoniumoxidation in schnell aufgetauten Proben um 14,5 – 16,2 % signifikant gegenüber der Kontrolle gesenkt ($p < 0,01$). Die Werte der langsam aufgetauten Proben sind mit der Kontrolle vergleichbar. Die Einfrier- und Lagerungstemperatur hat keinen Einfluss auf die Ergebnisse. Nach dreimonatiger Lagerung hat die Probenbehandlung - mit einer Ausnahme - keinen Einfluss mehr auf die Ergebnisse. Alle Proben zeigen eine mit der Kontrolle vergleichbare potentielle Ammoniumoxidation

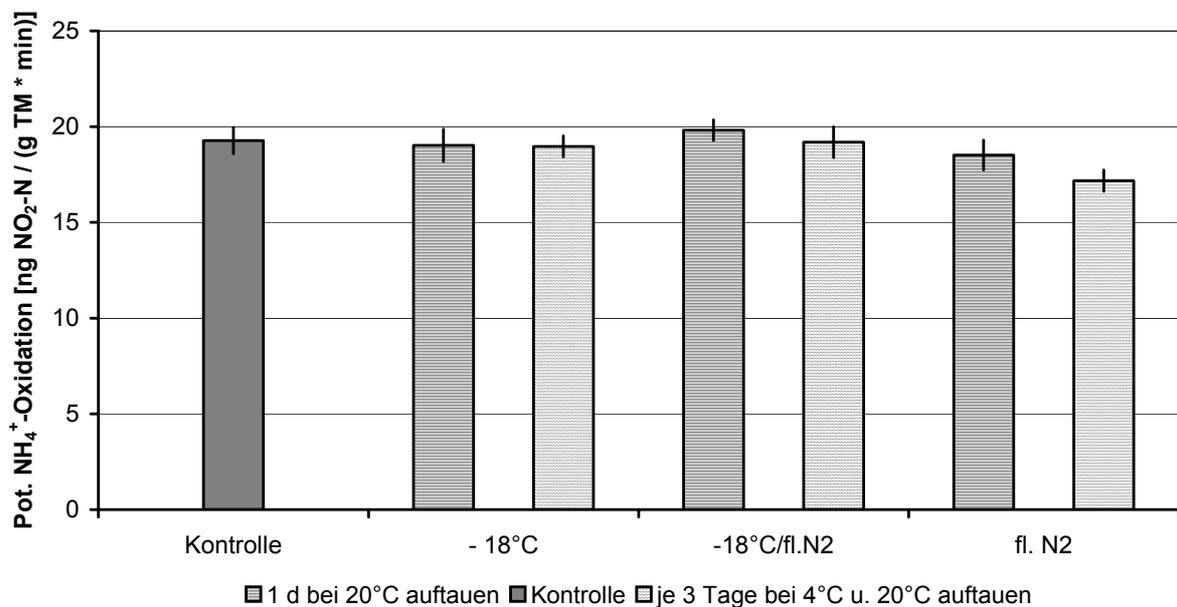


Abbildung 7.16). Der Wert des Ansatzes D 4 ist zwar signifikant niedriger ($p < 0,05$), repräsentiert aber die gleiche Größenordnung.

7.5.1.1.3. DMSO-Reduktion

Mit Hilfe der Methode der DMSO-Reduktion können Aussagen über den Schwefelkreislauf getroffen werden.

Die Böden "Kiel" und "Scheyern" repräsentieren wieder zwei unterschiedlich aktive Bodenarten. Die DMSO-Reduktion des Bodens "Scheyern" ist um das dreifache höher als die des Bodens "Kiel". Beide Böden reagieren unterschiedlich auf die Probenlagerung.

Boden "Kiel"

Die Ergebnisse der DMSO-Reduktion für den Boden "Kiel" sind in Abbildung 7.12 und Tabelle 7.14 dargestellt. Die Lagerung des Bodens "Kiel" bei Frost steigert, mit Ausnahme der Ansätze B 3 und C 2, nach dem Auftauen die DMSO-Reduktion signifikant um 14,4 – 34,2 % gegenüber der frischen Kontrolle ($p < 0,05$).

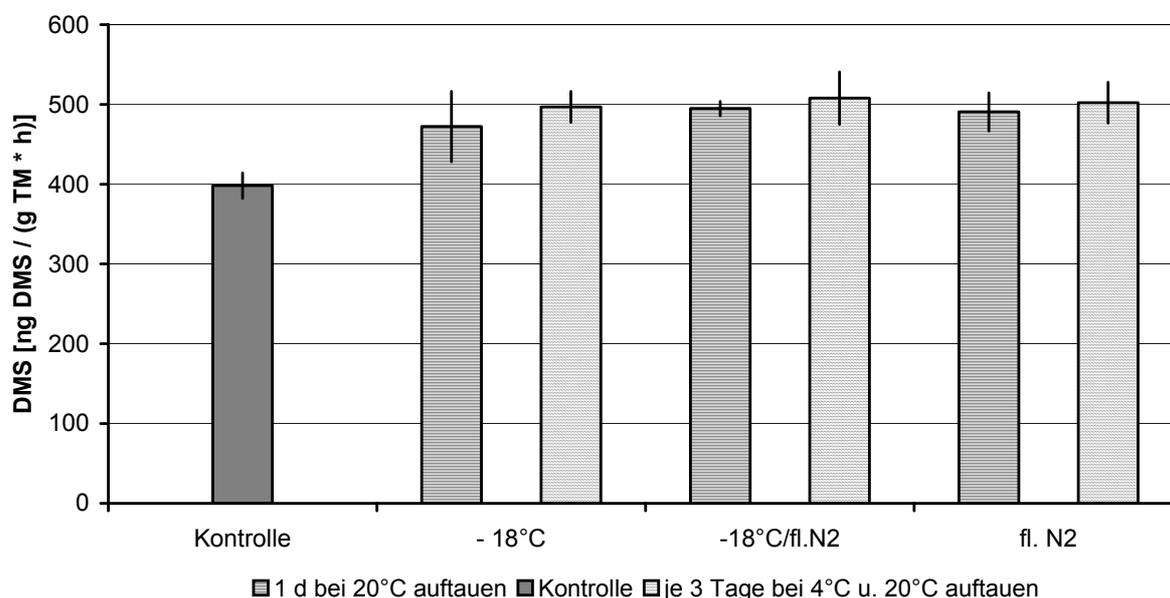


Abbildung 7.17: „Boden Kiel“ bei Langzeitlagerung (3 Mon.) – DMSO-Reduktion. Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Die Ergebnisse der Ansätze B 3 und C 2 können aufgrund relativ hoher Standardabweichungen nicht von der Kontrolle unterschieden werden. Es treten keine signifikanten Einflüsse der Einfrier- und Lagerungstemperatur, der Auftautemperatur und der Lagerungsdauer auf.

Tabelle 7.14: Boden "Kiel" – DMSO-Reduktion (MW \pm Stabs) bei Kurzzeit- (2 wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C ; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20°C ; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4°C und 20°C ; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

| DMSO-Reduktion [ng DMS / (g TM * h)] | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|--|--|--|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | |
| | 398 | 485 ** | 456 * | 535 * | 461 ns | 488 ** | 487 * | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | |
| | 16 | 22 | 31 | 66 | 35 | 28 | 38 | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | |
| | 398 | 472 ns | 497 ** | 495 *** | 508 ** | 491 ** | 502 ** | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | |
| | 16 | 44 | 19 | 9 | 33 | 24 | 26 | | | |

Boden "Scheyern"

Die Ergebnisse der DMSO-Reduktion für den Boden "Scheyern" sind in Abbildung 7.18 und Tabelle 7.15 dargestellt. Die Auswirkungen der Frostlagerung des Bodens auf die DMSO-Reduktion unterscheiden sich von denen des Bodens "Kiel".

Nach zweiwöchiger Lagerung sind die Ergebnisse der schnell aufgetauten Proben vergleichbar mit der Kontrolle (B 1 und D 1) bzw. um 13,2 % (C 1) gering, aber signifikant erhöht ($p < 0,05$). Langsames Auftauen dagegen senkt generell die DMSO-Reduktion um 14,9 – 21,9 % im Vergleich zur Kontrolle ($p < 0,001$). Die Einfrier- und Lagerungstemperatur hat keinen deutlichen Einfluss auf die Ergebnisse.

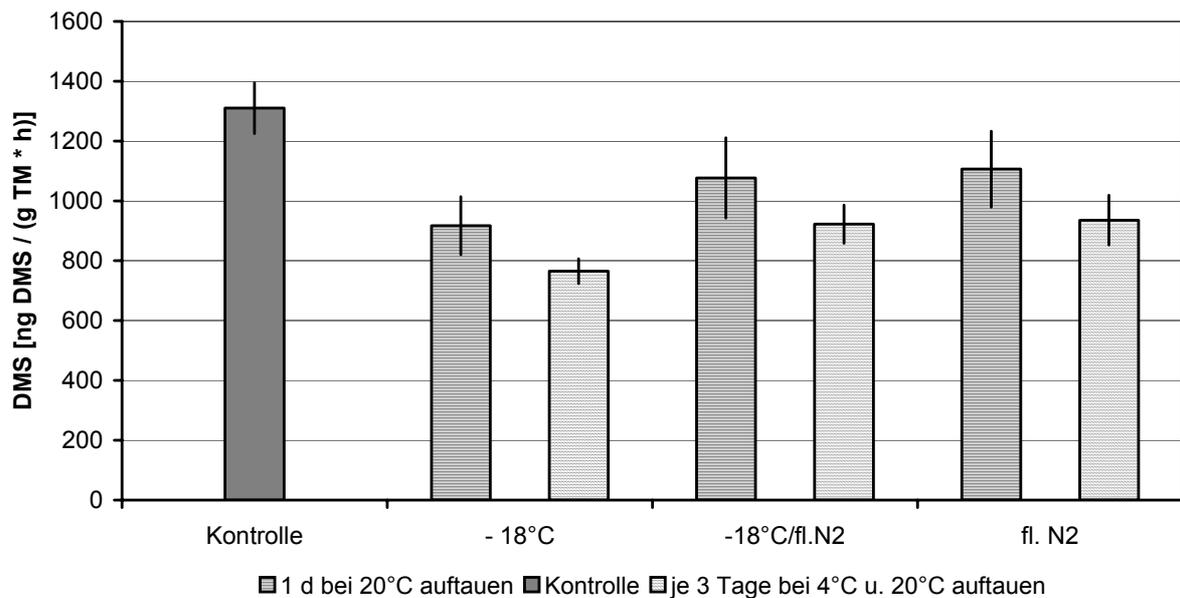


Abbildung 7.18: Boden "Scheyern" bei Langzeitlagerung (3 Mon.) – DMSO-Reduktion. Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Tabelle 7.15: Boden "Scheyern" – DMSO-Reduktion (MW \pm Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C ; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20°C ; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4°C und 20°C ; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

| DMSO-Reduktion [ng DMS / (g TM * h)] | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------|----------|-----------|----------|----|-----------|----------|-----|-----------|----------|-----|--|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | | C 1 | C 2 | | D 1 | D 2 | | |
| | 1310 | 1406 | 1058 | ns | 1483 | 1023 | *** | 1386 | 1115 | *** | |
| | \pm 85 | \pm 113 | \pm 49 | | \pm 152 | \pm 44 | | \pm 62 | \pm 35 | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | | C 3 | C 4 | | D 3 | D 4 | | |
| | 1310 | 917 | 765 | ** | 1077 | 922 | *** | 1106 | 936 | *** | |
| | \pm 85 | \pm 97 | \pm 42 | | \pm 134 | \pm 63 | | \pm 127 | \pm 83 | | |

Nach dreimonatiger Lagerung ist die DMSO-Reduktion der Proben um 15,6 – 41,6 % signifikant gegenüber der Kontrolle gesenkt ($p < 0,05$, Abbildung 7.18). Langsames Auftauen verstärkt die negativen Auswirkungen bei den Ansätzen B (-18°C) und D (flüssiger Stickstoff) ($p < 0,05$).

7.5.1.1.4. Beurteilung der Ergebnisse zur mikrobiellen Aktivität

Tabelle 7.16: *Beurteilung der Einflüsse der verschiedenen Testansätze auf die untersuchten Parameter der Bodenaktivität bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; +: vergleichbar mit Kontrolle; - unterschiedlich von Kontrolle.*

| Basalatmung | | | | | | |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Kurzzeitlagerung | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Boden „Kiel“ | + | - | + | + | + | + |
| Boden „Scheyern“ | + | + | + | + | + | + |
| Langzeitlagerung | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Boden „Kiel“ | + | + | + | + | + | + |
| Boden „Scheyern“ | + | + | + | + | - | + |
| Substratinduzierte Atmung | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Boden „Kiel“ | - | - | + | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | + | + | + | + | + | + |
| Langzeitlagerung | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Boden „Kiel“ | + | - | - | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | + | + | + | + | + | + |
| Potentielle Ammoniumoxidation | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Boden „Kiel“ | + | + | + | + | + | + |
| Boden „Scheyern“ | + | + | + | + | + | + |
| Langzeitlagerung | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Boden „Kiel“ | - | - | - | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | + | + | + | + | + | + |
| DMSO-Reduktion | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Boden „Kiel“ | + | + | - | + | + | + |
| Boden „Scheyern“ | + | + | + | + | + | + |
| Langzeitlagerung | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Boden „Kiel“ | + | + | + | - | + | - |
| Boden „Scheyern“ | - | - | + | - | + | - |

Um Abweichungen zwischen den Versuchsansätzen und der Kontrolle nicht überzubewerten, werden, in Anlehnung an die OECD-Richtlinien 216 und 217 zur Überprüfung von Chemikalien auf die Aktivität von Bodenmikroorganismen, Unterschiede von bis zu 25 % zur Kontrolle toleriert, auch wenn sie laut statistischer Überprüfung als signifikant gelten. Somit kann die in Tabelle 7.16 zusammengefasste Beurteilung über die untersuchten Testansätze getroffen werden.

Empfehlungen zur Lagerung und Aufarbeitung von Bodenproben im Hinblick auf bodenmikrobielle Aktivitätsbestimmungen:

- Bodenmikrobielle Atmung: Einfrier- und Lagerungstemperatur ohne größere Bedeutung (ten denziell eher –18°C), schnelles Auftauen.
- Pot. Ammoniumoxidation: Einfrier-, Lagerungs- und Auftautemperatur ohne Bedeutung.

- DMSO-Reduktion: Einfrier- und Lagerungstemperatur ohne größere Bedeutung, schnelles Auftauen.

7.5.1.2. Struktur der mikrobiellen Biozönose

7.5.1.2.1. PLFA

Im Rahmen dieser Studie wurden Indikator-Fettsäuren für grundlegende Gruppen der Bodenmikroorganismen untersucht, um mögliche Verschiebungen in der Zusammensetzung der bodenmikrobiellen Population zu erfassen. Bei diesen Indikator-Fettsäuren handelte es sich um 17:0 für Bakterien allgemein, 15:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0 und 10Me16:0 für Gram-positive Bakterien, 16:1 ω 9t, 18:1 ω 11c, cy17:0 und cy19:0 für Gram-negative Bakterien, 10Me18:0 für Actinomyceten und 18:2 ω 6 für Pilze (Frostegard et al. 1993, Dickens & Anderson 1999, Grayston et al. 2001).

Generell kann gesagt werden, dass sich die Auswirkungen der Bodenlagerung in gefrorenem Zustand auf die Zusammensetzung der Phospholipide in Abhängigkeit zum Bodenart unterscheiden. Dieser unterschiedliche Einfluss bedarf einer genaueren nachgeschalteten Untersuchung. Der Boden "Kiel" wird deutlich stärker als der Boden "Scheyern" durch die Bodenlagerung beeinflusst. Dies könnte durch unterschiedlich ausgeprägte mikrobielle Populationen sowie chemische und physikalische Bodeneigenschaften der Böden erklärt werden.

Im Folgenden werden die Werte der Gesamtmenge aller erfassten PLFAs, die der PLFAs i15:0 und cy19:0 - da sie den Hauptanteil der Gruppen-typischen PLFAs für Gram-positive bzw. Gram-negative Bakterien stellen - und das Verhältnis zwischen Gram-positiven und Gram-negativen bzw. bakteriellen und pilzlichen PLFAs exemplarisch dargestellt.

Boden "Kiel"

Die Ergebnisse der Phospholipid-Fettsäureanalyse (PLFA-Analyse) für den Boden "Kiel" sind in Tabelle 7.17, Tabelle 7.18 und Tabelle 7.19 sowie in Abbildung 7.19 und Abbildung 7.20 dargestellt. Die deutlichsten Auswirkungen auf die Menge und Zusammensetzung der Phospholipide lassen sich auf die Lagerungsdauer zurückführen.

Die Gesamtmenge der erfassten Phospholipid-Fettsäuren wird negativ von der Bodenlagerung beeinflusst (Abbildung 7.19). Nach zweiwöchiger Lagerung sinken die gegen den internen Standard normierten Werte langsam aufgetauter Proben signifikant ($p < 0,05$) um 32,2 – 38,4 % gegenüber der Kontrolle. Schnell aufgetaute Proben unterscheiden sich nach dieser Lagerungsdauer noch nicht signifikant von der Kontrolle, zeigen aber schon eine ähnliche Tendenz.

Nach dreimonatiger Lagerung sinken die normierten Werte unabhängig von der Auftaugeschwindigkeit signifikant ($p < 0,05$) um 27,5 – 43,7 % gegenüber der Kontrolle (Tabelle 7.17).

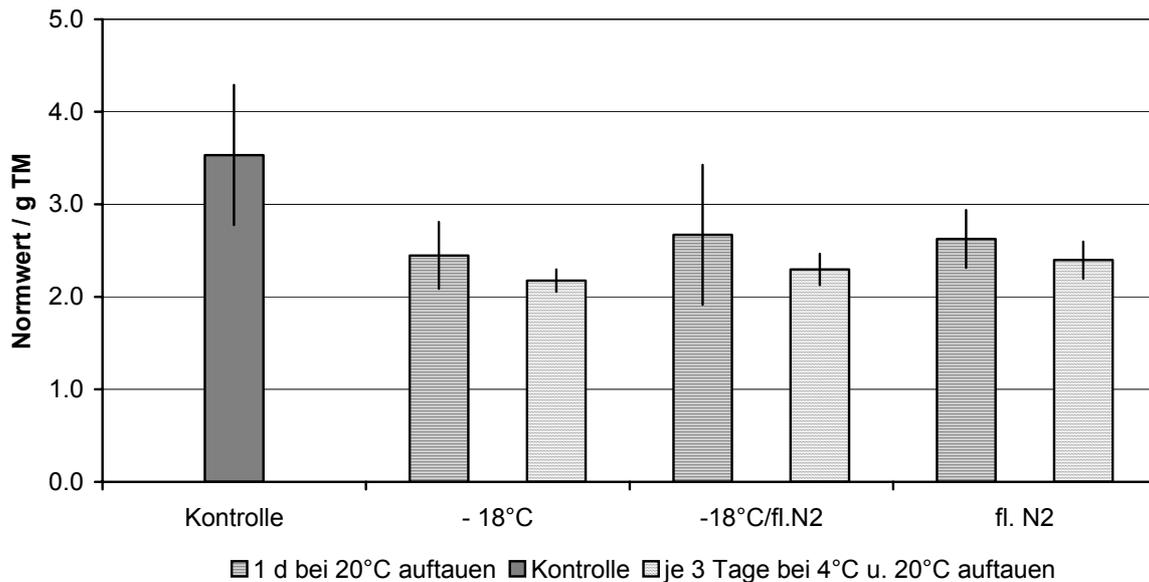


Abbildung 7.19: Boden "Kiel" bei Kurzzeitlagerung (2 Wo.) – Gesamtmenge der erfassten PLFAs (Normierung gegen internen Standard). Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Tabelle 7.17: Boden "Kiel" – Gesamtmenge erfasster PLFAs (MW ± Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Die Normierung erfolgt über einen internen Standard. Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N2; D: Einfrieren / Lagern in fl. N2; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; ns: nicht signifikant; *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001.

| Gesamtmenge erfasster PLFAs [normierte Werte] | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------------------|------|------|----|------|---|------|----|------|---|------|----|------|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | | B 2 | | C 1 | | C 2 | | D 1 | | D 2 |
| | 3,53 | 2,45 | ns | 2,18 | * | 2,67 | ns | 2,30 | * | 2,63 | ns | 2,40 |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± |
| | 0,76 | 0,36 | | 0,12 | | 0,76 | | 0,17 | | 0,31 | | 0,20 |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | | B 4 | | C 3 | | C 4 | | D 3 | | D 4 |
| | 3,53 | 2,39 | * | 2,36 | * | 2,37 | * | 1,99 | * | 2,11 | * | 2,40 |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± |
| | 0,76 | 0,31 | | 0,28 | | 0,19 | | 0,17 | | 0,21 | | 0,34 |

Die Menge fast aller erfassten Fettsäuren nimmt durch die Bodenlagerung ab. Trotzdem treten Unterschiede im Grad der Abnahme zwischen einzelnen Fettsäuren auf. Als Folge verschieben sich die relativen Anteile der erfassten Fettsäuren innerhalb der Proben. In Tabelle 7.18 sind exemplarisch die Werte der Fettsäuren i15:0 und cy19:0 dargestellt. Sie stellen mit 48,6 – 51,9 % den Hauptanteil der erfassten Fettsäuren.

Nach zweiwöchiger Lagerung sinkt der relative Anteil von i15:0 signifikant ($p < 0,05$) um 18,1 – 26,9 % gegenüber der Kontrolle. Der Anteil von cy19:0 dagegen steigt signifikant ($p < 0,05$) um 53,1 – 66,8 % gegenüber der Kontrolle an.

Nach dreimonatiger Lagerung kann kein Unterschied mehr im relativen Anteil von i15:0 im Vergleich zur Kontrolle festgestellt werden (Tabelle 7.18). Eine Ausnahme bildet der Ansatz C 3. Aber auch bei diesem Ansatz ist der relative Anteil nur noch um 5,9 % gegenüber der Kontrolle gesenkt. Auch der relative Anteil von cy19:0 zeigt im Vergleich zur Kurzzeitlagerung nur noch geringe Verschiebungen zur Kontrolle (7,7 – 20,5 %). Trotzdem sind die Unterschiede bis auf die Ansätze B 1 und B 2 signifikant ($p < 0,05$).

Die Verschiebungen in den relativen Anteilen beider Fettsäuren entstehen durch eine zeitlich verzögerte Abnahme des Gram-negativen Indikators cy19:0. Während nach zweiwöchiger Lagerung kaum Unterschiede im Vergleich zur Kontrolle auftreten, sind nach dreimonatiger Lagerung deutlich niedrigere Normwerte erkennbar ($p < 0,05$, Daten nicht aufgeführt).

Betrachtet man das Verhältnis zwischen aller erfassten Gram-positiven und Gram-negativen PLFAs, so verstärkt sich die Tendenz sogar. In Abbildung 7.20 ist exemplarisch die Verschiebung des Verhältnisses bei einer Einfriertemperatur von -18°C und einer Lagerung in flüssigem Stickstoff (Ansätze C 1-4) im Vergleich zur Kontrolle (A) dargestellt. Das Verhältnis erhöht sich bei Langzeitlagerung signifikant um 124,4 – 129,6 % ($p < 0.001$) im Vergleich zur Kontrolle. Ähnliche Ergebnisse (Steigerungen um 125,7 – 139,8 %) erhält man bei den anderen Ansätzen (B bzw. D 3-4).

Tabelle 7.18: *Boden "Kiel" – Anteil von i15:0 und cy19:0 an der Gesamtmenge erfasster PLFAs (MW \pm Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Die Normierung erfolgt über einen internen Standard. Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C ; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20°C ; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4°C und 20°C ; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.*

| PLFA i15:0 [% der erfassten PLFAs] | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------|----------|----------|----------|---------|----------|----------|--|--|--|--|--|--|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | | | |
| | 35,9 | 26,6 * | 26,3 *** | 29,4 ** | 26,9 ** | 29,2 ** | 26,2 *** | | | | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | | | | |
| | 1,5 | 4,9 | 0,3 | 4,2 | 0,2 | 1,7 | 0,4 | | | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | | | |
| | 35,9 | 34,6 ns | 35,1 ns | 33,8 * | 34,8 ns | 34,5 ns | 36,3 ns | | | | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | | | | |
| | 1,5 | 1,7 | 0,1 | 0,3 | 0,5 | 1,3 | 0,4 | | | | | | |
| PLFA cy19:0 [% der erfassten PLFAs] | | | | | | | | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | | | |
| | 14,4 | 23,9 *** | 23,0 *** | 22,0 * | 23,3 * | 22,7 *** | 22,3 *** | | | | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | | | | |
| | 1,2 | 2,5 | 0,2 | 2,7 | 0,3 | 1,5 | 0,4 | | | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | | | |
| | 14,4 | 16,2 ns | 15,9 ns | 17,3 *** | 16,5 * | 16,6 * | 15,5 * | | | | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | | | | |
| | 1,2 | 1,8 | 0,8 | 0,6 | 0,1 | 0,6 | 0,0 | | | | | | |

Auch die Verhältnisse der erfassten bakteriellen und pilzlichen Fettsäuren zeigen Unterschiede in Abhängigkeit zur Lagerungsdauer (Tabelle 7.19). Hier lässt sich die Verschiebung durch eine zeitlich verzögerte Abnahme der pilzlichen Fettsäuren (gemessen an 18:2 ω 6) erklären.

Weder Einfrier- und Lagerungstemperatur noch Auftaugeschwindigkeit zeigen deutliche Einflüsse auf die Gesamtmenge und die relativen Anteile der erfassten Fettsäuren.

