

Abschlussbericht zum Projekt

**Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang
der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter
Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen
TRANS-LARA (Verbundprojekt)**

Gefördert durch das
Bundesministerium für Bildung und Forschung
Förderkennzeichen: **02 NUK 051A**

Förderzeitraum: 01.09.2017 – 31.08.2020
verlängert bis: 28.02.2021



Institut für Radioökologie und Strahlenschutz / Leibniz Universität
Hannover (Prof. Dr. C. Walther)

Projektleiterin: Dr. B. Riebe
Bearbeiter/innen: MSc Annika Wunnenberg
MSc Marcus Mandel
MSc Simon Pottgießer

Institut für Zellbiologie und Biophysik, Abt. Zellphysiologie und
Biophysik / Leibniz Universität Hannover (Prof. Dr. A. Ngezahayo)

Bearbeiterin: Dr. F. Ruhe

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Die diesem Bericht zu Grunde liegenden Arbeiten wurden im Auftrag des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF), vertreten durch den Projektträger Forschungszentrum Karlsruhe, Wassertechnologie und Entsorgung (PTKA-WTE), durchgeführt. Die Verantwortung für den Inhalt liegt jedoch allein bei den Autoren.

Der Eigentümer behält sich alle Rechte an der weiteren Nutzung oder Vervielfältigung des Berichts vor.

Der Bericht gibt die Auffassung und Meinung des Auftragnehmers wieder und muss nicht mit der Meinung des Auftraggebers übereinstimmen.

Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN	2. Berichtsart Abschlussbericht
3a. Titel des Berichts Transport- und Transferverhalten langlebiger Radionuklide entlang der kausalen Kette Grundwasser-Boden-Oberfläche-Pflanze unter Berücksichtigung langfristiger klimatischer Veränderungen - TRANS-LARA	
3b. Titel der Publikation	
4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname(n)) Riebe, Beate; Annika Wunnenberg; Marcus Mandel; Simon Pottgießer	5. Abschlussdatum des Vorhabens 28. Februar 2021
4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname(n))	6. Veröffentlichungsdatum
	7. Form der Publikation
8. Durchführende Institution(en) (Name, Adresse) Leibniz Universität Hannover Institut für Radioökologie und Strahlenschutz Herrenhäuser Str. 2 D – 30419 Hannover	9. Ber.Nr. Durchführende Institution
	10. Förderkennzeichen 02 NUK 051A
	11a. Seitenzahl Bericht 93
	11b. Seitenzahl Publikation
13. Fördernde Institution (Name, Adresse) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53107 Bonn	12. Literaturangaben 107
	14. Tabellen 27
	15. Abbildungen 59
16. Zusätzliche Angaben	
17. Vorgelegt bei (Titel, Ort, Datum)	
18. Kurzfassung Das Verbundprojekt Tans-LARA hatte zum Ziel, unter Einbeziehung klimatischer Veränderungen ein tieferes Verständnis der komplexen Mechanismen des Radionuklidtransports aus der Grundwasserzone über den Boden in die Pflanzen zu erreichen, und damit zu einer verbesserten Risikoabschätzung für die Exposition der Bevölkerung über lange Zeiträume zu führen. Neben Säulenversuchen, sowie Lysimeterversuchen mit in-situ-Messung von pH und Redoxpotential wurde die Aufnahme der Radionuklide ¹²⁵ I, ⁹⁹ Tc, Americium und Plutonium in die Pflanze in Abhängigkeit von deren Speziation und den Bodeneigenschaften bestimmt. Transferfaktoren für die Aufnahme der Nuklide über den Wurzelpfad wurden für vier Nutzpflanzenarten in vier unterschiedlichen Referenzböden aus Deutschland experimentell ermittelt. Für das bessere Verständnis des Transferverhaltens von Iod und Technetium innerhalb der Pflanze wurden Erbsen und Karotten mit orts aufgelösten massenspektrometrischen Methoden (SIMS und rL-SNMS) untersucht und die Radionuklide auf zellulärer Ebene detektiert. Zusätzlich wurde gezeigt, dass pflanzliche Metabolitransporter in der Lage sind, Radionuklide zu transportieren. Als Modellorganismus für die Expression einzelner Ionentransporter dienten die Oozyten des Frosches <i>Xenopus laevis</i> .	
19. Schlagwörter ¹²⁹ I, ⁹⁹ Tc, Plutonium, Americium, Migration, RefeSol, Lysimeter, Wurzelpfad, rl-SNMS	
20. Verlag	21. Preis

Document Control Sheet

1. ISBN or ISSN	2. type of document (e.g. report, publication) Final Report
3. title Transport and Transfer Behavior of Long-lived Radionuclides along the Pathway Groundwater - Soil - Surface - Plant in Consideration of Long-term Climatic Changes - TRANS-LARA	
4. author(s) (family name, first name(s)) Riebe, Beate; Annika Wunnenberg; Marcus Mandel; Simon Pottgießer	5. end of project 28 February 2021
	6. publication date
	7. form of publication
8. performing organization(s) (name, address) Leibniz Universität Hannover Institut für Radioökologie und Strahlenschutz Herrenhäuser Str. 2 D – 30419 Hannover	9. originator's report no.
	10. reference no. 02 NUK 051A
	11. no. of pages 93
12. sponsoring agency (name, address) Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) 53170 Bonn	13. no. of references 107
	14. no. of tables 27
	15. no. of figures 59
16. supplementary notes	
17. presented at (title, place, date)	
18. abstract In view of the long-term safety of a final repository for nuclear waste, potential release, migration to the far-field and accumulation of radionuclides have to be taken into account. The project Tans-LARA aimed at achieving a deeper understanding of the complex mechanisms of radionuclide transport from the groundwater and the vadose zone to agricultural crops, and thus to an improved risk assessment regarding long-term exposure of the general public. In addition to column experiments and lysimeter experiments with in-situ measurement of pH and redox potential, the uptake of the radionuclides ¹²⁵ I, ⁹⁹ Tc, americium and plutonium into the plant was determined depending on their speciation and the soil properties. Transfer factors for the uptake of nuclides via the root path were determined experimentally for four crop species in four different reference soils from Germany. To elucidate uptake mechanisms and transfer behavior of iodine and technetium within the plant, peas and carrots were investigated with spatially resolved mass-spectrometric methods (SIMS and rL-SNMS), detecting the radionuclides at the cellular level. In addition, it was shown that plant metabolite transporters are able to transport radionuclides. As a model organism for the expression of individual ion transporters, the oocytes of the frog <i>Xenopus laevis</i> were used.	
19. keywords ¹²⁹ I, ⁹⁹ Tc, plutonium, americium, migration, RefeSol, lysimeter, root pathway, rL-SNMS	
20. publisher	21. price

I. Teil 1 – Kurzbeschreibung	3
I.1. Aufgabenstellung	3
I.2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	3
I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens	4
I.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde.....	5
I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen	6
I.6. Literatur zu Teil I	6
II. Teil 2 - Eingehende Darstellung der Ergebnisse	8
II.1. Erzielte Ergebnisse	8
II.1.1. Auswahl der Radionuklide, Böden und Pflanzen, Probenvorbereitung und -messung	8
II.1.1.1. Untersuchte Radionuklide	8
II.1.1.2. Untersuchte Böden	10
II.1.1.3. Untersuchte Pflanzen.....	12
II.1.2. Sorption und Migration der Radionuklide im Boden	14
II.1.2.1. Batchversuche.....	14
II.1.2.2. Durchlaufsäulen	23
II.1.2.3. Langzeitversuche in Lysimetern.....	31
II.1.3. Aufnahme von Radionukliden in die Pflanze.....	39
II.1.3.1. Gefäßversuche	39
II.1.3.2. Kryokonservierungsmethoden und orts aufgelöste Massenspektrometrie	46
II.1.4. Beitrag von pflanzlichen Ionentransportern zur Aufnahme der langlebigen Radionuklide	50
II.1.4.1. Klonierung von Metabolitransportern	50
II.1.4.2. Expressionskontrolle pflanzlicher Metabolitransporter in Oozyten	51
II.1.4.3. Elektrophysiologische Charakterisierung des Ionentransportes.....	52
II.1.4.4. Aufnahme von Radionukliden in Oozyten	57
II.1.5. Literatur zu Teil II	64
II.2. Positionen des zahlenmäßigen Nachweises.....	70
II.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit.....	70
II.4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	71
II.5. Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen.....	71
II.6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses	72
Anhang.....	74
Tabellen und Abbildungen	74

I. Teil 1 – Kurzbeschreibung

I.1. Aufgabenstellung

Für Langzeitsicherheitsnachweise potentieller Endlager gehen die gängigen radioökologischen Modelle in Störfallszenarien von einem Radionuklideintrag in die Biosphäre über den Wasserpfad aus. Neben dem Weg über Niederschlag und Bewässerung ist besonders der Eintrag über kapillaren Aufstieg aus dem oberflächennahen Grundwasser in die durchwurzelte Zone landwirtschaftlich genutzter Böden interessant.

Das vom BMBF für dreieinhalb Jahre (01.09.2017 – 28.02.2021) geförderte Verbundprojekt Trans-LARA hatte zum Ziel, unter Einbeziehung klimatischer Veränderungen ein tieferes Verständnis der komplexen Mechanismen des Radionuklidtransports aus der Grundwasserzone über den Boden in die Pflanzen zu erreichen, und damit zu einer verbesserten Risikoabschätzung für die Exposition der Bevölkerung über lange Zeiträume zu führen.

Als wesentliche Schritte wurden hierbei die enge Verzahnung experimenteller Arbeiten mit Modellierung und die Aufklärung der Aufnahmemechanismen der Radionuklide in Nutzpflanzen auf molekularer Ebene gesehen, ein Konzept, das eine über bisherige Transferfaktoren weit hinausgehende Aussagekraft erlauben sollte.

Der vorliegende Bericht bezieht sich auf das Teilprojekt 02NUK051A, in dem die Aufnahme der langlebigen Radionuklide ^{129}I , ^{99}Tc , sowie Am und Pu in die Pflanze in Abhängigkeit von deren Speziation und den Bodeneigenschaften untersucht werden sollte. Dazu war geplant, Transferfaktoren für die Aufnahme der Nuklide über den Wurzelpfad für vier Nutzpflanzenarten in vier unterschiedlichen Böden experimentell zu bestimmen und anschließend eine Dosisabschätzung für den Anbau dieser Pflanzen auf kontaminierten Flächen zu berechnen. Zusätzlich wurden Säulen- und Extraktionsversuche konzipiert, um eine Veränderung der Speziation der aufgegebenen Tracer im Kontakt mit der Bodenmatrix zu ermitteln.

Zur Aufklärung des Beitrags von pflanzlichen Ionentransportern zur Aufnahme der langlebigen Radionuklide sollten zum einen bereits vorhandene pflanzliche Cation-Cl-Cotransporter (CCC), Schwermetall-ATPasen und Sulfattransporter für die Experimente eingesetzt werden, zum anderen war vorgesehen, mit Hilfe von Oozyten des südafrikanischen Krallenfrosches (*Xenopus laevis*) als heterologes Expressionssystem parallel neue Kandidaten zu klonieren und zu analysieren.

I.2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die in dem Projekt untersuchten Spaltprodukte und Actiniden erfordern wegen ihrer langen Halbwertszeiten bzw. ihrer Radiotoxizität eine entsprechende Infrastruktur (Kontrollbereich, Messinstrumente, Expertise für radiochemische Trennung). Für die Aufbereitung der Proben bzw. die Entwicklung spezieller Aufbereitungs- und Messverfahren für einige der Radionuklide wurde die technische Ausstattung des Isotopenlabors am IRS genutzt. Dabei konnte für die

Bearbeitung einiger Aufgaben auf Erfahrungen aus bisherigen Arbeiten zurückgegriffen werden. Eine bereits vorhandene, begehbare Klimakammer außerhalb des Kontrollbereichs und zwei Klimaschränke im Kontrollbereich standen für die Anzucht und Kultur der Pflanzen für die Gefäßversuche zur Verfügung. Eine Lysimeter-Anlage, bestehend aus vier Lysimetern mit Messsonden und entsprechenden Ausleseeinheiten wurde aus eigenen Mitteln angeschafft.

Die molekularbiologischen Arbeiten zu den Pflanzentransportern, wie Klonieren und RNA-Synthese, wurden in den am IfB (Inst. f. Zellbiologie und Biophysik / Abt. Zellphysiologie und Biophysik) schon vorhandenen S1-Laboren durchgeführt. Die in Frage kommenden Transporter wurden aus Modellpflanzen isoliert und in Expressionsvektoren für Oozyten kloniert. Geeignete Vektoren sowie das benötigte Klonierungssystem (Gateway-Klonierung) waren bereits vorhanden und etabliert. Die Frösche (*Xenopus laevis*) als Lieferant von Oozyten, sowie das RNA-Injektionssystem und elektrophysiologische Messsystem waren ebenfalls bereits vorhanden. Für die Untersuchung der Aufnahme von Radionukliden in den Oozyten wurde die Expertise und Gerätschaften (LSC/MS, TRLFS) des IRS und des HZDR genutzt.

I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Planung und Durchführung der Untersuchungen gliederten sich ursprünglich in die folgenden Arbeitspakete aus dem Projektantrag:

AP 1: Bodencharakterisierung, Tracer-Herstellung, Einfluss des Bodens auf Radionuklidspeziation

AP 2: Säulenversuche; Radioanalytik

AP 3: Pflanzenanzucht, Bestimmung von Transferfaktoren für verschiedene Radionuklide

AP 4: Klonierung von Transportern, Expression und Transportmessung in Oozyten, Analyse der Wirkung von Wurzelexsudaten

AP 5: Analyse und Auswertung

Die Aufgaben aus AP 2 wurden im Verlauf des Projekts wesentlich erweitert. Zusätzlich zu den Säulenversuchen konnten Langzeit-Experimente in Lysimetern gemacht werden, die die in-situ-Messung von pH und Redoxpotential, sowie des Matrixpotentials erlaubten.

AP 3 wurde ebenfalls entscheidend ergänzt, und zwar durch Untersuchungen des Transports von Iod und Technetium in der Pflanze auf zellulärer Ebene mittels orts aufgelöster Massenspektrometrie.

In der Endphase des Projekts im Frühjahr 2020 gab es infolge der Corona-Pandemie eine mehrmonatige Unterbrechung der Laborarbeiten, weil der Zutritt zu sämtliche Laboren der Leibniz Universität Hannover untersagt war. Einige der Versuche mussten abgebrochen werden. Dank einer Verlängerung/Aufstockung des Projekts seitens des BMBF konnten die Arbeiten jedoch nachgeholt und bis zum 28.02.2021 fertiggestellt werden.

I.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Lagerung von radioaktiven Abfällen in tiefen geologischen Formationen ist eine in vielen Ländern vorgesehene Form der Endlagerung. Auf Einzelheiten zu Forschungsaktivitäten zur Endlagerproblematik kann hier aus Platzgründen nicht näher eingegangen werden. Ergebnisse dieser Aktivitäten bilden die wissenschaftliche Grundlage für die Formulierung von Langzeitsicherheitsnachweisen. Am weitesten entwickelt sind die schwedischen und finnischen Bemühungen [SKB 2011; POSIVA 2012]. In Schweden wird die Bewilligung des Antrags zur Konstruktion eines Endlagers für wärmeentwickelnde radioaktive Abfälle in der Nähe der mittelschwedischen Stadt Forsmark für die frühen 2020er Jahre erwartet. Weitere interdisziplinäre Forschungsansätze, zu denen es ausführliche Dokumentationen gibt, stammen aus Frankreich [ANDRA 2017], Kanada, [NWMO 2017], Großbritannien [DECC 2014, 2015] und den USA [NUREG 2016].

Die Expositionsabschätzung für die Errichtung und den Betrieb von Anlagen, aus denen möglicherweise Radioaktivität in die Umwelt freigesetzt werden können, beruht in Deutschland derzeit noch auf der Strahlenschutzverordnung [StrSchV 2018] und der allgemeinen Verwaltungsvorschrift zu § 47 StrlSchV [AVV 2012]. Im Rahmen von radioökologischen Dosisabschätzungen wird häufig die Berechnungsgrundlage Bergbau [BfS 2010] herangezogen. Wesentliche Einflussfaktoren für die potentielle Exposition des Menschen in einer Biosphäre, für die ein Risiko durch potentielle Kontamination durch Radionuklide aus dem Endlager besteht, werden bislang nicht oder mit zu stark vereinfachenden Ansätzen berücksichtigt. Dazu gehören (a) zu erwartende Änderungen des Klimas, (b) die Speziation und Migration von Radionukliden im Boden und (c) die empirische Beschreibung der Aufnahme von Radionukliden aus dem Boden in Nutzpflanzen mit Transferfaktoren. In der Literatur existiert eine Fülle experimenteller Daten zu Verteilung und Speziation verschiedener Elemente bzw. Nuklide in landwirtschaftlich genutzten Böden. Nicht alle Verbindungen bzw. Prozesse, die für die Pflanzenverfügbarkeit bestimmter Elemente wichtig sind und damit ihren Weg in die Nahrungskette beeinflussen, sind dabei gleichermaßen gut untersucht. In Referenzbiosphärenmodellen [BIOMASS 2003], die der Abschätzung der menschlichen Strahlungsexposition dienen, werden für den Übergang Boden-Pflanze zumeist die von der IAEA tabellierten [IAEA 2009; IAEA 2010] Verteilungskoeffizienten (K_d -Werte) benutzt, die für grobe Bodeneinteilungen (Sand, Lehm, Ton, organische Böden) empirisch bestimmt wurden und große Schwankungsbereiche aufweisen, da sie teilweise sehr stark von den spezifischen Bodenparametern abhängen.

Die anthropogene Verbreitung von Actiniden in der Umwelt führte zu Belastungen in diversen Ökosystemen. Dort wachsende Pflanzen haben verschiedene Adaptationsmechanismen entwickelt. Bisher wurde diese Anpassung vorrangig als Akkumulationsprozess in der Pflanze summarisch durch Transferfaktoren charakterisiert [Vandenhove et al. 2007]. Nun müssen diese Prozesse in detaillierte Teilschritte aufgegliedert werden, z.B. in Vorgänge in der Rhizosphäre. Pflanzen nehmen essentielle Metalle wie Eisen über ihre Wurzeln aus dem Boden auf. Der limitierende Faktor dabei ist zumeist deren schlechte Bioverfügbarkeit, so dass Pflanzen effektive Strategien zur Verbesserung der Löslichkeit der Metalle im Porenwasser, zur Komplexbildung mit Wurzelexsudaten und somit zur verbesserten Aufnahme in die Wurzel entwickelt haben. Beispielsweise ist die Ausscheidung von Flavinen [Susin et al. 1993] bzw.

Flavonoiden (zusammengefasst bei Cesco et al. [Cesco et al. 2010]) ein Bestandteil verschiedener Mechanismen von Pflanzen bei Eisenmangelsituationen.

Diese Verbindungen können durch ihre komplexbildenden und redoxaktiven Eigenschaften jedoch auch toxische Schwermetalle wie Uran besser oder schlechter bioverfügbar machen. Nach dem derzeitigen Wissensstand (*Zeitpunkt der Antragstellung*) ist die pflanzliche Exkretion von Flavinen und Flavonoiden nach Uran-Kontakt bisher nicht charakterisiert worden. Weiterhin können diese Wurzelexsudate mikrobielle Besiedelungen der Rhizosphäre induzieren, welche massiv die Speziation und Aufnahme von Metallen beeinflussen [Narula et al. 2009]. Die wichtigste Strategie zur Eisenaufnahme, die alle zweikeimblättrigen Pflanzen benutzen, ist die Reduktion des schwerlöslichen Fe(III) zu löslichem Fe(II) mittels einer Eisen-chelatisierenden Reduktase, welche an der Plasmamembran der Wurzelendodermis lokalisiert ist [Römheld und Marschner 1986; Robison et al. 1999]. Literaturstudien ergaben kontroverse Debatten über die Fähigkeit dieser Reduktase, andere divalente Metalle, z.B. Kupfer, zu reduzieren [Welch et al. 1993] und über die Relevanz dieser möglichen Reduktion für terrestrische Systeme [Holden et al. 1995].

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Für die Umsetzung der Arbeitsziele war eine enge Zusammenarbeit der Verbundprojektpartner über die ganze Projektlaufzeit erforderlich. Für den Abgleich der ineinandergreifenden Arbeiten und Zwischenergebnisse wurden halbjährliche Treffen mit allen Partnern, sowie Treffen in kleineren Gruppen und Telefonkonferenzen durchgeführt.

Darüber hinaus wurden die Arbeiten im Projekt mit Erfahrungen zu den verwendeten RefeSol-Böden durch Herrn Karlheinz Weinfurter (IME / Fraunhofer Institut) unterstützt, sowie durch Herrn Dr. Stefan Wessel-Bothe (Fa. ecoTech, Bonn) in Bezug auf die Umsetzung der Lysimeter-Versuche im Labor.

I.6. Literatur zu Teil I

- ANDRA (2017): Activity Report 2016. French National Radioactive Waste Management Agency.
- AVV (2012): Allgemeine Verwaltungsvorschrift zu § 47 der Strahlenschutzverordnung: (Ermittlung Strahlenexposition durch die Ableitung radioaktiver Stoffe aus Anlagen oder Einrichtungen). Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit.
- BIOMASS (2003): "Reference Biospheres" for solid radioactive waste disposal. Report of BIOMASS Theme 1 of the BIOSphere Modelling and ASSESSment (BIOMASS) Programme, IAEA-BIOMASS-6, Vienna, 560 p.
- BfS (2010): Berechnungsgrundlagen zur Ermittlung der Strahlenexposition infolge bergbaubedingter Umweltradioaktivität: Berechnungsgrundlage Bergbau. BfS-SW-07/10.
- Cesco, S., Neumann, G., Tomasi, N., Pinton, R. & Weisskopf, L. (2010): Release of plant-borne flavonoids into the rhizosphere and their role in plant nutrition. *Plant and Soil* **329**(1-2), 1–25. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-0266-9>

- DECC (2013): Managing Radioactive Waste Safely: Implementing Geological Disposal: Annual Report April 2012 - March 2013. Department of Energy & Climate Change.
- DECC (2015): Implementing Geological Disposal: Annual Report: April 2014 - March 2015. Department of Energy & Climate Change.
- Holden, M. J., Crimmins Jr., T. J. & Chaney, R. L. (1995): Cu²⁺ Reduction by Tomato Root Plasma Membrane Vesicles. *Plant Physiol.* **108**, 1093–1098.
- IAEA (2009): Quantification of Radionuclide Transfer in Terrestrial and Freshwater Environments for Radiological Assessments. IAEA-TECDOC-1616. International Atomic Energy Agency.
- IAEA (2010): Handbook of parameter values for the prediction of radionuclide transfer in terrestrial and freshwater environments. TRS 472. International Atomic Energy Agency.
- Narula, N., Kothe, E. & Behl, R. K. (2009): Role of root exudates in plant-microbe interactions. *J. Appl. Bot. Food Qual.* **82**, 122–130.
- NWMO (2017): Postclosure Safety Assessment of a Used Fuel Repository in Crystalline Rock. NWMO TR-2017-02. Nuclear Waste Management Organization.
- POSIVA (2012): Safety Case for the Disposal of Spent Nuclear Fuel at Olkiluoto - Synthesis 2012. POSIVA 2012-12. Posiva Oy.
- Robinson, N. J., Procter, C. M., Connolly, E. L. & Guerinot, M. L. (1999): A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature* **397**, 694–697.
- Römheld, V. & Marschner, H. (1986): Evidence for a Specific Uptake System for Iron Phytosiderophores in Roots of Grasses. *Plant Physiol.* **80**, 175–180.
- SKB (2011): Long-term safety for the final repository for spent nuclear fuel at Forsmark - Main report of the SR-Site project - Volume I, II, III. Technical Report TR-11-01. Svensk Kärnbränslehantering AB.
- StrSchV (2018): Verordnung zum Schutz vor der schädlichen Wirkung ionisierender Strahlung: (Strahlenschutzverordnung - StrlSchV). Strahlenschutzverordnung vom 29. November 2018 (BGBl. I S. 2034, 2036).
- Susín, S., Abián, J., Sánchez-Baeza, F., Peleato, M. L., Abadía, A., Gelpí, E. & Abadía, J. (1993): Riboflavin 3'- and 5'-sulfate, two novel flavins accumulating in the roots of iron-deficient sugar beet (*Beta vulgaris*). *Journal of Biological Chemistry* **268**(28), 20958–20965. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)36879-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)36879-6)
- USNRC (2016): NUREG-2184 Final Report "Supplement to the U.S. Department of Energy's Environmental Impact Statement for a Geologic Repository for the Disposal of Spent Nuclear Fuel and High-Level Radioactive Waste at Yucca Mountain, Nye County, Nevada": Final Report. NUREG-2184. U.S. Nuclear Regulatory Commission.
- Vandenhove, H., Antunes, K., Wannijn, J., Duquène, L. & van Hees, M. (2007). Method of diffusive gradients in thin films (DGT) compared with other soil testing methods to predict uranium phytoavailability. *Sci. Tot. Environ.* **373**(2-3), 542–555. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.12.023>
- Welch, R. M., Norvell, W. A., Schaefer, S. C., Shaff, J. E. & Kochian, Leon V. (1993). Induction of iron(III) and copper(II) reduction in pea (*Pisum sativum* L.) roots by Fe and Cu status: Does the root-cell plasmalemma Fe(III)-chelate reductase perform a general role in regulating cation uptake? *Planta* **190**, 555–561.

II. Teil 2 - Eingehende Darstellung der Ergebnisse

II.1. Erzielte Ergebnisse

Die hier dargestellten Ergebnisse geben eine Gesamtübersicht über die in diesem Teilprojekt von Trans-LARA im Institut für Radioökologie und Strahlenschutz (IRS) und im Institut für Zellbiologie und Biophysik, Abt. Zellphysiologie und Biophysik (IfB) durchgeführten Arbeiten. Sie sind das Resultat von Experimenten, die im Rahmen mehrerer Abschlussarbeiten durchgeführt wurden (Liste der Arbeiten unter II.6.). Methodische Einzelheiten und ausführliche Diskussionen von Einzelergebnissen können dort eingesehen werden. Abschlussarbeiten, die im IRS angefertigt wurden, können unter folgendem Link abgerufen werden:

<https://www.irs.uni-hannover.de/de/forschung/publikationen/>

II.1.1. Auswahl der Radionuklide, Böden und Pflanzen, Probenvorbereitung und -messung

II.1.1.1. Untersuchte Radionuklide

Während zu den Radioisotopen Cs und Sr bereits umfangreiche Daten zu Migration im Boden und Aufnahme in Pflanzen vorliegen [z.B. IAEA 2009; IAEA 2010; Burger und Lichtscheidl 2018], gibt es wesentlich weniger Daten für Nuklide von redoxsensitiven Elementen [Robertson et al. 2003]. In diesem Arbeitspaket wurden Iod, Technetium, Plutonium und Americium für die Untersuchungen ausgewählt, zu denen noch keine umfangreichen Daten existieren.

Tracer und Messmethoden

Für die Iod-Tracerlösung wurde ^{125}I in Form von NaI verwendet. Anders als bei den Technetium-, Plutonium- und Americium-Tracern, deren Halbwertszeiten wesentlich länger sind, musste hier für die einzelnen Versuche jeweils frische Lösung beschafft werden. Alle Messergebnisse wurden auf den Zeitpunkt der Tracer-Zugabe zurückgerechnet. Zur Herstellung unterschiedlicher Iod-Konzentrationen wurde Kaliumiodid-Lösung als Träger verwendet. Tab. 1 gibt die eingesetzten Tracer und ihre Anwendung wieder.

Tab. 1: Eigenschaften verwendeter Tracer und deren Anwendungsbereiche.

Element	Nuklid	HWZ	chem. Form	Träger	Messmethode	Anwendung
Iod	^{125}I	59,4 d	NaI	10^{-5} mol/L KI	γ -Spektrometrie	alle Versuche
Technetium	^{99}Tc	$2,11 \cdot 10^5$ a	NH_4TcO_4	---	ICP-MS	alle Versuche
Plutonium	^{238}Pu	87,7 a	$\text{Pu}(\text{NO}_3)_4$	---	α -Spektrometrie	Säulen; Lysimeter; Pflanzenexperimente
"	^{242}Pu	$3,75 \cdot 10^5$ a	$\text{Pu}(\text{NO}_3)_4$	---	ICP-MS	Batch; seq. Extraktion;
Americium	^{243}Am	7.370 a	AmCl_3	---	γ -Spektrometrie	alle Versuche

Probenvorbereitung

In Abhängigkeit von der jeweiligen Messmethode mussten die Proben unterschiedlich aufbereitet werden. Während die Messung von ^{125}I in Wasser-, Pflanzen- und Bodenproben auf dem Gamma-Detektor nur geringe Vorbereitungsschritte erforderten (zerkleinern, luft- bzw. gefrier-trocknen, homogenisieren), bzw. erlaubten, war die Probenaufbereitung für die übrigen Tracer wesentlich aufwändiger.

Für die Messung von Technetium mittels ICP-MS (iCAP Q mit ASX520; Thermo Fisher Scientific) war zur Vermeidung der Störung durch isobare Interferenzen ein Arbeitsschritt zur Matrixabtrennung erforderlich. Dazu wurden die Proben verascht, in einem Mikrowellenaufschluss-System (Mars 6, Fa. CEM, Kamp-Lintfort) aufgeschlossen und anschließend zur Trennung auf TEVA-Säulen (50-100 μm ; Fa. Triskem) gegeben.

Bodenproben für die Bestimmung von ^{243}Am wurden im Trockenschrank bei 105°C getrocknet und analog zu den ^{125}I -Proben in Petrischalen auf einem Gamma-Detektor (NaI; 0,1% TI-dotiert) vermessen. Die Pflanzenproben wurden nach der Ernte getrocknet, gewogen, verascht und im Mikrowellenaufschluss-System aufgeschlossen. Nach Filtrieren, Einengen und zweimaligem Waschen wurden die Proben auf Aktivkohlefilter überführt und ebenfalls in Petrischalen über Gammaskpektrometrie vermessen. Für die Bestimmung von ^{243}Am und ^{242}Pu in Lösungen (Batchversuche, sequentielle Extraktion) wurden eine ICP-MS-Messung durchgeführt.

Für die Bestimmung von ^{238}Pu in verschiedenen Probenmatrices mussten α -Präparate hergestellt werden, die eine besondere Probenaufbereitung erfordern. Da es bei der Messung durch die Überlappung der Peaks mit solchen von anderen α -Strahlern kommen kann, müssen diese zunächst sehr sorgfältig abgetrennt werden. Dies wird durch eine Festphasenextraktion mit Hilfe von TEVA-Säulen ('Tetra Valent Actinides'; Fa. Triskem) umgesetzt. Anschließend wird das Plutonium durch Anlegen einer Spannung als sehr dünne Oxidschicht auf einem Edelstahlplättchen aus der Lösung abgeschieden und in einem Alpha-Detektor (7200 Alpha Analyst; Fa. Canberra) vermessen.

II.1.1.2. Untersuchte Böden

Auswahl

Die Auswahl der Böden wurde unter der Maßgabe vorgenommen, dass sie folgende Kriterien erfüllen:

- Verbreitung: repräsentativ für Böden in Deutschland
- Verfügbarkeit: räumlich und zeitlich in ausreichenden Mengen vorhanden
- Eigenschaften: gute Charakterisierung bodenkundlicher Kenngrößen
- Eignung: sowohl für Säulenexperimente als auch für Gefäßversuche mit Pflanzen

Die Brauchbarkeit für Gefäßversuche mit Pflanzen ist dabei als relativ zu betrachten, da streng genommen Bodenmaterial ohne Zuschläge zu keinem Zeitpunkt als Topfsubstrat geeignet ist.

Da die Auswirkungen des klimatischen Wandels auf die Böden Berücksichtigung finden sollte, waren für die Experimente je zwei Böden vorgesehen, die den Ist-Zustand verkörpern sollten und weitere zwei sogenannte 'Soll-Böden' als Weiterentwicklung der 'Ist-Böden' unter anderen klimatischen Bedingungen (kalt-gemäßigtes/boreales Nadelwaldklima; warm-humides Klima; vergl. [BIOCLIM 2004]), jeweils mit Grundwasser- bzw. Stauwasser-Einfluss. Auch hier ergab sich eine gewisse Einschränkung durch die Machbarkeit (s.u.).

Die Wahl fiel auf die in einem vom Umweltbundesamt (UBA) finanzierten Projekt vom Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (IME) des Fraunhofer Instituts untersuchten RefeSols [Weinforther et al. 2005]. Dabei handelt es sich um 12 landwirtschaftlich genutzte Referenzböden, die eine Auswahl von in Deutschland besonders verbreiteten Bodentypen darstellen.



Abb. 1: Zwischenlagerung der RefeSol-Böden am IME in Schmallenberg.

Das Material wird vom IME auf repräsentativen Flächen aus dem Oberboden (0-30 cm) entnommen und bis zur Weitergabe auf dem Gelände in Schmallenberg in Stahl-Containern aufbewahrt und mit landwirtschaftlichen Kulturen bepflanzt (Abb. 1).

Im Einzelnen wurden RefeSol-01A, -02A, -03G, -04A ausgewählt, wobei 'A' für ackerbauliche Nutzung steht und 'G' einen Grünland-Standort bezeichnet. Tabelle 2 gibt die Bodentypen und einige Eigenschaften der ausgewählten Böden wieder.

Bodenanalysen

Die Bestimmung der bodenkundlichen Parameter erfolgte nach Trocknung bei 105°C Mörsern und Sieben auf 2 mm (--> Feinboden). Die Analysen wurden nach folgenden Vorschriften durchgeführt:

Bestimmung des pH-Wertes in 0,01 M CaCl₂-Lösung [DIN EN 15933]; Bestimmung der Partikelgrößenverteilung in Mineralböden durch Nasssiebung und Pipettanalyse [DIN ISO 11277]; Bestimmung von oxalat- und dithionitlöslichen Fe-/Al-/Mn-(hydr)oxiden gemäß DIN EN ISO 12782-2 und DIN EN ISO 12782-3; die effektive Kationenaustauschkapazität der Böden wurde mit der modifizierten Silberthioharnstoff-Methode (AgTU) nach Dohrmann [Dohrmann 2006] bestimmt; der Nachweis des enthaltenen organischen Kohlenstoffs (C_{org}) wurde mit einem CNS-Analysator (Fa. Elementar) vorgenommen; auf die zusätzliche Bestimmung des Carbonatgehaltes für Bodenproben mit pH >6,7 [DIN EN ISO 10693] konnte bei der Untersuchung der RefeSols verzichtet werden. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 aufgeführt, weitere Parameter befinden sich in Tab. A1 im Anhang.

Tab. 2: Eigenschaften der verwendeten Referenzböden (eigene Analysen Stand: Okt. 2018 – weitere Parameter in Tab. A1 im Anhang).

RefeSol	Bodentyp	Eigenschaften	Sand %	Schluff %	Ton %	pH CaCl ₂	Corg %	KAK _{eff} mmol _c /kg
01-A	Braunerde	schw. lehmiger Sand (Sl2), mittel sauer, sehr schwach humos	74,8	20,7	4,5	5,8	0,98	39,1
02-A	Pseudovergleyte Parabraunerde	mittel toniger Schluff (Ut3), schwach sauer, schw. humos	6,2	79,3	14,6	6,3	1,04	113,6
03-G	Braunerde	schluffiger Lehm (Lu), mittel sauer, mittel humos	26,8	52,6	20,5	5,9	4,22	132,3
04-A	Gley-Podsol	schwach schluffiger Sand (Su3), mittel sauer, mittel humos	83,8	10,6	5,6	5,3	2,93	45,6

RefeSol-04A wurde als Weiterentwicklung von RefeSol-01A in borealem Klima, und RefeSol-02A als Weiterentwicklung von RefeSol-03G unter feucht-warmen Bedingungen ausgewählt. Während bei der ersten Paarung die Korngrößenverteilung der Boden in etwa übereinstimmt und eine Entwicklung von einer Braunerde zu einem (Gley-)Podsol unter kühl-feuchten Bedingungen schlüssig erscheint, war dies bei der zweiten Paarung nicht im gleichen Maße der Fall. Das Ausgangsmaterial der zweiten Paarung unterscheidet sich sowohl im Sand- wie auch im Schluffgehalt deutlich. In der Reihe der zur Verfügung stehenden Böden war dies jedoch die

bestmögliche Wahl. Die Möglichkeit der Beschaffung und Charakterisierung von passenderem, alternativen Bodenmaterial, etwa aus Südosteuropa, musste wegen des hohen damit verbundenen Arbeitsaufwandes verworfen werden.

II.1.1.3. Untersuchte Pflanzen

Für die Auswahl der Pflanzen wurde vorausgesetzt, dass sie sich hinsichtlich der jeweils essbaren Anteile hinreichend unterscheiden, und dass sie sowohl in Bezug auf die Anbaumethode (Freiland), als auch in Bezug auf die Verzehrsgewohnheiten der Bevölkerung in Deutschland repräsentativ sein sollten.

Es wurden je zwei Kohlenhydratquellen und zwei Gemüsesorten ausgewählt, die diese Kriterien erfüllten. Tabelle 3 zeigt die Pro-Kopf-Verzehrmengen der Bevölkerung in Deutschland für die Jahre 2016/2017 für die kultivierten Pflanzen. Zwar werden andere Gemüsesorten z.T. in größeren Mengen verbraucht (Tomate: 27,9 kg/a; Gurke: 6,5 kg/a), allerdings findet hier der Anbau überwiegend unter Glas statt und unter Verwendung von Substraten, was für dieses Projekt keine Relevanz hatte. Ein weiterer Vorzug der in der Tabelle aufgeführten Pflanzen besteht darin, dass der essbare Anteil entweder in der vegetativen Phase gebildet wird (Karotte, Kartoffel) oder für die Ausbildung von Früchten keine Bestäubung durch Insekten erforderlich ist (Weizen, Erbse).

Tab. 3: Durchschnittliche Jahresverzehrsmengen (2017/2018) für die im Projekt verwendeten Pflanzen.

Pflanze	Verzehrmenge [kg]	Essbarer Anteil
Weizen*	70,9	Samen
Kartoffel	60	Sprossknolle
Möhre/Karotte	10,7	Pfahlwurzel
Erbse	1,3	Samen

*in kg Mehlwert; Weichweizenmehl (einschl. Grieß und Dunst); [Quelle: Statista 2018].

Die Aufzuchtbedingungen (Klimakammer, Topfkultur) der Pflanzen für die Experimente musste bei der Auswahl der Sorten ebenfalls berücksichtigt werden. Für die Karottenkultur wurde aus diesem Grund eine für Balkonkästen geeignete Sorte ausgewählt, die Erbsensorte gehört zum 'semi-leafless type', bei dem ein Teil der Blätter in Ranken umgewandelt ist, so dass die Pflanzen weniger Stützhilfe benötigen (Abb. 2). Bei der ausgewählten Weizensorte handelt es sich um sog. Wechselweizen, d.h. eine Winterweizensorte, die für die Ährenanlage nicht zwingend an eine Vernalisationsphase gebunden ist und deswegen auch wie Sommerweizen angebaut werden kann.



Abb. 2: Im Projekt verwendetes Saat- und Pflanzgut.

II.1.2. Sorption und Migration der Radionuklide im Boden

Zur Untersuchung der Sorptionsfähigkeit der Referenzböden dienten im ersten Schritt Batchversuche und die daraus resultierenden Verteilungskoeffizienten. Weiterhin wurden Migrationsexperimente in wassergesättigten Durchlaufsäulen für alle vier Referenzböden durchgeführt, sowie Langzeitversuche in teilgesättigten Lysimetern mit RefeSol-01A.

II.1.2.1. Batchversuche

Für die Batchversuche wurden jeweils 2 g RefeSol in 25 mL- bzw. 30 mL-Zentrifugenröhrchen eingewogen und mit 20 mL synthetischem Bodenwasser (für Iod: 10 mL 0,01 M CaCl₂-Lösung) versetzt (Zusammensetzung in Tab. A2 im Anhang). Die Tracer für die ausgewählten Radionuklide wurden in zunehmenden Konzentrationen zugesetzt. Zur Vereinheitlichung wurden einige Konzentrationen von ppb in mol L⁻¹ umgerechnet. Für Iod wurde zusätzlich Kaliumiodid in steigenden Konzentrationen als Träger zugegeben. Jedes Versuchsglied bestand aus drei Parallelproben. Die Ergebnisse können Abb. 3 bis 6 und Tabellen A4 bis A7 im Anhang entnommen werden. Sie werden jeweils als Verteilungskoeffizienten (K_d) angegeben, die folgendermaßen definiert sind:

$$K_d = \frac{\text{(Aktivitäts-)Konzentration im Boden [Bq kg}^{-1}\text{]}}{\text{(Aktivitäts-)Konzentration in der Lösung [Bq L}^{-1}\text{]}}$$

Die Versuche wurden im Rahmen verschiedener Abschlussarbeiten durchgeführt, die, je nach Fragestellung, leicht unterschiedliches Versuchsdesign aufwiesen. Zur Vereinheitlichung wurden teilweise einzelne Versuchsreihen unter geänderten Bedingungen wiederholt. Dies war jedoch aus Zeitgründen nicht durchgängig möglich, so dass sich die Versuche in Einzelheiten unterscheiden können. Eine Übersicht dazu findet sich in Tabelle A3 im Anhang.

Ergebnisse

Neben den konzentrationsabhängigen Batchexperimenten mit allen Radionukliden für die vier Referenzböden wurden für Iod und Plutonium zusätzlich zeitabhängige Versuche durchgeführt. Die Ergebnisse werden im Zusammenhang mit den Migrationsversuchen diskutiert (II.1.2.2.).

Iod

Iod wird, als Iodid zugegeben, über einen weiten Konzentrationsbereich (10⁻⁸ bis 10⁻⁴ mol L⁻¹) von allen vier RefeSol-Böden sorbiert (Abb. 3). Der Bereich, in dem die K_d -Werte liegen, reicht dabei von 0,43 ± 0,07 L kg⁻¹ (RefeSol-04A bei 10⁻⁴ mol L⁻¹ KI) bis 132,3 ± 83,3 L kg⁻¹ (RefeSol-02A bei 10⁻⁸ mol L⁻¹ KI). Abgesehen von RefeSol-02A ist generell eine für die einzelnen Referenzböden unterschiedlich ausgeprägte, konzentrationsabhängige Abnahme der Sorption zu beobachten. Wesentliche Unterschiede zwischen den Böden sind in den unteren drei Konzentrationsstufen wegen der relativ großen Unsicherheiten nicht klar erkennbar. Erst ab einer

KI-Konzentration von 10^{-5} mol L $^{-1}$ wird bei RefeSol-03G und -04A eine Abnahme der Sorptionskapazität deutlich, ab 10^{-4} mol L $^{-1}$ auch bei RefeSol-01A.

