

Abschlussbericht zum Projekt

Auswirkungen von Ureasehemmstoffen auf die Mikrobiologie und die Grundwasserqualität

**Gefördert durch: Innovationsfonds Klima- und Wasserschutz
badenova AG & Co. KG
Tullastr. 61, 79108 Freiburg**

**Projektleitung: bnNETZE GmbH
Wasser & Abwasser Qualitätssicherung**

**Auftragnehmer: Technologiezentrum Wasser Karlsruhe
Abt. Wassermikrobiologie/Sachgebiet Umweltbio-
technologie und Molekularbiologie und Abt.
Wasserversorgung/Sachgebiet Risikomanagement**

Karlsruhe, Oktober 2022

Auswirkungen von Ureasehemmstoffen auf die Mikrobiologie und die Grundwasserqualität

Untersuchungszeitraum Mai 2020 bis Oktober 2022

**Projektkoordination: Lena Nicolai, Martin Selz, Dirk Betting,
bnNETZE GmbH**

**bearbeitet von: Andreas Tiehm, Heico Schell, Marie Weihnacht,
Carolin Schweikart, Thomas Ball, Rolf Benesch,
Sebastian Sturm, TZW**

Karlsruhe, Oktober 2022

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Gesetzliche Vorgaben	1
1.2	Motivation und Projektbeschreibung	1
2	Literaturrecherche	3
3	(Weiter-)Entwicklung mikro- und molekularbiologischer Methoden.....	6
4	Felduntersuchungen.....	8
4.1	Probennahmen auf den Projekt- und Vergleichsflächen	8
4.1.1	Projektflächen im WSG Hausen	8
4.1.2	Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken	11
4.2	Probentransport und Analytik	12
4.3	Ergebnisse der Felduntersuchungen im WSG Hausen.....	13
4.3.1	Nitratstickstoffgehalt	13
4.3.2	Sonderuntersuchungen zur Nitratverlagerung.....	15
4.3.3	Ergebnisse der Untersuchungen auf Urease- und Nitrifikationshemmstoffe	20
4.3.4	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen	23
4.4	Ergebnisse der Felduntersuchungen im WSG Zartener Becken.....	25
4.4.1	Nitratstickstoffgehalte	25
4.4.2	Ergebnisse der Untersuchungen auf Ureasehemmstoffe	29
4.4.3	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen	29
5	Laboruntersuchungen	32
5.1	Lysimeteruntersuchungen	32
5.1.1	Probennahme für die Lysimeter.....	32
5.1.2	Laborlysimeteranlage	33
5.1.3	Messergebnisse Lysimeter	36
5.1.4	Analysenergebnisse der Lysimeterversuche	39
5.1.5	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen	51
5.2	Mikrokosmenuntersuchungen	54
5.3	Grundwasseruntersuchungen	61
6	Projekttreffen	62
7	Reduzierung klimarelevanter Gase	63
8	Empfehlung und Bewertung zur Anwendung von Ureasehemmstoffen	65
9	Zusammenfassung	69
10	Projekterkenntnisse	73

11	Literaturverzeichnis	74
12	Anlagen: Abbildungen A1-A23	78
13	Anlagen: Tabellen B1-B2	92

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	MPN-test. Links: dezimale Verdünnungsreihe, rechts: Auszählung der bewachsenen Ansätze (Abbildung aus Tiehm und Schmidt 2007).	6
Abbildung 2:	Schematische Darstellung einer PCR-Reaktion (Abbildung aus Schmidt und Tiehm 2011)	7
Abbildung 3:	Lage der Projektflächen im WSG Hausen	9
Abbildung 4:	Lageskizze der Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken	12
Abbildung 5:	Konzentrationen des Ureasehemmstoffs N-(2-Nitrophenyl)Phosphorsäure-Triamid (2-NPT) im Oberboden bis 30 cm Tiefe in Hausen im Jahr 2021. Die Düngung der Maisflächen mit Harnstoff erfolgte mit und ohne 2-NPT-Zusatz. Die Bestimmungsgrenze (BG) der Analysenmethode lag bei 0,7 µg/kg	21
Abbildung 6:	Konzentrationen des Nitrifikationshemmstoffs 3-Methyl-1H-pyrazol (3-MP) im Oberboden bis 30 cm Tiefe in Hausen im Jahr 2021. Die Düngung der Maisflächen mit Harnstoff erfolgte mit und ohne N-[3(5)-methyl-1H-pyrazol-1-yl] methyl] acetamide (MPA)-Zusatz. Die Bestimmungsgrenze (BG) der Analysenmethode lag bei 1,5 µg/kg	22
Abbildung 7:	Zeitreihen der MPN-Ergebnisse für die Teilflächen H2811 und H18 mit und ohne UI, unterteilt in die Horizonte 0-30cm, 30-60cm und 60-90 cm für die untersuchten Stoffwechselgruppen Gesamtkeimzahl, Ammoniumoxidierer, Denitrifizierer und Nitritoxidierer. Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.	24
Abbildung 8:	Zeitreihen der PCR-Ergebnisse für die Teilflächen H2811 und H18 mit und ohne UI, unterteilt in die Horizonte 0-30 cm, 30-60 cm und 60-90 cm für die untersuchten Gene <i>16s</i> , <i>amoA</i> und <i>narG</i> . Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.	25
Abbildung 9:	Zeitreihen der MPN-Ergebnisse für die Vergleichsflächen aus dem WSG Zartener Becken (Ebnet 1209, 461, 1210, 1208 und 740) mit UI, unterteilt in die Horizonte 0-30cm, 30-60cm und 60-90 cm für die untersuchten Stoffwechselgruppen Gesamtkeimzahl, Ammoniumoxidierer, Denitrifizierer und Nitritoxidierer. Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.	30
Abbildung 10:	Zeitreihen der PCR-Ergebnisse für die Vergleichsflächen aus dem WSG Zartener Becken (Ebnet 1209, 461, 1210, 1208 und 740) mit UI, unterteilt in die Horizonte 0-30 cm, 30-60 cm und 60-90 cm für die untersuchten Gene <i>16s</i> , <i>amoA</i> und <i>narG</i> . Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.	31
Abbildung 11:	Lysimeter-Bodenprobenentnahme am 26. Oktober 2021 im WSG Hausen auf einem bereits geernteten Maisfeld	32
Abbildung 12:	Messapparatur mit den vier Lysimetern und den Bodenproben von den beiden Projektflächen im WSG Hausen	34
Abbildung 13:	Oberfläche von Lysimeter 1 am 18.01.2022 nach der Düngeraufgabe	35

Abbildung 14:	Sickerwassermengen je Probennahmetermin für die Lysimeter L1 bis L4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022	36
Abbildung 15:	Kumulierte Sickerwassermengen für die Lysimeter L1 bis L4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022	37
Abbildung 16:	Entwicklung der Nitrat- und Chloridkonzentrationen bei Lysimeter 1 bis 4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022	40
Abbildung 17:	Entwicklung der Ammoniumkonzentrationen bei Lysimeter 1 bis 4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022	42
Abbildung 18:	Entwicklung der Chloridkonzentrationen bei Lysimeter 1 bis 4 von Januar bis Mai 2022	44
Abbildung 19:	Entwicklung der Konzentrationen an 2-NPT bei Lysimeter 1 bis 4 von Januar bis Juni 2022	46
Abbildung 20:	Entwicklung der Konzentrationen des Nitrifikationshemmers 3-MP bei Lysimeter 1 bis 4 von Januar bis Juni 2022	47
Abbildung 21:	Zeitreihen der MPN-Ergebnisse aus dem Sickerwasser der Lysimeterversuche für die untersuchten Stoffwechselgruppen Gesamtkeimzahl, Ammoniumoxidierer, Denitrifizierer und Nitritoxidierer. Zeitpunkt der Düngung 18.01.2022	52
Abbildung 22:	Zeitreihen der PCR-Ergebnisse aus dem Sickerwasser der Lysimeterversuche für die untersuchten Gene <i>16s</i> , <i>amoA</i> und <i>narG</i> . Zeitpunkt der Düngung 18.01.2022	53
Abbildung 23:	Keimzahlkonzentrationen der Denitrifikanten aus den Bodeneluatn der vier Lysimeter unterteilt in die Horizonte 0-10 cm, 10-20 cm und 20-30 cm in Keimzahl/g Trockensubstanz	54
Abbildung 24:	Zeitverlauf der Konzentrationen der Ureasehemmstoffe in drei Ansätzen aus den Teilflächen H2811, H18 (WSG Hausen) und Ebnet (WSG Zartener Becken)	55
Abbildung 25:	Zeitverlauf der Konzentrationen der Ureasehemmstoffe in zwei Grundwasser-Ansätzen aus dem WSG Hausen und Ebnet (WSG Zartener Becken)	56
Abbildung 26:	Zeitverlauf der Konzentrationen der Keimzahlen in drei Ansätzen von oben nach unten aus den Teilflächen Hausen 1, Hausen 2 und Ebnet (Zartener Becken). GKZ=Gesamtkeimzahl; Urea=Harnstoffverwerter; Deni=Denitrifikanten; Amo=Ammoniumoxidierer; Nitri=Nitritoxidierer	57
Abbildung 27:	Zeitverlauf der Konzentrationen der Keimzahlen in je zwei Ansätzen aus den Grundwässern des WSG Hausen und Ebnet (WSG Zartener Becken). GKZ=Gesamtkeimzahl; Urea=Harnstoffverwerter; Deni=Denitrifikanten; Amo=Ammoniumoxidierer; Nitri=Nitritoxidierer	58
Abbildung 28:	Zeitverlauf der Konzentrationen der Genkopien pro Milliliter in drei Ansätzen der Flächen in Hausen und Ebnet (Zartener Becken). 16s = Positivkontrolle; amoA = Gen für Ammoniummonooxygenase; narG = Gen für Nitratreduktase	59

- Abbildung 29: Zeitverlauf der Konzentrationen der Genkopien pro Milliliter in den Grundwasser-Ansätzen aus dem WSG Hausen und Ebnet (WSG Zartener Becken). 16s = Positivkontrolle; *amoA* = Gen für Ammoniummonooxygenase; *narG* = Gen für Nitratreduktase 60
- Abbildung 30: Zeitverlauf der Konzentrationen der Ionen in mg/L in je drei Ansätzen (ohne UI, mit 2-NPT, mit NBPT) zweier Teilflächen im WSG Hausen und einer Teilfläche in Ebnet (WSG Zartener Becken). 61
- Abbildung 31: Grundwasserprobenahmen am 09. Juni 2021 im WSG Hausen an der GWM PH010 (linkes Bild) und im WSG Zartener Becken an der GWM PE05 (rechtes Bild) 62

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Ausgewählte Stoffeigenschaften der Ureasehemmstoffe.....	5
Tabelle 2:	Bodeneigenschaften der Projekt- und Vergleichsflächen.....	10
Tabelle 3:	Fruchtfolge und Stickstoff-Düngezeitpunkte auf den Projektflächen im WSG Hausen (angegeben sind nur die Düngetermine, zu denen eine N-Düngung mit UI/NI erfolgte bzw. dazu analog auf der geteilten Fläche die Harnstoffdüngung ohne UI/NI).....	14
Tabelle 4:	Aus Bodenwassergehalten abgeschätzte Feldkapazitäten für die Flächen H18/HUI18 bzw. H2811/HUI2811	17
Tabelle 5:	Vergleich der Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen für die Flächen H18 und HUI18 von Frühjahr 2020 bis Frühjahr 2022	18
Tabelle 6:	Vergleich der Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen für die Flächen H2811 und HUI2811 von Frühjahr 2020 bis Frühjahr 2022	19
Tabelle 7:	Fruchtfolge und Stickstoff-Düngezeitpunkte auf den Projektflächen im WSG Zartener Becken (angegeben sind nur die Düngetermine, zu denen eine N Düngung mit UI/NI erfolgte).....	26
Tabelle 8:	Ergebnisse der Bestimmungen von C _{org} und des Humusgehalts (Labor: LTZ) sowie der Wassergehalte (Labor: TZW) der am 26. und 27.10.2021 im WSG Hausen entnommenen Lysimeterproben	33
Tabelle 9:	Aufgegebene Dünger- und Chloridmengen je Lysimeter	36
Tabelle 10:	Vergleich zwischen der dotierten Wassermenge und der am Lysimeterablauf gemessenen Sickerwassermenge	38
Tabelle 11:	Ergebnisse der Wassergehaltsbestimmungen vor und gegen Ende der Lysimeterversuche	39
Tabelle 12:	Nitratfrachten für die Lysimeter 1 bis 4.....	41
Tabelle 13:	Ammoniumfrachten für die Lysimeter 1 bis 4	43
Tabelle 14:	Chloridfrachten für die Lysimeter 1 bis 4	45
Tabelle 15:	2-NPT Frachten für die Lysimeter 1 bis 4.....	47
Tabelle 16:	Redoxpotentiale E _h für die Lysimeter 1 bis 4 sowie die Tiefen T1 (7,5 cm) und T2 (15 cm)	49
Tabelle 17:	Untersuchungsergebnisse für die Wasserproben aus den Grundwassermessstellen PE05 und PH010	62

1 Einleitung

1.1 Gesetzliche Vorgaben

Entsprechend § 6 Abs. 2 der Düngeverordnung vom 26.05.2017 in der Fassung vom 28.04.2020 darf „Harnstoff als Düngemittel ab dem 1. Februar 2020 zur Düngung nur noch aufgebracht werden, soweit ihm ein Ureasehemmstoff zugegeben ist oder er unverzüglich, jedoch spätestens innerhalb von vier Stunden nach der Aufbringung eingearbeitet wird“.

In der Düngemittelverordnung (DüMV vom 05.12.2012) sind hierfür zwei Stoffe bzw. Stoffgemische zugelassen. Nach Anlage 2, Tabelle 2 Nr. 2.2 (Ureasehemmstoffe) sind dafür N-(2-Nitrophenyl)phosphorsäuretriamid (2-NPT) und ein Gemisch aus N-Butyl-thiophosphortriamid (NBPT) und N-Propylthiophosphortriamid (NPPT) im Verhältnis 3:1 zugelassen.

1.2 Motivation und Projektbeschreibung

Die Wirksamkeit von Nitrifikations- und Ureasehemmern sowie die Auswirkungen im Hinblick auf die Entstehung von Klimagasen wurden bereits in vielen Studien mit teils unterschiedlichen Ergebnissen diskutiert. Informationen zu Einträgen ins Grundwasser lagen zum Zeitpunkt der Antragsstellung jedoch noch nicht vor. Auch Informationen zur Wechselwirkung mit der Mikrobiologie sowie zum Abbau- oder Verlagerungsverhalten der einzelnen Ureasehemmstoffe waren bis dato nur unzureichend dokumentiert.

Um diese Wissenslücke zu schließen, wurden Versuche im Feld- und Labormaßstab durchgeführt. Im Feld wurden in zwei Wasserschutzgebieten bei Freiburg (WSG Hausen und Zartener Becken) Bodenproben von Ackerflächen entnommen, die mit Harnstoff mit und ohne Ureasehemmstoff gedüngt wurden. Beim Düngemitteltyp mit Ureasehemmstoff handelt es sich um „Harnstoff mit Nitrifikationshemmstoff (MPA) und Ureasehemmstoff (2-NPT)“. Diese Proben wurden hinsichtlich mikrobiologischer Parameter und auf Ureasehemmstoffe untersucht. Parallel wurde in Lysimeterversuchen im Labor genau das gleiche Düngemittel (mit Ureasehemmstoff) auf die Lysimeter aufgegeben. Das anfallende Sickerwasser wurde auf die eingesetzten Ureasehemmstoffe und mikrobiologische Parameter analysiert.

Darstellung des Reduzierungspotentials von klima- und wasserschädigenden Stoffen/Schadstoffen

Als wesentliche negative Umweltauswirkungen bei der Düngung in der Landwirtschaft sind die gasförmigen Stickstoffverluste und die Auswaschung ins Grundwasser zu nennen. Dabei sind die Stickstoffverluste, abhängig von der Düngerart, hauptsächlich in der Verflüchtigung von Ammoniak und in der Auswaschung von Nitrat begründet. Ammoniakverflüchtigung in die Atmosphäre führt zu

saurem Regen und stellt eine indirekte Quelle für die Entwicklung von Treibhausgasen dar. Hohe Nitrat-Gehalte im Trinkwasser können zu gesundheitlichen Problemen führen (Cameron et al. 2013). Auswaschung von Nitrat in Flüsse und Seen kann dort zu Eutrophierung führen. Daher sind Grenzwerte und gesetzliche Vorgaben zu berücksichtigen (TrinkwV, GrWV, WRRL etc.). Beim Einsatz von Stickstoffdünger ist oft die Effizienz gering und es wird weniger als die Hälfte des ausgebrachten Stickstoffes von den Pflanzen aufgenommen (Wiesler, 1998), so dass eine Stickstoffdüngung häufig mit unerwünschten Nebeneffekten auf Hydrosphäre und Atmosphäre verbunden ist. Durch die physikalisch-chemischen und mikrobiellen Prozesse (pH-Wert-Erhöhung, Nitrifikation/Denitrifikation, Auswaschung) im Boden entstehen die Stickstoffverluste.

Ureasehemmstoffe hemmen das Enzym Urease, wodurch die Umwandlung von Amid-Stickstoff zu Ammonium und Ammoniak verzögert wird. Nitrifikationshemmer verzögern die bakterielle Oxidation des Ammonium-Ions. Durch den Einsatz dieser Stoffe können somit die gasförmigen Verluste von Ammonium und die Verluste bei der weiteren Umwandlung zu Nitrat, z.B. durch Versickerung bzw. Auswaschung, verzögert werden. Der Einsatz von Nitrifikations- und Ureasehemmern kann folglich vorteilhaft sein (Zerulla et al., 2001):

- für die Reduzierung von Treibhausgasen (N_2O , Ammoniak als Vorläufersubstanz) (Bremner und Yeomans 1987; Linzmeier et al. 2001; Weiske et al. 2001)
- für die Reduzierung der Nitratauswaschung verglichen mit herkömmlichen Stickstoffdüngern (Scheffer und Bartels 1998)
- durch geringere Stickstoffverluste und eine bessere Stickstoffausnutzung durch die Pflanzen (Prasad und Power 1995)
- durch eine längere Nährstoffverfügbarkeit, die zu Mehrerträgen bei Ernten führt (Timmermann und Söchtig 1984; Zerulla und Lutz 1992).

Dies stellt auch die Begründung für die Regelung in der Düngeverordnung dar. Bisher wird die Wirksamkeit von Nitrifikations- und Ureasehemmern in der Literatur sehr unterschiedlich bewertet. Die Wirkung auf die Reduzierung der NH_3 - und N_2O -Emissionen wurde vielfach beschrieben (Gilsanz et al. 2016, Mira et al. 2017, Cantarella et al. 2018). Soares et al. (2012) beobachteten beispielsweise eine Reduzierung der Ammoniakverflüchtigung von 52 – 53 % bei Verwendung des Ureasehemmers NBPT in Böden mit pH-Werten zwischen 5,6 bis 6,4.

Es gibt jedoch unterschiedliche Ergebnisse zur Reduzierung der Nitratauswaschung durch den Einsatz von Nitrifikations- und Ureasehemmern bei der Ausbringung harnstoffhaltiger Düngemittel. Vor allem für sandige Böden konnte eine Reduktion der Stickstoffauswaschung zum Teil größer 50 % aus dem Boden nachgewiesen werden (Li et al. 2007; Smith et al. 2012). Dagegen zeigen andere Studien im Vergleich zu Flächen, auf denen harnstoffhaltige Düngemittel ohne Nitrifikations- und Ureasehemmer eingesetzt wurden, keine Veränderungen der Stickstoffauswaschung

(Diez-López et al. 2008, Gioacchini et al. 2002). Die Studien zeigen stattdessen Nebeneffekte wie eine reduzierte Lösung von Erdalkali-Ionen (Diez-López et al. 2008), vermehrte Mineralisierung organischer Substanz im Boden und damit die Freisetzung des darin gebundenen Stickstoffs auf (Gioacchini et al. 2002).

Anhand bereits veröffentlichter Studien wurde deutlich, dass das Reduzierungspotential von klima- und wasserschädigenden Stoffen wie Ammoniak und Nitrat durch den Einsatz von Nitrifikations- und Ureasehemmern in Labor- und Felduntersuchungen prinzipiell vorhanden ist. Vor allem die Kurzlebigkeit der bisher eingesetzten Ureasehemmstoffe, die begrenzte Haltbarkeit bei der Lagerung, die Bodenzusammensetzung und das Aufbringen des Düngers, sowie Nebenprozesse können jedoch die Wirksamkeit einschränken (Cantarella et al., 2018), weshalb ein besseres Prozessverständnis erforderlich ist.

Um die entscheidenden Einflussfaktoren für den Einsatz besser einzugrenzen, wurde das vorliegende Projekt durchgeführt.

Im Forschungsprojekt wurden die Versuche zur Mikrobiologie sowie zum Verlagerungsverhalten von Ureasehemmstoffen und Nitrat grundsätzlich im Hinblick auf die Standortbedingungen (Bodenparameter wie bspw. Bodenart, Bodentyp, Humusgehalt) durchgeführt. Für die Versuche und Probenahmen wurden gezielt Flächen mit unterschiedlichen Bodenverhältnissen ausgewählt. Die Versuchsflächen im Wasserschutzgebiet Hausen dienten dabei als Modellstandorte und wurden im Projekt mit punktuellen Messungen im Wasserschutzgebiet Zartener Becken verglichen. Die während des Projektes angewendeten und entwickelten biologischen und physikalisch-chemischen Methoden wurden hinsichtlich ihrer Aussagekraft bewertet. Die daraus gewonnenen Erkenntnisse und die resultierende Verfahrensweise stehen für gezielte Untersuchungen zum Einsatz von Ureasehemmstoffen bei Harnstoffdüngung und deren Auswirkungen auf die Mikrobiologie und das Grundwasser zur Verfügung und können auch an anderen Standorten mit ähnlichen Bodeneigenschaften eingesetzt werden.

Durch standortspezifische Feld- und Laboruntersuchungen wurde versucht, in Kombination mit einer Literaturrecherche weitergehende Erkenntnisse auf den Einfluss der Hemmstoffe auf biologische Prozesse im Boden und über eine mögliche Grundwassergefährdung zu gewinnen.

2 Literaturrecherche

Bei der Betrachtung der Suchhistorie für „urease hemmstoff“ (UI) sowie N-(n-Butyl)-thiophosphortriamid (NBPT) in der Datenbank „Web of Science“ wird deutlich, dass bereits im Jahr 1965 für UI sowie im Jahr 1989 für NBPT erste Artikel publiziert wurden. In den letzten zwei Jahren erhöhte sich die Anzahl der Publikationen deutlich. Dies spiegelt die Aktualität der Ureasehemmstoffe als Forschungsthema in der Wissenschaft wider. Im Gegensatz zu NBPT liegen zu N-(2-

Nitrophenyl)-phosphorsäuretriamid (2-NPT) weniger Veröffentlichungen vor. In der Literaturliteraturdatenbank „Web of Science“ sind beispielsweise seit 2015 nur 5 Publikationen erschienen. Das gleiche gilt für den Stoff N-Propyl-thiophosphortriamid (NPPT). Nitrifikations- und Ureasehemmstoffe können die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft beim Einsatz in Böden beeinflussen, wobei drei Studien hierzu im Jahr 2020 veröffentlicht wurden (Castellano-Hinojosa et al. 2020; Fu et al. 2020; Luchibia et al. 2020). Die Erkenntnisse aus der Literaturrecherche flossen in das Versuchskonzept der Laboruntersuchungen ein.

Zum Ende des Projektes wurde nochmals eine Literaturrecherche durchgeführt, um aktuelle Publikationen bis 2022 in die Bewertung einbeziehen zu können. Die Ergebnisse zeigen, dass weiterhin kaum neue Veröffentlichungen zu 2-NPT erschienen sind, wohingegen für NBPT weitere hinzugekommen sind. Beispielsweise wurde in der Literaturliteraturdatenbank „Web of Science“ zu 2-NPT zwischen 2020 und 2022 kein Treffer erzielt während die Datenbank für NBPT 58 Ergebnisse lieferte. Hierunter gab es für NBPT auch neue Veröffentlichungen in Bezug auf die Auswirkungen auf die Mikrobiologie. Liu et al. (2022) zeigten bei Felduntersuchungen mit Winterweizen, dass die Zugabe von NBPT zu einer Verringerung der Denitrifikationsgene in 0-20 cm Boden führte, was wiederum mit einem Anstieg des NO_3 -Pools in Verbindung gebracht wurde. In Kombination mit dem NI DMPP erhöhten sich die Genkopiekonzentrationen von NO_2 -Reduktoren. Luchibia et al. (2021) zeigten mit Felduntersuchungen in 0-10 cm eine Abnahme des *ureC*-Gens - codierend für das Enzym Urease - durch die Behandlung mit NBPT, jedoch keine Auswirkungen auf das *amoA*-Gen und damit die Abundanz (Häufigkeit) von Ammonium-oxidierenden Bakterien (AOB). Meng et al. (2020) zeigten im Feldexperiment mit Reis in 0-20 cm, dass unter anderem NBPT das Wachstum von Ammonium-oxidierenden Archaeen (AOA) hemmte. Weiterhin wurde festgestellt, dass NBPT zwar die Denitrifikationsrate verringerte, aber kaum Einfluss auf die Denitrifikationsgene hatte. Lan et al. zeigten in Topf-Experimenten mit Reis und Weizen, dass NBPT zu Nischendifferenzierung zwischen AOA und AOB führte und die Gemeinschaftsstruktur der AOB veränderte (Lan et al. 2022a; Lan et al. 2022b). Im Gegensatz zu Luchibia et al. (2021) kamen Montoya et al. (2021) (nur Abstract) in Feldversuchen mit Ölraps zu dem Schluss, dass NBPT die Abundanz vor allem von AOB verringerte und auch Tao et al. (2021) (nur Abstract) zeigten eine reduzierte Abundanz von AOB durch die Anwendung von NBPT in Kombination mit Nitrapyrin. Eine geringe Auswirkung von NBPT in Kombination mit DCD auf Nitrifikanten und Denitrifikanten und eine vorübergehende Verringerung (40-56%) von Ammoniumoxidierern konnten Tosi et al. (2020) in einem Feldexperiment mit Mais beobachten. Es gab jedoch auch Feldexperimente in denen keinerlei Auswirkungen auf die Mikrobiologie beobachtet werden konnte (Oliveira et al. 2021; Duff et al. 2022). Sie kamen zu dem Schluss dass die Menge oder Art der verwendeten Stickstoffquelle größere Auswirkungen auf die mikrobielle Zusammensetzung zeigen als die Verwendung der Inhibitoren.

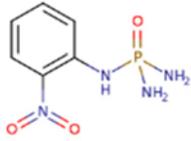
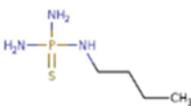
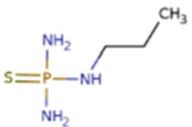
Eine Studie aus Irland zu den möglichen Auswirkungen von Urease- und Nitrifikationsinhibitoren kommt zu dem Schluss, dass zu erwarten ist, dass 2-NPT im Körper abgebaut wird und dass nach

dessen Verschlucken (Aufnahme über die Nahrung) aufgrund der hohen Wasserlöslichkeit und dem relativ geringen Molekulargewicht die Metaboliten v.a. mit dem Urin ausgeschieden werden. Es wird festgestellt, dass bis Juli 2020 keine Studien zur hormonellen Wirkung oder zur Karzinogenität vorlagen. Sie fordern ein besseres Wissen der Auswirkungen der Anwendung von Urease- und Nitrifikationsinhibitoren auf die Umwelt, Lebensmittelproduktion und die menschliche Gesundheit (Byrne et al. 2020).

Zum Transformationsverhalten des Nitrifikationshemmstoffes N-[3(5)-methyl-1H-pyrazol-1-yl] methyl] acetamide (MPA), der im verwendeten Harnstoffdünger enthalten und aufgrund fehlender Standards nicht analysierbar ist, wurde keine Veröffentlichung gefunden.

Ausgewählte Stoffeigenschaften der drei zugelassenen Ureasehemmstoffe sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Es handelt sich hierbei um Daten, die auf den Webseiten der Europäischen Chemikalienagentur („ECHA“) veröffentlicht sind. Dabei fällt auf, dass im Boden zwar für alle drei Stoffe ein Bioabbau festgestellt wurde (DT₅₀ zwischen 3 und 30 Tagen), im Wasser jedoch für 2-NPT und NBPT „kein Abbau“ bzw. für NPPT „nicht abbaubar“ festgestellt wurde. 2-NPT weist mit 1,4 g/L die geringste Wasserlöslichkeit, jedoch die höchste Affinität zur Bindung an organische Bodenpartikel auf (K_{oc} 100). Weitere Daten zur Hydrolyse enthält Abschnitt 5.1.4.

Tabelle 1: Ausgewählte Stoffeigenschaften der Ureasehemmstoffe

	2-NPT N-(2-Nitrophenyl)phosphorsäuretriamid	NBPT N-Butylthiophosphortriamid	NPPT N-Propylthiophosphortriamid
			
Summenformel	C ₆ H ₉ N ₄ O ₃ P	C ₄ H ₁₄ N ₃ PS	C ₃ H ₁₂ N ₃ PS
Reach-Registriernummer		01- 2119462834-32	01- 2119462834-32
EC-Nr.	477-690-9	619-010-7	618-780-1
CAS-Nr.	874819-71-3	94317-64-3	916809-14-8
Wasserlöslichkeit (g/L) bei 20 ° C	1,39	4,3-43,0 (25 °C)	51,5 ¹⁾
Hydrolyse	148 Tage (25 °C)	92 Tage (25 °C)	k. A.
Biodegradation in Wasser	kein Abbau	kein Abbau	nicht leicht abbaubar ¹⁾
Bioabbau in Boden DT ₅₀ (Tage bei 20 °C)	8,6	26-30 Tage (12-25 °C)	3,1 ¹⁾
log K _{ow} (Verteilungskoeffizient n-Octanol/Wasser):	0,51	0,44	0,3 (24 °C) ¹⁾
K _{oc} (20 °C)	100	4,31	18 ¹⁾
Datenquelle: https://echa.europa.eu/de/brief-profile/-/briefprofile/	100.105.163	100.103.392	100.127.866 sowie reach-registration-dossier (1)

3 (Weiter-)Entwicklung mikro- und molekularbiologischer Methoden

Mit dem mikrobiologischen Keimzählenscreening MPN können verschiedene stoffwechselaktive aerobe (z.B. Gesamtkeimzahl, Nitritoxidierer, Ammoniumoxidierer, Harnstoffverwerter) und anaerobe Mikroorganismen (z.B. Denitrifizierer) quantifiziert werden (Haas 1989). Je nach Stoffwechselgruppe unterscheiden sich dabei die Medien und die Inkubationszeiten. Von den Proben wird eine dezimale Verdünnungsreihe erstellt und nach der Inkubation die Anzahl der bewachsenen Ansätze pro Verdünnungsstufe ausgezählt (Abbildung 1). Basierend auf einer angenommenen Poisson-Verteilung wird die wahrscheinlichste Keimzahl einer Probe ermittelt. Dabei kam auch die vom TZW neu entwickelte Methode für die Harnstoffverwerter zum Einsatz. Hierfür wurde zunächst eine geeignete Medienzusammensetzung ermittelt und anschließend verschiedene Nachweisverfahren des Wachstums getestet. Die MPN-Ergebnisse können einen möglichen Einfluss der Ureasehemmstoffe auf die ausgewählten Stoffwechselgruppen und damit auf einen Teil des Stickstoffkreislaufs im Boden und Grundwasser zeigen. Die Bestimmungsgrenzen liegen für die folgenden Ergebnisse bei 2 - 6,6 Keimen/ml.

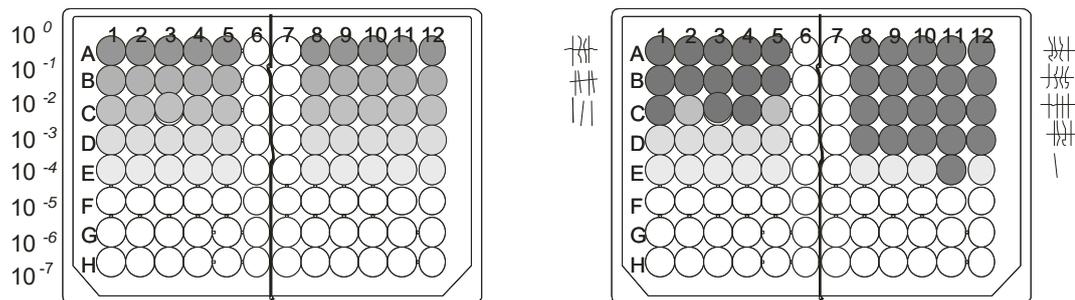


Abbildung 1: MPN-test. Links: dezimale Verdünnungsreihe, rechts: Auszählung der bewachsenen Ansätze (Abbildung aus Tiehm und Schmidt 2007).

Mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) können spezifische DNA-Abschnitte qualitativ und quantitativ bestimmt werden. Hierbei vervielfältigt das Enzym Polymerase die DNA-Moleküle exponentiell, was diese Methode zu einer sehr sensitiven molekularbiologischen Technik macht (Abbildung 2). Bei der quantitativen PCR (qPCR) interkalieren Fluoreszenzfarbstoffe in die DNA was in Echtzeit detektiert wird. Da das Fluoreszenzsignal proportional zur Menge der doppelsträngigen DNA zunimmt, wird eine Quantifizierung in der exponentiellen Phase möglich.

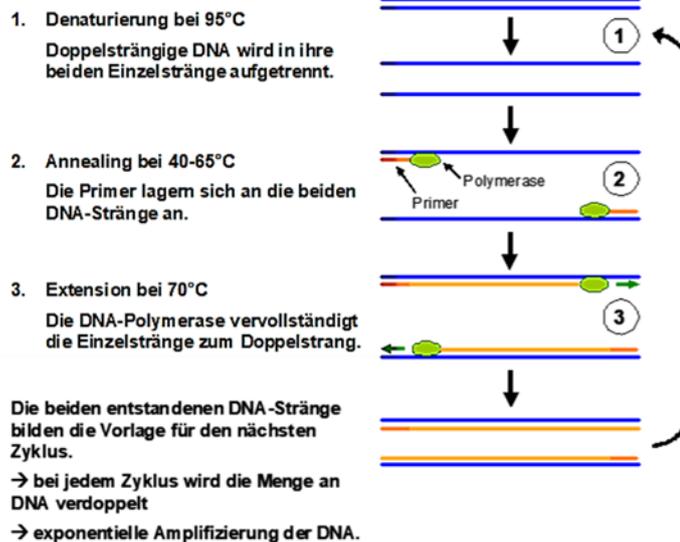


Abbildung 2: Schematische Darstellung einer PCR-Reaktion (Abbildung aus Schmidt und Tiehmann 2011)

Eine Methode zum Nachweis von harnstoffabbauenden Bakterien mittels Kulturverfahren (Most Probable Number (MPN)-Methode) wurde neu entwickelt. Hierfür wurde zunächst eine geeignete Medienzusammensetzung ermittelt und anschließend verschiedene Nachweisverfahren des Wachstums getestet. Mit der weitgehend entwickelten Methode konnten Feldproben ab Anfang März 2021 untersucht werden.

Im Rahmen des Projektes wurden Schlüsselgene für Ammonium-Oxidation und Denitrifikation mittels real-time PCR quantitativ erfasst. Im Falle der Ammonium-Oxidierer hat die Verwendung einer Teilsequenz des *amoA*-Gens, das für die katalytische Untereinheit der Ammoniummonooxygenase codiert, als funktioneller Genmarker bewährt. Die Denitrifikation trägt zur Verringerung der Nitratbelastung in der Umwelt bei, indem das Nitrat über Nitrit und den gasförmigen Komponenten Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid zu Stickstoffgas reduziert wird. Dieser Prozess wird von den vier Enzymen Nitratreduktase, Nitritreduktase, Stickstoffmonooxidreduktase sowie Distickstoffmonooxidreduktase katalysiert, die von den entsprechenden funktionellen Genen codiert werden. Der Fokus der durchgeführten Untersuchungen lag auf dem Nachweis des Nitratreduktase-Gens *narG*. Bereits im Vorfeld des Projektes wurden spezifische Primersysteme für die Erfassung von *narG* und *amoA* (Bru et al. 2007; Rotthauwe et al. 1997) ermittelt, real-time PCR-Assays entwickelt und DNA-Standards für die Quantifizierung hergestellt. Die 16s-rRNA dient dabei als Positivkontrolle, da sie in jedem Bakterium vorkommt (Reineke und Schlömann 2015). Die real-time PCR-Assays wurden hinsichtlich ihrer Temperaturprofile optimiert, um einen möglichst empfindlichen und spezifischen Nachweis zu ermöglichen. Die Bestimmungsgrenzen lagen für die folgenden Ergebnisse bei 10 - 100 Genkopien/ml. Diese optimierten PCR-Messungen wurden für die Untersuchung von Bodenproben aus dem Einzugsgebiet eingesetzt. Die Ergebnisse dieser Analy-

sen belegen das Vorkommen der ammonium-oxidierenden und denitrifizierenden Bakterien in den untersuchten Bodenproben.

4 Felduntersuchungen

4.1 Probennahmen auf den Projekt- und Vergleichsflächen

Für die Felduntersuchungen wurden im Jahr 2020 sieben Ackerflächen mit Maisanbau ausgewählt, die in zwei Projektflächen und fünf Vergleichsflächen aufgeteilt wurden. Eine Projektfläche lag im Wasserschutzgebiet „FEW Gemarkung Hausen Bad Krozingen“ (im weiteren Text als „WSG Hausen“ bezeichnet) und eine Fläche in der Nähe, aber bereits außerhalb der Schutzgebietsgrenzen des WSG Hausen, das sich wenige Kilometer südwestlich von Freiburg befindet. Zur Vereinfachung wird diese Fläche im Text trotzdem dem WSG Hausen zugeordnet. Die fünf Vergleichsflächen lagen im wenige Kilometer östlich von Freiburg gelegenen WSG „FEW+Kirchzarten+Stegen+WVV Himmelreich“ (im weiteren Text als „WSG Zartener Becken“ bezeichnet).

In diesen beiden Wasserschutzgebieten wird (zusammen mit weiteren Schutzgebieten) durch die bnNetze GmbH das Rohwasser für die Trinkwasserversorgung der Stadt Freiburg und verschiedener Umlandgemeinden gewonnen. Die sieben Flächen wurden mit einem Harnstoffdünger mit Nitrifikations- und Ureasehemmstoff gedüngt. Im Untersuchungszeitraum fanden Probennahmen meist im Abstand von ein bis zwei Monaten statt. Die Bodenproben wurden für die Analyse von Nitrat- und Ammoniumstickstoff (N_{\min}), Wassergehalt und Ureasehemmstoffen sowie für mikrobiologische Untersuchungen durch bnNetze entnommen und zeitnah für die Analysen zum TZW nach Karlsruhe transportiert.

4.1.1 Projektflächen im WSG Hausen

Auf den beiden Projektflächen im WSG Hausen erfolgte eine Flächenteilung, damit zum Vergleich jeweils eine Teilfläche als reine Harnstoffdünger-Variante angelegt und beprobt werden konnte. Die ungefähre Lage der Projektflächen H18 (Variante nur mit Harnstoff) und HUI18 (Variante mit Harnstoff mit UI und NI) bzw. H2811 (Variante nur mit Harnstoff) und HUI2811 (Variante mit Harnstoff mit UI und NI) im WSG Hausen zeigt die Abbildung 3.