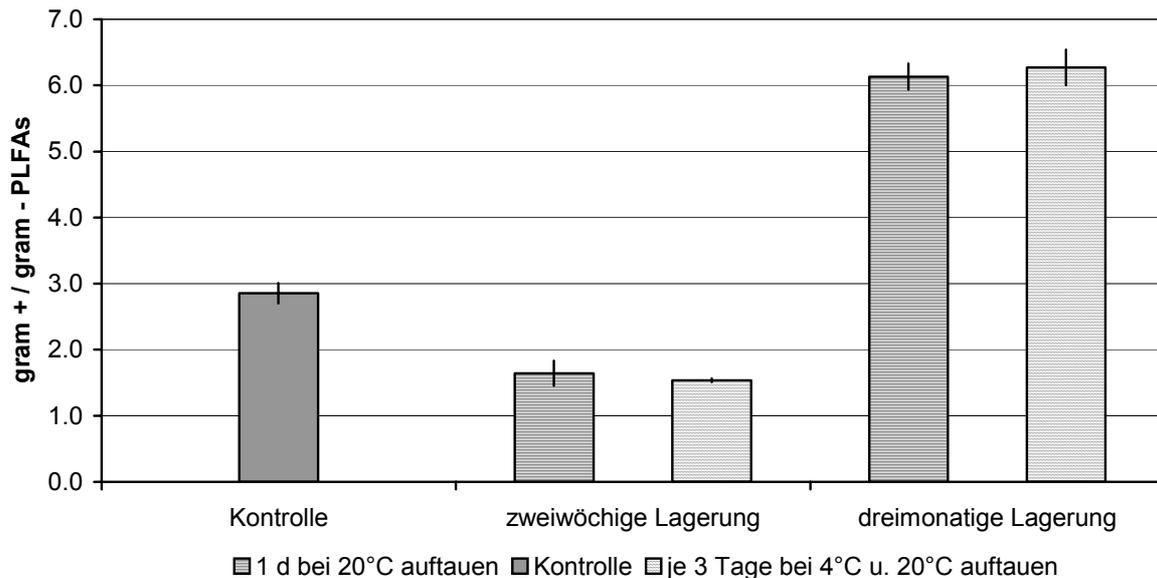


Abbildung 7.20: Boden "Kiel" bei einer Einfriertemperatur von -18°C und Lagerung in flüssigem Stickstoff (Ansätze C 1-4) – Verhältnis aller erfassten Fettsäuren aus Gram-positiven bzw. Gram-negativen Bakterien. Gliederung nach Lagerungsdauer. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Tabelle 7.19: Boden "Kiel" – Verhältnis erfasster bakterieller zu pilzlicher PLFAs (MW \pm Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Die Normierung erfolgt über einen internen Standard. Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C ; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20°C ; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4°C und 20°C ; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

| Bakterielle PLFAs : pilzliche PLFAs | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------|----------|----------|---------|----------|----------|----------|--|--|--|--|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | |
| | 39.2 | 24.4 *** | 26.0 *** | 20.6 ns | 23.5 *** | 18.2 *** | 27.1 *** | | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | | |
| | 0.5 | 1.5 | 1.0 | 4.9 | 1.7 | 0.7 | 0.7 | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | |
| | 39.2 | 47.7 * | 49.1 ** | 46.8 * | 47.1 * | 60.6 * | 54.4 * | | | | |
| | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | \pm | | | | |
| | 0.5 | 0.9 | 0.9 | 0.4 | 1.7 | 0.5 | 1.4 | | | | |

Boden "Scheyern"

Die Ergebnisse der Phospholipid-Fettsäureanalyse (PLFA-Analyse) für den Boden " Scheyern " sind in Tabelle 7.20, Tabelle 7.21 und Tabelle 7.22 sowie in Abbildung 7.21 und Abbildung 7.22 dargestellt. Bei diesem Boden lassen sich keine einheitlichen Tendenzen bei den Auswirkungen auf die Menge und Zusammensetzung der Phospholipide auf die Bodenbehandlung zurückführen.

Mit Ausnahme des Ansatzes B 1 ist die Gesamtmenge der erfassten Fettsäuren nach zweiwöchiger Bodenlagerung mit der Kontrolle vergleichbar (Abbildung 7.21). Der Ansatz B 1 zeigt einen um 55,0 % höheren Wert ($p < 0,05$). Auch nach dreimonatiger Probenlagerung ist die Gesamtmenge der erfassten Fettsäuren weitgehend mit der Kontrolle vergleichbar (Tabelle 7.20). Eine Ausnahme bilden die Ansätze C 3 und C 4, die um 33,5 – 53,7 % höhere Werte als die

Kontrolle aufweisen ($p < 0,01$). Die einzelnen erhöhten Werte lassen sich nicht durch die Bodenbehandlung sondern eher durch die natürliche Varianz des Bodens erklären.

Tabelle 7.20: Boden "Scheyern" – PLFA-Analyse bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Dargestellt ist die Gesamtmenge erfasster PLFAs (MW \pm Stabw). Die Normierung erfolgt über einen internen Standard. Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C ; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20°C ; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4°C und 20°C ; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

| Gesamtmenge erfasster PLFAs [normierte Werte] | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|--|--|--|--|--|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | | |
| | 8,74 | 13,55 * | 6,11 ns | 9,23 ns | 8,16 ns | 8,53 ns | 11,25 ns | | | | | |
| | \pm 1,25 | \pm 3,13 | \pm 2,10 | \pm 0,68 | \pm 1,50 | \pm 0,48 | \pm 1,51 | | | | | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | | |
| | 8,74 | 10,19 ns | 12,30 ns | 11,67 ** | 13,44 ** | 7,30 ns | 11,05 ns | | | | | |
| | \pm 1,25 | \pm 0,10 | \pm 2,27 | \pm 0,55 | \pm 1,44 | \pm 2,36 | \pm 2,61 | | | | | |

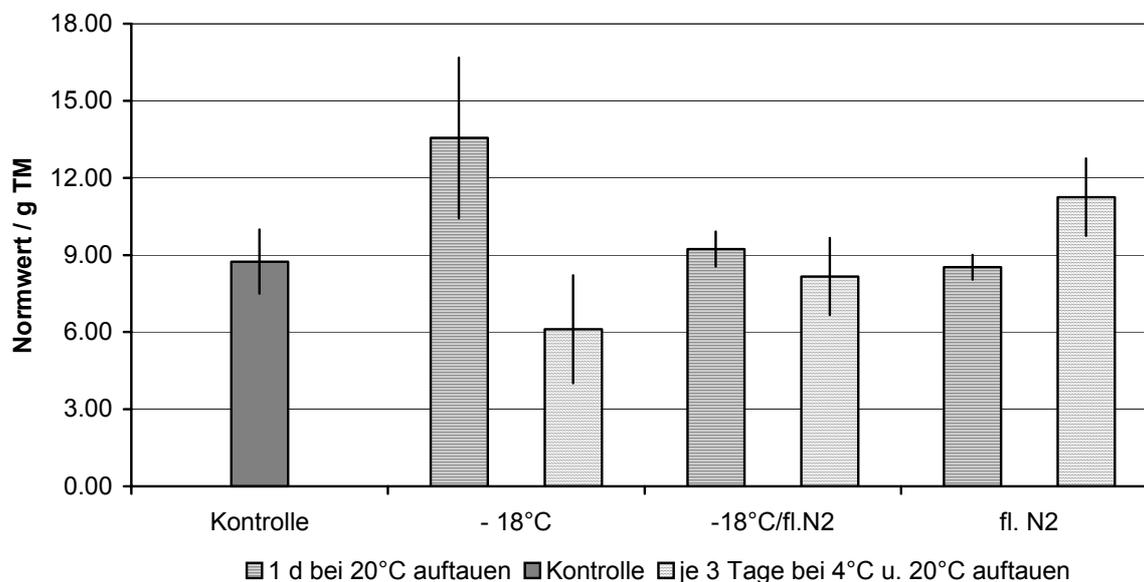


Abbildung 7.21: Boden "Scheyern" bei Kurzzeitlagerung (2 Wo.) – Gesamtmenge der erfassten PLFAs (Normierung gegen internen Standard). Gliederung nach Lagerungsart. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Ähnlich wie bei der Gesamtmenge, lassen sich auch bei den einzelnen erfassten Fettsäuren nur wenige Auswirkungen durch die Bodenlagerung nachweisen. Zu diesen Ausnahmen gehört die Menge an i15:0, a15:0 und 18:2 ω 6. Als Folge verschieben sich die relativen Anteile der erfassten Fettsäuren innerhalb der Proben. In Tabelle 7.21 sind wieder exemplarisch die Werte der Fettsäuren i15:0 und cy19:0 dargestellt. Sie stellen mit 23,4 – 39,8 % neben den Fettsäuren a15:0 und cy17:0 den Hauptanteil der erfassten Fettsäuren im Boden "Scheyern".

Nach zweiwöchiger Lagerung kann keine einheitliche Tendenz im relativen Anteil von i15:0 gegenüber der Kontrolle festgestellt werden. Die Auftaugeschwindigkeit zeigt in Kombination mit den verschiedenen Einfrier- und Lagerungstemperaturen keine oder gegenläufige Effekte. Besonders auffällig ist der extrem niedrige Wert in Ansatz B 2 (Tabelle 7.21). Der Anteil von cy19:0 dagegen sinkt bei allen Ansätzen signifikant ($p < 0,05$) um 11,1 – 31,5 % gegenüber der Kontrolle. Eine Ausnahme bildet wieder Ansatz B 2 mit vergleichbaren Werten zur Kontrolle.

Tabelle 7.21: Boden "Scheyern" – PLFA-Analyse bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Dargestellt ist der relative Anteil von *i15:0* und *cy19:0* an der Gesamtmenge erfasster PLFAs ($MW \pm Stabw$). Die Normierung erfolgt über einen internen Standard. Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C ; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20°C ; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4°C und 20°C ; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

| PLFA <i>i15:0</i> [% der erfassten PLFAs] | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------------|------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | | | |
| | 15,7 | 19,4 | ** | 0,9 | *** | 13,2 | ns | 16,5 | ns | 12,8 | ns | 20,4 | ** |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | |
| | 1,3 | 0,9 | | 0,2 | | 1,2 | | 4,9 | | 2,4 | | 1,5 | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | | | |
| | 15,7 | 25,4 | *** | 27,7 | *** | 26,1 | *** | 26,9 | *** | 23,9 | ** | 27,9 | *** |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | |
| | 1,3 | 0,4 | | 0,9 | | 1,9 | | 1,0 | | 2,2 | | 0,9 | |
| PLFA <i>cy19:0</i> [% der erfassten PLFAs] | | | | | | | | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 | | | | | | |
| | 20,5 | 16,1 | *** | 22,4 | ns | 17,5 | *** | 15,0 | * | 18,2 | ** | 13,8 | *** |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | |
| | 1,6 | 0,7 | | 5,7 | | 0,3 | | 3,1 | | 0,7 | | 0,4 | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 | | | | | | |
| | 20,5 | 12,4 | *** | 11,8 | *** | 11,8 | *** | 12,9 | *** | 12,8 | *** | 11,7 | *** |
| | ± | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | | ± | |
| | 1,6 | 0,5 | | 0,9 | | 0,8 | | 0,6 | | 0,3 | | 0,6 | |

Nach dreimonatiger Lagerung finden sich unabhängig von Auftaugeschwindigkeit und Einfrier- bzw. Lagerungstemperatur um 61,3 – 77,0 % höhere relative Anteile von *i15:0* gegenüber der Kontrolle (Tabelle 7.21). Der relative Anteil von *cy19:0* zeigt im Gegensatz zur Kurzzeitlagerung generell signifikant niedrigere relative Anteile im Vergleich zur Kontrolle (37,2 – 43,0 %, $p < 0,001$).

Die Verschiebungen in den relativen Anteilen beider Fettsäuren entstehen durch eine zeitlich verzögerte Zunahme der Gram-positiven Indikatoren *i15:0* und *a15:0*. Während nach zweiwöchiger Lagerung kaum Unterschiede im Vergleich zur Kontrolle auftreten, sind nach dreimonatiger Lagerung meist deutlich höhere Normwerte erkennbar (Daten nicht aufgeführt).

Betrachtet man das Verhältnis aller erfassten PLFAs aus Gram-positiven bzw. Gram-negativen Bakterien, so zeigt sich die gleiche Tendenz. In Abbildung 7.22 ist exemplarisch die Verschiebung des Verhältnisses bei einer Einfriertemperatur von -18°C und einer Lagerung in flüssigem Stickstoff (Ansätze C 1-4) im Vergleich zur Kontrolle (A) dargestellt. Das Verhältnis erhöht sich bei Langzeitlagerung signifikant um 166,7 – 202,6 % ($p < 0,001$) im Vergleich zur Kontrolle. Ähnliche Ergebnisse (Steigerungen um 170,9 – 207,0 %) erhält man bei den anderen Ansätzen (B bzw. D 3-4).

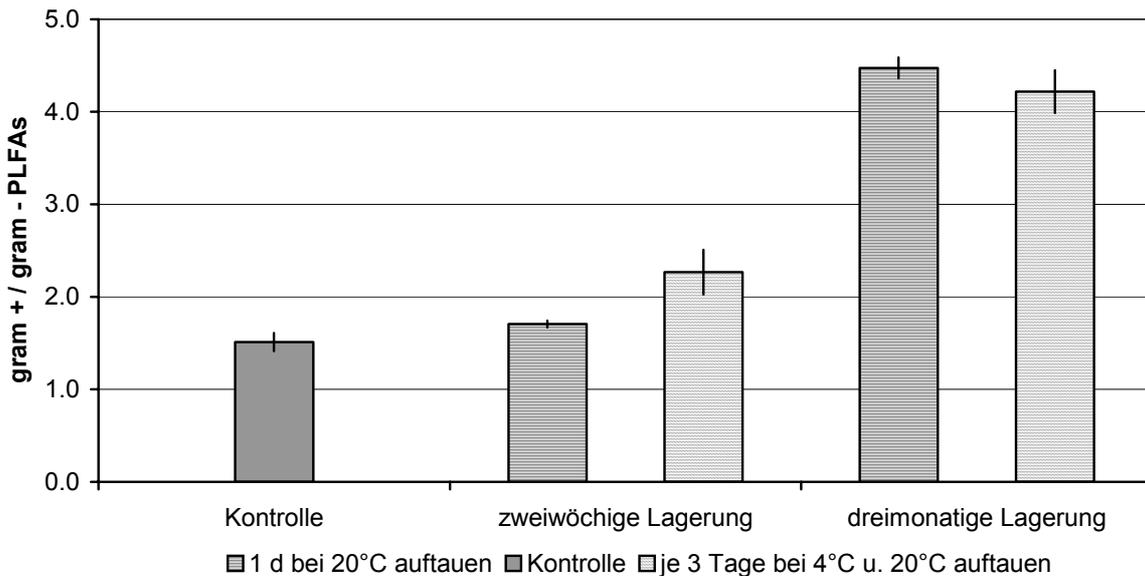


Abbildung 7.22: Boden "Scheyern" bei einer Einfriertemperatur von -18°C und Lagerung in flüssigem Stickstoff (Ansätze C 1-4) – Verhältnis aller erfassten Fettsäuren aus Gram-positiven bzw. Gram-negativen Bakterien. Gliederung nach Lagerungsdauer. Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Auch die Verhältnisse der erfassten bakteriellen und pilzlichen Fettsäuren zeigen wieder Unterschiede in Abhängigkeit zur Lagerungsdauer (Tabelle 7.22). Auch hier lässt sich die Verschiebung durch eine zeitlich verzögerte Zunahme der Fettsäuren aus Gram-positiven Bakterien erklären.

Weder Einfrier- und Lagerungstemperatur noch Auftaugeschwindigkeit zeigen deutliche Einflüsse auf die Gesamtmenge und die relativen Anteile der erfassten Fettsäuren.

Tabelle 7.22: Boden "Scheyern" – Verhältnis erfasster bakterieller zu pilzlicher PLFAs (MW \pm Stabw) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). Die Normierung erfolgt über einen internen Standard. Signifikanzwerte beziehen sich auf den Vergleich mit der Kontrolle. A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei -18°C ; C: Einfrieren bei -18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20°C ; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4°C und 20°C ; ns: nicht signifikant; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$.

| Bakterielle PLFAs : pilzliche PLFAs | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------------|-------|-------|-----|-------|-----|-------|----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | | B 2 | | C 1 | | C 2 | | D 1 | | D 2 | |
| | 19,1 | 26.0 | ns | 9.6 | *** | 18.2 | ns | 19.3 | ns | 17.6 | ns | 30.2 | *** |
| | \pm | \pm | | \pm | | \pm | | \pm | | \pm | | \pm | |
| | 2,6 | 4.9 | | 1.0 | | 0.9 | | 3.0 | | 2.2 | | 1.6 | |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | | B 4 | | C 3 | | C 4 | | D 3 | | D 4 | |
| | 19,1 | 39.6 | *** | 42.7 | ** | 41.3 | ** | 35.8 | *** | 36.4 | *** | 42.3 | ** |
| | \pm | \pm | | \pm | | \pm | | \pm | | \pm | | \pm | |
| | 2,6 | 1.1 | | 4.4 | | 4.0 | | 0.9 | | 1.8 | | 5.7 | |

Ansatz B 2 zeigt deutliche Unterschiede zu den anderen Ansätzen nach Kurzzeitlagerung (B1, C und D 1-2). Es finden sich in B 2 bei den ermittelten Verhältnissen deutlich niedrigere Werte.

Die Ergebnisse des Ansatzes B 2 begründen sich durch das fast vollständige Fehlen der Indikatoren für Gram-positive Bakterien (i15:0, a15:0, i16:0, 10Me16:0) und dem gehäuften Vorkommen der für Actinomyceten und Pilze typischen Fettsäuren 10Me18:0 bzw. 18:2 ω 6. Diese deutliche Abgrenzung des Ansatzes B 2 von allen anderen Ansätzen kann nicht durch die Bodenbehandlung erklärt werden. Weder Einfrier- und Lagerungstemperatur noch

Auftaugeschwindigkeit zeigen deutliche Einflüsse auf die Gesamtmenge und die relativen Anteile der erfassten Fettsäuren.

Über die Veränderung relativer Anteile von iso- zu anteiso- und cis- zu trans-Formen einzelner Fettsäuren bzw. cyclischen Fettsäuren zu ihren kettenförmigen Vorstufen kann physiologischer Stress bei Mikroorganismen nachgewiesen werden [PETERSEN & KLUG 1994, KIEFT *et al.* 1994, FROSTEGARD *et al.* 1995]. In dieser Studie konnten mit einer Ausnahme keine signifikanten Auswirkungen der Bodenbehandlung auf diese Verhältnisse festgestellt werden. Nur das generell um 10,4 – 28,7 % signifikant ($p < 0.05$) höhere Verhältnis von cy19:0 zu 18:1 ω 11c nach Langzeitlagerung (B, C und D 3-4) des Bodens "Kiel" im Vergleich zur Kontrolle zeigt einen erhöhten physiologischen Stress für die Mikroorganismen an (Daten nicht aufgeführt).

7.5.1.2.2. 16 S rDNA

Für die Untersuchung der mikrobiellen Diversität wurde auch die T-RFLP-Methode (Terminaler Restriktions-Fragment-Längen Polymorphismus) gewählt. Hierbei wird das Gen (16S rDNA), was für die ribosomale RNA der kleinen Untereinheit der Ribosomen kodiert, durch ein Restriktionsenzym (in diesem Fall Msp I) geschnitten, wobei ein terminales Stück fluoreszenzmarkiert und dadurch detektierbar wird. Die Größe des markierten Endstückes ist typisch für bestimmte Gruppen der Bakterien. Veränderungen im Muster der terminalen rDNA Fragmente zeigen Veränderungen in der Struktur der mikrobiellen Lebensgemeinschaft an.

Da für dieses Untersuchungsverfahren nur geringe Bodenmengen benötigt werden (0,5 g pro Aufarbeitung), wurden neben den relativ großen Mengen für die Aktivitätsbestimmungen zusätzlich geringere Mengen von 5-10 g Boden eingefroren. Die geringen Mengen erlauben ein schnelleres Durchfrieren der Proben und ein schnelleres Auftauen, was sich positiv auf die Stabilität der Mikroorganismen auswirken könnte. Die Ansätze werden im Folgenden als „groß“ bzw. „klein“ bezeichnet.

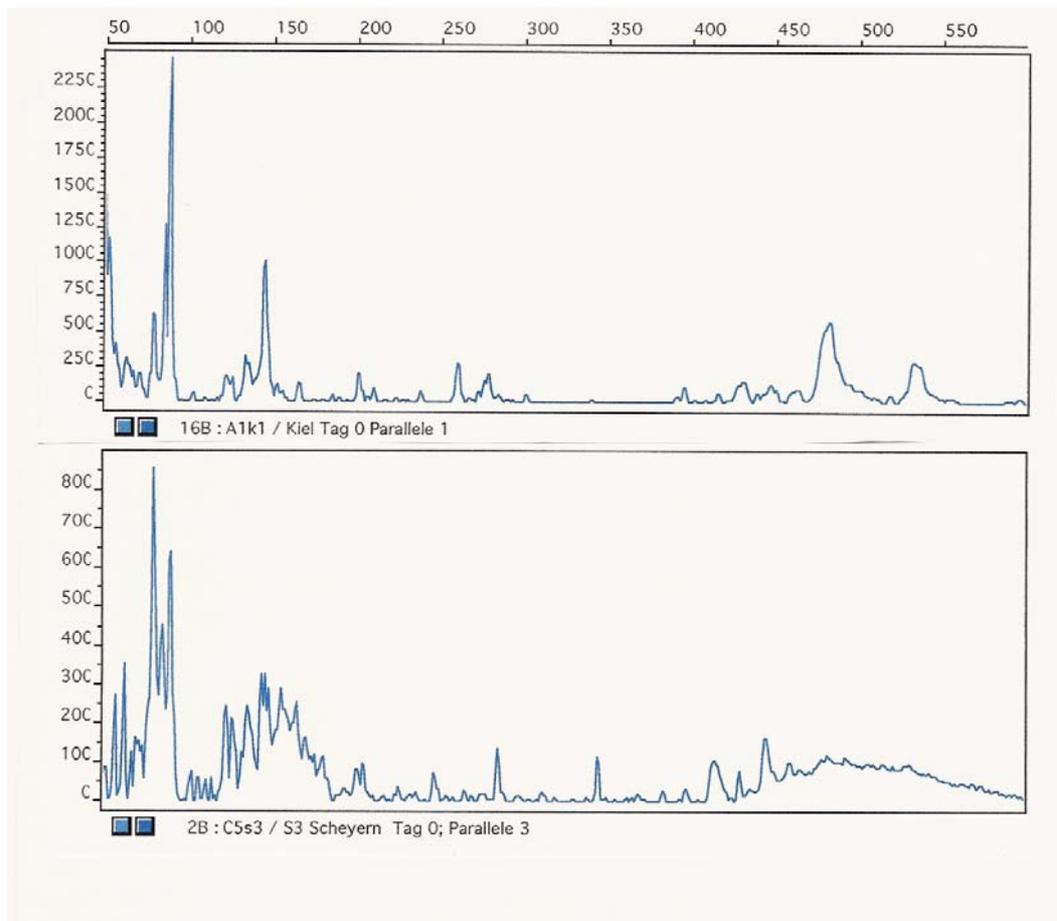


Abbildung 7.23: *Typische T-RFLP Fragmentmuster der Böden „Kiel“ (oben) und „Scheyern“ (unten) vor dem Einfrieren (Kontrollen, Tag 0). X-Achse: Basenpaare (bp), Y-Achse: Fluoreszenz-Einheiten.*

Die Peaks in den Elektropherogrammen geben die Mengenverhältnisse der Fragmente relativ zueinander an, eine quantitative Bestimmung einzelner Fragmente ist mit der durchgeführten Methode nicht möglich. Die Auswertung der in diesem Vorhaben untersuchten Proben konzentrierte sich auf den Mustervergleich der verschiedenen Proben als Indikator für Veränderungen in der Struktur der bakteriellen Biozönose.

Die Fragmentmuster der Böden „Kiel“ und „Scheyern“, die vor dem Einfrieren erhalten wurden (Kontrollen), sind in Abbildung 7.23 dargestellt.

Das T-RFLP Fragmentmuster der Kontrolle des Bodens „Kiel“ kann in vier Bereiche unterteilt werden, in denen die Fragmente in unterschiedlichen Mengen und Häufigkeiten vorliegen: (1) der Bereich bis zu einer Größe von ca. 100 bp mit zwei dominanten Fragmenten zwischen 77 und 92 bp, (2) den Bereich zwischen 120 und 170 bp mit Maxima knapp unter 150 bp, (3) den Bereich zwischen 170 und 380 bp, in dem wenige schwache Fragmente liegen und (4) den Bereich mit den größten Fragmenten >380 bp.

In der Kontrolle des Bodens „Scheyern“ liegt eine höhere Anzahl unterschiedlicher Fragmente vor als in dem Boden „Kiel“. Die höhere Diversität der mikrobiellen Lebensgemeinschaft kann durch die gegenüber „Kiel“ erhöhten Anteile an Schluff, Ton, organischem Kohlenstoff und durch unterschiedliche Agrar-Kulturen begründet sein. Unterschiede zwischen diesen beiden Böden wurden auch in den Untersuchungen der Aktivitätsparameter festgestellt: diese waren in allen untersuchten Testverfahren in dem Boden „Scheyern“ höher als in dem Boden „Kiel“.

Die T-RFLP Fragmente der Kontrolle des Bodens „Scheyern“ lassen sich ebenfalls grob in vier Größenbereiche einteilen, allerdings liegt hier eine größere Zahl verschieden großer Fragmente vor

als im Boden „Kiel“: (1) der Bereich bis zu einer Größe von ca. 100 bp mit zwei dominanten Fragmenten zwischen 80 und 92 bp, (2) den Bereich zwischen 120 und 170 bp, der eine Vielzahl von Fragmenten aufweist und deshalb eine geringe Auflösung zeigt, (3) den Bereich zwischen 170 und 380 bp in dem wenige Fragmente liegen und (4) den Bereich mit den größten Fragmenten >380 bp, der wie auch der mittlere Bereich der eine Vielzahl von Fragmenten aufweist und deshalb eine geringe Auflösung zeigt.

Die Behandlung der Bodenproben hatte teilweise einen sehr starken Einfluss auf die Struktur der mikrobiellen Lebensgemeinschaften. Bei der Mehrzahl der Proben erwies sich das Schockgefrieren in flüssigem Stickstoff mit anschließender dreimonatiger Lagerung als ungeeignet, unabhängig von der Art des Auftauens. Die Ausnahme bildete eine Parallele der „großen“ Variante vom „Boden Kiel“, die bei langsamem Auftauen gute Übereinstimmung mit der Kontrolle zeigte (Anhang: Abbildung A – 2f). Bei den anderen Proben kam es zu einer deutlichen Reduzierung an Fragmenten verglichen mit der Kontrolle (a und f in Anhang: Abbildung A – 1 bis A – 4)

Mit der Kontrolle vergleichbare Fragmentmuster wurden nach Schockgefrieren und kurzer Einlagerungszeit in flüssigem Stickstoff mit schnellem Auftauen (D1) in erster Linie bei den „kleinen“ Varianten der Böden gefunden (Anhang: Abbildung A - 1e, A - 3e). Allerdings besitzt diese Lagerdauer keine Relevanz für die Umweltprobenbanklagerung. Das Fragmentmuster der Variante „Scheyern groß“ stimmte dagegen weniger gut mit dem Muster der Kontrollen überein (Anhang: Abbildung A - 4e).

Kurzzeitlagerung in flüssigem Stickstoff nach Einfrieren bei -18 °C (C1) mit schnellem Auftauen wirkte sich insofern auf die Fragmentmuster des Bodens „Scheyern groß“ aus (Anhang: Abbildung A - 4c), dass das Fragmentmuster im vorderen Bereich relativ vergleichbar mit der Kontrolle war, aber die großen Fragmente deutlich reduziert waren. Langsames Auftauen führte bei dieser Probe zu einer starken Reduzierung an Fragmenten (ohne Abb.). Bei dem Boden „Scheyern klein“ hatte die Auftauart einen schwächeren Einfluss, aber langsames Auftauen bewirkte die geringsten Veränderungen im Fragmentmuster. Hier ist das Fragmentmuster in allen Bereichen mit der Kontrolle vergleichbar. Für den Boden „Kiel klein“ war dagegen schnelles Auftauen von Vorteil (Anhang: Abbildung A - 1c und A - 3c).

Mit Verlängerung der Lagerzeit in flüssigem Stickstoff scheinen sich auch hier, wie in der Behandlungsvariante D3 und D4, durch die längere Lagerung Veränderungen in der Struktur gegenüber der Kontrolle zu ergeben. Diese Veränderungen sind in den einzelnen Proben unterschiedlich stark ausgeprägt (Behandlungsvariante C3 und C4) und ergeben kein einheitliches Muster. Am Beispiel des Bodens „Kiel klein“ (Anhang: Abbildung A - 1d) kann man beobachten, wie besonders die großen Fragmente als Folge der Behandlung, hier unabhängig von der Auftauart, anteilig verschwunden sind und im Bereich der kleinen Fragmente ein Peak mit ca. 80 bp stark zugenommen hat. In dem „großen“ Ansatz des Kieler Bodens blieben aber die großen Fragmente nach langsamem Auftauen vorhanden (Anhang: Abbildung A - 2d). Im Boden „Scheyern“ waren der Rückgang in den beiden Proben „klein“ und „groß“ dramatisch, es wurden im Vergleich zur Kontrolle deutlich weniger Fragmente detektiert (Anhang: Abbildung A - 3d, A - 4d).

