# academia 🔊

Forschungsgruppe der Kanti Wattwil

# Forschungsbericht 2024 Val Bregaglia (GR)





# Projektbericht academia-Studienwoche Val Bregaglia (GR) 1.9. – 9.9.2024

#### **Einleitung**

Nach dem Grossprojekt 2023 in Finnland stand in diesem Jahr wieder ein Lager in der Schweiz im Fokus. Bei der üblichen, spannenden Suche nach einem Lagerort entschieden wir uns schliesslich für die Villa Pia in Vicosoprano (Abb. 1). Das geräumige und praktische Lagerhaus befindet sich im Bündner Südtal Val Bregaglia und bot damit klimatisch wie ökologisch einen guten Kontrast zu den moorigen Wäldern Finnlands. Mit dem Oberengadin in Fahrdistanz und einem grossen Höhengradienten bis ins nahe Italien bietet das Val Bregaglia eine Vielfalt von Möglichkeiten für naturwissenschaftliche Projektideen. Über diese Ideen und ihre Umsetzung möchten wir Sie in diesem Forschungsbericht informieren.





**Abb. 1:** Kurz nach Eintreffen in Vicosoprano in der Villa Pia (links) wurde die **academia**-Flagge gehisst als Zeichen dafür, dass das Forschungslager begonnen hat (rechts).

## Geographie

Das Bergell ist ein eindrucksvolles Tal im Kanton Graubünden, Schweiz, das sich zwischen hohen Alpenbergen wie dem Piz Badile und dem Piz Cengalo erstreckt. Am Passo del Maloja (1812 m ü. M., Oberengadin) beginnend fällt das Tal in (süd-)westlicher Richtung zunächst steil ab, um dann langsamer abfallend in Chiavenna (333 m ü. M., Norditalien) zu enden. Die topografische Lage ist geprägt von steilen Hängen, tiefen Schluchten und sanften Almwiesen, die eine abwechslungsreiche Landschaft schaffen. Die Bevölkerung des Bergells ist klein und lebt in traditionellen Dörfern wie Soglio und Bondo, wo die enge Verbindung zur Natur und die Pflege kultureller Traditionen stark ausgeprägt sind.

Das Klima des Bergells ist stark von seiner alpinen Lage bestimmt und weist charakteristische Merkmale auf, die die Region zu einem einzigartigen Naturraum machen. Die Höhenlage des Tals führt zu kalten, schneereichen Wintern. Die Sommer sind hingegen mild und können in den tieferen Lagen angenehm warm werden, wobei die Niederschläge in dieser Zeit häufig sind. Diese klimatischen Bedingungen fördern eine vielfältige Vegetation, die von dichten Wäldern in den unteren Lagen bis hin zu alpinen Wiesen und Gletschervegetation in den höheren Regionen reicht. Die Wechselwirkungen zwischen den klimatischen Faktoren und der Topographie des Bergells schaffen ein dynamisches Ökosystem, das sowohl der Flora als auch der Fauna eine Vielzahl von Lebensräumen bietet.



Geologisch ist das Bergell von beeindruckenden Granit- und Gneisformationen geprägt, die durch jahrmillionenlange geologische Prozesse entstanden sind. Diese einzigartigen Merkmale machen das Bergell zu einem faszinierenden Ziel für Natur- und Kulturinteressierte.



**Abb. 2:** Das Val Bregaglia ist geprägt durch seine steilen Hänge und die malerischen Bergdörfer in herrlicher Lage.

#### Wissenschaft

Das letztjährige Projekt in Finnland zeigte im wissenschaftlichen Bereich Nachwirkungen. Zum einen führen Grossprojekte meistens dazu, dass durch die intensivere Beschäftigung mit den gewählten Themen neue Ideen entstehen und neue Herausforderungen auftauchen, die in der Folge angepackt werden können. Zum anderen waren wir im Zyklus 2023/2024 etwas später dran, weil das Finnland-Lager durch den Reisetermin in den Herbstferien mehr als einen Monat später stattfand als normal – mit den entsprechenden Konsequenzen für die Lagervorbereitung 2024. Wir beschlossen deshalb, die Anzahl Projekte in diesem Zyklus auf sieben zu reduzieren, mit teilweise etwas grösseren Projektgruppen.

Eines derjenigen Projekte, die im Jahr 2024 fortgeführt wurden, ist das Radioastronomie-Projekt. In Finnland wurde eine erste Messkampagne gestartet, um im Licht der 21 cm-Linie den neutralen Wasserstoff in unserer Galaxie zu kartieren. Die damals erzielten Resultate zeigten das Potential der Apparatur auf, liessen aber Wünsche offen hinsichtlich der Abdeckung und des Detailreichtums der Radiokarte. Daher bildete sich eine neue Projektgruppe, die sich das Ziel setzte, während der Vorbereitung und im Forschungslager die Apparatur technisch leicht auszubauen und vor allem gut zu dokumentieren und zu testen. Zurück in Wattwil wurde dann eine längere Messkampagne gestartet, um die Datenqualität zu verbessern und das kartierte Himmelsareal zu vergrössern. Konkret wurden während mehrerer Wochen von November 2024 bis Februar 2025 im Dauerbetrieb Messdaten gewonnen und zu einer Radiokarte unserer Galaxie zusammengesetzt. Nebst den spannenden Daten ist ein wichtiger Gewinn des diesjährigen Projekts, dass das in zwei Kampagnen ad hoc erworbene Know-How nun sauber dokumentiert ist, und die Apparatur so für weitere Zwecke optimal vorbereitet ist. Die aktuelle Messreihe dauert noch an, so dass eine weitere Präzisierung der Radiokarte zu erwarten ist.

Das Geologie-Team wählte gleich zwei Forschungsfragen als Projektziel. In der Tradition der letzten Jahre bestand eine Projektidee darin, lokale Gesteinsproben zu sammeln, und mit Röntgenfluoreszenzspektroskopie und der Analyse von Dünnschliffen auf ihren Element- und Mineralgehalt hin zu untersuchen. Das ist insofern spannend, als dass sich das Val Bregaglia in einer Zone befindet, wo verschiedene Gesteinskomplexe zusammenstossen und eine Vielfalt von Kontaktmetamorphosen bilden. Das bekannteste Gestein in der Region dürfte der Bergeller Granit mit seinen typischen grossen Feldspatkristallen sein, der vor allem auf den südöstlich gelegenen Gebirgszügen zu finden ist. Neben dieser mineralogisch-petrologischen Arbeit stand auch die Geoseismik im Zentrum der Arbeit: In zwei intensiven Feldtagen versuchte das Team, mithilfe unserer eigenen Geoseismik-Apparatur Bodenschichtungen nachzuweisen, einmal die Grundwasserschicht nahe des Malojasees, einmal eine Schichtung auf einem nahe gelegenen Rücken. Insbesondere



die aufwändige Nachbearbeitung der Daten stellte sich als echte Knacknuss heraus, lieferte letztlich aber überraschend gute und konsistente Daten.





**Abb. 3:** Ein Teilprojekt der Radioastronomie-Gruppe betraf die Realisierung von technischen Verbesserungen am Myonenteleskop (links). Die Messeinheit der Geoseismik-Apparatur bestehend aus Verstärker und Datenlogger muss während der ganzen Messung überwacht werden (rechts).

Unter dem Eindruck der zunehmenden, menschengemachten Umweltverschmutzung durch Abrieb von Kunststoffen beschloss die Projektgruppe Mikroplastik, auf der Basis vergangener Projekte neue diagnostische Verfahren zum Nachweis von Mikroplastik in Bodenproben auszutesten. Konkret ging es vor allem darum, die heikle Identifikation und Auszählung der Mikroplastikteilchen in den Proben zu verbessern. Dabei wurden Anfärbemethoden mit zwei Farbstoffen untersucht, die die Mikroplastikteilchen unter UV-Licht fluoreszieren lassen und die Auszählung somit wesentlich einfacher machen sollten. Die Vor- und Nachteile dieser neuen Methode wurden durch einen Quervergleich mit der konventionellen Auszählung ohne Anfärbung evaluiert. Dazu wurden im Feld etliche Bodenproben gewonnen. Die anschliessende Abtrennung von Mikroplastik aus Bodenproben ist notorisch mühsam, weil das Material aufwändig aufgeschlämmt und sedimentiert werden muss, damit die leichteren Kunststoffteilchen abgeschöpft werden können. Eine Verschmutzung der Proben durch zusätzlichen Kunststoffabrieb während der Gewinnung muss akribisch vermieden werden, um die Resultate nicht zu kompromittieren. Mit einer aufwändigen Versuchsreihe konnte gezeigt werden, dass sich Nilrot bei geeigneter Konzentration und Temperatur gut zur Anfärbung eignet. Allerdings bleiben für künftige Projektgruppen nach wie vor ungelöste Probleme bei der Analyse bestehen, so wie die Abgrenzung von Mikroplastik zu organischen Fragmenten und die Reproduzierbarkeit von Zählergebnissen.





**Abb. 4:** Die Proben zum Nachweis von Mikroplastik wurden unter anderem an den Ufern von Gewässern entnommen (links). Die Vegetationsgruppe untersuchte Neophyten im Val Bregaglia, und die invasiven Neophyten wurden nach der Aufnahme in Form eines kleinen Umwelteinsatzes auch gleich vernichtet.

Im Val Bregaglia durfte natürlich ein Vegetationsprojekt nicht fehlen. Das Tal verläuft von Maloja auf 1800 m ü. M. nach Südwesten bis zur Grenze auf ca. 700 m ü. M. und von dort weiter bis zum Comersee

auf 200 m ü. M. Dies bedeutet insbesondere, dass die südlich geprägte Vegetation der Region Como keine Hindernisse überwinden muss, wenn klimatische Veränderungen die höher gelegenen Gebiete besiedelbar machen. Das führt zu einem grossen Druck von invasiven Neophyten, die das Val Bregaglia von Süden her erobern. Die Vegetationsgruppe setzte sich mit diesem Hintergrund das Ziel, im Untersuchungsgebiet diese invasive Flora zu studieren und zu kartieren. Dankenswerterweise konnte die Arbeit auf einem Datenauszug der bis anhin bekannten Fundmeldungen der Stiftung InfoFlora aufbauen. Mit diesen Anhaltspunkten wurden sechs Projekttage investiert, um auf ausgedehnten Streifzügen invasive Arten zu finden und zu bestimmen. An einigen ausgewählten Standorten wurden zudem Bodenproben gewonnen und auf ihren Ionengehalt hin untersucht. Zusammen mit geografischen Kenndaten wie Fundort, Höhe und Exposition wurde versucht, Muster in der Besiedelungsstrategie der invasiven Arten im Bergell zu finden. Aufgrund der für solche Fragestellungen knappen Datenlage durften keine schlüssigen Resultate erwartet werden. Gewisse geographische Verteilungsmuster, wie die Tendenz des Einjährigen Berufskrautes (*Erigeron annuus*) zu tieferen Lagen, sind aber genauso in den Daten erkennbar, wie generelle Aussagen zum Ionengehalt der untersuchten Böden. Besonders nützlich sind auf jeden Fall die gewonnenen Standortdaten, die InfoFlora für das professionelle Monitoring der Neophyten übergeben wurden.

Der Besuch im Waldforschungszentrum Hyytiälä im Lager in Finnland regte uns an, den Wasser- und Gashaushalt von Bäumen näher zu studieren. Die dort stationierten Forscher erklärten uns eine Menge über ihre Messmethodik, so dass die Idee aufkeimte, selber solche Apparaturen nachzubauen. In diesem Jahr hat sich eine Projektgruppe dieser Herausforderung gestellt. Zunächst wurde recherchiert, was auf dem Markt an passenden Gerätschaften im Angebot ist. Tatsächlich wurde für den Saftfluss von Bäumen ein Messgerät gefunden, das angeschafft werden konnte und dieses Jahr zum ersten Mal zum Einsatz kam. Die Hauptarbeit wurde aber in die Testphase des kombinierten Sensors gesteckt, der an der Kantonsschule von Christian Bircher entwickelt wurde. Der Sensor sollte zukünftig in der Lage sein, die für den Haushalt einer Pflanze wesentlichen Gase zu messen, aber auch Feinstaub und Meteodaten erfassen zu können. Mittelfristig soll der Sensor zusammen mit Pflanzenteilen in einer Box, die sich periodisch öffnet und schliesst, Daten erheben. Im diesjährigen Projekt standen die Tests der primären Sensoren für Temperatur, Wasserdampf und CO<sub>2</sub> im Mittelpunkt, zusammen mit gezielten Seitenexperimenten zum zirkadianen Zyklus von Testpflanzen. Die gewonnenen Daten zeigen das Potential der Methode klar auf: Schon über kurze Zeiträume lässt sich der zirkadiane Zyklus der Pflanzen anhand ihrer Spaltöffnungen und des CO2-Gehalts der Umgebungsluft gut nachvollziehen. Auch für den Wasserhaushalt der Pflanzen zeigen sich erste spannende Korrelationen, die aber noch weiter untersucht werden müssen. Die Projektgruppe hat jedenfalls ihr Ziel erreicht und für einen zukünftigen Ausbau dieser Messmethodik einen wichtigen Grundstein gelegt.





**Abb. 5:** Als Test für den neu entwickelten Gas- und Umweltsensor wurde eine Testpflanze über einen längeren Zeitraum mit wechselnden Lichtverhältnissen in einem dicht abgeschlossenen Behälter beobachtet (links). Das Aufstellen und Betreuen von diversen Wildkameras und einer Fotofalle im Gebiet war ein Nebenprojekt der Zoologie-Gruppe. Dank einer verlängerten Expositionszeit bis in den Spätherbst konnte eine grosse Menge an interessanten Nachweisen erzielt werden (rechts).

In den südlichen Teilen der Schweiz grenzt das Verbreitungsgebiet des Italiensperlings (*Passer italicus*) an dasjenige «unseres» Haussperlings (*Passer domesticus*). Das Val Bregaglia eignete sich also bestens, um die beiden Sperlingsarten in dieser Übergangszone zu studieren. Die Forschungshypothese der Projektgruppe

Zoologie lag auf der Hand: Der Italiensperling müsste um so häufiger auftreten, je südlicher der Beobachtungsort gelegen ist. Allerdings steckt der Teufel oft im Detail. Die beiden Sperlingsarten lassen sich nur an wenigen Merkmalen der ausgewachsenen männlichen Tiere sicher voneinander unterschieden. Zudem ist bekannt, dass die beiden Arten untereinander hybridisieren. Eindeutige Resultate waren also nicht zu erwarten. Die Projektgruppe entschied sich dazu, längs des Bergells möglichst viele männliche Sperlinge zu fotografieren, und dann die Unterscheidungsmerkmale anhand der Fotos in Zahlen zu erfassen. Interessanterweise zeigen die Merkmale zwar weitgehend die erwartete Korrelation – das heisst, die Merkmale, die typisch für den Italiensperling sind, kommen tendenziell gemeinsam vor. Überraschenderweise zeigt sich aber keine Korrelation der Merkmale mit der geographischen Position entlang des Tals. Es scheint so, dass die Übergangszone zwischen den beiden Arten sehr viel grösser ist als das untersuchte Gebiet.

In den vergangenen Jahren haben wir in der academia mit einer Serie von DNA-Projekten unsere Kompetenzen in diesem Bereich aufgebaut. Dieses Jahr sollte ein nächster Schritt erarbeitet werden, nämlich die Extraktion und Sequenzierung von längeren DNA-Abschnitten mit dem Ziel, nahe verwandte Arten aufgrund ihrer DNA voneinander unterscheiden zu können. Ein dafür geeigneter Artenkomplex ist das Pinus mugo-Aggregat, das im Bereich des Kantons Graubünden aus zwei eng verwandten und umstrittenen Unterarten der Bergföhre besteht. Dazu kommen in der Region weitere Föhren-Arten natürlich vor, sowie weitere weniger eng verwandte Nadelbäume. Bei der aufwändigen Recherche zum Thema konnten Genabschnitte und Primersequenzen eruiert werden, die bereits von anderen Forschungsgruppen zur Abgrenzung dieser Unterarten verwendet wurden. Während der Feldarbeit wurden daher zunächst morphologisch möglichst eindeutige Exemplare der einzelnen Unterarten gesucht, bestimmt, und dann Proben der Nadeln genommen. Im Labor wurde nach einer Standardmethode die DNA aus den Nadeln extrahiert, das für die Artbestimmung ausgewählte DNA-Stück ausgeschnitten und vervielfacht, und das so gewonnene, konzentrierte Genmaterial aufgereinigt. Dann sollten diese DNA-Stücke von der auf mikrobiologische Arbeiten spezialisierten Firma Microsynth auf zwei Arten sequenziert werden, um dann die Artabgrenzung vornehmen zu können. Leider zeigte sich bei dieser Analyse, dass die Proben nicht die gewünschte Qualität hatten, so dass die Sequenzierungen mehrheitlich scheiterten oder unklare Resultate ergaben. In der Folge unternahm die Projektgruppe eine aufwändige Fehleranalyse der eigenen Prozesse mit dem Ziel, künftigen Projekten eine stabilere Ausgangslage zu verschaffen. An dieser wichtigen und lehrreichen Fehlersuche wird noch gearbeitet. Dass DNA-Analysen basierend auf den diesjährigen Erkenntnissen in den kommenden Jahren wieder aufgenommen werden, steht ausser Frage.





**Abb. 6:** Für die Untersuchung der DNA von Föhren wurden zunächst geeignete Individuen gesucht und identifiziert, dann Proben genommen (links), und diese schliesslich im provisorischen Labor im Lagerhaus verarbeitet (rechts).

## Expeditionsleben

Um in den wenigen Tagen des Forschungslagers die eigenen Projekte zum Erfolg führen zu können, braucht es eine gute Organisation. Die eigentlichen Projekttage sind daher in der Regel klar strukturiert: Gestartet wird mit dem Morgenessen um 07:30 h, bei dem auch ein Lunchbuffet zur Verfügung steht, da das Mittagessen für die meisten Projektteams im Feld stattfindet. Nach den letzten Vorbereitungen für die Tagesexpedition sind gegen 09:00 h alle Projektteams entweder unterwegs, oder im Labor im Lagerhaus am Arbeiten.

Das Mittagessen wird flexibel gehandhabt, die Gruppen im Feld geniessen ihre am Morgen zubereiteten Sandwiches, für die Laborgruppen gibt es öfters Reste des Vorabends zu essen. Am späteren Nachmittag trudeln die Teams nach ihrer Feldarbeit nach und nach wieder im Lagerhaus ein, reinigen die genutzten Geräte und bereiten die gewonnenen Proben für die folgenden Schritte vor. Gegen 17:00 h macht sich das Kochteam des Tages unter der Leitung der Küchencrew daran, die Hauptmahlzeit zuzubereiten, und um 18:30 h ist es dann soweit: Der im Lauf des Tages angestaute Bärenhunger kann endlich gestillt werden. Je nach Projektverlauf gibt es vor- oder nachher noch Daten zu sichern, Proben einzulagern, oder das Material für den kommenden Projekttag bereitzustellen. Typisch folgt am späteren Abend eine Teamsitzung, bei dem je ein Projektmitglied und die Leitercrew die Organisation des folgenden Tages absprechen und generell Informationen austauschen. Grundsätzlich steht der Abend dann aber für Spiel, Spass und Geselligkeit zur Verfügung – oder hin und wieder für eine intensive Krisensitzung, wenn in einem Projekt gröbere Schwierigkeiten auftauchen.





**Abb. 7:** Ausgedehnte Spielrunden in den Abend- und Nachtstunden (links) dürfen genauso wenig fehlen wie eine gute Portion schräger Humor, den man immer wieder unvermutet in den Labors antrifft (rechts).