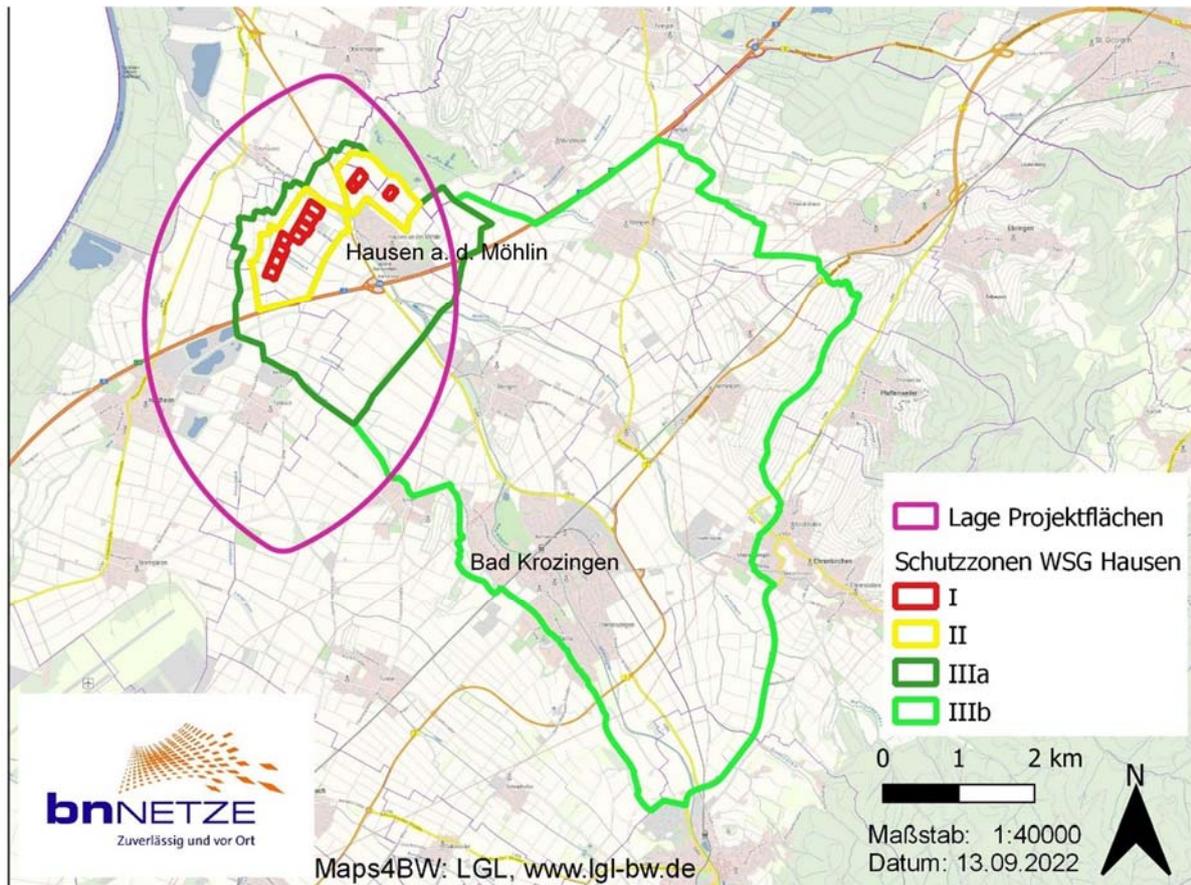


Abbildung 3: Lage der Projektflächen im WSG Hausen

Auf den beiden ausgewählten Projektflächen im WSG Hausen wurde sowohl im Jahr 2020 als auch im Jahr 2021 Mais (Körner- bzw. Saatmais) angebaut, der in einer Variante wieder mit einem Harnstoffdünger mit Nitrifikations- und Ureasehemmstoff gedüngt wurde. Die im Jahr 2020 vorgenommene Flächenteilung, erlaubte auch die Probennahme auf jeweils einer mit reinem Harnstoff gedüngten Vergleichsvariante.

Auf einer der beiden ausgewählten Projektflächen im WSG Hausen wurde im Herbst 2021 Winterweizen nach Körnermais angebaut. Bei der anderen Projektfläche handelt es sich um eine mit Weidelgras begrünte Saatmaisfläche, die im Dezember 2021 gepflügt wurde. Im Jahr 2022 wurden Kartoffeln als Hauptfrucht angebaut.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus dem Jahr 2020 wurden die Probenahme-Zeitpunkte der ausgewählten Flächen für das Jahr 2021 angepasst. Dabei wurden die Probenahmeabstände nach der Düngung für das Projektjahr 2021 etwas verengt. Außerdem wurden im Oktober 2021 auf beiden Flächen, jeweils auf der Variante mit Harnstoffdünger ohne UI und NI zwei ungestörte Ly-simeter-Bodenproben entnommen (s.Kap.5.1).

Die Untersuchungsergebnisse sind in Abschnitt 4.2.3 zusammengestellt.

Um den im Jahr 2021 erfolgten Nachweis des Ureasehemmstoffs N-(2-Nitrophenyl)Phosphorsäure-Triamid (2-NPT) zu überprüfen, erfolgte nach interner Absprache mit dem Projektteam und nach Rücksprache mit dem Bewirtschafter ergänzend zur ursprünglichen Planung gegen Ende März 2022 auf der Winterweizenfläche im WSG Hausen eine erneute Düngung mit einem Harnstoffdünger mit Nitrifikations- und Ureasehemmstoff. Ähnlich wie im Vorjahr wurden zeitnah nach dem Düngetermin Proben entnommen. Die erste Probennahme erfolgte am 06.04.2022, etwa eine Woche nach der Düngung (28.03.2022) im Bodenbereich von 0 bis 30 cm. Noch eine Woche später (12.04.2022) erfolgte eine weitere Probennahme in den Bodenbereichen von 0 bis 30 cm und 30 bis 60 cm. Die Proben wurden auf Ureasehemmstoffe untersucht. Diese zusätzlichen Untersuchungen auf Ureasehemmstoffe waren in der ursprünglichen Projektplanung nicht vorgesehen, sie wurden jedoch vom Projektteam für erforderlich gehalten, um zu prüfen, ob sich die Positivbefunde vom Frühjahr 2021 auch unter den Bedingungen im Frühjahr 2022 wiederholen. Die Probennahme erfolgte ausschließlich auf der auch im Jahr 2021 mit Harnstoffdünger mit Ureasehemmstoff gedüngten Teilfläche. Um Verschleppungseffekte sicher ausschließen zu können, erfolgte diese Probennahme absatzweise, d.h., zuerst wurden die Proben aus dem Bodenbereich 0-30 cm entnommen und anschließend aus dem Bodenbereich 30-60 cm.

Insgesamt wurden im Projektzeitraum im WSG Hausen auf den vier Teilflächen jeweils ca. 16-18 Bodenproben für N_{\min} -Untersuchungen (meist 3 Schichten), 8-9 Proben für die mikrobiologischen Untersuchungen und 49 Proben für den Nachweis von Ureaseinhibitoren entnommen, davon 24 Proben aus dem Oberboden (0-30 cm), 13 Proben aus dem Bereich 30–60 cm und 12 Proben aus dem Bereich 60-90 cm. Insgesamt wurden im Rahmen dieser Felduntersuchungen von Mai 2020 bis August 2022 68 N_{\min} -Untersuchungen sowie 108 mikro- u. molekularbiologische Untersuchungen auf Ureasehemmstoff an Bodenproben von diesen beiden Projektflächen im WSG Hausen vorgenommen.

Wesentliche Bodeneigenschaften der Projekt- und der Vergleichsflächen sind in der Tabelle 2 zusammengestellt:

Tabelle 2: Bodeneigenschaften der Projekt- und Vergleichsflächen

Fläche	Bodenart	pH-Wert (Oberboden)	Datum der Probennahmen für pH-Wert-Bestimmung
H 18	sL (sandiger Lehm)	6,3	Okt 20
HUI 18	sL (sandiger Lehm)	6,0	Okt 20
H 2811	sL (sandiger Lehm)	7,0	Okt 20
HUI 2811	sL (sandiger Lehm)	6,8	Okt 20
EUI 461	sL (sandiger Lehm)	5,8	Sep 20
EUI 740	IS (lehmiger Sand)	4,6	Sep 20
EUI 1208	sIS (stark lehmiger Sand)	4,7	Sep 20
EUI 1209	sL/stark lehmiger Sand	5,9	Sep 20
EUI 1210	sL/stark lehmiger Sand	5,8	Sep 20

Hierbei fällt auf, dass drei Vergleichsflächen in Ebnet in die pH-Klasse B „niedrig“ nach VDLUFA und zwei Flächen (EUI 740 und EUI1208) sogar in die pH-Klasse A (sehr niedrig) eingestuft werden. Dieser Zustand wird mit „erheblichen Beeinträchtigung von Bodenstruktur und Nährstoffverfügbarkeit, signifikante Ertragsverluste“ beschrieben (DLG-Ausschuss für Pflanzenernährung 2022).

Die Feldkapazitäten für die beiden Projektflächen in Hausen sind in der Tabelle 4 zusammengestellt. Weitere Bodeneigenschaften wie den Gehalt an C_{org} und den Humusgehalt sowie die Wassergehalte im Oktober 2021 enthält die Tabelle 8.

4.1.2 Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken

Auf vier Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken wurde im Jahr 2020 Silomais angebaut, auf einer Fläche Körnermais. Eine der fünf Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken mit Maisanbau im Jahr 2020 konnte im Jahr 2021 nicht mehr mit dem Harnstoffdünger mit Nitrifikations- und Ureasehemmstoff gedüngt werden, deshalb wurden auf dieser Fläche ab März 2021 nur Proben für die Analyse von N_{min} aber nicht für mikrobiologische Untersuchungen entnommen. Die anderen vier Flächen im WSG Zartener Becken konnten im Jahr 2021 erneut mit einem Harnstoffdünger mit Nitrifikations- und Ureasehemmstoff gedüngt werden. Auf zwei Flächen wurde Wintergerste, auf den anderen beiden Sommerhafer angebaut.

Im Herbst 2021 bzw. im Winter 2021/2022 wurde auf einer Fläche Klee gras und auf zwei Flächen Winterweizen nach Sommerhafer sowie auf zwei weiteren Flächen Klee gras nach Wintergerste angebaut. Auf diesen Flächen wurden weiterhin, ca. alle ein- bis zwei Monate Bodenproben für die Analyse von Nitrat- und Ammoniumstickstoff (N_{min}) entnommen.

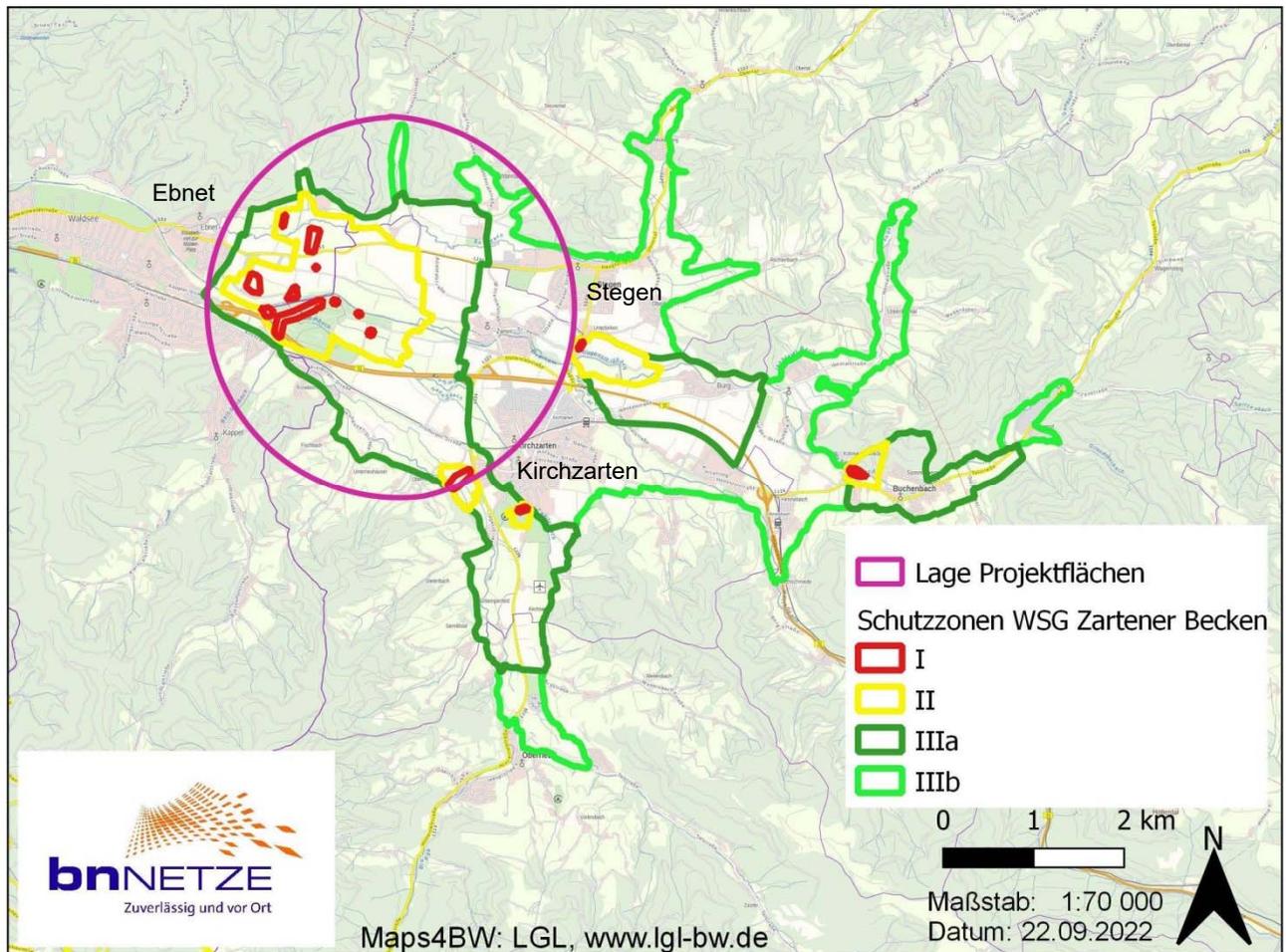


Abbildung 4: Lageskizze der Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken

Insgesamt wurden im Projektzeitraum auf den fünf Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken (Abbildung 4) jeweils ca. 13-17 Bodenproben für N_{\min} -Untersuchungen, 8-9 Proben für die mikrobiologischen Untersuchungen und 10 Bodenproben für den Nachweis von UI entnommen. Im Rahmen dieser Felduntersuchungen wurden im WSG Zartener Becken von Mai 2020 bis Februar 2022 72 N_{\min} -Untersuchungen sowie 97 mikro- u. molekularbiologische Untersuchungen auf Ureasehemmstoffe an Bodenproben von diesen beiden Projektflächen vorgenommen.

4.2 Probentransport und Analytik

Die Probenlagerung und die Bestimmung der Ureaseinhibitoren in den Bodenproben erfolgte entsprechend der im Rahmen des DVGW-F&E Projektes W201917 INHIBIT am TZW entwickelten und validierten Methode (Kübeck et al. 2022).

Die dort durchgeführten Versuche zeigten, dass für alle Analyten (sowohl Urease- als auch Nitrifikationsinhibitoren) mit einem gekühlten Probentransport und einer anschließenden Lagerung bei 5 °C und neutralem pH-Wert eine ausreichende Stabilität über einen Zeitraum von 30 Tagen ge-

währleistet ist. Die Bodenproben wurden daher sofort nach der Probennahme gekühlt und am gleichen oder am nächsten Tag in Kühlboxen für die Analyse ins TZW nach Karlsruhe transportiert. Dort wurden die Proben bis zur Analyse (i.d.R. nach 2-3 Werktagen) im Kühlschrank bei 5 ° C gekühlt.

Vor der Probenaufbereitung wurde die Bodenprobe zunächst gut durchmischt und durch Siebung über ein Edelstahlsieb mit Maschenweite 5 mm homogenisiert.

Anschließend erfolgte eine Bestimmung der Wassergehalte durch 24-stündige Trocknung bei 105°C. Dies ist bei feldfrischen Bodenproben erforderlich, um Verdünnungen durch das im Boden enthaltene Wasser herausrechnen zu können.

Für die eigentliche Bestimmung der Ureaseinhibitoren in den Bodenproben wurden folgende Arbeitsschritte durchgeführt:

- 10 g Boden sowie 120 µL Interner Standard und 20 mL Reinstwasser wurden in 50 mL Falcon Tubes eingefüllt. Zur Qualitätssicherung (zusätzlicher Ansatz) wurde eine Bodenprobe mit 5 µg/kg der zu analysierenden Substanzen dotiert und ebenfalls 120 µL interner Standard sowie 20 mL Reinstwasser zugegeben.
- Nach kurzer Durchmischung (Vortex) wurden die Proben 30 Min bei 1.700 U/min im Horizontalschüttler weiter durchmischt und anschließend 20 Min bei 4.000 U/min zentrifugiert.
- Vom Überstand wurden 1,5 mL Probenvolumen in Vials für eine Tischzentrifuge überführt und erneut zentrifugiert (5 Min bei 13.000 x g).
- 200 µL des Überstands wurden in HPLC-Vials eingefüllt und 800 µL Reinstwasser zugegeben.

Die eigentliche Messung der Ureaseinhibitoren erfolgte mit der für Wasser entwickelten LC/MS Methode (Scheurer et al. 2016).

4.3 Ergebnisse der Felduntersuchungen im WSG Hausen

4.3.1 Nitratstickstoffgehalt

Die Angaben zu den Düngungen in Tabelle 3 sind den Schlagkarten der Bewirtschafter entnommen, die dankenswerter Weise von den beiden Bewirtschaftern für das vorliegende Projekt zur Verfügung gestellt wurden.

Tabelle 3: Fruchtfolge und Stickstoff-Düngezeitpunkte auf den Projektflächen im WSG Hausen (angegeben sind nur die Düngetermine, zu denen eine N-Düngung mit UI/NI erfolgte bzw. dazu analog auf der geteilten Fläche die Harnstoffdüngung ohne UI/NI).

Fläche	Fruchtfolge 2020-2022	Düngezeitpunkt (nur N-Düngungen mit UI)	N-Düngung
H18 / HUI18	Körnermais	07.04.2020	H 18: Harnstoff H UI: Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Körnermais	16.04.2021	H 18: Harnstoff H UI: Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Winterweizen	28.03.2022	Beide Flächen: Harnstoff mit 2-NPT + MPA *
H2811 / HUI2811	Saatmais mit Untersaat als Zwischenfrucht	27.04.2020	H 2811: Harnstoff H UI: Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Saatmais mit Untersaat	16.04.2021	H 2811: Harnstoff H UI: Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Frühkartoffeln	23.02.2022	Beide Flächen: Ammoniumnitratdünger mit Nitrifikationshemmstoff *

* zusätzliche Versuche im Frühjahr 2022 ohne Flächenteilung

Die Abbildungen A1 bis A4 im Abbildungsanhang zeigen die Entwicklung der Nitratstickstoffgehalte in den Bodenbereichen 0-30 cm, 30-60 cm und 60-90 cm und der Bodenwassergehalte (0-90 cm) für die Projektflächen H18 und HUI18. Die entsprechenden Daten für die Projektflächen H2811 und HUI2811 zeigen die Abbildungen A9 bis A12 im Abbildungsanhang. Darin sind neben den jeweiligen Nutzungen auch die Zeitpunkte der Düngungen und Bodenbearbeitungen eingezeichnet.

Während auf den beiden Flächen H18/HUI18 bei allen Terminen durchgängig vollständige Profile gewonnen werden konnten, konnten sowohl auf der Fläche H2811 als auch auf HUI2811 im Zeitraum Dezember 2021 bis Februar 2022 aufgrund der Bodenverhältnisse nur Bodenproben aus dem Bereich von 0-60 cm entnommen werden. Dies ist hinsichtlich der Bewertung des Verlaufs der Nitratstickstoff- und der Wassergehalte in den Abbildungen A1 bis A4 und A9 bis A12 zu berücksichtigen.

Auf der Fläche H18/HUI18 wurden die niedrigsten Bodenwassergehalte am 27.10.2020 und am 20.10.2021 festgestellt. In den Monaten Februar 2020, Februar 2021 sowie im Dezember 2021

und Januar 2022 waren die Böden bis zur Feldkapazität wassergesättigt (vgl. Abschnitt 4.3.2). Aber auch im Mai 2021 ergab sich aus den Berechnungen in Abschnitt 4.3.2 infolge der hohen Niederschläge eine Sickerung unter dieser Fläche.

Erwartungsgemäß waren die höchsten Nitratsickstoffgehalte sowohl im Jahr 2020 als auch im Jahr 2021 in den Monaten Mai/Juni, kurz nach der Düngung festzustellen. Aufgrund der N-Aufnahme durch die Pflanzen haben die Nitratstickstoffgehalte bis zum Herbst abgenommen. Über den Herbst-Winter-Zeitraum ist abhängig von den jeweiligen Bedingungen vom Auftreten von Auswaschungseffekten auszugehen.

Um die Nitratauswaschung unter den Teilflächen miteinander vergleichen zu können, erfolgten Berechnungen der Nitratauswaschungen mit Hilfe des am TZW entwickelten Simulationsmodells INVAM („Integrales Nitratverlagerungs- und Auswaschungsmodell“).

4.3.2 Sonderuntersuchungen zur Nitratverlagerung

Um die Verluste durch Nitratauswaschung mit Hilfe von INVAM-Simulationsrechnungen (vgl. (Rohmann 1996) sowie (Sturm et al. 2004) abschätzen zu können, sind folgende Eingangsdaten erforderlich:

- Sickerungsrelevante Niederschlagsmengen
- N-Deposition (bei einem 3-4 Wochen Zeitraum ca. 1 kg N/ha)
- Feldkapazität der betrachteten Bodenschichten
- Bodenwassergehalte zu den Messzeitpunkten
- Boden-Nitratstickstoffgehalte

Die sickerungsrelevante Niederschlagsmenge wird durch eine klimatische Wasserbilanz unter Einbeziehung der potentiellen Evapotranspiration nach Haude (s.u.) abgeschätzt. Die klimatische Wasserbilanz stellt die Differenz zwischen Niederschlagshöhe und potentieller Evapotranspiration dar. Als Niederschlagshöhen wurden im WSG Hausen die den jeweiligen Flächen zugeordneten Niederschlagsdaten verwendet. Für eine Fläche wurden dafür regionalisierte, aus Radar und Bodenmessnetz berechnete Niederschlagsdaten verwendet, für die andere Fläche Daten einer herkömmlichen Messstation beim WW Hausen. Die potentielle Evapotranspiration wurde für die Projektflächen im WSG Hausen mittels einer Berechnung nach HAUDE abgeschätzt.

- Unter der potentiellen Evapotranspiration (ET_p) versteht man eine Näherung für die obere Grenze der Verdunstung bewachsener Landflächen bei den herrschenden meteorologischen Bedingungen und unter unbehinderter Wasserverfügbarkeit. Daraus folgt, dass sie der aktuellen (realen) Verdunstung nur in Zeitabschnitten mit hoher Bodenfeuchte bzw. häufigen Regenfällen entspricht (DVWK 1996). Die aktuelle Evapotranspiration hängt von der Art und Form der Bodenbedeckung, der Bodenart und Bodenfeuchtigkeit und den jeweiligen Witterungsbedingungen ab.

- Aus der Berechnung nach Haude resultieren tägliche Werte der potentiellen Evapotranspiration, die jedoch aufgrund der Unsicherheiten möglichst zu Monatssummen zusammengefasst werden sollten. Im hier praktizierten Fall wird über den Zeitraum zwischen den einzelnen Probennahmeterminen aufsummiert.
- Nach dem HAUDE-Verfahren wird ein jahreszeitlich variierender, empirischer Koeffizient („Haude-Faktor“) in die Berechnung einbezogen, der die unterschiedliche Verdunstung der Kulturen im Jahresverlauf berücksichtigt. Der Berechnung liegen daher neben den genannten Parametern auch entsprechende Verdunstungsfaktoren für unterschiedliche Kulturen und die einzelnen Monate zu Grunde, die sich zwischen 0,1 und 0,4 [mm/d/hPa] bewegen.
- Für Mais liegen entsprechende Verdunstungsfaktoren vor, wobei allerdings bei HAUDE nicht nach Silomais, Körnermais oder Saatmais unterschieden wird. Für Kulturen, für die keine kulturspezifischen Verdunstungsfaktoren vorlagen, wurden die Verdunstungsfaktoren anderer Kulturen verwendet, die hinsichtlich des Bewuchses den tatsächlich vorhandenen Kulturen am nächsten kommen dürften. Die Differenz der so gewählten Verdunstungsfaktoren zu den tatsächlichen kulturspezifischen Faktoren ist nicht bekannt.
- Die berechneten Verdunstungen können in diesen Fällen daher noch deutlicher von den tatsächlichen Werten abweichen, als dies auch bei vorhandenen kulturspezifischen Faktoren ohnehin der Fall ist. Die mit diesen Daten berechnete klimatische Wasserbilanz kann aus den genannten Gründen daher nur einen Näherungswert für die tatsächlichen Verhältnisse darstellen.

Für das WSG Hausen wurden die Aufzeichnungen der mittleren Tagestemperaturen sowie der relativen Luftfeuchte um 13 Uhr MEZ der neu errichteten badenova-Wetterstation herangezogen. Die Berechnungen für die Flächen H18 und HUI18 erfolgten mit den Niederschlagsaufzeichnungen der alten Station beim WW Hausen, für die Fläche H2811 und HUI2811 wurden wie oben beschrieben, die berechneten Niederschlagsdaten verwendet.

Auf Basis der klimatischen Wasserbilanz, des tatsächlichen Bodenwassergehalts zum Messzeitpunkt sowie der Feldkapazität wird von INVAM eine theoretische Sickerwassermenge berechnet. Die Abschätzung der Feldkapazität wurde unter Heranziehen auch früherer Kontrollergebnisse und gegebenenfalls auch weiterer Informationen vorgenommen. Bei gesättigten Bodenwasserverhältnissen entspricht die klimatische Wasserbilanz der theoretischen Sickerwassermenge. Liegen zu Beginn des Berechnungszeitraums ungesättigte Bodenwasserverhältnisse vor, wird das Bodenfeuchtedefizit zunächst aufgefüllt, bevor die Sickerung beginnt. Liegt zum Starttermin Wassersättigung vor und wird diese danach zeitweise unterschritten, so wird dies durch INVAM nicht berücksichtigt, d.h. INVAM rechnet in diesem Fall mit Bodenwassersättigung weiter.

Können die Änderungen der Nitratstickstoffgehalte in den entsprechenden Bodenschichten und der Profilsommenwerte durch die reine Auswaschungsrechnung nicht mit hinreichender Genauigkeit nachvollzogen werden, so kann die Auswaschungsrechnung beispielsweise durch zusätzliche Berücksichtigung einer mineralisierungsbedingten Nitratfreisetzung oder von Nitratverlusten durch Denitrifikation oder auch andere Stickstoffsinken und –quellen erweitert werden. Voraussetzung für diese Modellanpassung ist, dass die naturgesetzlichen Bedingungen im jeweiligen Zeitraum erfüllt sind, wie z. B. Gefrier-/Auftauprozesse, Bodenbearbeitung oder das Abfrieren der Begrünung für die Mineralisierung. Da diese Anpassungen auf das am folgenden Probennahmetermin gemessene Nitratstickstoffprofil ausgerichtet sind, ist eine Durchführung dieser Anpassungen nur dann zulässig, wenn bis zu diesem Termin tatsächlich von Sickerwasserbildung ausgegangen werden kann, also gesättigte Bodenwasserbedingungen vorliegen.

Als Feldkapazität wurden für die Flächen H18 und HUI18 die in der Tabelle 4 aufgeführten Werte abgeschätzt.

Tabelle 4: Aus Bodenwassergehalten abgeschätzte Feldkapazitäten für die Flächen H18/HUI18 bzw. H2811/HUI2811

	Feldkapazität in mm	
	H/HUI18	H/HUI2811
0 - 30 cm	125	90
30 - 60 cm	90	85
60 -90 cm	85	90
Summe	300	265

Die Einzelergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen sind für die Projektflächen H18 und HUI18 in den Abbildungen A5 bis A8 aufgeführt, die entsprechenden Einzelergebnisse für die Projektflächen H2811 und HUI2811 zeigen die Abbildungen A13 bis A16 im Abbildungsanhang.

Aufgrund der teilweise geringen Niederschläge traten Auswaschungseffekte nur in wenigen Zeiträumen auf. Zusammenfassungen der Ergebnisse dieser Auswaschungsmodellberechnungen zeigt die Tabelle 5 für die Projektflächen H18 im Vergleich zu HUI18, sowie die Tabelle 6 für die Projektfläche H2811 im Vergleich zu HUI2811. Da für die Flächen H2811 und HUI2811 nicht zu allen Terminen vollständige Profile bis 90 cm Tiefe vorlagen, wurde die Auswaschungsberechnung für das Profil 0-60 cm durchgeführt. Sie ist dann grundsätzlich höher als für das Profil 0-90 cm. Daher können die Werte nicht direkt mit den Ergebnissen für die Flächen H18/HUI18 verglichen werden, sie sind jedoch zwischen den Teilflächen untereinander vergleichbar:

Tabelle 5: Vergleich der Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen für die Flächen H18 und HUI18 von Frühjahr 2020 bis Frühjahr 2022

	H18	H18	HUI18	HUI18
Düngung am 07.04.2020 mit	40 kg N/ha Mischdünger		40 kg N/ha Mischdünger	
Düngung am 08.04.2020 mit	125 kg N/ha Harnstoff		118 kg N/ha NI/UI-Dünger	
	25.11.2020	11.02.2021	25.11.2020	11.02.2021
Sickerwassermenge in mm		8,1		33,1
NO₃-N (0-90 cm)		2,7		9,5
Nitratkonz. in mg/L		147,7		127,1
Düngung am 16.04.2021 mit	100 kg N/ha Harnstoff		137 kg N/ha NI/UI-Dünger	
	27.04.2021	31.05.2021	27.04.2021	31.05.2021
Sickerwassermenge in mm		18,7		13,7
NO₃-N (0-90 cm)		9,8		4,2
Nitratkonz. in mg/L		232,2		135,8
	28.06.2021	27.07.2021	28.06.2021	27.07.2021
Sickerwassermenge in mm		4,7		0
NO₃-N (0-90 cm)		1,2		0
Nitratkonz. in mg/L		113,1		<
	22.12.2021	26.01.2022	22.12.2021	26.01.2022
Sickerwassermenge in mm		22		17
NO₃-N (0-90 cm)		1,6		2,2
Nitratkonz. in mg/L		32,2		57,3
Düngung am 12.02.2022 mit	80 kg N/ha Kalkammon+S		80 kg N/ha Kalkammon+S	
Düngung am 28.03.2022 mit	121 kg N/ha UI-Dünger		121 kg N/ha NI/UI-Dünger	
Summe Sickerwassermenge in mm		53,5		63,8
Summe NO₃-N (0-90 cm)		15,3		15,9
Nitratkonz. in mg/L		126,7		110,4

Die aufsummierte Nitratauswaschung im Zeitraum Frühjahr 2020 bis Frühjahr 2022 betrug für die Teilfläche H18 15,3 kg N/ha und für die Teilfläche HUI18 15,9 kg N/ha (jeweils 0-90 cm). Unter Einbeziehung der Sickerwassermengen, lassen sich Nitratkonzentrationen von 127 bzw. 110 mg/L abschätzen, die unter diesen beiden Flächen anfielen. Bei diesen relativ hohen Nitratkonzentrationen sind die geringen Sickerwassermengen in den beiden Grundwasserneubildungsperioden zu berücksichtigen, die hier anfielen. Aus den geringen Unterschieden bei den Nitratauswaschungen der beiden Teilflächen H18 und HUI18 ist kein signifikanter Unterschied abzuleiten.

Tabelle 6: Vergleich der Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen für die Flächen H2811 und HUI2811 von Frühjahr 2020 bis Frühjahr 2022

	H2811	H2811	HUI2811	HUI2811
Düngung am 27.04.2020 mit	133 kg N/ha Harnstoff		122 kg N/ha NI/UI-Dünger	
	25.11.2020	11.02.2021	25.11.2020	11.02.2021
Sickerwassermenge in mm		155,1		175,1
NO₃-N (0-60 cm)		5,6		2,5
Nitratkonz. in mg/L		16,0		6,3
	11.02.2021	23.03.2021	11.02.2021	23.03.2021
Sickerwassermenge in mm		6,6		6,6
NO₃-N (0-60 cm)		0,1		0,1
Nitratkonz. in mg/L		6,7		6,7
Düngung am 16.04.2021 mit	120 kg N/ha Harnstoff		120 kg N/ha NI/UI-Dünger	
	27.04.2021	31.05.2021	27.04.2021	31.05.2021
Sickerwassermenge in mm		56,9		66,9
NO₃-N (0-60 cm)		8,9		6
Nitratkonz. in mg/L		69,3		39,7
	28.06.2021	27.07.2021	28.06.2021	27.07.2021
Sickerwassermenge in mm		55,3		60,3
NO₃-N (0-60 cm)		16,1		22,6
Nitratkonz. in mg/L		129,0		166,0
	18.11.2021	22.12.2021	18.11.2021	22.12.2021
Sickerwassermenge in mm		14,2		13
NO₃-N (0-60 cm)		1		1,7
Nitratkonz. in mg/L		31,2		57,9
	22.12.2021	26.01.2022	22.12.2021	26.01.2022
Sickerwassermenge in mm		26,3		26,3
NO₃-N (0-60 cm)		2,9		1,9
Nitratkonz. in mg/L		48,8		32,0
Düngung am 23.02.2022 mit	145 kg N/ha Entec+DAP		145 kg N/ha Entec+DAP	
	26.01.2022	23.02.2022	26.01.2022	23.02.2022
Sickerwassermenge in mm		9		19
NO₃-N (0-60 cm)		1		1,7
Nitratkonz. in mg/L		49,2		39,6
Summe Sickerwassermenge in mm		309,2		354,2
Summe NO₃-N (0-60 cm)		34,6		34,8
Nitratkonz. in mg/L		49,6		43,5

Die aufsummierte Nitratauswaschung im Zeitraum Frühjahr 2020 bis Frühjahr 2022 betrug für die Fläche H2811 34,6 kg N/ha und für die Fläche HUI2811 34,8 kg N/ha (jeweils 0-60 cm). Unter Einbeziehung der Sickerwassermengen, lassen sich Nitratkonzentrationen von 50 bzw. 44 mg/L abschätzen, die unter diesen Flächen anfielen. Es fällt auf, dass die berechneten Sickerwassermengen unter diesen beiden Flächen deutlich höher sind als diejenigen unter H18/HUI18. Dies dürfte v.a. auf die geringere Feldkapazität der Flächen H2811/HUI2811 zurückzuführen sein (175 mm für 0-60 cm gegenüber 300 mm für 0-90 cm bei H18/HUI18). Aus den geringen Unterschieden in den Nitratauswaschungen der beiden Teilflächen ist auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Teilflächen H2811 und HUI2811 abzuleiten.

Fazit: Aus den geringen Unterschieden in den Nitratauswaschungen der jeweiligen Teilflächen H18/HUI18 und H2811/HUI2811 untereinander ist kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Nitratauswaschung zwischen den jeweiligen Teilflächen, die mit Harnstoff mit bzw. ohne Ureasehemmstoff 2-NPT und Nitrifikationshemmstoff MPA gedüngt wurden, abzuleiten.

4.3.3 Ergebnisse der Untersuchungen auf Urease- und Nitrifikationshemmstoffe

In der Tabelle B1 in Anhang B sind die Ergebnisse der Bodenuntersuchungen auf Urease- und Nitrifikationsinhibitoren aufgeführt. Diese werden nachfolgend für die Projektflächen im WSG Hausen und in Abschnitt 4.4.2 für die Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken erläutert.

Bei der Analyse der Hemmstoffe werden neben dem ausgebrachten Ureasehemmstoff N-(2-Nitrophenyl)Phosphorsäure-Triamid (2-NPT) eine Reihe an Nitrifikations- und Ureasehemmstoffen erfasst. 3-Methyl-1H-pyrazol (3-MP), ein gängiger Nitrifikationshemmstoff, wurde in einigen Proben nachgewiesen. Im verwendeten Harnstoffdünger ist der Nitrifikationshemmstoff N-[3(5)-methyl-1H-pyrazol-1-yl] methyl] acetamide (MPA) enthalten. Dieser steht als Reinstoff zur Methodenetablierung nicht zur Verfügung und kann deshalb nicht analysiert werden. Im Harnstoffdünger selbst konnte 3-MP nicht nachgewiesen werden. Die Ergebnisse für 2-NPT und 3-MP werden im Folgenden beschrieben und dargestellt.

Ergebnisse der Felduntersuchungen auf UI/NI im Jahr 2020:

Im Jahr 2020 erfolgten die Probenahmen am 01.04.2020 vor und am 30.06.2020 nach der Düngung, auf den Flächen HUI18 und HUI2811 in drei Tiefen. Die Düngung erfolgte am 08.04.2020 bei HUI18 sowie am 23.04.2020 bei HUI2811. Der im eingesetzten Harnstoffdünger enthaltene Ureasehemmstoff N-(2-Nitrophenyl)Phosphorsäure-Triamid (2-NPT) sowie der Nitrifikationshemmstoff 3-Methyl-1H-pyrazol (3-MP) wurden im Jahr 2020 weder vor noch nach der Düngung nachgewiesen.

Ergebnisse der Felduntersuchungen auf UI/NI im Jahr 2021:

Im Jahr 2021 wurden die Probenahmen enger an die Düngetermine gelegt. Zum ersten Termin am 20.04.2021 (4 Tage nach der Düngung im WSG Hausen) bzw. am 09.03.2021 (6 Tage nach der Düngung im WSG Zartener Becken) wurden in mehreren Flächen sowohl im WSG Hausen als auch im WSG Zartener Becken im Oberboden Konzentrationen von 3-MP und 2-NPT signifikant über den Bestimmungsgrenzen gemessen. Im WSG Hausen wurde ein engeres Probenahmeraster angelegt und es konnten auch 11 Tage nach der Düngung 3-MP und 2-NPT nachgewiesen werden. Am darauffolgenden Probenahmetermin Ende Mai nach 45 Tagen lagen alle untersuchten Flächen in allen 3 untersuchten Tiefen wieder unter der Bestimmungsgrenze. An der folgenden Probenahme im WSG Zartener Becken Ende Mai (89 Tage nach der Düngung vom 02./03.03.2021) lagen auch hier die Werte für 3-MP und 2-NPT wieder darunter.

In den Proben der beiden Vergleichsflächen im WSG Hausen mit Harnstoffdünger ohne Hemmstoffe, waren diese auch tatsächlich zu keinem Zeitpunkt nachweisbar.

In Abbildung 5 sind die Ergebnisse der Untersuchungen für 2-NPT von Böden aus dem **WSG Hausen** mit der Tiefe bis 30 cm dargestellt. Der Hemmstoff des Harnstoffdüngers liegt demnach wenige Wochen im Oberboden vor, bis er abgebaut wird.

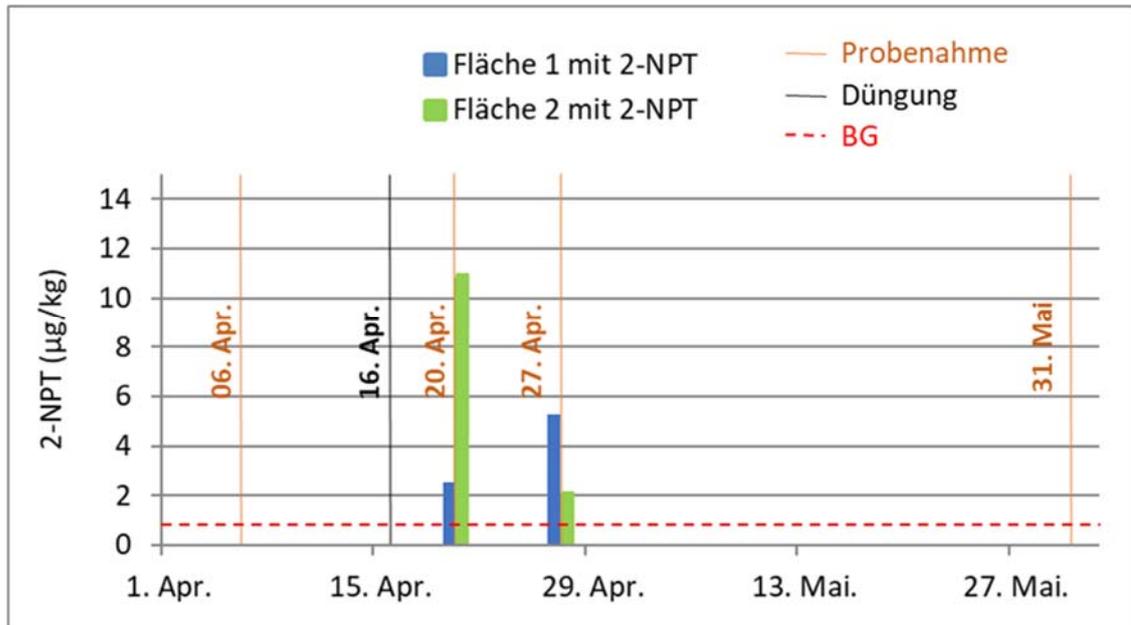


Abbildung 5: Konzentrationen des Ureasehemmstoffs N-(2-Nitrophenyl)Phosphorsäure-Triamid (2-NPT) im Oberboden bis 30 cm Tiefe in Hausen im Jahr 2021. Die Düngung der Maisflächen mit Harnstoff erfolgte mit und ohne 2-NPT-Zusatz. Die Bestimmungsgrenze (BG) der Analysenmethode lag bei 0,7 µg/kg

Die Ergebnisse für 3-MP sind in Abbildung 6 dargestellt. Hier liegen 2 Messwerte unter der Bestimmungsgrenze aber signifikant über der Nachweisgrenze. In Proben von den Teilflächen ohne UI-Düngung konnte 3-MP nicht nachgewiesen werden, auch nicht im Bereich zwischen der Nachweis- und der Bestimmungsgrenze. Eine Verlagerung der Hemmstoffe in tiefere Bodenschichten konnte im Jahr 2021 in Hausen bei den am 31.05.2021, d.h. sechs Wochen nach der Düngung untersuchten Bodenproben aus dem Bodenbereich von 0-90 cm nicht beobachtet werden. Es ist anzunehmen, dass die Zunahme der 2-NPT- und 3-MP Konzentration im Oberboden in Fläche 1 (HUI18) auf Heterogenitäten in der Fläche zurückzuführen ist.