Wurden die Böden bei -18 °C eingefroren und nur kurze Zeit bei -18 °C gelagert (B1 und B2), ergaben sich je nach Probe unterschiedliche Resultate. So waren die T-RFLP Muster im Boden „Kiel klein“ unabhängig vom Auftauen verändert, wenn auch durch langsames Auftauen weniger als durch schnelles Auftauen. Im Boden „Scheyern klein“ war das Fragmentmuster aber unabhängig vom Auftauen gut mit den entsprechenden Kontrollen vergleichbar (Anhang: Abbildung A - 1b, A - 3b)

Die „großen“ Ansätze der Böden verhielten sich uneinheitlich. Im Boden „Kiel groß“ (Anhang: Abbildung A – 2b) wurde ein besseres Fragmentmuster nach langsamem Auftauen beobachtet, in dem Boden „Scheyern groß“ dagegen eher nach schnellem Auftauen (ohne Abb.).

Bei Einfrieren und Langzeitlagerung bei -18 °C erwies sich langsames Auftauen (B4) bei dem Boden „Kiel“ als besser geeignet als schnelles Auftauen (B3) (Anhang: Abbildung A – 2c). Die Fragmentmuster der beiden Kieler Böden stimmten gut mit der Kontrolle überein. Im Boden „Scheyern“ bewirkte diese Behandlungsart starke Veränderungen, unabhängig von der Art des Auftauens. Es konnte keine gute Übereinstimmung mit der Kontrolle festgestellt werden (Anhang: Abbildung A – 4b). Schnelles Auftauen bewirkte bei allen Proben starke Veränderungen im Fragmentmuster.

Zwischen den beiden Varianten „klein“ und „groß“ waren keine durchgehenden Unterschiede zu beobachten. Bei Langzeitlagerung brachte die Portionierung in kleine Bodenmengen keinen Vorteil gegenüber den großen Bodenmengen.

Bezüglich der Art des Auftauens wurde beobachtet, dass, wenn bei Langzeitlagerung übereinstimmende Fragmentmuster gefunden wurden, dies überwiegend Proben nach langsamem Auftauen waren.

Generell wurde beobachtet, dass

- längere Einfrierzeit, besonders in flüssigem Stickstoff, die Struktur der bakteriellen Biozönose stark beeinflusst. Kürzere Zeiten zeigten meist geringere Auswirkungen, sind aber für die Fragestellung der Umweltprobenbank ohne Belang.
- Einfriertemperaturen von -18 °C scheinen gegenüber flüssigem Stickstoff von Vorteil zu sein.
- keine klaren Empfehlungen zu der Art des Auftauens gegeben werden kann. Es scheint ein geringerer Einfluss bei langsamem Auftauen stattzufinden.
- diese orientierenden Untersuchungen, wenn sie auch kein eindeutiges Bild liefern, aber den Schluss zulassen, dass nach Langzeitlagerung von Böden bei tiefen Temperaturen mit starken strukturellen Veränderungen in der mikrobiellen Biozönose zu rechnen ist. Verschiebungen in der Struktur durch die Bodenbehandlungen wurden auch anhand der Phospholipidmuster für das Verhältnis von gram-positiven zu gram-negativen Bakterien gezeigt. Veränderungen durch die Gefrierbehandlung wurden auch bei den Aktivitätsparametern (wie in diesem Vorhaben untersucht) festgestellt.

7.5.1.2.3. Beurteilung der Ergebnisse zur mikrobiellen Biozönose

Auch bei den Untersuchungen zur mikrobiellen Biozönose mittels PLFA-Analyse werden, in Anlehnung an die OECD-Richtlinien 216 und 217 (siehe Kap. 6.2.5.4) Abweichungen von bis zu 25 % zur Kontrolle toleriert, auch wenn sie laut statistischer Überprüfung als signifikant gelten, um sie nicht überzubewerten. Somit kann die in Tab. 7.23 zusammengefasste Beurteilung über die untersuchten Testansätze getroffen werden.

Tabelle 7.23: *Beurteilung der Einflüsse der verschiedenen Testansätze auf die untersuchten Phospholipid-Fettsäuren (PLFAs) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N2; D: Einfrieren / Lagern in fl. N2; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; +: vergleichbar mit Kontrolle; - unterschiedlich von Kontrolle.*

| Gesamtmenge erfasster PLFAs | | | | | | |
|------------------------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Kurzzeitlagerung | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Boden „Kiel“ | + | - | + | - | + | - |
| Boden „Scheyern“ | - | + | + | + | + | + |
| Langzeitlagerung | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Boden „Kiel“ | - | - | - | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | + | + | - | - | + | + |
| Verhältnis erfasster Gram-negativer : Gram-positiver PLFAs | | | | | | |
| Kurzzeitlagerung | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Boden „Kiel“ | - | - | - | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | - | - | + | - | + | - |
| Langzeitlagerung | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Boden „Kiel“ | - | - | - | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | - | - | - | - | - | - |

Hinsichtlich der Beurteilung der Einflüsse auf das T-RFLP Fragmentmuster der Testansätze ergibt sich das in Tabelle 7.24 dargestellte Bewertungsschema.

Tabelle 7.24: *Bewertungsschema der Ähnlichkeit der T-RFLP Fragmentmuster in Abhängigkeit der Behandlungsmethode der Böden (+ gute, +/- weniger gute, - schlechte Übereinstimmung mit den Fragmentmustern der entsprechenden Kontrolle)*

| Kurzzeitlagerung | B1 | B2 | C1 | C2 | D1 | D2 |
|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | schnell | langsam | schnell | langsam | schnell | langsam |
| „Kiel klein“ | - | +/- | + | - | + | - |
| „Kiel groß“ | - | + | - | - | - | - |
| „Scheyern klein“ | + | + | +/- | + | + | - |
| „Scheyern groß“ | +/- | - | +/- | - | - | - |
| Langzeitlagerung | B3 | B4 | C3 | C4 | D3 | D4 |
| Auftauen | schnell | langsam | schnell | langsam | schnell | langsam |
| „Kiel klein“ | - | + | - | - | - | - |
| „Kiel groß“ | - | + | - | + | - | + |
| „Scheyern klein“ | - | - | - | - | - | - |
| „Scheyern groß“ | - | - | - | - | - | - |

* von 3 Parallelen zeigte 1 Parallele Muster vergleichbar zur Kontrolle

Empfehlungen zur Lagerung und Aufarbeitung von Bodenproben im Hinblick auf die bodenmikrobielle Biozönose:

- **PLFA:** Die Bodenart hat einen Einfluss auf die Wirkung der Bodenlagerung.
Endgültige Aussagen können erst nach weiteren Untersuchungen getroffen werden. Tendenziell Einfrier- und Lagerungstemperatur ohne größere Bedeutung, eher schnelles Auftauen.
- **16 S rDNA:** Die Bodenart hat einen Einfluss auf die Wirkung der Bodenlagerung.
Endgültige Aussagen können erst nach weiteren Untersuchungen getroffen werden. Tendenziell hinsichtlich einer Langzeitlagerung eher Einfrieren und Lagern bei –18°C, langsames Auftauen.

7.5.1.3. Nematodenbiozönose

Exemplarisch sollten die Auswirkungen von Gefrierlagerung auf die Biozönose endogäischer Fauna anhand der Nematoden erfasst werden. Es zeigt sich, dass die Nematodenabundanz grundsätzlich durch das Einfrieren der Proben gesenkt wird. Auch das relative Verhältnis der Nematodenfamilien in der Biozönose wird stark beeinflusst. Dies kann anhand der beiden dominanten Ernährungsformtypen der bakteriophagen und phytophagen Nematoden besonders deutlich gemacht werden. Auf die Zusammensetzung der Nematodenbiozönose im Hinblick auf den Besiedlungsformtyp (Primär-/Sekundärbesiedler) wurde kein Einfluß durch die Probenbearbeitung gefunden.

Boden "Kiel"

Die Ergebnisse der Nematodenbestimmungen für den Boden "Kiel" sind in den Abbildungen 7.19 - 20 sowie den Tabelle 7.25 - 27 dargestellt.

Nach zweiwöchiger Lagerung sinkt die Nematodenabundanz schnell aufgetauter Proben um 50,3 – 57,1 % im Vergleich zur Kontrolle (Tabelle 7.25). Langsames Auftauen der Proben verstärkt den negativen Effekt der Lagerung. Es werden nur noch 8,4 – 21,9 % der Individuenzahlen der Kontrolle gefunden. Die Einfrier- und Lagerungstemperatur wirkt sich nur in Kombination mit langsamem Auftauen der Proben aus. Einfrieren in flüssigem Stickstoff und anschließendes langsames Auftauen führt zu den niedrigsten Individuenzahlen aller Proben (Abbildung 7.24).

Tabelle 7.25: *Boden "Kiel" – Gesamtabundanz der Nematoden bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N₂; D: Einfrieren / Lagern in fl. N₂; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C.*

| Individuenzahl pro kg Boden (TM) | | | | | | | |
|----------------------------------|------|------|------|------|------|-------|------|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| | 9066 | 4506 | 1952 | 4057 | 1989 | 3890 | 763 |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| | 9066 | 7469 | 2147 | 7831 | 1324 | 10509 | 1076 |

Nach dreimonatiger Lagerung werden bei schnellem Auftauen nur geringe Effekte auf die Gesamtabundanz festgestellt (Tabelle 7.25). Langsames Auftauen führt dagegen wie bei zweiwöchiger Lagerung zu deutlich niedrigeren Abundanzen. Dabei wirkt sich die Lagerung in flüssigem Stickstoff besonders negativ aus.

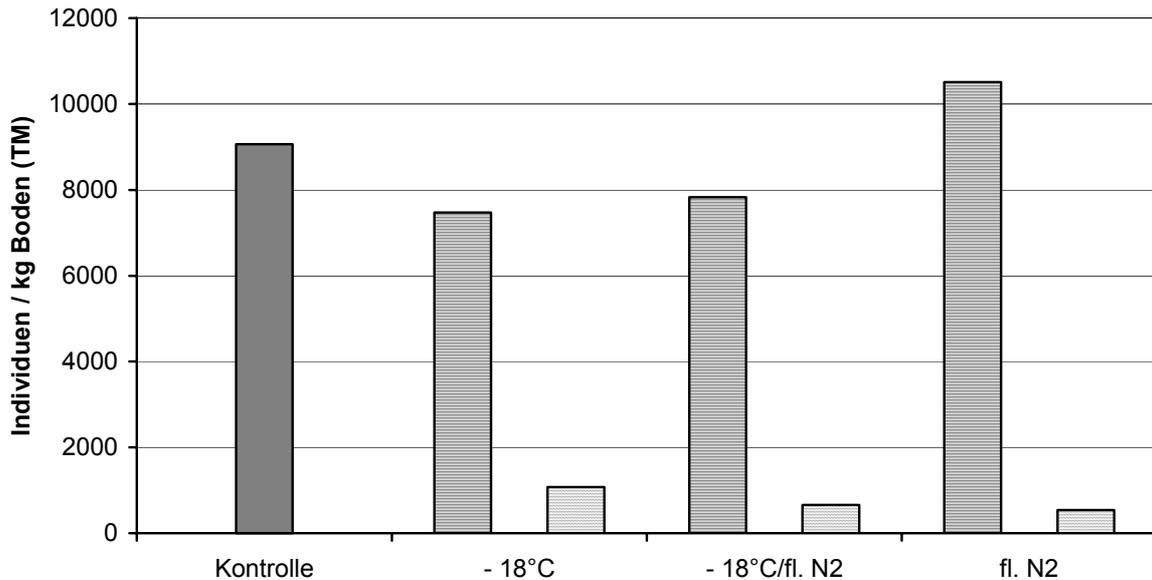


Abbildung 7.24: Boden "Kiel" bei Langzeitlagerung (3 Mon) – Gesamtabundanz der Nematoden.

Der Ernährungsformtyp der bakteriophagen Nematoden stellt gegenüber den phytophagen Individuen im Kontrollansatz den größeren Anteil an der Gesamtabundanz (Abbildung 7.25). Der Quotient, der sich aus dem Abundanzverhältnis (bp/pp) errechnet liegt bei 1,4.

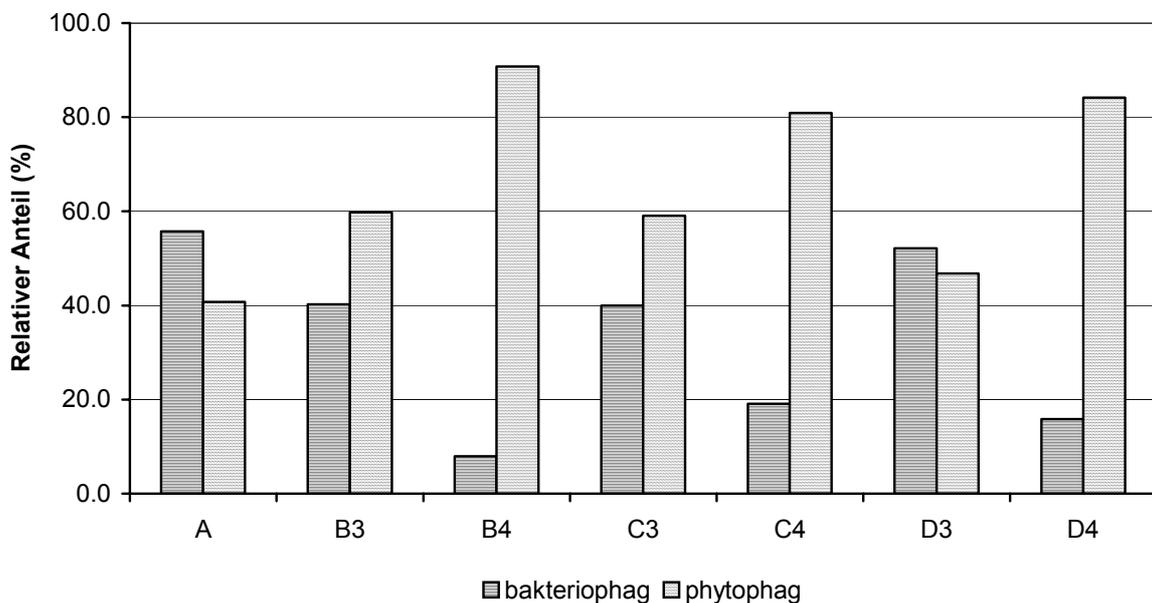


Abbildung 7.25: Boden "Kiel" bei Langzeitlagerung (3 Mon.) – Relative Abundanz der beiden dominanten Ernährungsformtypen (bakteriophag, phytophag) in der Nematodenbiozönose.

Unabhängig von der Einfrier- und Lagerungstemperatur sowie der Lagerungsdauer führt das Einfrieren der Proben zu einer Verschiebung des relativen Verhältnisses zugunsten der phytophagen Nematoden (Abbildung 7.25, Tabelle 7.27). Mit Ausnahme des Ansatzes D 3 dominieren diese nach der Probenlagerung die Biozönose. Die bp/pp-Quotienten der Abundanzverhältnisse sinken auf 0,1 – 1,1 (Tabelle 7.26). Langsames Auftauen verstärkt den negativen Effekt.

Tabelle 7.26: *Boden "Kiel" – Quotient aus der Abundanz der bakteriophagen und phytophagen Nematoden (bp/pp) bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N2; D: Einfrieren / Lagern in fl. N2; 1u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C.*

| bp/pp-Quotient | | | | | | | |
|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| | 1,4 | 0,4 | 0,2 | 0,7 | 0,2 | 0,8 | 0,3 |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| | 1,4 | 0,7 | 0,1 | 0,7 | 0,2 | 1,1 | 0,2 |

Tabelle 7.27: *Boden "Kiel" – Prozentualer Anteil der wichtigsten Nematodenfamilien an der Gesamtabundanz bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.).*

| Anteil einzelner Nematodenfamilien (%) | | | | | | | |
|----------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Mykophage | | | | | | | |
| Aphelenchidae | 0,0 | 0,6 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Aphelenchoidae | 0,7 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Bakteriophage | | | | | | | |
| Alaimidae | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 3,4 |
| Cephalobidae | 11,7 | 6,0 | 4,3 | 9,3 | 5,1 | 8,4 | 0,0 |
| Panagrolaimidae | 1,8 | 0,6 | 2,8 | 0,0 | 1,7 | 0,0 | 3,4 |
| Plectidae | 6,2 | 0,6 | 7,2 | 2,0 | 6,8 | 2,4 | 0,0 |
| Rhabditidae | 1,8 | 1,2 | 0,0 | 2,0 | 0,0 | 4,8 | 0,0 |
| Rh. Larven | 34,3 | 18,6 | 2,8 | 29,1 | 1,7 | 27,7 | 13,3 |
| Predatoren | | | | | | | |
| Mononchidae | 0,7 | 0,6 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Thornematidae | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Tripylidae | 0,3 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Omnivore | | | | | | | |
| Aporcelaimidae | 1,8 | 1,2 | 0,0 | 0,0 | 1,7 | 0,0 | 0,0 |
| Qudsianematidae | 0,0 | 0,0 | 1,4 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Phytophage | | | | | | | |
| Dolichodoridae | 25,1 | 43,7 | 55,7 | 43,0 | 45,8 | 30,1 | 36,6 |
| Pratylenchidae | 12,4 | 21,0 | 25,7 | 13,2 | 35,6 | 21,7 | 43,4 |
| Trichodoridae | 1,1 | 0,6 | 0,0 | 0,7 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Tylenchidae | 2,1 | 5,4 | 0,0 | 0,7 | 1,7 | 4,8 | 0,0 |

**Tabelle 7.27: Boden "Kiel" – Prozentualer Anteil der wichtigsten Nematodenfamilien an der Gesamtabundanz bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.).
Fortsetzung**

| Anteil einzelner Nematodenfamilien (%) | | | | | | | |
|----------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Mykophage | | | | | | | |
| Aphelenchidae | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Aphelenchoidae | 0,7 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Bakteriophage | | | | | | | |
| Alaimidae | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 2,1 | 0,0 | 0,0 |
| Cephalobidae | 11,7 | 4,3 | 0,0 | 6,7 | 2,1 | 4,3 | 0,0 |
| Panagrolaimidae | 1,8 | 1,1 | 1,3 | 1,9 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Plectidae | 6,2 | 4,3 | 6,6 | 3,8 | 10,6 | 4,3 | 2,6 |
| Rhabditidae | 1,8 | 1,1 | 0,0 | 1,9 | 0,0 | 7,6 | 0,0 |
| Rh. Larven | 34,3 | 29,3 | 0,0 | 25,7 | 4,2 | 35,9 | 13,2 |
| Predatoren | | | | | | | |
| Mononchidae | 0,7 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Thornematidae | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1,1 | 0,0 |
| Tripylidae | 0,3 | 0,0 | 1,3 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Omnivore | | | | | | | |
| Aporcelaimidae | 1,8 | 0,0 | 0,0 | 1,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Qudsianematidae | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Phytophage | | | | | | | |
| Dolichodoridae | 25,1 | 45,7 | 60,5 | 43,8 | 59,6 | 31,5 | 52,6 |
| Pratylenchidae | 12,4 | 10,9 | 11,8 | 11,4 | 17,1 | 12,0 | 18,4 |
| Trichodoridae | 1,1 | 2,2 | 0,0 | 2,9 | 0,0 | 1,1 | 0,0 |
| Tylenchidae | 2,1 | 1,1 | 18,4 | 1,0 | 4,2 | 2,2 | 13,2 |

Die Ergebnisse können durch eine höhere Mortalität der bakteriophagen Nematoden im Vergleich zu den phytophagen Nematoden erklärt werden. Es wäre möglich, dass bakteriophage Nematodenarten empfindlicher auf störende Einflüsse reagieren als phytophage Arten.

Boden "Scheyern"

Die Ergebnisse der Nematodenbestimmungen für den Boden "Scheyern" sind in den Abbildungen 7.21 -22 sowie den Tabellen 7.28 - 30 dargestellt. Die Nematodenabundanz ist mit der des Bodens "Kiel" vergleichbar. Ähnlich wie in diesem Boden sinkt nach zweiwöchiger Lagerung die Nematodenabundanz schnell aufgetauter Proben, unabhängig von der Einfrier- und Lagerungstemperatur um 49,9 - 57,0 % im Vergleich zur Kontrolle (Tabelle 7.28).

Tabelle 7.28: Boden "Scheyern" – Gesamtabundanz der Nematoden bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei - 18°C; C: Einfrieren bei - 18°C / Lagern in fl. N2; D: Einfrieren / Lagern in fl. N2; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; n.g.: nicht gemessen.

| Individuenzahl pro kg Boden (TM) | | | | | | | |
|----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Kurzzeitlagerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| | 7289 | 3135 | 4772 | 3303 | 5393 | 3654 | 819 |
| Langzeitlagerung | A | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| | 7289 | 3288 | n.g. | 3199 | n.g. | 2557 | n.g. |

Bei langsamem Auftauen der Proben wirkt sich dagegen die Einfriertemperatur (nicht die Lagerungstemperatur) auf die Individuenzahlen aus. Friert man die Proben bei - 18°C ein (B 2,

C 2), so führt langsames Auftauen zu Abundanzabnahmen von 26,0 – 34,5 % im Vergleich zur Kontrolle. Friert man die Proben sofort in flüssigem Stickstoff ein, so führt langsames Auftauen (D 2) zu einer Abnahme von 88,8 % (Tabelle 7.28).

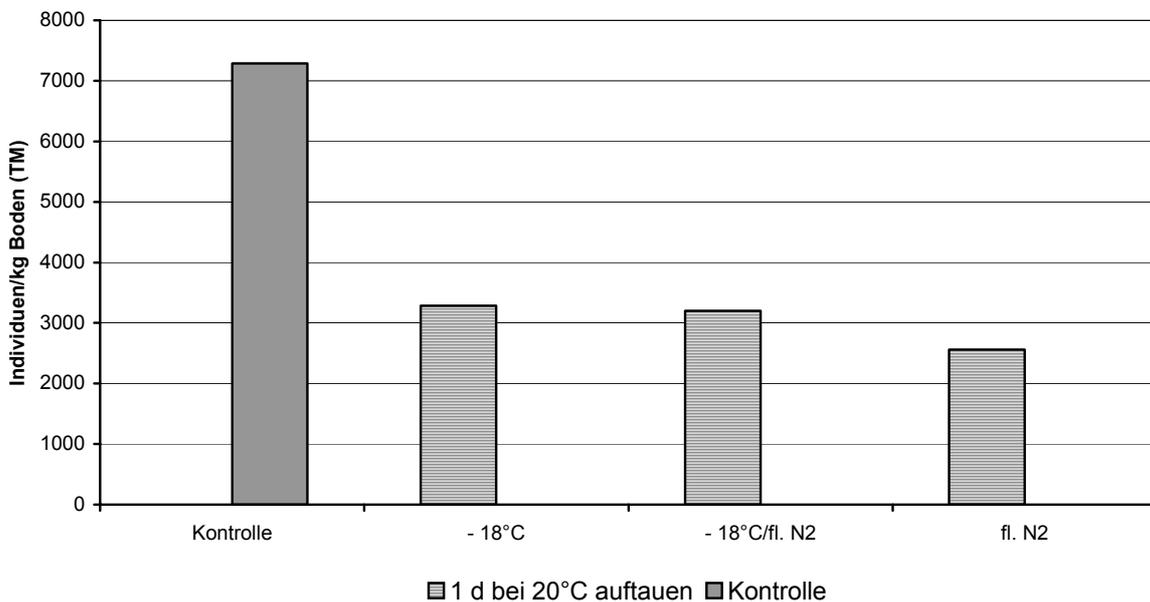


Abbildung 7.26: Boden "Scheyern" bei Langzeitlagerung (3 Mon.) – Gesamtabundanz der Nematoden.

Nach dreimonatiger Probenlagerung führt schnelles Auftauen zu vergleichbaren Ergebnissen wie nach zweiwöchiger Lagerung (Abbildung 7.26). Die Einfrier- und Lagerungstemperaturen haben keinen Einfluss.

Anders als im Boden "Kiel" stellt der Ernährungsformtyp der phytophagen Nematoden auch im Kontrollansatz den größeren Anteil an der Gesamtabundanz gegenüber den bakteriophagen Individuen (Abbildung 7.27). Der Quotient, der sich aus dem Abundanzverhältnis (bp/pp) errechnet liegt bei 0,5.

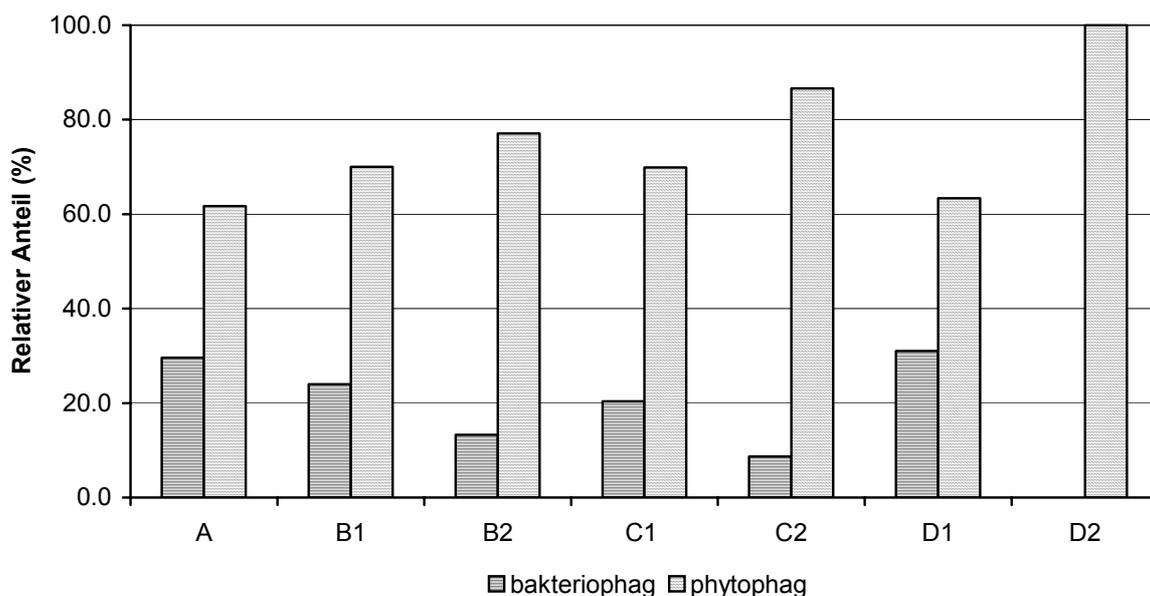


Abbildung 7.27: Boden "Scheyern" bei Kurzzeitlagerung (2 Wo.) - Relative Abundanz der beiden dominanten Ernährungsformtypen (bakteriophag, phytophag) in der Nematodenbiozönose.