Unser Lagerhaus «Villa Pia» in Vicosoprano bot sehr gute Bedingungen für unsere Arbeiten. Die vielen Zimmer und grossen Räume ermöglichten uns eine klare Trennung von Schlaf-, Arbeits- und Freizeitbereichen. Sogar ein Speziallabor für die DNA-Gruppe konnte gefunden und eingerichtet werden – und zwar im Zimmer, wo sich eigentlich die Apéro-Bar befindet. Dass die Küche gut eingerichtet war, kriegten wir täglich beim abendlichen Festessen zu spüren, hergestellt abwechselnd von den Projektteams, aber geplant und geleitet von unserem erfahrenen und beliebten Kochteam Jonas Vergés, Nicolà Gantenbein und Bärni Leuenberger.







**Abb. 8:** Das Küchenteam Nicolà Gantenbein (links), Jonas Vergés (Mitte) und Bärni Leuenberger (rechts) zauberte jeden Tag köstliche Gerichte auf den Tisch.

Auch eine Expedition darf im **academia**-Lager nicht fehlen. Wir nutzten die Gelegenheit, den nahen Albigna-Staudamm zu besichtigen. Nach einer nebligen Bergfahrt mit der Albigna-Seilbahn konnten wir das Bauwerk von der Krone her betreten. Die Führung durch die Innereien und zur Messtechnik dieses grossen



Staudamms war faszinierend und für die meisten Mitglieder eine völlig neue Erfahrung. Dass wir damit auch gleich den regnerischsten Tag der Lagerwoche im Trockenen verbringen konnten, war ein durchaus angenehmer Nebeneffekt.





**Abb. 9:** Die Exkursion 2024 führte uns in den Albigna-Staudamm, wo nebst der Staumauer selber (links) die Mess- und Überwachungstechnik das grosse Thema war (rechts).

Ab Samstagmittag mussten wir uns eingestehen, dass sich die Expedition 2024 dem Ende zuneigt. Material und Proben mussten nach und nach verpackt werden, die Labore geräumt und die privaten Dinge zusammengesucht werden. Nach einer letzten Nacht und einer speditiven Putzaktion hiess es dann nach sieben Tagen Projektarbeit, Spiel, Spass und wenig Schlaf schon wieder Abschied nehmen vom schönen Bergell und Wiedereintauchen in den Alltag in der Region Toggenburg.

#### **Dank**

Viele Personen in und um die **academia** müssen zusammenarbeiten und von unserer Arbeit überzeugt sein, dass es zu einem gelungenen Lager kommen kann. Das sind in erster Linie die Leiterinnen und Leiter der Projektteams, die einen grossen Teil der Verantwortung dafür tragen, dass ihre Projekte gelingen. Genauso wichtig wie der wissenschaftliche Erfolg ist aber, dass alle Projektmitglieder ihre Fähigkeiten ausbauen, Selbstbewusstsein als Forscherinnen und Forscher aufbauen und zu einem Team zusammenwachsen. Zusammen mit allen organisatorischen Aufgaben ist das eine Arbeit, die wir äusserst wertschätzen. Manch einem **academia**-Mitglied wird erst nach dem ersten Jahr als Projektleiter wirklich bewusst, wie viel Aufwand hinter der Projektleitung steckt.





**Abb. 10:** Ein Projektleiter muss an vieles denken, damit seine Gruppe am wissenschaftlichen Austauschmeeting im Lager eine gute Figur macht (links) und alle Proben am Ende des Lagers sauber beschriftet und verpackt sind (rechts).

Eine besondere Erwähnung verdient auch dieses Jahr das Küchenteam Jonas Vergés, Nicolà Gantenbein und Bärni Leuenberger. Wenn man die typischen **academia**-Menupläne studiert, dann könnte man auch



auf die Idee kommen, sich in ein Kochlager verirrt zu haben. Mit grosser Kreativität und einem Herz für variable und spannende Menus werden wir täglich aufs Neue verwöhnt. Kein Wunder, werden Unmengen an Kalorien vertilgt, wenn es so schmackhaft zubereitet ist!

Wichtige Unterstützung erhalten wir seit Jahren auf der technisch-naturwissenschaftlichen Seite. Der neue Multisensor für Gase, Partikel und atmosphärische Daten des Baum-Projektes ist nur eines von vielen Geräten, die Christian Bircher für uns entworfen und zusammengestellt hat. Seine kontinuierliche Unterstützung, sowie das jederzeit offene Ohr sind für das Funktionieren unserer Forschungsgruppe ebenso unverzichtbar wie die tatkräftige Hilfe bei Laborversuchen und Packaktionen durch Monica Marchetti, Felicia Regehr und Rosaria Caruso. Auch die jederzeit verfügbare Hilfe durch viele Lehrerkolleginnen und -kollegen der KSW, dieses Jahr insbesondere durch Adrian Blatter, Urs Grob, Barbara Seeger und Gaby Zimmermann, sorgt für unverzichtbaren Input in unsere Projektarbeit.

Auch ausserhalb der KSW dürfen wir seit Jahren bei unseren Partnern anklopfen und werden professionell unterstützt. Dieses Jahr möchten wir uns herzlich bedanken bei:

- Andreas Jallas (Institut f
  ür Geochemie und Petrologie, ETH Z
  ürich): Anfertigung der Gesteins-D
  ünnschliffe;
- Dr. Iwan Stössel (Departement für Erd- und Planetenwissenschaften, ETH Zürich): wissenschaftliche Beratung beim Geologie-Projekt;
- Natalie Seibel (Institut für Geochemie und Petrologie, ETH Zürich) und Emily Robertson Hinshaw (Geologisches Institut, ETH Zürich): Organisation und Hilfe bei den Laborarbeiten des Geologie-Projekts, Vermessung der XRF-Proben;
- Prof. Dr. Andreas Fichtner und Dr. Cédric Schmelzbach (Institut für Geophysik, ETH Zürich): wissenschaftliche Beratung beim Geosesimik-Projekt, Einladung der Projektgruppe für einen Vortrag mit Rahmenprogramm im Institut für Geophysik;
- Dr. José María Mateos Melero (Center for Microscopy and Image Analysis, Universität Zürich): Instruktionen zur Nutzung der Geräte und Betreuung bei der UV-Mikroskopie;
- Dr. Christian Winiger und Dr. Bruno Müller (Microsynth): Wissenschaftliche Unterstützung des DNA-Projektes und Vermittlung des Sponsorings durch Microsynth;
- · Andres Ribi (Fachstelle für Bodenschutz, Amt für Landschaft und Natur, Kanton Zürich): Vermittlung des TOC-Nachweisgeräts *Leco RC-612* und Support bei der Inbetriebnahme;
- Michael Jutzi und Corentin Wagner (InfoFlora Schweiz): Bereitstellen der Ausgangsdaten für das Projekt Neophyten;
- · Renato Roganti (Wildhut Val Bregaglia, AJF GR): Beratung und Hilfe beim Positionieren der Kamerafallen.

Schliesslich geniessen wir seit Jahren das Vertrauen unserer Schulleitung. Angeführt von Rektor Martin Gauer werden wir in unserer Arbeit unterstützt, sei es administrativ durch Entlastungen und die Erlaubnis, unsere Forschungslager während der Schulzeit durchzuführen, sei es finanziell. Auch unseren langjährigen Sponsoren (vgl. S. 11–12) möchten wir an dieser Stelle herzlich danken – ohne Finanzen könnte unsere Forschungsgruppe nicht in dieser Form überleben.

Mit dem vorliegenden Jahresbericht lassen wir Sie an unseren Projekten teilhaben und hoffen, dass Sie sich von den Resultaten unserer Forschung faszinieren lassen und unsere Begeisterung für die Naturwissenschaften miterleben.

i.V. **academia** Rolf Heeb

im Februar 2025



Abb. 11: Das Projektteam 2024 auf der alten Bogenbrücke über die Maira in Vicosoprano.



# Tagesprogramm Studienreise Val Bregaglia (GR)

So	1.9.	Anreise Wattwil - Vicosoprano
Mo	2.9.	Projekttag
Di	3.9.	Projekttag
Mi	4.9.	Projekttag
Do	5.9.	Exkursion Albigna-Staudamm
Fr	6.9.	Projekttag
Sa	7.9.	Projekttag
So	8.9.	Projekttag und Einpacken
Mo	9.9.	Rückreise Vicosoprano – Wattwil

# Inhaltsverzeichnis (Projektberichte)

Kartierung der Wasserstoffdichte in der Milchstrasse	Ben Bolt, Annina Demont, Lorenzo Feuz, Emilia Güden, Ramon Kuster, Thomas Lieberherr, Hendrik Roos, László Rubóczki jr., Flavio Steiner
Grundwassernachweis mittels Geoseismik	Jorin Haller, Salome Haller, Matthias Jost, Aline Zahner, Jara Zahner
Methodenentwicklung für den Nachweis von Mikroplastik mithilfe von Fluoreszenzmarkern	Marileen Colruyt, Jonas Jaskolski, Malin Kaufmann, Noah Kirchschläger, Nils Lüthi
Ökologie von Neophyten im Bergell	Anne Sophie Colruyt, Selma Dellenbach, Madlaina Gantenbein, Fiona Jäger, Cedric Palme, Benigno Rossi, Pascal Schmuki, Nico Schulthess
Physiologie von Pflanzen im Tagesverlauf	Adrian Busch, Sophia Erni, Sarah Heusser, Louis Klosterkamp, Jonas Vergés
Geographische Verteilung von Haus- und Itali- ensperlingen im Bergell	Nuria Gaudenz, Andreas Heeb, Jakob Mostert, Fynn Tremmel
Sequenzierung des Abschnitts ycf1 der Chloroplasten-DNA von <i>Pinus mugo</i>	Sarina Braendle, Jasmin Jauch, Sara Looser, Thaniya Rajalingam, Jan Raymann, Arina Sprecher



# Wir danken unseren Sponsoren!

Die Mitglieder der Jugendforschungsgruppe **academia** danken ganz herzlich für die grosszügige Unterstützung der Studienreise 2024 ins Val Bregaglia (GR). Wir freuen uns über das Vertrauen, welches die Sponsoren uns entgegenbringen!



**Lions Club Linth** 



**Lions Club Oberes Toggenburg** 

Lions Clubs International ist eine weltweite Gemeinschaft von Frauen und Männern, die freiwillig und durch persönlichen Einsatz Menschen helfen. Als grösste von der UNO anerkannte Nicht-Regierungsorganisation (NGO) bieten wir ein politisch und konfessionell neutrales Forum für offene Diskussionen und die Pflege der Freundschaft. Heute umfasst die Lions-Gemeinschaft rund 1,35 Millionen Menschen aus 200 Ländern. Derzeit sind in der Schweiz und Liechtenstein gegen 9'000 Mitglieder in 230 Clubs aktiv.

«We serve – wir dienen» Unter diesem Motto helfen wir Lions dort, wo Mitmenschen nicht mehr weiter kommen. Mit unserem Knowhow, tatkräftigem Arbeiten in unserer Freizeit, sowie dem Sammeln von finanziellen Mitteln unterstützen wir konkrete Projekte in der Schweiz und im Ausland. Wir engagieren uns durch unsere Activities für benachteiligte Menschen, Menschen in Not, die freie Entfaltung der Jugend, soziale und kulturelle Projekte, die positive Entwicklung der Gesellschaft und die Völkerverständigung.

Gleich zwei Sektionen unterstützen uns dieses Jahr:

- · linth.lionsclub.ch/de/
- oberestoggenburg.lionsclub.ch/de/



Nachhaltigkeit und Wertschöpfung, kombiniert mit genossenschaftlicher Mitbestimmung – das ist Raiffeisen. Dank dieser Kombination geniesst Raiffeisen das Vertrauen der Genossenschafter, der Kunden und der Bevölkerung. Die genossenschaftliche Unternehmensphilosophie steht seit jeher für Nachhaltigkeit. Diese Geschäftsphilosophie und die Kundennähe haben sich in der über 125-jährigen Firmengeschichte bewährt. So konnte die Raiffeisengruppe zur zweitgrössten Bankengruppe in der Schweiz avancieren. Professionalität, Kundennähe, Sympathie und Vertrauenswürdigkeit sind das Rezept zum Erfolg der Raiffeisenbanken. Mit YoungMemberPlus haben die Raiffeisenbanken ein Segment im Angebot, welches speziell auf die Bedürfnisse von Jugendlichen und jungen Erwachsenen bis 26 Jahren zugeschnitten ist.

www.raiffeisen.ch/mittleres-toggenburg



#### WIR SIND MERCK

Unser Anspruch: Fortschritt für Menschen überall. Deshalb schauen wir genauer hin, fragen nach und denken weiter. Uns gibt es seit 350 Jahren. Noch heute sind wir mehrheitlich im Besitz der Nachkommen von Friedrich Jacob Merck – dem Mann, der das Unternehmen 1668 in Darmstadt gegründet hat. Seitdem haben wir uns zu einem globalen Unternehmen entwickelt. Mit rund 50.000 Mitarbeitern in 66 Ländern arbeiten wir an bahnbrechenden Lösungen und Technologien. 2016 haben wir insgesamt zwei Milliarden Euro in Forschung und Entwicklung investiert. Wir sind Merck. Einzige Ausnahmen sind die USA und Kanada. Hier sind wir im Biopharma-Geschäft als EMD Serono, im Life-Science-Geschäft als MilliporeSigma und im Geschäft mit Spezialchemikalien und Hightech-Materialien als EMD Performance Materials tätig.

www.merckgroup.com



Microsynth ist ein führendes Unternehmen in Europa, das sich auf die Synthese und Analyse von Nukleinsäuren spezialisiert hat. Wir sind stolz darauf, Ihnen unsere Hauptbereiche vorzustellen, die die Synthese von Oligonukleotiden, die Analyse von DNA/RNA und die Sequenzierung sowie Auftragsforschung und Outsourcing umfassen. Seit über drei Jahrzehnten ist es unser Ziel bei Microsynth, unseren Kunden Produkte und Dienstleistungen von höchster Qualität termingerecht zur Verfügung zu stellen. Dabei bieten wir einen herausragenden Service zu wettbewerbsfähigen Preisen.

Unser Team besteht aus über 100 hochqualifizierten Mitarbeitern, die sich mit viel Engagement dafür einsetzen, die Bedürfnisse unserer Kunden in der Nukleinsäureforschung zu erfüllen und innovative Lösungen bereitzustellen. www.microsynth.com



MACHEREY-NAGEL steht für innovative und kreative Lösungen, die wir mit Vorliebe im eigenen Haus entwickeln. So haben wir neben den «klassischen» Abteilungen, wie Forschung, Produktion, Vertrieb und Mediengestaltung auch Abteilungen wie unseren Maschinenbau, die Geräteentwicklung und eine eigene Schreinerei.

Unsere Produkte gehören zu den zuverlässigsten Analytiksystemen weltweit. Verwendet werden sie z.B. in der Industrie, im Gesundheitswesen, in der Biotechnologie, in der Umweltanalytik und der Forschung. Zahlreiche Patente und internationale Zertifizierungen unterstreichen die hohe Qualität unserer Produkte und die Kompetenz unserer Mitarbeiter.











www.mn-net.com/ch



QIAGEN N. V., eine niederländische Holdinggesellschaft, ist der weltweit führende Anbieter von Komplettlösungen zur Gewinnung wertvoller molekularer Erkenntnisse aus biologischen Proben. Die Probentechnologien von QIAGEN ermöglichen die Aufreinigung und Verarbeitung von DNA, RNA und Proteinen aus Blut, Gewebe und anderen Stoffen. Testtechnologien machen diese Biomoleküle sichtbar und bereit zur Analyse. Bioinformatik-Lösungen und Wissensdatenbanken helfen bei der Interpretation von Daten zur Gewinnung relevanter und praktisch nutzbarer Erkenntnisse. Automationslösungen integrieren diese zu nahtlosen und kosteneffizienten molekularen Test-Workflows. QIAGEN stellt seine Lösungen mehr als 500 000 Kunden aus den Bereichen Molekulare Diagnostik und Life Sciences zur Verfügung. Zum 30. Juni 2023 beschäftigte QIAGEN weltweit mehr als 6100 Mitarbeiter an über 35 Standorten.

www.qiagen.com



Steidle Consulting – Ihr Partner für die Bearbeitung von Problemen in den Bereichen Abwasser, Abfall, Belastungen, Altlasten. Umfassende Kenntnisse aus der langjährigen Auseinandersetzung mit unterschiedlichsten Fragestellungen aus dem Umweltbereich sowie ein gut ausgebautes Netzwerk sind die Grundlagen für eine effiziente Problemlösung. Weitere Informationen finden Sie unter:

www.steidleconsult.ch



# Kartierung der Wasserstoffdichte in der Milchstrasse

Ben Bolt, Annina Demont, Lorenzo Feuz, Emilia Güden, Ramon Kuster, Thomas Lieberherr, Hendrik Roos, László Rubóczki jr., Flavio Steiner

#### 1. Einführung

Das Ziel des diesjährigen Radioastronomie-Projektes war die Vervollständigung der Wasserstoffkarte der Milchstrasse durch neue Messungen des HI-Signals mit unserem Radioteleskop. Die Methoden hierfür wurden bereits im letztjährigen Radioastronomie-Projekt entwickelt und erfolgreich getestet [1]. Dabei konnte eine Region des Himmels kartiert werden. Die gewonnenen Ergebnisse stimmten mit bestehenden Fachliteraturdaten überein. Da eine vollständige Kartierung jedoch deutlich mehr Zeit erfordert als die zehn Tage des **academia**-Lagers in Vicosoprano, wurde die Datenerfassung im Anschluss auf dem Dach der Kantonsschule Wattwil realisiert. Während des Lagers wurden erste Messungen durchgeführt, um sich mit dem methodischen Ablauf und der Software vertraut zu machen. Dies diente dazu, mögliche Fehlerquellen frühzeitig zu erkennen und sicherzustellen, dass die Datenerhebung effizient durchgeführt werden kann. Nach dieser initialen Testphase begann die systematische Erfassung von HI-Emissionssignalen, welche mit einer Dipolantenne und einem Software Defined Radio (SDR) detektiert wurden. Die gewonnenen Daten bilden die Grundlage für die weitere Analyse und die Ergänzung der bestehenden Wasserstoffkarte der Milchstrasse.

#### 2. Theorie

#### 2.1. Elektromagnetische Wellen

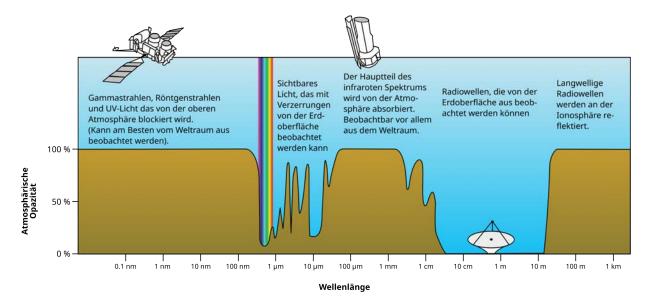
Elektromagnetische Wellen sind Anregungen des elektromagnetischen Feldes, welche sich im freien Raum immer mit der Lichtgeschwindigkeit  $c \approx 3 \cdot 10^8 \, \mathrm{m \, s^{-1}}$  ausbreiten, ähnlich wie Wasserwellen in einem Teich. Nach einer gewissen Zeit wiederholt sich ihre Signalform. Diese Zeit nennt man Periode T. Doch oft wird nicht T angegeben, sondern die Frequenz f = 1/T, also wie oft sich das Wellensignal pro Zeiteinheit wiederholt. Neben der Periode T weisen elektromagnetische Wellen eine Wellenlänge  $\lambda$  auf, die angibt in welcher Distanz sich das Wellensignal wiederholt. Die Wellenlänge  $\lambda$  ist über die Lichtgeschwindigkeit c mit der Frequenz f gekoppelt. Es gilt die Relation  $c = \lambda f$  oder qualitativ  $\lambda \propto f^{-1}$ . Ein bedeutender Unterschied zu mechanischen Wellen ist, dass elektromagnetische Wellen kein Medium zur Ausbreitung benötigen. Damit können sie die Weiten des Alls durchqueren und Informationen über ihre Quellen preisgeben.