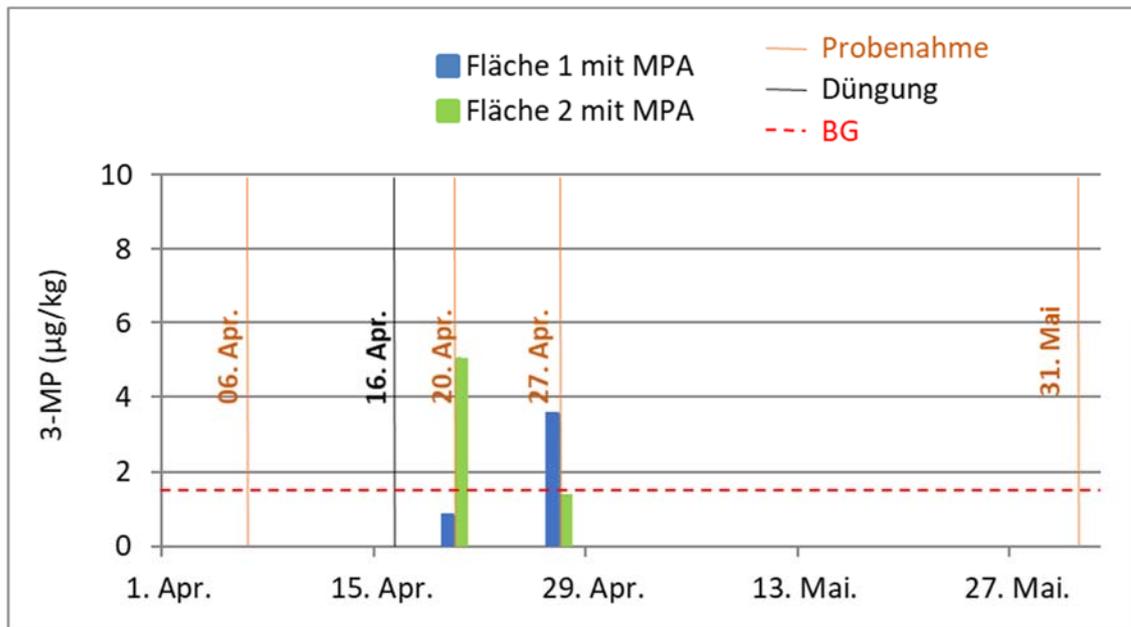


Abbildung 6: Konzentrationen des Nitrifikationshemmstoffs 3-Methyl-1H-pyrazol (3-MP) im Oberboden bis 30 cm Tiefe in Hausen im Jahr 2021. Die Düngung der Maisflächen mit Harnstoff erfolgte mit und ohne N-[3(5)-methyl-1H-pyrazol-1-yl] methyl] acetamide (MPA)-Zusatz. Die Bestimmungsgrenze (BG) der Analysenmethode lag bei 1,5 µg/kg

Ergebnisse der Felduntersuchungen auf UI/NI im Jahr 2022:

In den beiden Proben des Oberbodens (0-30 cm) vom 06.04. und vom 12.04.2022 konnten erneut 2-NPT und 3-MP in relevanten Konzentrationen nachgewiesen werden. Die Gehalte lagen für 2-NPT etwas höher als im Frühjahr 2021.

Um etwaige Verschleppungseffekte auszuschließen, erfolgte die Bodenprobenahme für jede Tiefe separat nacheinander: Zuerst im Bereich von 0-30 cm Tiefe und anschließend von 30-60 cm Tiefe. Auch in der Probe vom 12.04.2022 aus dem Bodenbereich 30-60 cm konnte 2-NPT, jedoch mit deutlich niedrigerem Gehalt als im Oberboden festgestellt werden. Zwischen der Düngung am 28.03.2022 und der Probennahme am 12.04.2022 fielen insgesamt rd. 36 mm Niederschlag, davon zwei Niederschlagsereignisse über 10 mm (31.03.2022: 12,4 mm und 01.04.2022: 10,2 mm). Am 23.03.2022 lag der Bodenwassergehalt bei H18 bei 113 mm, bei HUI18 bei 110 mm. Als Feldkapazität wurde für den Oberboden ein Bodenwassergehalt von 125 mm abgeschätzt (vgl. Tabelle 4). Verlagerungen aus dem Oberboden in den Bodenbereich 30-60 cm waren daher in diesem Zeitraum grundsätzlich möglich.

4.3.4 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

Die Abbildung 7 zeigt Zeitreihen der MPN-Ergebnisse für die Teilflächen H2811 und H18 mit und ohne UI im WSG Hausen, unterteilt in die Horizonte 0-30cm, 30-60cm und 60-90 cm für die untersuchten Stoffwechselgruppen Gesamtkeimzahl, Ammoniumoxidierer, Denitrifizierer und Nitritoxidierer. Die Zeitreihen der MPN-Ergebnisse zeigen für alle untersuchten Stoffwechselgruppen eine abnehmende Abundanz mit zunehmender Tiefe (Abbildung 7). Zu erkennen ist, dass sich die Keimzahlen der Teilflächen ohne UI ähnlich zu denen mit UI verhalten, unabhängig von der Stoffwechselgruppe. Für die Fläche H2811 ist teilweise ein signifikanter Rückgang (ab 2 Log-Stufen) der Ammoniumoxidierer und Nitritoxidierer nach der Düngung 2021 erkennbar, unabhängig ob mit oder ohne UI gedüngt. Die Ergebnisse der Fläche H18 zeigen diesen Effekt nicht. Allerdings liegen hier aus organisatorischen Gründen keine Analysenergebnisse vom November 2021 vor.

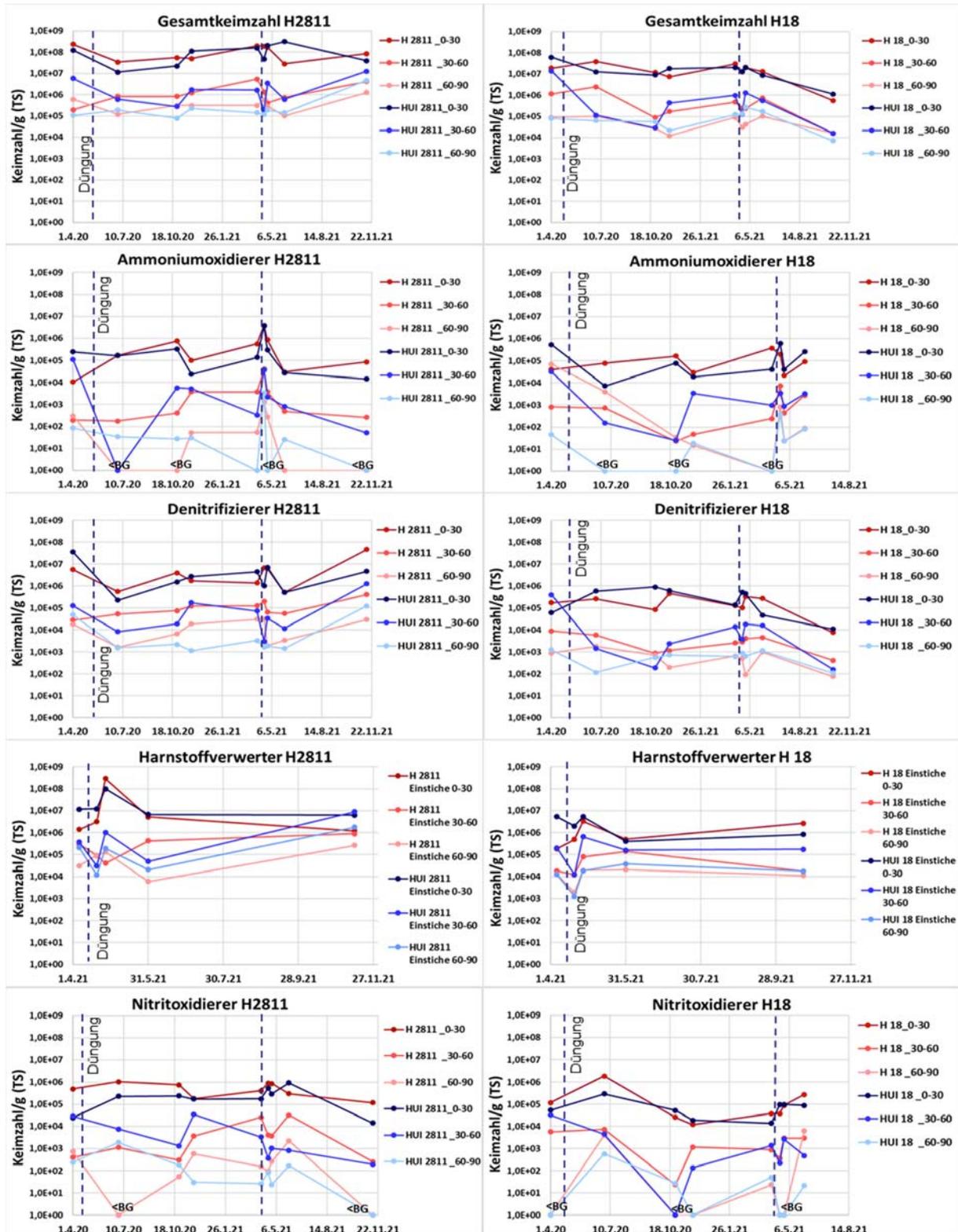


Abbildung 7: Zeitreihen der MPN-Ergebnisse für die Teilflächen H2811 und H18 mit und ohne UI, unterteilt in die Horizonte 0-30cm, 30-60cm und 60-90 cm für die untersuchten Stoffwechselgruppen Gesamtkeimzahl, Ammoniumoxidierer, Denitrifizierer und Nitritoxidierer. Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.

Die Zeitreihen der PCR-Ergebnisse für das WSG Hausen zeigen wie auch für die MPN-Ergebnisse für alle untersuchten Stoffwechselgruppen eine abnehmende Abundanz mit zunehmender Tiefe (Abbildung 8). Im Einklang mit den Ergebnissen der MPN-Methode weisen die Gene für die Ammoniumoxidierer *amoA* für die Fläche H2811 einen signifikanten Rückgang nach der Düngung in 2021 auf. Die *amoA*-Ergebnisse für die Teilfläche H18 zeigen ebenfalls einen Rückgang der Genkopien nach der Düngung in 2021, wenn auch nicht so ausgeprägt.

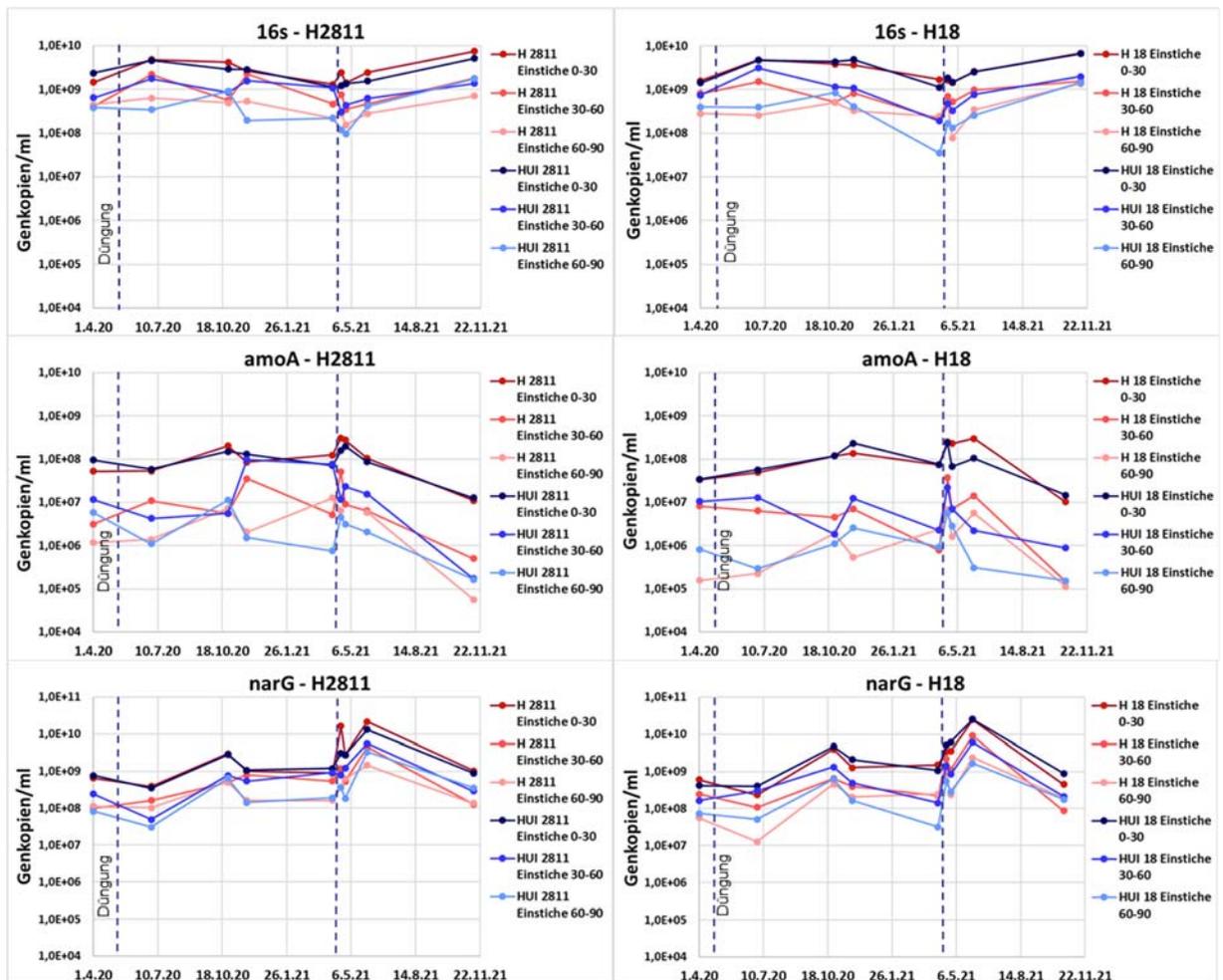


Abbildung 8: Zeitreihen der PCR-Ergebnisse für die Teilflächen H2811 und H18 mit und ohne UI, unterteilt in die Horizonte 0-30 cm, 30-60 cm und 60-90 cm für die untersuchten Gene *16s*, *amoA* und *narG*. Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.

4.4 Ergebnisse der Felduntersuchungen im WSG Zartener Becken

4.4.1 Nitratstickstoffgehalte

Die Vergleichsflächen im WSG Zartener Becken wurden ähnlich wie die Projektflächen im WSG Hausen regelmäßig auf deren Nitratstickstoffgehalte im Bodenbereich 0-90 cm untersucht. Die

Entwicklung der Nitratstickstoffgehalte in den Bodenbereichen 0-30 cm, 30-60 cm und 60-90 cm sowie der Bodenwassergehalte (0-60 cm bzw. 0-90 cm) für die fünf Vergleichsflächen EUI461, EUI740, EUI1208, EUI1209 und EUI1210 zeigen die Abbildungen A17 bis A21 im Abbildungsanhang. Diese Vergleichsflächen dienen insbesondere dazu, mögliche Verlagerungseffekte hinsichtlich des stabilisierten Düngers aufzuzeigen. Auswaschungsmodellberechnungen wurden bei diesen Flächen nicht vorgenommen. Hier erfolgt dennoch eine kurze Beschreibung der Entwicklung der Nitratstickstoffgehalte.

Düngung

Die Angaben zu den Düngungen in Tabelle 7 sind den Schlagkarten der Bewirtschafter entnommen, die dankenswerter Weise von den Bewirtschaftern für das vorliegende Projekt zur Verfügung gestellt wurden. Die Flächen EUI1208/EUI740 sind räumlich getrennt, sie wurden jedoch vom gleichen Bewirtschafter in ähnlicher Art und Weise bewirtschaftet. Bei den Flächen EUI1209/EUI1210 handelt es sich um zwei Teilflächen eines größeren Schlages (südlicher und nördlicher Teil des Schlages, nicht direkt aneinander angrenzend), die ebenfalls vom Bewirtschafter in ähnlicher Art und Weise bewirtschaftet wurden

Tabelle 7: Fruchtfolge und Stickstoff-Düngezeitpunkte auf den Projektflächen im WSG Zartener Becken (angegeben sind nur die Düngetermine, zu denen eine N Düngung mit UI/NI erfolgte)

Fläche	Fruchtfolge 2020-2022	Düngezeitpunkt (nur N-Düngungen mit UI)	N-Düngung
EUI 740 / EUI 1208	Silomais mit Zwischenfrucht (Senf)	22.05.2020	Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Sommerhafer	03.03.2021	Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Winterweizen	18.03.2022	Cultan-Düngung
EUI 461	Silomais	04.06.2020	Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Kleegras (ab Sept. 2020)	Nach Bedarf	Organische Düngung
	Kleegras	Nach Bedarf	Organische Düngung
EUI 1209 / EUI 1210	Silomais	04.06.2020	Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Wintergerste	03.03.2021	Harnstoff mit 2-NPT + MPA
	Kleegras (ab Juli 2021)	Nach Bedarf	Organische Düngung

Noch öfter als im WSG Hausen konnten auch hier aufgrund der jeweiligen Bodenverhältnisse zu den Zeitpunkten der Probennahme nicht bei allen Terminen vollständige Profile gewonnen werden. Dies betrifft z.B. die Flächen EUI740 und EUI1208 mit drei Terminen (Juli und September 2020 sowie Juli 2022), die Fläche EUI461 und EUI1209 mit je fünf Terminen sowie EUI1210 mit insgesamt 8 Terminen, in denen jeweils nur der Bodenbereich von 0-60 cm beprobt werden konnte. Neben Juli und September 2020 betraf dies v.a. den Zeitraum Dezember 2021 bis Februar 2022. Zudem auch den Juli 2022, jedoch wurden zu diesem Zeitpunkt nur die beiden abgeernteten Winterweizenflächen EUI740 und EUI1208 beprobt. Dies ist hinsichtlich der Bewertung des Verlaufs der Nitratstickstoff- und der Wassergehalte in den Abbildungen A17 bis A21 zu berücksichtigen.

Die niedrigsten Bodenwassergehalte wurden am 14.07.2020, 31.05.2021 und am 21.07.2022 festgestellt. Die Termine sind nur teilweise ähnlich wie im WSG Hausen, da es sich um etwas andere Probennahmezeitpunkte handelt und auch die Höhe der Niederschläge und die zeitliche Verteilung im WSG Zartener Becken oft anders ist als im WSG Hausen.

EUI740/EUI1208:

Bei den Flächen EUI740 und EUI1208 (Hauptfrucht Silomais) waren die höchsten Nitratsickstoffgehalte im Jahr 2020 bei den Probennahmeterminen Ende April und Mitte Mai 2020 kurz nach der Düngung festzustellen. Aufgrund der N-Aufnahme durch die Pflanzen haben die Nitratstickstoffgehalte bis zum Herbst abgenommen. Vermutlich konnte der Silomais aufgrund der Trockenheit im Sommer 2020 jedoch nicht den gesamten Stickstoff aufnehmen, sodass auch im Herbst 2020 noch relativ hohe Nitratstickstoffgehalte im Boden vorlagen. Die Einsaat der Zwischenfrucht (ZF) Senf am 15.09.2020 führte zunächst zu einem Anstieg der Nitratstickstoffgehalte, es ist jedoch davon auszugehen, dass es im Herbst 2020 noch zu einer wesentlichen Stickstoffaufnahme durch die aufwachsenden Senfpflanzen kam.

Über den Herbst-Winter-Zeitraum ist abhängig von den jeweiligen Bedingungen zudem vom Auftreten von Auswaschungseffekten auszugehen.

Im Februar 2021 lagen auf diesen beiden Flächen niedrige Nitratstickstoffgehalte zw. 18 und 31 kg N/ha vor, die infolge der Düngung der Haferfläche bis Mitte April 2021 zunächst angestiegen, jedoch infolge der N-Aufnahme durch den Pflanzenbestand bis August 2021 wieder auf Werte von ca. 45 kg N/ha abnahmen. Nach der Winterweizeneinsaat am 09.10.2021 wurden im Oktober und November 2021 erhöhte Nitratstickstoffgehalte zwischen 73 und 99 kg N/ha festgestellt. Bis zur Ernte nahmen diese aufgrund von N-Aufnahme und Auswaschungsvorgängen ab, sodass am 21.07.2022 nach der Winterweizenernte niedrige Nitratstickstoffgehalte von 23 bzw. 24 kg N/ha (0-60 cm) festgestellt wurden.

EUI461:

Bei der Fläche EUI461 wurden die höchsten Nitratsickstoffgehalte im Jahr 2020 (Hauptfrucht Silomais) im Herbst nach der Maisernte (08.09.2020) und der anschließenden Einsaat von Klee gras (10.09.2020) festgestellt: Am 29.09.2020 wurde ein Nitratstickstoffgehalt von 115 kg N/ha (0-60 cm), am 30.10.2020 von 153 kg N/ha (0-90 cm) gemessen. Zwischen Ende Oktober 2020 und Anfang Februar 2021 fielen insgesamt rd. 340 mm Niederschlag, die sicherlich zu erheblichen Auswaschungseffekten führten. Aufgrund der N-Aufnahme durch das Klee gras und von Auswaschungsvorgängen haben die Nitratstickstoffgehalte bis zum Februar 2021 deutlich abgenommen. Von Februar 2021 bis Februar 2022 wurden hier nur niedrige Nitratstickstoffgehalte von max. 14 kg N/ha festgestellt.

EUI1209/EUI1210:

Auf diesen beiden Flächen wurde im Jahr 2020 Silomais angebaut. Die Nitratstickstoffgehalte waren am 27.04.2020 mit 25 kg N/ha (0-90 cm) bei EUI1209 bzw. 19 kg N/ha (0-60 cm) bei EUI1210 relativ niedrig. Am 04.05.2020 erfolgte eine Mineraldüngung mit 75 kg N/ha sowie am 05.05.2020 eine Unterfußdüngung mit 27 kg N/ha. Am 04.06.2020 erfolgte eine Düngung mit Harnstoff mit 2 NPT + MPA (92 kg N/ha). Bei beiden Flächen traten Ende Oktober/Anfang November 2020 sehr hohe Nitratstickstoffgehalte über 300 kg N/ha auf. Die genaue Ursache ist unklar, es handelt sich vermutlich um N-Freisetzungen infolge von Mineralisierungsvorgängen aus dem am 27.04.2020 erfolgten Umbruch des in den beiden Jahren zuvor angebauten Klee grasbestands, der auch organisch gedüngt wurde. Diesbezüglich müssen weitere Recherchen und künftige Untersuchungen erfolgen. Aufgrund des Niederschlags in Höhe von rd. 340 mm, der zwischen Anfang November 2020 und Anfang Februar 2021 fiel und sicherlich zu erheblichen Auswaschungseffekten führte und durch die N-Aufnahme durch die Wintergerste bzw. das folgende Klee gras konnten hier zwischen Februar 2021 und Februar 2022 nur niedrige Nitratstickstoffgehalte unter 31 kg N/ha (0-90 cm) festgestellt werden, mit der Einschränkung, dass teilweise nur Proben aus dem Bodenbereich von 0-60 cm entnommen werden konnten.

Fazit: Da die Entwicklungen der Nitratstickstoffgehalte insbesondere im Jahr 2020 bei gleicher Hauptfrucht unterschiedlich verliefen, kann nicht sicher abgeleitet werden, ob die auf allen fünf Flächen im Herbst 2020 aufgetretenen erhöhten Nitratstickstoffgehalte (teilweise) mit der Ausbringung des stabilisierten Harnstoffdüngers in Zusammenhang stehen. Um einen möglichen Einfluss des stabilisierten Düngers quantifizieren zu können, müsste auf dem gleichen Schlag analog zum WSG Hausen eine Vergleichsparzelle mit Ausbringung eines Harnstoffdüngers ohne Hemmstoffe angelegt werden. Vermutlich sind diese erhöhten Gehalte im Herbst 2020 jedoch v.a. auf Mineralisierungseffekte des eingearbeiteten Klee grasbestands in Verbindung mit organischen Düngungen im Vorjahr (EUI1209/EUI1210) sowie auf die Trockenheit im Sommer 2020 (alle Flächen) zurück-

zuführen (im Juli 2020 insgesamt nur 29 mm Niederschlag mit der Folge sehr niedriger Bodenwassergehalte).

4.4.2 Ergebnisse der Untersuchungen auf Ureasehemmstoffe

Im WSG Zartener Becken erfolgten Bodenuntersuchungen auf Ureasehemmstoffe nur im Frühjahr 2021.

Bei den Untersuchungen von Bodenproben aus dem Bereich 0-30 cm der Vergleichsflächen EUI461, EUI1208, EUI1209 und EUI1210 vom 10.02.2021 (vor der Düngung) konnten keine Ureasehemmstoffe nachgewiesen werden. In den Proben vom 09.03.2021 (6 Tage nach der Düngung vom 03.03.2021) wurde bei drei der vier untersuchten Flächen 2-NPT in Konzentrationen deutlich über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen, in einem Fall zudem auch 3-MP. Am 31.05.2021 wurden zwei ausgewählte Flächen erneut untersucht, wobei allerdings keine Ureasehemmstoffe mehr nachgewiesen werden konnten.

In 5 der 10 untersuchten Proben aus dem Zeitraum 10.02. bis 31.05.2021 wurde zudem auch der Nitrifikationsinhibitor 1,2,4-Triazol in Konzentrationen knapp über oder unter der Bestimmungsgrenze nachgewiesen. In zwei Fällen wurde zudem 3,4-DMPP in Spuren unter der Bestimmungsgrenze nachgewiesen.

4.4.3 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

Die Zeitreihen der MPN-Ergebnisse für das WSG Zartener Becken zeigen wie auch für das WSG Hausen für alle untersuchten Stoffwechselgruppen eine abnehmende Abundanz mit zunehmender Tiefe (

Abbildung 9). Die Ammoniumoxidierer weisen auch hier allgemein mit Werten zwischen 10^1 und 10^5 die niedrigsten Keimzahlen auf.

Nach der Düngung 2021 deutet sich eine Zunahme aller Parameter für die Flächen E1209, E461, E740 und E1210 für alle Tiefen an. Allerdings sind die Anstiege nicht signifikant. Im November 2021 sinken die Keimzahlen für die Flächen E1209, E461, E740 und E1210 für alle Tiefen wieder. Mit Ausnahme der Fläche E740 ist ein weitgehend signifikanter Rückgang, analog zu den Ergebnissen aus Hausen, für die Ammonium- und Nitritoxidierer erkennbar.

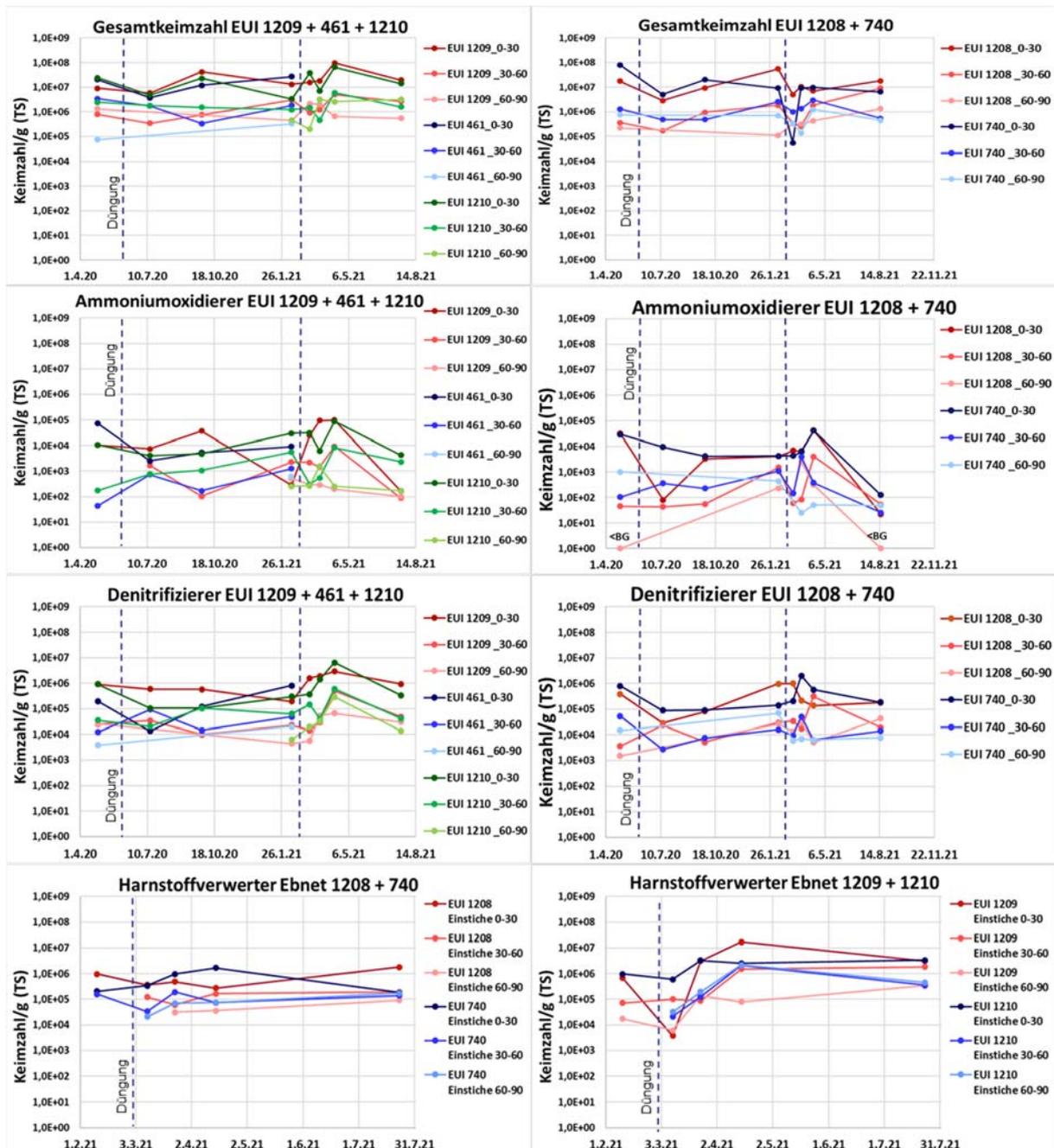


Abbildung 9: Zeitreihen der MPN-Ergebnisse für die Vergleichsflächen aus dem WSG Zartener Becken (Ebnet 1209, 461, 1210, 1208 und 740) mit UI, unterteilt in die Horizonte 0-30cm, 30-60cm und 60-90 cm für die untersuchten Stoffwechselgruppen Gesamtkeimzahl, Ammoniumoxidierer, Denitrifizierer und Nitritoxidierer. Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.

Die Zeitreihen der PCR-Ergebnisse für das WSG Zartener Becken zeigen wie auch für die MPN-Ergebnisse und die Ergebnisse vom WSG Hausen für alle untersuchten Stoffwechselgruppen tendenziell eine abnehmende Abundanz der Genkopien mit zunehmender Tiefe (Abbildung 10). Die

Genkopien für amoA zeigen teilweise einen signifikanten Rückgang im November 2021. Dies deckt sich mit den MPN-Ergebnissen und den Resultaten vom Standort WSG Hausen.

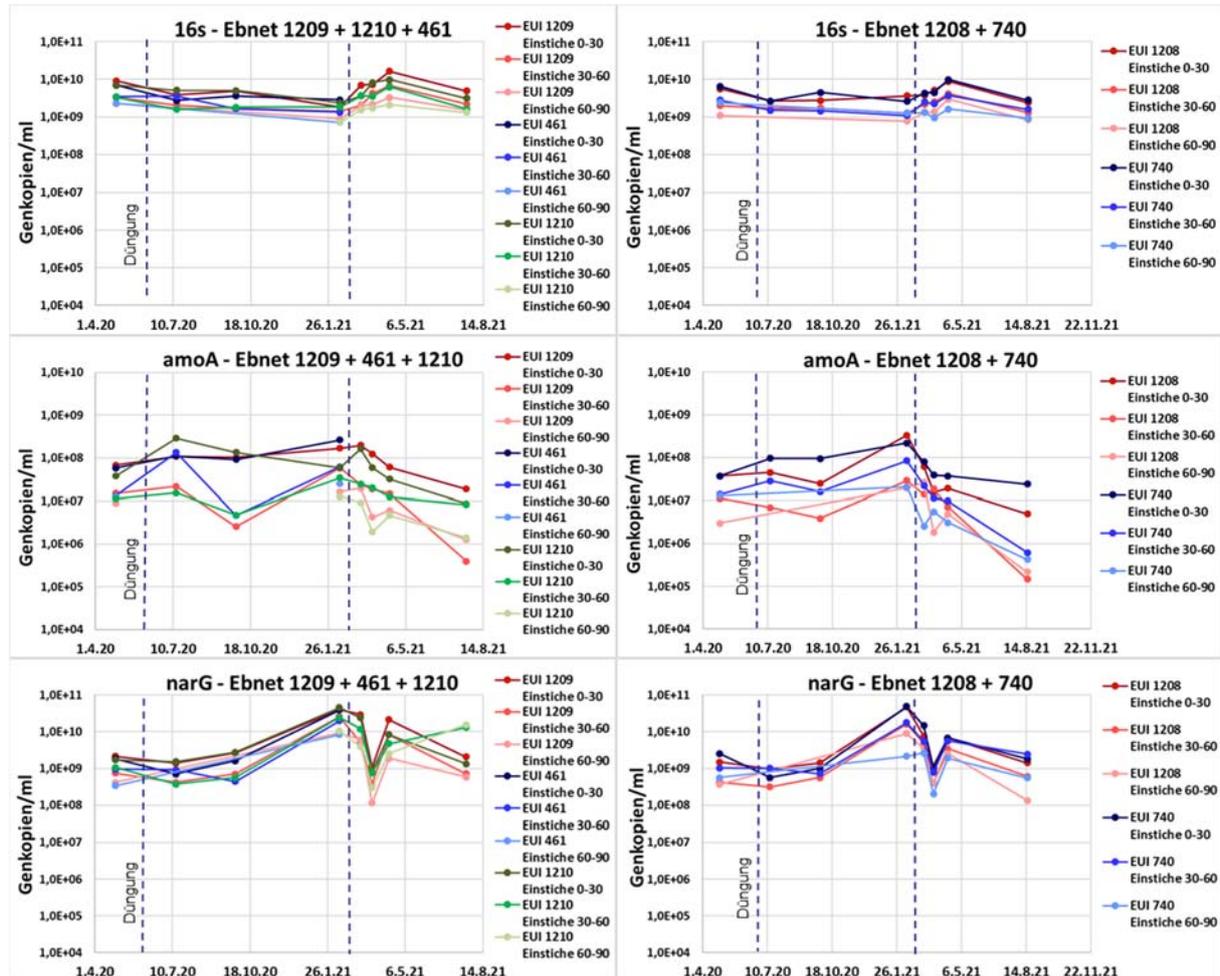


Abbildung 10: Zeitreihen der PCR-Ergebnisse für die Vergleichsflächen aus dem WSG Zartener Becken (Ebnet 1209, 461, 1210, 1208 und 740) mit UI, unterteilt in die Horizonte 0-30 cm, 30-60 cm und 60-90 cm für die untersuchten Gene 16s, amoA und narG. Senkrechte Linien stellen die Zeitpunkte der Düngung dar.

5 Laboruntersuchungen

5.1 Lysimeteruntersuchungen

5.1.1 Probennahme für die Lysimeter

Für die Laborlysimeter-Versuche wurden am 26.10.2021 Bodenproben auf der Projektfläche H18 und am 27.10.2021 auf H2811 im WSG Hausen durch das TZW jeweils auf der Variante mit der reinen Harnstoffdüngung entnommen (siehe Abbildung 11).

Hierzu wurden je zwei Lysimeter in den Oberboden der beiden Versuchsflächen H18 und H2811 eingeschlagen und anschließend vorsichtig ausgegraben, um das Bodengefüge in seiner Lagerung nicht zu stören („ungestörte Entnahme“). Bei der Probennahme fiel auf, dass beide Lysimeter auf der Fläche H18 sehr viel leichter in den Boden einzuschlagen waren als die beiden Lysimeter auf der Fläche H2811. Dies war auf Steine im Boden bei der Fläche H2811 zurückzuführen.



Abbildung 11: Lysimeter-Bodenprobenentnahme am 26. Oktober 2021 im WSG Hausen auf einem bereits geernteten Maisfeld

Zudem wurden von H18 und H2811 je zwei Proben für die Bestimmung von C_{org} und Humusgehalt seitlich aus den Gruben entnommen, die von den Lysimeter-Probennahmen vorhanden waren. Die Proben wurden zur Untersuchung beim Landwirtschaftlichen Technologiezentrum Augustenberg (LTZ) in Karlsruhe-Durlach abgegeben.

Mit weiteren Bodenproben von den Projektflächen erfolgte eine Bestimmung der Wassergehalte im Labor des TZW. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Tabelle 8: Ergebnisse der Bestimmungen von C_{org} und des Humusgehalts (Labor: LTZ) sowie der Wassergehalte (Labor: TZW) der am 26. und 27.10.2021 im WSG Hausen entnommenen Lysimeterproben

Probenbezeichnung	Humus %	C _{org} %	Wassergehalt _{tr} %
H 18 -1	3,4	2,00	27,04
H 18 -2	3,5	2,10	26,83
Mittelwert H 18	3,5	2,05	26,94
H 2811 -1	1,4	0,81	14,93
H 2811 -2	1,4	0,83	15,08
Mittelwert H 2811	1,4	0,82	15,00

Der Humusgehalt berechnet sich bei der vom LTZ verwendeten Methode durch Multiplikation des C_{org}-Gehaltes mit dem Faktor 1,72, der sich aus einem angenommenen mittleren C-Gehalt der organischen Substanz von 58 % ergibt. In der Tabelle 8 sind zwischen den Doppelproben für jede Fläche (-1 und -2) nur sehr geringe Unterschiede zu erkennen, zwischen den beiden Projektflächen H18 und H2811 sind jedoch für alle drei Messwerte deutliche Unterschiede vorhanden: Entsprechend der bodenkundlichen Kartieranleitung (Ad-Hoc-AG Boden 2005) kann der Boden der Fläche H18 aufgrund des gemessenen Humusgehalts von 3,5 % als „mittel humos“ eingestuft werden, der Boden der Fläche H2811 mit einem Humusgehalt von 1,4 % als „sehr schwach humos“.

Die vor Ort entnommenen Lysimeterproben wurden Anfang November 2021 in die Messapparatur eingebaut.

5.1.2 Laborlysimeteranlage

Die eingesetzte Laborlysimeteranlage bestand aus vier Zylindern der Firma ecoTech. Diese ermöglicht die Beobachtung von Stoffflüssen und begleitenden Steuerparametern im Boden unter kontrollierten Randbedingungen. Die vier Laborlysimetergefäße haben einen Durchmesser von 30 cm und eine Höhe von 35 cm. Zusätzlich besitzen die Lysimeter einen Saugboden aus Kunststoff sowie einen Regnerkopf mit 163 Edelstahlkapillaren.

Als Datenerfassungsmodule dienen Redox-Elektroden nach Mansfeldt und pH-Elektroden für die online-Messung, die jeweils durch Schraubanschlüsse am Lysimetermantel befestigt sind. Durch einen Datenlogger wurden die Messergebnisse per Funk direkt an einen PC übermittelt.