Trotzdem der Ernährungsformtyp der phytophagen Nematoden schon im Kontrollansatz dominiert, führt auch im Boden "Scheuern" das Einfrieren der Proben, unabhängig von der Einfrier- und Lagerungstemperatur, zu einer Verschiebung des relativen Verhältnisses zugunsten der phytophagen Nematoden (Abbildung 7.27, Tabelle 7.30). Mit Ausnahme des Ansatzes D 1 sinken die bp/pp-Quotienten der Abundanzverhältnisse auf 0 – 0,3. Der bp/pp-Quotient des Ansatzes D 1 ist vergleichbar mit dem der Kontrolle (Tabelle 7.29). Langsames Auftauen verstärkt den negativen Effekt.

Tabelle 7.29: *Boden "Scheuern" – Quotient aus der Abundanz der bakteriophagen und phytophagen Nematoden (bp/pp) bei Kurzzeitlegerung (2 Wo.). A: Kontrolle; B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N2; D: Einfrieren / Lagern in fl. N2; 1u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C.*

| bp/pp-Quotient | | | | | | | |
|------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Kurzzeitlegerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| | 0,5 | 0,3 | 0,2 | 0,3 | 0,1 | 0,5 | 0,0 |

Auch beim Boden "Scheuern" werden die Ergebnisse durch eine höhere Mortalität der bakteriophagen Nematoden im Vergleich zu den phytophagen Nematoden erklärt.

Tabelle 7.30: *Boden "Scheuern" – Prozentualer Anteil der wichtigsten Nematodenfamilien an der Gesamtabundanz bei Kurzzeitlegerung (2 Wo.).*

| Anteil einzelner Nematodenfamilien (%) | | | | | | | |
|----------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Kurzzeitlegerung | A | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Mykophage | | | | | | | |
| Aphelenchidae | 2,8 | 1,0 | 9,6 | 2,7 | 2,4 | 2,8 | 0,0 |
| Aphelenchoidea | 2,0 | 4,0 | 0,0 | 3,5 | 0,8 | 1,4 | 0,0 |
| Bakteriophage | | | | | | | |
| Cephalobidae | 21,0 | 20,0 | 4,8 | 15,9 | 6,3 | 16,9 | 0,0 |
| Panagrolaimidae | 1,4 | 0,0 | 3,6 | 0,0 | 0,0 | 1,4 | 0,0 |
| Plectidae | 2,0 | 2,0 | 1,2 | 0,0 | 1,6 | 2,8 | 0,0 |
| Rhabditidae | 0,0 | 0,0 | 3,6 | 0,0 | 0,8 | 0,0 | 0,0 |
| Rh. Larven | 5,3 | 2,0 | 0,0 | 4,4 | 0,0 | 9,9 | 0,0 |
| Predatoren | | | | | | | |
| Mononchidae | 0,6 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Thornematidae | 0,6 | 1,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| Omnivore | | | | | | | |
| Aporcelaimidae | 2,8 | 0,0 | 0,0 | 3,5 | 1,6 | 1,4 | 0,0 |
| Phytophage | | | | | | | |
| Dolichodoridae | 0,3 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,8 | 2,8 | 0,0 |
| Hoplolaimidae | 3,3 | 3,0 | 3,6 | 5,3 | 5,5 | 5,6 | 5,5 |
| Pratylenchidae | 8,1 | 11,0 | 7,2 | 8,8 | 7,9 | 2,8 | 13,9 |
| Tylenchidae | 50,0 | 56,0 | 66,3 | 55,7 | 72,4 | 52,1 | 80,6 |

7.5.1.3.1. Beurteilung der Ergebnisse zur Nematoden-Biozönose

Zusammenfassend kann die in Tab. 7.31 dargestellte Beurteilung über die Einflüsse der untersuchten Testansätze getroffen werden.

Tabelle 7.31: *Beurteilung der Einflüsse der verschiedenen Testansätze auf die Nematoden-Biozönose bei Kurzzeit- (2 Wo.) und Langzeitlagerung (3 Mon.). B: Einfrieren / Lagern bei – 18°C; C: Einfrieren bei – 18°C / Lagern in fl. N2; D: Einfrieren / Lagern in fl. N2; 1 u. 3: Auftauen 1 Tag bei 20 °C; 2 u. 4: Auftauen je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; +: vergleichbar mit Kontrolle; - unterschiedlich von Kontrolle.*

| Gesamtabundanz der Nematoden | | | | | | |
|-------------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Kurzzeitlagerung | | | | | | |
| Boden „Kiel“ | - | - | - | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | - | - | - | - | - | - |
| | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Langzeitlagerung | | | | | | |
| Boden „Kiel“ | + | - | + | - | + | - |
| Boden „Scheyern“ | - | - | - | - | - | - |
| Dominanzstruktur der Nematoden-Biozönose | | | | | | |
| | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Kurzzeitlagerung | | | | | | |
| Boden „Kiel“ | - | - | - | - | - | - |
| Boden „Scheyern“ | - | - | - | - | + | - |
| | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Langzeitlagerung | | | | | | |
| Boden „Kiel“ | - | - | - | - | - | - |
| Familienspektrum der Nematoden-Biozönose* | | | | | | |
| | B 1 | B 2 | C 1 | C 2 | D 1 | D 2 |
| Kurzzeitlagerung | | | | | | |
| Boden „Kiel“ | + | - | + | + | + | - |
| Boden „Scheyern“ | + | - | + | - | + | - |
| | B 3 | B 4 | C 3 | C 4 | D 3 | D 4 |
| Langzeitlagerung | | | | | | |
| Boden „Kiel“ | + | - | + | + | + | - |

* Um den Einfluss von Einzelfunden nicht überzubewerten wurden zum Vergleich der Familienspektren nur Familien herangezogen deren prozentualer Anteil an der Gesamtabundanz in der Kontrolle bei über 1,5 % lag. Nur Unterschiede in den Familienzahlen zwischen Testansätzen und Kontrolle über 25 % wurden als relevant angesehen (vergleiche Kap. 7.5.1.1.4).

Empfehlungen zur Lagerung und Aufarbeitung von Bodenproben im Hinblick auf die Nematoden-biozönose

- Gesamt-abundanz: Die Bodenart hat einen starken Einfluss auf die Wirkung der Auftau temperatur. Endgültige Aussagen können erst nach weiteren Untersu chungen getroffen werden. Tendenziell wird schnelles Auftauen
 - präferiert
Einfrier- und Lagerungstemperatur sind ohne größere Bedeutung.
- Zusammensetzung: Die Auftaugeschwindigkeit hat einen starken Einfluss auf die Wirkung der Bodenlagerung. Die geringsten Abweichungen finden sich nach schnellem Auftauen. Einfrier- und Lagerungstemperatur ohne größere Bedeutung.

7.5.1.4. Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, ein schonendes Verfahren zu ermitteln, das auch nach längerer Lagerung eines Bodens noch Informationen über Struktur und Funktion seiner ursprünglichen endogäischen Biozönose ermöglicht. Dazu wurde der Einfluss verschiedener Formen des Einfrierens und der Lagerung (-18°C bzw. flüssiger Stickstoff), der Lagerungsdauer (2 Wochen bzw. 3 Monate) und des Auftauens (schnell: 1 Tag bei 20°C bzw. langsam: je 3 Tage bei 4°C und 20°C) auf die Bodenfauna exemplarisch an zwei unterschiedlichen Organismengruppen (Mikroorganismen, Nematoden) untersucht. Es wurden sowohl Aspekte der Bodenfunktion, wie die

Mineralisationsleistung der Mikroorganismen, als auch der Bodenbesiedlung, wie Diversität und Abundanz von Mikroorganismen und Mesofauna erfasst.

Hinsichtlich der Zielsetzung der Umweltprobenbank sollen hier exemplarisch die Ergebnisse der Ansätze mit Langzeitlagerung zusammenfassend für beide untersuchten Bodenarten beurteilt werden. Es muss aber darauf hingewiesen werden, dass in Ansätzen mit Kurzzeitlagerung teilweise abweichende Ergebnisse auftraten.

Tabelle 7.32: *Beurteilung der Einflüsse der verschiedenen Testansätze auf die untersuchten biologischen Bodenparameter bei Langzeitlagerung (3 Mon.). Auftauen schnell: 1 Tag bei 20 °C; Auftauen langsam: je 3 Tage bei 4 °C und 20 °C; +: vergleichbar mit Kontrolle; +/-: bodenabhängiger Effekt; -: unterschiedlich von Kontrolle.**

| Einfrieren u. Lagern | -18°C | | -18°C/ fl. Stickstoff | | flüssiger Stickstoff | |
|----------------------------------------------|---------|---------|-----------------------|---------|----------------------|---------|
| | schnell | langsam | schnell | langsam | schnell | langsam |
| Mikrobielle Aktivität | | | | | | |
| Basalatmung | + | + | + | + | +/- | + |
| SI-Atmung | + | +/- | +/- | +/- | +/- | +/- |
| Pot. NH ₄ ⁺ -Oxidation | +/- | +/- | +/- | +/- | +/- | +/- |
| DMSO-Reduktion | +/- | +/- | + | - | + | - |
| Mikrobielle Biozönose | | | | | | |
| PLFAs gesamt | +/- | +/- | - | - | +/- | +/- |
| Gram - : Gram + | - | - | - | - | - | - |
| 16 S rDNA | - | +/- | - | +/- | - | +/- |
| Nematoden Biozönose | | | | | | |
| Gesamtabundanz | +/- | +/- | - | - | +/- | +/- |
| Dominanzstruktur** | - | - | - | - | - | - |
| Familienspektrum** | + | - | + | +/- | + | - |

* Nähere Angaben zu den Beurteilungskriterien in den entsprechenden Kapiteln des Ergebnisteils.

** Aufgrund unzureichender Daten bei Langzeitlagerung wurden Daten der Kurzzeitlagerung mitberücksichtigt.

Bodenmikrobielle Aktivität

Das Einfrieren und Lagern von Bodenproben führte in Verbindung mit schnellem Auftauen – bis auf wenige Ausnahmen – zu nahezu vergleichbaren Ergebnissen wie bei der Kontrolle aus frischem Boden (Abweichungen < 25 %). Traten größere Abweichungen auf, so nur bei einzelnen Bodenarten. Tendenziell sind die Abweichungen bei einer Einfrier- und Lagerungstemperatur von – 18 °C geringer als bei flüssigem Stickstoff. Langsames Auftauen führte unabhängig von der Einfrier- und Lagerungstemperatur in vielen Fällen zu deutlichen Abweichungen von der Kontrolle.

Mikrobielle Biozönose

Bei den erfassten Parametern der mikrobiellen Biozönose konnten keine einheitlichen Effekte festgestellt werden. Die Bodenart wirkte sich stark auf den Einfluss der Bodenbehandlung aus.

Generell kann gesagt werden, dass unter dem gewählten Beurteilungsschema jede Bodenlagerung, unabhängig von der Einfrier- und Lagerungstemperatur sowie der Auftaugeschwindigkeit, große Auswirkungen auf die Struktur der Mikroorganismen hatte (Tabelle 7.32). Trotzdem zeigten sich Unterschiede in der Art der Auswirkung auf einzelne

Strukturparameter durch die Behandlungsarten. Führt z.B. langsames Auftauen beim T-RFLP-Fragmentmuster der 16 S rDNA zu teilweise vergleichbaren Ergebnissen mit der Kontrolle, so zeigten sich bei der PLFA-Analyse dieser Ansätze die stärksten quantitativen Verschiebungen in der erfassten Struktur. Trotzdem wurden unabhängig von der Bodenbehandlung alle in der Kontrolle erfassten PLFAs auch in den Testansätzen gefunden. Im Gegensatz dazu wurde das T-RFLP-Fragmentmuster der 16 S rDNA in Abhängigkeit zur Bodenart durch das Einfrieren teilweise stark gegenüber der Kontrolle verarmt.

Nematoden Biozönose

Die Gesamtabundanz der Nematoden wurde teilweise in Abhängigkeit zur Bodenart von der Gefrierlagerung beeinflusst. Die Art des Einfrierens und der Lagerung hatte kaum einen Einfluss auf die Ergebnisse. Auch wenn dies in Tabelle 7.32 aufgrund des Bewertungsschemas nicht so deutlich wird, ergaben sich die geringsten Abweichungen zur Kontrolle nach schnellem Auftauen der Proben.

Die Dominanzstruktur in der Nematodenzönose wurde deutlich durch die Gefrierlagerung beeinflusst. Dabei hatte die Art des Einfrierens und der Lagerung keine großen Auswirkungen auf die Ergebnisse. Auch hier waren die Abweichungen von der Struktur der Kontrolle nach schnellem Auftauen der Proben geringer als bei langsamem Auftauen. Wie bei der Gesamtabundanz ist dies aufgrund des gewählten Bewertungsschemas in Tabelle 7.32 nicht zu erkennen.

Auf das Familienspektrum der Nematoden hatte die Auftaugeschwindigkeit die deutlichsten Auswirkungen. Nach schnellem Auftauen der Proben waren die Ergebnisse unter den gewählten Bewertungskriterien (

Tabelle 7.31) mit denen der unbehandelten Kontrolle vergleichbar. Es konnte kein Einfluss der Gefrierlagerung festgestellt werden. Langsames Auftauen der Proben führte hingegen zu einem deutlich verarmten Familienspektrum. Dies gilt besonders für den in flüssigem Stickstoff schockgefrorenen Boden.

7.5.1.5. Schlussfolgerung

Generell kann gesagt werden, dass auch nach längerer Lagerung eines Bodens noch Informationen über Struktur und Funktion seiner ursprünglichen endogäischen Biozönose erhalten werden können. Dabei wirkt sich die Art des Einfrierens, der Lagerung und des Auftauens jedoch unterschiedlich stark auf einzelne biotische Parameter aus.

Langsames Auftauen eingefrorener Bodenproben führt im Vergleich zu schnellem Auftauen fast immer zu deutlich stärkeren Abweichungen von den Werten des frischen Bodens. Diese reproduzierbaren Beobachtungen stehen im Gegensatz zu Empfehlungen für mikrobiologische Aktivitätsbestimmungen, die besagen, dass ein Auftauen gefrorener Proben für ca. 5 d bei 4 °C erfolgen soll [SCHINNER *et al.* 1993], wobei in diesem Fall jedoch von ungesiebttem Material ausgegangen wird.

Das Einfrieren und Lagern von Bodenproben bei –18 °C führt grundsätzlich zu den geringsten Abweichungen von frischen Bodenproben. Das Schockfrieren und Lagern in flüssigem Stickstoff führt aber nur in wenigen Fällen im Vergleich zur –18 °C-Behandlung zu größeren Abweichungen von der Kontrolle (25 – 50 %). Dies betrifft primär die Basal- und substratinduzierte Atmung.

Bislang gibt es keine allgemein akzeptierte Schadensdefinition. Dies bedeutet, dass nicht bekannt ist, bis zu welchem Prozentsatz Abweichungen von Referenzproben aus Umweltgesichtspunkten tolerierbar sind. Zur Beurteilung und Diskussion der Ergebnisse wurde in der vorliegenden Arbeit eine Grenze von 25 % gesetzt. Dieser Wert stammt aus der Prüfung von Pflanzenschutzmitteln im Hinblick auf ihre Nebenwirkungen für Bodenmikroorganismen und wurde für die Parameter substratinduzierte Atmung und Ammonifikation / Nitrifikation festgelegt [OECD 216 bzw. 217]. Aus pragmatischen Gründen wurde dieser Wert bei der vorliegenden Untersuchung auch auf alle anderen erfassten Parameter angewandt.

Generell gilt, dass alle biologischen Parameter witterungs- und jahreszeitlich bedingte Varianzen aufweisen. Beispiele für beobachtete Schwankungen in der Mikroflora sind aus Tabelle 7.33 zu entnehmen. In Abhängigkeit davon, ob der maximale oder minimale Wert als Basis für die Berechnung der prozentualen Schwankungsbreite zugrundegelegt wird, sind Abweichungen von bis zu - 92 % bzw. + 1100 % denkbar. Auch bei der Bodenfauna sind starke Veränderungen zu beobachten. So betrug beispielsweise die Nematodenabundanz in einem Moderbuchenwald in den Sommermonaten 0,5 – 1 Mill. Ind./m², im Spätwinter wurden dagegen bis zu 3 Mill. Ind./m² ermittelt. Auch das Artenspektrum unterschied sich zu beiden Probeterminen [ZELL, 1989].

Tabelle 7.33: *Literaturangaben zu jahreszeitliche Schwankungen mikrobiologischer Parameter. Angegeben sind die prozentualen Abweichungen der Maximalwerte von den Minimalwerten (Spalte 4) und umgekehrt (Spalte 5). Quellenangaben: a [SIMON 2001], b [KAUTZ 1999], c [BÄNSCH & TOPP 1999], d [MURATA et al. 1999], e [FH-IUCT 1994], f [ALLEN 1993], g [ORCHARD et al. 1992].*

| Parameter | Laufzeit | Quelle | Abweichung vom Min- bzw. Max-Wert | |
|-------------------|-------------|---------------|-----------------------------------|-------------|
| Basalatmung | 1 – 2 Jahre | a, b, c, g | + 70 – 1100 % | - 41 – 92 % |
| SIR | 2 Jahre | a | + 83 % | - 45 % |
| Mik. Biomasse | 1 – 2 Jahre | a, b, c, d, f | + 67 – 550 % | - 40 – 85 % |
| Ammoniumoxidation | 1,5 Jahre | e | + 149 – 220 % | - 60 – 69 % |

Routinemäßige Probenahmen für die Umweltprobenbank erfolgen generell im Herbst, so dass zu erwarten ist, dass die Schwankungsbreite der Ergebnisse eingeschränkt ist, auch wenn spezifische Wetterbedingungen (frühzeitiger Frost, starke Trocken- oder Regenperioden) nicht berücksichtigt werden können. Unter diesen Gesichtspunkten erscheinen die Abweichungen, die bei Einfrieren und Lagerung in flüssigem Stickstoff erhalten wurden, ebenfalls tolerierbar.

Kritiker werden anführen, dass aufgrund dieser Schwankungsbreite, Veränderungen in biologischen Parametern nicht erkennbar sind. Diese Meinung wird jedoch nicht geteilt. So decken Proben in der Umweltprobenbank lange Zeiträume ab. Gravierende Entwicklungen über Zeiträume von beispielsweise 20 Jahren und mehr sollten trotz dieser Schwankungen durch einen Vergleich von Stichproben mehrerer Jahre als Tendenz erkennbar sein. Beispielhaft seien hier die Untersuchungen auf Rekultivierungsflächen zur Jahrringbreitenentwicklung bei Kiefern [BUNGART & ENDE 1998], zur Primärsukzession humiphager Tiergruppen [DUNGER 1991] und zur Humusbildung [THUM *et al.* 1990] im Oberboden sowie zum Verlauf der Bodenstreuauflage in einem Moderbuchenwald als indirekten Parameter der Destruenten-Aktivität in Streu und Boden [BECK 1993] erwähnt.

Basierend auf den in dieser Studie erhaltenen Ergebnisse, können folgende Empfehlungen für die zukünftige Lagerung und das Auftauen von Bodenproben in der Umweltprobenbank des Bundes ausgesprochen werden:

- Einfrieren und Lagerung

Obwohl für biologische Fragestellungen eine Lagerung bei -18 °C bei den vorliegenden Untersuchungen die geringsten Abweichungen zur Kontrolle ergeben haben, erscheint auch ein Einfrieren und eine Lagerung in flüssigem Stickstoff denkbar. Damit könnte sowohl für biologische als auch für chemische Fragestellungen die gleiche, bereits bestehende Infrastruktur der Umweltprobenbank genutzt werden.

- Auftauen

Die Bodenproben sollten schnell aufgetaut werden. Dies führt zu keinen oder geringeren Abweichungen von frischen Bodenproben als langsames Auftauen.

Die Ergebnisse der Bodenfunktionsuntersuchungen sind nach dieser Behandlung weitgehend vergleichbar mit frischem Boden. Aussagen über die Struktur von Biozönosen können mit den zur Zeit zur Verfügung stehenden Methoden nur eingeschränkt getätigt werden. Die Interpretation der Ergebnisse sollte sich zur Zeit auf die Darstellung von Spektren (PLFAs, Tierarten, etc.) beschränken.

Empfehlung:

- Aufgrund teilweise auftretender Unterschiede in den Ergebnissen der zwei-Wochen- und drei-Monats-Lagerung sollten die Tendenzen dieser Studie im Hinblick auf eine Langzeitlagerung in der Umweltprobenbank nochmals bei einer Probenlagerung länger als sechs Monate überprüft werden.
- Die festgestellten Bodenart-abhängigen Auswirkungen der Bodenbehandlung auf die substrat-induzierte Atmung (SIR), DMSO-Reduktion, die Zusammensetzung der Phospholipid-Fettsäuren (PLFAs), 16 S rDNA-Fragmente und die Abundanz der Nematoden sollten in einer Testanordnung mit mehreren Referenzböden untersucht werden um die Art und das Ausmaß des Einflusses der Bodenart genauer fassen zu können.
- Um im Sinne der Umweltprobenbank ein retrospektives Monitoring zu gewährleisten, wäre für die Erfassung der mikrobiellen Diversität mit molekularbiologischen Methoden zu prüfen, ob die

Einlagerung von extrahierter DNA ein geeigneter Weg ist. Dies würde auch die Anwendung von neuen, auf DNA basierenden Methoden, in der Zukunft ermöglichen.

- Für die Zuordnung der T-RFLP Fragmente zu definierten Mikroorganismen-Gruppen, sind weitere Arbeiten nötig (Erstellung von 16S rDNA Klonbibliotheken). Dadurch könnten spezifische Angaben über die dominanten Vertreter und zu Veränderungen in der mikrobiellen Struktur vorgenommen werden. Somit könnten die Ergebnisse mit denen der PLFA-Analyse kombiniert werden.

7.5.2. Ermittlung von Effekten des Tiefgefrierens auf abiotische Parameter und Entwicklung geeigneter Lagerbedingungen für Bodenproben im Hinblick auf bodenchemische Parameter

Neben den Einflüssen auf bodenbiologische und mikrobiologische Parameter hat die Temperatur auch einen Einfluss auf bodenchemische Parameter. Daher wurde im zweiten Teil des Arbeitspaketes 5 die Wirkung unterschiedlicher Einfrier- und Lagerbedingungen auf bodenchemische Parameter untersucht. Da, im Gegensatz zu den biologischen Parametern, den Auftaubedingungen nur eine untergeordnete Wirkung zugeschrieben wurde, wurde auf eine Variation dieser verzichtet. Anstelle der Auftaubedingungen wurden die Wassergehalte der Proben vor den Einfrieren variiert, da von diesem Parameter ein erheblicher Einfluss auf die zu untersuchenden Effekte erwartet wurde und auch bei der Probenahme witterungsbedingt mit stark unterschiedlichen Wassergehalten zu rechnen ist.

7.5.2.1. Einfluss unterschiedlicher Einfrier- und Lagerbedingungen auf die Analysenergebnisse von wässrigen Eluaten

Von den einzelnen Kombinationen (Boden x Lagerungsbedingung x Wassergehalt) wurde nur mit einer Wiederholung gearbeitet, da sonst eine zu große Anzahl von Proben angefallen wäre. Ein Teil der Eluate musste allerdings nach Ausfall eines Gefrierschranks verworfen werden, so dass nicht an allen Proben alle Parameter untersucht werden konnten. Da die Analysenergebnisse in den verschiedenen Böden sehr unterschiedlich waren (Anhang A10 – A13), mussten die Daten vor der statistischen Auswertung zur Feststellung des Einflusses der Lagerungsbedingungen transformiert werden. Dazu wurde bei jedem Boden zur jeweiligen Wassergehaltsvariante der Mittelwert aus den vier Einfrier- bzw. Lagerungsvarianten gebildet und der relative Wert der jeweiligen Einfrier- bzw. Lagerungsvariante zu diesem Mittelwert berechnet. Die statistische Auswertung durch eine einfaktorielle Varianzanalyse erfolgte anschließend mit diesen relativen Werten. Mit dieser Methode konnten große Streuungen aufgrund von großen Unterschieden zwischen den einzelnen Böden ausgeschlossen werden. Die gegeneinander getesteten Varianten werden im Folgenden bezeichnet als:

| | |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Kontrolle: | Lagerung bei 4 °C für 2 Wochen |
| Langsam, -18 °C: | Einfrieren und Lagern bei -18 °C für 2 Wochen |
| Langsam, -196 °C: | Einfrieren bei -18 °C und Überführung in N_{lin} bei -196 °C für 2 Wochen |
| Schnell, - 196 °C: | Einfrieren und Lagern bei -196 °C in N_{lin} |

7.5.2.1.1. Gelöster organischer Kohlenstoff (DOC), pH und elektrische Leitfähigkeit

In Abbildung 7.28 ist der Einfluss unterschiedlicher Einfrier- und Lagerbedingungen auf den DOC-Gehalt, das pH und die elektrische Leitfähigkeit von wässrigen Bodeneluaten dargestellt.

Die unterschiedlichen Einfrier- und Lagerungsvarianten haben keinen Einfluss auf den pH-Wert. Die Variante „langsam, -18 °C“ zeigt bei der Leitfähigkeit einen um ca. 6 % höheren Mittelwert als die Kontrolle, allerdings ist die Erhöhung nicht signifikant. Die beiden anderen Varianten wiesen nur geringe Abweichungen (< 2 %) von der Kontrolle auf.

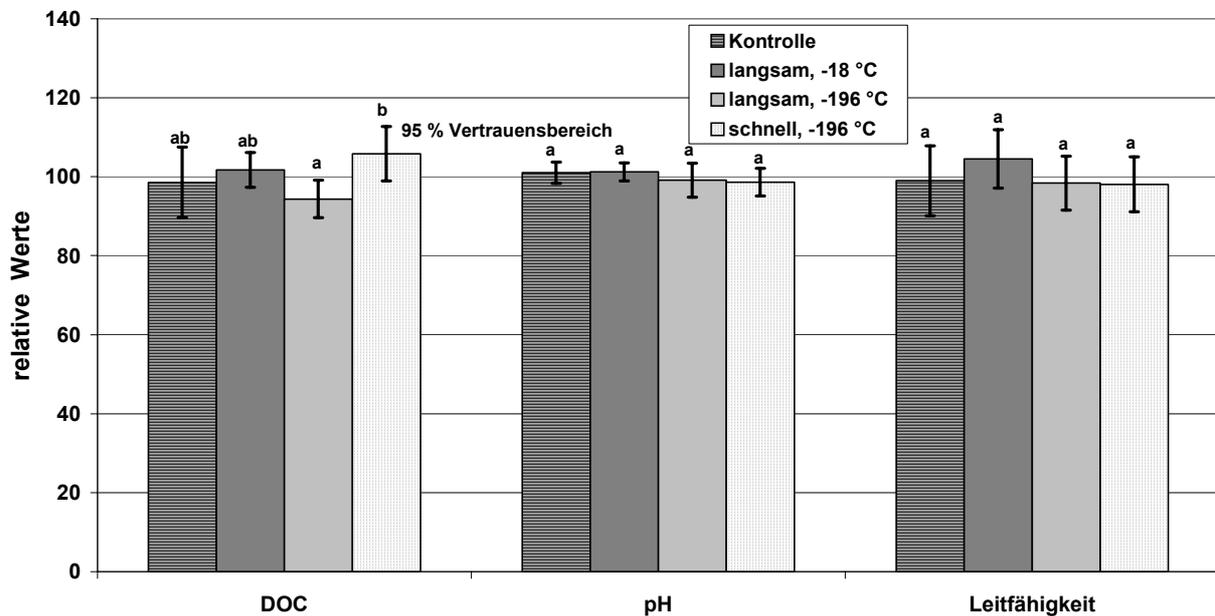


Abbildung 7.28: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für DOC, pH und Leitfähigkeit (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

Größere Unterschiede wurden beim Gehalt an DOC festgestellt, auch wenn keine der untersuchten Varianten signifikant von der Kontrolle zu unterscheiden ist. Ein signifikanter Unterschied der Mittelwerte trat allerdings zwischen den Varianten „langsam, -196 °C“ und „schnell, 196 °C“ auf.