## 2.2. HI-Übergang

Elektromagnetische Wellen können auf verschiedene Arten entstehen. Dabei denkt man schnell an das Licht der Sterne. Hierbei entstehen aufgrund der thermischen Bewegung geladener Teilchen elektromagnetische Wellen mit verschiedenen Wellenlängen, auch als Schwarzkörperstrahlung bekannt. Diese Form der elektromagnetischen Strahlung wird hauptsächlich von heissen, dichten Objekten wie Sternen abgestrahlt. Jedoch ist nicht die gesamte Materie der Milchstrasse in Sternen gebunden. Es gibt grosse, dünne Gaswolken im interstellaren Raum, die zu kühl sind, um Wärmestrahlung in detektierbaren Mengen abzugeben. Stattdessen können diese Gaswolken, sofern sie neutralen Wasserstoff enthalten, mittels einer Radioantenne detektiert werden. Dabei wird ausgenutzt, dass das Proton und das Elektron des Wasserstoffatoms einen quantenmechanischen Spin aufweisen. Diese beiden Spins können antiparallel (niedrigenergetischer Zustand) oder parallel (hochenergetischer Zustand) ausgerichtet sein. Falls nun ein Wasserstoffatom vom parallelen Zustand in den antiparallelen Zustand übergeht, wird eine elektromagnetische Welle (Photon) mit einer Wellenlänge von 21 cm und einer Frequenz von 1.42 GHz abgestrahlt. Diese Strahlung liegt im Radiowellen-Bereich des elektromagnetischen Spektrums und kann daher mit einem Radioteleskop empfangen werden. Mit dieser Technik ist es dann möglich, die Dichteverteilung des kalten Wasserstoffgases in der Milchstrasse zu bestimmen.

#### 2.3. Radioastronomie

Beinahe alle Teilbereiche der beobachtenden Astronomie befassen sich mit dem Empfang und der Auswertung elektromagnetischer Wellen. Dabei werden die Teilbereiche der Astronomie durch die Wellenlänge des aufgezeichneten Lichts charakterisiert. Zum Beispiel wird in der optischen Astronomie hauptsächlich mit sichtbarem Licht (400 nm bis 750 nm) gearbeitet. Neben Infrarot und Röntgen-Astronomie bildet die Radioastronomie einen der Grundpfeiler der modernen Astronomie. Sie basiert auf dem Empfang von Radiowellen, das heisst elektromagnetischen Wellen mit Wellenlängen grösser als 0.1 mm. Ein grosser Vorteil der Radioastronomie ist, dass sie wie die optische Astronomie von der Erde aus durchgeführt werden kann, da die Atmosphäre in beiden Bereichen nahezu transparent ist (siehe Abb. 1). Unser Signal liegt bei 21 cm und damit in einem atmosphärischen Fenster für elektromagnetischen Wellen. Zudem stören Wolken und Nebel den Empfang der Radiowellen nicht.



**Abb. 1:** Opazität der Erdatmosphäre für verschiedene Wellenlängen des elektromagnetischen Spektrums [2]. Tiefe Opazität entspricht hoher Transparenz.

## 3. Radioteleskop

#### 3.1. Aufbau Radioteleskop

Die Radiowellen werden mit Radioteleskopen aufgefangen. Der Aufbau der Empfangseinheit ist in Abb. 2 dargestellt. Eine 1.8 m grosse Parabolschüssel ist auf einem Stativ montiert. Die Parabolschüssel reflektiert die einfallenden elektromagnetischen Wellen, die aus einer bestimmten Richtung stammen, sodass sie im Brennpunkt konzentriert werden. Dort befindet sich die Dipolantenne. Sie dient dazu, die elektromagnetischen Wellen in elektrische Signale umzuwandeln. Diese durchlaufen den Verstärker (LNA) und werden per Koaxialkabel zu einem Software Defined Radio (SDR) weitergeleitet. Das SDR tastet das Zeitsignal ab und wandelt es in ein Frequenzspektrum um. Die Daten werden dann per USB an den Rechner (Raspberry Pi) übertragen. Dort werden sie zusammen mit weiteren Meta-Daten zur späteren Analyse in ein fits-Format abgespeichert. Die gewonnenen Daten werden anschliessend auf einem separaten Computer mithilfe eines Python-Programms ausgewertet und grafisch dargestellt.

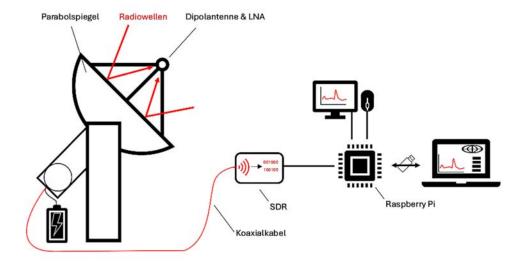


Abb. 2: Aufbau der Empfangseinheit.

Die Dipolantenne ist eine gestreckte Drahtantenne (Abb. 3), welche elektromagnetische Wellen in ein Wechselstromsignal umwandelt und umgekehrt. In diesem Projekt wurde sie nur zu Empfangszwecken verwendet. Die Länge des Dipols muss auf die Empfangsfrequenz abgestimmt werden. Die optimale Länge eines Halbwellendipols liegt bei der halben Wellenlänge des untersuchten Signals. Idealerweise wird der Dipol um 45° gegen den Horizont geneigt, damit Störsignale von künstlichen, erdgebundenen Signalquellen möglichst schwach empfangen werden.



Abb. 3: Dipolantenne.

#### 4. Methode

#### 4.1. Messablauf

Die Erdrotation verursacht eine scheinbare Bewegung der Himmelskörper. Diese Bewegung wird hier ausgenutzt, um mit einem statisch ausgerichteten Radioteleskop jeweils einen definierten scheibenförmigen Bereich des Himmels zu vermessen. Es erfolgt eine radiometrische Messung des Radiosignals um die HI-Emissionslinie bei 21 cm. Der Höhenwinkel des Teleskopes wird alle 24 Stunden um jeweils 7.5° verstellt. So werden die darüber- oder darunterliegenden «Scheiben» vermessen.

Das Teleskop wurde auf dem Dach der Kantonsschule Wattwil aufgestellt und in Nord-Süd-Richtung ausgerichtet. Die Montierung wurde so fixiert, dass der Azimut nicht verstellbar ist und sich das Teleskop im Höhenwinkel frei schwenken lässt.

Pro Messung konnte ein Bereich von 7.5° Höhenwinkel abgedeckt werden, beginnend mit von 90° abnehmenden Höhenwinkel bis 40° (Süden), dann ab 90° Grad zunehmend bis 135° (Norden). Bei einer Messung wurde mit konstantem Höhenwinkel das Wasserstoffsignal während 10 Minuten integriert. Dies entspricht dann aufgrund der Erdrotation einem



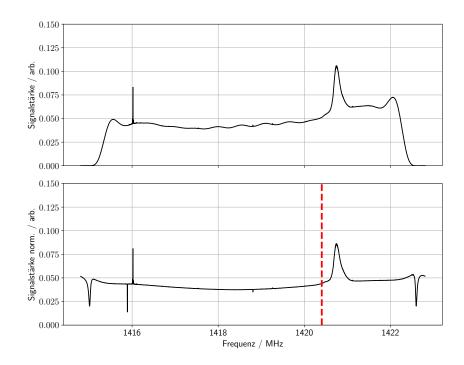
Abb. 4: Messung auf dem Dach.

ca. 2.5° breiten Streifen des Himmels. Jeweils nach dem Einstellen des Höhenwinkels musste das Messprogramm gestartet werden. Dabei wurde zunächst ein Testlauf durchgeführt, um zu überprüfen, ob der Messaufbau korrekt arbeitet und das Programm den SDR richtig ausliest. Danach wurde diese Messnummer notiert und das Spektrum mit der Vorlage verglichen. Bevor dann das Transekt-Programm gestartet wurde, wurde noch die letzte Messnummer notiert, damit eine Identifikation der einzelnen Messserien möglich ist.



#### 4.2. Datenaufbereitung

Die erfassten Spektren werden vom Raspberry Pi in einer fits-Datei gespeichert. Sie enthalten neben den Konfigurationsparametern<sup>1</sup> die gemessene Leistung in jedem Frequenzintervall. Die gesamte Signalbandbreite beträgt 8 MHz mit 4096 äquidistanten Samples, was einer Auflösung von 1.95 kHz entspricht. Mithilfe einer Referenzmessung, bei der die Dipolantenne mit einem  $50\,\Omega$ -Abschlusswiderstand ersetzt wird, kann die Verstärker- und SDR-Charakteristik bestimmt und aus den Messungen entfernt (normiert) werden. Ein Beispiel für diesen Normierungsprozess ist in Abb. 5 abgebildet.



**Abb. 5:** Rohspektrum (oben) sowie normiertes Spektrum (unten). Die Ruhefrequenz der HI-Linie ist rot gestrichelt dargestellt. Es ist ein aufgrund der Rotation der Milchstrasse blau-verschobener Peak zu erkennen. Im normierten Spektrum ist das Untergrundsignal deutlich flacher, was die weitere Analyse vereinfacht.

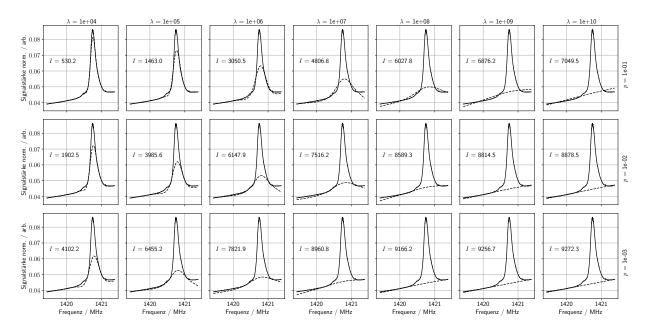
Eine HI-Quelle erzeugt im gemessenen Spektrum einen Peak bei ca. 1.42 GHz, wie in Abb. 5 zu sehen ist. Dieser Signalpeak kann integriert und mit der Ausrichtung des Teleskops, dem Standort des Observatoriums und der Zeit der Messung einer Fläche am Himmel zugeordnet werden. Um den Peak integrieren zu können muss das Untergrundsignal entfernt werden. Eine simple Methode dies durchzuführen wäre den Untergrund linear zu approximieren. Da unser Signal aufgrund der Rotation der Milchstrasse blau- oder rotverschoben sein kann, ist es sinnvoll, als Eckpunkte dieser Interpolation zwei um die Emissionslinie symmetrische Punkte auszuwählen. Damit diese Methode Erfolg haben kann, muss der Bereich um den Peak hinreichend flach sein. Zudem sollten die Eckpunkte einerseits so weit auseinander liegen, dass der verschobene Peak nicht den Eckpunkt anhebt, andererseits genügend nahe liegen, so dass die Krümmung des Untergrunds beim Integrieren nicht ins Gewicht fällt. Angesichts dieser möglichen Probleme wurde nach einem robusteren Verfahren gesucht.

Ein vielversprechendes Verfahren ist das asymmetric least squares smoothing (AsLS) von Paul Eilers und Hans Boelens [3]. Bei diesem Verfahren handelt es sich um ein Minimierungsproblem, das versucht eine abstrahierte Grösse S zu minimieren. Konkret ist S gegeben durch

$$S = \sum_{i} w_{i} (y_{i} - z_{i})^{2} + \lambda \sum_{i} (\Delta^{2} z_{i})^{2}$$

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Konfigurationsparameter sind z. B. die Bandbreite, der Frequenzabstand zwischen Samples, der Referenzkanal und die Referenzfrequenz.

mit  $\Delta^2 z_i = (z_i - z_{i-1}) - (z_{i-1} - z_{i-2}) = z_i - 2z_{i-1} + z_{i-2}$ , was proportional zur zweiten numerischen Ableitung ist. Weiter sind die  $y_i$  die Daten, für die der Untergrund  $z_i$  ermittelt werden soll. Die Grösse S wird durch  $\vec{w}$  und  $\lambda$  parametrisiert. Der Parameter  $\lambda$  lässt sich leicht interpretieren: er gewichtet Krümmungen in der Baseline  $z_i$ . Somit sollte ein hoher Wert für  $\lambda$  zu einer nahezu linearen Untergrundschätzung führen. Die Interpretation der  $\vec{w}$ -Gewichte ist etwas schwieriger und hängt von der Art ab, wie die Gewichte bestimmt werden. Eilers und Boelens schlagen vor, die Gewichte auf  $w_i = p$  zu setzen, wenn  $y_i > z_i$ , und  $w_i = 1 - p$ in allen anderen Fällen. Dabei führen sie einen Parameter p ein, der bestimmt, wie empfindlich die Grösse S auf positive und negative Abweichungen von der Baseline reagiert. Das ist besonders nützlich, denn in unserem Fall ragt der HI-Peak immer über den Untergrund hinaus. Das heisst, wenn wir p klein wählen, können wir dieses Verfahren unempfindlicher gegenüber positiven Peaks wie dem HI-Peak machen. In der Praxis schlagen Eilers und Boelens für die Wahl der beiden Parameter die Bereiche  $0.001 \le p \le 0.1$  und  $10^2 \le \lambda \le 10^9$  vor. Die Effekte beider Parameter auf die Schätzung der Baseline sind in Abb. 6 dargestellt. Es ist zu beachten, dass es sich hier um ein iteratives Verfahren handelt, da die Wahl der Gewichte  $w_i$  von der noch unbekannten Baseline  $z_i$  abhängt. Das heisst, die Berechnungen werden mit den Gewichten  $w_i = 1$ gestartet, dann wird mit diesen Gewichten eine optimale Baseline durch Minimieren von S gesucht. Diese Baseline wird dann zur Ermittlung der neuen Gewichte w, nach dem vorher gezeigten Verfahren verwendet, und die letzten beide Schritte werden wiederholt. Nach Eilers und Boelens sind 10 Iterationen ausreichend. Es wurde ein Python-Programm implementiert, das dieses Verfahren mit 10 Iterationen ausführt.

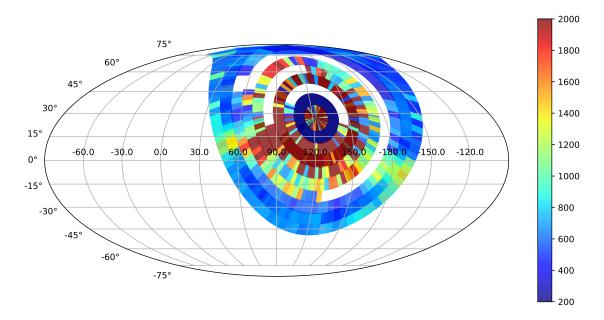


**Abb. 6:** Dargestellt ist ein normalisierter Peak (durchgezogene Linie), dessen Untergrund (gestrichelte Linie) mit verschieden Wertekombinationen für die Parameter p und  $\lambda$  mit dem AsLS-Verfahren geschätzt wird. Bei jedem Plot ist die integrierte Leistung mit der jeweiligen Baseline angegeben. Die Plots sind in einem Gitter angeordnet, so dass jede Spalte mit dem gleichen  $\lambda$  und jede Reihe mit demselben p berechnet wurden.

In den weiteren Auswertungen wurde immer  $\lambda=10^{10}$  und p=0.001 verwendet. Mit auf diese Weise generierten Baselines kann die Integration des Signals automatisiert werden und auf alle Messpunkte einer Messreihe ausgeweitet werden.

#### 5. Resultate

Während zweier Monate zwischen November 2024 und Januar 2025 wurde das Wasserstoffsignal vermessen. Die integrierten Signalpegel wurden aufgrund der Ausrichtung des Teleskops und der Uhrzeit in ein galaktisches Koordinatensystem eingezeichnet (vgl. Abb. 7).



**Abb. 7:** Integriertes Wasserstoffsignal in galaktischen Koordinaten in der Mollweide Projektion. Die Milchstrasse erstreckt sich über den galaktischen Äquator (0° galaktische Breite).

Es ist eine starke Signalquelle (gelb-rote Bereiche in Abb. 7) in der galaktischen Ebene zwischen  $30^{\circ}$  und  $90^{\circ}$  galaktischer Länge erkennbar. Ausserhalb der galaktischen Ebene ab einer Breite von mehr als  $\pm 30^{\circ}$  sinkt das Wasserstoffsignal stark ab. Ebenfalls gut erkennbar ist der nördliche Himmelspol bei ca.  $120^{\circ}$  galaktischer Länge und  $30^{\circ}$  Breite. Die gemessenen Intensitäten aller Messreihen, die in Richtung Norden ausgerichtet waren (Höhenwinkel  $> 90^{\circ}$ ), zeigen ein chaotisches Verhalten. Die Messreihe mit Höhenwinkel  $120^{\circ}$  weist durchgehend sehr tiefe Signalwerte (alle Intensitäten < 200) auf (erkennbar als tiefblauer Ring in Abb. 7), andererseits sind die Messwerte in der Nähe des Nordpols der Erde bei den Höhenwinkeln  $135^{\circ}$ ,  $127.5^{\circ}$ ,  $112.5^{\circ}$  und  $105^{\circ}$  sehr hoch (Intensität > 5000).

#### 6. Diskussion

Das Grundziel dieses Projekts, die Erweiterung der Wasserstoffkarte, konnte erfolgreich realisiert werden. Während der langen Messperiode von November 2024 bis Januar 2025 ergaben sich einige Probleme mit dem derzeitigen Aufbau. Einerseits sind die verwendeten Blei-Akkumulatoren nicht vor Tiefentladung geschützt, andererseits ist die USB-Verbindung zwischen dem Raspberry Pi und dem SDR hin und wieder schlecht, sodass das Logging Programm den Fehler libusb-Error ausgibt. Dieses Problem ereignet sich vor allem bei der Inbetriebnahme und kann durch Aus- und Einstecken des USB-Kabels gelöst werden. Hinzu kommt, dass die tiefen Temperaturen Anfangs Dezember 2024 die Betriebsdauer eines Akkus von etwas mehr als einer Woche auf einige Tage verkürzt haben. Letzteres konnte mit Kabeldurchführungen für die Stromversorgung aus einem beheizten Raum gelöst werden.

Eine offene Fragestellung für ein zukünftiges Radioastronomie-Projekt liegt in der quantitativen Messung des Wasserstoffsignals. Dazu könnte eine bekannte Signalquelle als Eichung verwendet werden. Ein Beispiel hierfür wäre ein Abschlusswiderstand, der anstelle der Dipolantenne am Teleskop montiert wird und auf einer bestimmten Temperatur gehalten wird. Mit einer geeichten Antenne könnten dann effektive gemessene Signalleistungen ermittelt werden. Ein Vorschlag der Projektgruppe des letzten Jahres wäre es, einen temperierten Abschlusswiderstand nach jeder Messung via Multiplexing an das Teleskop anzuschliessen, um die Leistungskalibration automatisiert und dynamisch auszuführen [1]. Damit ist es dann auch möglich, die Temperaturabhängigkeit des Teleskops (LNA und SDR) auszukorrigieren.