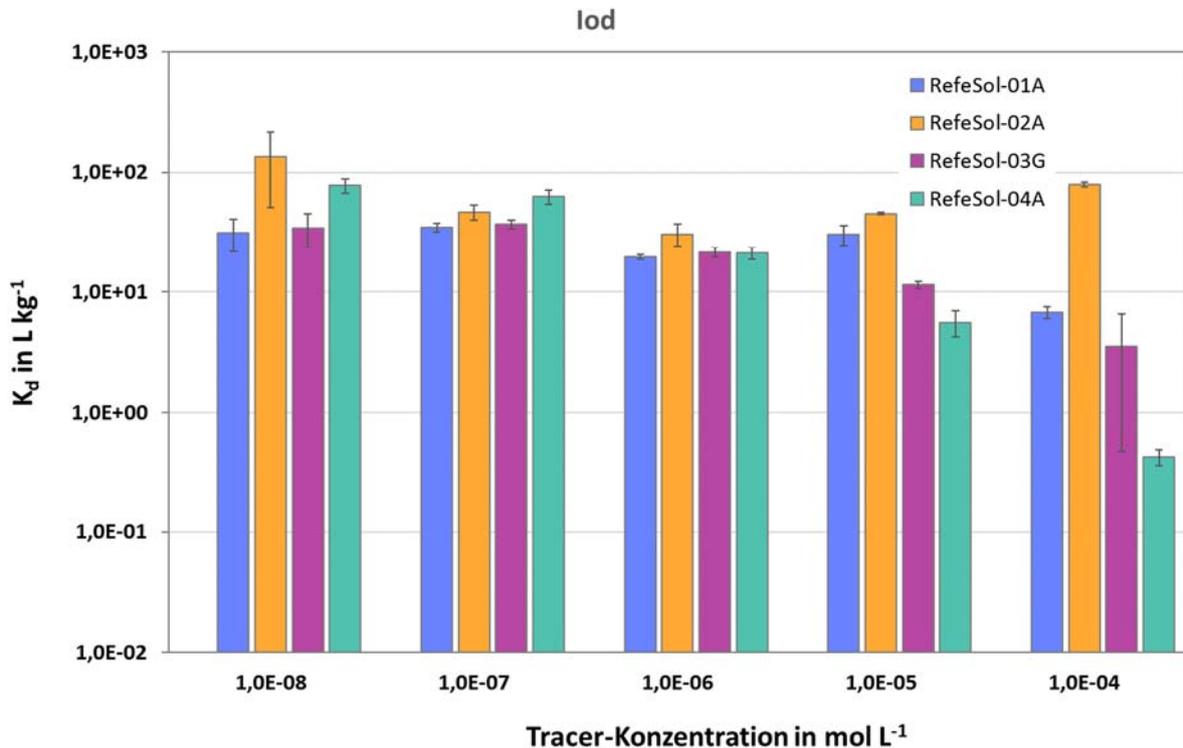


Abb. 3: Sorption von ^{125}I in Abhängigkeit von der Tracer-Konzentration für die vier Referenzböden.

Die Batchversuche mit Iod wurden über einen weiten Konzentrationsbereich von 10^{-4} bis 10^{-8} angelegt. Der natürlich Iodgehalt der RefeSol-Böden wurde in einer früheren Arbeit am IRS [Köhler et al. 2019] untersucht. Er lag für RefeSol-01A bis -04A bei 0,69, 0,84, 1,81 und 0,79 mg kg $^{-1}$. Dies würde in einem Batchversuch mit einem Masse:Volumen-Verhältnis von 1:10 einem Angebot in Form von KI-Lösung von etwa $5 \cdot 10^{-7}$ bis $1 \cdot 10^{-6}$ mol L $^{-1}$ entsprechen. Das erklärt, warum in den Batchversuchen im unteren Konzentrationsbereich noch keine Unterschiede zwischen den Referenzböden erkennbar sind. Die unterschiedliche Sorptionskapazität macht sich erst bei den höheren KI-Konzentrationen bemerkbar.

Der Tonmineralgehalt der Böden spielt für die Iod-Sorption insgesamt eine untergeordnete Rolle. Im Einzelnen wurde für Kaolinit, Montmorillonit und Vermiculit praktisch keine eine bzw. nur sehr geringe Sorptionsfähigkeit für Iod festgestellt [Söderlund et al. 2011 und Literatur darin]. Illit dagegen besitzt eine gewisse Fähigkeit, Iod zu sorbieren [Kaplan et al. 2000]. Pedogene Oxide (hier: Oxide und Hydroxide von Aluminium, Eisen und Mangan) bieten pH-abhängige Sorptionsplätze für Ionen. Für die untersuchten Böden wurden sowohl eine Extraktion mit oxalsaurem NH $_4$ -Oxalat (o), wie auch mit Dithionit-Citrat (d) durchgeführt (vergl. Tab. A1 in Anhang). Das Manganoxid Birnessit (δ -MnO $_2$) ist in der Lage, Se(IV) zu Se(VI), Cr(III) zu Cr(VI) und As(III) zu As(V) zu oxidieren. Gallard et al. (2009) gehen davon aus, dass Birnessit im Kontakt mit iodhaltigem Wasser im pH-Bereich von 5-7 Iodid zu elementarem Iod oxidiert, das sich an natürliche organischer Substanz bindet. Der für die Iod-Sorption wichtigste Bestandteil der Bodenmatrix ist die organische Substanz, an die es in einem weiten pH-Bereich gebunden

wird [Whitehead 1974; Fuge und Johnson 1986; Kaplan et al. 2014]. Dabei kann es an Feststoffe gebunden sein oder als iodorganische Verbindung, fixiert an die Humin- und Fulvosäuren, in gelöster Form vorliegen [Sheppard und Thibault 1992; Yamaguchi et al. 2020; Yeager et al. 2017]. Das meiste Iod ist kovalent gebunden, und zwar an unterschiedliche Molekülreste, wobei das aromatisch gebundene Iod vorherrscht. Eine wesentliche Rolle bei der Iodfixierung an aromatischen Verbindungen scheinen dabei Enzyme von Boden-Mikroorganismen zu spielen [Christiansen und Carlsen 1991; Schlegel et al. 2006].

Wäre zu erwarten, dass das Iod aus der zugegebenen Lösung sich an feste organische Stoffe bindet, sollten die RefeSols mit dem höchsten Gehalt an organischer Substanz (RefeSol-03G und RefeSol-04A) die höchsten K_d -Werte bei den höheren Iod-Konzentrationsstufen aufweisen. Da dies nicht der Fall ist, ist zu vermuten, dass das Iod an gelöste organische Bestandteile gebunden wird und sich deshalb in den Batch-Versuchen im Überstand befindet.

Technetium

Die Verteilungskoeffizienten für Technetium, das als Pertechetat-Anion zugegeben wurde, fallen erwartungsgemäß in allen untersuchten Böden niedrig aus (Abb. 4). Infolge der großen Unsicherheiten bei den sandigen Böden RefeSol-01A und -04A, die z.T. größer sind als die Messwerte selbst, ist keine Abhängigkeit von der Tracer-Konzentration im gewählten Konzentrationsbereich erkennbar.

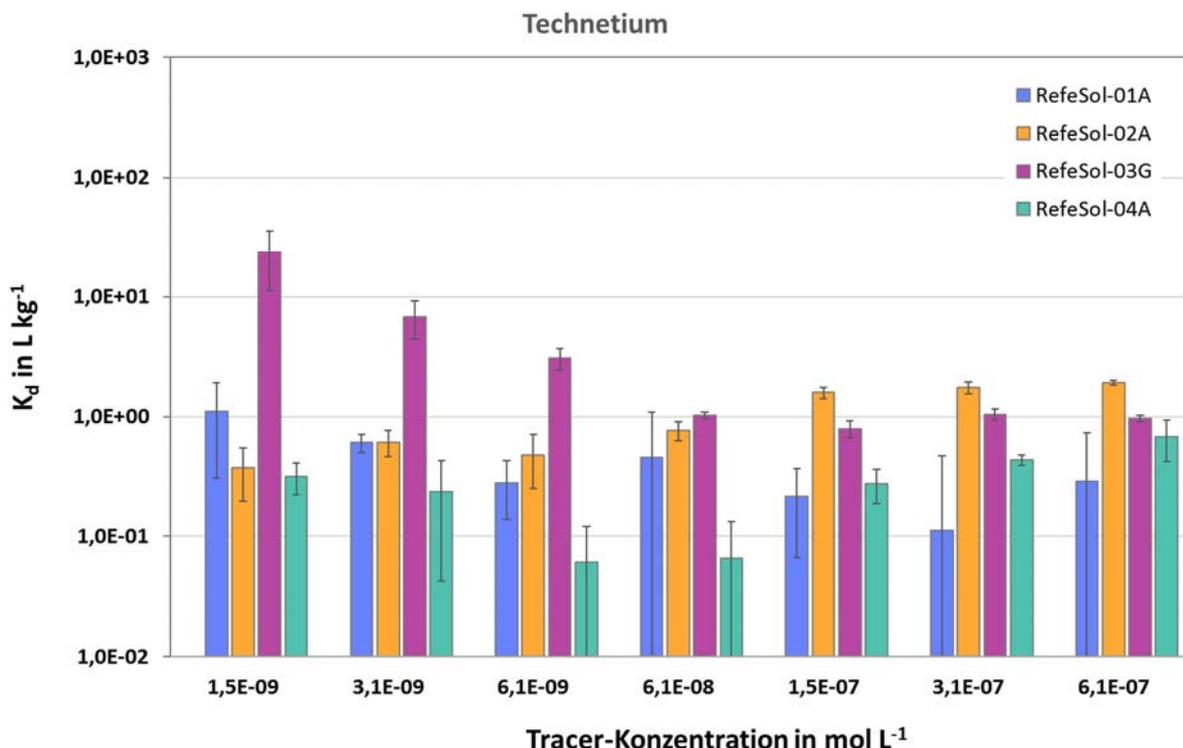


Abb. 4: Sorption von ⁹⁹Tc in Abhängigkeit von der Tracer-Konzentration für die vier Referenzböden.

Die K_d -Werte liegen für RefeSol-01A im Bereich von $0,11 \pm 0,36$ L kg⁻¹ und $1,11 \pm 0,81$ L kg⁻¹, für RefeSol-04A zwischen $0,06 \pm 0,15$ L kg⁻¹ und $0,68 \pm 0,26$ L kg⁻¹. Auch bei RefeSol-02A ist

keine Abnahme der K_d -Werte mit steigender Tracer-Konzentration, wie sie zu erwarten wäre, zu beobachten. Im Gegenteil steigen die K_d -Werte von einem Minimum von $0,38 \pm 0,18 \text{ L kg}^{-1}$ bei den niedrigen Konzentrationsstufen zu den höheren Konzentrationen hin bis zu einem Wert von $1,92 \pm 0,09 \text{ L kg}^{-1}$ an, jedoch ohne eindeutige Abhängigkeit. Der einzige RefeSol, bei dem sich eine solche Abhängigkeit erkennen lässt, ist RefeSol-03G, bei dem der K_d -Wert von $23,6 \pm 12,3 \text{ L kg}^{-1}$ zur höchsten Konzentrationsstufe hin auf $0,97 \pm 0,06 \text{ L kg}^{-1}$ absinkt.

Die Sorption von Technetium als Pertechetat, wie es in gut durchlüfteten Oberböden vorliegt, an mineralische Bodenbestandteile fällt sehr schwach aus und ist häufig reversibel [Lieser und Bauscher 1987; Koch-Steindl und Pröhl 2001]. Allerdings ist sie in tonhaltigen Böden deutlich stärker als in sandigen, was daran liegt, dass Tonminerale strukturelles Eisen enthalten können, welches Tc(VII) zu Tc(IV) reduzieren kann, das dann wiederum als Kation in die Zwischenschichten der Tonminerale eingelagert werden kann [Bishop et al. 2011; Fredrickson et al. 2004]. Eine wesentlich größere Affinität hat das Pertechetat zu organischen Substanz im Boden [Ashworth und Shaw 2005; Sheppard et al. 1983]. Es kann zu Komplexbildung kommen, aber auch zu einer Umhüllung der mineralischen Phase, wodurch die Sorption von ^{99}Tc begünstigt wird. Die Komplexbildung zwischen $^{99}\text{TcO}_4^-$ und Humin- bzw. Fulvosäuren wird erst bei reduzierenden Bedingungen relevant, wenn Tc(VII) zu Tc(IV) reduziert wird [Rößler et al. 2000]. Das größere Sorptionsvermögen von RefeSol-03G gegenüber den anderen Referenzböden lässt sich deswegen darauf zurückführen, dass ersterer sowohl den höchsten Tongehalt, wie auch den höchsten Gehalt an organischer Substanz aufweist.

Plutonium

Alle vier RefeSol-Böden weisen im Konzentrationsbereich von $2 \cdot 10^{-9}$ bis $1 \cdot 10^{-7}$ (0,5–25 ppm) eine hohe Sorptionsfähigkeit für Plutonium auf (Abb. 5). Die ermittelten K_d -Werte lagen zwischen $404 \pm 118 \text{ L kg}^{-1}$ für RefeSol-04A bei einer Konzentration von $2,1 \cdot 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ und $27.918 \pm 18.909 \text{ L kg}^{-1}$ bei $4,1 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ für RefeSol-02A. Bei allen ist zunächst in der Tendenz einen Anstieg der K_d -Werte mit zunehmender Tracer-Konzentration zu beobachten, und nach Erreichen eines Maximums im Bereich zwischen $2,1 \cdot 10^{-8}$ und $8,3 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ eine Abnahme zu noch höheren Konzentrationen hin. Am deutlichsten ist diese Tendenz für RefeSol-02A zu erkennen. Die Entwicklung der Verteilungskoeffizienten muss allerdings relativiert werden. Zum einen wegen der großen Unsicherheiten durch die hohe Streuung zwischen den Parallelproben. Zum anderen, weil der Tracer aus einer 4M HNO_3 -Stammlösung heraus verdünnt wurde. Dies hatte zur Konsequenz, dass mit der Erhöhung der Pu-Konzentration eine Erniedrigung des pH-Wertes der Lösungen einherging (keine Daten zu pH-Werten verfügbar). Es ist daher möglich, dass sich zu den höheren Tracer-Konzentrationen hin die Pu-Oxidationsstufe geändert hat [Pottgießer 2021]. Die Vergleichbarkeit der Referenzböden untereinander bleibt davon jedoch unberührt.

Plutonium hat, abhängig von der Oxidationsstufe, eine mehr oder weniger große Affinität zu Tonmineraloberflächen und (Hydr)Oxiden im Boden [Banik et al. 2016; Begg et al. 2018; Lujanienè et al. 2012; Zavarin et al. 2014]. Jedoch spielt die Zeitskala eine erhebliche Rolle [Begg et al 2018; Emerson et al. 2019].

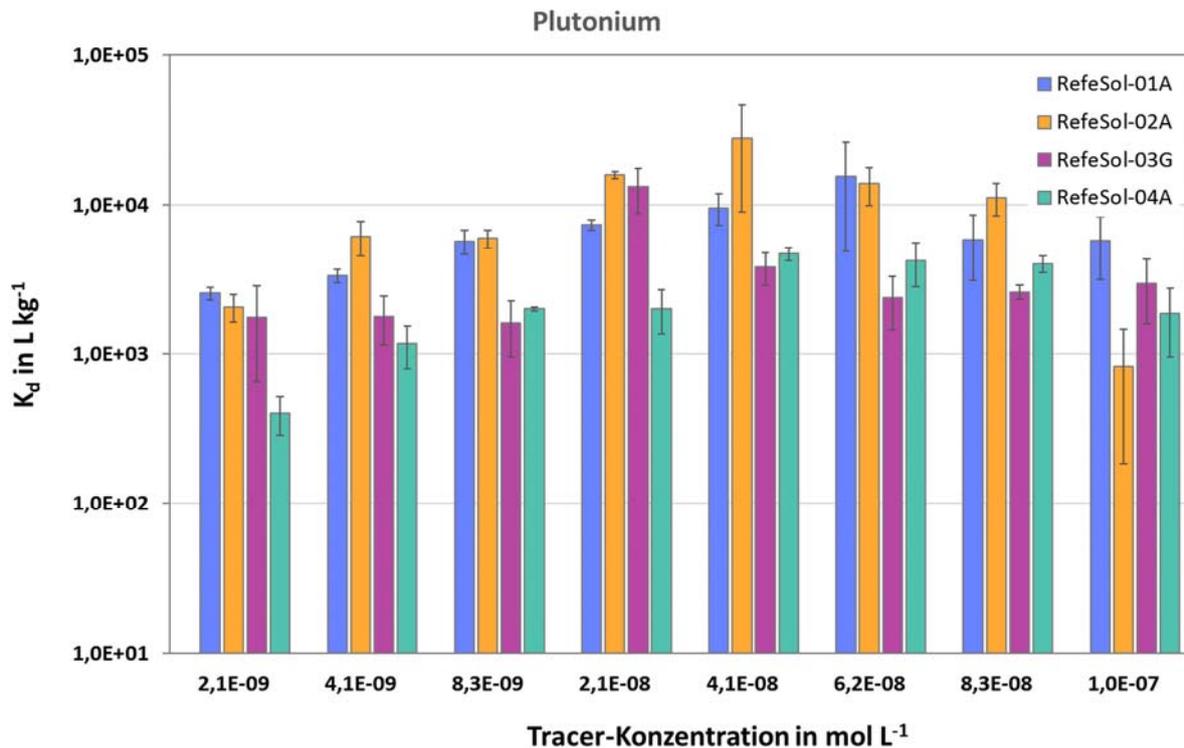


Abb. 5: Sorption von ²⁴²Pu in Abhängigkeit von der Tracer-Konzentration für die vier Referenzböden.

Zusätzlich wird Plutonium leicht an organische Bestandteile gebunden [Santschi et al. 2002; Zhao et al. 2011], was die Mobilität erhöhen kann. Es sind daher gegenläufige Effekte zu erwarten, insbesondere bei RefeSol-03A, der sowohl viel Ton, als auch viel organische Substanz enthält.

Americium

Aus den Verteilungskoeffizienten für ²⁴³Am ist eine ausgeprägte Konzentrationsabhängigkeit der Sorption an allen Böden zu erkennen (Abb. 6). Insbesondere für RefeSol-01A sinken aufgrund seiner niedrigen Kationenaustauschkapazität die K_d-Werte im gewählten Konzentrationsbereich um rund drei Größenordnungen von $1,51 \cdot 10^4 \pm 7,2 \cdot 10^3$ auf $2,95 \cdot 10^1 \pm 6,8 \cdot 10^{-1}$. Bei dem ebenfalls sandigen RefeSol-04A ist dies nicht in gleichem Maße der Fall, da er zwar ebenfalls einen geringen Tonanteil aufweist, dafür jedoch einen höheren Gehalt an organischer Substanz.

Americium ist im Gegensatz zu Plutonium redox-stabil und liegt unter Umweltbedingungen im trivalenten Oxidationszustand vor. Es wird stark an Tonminerale [Stumpf et al 2004; Ma et al. 2017] und Eisen(hyd)oxide gebunden [Degueldre et al. 1994; Zhao et al. 2016], hat aber auch eine Affinität zu organischer Substanz [Ticknor et al 1996; Artinger et al. 1998]. Bei niedrigen pH-Werten (< 4) begünstigt die Anwesenheit von Huminsäure die Sorption an Tonmineralen, bei höheren pH-Werten (> 5,5) wird die Sorption dadurch verringert, dass sich lösliche Humatkomplexe bilden [Křepelová et al. 2011].

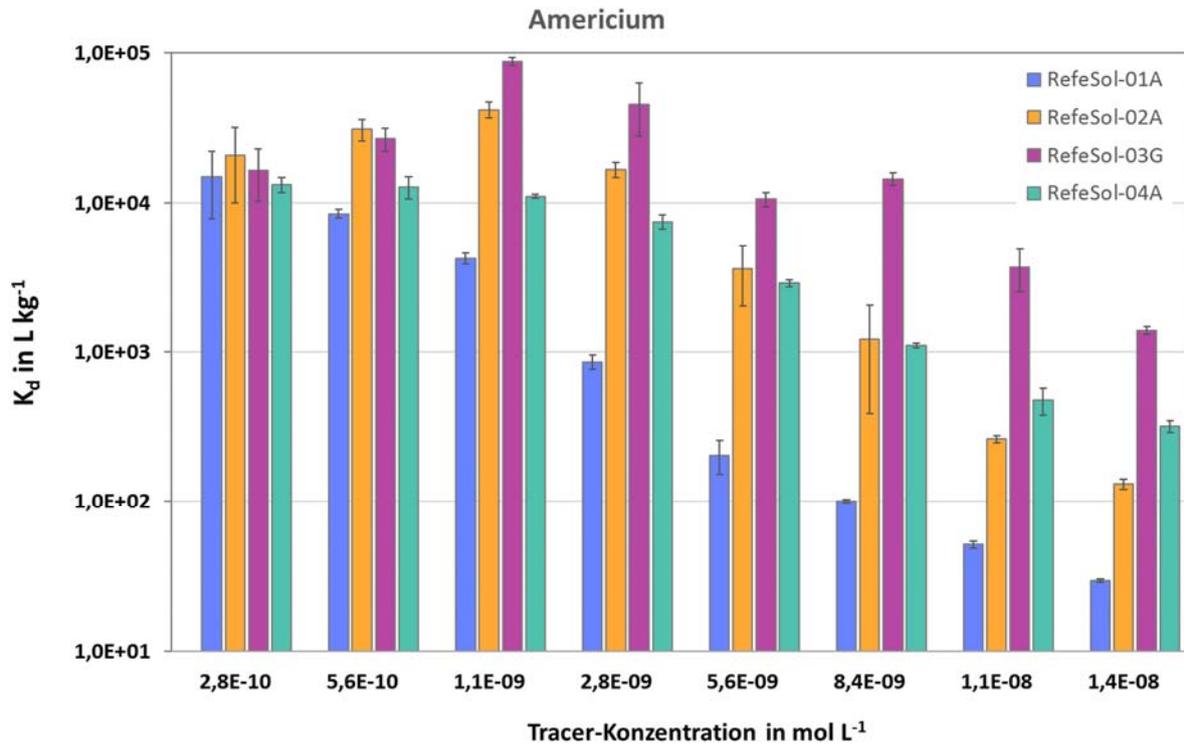


Abb. 6: Sorption von ²⁴³Am in Abhängigkeit von der Tracer-Konzentration für die vier Referenzböden.

Sorptionskinetik

Zusätzlich zu den konzentrationsabhängigen Versuchsreihen wurden Untersuchungen zur Kinetik der Iod- und Plutoniumsorption vorgenommen. Dazu wurden wieder 2 g Boden mit 20 mL Lösung SBW (Iod) bzw. 0,01 M CaCl₂-Lösung (Pu) versetzt. Für Iod wurden eine Konzentration von 10⁻⁵ mol L⁻¹ KI und eine Aktivitätskonzentration von 2 kBq mL⁻¹ (¹²⁵I) pro Parallelprobe gewählt. Plutonium wurde als ²⁴²Pu in einer Konzentration von 1 ppb (entspr. 4,1·10⁻⁹ mol L⁻¹) zugegeben. Jeweils 3 Parallelproben wurden nach 11 verschiedenen (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 14, 21, 28, und 35 Tage - Iod) bzw. 8 verschiedenen Zeitpunkten (1 Stunde, 1, 3, 7, 14, 21, 28 und 35 Tage – Pu) untersucht. Abb. 7 und 8 zeigen die Ergebnisse der Versuchsreihen. Die dazugehörigen Messwerte können in Tab. A8 und A9 im Anhang eingesehen werden.

Für eine zusätzliche Information zum Gehalt an gelöster organischer Substanz (DOC – dissolved organic matter) wurde das Bodenmaterial im gleichen Masse:Volumen-Verhältnis mit den verwendeten Lösungen (SBW bzw. 0,01 M CaCl₂-Lösung) für drei Wochen ausgeschüttelt, zentrifugiert, der Überstand über einen Spritzen-Vorsatzfilter (< 45 µm) gegeben, mit HCl angesäuert und im TOC-Analyzer ('vario TOC select', Fa. Elementar) analysiert. Der Gehalt an DOC unterscheidet sich nicht wesentlich für die einzelnen RefeSols. Tabelle A10 im Anhang zeigt die Ergebnisse für die entsprechenden Analysen.

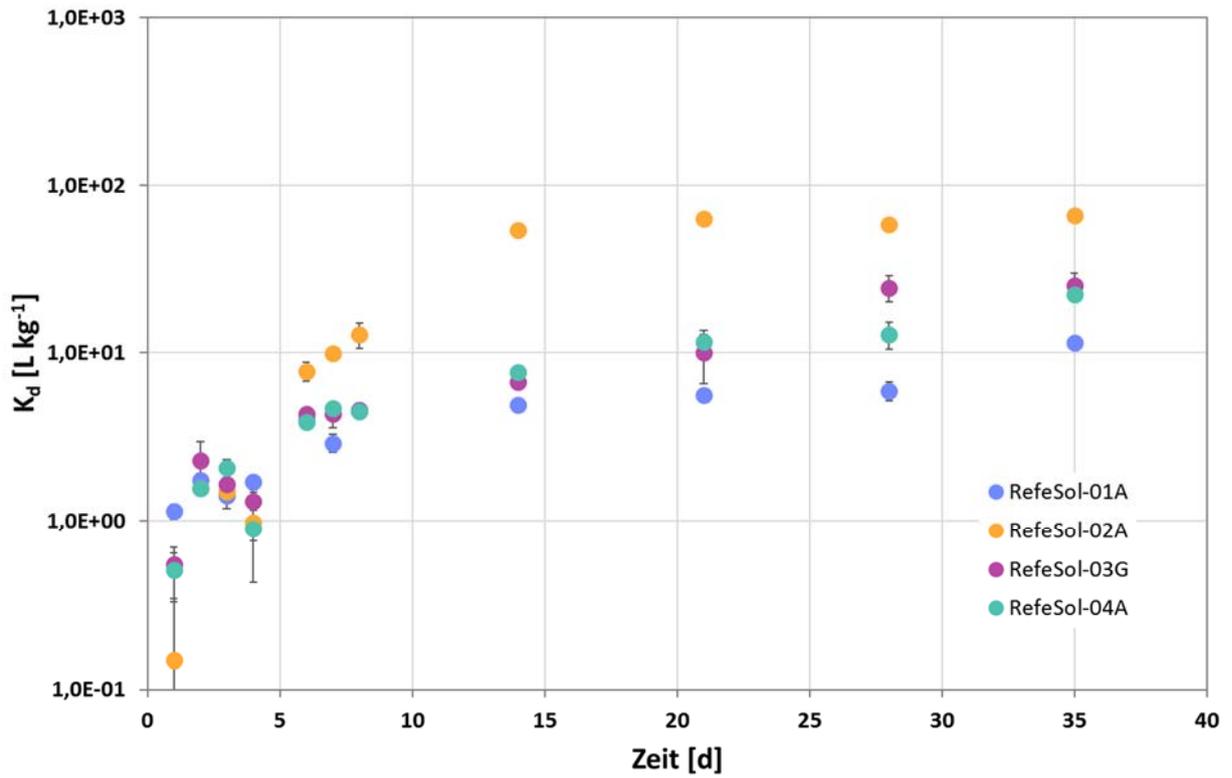


Abb. 7: Sorption von ^{125}I an allen vier Referenzböden in Abhängigkeit von der Zeit.

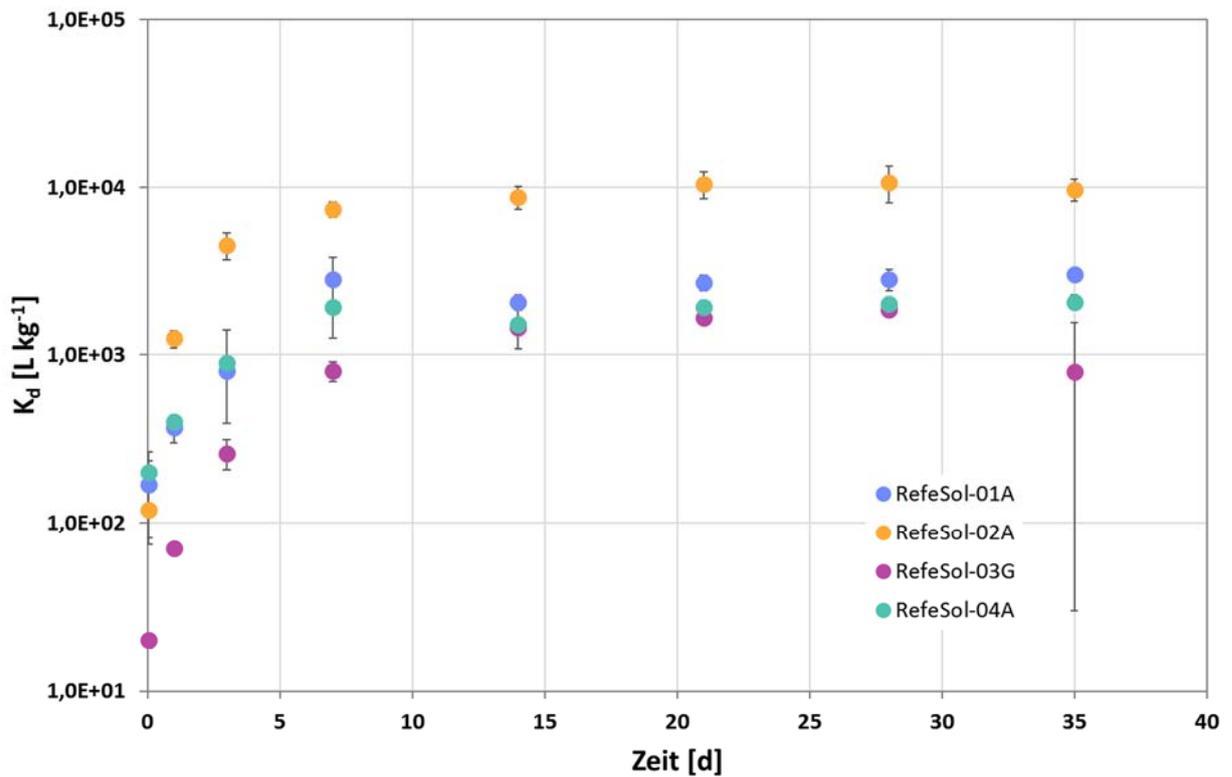


Abb. 8: Sorption von ^{242}Pu an allen vier Referenzböden in Abhängigkeit von der Zeit.

Für Iod muss der Sorptionsvorgang für die sandigen Böden nach einem Zeitraum von 35 Tagen als noch nicht ganz abgeschlossen angesehen werden. Für RefeSol-01A und RefeSol-04A stiegen die K_d -Werte von der Probenahme an Tag 28 zu der an Tag 35 auf das Doppelte, nämlich von $5,97 \pm 0,77$ auf $11,48 \pm 0,83 \text{ L kg}^{-1}$ bzw. von $12,8 \pm 2,35$ auf $22,31 \pm 0,77 \text{ L kg}^{-1}$. Für den überwiegend aus Schluff bestehenden RefeSol-02A und RefeSol-03G war kein signifikanter Anstieg mehr zu verzeichnen.

Für die mit ^{242}Pu markierten Batchversuche eine Kontaktzeit von 28 Tagen als ausreichend angenommen werden. Die Änderungen in der Höhe der K_d -Werte von Tag 28 zu Tag 35 sind infolge der z.T. sehr großen Unsicherheiten nicht signifikant.

Einordnung der Ergebnisse

Ein direkter Vergleich von Verteilungskoeffizienten, die aus unterschiedlichen Untersuchungen gewonnen wurden, ist kaum möglich, da die resultierenden K_d -Werte von einer Reihe von Faktoren abhängen. So beeinflussen, abgesehen von den Bodeneigenschaften selbst, das Masse:Volumen-Verhältnis, die Zusammensetzung der Lösung, die Tracer-Konzentration und -Form, der pH-Wert, und die Inkubationszeit die Ergebnisse wesentlich mit.

Die von der IAEA gesammelten und tabellierten [IAEA 2009; IAEA 2010] Verteilungskoeffizienten (K_d -Werte) weisen deswegen eine sehr große Schwankungsbreite für grob kategorisierte Bodengruppen auf. Nicht alle in Trans-LARA untersuchten Referenzböden lassen sich zudem ohne Weiteres in diese 'soil groups' einordnen. RefeSol 01A und 04-A können der IAEA-Kategorie 'sand' zugeordnet werden, die anderen beiden RefeSols passen in keine der Kategorien (Tab. 4), was an der sehr groben Rasterung des Systems liegt. RefeSol-03G enthält als schluffiger Lehm zu wenig Sand, um nach IAEA als Lehm eingeordnet zu werden, könnte jedoch ev. trotzdem der Gruppe 'loam' zugeschlagen werden. RefeSol-02A, der als Lössboden rund 80% Schluff enthält, erfüllt keine der Anforderungen für eine Einordnung.

Tab. 4: Einordnung der RefeSol-Böden in die von der IAEA verwendeten 'soil groups'.

'Soil group'	pH	OM [%]	CEC [$\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$]	Sand [%]	Ton [%]	
Sand	3,5 - 6,5	0,5 - 3,0	3,0 - 15,0	> 65	< 18	
Loam	4,0 - 6,0	2,0 - 6,5	5,0 - 25,0	65 - 82	18 - 35	
Clay	5,0 - 8,0	3,5 - 10,0	20,0 - 70,0	-	> 35	
Organic	3,0 - 5,0	> 20	20,0 - 200,0	-	-	
RefeSol-01A	5,8	1,7	3,9	74,8	4,5	'Sand'
RefeSol-02A	6,3	1,8	11,4	6,2	14,6	?
RefeSol-03G	5,9	7,3	13,2	26,8	20,5	?
RefeSol-04A	5,3	5,0	4,6	83,8	5,6	'Sand'

Für die Batchversuche mit Iod kann festgestellt werden, dass alle in den konzentrationsabhängigen Sorptionsversuchen gewonnenen K_d -Werte innerhalb der von der IAEA angegebenen Spanne für Sand- und Lehmböden liegen ($0,01$ bis 530 L kg^{-1}) (vergl. Tab. 11 im Anhang).

Trotz der großen Unterschiede zwischen den RefeSols und des großen Iod-Konzentrationsbereichs bewegten sich die Ergebnisse aber in einer viel kleineren Spanne von $0,42 \pm 0,07$ bis $134,3 \pm 83,3 \text{ L kg}^{-1}$. Auch die Ergebnisse aus den Sorptionsversuchen zu Plutonium und Americium fallen unter Berücksichtigung der teilweise großen Unsicherheiten in die von der IAEA angegebenen Spanne für Sand- und Lehmböden von 33,0 bis $9,6 \cdot 10^3 \text{ L kg}^{-1}$ (Pu) bzw. 50 bis $4,8 \cdot 10^4 \text{ L kg}^{-1}$ (Am). Die Ergebnisse für die Batchversuche mit Technetium fielen dagegen durchgehend höher aus. Sie lagen eine halbe bzw. eine Größenordnung über den von der IAEA genannten K_d -Werten.

Verteilungskoeffizienten können immer nur einen ersten Hinweis auf die Bindung bzw. Mobilität von Radionukliden geben. Das Verhalten, besonders der redox-sensitiven, aber auch der übrigen Radionuklide hängt wesentlich von Parametern ab, die im Boden stark schwanken können: pH-Wert, Redoxbedingungen, Vorhandensein von organischen Komplexbildnern und/oder anderen komplexierenden Liganden wie CO_3^{2-} , kolloidalen und partikulären Stoffen, der Beschaffenheit von Mineraloberflächen und der Einwirkung von Mikroorganismen [Runde 2000]. Daher ist es erforderlich, neben Batchversuchen weitere Untersuchungen zum Sorptions-/Migrationsverhalten der Radionuklide durchzuführen.

II.1.2.2. Durchlaufsäulen

Als Ergänzung zu den Lysimeterversuchen (Abschnitt II.1.2.3.) wurden zur Untersuchung der Radionuklidmigration im wassergesättigten Bereich Versuche an kleineren Durchlaufsäulen durchgeführt.

Versuchsaufbau

Für diese Experimente wurden 30 cm lange Säulen aus Polymethylmethacrylat (PMMA) mit einem Durchmesser von 5 cm verwendet, deren Enden mit einer Deckelkonstruktion verschlossen wurden. Die Deckel hatten jeweils Einsätze mit Schlauchverschraubungen für Zufuhr bzw. Ableitung von Lösungen. An der Unterseite der Säule wurde zunächst eine 2 cm mächtige Quarzsandschicht eingefüllt. Anschließend wurden die Säulen schichtweise mit RefeSol befüllt, der mit einem Metallstempel auf die gewünschte Dichte gebracht wurde. Vorm Einfüllen der nächsten Schicht wurde die Oberfläche der vorigen jeweils leicht aufgeraut, um Verschmierungen an der Oberfläche zu verhindern. Insgesamt wurden pro Radionuklid und RefeSol je zwei Säulen untersucht. Zusätzlich wurden im Rahmen von zwei Abschlussarbeiten je zwei mit RefeSol-01A gefüllte Säulen mit ^{125}I bzw. ^{99}Tc und Tritium markiert. Die Säulen wurden jeweils über den Zulauf in der Bodenplatte mit synthetischem Bodenwasser aufgesättigt und nach einer Laufzeit von einer Woche mit den jeweiligen Tracern beaufschlagt. Die Tracer-Lösungen der ersten Versuchsreihe wurden ebenfalls über einen Zeitraum von 7 Tagen zugegeben. Anschließend wurde für weitere 7 Tage wieder synthetisches Bodenwasser in die Säulen geleitet. Der Zufluss wurde über eine peristaltische Schlauchpumpe (Ismatec) geregelt, die auf einen Volumenstrom von $34 \mu\text{L min}^{-1}$, also knapp 50 mL pro Tag, einstellt war. Das abfließende Porenwasser wurde jeweils in separaten Gefäßen aufgefangen und auf pH und Gehalt an gelöster organischer Substanz (DOC) bzw. Tracer-Gehalt untersucht. Abb. 9 zeigt eine schematische Darstellung des Versuchsaufbaus.

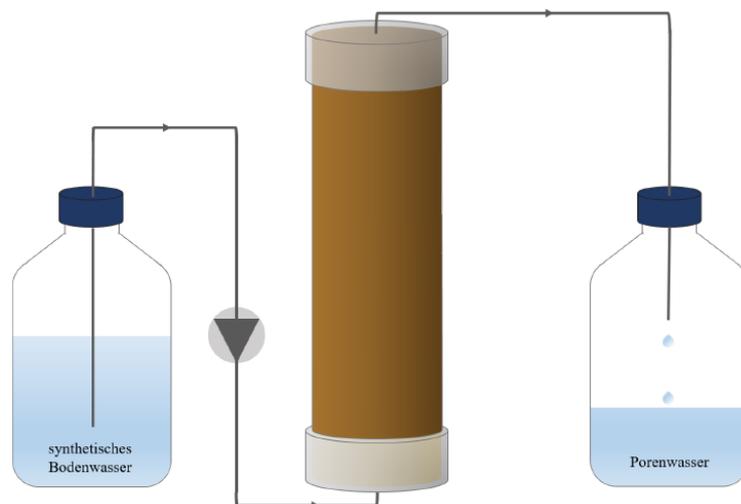


Abb. 9: Schematischer Aufbau der Säulenversuche [aus: Diss. Wunnenberg 2021].

Nach Abschluss des Experiments wurden die Säulen eingefroren und anschließend im gefrorenen Zustand zerlegt. Mit Hilfe eines Metallstempels wurde der Boden leicht in leicht ange-tautem Zustand nach oben aus der Ummantelung herausgedrückt und abgetrennt. Abb. 10

zeigt die Aufteilung der Schichten. Die einzelnen Abschnitte wurden luft- (lod) bzw. ofengetrocknet (alle übrigen), homogenisiert und das Bodenmaterial auf seinen Tracer-Gehalt untersucht (vergl. Abschnitt II.1.1.1.).

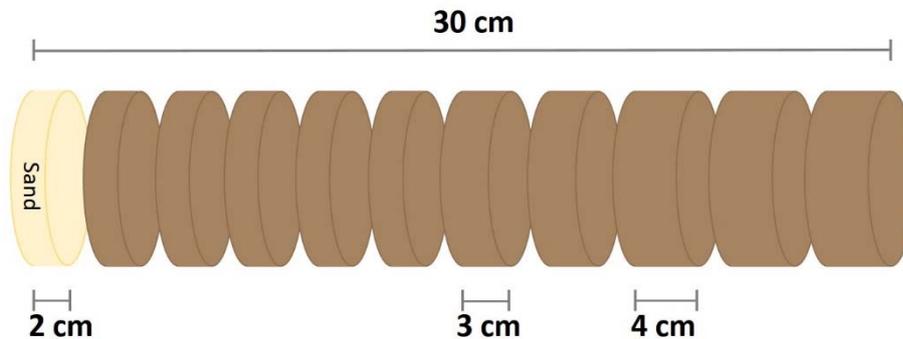


Abb. 10: Aufteilung der gefrorenen Säulen in tiefenabhängige Schichtdicken.

Ergebnisse

In Abb. 11, 13, 15, 16 sind zunächst die Ergebnisse für die Migrationsversuche für alle RefeSols dargestellt. Aus Gründen der Anschaulichkeit wird der Tracer-Gehalt nicht in Bq pro g, sondern in % der zugegebenen Tracer-Menge angegeben.

Die Migration in den verschiedenen Säulen lässt sich direkt vergleichen, da nicht genau gleiche Laufzeiten als Kriterium angelegt wurden, sondern gleiche perkolierte Lösungsmengen.

lod

Abb. 11 zeigt die Tiefenverteilung für ^{125}I in allen vier RefeSol-Böden. Für alle Böden findet sich der größte Anteil des zugegebenen Tracers in der untersten Bodenschicht, mit Abstand weist jedoch RefeSol-01A mit mehr als 95% des zugegebenen ^{125}I die größte Menge auf. Praktisch der gesamte Tracer wird in den untersten vier Zentimetern der Säule zurückgehalten, auch das stichprobenartig untersuchte Porenwasser enthielt nur eine geringe Menge an ^{125}I (vergl. Tab. A12 im Anhang). Die in den RefeSol-02A- und -04A-Säulen verbliebene Tracermenge belief sich jeweils auf > 70%, mit rund 55 bzw. 57% in der untersten Bodenschicht. Mehr als 25 % des ursprünglich zugegebenen ^{125}I -Tracers wurde im Porenwasser nachgewiesen. Das restliche ^{125}I lag über die gesamte Säulenlänge verteilt vor. Die in der RefeSol-03G-Säule verbliebene Tracermenge belief sich auf weniger als 60%. Mehr als 40% der Gesamtmenge verließen die Säule mit dem abfließenden Porenwasser und wurden dort nachgewiesen.

Die Verteilung des Tracers in den Säulen passt zu den im Abschnitt II.1.2.1. diskutierten Ergebnissen. Ausgehend von der Annahme, dass der Tracer zum Teil an mobile organische Bestandteile gebunden ist, sind die im Porenwasser wiedergefundenen hohen Anteile von ^{125}I von >25 bzw. >40% für RefeSol-04A und RefeSol-03G zu erwarten. Eine direkte Übertragung der Ergebnisse aus den Batchversuchen auf die Säulenversuche ist aber nicht möglich, da die

Masse:Volumen-Verhältnisse sehr verschieden sind, die Zugänglichkeit der Bindungsstellen der Bodenmatrix in den Säulen sehr viel geringer ist und, wie bereits erwähnt, die Gesamtmenge an Iod, die den Bodensäulen zugesetzt wurde, einer niedrigen Konzentrationsstufe ($5 \cdot 10^{-7}$ bis $1 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹) bei den Batchversuchen entspricht.