7.5.2.1.2. Schwermetalle

Von den untersuchten Schwermetallen (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb und Zn) konnten nur Kupfer und Zink ausgewertet werden, da die übrigen Schwermetalle unterhalb der Bestimmungs- bzw. der Nachweisgrenze lagen.

Die Unterschiede der Varianten „langsam, -196 °C“ und „schnell, -196 °C“ sind bei Kupfer im Vergleich zur Kontrolle gering, die Variante „langsam, -18 °C“ zeigt einen um 12% höheren Mittelwert als die Kontrolle (Abbildung 7.29). Ein statistisch signifikanter Unterschied ist bei Kupfer allerdings nicht gegeben.

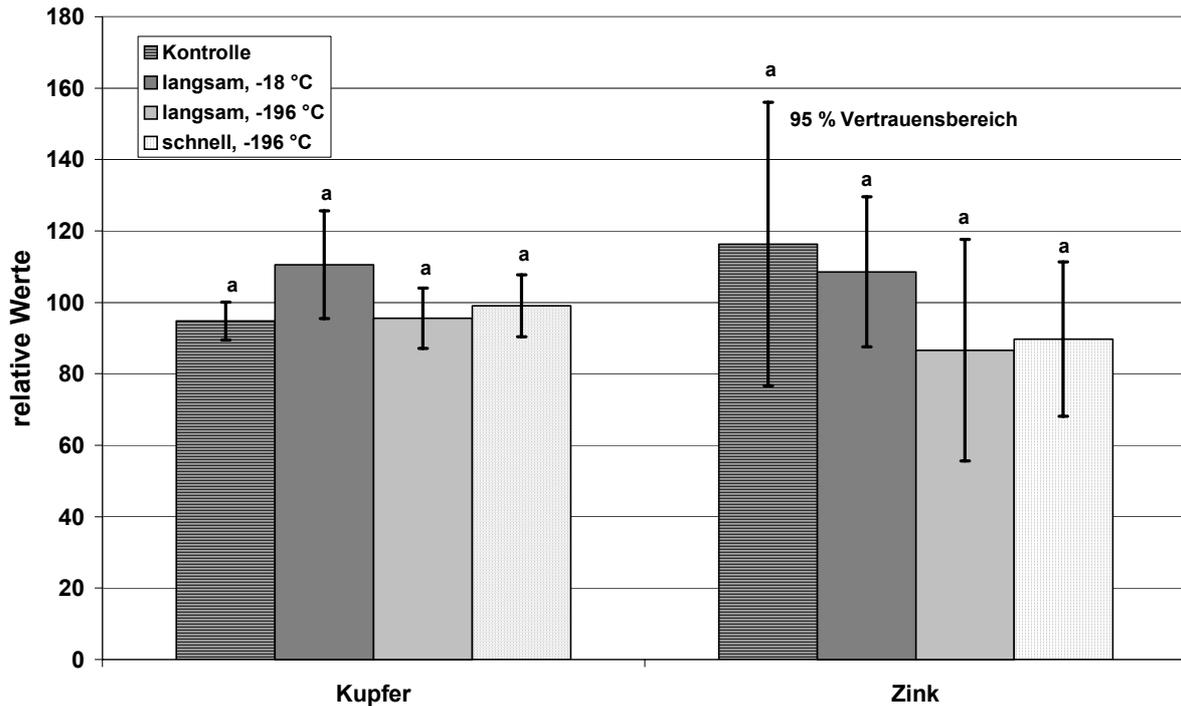


Abbildung 7.29: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für Kupfer und Zink (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

Auch bei Zink treten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten auf. Die Varianten „langsam, -196 °C“ und „schnell, -196 °C“ liegen zwar mit 25% bzw. 23% deutlich unterhalb der Variante „langsam, -18 °C“ und der Kontrolle, aufgrund der großen Streuung ist es aber nicht möglich, diese Unterschiede statistisch abzusichern (Abbildung 7.29).

7.5.2.1.3. Kationen

Bei den Kationen treten die deutlichsten Unterschiede bei Kalium auf. Die Mittelwerte liegen im Vergleich zur Kontrolle alle höher, wobei der größte Unterschied in der Variante „schnell, -196 °C“ auftritt. Allerdings ist der Unterschied von 17% zur Kontrolle aufgrund der großen Streuung der Werte nicht signifikant (Abbildung 7.30). Bei Calcium tritt der deutlichste Unterschied mit 9% zwischen der Kontrolle und der Variante „langsam, -18 °C“ auf ohne jedoch signifikant zu sein. Die Variante „schnell, -196 °C“ unterscheidet sich nur wenig von der Kontrolle. Ebenfalls keine signifikanten Unterschiede sind bei Magnesium zu beobachten. Die Variante „langsam, -18 °C“ unterscheidet kaum von der Kontrolle, die Varianten „langsam, -196 °C“ und „schnell, -196 °C“ liegen dagegen ca. 9 % unter bzw. über der Kontrolle.

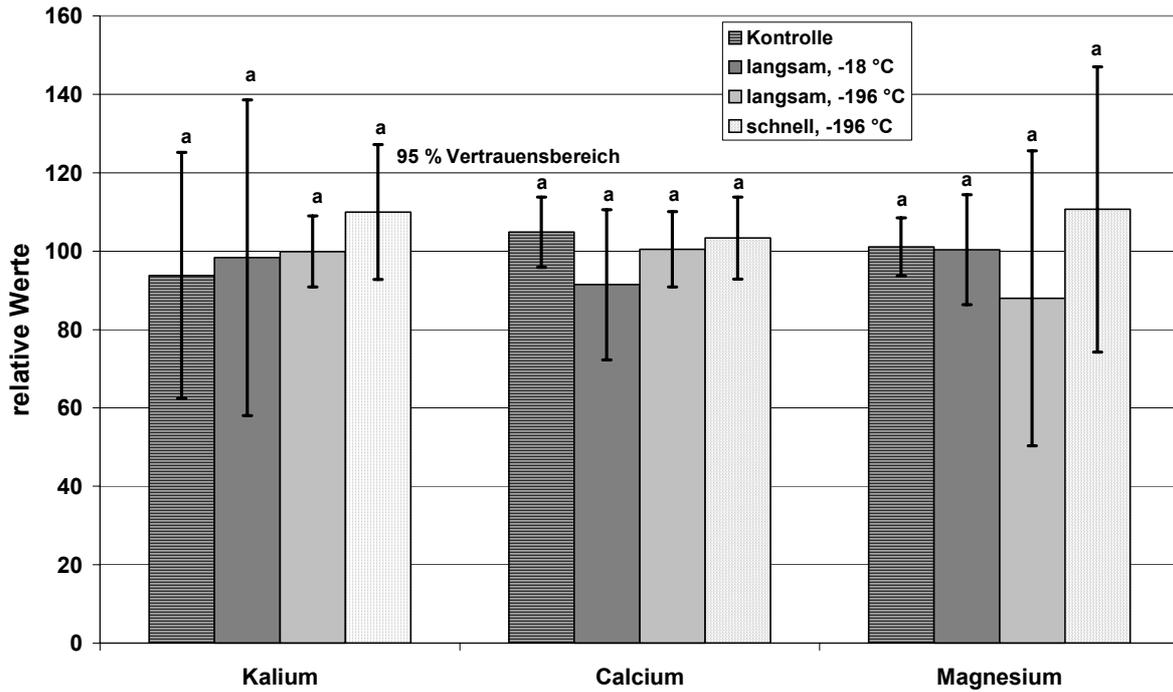


Abbildung 7.30: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für Kationen (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

7.5.2.1.4. Anionen

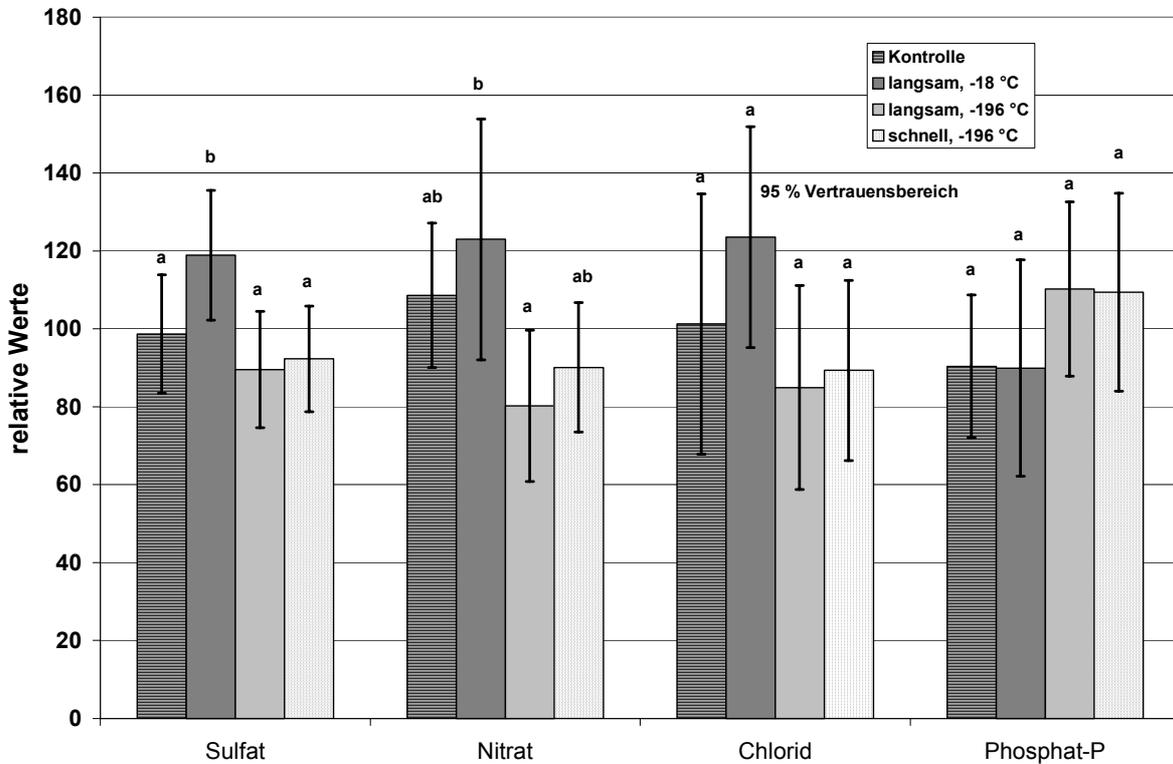


Abbildung 7.31: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für Anionen (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

Die unterschiedlichen Einfrier- und Lagerbedingungen zeigen bei den untersuchten Anionen den deutlichsten Einfluss (Abbildung 7.31).

Sulfat, Nitrat und Chlorid zeigen ein ähnliches Bild. Die Variante „langsam, -18 °C“ die höchsten Mittelwerte auf, gefolgt von der Kontrolle und der Variante „schnell, -196 °C“. Bei Sulfat ist der Mittelwert in der Variante „langsam, -18 °C“ signifikant gegenüber der Kontrolle und den beiden anderen Varianten (Abbildung 7.31) erhöht. Die Variante „langsam, -18 °C“ zeigt auch bei Nitrat einen signifikant höheren Mittelwert gegenüber der Variante „langsam, -196 °C“, jedoch nicht gegenüber der Kontrolle und der Variante „schnell, -196 °C“. Nicht signifikant ist dagegen die Erhöhung des Mittelwerts der Variante „langsam, -18 °C“ bei Chlorid. Die Unterschiede zwischen der Kontrolle und der Variante „schnell, -196 °C“ sind bei Sulfat mit 9 % am niedrigsten, bei Nitrat mit 18 % am höchsten.

Phosphat unterscheidet sich von den übrigen Anionen deutlich. Die Kontrolle und die Variante „langsam, -18 °C“ unterscheiden sich praktisch nicht und liegen im Mittelwert deutlich (ca. 20 %) unter den beiden anderen Varianten. Die Unterschiede sind jedoch aufgrund der großen Streuung nicht signifikant.

7.5.2.2. Einfluss unterschiedlicher Wassergehalte auf die Analysenergebnisse von wässrigen Eluaten

Um den Einfluss unterschiedlicher Wassergehalte auf die Analysenergebnisse zu untersuchen, wurden die Mittelwerte aus den Einfrier- bzw. Lagervarianten beim jeweiligen Wassergehalt gebildet und die erhaltenen Mittelwerte durch einen t-test miteinander verglichen. Die gegeneinander getesteten Varianten werden nachfolgend bezeichnet als:

Trocken: Wassergehalt bei 10 % der Wasserhaltekapazität

Feucht: Wassergehalt bei 60 % der Wasserhaltekapazität

Die Bestimmung der Kationen, des pH-Wertes und der elektrischen Leitfähigkeit wurde nur bei den Böden „Düben, OB“ und „Düben, UB“ sowie bei „Leipzig, OB“ durchgeführt, da die Eluate der übrigen Böden nach dem Ausfall eines Gefrierschranks verworfen werden mussten.

7.5.2.2.1. DOC, pH und Leitfähigkeit

Für DOC zeigen alle Böden mit Ausnahme des Bodens „Klosterwald, UB“ in der Variante trocken höhere Werte als in der Variante „feucht“. Einen signifikanten Einfluss auf die DOC-Konzentration tritt nur bei den Böden „Düben, UB“, „Leipzig, OB“ und „Scheuern, OB“ sowie bei „Klosterwald, UB“ auf (Tabelle 7.34, Abbildung 7.32). Der pH-Wert zeigt nur bei „Düben, OB“ mit einer Erhöhung in der Variante „feucht“ einen signifikanten Unterschied zwischen den Varianten auf. Die Leitfähigkeit ist bei „Düben, UB“ in der Variante „feucht“ signifikant niedriger als in der Variante „trocken“. Bei den beiden anderen Böden ist kein Einfluss des Wassergehaltes auf die Leitfähigkeit festzustellen.

Tabelle 7.34: Mittelwerte und Signifikanzniveaus für DOC, pH und Leitfähigkeit bei unterschiedlichen Wassergehalten (tr: trocken, feu: feucht; DOC: mg/l, Leitfähigkeit: µS/cm; n.s.: nicht signifikant, *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001)

| | DOC | | | PH | | | Leitfähigkeit | | |
|-----------------|-------|-------|------|------|------|------|---------------|-------|------|
| | tr | feu | | tr | feu | | tr | feu | |
| Düben, OB | 145,9 | 140,9 | n.s. | 4,15 | 4,90 | *** | 113,5 | 121,2 | n.s. |
| Düben, UB | 45,7 | 29,2 | *** | 4,95 | 4,83 | n.s. | 44,4 | 31,3 | *** |
| Leipzig, OB | 64,9 | 30,5 | *** | 8,70 | 8,55 | n.s. | 170,7 | 168,6 | n.s. |
| A17, OB | 19,7 | 8,7 | *** | | | | | | |
| Klosterwald, UB | 3,4 | 10,5 | *** | | | | | | |
| A18, UB | 9,4 | 7,3 | n.s. | | | | | | |

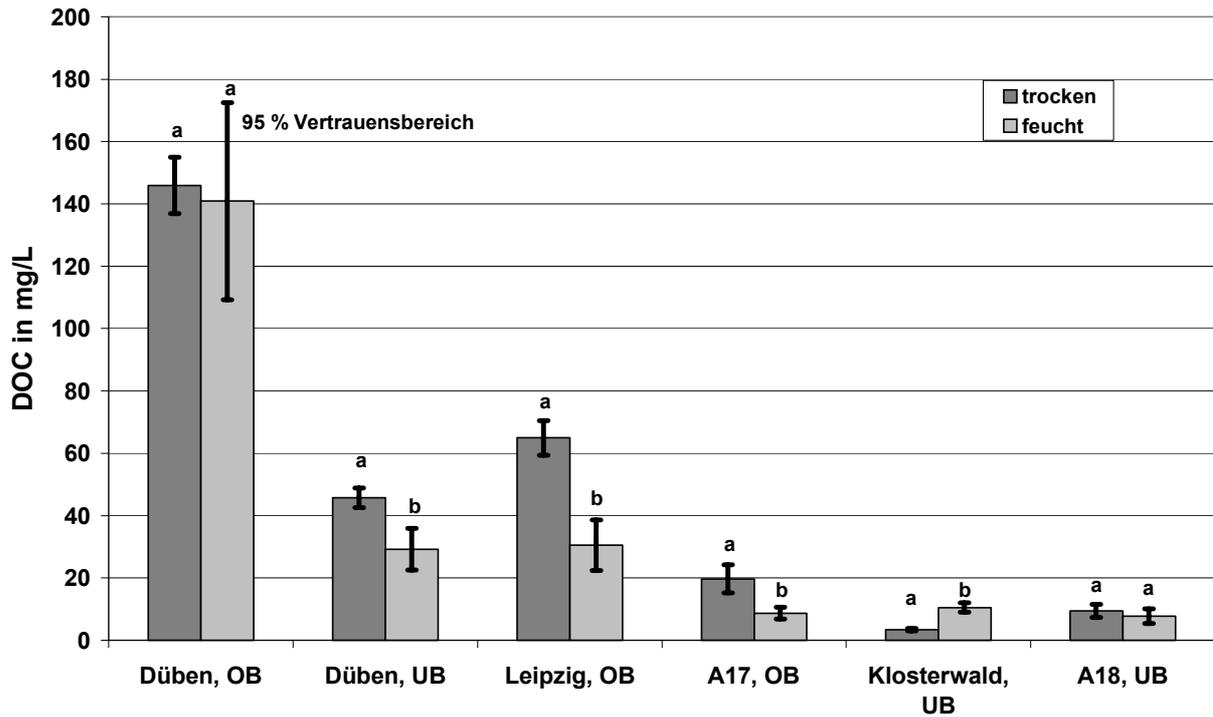


Abbildung 7.32: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für DOC (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

7.5.2.2.2. Schwermetalle

Die Wirkung des Wassergehaltes ist bei den untersuchten Schwermetallen unterschiedlich. Bei Kupfer zeigt die Variante „trocken“ in vier der sechs Böden höhere Werte als die Variante „feucht“. Signifikant sind die höheren Werte für die Variante „trocken“ dabei nur für die Böden aus dem Raum Leipzig (Abbildung 7.33).

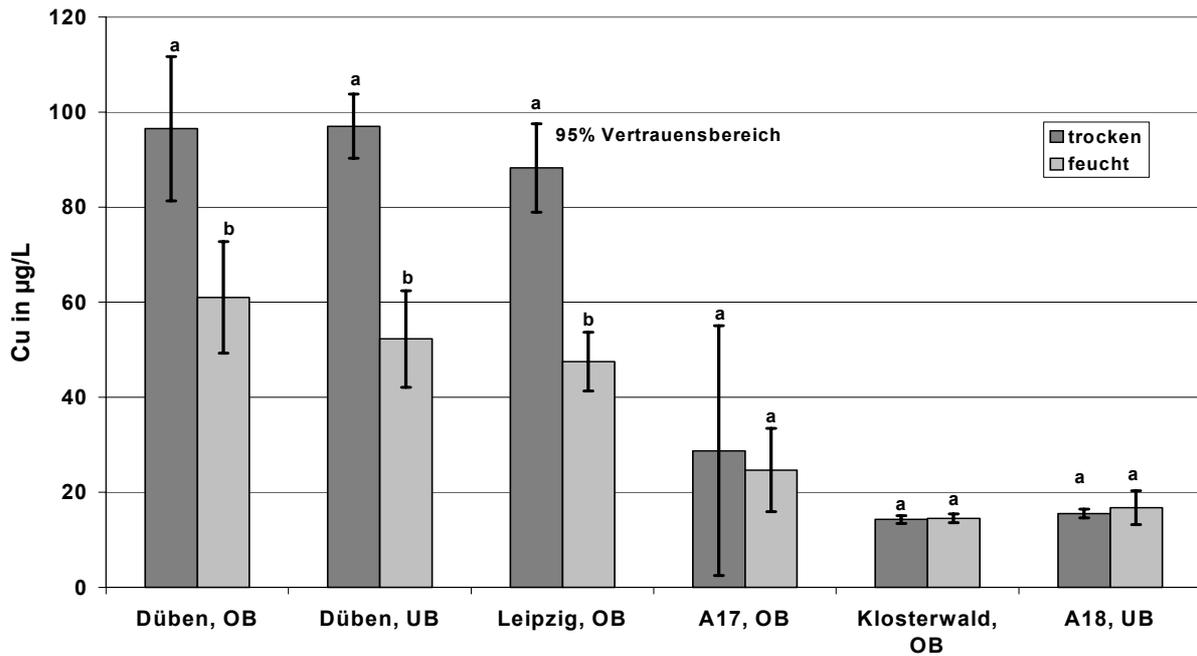


Abbildung 7.33: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für Kupfer (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

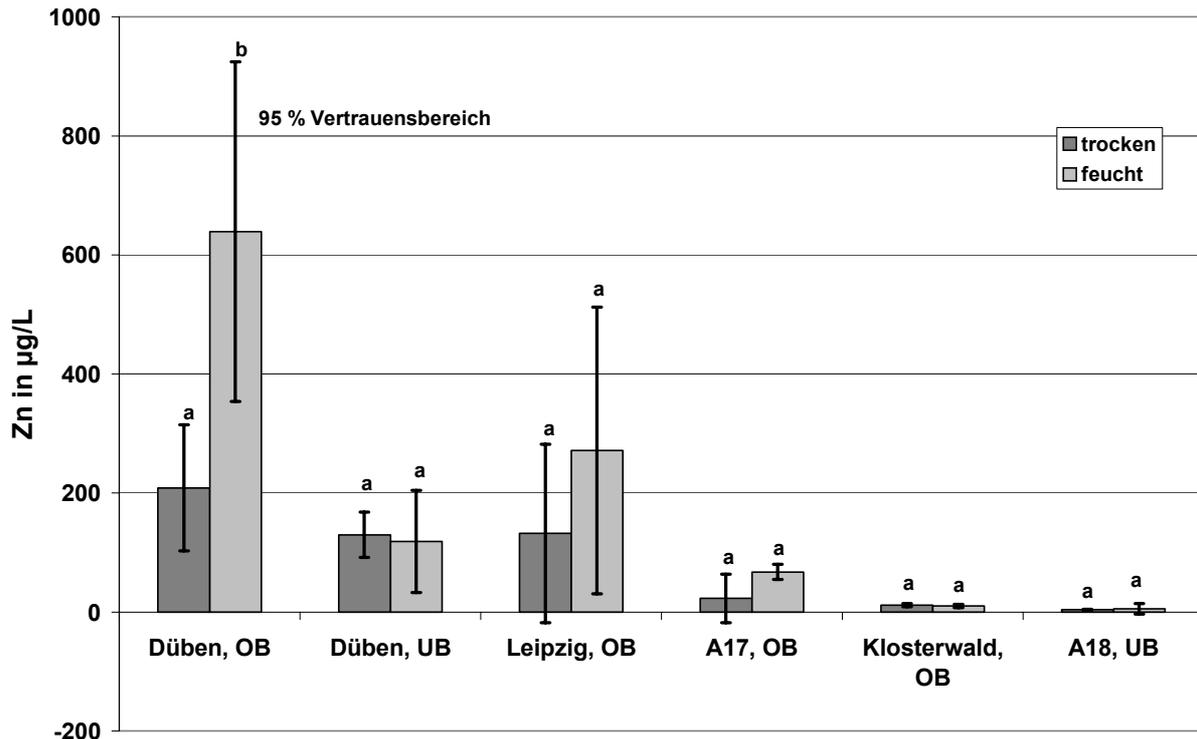


Abbildung 7.34: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte für Zink (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

Bei Zink hingegen treten in der Variante „feucht“ in vier von sechs Böden höhere Werte auf. Signifikant ist der Unterschied aber nur im Boden „Düben, OB“ (Abbildung 7.34).

7.5.2.2.3. Kationen

Ein deutlicher Einfluss des Wassergehaltes zeigt sich auf die Konzentration der Nährstoffkationen. Bei allen untersuchten Böden war die Kationenkonzentration in der Variante „trocken“ höher als bei der Variante „feucht“. Mit Ausnahme von Kalium beim Boden „Düben, UB“ waren die Unterschiede signifikant (Tabelle 7.35)

Tabelle 7.35: Mittelwerte und Signifikanzniveaus für Kalium, Calcium und Magnesium bei unterschiedlichen Wassergehalten (tr: trocken, feu: feucht; K, Ca, Mg: mg/l; n.s.: nicht signifikant, *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)

| | Kalium | | | Calcium | | | Magnesium | | |
|-------------|--------|------|------|---------|------|-----|-----------|------|-----|
| | tr | feu | | tr | feu | | tr | feu | |
| Düben, OB | 5,22 | 3,20 | ** | 5,33 | 4,31 | ** | 0,54 | 0,31 | *** |
| Düben, UB | 0,65 | 0,51 | n.s. | 3,95 | 2,01 | ** | 0,16 | 0,07 | * |
| Leipzig, OB | | | | 34,9 | 25,1 | *** | 3,25 | 2,26 | * |

7.5.2.2.4. Anionen

Kaum einen Einfluss hat der Wassergehalt dagegen auf die Konzentration der Anionen (Tabelle 7.36). Für Sulfat und Nitrat kann bei keinem der untersuchten Böden ein Unterschied im Mittelwert bei verschiedenen Wassergehalten festgestellt werden. Bei Chlorid tritt nur im Boden „Düben, UB“ ein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten auf. Den stärksten Einfluss zeigt eine

unterschiedliche Bodenfeuchte auf die Phosphat-P-Konzentrationen. Dort treten in zwei Böden signifikante Unterschiede auf, die jedoch nicht gerichtet sind.

Tabelle 7.36: Mittelwerte und Signifikanzniveaus für Sulfat, Nitrat, Chlorid und Phosphat-P bei unterschiedlichen Wassergehalten (tr: trocken, feu: feucht; DOC: Sulfat, Nitrat Chlorid und Phosphat-P in mg/l; n.s.: nicht signifikant, *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)

| | Sulfat | | | Nitrat | | | Chlorid | | | Phosphat-P | | |
|-----------------|--------|-------|------|--------|-------|------|---------|------|------|------------|------|------|
| | tr | feu | | tr | feu | | tr | feu | | tr | feu | |
| Düben, OB | 7,55 | 9,83 | n.s. | 0,41 | 0,43 | n.s. | 4,33 | 3,22 | n.s. | 0,45 | 0,31 | n.s. |
| Düben, UB | 3,34 | 3,05 | n.s. | 0,36 | 0,33 | n.s. | 0,34 | 0,24 | * | 0,03 | 0,04 | * |
| Leipzig, OB | 4,75 | 4,71 | n.s. | 5,39 | 12,00 | n.s. | 0,37 | 0,41 | n.s. | 0,18 | 0,07 | *** |
| A17, OB | 1,64 | 2,22 | n.s. | 8,51 | 15,50 | n.s. | 1,03 | 1,26 | n.s. | | | |
| Klosterwald, UB | 12,49 | 14,82 | n.s. | 2,51 | 3,12 | n.s. | 0,20 | 0,21 | n.s. | | | |
| A18, UB | 2,05 | 2,13 | n.s. | 12,19 | 9,02 | n.s. | 0,57 | 0,53 | n.s. | | | |

7.5.2.3. Einfluss der Lagerungsdauer auf die Analysenresultate von wässrigen Lösungen

Um den Einfluss der Lagerdauer zu erfassen, wurde von der Lagervariante „schnell, -196°C“ ein Probensatz für sechs Monate gelagert und anschließend wie bei der Kurzzeitlagerung aufgearbeitet. Zur statistischen Auswertung mussten die Originaldaten wegen der großen Streuung analog zu Kap. 7.5.2.1 aufbereitet werden. Dazu wurde für jedes Wertepaar aus Kurzzeit-/Langzeitlagerung der Mittelwert gebildet und aus diesem Mittelwert die relativen Werte der jeweiligen Lagervariante ermittelt. Die Ergebnisse sind in den Abbildung 7.35 und Abbildung 7.36 dargestellt.