#### 7. Literaturverzeichnis

- [1] Baumgarten B. et al., «Wasserstoffvorkommen im All», in «Forschungsbericht über die Studienwoche 2023, Rajala», Forschungsgruppe **academia**, Wattwil (2024).
- [2] https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/dc/Atmospheric\_electromagnetic\_opacity-de.svg (Zugriff 6.2.2025).
- [3] Eilers P. H. und Boelens H. F., «Baseline correction with asymmetric least squares smoothing», Leiden University Medical Centre Report 1(1), 5 (2005).

# Grundwassernachweis mittels Geoseismik

Jorin Haller, Salome Haller, Matthias Jost, Aline Zahner, Jara Zahner

#### 1. Einleitung

Das Ziel des diesjährigen Gesoseismikprojektes war es, den Grundwasserspiegel in Maloja neben dem Silsersee mithilfe geoseismischer Wellen nachzuweisen. Dafür wurde die **academia**-eigene Geoseismik-Apparatur des Geoseismik-Projektes aus dem Jahr 2016 wiederverwendet.

Die Messungen beruhen darauf, dass sich geoseismische Wellen unterschiedlich schnell durch verschiedene Bodenschichten mit unterschiedlichen Materialeigenschaften bewegen. Solche Wellen wurden in diesem Projekt jeweils durch einen Hammerschlag erzeugt und anschliessend mit Geophonen aufgezeichnet. Aus der Ankunftszeit der Wellen kann auf die charakteristischen Schallgeschwindigkeiten der Schichten, und somit auf ihre Zusammensetzung und ihre Schichtdicke zurückgeschlossen werden. Da Wasser in einer Bodenschicht die Wellengeschwindigkeit massgeblich beeinflusst, sollte dies anhand von Laufzeitdiagrammen erkennbar sein.

#### 2. Theoretische Grundlagen

Im Theorieteil wird zunächst näher darauf eingegangen, was seismische Wellen sind und was für Typen es gibt. Dabei liegt der Fokus auf den Wellenarten, die für das Experiment von besonderer Relevanz sind. In einem zweiten Teil wird näher ausgeführt, wie diese zur Berechnung der Wellengeschwindigkeiten in Medien genutzt werden können und wie sich die Wellengeschwindigkeit während des Schichtwechsels verändert.

#### 2.1. Seismische Wellen [1, 2]

Seismische Wellen sind Wellen von akustischer Energie im Erdinnern, die durch Erschütterungen des Bodens ausgelöst werden. Sie sind vergleichbar mit Schallwellen in Gasen und Flüssigkeiten. Seismische Wellen breiten sich von ihrem Ursprung kugelförmig relativ zum Medium aus. Die zwei Haupttypen von seismischen Wellen sind die Oberflächenwellen und die Körperwellen. Oberflächenwellen breiten sich der Erdoberfläche entlang aus, Körperwellen im Erdinnern. Generell haben Oberflächenwellen grössere Amplituden als Körperwellen. Des Weiteren breiten sie sich langsamer aus. Da im Experiment nur die schnellsten Wellen gemessen werden, wird hier nicht genauer auf Oberflächenwellen eingegangen.

Körperwellen lassen sich weiter unterteilen in Kompressionswellen und Scherwellen, auch P-Wellen und S-Wellen genannt. P-Wellen sind Longitudinalwellen. Die Teilchen bewegen sich in Form von Kompression und Ausdehnung in dieselbe Richtung, in die sich auch die Welle ausbreitet (Abb. 1). Die Geschwindigkeit von P-Wellen beträgt

$$v_P = \sqrt{\frac{K + \frac{4}{3}G}{\rho}},$$

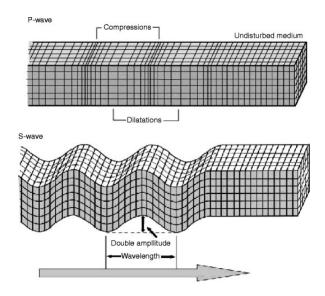
wobei K das Kompressionsmodul (Antwort auf volumetrischen Stress), G das Schermodul (Antwort auf Scherdeformation) und  $\rho$  die Dichte sind. P-Wellen können sich sowohl durch feste als auch durch flüssige Medien ausbreiten.

S-Wellen sind Transversalwellen. Die Teilchen bewegen sich senkrecht zur Ausbreitungsrichtung der Welle nach oben und nach unten (Abb. 1). Die Geschwindigkeit von S-Wellen beträgt

$$v_S = \sqrt{\frac{G}{\rho}}$$

und ist offensichtlich immer kleiner als  $v_P$ . S-Wellen können sich nur in festen Medien ausbreiten.

Da *K* und *G* materialabhängig sind, hängt die Geschwindigkeit von P- und S-Wellen von der Dichte und der Elastizität des Mediums ab, in dem sie sich ausbreiten. P-Wellen sind die schnellsten Wellen und kommen somit als erstes an einem gewissen Punkt an. Daher werden im Experiment die Ankunftszeiten der P-Wellen bestimmt wie in Kapitel 2.2 beschrieben.

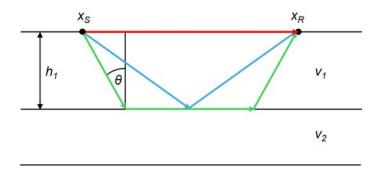


**Abb. 1:** Wellenform von P-Wellen (oben) und S-Wellen (unten) [3].

#### 2.2. Zweischichtenfall parallel

Der Boden besteht aus verschiedenen Schichten mit unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften. In jeder Schicht i bewegen sich die geoseismischen Wellen mit einer charakteristischen Wellengeschwindigkeit  $v_i$ . Mit der Tiefe nimmt die Schallgeschwindigkeit meist zu. Damit gilt in der Regel  $v_{i+1} > v_i$ , wenn die Schichten von oben nach unten durchnummeriert werden.

Zur Vereinfachung wird als Modell ein Fall mit zwei homogenen parallel zueinander liegenden Bodenschichten betrachtet (Abb. 2). Dabei befindet sich eine zur Oberfläche parallele Grenzfläche in der Tiefe  $h_1$ . Die relevanten Ausbreitungsrichtungen der Wellen werden als Strahlen dargestellt. Es wird angenommen, dass die Grenzfläche zwei Medien mit den Schallgeschwindigkeiten  $v_1$  und  $v_2 > v_1$  trennt.



**Abb. 2:** Schema der Laufwege des seismischen Signals zwischen Schlagpunkt  $x_S$  und Geophon  $x_R$  für den Fall von zwei parallelen Schichten.

Ziel ist es, den schnellsten Weg zu ermitteln, auf dem eine Welle vom Schlagpunkt  $x_S$  zum einem Geophon mit der Position  $x_R$  gelangt. Es gibt vereinfacht drei mögliche Wellenpfade, die in Abb. 2 mit unterschiedlichen Farben dargestellt werden. Der erste Wellenpfad ist der Direktschall direkt unter der Erdoberfläche (rot). Eine weitere Art von Wellen sind die Reflexionswellen (blau). Diese Wellen treffen in einem beliebigen Winkel auf den Schichtwechsel und werden zurück zur Oberfläche reflektiert. Als drittes gibt es noch die Refraktionswelle (grün). Diese trifft unter dem kritischen Winkel  $\theta$  auf die zweite Schicht und bewegt sich entlang des Schichtwechsels mit der Geschwindigkeit der unteren Schicht  $v_2$ . Dabei strahlt sie kontinuierlich Wellenenergie unter dem kritischen Winkel zurück.

Die Laufzeit  $t_D$  des Direktschalls (roter Pfad) ist gegeben durch

$$t_D = \frac{\left| x_R - x_S \right|}{v_1}.$$

Die Reflexionswellen (blau) sind für dieses Projekt nicht weiter relevant, da sie sich ausschliesslich mit der Geschwindigkeit  $v_1$  bewegen, dabei einen längeren Weg als die Wellen direkt unter der Oberfläche zurücklegen und somit immer später bei den Geophonen auftreffen.

Für die Refraktionswellen ist die Herleitung der Laufzeit etwas schwieriger. Der kritische Einfallswinkel  $\theta$  ist durch das Brechungsgesetz gegeben als

$$\theta = \arcsin\left(\frac{v_1}{v_2}\right).$$

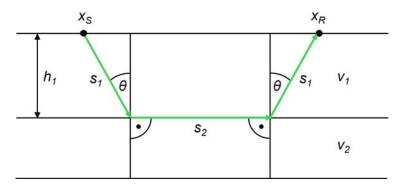


Abb. 3: Skizze der refraktierten Welle.

Aus Abb. 3 kann man die Laufzeiten für die drei Teilwege aus den trigonometrischen Beziehungen für  $s_1$  und  $s_2$  herleiten. Es gilt

$$t_R = 2\frac{s_1}{v_1} + \frac{s_2}{v_2} = 2\frac{h_1}{v_1 \cos \theta} + \frac{|x_R - x_S| - 2h_1 \tan \theta}{v_2}.$$

Mithilfe von trigonometrischen Beziehungen und dem kritischen Winkel kann dies zum Ausdruck

$$t_R = \frac{|x_R - x_S|}{v_2} + \frac{2h_1}{v_1} \sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2}$$

vereinfacht werden.

Ist  $t_R$  kleiner als  $t_D$ , wird das Signal der Refraktionswelle aufgezeichnet. Um die Wellengeschwindigkeit zu bestimmen, wird die Ankunftszeit der Welle gegenüber der zurückgelegten Strecke in einem sogenannten Laufzeitdiagramm aufgetragen. In Abb. 4 ist ein theoretisch erwarteter Datensatz abgebildet. Die roten Punkte sind durch die direkte Welle, die grünen durch die refraktierte Welle erzeugt worden. Durch die roten

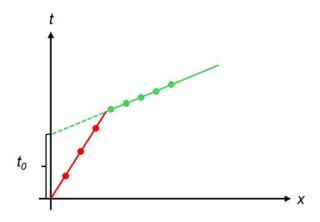


Abb. 4: Laufzeitdiagramm eines theoretisch erwarteten Datensatzes im parallelen Zweischichtenfall.

Punkte und die grünen Punkte kann jeweils eine Gerade gelegt werden, die sich an einem Punkt schneiden. Die Steigung der Geraden entspricht dem Kehrwert der Geschwindigkeiten  $v_1$  im Falle der roten und  $v_2$  im Falle der grünen Geraden. Aufgrund dieser Geschwindigkeiten kann auf die Zusammensetzung des Bodens geschlossen werden. Aus der Lage  $x_K$  des Schnittpunkts der beiden Geraden kann durch Gleichsetzen der beiden Gleichungen  $t_D = t_R$  und Auflösen nach  $h_1$  die Dicke der Schicht bestimmt werden

$$h_1 = \frac{1}{2} |x_K - x_S| \sqrt{\frac{v_2 - v_1}{v_2 + v_1}}.$$

Im Fall von mehreren Schichten lassen sich Geschwindigkeiten und Schichtdicken analog herleiten. Mehr Informationen dazu sind in der **academia**-SOP-A0026 zusammengestellt [4].

#### 2.3. Zweischichtenfall schief

Im Fall einer schiefen Schicht wird davon ausgegangen, dass die untere Schicht gegenüber der Oberfläche um einen Winkel  $\varphi$  geneigt ist. Positives  $\varphi$  bedeutet, dass die Schicht in positiver x-Richtung absinkt. Beim Koordinatenpunkt x = 0 and der Oberfläche verläuft die Grenzschicht in der Tiefe  $h_1$ .

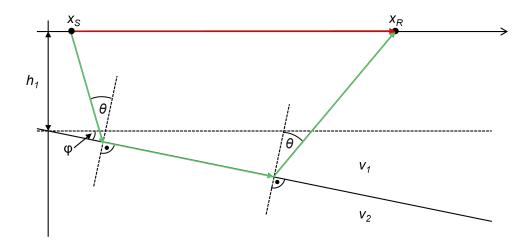


Abb. 5: Prinzipskizze des schiefen Zweischichtenfalls.

Für den Direktschall zwischen dem Schlagpunkt bei  $x_S$  und Geophon bei  $x_R$  gilt dieselbe Laufzeit wie im parallelen Fall, also

$$t_D = \frac{\left| x_R - x_S \right|}{v_1}.$$

Für die Refraktionswelle ist die Herleitung des Ausdrucks etwas schwieriger, es ergibt sich das Resultat

$$\begin{split} t_R &= \frac{|x_R - x_S|}{v_2} \cos \varphi + \frac{2h_1}{v_1} \sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2} \cos \varphi + \frac{x_R + x_S}{v_1} \sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2} \sin \varphi \\ &= \frac{|x_R - x_S|}{v_2} \cos \varphi + \frac{2h_S}{v_1} \sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2} \cos \varphi + \frac{x_R - x_S}{v_1} \sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2} \sin \varphi, \end{split}$$

wobei das zweite Resultat auf der Tiefe  $h_S = h_1 + x_S \tan \varphi$  direkt unter dem Schlagpunkt aufbaut. Zur Auswertung werden wieder die Steigungen im experimentellen Laufzeitdiagramm verwendet. Durch Ableitung der Gleichungen nach  $x_R$  sieht man, dass die Steigungen durch

$$\frac{dt_D}{dx_R} = \pm \frac{1}{v_1}$$

$$\frac{dt_R}{dx_R} = \pm \frac{1}{v_2} \cos \varphi + \frac{1}{v_1} \sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2} \sin \varphi$$

gegeben sind. Für die weitere Auswertung sind die folgenden Definitionen hilfreich:

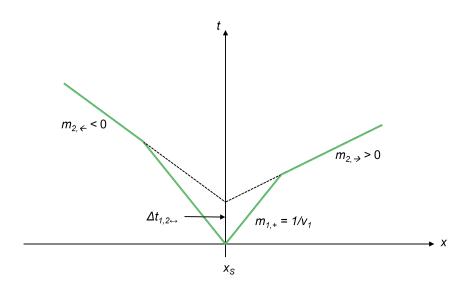
 $m_{1,+} \equiv$  vorzeichenfreie Steigung des Direktschalls (positiv) =  $\frac{1}{v_1}$ 

 $m_{2,\rightarrow} \equiv$  Steigung des Direktschalls bei Ausbreitung in x-Richtung (typisch positiv)

$$= \frac{1}{v_2}\cos\varphi + \frac{1}{v_1}\sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2}\sin\varphi$$

 $m_{2,\leftarrow} \equiv$  Steigung des Direktschalls bei Ausbreitung entgegen der x-Richtung (typisch negativ)

$$= -\frac{1}{v_2}\cos\varphi + \frac{1}{v_1}\sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2}\sin\varphi.$$



**Abb. 6:** Fiktives Messdiagramm zum schiefen Zweischichtenfall. Der Koordinatenursprung im Diagramm entspricht dem Schlagpunkt  $x_S$ , nicht dem Koordinatennullpunkt  $x_0$ .

Durch Addition und Subtraktion der Steigungen  $m_{2,\rightarrow}$  und  $m_{2,\leftarrow}$  lassen sich die relevanten Gleichungen für  $v_2$  und  $\varphi$  bestimmen

$$\frac{1}{v_2} = \frac{1}{2\cos\varphi} \left( m_{2,\rightarrow} - m_{2,\leftarrow} \right)$$

$$\sin \varphi = \frac{v_1}{2\sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2}} \left(m_{2,\rightarrow} + m_{2,\leftarrow}\right).$$

Eine längere Herleitung via  $\sin^2 \varphi + \cos^2 \varphi = 1$  ergibt mit den Ersetzungen  $b_{\rightarrow} = v_1 m_{2,\rightarrow}$  und  $b_{\leftarrow} = v_1 m_{2,\leftarrow}$  die Lösung

$$v_2 = v_1 \sqrt{\frac{2}{\left(b_{\rightarrow} - b_{\leftarrow}\right)^2} \left(1 - b_{\rightarrow} b_{\leftarrow} + \sqrt{\left(1 - b_{\rightarrow}^2\right) \left(1 - b_{\leftarrow}^2\right)}\right)}.$$



Schliesslich lässt sich die Schichttiefe  $h_S$  berechnen, indem man im Laufzeitdiagramm den Achsenabschnitt der Refraktionswelle beim Schlagpunkt  $x_S$  bestimmt (Grösse  $\Delta t_{1,2,\leftrightarrow}$  in Abb. 6). Mithilfe der Gleichung der Refraktionswelle beim Schlagpunkt  $x_R = x_S$  kriegt man die Gleichung

$$\Delta t_{1,2,\leftrightarrow} = \frac{2h_S}{v_1} \sqrt{1 - \left(\frac{v_1}{v_2}\right)^2} \cos \varphi,$$

die nach  $h_S$  ausgewertet werden kann.

#### 3. Methodik

#### 3.1. Messstandort

Zuerst wurde eine geeignete Stelle für die Messung gesucht. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Stelle eine Länge von mindestens 50 m hat und möglichst flach ist. Weiter durfte der Boden nicht zu weich sein und der Boden sollte möglichst nicht durch Fremdereignisse wie zum Beispiel Fussgänger oder Autos erschüttert werden.

Letztlich wurde eine Messreihe neben dem Silsersee mit Standort vom Geophon 0 beim Koordinatenpunkt (2'774'183/1'142'210) ausgeführt mit dem Ziel, die Tiefe des Grundwasserspiegels zu ermitteln (Abb. 7).

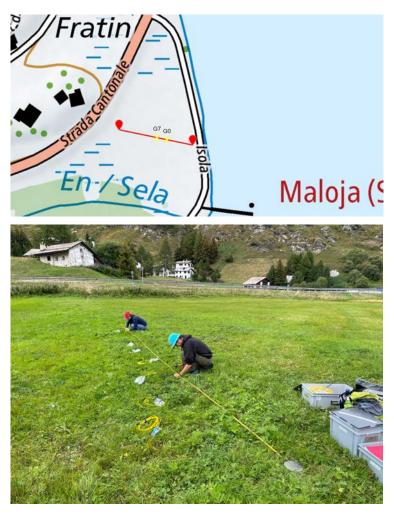


Abb. 7: Rekonstruktion der Messstrecke bei Maloja (oben) und Aufnahme des Messtandorts (unten).

Da die Stelle nahe beim See relativ flach war, wurde davon ausgegangen, dass die zweite Bodenschicht die Grundwasserschicht ist und dass diese parallel ist zur Erdoberfläche. Ein Nachteil des Standortes waren unter anderem der etwas weichere Boden und dass die Strasse eine potenzielle Quelle für Fremdereignisse war.



#### 3.2. Messmethodik

Die Messaperaturen wurde nach Abb. 8 aufgebaut. Acht Geophone wurden in Abständen von 1 m möglichst in einer Geraden vollständig im Boden versenkt. War der Boden zu hart, wurde versucht, mit Meissel und Hammer ein Loch in den Boden zu schlagen, oder den Boden so gut es möglich war aufzulockern. Danach wurde der Rest der Messapparatur aufgebaut und mit den Geophonen verbunden.

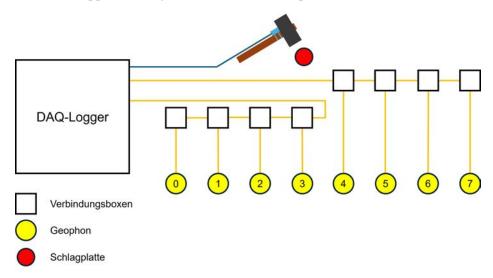
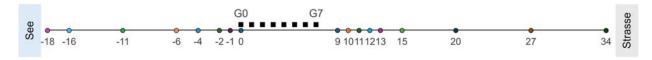


Abb. 8: Aufbauschema der Messapparatur.