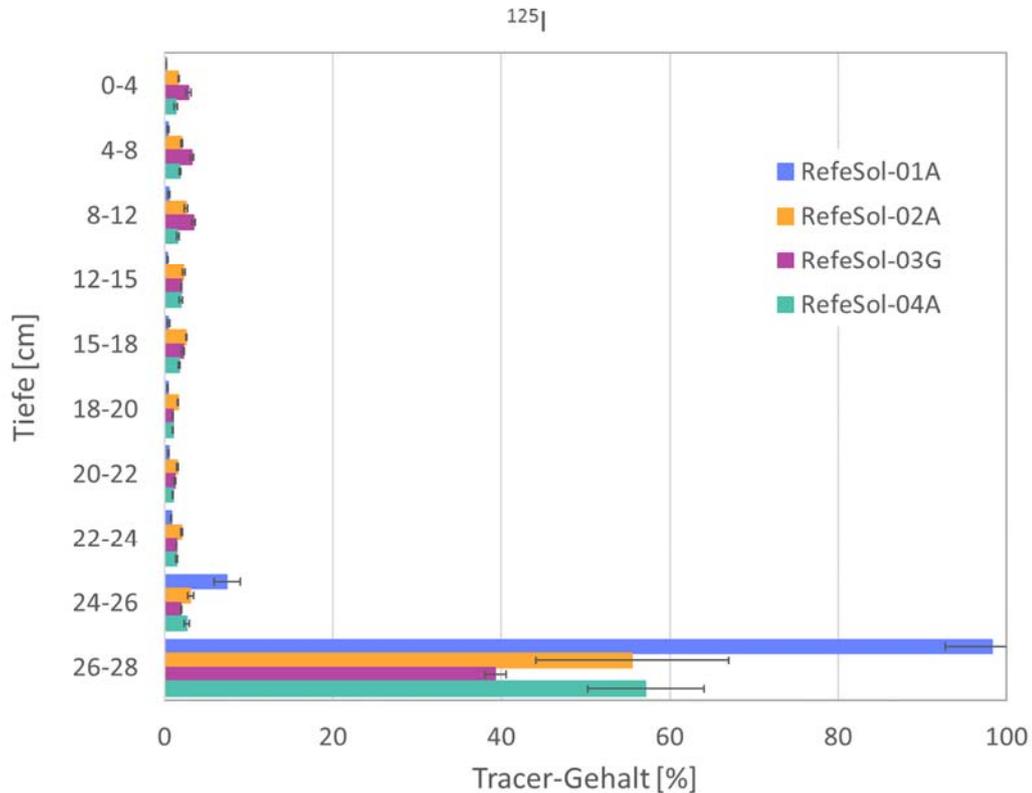


Abb. 11: Tiefenverteilung der ¹²⁵I-Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Säulenexperimenten.

Zusätzlich zu den Tracer-Experimenten mit allen Referenzböden wurde ein exemplarischer Versuch zur Durchlaufgeschwindigkeit mit Tritium als konservativem Tracer in zwei Säulen mit RefeSol-01A durchgeführt. Diese wurden mit einer geringfügig höheren Lagerungsdichte ($1,78$ bzw. $1,75$ statt $1,59$ g cm⁻³) eingefüllt und wegen der besseren Messbarkeit mit einer etwas höheren ¹²⁵I-Aktivitätskonzentration beaufschlagt. Die übrige Vorgehensweise glich jedoch der der anderen Versuche. Abb. 12 zeigt für Säule 2 einen Vergleich des Tracer-Durchbruchs bezogen auf das durchgelaufene Porenvolumen für Tritium und ¹²⁵I.

Die für Tritium erhaltene Kurve entspricht dem zu erwartenden Verlauf. Sie gleicht der von Zhang und Selim für einen Boden sehr ähnlicher Korngrößenverteilung gefundenen Durchbruchkurve (BTC) [Zhang und Selim 2011]. Ihr Maximum liegt bei nahe 70%, die Wiederfindungsrate für das Tritium bei $88 \pm 30\%$. Nach etwa 3 Porenvolumina hat das Tritium die Säule wieder verlassen, während die BTC für ¹²⁵I, deren Maximum bei etwa 7% liegt, ein ausgeprägtes Tailing zeigt, welches eine deutliche Verzögerung der Iod-Migration widerspiegelt. Die Wiederfindungsrate für ¹²⁵I im Porenwasser über die Laufzeit lag bei lediglich $11 \pm 0,6\%$.

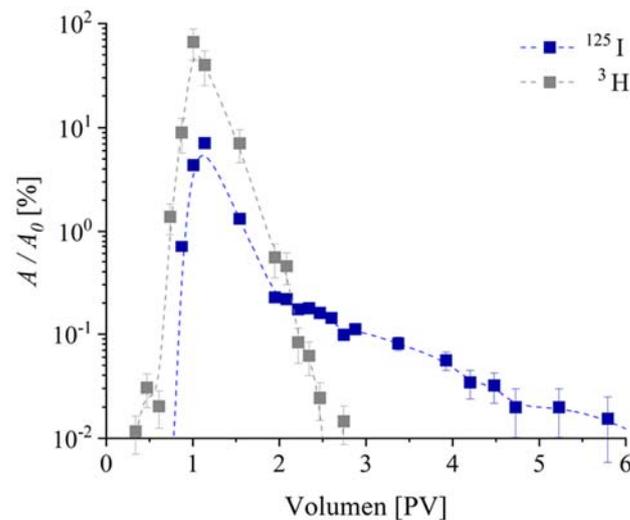


Abb. 12: Durchbruchkurven für ^3H und ^{125}I für eine mit RefeSol-01A gefüllte Durchlaufsäule; Tracer normiert auf zugegebene Menge (aus: Diss. Wunnenberg 2021).

Technetium

In Abb. 13 ist die tiefenabhängige Verteilung ^{99}Tc -Tracers als Anteil der zugegebenen Menge dargestellt. Analog zu den Batch-Experimenten ist auch hier erkennbar, dass RefeSol-03G die stärkste Sorption aufweist. Ca. 96% der zugegebenen ^{99}Tc -Aktivität werden in der Säule wiedergefunden, während nur eine geringe Menge im ablaufenden Porenwasser nachgewiesen werden konnte. Bei den RefeSol-01A, -02A und -04A Säulen wurden dagegen rund 88, 82 bzw. 83% des Tracers im Porenwasser detektiert. Hier konnte nur eine vergleichsweise geringe Sorption durch die Böden festgestellt werden (vergl. Tab A13 im Anhang).

Wie schon beim Iod, passen die aus den Batch-Versuchen gewonnenen Ergebnisse, bei denen RefeSol-03G die höchsten K_d -Werte gezeigt hatte, zu denen aus den Säulenversuchen. Jedoch wird nicht das gesamte ^{99}Tc in den untersten Säulensegmenten zurückgehalten, sondern es migriert Richtung Oberfläche und wird zu einem Anteil von $> 50\%$ in 4-12 cm Tiefe wiedergefunden. Die Erhöhung der Sorption mit fortschreitendem Durchgang durch die Säule kann auch als Hinweis darauf gesehen werden, dass sich die chemische Form des Tracers ändert. Die Tracer-Lösung wurde nicht vollständig sauerstofffrei zugegeben, der Tracer lag als Pertechetat vor. Mit zunehmender Versuchsdauer sollte der Restsauerstoff von den Mikroorganismen in der Bodensäule verbraucht worden sein. Eine Reduktion des Tc(VII) könnte dann entweder durch eine direkte enzymatische Reduktion erfolgen oder indirekt durch die enzymatische Reduktion von Eisen(hydr)oxiden. Die resultierenden Fe(II)-Ionen können wiederum Tc(VII) reduzieren [Lloyd et al. 2000]. Das reduzierte Tc(IV) kann Präzipitate an bzw. in Bakterien ausbilden oder als Kation in Tonminerale eingelagert werden [Lloyd et al. 1997; Cui und Eriksen 1996; Lloyd et al. 2000].

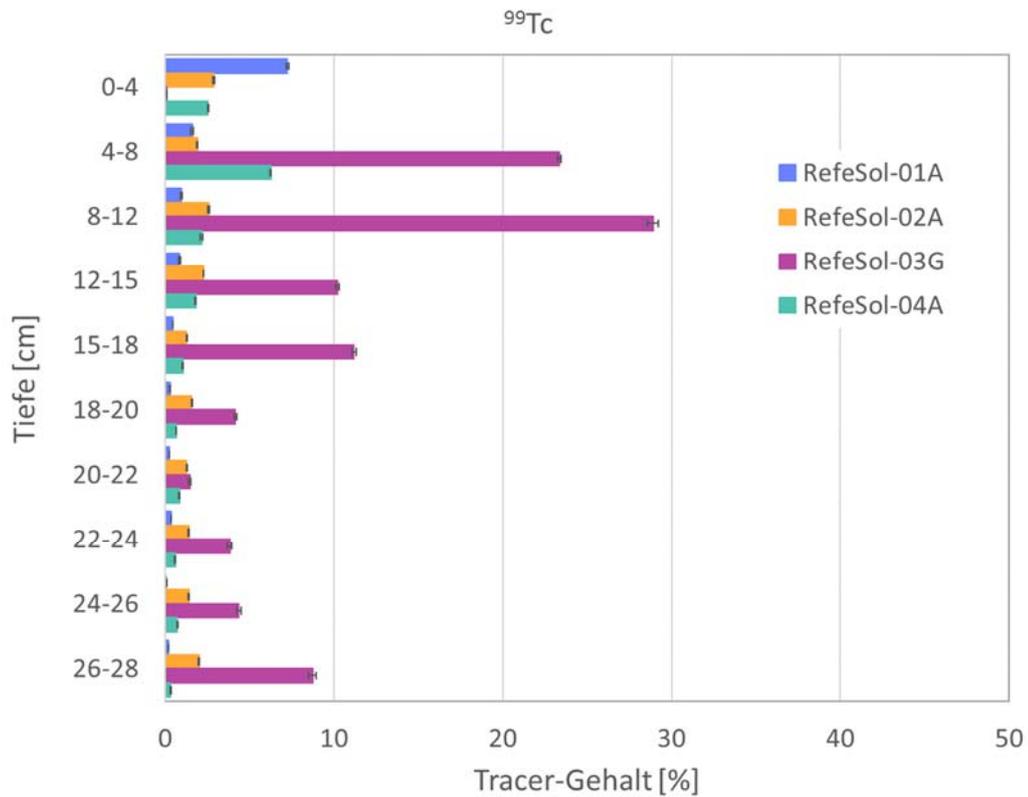


Abb. 13: Tiefenverteilung der ^{99}Tc -Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Säulenexperimenten.

Auch für ^{99}Tc wurde zusätzlich zu den Experimenten mit allen Referenzböden ein Versuch für die Durchlaufgeschwindigkeit des Porenwassers mit RefeSol-01A angelegt. Die Ergebnisse sind in Abb. 14 zusammengefasst.

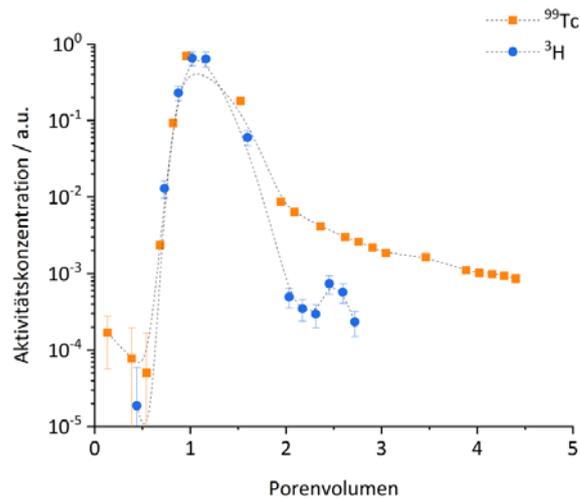


Abb. 14: Durchbruchkurven für ^3H und ^{99}Tc für eine mit RefeSol-01A gefüllte Durchlaufsäule; Tracer normiert auf zugegebene Menge (aus: Diss. Mandel 2021).

Die Durchbruchkurven für Technetium und Tritium ergeben ein ähnliches Muster wie schon bei der Iod-Säule. Der ^{99}Tc -Tracer wird jedoch in einem geringeren Maße von RefeSol-01A

zurückgehalten als das ^{125}I . Ca. 75% des Tracers passierten die Säule nach kurzer Zeit (ca. 1 Porenvolumen) und wurden im ablaufenden Porenwasser nachgewiesen. Die tiefenabhängige Verteilung des Tracers nach Beendigung der Laufzeit weist in einer Tiefe von 8-12 cm die höchste Konzentration auf. Dies wurde auch in den vorangegangenen Experimenten bei RefeSol-03G beobachtet.

Plutonium

Für ^{238}Pu in Abb. 15 ist die starke Sorption erkennbar, die sich auch in den hohen K_d -Werten der Batchversuche gezeigt hatte. Rund 94 bis 98 % des zugegebenen Tracers befanden sich nach Versuchsende noch im untersten Bodensegment. Die Unterschiede zwischen den einzelnen RefeSols waren nicht groß, aber doch erkennbar. Die geringste Migration war bei RefeSol-02A zu beobachten, bei dem die Segmente oberhalb von 18 cm Tiefe Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze aufwiesen (vergl. Tab. A14 im Anhang), während der Plutonium-Tracer bei RefeSol-01A bis an die Oberfläche der Säule vordrang. Auch die Gehalte der Porenwasserproben lagen bei RefeSol-02A mit $0,02 \pm 0,003$ % der gesamten zugegebenen Aktivität besonders niedrig. Die höchsten Werte traten mit $3,6 \pm 0,17$ % bei RefeSol-04A auf. Hier treffen ein sehr niedriger Tongehalt (5,6%) und ein recht hoher Gehalt an organischer Substanz (5,0%) zusammen. Zwar wird trotzdem der meiste Tracer (rund 94%) im untersten Säulensegment zurückgehalten, ein größerer Anteil als bei den anderen RefeSols wird jedoch offensichtlich an organische Substanz gebunden Richtung Oberfläche und mit dem abfließenden Porenwasser aus der Bodensäule transportiert.

Americium

In den mit ^{243}Am markierten Säulen wurde praktisch keine Migration des Tracers beobachtet (Abb. 16). Abgesehen von der mit RefeSol-03G gefüllten Säule wurde der gesamte zugegebene Tracer jeweils im untersten Segment (26-28 cm) wiedergefunden. Bei RefeSol-03G fanden sich ca. 3 % des eingesetzten Tracers in der Tiefe 24-26 cm, während der Rest ebenfalls in der untersten Schicht sorbiert war. Alle übrigen Tiefen lieferten Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze, ebenso wie die Porenwasserproben für alle Böden (vergl. Tab. A15 im Anhang).

Auch die Batchversuche hatten für alle RefeSol-Böden höhere K_d -Werte als für die anderen untersuchten Radionuklide ergeben. Die Unterschiede zwischen den Böden in den höheren Konzentrationsbereichen dort kommen in den Säulen wegen des größeren Verhältnisses von Masse:Volumen nicht zum Tragen. Nur bei RefeSol-03G, bei dem über den gesamten Konzentrationsbereich im Batchversuch die höchste Sorptionsfähigkeit gegenüber ^{243}Am verzeichnet wurde, ist ein Anzeichen von Migration zu erkennen. Dies ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf einen Transport mit organischen Bestandteilen zurückzuführen, der auch für Americium beschrieben ist [Maes et al. 2006].

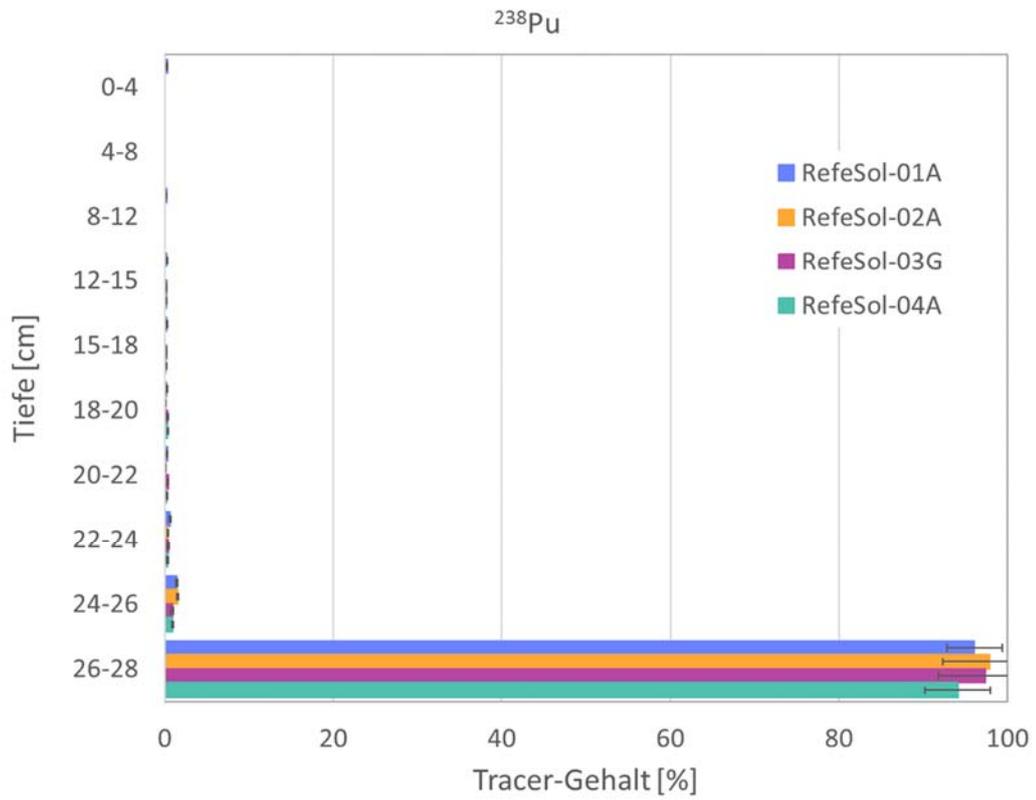


Abb. 15: Tiefenverteilung der ²³⁸Pu-Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Säulenexperimenten.

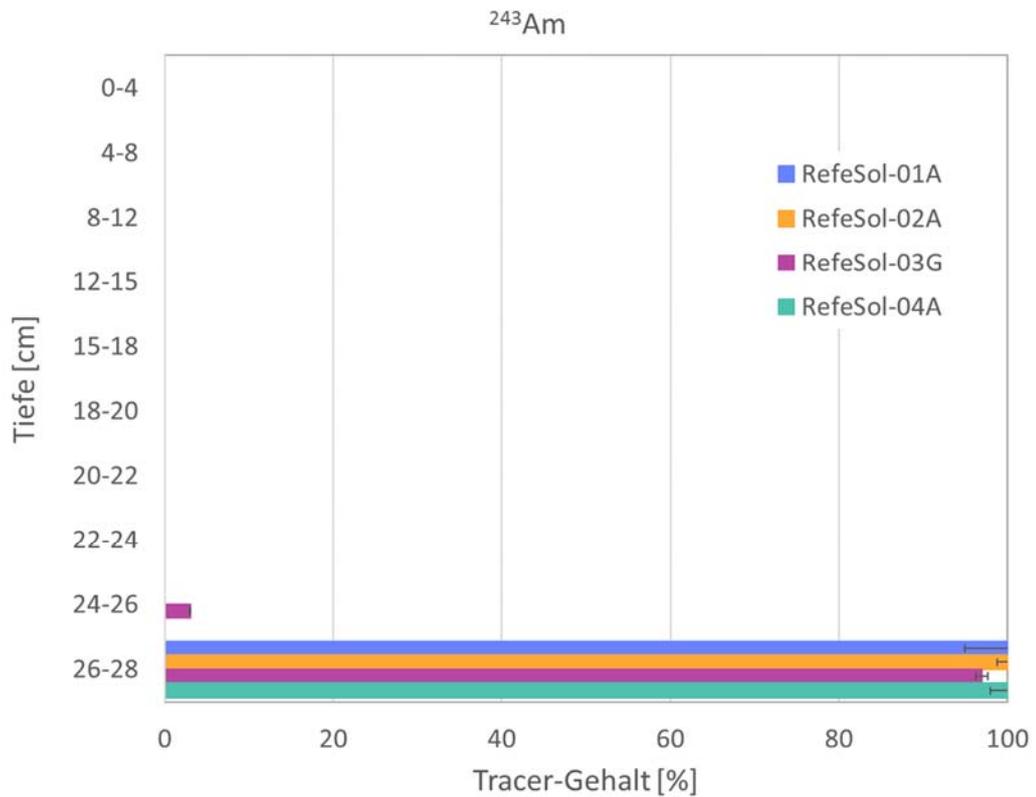


Abb. 16: Tiefenverteilung der ²⁴³Am-Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Säulenexperimenten.

In Abb. 17 sind exemplarisch die Gehalte an gelöster organischer Substanz (DOC) im ablaufenden Porenwasser in Abhängigkeit vom Porenvolumen dargestellt. Zu erkennen ist, dass insbesondere in der Anfangsphase der DOC-Gehalt für RefeSol-03G im Porenwasser um ein Vielfaches höher liegt als für die übrigen RefeSols. Er fällt innerhalb der ersten zwei Wochen von anfänglich $>600 \text{ mg L}^{-1}$ auf etwa 170 mg L^{-1} und blieb in der Folgezeit auf diesem Niveau. Im Gegensatz dazu enthielt das Porenwasser der RefeSol 01-A Säule im Durchschnitt über die gesamte Dauer nur etwa 50 mg L^{-1} DOC. Es ist also denkbar, dass dies den Transport der mit der Tracerlösung eingebrachten Radionuklide mehr (Iod, Tc) oder weniger stark (Pu, Am) beeinflusst hat.

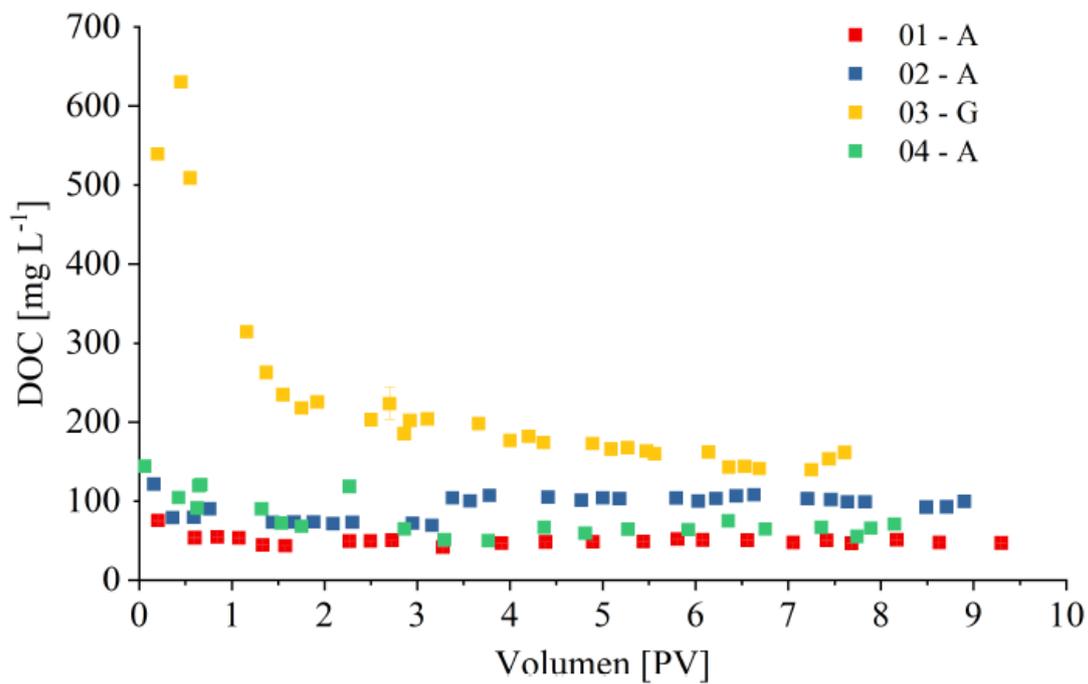


Abb. 17: Zeit- bzw. volumenabhängiger Gehalt an gelöster organischer Substanz (DOC) im ablaufenden Porenwasser der Referenzböden [Diss. Wunnenberg 2021].

II.1.2.3. Langzeitversuche in Lysimetern

Versuchsaufbau

Neben den Versuchen mit den wassergesättigten Durchlaufsäulen wurden Experimente mit größeren, teilgesättigten Bodensäulen durchgeführt. Dafür wurden Lysimeter der Fa. ecoTech, Bonn, verwendet, die für die im Folgenden beschriebenen Versuche angepasst wurden. Vier 50 cm hohe Plexiglaszylinder von 30 cm Durchmesser wurden jeweils auf einer porösen Platte (Porengröße 250 μm) mit einer Filtermembran aus Polyamid (Porengröße 0,45 μm) befestigt und waren mit vorgebohrten Eingängen in unterschiedlichen Tiefen versehen, die nach dem Befüllen mit Sonden zur Aufnahme von Werten für Eh, pH und Matrixpotential bestückt wurden. Alle Lysimeter wurden mit homogenisiertem RefeSol-01A von 5,3 %Gew. Wassergehalt schichtweise befüllt (vergl. Abb. 18a-d). Die Gesamthöhe der Bodensäule betrug 45 cm, die Lagerungsdichte betrug im Durchschnitt 1,54 g cm^{-3} (1,53-1,55 g cm^{-3}).

Die Zufuhr von Lösung wurde über einen Zugang über die poröse Bodenplatte von der Unterseite her realisiert. Die Lösung befand sich in einer Mariotte'schen Flasche, die mit einem PE-Schlauch an der Unterseite der Platte verbunden war und über die der Wasserspiegel in der Bodensäule kontrolliert werden konnte (Abb. 19). Dem Einbau der Messsonden ging die Befeuchtung der Bodensäulen voraus. Einzig die Eh-Referenzelektrode musste bereits beim Befüllen eingesetzt werden. Um lokale Verdichtung und Verschmierung zu vermeiden wurden bei der Installation der übrigen Sonden zunächst Löcher von kleinerem Durchmesser vorgebohrt, die Sonden eingeführt und mit den Durchführungen fest verschraubt. Jedes Lysimeter ist mit je drei pH-Sonden und zweimal drei Eh-Sonden (Fa. ecoTech, Bonn) in drei Tiefen (3, 17, 31 cm von der Oberfläche) bestückt, sowie mit je drei Tensiometern (Fa. Umwelt Geräte Technik UGT, Müncheberg) in Tiefen von 3, 13 und 23 cm. Weiterhin wurden beim Befüllen in jedem Lysimeter Bohrungen mit Blindstopfen in drei Tiefen (3, 17, 31 cm von der Oberfläche) angelegt, die später mit Borosilikat-Saugsonden (Porengröße 1 μm ; Fa. ecoTech, Bonn) zur Gewinnung von Porenwasser bestückt werden konnten. Die Eh-, pH-Messsonden und die Tensiometer sind mit Datenloggern verbunden, die die in-situ gewonnenen Messwerte kontinuierlich alle 30 Minuten aufzeichnen. Die in-situ gemessenen Werte für Redox-Potential, pH und Matrixpotential, sowie Temperatur und Luftfeuchte am Standort der Messung sind für den gesamten Zeitraum ab Tag 100 in Abb. A1 – A13 im Anhang wiedergegeben.

Für die Befeuchtung der Bodensäulen und als Hintergrundlösung wurde synthetisches Bodenwasser (SBW) verwendet. Nach einer Phase der Gleichgewichtseinstellung von 386 Tagen wurden Porenwasserproben aus allen Lysimetern entnommen (s.u.). Anschließend (388 Tage nach Beginn des Experiments) wurden über je einen Scheidetrichter die Radionuklidlösungen zugegeben. Dazu wurde der jeweilige Tracer in 100 mL (Tc) bzw. 200 mL SBW (I, Pu, Am) verdünnt und über ein Bypassventil in der Zuleitung über die Bodenplatte in die Bodensäule eingespeist.

Die Mariotte'sche Flasche blieb während der Tracerzugabe abgeklemmt und wurde nach deren Abschluss wieder geöffnet, so dass der Tracer als 'Puls' ins System injiziert wurde und nicht kontinuierlich.

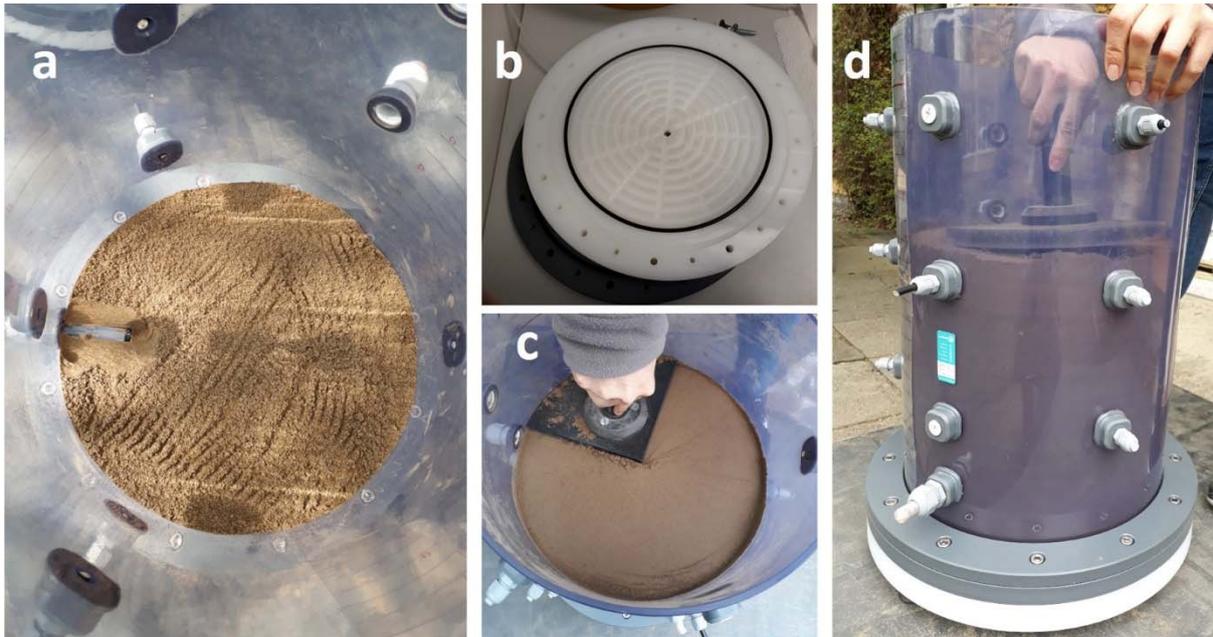


Abb. 18: Lysimeter während der Befüllung mit RefeSol-01A: (a) Einbau der Referenzsonde, (b) poröse Bodenplatte, (c) Verdichtung einer Bodenschicht, (d) Seitenansicht während der Befüllung.

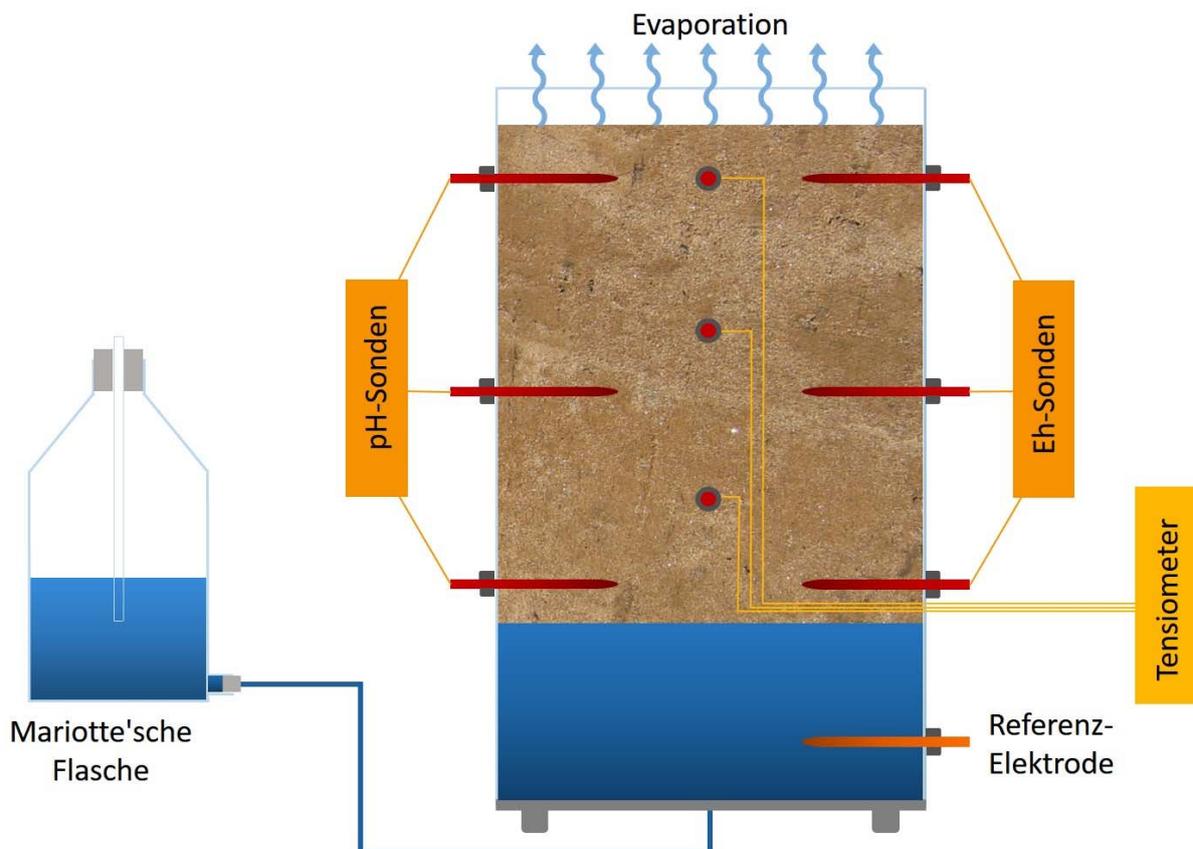


Abb. 19: Schematische Darstellung des Lysimeter-Aufbaus.

In unterschiedlichen zeitlichen Abständen erfolgte weiter die Entnahme von Porenwasser aus Tiefen 3, 17 und 31 cm Tiefe mit Hilfe von Borosilikat-Saugkerzen über das in Abb. 20 dargestellte Probenahme-System in Argon-Atmosphäre. Die Anzahl der Entnahmen wurde auf max. 8 in ca. 6 Monaten beschränkt, da der Anlegen von Unterdruck und das Abnehmen von Bodenlösung jedes Mal einen Eingriff ins System darstellte, der von den Messsonden mit zum Teil heftigen Schwankungen beantwortet wurde. Weiterhin wurde zum Ende der Projektlaufzeit aus jedem Lysimeter ein Bohrkern entnommen und analysiert. Da die Lysimeter auch nach Abschluss des Projekts genutzt werden sollten, wurde die Probenahme mit einem doppelwandigen PE-Rohr durchgeführt, das bis zu einer Tiefe von 40 cm ab Bodenoberfläche mit einem rückschlagfreien Hammer vorsichtig in die Mitte der Bodensäule getrieben wurde. Es wurde davon abgesehen, über die gesamte Tiefe zu beproben, um die Membran der Bodenplatte nicht zu beschädigen. Das Innenrohr mit dem Bohrkern wurde anschließend herausgedreht und das Außenrohr am unteren Ende mit einem eigens dafür angefertigten Verschluss abgedichtet, um zu verhindern, dass Luft in den wassergesättigten Bereich der Bodensäule eindringen kann. Der Verschluss ist so konstruiert, dass die beiden Dichtungsringe am oberen und unteren Ende des Stopfens beim Verschrauben auseinandergedrückt werden und das Bohrloch abdichten (Abb. A14 im Anhang).

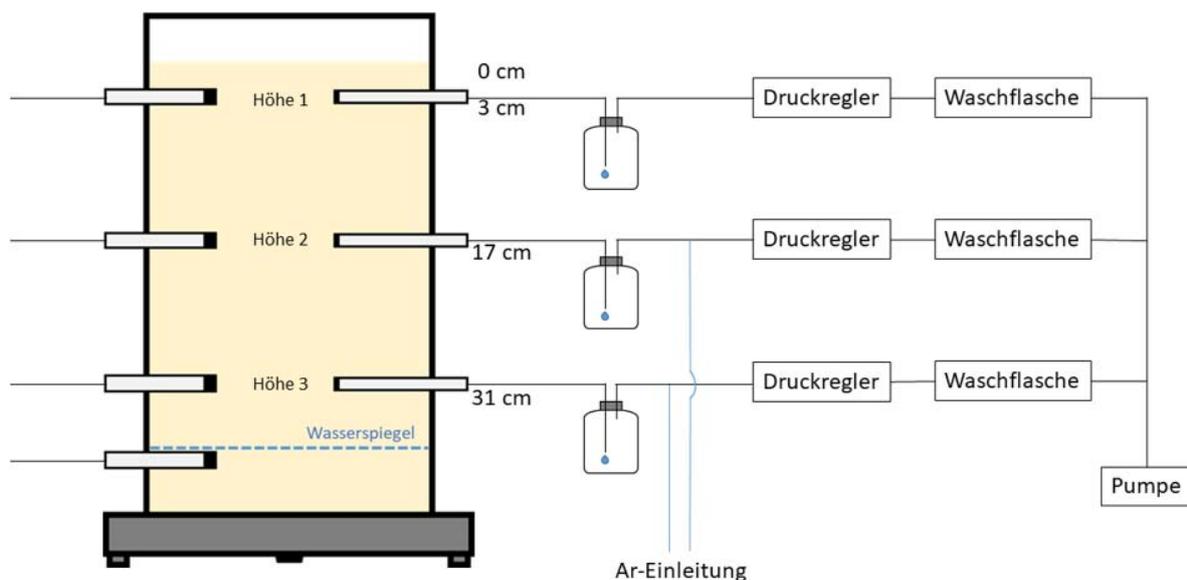


Abb. 20: Schematische Darstellung des Probenahmesystems für die Entnahme von Porenwasserproben über die Saugkerzen im Lysimeter (aus: Diss. Mandel 2021).

Ergebnisse

Iod (^{125}I)

Die Porenwasserproben wurden 62, 102, 166 und 209 Tage nach Zugabe des Tracers aus den drei Tiefen entnommen und auf ihren Gehalt an ^{125}I -Gehalt, sowie mittels Kopplung von IC-ICP-MS das Verhältnis von Iodat zu Iodid untersucht. Abb. 21 und Tab. A16 im Anhang zeigen die Ergebnisse der Messungen.

Erwartungsgemäß ist nach etwa zwei Monaten Laufzeit ab Tracer-Zugabe der erste größere Anstieg der Aktivitätskonzentration mit rund 410 Bq mL^{-1} in Tiefe 3 zu beobachten. Aber auch in Tiefe 1, also 3 cm unterhalb der Bodenoberfläche, wurden zu diesem Zeitpunkt bereits fast 3 Bq mL^{-1} gemessen. Ein Maximum ist für Tiefe 2 und 3 gut 100 Tage nach Tracer-Zugabe mit ca. 480 Bq mL^{-1} und ca. 1970 Bq mL^{-1} erreicht. In beiden Tiefen nahmen die Konzentrationen während der folgenden 100 Tag wieder ab, während die Proben aus Tiefe 1 einen weiteren Anstieg der enthaltenen Tracer-Menge aufweisen. Der Anteil an Iodat im Porenwasser nimmt von unten nach oben zu, ist jedoch im Vergleich zum Iodid gering, was aufgrund der herrschenden Redoxverhältnisse zu erwarten ist. Abgesehen davon ist über den betrachteten Zeitraum eine Zunahme des Iodat/Iodid-Verhältnisses zu beobachten.

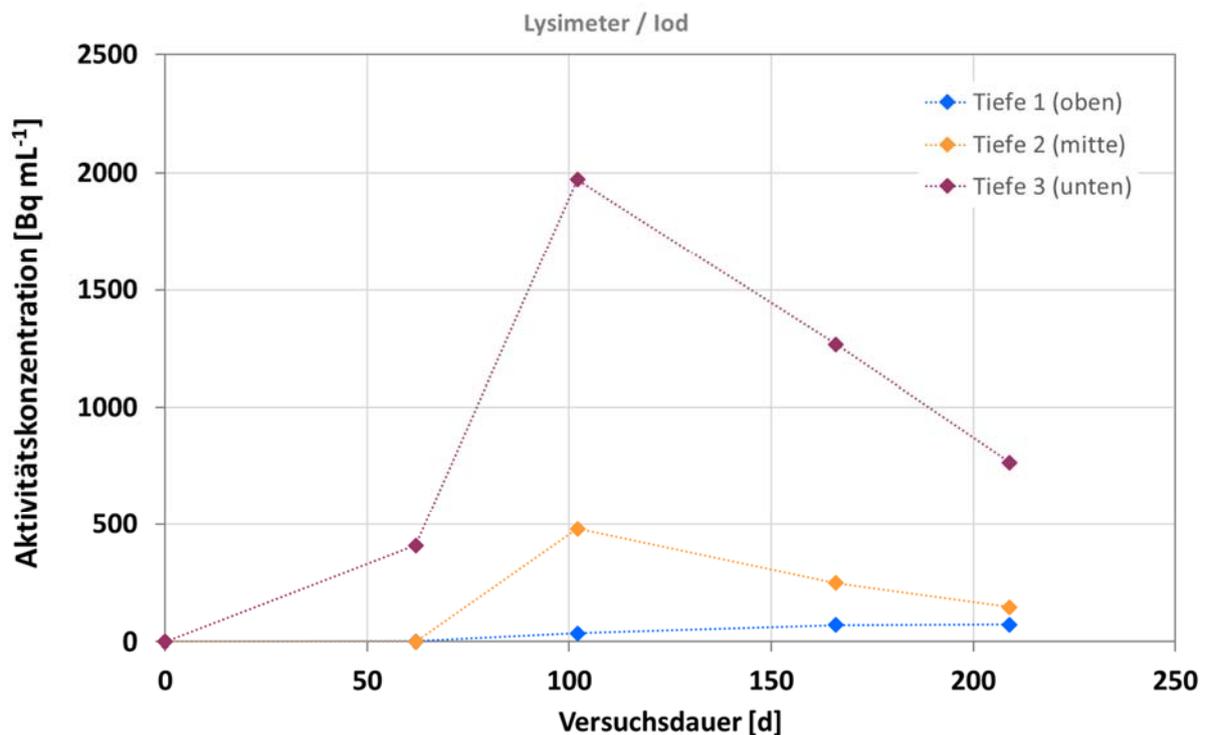


Abb. 21: ^{125}I -Konzentration des Porenwassers im Lysimeter mit zunehmender Zeitdauer nach der Tracerzugabe (Unsicherheiten kleiner als Markierungspunkte).

Der 167 Tage nach der Tracer-Zugabe entnommene Bohrkern zeigt die in Abb. 22 dargestellte Verteilung für ^{125}I . Diese lässt erkennen, dass in dem betrachteten Zeitraum eine nicht unbedeutende Menge des Tracers mit dem Porenwasser in der Bodensäule aufwärts transportiert wurde. Das Konzentrationsmaximum liegt mit $3740 \pm 78 \text{ Bq g}^{-1}$ in einer Tiefe von 8-12 cm unter der Oberfläche, also oberhalb der mittleren Entnahmetiefe für Porenwasser. Auch das Segment darüber (4-8 cm Tiefe) weist mit $1738 \pm 49 \text{ Bq g}^{-1}$ eine hohe ^{125}I -Konzentration auf. Die Tracerzugabe erfolgte in einmaliger Gabe als 'Puls' über den Zulauf an der Bodenplatte und stellt somit eine Punktquelle dar, von der aus der Tracer sich ausbreitet. Die Ergebnisse für das Porenwasser zeigen sehr deutlich den Aufwärtstransport über die Zeit.

Im Vergleich dazu war bei den Versuchen mit den Durchlaufsäulen (II.1.2.2.) bei RefeSol-01A die größte Tracer-Menge im untersten 2 cm-Segment gefunden worden. Transport in weiter

oben liegende Segmente hatte nur zu geringen Konzentrationserhöhungen geführt, das aufgefangene Porenwasser enthielt lediglich ca. 1 % der zugegebenen Tracer-Menge. Die Säulen hatten jedoch auch eine wesentlich kürzere Laufzeit (3 Wochen), wobei der Tracer erst während der zweiten Woche zugegeben wurde, und waren vollständig wassergesättigt.