Der Saugboden hat einen Durchmesser von 38 cm und ist mehrschichtig aus Membran-Filterscheibe, Konterring und Flanschring aufgebaut. Die Filtermembran aus Polyamid hat eine Porengröße von 0,45 µm. Der Saugboden weist eine minimale Sorptionskapazität bei einer gleichzeitig hohen hydraulischen Leitfähigkeit auf. Die Dosierpumpe dient dazu, eine vorgegebene Beregnungslösung mit konstanter Förderleistung über den Regnerkopf auf der Oberfläche des Bodens im Laborlysimeter zu verteilen (ecoTech Umwelt-Meßsysteme GmbH 2015). Der Anschluss des Saugbodens erfolgt an eine Sammelflasche, die über eine Vakuumpumpe evakuiert wird. Die Vakuumpumpe besteht aus einer Vakuumpumpe, einem Druckschalter und einem Manometer. Das System wird durch ein Stromversorgungskabel mit einer 12-V-Gleichstromquelle verbunden. Der entstehende Unterdruck sollte möglichst konstant gehalten werden, da dieser einer Größenklasse von Poren gegenübersteht, die mit diesem Unterdruck entwässert werden. Mit dem hier angelegten Unterdruck von -0,06 bar werden die weiten Grobporen entwässert ($pF < 1,8$) (ecoTech Umwelt-Meßsysteme GmbH 2015).

Die Abbildung 12 zeigt die Messapparatur mit den vier Lysimetern im Labor des TZW in Karlsruhe.



Abbildung 12: Messapparatur mit den vier Lysimetern und den Bodenproben von den beiden Projektflächen im WSG Hausen

Um die Ergebnisse der Versuche statistisch abzusichern, wurden die Böden von den beiden Projektflächen jeweils als Doppelversuch eingesetzt, d. h. in jeweils zwei Lysimetern war Boden von der gleichen Teilfläche (ungestört) eingebaut.

Ab dem 07.12.2021 wurden die Lysimeter im Labor zweimal wöchentlich mit jeweils 4,8 mm auto-klaviertem Reinstwasser beregnet (Dauer ca. 3 Stunden), um so einen Jahresniederschlag von ca. 500 mm zu simulieren.

Ab dem 08.12.2021 wurde ein Unterdruck von 0,06 bar während der Beregnung angelegt, ab dem 16.12.2021 wurde er dauerhaft angelegt, da zu diesem Zeitpunkt die Wassersättigung bis zur Feldkapazität erreicht war.

Aufgabe der Urease- und Nitrifikationshemmstoffe sowie von Chlorid

Am 17.01.2022 wurde Chlorid als Tracer auf die Lysimeter aufgegeben. Hierzu wurde eine Chloridlösung über eine Dosierpumpe und den Beregnungskopf gleichmäßig auf die Lysimeter aufgegeben. Die Beregnung dauerte 30 Minuten, dabei wurden je Lysimeter rd. 500 mg Chlorid in Form von Natriumchlorid aufgebracht (vgl. Tabelle 9).

Am 18.01.2022 wurde ein stickstoffstabilisierter Harnstoffdünger auf die Lysimeter aufgegeben, welcher den Ureasehemmstoff N-(2-Nitrophenyl)Phosphorsäuretriamid (2-NPT) und den Nitrifikationshemmstoff N-((3(5)-Methyl-1H-pyrazol-1-yl)methyl)acetamid (MPA) enthielt. Er wurde in handelsüblicher Form von Körnern händisch gleichmäßig über die Oberfläche der Lysimeter verteilt. Anschließend wurde der Boden leicht umgegraben, um die Körner in die Bodenmatrix einzuarbeiten.

Die Abbildung 13 zeigt die Oberfläche von Lysimeter 1 nach der Düngeraufgabe



Abbildung 13: Oberfläche von Lysimeter 1 am 18.01.2022 nach der Düngeraufgabe

Die aufgegebenen Chlorid- und Dünger-Mengen je Lysimeter sind der Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 9: Aufgegebene Dünger- und Chloridmengen je Lysimeter

Lysimeter	Dünger in mg	Chlorid in mg
Lysimeter 1	2.470	498
Lysimeter 2	2.466	505
Lysimeter 3	2.446	507
Lysimeter 4	2.454	501

Auf Basis einer Analyse des eingesetzten Düngers wurde festgestellt, dass dieser 0,074 % 2-NPT enthielt. MPA steht als Reinstoff zur Methodenetablierung nicht zur Verfügung und kann deshalb nicht analysiert werden

Die Sickerwässer der Lysimeter wurden wöchentlich beprobt und deren Nitrat-, Ammonium- und Chloridgehalte ermittelt. An ausgewählten Sickerwasserproben wurden die Ureasehemmstoffgehalte sowie mikro- und molekularbiologische Parameter bestimmt.

5.1.3 Messergebnisse Lysimeter

5.1.3.1 Sickerwassermengen

Die für die Lysimeter L1 bis L4 vom 13.12.2021 bis 11.07.2022 je Probennahmetermin gesammelten Sickerwassermengen sind in der Abbildung 14 dargestellt.

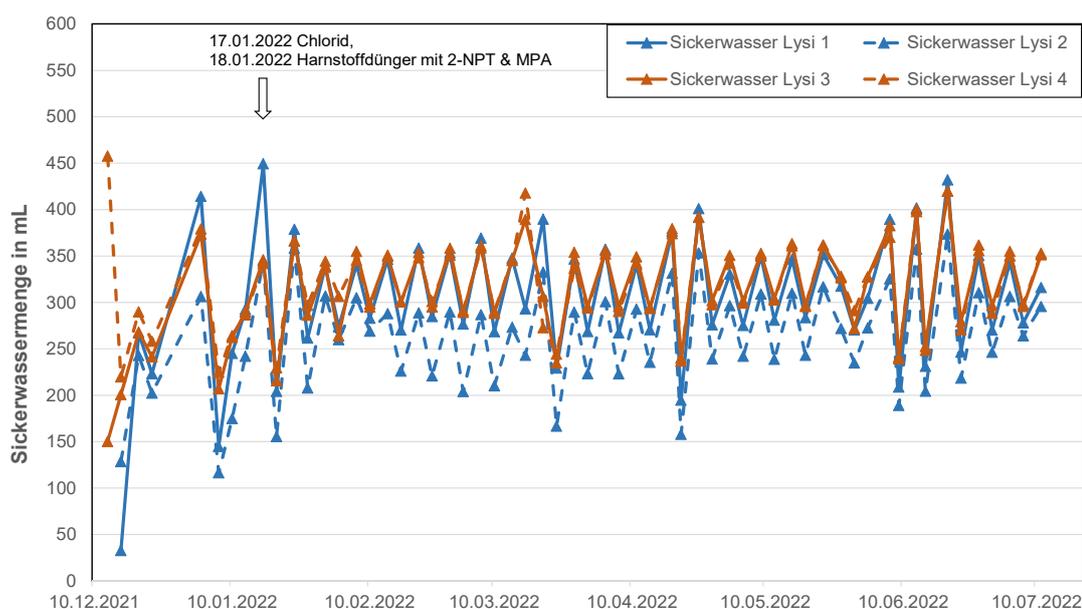


Abbildung 14: Sickerwassermengen je Probennahmetermin für die Lysimeter L1 bis L4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022

Das erste Sickerwasser fiel am 13.12.2021 bei Lysimeter 3 mit 150 ml und bei Lysimeter 4 mit 458 mL an. Bei Lysimeter 1 und 2 wurde das erste Sickerwasser erst am 16.12.2021 aufgefangen und auch die Menge war mit 33 mL für Lysimeter 1 und 129 mL für Lysimeter 2 niedriger. Die Sickerwassermengen lagen je Termin meist zwischen 200 und 400 mL. Das in Abbildung 14 erkennbare „Zick-Zack-Muster“ ist darauf zurückzuführen, dass die Probennahmen i.d.R. montags und donnerstags erfolgten, d.h. meist nach 4 bzw. 3 Tagen nach der letzten Beregnung, weshalb die Montags erfassten Sickerwassermengen aufgrund der längeren Sickerzeit höher sind als die Donnerstags erfassten Mengen. An einzelnen Tagen erfolgten die Probennahme aufgrund von Feiertagen auch nach elf Tagen (03.01.2022) sowie nach fünf (19.04., 07.06., und 20.06.2022) oder zwei Tagen (21.04., 09.06. und 15.06.2022). Dies erklärt die unterschiedlichen Sickerwassermengen an den entsprechenden Terminen.

Die über den gesamten Versuchszeitraum kumulierten Sickerwassermengen sind in der Abbildung 15 dargestellt.

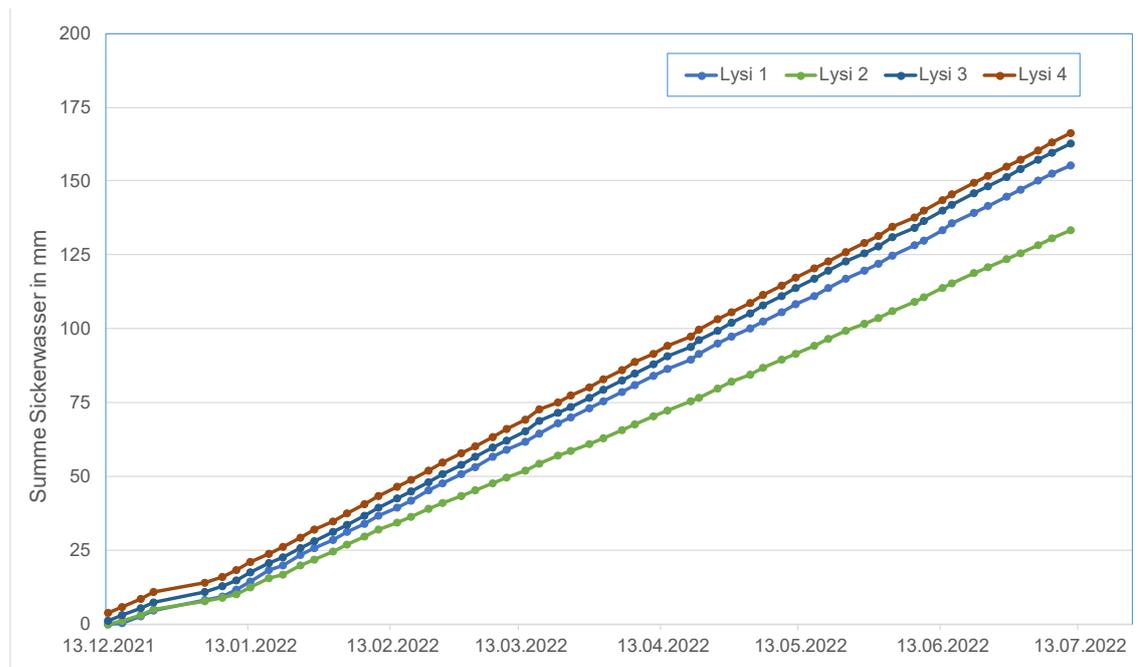


Abbildung 15: Kumulierte Sickerwassermengen für die Lysimeter L1 bis L4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022

Die letzte Beregnung der vier Lysimeter erfolgte am 07.07.2022. Die letzten Sickerwassermengen wurden am 11.07.2022 aufgefangen. Danach wurde die Vakuumpumpe abgestellt.

In der Tabelle 10 sind die insgesamt durch die Beregnung aufgebrauchten Wassermengen den Gesamtmengen an aufgefangenem Sickerwasser im Ablauf der vier Lysimeter zum Vergleich gegenübergestellt.

Tabelle 10: Vergleich zwischen der dotierten Wassermenge und der am Lysimeterablauf gemessenen Sickerwassermenge

	Gesamte auf- gebrachte Was- sermenge	Gesamte Sickerwasser- menge	Anteil Sickerwas- sermenge an der aufgebrachten Lö- sungsmenge
	g	g	
Lysimeter 1	20.325,5	17.611,8	86,6 %
Lysimeter 2	20.322,1	15.118,9	74,4 %
Lysimeter 3	20.369,2	18.469,6	90,7 %
Lysimeter 4	20.340,0	18.848,9	92,7 %

Das Verhältnis der aufgefangenen Sickerwassermenge im Vergleich zu der über die Bewässerung aufgegebenen Wassermenge lag für die Lysimeter 1, 3 und 4 zwischen 86,6 und 92,7 %.

Lysimeter 2 verlor den angelegten Unterdruck aufgrund einer Undichtigkeit des Lysimeters deutlich schneller. Die Ursache hierfür konnte während des laufenden Versuchs nicht identifiziert werden, jedoch zeigte sich diese nach der Demontage des Lysimeters (s.u.).

Am 02. und 03.08.2022 wurden die Messsonden aus den vier Lysimetern ausgebaut, die Lysimeter aufgeschraubt und der gesamte Boden entnommen. Dabei wurden je Lysimeter drei Proben (0-10 cm; 10-20 cm; 20-30 cm) entnommen, homogenisiert und für die verschiedenen Untersuchungen aufgeteilt. Hierbei handelte es sich um

- Mikrobiologische Untersuchungen (analog zu den Parametern bei den Felduntersuchungen)
- Bestimmungen der Gehalte an Ureasehemmstoffen
- Wassergehaltsbestimmungen

Beim Rückbau der Lysimeter wurde erkannt, dass die Undichtigkeit bei Lysimeter 2 vermutlich auf eine poröse Dichtung im Bereich des Auslaufs sowie ein Filterpapier, das sich anscheinend während des Versuchs gelöst hatte, zurückzuführen war. Dies dürfte sehr wahrscheinlich auch der Grund für die niedrigeren Sickerwassermengen gewesen sein, die hier aufgefangen wurden.

In der Tabelle 11 sind die Ergebnisse der Wassergehaltsbestimmungen vor und gegen Ende der Lysimeterversuche zum Vergleich einander gegenüber gestellt.

Tabelle 11: Ergebnisse der Wassergehaltsbestimmungen vor und gegen Ende der Lysimeterversuche

	Tiefe	Wassergehalte _{tr} der Bodenproben vom 26./27.10.2021 im WSG Hausen (feldfrisch)	Wassergehalte _{tr} der Bodenproben vom 02.-04.08.2022 nach Beendigung der Lysimeterversuche im Labor
H18	0 - 10 cm	27,07 %	34,54 %
	10- 20 cm	27,03 %	32,17 %
	20 - 30 cm	27,14 %	33,99 %
H2811	0 - 10 cm	15,27 %	18,40 %
	10- 20 cm	14,79 %	18,44 %
	20 - 30 cm	15,28 %	18,12 %

Die Wassergehalte haben zwischen Ende Oktober 2021 und Anfang August 2022 für die Fläche H18 im Durchschnitt für den Bodenbereich 0-30 cm von 27,1 % auf 33,6 % und bei der Fläche H2811 von 15,1 % auf 18,3 % (bezogen auf die jeweilige Trockenmasse) zugenommen. Zwischen den einzelnen Teilbereichen der jeweiligen Flächen (0-10 cm, 10-20 cm und 20-30 cm) waren nur relativ geringe Unterschiede festzustellen.

Die Unterschiede zwischen den aufgegebenen und den aufgefangenen Wassermengen (s. Tabelle 10) sind v.a. auf die Auffüllung des Bodenwassergehaltes bis zur Feldkapazität sowie in geringem Maße auch auf Wasserverluste infolge Verdunstung zurückzuführen. Diese wurde durch den angelegten Unterdruck (im geschlossenen Gefäß) gegenüber der Verdunstung bei Umgebungs-Luftdruck erhöht. Die Raumtemperatur lag im Labor bei etwa 22°C. Die deutlich höheren Wassergehalte zum Versuchsende für die Fläche H18 sind auf die unterschiedlichen Bodeneigenschaften zurückzuführen (vgl. Abschnitt 5.1.1) und belegen die unterschiedlichen Feldkapazitäten (Tabelle 4).

5.1.4 Analysergebnisse der Lysimeterversuche

Nitrat

Die Abbildung 16 zeigt die Ergebnisse der Nitratanalysen von Lysimeter 1 und 2 (Standort H18) bzw. von Lysimeter 3 und 4 (Standort H2811) über die gesamte Versuchsdauer von Dezember 2021 bis Juli 2022. Zudem sind auch bereits die Chloridkonzentrationen eingezeichnet, die weiter unten noch separat erläutert werden.

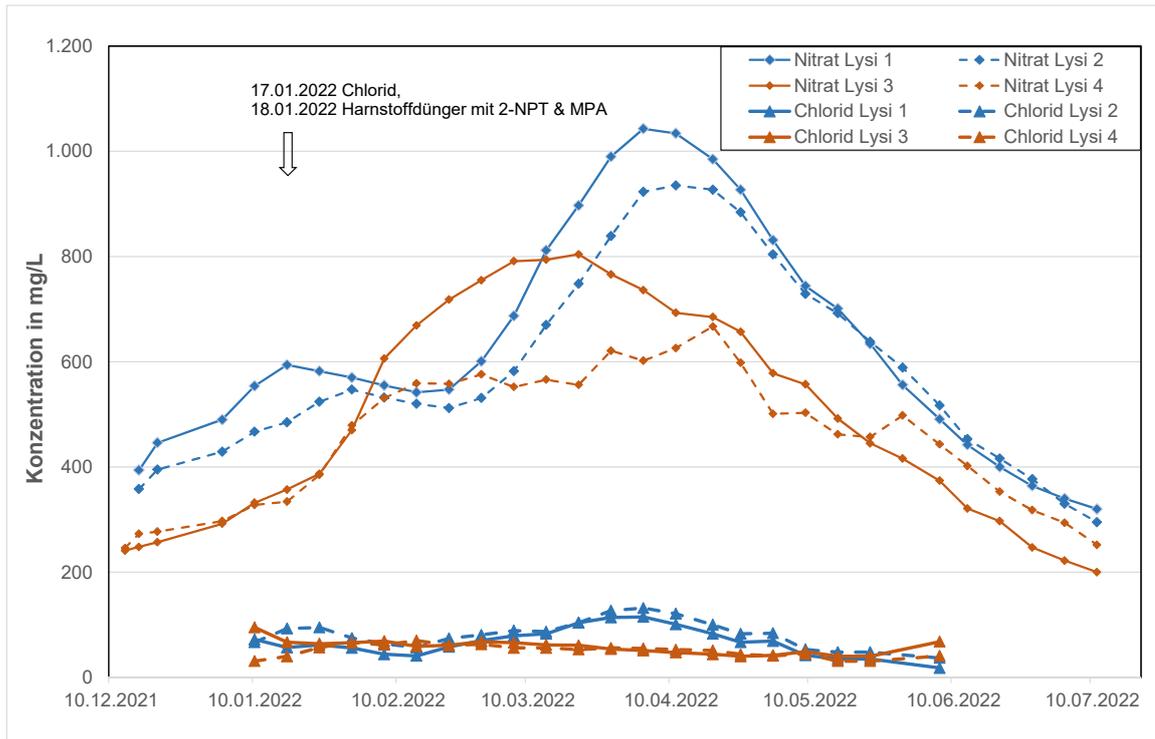


Abbildung 16: Entwicklung der Nitrat- und Chloridkonzentrationen bei Lysimeter 1 bis 4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022

Die Entwicklungen der Nitratkonzentrationen können wie folgt zusammengefasst werden:

- Die Nitratkonzentration bei Lysimeter 1 ist von 394 mg/L am 16.12.2021 zunächst auf 594 mg/L am 17.01.2022 und nach einer leichten Abnahme bis auf 542 mg/L am 14.02.2022 weiter bis auf 1.043 mg/L am 04.04.2022 angestiegen. Anschließend hat die Nitratkonzentration kontinuierlich bis auf 320 mg/L zum Versuchsende am 11.07.2022 abgenommen.
- Bei Lysimeter 2 verläuft die Nitratkonzentrationsentwicklung fast parallel zum Verlauf bei Lysimeter 1, mit einem etwas niedrigeren Maximalwert von 935 mg/L am 11.04.2022.
- Das Maximum der Nitratkonzentration wird bei Lysimeter 3 mit 804 mg/L bereits am 21.03.2022 erreicht und damit 2-3 Wochen früher als bei Lysimeter 1 und 2.
- Bei Lysimeter 4 ist keine typische Durchbruchkurve zu erkennen, wie bei den Lysimetern 1 bis 3. Die maximale Nitratkonzentration wurde am 19.04.2022 mit 667 mg/L erreicht. Während die Nitratkonzentrationen zu Beginn und gegen Ende des Versuchs sehr ähnlich wie bei Lysimeter 3 sind, liegen die Nitratkonzentrationen im Zeitraum 10.02. bis 10.04.2022 deutlich niedriger als bei Lysimeter 3.

In der Tabelle 12 sind die Monatssummen der Nitratfrachten für die Lysimeter 1 bis 4 zusammengestellt.

Tabelle 12: Nitratfrachten für die Lysimeter 1 bis 4

	Lysimeter 1	Lysimeter 2	Lysimeter 3	Lysimeter 4
Dez 21	132	142	155	253
Jan 22	1.019	736	621	619
Feb 22	785	614	974	775
Mrz 22	1.229	841	1.077	754
Apr 22	1.468	1.171	1.021	910
Mai 22	1.151	1.018	852	825
Jun 22	669	603	483	588
Jul 22	218	188	149	192
Summe in mg	6.671	5.312	5.332	4.916

Die jeweils höchsten drei Monatssummen für die Nitratfrachten traten bei

- Lysimeter 1 in den Monaten März, April und Mai 2022
- Lysimeter 2 in den Monaten März, April und Mai 2022
- Lysimeter 3 in den Monaten Februar, März und April 2022
- Lysimeter 4 in den Monaten Februar, April und Mai 2022 auf.

Die kumulierten Nitratausträge sind im Mittel bei Lysimeter 1 und Lysimeter 2 mit 5.991 mg um rd. 17 % höher als bei Lysimeter 3 und 4 mit 5.125 mg. Umgerechnet auf die Fläche eines Hektars entspricht dies Nitratstickstoffausträgen von rd. 190 kg N/ha für Lysimeter 1 und 2 bzw. rd. 165 kg N/ha für Lysimeter 3 und 4 in 30 cm Bodentiefe. Es wird darauf hingewiesen, dass diese Werte nicht gleichzusetzen sind mit realen Nitratausträgen ins Grundwasser.

Man kann annehmen, dass diese Nitratausträge zusätzlich zur Freisetzung von Nitrat aus dem am 18.01.2022 aufgebrauchten stabilisierten Stickstoffdünger im Wesentlichen auf die Stickstofffreisetzung infolge von Mineralisierungsvorgängen aus dem organischen Stickstoffvorrat des Bodens zurückzuführen sind, die bereits mit der Entnahme der Bodenproben gegen Ende Oktober 2021 initiiert bzw. beschleunigt wurde.

Die Höhe der Nitratkonzentrationen korrespondiert mit Messungen bei Lysimeterversuchen an anderen Standorten und zeigt, welche hohen Nitratkonzentrationen unter Bracheflächen nach Bodenbearbeitungen und nach längeren oder stärkeren Niederschlägen grundsätzlich im Sickerwasser auftreten können.

Ein Vergleich dieser Zeitpunkte der maximalen Nitratkonzentrationen erfolgt später in diesem Abschnitt.

Ammonium

Die Abbildung 17 zeigt die Ergebnisse der Ammoniumanalysen bei Lysimeter 1 bis 4 über die gesamte Versuchsdauer von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022.

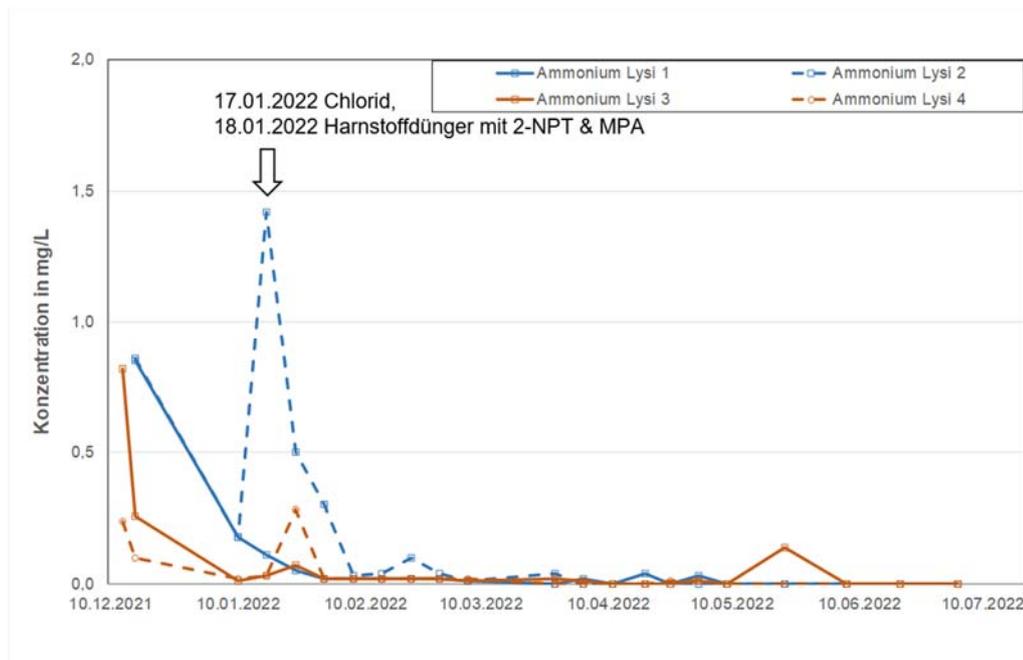


Abbildung 17: Entwicklung der Ammoniumkonzentrationen bei Lysimeter 1 bis 4 von Mitte Dezember 2021 bis Mitte Juli 2022

Ammonium wurde bei Lysimeter 1 und 2 nur in den ersten Proben aus dem Zeitraum 16.12.2021 bis 31.01.2022 in relevanten Konzentrationen (über 0,1 mg/L) festgestellt, wobei die höchste Konzentration bei Lysimeter 1 am 16.12.2021 mit 0,85 mg/L und bei Lysimeter 2 am 17.01.2022 mit 1,4 mg/L festgestellt wurde. Der zweithöchste Wert wurde bei Lysimeter 2 ebenfalls gleich zu Versuchsbeginn am 16.12.2021 mit 0,86 mg/L gemessen, wobei zu diesem Zeitpunkt noch sehr geringe Sickerwassermengen anfielen.

Im Zeitraum Anfang Februar bis Anfang Juli 2022 lagen die Ammoniumkonzentrationen deutlich unter 0,1 mg/L (mit einer Ausnahme: Lysimeter 2 am 21.02.2022: 0,1 mg/L). Die Bestimmungsgrenze betrug 0,02 mg NH₄/L.

Bei Lysimeter 3 wurde die höchste Ammoniumkonzentration mit 0,82 mg/L bei der ersten Messung am 13.12.2021 festgestellt, der zweithöchste Wert wurde mit 0,26 mg/L am 16.12.2021 gemessen, danach nahmen die Werte ab und lagen danach unter 0,1 mg/L (mit einer Ausnahme: Lysimeter 3 am 23.05.2022: 0,14 mg/L).

Bei Lysimeter 4 wurde zu Beginn der Messungen am 13.12.2021 mit einer Konzentration von 0,24 mg/L die zweithöchste Konzentration festgestellt, die höchste Konzentration wurde hier mit 0,28 mg/L am 24.01.2022 gemessen. Im übrigen Zeitraum lagen die Konzentrationen unter 0,1 mg/L.

Tabelle 13: Ammoniumfrachten für die Lysimeter 1 bis 4

	Lysi 1	Lysi 2	Lysi 3	Lysi 4
Dez 21	0,03	0,11	0,18	0,13
Jan 22	0,12	0,79	0,05	0,12
Feb 22	0,03	0,06	0,03	0,03
Mrz 22	0,00	0,01	0,01	0,01
Apr 22	0,02	0,00	0,00	0,00
Mai 22	0,01	0,00	0,05	0,00
Jun 22	0	0	0	0
Jul 22	0	0	0	0
Summe in mg	0,21	0,98	0,32	0,30

Die kumulierten Ammoniumausträge sind im Mittel bei Lysimeter 2 mit 0,98 mg deutlich höher als bei Lysimeter 1, 3 und 4 mit Werten zwischen 0,21 und 0,32 mg. Umgerechnet auf die Fläche eines Hektars entspricht dies jedoch nur sehr geringen Stickstoffausträgen unter 0,1 kg N/ha in 30 cm Bodentiefe.

Fazit: Die höchsten Ammoniumkonzentrationen traten bei Lysimeter 1, 2 und 3 mit Werten um 1 mg/L (0,86 / 1,4 / 0,82 mg/L) bereits vor der Dotierung des Düngers auf, nur bei Lysimeter 4 wurde der Maximalwert mit 0,28 mg/L am 24.01.2022 und somit 6 Tage nach der Dotierung festgestellt.

Chlorid

Je Lysimeter wurden am 17.01.2022 rd. 500 mg Chlorid als konservativer Tracer auf die Oberfläche der Lysimeter aufgegeben. Die genauen Mengen sind in der Tabelle 9 aufgeführt. Die Abbildung 18 zeigt die Ergebnisse der Chloridanalysen bei Lysimeter 1 bis 4 vom 10.01. bis zum 07.06.2022. Die Probenahmen für die Messungen der Chloridkonzentrationen erfolgten in wöchentlichem Abstand. Am 10.01.2022 (vor der Dotierung) lagen die Chloridkonzentrationen zwischen 31 mg/L bei Lysimeter 4 und 95 mg/L bei Lysimeter 3. Bei Lysimeter 3 war dieser erste Chloridwert gleichzeitig der Maximalwert in diesem Sickerwasser.

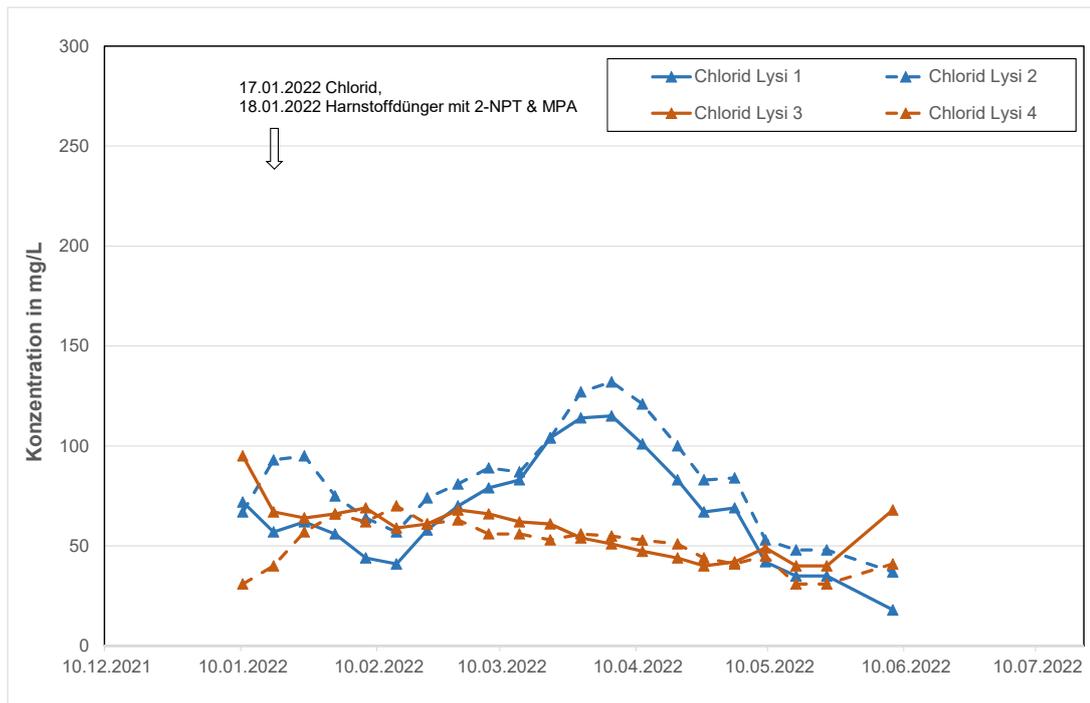


Abbildung 18: Entwicklung der Chloridkonzentrationen bei Lysimeter 1 bis 4 von Januar bis Mai 2022

Die Entwicklungen der Chloridkonzentrationen können wie folgt zusammengefasst werden:

- Die Chloridkonzentration hat bei Lysimeter 1 von 72 mg/L am 10.01.2022 zunächst auf 41 mg/L am 14.02.2022 abgenommen und ist anschließend bis auf max. 115 mg/L am 04.04.2022 angestiegen. Anschließend hat die Chloridkonzentration kontinuierlich bis auf 67 mg/L am 25.04.2022 abgenommen. Die maximalen Nitrat- und auch Chloridkonzentrationen traten somit bei Lysimeter 1 beide am 04.04.2022 auf.
- Die Chloridkonzentrationsentwicklung verläuft bei Lysimeter 2 hierzu ähnlich, mit einem Maximalwert von 132 mg/L am 04.04.2022. Im Vergleich hierzu wurde die maximale Nitratkonzentration am 11.04.2022 und somit nur 1 Woche später festgestellt.
- Bei Lysimeter 3 und 4 ist kein Chloriddurchgang zu erkennen. Dieser wäre aufgrund des Nitratdurchgangs eigentlich etwas früher zu erwarten gewesen als bei Lysimeter 1 und 2. Die Ursache ist unklar. Durch zusätzliche Untersuchung von Rückstellproben wurde nachträglich ein engeres Raster gelegt, es war jedoch nirgends auch nicht ansatzweise eine Chloriddurchbruchskurve zu erkennen.

In der Tabelle 14 sind die Monatssummen der Chloridfrachten für die Lysimeter 1 bis 4 zusammengestellt.

Tabelle 14: Chloridfrachten für die Lysimeter 1 bis 4

	Lysi 1	Lysi 2	Lysi 3	Lysi 4
Jan 22	85,7	100,8	93,9	65,5
Feb 22	74,7	80,7	91,1	89,2
Mrz 22	138,1	120,6	83,0	72,7
Apr 22	133,6	137,6	67,0	73,8
Mai 22	61,9	71,3	61,0	52,2
Jun 22	7,0	12,0	26,0	15,2
Jul 22	0,0	0,0	0,0	0,0
Summe in mg	501,0	523,1	422,1	368,6

Die Chloridfrachten liegen bei Lysimeter 1 und 2 in der Größenordnung des dotierten Chlorid, bei Lysimeter 3 und 4 etwas niedriger. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass bereits der eingesetzte Boden einen gewissen Chloridgehalt aufweist und dass die letzten Chloridanalysen des Sickerwassers am 07.06.2022 erfolgten. Dementsprechend wäre in diesem Zeitraum eine etwas höhere Chloridmenge als dotiert wurde, zu erwarten gewesen.

Fazit: Entsprechend den Durchgangskurven für Chlorid wäre der Durchgang der Ureaseinhibitoren bei den Lysimetern 1 und 2 frühestens ab dem 04.04.2022 zu erwarten gewesen. Für die Lysimeter 3 und 4 war keine Chloriddurchbruchskurve zu erkennen, die höchsten Chloridkonzentrationen nach der Dotierung wurden bei Lysimeter 3 am 07.02.2022 und bei Lysimeter 4 am 14.02.2022 gemessen. Aus den Erfahrungen bisheriger Lysimeterversuche wurden nicht alle Proben auf Chlorid untersucht. Es kann trotz der relativ engen Probennahme nicht ausgeschlossen werden, dass bei den Lysimetern 3 und 4 evtl. kurz nach der Dotierung ein sehr kurzer Chloridpeak auftrat, der mit den vorgenommenen Analysen nicht erfasst wurde.

2-NPT

Die Abbildung 19 zeigt die Ergebnisse für den Ureaseinhibitor 2-NPT im Sickerwasser der Lysimeter von Januar bis Juni 2022.

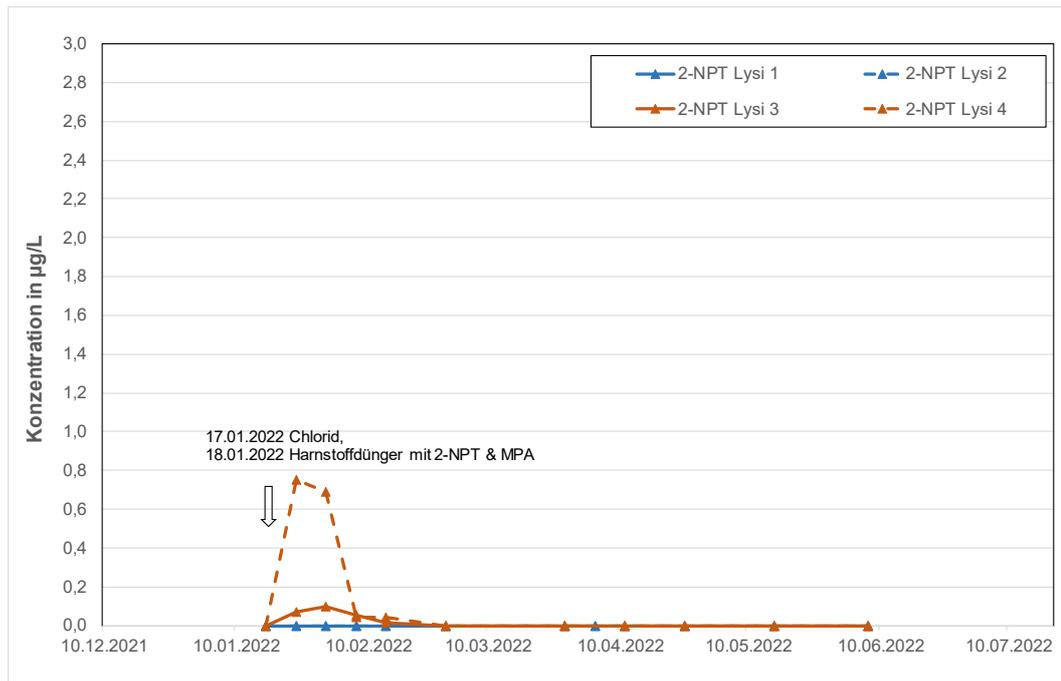


Abbildung 19: Entwicklung der Konzentrationen an 2-NPT bei Lysimeter 1 bis 4 von Januar bis Juni 2022

Die Entwicklungen der Konzentrationen an 2-NPT können wie folgt zusammengefasst werden:

- Im Sickerwasser der Lysimeter 1 und 2 vom 17.01. bis 07.06.2022 konnte 2-NPT nicht nachgewiesen werden.
- In der Sickerwasserprobe des Lysimeters 3 vom 24.01.2022 konnte 2-NPT mit einer Konzentration von 0,072 µg/L nachgewiesen werden. Am 31.01.2022 wurde hier der Maximalwert mit 0,1 µg/L festgestellt. Danach nahmen die Konzentrationen wieder bis auf 0,012 µg/L am 14.02.2022 ab.
- In der Sickerwasserprobe des Lysimeters 4 wurde bereits beim ersten Termin nach der Dotierung am 24.01.2022 mit 0,75 µg/L eine um den Faktor 7,5 höhere Maximalkonzentration festgestellt als bei Lysimeter 3. Am 31.01.2022 wurde mit 0,69 µg/L ebenfalls noch eine relativ hohe Konzentration festgestellt, danach nahmen die Konzentrationen deutlich bis auf 0,04 µg/L am 07. und 14.02.2022 ab.

Tabelle 15: 2-NPT Frachten für die Lysimeter 1 bis 4

2-NPT Fracht	Lysimeter 1	Lysimeter 2	Lysimeter 3	Lysimeter 4
Jan 22	0,0	0,0	60,3	512,3
Feb 22	0,0	0,0	22,7	27,8
Mrz 22	0,0	0,0	0,0	0,0
Apr 22	0,0	0,0	0,0	0,0
Mai 22	0,0	0,0	0,0	0,0
Jun 22	0,0	0,0	0,0	0,0
Jul 22	0,0	0,0	0,0	0,0
Summe in µg	0,0	0,0	83,0	540,1

Der Wirkstoff 2-NPT wurde bei Lysimeter 3 mit 4,6 % und bei Lysimeter 4 mit 29,7 % der dotierten Menge an 2-NPT im Sickerwasser wiedergefunden.

3-MP

Neben dem Ureasehemmstoff 2-NPT wurde der Nitrifikationshemmstoff 3-MP nachgewiesen. Dieser ist allerdings nicht im dotierten Düngemittel enthalten. Eine Analyse des eingesetzten Düngers bestätigte die zu erwartende Konzentration an 2-NPT und die Abwesenheit von 3-MP. Die Abbildung 20 zeigt die Ergebnisse für 3-MP im Sickerwasser der Lysimeter 1 bis 4 von Januar bis Juni 2022.