Als Nullpunkt für die Messung wurde das Geophon 0 gewählt. Auf der verlängerten Gerade wurden nach Geophon 7 und vor Geophon 0 in verschiedenen Abständen Hammerschläge auf eine Schlagplatte ausgeübt. Die Schlagpunkte sind in der Abb. 9 abgebildet und nummeriert. Durch die Hammerschläge wurden geoseismische Wellen ausgelöst. Am Hammer befestigt befindet sich ein piezoelektrisches Element, welches bei jedem Hammerschlag ein Trigger-Signal auslöst. Dieses markierte den Start der Messung und stellte die Geophone scharf, welche die geoseismischen Wellen in der Folge dann aufzeichneten. Durch die Verschiebung der Schlagpunkte entlang der Geophon-Linie können komplexere, nicht parallele Strukturen besser erfasst werden. Ausserdem entsteht ein statistisch aussagekräftigerer Datensatz. Pro Schlagpunkt wurden fünf Schläge ausgeübt, deren entsprechenden Wellensignale bei der Auswertung gemittelt wurden.

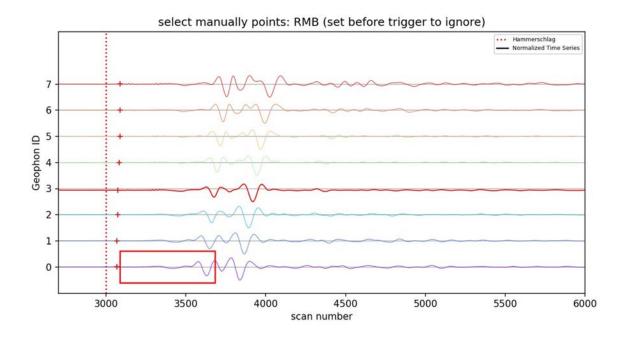


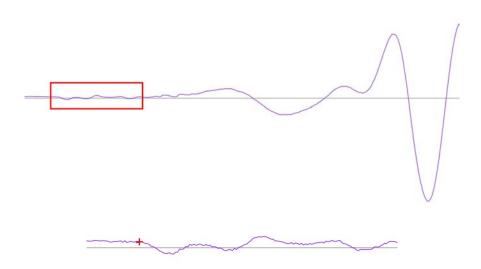
**Abb. 9:** Schematische Darstellung der Schlagpunkte. Die schwarzen Quadrate entsprechen den Geophonen G0 bis G7. Die Kreise stellen die Schlagpunkte dar, wobei die Zahl unterhalb des Schlagpunktes dem Abstand zu G0 in Meter entspricht. Die Farben entsprechen denjenigen der Laufzeitdiagramme in Abb. 12.

#### 3.3. Datenauswertung

In einem ersten Schritt wurden mit einem Python-Programm aus den erhobenen Daten Laufzeitdiagramme für jeden Schlagpunkt erstellt. Bei Python handelt es sich um eine Programmiersprache. Die csv-Files der einzelnen Schläge wurden vom Programm eingelesen und damit für jeden Schlag ein Wellendiagramm erstellt wie in Abb. 10 ersichtlich. Für jedes Geophon wurde für jeden Schlag so gut wie möglich der Startpunkt des Wellensignals bestimmt, indem in das Diagramm hineingezoomt wurde. Dabei musste beachtet werden, dass die Amplitude des Signals der P-Wellen wesentlich kleiner ist als die der anderen Wellentypen. Aus den erhaltenen Zeit-Werten wurde für jedes Geophon der Mittelwert berechnet, wobei Werte, die zu stark abwichen, ausgeschlossen wurden. Gleichzeitig wurde auch die empirische Standardabweichung von  $\Delta t$  bestimmt unter der Annahme, dass der Fehler normalverteilt sei. Diese wurden bildlich in einem Laufzeit-Diagramm festgehalten.

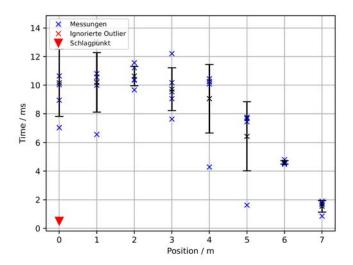






**Abb. 10:** Von oben nach unten: Ausgewertetes Wellendiagramm vom ersten Schlag bei m30. Um das Eintreten der Wellensignale zu bestimmen und mit einem Kreuz zu markieren, wurde kontinuierlich in das Diagramm hineingezoomt (untere zeei Teilbilder), wobei beim ersten Hineinzoomen kleinere Amplituden auffielen, die zuvor nicht sichtbar waren.

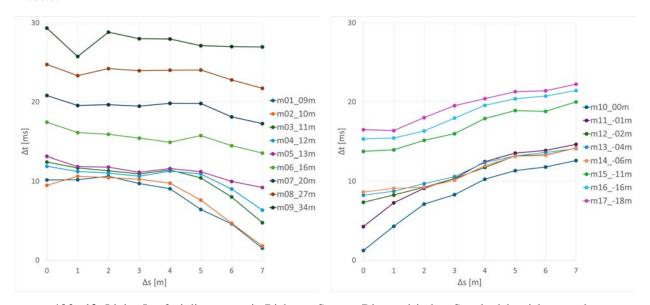
In einem zweiten Schritt wurden für jeden Schlagpunkt die Werte in ein Laufzeitdiagramm eingetragen, um die Qualität der Daten zu beurteilen. Ein Beispiel dazu ist in Abb. 11 gezeigt. Anschliessend wurden Mittelwerte der Wellenankunftszeiten bei den Geophonen gebildet und in ein EXCEL-File übertragen. Davon wurden Laufzeitdiagramme erstellt und anschliessend mit der least-square Methode Geraden zur Bestimmung der Geschwindigkeiten durch die Punkte gefittet. Wenn ein Knick im Laufzeitdiagramm erkannt wurde, wurden zwei Geraden durch die jeweiligen Punkte gefittet und der Schnittpunkt bestimmt. Aus den erhaltenen Steigungsmasse der Geraden, welche den Wellengeschwindigkeiten entsprechen, und den Schnittpunkten wurden anschliessend die Geschwindigkeit der Schichten, der Neigungswinkel im Vergleich zur Oberfläche und die Schichtdicke bestimmt.



**Abb. 11:** Laufzeitdiagramm vom Standort m01\_09m. Die blauen Kreuze (x) entsprechen den herausgelesenen Zeitwerten, die schwarzen Kreuze (x) dem Mittelwert und die Fehlerbalken der empirischen Standardabweichung. Der eingezeichnete Schlagpunkt stimmt nicht mit dem tatsächlichen überein.

#### 4. Resultate

Die Daten wurden nach Kap. 3.3 ausgewertet und in Abb. 12 als Laufzeitdiagramme dargestellt. Im Laufzeitdiagramm der Schlagpunkte m01\_09m, m02\_10m, m03\_11m, m04\_12m, m10\_00m und m11\_-01m liess sich wie in der Theorie beschrieben der zu erwartende theoretische Knick zwischen dem Direktschall und der Refraktionswelle feststellen (siehe Kap. 2.2). Die anderen, eher flacheren Laufzeitdiagramme sind den Ankunftszeiten der Refraktionswelle zuzuordnen. Die berechneten Steigungsmasse dieser Laufzeitdiagramme waren asymmetrisch, was gemäss Kap. 2.3 nicht einer parallelen Bodenschichtung, sondern einer schiefen Schicht entspricht, welche in Richtung des Sees abfallend bzw. in Richtung Strasse ansteigend sein müsste.



**Abb. 12:** Links: Laufzeitdiagramme in Richtung Strasse. Die empirischen Standardabweichungen der Zeit liegen zwischen 0.1 und 5.2 ms. Rechts: Laufzeitdiagramme in Richtung See. Die empirischen Standardabweichungen der Zeit liegen zwischen 0.1 und 10.4 ms.



Mit einer Berechnung anhand Kapitel 3 konnten Geschwindigkeiten  $v_1 = 349\,\mathrm{m\,s^{-1}}$  für die obere und  $v_2 = 1414\,\mathrm{m\,s^{-1}}$  für die untere Schicht berechnet werden. Laut Literatur entspräche dies feuchtem Lehm oder Sand in der oberen und gesättigtem Lehm oder Sand in der unteren Schicht [5]. Weiter konnte berechnet werden, dass die untere Schicht im Vergleich zur oberen einen Neigungswinkel  $\varphi$  von ungefähr 5.9° hat und dass die Schichtdicke  $h_S$  bei Geophon 0 ungefähr 1 m beträgt. Auf weitere Fehlerrechnung wurde verzichtet, die Begründung dafür findet sich im Kap. 5.

#### 5. Diskussion

Trotz nicht professioneller Geoseismik-Apparatur und von Hand ausgewerteten Daten ergab die Messung ungefähr realistische Resultate. Die berechneten Geschwindigkeiten für  $v_1$  und  $v_2$  sowie die entsprechenden Materialien waren zu erwarten. Weiter lässt sich mithilfe vom map.geo.admin feststellen, dass das Gelände vom See in Richtung Strasse leicht ansteigt. Dies würde den positiven Winkel erklären, da die untere Schicht, welche dem Grundwasserspiegel entspricht, horizontal ist und die obere Schicht von Geophon 0 zu Geophon 7 ansteigt (vgl. Abb. 5). Die ausgerechnete Schichtdicke beim Geophon 0 macht ungefähr Sinn, da die Messfläche etwas erhöht lag im Vergleich zum See.

Jedoch muss angemerkt werden, dass die Resultate nicht statistisch abgesichert sind. Wie in Kapitel 4 angemerkt, wurde nämlich gänzlich auf eine Fehlerrechnung verzichtet. Grund dafür war die relativ grossen Standardabweichungen, wie beispielsweise in Abb. 11 ersichtlich.

Es gäbe verschiedene Faktoren, die Einfluss auf das Ergebnis nehmen könnten. Zum einen entsprach der Messstandort nicht idealen Bedingungen. Relativ nahe am Messort verläuft eine Strasse, wobei durch vorbeifahrende Fahrzeuge Erschütterungen erzeugt wurden. Weiter war der Boden relativ weich, was unter anderem dazu führte, dass die Schlagplatte beim Schlag in den Boden eindrang. Weitere Fehlerquellen ergeben sich aufgrund der Messung und der Auswertung Die Daten wurden ungenauer, je weiter weg der Schlagpunkt von den Geophonen entfernt war, da bei längerem Laufweg die Wellensignale schwächer werden. Auch wurde das Trigger-Signal beim Schlag nicht exakt zum Zeitpunkt ausgelöst, als der Hammer auf die Schlagplatte traf, was bei der Auswertung mit dem Python-Programm ersichtlich wurde, da teilweise Daten vor dem eigentlichen Trigger-Signal aufgezeichnet wurden. Bei der Auswertung mit dem Python-Programm kam eine nächste Fehlerquelle hinzu, da die Daten von Hand ausgelesen wurden und der Startpunkt des Wellensignals nicht immer klar feststellbar war.

Beim Fitten der Gerade in EXCEL kam es zu weiteren Ungenauigkeiten, da nur Daten von acht Geophonen für die Auswertung vorhanden waren. Dies führte dazu, dass teilweise Geraden nur durch drei oder sogar zwei Punkte gefittet wurden, was die Verlässlichkeit der so bestimmten Steigungsmasse der Geraden massiv beeinflusst.

#### 6. Fazit

Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass die Messung und die Auswertung an sich gut geklappt haben. Die erwarteten Trends lassen sich in den Diagrammen und nach Berechnungen erkennen. Jedoch sind die Messwerte nicht statistisch abgesichert. Für Folgeprojekte wäre es daher interessant, wenn eine professionelle Hammerschlagseismik-Apparatur mit mehr Geophonen zur Verfügung stehen würde.

#### 7. Dank

Wir bedanken uns herzlich bei allen Beteiligten für ihre Hilfe beim Projekt. Bei Prof. Dr. Andreas Fichtner und Dr. Cédric Schmelzbach vom Institut für Geophysik der ETH Zürich bedanken wir uns für die wissenschaftlichen Beratung beim Geoseismik-Projekt und die Möglichkeit, unser Projekt im Rahmen eines Seminarvortrags am Institut für Geophysik vorstellen zu dürfen.

#### 8. Literaturverzeichnis

[1] Fichtner A., «Geophysik I – Chapter 4: Seismic Waves», Vorlesungsfolien, Moodle ETH Zürich (29.11.2024)



- [2] Murakami M., «Towards unterstanding the Earth Chapter 5: Structure of the Earth», Vorlesungsfolien, Moodle ETH Zürich (01.10.2024).
- [3] Selim M. M., «Body Waves» in Gupta, H. K. (eds) «Encyclopedia of Solid Earth Geophysics. Encyclopedia of Earth Sciences Series». Springer, Dordrecht (2011).
- [4] academia-SOP-A0026, «Auswertung Geoseismik» (V01, 3.3.2025).
- [5] Lowrie W., «Seismology and the internal structure of the Earth» in «Fundamentals of Geophysics», Cambridge: Cambridge University Press, pp. 121–206 (2007).



# Methodenentwicklung für den Nachweis von Mikroplastik mithilfe von Fluoreszenzmarkern

Marileen Colruyt, Jonas Jaskolski, Malin Kaufmann, Noah Kirchschläger, Nils Lüthi

#### 1. Einführung

Mikroplastik findet man heutzutage an sehr vielen Stellen. Dies ist insofern problematisch, als dadurch Tiere und Pflanzen geschädigt werden können [1]. Um die Forschung dazu voranzutreiben ist es wichtig, einfache Methoden zu entwickeln, mit welchen sich Mikroplastik leichter nachweisen lässt. So lag dieses Jahr der Schwerpunkt des Projekts auf der Entwicklung einer neuen Methode, um Mikroplastik mithilfe von Fluoreszenzmarkern nachzuweisen. Dafür wurde ein Teil der Proben mit der in der academia bekannten Methode (VIS-Methode) [2, 3] aufbereitet. Diese Methode beinhaltet das Trennen und Filtern der Bodenproben mit anschliessendem Auszählen des Filters unter dem Binokular-Mikroskop. Nun wurde diese Methode um einen zusätzlichen Schritt ergänzt, welcher dem Einfärben und Sichtbarmachen des Mikroplastiks unter UV-Licht dient. Dazu wurden zwei Fluoreszenzmarker erprobt. Um die neue Methode (Fluoreszenz-Methode) zu erforschen, wurden Versuche mit verschiedenen Plastikarten durchgeführt. Später wurde die Fluoreszenz-Methode auf gesammelte Boden- und Sandproben angewendet.

#### 2. Theorie

#### 2.1. Mikroplastik

Mikroplastik sind kleine Kunststoffteile, die per Definition einen Durchmesser kleiner als 5 mm haben. Mikroplastik wird Gebrauchsgegenständen wie Zahnpasta und Kosmetik direkt zugesetzt, kann aber auch durch die Einwirkung der Witterung auf Plastikabfall, also den Zerfall von Kunststoffprodukten, entstehen. Ausserdem verlieren synthetische Kleidungsstücke sowohl beim Tragen als auch beim Waschen Mikroplastik. (Mikro-)Plastik ist umweltschädlich und problematisch für Tiere, Pflanzen, Gewässer, Böden und Menschen [4, 5]. Ein Grund dafür ist, dass es Hunderte bis Tausende Jahre braucht, bis sich Plastik abgebaut hat. Die Teilchen können sich in Organismen anreichern und diese so schädigen. An Methoden, Mikroplastik aus Wasser herauszufiltern, wird seit längerem geforscht. Diese Aufgabe ist allerdings nicht besonders einfach [5].

#### 2.2. Nilrot

Kunststoffe setzen sich aus langen Kohlenwasserstoffketten zusammen. Aus diesem Grund eignen sich lipophile Farbstoffe gut, diese einzufärben [6]. Nilrot (9-(Diethylamino)-5H-benzo[ $\alpha$ ]-phenoxazin-5-on; UPAC) ist ein fluoreszierender und hydrophober Farbstoff (siehe Abb. 1) [6, 7]. Je nach Lösungsmittel hat Nilrot seine maximale Absorption zwischen 524 nm und 600 nm [8]. Der Farbstoff wird häufig zum Einfärben von Kunststoffen oder Mikroplastik verwendet, da mit ihm eine schnelle Detektion möglich ist, und er über eine ausreichende photochemische Stabilität verfügt [7]. Eingefärbt lassen sich die winzigen Kunststoffpartikel mit einem Binokular-Mikroskop oder einem Fluoreszenz-Mikroskop gut unter UV-Licht erkennen.

Aufgrund der Struktur von Nilrot eignen sich zur Herstellung von Lösungen organische Lösungsmittel, welche sowohl einen apolaren als auch polaren Teil aufweisen, beispielsweise Methanol ( $CH_3OH$ ), Ethanol ( $CH_3CH_2OH$ ) oder Aceton ( $CH_3COCH_3$ ). Da die verwendete Literatur auf unterschiedliche Lösungsmittel für Nilrot hingewiesen hat, wurde aufgrund der einfachen Verfügbarkeit zuerst Ethanol verwendet. Später wurde eine Kombination aus Aceton und n-Hexan ( $C_6H_{14}$ ) für einige Versuche verwendet [7]. Das n-Hexan wurde bei dieser Kombination im Überschuss zugefügt, damit die Farblösung die apolaren Kunststoffteilchen einfacher färben kann.

**Abb. 1:** Die Strukturformeln von Nilrot (links) [9] und Fluoreszin (rechts) [10].

#### 2.3. Fluoreszin

Fluoreszin wird unter den fluoreszierenden Farbstoffen sehr häufig eingesetzt. Der Farbstoff hat ein Absorptionsmaximum bei 488 nm und eine hohe Photostabilität [11]. Diese Eigenschaften machen Fluoreszin zu einem nützlichen Fluoreszenzmarker. In wässriger Lösung kann Fluoreszin als Kation, Anion, Dianion oder neutral vorkommen [12]. Dies sorgt für eine pH-Abhängigkeit der Absorptions- und Fluoreszenzeigenschaften von Fluoreszin. Für das Detektieren von Mikroplastik kann Fluoreszin ebenfalls verwendet werden, doch ist es nicht ganz so effektiv wie Nilrot [13].

#### 3. Methodik

#### 3.1. Konzept der Vorgehensweise

Im Folgenden wird die alte Methode als VIS-Methode und die neue Methode als Fluoreszenz-Methode bezeichnet. Um die neue Fluoreszenz-Methode zu entwickeln, wurde zuerst eine Literaturrecherche durchgeführt. Anschliessend wurde der Weg mit den Fluoreszenzmarkern weiterverfolgt. Dafür wurden zwei Fluoreszenzmarker getestet: Nilrot und Fluoreszin. Dann wurden mit diesen Fluoreszenzmarkern verschiedene Versuche durchgeführt. So konnte die Fluoreszenz-Methode erforscht werden. Nach der Methodenentwicklung wurde zum Methodenvergleich mit der bekannten VIS-Methode übergegangen. Dazu wurden Bodenproben gesammelt und diese mit der VIS-Methode und der Fluoreszenz-Methode aufbereitet und der Mikroplastik darin ausgezählt. Die Proben wurden teilweise im September 2024 ausgezählt, eine zweite Auszählungsrunde fand im Dezember 2024 statt. So wurden einige Proben doppelt ausgezählt. Alle Auszählungen fanden unter einem Binokular-Mikroskop statt, je nach Methode mithilfe einer UV-Lampe. Um das Potential der Methode erfassen zu können, wurden die Proben zusätzlich unter einem professionellen UV-Binokular-Mikroskop der Universität Zürich betrachtet. Dort wurden Fotos gemacht, um die Sichtbarkeit der fluoreszierenden Mikroplastik-Teilchen vergleichen zu können.

#### 3.2. Methodenentwicklung

#### 3.2.1. Versuche zur Entwicklung der Fluoreszenz-Methode

Nilrot und Fluoreszin wurden an den Plastikarten Polycarbonat (PC), Polyamid (PA), Polystyrol (PS), Polypropylen (PP), Polyethylen (low density, LDPE), Acrylnitril-Butadien-Styrol (ABS) und Polyethylen (high density, HDPE) untersucht. Bei den Versuchen wurden die Faktoren Fluoreszenzmarker, Konzentration der Fluoreszenzmarker-Lösung, Menge der Fluoreszenzmarker-Lösung, Zeit, Temperatur und Oberflächenstruktur der Plastikteilchen variiert.