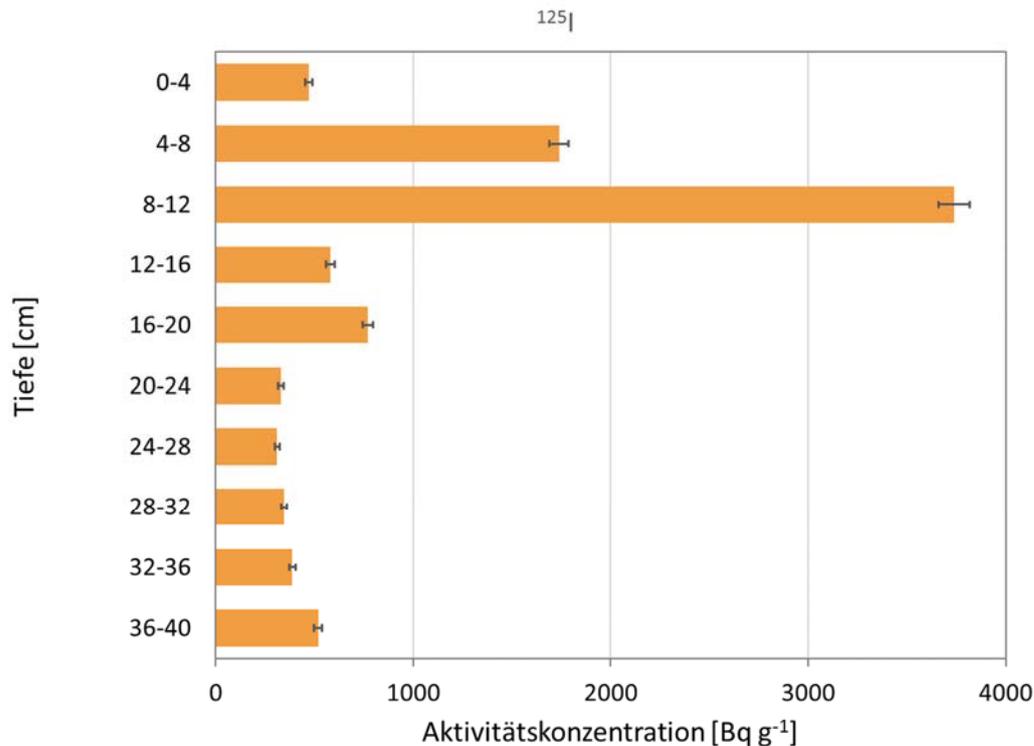


Abb. 22: Tiefenabhängige ¹²⁵I-Konzentration der Bohrkern-Proben im Lysimeter.

Der Tracer wurde in Form von Iodid zugegeben, das eine hohe Mobilität im Grundwasser aufweist [Santschi und Schwehr 2004], aber auch eine große Neigung hat, sich an organische Substanz zu binden, wobei Bodenmikroorganismen eine wesentliche Rolle spielen (vergl. II.1.2.1.). Shetaya et al. zeigten, dass anorganisches Iod im Boden relativ schnell in organische Verbindungen überführt wird, sowohl in lösliche, als auch in feste [Shetaya et al. 2012]. Denkbar ist, dass eine maßgebliche Festlegung von Iod erst im oxischen Bereich des Lysimeters durch aerobe Mikroorganismen, die I⁻ oxidieren, stattfindet [Amachi et al. 2005]. Die Aufzeichnungen der Redox-Sonden für die Tiefe 31 cm (Abb. A1 im Anhang) ergaben für die gesamte Laufzeit Werte zwischen ca. 150 und 300 mV, d.h. in diesem Bereich war kein Sauerstoff nachweisbar. Amachi et al. fanden, dass anaerobe Mikroorganismen die Mobilität von Iod im Boden weder behindern noch beschleunigen [Amachi et al. 2010].

Technetium (⁹⁹Tc)

Die Entnahme von Porenwasser beim Technetium-Lysimeter fand 40, 84, 88, 114, 152 und 166 Tage nach Tracer-Zugabe statt. Die Ergebnisse sind in Abb. 23 und Tab. A17 im Anhang dargestellt. Die Migration von ⁹⁹Tc zeigt einen ähnlichen Verlauf wie die des ¹²⁵I. Zunächst war

in Tiefe 3 (31 cm) ein deutlicher Anstieg zu beobachten, der mit $33,7 \pm 0,2 \text{ Bq mL}^{-1}$ ein Maximum nach 84 Tagen Laufzeit erreichte. Danach nahm die Tracer-Konzentration im Porenwasser wieder ab, während sie an den höher liegenden Probenahmestellen weiter zunahm.

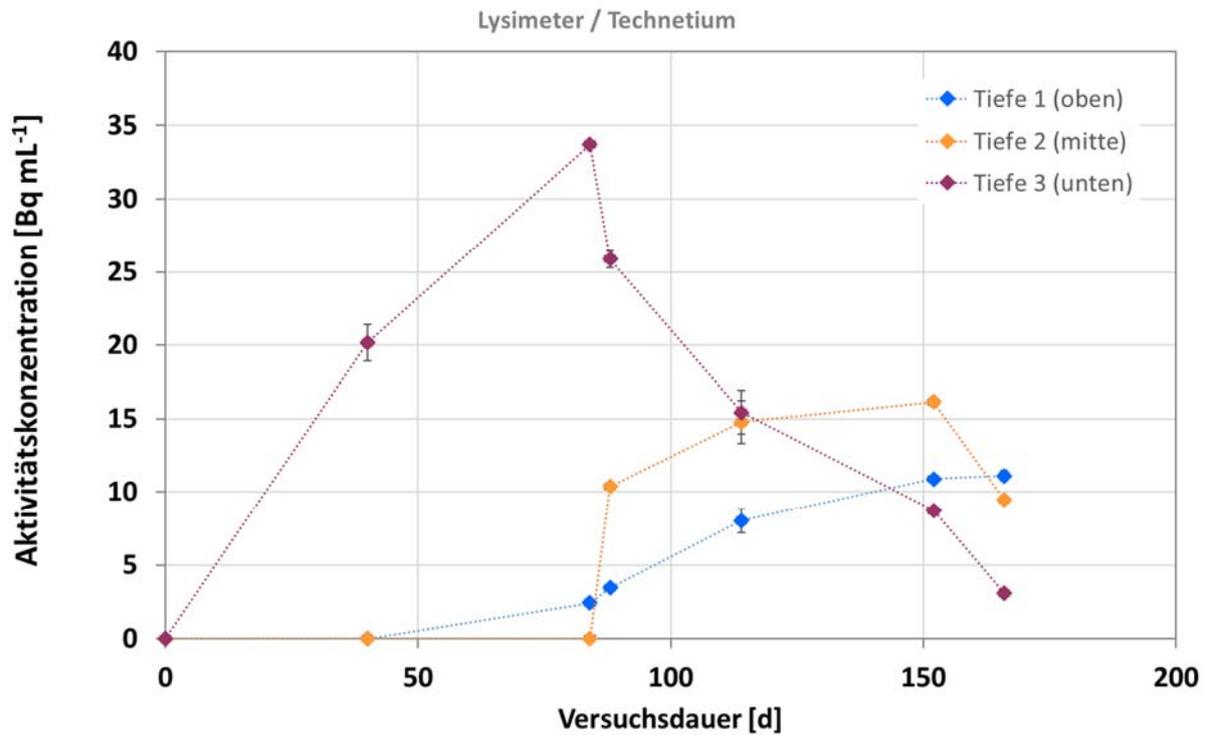


Abb. 23: ⁹⁹Tc-Konzentration des Porenwassers im Lysimeter mit zunehmender Zeitdauer nach der Tracerzugabe.

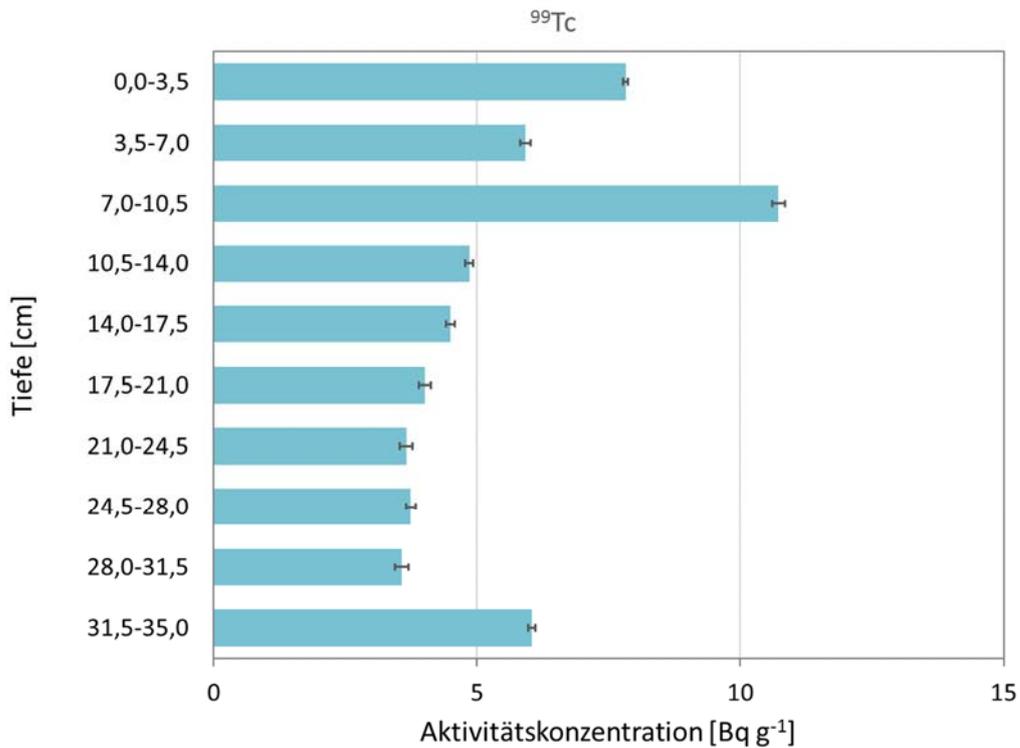


Abb. 24: Tiefenabhängige ⁹⁹Tc-Konzentration der Bohrkern-Proben im Lysimeter.

Aus der Verteilung im Bohrkern (Abb. 24) ist, wie schon beim Iod, ersichtlich, dass eine größere Menge des eingesetzten Tracers (ca. ein Viertel im Bereich 0-14 cm) in das obere Drittel der Bodensäule verlagert wurde.

Diese Ergebnisse stellen eine Fortsetzung der bereits beobachteten Verteilung des Tracers in den Säulenversuchen (II.1.2.2.) dar. Dort waren für RefeSol-01A rund 88% des zugegebenen ^{99}Tc im ablaufenden Porenwasser wiedergefunden worden. Die sequentielle Extraktion von Bohrkernproben aus den Tiefenstufen der Eh-Sonden zeigte, dass der größte Teil des Tracers in der oberflächennahen Schicht in einer leicht austauschbaren bzw. mobilen Fraktion (mit $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{ CaCl}_2$ -Lösung extrahiert), also als Pertechnetat vorlag, während ein wesentlich geringerer Anteil mit CH_3COOH extrahiert wurde. In der mittleren Tiefenstufe war der Anteil an CaCl_2 -extrahierbarem Tc(VII) immer noch ca. viermal höher als der des weniger leicht austauschbaren Tc(IV) , während die Anteile für die beiden Fraktionen in der untersten Tiefe nahezu gleich groß waren [Diss. Mandel 2021].

Plutonium (^{238}Pu) und Americium (^{243}Am)

Für die mit ^{238}Pu und ^{243}Am getracerten Lysimeter konnte für den Tracer-Gehalt des beprobten Porenwassers kein Wert oberhalb der Nachweisgrenze ermittelt werden. Auch die Proben aus dem Bohrkern des Americium-Lysimeters ergaben keine messbaren Werte. Hier sind daher lediglich die Ergebnisse für die Messung der Bohrkernproben des Plutonium-Lysimeters dargestellt (Abb. 25 und Tab. A18 im Anhang).

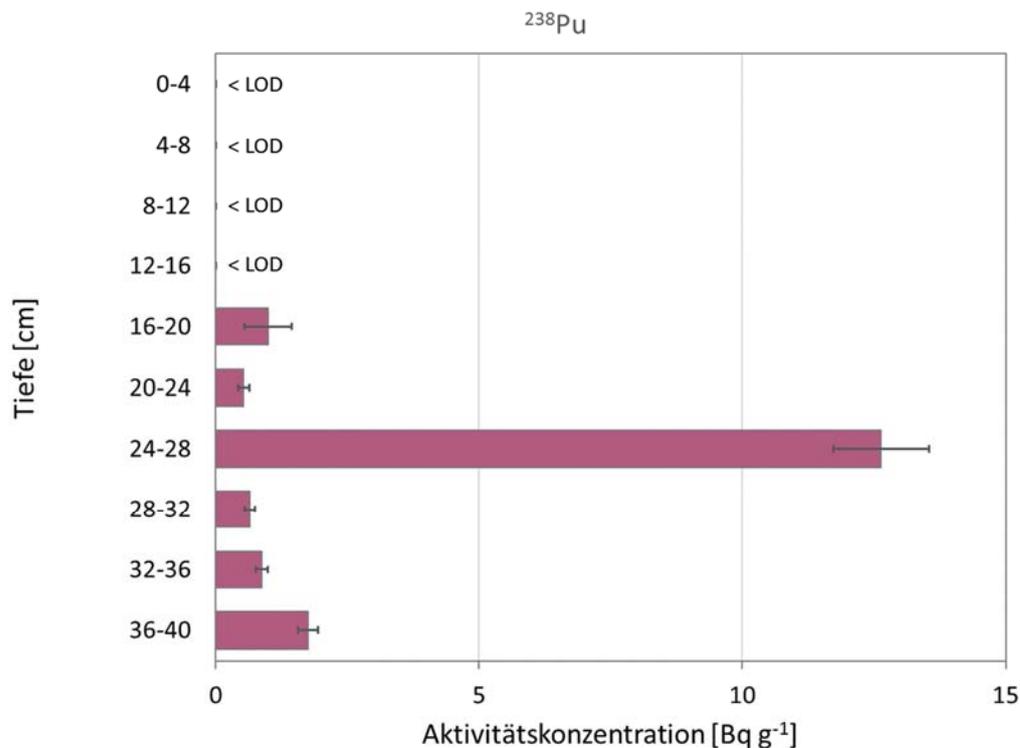


Abb. 25: Tiefenabhängige ^{238}Pu -Konzentration der Bohrkern-Proben im Lysimeter.

Das Profil des Bohrkerns zeigt eine geringe Verlagerung des zugegebenen Tracers bis in eine Tiefe von 16 cm. Oberhalb davon lagen alle Messwerte unterhalb der Nachweisgrenze. Ein Maximum zeigt die Schicht in 24-28 cm Tiefe mit einer ^{238}Pu -Konzentration von $12,6 \pm 0,9 \text{ Bq g}^{-1}$ Boden. Da die einzelnen Segmente insgesamt niedrige Aktivitätskonzentrationen bzw. Werte unterhalb der Nachweisgrenze aufwiesen, kann davon ausgegangen werden, dass sich die restliche zugegebene Tracer-Menge ($> 99\%$) in den verbliebenen untersten 5 cm der Bodensäule befinden, die wegen der porösen Platte von der Probenahme ausgespart wurden. Dies kann durch die starken Sorptionseffekte von Plutoniumspezies an Mineraloberflächen erklärt werden. Dennoch kann, wie bei den Durchlaufsäulen (II.1.2.2.) ein Transport von geringen Plutonium-Mengen bis 16 cm Tiefe beobachtet werden. Der 'peak' in 24-28 cm Tiefe spricht dabei für einen Effekt, bei dem vergleichsweise mobiles Pu(V) in einem Bereich des Lysimeters, in dem reduzierende Bedingungen vorherrschen, immobilisiert wird (vergl. Pottgießer 2021).

Zusammenfassung

Die untersuchten Referenzböden lassen sich nur bedingt in die von der IAEA vorgeschlagenen 'soil groups' einordnen. Vergleicht man trotzdem die in diesem Projekt ermittelten K_d -Werte mit denen aus der IAEA-Sammlung für Sand- und Lehmböden, so liegen diese weitgehend in der Spanne, die in der IAEA-Datensammlung angegeben wird. Allerdings ist der Bereich, in dem die im Projekt ermittelten Ergebnisse für Iod liegen, trotz der großen Unterschiede zwischen den RefeSols und des großen Konzentrationsbereichs wesentlich enger, während die K_d -Werte für ^{99}Tc durchgehend eine halbe bis eine Größenordnung über denen der IAEA lagen. In den wassergesättigten Durchlaufsäulen wurde für die kationischen Radionuklide kein (Am) oder ein sehr geringer (Pu) Transport beobachtet. Für ^{238}Pu war das Zusammenspiel von Ton und C_{org} -Gehalt entscheidend für die Migration durch die Säule. Für ^{125}I wurden, abhängig von der DOC-Menge, erhebliche Anteile des Tracers im Porenwasser wiedergefunden. Am höchsten lag dieser bei RefeSol-03G, dessen DOC-Gehalt im Porenwasser den aller übrigen Referenzböden bei Weitem übertraf. Für die mit ^{99}Tc markierte Säule zeigte sich genau der umgekehrte Effekt: hier war die Tracermenge im Porenwasser bei RefeSol-03G am niedrigsten, die Sorption in den Bodenschichten, insbesondere im oberen Drittel, am höchsten. Der Grund dafür liegt bei diesem sehr nährstoffreichen Bodenmaterial aller Wahrscheinlichkeit nach im zunehmenden Sauerstoffverbrauch durch Mikroorganismen bei fortschreitendem Säulendurchgang und der daraus folgenden Reduktion des Tc(VII) zu Tc(IV) . Bei den übrigen drei Referenzböden lief der Tracer zu $>80\%$ mit dem Porenwasser ab. In den Lysimeterversuchen wurden die Ergebnisse aus den Säulen für RefeSol-01A größtenteils bestätigt, jedoch mit der Einschränkung, dass der ^{125}I -Tracer sich über den langen Zeitraum im teilgesättigten Lysimeter als wesentlich mobiler erwies und ein großer Teil des Tracers in das obere Drittel der Bodensäule verlagert wurde. Wesentliche Einflussgrößen für die Migration im Boden (Unterschiede in Versuchsdauer, Masse:Volumen-Verhältnis, Ausmaß der Wassersättigung, und damit Redox-Bedingungen, und Mikroorganismenaktivität), gerade für die Radionuklide, die in Anionen-Form vorliegen, kommen bei der Bestimmung von K_d -Werten nicht zum Tragen.

II.1.3. Aufnahme von Radionukliden in die Pflanze

Die Aufnahme von Radionukliden in die Pflanze wurde in drei Versuchsreihen analysiert. Zum einen wurde der Transfer der zugegebenen Tracer in unterschiedliche Pflanzenkompartimente makroskopisch in Gefäßversuchen untersucht (Transferfaktoren). Zusätzlich wurde die Aufnahme von Iod und Technetium mit orts aufgelösten massenspektrometrischen Methoden auf der Zellebene dargestellt. Und weiterhin wurde die Beteiligung verschiedener Metabolitransporter bei der Aufnahme in die Wurzel geprüft (IfB).

II.1.3.1. Gefäßversuche

Kulturführung

Alle im Projekt untersuchten Pflanzen (Abb. 26) wurden in handelsüblichen Kunststofftöpfen ($\varnothing = 18 \text{ cm}$, $h = 16,5 \text{ cm}$) angezogen. Da Iod bekanntermaßen eine hohe Bindungsaffinität gegenüber organischem Material, also auch Kunststoffen zeigt, wurden die Pflanztöpfe vor ihrer Verwendung für mehrere Tage in einer Wanne mit KI-Lösung ($10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) vorbehandelt. Die lufttrocken gelieferten RefeSol-Böden wurden im Vorfeld von Hand angefeuchtet, gut durchmischt und mindestens einen Tag gelagert. Die Aufwandmenge pro Topf betrug durchschnittlich 1800 g (lutro). Ein Satz Pflanzen bestand aus 18-22 Exemplaren, von denen die 15 besten für den eigentlichen Versuch ausgewählt wurden. Die Pflanzen wurden zunächst in einer begehbaren Phytokammer der Fa. ThermoTEC, Weilburg GmbH & Co. KG (Sonderanfertigung), angezogen. Je nach Spezies wurden die Pflanzen dann nach 9 - 16 Wochen für die Tracerzugabe in Klimaschränken der Fa. Weiss Typ Fitotron SGC120 im Kontrollbereich untergebracht.



Abb. 26a: Karottenanzucht für Gefäßversuche.



Abb. 26b: Erbsenanzucht für Gefäßversuche.



Abb. 26c: Kartoffelanzucht für Gefäßversuche.



Abb. 26d: Weizenanzucht für Gefäßversuche.

Versuchsdurchführung

Für die eigentlichen Versuche wurden die vorgezogenen Pflanzen in den Kontrollbereich überführt und in Klimaschränken (s.o.) im Langtag (16 h) bei Tag-/Nachttemperaturen von 20/15 °C und 55 % rel. Luftfeuchte weiterkultiviert. Jeder Topf stand in einer Kristallisierschale, der etwa 2 cm hoch mit Sand gefüllt war, um eine Wasserzufuhr von unten zu ermöglichen. Sowohl die Zugabe der Tracer, wie auch die des Gießwassers bzw. der Nährlösung, die nach Bedarf verabreicht wurde, erfolgte durch Überstauen der sandgefüllten Schale, um die Wasseraufnahme durch Kapillaraufstieg zu simulieren. In Vorversuchen mit einem Farbtracer hatte sich gezeigt, dass das zugegebene Wasser innerhalb von wenigen Minuten über die Löcher im Topfboden in das Pflanzsubstrat aufgenommen wird. Tabelle 5 enthält die pro Pflanze verwendeten Tracer-Mengen. Die Zugabe der Tracer erfolgte jeweils in 200 mL 0,01 M CaCl₂-Lösung als einmalige Applikation pro Topf in die Kristallisierschale. Die Zusammensetzung der im Bedarfsfall verabreichten Nährlösung findet sich im Anhang (Tab. A19).

Tab. 5: Pro Pflanztopf applizierte Tracer-Menge.

Radionuklid	Aktivität [Bq]
¹²⁵ I	200
⁹⁹ Tc	5
²³⁸ Pu	7,5
²⁴³ Am	20

Die Ernte der getracerten Pflanzen erfolgte, je nach Kultur, nach 5 (Erbsen) bis 9,5 Wochen (Weizen). Dabei wurden sie jeweils in Wurzeln, Blätter und essbare Anteile zerlegt. Die Weizenkörner wurden von den Spelzen befreit, die Erbsenschoten wurden den Blättern zugeschlagen. Die Probenvorbereitung und Messung erfolgte nach den in Kapitel II.1.1. beschriebenen Methoden.

Ergebnisse der Gefäßversuche

Die Transferfaktoren für ¹²⁵I, ⁹⁹Tc, ²³⁸Pu und ²⁴³Am wurden für die einzelnen Pflanzenkompartimente bestimmt und sind in Abb. 27-30 und Tab. A20 (Anhang) dargestellt. Mit wenigen Ausnahmen wurde der niedrigste TF für den essbaren Teil aller Pflanzen ermittelt. ⁹⁹Tc, das von den vier untersuchten Radionukliden auch den höchsten Gesamttransfer von Boden zu Pflanze aufweist, wurde in den Pfahlwurzeln von Karotten in hohen Mengen gefunden und zeigt für RefeSol-01A und RefeSol-03G Transferfaktoren von $21,9 \pm 6,7$ bzw. $57,5 \pm 20,2$. Ebenso war der Tc-Gehalt von Kartoffeln in RefeSol-01A erhöht und lag bei $13,0 \pm 7,3$. Damit lagen die Werte um ein bis zwei Größenordnungen höher als bei den anderen Pflanzen bzw. Radionukliden. Hier wurden TF im Bereich von $5,0 \cdot 10^{-4} \pm 1,0 \cdot 10^{-4}$ bis $4,14 \pm 1,04$ gefunden. Vier Messwerte lagen unterhalb der Nachweisgrenze.

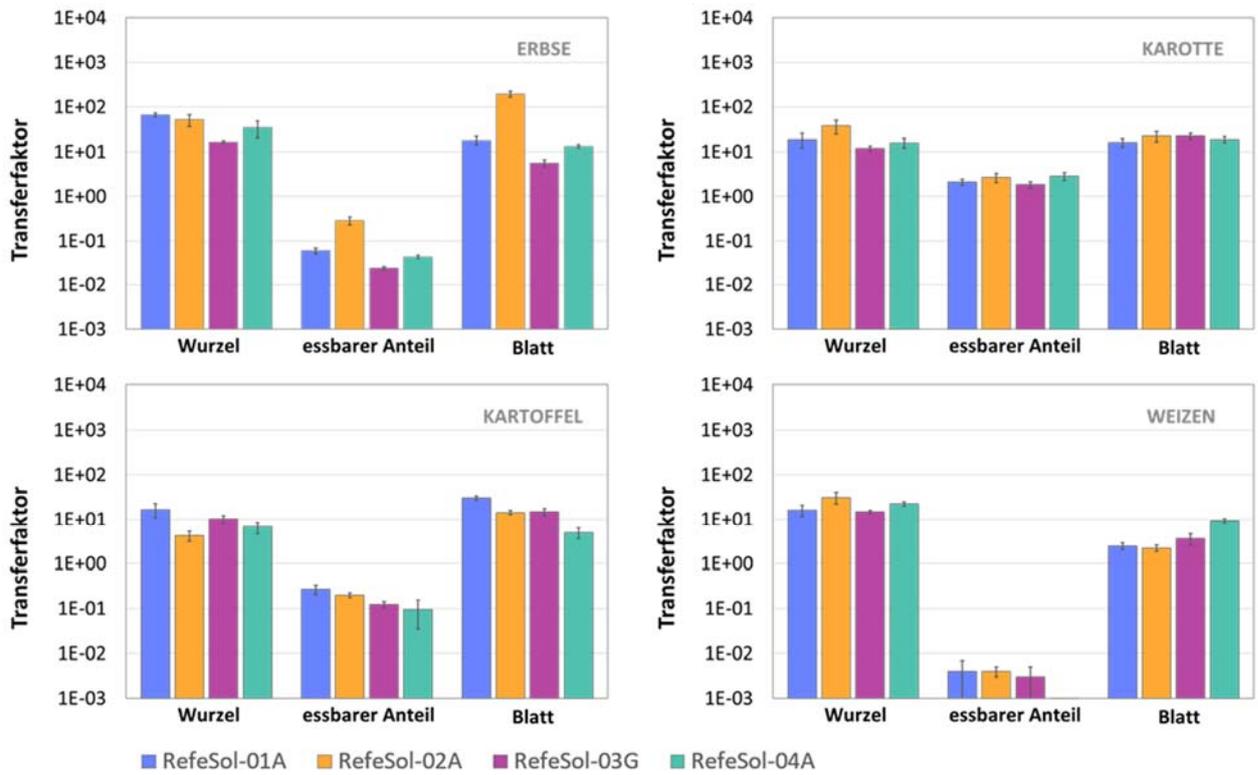


Abb. 27: TF für ^{125}I in verschiedenen Pflanzenkompartimenten für alle Pflanzen und Böden.

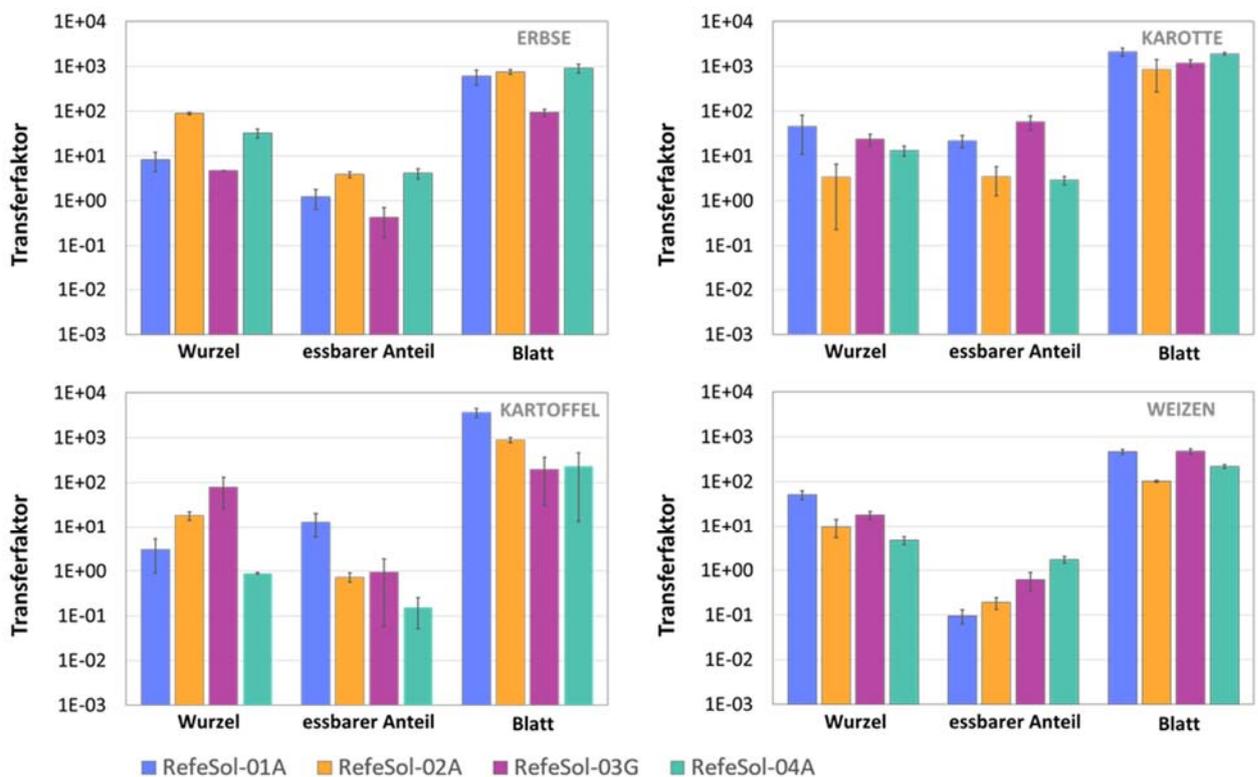


Abb. 28: TF für ^{99}Tc in verschiedenen Pflanzenkompartimenten für alle Pflanzen und Böden.

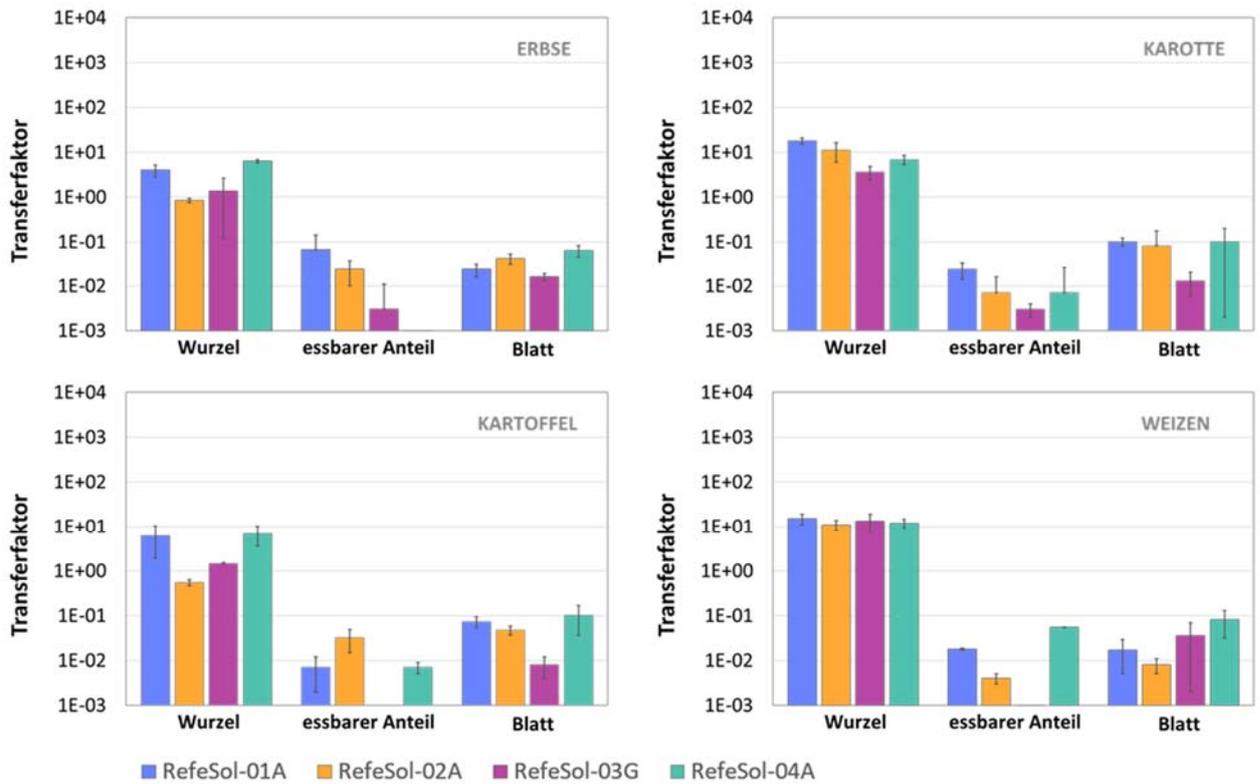


Abb. 29: TF für ^{238}Pu in verschiedenen Pflanzenkompartimenten für alle Pflanzen und Böden.

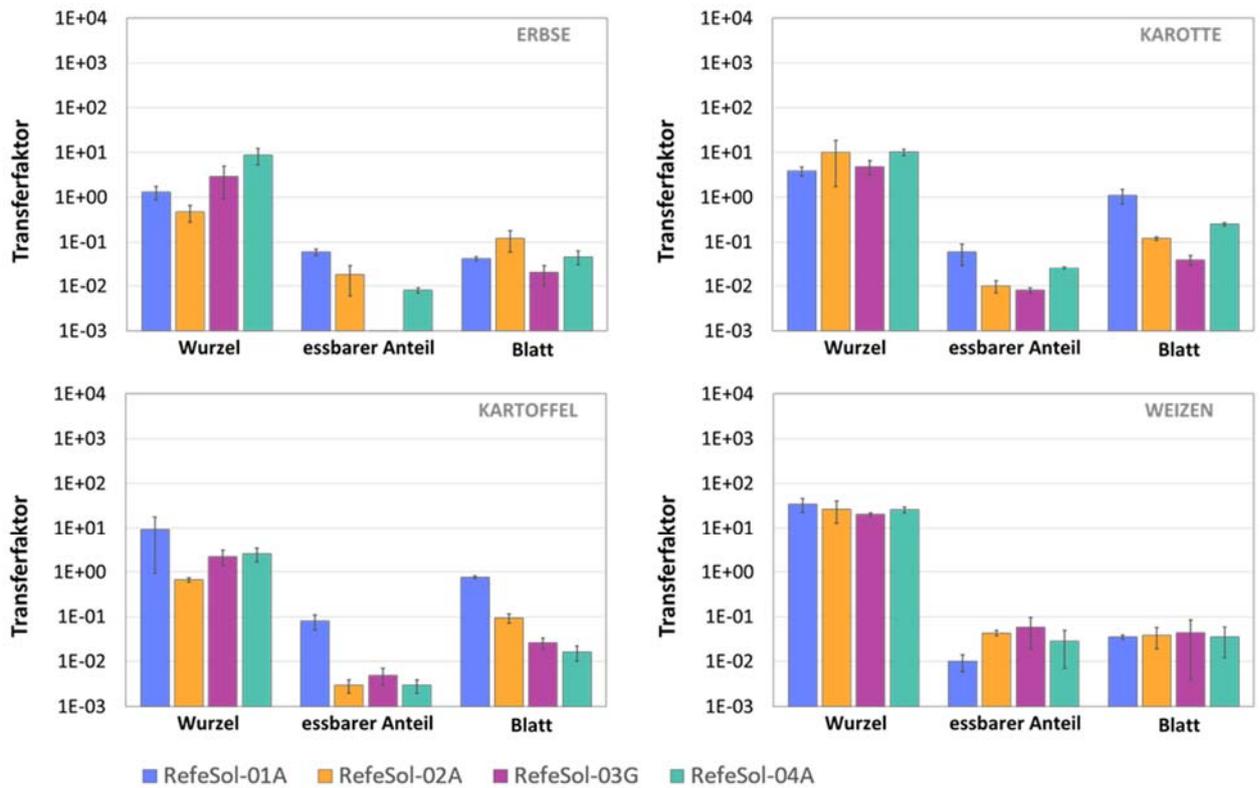


Abb. 30: TF für ^{243}Am in verschiedenen Pflanzenkompartimenten für alle Pflanzen und Böden.

Die insgesamt geringste Mobilität innerhalb der Pflanzen wurde für Plutonium und Americium festgestellt. Hier wurden für alle Pflanzen und Böden die höchsten Transferfaktoren für die Wurzeln gefunden, während die für die Blätter mit Werten von $8,0 \cdot 10^{-3} \pm 3,0 \cdot 10^{-3}$ bis $0,35 \pm 0,1$ (Pu) bzw. $1,6 \cdot 10^{-2} \pm 0,6 \cdot 10^{-2}$ bis $1,1 \pm 0,4$ (Am) ein bis drei Größenordnungen unter denen der Wurzeln lagen. Schwermetalle, wie Americium und Plutonium stellen keine Homologe für Pflanzennährstoffe dar, wie etwa Caesium und Strontium. Wie Blei werden sie von der Pflanze zwar aufgenommen, aber nicht in größeren Mengen in die oberirdischen Pflanzenteile weitertransportiert. Durch Komplexbildner kann die Aufnahme erhöht werden. So stellten Lee et al. für *Brassica juncea* (Brauner Senf) und *Helianthus annuus* (Sonnenblume) fest, dass die Aufnahme von Plutonium zwar gering war (Spross: TF $0,83 \pm 0,2 \cdot 10^{-2}$ bis $19,45 \pm 4,34 \cdot 10^{-2}$), jedoch durch die Zugabe von DTPA (Diethylen-Triamin-Pentaessigsäure) als Komplexbildner wesentlich erhöht werden konnte [Lee et al. 2000]. Cataldo et al. fanden, dass Plutonium in komplexierter Form im Xylem von Sojabohnen transportiert wurde [Cataldo et al. 1988].

Für Iod gab es kaum Unterschiede zwischen dem Transfer in Wurzeln und Blättern. Abgesehen von Erbse in RefeSol-02A, bei der der TF für die Blätter mit $196,7 \pm 29,2$ deutlich über dem der entsprechenden Wurzelfraktion lag ($51,8 \pm 15,1$), und den Weizenpflanzen bei denen die TF für die Wurzeln bis zu 14mal höher lagen als die der Blätter, waren die TF für Blatt und Wurzel jeweils gleich oder lagen sehr nah beieinander.

Der Mechanismus der Aufnahme von Iodid durch Pflanzenwurzeln wird noch diskutiert [Gonzali et al. 2017]. Obwohl Iod nicht als essentieller Mikronährstoff für höhere Pflanzen eingestuft wird, haben Biofortifikationsversuche gezeigt, dass die Zufuhr von Iod in niedriger Konzentration den Ertrag und den Gehalt an Antioxidantien in Gemüsepflanzen erhöht [Medrano-Macías et al. 2016]. Es wird also sowohl eine spezifische als auch eine unspezifische Aufnahme über verschiedene Transporter vermutet [Weng et al. 2008; Kato et al. 2013]. Nach der Aufnahme in die Wurzel wird Iod überwiegend im Xylem zu den oberirdischen Pflanzenteilen transportiert, obwohl Ergebnisse aus Studien zur Iodaufnahme über die Blätter auch auf einen Phloemtransport hindeuten [Landini et al. 2011].

Die mit Technetium markierten Pflanzen wiesen eine ganz andere Verteilung des Tracers in den einzelnen Kompartimenten auf. Neben den oben erwähnten hohen Werten für die essbaren Teile von Karotte und Kartoffel lagen die für die Blätter gemessenen ^{99}Tc -Konzentrationen mehrere Größenordnungen über denen der Wurzeln. Die höchsten Werte wurden für Kartoffelblätter in RefeSol-01A (3675 ± 852) ermittelt, sowie für Karottenblätter in RefeSol-01A (2131 ± 426), in RefeSol-04A (1898 ± 136) und RefeSol-03G (1180 ± 215). Die Werte für das Wurzel-Kompartiment bewegten sich zwischen TF = $0,89 \pm 0,04$ und TF = $88,9 \pm 5,6$.

Der Mechanismus der Per technetat-Aufnahme, die schnell erfolgt und kinetische Merkmale der Nährstoffaufnahme aufweist [Cataldo et al. 1983; Van Loon et al. 1989], wird ebenfalls noch diskutiert. Sowohl der Transport mit dem Transpirationsstrom und damit die passive Absorption als Gegenion für K^+ [Tagami und Uchida 2005] als auch die Aufnahme von Per technetat über verschiedene Transporter, wie Sulfat- (SO_4^{2-}), Phosphat- ($\text{H}^+/\text{H}_2\text{PO}_4^-$) oder Nitrat- ($2\text{H}^+/\text{NO}_3^-$) Transporter [Bennett & Willey 2003], werden für möglich gehalten. Die Aufnahme in die Pflanze wird durch die hohe Mobilität von Per technetat im Boden begünstigt. In unseren Versuchen waren die Tracerlösungen nicht sauerstofffrei, so dass eine Umwandlung von Technetium in unlösliche Tc(IV) -Präzipitate und/oder Kopräzipitate sehr unwahrscheinlich war. Die Verfügbarkeit von Technetium hängt sehr stark vom Wasserhaushalt des Bodens ab. Bei

einer Überflutung, wie sie in den Säulenexperimenten simuliert wurde, würde die Aufnahme durch die Pflanzen zumindest in RefeSol 03-G behindert werden. Das ist aber für Getreide und Gemüsekulturen kein wünschenswerter Zustand.

II.1.3.2. Kryokonservierungsmethoden und orts aufgelöste Massenspektrometrie

Weiterführende Untersuchungen zur Aufnahme von ^{127}I und ^{99}Tc wurden mit orts aufgelösten massenspektrometrischen Verfahren durchgeführt. Ein Verfahren ist die Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS), mit der kürzlich die Möglichkeit gezeigt wurde, bei der Bestimmung von Iod in Braunalgen die Struktur auf zellulärer Ebene aufzulösen und gleichzeitig ein vollständiges Massenspektrum abzubilden [Lebeau et al. 2021].

Bei der Untersuchung von Elementen im Spurenbereich stört bei der SIMS allerdings der hohe Untergrund durch die Anwesenheit organischer Bestandteile, die mitgemessen werden. Hier kann dann auf die resonante-Laser-Sekundärneutralteilchen-Massenspektrometrie (rL-SNMS) zurückgegriffen werden, bei der es möglich ist, die isobaren Interferenzen zu unterdrücken und somit die Nachweisgrenze deutlich zu verbessern [Franzmann et al. 2017, 2018].

Für die Untersuchung der Verteilung von Iod und Technetium in der Pflanze wurden Karotten und Erbsen in RefeSol-03G aufgezogen und die Töpfe analog zu den beschriebenen Gefäßversuchen 8 (Erbsen) bzw. 11 (Karotten) Wochen nach der Aussaat mit Tracer beaufschlagt.