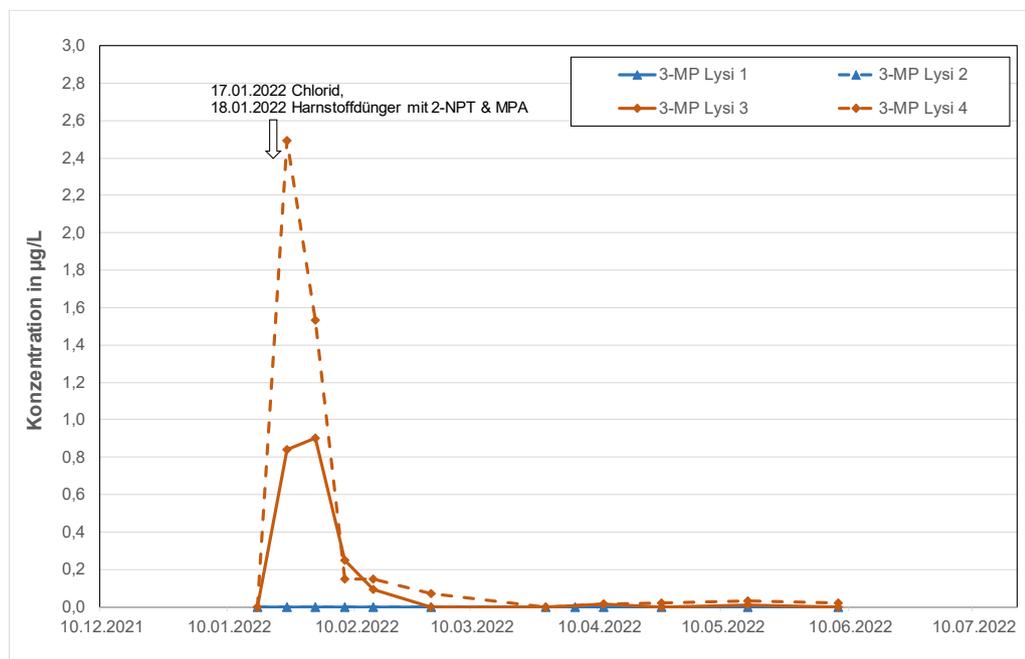


Abbildung 20: Entwicklung der Konzentrationen des Nitrifikationshemmers 3-MP bei Lysimeter 1 bis 4 von Januar bis Juni 2022

Das Auftreten von 3-MP und die Konzentrationsentwicklungen verliefen sehr ähnlich wie für 2-NPT. Die Entwicklungen können wie folgt zusammengefasst werden:

- Im Sickerwasser der Lysimeter 1 und 2 vom 17.01. bis 07.06.2022 konnte 3-MP nicht nachgewiesen werden.
- In der Sickerwasserprobe des Lysimeters 3 vom 24.01.2022 konnte 3-MP mit einer Konzentration von 0,84 µg/L nachgewiesen werden. Am 31.01.2022 wurde hier der Maximalwert mit 0,90 µg/L festgestellt. Danach nahmen die Konzentrationen bis auf 0,091 µg/L am 14.02.2022 ab. Am 11.04. und 16.06.2022 wurde 3-MP in Spuren von 0,013 µg/L und 0,011 µg/L nachgewiesen.
- In der Sickerwasserprobe des Lysimeters 4 wurde bereits beim ersten Termin nach der Dotierung am 24.01.2022 mit 2,49 µg/L eine um den Faktor 3 höhere Maximalkonzentration festgestellt als bei Lysimeter 3. Am 31.01.2022 wurde mit 1,53 µg/L ebenfalls noch eine relativ hohe Konzentration festgestellt, danach nahmen die Konzentrationen deutlich bis auf 0,068 µg/L am 28.02.2022 ab. Vom 11.04. bis 07.06.2022 wurde 3-MP in Spuren zwischen 0,017 und 0,029 µg/L nachgewiesen.

Bei den Untersuchungen der Bodenproben aus den Lysimetern nach Versuchsende (je Lysimeter 0-10 cm, 10-20 cm und 20-30 cm) konnten die Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT nicht nachgewiesen werden.

pH-Werte

Die Abbildung A22 im Abbildungsanhang zeigt die Entwicklung der pH-Werte im Sickerwasser der Lysimeter 1, 3 und 4 von Anfang Dezember 2021 bis Anfang Juli 2022 in Tiefe 2 (15 cm). Obwohl lt. Hersteller eine Rekalibration erst in viertel- bis halbjährlichen Abständen nach deren Einbau erforderlich ist (ecoTech Umwelt-Meßsysteme GmbH), wurden die pH-Elektroden am 3.3. und 9.5.2022 kalibriert. Die pH-Messung bei Lysimeter 2 war nicht stabil, vermutlich war dies auf einen technischen Defekt zurückzuführen, weshalb diese Messwerte nicht dargestellt sind. Die deutliche Abnahme der pH-Werte bei Lysimeter 3 und 4 vom 09. auf den 10.05.2022 ist auf die Rekalibrierung der pH-Sonden zurückzuführen. Dies bedeutet, dass die in den Tagen zuvor gemessenen pH-Werte bei Lysimeter 3 und 4 zu hoch waren.

Die pH-Werte bei Lysimeter 1 lagen im Bereich zwischen pH 6,14 und 6,52, bei Lysimeter 3 zwischen pH 6,40 und 7,10 und bei Lysimeter 4 im Bereich zwischen pH 6,71 und 7,50. Im Versuchszeitraum sind keine relevanten pH-Wert-Änderungen zu erkennen, die Hinweise auf Änderungen der Milieubedingungen gegeben hätten.

Die niedrigeren pH-Werte bei Lysimeter 1 gegenüber Lysimeter 3 und 4 korrespondieren mit den niedrigeren pH-Werten für die Projektfläche H18 von pH 6,3 im Vergleich zu pH 7,0 für die Projektfläche H2811. Diese Werte wurden im Rahmen einer Grunduntersuchung im September/Oktober 2020 erhoben (vgl. Tabelle 2). Bei beiden Flächen ist sandiger Lehm die vorherrschende Bodenart.

Redoxpotential

Die Abbildung A23 im Abbildungsanhang zeigt die Entwicklung der Redoxpotentiale im Sickerwasser der Lysimeter L1 bis L4 von Anfang Dezember 2021 bis Anfang Juli 2022 in den beiden Tiefen T1 (7,5 cm) und T2 (15 cm).

Nur bei Lysimeter 2 waren die Werte sowohl in Tiefe 1 als auch in Tiefe 2 nach einem Wechsel des Gels der Referenzelektrode vom 3.3.2022 um etwa 50 bis 60 mV höher als vor diesem Austausch. Dies ist an einer sprunghaften Erhöhung der Messwerte vom 3.3.2022 zu erkennen.

Die Redoxpotentiale E_h lagen während des gesamten Versuchszeitraums in den in Tabelle 16 aufgeführten Bereichen:

Tabelle 16: Redoxpotentiale E_h für die Lysimeter 1 bis 4 sowie die Tiefen T1 (7,5 cm) und T2 (15 cm)

	mV_L1T1	mV_L1T2	mV_L2T1	mV_L2T2	mV_L3T1	mV_L3T2	mV_L4T1	mV_L4T2
Median E_h	654	330	576	383	699	250	535	297
Mittelwert E_h	646	378	573	397	663	250	542	300
Min	516	315	432	333	282	226	458	285
Max	723	570	678	581	708	280	685	332

Es fällt auf, dass die Redoxpotentiale bei allen vier Lysimetern in der Tiefe 2 im Mittel zwischen 176 mV (L2) und 413 mV (L3) niedriger lagen als in der Tiefe 1. Dies ist auf die Sauerstoffzehrung zurückzuführen.

Die positiven Redoxpotentiale in allen vier Lysimetern in beiden Tiefen weisen auf durchgehend aerobe Verhältnisse während des gesamten Versuchszeitraums in allen vier Lysimetern und beiden Tiefen hin. Auch nach der Demontage der Lysimeter war der Boden im Vergleich zum feldfrischen Zustand optisch unverändert und es waren insbesondere keine Zonen erkennbar, die auf reduzierendes Milieu hingedeutet hätten.

Diskussion/Fazit:

Im Rahmen des DVGW-Projekts Inhibit (Kübeck et al. 2022) wurden orientierende Vorversuche durchgeführt, in welchen im Hinblick auf die Probenlagerung die Wirkstoffstabilität (Hydrolyse) bei unterschiedlichen pH-Werten und Temperaturen untersucht wurde. Die Ergebnisse der Lagerungsversuche (28 Tage) ergaben für die beiden untersuchten UI 2-NPT und NBPT, dass bei pH 7 und 4 °C kein nennenswerter Abbau stattfand. Bei 20 °C und pH 7 konnte jedoch nur noch 60 % der eingesetzten Konzentration an 2-NPT und nur noch 40 % bei NBPT wiedergefunden werden. Bei extremeren pH-Werten (pH 5 und pH 9) war ein noch deutlicherer Abbau zu beobachten. Bei pH 5 und 4 °C konnten z. B. nur noch etwa 35 % bei 2-NPT wiedergefunden werden. Die Hydrolyse von 2-NPT korrelierte positiv mit der Temperatur. Die pH-Werte der Projektflächen im WSG Hausen lagen im Oktober 2020 für HUI 18 bei pH 6,0 und für HUI 2811 bei pH 6,8 und somit im

leicht sauren bis neutralen Bereich, womit ein relevanter Einfluss des pH-Wertes auf die Abbaugeschwindigkeit eher unwahrscheinlich ist. Dies könnte allerdings im WSG Zartener Becken mit pH-Werte von pH 4,6 bis pH 5,9 von Bedeutung gewesen sein.

Fazit aus den Konzentrationsentwicklungen von 2-NPT und 3-MP: Bereits bei der Probennahme aber auch beim Zerlegen der Lysimeter fiel auf, dass der Boden der Fläche H2811, der für Lysimeter 3 und 4 verwendet wurde, deutlich mehr Steine enthielt als der Boden der Fläche H18 (Lysimeter 1 und 2). Zudem sind sowohl die Feldkapazität als auch der Humusgehalt für die Fläche H2811 niedriger als für H18, sodass diese beiden Stoffe bei H18 (Lysimeter 1 und 2) langsamer versickerten und in dieser Zeit an organischen Bodenpartikeln retardiert oder bereits abgebaut werden konnten, während sie bei der Fläche H2811 sehr schnell versickerten und daher im Sickerwasser der Lysimeter 3 und 4 nachgewiesen werden konnten.

NBPT N-(n-Butyl) thiophosphor-säuretriamid (NBPT)

Dieser Ureaseinhibitor war in den ausgebrachten Düngemitteln nicht enthalten und konnte in den Sickerwasserproben auch nicht nachgewiesen werden.

1,2,4-Triazol (TZ)

Im Sickerwasser aus allen vier Lysimetern wurde der Nitrifikationshemmstoff 1,2,4-Triazol nachgewiesen. Dieser ist in den während des Projektzeitraums ausgebrachten Düngemitteln nicht enthalten und könnte einerseits aus früheren Ausbringungen entsprechender Düngemittel zurückzuführen sein. Andererseits ist 1,2,4-Triazol auch ein Metabolit, der von einigen Pflanzenschutzmitteln (Azolfungiziden) gebildet wird. Um die Herkunft zu klären, sind weitere Recherchen und Untersuchungen erforderlich.

3,4-DMPP

Zudem wurde der Nitrifikationshemmstoff 3,4-DMPP (3,4-Dimethylpyrazolphosphat) an verschiedenen Terminen im Sickerwasser aus allen vier Lysimetern in unterschiedlich hohen Konzentrationen nachgewiesen. Dieser ist ebenfalls nicht im ausgebrachten Düngemittel enthalten:

- In Sickerwasserproben von Lysimeter 1 wurde 3,4-DMPP nur vereinzelt und zwar am 31.01.2022 mit einer Konzentration von 0,221 µg/L und am 11.04.2022 mit 0,013 µg/L festgestellt. In den zehn weiteren Proben aus dem Zeitraum Mitte Januar bis Anfang Juni 2022 konnte 3,4-DMPP nicht nachgewiesen werden.
- In allen Sickerwasserproben des Lysimeters 2 aus dem Zeitraum vom 17.01. bis 28.02.2022 wurde 3,4-DMPP in geringen Konzentrationen bis 0,019 µg/L gefunden. In den sechs weiteren Proben aus dem Zeitraum März bis Anfang Juni 2022 konnte 3,4-DMPP nicht nachgewiesen werden.
- In allen elf Sickerwasserproben des Lysimeters 3 aus dem Zeitraum Mitte Januar bis Anfang Juni 2022 wurde 3,4-DMPP in Konzentrationen zwischen 0,089 und 0,192 µg/L nachgewiesen

- 3,4-DMPP wurde in allen elf Sickerwasserproben des Lysimeters 4 aus dem Zeitraum Mitte Januar bis Anfang Juni 2022 in Konzentrationen zwischen 0,13 und 0,221 µg/L nachgewiesen.

Dieser Nitrifikationshemmstoff (3,4-Dimethylpyrazolphosphat) könnte vermutlich auf frühere Düngungen in den Jahren 2018 und 2019 auf der Fläche H2811 (Lysimeter 3 und 4) mit einem entsprechenden Düngemittel zurückzuführen sein. Auf der Fläche H18 wurden nach den vorliegenden Informationen in den Jahren 2018 und 2019 keine Dünger mit diesem Nitrifikationshemmstoff eingesetzt. Dieser Dünger wurde hier zuletzt in den Jahren 2012/2013 in geringen Mengen zu Feldsalat eingesetzt. Die Herkunft ist daher für die Fläche H18 (Lysimeter 1 und 2) unklar.

5.1.5 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

Die Zeitpunkte der ersten beiden Probenahmen für die biologischen Parameter lagen vor der Aufgabe des Düngers. Dadurch sollten mikro- und molekularbiologische Ergebnisse vom Sickerwasser ohne Beeinflussung durch Harnstoff und Inhibitoren gewonnen werden. Die 4 weiteren Zeitpunkte sollten anhand des Chloriddurchbruchs festgelegt werden. Nach dem Peak des Chlorids in den Lysimetern 1 und 2 wurden die Proben genommen und analysiert. Die MPN-Ergebnisse aus dem Sickerwasser der Lysimeterversuche (Abbildung 21) zeigen ein erhöhtes Vorkommen von Harnstoffverwertern ($10^4 - 10^6$ Keimzahlen/ml) gegenüber den anderen Stoffwechselgruppen in allen 4 Lysimetern über den gesamten Zeitraum hinweg. Lysimeter 1 zeigt nach der Düngerzugabe am 18.01.22 eine Abnahme für alle Verwerter außer für die Nitritoxidierer, die keine große Änderung über die Zeit zeigen. Lysimeter 2 zeigt ebenfalls eine Abnahme der Harnstoffverwerter und Denitrifikanten, während die Nitrit- und Ammoniumoxidierer eher auf demselben Niveau ($10^1 - 10^2$ Keimzahlen/ml) bleiben. Lysimeter 3 zeigt leicht abnehmende bis gleichbleibende Keimzahlen der Harnstoffverwerter über den gesamten Zeitraum während die Denitrifikanten und Nitritoxidierer ab dem 17.05.22 eine abnehmende Tendenz zeigen. Die Nitritoxidierer steigen wie auch in den anderen Lysimetern bis zum 17.05.22 an und sinken danach wieder ab. Lysimeter 4 zeigt ähnliche Ergebnisse wie Lysimeter 3. Der anfängliche Anstieg der Ammoniumoxidierer in Lysimeter 1 und 2 korreliert mit der anfänglichen Abnahme der Ammoniumkonzentration im selben Zeitraum. Danach steigt Ammonium in Lysimeter 2 zum 17.01.22 jedoch wieder an, was sich nicht in den Konzentrationen der Ammoniumoxidierer widerspiegelt. Lysimeter 3 und 4 zeigen hingegen den gesamten Zeitraum über eine Abnahme der Ammoniumoxidierer obwohl auch hier die Ammoniumkonzentrationen wie in Lysimeter 1 und 2 kontinuierlich abnehmen. Die Genkopienzahlen (Abbildung 22) zeigen für die Gene *16s* und *narG* in allen Lysimetern ein ähnliches Verhalten mit sinkenden Gehalten ab dem 17.04.22. In Lysimeter 1 und 2 sind sie mit 10^6-10^7 Genkopien/ml um 1 – 2 Logstufen höher als in Lysimeter 3 und 4. Während die Konzentration des Gens *amoA* in Lysimeter 1 und 2 nahezu unverändert bei 10^3 Genkopien/ml über den Messzeitraum bleibt, fällt es bei Lysimeter 3 und 4 bis zum 19.04.22 unter die Bestimmungsgrenze und nimmt dann wieder auf 10^3 Genkopien/ml zu. Die Konzentrationen des Gens *amoA* korreliert ganz gut mit den Keim-

zahlen der Ammoniumoxidierer in Lysimeter 1 und 2, während in den Lysimetern 3 und 4 die Harnstoffverwerter gegen Ende abnehmen, die Konzentration des Gens aber wieder zunimmt. Die Denitrifizierer sowie das Gen *narG* nehmen im gesamten Messzeitraum in allen Lysimetern tendenziell ab, was auch zur abnehmenden Nitratkonzentration gegen Ende passt.

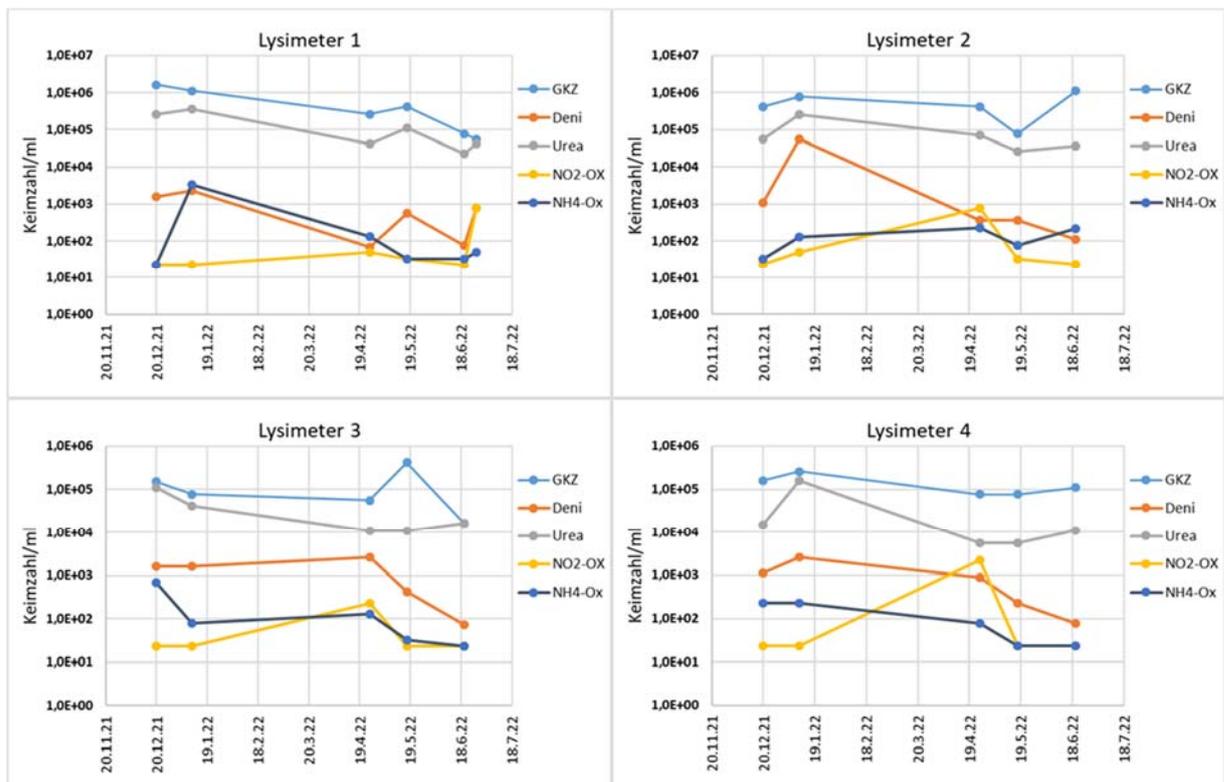


Abbildung 21: Zeitreihen der MPN-Ergebnisse aus dem Sickerwasser der Lysimeterversuche für die untersuchten Stoffwechselgruppen Gesamtkeimzahl, Ammoniumoxidierer, Denitrifizierer und Nitritoxidierer. Zeitpunkt der Düngung 18.01.2022

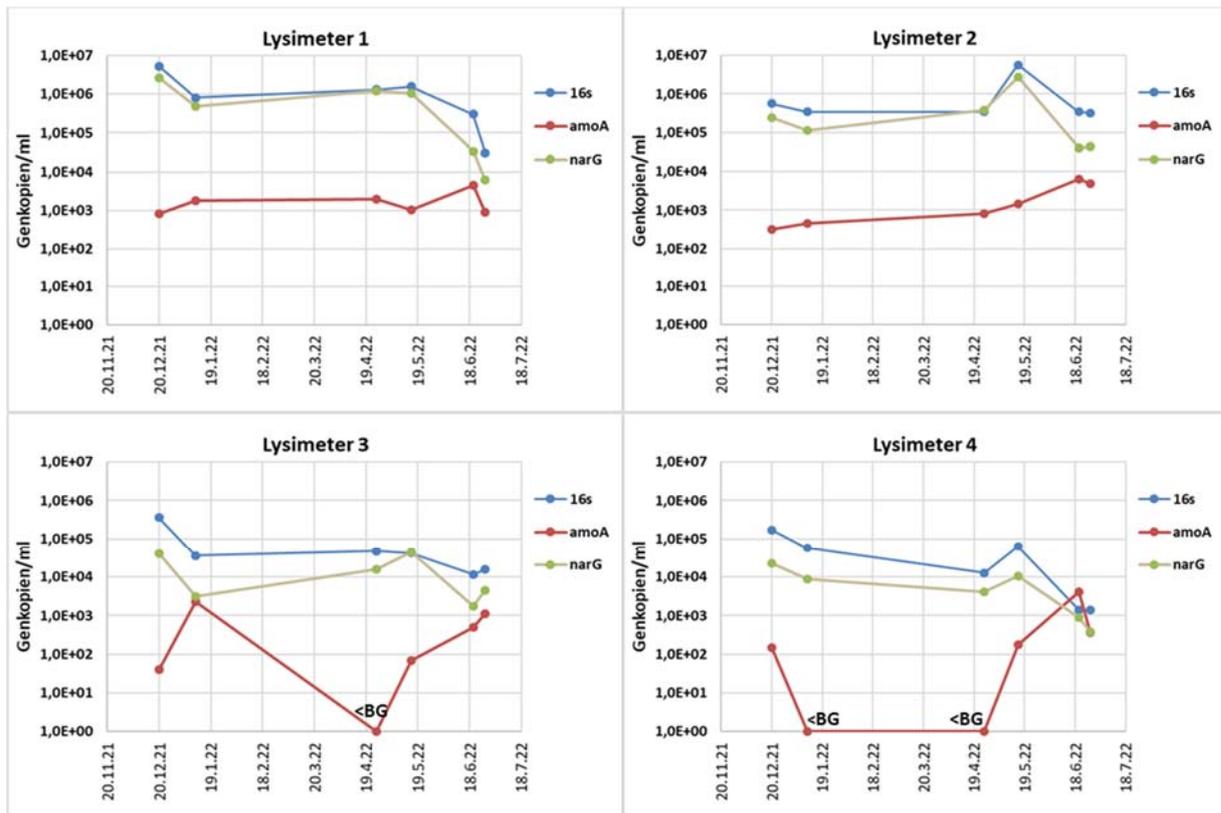


Abbildung 22: Zeitreihen der PCR-Ergebnisse aus dem Sickerwasser der Lysimeterversuche für die untersuchten Gene *16s*, *amoA* und *narG*. Zeitpunkt der Düngung 18.01.2022

Die MPN-Ergebnisse der Bodeneluate der Lysimeter unterteilt in drei Horizonte sind in Tabelle B2 zusammengefasst. In Abbildung 23 sind die Keimzahlkonzentrationen der Denitrifikanten dargestellt. Für Lysimeter 1 und 2 wurden in 20-30 cm Tiefe signifikant mehr Denitrifizierer nachgewiesen als darüber. Wie aus Abbildung 16 ersichtlich, stand Nitrat hier noch länger in höheren Konzentrationen zur Verfügung als in den darüber liegenden Zonen.

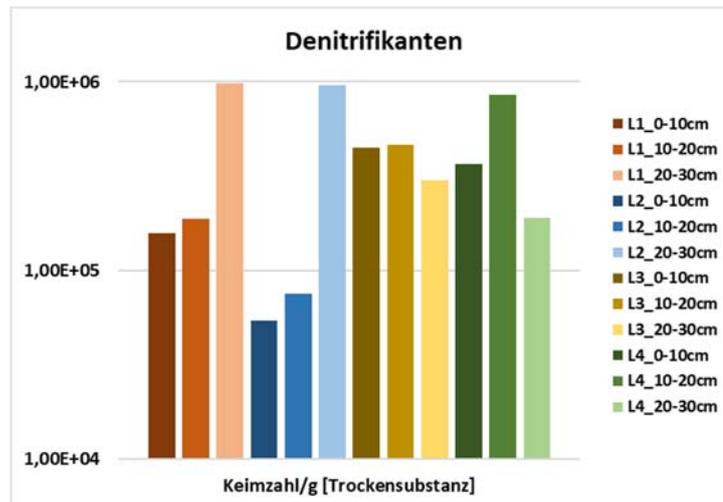


Abbildung 23: Keimzahlkonzentrationen der Denitrifikanten aus den Bodeneluaten der vier Lysimeter unterteilt in die Horizonte 0-10 cm, 10-20 cm und 20-30 cm in Keimzahl/g Trockensubstanz

5.2 Mikrokosmenuntersuchungen

Für die Mikrokosmenversuche wurden am 21.06.2022 insgesamt 26 Batches (13 Batch-Flaschen im Doppelansatz) angesetzt. Für die 9 Boden-Ansätze wurde jeweils 1,8 L autoklaviertes Reinstwasser und 300 g Boden aus 0-30 cm Tiefe je drei Ansätze von den Teilflächen Hausen, sowie eine Mischprobe der Teilflächen aus dem WSG Zartener Becken (Ebnet) verwendet. Für die 4 Grundwasser-Ansätze wurden je zwei aus dem WSG Hausen und je zwei aus dem WSG Zartener Becken mit 2 L Grundwasser befüllt.

Zu allen Boden-Mikrokosmen wurde Urea zugegeben (70 mg/kg Boden). Pro Boden wurden drei Mikrokosmen angesetzt: ohne Ureasehemmstoff (UI), mit N-(2-Nitrophenyl)Phosphorsäure-Triamid (2-NPT) (65 µg/kg Boden) und mit N-(n-Butyl)-Thiophosphortriamid (NBPT) (65 µg/kg Boden) um beurteilen zu können, ob die UIs eine Auswirkung auf Mikroorganismen haben und ob es einen Unterschied zwischen den beiden Ureasehemmstoffen gibt.

Für die beiden Grundwässer wurden je zwei Mikrokosmen angesetzt jeweils mit 2-NPT und NBPT (10 µg/L Wasser). Zu allen Grundwasser-Mikrokosmen wurde zudem Urea (10 mg/L Wasser) hinzugegeben.

Die Boden-Mikrokosmen wurden bei Raumtemperatur gelagert und einmal wöchentlich geschüttelt. Die Grundwasser-Mikrokosmen wurden bei 12°C gelagert.

Es erfolgten Probenahmen am 23.06., 12.07., 16.08. und 24.11.2021. Dabei wurden Proben für die Messung der Ionen (Cl, NO₃, NO₂, SO₄, NH₄), der Konzentration an Hemmstoffen, der Konzentration an ausgewählten Genen (16s, amoA, narG) und die Keimzahlkonzentrationen (Gesamtkeimzahl, Denitrifizierer, Ammoniumoxidierer, Nitritoxidierer, Harnstoffverwerter) genommen. Das

Probenahmeraster der Mikrokosmen wurde entsprechend der Abbaugeschwindigkeit der Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT angepasst. Abbildung 24 zeigt die Abnahme der Ureasehemmstoffen in den drei entsprechenden Ansätzen der Teilflächen Hausen 1 und 2 sowie Ebnet (Zartener Becken). Nach 19 Tagen waren die Konzentrationen um ca. die Hälfte reduziert. In den Ansätzen aus dem WSG Zartener Becken sind sie sogar um über 80% gesunken. Der schnellere Abbau im WSG Zartener Becken könnte auf die Ausbringung von organischem Dünger zurückzuführen sein. Dies war auf den Flächen im WSG Hausen nicht der Fall. In den Grundwasser-Ansätzen (Abbildung 25) sind sie hingegen kaum oder langsamer zurückgegangen. Dies lässt auf einen schnelleren Abbau der Ureasehemmstoffe im Boden im Vergleich zu Grundwasser schließen.

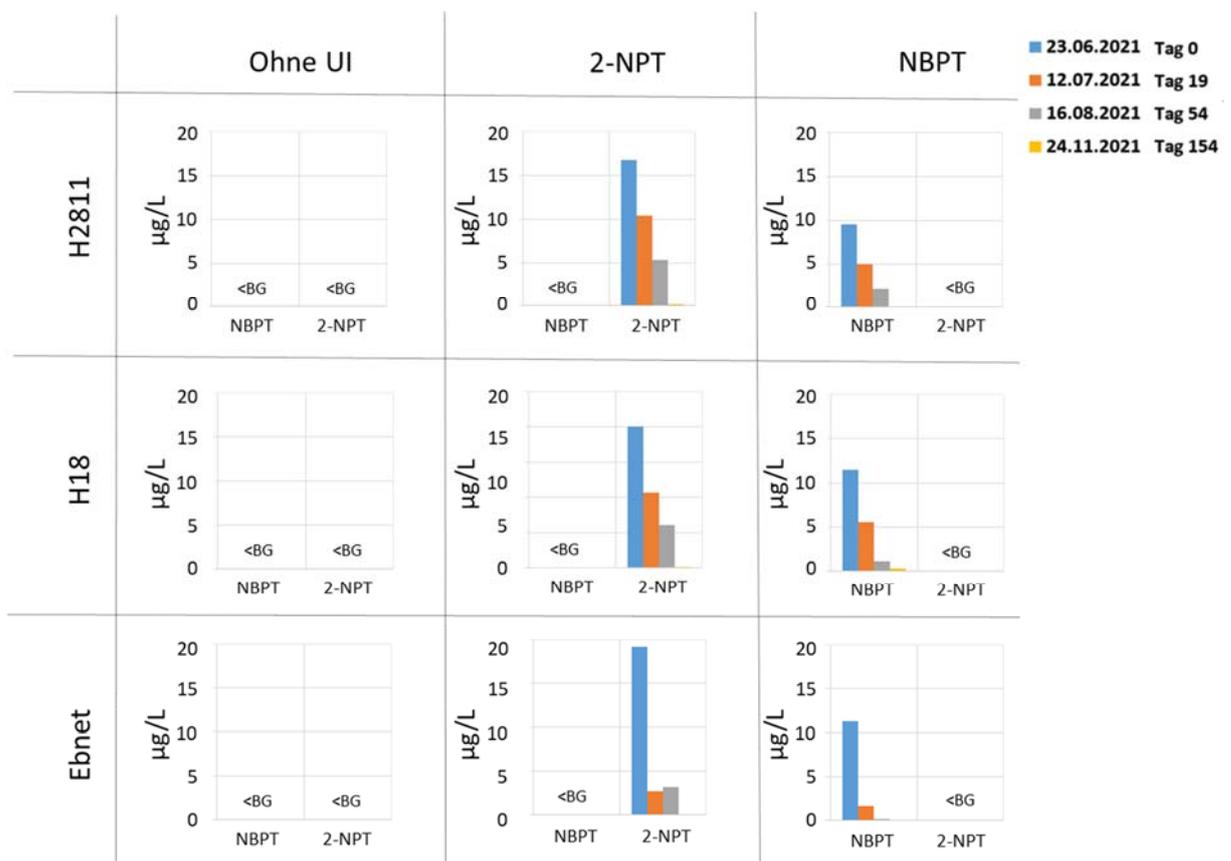


Abbildung 24: Zeitverlauf der Konzentrationen der Ureasehemmstoffe in drei Ansätzen aus den Teilflächen H2811, H18 (WSG Hausen) und Ebnet (WSG Zartener Becken)

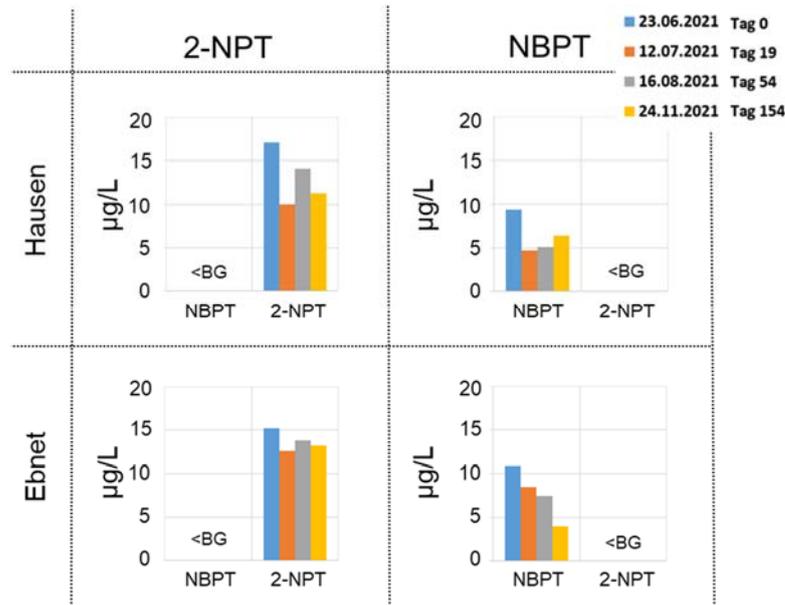


Abbildung 25: Zeitverlauf der Konzentrationen der Ureasehemmstoffe in zwei Grundwasser-Ansätzen aus dem WSG Hausen und Ebnet (WSG Zartener Becken)

Abbildung 26 zeigt die MPN-Ergebnisse der Mikrokosmenansätze für zwei Teilflächen in Hausen und eine Teilfläche in Ebnet über den gesamten Probennahmezeitraum. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Ansätze aus Hausen sich von denen aus Ebnet unterscheiden, jedoch in den verschiedenen Böden keine deutlichen Unterschiede zwischen den Ansätzen mit und ohne UI zu sehen sind. In den Ansätzen aus Hausen zeigen die Gesamtkeimzahlen zunächst einen geringen Rückgang von 1-2 Logstufen, bleiben danach aber eher konstant. Die Harnstoffverwerter zeigen Rückgänge um bis zu 3 Logstufen bis Tag 154. Die Ammoniumoxidierer zeigen Schwankungen aber keinen starken Rückgang, wohingegen die Nitritoxidierer gegen Ende einen deutlicheren Rückgang erkennen lassen. Die Denitrifikanten nehmen in den drei Ansätzen nur anfangs etwas ab und sinken gegen Ende dann langsamer oder gar nicht. In den Ansätzen aus Ebnet fällt vor allem der Anstieg der Ammoniumoxidierer an Tag 19 auf, welcher aber in allen drei Ansätzen zu sehen ist. Die Mikrokosmen der drei Teilflächen zeigen somit sehr ähnliche Trends und lassen keine deutlichen Auswirkungen der UI's auf die Mikroorganismen erkennen.

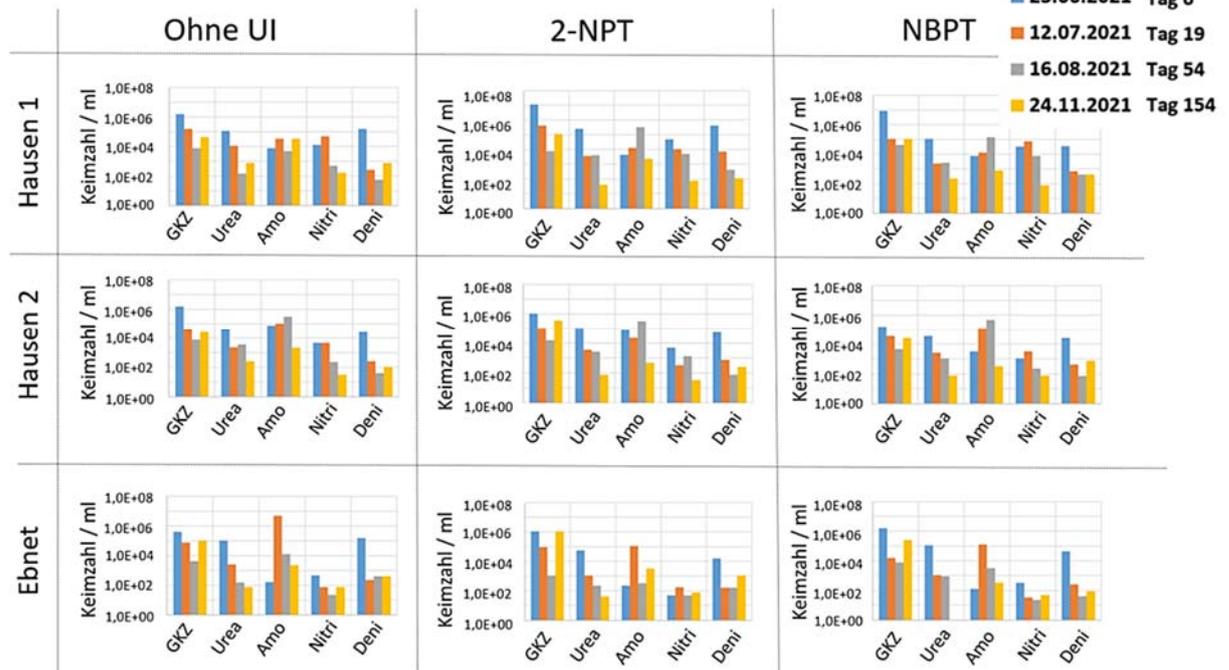


Abbildung 26: Zeitverlauf der Konzentrationen der Keimzahlen in drei Ansätzen von oben nach unten aus den Teilflächen Hausen 1, Hausen 2 und Ebnet (Zartener Becken). GKZ=Gesamtkeimzahl; Urea=Harnstoffverwerter; Deni=Denitrifikanten; Amo=Ammoniumoxidierer; Nitri=Nitritoxidierer

Abbildung 27 zeigt die MPN-Ergebnisse der Grundwasser-Ansätze aus dem WSG Hausen und Zartener Becken mit den beiden Ureasehemmstoffen. In diesen Ansätzen sind die Keimzahlen insgesamt geringer als in den Boden-Ansätzen und zeigen für die Stickstoffverwerter Werte unter oder nahe der Bestimmungsgrenze. Die Harnstoffverwerter scheinen durch 2-NPT etwas gehemmt zu werden und sind in den Ansätzen mit NBPT um ca. 2 Log-Stufen höher, allerdings sind sie im 2-NPT-Doppelansatz vom WSG Zartener Becken (nicht gezeigt) mit ca. 10^3 Keimzahlen/ml ebenfalls höher.