#### 3.2.2. Herstellung der Nilrot-Lösung

Da es für die Konzentration des Pigmentes in der Lösung keinen einheitlichen Wert in der Literatur gab, wurden Versuche mit variierender Konzentration durchgeführt. Die verwendete Literatur hat auf eine Konzentration von  $0.1 \,\mu g \, mL^{-1}$  bis  $10 \,\mu g \, mL^{-1}$  hingewiesen. Bei den Experimenten wurden gute Erfahrungen mit einer Konzentration zwischen  $1 \,\mu g \, mL^{-1}$  und  $1.5 \,\mu g \, mL^{-1}$  in Ethanol gemacht.

Neben Ethanol wurde ebenfalls eine Kombination aus Aceton und n-Hexan verwendet. Hierfür wurde erst eine Stammlösung aus Nilrot und Aceton mit einer Konzentration von  $0.05 \text{ g L}^{-1}$  hergestellt. Diese Lösung wurde anschliessend in verschiedenen Verhältnissen in n-Hexan verdünnt. Verwendet wurden die Verhältnisse 1:10 (Konzentration an Nilrot: 5 mg/L), 1:20 (2.5 mg/L), 1:50 (1 mg/L) und 1:100 (0.5 mg/L).

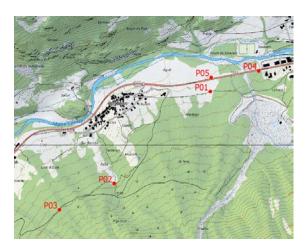


#### 3.3. Methodenvergleich

#### 3.3.1. Probestandorte

Zum Prüfen der Methode unter Feldbedingungen wurden zwei verschiedene Probearten ausgewertet: fünf Erdproben und fünf Sandproben. Drei Standorte der Bodenproben liegen auf einem Wanderweg zwischen Vicosoprano (GR, CH) und Stampa (GR, CH). In der Nähe von zwei dieser Wanderwegstandorte befindet sich eine Sitzbank, wodurch ein grösseres Aufkommen von Menschen zu erwarten ist, und somit auch eine gewisse Menge an Mikroplastik anzunehmen ist. Die restlichen zwei Bodenproben wurden an Strassenrändern der Strada Cantonale in Vicosoprano entnommen.

Die Sandproben stammen vom Ufer des Silvaplanersees (GR, CH). Entweder wurden sie an Stellen im Sand, die leicht vom Wasser überschwemmt werden oder an einem Stein- oder Sandsträndchen entnommen. Oft waren dies kleine Einbuchtungen, in welche der Wind hineinweht, also auch die Strömung in diese Richtung stärker sein dürfte, womit womöglich eine höhere Quantität an Mikroplastik zu finden ist. Weil viel Mikroplastik für die Methodenentwicklung gebraucht wurde, wurden Standorte gewählt, an welchen die Wahrscheinlichkeit für eine Anlagerung von Mikroplastik hoch eingeschätzt wurde.



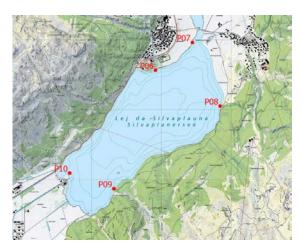


Abb. 2: Karte der Probenstandorte. Links die Standorte der Bodenproben, rechts die Standorte der Sandproben.

#### 3.3.2. Probenahme der Erdprobe

An den Standorten der Bodenproben wurde auf einer ebenen Wiesenfläche ein Quadrat abgesteckt (wie in Abb. 3 links dargestellt). In den Ecken dieses Quadrats mit Kantenlänge 60 cm wurde jeweils ein kleineres Quadrat mit Seitenlänge 20 cm abgesteckt. Mithilfe eines Spatens wurde in diesen kleineren Quadraten die Grasschicht entfernt. Danach wurde 2.5 cm tief Erde abgetragen und in einen Alubehälter abgefüllt. Auf diese Weise wurde aus einem kleinen Quadrat ein Probenvolumen von ungefähr einem Liter entnommen. Addiert mit den restlichen drei Quadraten ergibt dies ein Gesamtvolumen von 4 L. Der Behälter wurde anschliessend gut verpackt und beschriftet.

#### 3.3.3. Probenahme der Sandproben

Die Sandproben wurden auf dieselbe Weise gewonnen wie die Bodenproben (siehe Abb. 3 rechts). Am Probestandort wurde nahe am Wasser ebenfalls ein Quadrat mit der Kantenlänge 60 cm abgesteckt. In den Ecken des Quadrats wurde je ein Quadrat mit der Seitenlänge 20 cm abgesteckt. Von dort wurde 2.5 cm tief Sand abgetragen und in einen Alubehälter abgefüllt.

#### 3.3.4. Bodenprobenaufbereitung

Im Labor wurden alle Proben eines Standorts gemischt und somit homogenisiert. Danach wurden die Proben bei 60 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Proben wurden mit einem 2 mm-Sieb gesiebt. Danach wurden sie in eine gesättigte Salzlösung eingefügt. Die Salzlösung besteht aus 8 L





Abb. 3: So sehen die Standorte der Erd- (links) bzw. der Sandproben (rechts) nach der Probenahme aus.

Wasser und  $2.88\,\mathrm{kg}$  Kochsalz, was einen Salzgehalt von 26% und eine Dichte von ungefähr  $1.2\,\mathrm{g/cm^3}$  ergibt (gesättigte Salzlösung). Die Dichte wurde mit einem Refraktometer überprüft. Der Teil der Probe, der auf der Salzlösung aufschwamm, wurde mit einem Sieb abgeschöpft und in einen Alubehälter abgefüllt. Die Proben wurden erneut bei  $60\,^{\circ}\mathrm{C}$  im Trockenschrank getrocknet, bis kein Gewichtsverlust mehr festzustellen war. Der Teil, welcher am Boden des Eimers blieb, weil er eine höhere Dichte hatte, wurde entsorgt. Dieser wurde nicht mehr gebraucht, da der Grossteil des Mikroplastiks aufgrund einer geringeren Dichte als die Salzlösung aufschwimmt und dann abgeschöpft wurde. Eigentlich war geplant, das abgetragene und getrocknete Material mit  $30\,\%$  Wasserstoffperoxid-Lösung  $(H_2O_2)$  zu behandeln, damit sich der Mikroplastik einfacher vom organischen Material trennen lässt, da Wasserstoffperoxid organisches Material zersetzt. Dies konnte aber nicht durchgeführt werden, da zu grosse Mengen Wasserstoffperoxid gebraucht worden wären. Die durchgeführten Vorversuche sahen allerdings vielversprechend aus und sollten weiter verfolgt werden. Die mit oder ohne Wasserstoffperoxid bearbeiteten Proben wurden anschliessend erneut gefiltert. Die Rückstände im Filter konnten nun gefärbt werden.

#### 3.3.5. Sandprobenaufbereitung

Die Sandproben wurden zu Beginn ebenfalls gemischt und homogenisiert. Danach wurden sie im Trockenschrank getrocknet, damit sie einfacher gesiebt werden können und anschliessend gesiebt. Grösseres Material (z. B. Steine) können bei diesem Schritt bereits entfernt werden. Die Proben wurden nun halbiert. Auf diese Weise konnten fortan die VIS-Methode und die Fluoreszenz-Methode angewandt werden. Beide Teile einer Probe wurden in einer gesättigten Salzlösung aufgeschlämmt. Bei der bekannten VIS-Methode wurde das Material, das oben im Eimer aufschwamm, abgeschöpft und in einem Milchsieb gefiltert. Dieser Filter wurde anschliessend kurz getrocknet. Anschliessend konnte die Probe unter dem Binokular-Mikroskop oder dem Mikroskop untersucht und die Plastikpartikel ausgezählt werden.

Für die Fluoreszenz-Methode wurde die andere Hälfte der Probe ebenfalls mithilfe der Dichtetrennung in Salzlösung getrennt. Danach wurde der obere Teil abgeschöpft und anschliessend abgenutscht. In die Glasfritte wurde ein schwarzer Polycarbonat-Filter (Porengrösse 0.45 µm) gelegt, um das Material, welches den Filter nicht passieren konnte, in der Fritte zu sammeln. Das Material auf dem Filter wurde mit Nilrot eingefärbt (vgl. Kap. 3.3.6). Anschliessend wurden die Plastikpartikel im Material unter dem Binokular-Mikroskop oder Mikroskop mit UV-Licht angeschaut und ausgezählt.

#### 3.3.6. Einfärben mit Nilrot

Das während der Dichtetrennung abgeschöpfte und anschliessend gefilterte Material wurde mit dem Filter in einer Petrischale platziert. In die Petrischale wurde genügend Nilrot-Lösung hinzugefügt, damit sich der Plastik gut einfärben konnte (ungefähr 5 mm hoch). Das Material soll bedeckt, aber nicht überflutet sein, ansonsten bewegt sich das Material vom Filter weg.

Die Petrischale wurde anschliessend mit Deckel in einen vorgewärmten Trockenschrank gestellt. Der Deckel auf der Probe verhindert, dass das Lösungsmittel des Nilrots sofort verdampft. Falls nach der vorgesehenen Trocknungszeit noch Lösungsmittel vorhanden ist, kann der Deckel kurz abgenommen werden, sodass der Rest verdampft.



#### 3.3.7. Mikroplastik-Partikel auszählen

Für das Auszählen der Mikroplastik-Partikel wurde der Filter in eine Petrischale befördert. Auf diese Weise konnte die Probe gut unter dem Binokular-Mikroskop untersucht werden. In kreisförmigen Bewegungen wurde die gesamte Probe nach Mikroplastik abgesucht. Zuerst wurde die Probe unter VIS-Licht einer kleinen Stehlampe untersucht. Anschliessend kam ein Durchgang mit ultraviolettem Licht (UV-Licht, Wellenlänge 256 nm), da gewisse Mikroplastikstücke unter VIS-Licht nicht erkennbar waren. Wenn ein Stück als Mikroplastik identifiziert werden konnte, wurde es als Filament, Knäuel oder Stück eingeteilt.

Beim Betrachten der Proben unter dem UV-Licht musste sorgfältig vorgegangen werden. Auf den Proben kann sich Staub ablagern. Der Staub hat die Eigenschaft, das UV-Licht stark zu reflektieren, was als vermeintliches Fluoreszieren gedeutet werden kann. Dies kann zu Verfälschungen führen. Dieselben Probleme können mit fluoreszierendem oder stark reflektierendem organischem Material auftreten, zum Beispiel kleinen Wurzeln. Aus diesem Grund muss beim Auszählen mit Vorsicht entschieden werden, was Mikroplastik und was organisches Material ist.



Abb. 4: Auszählen der Mikroplastikpartikel unter dem Binokular-Mikroskop mit VIS-Licht.

#### 4. Resultate

#### 4.1. Methodenentwicklung

Für die Methodenentwicklung wurden verschiedene Plastikproben untersucht und diverse Parameter beim Einfärbeprozess verändert. Experimentiert wurde hauptsächlich mit unterschiedlichen Konzentrationen des Farbstoffes und des Lösungsmittels, sowie mit verschiedenen Einwirkzeiten und Temperaturen. Zusätzlich wurden mit selbst hergestelltem Mikroplastik (aus den Kunststoffproben) und Fluoreszin Versuche mit Fokus auf der Menge an zugesetzter Farblösung durchgeführt. Es sollte getestet werden, ob eine höhere Quantität an Farbstoff-Lösung tatsächlich zu einer besseren Sichtbarkeit des Mikroplastiks unter UV-Licht führt. Es wurden unterschiedliche Mengen zwischen 5 Tropfen bis zu 2 Pipetten einer Fluoreszin-Ethanol-Lösung beigefügt. Die Konzentration des Fluoreszins betrug 1.44 mg/L. Die Proben wurde für 15 min bei 60° im Trockenschrank getrocknet. Die Auswertung ergab, dass zwar mehr Lösung zu einer besseren Sichtbarkeit führte, jedoch war der Unterschied ab 10 Tropfen kaum von Auge erkennbar.

Die Ergebnisse aller Versuche sind in Tab. 1–6 dargestellt. Die Tabelleneinträge zeigen, wie stark die Probepartikel fluoreszieren. Wo es interessant ist, wird zusätzlich die Farbe der Fluoreszenz angegeben. Es gibt einige Plastikarten, die von sich aus, ohne das Einfärben durch einen Fluoreszenzmarker, fluoreszieren. Das ist in der Tabelle als «fluoreszieren selbst» vermerkt. Ein Bindestrich bedeutet, dass die Probe nicht fluoresziert.



# Variable Plastikarten, Zeiten und Temperaturen mit Nilrot

	15 min,	10 min,	15 min,	10 min,
	60°C	60 °C	Zimmertemperatur	Zimmertemperatur
Polycarbonat (PC)	-	-	-	-
Polyamid (PA)	fluoreszieren	-	-	-
	selbst			
Polystyrol (PS)	-	-	-	-
Polyprolylen (PP)	-	-	-	-
Polyethylen (low density)	schwach	schwach	-	-
(LDPE)				
Acrylnitril-Butadien-	fluoreszieren	-	-	-
Styrol (ABS)	selbst			
Polyethylen (high density)	-	-	-	-
(HDPE)				

**Tab. 1:** Die verschiedenen Kunststoffe wurden mit Nilrot eingefärbt und anschliessend unterschiedlich lang bei unterschiedlichen Temperaturen gelagert.

#### Variable Plastikarten und Konzentrationen mit Nilrot

	5 mg/L (1:10)	2.5 mg/L (1:20)
PC	-	-
PA	fluoreszieren selbst	fluoreszieren selbst
PS	-	-
PP	-	-
LDPE	schwach	schwach
ABS	fluoreszieren selbst	-
HDPE	-	sehr schwach

**Tab. 2:** Die verschiedenen Kunststoffe wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von Nilrot eingefärbt. Die Lösung wurde mit Ethanol verdünnt. Anschliessend wurden die Versuchsgläser für 15 min bei 60 °C in einem dunklen Raum gelagert.

#### Variable Plastikarten und Konzentrationen mit rauer Oberfläche und Nilrot

	5 mg/L (1:10)	2.5 mg/L (1:20)
PC	-	-
PA	stark	stark
PS	schwach	sehr schwach
PP	schwach	sehr schwach
LDPE	mittel	schwach
ABS	stark	stark
HDPE	schwach	sehr schwach

**Tab. 3:** Die verschiedenen Kunststoffe mit veränderter Oberfläche wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von Nilrot eingefärbt. Die Proben wurden mit einer Flachfeile angeraut und anschliessend in Versuchsgläsern für 15 min bei 60 °C in einem dunklen Raum gelagert.



#### Variable Position des Mikroplastiks mit Nilrot

	15 min	20 min	30 min
neben Filter	mittel	mittel	mittel
auf Filter	mittel	mittel	mittel

**Tab. 4:** Mit Nilrot in der Konzentration 1:10 wurden die Petrischalen mit einem schwarzen Polycarbonat-Filter mit allen 7 Plastikarten (PA, PP, LDPE, ABS, PC, HDPE, PS) eingefärbt. Danach wurden alle für 15 min, 20 min resp. 30 min bei 60 °C in einem dunklen Raum gelagert. Zwischen den Plastikarten gab es keine grossen Unterschiede.

#### Variable Plastikarten und Konzentrationen mit Fluoreszin

	50 mg/L (1:1)	5 mg/L (1:10)	2.5 mg/L (1:20)
PC	-	schwach	-
PA	sehr schwach	-	-
PS	stark	-	-
PP	schwach	schwach	-
LDPE	stark	stark	schwach
ABS	stark	-	-
HDPE	schwach	-	-

**Tab. 5:** Die verschiedenen Kunststoffe wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von Fluoreszin eingefärbt. Anschliessend wurden die Versuchsgläser für 15 min bei 60 °C in einem dunklen Raum gelagert.

#### Variable Plastikarten mit Fluoreszin

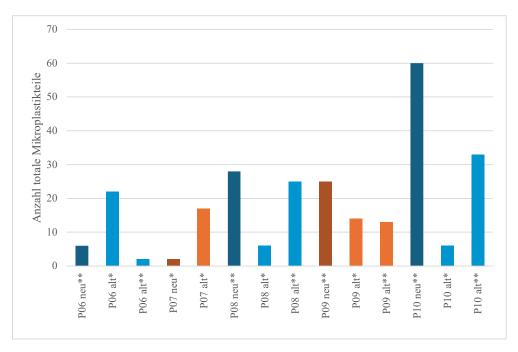
	5 mg/L (1:10)
PA	schwach pink/violett
PS	sehr schwach pink
PP	gelb
LDPE	schwach gelb
ABS	stark pink
HDPE	schwach gelb

**Tab. 6:** Versuch zur Einfärbung verschiedener Kunststoffe mit Fluoreszin. Alle Versuchsgläser waren für 15 min bei 60 °C in einem dunklen Raum gelagert. In der Tabelle ist auch die Farbe des Fluoreszenzlichts angegeben.

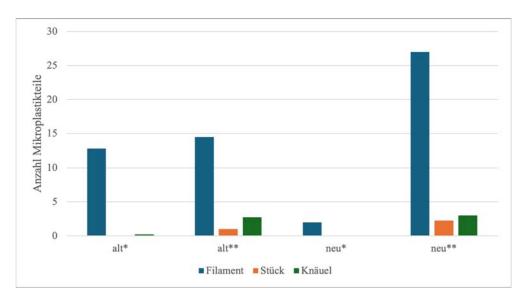
#### 4.2. Methodenvergleich

Um einen Methodenvergleich durchführen zu können, wurden Erd- und Sandproben gesammelt. In Abb. 5 sind die Resultate der Sandproben dargestellt. Es ist zu sehen, dass sich kein klares Muster zwischen der VIS-Methode und der Fluoreszenz-Methode mit UV-Lampe und Binokular-Mikroskop (mit den Mitteln an der Kantonsschule Wattwil) erkennen lässt. Ausserdem gibt es bei den Proben der VIS-Methode grosse Unterschiede zwischen Auszählung 1 und Auszählung 2 der gleichen Proben.

Die Abb. 6 zeigt, mit welcher Methode welche Art von Mikroplastik (Filament, Stück, Knäuel) gesehen werden konnte. Dargestellt ist der Durchschnitt der Mikroplastikteile pro Probe je Methode. Wichtig zu beachten ist, dass im Auszählungsdurchgang 1 nur eine Probe mit der Fluoreszenz-Methode ausgezählt wurde. Das bedeutet, dass das Ergebnis unter neu\* nur die Auszählung einer einzigen Probe repräsentiert. Auffällig ist, dass bei allen Methoden vor allem Filamente gezählt wurden. Bei der zweiten Auszählung im Dezember konnten mit der Fluoreszenz-Methode (bezeichnet mit neu\*\*) im Durchschnitt am meisten Filamente pro Probe gezählt werden.



**Abb. 5:** Zu sehen sind die Resultate der Proben, jeweils ausgewertet mit zwei verschiedenen Methoden. Die Abkürzungen bedeuten dabei: alt - VIS-Methode (dargestellt in heller Farbe), neu - Fluoreszenz-Methode unter UV-Licht (dargestellt in dunkler Farbe), \* - Auszählungsdurchgang 1 im September, \*\* - Auszählungsdurchgang 2 im Dezember.