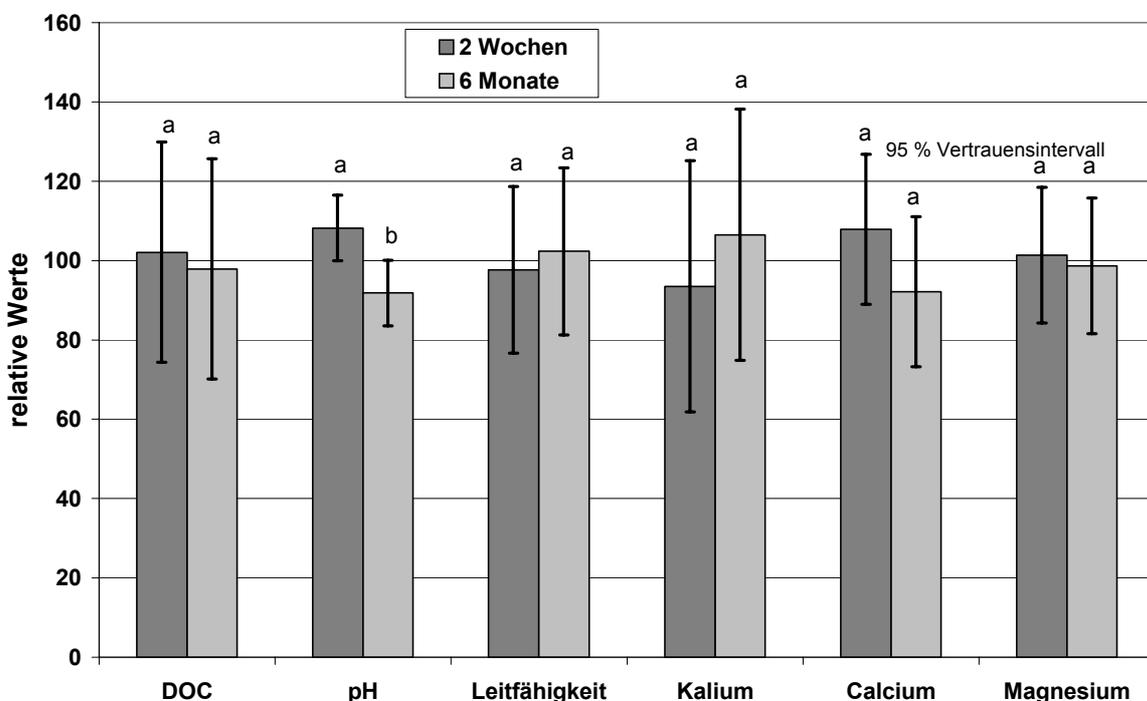


Abbildung 7.35: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte bei unterschiedlicher Lagerungsdauer (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

Bei den Kationen (K, Ca, Mg) zeigt sich kein Einfluss der Lagerungsdauer auf die Analysenergebnisse. Auch der DOC-Gehalt und die Leitfähigkeit verändern sich nach sechsmonatiger Lagerung nicht im Vergleich zur Kurzzeitlagerung von zwei Wochen. Der pH-Wert ist nach der Langzeitlagerung jedoch signifikant niedriger als bei einer Lagerungsdauer von zwei Wochen (Abbildung 7.35). Bei den Anionen zeigte sich die deutlichste Wirkung der Lagerdauer auf die Messergebnisse. Die in den Eluaten bestimmten Anionenkonzentrationen waren nach sechs Monaten bei allen Anionen signifikant gegenüber der Kurzzeitlagerung erhöht (Abbildung 7.36).

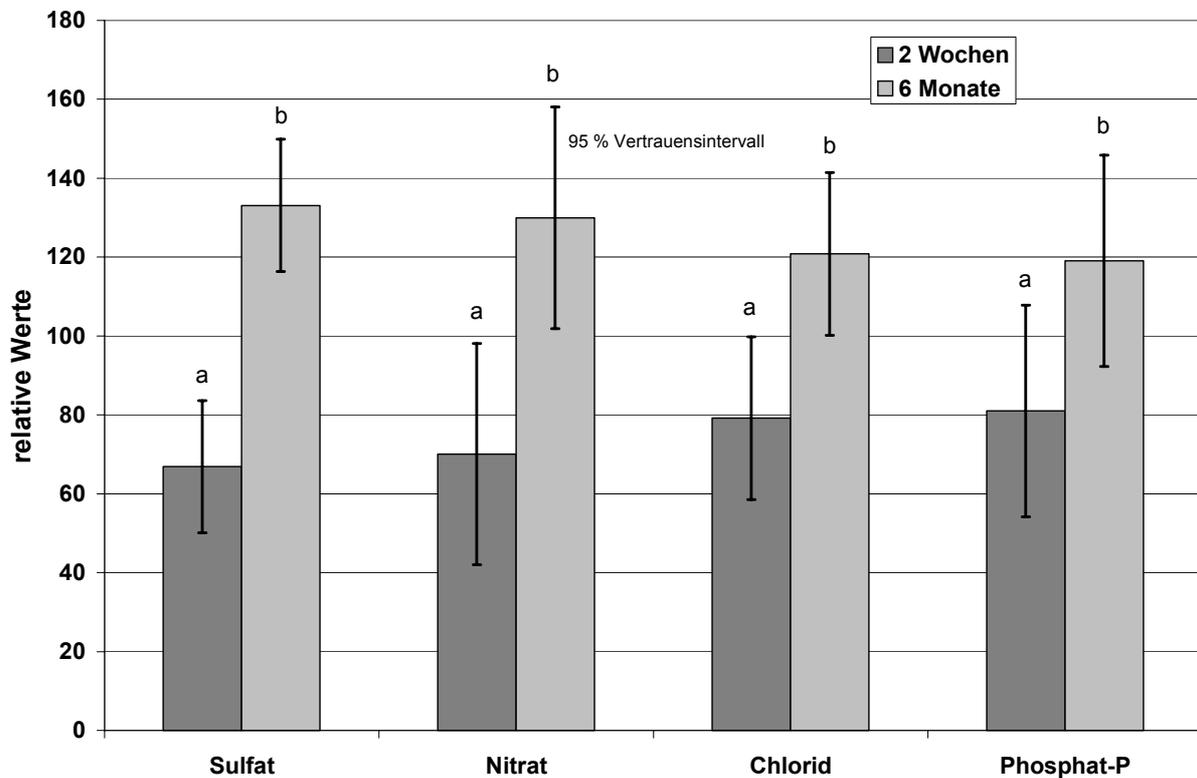


Abbildung 7.36: rel. Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte bei unterschiedlicher Lagerungsdauer (unterschiedliche Buchstaben über den Säulen markieren signifikante Unterschiede der Mittelwerte)

7.5.2.4. Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl unterschiedliche Lagerbedingungen (Temperaturen und Dauer) als auch unterschiedliche Wassergehalte bei einzelnen Parametern zu mehr oder weniger veränderten Analyseresultaten führen können. Diese Erkenntnisse sind nicht neu. So konnten VAZ *et al.* [1994] ein Anstieg des extrahierbaren Phosphat-P nach Frost-Tau-Zyklen feststellen und zeigen, dass die Erhöhung vor allem bei schnellem Einfrieren mit Flüssigstickstoff und bei Böden mit hohem Anteil an organischer Substanz sowie bei längerer Lagerdauer auftritt. Dies stimmt gut mit den eigenen Ergebnissen überein. Eine eindeutige Ursache für die Erhöhung konnten sie jedoch nicht angeben. Unklar ist allerdings warum die Anionen bei der Langzeitlagerung deutlich höhere Werte als bei der Kurzzeitlagerung aufweisen, zumal bei sinkendem pH eigentlich mit einer verstärkten Sorption und damit zu einer Abnahme der Anionenkonzentration im Eluat zu rechnen ist.

Auch der Einfluss der Bodenfeuchte auf chemische Bodenparameter wurde mehrfach dargestellt. BERINGER *et al.* [1981] fanden zum Teil erhöhte Werte für extrahierbare Kationen bei höherer

Bodenfeuchte und SCHNEIDER [1997] wies eine Einfluss der Bodenfeuchte auf K-Haushaltsparameter nach.

Bei Betrachtung der einzelnen Lagervarianten zeigt sich, dass die Variante „schnell, -196 °C“ in der Summe am besten die Ergebnisse der Kontrolle wiedergibt. Zwar treten bei einigen Parametern (z. B. K- PO₄-P-Konzentrationen) stärkere Abweichungen von der Kontrolle auf, diese Abweichungen sind jedoch im Gegensatz zu anderen Varianten nicht signifikant.

Von größerem Einfluss als die Lagerungsbedingungen ist – zumindest bei den Kationen – der Wassergehalt beim Einfrieren. Auch bei anderen Parametern gibt es zum Teil signifikante Abweichungen, diese sind jedoch nicht gerichtet. Der Einfluss des Wassergehaltes auf die im Rahmen der Umweltprobenbank untersuchten Parameter dürfte eher gering sein, da dort – zumindest bei Schwermetallen – neben leicht (wasser-)löslichen Verbindungen auch schwerer löslichen Formen bis zu Gesamtgehalten untersucht werden, bei denen eine Einfluss des Wassergehaltes auf das Analyseresultat nicht zu erwarten ist.

7.6. Möglichkeiten und Notwendigkeit der Beprobung, Untersuchung und Lagerung von Unterböden

Im Gegensatz zur bisherigen Richtlinie zur Bodenprobenahme sollte ein Konzept erarbeitet werden, das auch die Beprobung des Unterbodens mit vertretbarem Aufwand im Rahmen der Routinebeprobung ermöglichen soll. Dies erfolgt im Besonderen im Hinblick auf Forderungen die sich aus dem Bundes-Bodenschutzgesetz bzw. aus der Bodenschutzverordnung ergeben. Sowohl aus den Vorgaben der Bodenschutzverordnung wie auch aus fachlichen Gründen ergeben sie daher jedoch einige Änderungen im Vergleich zur bisherigen Richtlinie. So ist in der derzeit aktuellsten Fassung der „Richtlinie zur Probenahme und Probenbearbeitung“ eine Beprobung des Mineralbodens bis 10 cm Tiefe vorgesehen. Dies ist jedoch bei der Berücksichtigung des Unterbodens nicht durchführbar, da bei einer festgelegten Beprobungstiefe von 10 cm eine Vermischung von Oberboden und Unterbodenmaterial nicht auszuschließen ist. So ist die Mächtigkeit der Ah-Horizonte an den Standorten in den Bereichen „Tertiäres Hügelland“, „Nationalpark Berchtesgaden“ und „Nationalpark Bayerischer Wald“ deutlich geringer als 10 cm. In Abänderung zur bisherigen Richtlinie wird daher vorgeschlagen, eine horizontabhängige Probenahme vorzunehmen. Da der verwendete Split-Tube-Sampler eine Probenahme bis 40 cm Tiefe ermöglicht ist eine grundlegende Veränderung der Probenahmetechnik nicht nötig. Versuche an mehreren der geplanten Probenahmestandorte zeigten, dass eine Entnahme des Bohrkerns bis zur maximal möglichen Tiefe durchführbar ist. Anschließend kann am entnommenen Kern die Abtrennung von Ober- und Unterbodenmaterial horizontgenau erfolgen. Es ist allerdings noch zu klären, ob die Entnahme des Unterbodens nur einen Horizont umfassen soll, oder ob generell bis zu einer bestimmten Tiefe beprobt werden soll. Eine horizontgenaue Beprobung kann an den Waldstandorten und der landwirtschaftlich genutzten Fläche im Bereich des Bornhöveder Seengebietes durchgeführt werden. Die beiden städtischen Parkflächen in Leipzig und in Saarbrücken sollten dagegen wie bisher vorgeschlagen beprobt werden. Dabei ist eine Probenahme in zwei Schichten von 0-10 cm und von 10- 30 cm vorgesehen. Aufgrund der Genese dieser Böden, bei beiden handelt es sich um eine Auenvega aus fluvatilen Ablagerungen, ist eine Unterscheidung zwischen dem Ah-Horizont und dem darauffolgenden M-Horizont nur schwer möglich, da beide einen hohen Gehalt an organischem Kohlenstoff aufweisen.

7.7. Überarbeitung der Probenahmerichtlinie

Bei der Überarbeitung der „Richtlinie zur Probenahme und Probenaufbereitung“ werden folgende Änderungen vorgenommen:

- Das bisher vorgeschlagene Beprobungsschema in Form eines Kreuzes in Anlehnung an das BDF-Schema wird durch eine Rasterbeprobung ersetzt werden. Vorgeschlagen wird eine Unterteilung der Probenahme­fläche in 16 Teilflächen (12,5 x 12,5 m), die wiederum in 16 Unterflächen (3,125 x 3,125 m) aufgeteilt werden (siehe Anhang, Abb. 5). Bei jeder Probenahme soll je Teilfläche eine dieser Unterflächen beprobt werden. Damit kann für 16 Beprobungen (entspricht 60 Jahre) sichergestellt werden, dass jeweils eine durch vorherige Probenahmen ungestörte Fläche beprobt wird.
- Die Probenahmemenge wird für Mineralboden auf etwa 15-20 kg Frischgewicht erhöht. Diese Menge ergibt sich aus der Zahl der Archivproben (ca. 100) und der benötigten Probenmenge je Archivprobe (ca. 100 g) unter Berücksichtigung von Siebverlusten und Skelettanteilen.
- Die Entnahme von Mineralbodenmaterial wird für zwei Entnahmetiefen durchgeführt werden. Der Oberboden wird horizontweise beprobt. Der darauffolgende Unterboden wird bis maximal 40 cm Tiefe beprobt. Die Probenahmetiefe für den Unterboden soll jedoch auch unter Berücksichtigung der Mächtigkeit des Oberbodens erfolgen, so dass bei geringmächtigen Oberböden auch der Unterboden nur bis in geringe Tiefe beprobt wird. Die genaue Beprobungstiefe wird erst bei der ersten Routinebeprobung im Herbst 2002 standortabhängig festgelegt und durch eine genaue Dokumentation im jeweiligen Probenahmeblatt belegt. Der Wurzelfilz der Probenahmestandorte Leipzig-Rosental und Saarbrücken-Staden (Parkflächen) wird analog zu den Auflagehorizonten unter Wald zu beproben.
- Das Mineralbodenmaterial wird unmittelbar nach der Probenahme auf 2 mm gesiebt. Das gesiebte Material wird sofort in Flüssig-Stickstoff eingefroren, um die vorgegebenen Langzeitlagerbedingungen möglichst schnell zu erreichen.

Diese Änderungsvorschläge resultieren aus den Ergebnissen des vorliegenden Projektes „Methodische Weiterentwicklung der Probenahmerichtlinie für Böden im Rahmen der Umweltprobenbank des Bundes“ sowie dem Fachgespräch am 19. März 2002 in Schmallenberg.

8. Literatur

- ALLEN, M.F. (1993):
Microbial and Phosphate Dynamics in a Restored Shrub Steppe in Southwestern Wyoming. *Restoration Ecology*, Vol. 1, pp. 196-205.
- BÄNSCH, C., TOPP, W. (1999):
Waldbodenverbringung auf forstlichen Rekultivierungsflächen: eine nachhaltige Verbesserung der Bodenqualität? *Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie*, Band 29, pp. 511-517.
- BECK, L.. (1993):
Zur Bedeutung der Bodentiere für den Stoffkreislauf in Wäldern. *Biologie in unserer Zeit*, Band 23, pp. 286-294.
- BERINGER, H, GRIMME, H. UND POTHOVEN, R. (1981):
Einfluß der Bodenfeuchte zum Zeitpunkt der Probenahme auf das Ergebnis der Bodenuntersuchung. *Landwirtschaftliche Forschung, Sonderheft*, 623-632
- BONGERS, T. (1994):
De Nematoden van Nederland. *Natuurhistorische Biobiotheek van de KNNV*. 408 pp.
- BONGERS T., BONGERS M. (1998):
Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*, Vol. 10, pp. 239-251.
- BUNDESANSTALT FÜR MATERIALFORSCHUNG (BAM) (HERAUSG.) (2001):
Anforderungen an Probenahme, Probenvorbehandlung und chemische Untersuchungsmethoden auf Bundesliegenschaften. *Amts- und Mittelungsblatt der BAM, Sonderheft 2/2001*, 43 S.
- BUNGART, R., ENDE, H.-P. (1998):
Untersuchungen zur Entwicklung von Forstbeständen auf Kippsubstraten des Bergbaugesbietes Welzow unter Berücksichtigung bodenchemischer, -physikalischer, ernährungs- und waldwachstumskundlicher Parameter. In: Bungart, R., Hüttl, R.F. (Hrsg.): *Landnutzung auf Kippenflächen - Cottbuser Schriften, Nr. 2, BTU Cottbus*, pp. 3-46
- DICKENS, H.E., ANDERSON, J.M. (1999):
Manipulation of soil microbial community structure in bog and forest soils using chloroform fumigation. *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 31, pp. 2049-2058.
- DUNGER, W. (1991):
Zur Primärsukzession humiphager Tiergruppen auf Bergbauflächen. *Zool. Jb. Syst.*, Band 18, pp. 423-447.
- FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR UMWELTCHEMIE UND ÖKOTOXIKOLOGIE (IUCT) (1994):
Abschlußbericht – Grenzen und Möglichkeiten der Verwertung von Seesedimenten auf landwirtschaftlichen Nutzflächen – im Auftrag des Landesumweltamtes Brandenburg, Referat Bodenschutz.
- FROSTEGÅRD, Å., BAATH, E., TUNLID, A. (1993):
Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biol. Biochem.*, Vol. 25, No. 6, pp. 723-730.
- FROSTEGÅRD, Å., TUNLID, A., BAATH, E. (1995):
Changes in microbial community structure during long-term incubation in two soils experimentally contaminated with metals. *Soil Biol. Biochem.*, Vol. 28, No. 1, pp. 55-63.
- GOORIS J., D'HERDE (1972):
A method for quantitative extraction of eggs and second stage juvenile of *Meloidogyne* spp. from soil. *Min. Agric., Agric. Res. Adm., Sate Agricultural Centr, Ghent*, pp. 1 – 36
- GRAYSTON, S.J., GRIFFITH, G.S., MAWDSLEY, J.L., CAMPPELL, C.D., BARDGETT, R.D. (2001):
Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.*, Vol. 33, pp. 533-551.
- HUNT D.J. (1993):
Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae. CAB International. 352 pp.
- ISO/CD 15685:
Soil quality – Determination of potential nitrification, a rapid test by ammonium oxidation.
- ISO/DIS 17155 (2001):
Soil respiration curves – a method to the abundance and activity of the soil microflora.

- KANDELER (1993):
Bestimmung der Dimethylsulfoxid-Reduktion. In: F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin (Hrsg.): *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. Springer-Verlag.
- KAUTZ, G. (1999):
Die Bedeutung der saprophagen Bodenfauna für die Verbesserung der Bodenqualität. Cuvillier Verlag, Göttingen. 162 pp.
- KIEFT, T.L., D.B. RINGELBERG, WHITE, D.C. (1994):
Changes in ester-linked phospholipid fatty acid profiles of subsurface bacteria during starvation and desiccation in a porous medium. – *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 60, No 9 pp. 3292-3299.
- LUFAS SPEYER (1998): Ringuntersuchung 1998 Klärschlamm und Boden
- MEYER, V. R. & MAJORS, R. E. (2002):
Minimizing the effect of sample preparation on measurement uncertainty. *LC GC Europe*, 15, 398-404
- MURATA, T., TANAKA, H., YASUE, S., HAMADA, R., SAKAGAMI, K, KUROKAWA, Y. (1999):
Seasonal variations in soil microbial biomass content and soil neutral sugar composition in grassland in the Japanese Temperate Zone. *Applied Soil Ecology*, Vol. 11, pp. 253-259.
- NIEMANN R. (1996):
Ökotoxikologische Beurteilung kontaminierter Böden durch die Erfassung der Nematodenfauna. Dissertation Westfälische Wilhelms-Universität Münster
- OECD/OCDE 216 (2000):
Soil microorganisms: Nitrogen Transformation Test.
- OECD/OCDE 217 (2000):
Soil microorganisms: Carbon Transformation Test.
- ÖHLINGER, R. (1993A):
Bodenprobenahme. In: F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin (Hrsg.): *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. Springer-Verlag.
- ÖHLINGER, R. (1993B):
Probenvorbereitung. In: F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin (Hrsg.): *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. Springer-Verlag.
- ORCHARD, V.A., COOK, F. J., CORDEROY, D. M. (1992):
Field and laboratory studies on the relationships between respiration and moisture for two soils of contrasting fertility status. *Pedobiologia*, Vol. 36, pp. 21-33.
- PETERSEN, S.O., KLUG, M.J. (1994):
Effects of sieving, storage, and incubation temperature on the phospholipid fatty acid profile of a soil microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 60, No 7, pp. 2421-2430.
- SACHS, L. (1984):
Angewandte Statistik. Springer-Verlag-Berlin, 553 S.
- SCHINNER, F., ÖHLINGER R., KANDELEER E., MARGESIN R. (HRSG.) (1993):
Bodenbiologische Arbeitsmethoden. 2. Auflage. Springer-Verlag.
- SCHNEIDER, A. (1997):
Release and fixation of potassium by a loamy soil as affected by initial water content and potassium status of soil samples. *European J. of Soil Science*, 48, 263-271
- SCHULZ, R., BREUER, J., RÖMHELD, V. UND MARSCHNER, H. (1996):
Einfluss der Probenahmetechnik auf die Ergebnisse von Bodenuntersuchungen zur Tiefenverlagerung von Schwermetallen nach langjähriger Klärschlammdüngung. *Agrobiol. Res.*, 49, 113-119
- SIDDIGI, M.R. (2000):
Tylenchida, parasites of plants and insects. CABI Publishing. 833 pp.
- SIMON, M. (2001):
Influence of a new reclamation technique on soil properties. Investigations in the lignite open-cast mine district of the Rhineland. Cuvillier Verlag, Göttingen. 185 pp.
- THUM, J., WÜNSCHE, M., LAVES, D., VOGLER, E. (1990):
Zur Humusbildung auf Kipp-Lehm bei Ackernutzung. *Arch. Acker- Pflanzenbau Bodenkd.*, Band 34, pp. 855-864.
- VAZ, R. M. D., EDWARDS, A. C., SHAND, C. A. UND CRESSER, M. S. (1994):
Changes in the chemistry of soil solution and acetic-acid extractable P following different types of freeze/thaw episodes. *European J. of Soil Science*, 45, 353-359.

- YEATS, G.W., BONGERS T. DE GOEDE R. G. M., FRCKMAN D.W., GEORGIEVA S.S. (1993):
Feeding habits in soil nemaoted families and genera – an outline forl soil ecologists. Journal of Nematology, Vol. 25, 315-331.
- ZELL, H. (1989):
Lebensraum Buchenwaldboden. 13. Die Nematoden. Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie, Band XVII, 125-130.