Im Rahmen einer Abschlussarbeit wurden zunächst Versuche mit üblichen Einbettungsverfahren, wie Polyethylenglykol (PEG) oder Epoxidharz durchgeführt [Masterarbeit Klose 2020]. Allerdings konnten damit keine Schnitte erzielt werden, die dünn genug für Messungen mit SIMS oder rL-SNMS waren. Daher musste auf eine aus der Histologie bekannte Methode zur Kryokonservierung zurückgegriffen werden, bei der die Proben mit flüssigem Stickstoff eingefroren und mit einem Kryomikrotom (CryoStar NX50; ThermoFisher Scientific) geschnitten werden. Zur Verhinderung von Zellschäden beim Einfrierungsprozess wurden die Proben in Anlehnung an ein Protokoll von Nishizawa et. al. (1993) zum Gefrierschutz vorbehandelt. Einzelheiten zu Einbettung und Messung werden an anderer Stelle veröffentlicht [Diss. Mandel 2021; Mandel et al. 2022] und können dort nachgelesen werden.

SIMS-Messungen von Iod

Durch die geänderte Probenvorbereitung war es möglich, nur 10 μm dicke Gewebeschnitte von Wurzeln und Blattstielen von Erbse und Karotte anzufertigen. Abb. 31 zeigt die Ergebnisse der SIMS-Messung solcher Schnitte von Erbsen und Karotten, die mit ^{125}I getracert wurden. Zur Visualisierung wurde das Totalionensignal als Graustufenbild hinterlegt und mit dem Iodid-Signal (m/z 126,9) in Rot überlagert.

Die Karottenwurzel (Abb. 31) weist, abgesehen vom Xylem, über den gesamten Querschnitt ein Iod-Signal auf. Im Blattstiel (Abb. 31 b) konzentriert sich das aufgenommene Iod konzentrisch, hauptsächlich im Parenchym, um das Xylem herum. Dagegen wird im Stützgewebe, dem Collenchym, kein Iod-Signal gemessen. Bei beiden Schnitten befindet sich kein Iod im Bereich des Xylems. Im Gegensatz dazu ist das aufgenommene Iod im Wurzelgewebe der Erbse (Abb. 31c) über den ganzen Querschnitt hinweg in allen Strukturen verteilt. Auch im Xylem ist das Signal messbar, jedoch nur in den Zellwänden. Auch beim Blattstiel der Erbse (Abb. 31d) ist das Iod-Signal in allen Bereichen erkennbar, wieder vornehmlich in den Zell-

wänden. Die unregelmäßig erscheinenden Strukturen in der Abbildung können auf die Markhöhle im Blattstiel zurückgeführt werden, die vom Gefrierschnittmedium nicht gut durchdrungen wird und sich beim Schneiden leicht verformt.

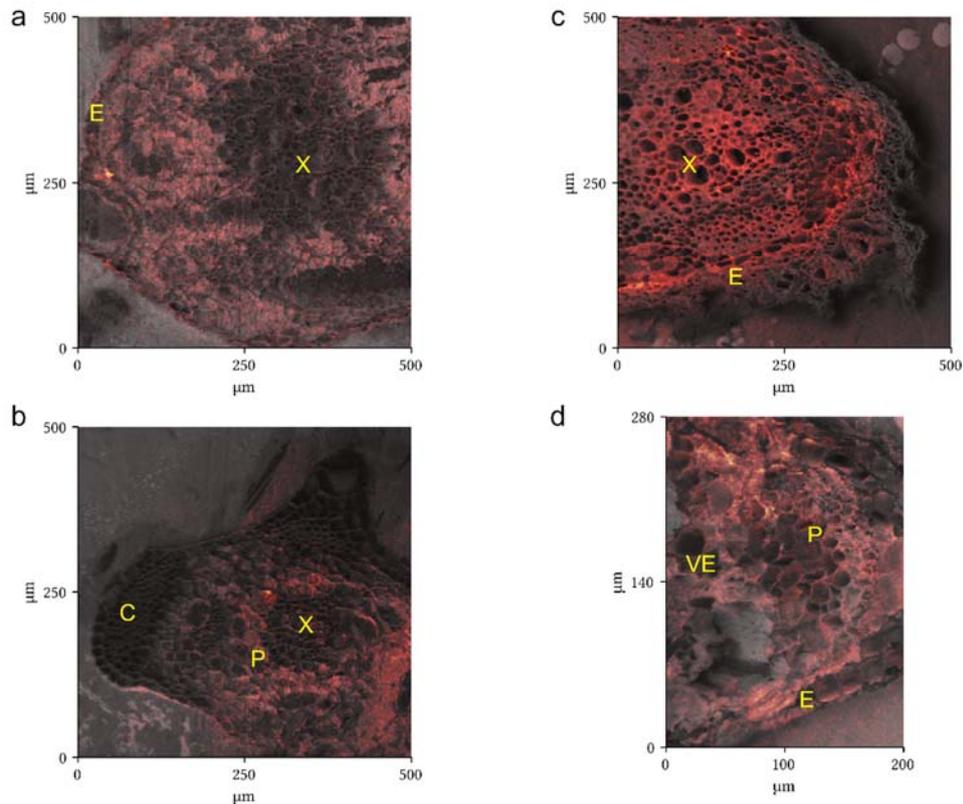


Abb. 31: Ionensignal von Iodid in der Pfahlwurzel (a) und im Blattstiel (b) einer Karotte und in der Wurzel (c) und im Blattstiel (d) einer Erbse. Die dazugehörigen Massenspektren sind in Abb. A15 im Anhang abgebildet. Das Iodid-Signal ist in Rot dargestellt. C: Collenchym, E: Epidermis, P: Parenchym, TK: Transportkanal, X: Xylem.

Sowohl für Karotte, als auch für Erbse wird mehr Iod in der (Pfahl)Wurzel gefunden als in den Blattstielen. Offensichtlich wird das Iodid im Anschluss an die Aufnahme in verschiedene Wurzelbereiche (bes. Parenchym) eingelagert und nur zu einem geringen Teil in die oberirdischen Pflanzenteile weitertransportiert. Dort lässt es sich um das Xylem herum an den Zellwänden nachweisen. Wird es dort eingelagert, ist der Weitertransport erschwert. In Gefäßversuchen konnte dies für unterschiedliche Pflanzenarten (Reis, Kohl, Tomate, Spinat etc.) gezeigt werden [Muramatsu et al. 1989; Weng et al. 2008; Weng 2013]. Ob das Iod aktiv oder passiv aufgenommen wurde, konnte an dieser Stelle nicht geklärt werden. Einige Untersuchungen legen nahe, dass Pflanzen Iod als Homolog von Chlorid aktiv aufnehmen [Gonzali et al. 2017; Humphrey et al. 2019]. Iod-Signale im Bereich des Parenchyms innerhalb der Zellen sprechen für einen aktiven Transportmechanismus.

SNMS-Messungen von Technetium

Wegen der Handhabung im Labor und zum Schutz der Pflanzen von Gewebeschäden (vergl. II.1.3.1.) musste die Konzentration des ^{99}Tc -Tracers mit $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ sehr niedrig angesetzt werden. Damit lag sie um eine bzw. vier Größenordnungen unter denen verschiedener Elemente, wie Gadolinium, Yttrium, Rubidium oder Caesium in Pflanzenproben, für die bei SIMS-Messungen Konzentrationen von $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ bis 10mmol L^{-1} verwendet wurden [Metzner et al. 2008; Saatz et al. 2016]. Deshalb wurden die ^{99}Tc -markierten nicht mit der SIMS, sondern mit der rL-SNMS gemessen.

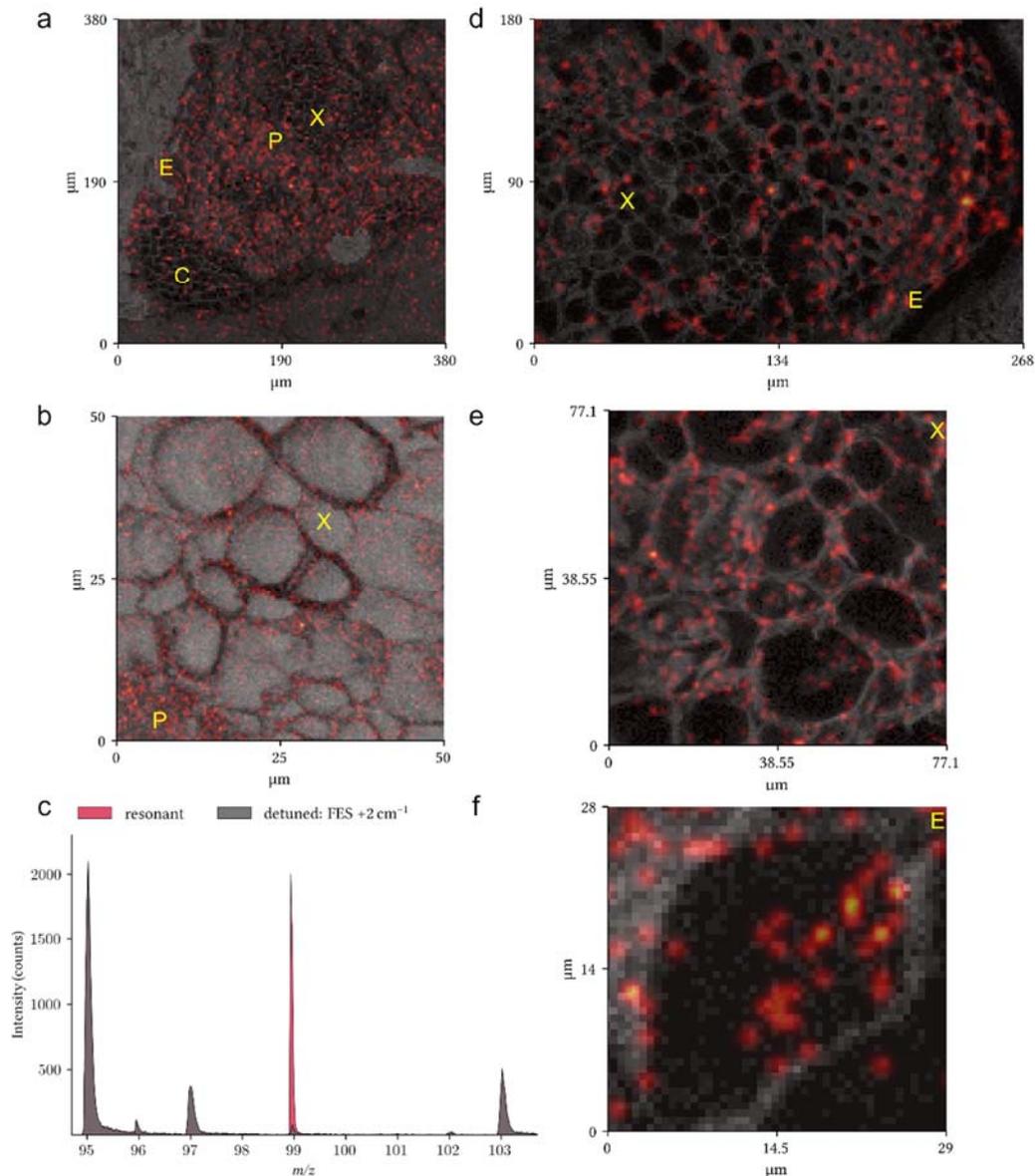


Abb. 32: Resonantes ^{99}Tc -Signal im Blattstiel (a), im Xylem des Blattstiels (b) und im Massenspektrum (c) einer Karotte, sowie im Blattstiel (d), im Xylem des Blattstiels (e) und einer Epidermiszelle (f) der Erbse. Die dazugehörigen Massenspektren sind in Abb.A16 im Anhang abgebildet. C: Collenchym, E: Epidermis, P: Parenchym, X: Xylem.

Abb. 32 zeigt die Ergebnisse der Messung von Querschnitten der Blattstiele einer Karotte und einer Erbse. Der Blattstiel der Karotte weist eine Akkumulation von ^{99}Tc um das Xylem herum auf, sowie im Bereich des Parenchyms und in der Epidermis. Ein niedriges Signal für ^{99}Tc wird auch im Collenchym detektiert (Abb. 32a). Der $50 \times 50 \mu\text{m}$ große Ausschnitt aus dem Randbereich des Xylems (Abb. 32b) offenbart, dass ein Großteil des ^{99}Tc aus den Zellwänden und nicht aus dem intrazellulären Bereich stammt. Außerdem zeigt sich eine erhöhte ^{99}Tc -Konzentration im Parenchym.

Der Querschnitt des Erbsen-Blattstiels weist ebenfalls ein erhöhtes Signal um das Xylem herum, im Parenchym und der Epidermis auf (Abb. 32d). Auch hier scheint der Tracer auf einzelne Zellen konzentriert zu sein und nicht großflächig über die gesamten zellulären Strukturen hinweg. Ein $77 \times 77 \mu\text{m}$ großer Ausschnitt aus dem Xylem (Abb. 32e) zeigt, dass das Signal auch hier größtenteils aus den Zellwänden stammt. In Abb. 32f ist eine einzelne Epidermiszelle von etwa $30 \mu\text{m}$ Durchmesser abgebildet. Sie lässt erkennen, dass das Signal sowohl von innerhalb, als auch von außerhalb der Zelle stammt.

Da kein passiver Stofftransport in den Epidermiszellen von der Wurzel in höhere Pflanzenstrukturen stattfindet, wie das im Xylem der Fall ist, lässt sich die Anwesenheit von ^{99}Tc innerhalb der Zelle nur durch einen aktiven Transport mittels Transporterproteinen erklären. Eine Vielzahl an Proteinen kommt hier als Transporter in Frage. Es wird angenommen, dass Aufnahme und Transport von ^{99}Tc mit dem Transport verschiedener Nährstoffe, wie Nitrat, Sulfat oder Phosphat, in Verbindung steht und zum Teil auch durch Chlorid-Transporter beeinflusst wird [Cataldo et al. 1986; Cataldo et al. 1989; Bennett und Willey 2003]. In den genannten Untersuchungen wurden die Rückschlüsse auf verschiedene Transportwege in der Regel über deterministische Beobachtungen getroffen, indem die Pflanze rückwirkend analysiert wurde. Bisher konnte der Aufnahmeprozess durch bzw. in die Zellen jedoch noch nie direkt und ortsaufgelöst bestimmt werden, wie in diesen Untersuchungen der Fall war.

Zusammenfassung

Die Ermittlung der Transferfaktoren für die untersuchten Radionuklide in den unterschiedlichen Referenzböden ergab für Americium und Plutonium die zu erwartenden, vergleichsweise niedrigen Werte, wobei diese für die Wurzeln der Versuchspflanzen am höchsten ausfielen. Unterschiede zwischen den RefeSols war vernachlässigbar. Letzteres trifft bis auf wenige Ausnahmen auch für die anionischen Tracer Iodid und Pertechnetat zu. Für Iod zeigten sich kaum Unterschiede zwischen dem Transfer in Wurzel und Blätter. Der Mechanismus der Aufnahme von Iodid durch Pflanzenwurzeln wird noch diskutiert, ebenso wie für Technetium, für das die Pflanzen eine ganz andere Verteilung des Tracers in den einzelnen Kompartimenten aufwiesen. Neben hohen Werten für die essbaren Teile von Karotte und Kartoffel lagen die für die Blätter gemessenen ^{99}Tc -Konzentrationen mehrere Größenordnungen über denen der Wurzeln. Die Aufnahme in die Pflanze wird durch die hohe Mobilität von Pertechnetat im Boden begünstigt. Mit Hilfe ortsaufgelöster Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS) bzw. resonanter Laser Sekundärneutralteilchen-Massenspektrometrie (rL-SNMS) gelang es, die Verteilung von Iod und Technetium in unterschiedlichen Pflanzengewebe sichtbar zu machen. Die Verteilung von ^{99}Tc in einer einzelnen Epidermiszelle aus einem Blattstiel einer Erbsenpflanze weist darauf hin, dass die Aufnahme von ^{99}Tc in die Pflanze aktiv über Transporter-Proteine stattfindet.

II.1.4. Beitrag von pflanzlichen Ionen transportern zur Aufnahme der langlebigen Radionuklide

II.1.4.1. Klonierung von Metabolitransportern

Eine Literaturrecherche führte zur Auswahl von vier pflanzlichen Metabolitransportern, welche teilweise bereits hinsichtlich ihrer Transporteigenschaft charakterisiert waren. Die ausgewählten Transporter waren der Glutamate Receptor-like 3.7 (GLR3.7) [Roy et al. 2008], der Phosphat/H⁺ Cotransporter 1.4 (PHT1.4) [Preuss et al. 2010], der Eisentransporter (Iron-Regulated Transporter, IRT1) [Connolly et al. 2002], sowie der Stickstofftransporter NRT1.1 [Guo et al. 2001]. Die Auswahl fiel auf diese Transporter, da sie ein breites Expressionmuster innerhalb der Pflanze aufweisen und in den Wurzeln exprimiert werden. Zudem wurde für diese Transporter bereits beschrieben, dass sie verschiedene Anionen oder Kationen transportieren können. So konnte für den GLR3 gezeigt werden, dass er Kationen wie Ca²⁺, Ba²⁺ und Na⁺ transportiert [Roy et al. 2008]. Der PHT1.4 kann neben Phosphat auch SO₄²⁻ und NO₃⁻ über die Membran bringen [Preuss et al. 2010]. Für den IRT1 wurde die Fähigkeit berichtet, neben Eisen auch Nickel zu transportieren [Nishida et al. 2011].

Die Proteine wurden aus der Modelnpflanze *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) in einen Expressionsvektor (psGEMHE-GW) für Oozyten kloniert. Für die Klonierung wurde das Gateway-System verwendet, und die erfolgreiche Klonierung wurde mit Hilfe von Sequenzierungen überprüft und verifiziert. Die Transporter AtGLR3.7, AtIRT1, AtPHT1.4 und AtNRT1 wurden so erfolgreich kloniert. Tabelle 6 zeigt die wahrscheinlich transportierten Ionen, sowie die im Trans-LARA Projekt verwendeten Radionuklide und die jeweiligen Transporter welche möglicherweise die Radionuklide transportieren können.

Tab. 6: Übersicht über die klonierten Metabolitransporter, die von ihnen transportierten Ionen, sowie Radionuklide, welche für die Aufnahme in Frage kommen.

PFLANZENTRANSPORTER	TRANSPORTIERTE IONEN	MÖGLICHE RADIONUKLIDE
AtGLR3.7	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , K ⁺ , Ba ⁺	Curium, Americium
AtIRT1	Fe ²⁺	Curium, Americium
AtPHT1.4	H ⁺ /P ⁻ , H ⁺ /Cl ⁻	Technetium
AtNRT1.1	N ⁻	Technetium

II.1.4.2. Expressionskontrolle pflanzlicher Metabolitransporter in Oozyten

Die Modellpflanze für die Klonierung war *A. thaliana*, welches keine Nutzpflanze ist. Um zu untersuchen, inwiefern die klonierten Transporter auch in den in Trans-LARA verwendeten Pflanzen exprimiert wird, wurden zunächst diejenigen mRNA-Sequenzen von Proteinen in den Nutzpflanzen gesucht, welche eine hohe Sequenzhomologie zu den *A. thaliana* exprimierten Transporter aufwiesen. Da das Genom der verwendeten Nutzpflanzen Karotte (*Daucus carota*), Kartoffel (*Solanum tuberosum*), Erbse (*Pisum sativum*) und Weizen (*Triticum aestivum* L.) zum Teil nicht vollständig und mit ausreichender Qualität sequenziert ist, konnten einige homologe Proteine nicht identifiziert werden. Für die mRNA-Sequenz der identifizierten homologen Proteine wurden Primer erstellt, um in einer anschließenden PCR (polymerase chain reaction) die Protein-Sequenz identifizieren zu können. Die Primer wurden so ausgewählt, dass sie, sofern möglich, Exon-übergreifend waren. Dies ermöglicht die Unterscheidung, ob genomische DNA oder tatsächlich mRNA amplifiziert wurde. Um zu untersuchen, ob die homologen Transporter-Proteine tatsächlich in den Nutzpflanzen exprimiert werden, wurde zunächst mRNA aus den Wurzeln sowie aus Blättern der jeweiligen Pflanzen extrahiert. Die mRNA wurde im Anschluss in cDNA umgeschrieben und eine PCR mit den proteinspezifischen Primern durchgeführt. Die anschließende Gelelektrophorese verdeutlicht die Expression der homologen Proteine in den Nutzpflanzen. Abbildung 33 zeigt die erfolgreiche Amplifizierung der Sequenzen von Proteinen in Karotte, welche Homologe zum IRT, PHT und GLR aus *A. thaliana* sind.

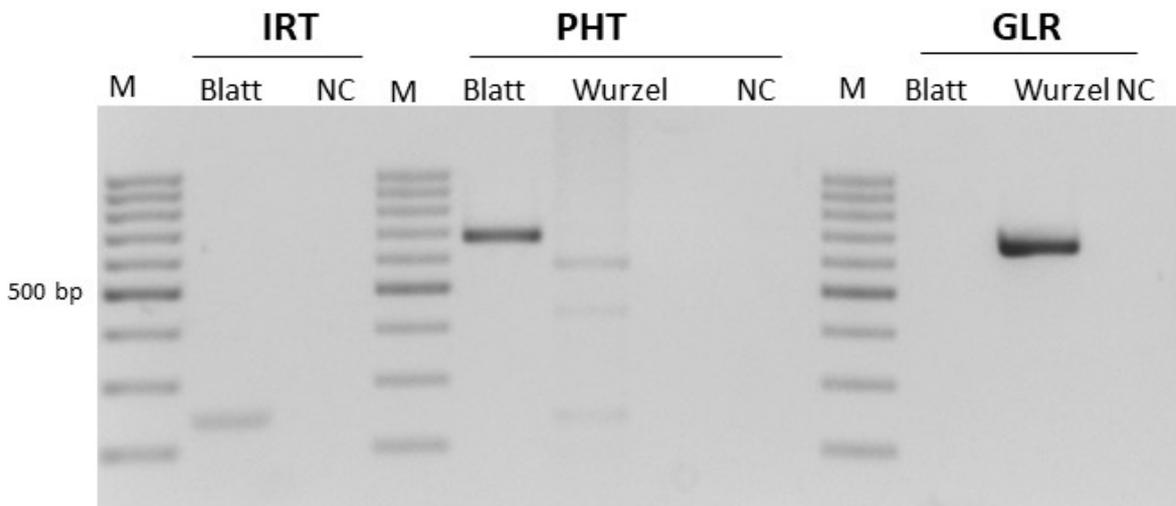


Abb. 33: Expression auf mRNA-Ebene von Proteinen in *D. carota*, welche Homologe zu den aus *A. thaliana* klonierten Transportern sind. Aus Blättern und Wurzeln von *D. carota* wurde mRNA extrahiert. Eine anschließende cDNA Synthese und PCR mit proteinspezifischen Primern zeigt die Expression der homologen Proteine. In *D. carota* werden dementsprechend homologe Proteine zum IRT, PHT und GLR exprimiert.

Tabelle 7 zeigt diejenigen Sequenzen in allen untersuchten Nutzpflanzen, die identifiziert werden konnten. Die meisten der Transporter sind sowohl in Wurzel als auch in den Blättern der Nutzpflanzen exprimiert. Für Weizen konnte keine der Sequenzen amplifiziert werden. Eine

mögliche Ursache dafür könnte sein, dass die Pflanze welche für die mRNA-Extraktion verwendet wurde, bereits weitgehend abgereift und durchgetrocknet war. Als Resultat ist es möglich, dass die mRNA von schlechter Qualität oder bereits stark degradiert war. Basierend auf den erhaltenen Daten kann man schließen, dass in fast allen verwendeten Nutzpflanzen homologe Proteine zu den getesteten aus *A. thaliana* exprimiert werden.

Tab. 7: Übersicht über die Expression der klonierten Transporter. Jede der im Projekt verwendeten Nutzpflanze (mit Ausnahme von Weizen) zeigt die Expression von Proteinen homolog zu GLR3, PHT1 und IRT1.

	GLR3	PHT1	IRT1
KAROTTE WURZEL	✓	✓	
KAROTTE BLATT		✓	✓
ERBSE WURZEL	✓	✓	✓
ERBSE BLATT	✓	✓	✓
KARTOFFEL WURZEL	✓	✓	
KARTOFFEL BLATT	✓	✓	✓
WEIZEN BLATT			

II.1.4.3. Elektrophysiologische Charakterisierung des Ionentransportes

Ob und in welcher Form die klonierten Metabolitransporter Ionen transportieren können, wurde mit Hilfe der Zwei-Elektroden-Voltage-Clamp (TEVC) Methode untersucht. Dafür war es zunächst nötig, die Sequenzen der Transporter in capped RNA (cRNA) umzuschreiben und in Oozyten des Frosches *Xenopus laevis* (*X. laevis*) zu injizieren. Die Oozyten sind in der Lage heterolog exprimierte Transporter in ihre Membran einzubauen. Ionen, die dann über die Membran transportiert werden, erzeugen einen Strom [Gurdon und Wickens 1989; Theodoulou und Miller 1995]. Dieser Strom ist messbar im TEVC. Bei dieser Methode werden zwei Elektroden in die Oozyten gestochen und eine bestimmte Spannung angelegt [Guan et al. 2013]. Die Oozyten befinden sich dabei in einem Medium mit definierter Ionenzusammensetzung. Ein Spannungsprotokoll wird gefahren und der daraus resultierende Strom gemessen. Verändert man nun die Zusammensetzung im extrazellulären Medium, so können Veränderungen in der Amplitude der Stromantwort zu sehen sein.

Für den AtGLR3.7 wurde 23 ng der cRNA in die Oozyten injiziert und ein Spannungsprotokoll von -150 mV- +40 mV gefahren. Die Stromantwort der Oozyten, welche den AtGLR3.7 exprimierten, weist einen größeren Strom auf, als die Negativ-Kontrolle, welche aus Oozyten besteht, die mit 23 nL Wasser injiziert wurden. Zunächst wurde der Strom in einem Medium gemessen, welches Calcium, Kalium, Magnesium und Natrium enthielt (Abb. 34, Mitte). Vergleicht man die Amplitude des Stromes bei einer angelegten Spannung von -150 mV, ist deutlich, dass die AtGLR3.7 exprimierenden Oozyten signifikant mehr Ionen transportieren als die Kontroll-Oozyten (Abb. 34, rechts).

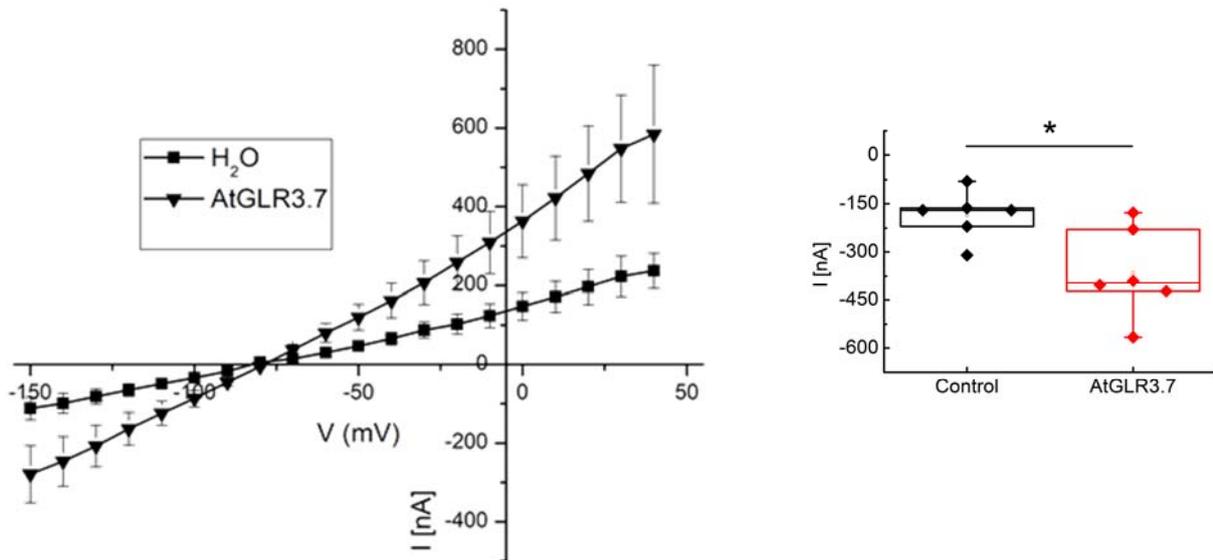


Abb. 34: Der Metabolitransporter AtGLR3.7 transportiert Calcium und weitere Kationen über Membranen. Um den Ionentransport des AtGLR3.7 elektrophysiologisch zu untersuchen wurden 23 ng AtGLR3.7 cRNA (■) oder 23 nL zur Kontrolle (▼) in Oozyten injiziert. Nach 1-3 Tage Inkubation bei 18 °C wurde der Ionentransport mit Hilfe des TEVC bei einem Spannungsprotokoll von -150 mV bis +40 mV gemessen (links). Die angelegte Spannung wird dann gegen die Amplitude der Stromantwort aufgetragen (rechts). Bei einem verwendeten Bad-Medium mit 2 mM Calcium ist die Stromantwort durch AtGLR3.7 exprimierte Oozyten deutlich höher als in den Kontroll-Oozyten. Bei der Spannung von -150 mV ist ein signifikanter höherer Strom in Transporter-exprimierenden Oozyten zu sehen. $N_{\text{AtGLR3.7/Kontrolle}} = 6$ Oozyten von 3 Fröschen.

Im nächsten Schritt wurden die Kationen im extrazellulären Medium sukzessive ersetzt und die Stromantwort der Oozyten wieder gemessen (Abb. 35). Im ersten Medium wurde Calcium durch Barium ersetzt und im zweiten erfolgte der Austausch von Calcium durch Barium und Natrium durch NMDG. Der Vergleich von Kontroll-Oozyten mit AtGLR3.7 exprimierenden Oozyten zeigt, dass AtGLR3.7 Barium transportieren kann. Der Austausch von Natrium mit NMDG zeigt keinen signifikanten Unterschied, was darauf hindeutet, dass durch AtGLR3.7 vor allem Calcium und Barium, und zu einem geringeren Anteil Magnesium und Kalium transportiert werden.

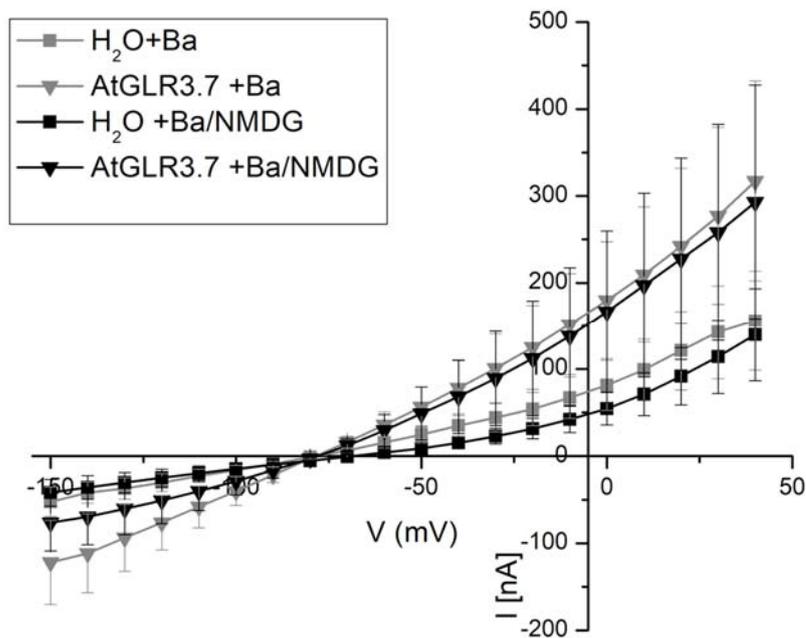


Abb. 35: Der Metabolitransporter AtGLR3.7 transportiert mehrere Kationen. Es wurden 23 ng AtGLR3.7 cRNA in Oozyten injiziert (▼) oder 23 nL Wasser (■) injiziert. Nach 1-3 Tage Inkubation bei 18 °C wurde der Ionentransport mit Hilfe des TEVC bei einer Spannung von -150 mV bis +40 mV gemessen. Als Bad-Medium wurde ein calciumfreies Medium, bei dem Calcium durch Barium ersetzt wurde (in grau), sowie ein calcium- und natriumfreies Medium (mit Barium und NMDG (in schwarz)) verwendet. $N_{\text{AtGLR3.7/Kontrolle}} = 5$ Oozyten von 2 Fröschen.

Elektrophysiologische Charakterisierung des AtPHT1.4

Als zweites wurde der Phosphat/Protonen Cotransporter AtPHT1.4 mit Hilfe des TEVC untersucht. Hier wurden 9 ng cRNA injiziert. Eine höhere Menge an AtPHT1.4 cRNA resultierte in sehr weichen Oozyten, welche sich schnell in ihre Einzelteile auflösten. Als ersten Ansatz wurden die Oozyten in einem Medium untersucht, welches kein Phosphat enthielt. Zudem wurde untersucht, ob NaCl einen Einfluss auf die Transportfähigkeiten des AtPHT1.4 hat. In Abbildung 36 ist die Stromantwort eines Spannungsprotokolls von -165 mV bis +25 mV zu sehen. Als Kontroll-Oozyten wurden erneut Wasser-injizierte Oozyten verwendet. In phosphatfreiem Bad-Medium zeigten die AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten einen reduzierten Strom. Das Gleiche war auch zu sehen, wenn NaCl durch Glutamin ersetzt wurde. Für einen homologen Vertreter der PHT1 Familie in Gerste (HvPHT1;1) wurde beschrieben, dass die Aktivität durch zu viel NaCl im extrazellulären Medium gehemmt werden kann [Preuss et al. 2011]. Um dies zu vermeiden, wurden bei weiteren Messungen Medien mit wenig NaCl verwendet (10 mM NaCl).

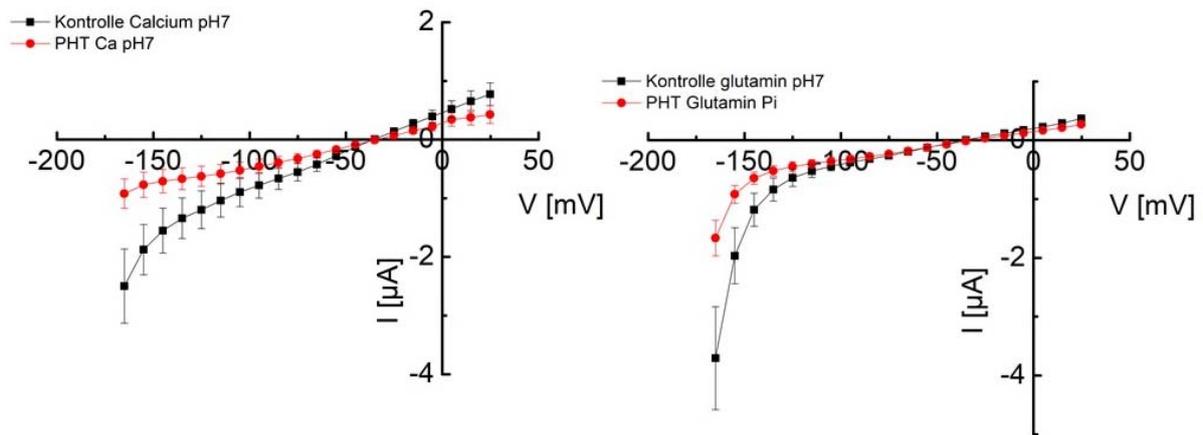


Abb. 36: Ionentransport des AtPHT1.4 in phosphatfreiem Medium. 9 ng AtPHT1.4 (PHT, rot) oder 23 nL Wasser (Kontrolle, schwarz) wurde in Oozyten injiziert. Nach 1-2 Tagen Inkubation bei 18 °C wurde mittels TEVC der Ionentransport gemessen. Im calciumhaltigen Bad-Medium bei pH7 (Calcium pH7) oder unter der Bedingung, dass NaCl durch Glutamin ersetzt wurde (Glutamin, pH7) wurde ein Spannungsprotokoll von -165 mV bis +25 mV gefahren und die Stromamplitude der Oozyten gemessen.

Nachdem gezeigt wurde, dass der AtPHT1.4 prinzipiell elektrogen ist (also einen messbaren Strom produziert), sollte untersucht werden, welche Konzentration an Phosphat die größte Stromantwort zeigt. Dafür wurden die AtPHT1.4 und Kontrolloozyten in Medium mit wenig (0.1 mM), mittel (1 mM) und viel (5 mM) Phosphat gemessen. Da der PHT1 ein Phosphat/Protonen Cotransporter ist, wurde gleichzeitig die Wirkung von unterschiedlichen pH-Werten auf die Transporteigenschaften des Transporters untersucht. Abbildung 37 zeigt die Stromantwort der Kontroll- und AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten in Medium mit wenig und viel Phosphat mit jeweils einem pH-Wert von 4 oder 6. Unter allen Bedingungen ist zu sehen, dass die Stromantworten zwischen Kontroll- und PHT1.4 Oozyten kaum unterschiedlich ist. Da unter phosphatfreien Bedingungen der PHT1.4 einen geringeren Strom aufzeigte als die Kontrolloozyten, ist dies ein Hinweis darauf, dass Phosphat die Transportfähigkeiten des AtPHT1.4 verändert.

Neben viel und wenig Phosphat wurde auch eine mittlere Phosphat-Konzentration (1 mM) untersucht und ebenfalls die Wirkung des pH-Wertes analysiert. Die drei verwendeten pH-Werte (pH4, pH5, pH6) zeigen einen deutlich größeren Strom in den transporter-exprimierenden Oozyten im Vergleich zu den Kontroll-Oozyten. Bei pH6 ist dieser Effekt am deutlichsten zu sehen (Abb. 38).

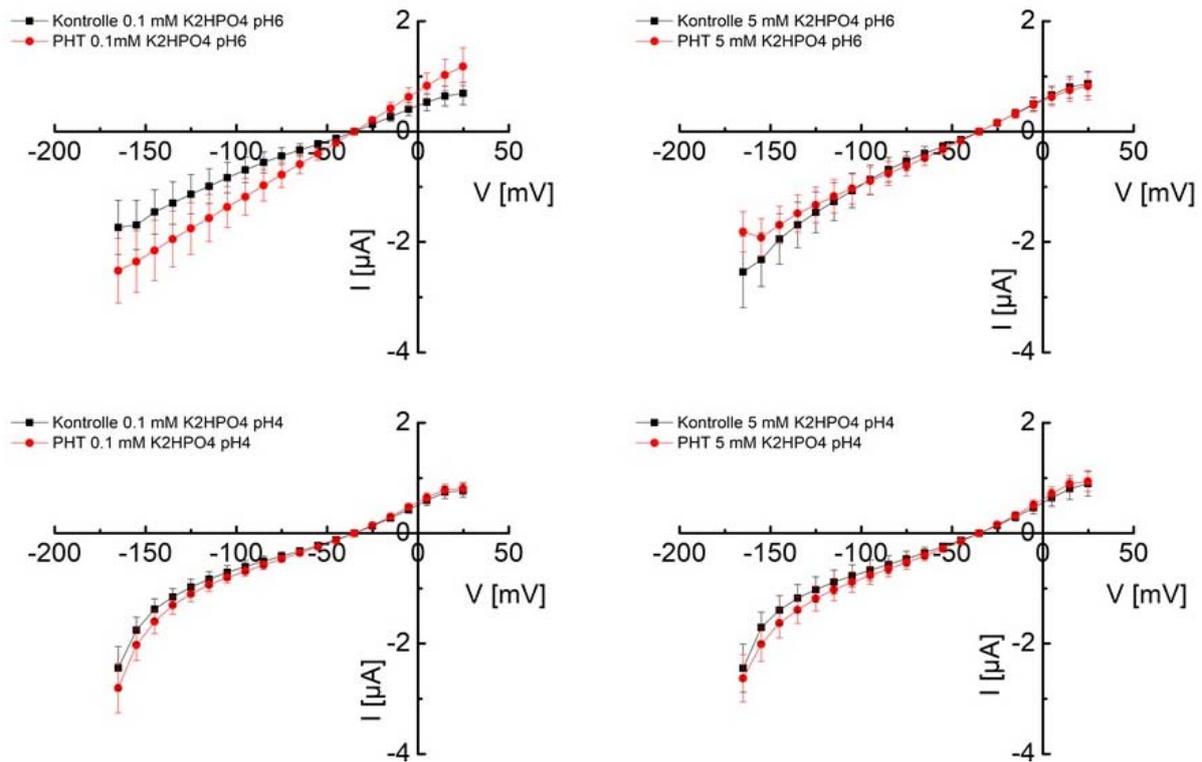


Abb. 37: Ionentransport des AtPHT1.4 bei unterschiedlichen Phosphatkonzentrationen und pH-Werten. 9 ng AtPHT1.4 (PHT, rot) oder 23 nL Wasser (Kontrolle, schwarz) wurden in Oozyten injiziert. Nach 1-2 Tagen Inkubation bei 18 °C wurde mittels TEVC der Ionentransport gemessen. Im Bad-Medium mit wenig (0.1 mM) oder viel (5 mM) Phosphat und jeweils pH4 oder pH6 wurde ein Spannungsprotokoll von -165 mV bis +25 mV gefahren und die Stromamplitude der Oozyten gemessen. $N_{\text{AtPHT1.4/Kontrolle}} = \text{mind. 4 Oozyten von 2 Fröschen}$.

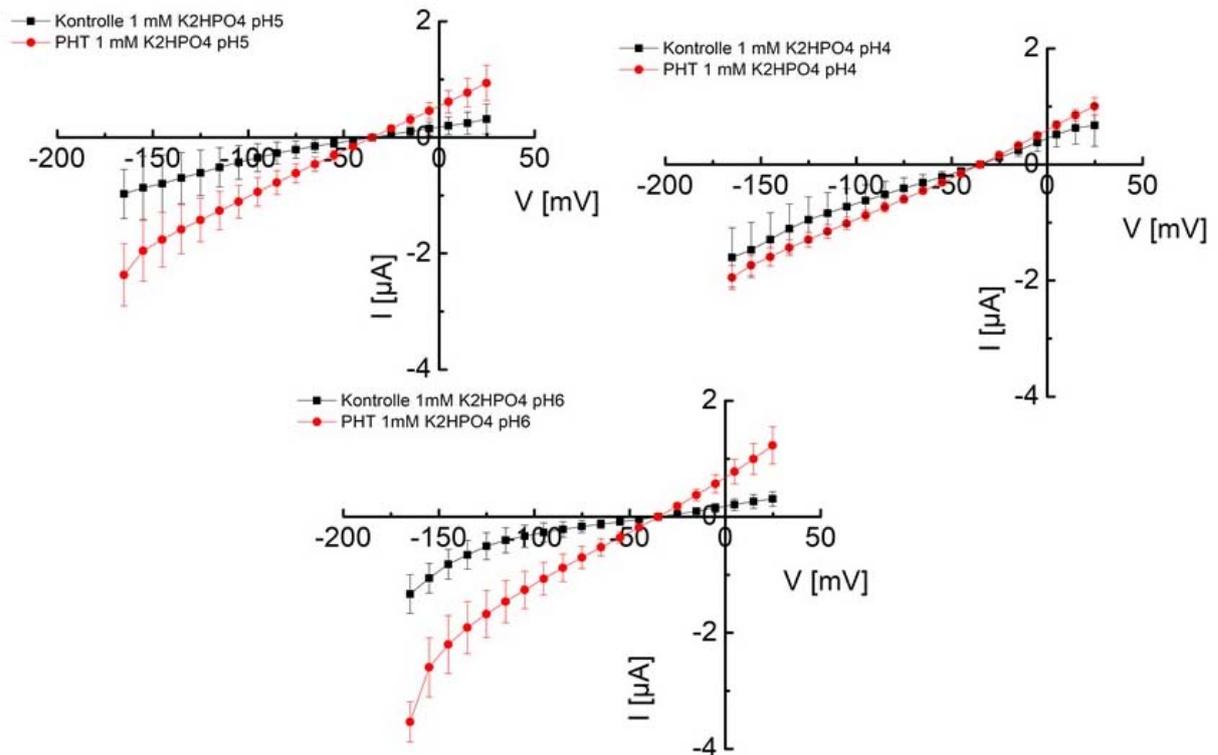


Abb. 38: Ionentransport des AtPHT1.4 bei unterschiedlichen pH-Werten und 1 mM Phosphat. 9 ng AtPHT1.4 (PHT, rot) oder 23 nL Wasser (Kontrolle, schwarz) wurde in Oozyten injiziert. Nach 1-2 Tagen Inkubation bei 18 °C wurde mittels TEVC der Ionentransport gemessen. Im Bad-Medium mit 1 mM Phosphat und pH4, pH5 und pH6 wurde ein Spannungsprotokoll von -165 mV bis +25 mV gefahren und die Stromamplitude der Oozyten gemessen. $N_{\text{AtPHT1.4/Kontrolle}} = \text{mind. 4 Oozyten von 2 Fröschen}$.