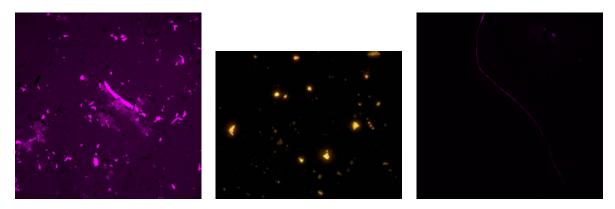


**Abb. 6:** In der Abbildung wird dargestellt, welche Art von Mikroplastik im Durchschnitt pro Probe mit der jeweiligen Methode erhoben werden konnte. Die Abkürzungen bedeuten dabei: alt - VIS-Methode, neu - Fluoreszenz-Methode unter UV-Licht, \* - Auszählungsdurchgang 1 im September, \*\* - Auszählungsdurchgang 2 im Dezember.

Die Abb. 7 und 8 zeigen, dass mithilfe eines professionellen UV-Binokular-Mikroskopes der Mikroplastik besser auf Fotos gesehen werden kann, vor allem auch kleine Mikroplastik-Teilchen.



**Abb. 7:** Diese Abbildung zeigt ein Mikroplastik-Filament, welches mit der Fluoreszenz-Methode mit einer UV-Lampe und einem Binokular-Mikroskop nachgewiesen wurde.



**Abb. 8:** Diese Abbildung zeigt Mikroplastik-Filamente und Mikroplastikstücke, welche mit der Fluoreszenz-Methode mit einem professionellen UV-Binokular-Mikroskop nachgewiesen wurden.

#### 5. Diskussion

# 5.1. Methodenentwicklung

Die Prozessentwicklung gestaltete sich langwieriger als erwartet. Nilrot färbte den Plastik bei den durchgeführten Färbeversuchen besser als Fluoreszin und erwies sich somit als geeigneterer Farbstoff. In diversen Fachartikeln wurden verschiedene Konzentrationen für die Verwendung von Nilrot gefunden. Zudem finden sich Angaben, wonach sich aufgrund thermodynamischer Eigenschaften die Plastikfragmente bei höherer Temperatur besser einfärben sollten. Zu diesen beiden Parametern, Temperatur und Konzentration, wurde daher versucht, experimentell ein Optimum zu suchen. Dies stellte sich als äusserst schwierig heraus. Als am besten geeignet erwies sich Nilrot in einer Aceton-Hexan-Lösung mit einer Nilrotkonzentration von  $2.5\,\mu\text{g/L}$ . Diese Lösung wurde in der Folge den Proben hinzugegeben und die Effizienz der Anfärbung bei verschiedenen Temperaturen im Trockenschrank getestet. Die Referenzproben färbten sich bei 60 °C im Trockenschrank am stärksten ein.

#### 5.2. Methodenvergleich

Aussagen zu treffen ist bei der kleinen Anzahl untersuchter Proben sehr schwierig, und es lassen sich nur erste Richtungen erahnen. Wie in Abb. 5 beschrieben, lassen sich nur schwer Muster zwischen der VIS-Methode und Fluoreszenz-Methode erkennen. Die Proben, bei welchen eine Mikroplastikanzahl über 30 gefunden werden konnte, wurden alle mit der Fluoreszenz-Methode unter dem Binokular-Mikroskop mit UV-Licht ausgewertet. Das könnte darauf hindeuten, dass es möglich ist, mit der Fluoreszenz-Methode grössere Mengen an Mikroplastik zu zählen als mit der bisherigen Methode.

Eine Schwierigkeit stellt dabei dar, dass die gefärbten Stücke nur teilweise klar als Plastik definiert werden konnten. Bei einigen Proben bestand Verwechslungsgefahr zwischen fluoreszierenden Mikroplastik-Filamenten, Staubpartikeln und Wurzeln von Pflanzen oder Pilzen. Dies ist eine mögliche Fehlerquelle für die Resultate.

Bei den Proben der VIS-Methode, welche doppelt ausgezählt wurden, sind erhebliche Unterschiede zwischen den Auszählungsdurchgängen 1 und 2 ersichtlich. Das könnte darauf hindeuten, dass das Auszählen mit VIS-Licht unzuverlässig ist und sich deshalb die Ergebnisse des Auszählens unterscheiden. Eine weitere Erklärung könnte sein, dass die Auszählungen durch verschiedene Personen erfolgten. So könnte es sein, dass jede Person ein Plastikfragment anders kategorisiert oder zählt. Somit entstehen unterschiedliche Resultate, obwohl es dieselbe Probe ist, da die definierten Kriterien unterschiedlich interpretiert wurden. Eine klare Definition mit Übungsdurchlauf wäre hier sicherlich sinnvoll gewesen, um diesem Fehler möglichst wirkungsvoll entgegen zu wirken.

Die Erdproben konnten leider nicht ausgewertet werden, da das organische und mineralische Material ein Hindernis darstellte. Versuche, mit Wasserstoffperoxid den überflüssigen organischen und mineralischen Anteil zu vernichten, erwiesen sich als zu uneffektiv für die Menge an Probenmaterial.

Abb. 6 lässt vermuten, dass Knäuel und Stücke mit der Fluoreszenz-Methode mit UV-Licht besser gesehen werden können als mit der VIS-Methode. Hauptsächlich wurden aber Filamente gefunden. Es wird vermutet, dass diese Filamente von Kleidung oder Sportgeräten stammt. Mit den Resultaten und den Bildern der Filamente kann keine Aussage zur Nachverfolgung der Herkunft der Filamente getroffen werden. Auch hier sind die Resultate mit grosser Wahrscheinlichkeit durch uneinheitliches Auszählen ungenau geworden.

#### 6. Fazit

In diesem Projekt wurde eine neue Methode (Fluoreszenz-Methode) zur Identifizierung von Mikroplastik in Sandproben mithilfe von Fluoreszenzmarkern entwickelt. Die Untersuchungen zeigten, dass sich insbesondere Nilrot als geeignetes Färbemittel für apolare Kunststoffe erwies, während Fluoreszin nur begrenzte Erfolge erzielte. Durch Optimierung der Färbezeit, Temperatur und Konzentration konnte ein verbessertes Verfahren definiert werden, damit Mikroplastik unter UV-Licht noch stärker fluoresziert. Des Weiteren konnten die Proben an einem professionellen UV-Mikroskop am Zentrum für Mikroskopie untersucht werden. Dieses technisch hochwertige UV-Binokular-Mikroskop scheint vielversprechend zu sein, um die fluoreszierenden Mikroplastikteilchen besser detektieren zu können.

Um präzisere Aussagen über die Resultate treffen zu können, müssten mehr Proben analysiert werden. Jedoch war das Ziel des Projekts die Entwicklung der neuen Fluoreszenz-Methode und nicht primär die Auswertung der Proben. Zusammenfassend bietet die entwickelte Methode eine vielversprechende Alternative zur bisherigen Mikroplastikanalyse und könnte in einem nächsten Projekt als ausgetestete Methode verwendet werden, um Proben zuverlässiger zu analysieren.

#### 7. Dank

Ein grosser Dank geht an das Zentrum für Mikroskopie der Universität Zürich (UZH) für das Bereitstellen ihrer Geräte. Insbesondere geht der Dank an Dr. José María Mateos Melero der UZH für die Instruktionen zu den Geräten und die Hilfe beim Fotografieren und Untersuchen unserer Proben.

#### 8. Literaturverzeichnis

- [1] Greenpeace Österreich, «10 Fakten zu unserem Plastik-Planeten Erde», https://greenpeace.at/news/10-fakten-zu-unserem-plastik-planeten-erde/(Zugriff: 22.01.2025).
- [2] Appenzeller R. et al., «Mikroplastik», in: «Forschungsbericht über die Studienwoche 2016, Dänemark», Forschungsgruppe **academia**, Wattwil (2017).
- [3] **academia** SOP-A0038, «Wasserhärte/Hydrogencarbonat (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)-Titration», V12 (2021).
- [4] Ivleva N. P. et al., «Mikroplastik in aquatischen Ökosystemen», Angewandte Chemie **56(7)**, 1720–1739 (2016).
- [5] Primpke S. et al., «Mikroplastik in der Umwelt», Chemie in unserer Zeit 51(6), 402-412 (2017).



- [6] Shim W. J. et al., «Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining», Marine Pollution Bulletin **113(1-2)**, 469-476 (2016).
- [7] Tarafdar A. et al., «Differential staining lowers the false positive detection in a novel volumetric measurement technique of microplastics», Journal of Hazardous Materials **432**, 128755 (2022).
- [8] Tajalli H. et al., «The photophysical properties of Nile red and Nile blue in ordered anisotropic media», Dyes and Pigments **78(1)**, 15-24 (2008).
- [9] Wikipedia contributors, «Nilrot», https://de.wikipedia.org/wiki/Nilrot (Zugriff: 07.02.2025).
- [10] Wikipedia contributors, «Fluorescein», https://de.wikipedia.org/wiki/Fluorescein (Zugriff: 07.02.2025).
- [11] Sjöback R. et al., «Absorption and fluorescence properties of fluorescein», Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy **51(6)**, L7-L21 (1995).
- [12] Zanker V. und Peter W., «Die prototropen Formen des Fluoresceins», Chemische Berichte **91**, 572-580 (1958).
- [13] Lv L. et al., «A simple method for detecting and quantifying microplastics utilizing fluorescent dyes safranine T, fluorescein isophosphate, nile red based on thermal expansion and contraction property.», Environ Pollut. **255(2)**, 113283 (2019).



# Ökologie von Neophyten im Bergell

Anne Sophie Colruyt, Selma Dellenbach, Madlaina Gantenbein, Fiona Jäger, Cedric Palme, Benigno Rossi, Pascal Schmuki, Nico Schulthess

# 1. Einführung

Neophyten verdrängen einheimische Pflanzen aus ihrem ursprünglichen Lebensraum und stellen eine Belastung für unsere Umwelt dar. Beispielsweise gedeiht das Einjährige Berufkraut ursprünglich auf nährstoffreichen Böden, jetzt aber verdrängt es die einheimische Flora auf nährstoffarmen Magerwiesen [1]. Invasive Pflanzen können sich meist schnell an gegebene Umweltfaktoren anpassen, deshalb wird angenommen, dass sie eine zunehmend breitere ökologische Nische besetzen. Ökologische Nischen beschreiben die Gesamtheit der Umweltfaktoren an einem bestimmten Ort.

Die diesjährige Vegetationsgruppe hat sich dazu entschieden, die Verbreitung von Neophyten im Bergell zu dokumentieren. Durch den menschengemachten Klimawandel tendieren Pflanzen dazu, innerhalb von Tälern immer weiter hinauf zu wandern. Das Bergell steigt von weit unter 1000 m ü. M. auf über 1800 m ü. M. an und ist somit ein ideales Gebiet, um zu untersuchen, ob sich diese Tendenz auch hier abzeichnet. Im Rahmen der Feldarbeit lag der Fokus auf der Suche und der Bestimmung der Neophyten. Gesucht wurde in Casaccia, Vicosoprano, Maloja, Soglio und Promontogno, sowie im Val Bondasca. Von InfoFlora wurden Meldungen von Neophyten betrachtet und aufgrund von diesen wurden die vorher genannten Suchgebiete gewählt. Bei jedem Fund wurden die Koordinaten aufgenommen und an bestimmten Standorten Bodenproben entnommen. Aus den Bodenproben wurde eine Bodenlösung angefertigt, primär zur Bestimmung des Boden-pH und der im Boden gelösten Nährstoffe, um Rückschlüsse auf die ökologische Nische der Neophyten zu ziehen.

#### 2. Methodik

Für die Erforschung der Neophyten wurden im Rahmen der Feldarbeit Neophyten-Exemplare, Bodenproben und Standortdaten gesammelt. Die Bodenproben wurden aufbereitet, damit der pH-Wert und die Leitfähigkeit gemessen werden konnten. Weitergehend konnten mit Ionenchromatographen die aufbereiteten Bodenproben auf ihren Gehalt an Kationen und Anionen untersucht werden.

#### 2.1. Feldarbeit

Bei InfoFlora wurden bereits bekannte Standortdaten von Neophyten im Bergell bezogen [2]. Mit diesen Daten wurden vor Aufnahme der Feldarbeit mehrere Gebiete bestimmt, in welchen nach Neophyten gesucht wurde. Dabei konnten die folgenden Neophytenarten bestimmt werden: Einjähriges Berufkraut (*Erigeron annuus*), Kanadische Goldrute (*Solidago canadensis*), Kleines Springkraut (*Impatiens parviflora*), Vielblättrige Lupine (*Lupinus polyphyllus*), Sommerflieder (*Buddleja davidii*), Sumatra-Berufkraut (*Conyza sumatrensis*), Verlotscher Beifuss (*Artemisia verlotiorum*) und Zarte Binse (*Juncus tenuis*). Während der Studienwoche im Bergell wurden jeden Tag im Feld mehrere gewählte Standorte begangen und untersucht. Wurden bei der Begehung potentielle Neophyten entdeckt, so wurden sie mit dem Bestimmungsbuch «Flora Helvetica» [3] und der App «PictureThis: Blumen und Bäume» [4] bestimmt. Zur Dokumentation der Verteilung wurde daraufhin ein GPS-Punkt genommen und die Anzahl Pflanzen einer Art gezählt. Erwies sich der Neophyt als invasiv wurde zusätzlich eine Bodenprobe entnommen. Alle Probenstandorte wurden an InfoFlora gemeldet, invasive Neophyten wurden entwurzelt und fachgerecht entsorgt. Für alle Pflanzenstandorte wurden zudem die Exposition und die Höhe aus einem GIS-Geländemodell ausgelesen.

#### 2.2. Probenaufbereitung

Um eine verlässliche Bestimmung der Bodenzusammensetzung durchzuführen, mussten die Proben aufbereitet werden. Die Bodenproben wurden in Aluminiumbehälter abgewogen und im Trockenschrank bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Danach wurden die Proben mithilfe eines 2 mm-Siebes von Störmaterial wie Kieselsteinen, Zweigen und Wurzeln getrennt. Je 20 g der gesiebten Bodenproben wurden

mit 100 mL destilliertem Wasser in einem verschliessbaren Glas unter den Vorgaben der SOP-Bodenlösung [5] geschüttelt, um die Inhaltsstoffe ins Wasser zu überführen. Anschliessend konnten die Leitfähigkeit und der pH-Wert der Bodenlösung mit dem Messgerät SevenGo-Duo von Mettler-Toledo gemessen werden. Im Anschluss wurden die Proben gefiltert und eingefroren, um später im Labor eine Ionenchromatographie durchzuführen.

#### 2.3. Ionenchromatographie

Die Ionenchromatographie (IC) ist eine analytische Methode, die die Trennung und Analyse ionischer Verbindungen untersucht. Ihr Prinzip basiert auf den Wechselwirkungen zwischen Ionen in der mobilen Phase und der geladenen Oberfläche der stationären Phase im Ionenchromatographen. Da sowohl negativ als auch positiv geladene Ionen gemessen werden, wird weiter in Anionen- und Kationenchromatographie unterschieden. Bei einer positiv geladenen stationären Phase werden negativ geladene Ionen analysiert (Anionenchromatographie) und bei einer negativ geladenen stationären Phase werden positiv geladene Ionen analysiert (Kationenchromatographie). In den aufbereiteten Bodenproben befinden sich stets unterschiedlich geladene Teilchen. Kleinere und weniger stark geladene Teilchen passieren die Trennsäule schneller und einfacher und kommen früher zum Detektor. Jedes Ion hat eine charakteristische Zeit, welche es braucht, um zum Detektor zu gelangen. Diese charakteristische Zeit wird genutzt, um die Ionenart zu bestimmen. Die Peakfläche, verglichen mit der Peakfläche eines Standards, bestimmt den Ionengehalt.

In diesem Projekt wurden die Anionen Chlorid (Cl<sup>-</sup>), Bromid (Br<sup>-</sup>), Phosphat (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), Nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) und Sulfat (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) sowie die Kationen Natrium (Na<sup>+</sup>), Kalium (K<sup>+</sup>), Ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), Lithium (Li<sup>+</sup>), Magnesium (Mg<sup>2+</sup>) und Calcium (Ca<sup>2+</sup>) gemessen. Im Labor wurde für jede der gesammelten und aufbereiteten Bodenproben der Anionen- und Kationengehalt gemessen.

#### 2.4. Datenauswertung

Um die Verteilung der gesuchten Neophyten zu untersuchen, wurde deren Häufigkeit pro Suchgebiet betrachtet. So können die Suchgebiete miteinander verglichen werden, was eine Interpretation der geografischen Verbreitung der einzelnen Pflanzenarten innerhalb des Bergells ermöglicht. Weiter wurden die Exposition und die Höhe der einzelnen Fundorte in Polardiagrammen dargestellt, in welchen allfällige Präferenzen beider Standortfaktoren festgestellt werden können.

Die Bodenparameter, sprich der pH-Wert und die Ionenkonzentrationen der Bodenlösungen, wurden in Boxplots dargestellt. In diesen Boxplots wurden zudem Referenzbereiche für Ackerböden und saure Waldböden [6] markiert. Anhand dieser Referenzbereiche kann abgeschätzt werden, ob sich die beprobten Böden stark von Acker- und sauren Waldböden unterscheiden.

Die Leitfähigkeit der Bodenlösung wurde gemessen, um die Plausibilität der gemessenen Ionenkonzentrationen zu prüfen. Dabei wird angenommen, dass die Ladungsträgerdichte proportional zur Leitfähigkeit der Bodenlösung ist. Die Ladungsträgerdichte kann berechnet werden, indem alle Ionenkonzentrationen mit der jeweiligen Ionenladung multipliziert und aufsummiert werden. Als zweiter Plausibilitätscheck wurde eine Probe an zwei unterschiedlichen Messtagen mit dem Ionenchromatographen gemessen. Der Grad der Übereinstimmung zwischen den beiden Messungen ist ein Indiz für die Reproduzierbarkeit der Messungen.

# 3. Resultate

# 3.1. Verteilung der Standorte

Die Verteilung der gefundenen Neophytenarten pro Standort ist in Abb. 1 dargestellt. Das Einjährige Berufkraut (*Erigeron annuus*) wurde als einzige Pflanze an allen Standorten gefunden. In Soglio kommt das Einjährige Berufkraut noch in relativ grosser Menge vor, seine Häufigkeit nimmt jedoch an höher gelegenen Standorten ab, wie beispielsweise in Maloja. Im Gegensatz dazu konnten die anderen Pflanzen nur an spezifischen Standorten oder Regionen dokumentiert werden. Beispielsweise wurde die Vielblättrige Lupine (*Lupinus polyphyllus*) nur in den höher gelegenen Regionen und das Sumatra-Berufkraut (*Conyza sumatrensis*) an tieferliegenden Standorten gefunden. Insgesamt zeigt die Abbildung, dass die tieferen Regionen des Tals eine höhere Diversität aufweisen, während in Maloja und Casaccia nur die Vielblättrige Lupine, das Einjährige Berufkraut und eine kleine Anzahl von Verlotschem Beifuss (*Artemisia verlotiorum*) festgestellt werden konnten.