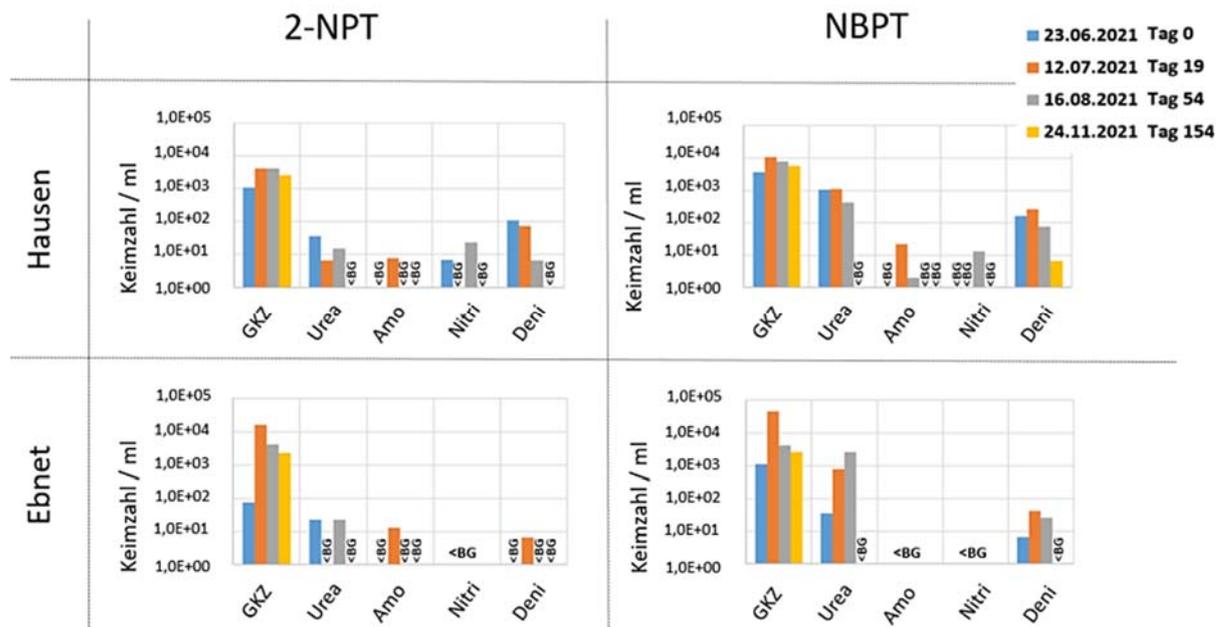


Abbildung 27: Zeitverlauf der Konzentrationen der Keimzahlen in je zwei Ansätzen aus den Grundwässern des WSG Hausen und Ebnet (WSG Zartener Becken). GKZ=Gesamtkeimzahl; Urea=Harnstoffverwerter; Deni=Denitrifikanten; Amo=Ammoniumoxidierer; Nitri=Nitritoxidierer

Auch die Genkopien pro Milliliter – in Abbildung 28 dargestellt für die zwei Teilflächen im WSG Hausen und eine Teilfläche in WSG Zartener Becken – weisen für die Gene *16s* und *narG* keine signifikanten Unterschiede auf. Für das Gen *amoA* sind zwar Unterschiede erkennbar, jedoch ist kein deutlicher Trend erkennbar, da die Ergebnisse nahe der Bestimmungsgrenze lagen und auch die nicht gezeigten Doppelansätze sich deutlich voneinander unterscheiden.

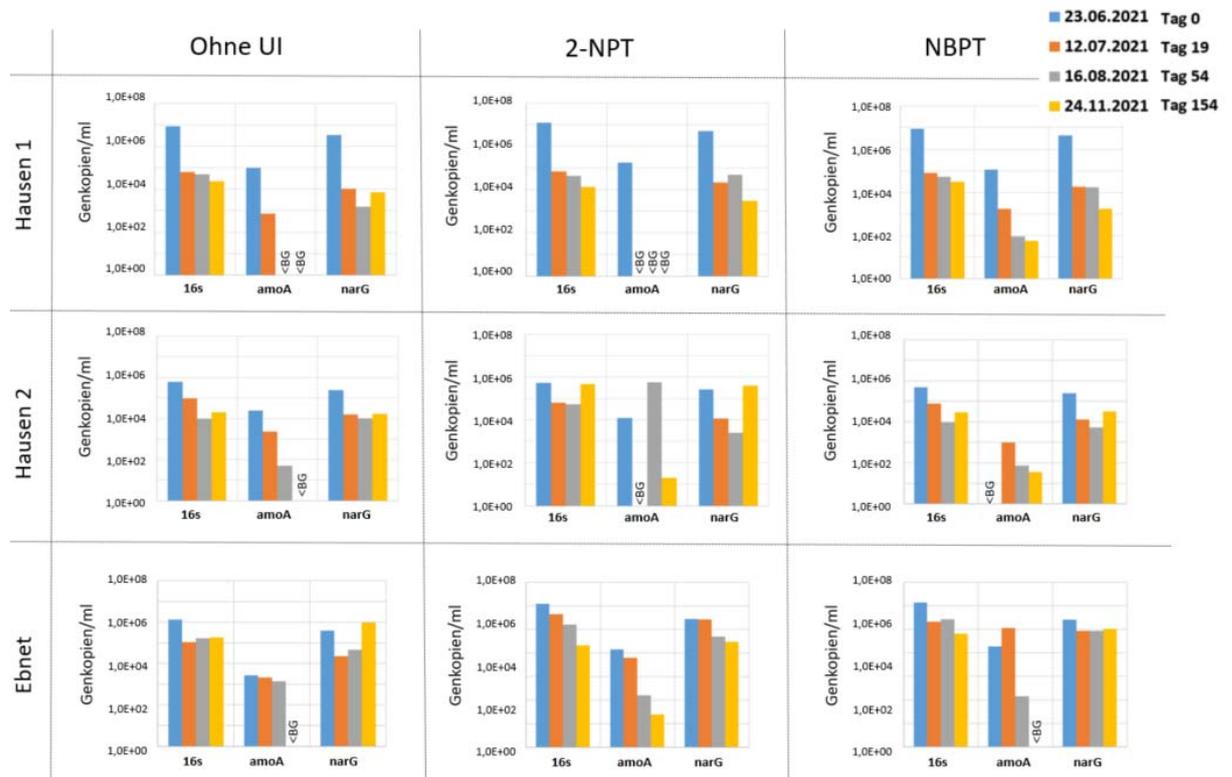


Abbildung 28: Zeitverlauf der Konzentrationen der Genkopien pro Milliliter in drei Ansätzen der Flächen in Hausen und Ebnet (Zartener Becken). 16s = Positivkontrolle; amoA = Gen für Ammoniummonooxygenase; narG = Gen für Nitratreduktase

Abbildung 29 zeigt die Konzentrationen an Genkopien für die Grundwasser-Ansätze aus dem WSG Hausen und WSG Zartener Becken. Das Gen *amoA* wurde kaum gefunden, während die Konzentrationen des Gens *narG* im Laufe der Zeit eher gestiegen sind. Die Ansätze zeigen für beide Ureasehemmstoffe wie bei den MPN-Ergebnissen ähnliche Genkopiekonzentrationen.

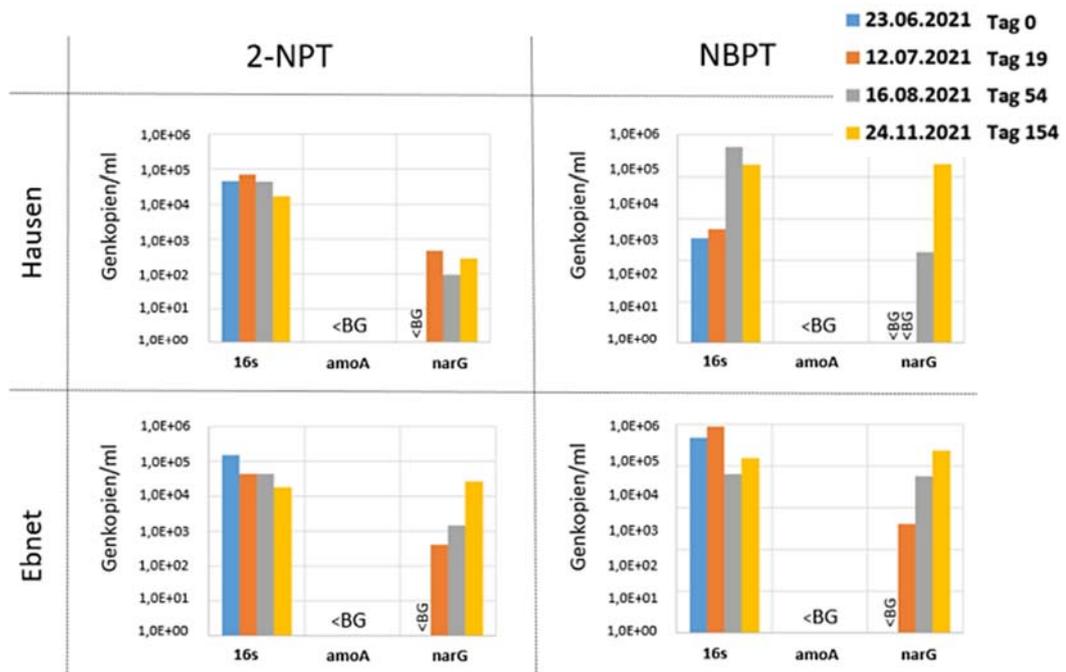


Abbildung 29: Zeitverlauf der Konzentrationen der Genkopien pro Milliliter in den Grundwasser-Ansätzen aus dem WSG Hausen und Ebnet (WSG Zartener Becken). 16s = Positivkontrolle; amoA = Gen für Ammoniummonooxygenase; narG = Gen für Nitratreduktase

Abbildung 30 zeigt die IC-Ergebnisse der Mikrokosmen zweier Teilflächen im WSG Hausen und einer Teilfläche im WSG Zartener Becken über den gesamten Probenahmezeitraum. Die Ansätze mit dem Boden aus dem WSG Hausen unterscheiden sich deutlich von den Ansätzen aus dem WSG Zartener Becken. Vergleicht man jeweils die Ansätze ohne UI mit den Ansätzen mit UI sind kaum Unterschiede zu erkennen. Die Nitratkonzentration fällt in fast allen Ansätzen über die Zeit hinweg in vergleichbarer Geschwindigkeit und auch Nitrit fällt in allen Ansätzen unter die Bestimmungsgrenze. Ammonium ist in den Hausen-Ansätzen nur in geringen Mengen vorhanden und zeigt in allen Ansätzen aus dem WSG Zartener Becken unabhängig vom Ureasehemmstoff einen Anstieg zum Ende hin.

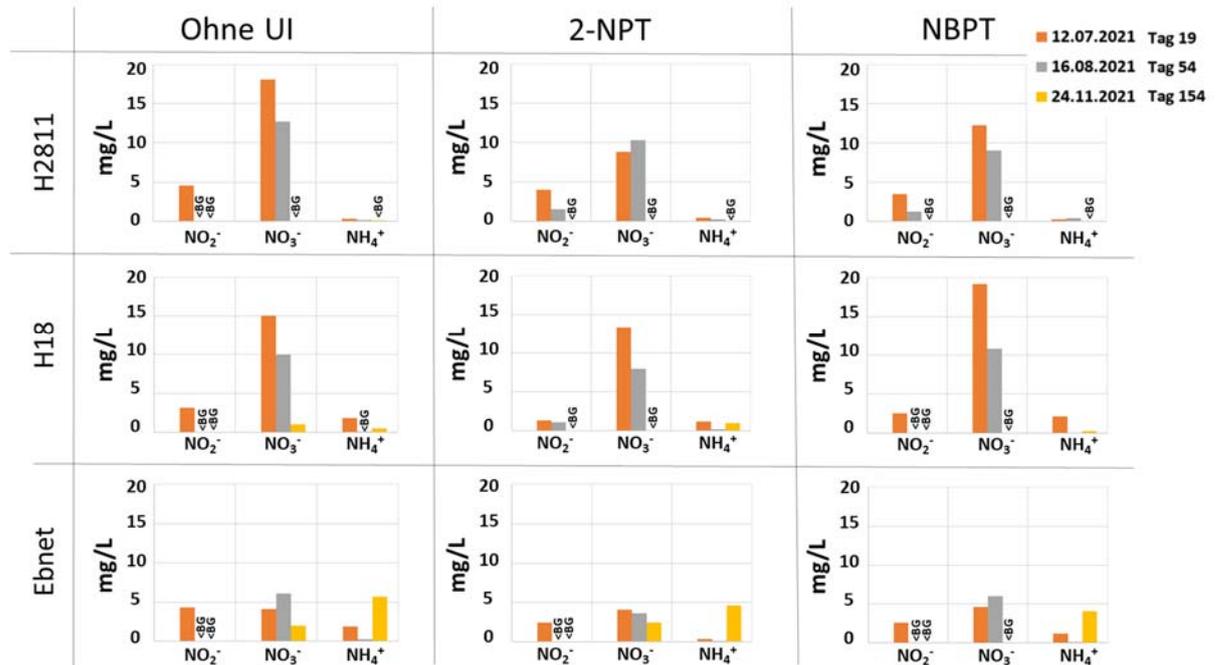


Abbildung 30: Zeitverlauf der Konzentrationen der Ionen in mg/L in je drei Ansätzen (ohne UI, mit 2-NPT, mit NBPT) zweier Teilflächen im WSG Hausen und einer Teilfläche in Ebnet (WSG Zartener Becken).

Die signifikante Ammoniumbildung (Abbildung 30) und Zunahme der Ammoniumoxidierer nach 19 Tagen (Abbildung 26), jeweils in Ansätzen mit Boden aus dem WSG Zartener Becken, scheinen standorttypisch und nicht durch die Varianten des Versuchs beeinflusst zu sein.

5.3 Grundwasseruntersuchungen

Um Hinweise über das evtl. Vorkommen von Ureaseinhibitoren im Grundwasser zu erhalten, wurden Wasserproben aus den Grundwassermessstellen PH010 im WSG Hausen und PE05 im WSG Zartener Becken auf Ureaseinhibitoren untersucht. Die Probenahme erfolgte durch das TZW mit Unterstützung durch bnNETZE (Abbildung 31). Die Ergebnisse der Grundwasseransätze zur Mikrobiologie sind in Kapitel 5.2 dargestellt.



Abbildung 31: Grundwasserprobenahmen am 09. Juni 2021 im WSG Hausen an der GWM PH010 (linkes Bild) und im WSG Zartener Becken an der GWM PE05 (rechtes Bild)

In der Tabelle 17 sind die Untersuchungsergebnisse für NI/UI sowie die jeweiligen Bestimmungsgrenzen aufgeführt:

Tabelle 17: Untersuchungsergebnisse für die Wasserproben aus den Grundwassermessstellen PE05 und PH010

Inhibitor	BG (ng/L)	PE05	PH010
TZ	30	<BG	<BG
DCD	50	<BG	<BG
3,4-DMP	50	<BG	<BG
3-MP	50	<BG	<BG
NBPT	50	<BG	<BG
2-NPT	50	<BG	<BG

Die Ergebnisse zeigen keine Befunde der gemessenen Inhibitoren im Grundwasser.

6 Projekttreffen

Die Abstimmungen mit den Projektpartnern fanden per E-Mail, mündlich oder telefonisch und ansonsten überwiegend als Online-Meetings an folgenden Terminen statt:

- 16.07.2020 13:30 – 16:00 Uhr Online-Meeting
- 01.10.2020 13:30 – 15:00 Uhr Online-Meeting
- 07.10.2020 9:00 – 13:00 Uhr Online-Meeting: Planung der weiteren Arbeiten bis Frühjahr 2021
- 13.11.2020 9:00 - 10:15 Uhr Online-Meeting: Abstimmung

- 24.11.2020 10:30 – 12:00 Uhr Online-Meeting zus. mit Vertreter des Innovationsfonds: Ergebnisse, weitere Arbeitsplanungen
- 24.02.2021 13:00 – 14:30 Uhr: Probenahmen Projektflächen und Auswahl der Grundwasser-Messstellen
- 06.12.2021 09:00 – 11:00 Uhr Online-Meeting: Abstimmung und weitere Probenahmen
- 24.02.2022 10:00 - 11:30 Uhr Online-Meeting zus. mit Vertreter des Innovationsfonds: Ergebnisse, weitere Arbeitsplanungen
- 14.07.2022 09:00 – 13:00 Uhr: Besprechung in Karlsruhe (Ergebnisse, Handlungsempfehlungen, Abschlussbericht)

7 Reduzierung klimarelevanter Gase

Bewertung unter Berücksichtigung der gesetzlichen Vorgaben und der aktuellen Ergebnisse:

Ammoniak (NH_3) unterliegt – aufgrund der reaktiven Stickstoffverbindung (N) - nach Eintritt in die Umwelt vielfältigen Umwandlungsprozessen und wird u. a. zu Lachgas (N_2O). Es ist somit ein indirektes Treibhausgas. Rund 95 % der indirekt klimarelevanten Emissionen von Ammoniak stammen aus der Landwirtschaft (Wissenschaftlicher Beirat Agrarpolitik, Ernährung und gesundheitlicher Verbraucherschutz und Wissenschaftlicher Beirat Waldpolitik beim BMEL 2016).

Verluste des Düngemittelstickstoffs durch Ammoniakausgasung können besonders bei der Anwendung von ammoniumhaltigen Düngern oder Harnstoff auftreten, wenn diese auf die Oberfläche kalkhaltiger oder schwach gepufferter Böden ausgebracht werden (Rohmann und Sontheimer 1985).

Temperatur und Boden-pH-Werte haben einen entscheidenden Einfluss auf die Höhe der Ammoniak-Emissionen in Folge der Anwendung von **Harnstoff**. Die Ammoniak-Emissionen steigen bei einem pH-Wert von mehr als 7,5 stark an (Häußermann et al. 2019).

(Baumgartner 2020) weist darauf hin, dass Harnstoff im Vergleich zu anderen Stickstoffmineraldüngern einen hohen Ammoniak-Emissionsfaktor hat. Die Umwandlung des Harnstoffs erfolgt mit Hilfe des im Boden vorhandenen Enzyms Urease. Bei Bodentemperaturen von 10°C verläuft dieser Prozess beispielsweise innerhalb von zwei Tagen. Diese Hydrolysereaktion bewirkt einen deutlichen Anstieg des pH-Wertes in der direkten Umgebung der Harnstoff-Granalie, wobei es zu gasförmigen Ammoniakverlusten kommen kann. Die Höhe dieser Stickstoffverluste ist abhängig von den Anwendungsbedingungen, der Bodenart und dem pH-Wert des Bodens. Vor allem unter trockenen Witterungsbedingungen mit intensiver Sonneneinstrahlung und Wind kann es zu verstärk-

ten Ammoniak-Ausgasungsverlusten kommen. Bei derartigen Bedingungen sollte Harnstoffdünger daher nicht ausgebracht werden.

Mit der 43. Verordnung zur Durchführung des Bundesimmissionsschutzgesetzes (Bundesregierung 18.07.2018) wurde die Richtlinie EU2016/2284 des Europäischen Parlamentes und des Rates über die Reduktion der nationalen Emissionen bestimmter Luftschadstoffe (Europäisches Parlament und Rat 14.12.2016) umgesetzt. Darin verpflichtet sich die Bundesrepublik Deutschland hinsichtlich Ammoniak zur Reduzierung der jährlichen durch menschliche Tätigkeit verursachten Emissionen von Luftschadstoffen ab dem Jahr 2020 um 5 Prozent und ab dem Jahr 2030 um 29 Prozent gegenüber dem Jahr 2005.

Nach (Haenel et al. 2020) weist flächig ausgebrachter **Harnstoff** ohne Einarbeitung unter mitteleuropäischen Klimabedingungen im Durchschnitt mit 0,155 kg NH₃/kg N einen 50 % höheren Ammoniakemissionsfaktor auf als Ammonium-Harnstoff-Lösung (AHL) mit 0,098 kg NH₃/kg N sowie einen rund 20-mal höheren Ammoniak-Emissionsfaktor als Kalkammonsalpeter (KAS) mit 0,008 kg NH₃/kg N.

Nach einer Meta-Analyse von (Pan et al. 2016) führen der **Ersatz von Harnstoff** durch andere synthetische N-Dünger, die Einarbeitung von Harnstoff, der Einsatz von Ureaseinhibitoren und Coating-Verfahren zu einer deutlichen Abnahme der spezifischen NH₃-Emissionen. Die NH₃-Emissionen lassen sich durch den Ersatz von Harnstoff durch Ammoniumnitrat und Ammoniumsulfat um 88 bzw. 79 % mindern. In Hinblick auf die NH₃-Emissionsminderungsziele ist es daher naheliegend, Harnstoff durch synthetische Düngemittel mit geringeren NH₃-Emissionsfaktoren zu ersetzen (Häußermann et al. 2019).

In (Osterburg et al. 2018) wird der mögliche Beitrag zur Reduzierung von Ammoniak-Emissionen durch die Regelungen zur **Anwendung von Ureasehemmern** und zur Einarbeitung in der aktuellen Düngeverordnung auf rd. 47.000 t/Jahr geschätzt. Dies entspricht rd. 20 % des gesamten Reduzierungspotentials der dort aufgeführten Maßnahmen zur Reduzierung der Ammoniakemissionen (Gesamtsumme: 234.000 t/Jahr in der Landwirtschaft). Allerdings ist nicht aufgeführt, wieviel davon auf die zeitnahe Einarbeitung von Harnstoff und wie viel auf die Anwendung von Ureasehemmern entfällt. Die Einarbeitung stellt jedoch bei Kulturen, bei denen dies möglich ist, eine Alternative dar.

Vor dem Hintergrund der aktuellen Ergebnisse und der noch offenen Fragen (z.B. zu Verlagerungsverhalten und zu Metaboliten) sollte derzeit bei Einsatz von Harnstoff, die zeitnahe Einarbeitung gegenüber der Anwendung von Ureasehemmstoffen bevorzugt werden, da sie mit weniger Risiken für das Grundwasser verbunden ist. Eine Möglichkeit dafür wäre der Einsatz der Depotdüngung bei entsprechenden Kulturen (z.B. Mais, vgl. Kap. 8). Durch Förderung des Einsatzes der Depotdüngung (z.B. Maschinenring oder Einsatz bei weiteren Kulturen) wäre eine weitere Reduzierung möglich.

Weiterhin wäre eine regelmäßige Grunduntersuchung des Bodens und ggf. Einstellung des pH-Wertes auf ein Optimum sowohl im Hinblick auf die angebauten Kulturen als auch im Hinblick auf die möglichen Ammoniak-Emissionen zu empfehlen, um zu hohe pH-Werte zu vermeiden, welche die Ammoniak-Entstehung begünstigen.

8 Empfehlung und Bewertung zur Anwendung von Ureasehemmstoffen

Kurze Zusammenfassung der vorliegenden Ergebnisse:

Bei Feldversuchen im WSG Hausen konnte der Ureasehemmstoff 2-NPT in Bodenproben vom April 2021, die von den beiden Projektflächen (mit Hauptfrucht Körner- bzw. Saatmais und Düngung mit einem Dünger, der den Ureasehemmstoff 2-NPT sowie den Nitrifikationshemmstoff MPA enthielt) vier bzw. elf Tage nach der Düngung aus dem Bodenbereich von 0-30 cm entnommen wurden, in Konzentrationen deutlich über der Bestimmungsgrenze nachgewiesen werden. In Bodenproben, die 45 Tage nach der Düngung entnommen wurden, konnten keine Ureasehemmstoffe mehr nachgewiesen werden.

Im WSG Zartener Becken konnte der Ureasehemmstoff 2-NPT in Bodenproben, die im März 2021 sechs Tage nach der Düngung aus dem Bodenbereich von 0-30 cm entnommen wurden, bei drei der untersuchten vier Vergleichsflächen (mit Hauptfrucht Wintergerste bzw. Sommerhafer) ebenfalls nachgewiesen werden.

Im Frühjahr 2022 wurde 2-NPT auf einer Projektfläche im WSG Hausen nach einer erneuten Düngung mit dem gleichen Dünger wie im Frühjahr 2021 erneut an Bodenproben, die neun bzw. 15 Tage nach der Düngung aus dem Oberboden der untersuchten Projektfläche (mit Hauptfrucht Winterweizen) entnommen wurden, in relevanten Konzentrationen nachgewiesen. Weiterhin wurde 2-NPT im Frühjahr 2022 in den Proben, die 15 Tage nach der Düngung entnommen wurden, auch im tieferen Bereich von 30-60 cm in geringerer Konzentration nachgewiesen.

Bei Laborversuchen konnte im Sickerwasser des Lysimeters 4 (mit Boden der zweiten Projektfläche mit niedrigerer Feldkapazität und geringerem Humusgehalt als bei Lysimeter 1 und 2) der Ureasehemmstoff 2-NPT in relevanten Konzentrationen in den Wasserproben, die 6 Tage nach der Dotierung entnommen wurden, festgestellt werden. Auch bei Lysimeter 3 (ebenfalls mit Boden der zweiten Projektfläche) wurde 2-NPT in Wasserproben festgestellt, die 13 Tage nach der Dotierung entnommen wurden.

Im Sickerwasser der Laborlysimeter 1 und 2 (mit Boden der ersten Projektfläche mit höherer Feldkapazität und höherem Humusgehalt) konnte der Ureasehemmstoff 2-NPT nicht nachgewiesen werden.

Bei der Bestimmung der Ureasehemmstoffe fiel auf, dass der Nitrifikationshemmstoff 3-MP in Feldproben nach Düngung mit ureasehemmstoffhaltigem Dünger und in Lysimeterproben nachweisbar war.

Im Sickerwasser der Lysimeter des zweiten Standorts wurden außerdem die Nitrifikationshemmstoffe 1,2,4-Triazol und 3,4-Dimethylpyrazolphosphat (3,4-DMPP) nachgewiesen. Beide Nitrifikationsinhibitoren sind Bestandteile von Düngemitteln, die dort im Jahr 2018 eingesetzt wurden. Andererseits ist 1,2,4-Triazol aber auch ein Metabolit, der von einigen Pflanzenschutzmitteln (Azolfungiziden) gebildet wird. Hierzu wären noch weitere Recherchen erforderlich.

In Mikrokosmen mit Böden der beiden Standorte gingen die Konzentrationen der dotierten Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT zwar zurück, sie lagen jedoch nach 50-150 Tagen immer noch über der Bestimmungsgrenze.

Nach Zugabe des stabilisierten Düngers im Feld und nach Zugabe der Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT in Mikrokosmen, konnte im Vergleich zu Kontrollversuchen ohne Hemmstoffe keine signifikante Beeinflussung der Mikrobiologie anhand der untersuchten mikrobiologischen und molekularbiologischen Parameter nachgewiesen werden. Auch die Lysimeterversuche zeigen nach Zugabe des Düngers mit 2-NPT keine signifikante Beeinflussung der Mikrobiologie.

Die Nitratauswaschungen, die auf der Basis von Bodenkontrollergebnissen mit Hilfe des Simulationsmodells INVAM für den Zeitraum Anfang April 2020 bis Ende März 2022 berechnet wurden, zeigten keine signifikanten Unterschiede zw. den Projektteilflächen in Hausen, die zum Vergleich mit Düngemittel mit und ohne Ureasehemmstoff gedüngt wurden.

Diskussion:

Nach den vorliegenden Informationen und Untersuchungsergebnissen ergeben sich zwar keine Hinweise darauf, dass von den mit den Düngemitteln ausgebrachten Ureasehemmstoffen bei mittleren Niederschlagsmengen und -intensitäten größere Mengen der Wirkstoffe ausgewaschen werden, jedoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass nach Starkniederschlägen, die in den Tagen direkt nach der Düngung niedergehen, die Ureasehemmstoffe teilweise in tiefere Bodenschichten verlagert und von dort ins Grundwasser ausgewaschen werden können. Eine Verlagerung aus dem Oberboden in den Unterboden wurde teils in den Felduntersuchungen und auch in den Lysimeteruntersuchungen für 2-NPT beobachtet.

Das in Mikrokosmenversuchen untersuchte NBPT zeigte nur eine geringfügig schnellere Abbaugeschwindigkeit als 2-NPT. NPPT konnte dabei nicht untersucht werden, da die Reinsubstanz nicht erhältlich war.

Eine weitere Unsicherheit bei der Bewertung aus Sicht des Grundwasserschutzes besteht darin, dass derzeit keine Nachweisverfahren für Metaboliten von 2-NPT bekannt sind und diese erst noch entwickelt werden müssten. Dies wäre für eine umfassende und abschließende Bewertung der

Ureasehemmstoffe erforderlich. Aufgrund der derzeit fehlenden Informationen zu möglichen Metaboliten der Ureasehemmstoffe kann es derzeit aber auch nicht ausgeschlossen werden, dass abhängig von den Bedingungen im Boden (stabile) Metaboliten der Ureasehemmstoffe gebildet werden, die zusammen mit der Grundwasserneubildung aus dem Oberboden in tiefere Bereiche verlagert und bei den dann meist vorliegenden leicht durchlässigen Böden auch leicht weiter verlagert und ins Grundwasser eingetragen werden können.

Neben dem Ureasehemmstoff 2-NPT wurde der Nitrifikationshemmstoff 3-MP in Bodenproben der beiden Flächen in Hausen sowie bei einer Fläche in Ebnet und im Lysimetersickerwasser (Lysimeter 3 und 4) bestimmt. 3-MP ist allerdings nicht im ausgebrachten Düngemittel enthalten, sondern 2-NPT und MPA. Eine Analyse des eingesetzten Düngers bestätigte die zu erwartende Konzentration an 2-NPT und die Abwesenheit von 3-MP. Betrachtet man die Molekülstruktur von 3-MP, fällt auf, dass es sich vom MPA lediglich durch einen Methylacetamid-Substituenten am Pyrazol-Ring unterscheidet. Eine Transformation von MPA in 3-MP ist denkbar und könnte die Ursache für das Auftreten von 3-MP sein. In der Literatur wurden keine Anhaltspunkte für die Bildung von 3-MP aus MPA gefunden. MPA wurde 2015 in die DüMV aufgenommen und ersetzt in den Produktprofilen der Hersteller seitdem zunehmend die Wirkstoffe Triazol und 3-MP. Auch deswegen ist die Literatursuche nach MPA bis jetzt wenig ergiebig. Auf Basis der vorliegenden Informationen erscheint es unwahrscheinlich, dass 3-MP aus früheren Düngungen stammt, es kann jedoch nicht völlig ausgeschlossen werden.

Eine Bildung von 3,4-Dimethylpyrazolphosphat (3,4-DMPP) aus MPA ist aufgrund der Molekülstruktur weitgehend ausgeschlossen. Es ist denkbar dass 3,4-DMPP aus vergangenen Düngungen mit anderen Produkten stammt. Entsprechende Düngemittel wurden zuletzt im Jahr 2018 auf einer Fläche ausgebracht.

Ähnlich wie für Pflanzenschutzmittel ist auch hier eine Aufzeichnungspflicht für das verwendete Mittel sowie den Zeitpunkt und die eingesetzte Menge (verbindlich drei Jahre, idealerweise zehn bis fünfzehn Jahre aufbewahren) zu fordern. Mithilfe dieser Daten könnten weitere Auswertungen vorgenommen und problematische Stoffe / Anwendungsarten / Böden identifiziert werden.

Die Überwachung sowohl der Anwendungspraxis als auch der flächenhaften Grundwasserbeschaffenheit ist Aufgabe der jeweils zuständigen Behörden der Länder. Die Wasserversorger sollten von den Behörden über Erkenntnisse und die tatsächlich angewendeten Produkte zeitnah informiert werden, um die eigenen Monitoringprogramme gebietsspezifisch und zielgerichtet anpassen zu können. Eine Abstimmung der Monitoringprogramme und Datenaustausch zwischen Behörden und Wasserversorgern ist zu empfehlen.

Es ist auf Basis der vorliegenden Befunde insbesondere ein Nachzulassungsmonitoring für Düngemittel mit dem Ureasehemmstoff 2-NPT anzuraten.

Treten Befunde von Ureasehemmstoffen oder deren Metaboliten im Rohwasser, das zur Trinkwassererzeugung genutzt wird, auf, so ist ein umgehender Verzicht auf den Einsatz derartiger Mittel zunächst im Einzugsgebiet zu fordern sowie eine engere Überwachung anzuraten. Die Überschreitung bestimmter Schwellenwerte im Grundwasser an Vorfeldmessstellen (z.B. evtl. Grenzwerte von Wirkstoffen oder GOW) sollte ein umgehendes behördliches Handeln nach sich ziehen.

Aufgrund dieser Funde in der Umwelt empfiehlt es sich für Wasserversorger, Ihre landwirtschaftlich genutzten Wassereinzugsgebiete aus Vorsorgegründen nicht nur auf Nitrat- und Pflanzenschutzmittelrückstände, sondern zukünftig orientierend auch auf Ureasehemmstoffe zu untersuchen und diese Parameter in ein risikobasiertes Vorfeldmonitoring einzubeziehen.

Die in Veröffentlichungen erwähnte Abhängigkeit des Umweltverhaltens der Wirkstoffe (UI & NI) von den Standortbedingungen und die empfohlene wirkstoff- und standortspezifische Entscheidung über deren Einsatz dürfte in der Praxis derzeit nur schwer zu berücksichtigen sein, einerseits, da es klare gesetzliche Vorgaben für den Einsatz gibt (DüVo) und andererseits da sich die Standortbedingungen bereits kleinräumig deutlich unterscheiden können und selten über ein gesamtes Wassereinzugsgebiet homogen sind. Zudem müssten hierbei auch die Bedingungen für das Umweltverhalten der Metabolite berücksichtigt werden.

Auch, wenn noch nicht alle Informationen für eine abschließende Bewertung vorliegen, ist bereits jetzt zu hinterfragen, ob der teilweise Nutzen insbesondere im Hinblick auf die sicherlich wichtige Reduzierung der Emissionen von Klimagasen, die mit der Anwendung verbundenen Risiken für das Grundwasser aufwiegt, oder ob nicht andere Düngemittel oder Ausbringungstechniken angewendet werden können, die zu Reduzierungen bei den Emissionen der Klimagase und der Nitratauswaschung führen.

Entsprechend den Angaben eines Düngemittelherstellers muss Harnstoff zunächst durch Bodenenzyme zu Ammonium hydrolisiert werden, wozu Feuchtigkeit benötigt wird. Je nach Temperatur kann dies von einem Tag bis zu einer Woche dauern. Die Hydrolyse von Harnstoff führt zu stark alkalischen Bodenbedingungen in der unmittelbaren Nähe des Harnstoffkorns (Yara 2022). Bei derartigen Bedingungen kann Ammoniak sehr leicht entweichen. Diese Verluste sind eine wesentliche Ursache für die oft geringere N-Effizienz von Harnstoff im Vergleich zu anderen Düngern. Aus diesem Grund sollte Harnstoff bei der Anwendung möglichst sofort in den Boden eingearbeitet werden.

Auch in Feldversuchen mit Einsatz von Depotdüngerverfahren mit streifenförmiger Ablage der Düngerdeposits in den Boden, konnte im Vergleich zu flächenhaft oberflächlicher Düngerausbringung mit einem Streuer eine erhebliche Reduzierung bei den Emissionen von Ammoniak aufgezeigt werden (AtMO Grand Est 2021). Voraussetzung ist eine korrekt durchgeführte Depotdüngung mit Düngerablage in einer Tiefe von mindestens 10 cm und weitgehendem mechanischem Schlitzverschluss. Dieses Verfahren wird in Körner- und Silomais in den WSG Hausen und Zartener Becken

bereits erfolgreich angewendet und weist gegenüber konventionellen Düngeverfahren hinsichtlich möglicher Gewässerbelastungen und beim Klimaschutz deutliche Vorteile auf. Bezgl. der Anwendung in weiteren Kulturen (z.B. Getreide) liegen erste positive Erfahrungen mit dem LiqInject Schlitzverfahren vor, es besteht aber noch weiterer Forschungs- und Optimierungsbedarf zur Festigung der ersten sehr erfolgversprechenden Ergebnisse (Müller-Sämann 2021). Durch ideale Ablage des Düngers in einem tiefen und konzentrierten Depot, soll eine maximale Düngeeffizienz bei gleichzeitig minimalen negativen Effekten auf die Umwelt, wie z.B. Nitratauswaschungen in das Grundwasser oder klimarelevante Emissionen von Ammoniak und Lachgas, erzielt werden (Kooperation Hochschule Ansbach und University of applied sciences Weihenstephan Triesdorf 2022).

Fazit: Die Anwendung von Düngemitteln mit dem Ureasehemmstoff 2-NPT ist aufgrund der aktuellen Befunde sowie der Wissenslücken zu möglichen Metaboliten und deren Verhalten in der Umwelt derzeit noch mit Risiken verbunden und deshalb nur mit Einschränkungen zu empfehlen. Dies betrifft beispielsweise die Empfehlung, entsprechende Düngemittel nicht großflächig in einem Wassereinzugsgebiet einzusetzen, solange die offenen Fragen noch nicht geklärt sind oder ein begleitendes Monitoring etabliert wurde. Die Reduzierung der Emissionen von Ammoniak, das als sogen. „indirektes Treibhausgas“ gilt (Umweltbundesamt 2022), kann auch auf anderen Wegen erreicht werden. Die Anwendung der Depotdüngung (insbesondere in Körner- und Silomais) oder die sofortige Einarbeitung von Harnstoffdünger oder die Anwendung alternativer Dünger weisen diese Risiken nicht auf und sollten nach derzeitigem Kenntnisstand bevorzugt werden.

9 Zusammenfassung

Entsprechend der Düngeverordnung (in der Fassung vom 28.04.2020) darf „Harnstoff als Düngemittel ab dem 1. Februar 2020 zur Düngung nur noch aufgebracht werden, soweit ihm ein Ureasehemmstoff zugegeben ist oder er unverzüglich, jedoch spätestens innerhalb von vier Stunden nach der Aufbringung eingearbeitet wird“. Ureasehemmstoffe hemmen das Enzym Urease, wodurch die Umwandlung von Amid-Stickstoff zu Ammonium und Ammoniak verzögert wird, wohingegen Nitrifikationshemmer die bakterielle Oxidation des Ammonium-Ions verzögern.

Die Wirksamkeit von Nitrifikations- und Ureasehemmern sowie die Auswirkungen im Hinblick auf die Entstehung von Klimagasen wurden bereits in vielen Studien mit teils unterschiedlichen Ergebnissen diskutiert. Um Informationen zu Einträgen ins Grundwasser, zur Wechselwirkung mit der Mikrobiologie sowie zum Abbau- oder Verlagerungsverhalten der einzelnen Ureasehemmstoffe zu erhalten, wurden verschiedene Versuche im Feld und im Labor durchgeführt.

Nach Zugabe des stabilisierten Düngers im Feld und in den Lysimetern sowie nach Zugabe der Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT in **Mikrokosmen**, deutet sich, im Vergleich zu Kontrollversuchen ohne Hemmstoffe, in einem Teil der Feldproben ein Rückgang der ammoniumoxidierenden

Mikroorganismen an. Dies könnte auf den gewünschten Effekt der Inhibitoren zurückzuführen sein. Eine darüber hinaus gehende signifikante Beeinflussung der Mikrobiologie wurde nicht beobachtet.

In **Mikrokosmen** mit Böden der beiden Standorte gingen die Konzentrationen der dotierten Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT zwar zurück, sie lagen jedoch nach 50-150 Tagen immer noch über der Bestimmungsgrenze. Das in Mikrokosmenversuchen untersuchte NBPT zeigte nur eine geringfügig schnellere Abbaugeschwindigkeit als 2-NPT. NPPT konnte dabei nicht untersucht werden, da die Reinsubstanz nicht erhältlich war.

Bei **Feldversuchen** im WSG Hausen konnte der Ureasehemmstoff 2-NPT in Bodenproben vom April 2021, die von den beiden Projektflächen (mit Hauptfrucht Körner- bzw. Saatmais und Düngung mit einem Dünger, der den Ureasehemmstoff 2-NPT sowie den Nitrifikationshemmstoff MPA enthielt) vier bzw. elf Tage nach der Düngung aus dem Bodenbereich von 0-30 cm entnommen wurden, nachgewiesen werden. 45 Tage nach der Düngung wurden keine Ureasehemmstoffe im Boden mehr festgestellt.

Im WSG Zartener Becken konnte der Ureasehemmstoff 2-NPT ebenfalls in Bodenproben bei drei untersuchten Vergleichsflächen (mit Hauptfrucht Wintergerste bzw. Sommerhafer) nachgewiesen werden, die im März 2021 sechs Tage nach der Düngung aus dem Bodenbereich von 0-30 cm entnommen wurden.

Im April 2022 wurde auf einer Projektfläche im WSG Hausen (mit Hauptfrucht Winterweizen) nach einer Düngung mit dem gleichen Dünger wie im Frühjahr 2021 erneut 2-NPT an Bodenproben festgestellt, die neun bzw. 15 Tage nach der Düngung aus dem Oberboden entnommen wurden. Weiterhin wurde 2-NPT im April 2022 in den Proben, die 15 Tage nach der Düngung entnommen wurden, auch im tieferen Bereich von 30-60 cm in geringerer Konzentration gemessen.

Bei **Laborversuchen** konnte im Sickerwasser des Lysimeters 4 (mit Boden der zweiten Projektfläche mit niedrigerer Feldkapazität und geringerem Humusgehalt als bei Lysimeter 1 und 2) der Ureasehemmstoff 2-NPT in relevanten Konzentrationen in den Wasserproben, die 6 Tage nach der Dotierung entnommen wurden, festgestellt werden. Auch bei Lysimeter 3 (ebenfalls mit Boden der zweiten Projektfläche) wurde 2-NPT in Sickerwasserproben, die 13 Tage nach der Dotierung entnommen wurden, festgestellt.