II.1.4.4. Aufnahme von Radionukliden in Oozyten

Aufnahme von Radionukliden in AtGLR3.7 oder AtPHT1.4 exprimierende Oozyten

Nachdem die elektrophysiologischen Untersuchungen von AtGLR3.7 und AtPHT1.4 gezeigt hatten, dass beide Transporter in der Lage sind wahrscheinlich mehrere unterschiedliche Ionen zu transportieren, sollte analysiert werden, ob auch Radionuklide durch sie aufgenommen werden können. Für den AtGLR3.7, welcher ein Kationentransporter ist, wurde die Aufnahme von Curium und Americium untersucht. Die Analyse von Curium fand zusammen mit dem HZDR statt. Hier wurden zwei Ansätze getestet. Zum einen sollte die Wechselwirkung und Komplexbildung von Curium in und an Oozyten untersucht werden. Dafür wurde die Time-resolved Laser-induced Fluorescence spectroscopy (TRLFS) verwendet. Zudem wurde die Kinetik der Aufnahme von Curium in Transporter und Kontroll-Oozyten mittels LSC (liquid scintillation counting) analysiert. Für die TRLFS Messung wurden 30 Oozyten in Medium mit Curium gegeben und für einen definierten Zeitraum darin inkubiert. Nach 1h, 5h, und 24h wurde mittels Laseranregung das Emissionsspektrum von Curium an den Oozyten gemessen. Bildet Curium Komplexe, verschiebt sich sein Spektrum nach rechts in den blauen Bereich. Der Oozyten-Puffer mit Curium zeigt bereits eine starke Verschiebung des Spektrums (Abb. 39,

rote Linie). Die Anwesenheit von Oozyten verstärkt die Rechtsverschiebung noch weiter. Dies deutet darauf hin, dass nicht nur Ionen im Oozytenpuffer Komplexe mit Curium bilden, sondern die Oozyten auch Stoffe aussondern, welche in der Lage sind, Curium zu komplexieren. Allerdings gab es keinen Unterschied in der Rechtsverschiebung des Spektrums zwischen Kontroll- und AtGLR3.7 exprimierenden Oozyten. Auch eine verlängerte Inkubation veränderte das Spektrum nicht weiter (Abb. 39, grüne und blaue Linien in beiden Bildern).

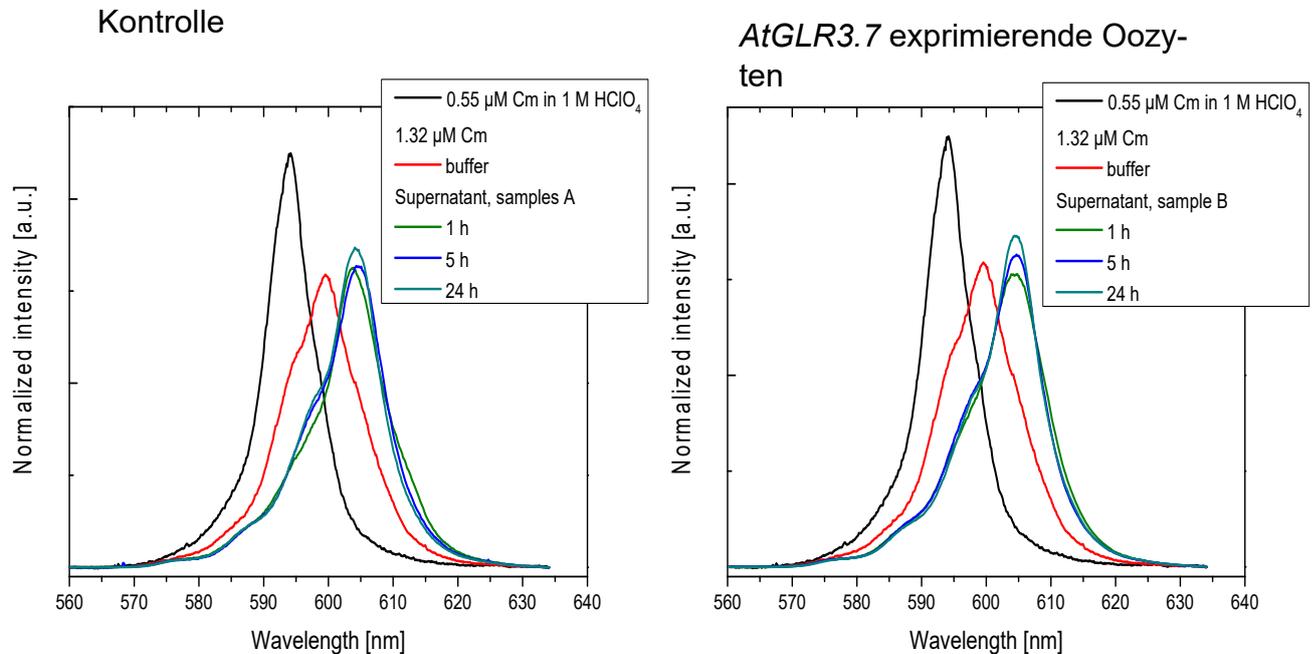


Abb. 39: TRLFS Messung zur Analyse der Wechselwirkung von Curium mit Kontroll- oder AtGLR3.7 exprimierende Oozyten. 20 Oozyten, die entweder mit 23 ng der AtGLR3.7 cRNA (rechts) oder 23 nL Wasser (links) zu Kontrolle injiziert wurden, wurden für 1h, 5h, und 24h in Cm-haltigem Medium inkubiert. Nach der angegebenen Zeit wurde das Emissionsspektrum der Fluoreszenz von Curium an den Oozyten gemessen.

Für die Aufnahme von Curium in die Kontroll- oder Transporter exprimierenden Oozyten wurden 20 Oozyten für 1h, 5h, oder 24h in Cm-haltigen Medium inkubiert. Nach der jeweiligen Inkubationszeit wurde der Überstand abgenommen und die Menge an Curium, welche noch im Überstand war, mit der LSC gemessen. Um zu untersuchen, ob Calcium einen Einfluss auf die Cm-Aufnahme hat, wurde Ca-haltiges und Ca-freies Medium verwendet (Abb. 40).

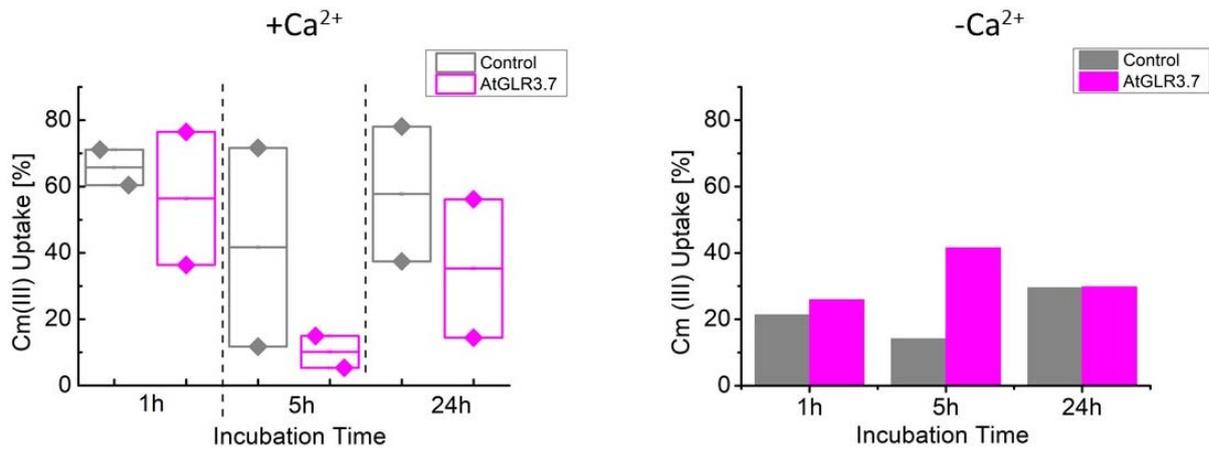


Abb. 40: Aufnahme von Curium aus extrazellulärem Medium in Kontroll- und AtGLR3.7 exprimierenden Oozyten. Jeweils 30 Oozyten, die entweder mit 23 ng AtGLR3.7 cRNA (AtGLR3.7, Magenta) oder 23 nL Wasser (Control, grau) injiziert wurden, wurden für die Dauer von 1h, 5h und 24 h in Cm-haltigem Medium inkubiert. Nach der Inkubation wurde der Überstand abgenommen und die darin noch vorhandene Menge an Curium mit LSC gemessen. Um den Einfluss von Calcium auf die Curium-Aufnahme zu untersuchen, wurde Ca-haltiges (+Ca²⁺, links) und Ca-freies (-Ca²⁺, rechts) Medium verwendet. $N_{AtGLR3.7/Kontrolle} = 20$ Oozyten von 2 Fröschen.

Neben Curium wurde auch die Aufnahme von Americium untersucht. Die Experimente fanden in Zusammenarbeit mit dem IRS statt. Für diesen Test wurden 20 Oozyten in Am-haltigem Medium inkubiert. Nach 1h, 5h, und 24h wurde der Überstand abgenommen und die Menge des darin enthaltenen Americiums mittels Massenspektrometrie (ICP-MS) ermittelt (Abb. 41).

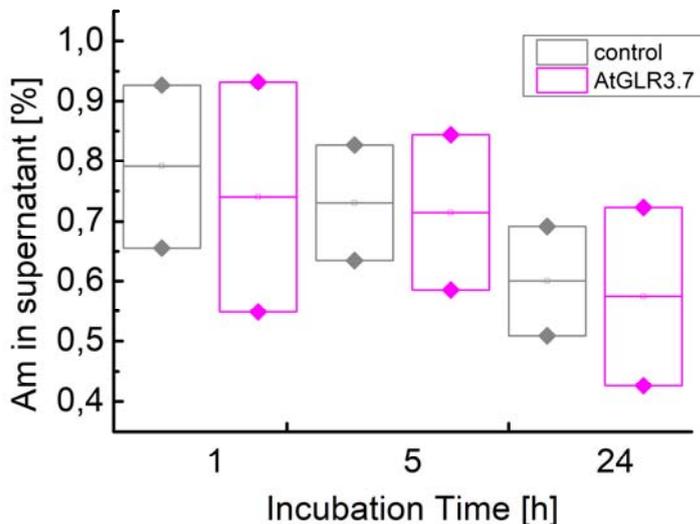


Abb. 41: Aufnahme von Americium in Kontroll- und AtGLR3.7 exprimierenden Oozyten. Je 20 Oozyten, welche entweder 23 ng AtGLR3.7cRNA (AtGLR3.7, Magenta) oder 23 nL Wasser (control, grau) injiziert bekamen, wurden für den Zeitraum von 1h, 5h oder 24h in Am-haltigem Medium inkubiert. Nach Abnahme des Überstandes wurde die Menge an Americium im Überstand gemessen. $N_{AtGLR3.7/Kontrolle} = \text{mind. } 20$ Oozyten von 2 Fröschen.

In Abhängigkeit von der Zeit ist zu sehen, dass mehr Americium in oder an den Oozyten gebunden wird. Allerdings zeigt sich eine große Streuung zwischen den zwei verwendeten Ansätzen (bestehend aus 2 unterschiedlichen Fröschen). Zudem ist kein Unterschied zwischen Kontroll- und AtGLR3.7 exprimierenden Oozyten zu sehen. Dies deutet darauf hin, dass Americium wahrscheinlich nicht vermehrt durch AtGLR3.7 aufgenommen werden kann.

Aufnahme von Iod und Technetium in AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten

Als mögliche Radionuklide, welche durch den Anionentransporter AtPHT1.4 aufgenommen werden könnten, standen Iod und Technetium zur Verfügung. Analog zur Aufnahme von Americium wurden für den Aufnahme-Assay von Technetium (^{99}Tc) 30 Oozyten für eine bestimmte Dauer in Tc-haltigem Medium inkubiert. Nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min wurde der Überstand abgenommen und die Menge des darin enthaltenen ^{99}Tc gemessen. (Abb. 42 links). Als Kontrolle wurden wasserinjizierte Oozyten verwendet und für die Expression von AtPHT1.4 wurde 9 ng cRNA injiziert. Die Aufnahme von Technetium in Transporter-exprimierenden Oozyten zeigt eine vermehrte Aufnahme nach 15 min, welche dann wieder etwas absinkt. Die Kontroll-Oozyten der zwei verwendeten Frösche zeigten eine sehr große Streuung (Abb. 42 links, grau) was eine Aussage und einen direkten Vergleich der beiden Oozytenarten verhindert.

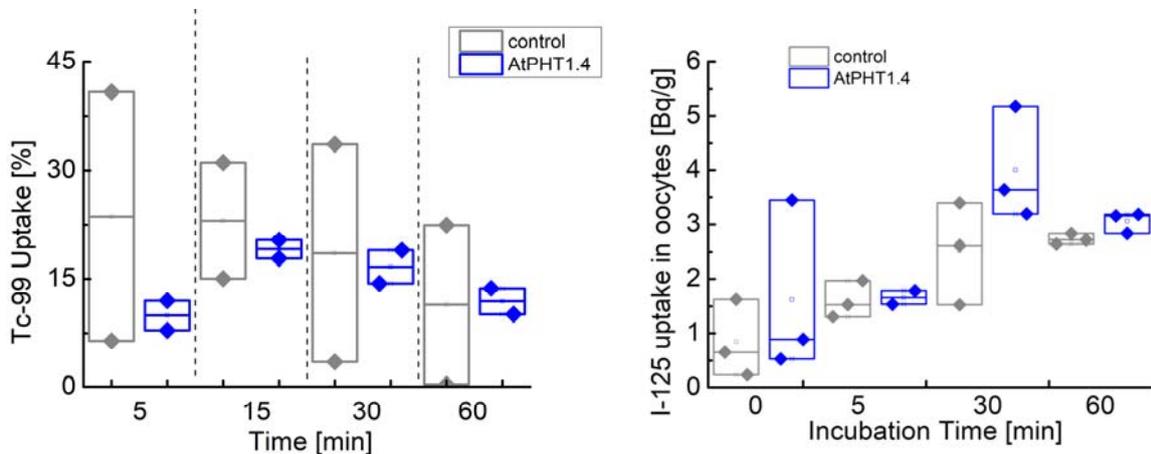


Abb. 42: Aufnahme von Technetium und Iod in AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten. 30 Oozyten, AtPHT1.4 exprimierende Oozyten (9 ng AtPHT1,4 cRNA, AtPHT1.4, blau) oder Kontrolloozyten (Injektion von 23 nL Wasser, control, grau), wurden für 0-60 min in Tc- oder I-haltigem Medium inkubiert. Nach dem angegebenen Zeitraum wurde der Überstand abgenommen und dessen Gehalt an ^{99}Tc gemessen (links), sowie der ^{125}I -Gehalt der Oozyten (rechts). $N_{\text{AtPHT1.4/Kontrolle}} = 20$ Oozyten von 2-3 Fröschen.

Für die Aufnahme von Iod (^{125}I) wurde ein etwas veränderter Ansatz angewendet. Hier wurden die Oozyten in ^{125}I -haltigem Medium inkubiert, und nach einem Zeitraum von 0 min, 5 min, 30 min und 60 min wurde das Medium abgenommen, die Oozyten zweimal gewaschen, und anschließend wurde die γ -Emission von ^{125}I in den Oozyten direkt gemessen. Kontroll- und AtPHT1.4 Oozyten zeigen beide einen Anstieg in der Iod-Aufnahme über die gemessene Zeit.

Ab 30 min ist auch ein Unterschied zwischen Kontroll- und AtPHT1.4 Oozyten zu erkennen (Abb. 42 rechts). Die Transporter-Oozyten zeigen eine höhere Iod-Aufnahme als die Kontroll-Oozyten. Dies deutet darauf hin, dass AtPHT1.4 in der Lage ist, Iod zu transportieren.

Aufnahme von Phosphat in AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten

Die elektrophysiologische Untersuchung des AtPHT1.4 hatte gezeigt, dass dieser in der Lage ist, Anionen zu transportieren. Da jedoch noch nicht geklärt ist, welche Form von Phosphat mit welcher Menge an Protonen dieser Anionen/Protonen Cotransporter transportiert, hat sich das TEVC als nicht optimale Methode herausgestellt. Da es möglich ist, dass Protonen und Anionen mit einer aufsummierten Ladung von 0 transportiert werden können und dies elektrophysiologisch nicht nachweisbar wäre, musste eine Methode entwickelt werden um die tatsächliche Aufnahme von Phosphat in AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten zu untersuchen. Eine Möglichkeit war die Reaktion von Ammoniummolybdat [Ruppersberg et al. 2017]. In Anwesenheit von Phosphat und einem stark sauren pH reagiert Ammoniumphosphat mit Phosphat und die Reaktion zeigt sich in einer Blaufärbung. Die Stärke der Blaufärbung ist dabei linear proportional zur anwesenden Phosphatmenge. Für die Aufnahmekinetik wurden 10 Oozyten in 20 μ L phosphathaltigem Medium (3.2 mM Phosphat) für eine bestimmte Zeit inkubiert. Nach 5 min, 15 min, 30 min und 60 min wurde der Überstand abgenommen und mit Ammoniummolybdat-Lösung vermischt. Die Absorption der Blaufärbung wurde bei 820 nm gemessen. Die TEVC Ergebnisse zeigten den meisten Strom in ATPHT1.4 exprimierenden Oozyten bei einem pH-Wert von 6. Da es aber auch möglich ist, dass ein saurerer pH die Aktivität des Transporters beeinflusst, wurde die Messung parallel bei pH4 durchgeführt (Abb. 43). Als Kontroll-Oozyten dienten wieder Oozyten, welche mit 23 nL Wasser injiziert wurden, und für die AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten wurde 9 ng AtPHT1.4 cRNA injiziert. Bei pH6 zeigt sich ein signifikanter Anstieg an Phosphat im extrazellulären Medium von Transporter-exprimierenden Oozyten im Vergleich zu den Kontroll-Oozyten. Interessanterweise steigt der Phosphatgehalt bereits nach 15 min Inkubation auf über 100% an. Dies deutet darauf hin, dass Phosphat aus der Zelle heraus transportiert wird anstatt in die Oozyten hinein. Die Kontroll-Oozyten zeigen keinen Unterschied im Phosphatgehalt über den gemessenen Zeitraum (Abb. 43 links). Bei pH4 kommt es zu keinem extrazellulären Transport von Phosphat, weder bei Transporter- noch bei Kontroll-Oozyten. Jedoch ist bei dem saureren pH auch kein signifikanter Unterschied mehr zwischen den beiden Oozytenarten. Da auch die elektrophysiologischen Messungen keinen veränderten Strom zwischen den beiden Oozytenarten zeigte, ist dies ein Hinweis darauf, dass der saure pH die Aktivität von AtPHT1.4 nicht verstärkt, sondern eher verhindert.

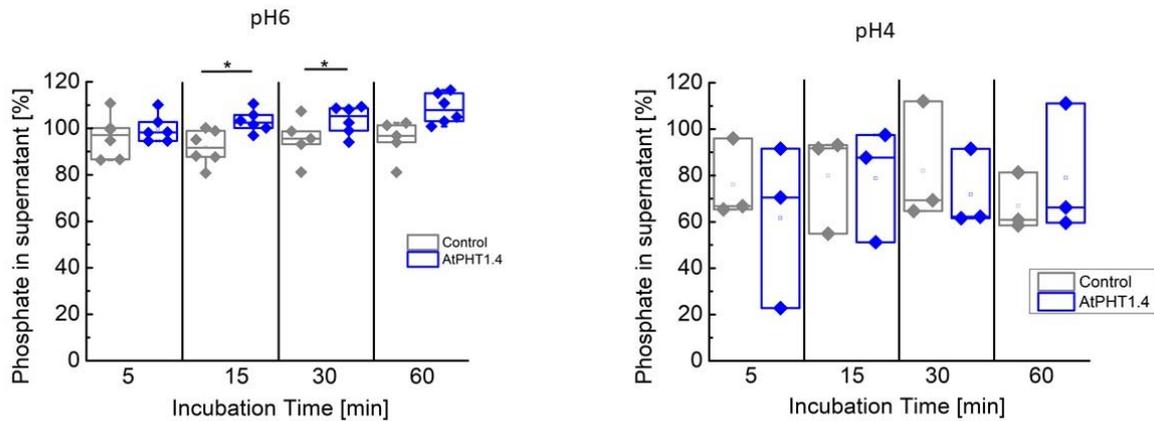


Abb. 43: Phosphataufnahme in AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten bei pH6 und pH4. 10 Oozyten, welche entweder mit 9 ng AtPHT1.4 cRNA (blau) oder 23 nL Wasser (grau) injiziert wurden, wurden für 5- 60 min in phosphathaltigem Medium (2.3 mM Phosphat) und entweder bei einem pH6 (links) oder pH4 (rechts) inkubiert. Nach der angegebenen Inkubationszeit wurde der Überstand abgenommen und mit der Ammoniummolybdatlösung vermischt. Die Absorption der Lösung bei 820 nm wurde anschließend gemessen und auf die Absorption von phosphathaltigem Medium normiert. $N_{\text{AtPHT1.4/Kontrolle}} = 10$ Oozyten von 2-5 Fröschen.

Fasst man die elektrophysiologischen und phosphataufnahme-Experimente zusammen, ist zu sehen, dass der AtPHT1.4 bei einem nur leicht sauren pH (pH6) mit 1 mM Phosphat am aktivsten ist. Die Untersuchung der Aufnahme von Technetium zeigte keine erhöhte Aufnahme des Radionuklids in den Transporter-exprimierenden Oozyten. Bei Iod hingegen führte die Expression des AtPHT1.4 zu einer verstärkten Aufnahme nach 30 min Inkubation.

Zusammenfassung

Pflanzliche Metabolitransporter sind in der Lage, verschiedene Ionen zu transportieren und können zumeist nicht nur ein bestimmtes Ion über die Membran bringen. Dies macht sie zu idealen Kandidaten, um Radionuklide aufzunehmen. Pflanzen können nicht zwischen stabilen und radioaktiven Isotopen desselben Elements (z.B. Iod) unterscheiden. Einige Radionuklide stellen Analoga zu Pflanzennährstoffen dar (Cs/K, Sr/Ca), und werden von Pflanzen statt dieser aufgenommen, und für künstliche Radionuklide (z.B. alle Tc-Isotope) fehlen den Pflanzen Ausschlussmechanismen. Transporter und Kanäle, welche also verschiedene Ionen transportieren können, wären auch in der Lage zufälligerweise Radionuklide aufzunehmen, so lange diese ähnlich zu den transportierten Ionen sind. Das Ziel dieser Arbeit war es, solche Metabolitransporter zu identifizieren, ihre Transporteigenschaft zu charakterisieren und zu untersuchen ob und welche Radionuklide aufgenommen werden können. Als Modellorganismus für die Expression einzelner pflanzlicher Metabolitransporter dienten in unserem Fall die Oozyten des Frosches *X. laevis*. Diese Oozyten sind in der Lage heterolog Proteine zu exprimieren und diese in ihre Membran einzubauen. Die Elektrophysiologie sollte dabei untersuchen wie spezifisch der Transport war und welche Bedingungen (pH, Ionenkonzentration) die Aktivität der Transporter beeinflussen. Anschließend wurde untersucht, welche Radionuklide tatsächlich aufgenommen werden können.

Der Calciumkanal AtGLR3.7 zeigte einen relativ unspezifischen Kationen-Transport. Es konnte z.B. nachgewiesen werden, dass er in der Lage ist Calcium, Kalium, Magnesium und

Barium zu transportieren. Dabei war der Transport pH-unabhängig. Die Aufnahme von Curium konnte durch LSC-Messung gezeigt werden. Dabei beeinflusste die Anwesenheit von Calcium im extrazellulären Medium deutlich die Aufnahme von Curium. In Anwesenheit von 2 mM Calcium kam es zu einer reduzierten Aufnahme von Curium in AtGLR3.7 exprimierenden Oozyten im Vergleich zu calciumfreiem Medium. Es ist demnach denkbar, dass Curium und Calcium um Bindungsplätze konkurrieren. Ist kein Calcium mehr vorhanden, hat Curium eine höhere Chance transportiert zu werden. Die Aufnahme von Americium konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Ein Problem war, dass die Kontroll- und Transporter-exprimierenden Oozyten eine zu große Streuung in ihrer Americium-Aufnahme zeigten. Dies machte eine eindeutige Aussage unmöglich.

Der Phosphat-Protonen-Cotransporter AtPHT1.4 war in der Lage eine erhöhte Ladung über die Membran zu transportieren, wenn 1 mM Phosphat bei einem pH-Wert von 6 im extrazellulären Medium vorlag. Mehr Phosphat und ein veränderter pH zeigten keine veränderte Stromantwort zwischen Kontroll- und AtPHT1.4 exprimierenden Oozyten. Da jedoch noch nicht geklärt ist, welche Form von Phosphat mit wie vielen Protonen transportiert wird, ist nicht auszuschließen, dass bei pH4 Phosphat aufgenommen wird. Würde z.B. eine Gesamtladung von 0 mV über die Membran transportiert werden (also z.B. 1 H⁺ mit HPO₄⁻), wäre in der TEVC-Messung kein Unterschied zu den Kontroll-Oozyten sichtbar. Um zu untersuchen, ob tatsächlich Phosphat aufgenommen wird, wurde der Ammoniummolybdat-Phosphat-Aufnahmeassay entwickelt. Dieser zeigte einen vermehrten Transport von Phosphat aus der Zelle bei einem pH-Wert von 6 in phosphathaltigem extrazellulärem Medium. Der saure pH-Wert von 4 hingegen zeigte keine Auf- oder Abgabe von Phosphat mehr.

Diese Untersuchungen zeigen, dass pflanzliche Metabolittransporter in der Lage sind, Radionuklide zu transportieren und somit über die Wurzeln in die Pflanzen aufzunehmen. Jedoch ist die Art des Radionuklids entscheidend, ebenso wie der pH im Boden.

II.1.5. Literatur zu Teil II

- Amachi, S., Minami, K., Miyasaka, I. & Fukunaga, S. (2010): Ability of anaerobic microorganisms to associate with iodine: ^{125}I tracer experiments using laboratory strains and enriched microbial communities from subsurface formation water. *Chemosphere* **79**(4), 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.028>
- Amachi, S., Muramatsu, Y., Akiyama, Y., Miyazaki, K., Yoshiki, S., Hanada, S., Kamagata, Y., Ban-nai, T., Shinoyama, H. & Fujii, T. (2005): Isolation of iodide-oxidizing bacteria from iodide-rich natural gas brines and seawaters. *Microbial Ecology* **49**(4), 547–557. <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0056-0>
- Artinger, R., Kienzler, B., Schüßler, W. & Kim, J. I. (1998): Effects of humic substances on the ^{241}Am migration in a sandy aquifer: column experiments with Gorleben groundwater / sediment systems. *J. Cont. Hydrol.*, **35**, 261–275.
- Ashworth, D. J. & Shaw, G. (2005): Soil migration and plant uptake of technetium from a fluctuating water table. *J. Env. Radioactivity* **81**(2-3), 155–171. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2004.01.033>
- Banik, N. L., Marsac, R., Lützenkirchen, J., Diascorn, A., Bender, K., Marquardt, C. M. & Geckeis, H. (2016): Sorption and Redox Speciation of Plutonium at the Illite Surface. *Environmental Science & Technology* **50**(4), 2092–2098. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05129>
- Begg, J. D., Edelman, C., Zavarin, M. & Kersting, A. B. (2018): Sorption kinetics of plutonium (V)/(VI) to three montmorillonite clays. *Appl. Geochem.* **96**, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2018.06.001>
- Bennett, R. & Willey, N. (2003): Soil availability, plant uptake and soil to plant transfer of ^{99}Tc —A review. *J. Environ. Radioact.* **65**(2), 215–231. [https://doi.org/10.1016/S0265-931X\(02\)00098-X](https://doi.org/10.1016/S0265-931X(02)00098-X)
- BIOCLIM (2004): Modeling sequential BIOSphere systems under CLIMate change for radioactive waste disposal, in EC-Contract FIKW-CT-2000-00024, 298 p.
- Bishop, M. E., Dong, H., Kukkadapu, R. K., Liu, C. & Edelmann, R. E. (2011): Bioreduction of Fe-bearing clay minerals and their reactivity toward pertechnetate (Tc-99). *Geochim. Cosmochim. Acta* **75**(18), 5229–5246. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.06.034>
- Cataldo, D. A., Garland, T. R. & Wildung, R. E. (1986): *Plant Root Absorption and Metabolic Fate of Technetium in Plants: In Technetium in the Environment; Desmet, G., Myttenaere, C., Eds.; Springer: Dordrecht.* https://doi.org/10.1007/978-94-009-4189-2_22
- Cataldo, D. A., Garland, T. R., Wildung, R. E. & Fellows, R. J. (1989): Comparative metabolic behavior and interrelationships of Tc and S in soybean plants. *Health Physics* **57**, 281–287.
- Cataldo, D. A., Wildung, R. E. & Garland, T. R. (1983): Root absorption and transport behavior of technetium in soybean. *Plant Physiol.* **73**, 849–852.
- Christiansen, J. V. & Carlsen, L. (1991): Enzymatically Controlled Iodination Reactions in the Terrestrial Environment. *Radiochim. Acta* **52/53**, 327–333.
- Connolly, E. L., Fett, J. P. & Guerinot, M. L. (2002): Expression of the IRT1 metal transporter is controlled by metals at the levels of transcript and protein accumulation. *The Plant Cell* **14**(6), 1347–1357. <https://doi.org/10.1105/tpc.001263>
- Cui, D. & Eriksen, T. E. (1996): Reduction of Pertechnetate by Ferrous Iron in Solution: Influence of Sorbed and Precipitated Fe(II). *Environ. Sci. Technol.* **30**, 2259–2262.
- Degueldre, C., Ulrich, H. J. & Silby, H. (1994): Sorption of ^{241}Am onto Monmorillonite, Illite and Hematite Colloids. *Radiochim. Acta* **65**, 173–179.

- DIN EN 15933 (2012): Schlamm, behandelter Bioabfall und Boden - Bestimmung des pH-Werts. Beuth Verlag GmbH.
- DIN EN ISO 10693 (2014): Bodenbeschaffenheit - Bestimmung des Carbonatgehaltes - Volumetrisches Verfahren. Beuth Verlag GmbH.
- DIN EN ISO 12782-2 (2012): Bodenbeschaffenheit - Parameter zur geochemischen Modellierung der Elution und Speziation von Bestandteilen in Böden und Materialien - Teil 2: Extraktion von kristallinen Eisenoxiden und -hydroxiden mittels Dithionit. Beuth Verlag GmbH.
- DIN EN ISO 12782-3 (2012): Bodenbeschaffenheit - Parameter zur geochemischen Modellierung der Elution und Speziation von Bestandteilen in Böden und Materialien - Teil 3: Extraktion von Aluminiumoxiden und -hydroxiden mittels Ammoniumoxalat/Oxalsäure. Beuth Verlag GmbH.
- DIN ISO 11277 (2002): Bestimmung der Partikelgrößenverteilung in Mineralböden -Verfahren mittels Siebung und Sedimentation. Beuth Verlag GmbH.
- Dohrmann, R. (2006): Cation exchange capacity methodology II: A modified silver–thiourea method. *Applied Clay Science*, 34(1-4), 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2006.02.009>
- Emerson, H. P., Kaplan, D. I. & Powell, B. A. (2019): Plutonium binding affinity to sediments increases with contact time. *Chemical Geology* **505**, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2018.11.009>
- Fuge, R. & Johnson, C. C. (1986): The geochemistry of iodine - a review. *Environ. Geochem. Health* **8**(2), 31–54.
- Franzmann, M., Bosco, H., Hamann, L., Walther, C. & Wendt, K. (2018): Resonant laser–SNMS for spatially resolved and element selective ultra-trace analysis of radionuclides. *J. Anal. Atomic Spectrometry* **33**(5), 730–737. <https://doi.org/10.1039/C7JA00423K>
- Franzmann, M., Bosco, H., Walther, C. & Wendt, K. (2017): A new resonant Laser-SNMS system for environmental ultra-trace analysis: Installation and optimization. *Int. J. Mass Spectrometry* **423**, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2017.10.003>
- Fredrickson, J. K., Zachara, J. M., Kennedy, D. W., Kukkadapu, R. K., McKinley, J. P., Heald, S. M., Liu, C. & Plymale, A. E. (2004). Reduction of TcO_4^- by sediment-associated biogenic Fe(II). *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**(15), 3171–3187. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2003.10.024>
- Gallard, H., Allard, S., Nicolau, R., Gunten, U. von & Croué, J. P. (2009). Formation of iodinated organic compounds by oxidation of iodide-containing waters with manganese dioxide. *Environ. Sci. Technol.* **43**(18), 7003–7009. <https://doi.org/10.1021/es9010338>
- Gonzali, S., Kiferle, C. & Perata, P. (2017): Iodine biofortification of crops: agronomic biofortification, metabolic engineering and iodine bioavailability. *Current Opinion in Biotechnology* **44**, 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.10.004>
- Guan, B., Chen, X. & Zhang, H. (2013): Two-electrode voltage clamp. *Methods in Molecular Biology* **998**, 79–89. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-351-0_6
- Guo, F.-Q., Wang, R., Chen, M. & Crawford, N. M. (2001): The Arabidopsis Dual-Affinity Nitrate Transporter Gene *AtNRT1.1* (*CHL1*) Is Activated and Functions in Nascent Organ Development during Vegetative and Reproductive Growth. *The Plant Cell* **13**, 1761–1777. <https://doi.org/10.2307/3871317>
- Gurdon, J. B. & Wickens, M. P. (1989): The Use of *Xenopus* Oocytes for the Expression of Cloned Genes, 489–505. In: Ray Wu, Lawrence Grossman, Kivie Moldave: Recombinant DNA Methodology. Academic Press Inc., San Diego, California. ISBN 978-0-12-765560-4
- Humphrey, O. S., Young, S. D., Bailey, E. H., Crout, N. M. J., Ander, E. L., Hamilton, E. M. & Watts, M. J. (2019): Iodine uptake, storage and translocation mechanisms in spinach

- (*Spinacia oleracea* L.). *Environ. Geochem. Health* **41**(5), 2145–2156.
<https://doi.org/10.1007/s10653-019-00272-z>
- IAEA (2009): Quantification of Radionuclide Transfer in Terrestrial and Freshwater Environments for Radiological Assessments. IAEA-TECDOC-1616. International Atomic Energy Agency.
- IAEA (2010): Handbook of parameter values for the prediction of radionuclide transfer in terrestrial and freshwater environments. TRS 472. International Atomic Energy Agency.
- Kaplan, D. I., Serne, R. J., Parker, K. E. & Kutnyakov, I. V. (2000): Iodide Sorption to Subsurface Sediments and Illitic Minerals. *Environ. Sci. Technol.* **34**(3), 399–405.
[doi:10.1021/es990220g](https://doi.org/10.1021/es990220g)
- Kaplan, D. I., Denham, M. E., Zhang, S., Yeager, C., Xu, C., Schwehr, K. A., Li, H. P., Ho, Y. F., Wellman, D. & Santschi, P. H. (2014). Radioiodine Biogeochemistry and Prevalence in Groundwater. *Critical reviews in Environ. Sci. Technol.* **44**(20), 2287–2335.
<https://doi.org/10.1080/10643389.2013.828273>
- Kato, S., Wachi, T., Yoshihira, K., Nakagawa, T., Ishikawa, A., Takagi, D., Tezuka, A., Yoshida, H., Yoshida, S., Sekimoto, H. & Takahashi, M. (2013): Rice (*Oryza sativa* L.) roots have iodate reduction activity in response to iodine. *Frontiers in plant science* **4**, 227.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00227>
- Koch-Steindl, H. & Pröhl, G. (2001): Considerations on the behaviour of long-lived radionuclides in the soil. *Radiat. Environ. Biophys.* **40**, 93–104.
- Köhler, F., Riebe, B., Scheinost, A. C., König, C., Hölzer, A. & Walther, C. (2019): Sorption of iodine in soils: insight from selective sequential extractions and X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **26**(23), 23850–23860.
<https://doi.org/10.1007/s11356-019-05623-y>
- Křepelová, A., Sachs, S. & Bernhard, G. (2011): Influence of humic acid on the Am(III) sorption onto kaolinite. *Radiochim. Acta* **99**(5), 253–260.
<https://doi.org/10.1524/ract.2011.1829>
- Landini, M., Gonzali, S. & Perata, P. (2011): Iodine biofortification in tomato. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **174**(3), 480–486. <https://doi.org/10.1002/jpln.201000395>
- Lebeau, D., Leroy, N., Doizi, D., Wu, T.-D., Guerquin-Kern, J.-L., Perrin, L., Ortega, R., Voiseux, C., Fournier, J.-B., Potin, P., Fiévet, B. & Leblanc, C. (2021): Mass spectrometry - based imaging techniques for iodine-127 and iodine-129 detection and localization in the brown alga *Laminaria digitata*. *J. Environ. Radioact.* **231**, 106552.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2021.106552>
- Lee, J. H., Hossner, L. R., Attrep, M. & Kung, K. S. (2002): Comparative uptake of plutonium from soils by *Brassica juncea* and *Helianthus annuus*. *Environmental Pollution* **120**, 173–182.
- Lieser, K. H. & Bauscher, C. (1987): Technetium in the hydrosphere and in the geosphere. *Radiochim. Acta* **42**, 205–213.
- Lloyd, J. R., Cole, J. A. & Macaskie, L. E. (1997): Reduction and Removal of Heptavalent Technetium from Solution by *Escherichia coli*. *J. Bacteriology* **179**(6), 2014–2021.
- Lloyd, J. R., Sole, V. A., van Praagh, C.V.G. & Lovley, D. R. (2000): Direct and Fe(II)-Mediated Reduction of Technetium by Fe(III)-Reducing Bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**(9), 3743–3749.
- Lujanienė, G., Beneš, P., Štamberg, K. & Ščiglo, T. (2012): Kinetics of plutonium and americium sorption to natural clay. *J. Environ. Radioact.* **108**, 41–49.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2011.07.012>

- Ma, F., Jin, Q., Li, P., Chen, Z., Lu, J., Guo, Z. & Wu, W. (2017): Experimental and modelling approaches to Am(III) and Np(V) adsorption on the Maoming kaolinite. *Appl. Geochem.* **84**, 325–336. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2017.07.002>
- Maes, N., Wang, L., Hicks, T., Bennett, D., Warwick, P., Hall, T., Walker, G. & Dierckx, A. (2006). The role of natural organic matter in the migration behaviour of americium in the Boom Clay – Part I: Migration experiments. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C* **31**(10-14), 541–547. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2006.04.006>
- Mandel, M. (2021): Untersuchung der Speziation und des Transferverhaltens von ⁹⁹Tc im System Boden – Pflanze mittels massenspektrometrischer Methoden. Dissertation Leibniz Universität Hannover (*noch in Arbeit*)
- Mandel, M., Holtmann, L., Raiwa, M., Wunnenberg-Gust, A., Riebe, B., Walther, C. (2022): Imaging of I, Re and Tc plant uptake on the single-cell scale using SIMS and rL-SNMS. *J. Hazard. Mater.* **423**, 127143.
- Medrano-Macías, J., Leija-Martínez, P., González-Morales, S., Juárez-Maldonado, A. & Benavides-Mendoza, A. (2016): Use of Iodine to Biofortify and Promote Growth and Stress Tolerance in Crops. *Frontiers in plant science* **7**, 1146. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01146>
- Metzner, R., Schneider, H. U., Breuer, U. & Schroeder, W. H. (2008): Imaging nutrient distributions in plant tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry and scanning electron microscopy. *Plant Physiology* **147**(4), 1774–1787. <https://doi.org/10.1104/pp.107.109215>
- Muramatsu, Y., Uchida, S., Sumiya, M., Ohmomo, Y. & Obata, H. (1989): Tracer experiments on transfer of radio-iodine in the soil-rice plant system. *Water Air Soil Pollut.* **45**, 157–171.
- Nishida, S., Tsuzuki, C., Kato, A., Aisu, A., Yoshida, J. & Mizuno, T. (2011): AtIRT1, the primary iron uptake transporter in the root, mediates excess nickel accumulation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant & Cell Physiology* **52**(8), 1433–1442. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcr089>
- Nishizawa, S., Sakai, A., Amano, Y. & Matsuzawa, T. (1993): Cryopreservation of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) embryogenic suspension cells and subsequent plant regeneration by vitrification. *Plant Science* **91**, 67–73.
- Pottgießer, S. (2021): Untersuchung der Speziation und des Transferverhaltens von Plutonium und Americium im System Boden-Pflanze zur Dosisabschätzung beim Anbau von Nutzpflanzen. Dissertation Leibniz Universität Hannover, 132 S. <https://www.irs.uni-hannover.de/de/forschung/publikationen/>
- Preuss, C. P., Huang, C. Y., Gilliam, M. & Tyerman, S. D. (2010): Channel-like characteristics of the low-affinity barley phosphate transporter PHT1;6 when expressed in *Xenopus* oocytes. *Plant Physiology* **152**(3), 1431–1441. doi.org/10.1104/pp.109.152009
- Preuss, Christian P., Huang, Chun Y. & Tyerman, Stephen D. (2011): Proton-coupled high-affinity phosphate transport revealed from heterologous characterization in *Xenopus* of barley-root plasma membrane transporter, HvPHT1;1. *Plant, Cell and Environment* **34**, 681–689. [doi: 10.1111/j.1365-3040.2010.02272.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02272.x)
- Robertson, D. E., Cataldo, D. A., Napier, B. A., Krupka, K. M. & Sasser, L. B. (2003): Literature Review and Assessment of Plant and Animal Transfer Factors Used in Performance Assessment Modelling. PNNL-14321. Pacific Northwest National Laboratory, 182 S.
- Rößler, D., Franke, K., Süß, R., Becker, E. & Kupsch, H. (2000): Synthesis and chromatographic characterization of [Tc-99m]technetium-humic acid species. *Radiochim. Acta* **88**, 95–100.
- Roy, S. J., Gilliam, M., Berger, B., Essah, P. A., Cheffings, C., Miller, A. J., Davenport, R. J., Liu, L.-H., Skynner, M. J., Davies, J. M., Richardson, P., Leigh, R. A. & Tester, M. (2008):