9. Anhang

9.1. Tabellen:

Tabelle A - 1: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 1a, Kontamination durch Hülsebohrer, Königswasseraufschluss (in mg/kg TS)

| „Institut“ | Kontaktboden | | Referenzboden | | Gesamtboden | |
|----------------|--------------|---------|---------------|---------|-------------|---------|
| | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. |
| Cadmium | 0,10 | 0,03 | 0,11 | 0,07 | 0,10 | 0,05 |
| Chrom | 42,27 | 2,74 | 40,93 | 0,86 | 41,20 | 1,79 |
| Kupfer | 23,80 | 3,22 | 23,20 | 2,27 | 24,02 | 2,94 |
| Eisen | 53042 | 3100 | 54864 | 2007 | 55134 | 1620 |
| Molybdän | 2,25 | 0,35 | 1,85 | 0,60 | 1,89 | 0,32 |
| Nickel | 43,69 | 4,62 | 42,12 | 2,87 | 44,33 | 3,97 |
| Blei | 20,61 | 3,00 | 22,77 | 4,18 | 21,54 | 4,39 |
| Vanadium | 34,59 | 2,99 | 36,61 | 4,62 | 35,35 | 3,53 |
| Zink | 107,35 | 6,51 | 112,08 | 6,17 | 111,33 | 4,47 |
| „Großpalmberg“ | | | | | | |
| Cadmium | 0,017 | 0,002 | 0,021 | 0,003 | 0,019 | 0,003 |
| Chrom | 23,29 | 7,85 | 11,95 | 2,14 | 11,22 | 1,30 |
| Kupfer | 4,68 | 1,67 | 5,35 | 2,52 | 4,38 | 0,94 |
| Eisen | 16157 | 5192 | 18365 | 6406 | 15648 | 2647 |
| Molybdän | 0,28 | 0,078 | 0,15 | 0,032 | 0,17 | 0,020 |
| Nickel | 10,05 | 0,87 | 9,71 | 1,32 | 7,98 | 0,61 |
| Blei | 9,05 | 0,97 | 7,47 | 1,20 | 9,61 | 1,86 |
| Vanadium | 12,43 | 2,83 | 13,52 | 3,43 | 12,71 | 1,45 |
| Zink | 22,99 | 1,95 | 26,03 | 2,39 | 22,90 | 1,25 |

Tabelle A - 2: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 1a, Kontamination durch Hülsebohrer, Ammoniumnitrat-Extraktion (in µg/kg TS)

| „Institut“ | Kontaktboden | | Referenzboden | | Gesamtboden | |
|----------------|--------------|---------|---------------|---------|-------------|---------|
| | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. |
| Cadmium | 12,17 | 6,49 | 13,67 | 6,62 | 13,50 | 7,53 |
| Chrom | 9,50 | 1,38 | 9,67 | 0,82 | 9,50 | 1,05 |
| Kupfer | 13,67 | 15,40 | 14,17 | 3,37 | 19,33 | 15,15 |
| Nickel | 74,00 | 35,49 | 71,00 | 21,42 | 87,33 | 42,82 |
| Blei | 12,17 | 5,46 | 15,17 | 8,26 | 13,83 | 6,11 |
| Vanadium | 6,00 | 1,55 | 6,17 | 1,47 | 5,68 | 1,63 |
| „Großpalmberg“ | | | | | | |
| Cadmium | 14,33 | 3,20 | 13,83 | 6,82 | 14,83 | 4,96 |
| Chrom | 74,00 | 46,85 | 48,67 | 9,62 | 50,83 | 7,25 |
| Kupfer | 58,50 | 20,84 | 46,33 | 13,12 | 44,83 | 5,60 |
| Nickel | 289,8 | 76,64 | 161,7 | 43,57 | 227,8 | 74,02 |
| Blei | 820,3 | 144,9 | 527,5 | 256,7 | 832,3 | 271,5 |
| Vanadium | 35,17 | 63,16 | 11,67 | 12,98 | 12,17 | 5,41 |

Tabelle A - 3: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 1b, Kontamination durch Siebgeräte, Königswasseraufschluss (in mg/kg TS)

| „Leipzig, OB“ | Metallsieb | | Nylonsieb | |
|---------------|------------|---------|------------|---------|
| | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. |
| Cadmium | 0,42 | 0,012 | 0,40 | 0,007 |
| Chrom | 39,63 | 0,84 | 38,75 | 0,42 |
| Kupfer | 67,09 | 3,70 | 64,97 | 1,71 |
| Eisen | 39923 | 1398 | 40863 | 917 |
| Nickel | 27,08 | 0,52 | 26,89 | 0,43 |
| Blei | 99,24 | 1,66 | 98,24 | 2,34 |
| Vanadium | 40,61 | 0,75 | 40,84 | 0,39 |
| Zink | 225,08 | 2,44 | 224,57 | 2,13 |
| „Düben, UB“ | | | | |
| Cadmium | 0,009 | 0,001 | 0,009 | 0,002 |
| Chrom | 4,70 | 0,16 | 4,65 | 0,16 |
| Kupfer | 1,36 | 0,07 | 1,36 | 0,13 |
| Eisen | 5380 | 119 | 5390 | 187 |
| Nickel | 3,29 | 0,10 | 3,16 | 0,15 |
| Blei | 14,07 | 0,34 | 14,13 | 0,65 |
| Vanadium | 7,31 | 0,26 | 7,50 | 0,21 |
| Zink | 19,83 | 0,53 | 20,06 | 0,57 |

Tabelle A - 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 1b, Kontamination durch Siebgeräte, Ammoniumnitrat-Extraktion (in µg/kg TS)

| „Leipzig, OB“ | Kontaktboden | | Referenzboden | |
|---------------|--------------|---------|---------------|---------|
| | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. |
| Cadmium | 21,16 | 1,47 | 20,83 | 0,41 |
| Kupfer | 95,00 | 4,24 | 93,50 | 1,64 |
| Nickel | 130,00 | 4,20 | 129,67 | 1,63 |
| Blei | 15,60 | 1,14 | 14,67 | 0,52 |
| „Düben, UB“ | | | | |
| Cadmium | 6,20 | 0,45 | 6,00 | 0,00 |
| Kupfer | 19,60 | 1,95 | 14,40 | 1,67 |
| Nickel | 86,00 | 1,58 | 82,17 | 4,26 |
| Blei | 1980,5 | 47,74 | 1897,2 | 46,43 |

Tabelle A - 5: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 3, bodenkundliche Basisparameter (in g/kg TS, pH ohne Einheit; GS: Gesamtsiebung, TS: Teilsiebung)

| Böden | | pH | | C-gesamt | | Sand | | Schluff | | Ton | |
|-----------------|----|------------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| | | Mittelwert | Stdabw. |
| Düben, OB | GS | 3,40 | 0,00 | 71,83 | 5,37 | 673 | 3,0 | 293 | 3,5 | 34 | 0,6 |
| | TS | 3,40 | 0,00 | 67,47 | 7,99 | 690 | 15,3 | 282 | 12,8 | 28 | 4,7 |
| Düben, UB | GS | 3,77 | 0,06 | 6,30 | 0,30 | 778 | 5,5 | 196 | 6,1 | 26 | 1,2 |
| | TS | 3,77 | 0,06 | 5,43 | 0,92 | 779 | 5,5 | 193 | 5,5 | 27 | 2,1 |
| Leipzig, OB | GS | 5,67 | 0,06 | 36,47 | 0,31 | 186 | 9,6 | 518 | 3,5 | 296 | 6,2 |
| | TS | 5,70 | 0,00 | 35,83 | 1,85 | 194 | 3,2 | 509 | 6,9 | 297 | 8,6 |
| A17, OB | GS | 5,80 | 0,00 | 14,80 | 0,10 | 180 | 0,6 | 625 | 49,1 | 195 | 49,5 |
| | TS | 5,80 | 0,00 | 14,83 | 0,40 | 183 | 4,0 | 647 | 7,1 | 170 | 5,5 |
| Klosterwald, UB | GS | 4,10 | 0,00 | 2,67 | 0,15 | 115 | 7,2 | 444 | 7,6 | 441 | 3,0 |
| | TS | 4,10 | 0,00 | 2,57 | 0,06 | 112 | 2,6 | 442 | 6,9 | 446 | 5,6 |
| A18, UB | GS | 5,87 | 0,06 | 7,63 | 0,21 | 160 | 2,3 | 648 | 2,6 | 192 | 2,9 |
| | TS | 5,90 | 0,00 | 8,30 | 0,43 | 166 | 4,7 | 636 | 6,0 | 199 | 6,4 |

Tabelle A - 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 3, Schwermetalle, Königswasseraufschluss (in mg/kg TS, GS: Gesamtsiebung, TS: Teilsiebung)

| Böden | | Cadmium | | Chrom | | Kupfer | | Nickel | | Blei | |
|-----------------|----|------------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| | | Mittelwert | Stdabw. |
| Düben, OB | GS | 0,065 | 0,007 | 5,08 | 0,22 | 7,06 | 0,28 | 2,51 | 0,06 | 41,57 | 1,18 |
| | TS | 0,059 | 0,004 | 5,12 | 0,16 | 6,86 | 0,23 | 2,50 | 0,02 | 40,27 | 1,76 |
| Düben, UB | GS | 0,015 | 0,000 | 6,05 | 0,13 | 2,98 | 1,94 | 3,36 | 0,46 | 15,88 | 0,26 |
| | TS | 0,015 | 0,000 | 5,91 | 0,24 | 1,66 | 0,38 | 3,59 | 0,38 | 15,49 | 1,19 |
| Leipzig, OB | GS | 0,756 | 0,026 | 44,07 | 0,62 | 69,90 | 0,64 | 28,47 | 0,29 | 110,31 | 2,12 |
| | TS | 0,773 | 0,033 | 44,43 | 0,57 | 70,32 | 1,48 | 29,09 | 0,44 | 116,95 | 7,85 |
| A17, OB | GS | 0,110 | 0,003 | 26,04 | 0,51 | 13,38 | 0,37 | 17,57 | 0,37 | 18,55 | 0,66 |
| | TS | 0,104 | 0,004 | 25,99 | 0,95 | 13,32 | 0,17 | 17,69 | 0,72 | 17,81 | 0,17 |
| Klosterwald, UB | GS | 0,069 | 0,009 | 41,78 | 0,28 | 35,51 | 0,31 | 37,66 | 0,44 | 15,39 | 0,51 |
| | TS | 0,068 | 0,005 | 42,99 | 0,89 | 36,51 | 0,29 | 38,59 | 0,33 | 15,90 | 0,71 |
| A18, UB | GS | 0,104 | 0,005 | 29,54 | 0,60 | 15,20 | 0,12 | 20,81 | 0,53 | 16,17 | 0,85 |
| | TS | 0,111 | 0,002 | 28,03 | 0,16 | 15,05 | 0,26 | 20,02 | 0,05 | 16,49 | 0,22 |

Tabelle A - 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 3, Schwermetalle, Ammoniumnitrat-Extraktion (in µg/kg TS, GS: Gesamtsiebung, TS: Teilsiebung)

| Böden | | Cadmium | | Kupfer | | Nickel | | Blei | |
|-----------------|----|------------|---------|------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| | | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. |
| Düben, OB | GS | 42,0 | 2,0 | 107,7 | 6,5 | 368,3 | 10,6 | 1672 | 50,1 |
| | TS | 38,3 | 1,5 | 105,0 | 12,1 | 368,3 | 10,6 | 1517 | 75,9 |
| Düben, UB | GS | 6,0 | 0,0 | 20,7 | 1,2 | 88,7 | 1,2 | 2595 | 41,4 |
| | TS | 6,0 | 0,0 | 21,0 | 7,0 | 106,7 | 30,0 | 2609 | 50,6 |
| Leipzig, OB | GS | 35,7 | 10,2 | 368,3 | 24,1 | 206,3 | 16,0 | 53,0 | 30,0 |
| | TS | 28,0 | 0,0 | 353,0 | 7,0 | 193,0 | 4,3 | 28,0 | 1,7 |
| A17, OB | GS | 6,3 | 0,6 | 65,7 | 5,8 | 61,3 | 5,8 | 0,3 | 0,6 |
| | TS | 6,3 | 0,6 | 65,7 | 7,0 | 62,7 | 7,3 | 1,7 | 2,1 |
| Klosterwald, UB | GS | 41,7 | 1,2 | 565,7 | 15,8 | 3195 | 23,3 | 1307 | 69,9 |
| | TS | 40,7 | 0,6 | 578,3 | 93,1 | 3215 | 153,0 | 1313 | 213,9 |
| A18, UB | GS | 6,0 | 0,0 | 33,3 | 3,2 | 71,3 | 11,9 | 7,0 | 9,5 |
| | TS | 6,0 | 0,0 | 34,0 | 1,0 | 59,7 | 1,5 | 1,0 | 0,0 |

Tabelle A - 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 3, CKW, (in µg/kg TS, GS: Gesamtsiebung, TS: Teilsiebung)

| | | Düben, OB | | Leipzig, OB | | A17, OB | | A18, UB | |
|------------------|----|------------|---------|-------------|---------|------------|---------|------------|---------|
| | | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. | Mittelwert | Stdabw. |
| Pentachlorphenol | GS | 5,17 | 0,32 | | | 2,83 | 1,12 | | |
| | TS | 5,23 | 0,25 | | | 4,77 | 2,26 | | |
| Hexachlorbenzol | GS | 2,53 | 1,05 | 2,33 | 0,32 | 3,50 | 0,82 | 2,77 | 0,31 |
| | TS | 3,20 | 0,61 | 2,03 | 0,21 | 3,77 | 0,45 | 3,13 | 0,25 |
| PCB 138 | GS | 0,85 | 0,13 | 0,82 | 0,16 | | | | |
| | TS | 0,97 | 0,29 | 0,80 | 0,03 | | | | |
| PCB 153 | GS | 0,88 | 0,45 | 0,80 | 0,18 | | | | |
| | TS | 1,07 | 0,29 | 0,74 | 0,05 | | | | |
| α-HCH | GS | 8,87 | 4,09 | | | | | | |
| | TS | 10,27 | 0,60 | | | | | | |
| β-HCH | GS | 18,83 | 3,10 | | | | | | |
| | TS | 18,13 | 1,61 | | | | | | |
| γ-HCH | GS | 4,22 | 1,70 | | | | | | |
| | TS | 5,19 | 0,17 | | | | | | |
| δ-HCH | GS | 1,32 | 0,03 | | | | | | |
| | TS | 1,17 | 0,07 | | | | | | |
| op'-DDD | GS | 2,02 | 0,82 | | | | | | |
| | TS | 2,66 | 1,25 | | | | | | |
| pp'-DDD | GS | 10,85 | 6,81 | 7,82 | 3,63 | | | | |
| | TS | 12,21 | 5,30 | 5,62 | 0,31 | | | | |
| op'-DDT | GS | 13,23 | 2,00 | 8,84 | 2,17 | | | | |
| | TS | 14,67 | 2,00 | 7,83 | 0,37 | | | | |
| pp'-DDT | GS | 50,07 | 3,74 | 58,21 | 14,86 | 6,55 | 2,37 | 3,10 | 0,47 |
| | TS | 56,33 | 10,84 | 44,02 | 1,10 | 5,03 | 1,42 | 3,60 | 0,45 |
| pp'-DDE | GS | 12,88 | 1,44 | 46,83 | 0,90 | 3,59 | 0,21 | 2,93 | 0,17 |
| | TS | 10,59 | 0,48 | 45,60 | 4,55 | 3,70 | 0,15 | 3,35 | 0,20 |

Tabelle A - 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 3, PAK, (in µg/kg TS, GS: Gesamtsiebung, TS: Teilsiebung)

| | | Düben, OB | | Düben, UB | | Leipzig, OB | | A17, OB | | Klosterwald, UB | | A18, UB | |
|---------------------------------|----|------------|--------|------------|--------|-------------|--------|------------|--------|-----------------|--------|------------|--------|
| | | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw |
| Phenathren | GS | 617,3 | 16,2 | | | 498,1 | 17,1 | 5,51 | 2,11 | | | 5,77 | 1,40 |
| | TS | 609,3 | 21,6 | | | 501,7 | 14,9 | 6,37 | 3,50 | | | 6,90 | 1,41 |
| Anthracen | GS | 32,73 | 5,78 | | | 80,88 | 1,61 | | | | | 1,61 | 0,17 |
| | TS | 39,58 | 12,89 | | | 82,47 | 4,80 | | | | | 1,79 | 0,59 |
| Fluoranthren | GS | 520,3 | 61,2 | | | 719,4 | 5,5 | 10,31 | 0,96 | | | 10,44 | 1,19 |
| | TS | 545,3 | 10,6 | | | 732,4 | 23,5 | 13,57 | 4,07 | | | 12,60 | 4,19 |
| Pyren | GS | 263,5 | 20,7 | | | 487,5 | 9,7 | 7,79 | 0,95 | 1,32 | 0,37 | 8,65 | 1,11 |
| | TS | 271,8 | 5,0 | | | 485,9 | 7,3 | 10,42 | 3,50 | 2,92 | 1,27 | 10,32 | 4,19 |
| Benzo(b)naphto 2,1d thiophen | GS | 7,04 | 1,18 | | | 9,13 | 0,77 | | | | | | |
| | TS | 7,18 | 0,27 | | | 11,01 | 0,17 | | | | | | |
| Benzo(c) phenanthren | GS | 29,80 | 2,55 | | | 52,70 | 2,79 | 0,64 | 0,08 | | | 0,44 | 0,83 |
| | TS | 27,86 | 3,72 | | | 54,20 | 1,76 | 1,13 | 0,35 | | | 0,71 | 0,09 |
| Benzo(a)anthracen | GS | 83,73 | 7,71 | | | 310,9 | 8,86 | 3,34 | 0,60 | | | 6,21 | 1,45 |
| | TS | 75,22 | 5,33 | | | 313,78 | 12,22 | 6,14 | 3,61 | | | 6,39 | 1,31 |
| Chrysen-Triphenylen | GS | 344,3 | 12,39 | | | 533,7 | 8,35 | 9,76 | 0,94 | 1,00 | 0,14 | 12,11 | 1,56 |
| | TS | 328,3 | 10,78 | | | 567,2 | 7,36 | 13,98 | 5,53 | 1,30 | 0,48 | 13,36 | 2,59 |
| Benzo(ghi)fluoranthren | GS | 65,81 | 3,48 | | | 74,34 | 3,18 | 1,17 | 0,10 | | | 0,93 | 0,18 |
| | TS | 61,81 | 0,87 | | | 78,45 | 1,42 | 1,75 | 1,04 | | | 1,12 | 0,42 |
| Benzo(bjk)fluoranthren | GS | 409,7 | 2,73 | | | 850,0 | 24,20 | 16,82 | 0,80 | 1,60 | 0,35 | 20,94 | 1,47 |
| | TS | 388,1 | 9,43 | | | 848,5 | 13,28 | 23,80 | 10,56 | 1,42 | 0,19 | 20,82 | 3,25 |
| Benzo(e)pyren | GS | 91,25 | 4,17 | 0,61 | 0,08 | 318,9 | 7,91 | 6,84 | 0,47 | 1,72 | 0,50 | 11,43 | 0,73 |
| | TS | 87,21 | 0,52 | 0,48 | 0,25 | 327,3 | 6,77 | 8,46 | 5,21 | 1,96 | 0,13 | 8,42 | 1,38 |
| Benzo(a)pyren | GS | 27,85 | 2,02 | | | 341,6 | 9,01 | 5,04 | 0,67 | | | 8,36 | 1,29 |
| | TS | 34,51 | 3,36 | | | 330,9 | 11,16 | 8,12 | 4,33 | | | 7,73 | 1,35 |

Tabelle A - 9: (Fortsetzung) Mittelwerte und Standardabweichungen der Varianten bei AP 3, PAK, (in µg/kg TS, GS: Gesamtsiebung, TS: Teilsiebung)

| | | Düben, OB | | Düben, UB | | Leipzig, OB | | A17, OB | | Klosterwald, UB | | A18, UB | |
|-----------------------|----|------------|--------|------------|--------|-------------|--------|------------|--------|-----------------|--------|------------|--------|
| | | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw | Mittelwert | Stdabw |
| Indeno 1,2,3-cd pyren | GS | 97,05 | 3,16 | | | 307,6 | 7,40 | 6,53 | 0,71 | 0,54 | 0,22 | 7,71 | 0,67 |
| | TS | 90,93 | 1,12 | | | 293,9 | 7,35 | 7,99 | 2,84 | 0,49 | 0,09 | 7,29 | 1,36 |
| Benzo(ghi)perylen | GS | 88,24 | 2,77 | | | 369,4 | 9,57 | 6,55 | 0,85 | 0,63 | 0,16 | 9,64 | 1,46 |
| | TS | 88,80 | 1,05 | | | 367,5 | 21,86 | 8,44 | 2,76 | 0,64 | 0,07 | 9,37 | 2,28 |
| Anthanthren | GS | 6,53 | 0,20 | | | 61,88 | 2,38 | | | | | | |
| | TS | 5,38 | 1,98 | | | 53,61 | 7,30 | | | | | | |
| Dibenz(ah)anthracen | GS | 25,20 | 2,63 | | | 92,60 | 1,14 | 1,75 | 0,18 | | | 3,31 | 0,84 |
| | TS | 28,75 | 2,70 | | | 87,58 | 3,38 | 2,13 | 1,41 | | | 2,62 | 0,24 |
| Coronen | GS | 56,21 | 3,46 | | | 112,7 | 3,93 | 3,98 | 0,76 | | | 4,90 | 0,42 |
| | TS | 54,12 | 2,33 | | | 108,0 | 0,63 | 3,70 | 0,35 | | | 4,37 | 1,16 |

Tabelle A - 10: DOC-Gehalt, pH und elektrische Leitfähigkeit in den Eluaten der Varianten bei AP 5b (DOC in mg/L, Leitfähigkeit in $\mu\text{S}/\text{cm}$; tr: 10 % WHK, feu: 60 % WHK, Varianten (Var): 1: Lagerung bei 4 °C für 2 Wochen, 2: Einfrieren und Lagern bei -18 °C für 2 Wochen, 3: Einfrieren bei -18 °C und Überführung in Nlin bei -196 °C für 2 Wochen, 4: Einfrieren und Lagern bei -196 °C in Nlin)

| Var | DOC | | pH | | Leitfähigkeit | | |
|-----------------|-----|-------|-------|-----|---------------|-------|-------|
| | tr | feu | tr | feu | tr | feu | |
| Düben, OB | 1 | 148,5 | 122,4 | 4,2 | 5,0 | 115,5 | 103,8 |
| | 2 | 141,9 | 138,0 | 4,3 | 5,0 | 109,9 | 135,4 |
| | 3 | 140,6 | 134,2 | 4,1 | 5,0 | 112,6 | 119,4 |
| | 4 | 152,6 | 169,0 | 4,0 | 4,6 | 115,9 | 126,3 |
| Düben, UB | 1 | 45,7 | 32,1 | 4,9 | 5,1 | 45,7 | 28,9 |
| | 2 | 44,8 | 31,4 | 5,1 | 4,9 | 43,8 | 32,1 |
| | 3 | 43,7 | 23,0 | 5,0 | 4,4 | 42,2 | 34,5 |
| | 4 | 48,4 | 30,4 | 4,8 | 4,9 | 45,9 | 29,8 |
| Leipzig, OB | 1 | 59,6 | 23,6 | 8,6 | 8,5 | 175,7 | 182,9 |
| | 2 | 66,4 | 30,3 | 8,6 | 8,4 | 176,4 | 192,5 |
| | 3 | 67,2 | 32,4 | 8,7 | 8,7 | 165,8 | 152,3 |
| | 4 | 66,2 | 35,7 | 8,9 | 8,6 | 164,9 | 146,5 |
| A17, OB | 1 | 23,3 | 8,0 | | | | |
| | 2 | 20,5 | 9,5 | | | | |
| | 3 | 17,2 | 8,7 | | | | |
| | 4 | 17,6 | | | | | |
| Klosterwald, OB | 1 | 3,3 | 11,3 | | | | |
| | 2 | 3,8 | 9,3 | | | | |
| | 3 | 3,2 | 10,2 | | | | |
| | 4 | 3,3 | 11,2 | | | | |
| A18, UB | 1 | 11,3 | 6,1 | | | | |
| | 2 | 8,9 | 8,5 | | | | |
| | 3 | 8,3 | 6,9 | | | | |
| | 4 | 8,9 | 9,4 | | | | |

Tabelle A - 11: *Kupfer- und Zink-Konzentrationen in den Eluaten der Varianten bei AP 5b (Cu, Zn in µg/L; tr: 10 % WHK, feu: 60 % WHK, Varianten: 1: Lagerung bei 4 °C für 2 Wochen, 2: Einfrieren und Lagern bei -18 °C für 2 Wochen, 3: Einfrieren bei -18 °C und Überführung in Nlin bei -196 °C für 2 Wochen, 4: Einfrieren und Lagern bei -196 °C in Nlin)*

| | Var | Kupfer | | Zink | |
|-----------------|-----|--------|-----|------|------------|
| | | tr | feu | tr | feu |
| Düben, OB | 1 | 107 | 50 | 305 | 612 |
| | 2 | 87 | 66 | 200 | 893 |
| | 3 | 102 | 64 | 160 | 580 |
| | 4 | 90 | 64 | 169 | 472 |
| Düben, UB | 1 | 94 | 45 | 118 | 157 |
| | 2 | 99 | 60 | 114 | 145 |
| | 3 | 93 | 51 | 165 | 39 |
| | 4 | 102 | 53 | 121 | 133 |
| Leipzig, OB | 1 | 82 | 42 | 33 | 190 |
| | 2 | 85 | 49 | 114 | 498 |
| | 3 | 91 | 48 | 260 | 204 |
| | 4 | 95 | 51 | 121 | 193 |
| A17, OB | 1 | 29 | 21 | 60 | 175 |
| | 2 | 52 | 28 | 19 | 12 |
| | 3 | 16 | 25 | 6 | 14 |
| | 4 | 18 | | 6 | |
| Klosterwald, OB | 1 | 14 | 15 | 11 | 12 |
| | 2 | 14 | 14 | 14 | 9 |
| | 3 | 14 | 14 | 10 | 8 |
| | 4 | 15 | 15 | 10 | 10 |
| A18, UB | 1 | 15 | 16 | 4 | 6 |
| | 2 | 16 | 20 | 3 | 124 |
| | 3 | 15 | 15 | 4 | 1 |
| | 4 | 16 | 16 | 3 | 8 |

Fett markierte Werte wurden als Ausreisser (nach Dixon) ermittelt und bei den statistischen Berechnungen nicht berücksichtigt

Tabelle A - 12: *K-, Ca- und Mg-Konzentrationen in den Eluaten der Varianten bei AP 5b (K, Ca, Mg in mg/L; tr: 10 % WHK, feu: 60 % WHK, Varianten (Var): 1: Lagerung bei 4 °C für 2 Wochen, 2: Einfrieren und Lagern bei -18 °C für 2 Wochen, 3: Einfrieren bei -18 °C und Überführung in Nlin bei -196 °C für 2 Wochen, 4: Einfrieren und Lagern bei -196 °C in Nlin)*

| | Var | Kalium | | Calcium | | Magnesium | |
|-------------|-----|--------|------|---------|-------|-----------|------|
| | | tr | feu | tr | feu | tr | feu |
| Düben, OB | 1 | 5,09 | 2,24 | 5,90 | 4,46 | 0,56 | 0,32 |
| | 2 | 4,83 | 3,66 | 4,98 | 4,17 | 0,52 | 0,32 |
| | 3 | 5,14 | 3,17 | 4,95 | 4,40 | 0,46 | 0,34 |
| | 4 | 5,82 | 3,75 | 5,50 | 4,11 | 0,60 | 0,27 |
| Düben, UB | 1 | 0,78 | 0,33 | 3,79 | 2,38 | 0,15 | 0,08 |
| | 2 | 0,40 | 0,74 | 3,49 | 1,15 | 0,14 | |
| | 3 | 0,67 | 0,46 | 4,59 | 2,03 | 0,18 | 0,01 |
| | 4 | 0,76 | | 3,93 | 2,47 | 0,16 | 0,12 |
| Leipzig, OB | 1 | 1,00 | | 34,19 | 25,21 | 3,41 | 2,08 |
| | 2 | 0,68 | | 35,87 | 27,58 | 3,83 | 2,26 |
| | 3 | 0,94 | | 34,99 | 22,60 | 3,46 | 2,03 |
| | 4 | 0,81 | | 34,66 | 25,02 | 2,32 | 2,69 |

Tabelle A - 13: Sulfat-, Nitrat-, Chlorid- und PO₄-P-Konzentrationen der Varianten bei AP 5b (Angaben in mg/L; tr: 10 % WHK, feu: 60 % WHK, Varianten: 1: Lagerung bei 4 °C für 2 Wochen, 2: Einfrieren und Lagern bei -18 °C für 2 Wochen, 3: Einfrieren bei -18 °C und Überführung in Nlin bei -196 °C für 2 Wochen, 4: Einfrieren und Lagern bei -196 °C in Nlin)

| Var | Sulfat | | Nitrat | | Chlorid | | PO ₄ -P | | |
|-----------------|--------|-------|--------|-------|---------|-------|--------------------|------|------|
| | tr | feu | tr | feu | tr | feu | tr | feu | |
| Düben, OB | 1 | 10,12 | 4,36 | 0,46 | | 10,01 | 0,96 | 0,47 | 0,22 |
| | 2 | 8,82 | 11,69 | | 0,50 | 3,45 | 4,49 | 0,44 | 0,24 |
| | 3 | 4,53 | 10,57 | | 0,38 | 1,65 | 3,38 | 0,41 | 0,34 |
| | 4 | 6,75 | 12,72 | 0,37 | 0,42 | 2,12 | 4,07 | 0,48 | 0,46 |
| Düben, UB | 1 | 3,32 | 2,96 | 0,38 | | 0,37 | 0,20 | 0,03 | 0,04 |
| | 2 | 3,17 | 3,39 | 0,33 | | 0,27 | 0,28 | 0,02 | 0,05 |
| | 3 | 3,57 | 2,86 | 0,37 | 0,333 | 0,32 | 0,23 | 0,03 | 0,04 |
| | 4 | 3,32 | 2,98 | 0,35 | | 0,39 | 0,27 | 0,02 | 0,03 |
| Leipzig, OB | 1 | 4,90 | 4,08 | 6,76 | 18,41 | 0,33 | 0,28 | 0,16 | 0,05 |
| | 2 | 4,83 | 6,64 | 6,53 | 18,31 | 0,35 | 0,63 | 0,20 | 0,04 |
| | 3 | 4,93 | 5,67 | 3,94 | 7,20 | 0,43 | 0,65 | 0,18 | 0,11 |
| | 4 | 4,31 | 2,47 | 4,35 | 4,11 | 0,36 | 0,08 | 0,17 | 0,09 |
| A17, OB | 1 | 2,07 | 2,18 | 6,57 | 17,31 | 1,24 | 1,07 | | |
| | 2 | 2,59 | 3,08 | 19,33 | 22,17 | 2,22 | 2,02 | | |
| | 3 | 0,73 | 1,42 | 1,81 | 7,03 | 0,09 | 0,68 | | |
| | 4 | 1,18 | | 6,36 | | 0,57 | | | |
| Klosterwald, OB | 1 | 15,49 | 15,06 | 3,38 | 3,23 | 0,32 | 0,21 | | |
| | 2 | 10,39 | 15,02 | 1,97 | 3,16 | 0,13 | 0,21 | | |
| | 3 | 10,32 | 15,23 | 1,89 | 3,14 | 0,11 | 0,22 | | |
| | 4 | 13,79 | 13,98 | 2,79 | 2,95 | 0,24 | 0,19 | | |
| A18, UB | 1 | 1,91 | 1,63 | 7,90 | 8,83 | 0,33 | 0,41 | | |
| | 2 | 1,98 | 3,52 | 13,23 | 8,20 | 0,62 | 0,90 | | |
| | 3 | 2,24 | 1,70 | 14,42 | 8,96 | 0,69 | 0,38 | | |
| | 4 | 2,08 | 1,67 | 13,22 | 10,09 | 0,64 | 0,45 | | |