Im Sickerwasser der Laborlysimeter 1 und 2 (mit Boden der ersten Projektfläche mit höherer Feldkapazität und höherem Humusgehalt) konnte der Ureasehemmstoff 2-NPT nicht nachgewiesen werden.

Bei der Analyse der Hemmstoffe wurden neben dem ausgebrachten Ureasehemmstoff 2-NPT auch 3-Methyl-1H-pyrazol (3-MP), ein gängiger Nitrifikationshemmstoff, in einigen Feldproben nach Düngung mit ureasehemmstoffhaltigem Dünger und in Lysimeterproben nachgewiesen. Im eingesetzten Harnstoffdünger selbst konnte 3-MP nicht nachgewiesen werden. Eine Düngung in

früheren Jahren mit einem entsprechenden Düngemittel ist nicht bekannt. Im verwendeten Harnstoffdünger ist der Nitrifikationshemmstoff N-[3(5)-methyl-1H-pyrazol-1-yl] methyl] acetamide (MPA) enthalten. Dieser stand als Reinstoff zur Methodenetablierung jedoch nicht zur Verfügung und konnte deshalb nicht analysiert werden. Die Herkunft von 3-MP ist ungeklärt. Um die These einer Bildung von 3-MP aus MPA zu belegen, bedarf es weiterer Untersuchungen.

Im Sickerwasser der Lysimeter wurden außerdem die Nitrifikationshemmstoffe 1,2,4-Triazol und 3,4-Dimethylpyrazolphosphat (3,4-DMPP) nachgewiesen. Beide Nitrifikationsinhibitoren sind Bestandteile von Düngemitteln, die dort in früheren Jahren eingesetzt wurden. Andererseits ist 1,2,4-Triazol aber auch ein Metabolit, der von einigen Pflanzenschutzmitteln (Azolfungiziden) gebildet wird. Um die Herkunft zu klären, sind weitere Recherchen und Untersuchungen erforderlich.

Während der Ureasehemmstoff 2-NPT in der Mehrzahl der Bodenproben festgestellt wurde, die wenige Tage nach der Düngung entnommen wurden, fiel auf, dass 2-NPT nur im Sickerwasser der Lysimeter mit Boden der zweiten Projektfläche mit niedrigerer Feldkapazität und geringerem Humusgehalt festgestellt wurde. Aus den Versuchen ist abzuleiten, dass der Ureasehemmstoff 2-NPT (möglicherweise auch weitere Hemmstoffe) auf Standorten mit niedrigerer Feldkapazität und geringem Humusgehalt leichter verlagert wird als auf Standorten mit höherer Feldkapazität und höherem Humusgehalt.

Die **Nitratauswaschungen**, die auf der Basis von Bodenkontrollergebnissen mit Hilfe des Simulationsmodells INVAM für den Zeitraum Anfang April 2020 bis Ende März 2022 berechnet wurden, zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Projektteilflächen in Hausen, die zum Vergleich jeweils mit Düngemittel mit und ohne Ureasehemmstoff gedüngt wurden.

Eine abschließende Bewertung der Ureasehemmstoffe aus Sicht des Grundwasserschutzes ist derzeit nicht möglich, da keine Nachweisverfahren für Metaboliten von 2-NPT bekannt sind und diese erst noch entwickelt werden müssten. Dies wäre für eine umfassende und abschließende Bewertung der Ureasehemmstoffe erforderlich. Aufgrund der fehlenden Informationen zu möglichen Metaboliten der Ureasehemmstoffe kann derzeit aber auch nicht ausgeschlossen werden, dass abhängig von den Bedingungen im Boden (stabile) Metaboliten der Ureasehemmstoffe gebildet werden, die zusammen mit der Grundwasserneubildung aus dem Oberboden in tiefere Bereiche verlagert und bei den dann meist vorliegenden leicht durchlässigen Böden auch leicht weiter verlagert und ins Grundwasser eingetragen werden können. Eine Verlagerung aus dem Oberboden in den Unterboden wurde teils in den Felduntersuchungen und auch in den Lysimeteruntersuchungen für den Ureasehemmstoff 2-NPT beobachtet.

Die Anwendung von Düngemitteln mit dem Ureasehemmstoff 2-NPT ist aufgrund der aktuellen Befunde sowie den Wissenslücken zu möglichen Metaboliten und deren Verhalten in der Umwelt derzeit noch mit Risiken verbunden und deshalb nur mit Einschränkungen zu empfehlen. Dies betrifft beispielsweise die Empfehlung, entsprechende Düngemittel nicht großflächig in einem Was-

sereinzugsgebiet einzusetzen, solange die offenen Fragen noch nicht geklärt sind oder ein begleitendes Monitoring etabliert wurde. Die Reduzierung der Emissionen von Ammoniak, das als sogen. „indirektes Treibhausgas“ gilt, kann auch auf anderen Wegen erreicht werden. Die Anwendung der Depotdüngung (insbesondere in Körner- und Silomais) oder die sofortige Einarbeitung von Harnstoffdünger oder die Anwendung alternativer Dünger mit geringerem NH_3 -Bildungspotential weisen diese Risiken nicht auf und sollten nach derzeitigem Kenntnisstand bevorzugt werden.

10 Projekterkenntnisse

1.	<p>- Nach Zugabe des stabilisierten Düngers im Feld und in den Lysimetern sowie nach Zugabe der Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT in Mikrokosmen, konnte im Vergleich zu Kontrollversuchen ohne Hemmstoffe keine signifikante Beeinflussung der Mikrobiologie anhand der mikrobiologischen und molekularbiologischen Parameter nachgewiesen werden. Die dotierten Ureasehemmstoffe 2-NPT und NBPT lagen in den Mikrokosmen nach 50-150 Tagen immer noch über der Bestimmungsgrenze.</p>
2.	<p>- Für den Ureasehemmstoff 2-NPT wurde eine Verlagerung aus dem Oberboden in den Unterboden teils in den Feld- und den Lysimeteruntersuchungen beobachtet. Es kann derzeit nicht ausgeschlossen werden, dass Metaboliten der Ureasehemmstoffe gebildet werden, die aus dem Oberboden in tiefere Bereiche verlagert werden können.</p>
3.	<p>- Es wird empfohlen, entsprechende Düngemittel (mit Inhibitoren) nicht großflächig in einem Wassereinzugsgebiet einzusetzen. Die Reduzierung der Emissionen von Ammoniak, kann auch auf anderen Wegen erreicht werden. Die Anwendung der Depotdüngung oder die sofortige Einarbeitung von Harnstoffdünger oder die Anwendung alternativer Dünger sollten nach derzeitigem Kenntnisstand bevorzugt werden.</p>

11 Literaturverzeichnis

Ad-Hoc-AG Boden (2005): *Bodenkundliche Kartieranleitung*. 5. Aufl., 438 S., 41 Abb., 103 Tab., 31 Listen. Hannover.

AtMO Grand Est (Hg.) (2021): *Impact sur la qualité de l'air de l'usage de nouvelles techniques d'apport d'azote en comparaison des techniques classiques*. Projet INTERREG V – Innov.AR. REF : PROJ-EN-509 Indice 1.0. Online verfügbar unter https://agroecologie-rhin.eu/wp-content/uploads/2021/04/Innov.AR-Qualite-de-lair-Atmo_Grand-Est-2017-2020.pdf, zuletzt geprüft am 19.10.2022.

Baumgartner, N. (2020): Harnstoffdünger hemmen hilft. Ammoniakausgasung verhindern. In: *BWagrar* (7), S. 18–19.

Bru, D.; Sarr, A.; Philippot, L. (2007): Relative Abundances of Proteobacterial Membrane-Bound and Periplasmic Nitrate Reductases in Selected Environments. In: *Applied and Environmental Microbiology* 73 (18), S. 5971–5974. DOI: 10.1128/AEM.00643-07.

Bundesregierung (18.07.2018): *Dreiundvierzigste Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (Verordnung über nationale Verpflichtungen zur Reduktion der Emissionen bestimmter Luftschadstoffe - 43. BImSchV)*, 43. BImSchV. In: BGBl. I. Online verfügbar unter http://www.gesetze-im-internet.de/bimschv_43/43._BImSchV.pdf, zuletzt geprüft am 11.08.2022.

Byrne, Maria P.; Tobin, John T.; Forrestal, Patrick J.; Danaher, Martin; Nkwonta, Chikere G.; Richards, Karl et al. (2020): Urease and Nitrification Inhibitors—As Mitigation Tools for Greenhouse Gas Emissions in Sustainable Dairy Systems. A Review (*Sustainability*, 12).

Castellano-Hinojosa, Antonio; González-López, Jesús; Vallejo, Antonio; Bedmar, Eulogio J. (2020): Effect of urease and nitrification inhibitors on ammonia volatilization and abundance of N-cycling genes in an agricultural soil. In: *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 183 (1), S. 99–109. DOI: 10.1002/jpln.201900038.

DLG-Ausschuss für Pflanzenernährung (2022): *Hinweise zur Kalkdüngung*. DLG-Merkblatt 456. Hg. v. DLG e.V. Fachzentrum Landwirtschaft. Frankfurt am Main. Online verfügbar unter <https://www.dlg.org/de/landwirtschaft/themen/pflanzenbau/pflanzenernaehrung/dlg-merkblatt-456>.

Duff, Aoife M.; Forrestal, Patrick; Ikoyi, Israel; Brennan, Fiona (2022): Assessing the long-term impact of urease and nitrification inhibitor use on microbial community composition, diversity and function in grassland soil. In: *Soil Biology and Biochemistry* 170, S. 108709. DOI: 10.1016/j.soilbio.2022.108709.

DVWK (1996): *Ermittlung der Verdunstung von Land- und Wasserflächen DVWK Merkblätter zur Wasserwirtschaft* 238/1996.

ecoTech Umwelt-Meßsysteme GmbH (Hg.) (2015): *Bedienungsanleitung ecoTech-Laborlysimeter*. Online verfügbar unter www.ecoTech-Bonn.de.

Europäisches Parlament und Rat (14.12.2016): *Richtlinie (EU) 2016/2284 über die Reduktion der nationalen Emissionen bestimmter Luftschadstoffe, zur Änderung der Richtlinie 2003/35/EG und zur Aufhebung der Richtlinie 2001/81/EG*. RL EU 2016/2284. In: *Amtsblatt der Europäischen Uni-*

on. Online verfügbar unter <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016L2284>, zuletzt geprüft am 11.08.2022.

Fu, Qingling; Abadie, Maïder; Bland, Aimeric; Carswell, Alison; Misselbrook, Tom H.; Clark, Ian M.; Hirsch, Penny R. (2020): Effects of urease and nitrification inhibitors on soil N, nitrifier abundance and activity in a sandy loam soil. In: *Biology and fertility of soils* 56 (2), S. 185–194. DOI: 10.1007/s00374-019-01411-5.

Haas, Charles N. (1989): Estimation of microbial densities from dilution count experiments. In: *Applied and Environmental Microbiology* (8), S. 1934–1942. DOI: 10.1128/aem.55.8.1934-1942.1989.

Haenel, Hans-Dieter; Rösemann, Claus; Dämmgen, Ulrich; Döring, Ulrike; Wulf, Sebastian; Eurich-Menden, Brigitte et al. (2020): Calculations of gaseous and particulate emissions from German agriculture 1990 – 2018. Report on methods and data (RMD) Submission 2020. Thünen Report 77. Braunschweig: Johann Heinrich von Thünen-Institut.

Häußermann, Uwe; Bach, Martin; Breuer, Lutz; Döhler, Helmut (2019): Potenziale zur Minderung der Ammoniakemissionen in der deutschen Landwirtschaft. Berechnung der Minderungspotenziale von Maßnahmen im Bereich Landwirtschaft zur Reduktion der nationalen Ammoniakemissionen und Entwicklung von Szenarien zur Einhaltung der Reduktionsverpflichtungen der neuen NEC-Richtlinie. Texte 221/2020. Hg. v. Umweltbundesamt. Institut für Landschaftsökologie und Ressourcenmanagement, Justus-Liebig-Universität Gießen; DöhlerAgrar, Untermerzbach. Dessau-Roßlau. Online verfügbar unter <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen>, zuletzt geprüft am 20.10.2022.

Kooperation Hochschule Ansbach und University of applied sciences Weihenstephan Triesdorf (Hg.) (2022): Optimierung und Fertigung eines seriennahen Prototyps zur präzisen Platzierung von Flüssigsubstraten in Böden mit Prüfung der Effizienzsteigerung bei Stickstoff. - LiqInject® -. Biomasse-Institut, zuletzt geprüft am 19.10.2022.

Kübeck, Christine; Karges, Ursula; Sturm, Sebastian; Scheurer, Marco; Nödler, Karsten; Beisecker, Richard et al. (2022): Chancen und Risiken von Nitrifikations- und Ureaseinhibitoren für den Gewässerschutz - Abschlussbericht. DVGW INHIBIT; DVGW-Förderkennzeichen W 201917; zusätzlich gefördert durch OOWV, Harzwasserwerke, Stadtwerke Düsseldorf. Hg. v. DVGW. IWW Mülheim; TZW Karlsruhe, IfÖL Kassel, UBA Berlin. Bonn.

Lan, Ting; He, Xiaoqian; Wang, Qi; Deng, Ouping; Zhou, Wei; Luo, Ling et al. (2022a): Synergistic effects of biological nitrification inhibitor, urease inhibitor, and biochar on NH₃ volatilization, N leaching, and nitrogen use efficiency in a calcareous soil–wheat system. In: *Applied Soil Ecology* 174 (8), S. 104412. DOI: 10.1016/j.apsoil.2022.104412.

Lan, Ting; Huang, Yuxiao; Song, Xi; Deng, Ouping; Zhou, Wei; Luo, Ling et al. (2022b): Biological nitrification inhibitor co-application with urease inhibitor or biochar yield different synergistic interaction effects on NH₃ volatilization, N leaching, and N use efficiency in a calcareous soil under rice cropping. In: *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 293, S. 118499. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.118499.

Liu, Churong; Zhang, Yushi; Liu, Hongrun; Liu, Xueqing; Ren, Danyang; Wang, Ligang et al. (2022): Fertilizer stabilizers reduce nitrous oxide emissions from agricultural soil by targeting

microbial nitrogen transformations. In: *The Science of the total environment* 806 (Pt 3), S. 151225. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.151225.

Luchibia, Aineah Obed; Suter, Helen; Hu, Hang-Wei; Lam, Shu Kee; He, Ji-Zheng (2020): Responses of ureolytic and nitrifying microbes to urease and nitrification inhibitors in selected agricultural soils in Victoria, Australia. In: *J Soils Sediments* 20 (3), S. 1309–1322. DOI: 10.1007/s11368-020-02562-x.

Luchibia, Aineah Obed; Suter, Helen; Lam, Shu Kee; Menhenett, Lee; He, Ji-Zheng (2021): Temporal response of ureolytic and ammonia-oxidizing microbes and pasture yield to urea and NBPT at Leigh Creek of Victoria in Australia. In: *Applied Soil Ecology* 164, S. 103922. DOI: 10.1016/j.apsoil.2021.103922.

Meng, Xiangtian; Li, Yaying; Yao, Huaiying; Wang, Juan; Dai, Feng; Wu, Yuping; Chapman, Stephen (2020): Nitrification and urease inhibitors improve rice nitrogen uptake and prevent denitrification in alkaline paddy soil. In: *Applied Soil Ecology* 154, S. 103665. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103665.

Montoya, Mónica; Vallejo, Antonio; Corrochano-Monsalve, Mario; Aguilera, Eduardo; Sanz-Cobena, Alberto; Ginés, Celia et al. (2021): Mitigation of yield-scaled nitrous oxide emissions and global warming potential in an oilseed rape crop through N source management. In: *Journal of environmental management* 288, S. 112304. DOI: 10.1016/j.jenvman.2021.112304.

Müller-Sämann, K. (2021): Abschlussbericht Verbundvorhaben: Optimierte Oberflächen zur Verbesserung der Effizienz innovativer Injektionsgeräte für Dünger (EffID) Teilprojekt 5., FKZ: 2818101515. Hg. v. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE).

Oliveira, Vinícius Almeida; Brasil, Eliana Paula Fernandes; Teixeira, Welldy Gonçalves; Santos, Felipe Corrêa Veloso dos; Silva, Atila Reis da (2021): Effects of Enhanced-Efficiency Nitrogen Fertilizers on Soil Microbial Biomass and Respiration in Tropical Soil Under Upland Rice Cultivation. In: *JAS* 13 (6), S. 31. DOI: 10.5539/jas.v13n6p31.

Osterburg, Bernhard; Fuß, Roland; Wulf, Sebastian (2018): Ammoniak geht alle an. In: *DLG-Mitteilungen* (4), S. 14–17.

Pan, Baobao; Lam, Shu Kee; Mosier, Arvin; Luo, Yiqi; Chen, Deli (2016): Ammonia volatilization from synthetic fertilizers and its mitigation strategies. A global synthesis. In: *Agriculture, Ecosystems & Environment* 232, S. 283–289. DOI: 10.1016/j.agee.2016.08.019.

Reineke, Walter; Schlömann, Michael (2015): *Umweltmikrobiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Rohmann, U. (1996): Nitratrestgehalte von Böden unter verschiedenen Nutzungsbedingungen und standortabhängige Nitrat Auswaschung. Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser Karlsruhe (TZW) 1, S. 51–69.

Rohmann, U.; Sontheimer, H. (1985): Nitrat im Grundwasser. Ursachen, Bedeutung, Lösungswege. Karlsruhe: DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut der Universität Karlsruhe (TH).

Rotthauwe, Jan-Heinrich; Witzel, Karl-Paul; Liesack, Werner (1997): The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker. Molecular fine-scale analysis of natural ammonia-

- oxidizing populations. In: *Applied and Environmental Microbiology* 63 (12), S. 4704–4712. DOI: 10.1128/aem.63.12.4704-4712.1997.
- Scheurer, Marco; Brauch, Heinz-Jürgen; Schmidt, Carsten K.; Sacher, Frank (2016): Occurrence and fate of nitrification and urease inhibitors in the aquatic environment. In: *Environmental Science: Processes & Impacts* 18 (8), S. 999–1010, zuletzt geprüft am 20.10.2022.
- Schmidt, K. R.; Tiehm, A. (2011): Natural attenuation am Chlorethen-Standort Frankenthal. Bedeutung des sequentiell anaeroben-aeroben Bio-Abbaus. In: *altlastenspektrum* (5), S. 212–219.
- Sturm, Sebastian; Kiefer, Joachim; Rödelberger, M. (2004): Validierung und Weiterentwicklung eines standortunabhängigen Bodenkontrollverfahrens in Kombination mit einfachen Nitratauswaschungs-Modellrechnungen zur quantitativen Ermittlung der Nitratauswaschung aus Böden durch vergleichende Anwendung verschiedener Methoden der Bodenwasser- und Sickerwasseruntersuchung. In: *Veröffentlichungen aus dem DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe (TZW)*.
- Tao, Rui; Li, Jun; Hu, Baowei; Chu, Guixin (2021): Mitigating N₂O emission by synthetic inhibitors mixed with urea and cattle manure application via inhibiting ammonia-oxidizing bacteria, but not archaea, in a calcareous soil. In: *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)* 273, S. 116478. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.116478.
- Tiehm, A.; Schmidt, K. R. (2007): *Methods to evaluate biodegradation at contaminated sites*. Berlin Heidelberg: Springer ISBN: 978-3-540-74669-0.
- Tosi, Micaela; Brown, Shannon; Ferrari Machado, Pedro Vitor; Wagner-Riddle, Claudia; Dunfield, Kari (2020): Short-term response of soil N-cycling genes and transcripts to fertilization with nitrification and urease inhibitors, and relationship with field-scale N₂O emissions. In: *Soil Biology and Biochemistry* 142, S. 107703. DOI: 10.1016/j.soilbio.2019.107703.
- Umweltbundesamt (Hg.) (2022): Lachgas und Methan. Online verfügbar unter <https://www.umweltbundesamt.de/themen/boden-landwirtschaft/umweltbelastungen-der-landwirtschaft/lachgas-methan>, zuletzt aktualisiert am 22.06.2022, zuletzt geprüft am 24.10.2022.
- Wissenschaftlicher Beirat Agrarpolitik, Ernährung und gesundheitlicher Verbraucherschutz und Wissenschaftlicher Beirat Waldpolitik beim BMEL (Hg.) (2016): *Klimaschutz in der Land- und Forstwirtschaft sowie den nachgelagerten Bereichen Ernährung und Holzverwendung*. Gutachten. 2. Aufl. Berlin. Online verfügbar unter https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/_Ministerium/Beiraete/agrarpolitik/Klimaschutzgutachten_2016.pdf?__blob=publicationFile&v=3, zuletzt geprüft am 24.10.2022.
- Yara (2022): *Stickstoffumsetzung im Boden*. Hg. v. Yara GmbH & Co KG. Dülmen. Online verfügbar unter <https://www.yara.de/pflanzenernaehrung/pure-nutrient/einfuehrung-nitratduenger/stickstoffumsetzung-im-boden/>, zuletzt geprüft am 17.10.2022.

12 Anlagen: Abbildungen A1-A23

Abbildungsübersicht

Abbildung A1:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche HUI18 (mit Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021	80
Abbildung A2:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche H18 (ohne Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021	80
Abbildung A3:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche HUI18 (mit Ureasehemmstoff) in den Jahren 2021 u. 2022	81
Abbildung A4:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche H18 (ohne Ureasehemmstoff) in den Jahren 2021 u. 2022	81
Abbildung A5:	Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H18 in den Jahren 2020 - 2021	82
Abbildung A6:	Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H18 in den Jahren 2021-2022	82
Abbildung A7:	Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI18 in den Jahren 2020 - 2021	83
Abbildung A8:	Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI18 in den Jahren 2021 – 2022	83
Abbildung A9:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche HUI 2811 (mit Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021	84
Abbildung A10:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche H 2811 (ohne Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021	84
Abbildung A11:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche HUI 2811 (mit Ureasehemmstoff) in den Jahren 2021 u. 2022	85
Abbildung A12:	Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche H 2811 (ohne Ureasehemmstoff) in den Jahren 2021 u. 2022	85
Abbildung A13:	Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H2811 in den Jahren 2020 - 2021	86
Abbildung A14:	Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H2811 in den Jahren 2021 - 2022	86

Abbildung A15: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI2811 in den Jahren 2020 - 2021	87
Abbildung A16: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI2811 in den Jahren 2021-2022	87
Abbildung A17: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 740 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais/ZF Senf-Hafer-Wi-Weizen)	88
Abbildung A18: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 1208 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais/ZF Senf - Hafer – Wi-Weizen)	88
Abbildung A19: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 461 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais – Klee gras ab 09/2020)	89
Abbildung A20: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 1209 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais – Wi-Gerste-Klee gras ab 07/2021)	89
Abbildung A21: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 1210 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais – Wi-Gerste – Klee gras ab 07/2021)	90
Abbildung A22: Entwicklung der pH-Werte im Sickerwasser der Lysimeter 1, 3 und 4 von Anfang Dezember 2021 bis Anfang Juli 2022 in Tiefe 2 (15 cm)	91
Abbildung A23: Entwicklung des Redoxpotentials im Sickerwasser der Lysimeter 1 bis 4 von Anfang Dezember 2021 bis Anfang Juli 2022 in den Tiefen T1 (7,5 cm) und T2 (15 cm)	91

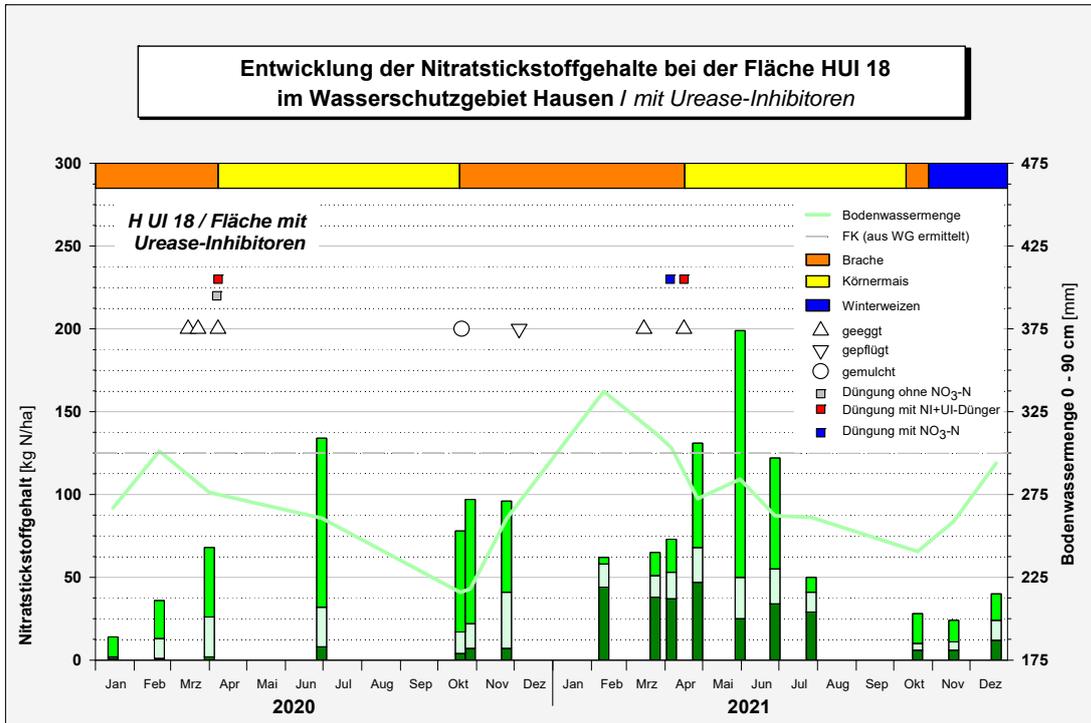


Abbildung A1: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche HUI18 (mit Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021

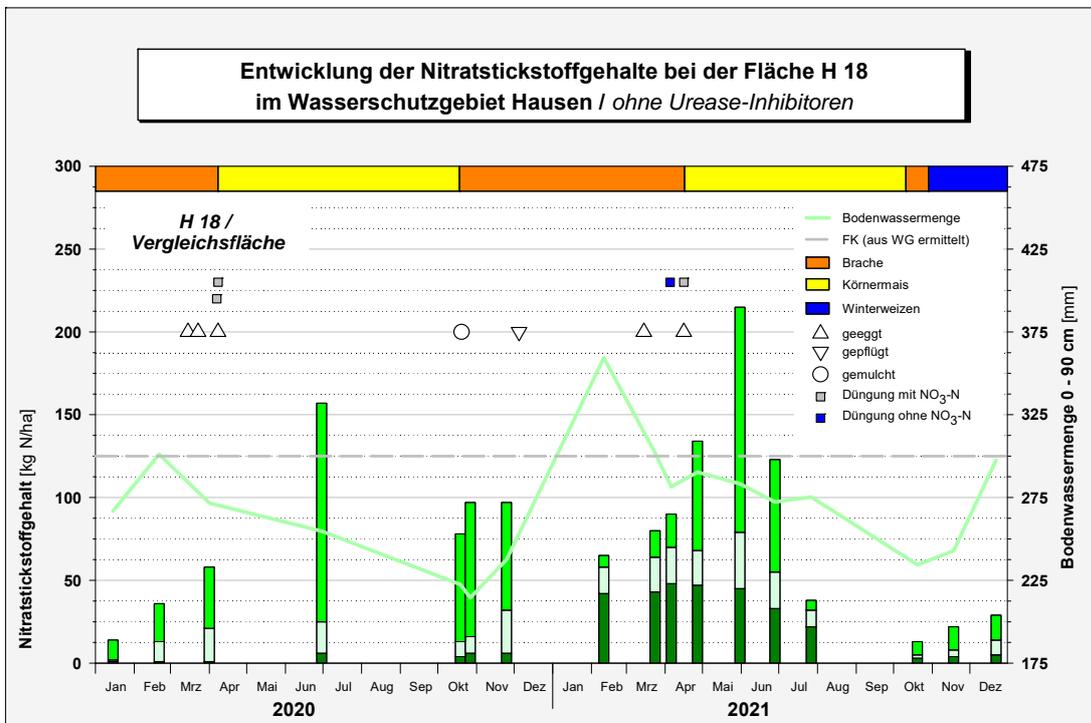


Abbildung A2: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche H18 (ohne Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021

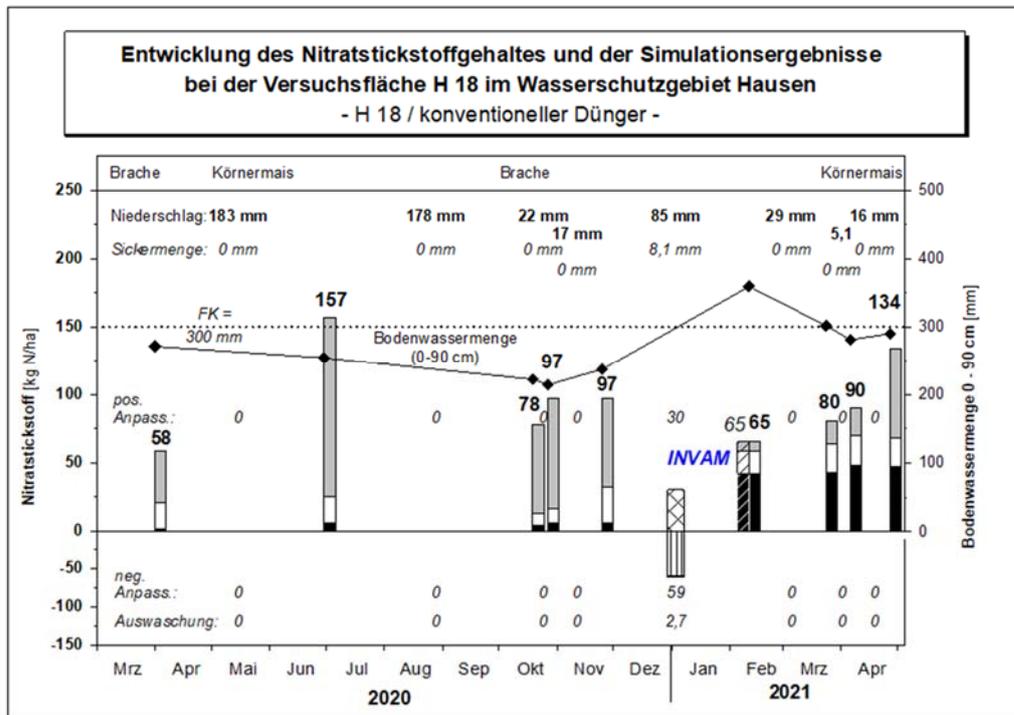


Abbildung A5: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H18 in den Jahren 2020 - 2021

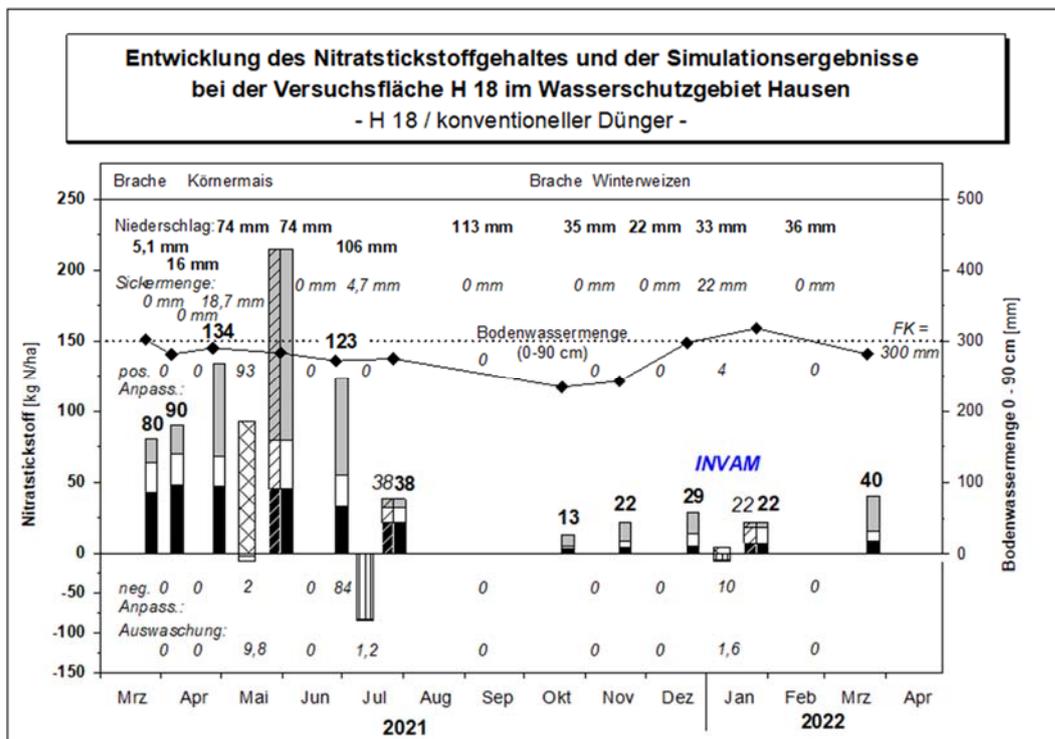


Abbildung A6: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H18 in den Jahren 2021-2022

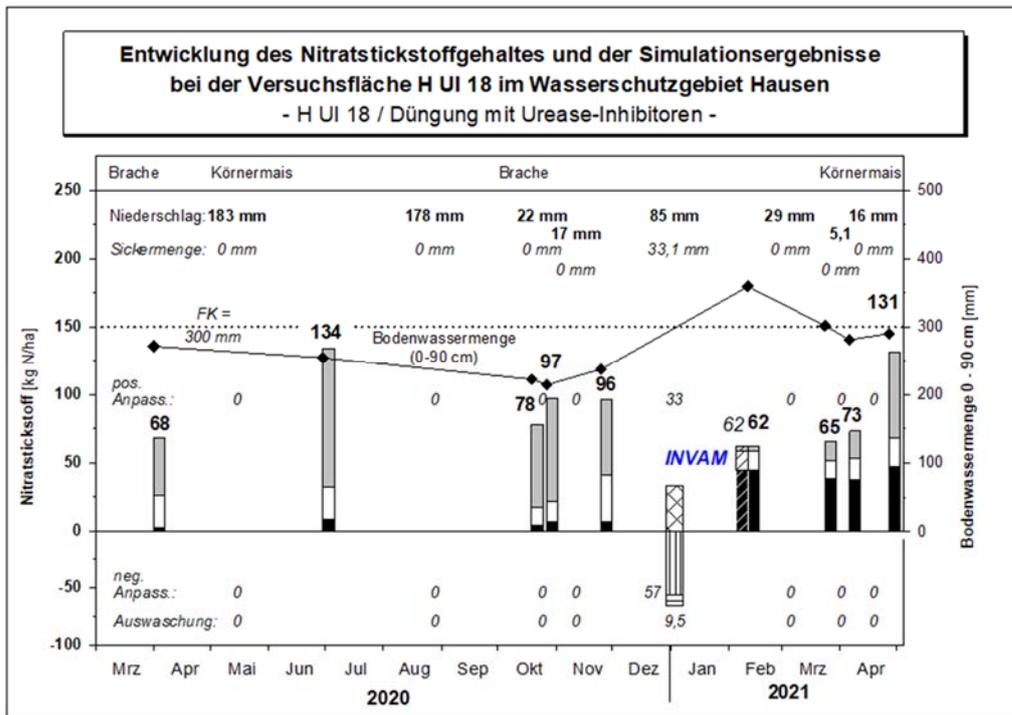


Abbildung A7: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI18 in den Jahren 2020 - 2021

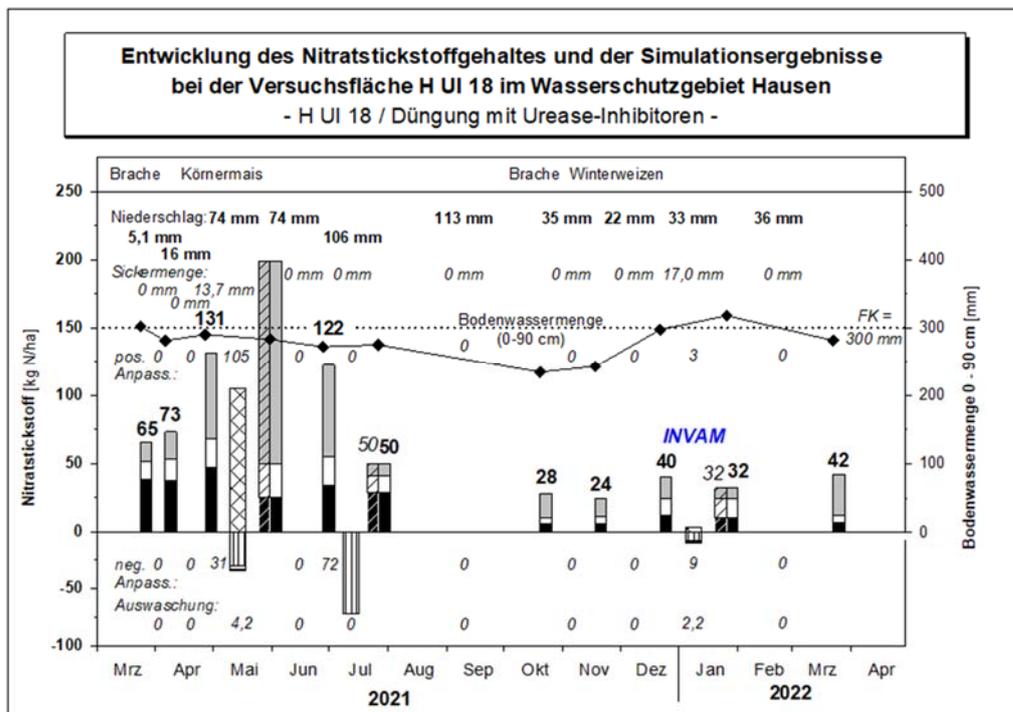


Abbildung A8: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI18 in den Jahren 2021 - 2022

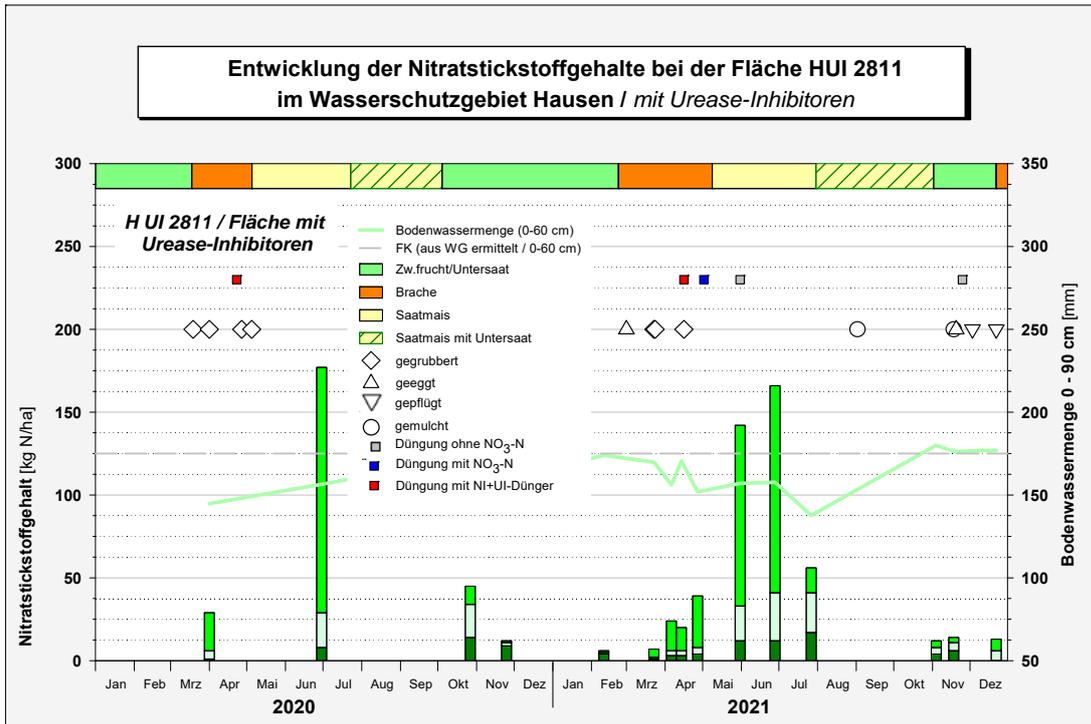


Abbildung A9: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche HUI 2811 (mit Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021