- Investigating glutamate receptor-like gene co-expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, cell & Environment* **31**(6), 861–871. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01801.x>
- Ruppersberg, Hanna S., Goebel, Maren R., Kleinert, Svea I., Wunsch, Daniel, Trautwein, Kathleen, Rabus, Ralf (2017): Photometric Determination of Ammonium and Phosphate in Seawater Medium Using a Microplate Reader. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* **27**, 73-80. doi: 10.1159/000454814
- Saatz, J., Stryhanyuk, H., Vetterlein, D., Musat, N., Otto, M., Reemtsma, T., Richnow, H. H. & Daus, B. (2016): Location and speciation of gadolinium and yttrium in roots of Zea mays by LA-ICP-MS and ToF-SIMS. *Environmental Pollution* **216**, 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.069>
- Santschi, P. H., Roberts, K. A. & Guo, L. (2002): Organic nature of colloidal actinides transported in surface water environments. *Environ. Sci. Technol.* **36**(17), 3711–3719. <https://doi.org/10.1021/es0112588>
- Santschi, P. H. & Schwehr, K. A. (2004): $^{129}\text{I}/(^{127}\text{I})$ as a new environmental tracer or geochronometer for biogeochemical or hydrodynamic processes in the hydrosphere and geosphere: the central role of organo-iodine. *Sci. Tot. Environ.* **321**(1-3), 257–271. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.09.003>
- Schlegel, M. L., Reiller, P., Mercier-Bion, F., Barré, N. & Moulin, V. (2006): Molecular environment of iodine in naturally iodinated humic substances: Insight from X-ray absorption spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* **70**(22), 5536–5551. doi:10.1016/j.gca.2006.08.026
- Sheppard, M. I., Vandergraaf, T. T., Thibault, D. H. & Reid, J.A.K. (1983): Technetium and uranium: Sorption by and plant uptake from peat and sand. *Health Physics* **44**(6), 635–643.
- Sheppard, M. I. & Thibault, D. H. (1992): Chemical behaviour of iodine in organic and mineral soils. *Appl. Geochem.* **7**, 265–272.
- Shetaya, W. H., Young, S. D., Watts, M. J., Ander, E. L. & Bailey, E. H. (2012): Iodine dynamics in soils. *Geochim. Cosmochim. Acta* **77**, 457–473. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.10.034>
- Söderlund, M., Lusa, M., Lehto, J., Hakanen, M., Vaaramaa, K. & Lahdenperä, A.-M. (2011): Sorption of Iodine, Chlorine, Technetium and Cesium in Soil. Working Report 2011-04. Posiva Oy, 134 S.
- Statista (2018): Pro-Kopf-Konsum von Gemüse in Deutschland nach Art in den Jahren 2017/18 bis 2019/20 (in kg). Quelle: Statistisches Bundesamt; BMEL; BLE. <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/176731/umfrage/pro-kopf-verbrauch-von-gemuese-in-deutschland/#&qKat=search> (Letzter Zugriff: 07.06.2021)
- Stumpf, T., Hennig, C., Bauer, A., Denecke, M. A. & Fanghänel, T. (2004): An EXAFS and TRLFS study of the sorption of trivalent actinides onto smectite and kaolinite. *Radiochim. Acta* **92**, 133–138.
- Theodoulou, F. L. & Miller, A. J. (1995): *Xenopus* oocytes as a heterologous expression system for plant proteins. *Molecular Biotechnology* **3**, 101–115.
- Ticknor, K.V., Vilks, P., Vandergraaf, T.T. (1996): The effect of fulvic acid on the sorption of actinides and fission products on granite and selected materials. *Appl. Geochem.* **11**, 555-565.
- Van Loon L.R., Lembrechts J.F.M.M. (1986): Speciation of Technetium in Plants Grown on Substrates which Contained Different Chemical Forms of Technetium. In: Desmet G., Myttenaere C. (eds) *Technetium in the Environment*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-009-4189-2_25

- Weinfurter, K., Böhmer, W., Hennecke, D., Hund-Rinke, K., Kördel, W., Kuhnt, G., Scheidt, S. & Simon, M. (2005): Informationen zur Charakterisierung von Referenzböden - Spezifizierung und Beschreibung des Verhaltens von Schadstoffen in Referenzböden. UBA-FB 001230, 177 S.
- Weng, H., Hong, C., Xia, T., Bao, L., Liu, H. & Li, D. (2013): Iodine biofortification of vegetable plants—An innovative method for iodine supplementation. *Chinese Science Bulletin* **58**(17), 2066–2072. <https://doi.org/10.1007/s11434-013-5709-2>
- Weng, H.-X., Hong, C.-L., Yan, A.-L., Pan, L.-H., Qin, Y.-C., Bao, L.-T. & Xie, L.-L. (2008): Mechanism of iodine uptake by cabbage: effects of iodine species and where it is stored. *Biol. Trace Element Res.* **125**(1), 59–71. <https://doi.org/10.1007/s12011-008-8155-2>
- Whitehead, D. C. (1974). The sorption of iodide by soil components. *J. Sci. Fd. Agric.* **25**, 73–79.
- Wunnenberg, A. (2021): Untersuchung des Migrations- und des Transferverhaltens von I-129 im System Boden – Pflanze zur Dosisabschätzung beim Anbau von Nutzpflanzen. Dissertation Leibniz Universität Hannover (*noch in Arbeit*)
- Zavarin, M., Zhao, P., Dai, Z. & Kersting, A. B. (2014): Plutonium sorption and precipitation in the presence of goethite at 25 and 80°C. *Radiochim. Acta* **102**(11), 983–997. <https://doi.org/10.1515/ract-2013-2188>
- Zhang, H. & Selim, H. M. (2011): Second-order modeling of arsenite transport in soils. *J. Contam. Hydrol.* **126**(3–4), 121–129. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2011.08.002>
- Zhao, P., Zavarin, M., Leif, R. N., Powell, B. A., Singleton, M. J., Lindvall, R. E. & Kersting, A. B. (2011): Mobilization of actinides by dissolved organic compounds at the Nevada Test Site. *Appl. Geochem.* **26**(3), 308–318. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2010.12.004>
- Zhao, P., Begg, J. D., Zavarin, M., Tumey, S. J., Williams, R., Dai, Z. R., Kips, R. & Kersting, A. B. (2016): Plutonium(IV) and (V) Sorption to Goethite at Sub-Femtomolar to Micromolar Concentrations: Redox Transformations and Surface Precipitation. *Environ. Sci. Technol.* **50**(13), 6948–6956. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00605>

II.2. Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Der zahlenmäßige Nachweis wurde der PTKA bereits im Juni 2021 separat übermittelt. Die wichtigste Position des Verwendungsnachweises stellen die Personalmittel dar, die für die Finanzierung von 3 Doktoranden- und 1 PostDoc-Stelle genutzt wurden. Die Förderung junger Wissenschaftler ist ein wichtiges Ziel dieses Projekts und dient dem Kompetenzerhalt in Deutschland. Der Gesamtbetrag der Personalmittel erhöhte sich am Ende des Projekts durch die zusätzliche Bewilligung einer mehrmonatigen Verlängerung zum Auffangen des Verzugs in den Projektarbeiten, der durch die coronabedingte Schließung der Labore entstanden war. Ein Teil der Reisemittel für die Konferenzen, die durch den Lockdown ausfielen und Mittel für externe Messungen, die wegen der Nutzung anderer Verfahren nicht benötigt wurden, wurden ebenfalls den Personalmitteln zugeschlagen.

Die Reisemittel flossen, solange das Reisen möglich war, wurden für die Finanzierung der Teilnahme der Bearbeiter an nationalen und internationalen Konferenzen genutzt. Die Mittel für Verbrauchsmaterialien wurden für die nötigen Laborarbeiten aufgewendet. Die Investitionsmittel wurden bestimmungsgemäß eingesetzt, abgesehen von einer geringfügigen Änderung beim IfB bei der Anschaffung des Amplifiers. Statt des beantragten iTEV 90 Multi-Electrode Clamp Amplifiers wurde aus den Mitteln des Vorhabens ein EPC 10 USB Double Patch Clamp Amplifier beschafft, der es möglich machte, die Akkumulation von Ionen in Knockoutpflanzen und normalen Pflanzen zu vergleichen und auf Molekularebene den Beitrag der Transporter für die Akkumulation der Radionuklide in Pflanzen zu evaluieren. Die stellte einen wesentlichen Vorteil dar, ohne das Investitionsvolumen zu erhöhen.

II.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die im Projekt durchgeführten Arbeiten waren notwendig und angemessen, um zu projektrelevanten in Ergebnissen zu gelangen. Sie entsprachen den im Antrag formulierten Zielen und alle wesentlichen im Arbeitsplan genannten Aufgaben wurden erfolgreich bearbeitet. Laufende Arbeiten wurden regelmäßig in Projekttreffen mit den anderen Partnern abgeglichen, um die jeweils nächsten Arbeitsschritte zu planen und die Vernetzung der Teilprojekte zu vertiefen. Der geleistete Beitrag zum Kompetenzerhalt kommt durch 14 im Projekt angefertigte Abschlussarbeiten zum Ausdruck (vergl. II.6).

II.4. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Der Nutzen bzw. die Verwertbarkeit erschließt sich aus den beiden Kernaufgaben des Projekts, der Ausbildung junger Wissenschaftler im Bereich im Bereich nukleare Sicherheits- und Entsorgungsforschung und der Gewinnung genauerer Erkenntnisse zur Radionuklidaufnahme durch landwirtschaftlich genutzte Pflanzen über den Grundwasserpfad, insbesondere auf der molekularen Ebene.

Mit der Einbindung von mehreren Studierenden/ Promovierenden wurde der wissenschaftliche Nachwuchs an die Thematik der nuklearen Entsorgung und an experimentelle radiochemische Methoden herangeführt. Dadurch wird Kompetenz auf dem Gebiet Radioökologie, angewandt auf Fragen der sicheren nuklearen Entsorgung erhalten bzw. weiter ausgebaut.

In Bezug auf die zweite Kernaufgabe ist besonders der erfolgreiche Nachweis von Radionukliden in Pflanzenzellen mittels orts aufgelöster Massenspektrometrie hervorzuheben. Die Darstellung der Verteilung von Iod und Technetium in Pflanzengewebe macht Rückschlüsse auf den Transport der Radionuklide innerhalb der Pflanzen möglich. Technetium konnte in Geweben, aber auch in einer einzelnen Epidermiszelle (30 µm Durchmesser) dargestellt werden. Auch beim Nachweis des Transports von Curium und Americium über Transporter in die Wurzelzellen von Pflanzen wurden wesentliche Fortschritte erreicht. In Zusammenarbeit von IfB und HZDR wurde die Aufnahme von sowie die Komplexbildung durch Oozyten ausgeschiedenen Stoffen mit Curium getestet. Um die tatsächliche Aufnahme von Phosphat nachzuweisen wurde ein Phosphat-Aufnahme-Assay etabliert welcher auf der Reaktion von Ammonium-Molybdat mit Phosphat basiert. Durch diese Arbeiten wurde ein gutes Verständnis für die Kenntnisse entwickelt, die für eine weitere erfolgreiche Versuchsdurchführung in zukünftigen Projekten erforderlich sind.

II.5. Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Im Projektzeitraum sind uns keine Ergebnisse Dritter bekannt geworden, die für die Durchführung des Vorhabens relevant waren.

In einer Veröffentlichung einer Arbeitsgruppe aus Frankreich (Lebeau et al. 2021) wurden Ergebnisse zur orts aufgelösten MS (nanoSIMS) von Iod in Braunalgen (*Laminaria digitata*) vorgestellt. Diese erschien jedoch erst nach dem Abschluss unserer eigenen Arbeiten zu diesem Bereich und sind wegen der Durchführung der Versuche an Pflanzen aus einer marinen Umgebung nur methodisch interessant.

II.6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen des Ergebnisses

Veröffentlichungen in Zeitschriften nach dem „peer-review“ Verfahren:

M. Mandel, L. Holtmann, M. Raiwa, A. Wunnenberg-Gust, B. Riebe, C. Walther (2022): Imaging of I, Re and Tc plant uptake on the single-cell scale using SIMS and rL-SNMS. *J. Hazard. Mater.* 423, 127143.

S. Pottgießer, A. Brittner, B. Riebe, A. Wunnenberg, M. Mandel, C. Walther (2022): Analysis of plutonium soil-to-plant transfer in agriculturally used German reference soils. *Environ. Sci. Pollut. Res.* (submitted)

A. Wunnenberg, M. Mandel, S. Pottgießer, N. Sassenberg, T. Schmalz, B. Riebe, C. Walther (2022): Investigation of migration behaviour and soil-to-plant transfer of iodine and technetium in an agriculturally used German reference soil. (noch in Arbeit)

Abschlussarbeiten:

Linus Holtmann (2018): Gammaskpektrometrische Bestimmung der Sorption von I-125 und Am-243 an vier verschiedenen Referenzböden. Bachelorarbeit

Elisa Lamottke (2018): Elektrophysiologische Untersuchung des Ionentransports durch den pflanzlichen Anionentransporter AtPHT1.4. Bachelorarbeit

Claire Seidel (2019): Heterologe Expression und funktionelle Analyse des pflanzlichen Metalloionentransporters AtIRT1 Bachelorarbeit

Jessica Schindler (2019): Untersuchung des pH-abhängigen Ionentransports des Calcium-Transporters GLR3.7 aus *Arabidopsis thaliana*. Bachelorarbeit

Justine Hensel (2020): Elektrophysiologische und quantitative Untersuchung des Phosphattransportes durch den Anionentransporter AtPHT1.4. Bachelorarbeit

Kirsten Schmidt (2019): Untersuchung der Radionuklidmigration in Säulen- und Lysimeterversuchen mit spektroskopischen und massenspektrometrischen Methoden. Bachelorarbeit

Annika Klose (2020): Ortsaufgelöste Analyse von Pu-, Am-, Tc-getracerten Wurzelschnitten mittels TOF-SIMS und Laser-SNMS. Masterarbeit

Nils Sassenberg (2020): Gammaskpektrometrische Bestimmung der Sorption von I-125 an einem Referenzboden im wassergesättigten Zustand. Bachelorarbeit

Tim Schmalz (2020): Massenspektrometrische Bestimmung der Sorption von Tc-99 an einem Referenzboden im wassergesättigten Zustand. Bachelorarbeit

Linus Holtmann (2021): Bestimmung endlagerrelevanter Radionuklide in Pflanzenteilen mittels ortsaufgelöster Massenspektrometrie Masterarbeit

Artur Brittner (2021): Mobilitäts- und Sorptionsverhalten von Plutonium in deutschen Referenzböden Masterarbeit

Simon Pottgießer (2021): Untersuchung der Speziation und des Transferverhaltens von Plutonium und Americium im System Boden-Pflanze zur Dosisabschätzung beim Anbau von Nutzpflanzen. Dissertation

Marcus Mandel (2022): Untersuchung der Speziation und des Transferverhaltens von ^{99}Tc im System Boden – Pflanze mittels massenspektrometrischer Methoden. Dissertation (noch in Arbeit)

Annika Wunnenberg (2022): Untersuchung des Migrations- und des Transferverhaltens von I-129 im System Boden – Pflanze zur Dosisabschätzung beim Anbau von Nutzpflanzen. Dissertation (noch in Arbeit)

Abschlussarbeiten, die im IRS angefertigt wurden, können unter folgendem Link abgerufen werden:

<https://www.irs.uni-hannover.de/de/forschung/publikationen/>

Anhang

Tabellen und Abbildungen

Tab. A1: Eigenschaften der verwendeten Referenzböden (Index $_o$ = oxalatlöslich; Index $_d$ = dithionitlöslich).

RefeSol	Sand %	Schluff %	Ton %	Fe _o g kg ⁻¹	Fe _d g kg ⁻¹	Al _o g kg ⁻¹	Al _d g kg ⁻¹	Mn _o g kg ⁻¹	Mn _d g kg ⁻¹	pH CaCl ₂	C _{org} %	KAK _{eff} mmol _c kg ⁻¹
01-A	74,8	20,7	4,5	1,71	8,18	1,18	2,30	0,40	1,00	5,8	0,98	39,1
02-A	6,2	79,3	14,6	3,30	15,00	0,77	1,89	0,40	1,09	6,3	1,04	113,6
03-G	26,8	52,6	20,5	4,31	28,81	2,23	6,02	0,50	2,27	5,9	4,22	132,3
04-A	83,8	10,6	5,6	0,77	2,34	1,75	2,94	1,44	0,49	5,3	2,93	45,6

Bodentypen:	RefeSol-01A	Braunerde
	RefeSol-02A	Pseudovergleyte Parabraunerde
	RefeSol-03G	Braunerde
	RefeSol-04A	Gley-Podsol

Tab. A2: Chemische Zusammensetzung des synthetischen Bodenwassers (SBW; nach Bors et al. 1991).

Synthetisches Bodenwasser

Ion	mmol L ⁻¹	mg L ⁻¹
Ca ²⁺	6,86	274,9
Mg ²⁺	1,81	44,0
Na ⁺	6,48	149,0
K ⁺	2,46	96,2
SO ₄ ²⁻	1,81	173,9
Cl ⁻	13,71	486,1
NO ₃ ⁻	8,92	553,1

pH: 6,1

Ionenstärke: 0,037 mol L⁻¹

Tab. A3: Versuchsparameter für die Batchversuche.

Batchversuche	Iod	Technetium	Plutonium	Americium	Iod/Kinetik	Pu/Kinetik
Tracer	I-125	Tc-99	Pu-242	Am-243	I-125	Pu-242
Boden	alle	alle	alle	alle	alle	alle
Lösung	CaCl ₂	SBW	SBW	SBW	SBW	CaCl ₂
Konzentrationen [mol L ⁻¹]	5 10 ⁻⁸ bis 10 ⁻⁴	7 1,5·10 ⁻⁹ - 6,1·10 ⁻⁷	8 2,1·10 ⁻⁹ - 1,0·10 ⁻⁷	8 2,8·10 ⁻¹⁰ - 1,4·10 ⁻⁸	1 10 ⁻⁵	1 4,1·10 ⁻⁹
Verhältnis / m:V	1:5	1:10	1:10	1:10	1:10	1:10
Einwaage [g]	2	2	2	2	2	2
Kontaktzeit [d]	14	14	21	21	1 - 35 (n=11)	1 - 35 (n=8)
Zentrifugieren	20 min/ 3000 rpm	15 min/ 3000 rpm	10 min/ 4500 rpm	10 min/ 4500 rpm	20 min/ 3000 rpm	10 min/ 4500 rpm
Filterieren	---	---	<0,45 µm	<0,45 µm	---	<0,45 µm
Kinetik	ja	nein	ja	nein	---	<0,45 µm

Tabelle A4: Konzentrationsabhängige Sorption von ^{125}I an vier Referenzböden.

^{125}I [mol L ⁻¹]	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	K _d	u(K _d)						
$1 \cdot 10^{-8}$	31,34	9,44	134,26	83,31	34,53	10,89	77,68	10,34
$1 \cdot 10^{-7}$	34,77	2,72	46,85	6,85	36,97	3,19	62,86	8,87
$1 \cdot 10^{-6}$	19,67	0,83	30,65	6,21	21,52	1,86	21,06	2,31
$1 \cdot 10^{-5}$	30,30	5,64	45,44	1,01	11,48	0,80	5,59	1,35
$1 \cdot 10^{-4}$	6,77	0,81	79,46	3,29	3,54	3,06	0,43	0,07

Tabelle A5: Konzentrationsabhängige Sorption von ^{99}Tc an vier Referenzböden.

^{99}Tc [mol L ⁻¹]	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	K _d	u(K _d)						
$1,5 \cdot 10^{-9}$	1,12	0,81	0,38	0,18	23,61	12,31	0,32	0,09
$3,1 \cdot 10^{-9}$	0,61	0,11	0,62	0,15	6,83	2,36	0,24	0,20
$6,1 \cdot 10^{-9}$	0,28	0,15	0,48	0,23	3,06	0,61	0,06	0,15
$6,1 \cdot 10^{-8}$	0,46	0,63	0,77	0,14	1,03	0,06	0,07	0,07
$1,5 \cdot 10^{-7}$	0,22	0,15	1,59	0,17	0,80	0,13	0,28	0,09
$3,1 \cdot 10^{-7}$	0,11	0,36	1,76	0,20	1,05	0,12	0,44	0,04
$6,1 \cdot 10^{-7}$	0,29	0,45	1,92	0,09	0,97	0,06	0,68	0,26

Tabelle A6: Konzentrationsabhängige Sorption von ^{242}Pu an vier Referenzböden.

^{242}Pu [mol L ⁻¹]	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	K _d	u(K _d)						
$2,1 \cdot 10^{-9}$	2550	242	2060	429	1755	1096	404	118
$4,1 \cdot 10^{-9}$	3370	347	6149	1596	1790	643	1170	375
$8,3 \cdot 10^{-9}$	5725	1081	5990	844	1610	656	2000	57
$2,1 \cdot 10^{-8}$	7390	612	15900	951	13230	4439	2020	659
$4,1 \cdot 10^{-8}$	9575	2292	27918	18909	3830	927	4700	490
$6,2 \cdot 10^{-8}$	15599	10735	13920	3990	2380	937	4208	1375
$8,3 \cdot 10^{-8}$	5865	2748	11190	2763	2610	288	4030	505
$1,0 \cdot 10^{-7}$	5784	2618	822	638	2958	1359	1860	906

Tabelle A7: Konzentrationsabhängige Sorption von ^{243}Am an vier Referenzböden.

^{243}Am [mol L ⁻¹]	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	K _d	u(K _d)						
$2,8 \cdot 10^{-10}$	15069,3	7198,5	20916,5	10888,1	16648,5	6334,3	13260,5	1560,7
$5,6 \cdot 10^{-10}$	8507,0	547,8	31018,6	5153,4	26938,1	4667,6	12859,8	2219,2
$1,1 \cdot 10^{-9}$	4251,5	348,5	41913,2	5108,2	87931,1	5000,0	11127,1	371,5
$2,8 \cdot 10^{-9}$	859,0	94,0	16737,3	1967,0	45670,2	17809,8	7515,9	808,7
$5,6 \cdot 10^{-9}$	204,3	53,1	3623,7	1582,1	10612,2	1186,2	2887,3	157,4
$8,4 \cdot 10^{-9}$	100,6	2,4	1221,9	832,8	14477,0	1396,0	1101,7	39,7
$1,1 \cdot 10^{-8}$	51,1	3,0	261,4	15,6	3718,0	1171,1	478,0	97,6
$1,4 \cdot 10^{-8}$	29,5	0,7	131,3	10,6	1398,1	79,5	319,2	30,0

Tabelle A8: Zeitabhängige Sorption von ^{125}I an vier Referenzböden.

Zeit	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	K _d	u(K _d)						
1h	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
1d	1,15	0,12	0,15	0,20	0,55	0,09	0,51	0,18
2d	1,76	0,17	1,58	0,16	2,30	0,68	1,58	0,04
3d	1,43	0,23	1,51	0,09	1,66	0,13	2,07	0,26
4d	1,72	0,06	0,98	0,55	1,32	0,16	0,90	0,14
6d	4,01	0,27	7,77	1,02	4,34	0,35	3,88	0,23
7d	2,92	0,36	9,95	0,24	4,33	0,74	4,70	0,14
8d	4,58	0,20	12,80	2,21	4,53	0,08	4,51	0,21
14d	4,91	0,42	54,13	1,70	6,72	0,30	7,67	0,58
21d	5,61	0,48	63,66	3,24	10,04	3,47	11,66	1,18
28d	5,97	0,77	58,67	1,24	24,41	4,33	12,80	2,35
35d	11,48	0,83	66,51	2,07	25,18	4,36	22,31	0,77

Tabelle A9: Zeitabhängige Sorption von ^{242}Pu an vier Referenzböden.

Zeit	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	K_d	$u(K_d)$	K_d	$u(K_d)$	K_d	$u(K_d)$	K_d	$u(K_d)$
1h	174	96	123	39	20	2	196	34
1d	365	68	1.245	146	66	1	417	3
3d	997	44	4.534	811	257	53	899	506
7d	2800	1022	7407	808	799	106	1931	680
14d	2052	214	8773	1356	1461	128	1513	429
21d	2693	285	10519	1935	1660	109	1910	200
28d	2801	406	10777	2673	1849	167	2004	108
35d	2998	128	9721	1451	790	760	2062	213

Tabelle A10: Gehalte an gelöster organischer Substanz (DOC) nach Ausschütteln der Referenzböden mit 0,01 M CaCl_2 -Lösung bzw. synth. Bodenwasser (SBW).

Boden	CaCl_2		SBW	
	DOC [mg L^{-1}]	$u(\text{DOC})$ [mg L^{-1}]	DOC [mg L^{-1}]	$u(\text{DOC})$ [mg L^{-1}]
RefeSol-01A	68,9	0,8	71,5	0,2
RefeSol-02A	57,1	0,6	59,7	0,2
RefeSol-03G	65,4	0,3	68,3	0,2
RefeSol-04A	53,9	0,5	67,0	0,1

Ionenstärken: CaCl_2 : $0,030 \text{ mol L}^{-1}$ SBW: $0,037 \text{ mol L}^{-1}$

Tab. A11: Von der IAEA tabellierte K_d -Werte in Abhängigkeit von der Textur [IAEA 2009].

	Soil group	n	GM	GSD	AM	SD	min	max
I	all soils	157	5,4	6	2,5E+01	7,0E+01	0,01	580,0
	sand	37	3,6	8	1,3E+01	2,0E+01	0,01	130,0
	loam	74	6,5	5	2,4E+01	7,0E+01	0,2	530,0
	clay	13	6,8	6	2,1E+01	3,0E+01	1,0	120,0
	organic	9	36,0	4	9,3E+01	1,8E+01	8,5	580,0
	unspecified	24	2,6	6	2,0E+01	7,0E+01	0,1	370,0
Tc	all soils	33	2,3E-01	9	2,0E+00	5,0E+00	0,01	0,11
	sand	5	4,0E-02	3	5,0E-02	5,0E-02	0,01	0,10
	loam	14	7,0E-02	3	2,0E-01	2,0E-01	0,01	0,90
	clay	3	9,0E-02	10	4,0E-01	7,0E-01	0,02	1,20
	organic	11	3,1	3	6	7	0,92	11,00
Pu	all soils	62	7,4E+02	4	1,6E+03	2,0E+03	32,0	9,6E+03
	sand	11	4,0E+02	4	1,0E+03	2,0E+03	33,0	6,9E+03
	loam	27	9,5E+02	4	1,9E+03	2,3E+03	100,0	9,6E+03
	clay	10	1,8E+03	2	2,5E+03	2,2E+03	430,0	7,6E+03
	organic	6	7,6E+02	4	1,3E+03	1,1E+03	90,0	3,0E+03
	unspecified	8	2,3E+02	5	6,1E+02	8,5E+02	32,0	2,1E+03
Am	all soils	62	2,6E+03	6	1,0E+04	1,8E+04	50,00	1,1E+05
	sand	17	1,0E+03	7	5,1E+03	1,0E+04	67,00	3,7E+04
	loam	31	4,2E+03	6	1,2E+04	1,6E+04	50,00	4,8E+04
	clay	1	-	-	8,1E+03	-	-	-
	organic	13	2,5E+03	5	1,1E+04	3,0E+04	210,00	1,1E+05

Tab. A12: Tiefenabhängige Verteilung der ^{125}I -Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Experimenten mit Durchlaufssäulen.

^{125}I	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	Tiefe / cm	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]
0-4	0,20	0,04	1,67	0,08	2,83	0,30	1,36	0,18
4-8	0,42	0,08	2,06	0,09	3,25	0,17	1,87	0,10
8-12	0,52	0,07	2,57	0,20	3,44	0,18	1,56	0,17
12-15	0,35	0,02	2,28	0,15	2,00	0,08	1,96	0,18
15-18	0,47	0,13	2,58	0,08	2,20	0,17	1,70	0,10
18-20	0,39	0,06	1,59	0,05	0,98	0,06	1,00	0,07
20-22	0,52	0,04	1,52	0,12	1,21	0,08	0,99	0,03
22-24	0,78	0,06	2,04	0,15	1,45	0,02	1,41	0,09
24-26	7,43	1,56	3,07	0,35	1,95	0,06	2,64	0,28
26-28	98,33	5,56	55,54	11,48	39,31	1,28	57,16	6,92
PW	1,28	0,53	26,79	4,03	42,50	3,70	32,68	7,14

Tab. A13: Tiefenabhängige Verteilung der ⁹⁹Tc-Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Experimenten mit Durchlaufssäulen.

⁹⁹ Tc	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	Tiefe / cm	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]
0-4	7,25	0,056	2,87	0,035	0,08	0,002	2,54	0,039
4-8	1,60	0,083	1,89	0,012	23,34	0,103	6,24	0,022
8-12	0,95	0,052	2,58	0,047	28,90	0,337	2,15	0,063
12-15	0,85	0,043	2,26	0,018	10,19	0,093	1,81	0,029
15-18	0,44	0,003	1,28	0,015	11,19	0,113	1,05	0,028
18-20	0,28	0,007	1,59	0,010	4,16	0,058	0,66	0,015
20-22	0,25	0,008	1,27	0,016	1,44	0,059	0,84	0,029
22-24	0,33	0,007	1,39	0,017	3,82	0,107	0,59	0,028
24-26	0,07	0,001	1,39	0,015	4,35	0,126	0,72	0,031
26-28	0,19	0,003	2,00	0,025	8,72	0,225	0,32	0,022
PW	87,80		81,46		3,50		83,11	

Tab. A14: Tiefenabhängige Verteilung der ²³⁸Pu-Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Experimenten mit Durchlaufssäulen.

²³⁸ Pu	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	Tiefe / cm	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]
0-4	0,30	0,06	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
4-8	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
8-12	0,19	0,05	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
12-15	0,27	0,04	<NWG	0,00	0,18	0,05	0,21	0,05
15-18	0,26	0,04	<NWG	0,00	0,23	0,04	0,17	0,05
18-20	0,27	0,05	0,11	0,03	0,33	0,07	0,36	0,03
20-22	0,31	0,04	0,09	0,05	0,39	0,07	0,27	0,04
22-24	0,61	0,07	0,37	0,05	0,44	0,08	0,32	0,06
24-26	1,42	0,09	1,53	0,13	0,88	0,11	0,95	0,09
26-28	96,10	3,30	97,90	5,55	97,40	5,55	94,10	3,88
PW	0,20	0,02	0,02	0,00	0,20	0,02	3,60	0,17

Tab. A15: Tiefenabhängige Verteilung der ²⁴³Am-Aktivitätskonzentration für alle RefeSol-Böden in den Experimenten mit Durchlaufssäulen.

²⁴³ Am	RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
	Tiefe / cm	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]	u(A) [%]	A [%]
0-4	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
4-8	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
8-12	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
12-15	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
15-18	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
18-20	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
20-22	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
22-24	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00	<NWG	0,00
24-26	<NWG	0,00	<NWG	0,00	3,00	0,05	<NWG	0,00
26-28	100,00	5,08	100,00	1,22	97,00	0,72	100,00	1,98

Tab. A16: ^{125}I -Konzentrationen in Porenwasser-Proben aus dem Iod-Lysimeter.

^{125}I	Tiefe 1 (oben)			Tiefe 2 (mitte)			Tiefe 3 (unten)		
Dauer d	A Bq mL^{-1}	u(A) Bq mL^{-1}	Verhältnis Iodat/Iodid	A Bq mL^{-1}	u(A) Bq mL^{-1}	Verhältnis Iodat/Iodid	A Bq mL^{-1}	u(A) Bq mL^{-1}	Verhältnis Iodat/Iodid
0	0,00	0,00	0,0515	0,00	0,00	0,0048	0,00	0,00	n.b.
62	2,75	0,37	0,0294	0,00	0,00	n.b.	409,79	3,99	n.b.
102	35,89	2,57	0,0367	479,2	11,75	0,0177	1971,10	20,48	0,0045
166	71,00	5,38	0,3580	250,0	10,95	0,0298	1266,48	25,93	n.b.
209	73,03	6,53	0,2562	147,0	9,89	0,0849	766,40	24,57	0,0100

Tab. A17: ^{99}Tc -Konzentrationen in Porenwasser-Proben aus dem Technetium-Lysimeter.

^{99}Tc	Tiefe 1 (oben)		Tiefe 2 (mitte)		Tiefe 3 (unten)	
Dauer d	A Bq mL^{-1}	u(A) Bq mL^{-1}	A Bq mL^{-1}	u(A) Bq mL^{-1}	A Bq mL^{-1}	u(A) Bq mL^{-1}
0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	20,16	1,23
84	2,43	0,01	0	0	33,72	0,19
88	3,44	0,04	10,37	0,11	25,89	0,57
114	8,00	0,80	14,76	1,47	15,42	1,50
152	10,88	0,14	16,15	0,31	8,71	0,25
166	11,10	0,35	9,45	0,18	3,08	0,06

Tab. A18: Tiefenabhängige Tracer-Verteilung in den Lysimeter-Bohrkernen (I, Tc, Pu).

Tiefe cm	Iod		Plutonium		Tiefe cm	Technetium	
	A Bq g^{-1}	u(A) Bq g^{-1}	A Bq g^{-1}	u(A) Bq g^{-1}		A Bq g^{-1}	u(A) Bq g^{-1}
0-4	470,3	18,0	0	0	0,0-3,5	7,82	0,05
4-8	1738,0	48,7	0	0	3,5-7,0	5,92	0,10
8-12	3740,3	78,5	0	0	7,0-10,5	10,73	0,12
12-16	581,3	21,7	0	0	10,5-14,0	4,85	0,08
16-20	769,7	27,2	0,99	0,45	14,0-17,5	4,49	0,08
20-24	330,1	12,6	0,53	0,11	17,5-21,0	4,01	0,11
24-28	311,5	11,8	12,63	0,91	21,0-24,5	3,66	0,12
28-32	346,4	13,3	0,65	0,10	24,5-28,0	3,74	0,09
32-36	387,6	14,9	0,87	0,11	28,0-31,5	3,57	0,13
36-40	518,6	19,6	1,75	0,19	31,5-35,0	6,03	0,07

Tabelle A19: Modifizierte Nährlösung (verändert nach Hoagland und Snyder 1933).

Hoagland-Lösung

Salz	mg L ⁻¹
KNO ₃	102,0
Ca(NO ₃) ₂ · 4 H ₂ O	70,8
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	49,0
NH ₄ H ₂ PO ₄	2,88
H ₃ BO ₃	0,286
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	0,181
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0,008
H ₂ MoO ₄ · H ₂ O	0,009
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	0,022

pH: 5,5

Tabelle A20: Transferfaktoren für verschiedenen Pflanzenkompartimenten von Erbse, Karotte, Kartoffel und Weizen in unterschiedlichen Referenzböden: (a) Iod, (b) Technetium, (c) Plutonium, (d) Americium.

(a) Iod		RefeSol-01A		RefeSol-02A		RefeSol-03G		RefeSol-04A	
		TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)
Erbse	Wurzel	66,46	5,79	51,86	15,14	16,58	1,41	34,50	14,13
	essbarer Anteil	0,060	0,009	0,289	0,060	0,023	0,002	0,044	0,004
	Blatt	18,21	3,71	196,76	29,19	5,62	1,00	13,39	1,18
Karotte	Wurzel	18,78	6,76	37,49	12,60	11,88	1,52	15,93	3,97
	essbarer Anteil	2,10	0,31	2,67	0,64	1,84	0,28	2,86	0,60
	Blatt	16,14	3,13	22,44	5,80	22,39	3,50	18,85	2,67
Kartoffel	Wurzel	16,69	5,87	4,22	1,05	10,19	1,99	6,63	1,94
	essbarer Anteil	0,27	0,06	0,20	0,02	0,12	0,02	0,10	0,06
	Blatt	30,14	3,33	14,35	1,50	14,80	2,66	4,92	1,36
Weizen	Wurzel	16,15	4,65	31,09	9,11	14,73	1,35	22,30	2,59
	essbarer Anteil	0,004	0,003	0,004	0,001	0,003	0,002	0,000	0,000
	Blatt	2,47	0,43	2,22	0,36	3,62	1,07	9,37	1,00

(b) Technetium		RefeSol 01-A		RefeSol 02-A		RefeSol 03-G		RefeSol 04-A	
		TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)
Erbse	Wurzel	8,21	3,80	88,92	5,58	4,72	0,06	32,33	7,09
	essbarer Anteil	1,23	0,58	3,89	0,61	0,43	0,27	4,14	1,04
	Blatt	602,55	215,16	747,83	87,86	93,13	17,39	919,70	202,88
Karotte	Wurzel	45,96	35,07	3,39	3,17	23,72	6,83	13,31	3,28
	essbarer Anteil	21,90	6,67	3,50	2,22	57,54	20,16	2,91	0,63
	Blatt	2131,34	426,35	848,97	581,66	1179,91	215,38	1898,63	136,56
Kartoffel	Wurzel	3,07	2,17	18,31	3,82	78,43	52,80	0,89	0,04
	essbarer Anteil	13,02	7,26	0,74	0,17	0,96	0,90	0,15	0,10
	Blatt	3675,29	852,49	889,76	108,05	196,86	166,07	234,81	221,32
Weizen	Wurzel	50,96	11,17	9,85	4,40	18,00	3,79	4,69	0,92
	essbarer Anteil	0,10	0,03	0,19	0,06	0,62	0,28	1,74	0,30
	Blatt	468,30	59,18	102,30	5,39	475,15	61,04	217,89	22,31

(c) Plutonium		RefeSol 01-A		RefeSol 02-A		RefeSol 03-G		RefeSol 04-A	
		TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)
Erbse	Wurzel	4,03	1,21	0,85	0,09	1,37	1,25	6,35	0,55
	essbarer Anteil	0,067	0,075	0,024	0,014	0,003	0,008	< LOD	
	Blatt	0,024	0,008	0,043	0,011	0,016	0,003	0,064	0,018
Karotte	Wurzel	18,07	2,79	11,15	5,13	3,65	1,21	12,49	1,61
	essbarer Anteil	0,024	0,01	0,007	0,009	0,003	0,001	0,04	0,019
	Blatt	0,101	0,0203	0,082	0,094	0,013	0,007	0,349	0,1
Kartoffel	Wurzel	6,14	4,23	0,55	0,08	1,47	0,08	6,87	3,29
	essbarer Anteil	0,007	0,005	0,032	0,017	0,0005	0,0001	0,007	0,002
	Blatt	0,074	0,02	0,048	0,011	0,008	0,004	0,102	0,066
Weizen	Wurzel	15,04	3,87	10,84	2,81	13,36	5,69	12,03	2,7
	essbarer Anteil	0,018	0,001	0,004	0,001	n.b.		0,055	0,001
	Blatt	0,017	0,012	0,008	0,003	0,036	0,034	0,081	0,049

(Tab. A20 fortgesetzt)

(d) Americium		RefeSol 01-A		RefeSol 02-A		RefeSol 03-G		RefeSol 04-A	
		TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)	TF	u(TF)
Erbse	Wurzel	1,32	0,45	0,47	0,19	2,92	2,01	8,85	3,58
	essbarer Anteil	0,060	0,010	0,018	0,012	<LOD		0,008	0,001
	Blatt	0,043	0,004	0,12	0,06	0,02	0,01	0,047	0,016
Karotte	Wurzel	3,83	0,9	10,14	8,44	4,84	1,71	10,17	1,58
	essbarer Anteil	0,060	0,030	0,010	0,003	0,008	0,001	0,026	0,002
	Blatt	1,110	0,410	0,120	0,010	0,040	0,010	0,250	0,020
Kartoffel	Wurzel	9,32	8,38	0,67	0,07	2,22	0,83	2,58	0,89
	essbarer Anteil	0,080	0,030	0,003	0,001	0,005	0,002	0,003	0,001
	Blatt	0,760	0,060	0,093	0,022	0,026	0,007	0,016	0,006
Weizen	Wurzel	34,34	11,84	26,85	14,05	20,33	1,8	25,91	3,93
	essbarer Anteil	0,010	0,004	0,043	0,006	0,058	0,039	0,028	0,021
	Blatt	0,035	0,004	0,038	0,019	0,044	0,04	0,035	0,023

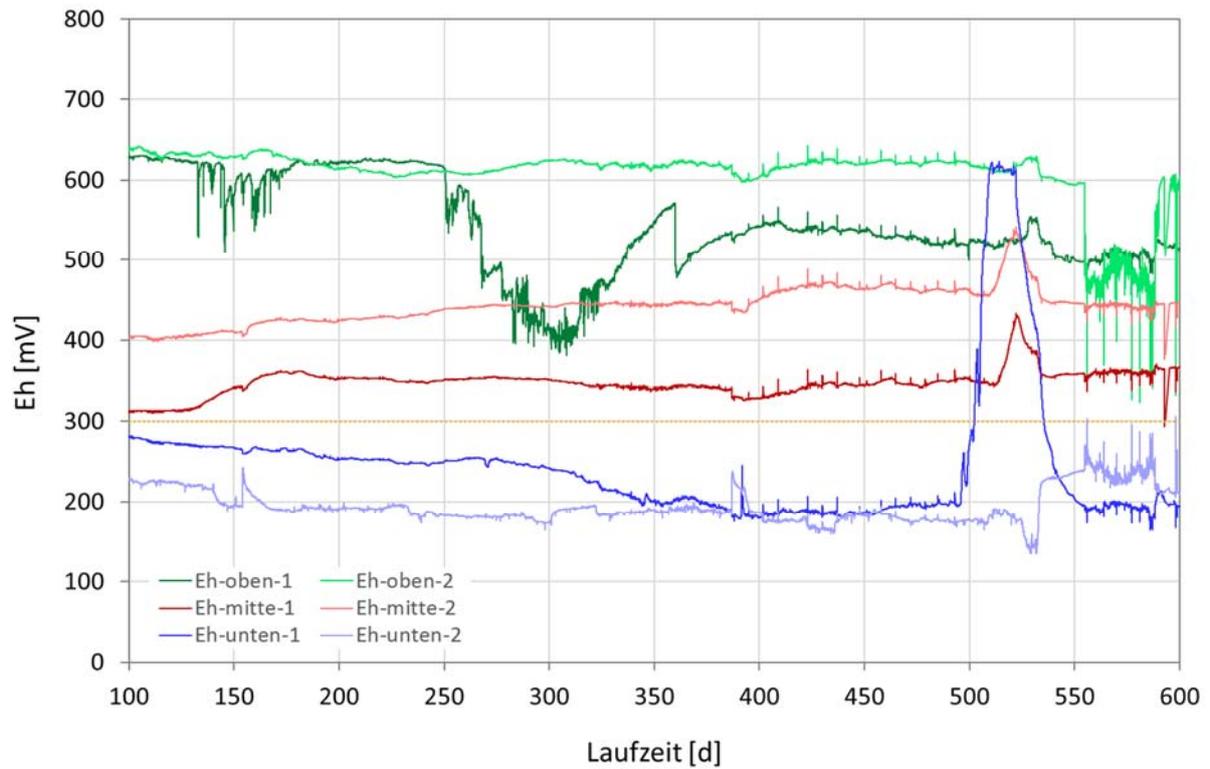


Abb. A1: Entwicklung des Redoxpotentials im ^{125}I -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung. Die gepunktete gelbe Linie (300 mV) markiert den Bereich nach unten, ab dem kein Sauerstoff mehr nachweisbar ist [Blume et al. 2020].