Tabelle A - 14: Boden „Kiel“ klein

| | | | | |
|---|----|-------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|
| a | - | Kontrolle | | |
| b | B2 | Einfrieren –18 °C, | Kurzzeitlagerung –18 °C | langsames Auftauen |
| c | C1 | Einfrieren –18 °C | Kurzzeitlagerung flüssiger N ₂ | schnelles Auftauen |
| d | C4 | Einfrieren –18 °C | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |
| e | D1 | Einfrieren fl. N ₂ | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | schnelles Auftauen |
| f | D4 | Einfrieren fl. N ₂ | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |

Tabelle A - 15: Boden „Kiel“ groß

| | | | | |
|---|----|-------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|
| a | - | Kontrolle | | |
| b | B2 | Einfrieren –18 °C, | Kurzzeitlagerung –18 °C | langsames Auftauen |
| c | B4 | Einfrieren –18 °C, | Langzeitlagerung –18 °C | langsames Auftauen |
| d | C4 | Einfrieren –18 °C | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |
| e | | nicht auswertbar | | |
| f | D4 | Einfrieren fl. N ₂ | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |

Tabelle A - 16: Boden „Scheyern“ klein

| | | | | |
|---|----|-------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|
| a | - | Kontrolle | | |
| b | B1 | Einfrieren –18 °C, | Kurzzeitlagerung –18 °C | schnelles Auftauen |
| c | C2 | Einfrieren –18 °C | Kurzzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |
| d | C4 | Einfrieren –18 °C | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |
| e | D1 | Einfrieren fl. N ₂ | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | schnelles Auftauen |
| f | D4 | Einfrieren fl. N ₂ | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |

Tabelle A - 17: Boden „Scheyern“ groß

| | | | | |
|---|----|-------------------------------|-------------------------------------------|--------------------|
| a | - | Kontrolle | | |
| b | B4 | Einfrieren –18 °C, | Langzeitlagerung –18 °C | langsames Auftauen |
| c | C1 | Einfrieren –18 °C | Kurzzeitlagerung flüssiger N ₂ | schnelles Auftauen |
| d | C3 | Einfrieren –18 °C | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |
| e | D1 | Einfrieren fl. N ₂ | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | schnelles Auftauen |
| f | D4 | Einfrieren fl. N ₂ | Langzeitlagerung flüssiger N ₂ | langsames Auftauen |

Tabelle A - 18: Mittelwerte und Standardabweichungen bei AP 4, Basisparameter und Schwermetalle (Corg, Sand/Schluff/Ton in g/kg TS, Schwermetalle KW-Extrakt in mg/kg TS, Schwermetalle im NH₄NO₃-Extrakt in µg/kg TS)

| | Leipzig | | Dübener Heide | | Großpalmberg II | |
|------------------------------------|------------|-----------|---------------|-----------|-----------------|-----------|
| | Mittelwert | Standabw. | Mittelwert | Standabw. | Mittelwert | Standabw. |
| pH | 5,37 | 0,048 | 3,57 | 0,048 | 3,02 | 0,042 |
| Corg | 40,4 | 0,70 | 22,1 | 2,1 | 57,4 | 4,0 |
| Sand | 190 | 4,6 | 778 | 7,4 | 44,3 | 4,9 |
| Schluff | 467 | 10,6 | 195 | 13,2 | 433 | 5,8 |
| Ton | 343 | 9,1 | 25 | 6,8 | 125 | 3,9 |
| Cr-KW | 44,4 | 1,17 | 5,3 | 0,19 | 17,5 | 0,46 |
| Cu-KW | 53,0 | 0,90 | 2,9 | 0,12 | 6,1 | 0,19 |
| Ni-KW | 35,1 | 0,84 | 3,2 | 0,24 | 10,0 | 0,61 |
| Pb-KW | 83,4 | 2,17 | 24,7 | 0,90 | 24,1 | 0,76 |
| Zn-KW | 194,4 | 5,02 | 15,4 | 0,75 | 25,0 | 1,07 |
| Cd-NH ₄ NO ₃ | 24 | 1 | 31 | 2 | 26 | 1 |
| Co-NH ₄ NO ₃ | 25 | 2 | 81 | 3 | 246 | 6 |
| Cr-NH ₄ NO ₃ | | | 13 | 1 | 65 | 2 |
| Cu-NH ₄ NO ₃ | 62 | 3 | 28 | 4 | 53 | 1 |
| Ni-NH ₄ NO ₃ | 192 | 6 | 234 | 12 | 560 | 9 |
| Pb-NH ₄ NO ₃ | 30 | 1 | 1384 | 39 | 2359 | 65 |

Tabelle A - 19: Mittelwerte und Standardabweichungen bei AP 4, CKW und PAK (in µg/kg TS)

| | Leipzig | | Dübener Heide | | Großpalmberg II | |
|------------------------------|------------|-----------|---------------|-----------|-----------------|-----------|
| | Mittelwert | Standabw. | Mittelwert | Standabw. | Mittelwert | Standabw. |
| α-HCH | | | 2,23 | 0,281 | | |
| β-HCH | | | 1,74 | 0,136 | 0,61 | 0,080 |
| γ-HCH | 0,63 | 0,37 | | | | |
| p,p'-DDT | 23,6 | 3,32 | 6,65 | 1,393 | 5,73 | 1,103 |
| p,p'-DDE | 38,5 | 2,51 | 4,12 | 0,293 | 1,96 | 0,100 |
| Dieldrin | | | | | 0,58 | 0,045 |
| Pentachlorbenzol | 0,80 | 0,075 | 0,33 | 0,029 | 1,82 | 0,104 |
| Hexachlorbenzol | 2,19 | 0,105 | 0,80 | 0,065 | | |
| PCB-101 | | | | | 0,55 | 0,014 |
| PCB-153 | 1,26 | 0,146 | | | 1,36 | 0,174 |
| PCB-138 | 1,83 | 0,110 | | | 1,62 | 0,155 |
| PCB-180 | 0,81 | 0,073 | | | 0,76 | 0,049 |
| Phenathren | 363 | 47,2 | 148 | 7,8 | 43 | 2,5 |
| Anthracen | 43 | 9,0 | 8 | 0,9 | 8 | 0,8 |
| Fluoranthren | 563 | 96,1 | 132 | 7,3 | 100 | 2,5 |
| Pyren | 385 | 75,5 | 64 | 3,3 | 65 | 1,8 |
| Benzo(b)naphto 2,1d thiophen | 41 | 9,5 | 10 | 0,5 | 11 | 0,3 |
| Benzo(c) phenanthren | 24 | 4,9 | 7 | 0,6 | 9 | 0,7 |
| Benzo(a)anthracen | 183 | 45,6 | 19 | 1,2 | 29 | 0,8 |
| Chrysen-Triphenylen | 372 | 72,3 | 80 | 4,3 | 112 | 3,0 |
| Benzo(ghi)fluoranthren | 44 | 5,2 | 19 | 1,4 | 13 | 1,6 |
| Benzo(bjk)fluoranthren | 413 | 26,6 | 108 | 6,2 | 202 | 4,8 |
| Benzo(e)pyren | 161 | 20,6 | 29 | 1,8 | 62 | 1,6 |
| Benzo(a)pyren | 154 | 9,5 | 11 | 0,7 | 35 | 1,3 |
| Indeno 1,2,3-cd pyren | 62 | 3,6 | 27 | 1,5 | 49 | 1,8 |
| Benzo(ghi)perylen | 112 | 22,0 | 26 | 1,4 | 49 | 1,3 |
| Anthanthren | 17 | 4,5 | 1,6 | 0,2 | 5 | 0,9 |
| Dibenz(ah)anthracen | 25 | 4,1 | 7,4 | 1,0 | 18 | 1,1 |
| Coronen | 31 | 5,2 | 16 | 1,5 | 22 | 1,3 |

9.2. Abbildungen

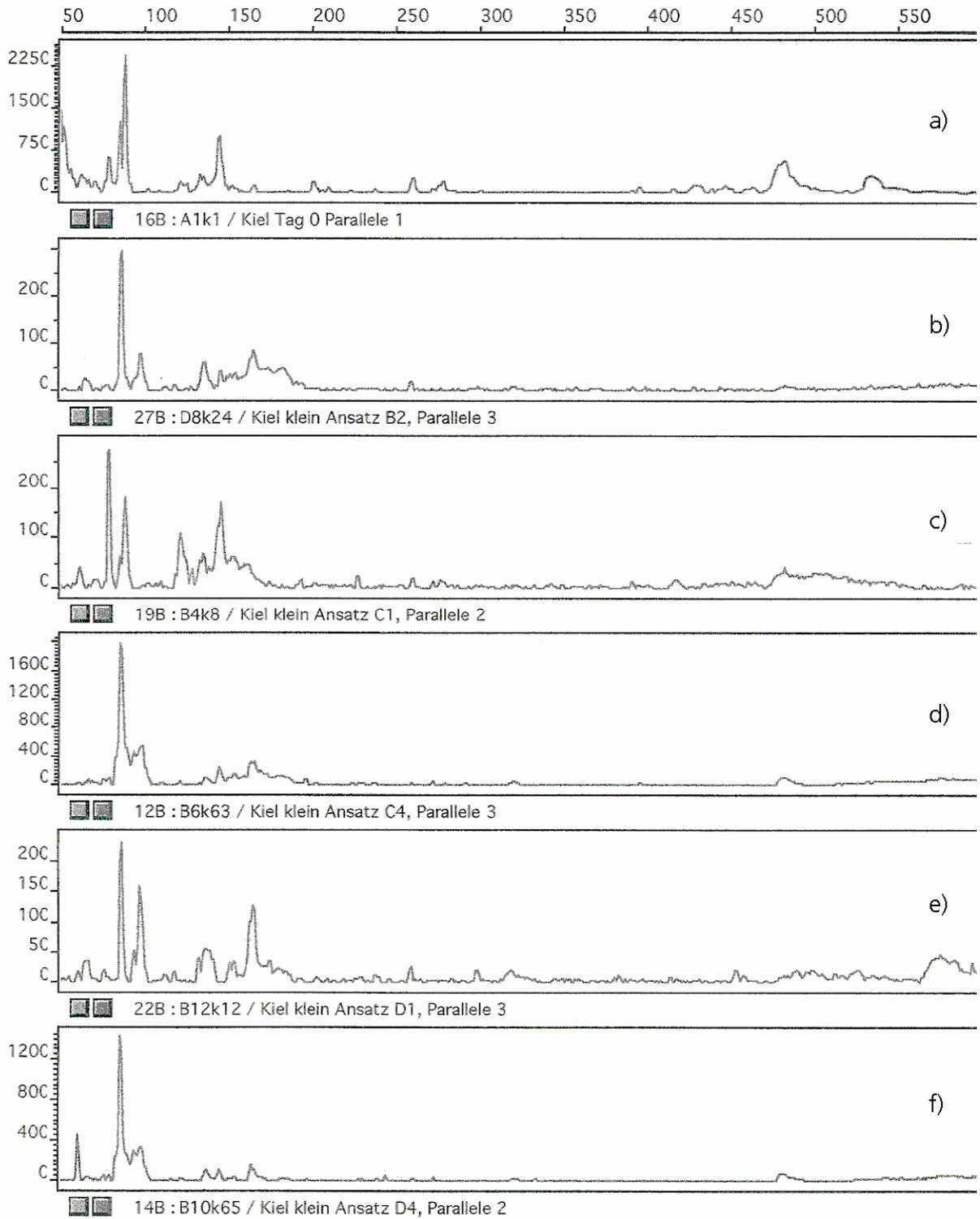


Abbildung A - 1:

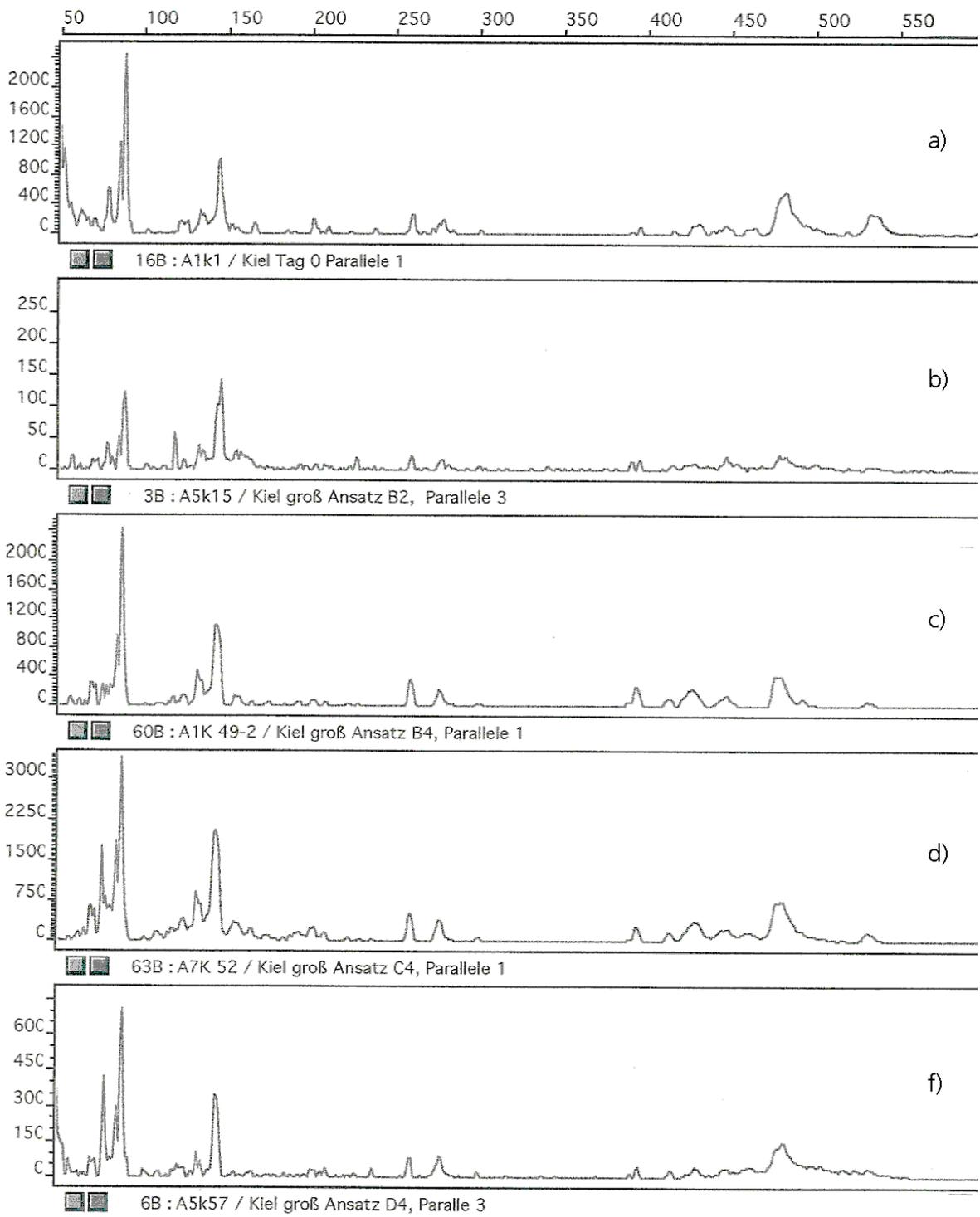


Abbildung A - 2:

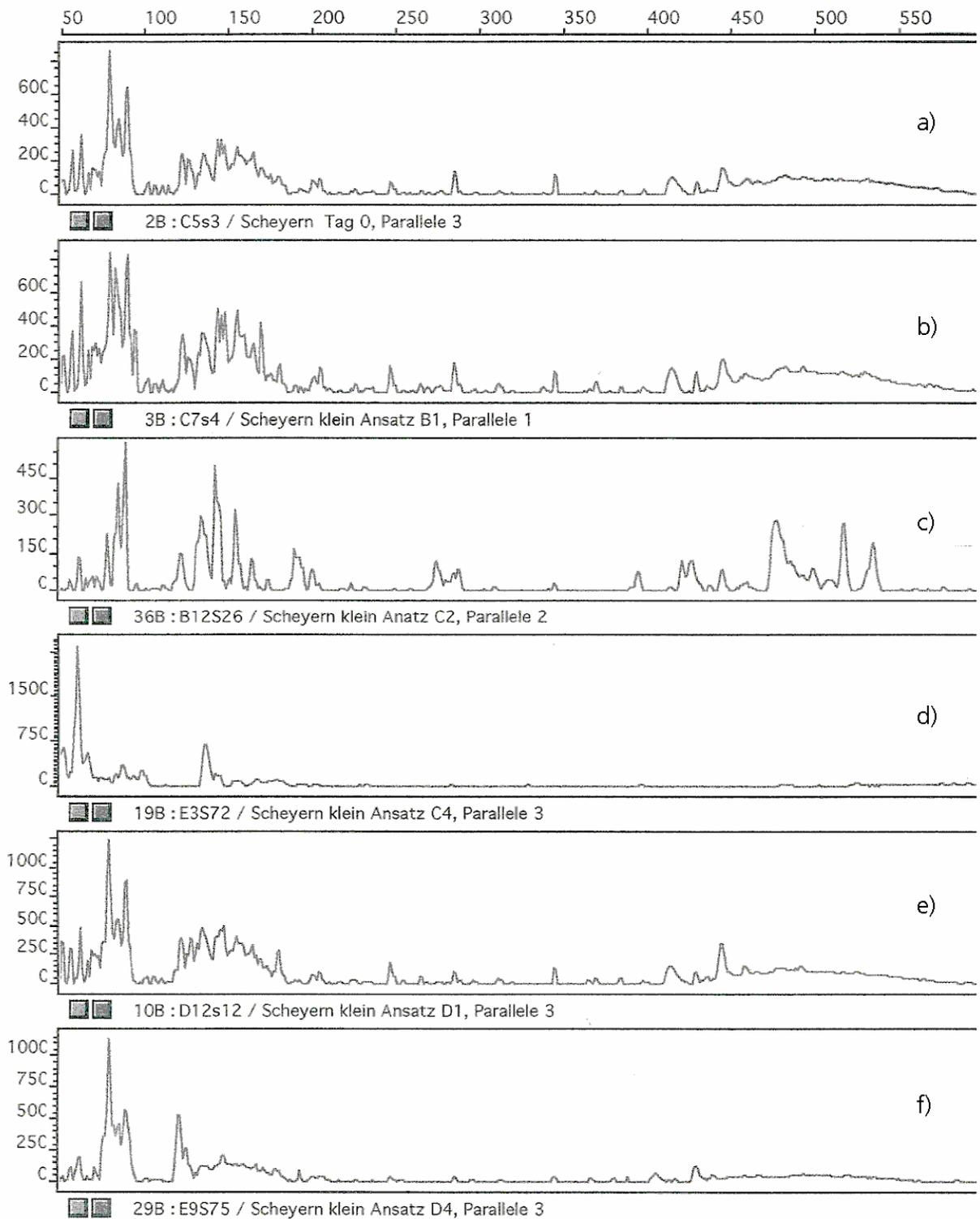


Abbildung A - 3:

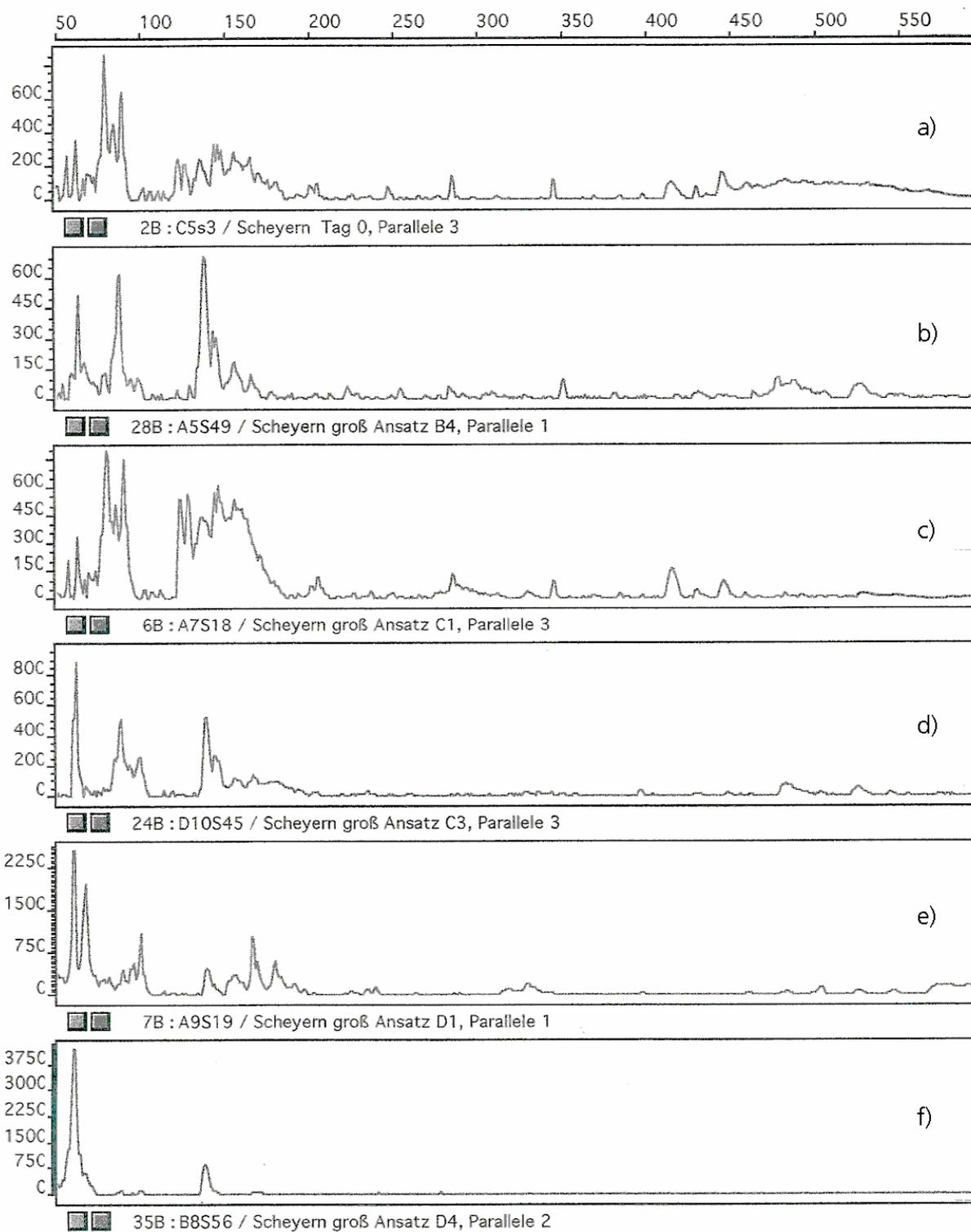


Abbildung A - 4:

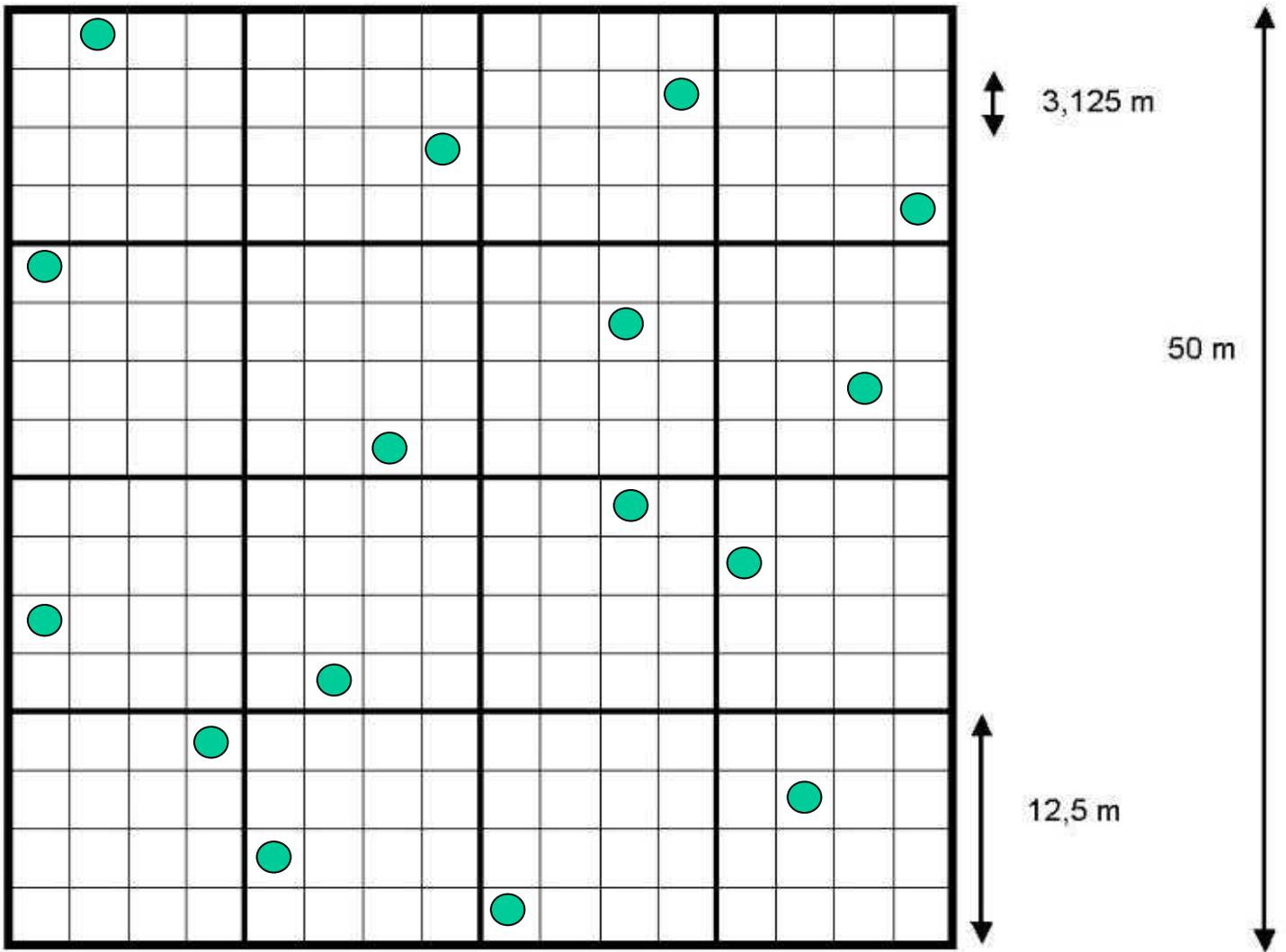


Abbildung A - 5: neues Beprobungsschema