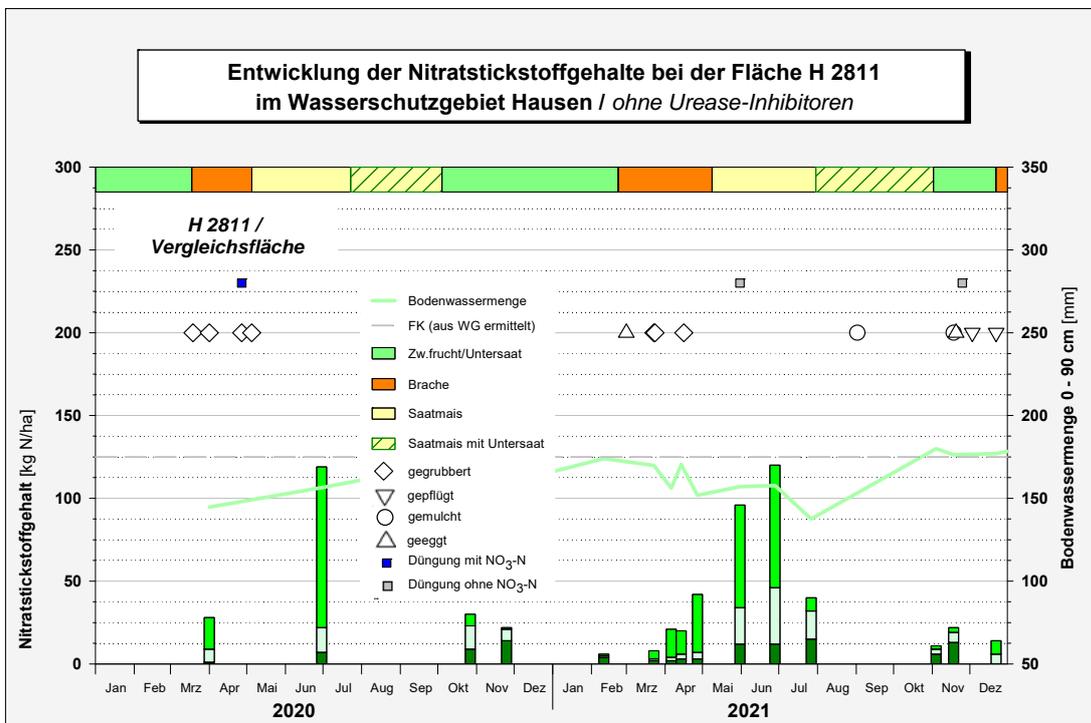


Abbildung A10: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche H 2811 (ohne Ureasehemmstoff) in den Jahren 2020 u. 2021

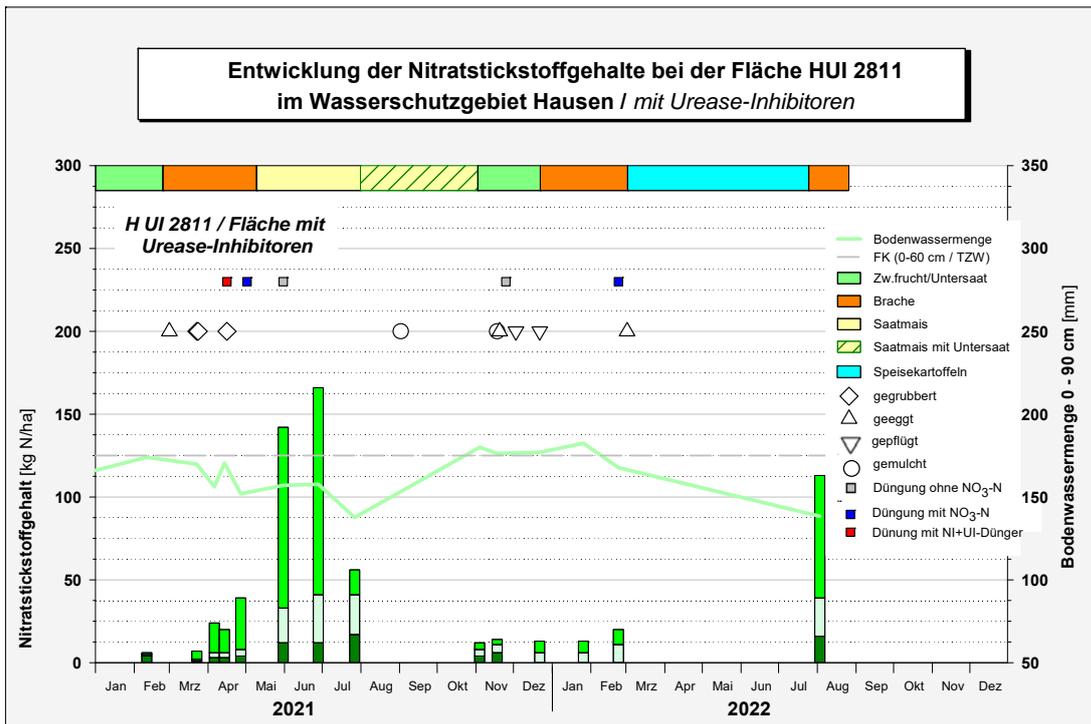


Abbildung A11: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche HUI 2811 (mit Ureasehemmstoff) in den Jahren 2021 u. 2022

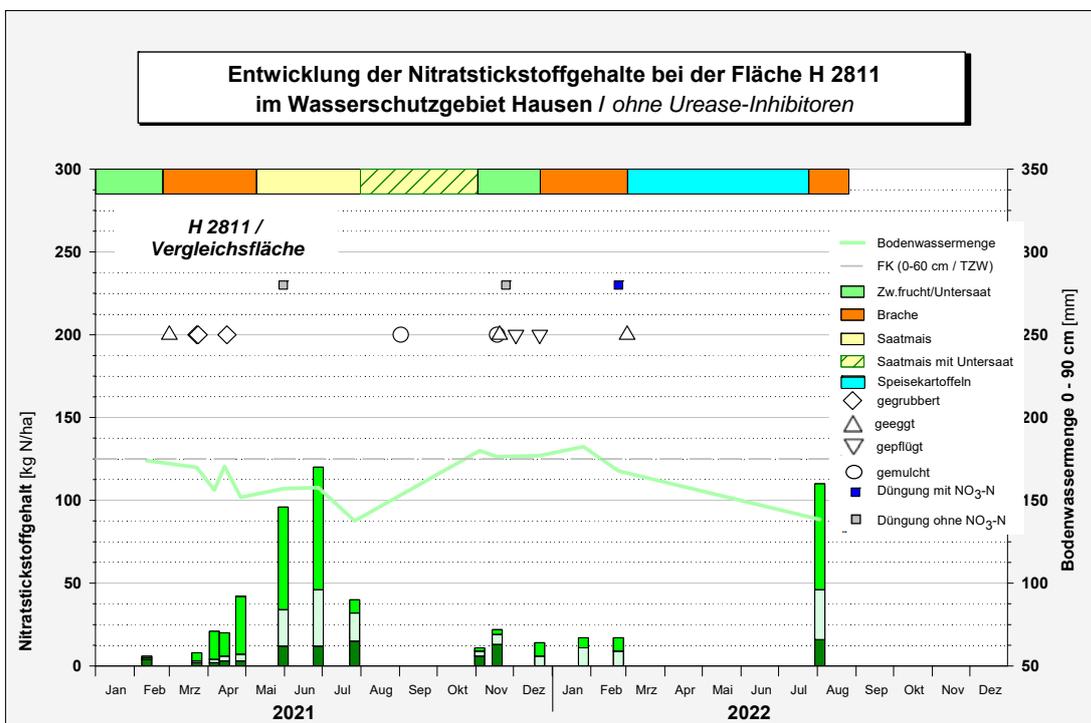


Abbildung A12: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche H 2811 (ohne Ureasehemmstoff) in den Jahren 2021 u. 2022

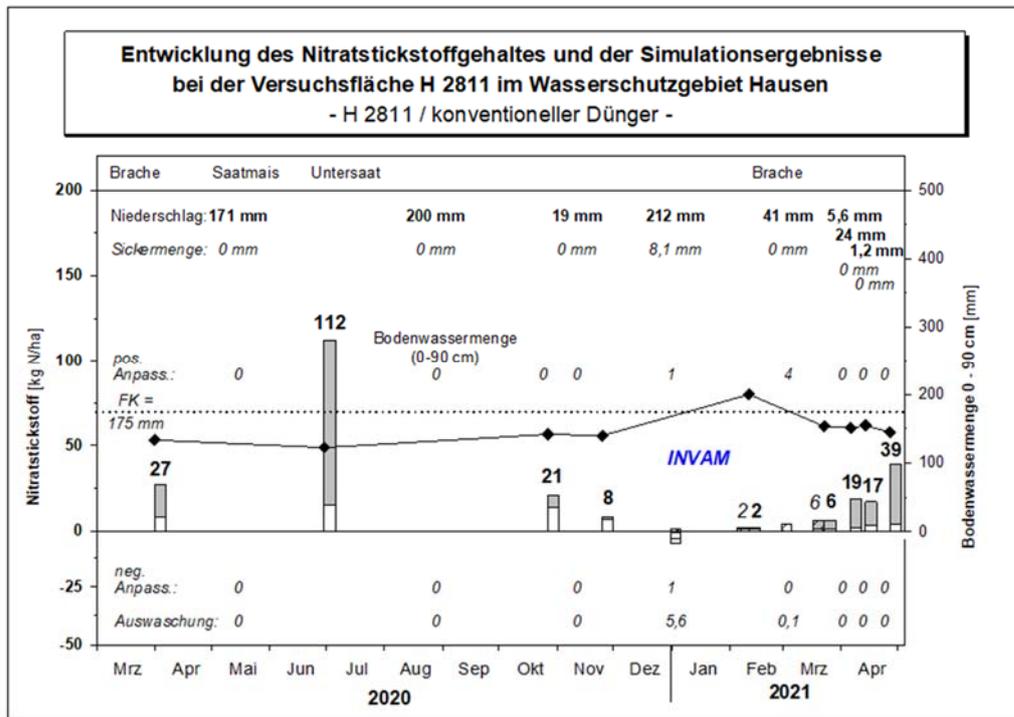


Abbildung A13: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H2811 in den Jahren 2020 - 2021

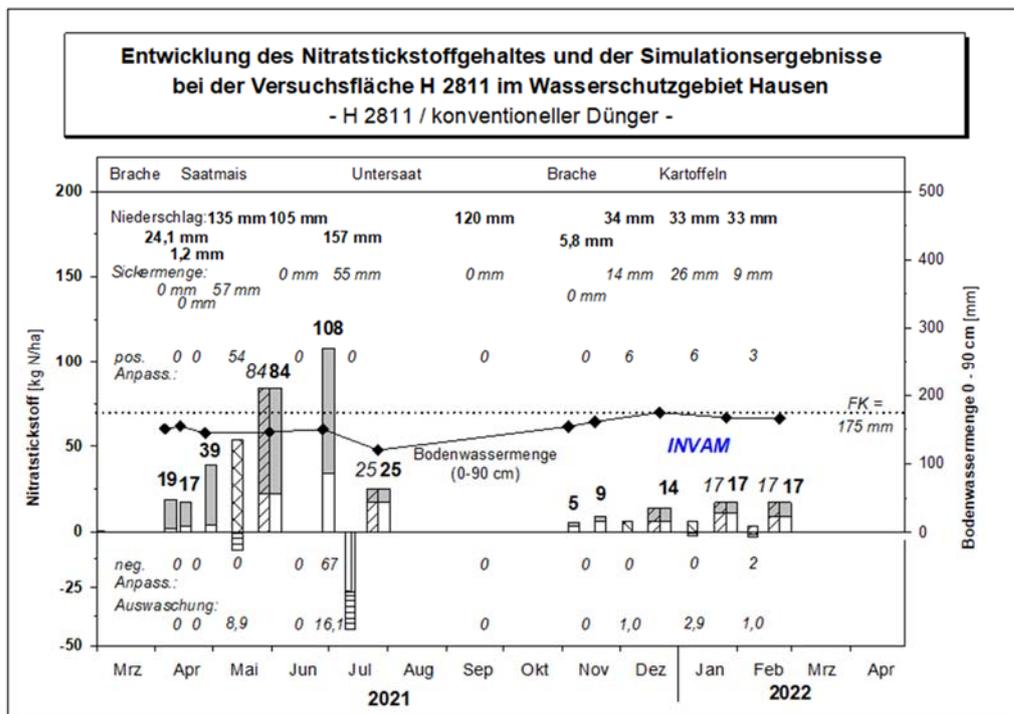


Abbildung A14: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche H2811 in den Jahren 2021 - 2022

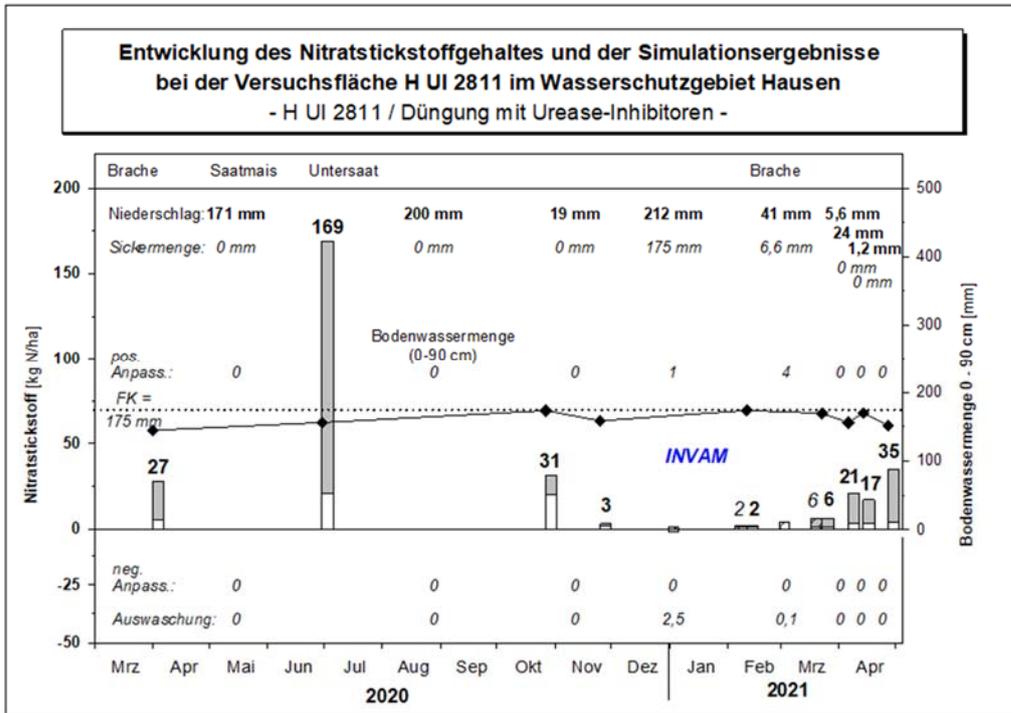


Abbildung A15: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI2811 in den Jahren 2020 - 2021

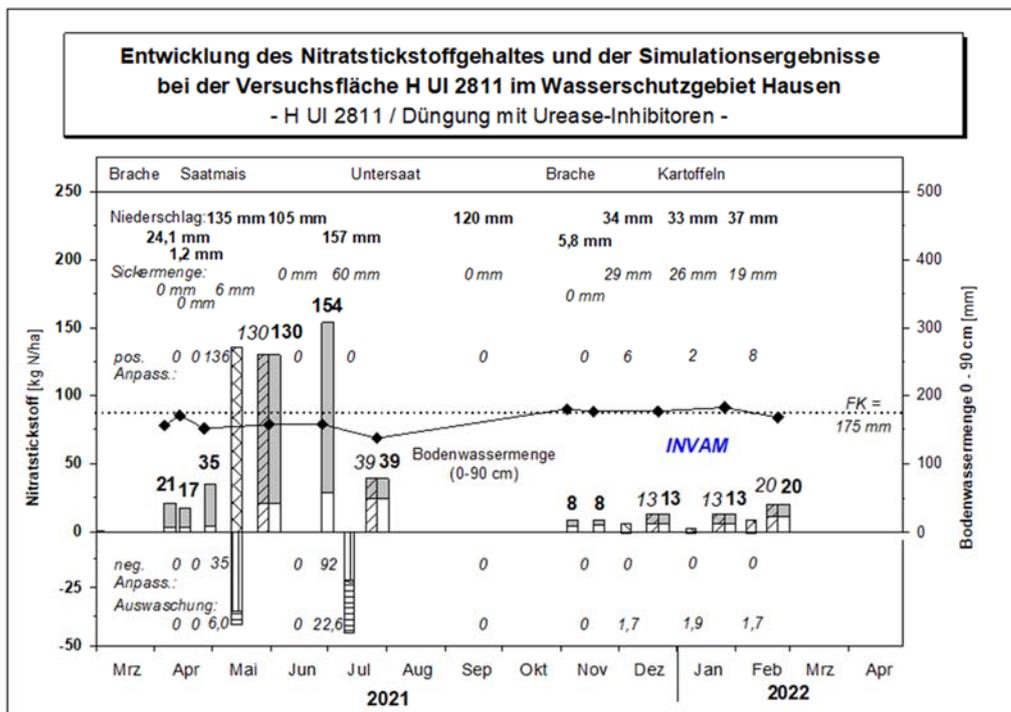


Abbildung A16: Ergebnisse der Auswaschungsmodellberechnungen (INVAM) für die Fläche HUI2811 in den Jahren 2021-2022

E UI 740

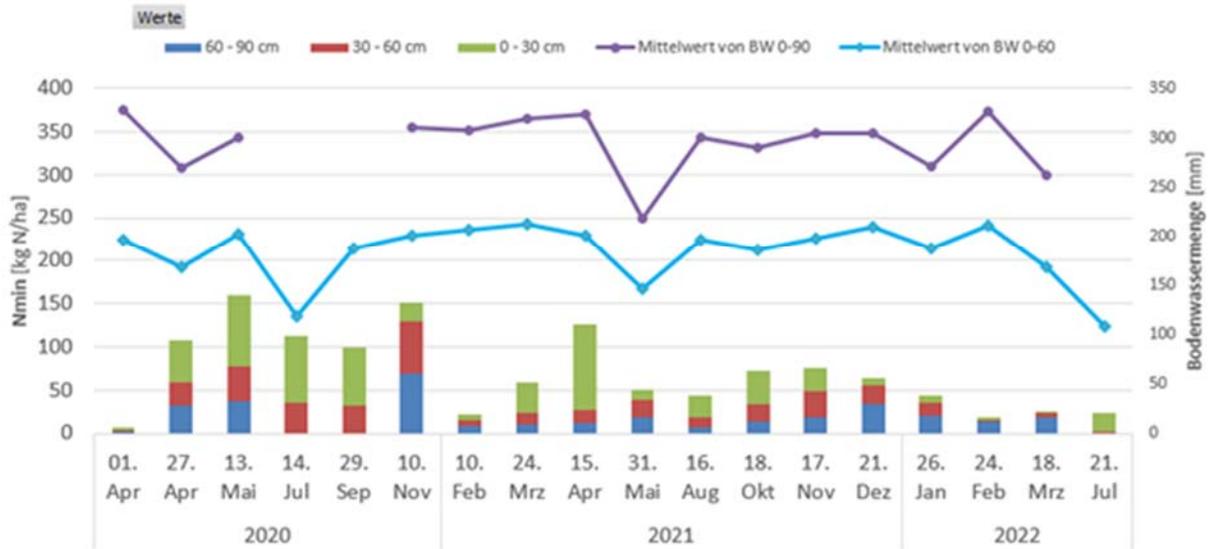


Abbildung A17: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 740 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais/ZF Senf-Hafer-Wi-Weizen)

E UI 1208

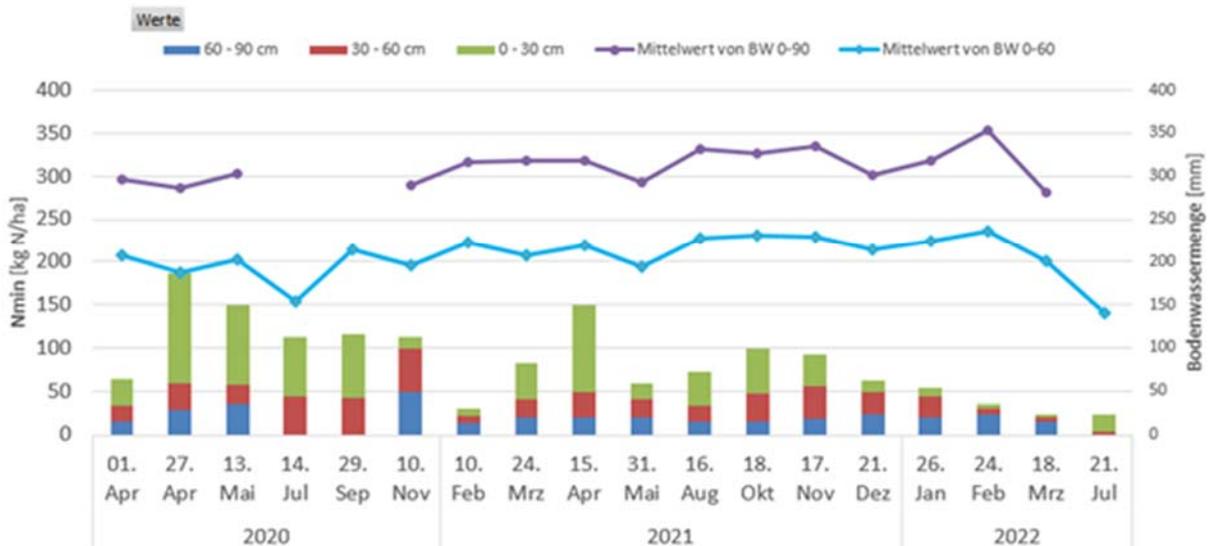


Abbildung A18: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 1208 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais/ZF Senf - Hafer - Wi-Weizen)

E UI 461

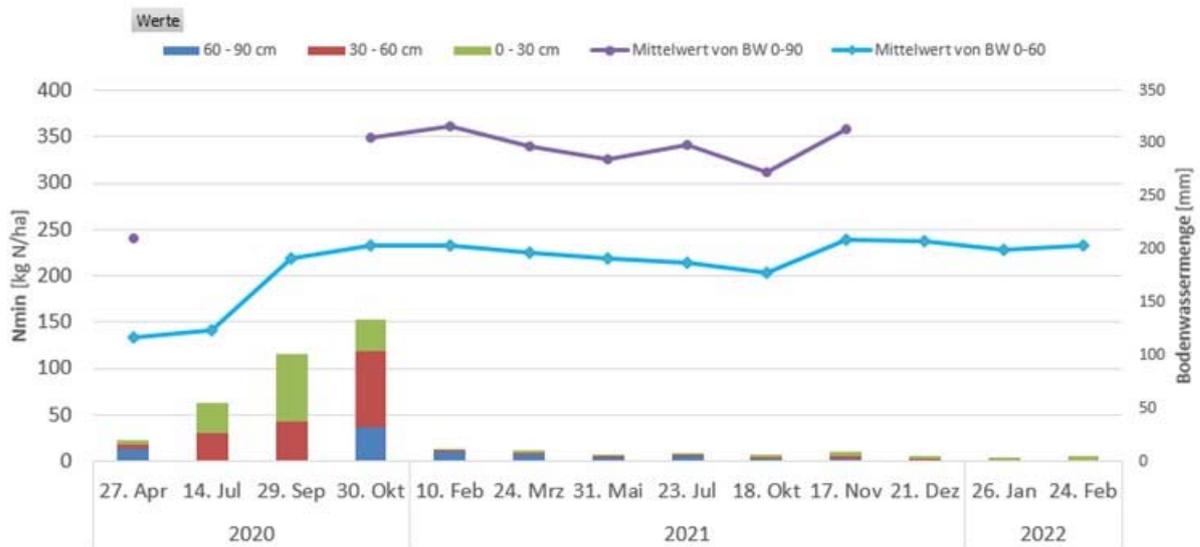


Abbildung A19: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 461 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais – Klee gras ab 09/2020)

E UI 1209

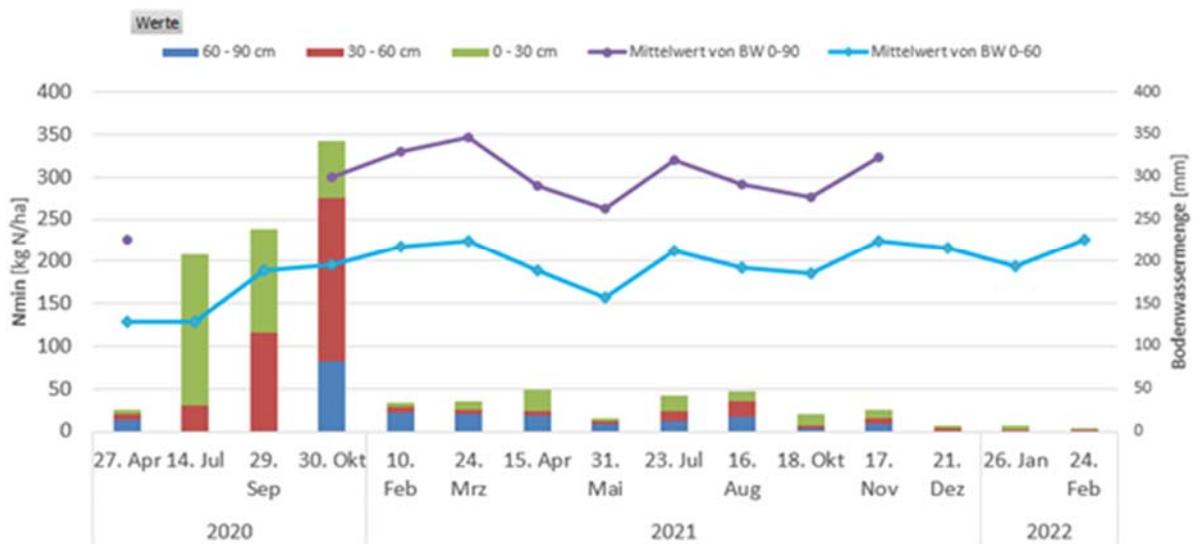


Abbildung A20: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 1209 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais – Wi-Gerste-Klee gras ab 07/2021)

E UI 1210

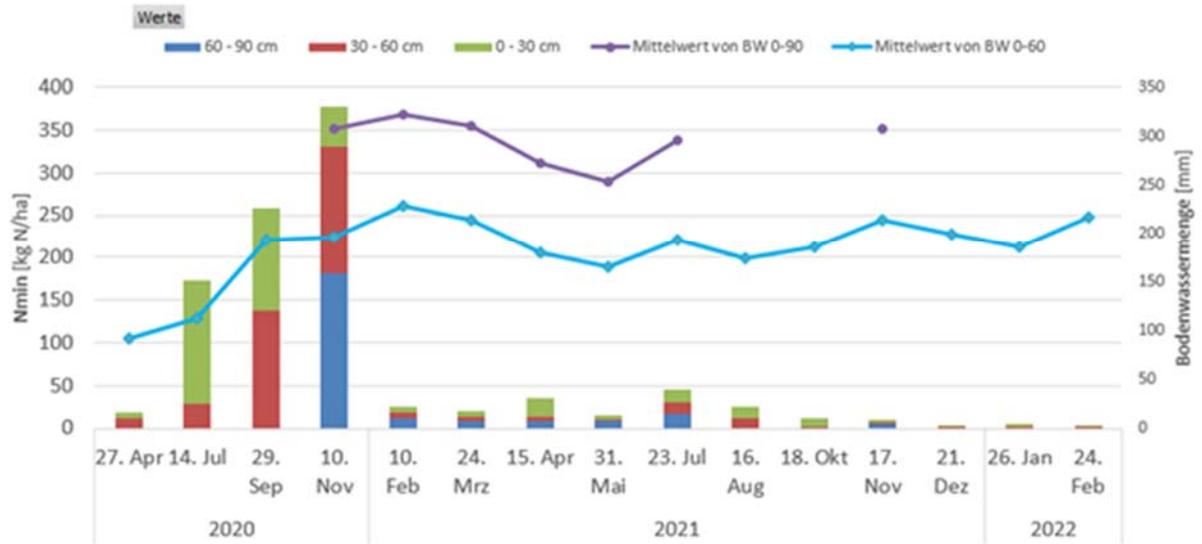


Abbildung A21: Nitratstickstoff- und Wassergehalte für die Fläche EUI 1210 (mit Ureasehemmstoff) von 2020-2022 (Silomais – Wi-Gerste – Klee gras ab 07/2021)

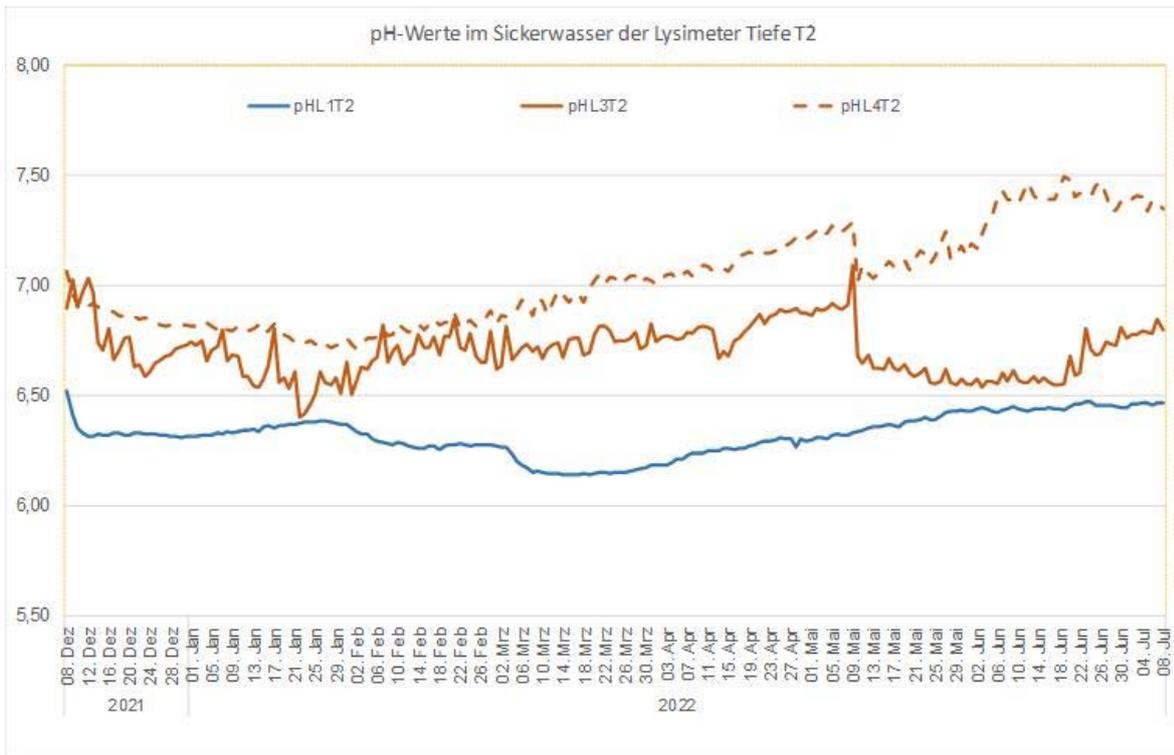


Abbildung A22: Entwicklung der pH-Werte im Sickerwasser der Lysimeter 1, 3 und 4 von Anfang Dezember 2021 bis Anfang Juli 2022 in Tiefe 2 (15 cm)

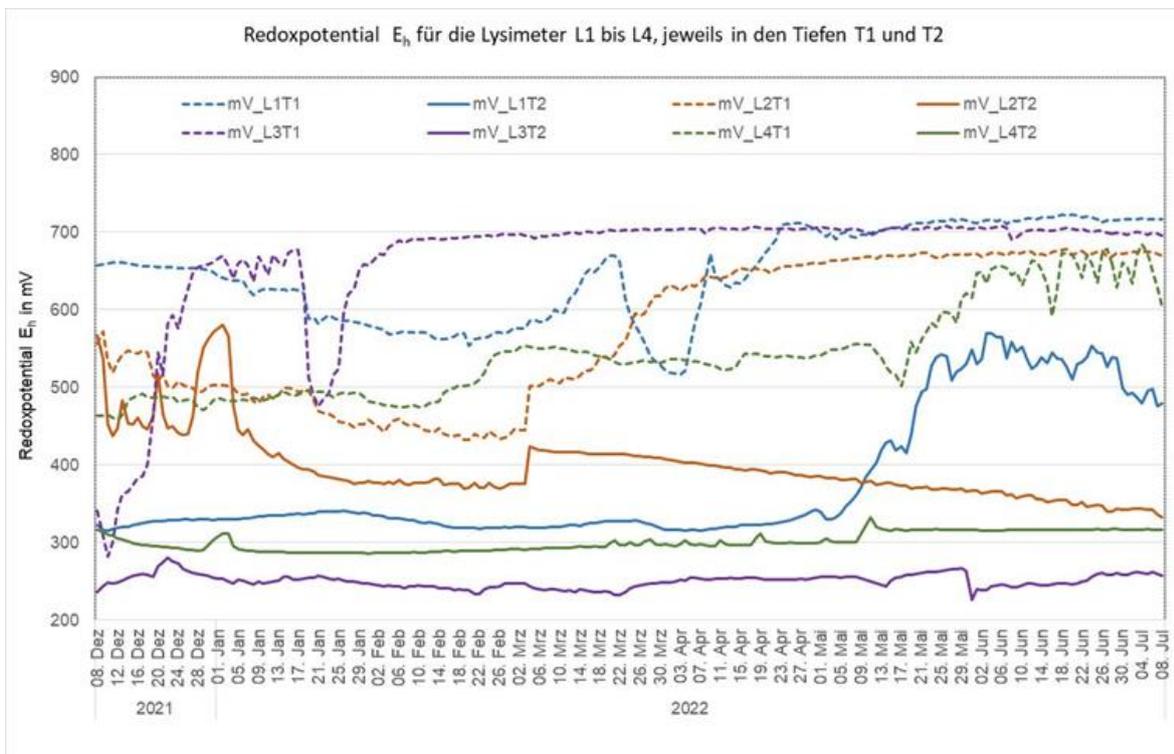


Abbildung A23: Entwicklung des Redoxpotentials im Sickerwasser der Lysimeter 1 bis 4 von Anfang Dezember 2021 bis Anfang Juli 2022 in den Tiefen T1 (7,5 cm) und T2 (15 cm)

13 Anlagen: Tabellen B1-B2

Tabelle B1

Ergebnisse der Analysen von Bodenproben auf UI/NI; Werte in Klammern sind über der Nachweisgrenze aber unter der Bestimmungsgrenze

Datum	Fläche	DCD	1,2,4-Triazol	3,4-Dimethylpyrazol	3-MP	2-NPT	NBPT
		µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg
Bestimmungsgrenze BG		0,7	0,7	0,7/0,6	1,5	0,7	1
01.04.2020	H2811 0-30 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	H2811 30-60 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	H2811 60-90 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	HUI2811 0-30 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	HUI2811 30-60 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	HUI2811 60-90 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	H18 0-30 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	H18 30-60 cm	< BG	0,91	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	H18 60-90 cm	< BG	0,77	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	HUI18 0-30 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	HUI18 30-60 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
01.04.2020	HUI18 60-90 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
Düngung 2020							
30.06.2020	H2811 0-30 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	H2811 30-60 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	H2811 60-90 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	HUI2811 0-30 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	HUI2811 30-60 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	HUI2811 60-90 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	H18 0-30 cm	< BG	0,84	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	H18 30-60 cm	< BG	1,10	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	H18 60-90 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	HUI18 0-30 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	HUI18 30-60 cm	< BG	0,7	< BG	< BG	< BG	< BG
30.06.2020	HUI18 60-90 cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
10.02.2021	EUI 461	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
10.02.2021	EUI 1208	< BG	0,95	< BG	< BG	< BG	< BG
10.02.2021	EUI 1209	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
10.02.2021	EUI 1210	< BG	0,78	< BG	< BG	< BG	< BG
03.03.2021	Düngung 2021 Ebnet						
09.03.2021	EUI 740	< BG	< BG	< BG	2,5	2,1	< BG
09.03.2021	EUI 1208	< BG	0,85	< BG	< BG	< BG	< BG
09.03.2021	EUI 1209	< BG	< BG	< BG	< BG	7,2	< BG
09.03.2021	EUI 1210	< BG	< BG	< BG	< BG	2,8	< BG
06.04.2021	HUI 18	< BG	0,75	< BG	< BG	< BG	< BG
06.04.2021	HUI 2811	< BG	(0,28)	< BG	< BG	< BG	< BG
16.04.2021	Düngung 2021 Hausen						
20.04.2021	HUI 18 30cm	< BG	(0,67)	< BG	(0,78)	2,35	< BG
20.04.2021	HUI 2811 30cm	< BG	(0,47)	< BG	5,02	10,8	< BG
20.04.2021	H 18 30cm	< BG	(0,58)	< BG	< BG	(0,24)	< BG
20.04.2021	H 2811 30cm	< BG	(0,37)	< BG	< BG	< BG	< BG
27.04.2021	H 2811 30cm	< BG	(0,72)	< BG	< BG	< BG	< BG
27.04.2021	HUI 2811 30cm	< BG	(0,65)	< BG	(1,28)	1,98	< BG
27.04.2021	H 18 30cm	< BG	1,04	< BG	< BG	< BG	< BG
27.04.2021	HUI 18 30cm	< BG	0,76	< BG	3,47	5,08	< BG
31.05.2021	H 2811 30cm	< BG	(0,25)	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	H 2811 60cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	H 2811 90cm	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	HUI 2811 30cm	< BG	(0,39)	(0,17)	< BG	(0,21)	< BG
31.05.2021	HUI 2811 60cm	< BG	(0,19)	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	HUI 2811 90cm	< BG	(0,2)	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	H 18 30cm	< BG	0,94	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	H 18 60cm	< BG	1,38	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	H 18 90cm	< BG	1,0	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	HUI 18 30cm	< BG	0,73	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	HUI 18 60cm	< BG	1,03	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	HUI 18 90cm	< BG	0,90	< BG	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	EUI 1208 30cm	< BG	(0,49)	(0,35)	< BG	< BG	< BG
31.05.2021	EUI 740 30cm	< BG	(0,35)	(0,23)	< BG	< BG	< BG
06.04.2022	HUI 18 0-30 cm	< BG	0,84	< BG	4,2	17,8	< BG
12.04.2022	HUI 18 0-30 cm	< BG	0,79	< BG	4,1	18,6	< BG
12.04.2022	HUI 18 30-60 cm	< BG	1,2	< BG	< BG	1,6	< BG

Tabelle B2

MPN-Ergebnisse der Bodeneluat der vier Lysimeter unterteilt in drei Horizonte für die Gesamtkeimzahl (GKZ), Denitrifizierer (Deni), Harnstoffverwerter (Urea), Ammoniumoxidierer (NH₄) und Nitritoxidierer (NO₂)

Probe	GKZ	Deni	Urease	NH ₄	NO ₂
	Keimzahl/g [Trockensubstanz]				
L1_0-10cm	1,03E+07	1,58E+05	6,61E+04	3,31E+04	7,04E+04
L1_10-20cm	5,24E+06	1,87E+05	8,99E+04	2,87E+04	6,12E+04
L1_20-30cm	1,05E+07	9,82E+05	7,63E+04	6,68E+04	6,68E+04
L2_0-10cm	3,37E+06	5,44E+04	3,37E+04	2,98E+05	4,27E+04
L2_10-20cm	1,45E+07	7,52E+04	6,07E+04	4,35E+05	4,35E+04
L2_20-30cm	7,02E+06	9,65E+05	5,77E+04	4,14E+05	6,14E+04
L3_0-10cm	1,17E+07	4,46E+05	1,70E+04	3,51E+05	1,49E+05
L3_10-20cm	1,77E+07	4,65E+05	3,98E+03	3,65E+04	5,42E+04
L3_20-30cm	5,45E+06	3,02E+05	4,47E+04	4,77E+03	1,26E+04
L4_0-10cm	3,08E+07	3,67E+05	5,44E+04	3,90E+04	1,30E+05
L4_10-20cm	1,31E+07	8,56E+05	4,28E+04	5,83E+04	2,74E+04
L4_20-30cm	4,97E+07	1,89E+05	5,45E+04	5,80E+04	2,72E+04