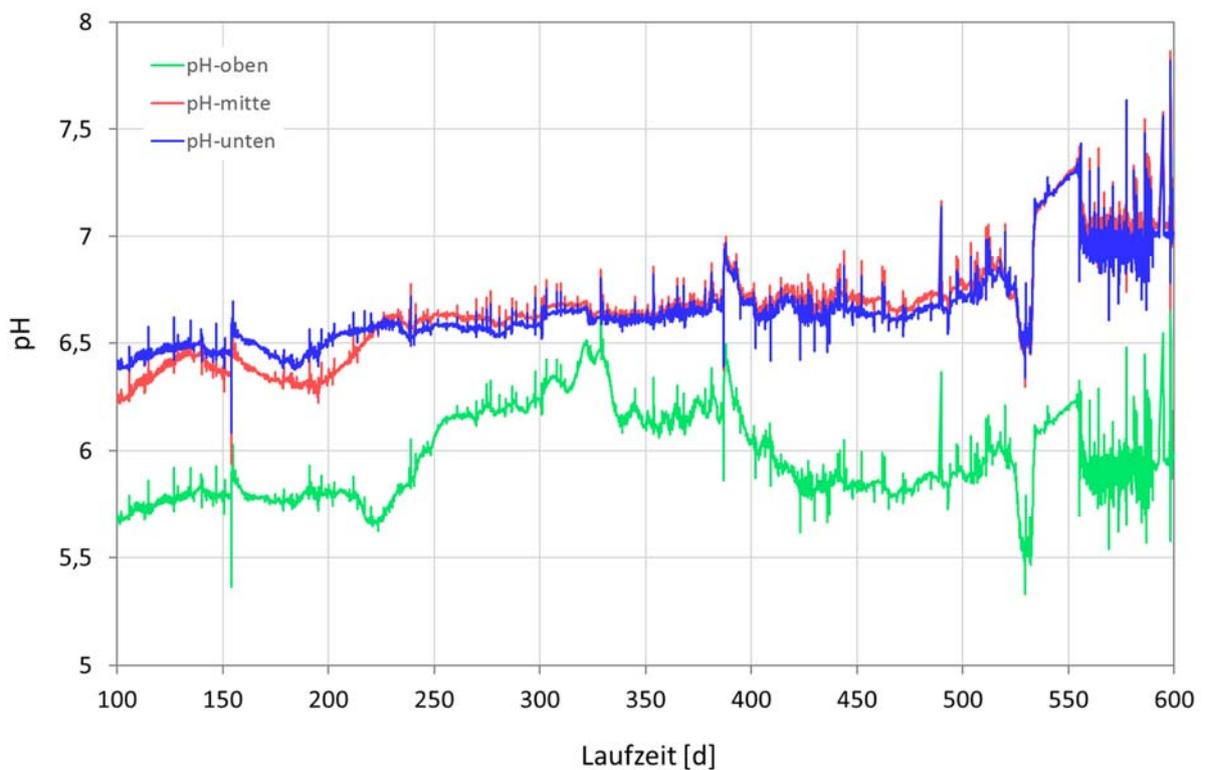


Abb. A2: Entwicklung der pH-Werte im ^{125}I -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung.

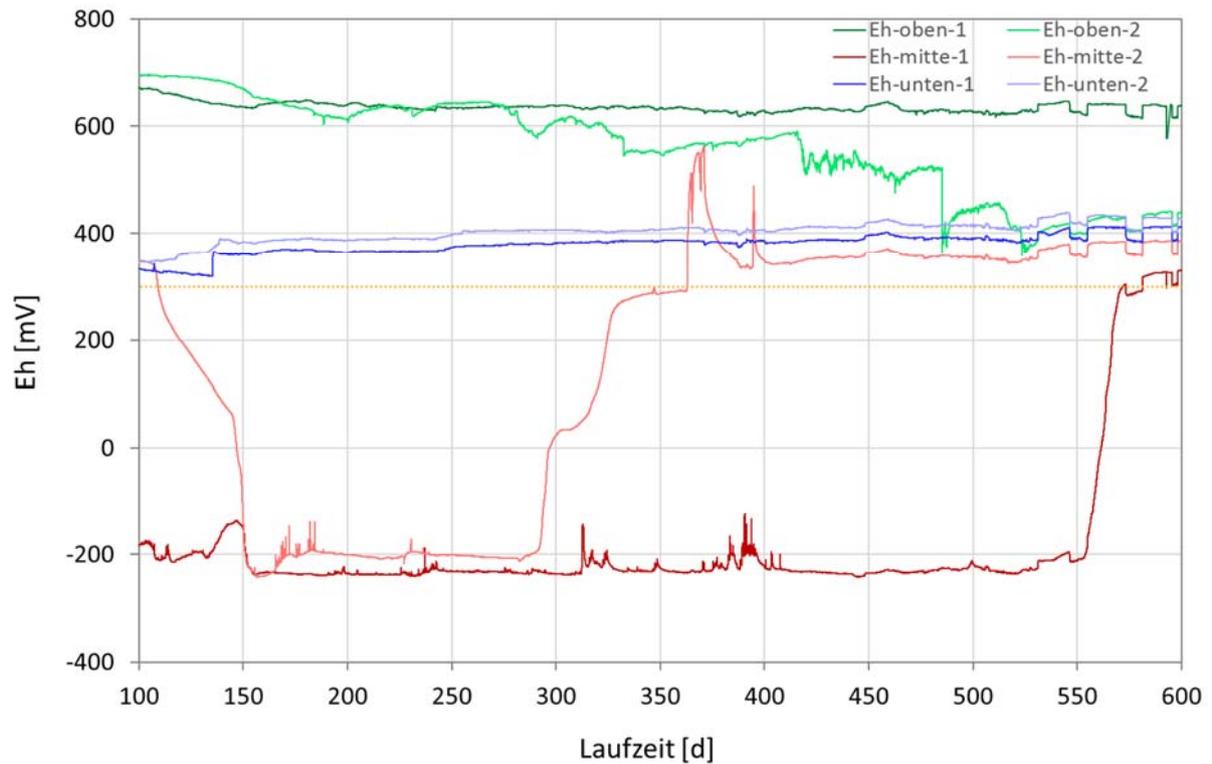


Abb. A3: Entwicklung des Redoxpotentials im ^{99}Tc -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung. Die gepunktete gelbe Linie (300 mV) markiert den Bereich nach unten, ab dem kein Sauerstoff mehr nachweisbar ist [Amelung et al. 2018].

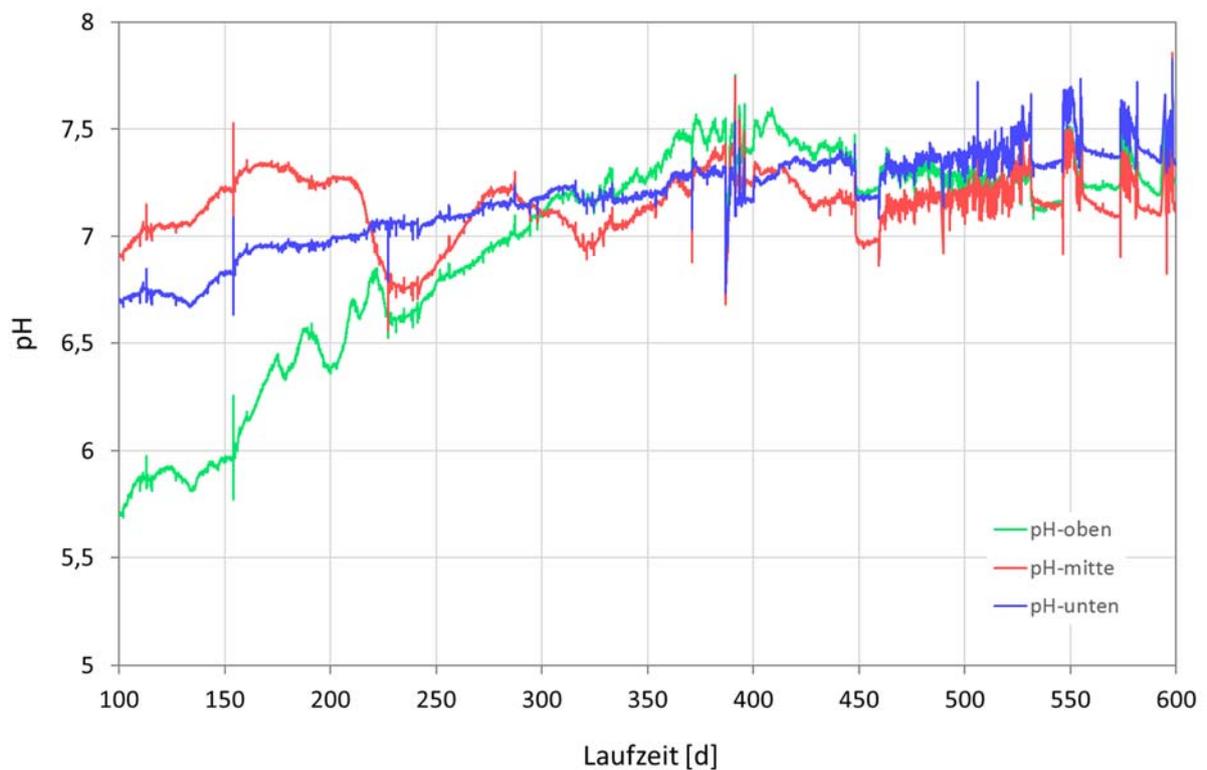


Abb. A4: Entwicklung der pH-Werte im ^{99}Tc -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung.

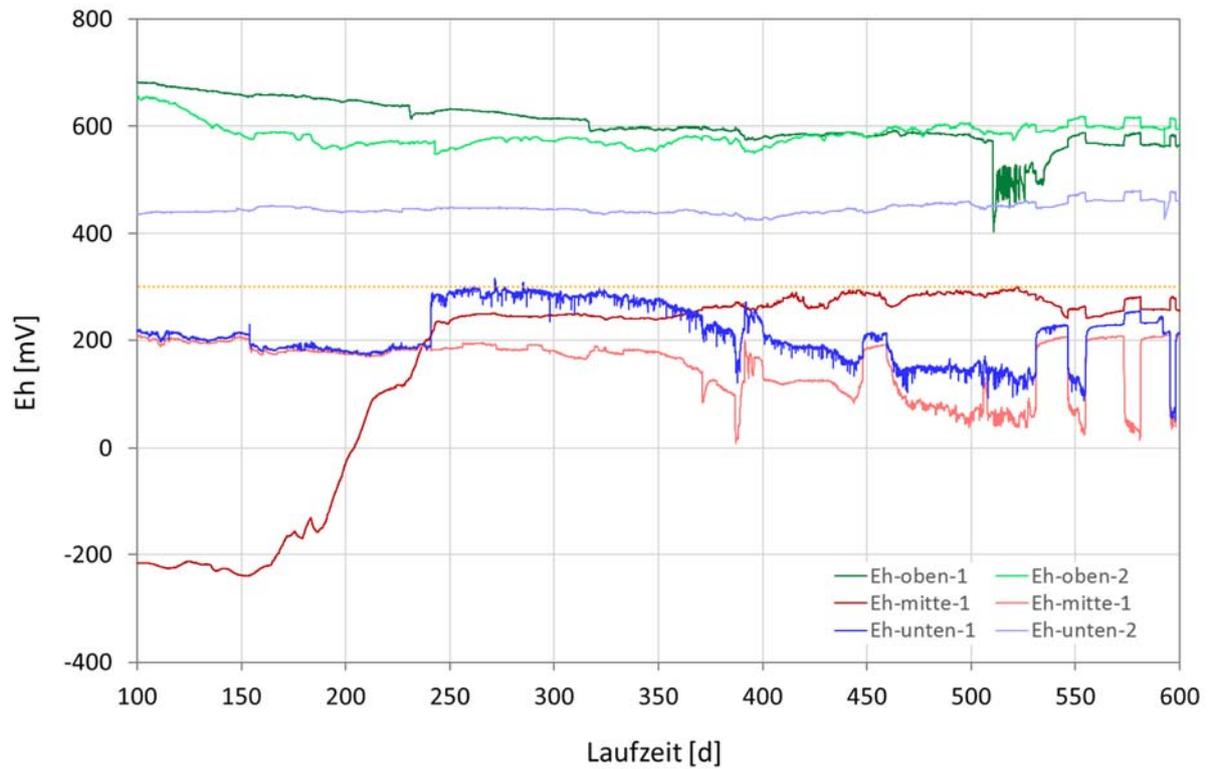


Abb. A5: Entwicklung des Redoxpotentials im ^{238}Pu -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung. Die gepunktete gelbe Linie (300 mV) markiert den Bereich nach unten, ab dem kein Sauerstoff mehr nachweisbar ist [Amelung et al. 2018].

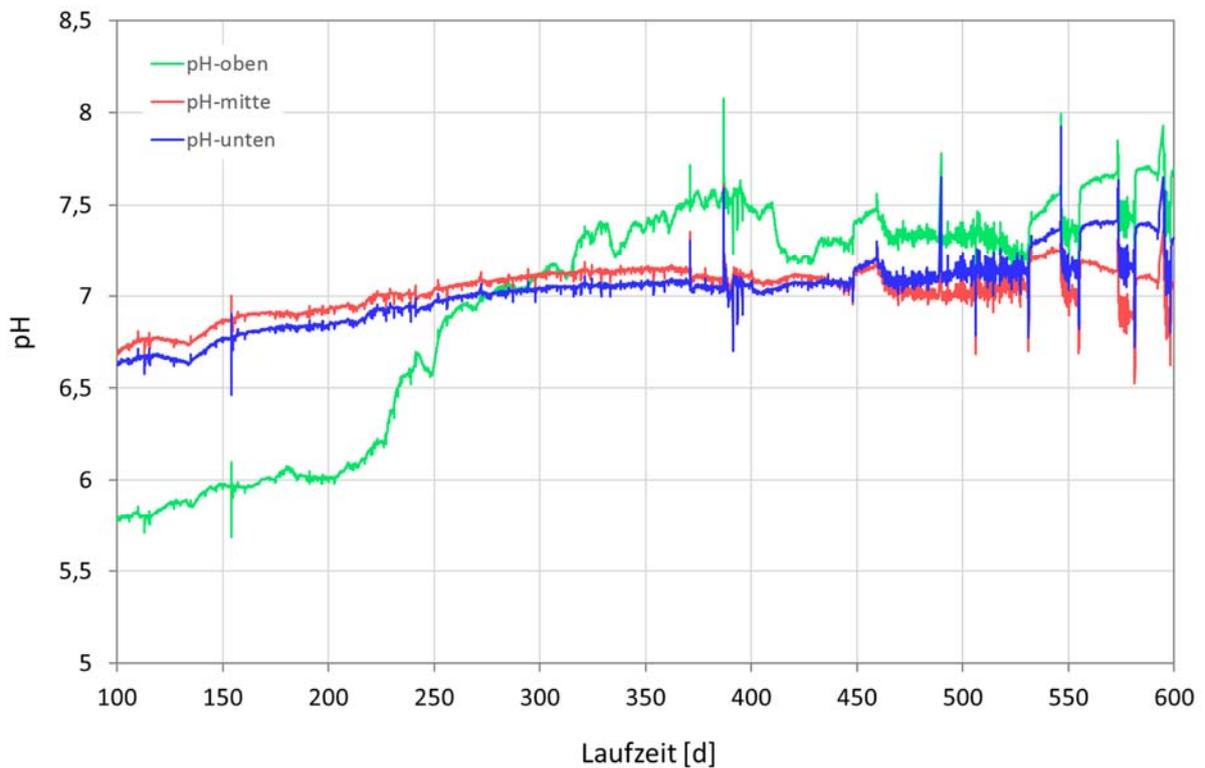


Abb. A6: Entwicklung der pH-Werte im ^{238}Pu -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung.

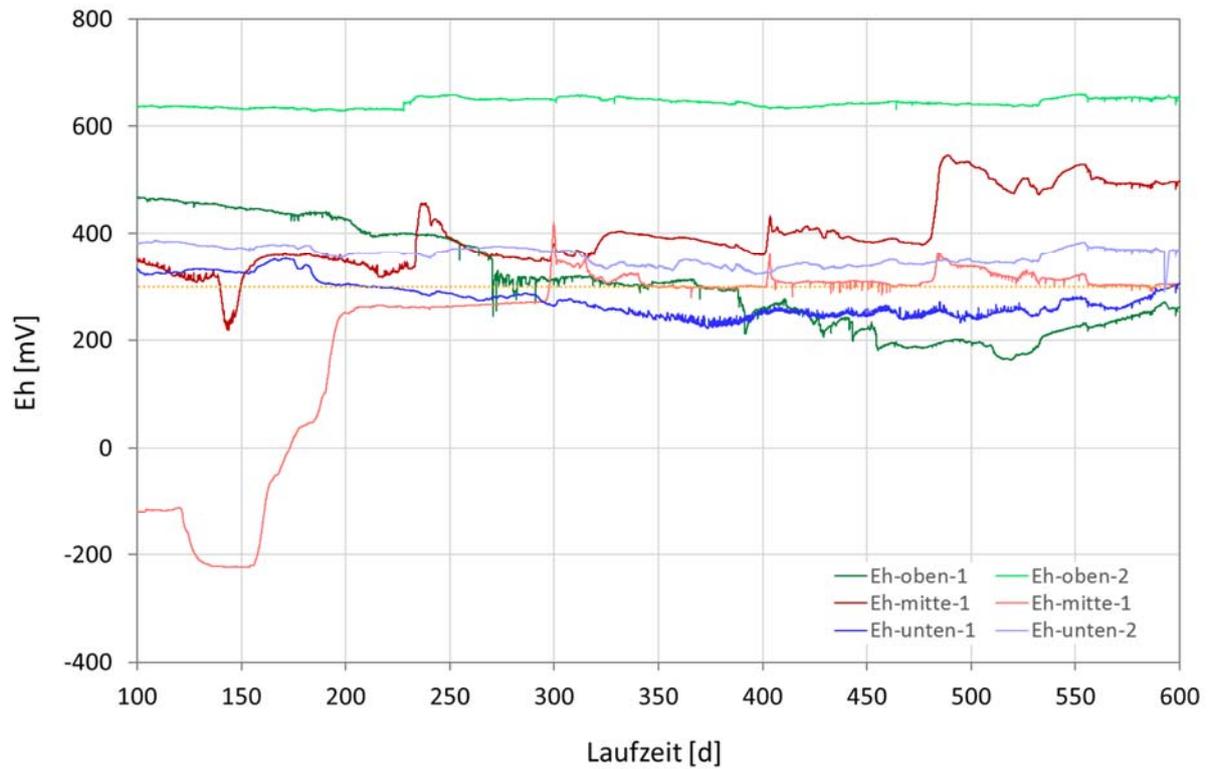


Abb. A7: Entwicklung des Redoxpotentials im ^{243}Am -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung. Die gepunktete gelbe Linie (300 mV) markiert den Bereich nach unten, ab dem kein Sauerstoff mehr nachweisbar ist [Amelung et al. 2018].

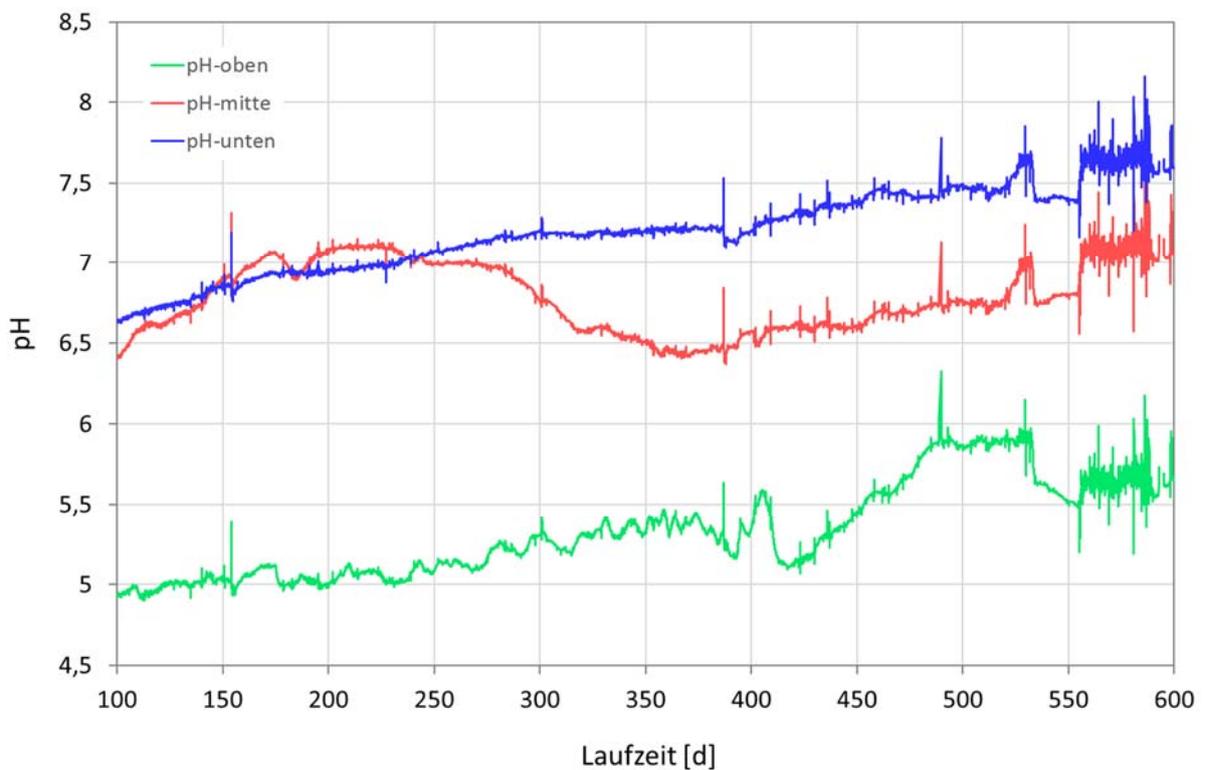


Abb. A8: Entwicklung der pH-Werte im ^{243}Am -Lysimeter in 3, 17 und 31 cm Tiefe nach Gleichgewichtseinstellung.

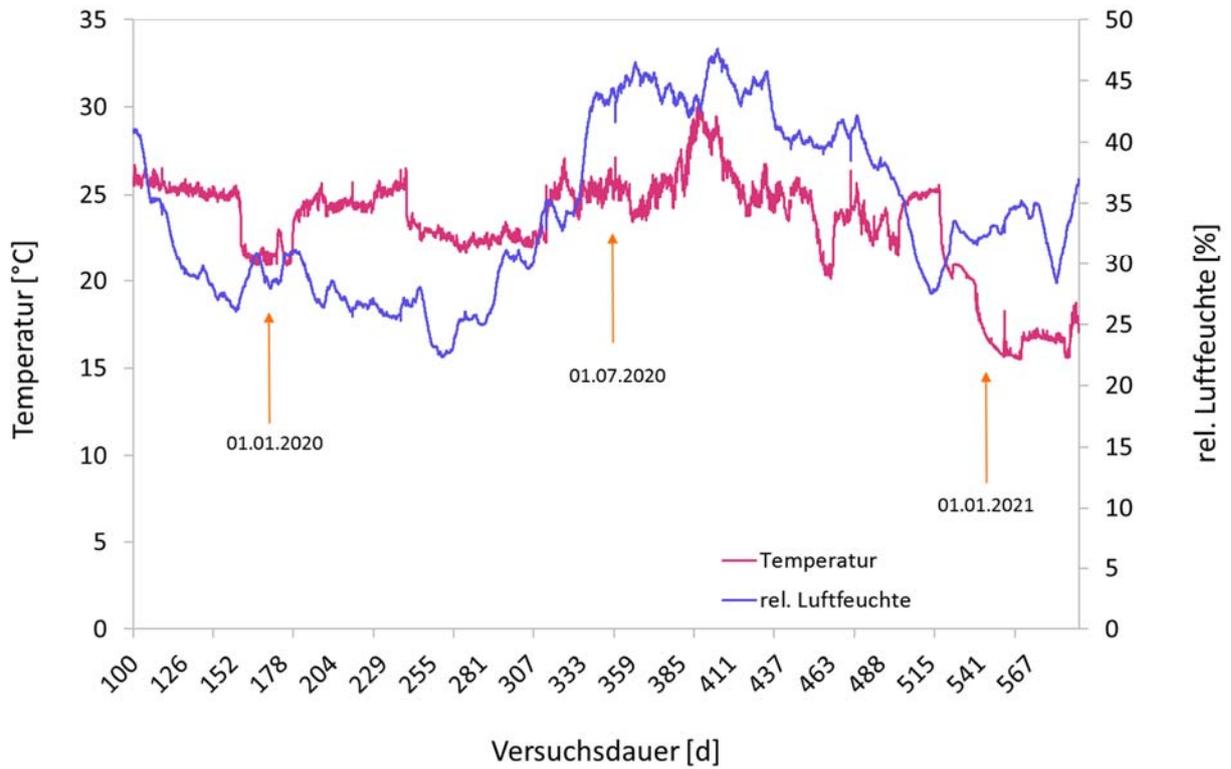


Abb. A9: Temperatur und relative Luftfeuchte über den Versuchszeitraum, gemessen kurz oberhalb des Lysimeters.

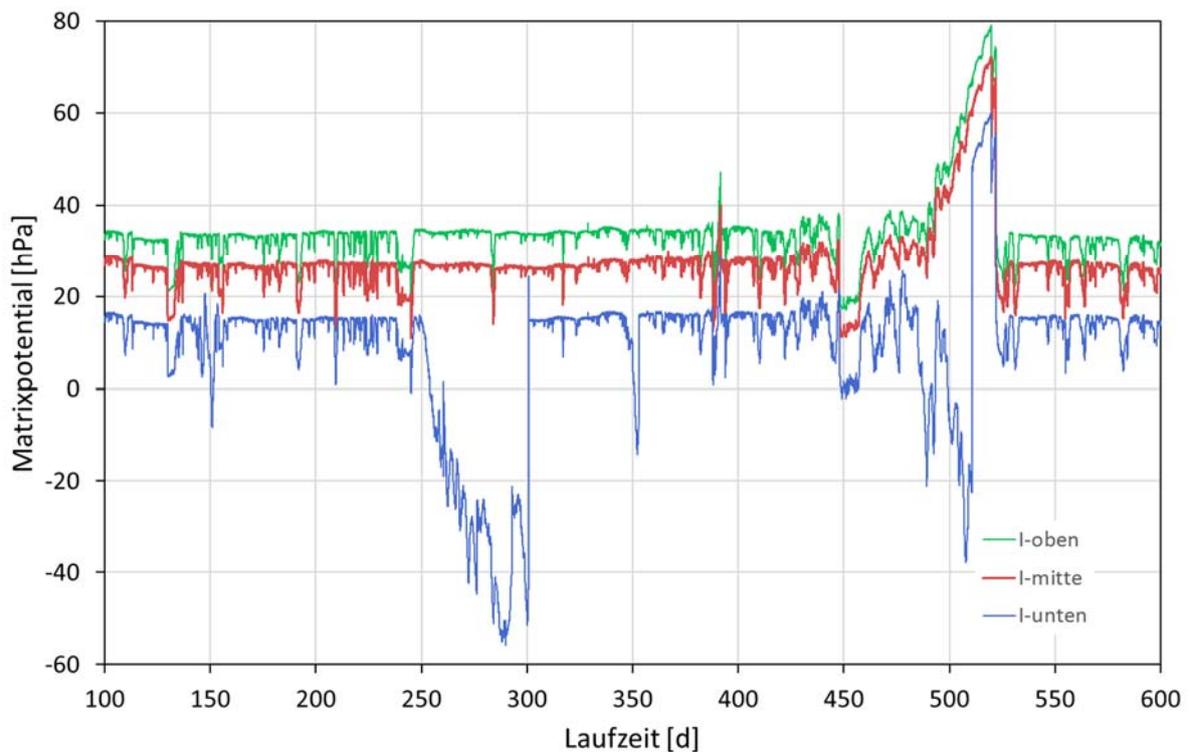


Abb. A10: Entwicklung des Matrixpotentials im ¹²⁵I-Lysimeter in 3, 13 und 23 cm Tiefe (oben, mitte, unten) nach Gleichgewichtseinstellung.

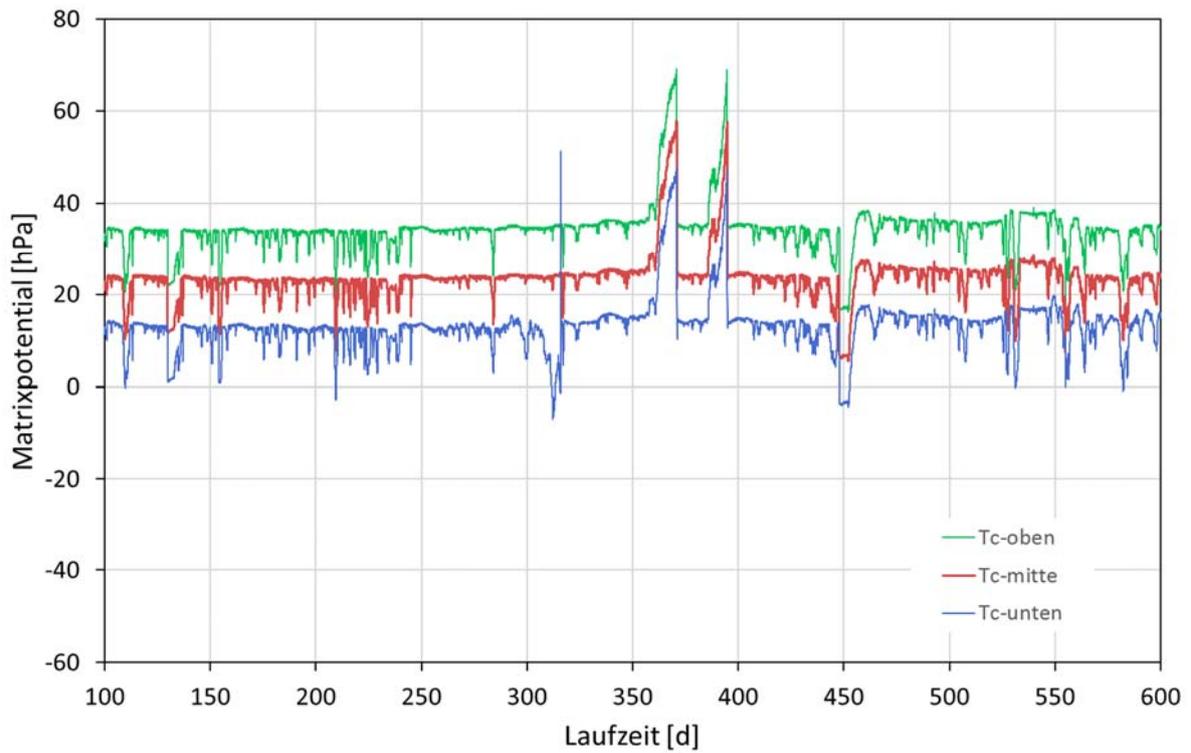


Abb. A11: Entwicklung des Matrixpotentials im ^{99}Tc -Lysimeter in 3, 13 und 23 cm Tiefe (oben, mitte, unten) nach Gleichgewichtseinstellung.

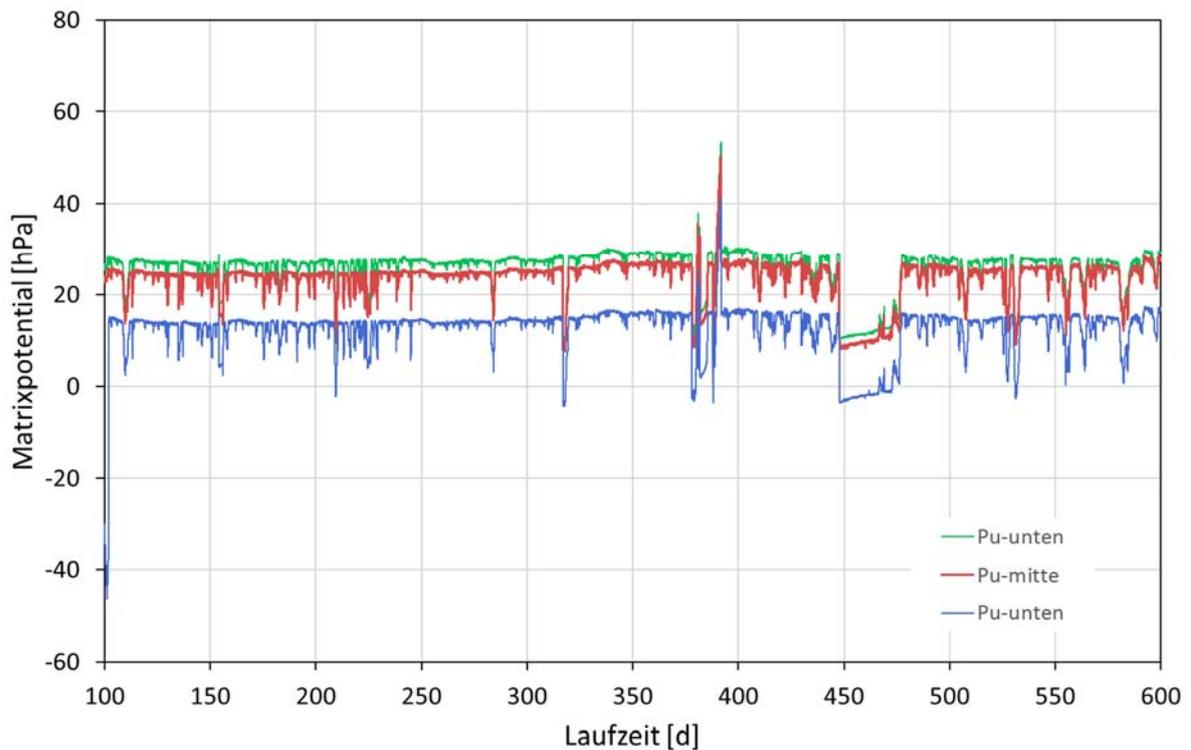


Abb. A12: Entwicklung des Matrixpotentials im ^{238}Pu -Lysimeter in 3, 13 und 23 cm Tiefe (oben, mitte, unten) nach Gleichgewichtseinstellung.

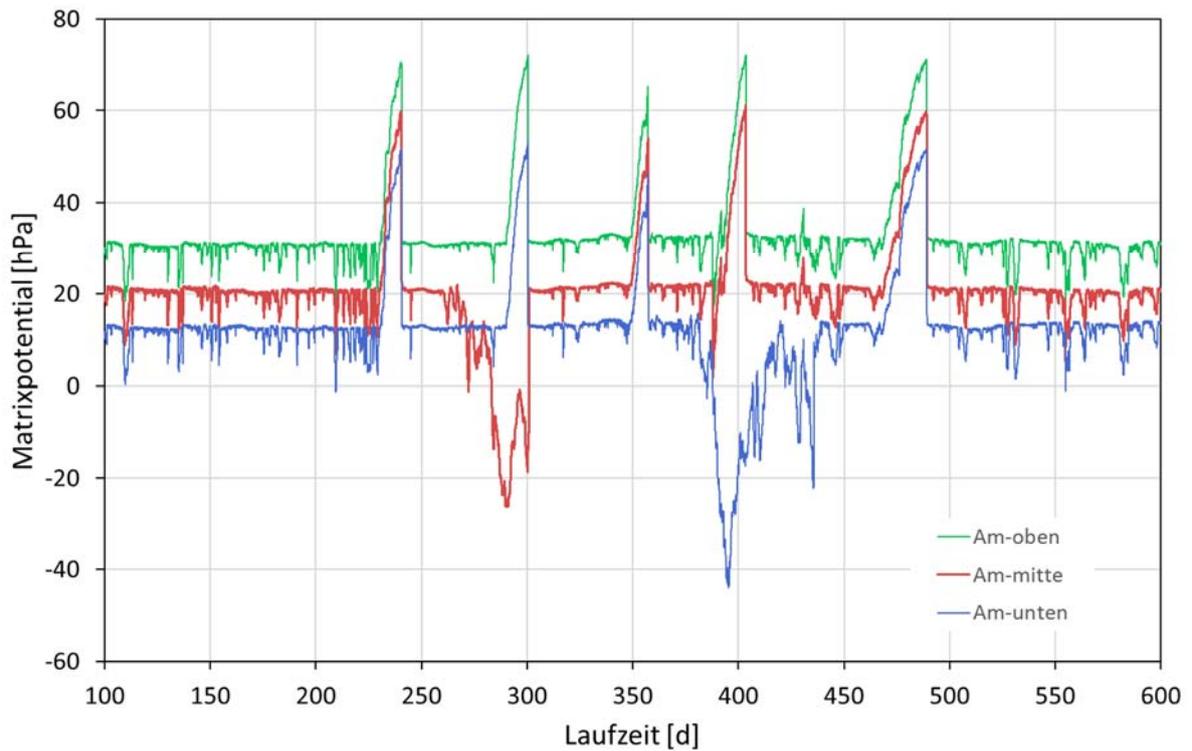


Abb. A13: Entwicklung des Matrixpotentials im ²⁴³Am-Lysimeter in 3, 13 und 23 cm Tiefe (oben, mitte, unten) nach Gleichgewichtseinstellung.

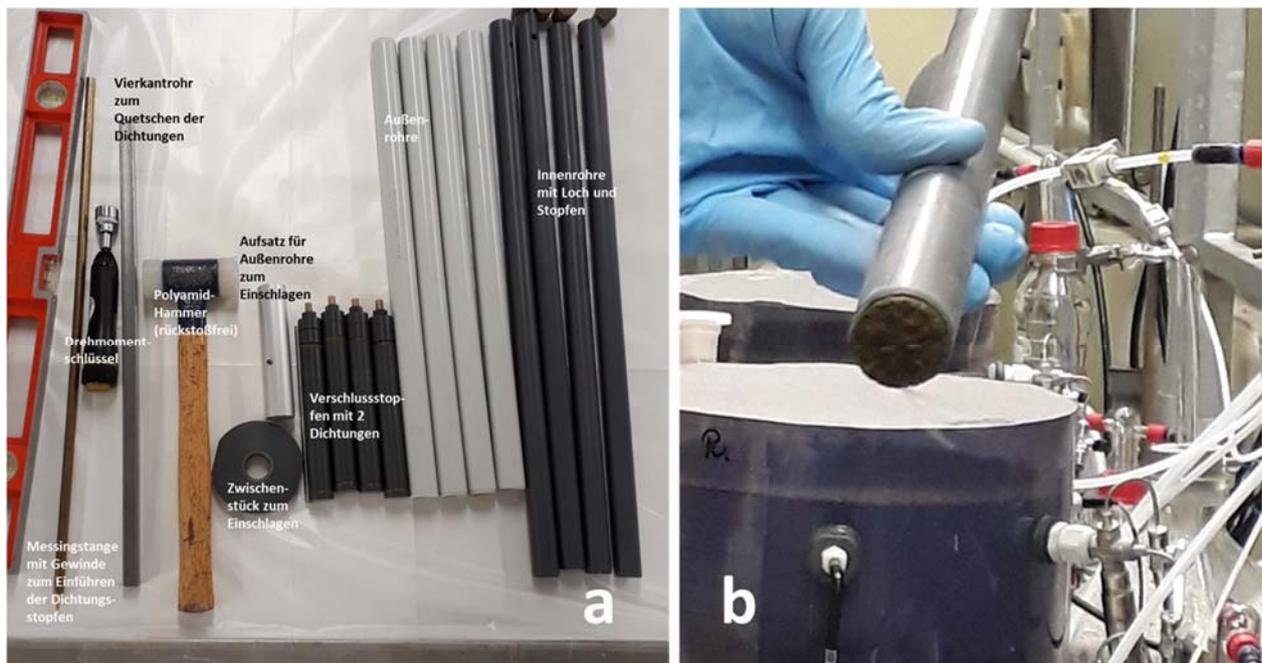


Abb. 14: Entnahme der Bohrkerns aus den Lysimetern: (a) Probenahme-Equipment, (b) Bohrkern im Innenrohr.

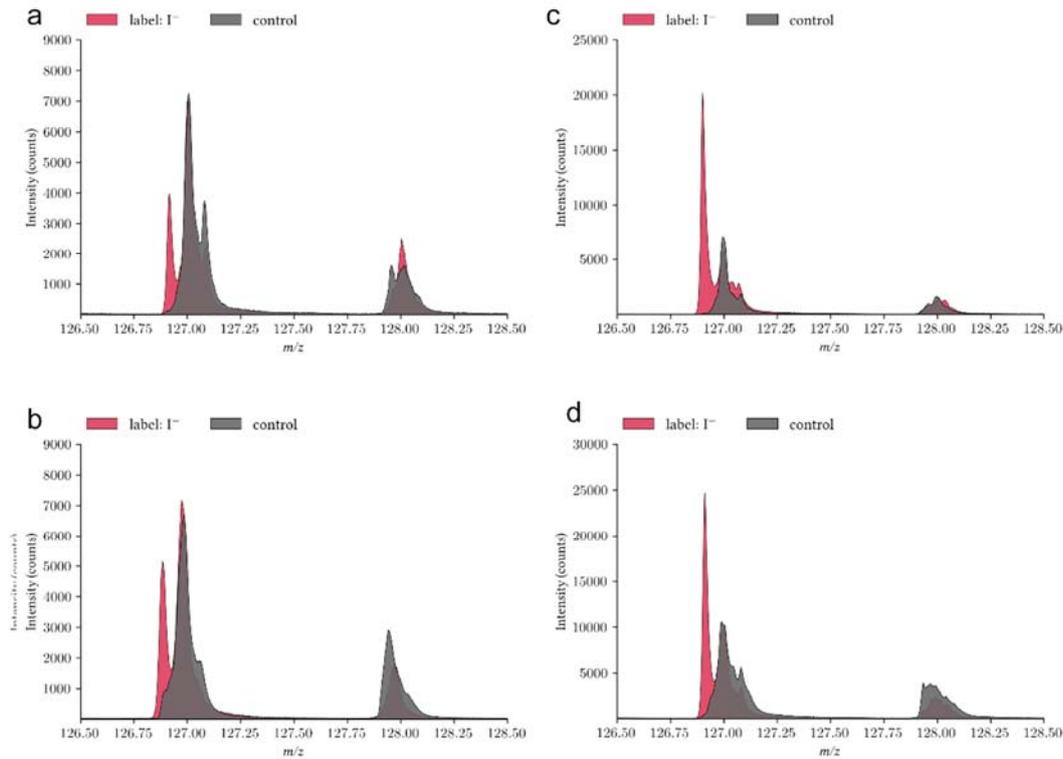


Abb. 15: Massenspektren der SIMS Messungen von Iodid in der Pfahlwurzel (a) und dem Blattstiel (b) einer Karotte und der Wurzel (c) und dem Blattstiel (d) einer Erbse. Das ^{127}I -Signal bei m/z 126,9 ist in Rot dargestellt, während die Messung an einer Kontrolle (die nicht mit Iod getracert wurde) in Grau dargestellt ist.

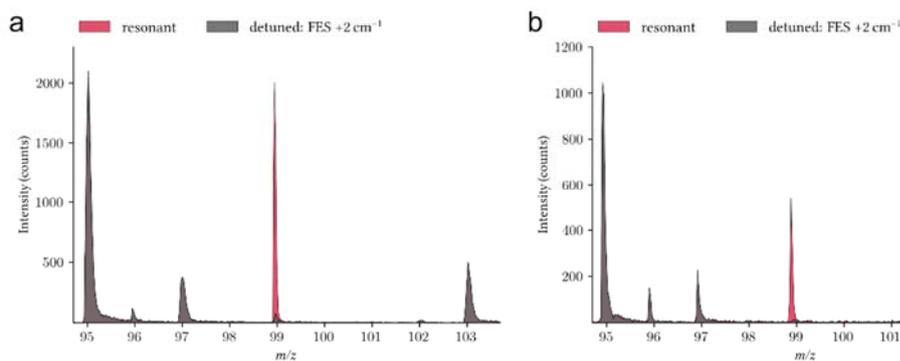


Abb. 16: Massenspektrum des Blattstiels einer Karotte (a) und einer Erbse (b). Das resonante ^{99}Tc -Signal bei m/z 99 ist in Rot dargestellt, während das um $+2\text{ cm}^{-1}$ verstimmt Signal in Grau dargestellt ist.