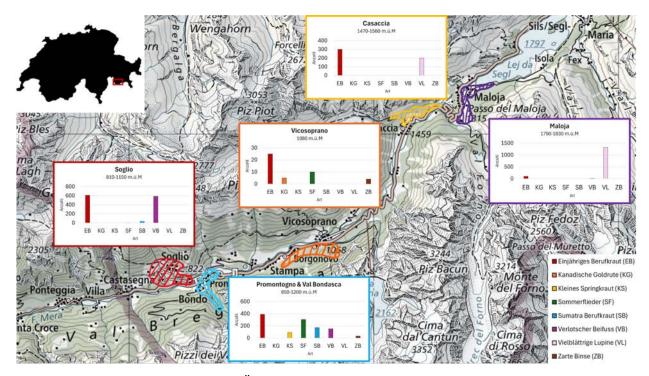


Abb. 1: Die Abbildung zeigt eine Übersicht über die Verteilung der untersuchten Standorte und gefundener Neophyten im Bergell. Die Verbreitung und Häufigkeit der gefundenen Neophyten wird mit Balkendiagrammen dargestellt, welche in der Abbildung mit den farbigen Rahmen den Fundorten zugeordnet werden. Die Höhe der Balken gibt die Anzahl der gefundenen Pflanzen an diesem Standort an. Dabei muss aber beachtet werden, dass bei den Diagrammen auf der y-Achse nicht einheitliche Einteilungen verwendet wurden. Das bedeutet, dass gleich grosse Balken in verschiedenen Diagrammen nicht unbedingt die gleiche Anzahl darstellen.

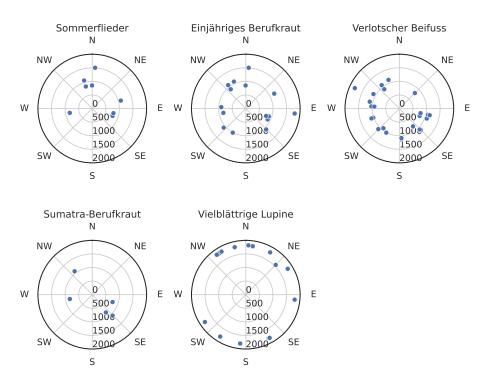
# 3.2. Höhe und Exposition

In Abb. 2 fällt auf, dass die Vielblättrige Lupine speziell in der Höhe wächst, anders als die anderen Pflanzen. Insgesamt zeigt auch diese Abbildung, wie die Vielfalt in den tieferen Gebieten des Tals grösser ist, während in höheren Lagen fast ausschliesslich die Vielblättrige Lupine gefunden wurde. Jede Pflanzenart verhält sich je nach Ausrichtung des Hanges unterschiedlich, mehrheitlich aber gedeihen sie alle in West- oder Ostlagen. Die Vielblättrige Lupine bildet auch hier die Ausnahme.

#### 3.3. IC Konzentrationen

In Abb. 3 sind die in den Bodenproben erhaltenen Ionenwerte der Standorte der verschiedenen Pflanzenarten gezeigt. Dabei ist zu beachten, dass lediglich das Einjährige Berufkraut, der Verlotsche Beifuss und die Vielblättrige Lupine eine genügend grosse Datenmenge aufwiesen, weshalb die anderen Pflanzenarten in diesen Diagrammen vernachlässigt werden. Um einen Vergleich mit anderen Böden zu ermöglichen, wurden Referenzbereiche für Ackerböden in orange und für saure Waldböden [6] in grün markiert. Dadurch lassen sich Rückschlüsse darauf ziehen, um welchen Bodentyp es sich an den einzelnen Standorten handelt. Die Chlorid- und Nitratkonzentrationen sind beide sehr niedrig. Nitrat und Phosphat gehören zu den Nährstoffen, wobei die Phosphatwerte den Referenzwerten der Wald- und Ackerböden entsprechen. Der Boden des Verlotschen Beifuss weist hier jedoch höhere Konzentrationen auf. Die Sulfat- und Natriumkonzentrationen sind beide am unteren Ende des Referenzbereichs, wobei die Sulfatkonzentrationen noch ein Stück tiefer liegen. Der Verlotsche Beifuss tendiert hier aber zu höheren Werten, welche fast komplett im Referenzbereich liegen. Die Kalium- und Kalziumkonzentrationen werden beide von den Referenzbereichen abgedeckt. Magnesium und Kalium jedoch weisen eine höhere Konzentration in den Böden der Lupine auf, liegen ansonsten in den Richtwerten. Da sämtliche Lithiumkonzentrationen unter der Detektionsgrenze lagen, wurde kein Diagramm für diese Werte gemacht. Wichtig zu bemerken sind die fehlenden Referenzwerte der Bromidkonzentrationen.





**Abb. 2:** Hier wird die geografische Höhe der Pflanzenstandorte verteilt auf die Ausrichtungen des jeweiligen Hanges gezeigt. Jedes Diagramm bezieht sich auf eine spezifische Pflanzenart. Der Radius des Kreises ist die Achse für die Höhe, sprich je weiter aussen ein Punkt liegt, desto höher ist der Standort gelegen. Zudem wird die Ausrichtung des Hanges, auf welchem die Pflanze wuchs, in den vier Himmelsrichtungen Norden (N), Süden (S), Westen (W), und Osten (E) angegeben.

Analog zu den Ionenkonzentrationen sind in Abb. 4 die pH-Werte vom Boden des Einjährigen Berufkrauts, des Verlotschen Beifusses und der Vielblättrigen Lupine dargestellt. Der Boden-pH der Vielblättrigen Lupine hat die grösste Spannweite dieser drei Arten, er reicht von pH 4 bis über pH 6.5. Die drei Mediane unterscheiden sich nur wenig. Die Werte aller drei Arten liegen grösstenteils im pH-Bereich eines Ackerbodens.

#### 4. Diskussion

# 4.1. IC Konzentrationen der Bodenproben

Nitrat und Sulfat sind typische Nährstoffe, die bei den gemessenen Daten zwischen den Referenzbereichen für Acker- und saure Waldböden und Null liegen. Das könnte darauf zurückzuführen sein, dass Neophyten eine breite ökologische Nische besetzen und auf beinahe jedem Boden gedeihen können. Aus diesem Grund waren sie auch häufig auf kargen Böden anzutreffen, auf denen nur wenige Pflanzen gediehen. Bei Kalzium sind grosse Schwankungen zu erkennen. Kalzium ist das fünfthäufigste Element und der Nährstoff mit den höchsten Gehalten in anorganischen Verbindungen. Die Kalziumkonzentration einer Probe wird stark durch das Untergrundgestein beeinflusst. So weisen Proben auf kalkhaltigem Gestein typischerweise hohe und solche auf silikathaltigem Gestein tiefe Kalziumkonzentrationen auf. Aus diesem Grund kommt es bei diesen Werten zu einer weiten Streuung. Das gleiche betrifft Magnesium, da es ähnlich durch das Untergrundgestein beeinflusst wird wie Kalzium. Magnesium wird in der Pflanze vor allem als Baustein für Chlorophyll verwendet und ist essenziell für die Pflanze. Die hohen Konzentrationen von Kalzium und Magnesium im Boden könnten auf das Dolomitgestein zurückzuführen sein, da dieses reich an Kalzium und Magnesium ist und im Bergell vorkommt. Jedoch ist Dolomitgestein nicht überall anzutreffen, was die hohen Konzentrationen nicht vollständig erklären kann. Natrium, Magnesium und Chlorid sind Elemente, die leicht aus dem Boden herausgewaschen werden und vom Abbau organischer Materialien stammen. Da das Einjährige Berufkraut und der Verlotsche Beifuss vor allem auf kargen Böden mit wenig organischem Material anzutreffen sind, könnten dort die Elemente weggeschwemmt worden sein. Darum zeigen unsere Werte bei diesen Elementen besonders tiefe Werte.

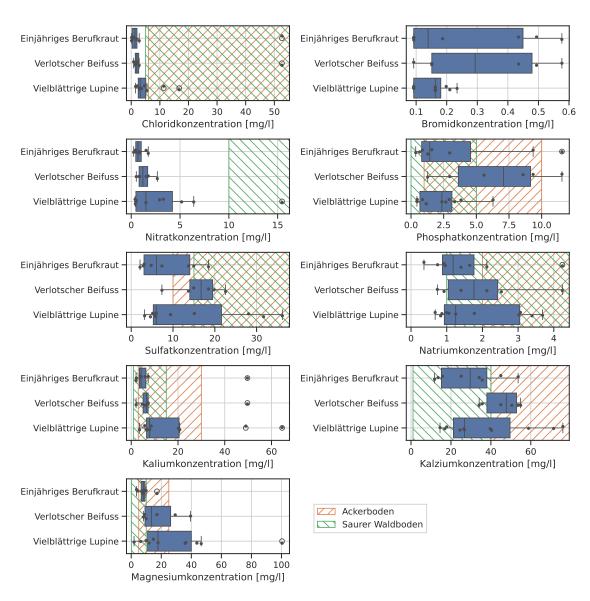
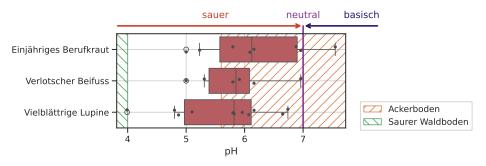


Abb. 3: Boxplots der in den Bodenlösungen enthaltenen Ionenkonzentrationen. Der Bereich vom 25. zum 75. Perzentil sind dabei mit blauen Balken markiert, der Median liegt bei der vertikalen Linie im Kasten. Die Konzentrationen zwischen dem 5. und 95. Perzentil sind mit den Antennen angedeutet. Ausreisser liegen ausserhalb der Antennen und sind zusätzlich mit einem kleinen Kreis markiert. Für alle Ionen ausser Bromid sind Referenzbereiche [6] für Ackerböden orange (
) und für saure Waldböden grün (
) schraffiert. Für Nitrat ist der Referenzbereich für Ackerböden höher als der dargestellte Bereich und deshalb nicht eingezeichnet.



**Abb. 4:** Boxplots der in den Bodenlösungen gemessenen pH-Werte (Erklärung der Boxplots siehe Bildlegende Abb. 3 − sämtliche Perzentile wurden nicht in der logarithmischen pH-Skala, sondern in der linearen Skala der Protonenkonzentrationen berechnet). Referenzbereiche [6] für Ackerböden sind orange (⊘) und für saure Waldböden grün (ℕ) schraffiert.

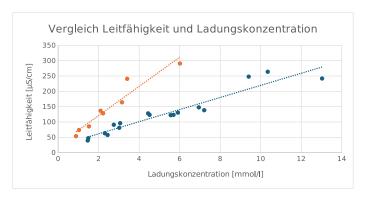


#### 4.2. Geografische Verteilung

Das Einjährige Berufkraut sollte gemäss InfoFlora [1] aufgrund der niedrigen Temperaturen selten oberhalb von 1000 m ü. M. anzutreffen sein. Bei uns liegen die meisten gefundenen Arten in diesem Bereich, jedoch wuchsen auch einige Exemplare weit oberhalb der 1000 m ü. M. Das könnte ein Indiz sein, dass die Pflanze in den letzten Jahren immer weiter in die Höhe wandern konnte und die Höhenbeschränkung nicht mehr aktuell ist. Die Vielblättrige Lupine hat eine sehr breite Höhenverbreitung, die von 400 – 2000 m ü. M. reicht [7]. Die gemessenen Werte zeigen jedoch, dass sie sich im Bergell zwischen 1500 und 2000 m ü. M. verbreitet hat. Unterhalb von 1500 m ü. M. konnte ihr Vorkommen nicht nachgewiesen werden. Das könnte bedeuten, dass sie sich besonders in der Höhe verbreiten kann und nur dort konkurrenzfähig gegenüber anderen Pflanzen ist. Der Sommerflieder sollte bis zu einer Höhe von 1300 m ü. M. in der Schweiz anzutreffen sein [8]. Dieser Bereich stimmt mit unseren Messungen überein, nur ein Standort befindet sich 200 Meter höher. Die anderen Funde sind in diesem Bereich verteilt, was darauf hindeutet, dass dieser einzige Standort ausserhalb der erwarteten Höhe eine Ausnahme bildet oder aber, dass sich die Pflanze schon weiter verbreitet hat.

# 4.3. Leitfähigkeit und Ladungskonzentration

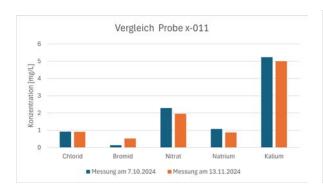
Um zu überprüfen, ob die gemessenen Resultate realistisch sind, wurden die Leitfähigkeit und die Ladungskonzentrationen der Bodenlösungen verglichen. Die Leitfähigkeit der Proben sollte ungefähr proportional zur Summe aller Ladungskonzentrationen sein, die sich in der gesammelten Erde befinden. Da diese Ladungen vor allem aus den im Boden enthaltenen Nährstoffen entspringen, wurden die Ladungskonzentrationen auf Basis der Daten des Ionenchromatographen berechnet. Dafür wurden die Resultate des IC in Stoffmengenkonzentrationen umgewandelt, mit der Ladungszahl ihres Ions multipliziert und anschliessend die erhaltenen Werte aufsummiert, um die gesamthafte Ladungskonzentration aller Nährstoffe zu bekommen. In Abb. 5 ist eine blau markierte sowie eine orange markierte Gerade zu erkennen. Die beiden Geraden unterscheiden sich durch den Zeitpunkt der Probenaufbereitung und der direkt anschliessenden Messung der Leitfähigkeit. Dieser Zeitpunkt lag für die Proben der blauen Gerade im Forschungslager, während die Proben der orangenen Gerade erst nach dem Lager aufbereitet und gemessen wurden. Die blaue Gerade verläuft wesentlich flacher als die orange Gerade. Dieser markante Unterschied deutet auf einen systematischen Fehler hin und lässt sich am ehesten durch einen Kalibrationsfehler des Leitfähigkeitsmessgeräts in einer der beiden Messreihen erklären. Ein Problem mit der Kalibration des Ionenchromatographen ist eher unwahrscheinlich, da Proben beider Geraden eher zufällig auf die zwei IC-Messtage aufgeteilt wurden. Trotzdem können Einbussen in der Datenqualität bei den IC-Messungen nicht vollständig ausgeschlossen werden.



**Abb. 5:** Vergleich der Leitfähigkeit und der aufsummierten Ladungskonzentrationen aller Proben. Blau markiert sind die Proben, deren Aufbereitung und Leitfähigkeitsmessung im Lager stattgefunden hat, während dies bei den orange markierten Proben erst nach dem Lager in Wattwil stattfand.

Eine der Bodenproben wurde zu zwei verschiedenen Zeitpunkten mit dem IC gemessen. Die Messwerte der beiden Messungen sind in Abb. 6 dargestellt. Die grössten Unterschiede liegen bei Bromid und Magnesium, weshalb diese Werte mit Vorsicht zu geniessen sind. Die anderen IC-Konzentrationen zeigten nur geringe Unterschiede. Dennoch müssten mehr Repetitionsmessungen durchgeführt werden, um die Verlässlichkeit der restlichen Messwerte abzusichern.





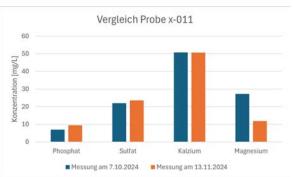


Abb. 6: Vergleich der Ionenkonzentrationen der Probe, die an den zwei Messtagen gemessen wurde.

#### 5. Fazit

Innerhalb dieses Projektes konnte viel über Neophyten und deren Ausbreitung im Bergell in Erfahrung gebracht werden. Durch die Bodenproben konnten die Standorte der Neophyten besser charakterisiert werden. Dabei fiel besonders auf, dass diese Pflanzen vor allem auf kargem Boden mit wenig organischem Material wachsen. Kennzeichnend dafür sind die tiefen Werte von Nitrat und Sulfat, bei denen sich die Neophyten immer noch ansiedeln konnten. Generell befinden sich zudem die gefundenen Pflanzenarten in höheren Lagen und scheinen diese zu bevorzugen. Anhand des Einjährigen Berufkrauts lässt sich weiterführend erkennen, dass die Pflanzen eine leichte Tendenz zeigen, aus ihren etablierten Höhengrenzen in immer höhere Lagen zu wandern.

Für eine ausführlichere Untersuchung der Neophyten könnten zusätzlich andere Bodenparameter untersucht werden. Dies würde die Ansprüche der einzelnen Neophyten-Arten präziser definieren. Zudem könnte ein spezifischeres Vorgehen helfen, bei dem nur festgelegte Arten gesucht werden. So könnten grössere Datenmengen zu einzelnen Arten erhoben werden, was für aussagekräftigere Resultate sorgen würde.

Abschliessend kann jedoch gesagt werden, dass in diesem Projekt das Vorkommen der Neophyten in mehreren Aspekten erfolgreich untersucht wurde und viel Erfahrung gesammelt werden durfte.

# 6. Danksagung

Wir möchten uns herzlich bei Michael Jutzi und Corentin Wagner von InfoFlora für die Bereitstellung der Standortdaten aller bekannten Neophyten im Bergell bedanken.

# 7. Literaturverzeichnis

- [1] InfoFlora, «Erigeron annuus (L.) DESF. (Asteraceae). Factsheet» (2019).
- [2] «Datenbezug InfoFlora», https://www.infoflora.ch/de/(Zugriff: 02.07.2025).
- [3] Lauber K. et al., «Flora Helvetica, Illustrierte Flora der Schweiz», 6. Auflage, Haupt-Verlag Bern (2018).
- [4] «PictureThis», https://www.picturethisai.com/de/(Zugriff: 18.12.2024).
- [5] academia SOP-A0008, «Bödenlösung», V13 (2019).
- [6] Amelung W. et al., «Scheffer/Schachtschabel Lehrbuch der Bodenkunde», Springer eBook Collection, Springer Spektrum, Berlin, 17. überarbeitete und ergänzte Auflage, http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-55871-3 (2018).
- [7] InfoFlora, «Lupinus polyphyllus LINDL. (Fabaceae). Factsheet» (2020).
- [8] InfoFlora, «Buddleja davidii FRANCH. (Scrophulariaceae). Factsheet» (2024).



# Physiologie von Pflanzen im Tagesverlauf

# Adrian Busch, Sophia Erni, Sarah Heusser, Louis Klosterkamp, Jonas Vergés

# 1. Einleitung

Bäume sind essenziell für das globale Klima und unsere Ökosysteme, da sie Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) aus der Atmosphäre aufnehmen und durch Photosynthese in Sauerstoff (O<sub>2</sub>) umwandeln. Dieser Stoffwechselprozess hängt von Umweltfaktoren wie Licht, Temperatur und Feuchtigkeit und vom Tageszyklus ab. Um die Rolle von Bäumen in der Umwelt und ihre Anpassungsmechanismen besser zu verstehen, wurden in diesem Projekt Messungen zu Stoffwechsel- und Wachstumsprozessen unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt. In einem Versuch wurde ein geschlossenes Ökosystem geschaffen, um den Gasaustausch einer Testpflanze unter kontrollierten Bedingungen zu messen. Dazu wurde ein selbst entwickeltes Messgerät benutzt, das unter anderem die Konzentration von CO<sub>2</sub> und weitere Umweltfaktoren aufzeichnet. Im Labor wurden verschiedene Bedingungen simuliert, um die Reaktion der Testpflanzen auf veränderte äussere Einflüsse zu untersuchen. Zusätzlich wurde der Gasaustausch auf Blattebene erforscht, indem Spaltöffnungen ausgemessen wurden. In einem weiteren Versuch wurde die Umfangsänderung eines Baumes innerhalb eines Tageszyklus mithilfe eines Dendrometers aufgezeichnet. Ziel ist es, zukünftig diese Messdaten zu vereinen, um die Rolle von Bäumen im Klimasystem und deren Reaktionen auf Umweltveränderungen zu studieren.

#### 2. Theorie

# 2.1. Photosynthese<sup>1</sup>

Die Photosynthese und die Zellatmung sind fundamentale Prozesse, die das Leben von Pflanzen und ihre Rolle in Ökosystemen bestimmen. Sie stehen in enger Wechselwirkung zueinander und sichern die Energieversorgung der Pflanze. Während die Photosynthese Energie aus Sonnenlicht speichert, setzt die Zellatmung diese für die Lebensprozesse der Pflanze frei. Beide Prozesse werden durch Umweltbedingungen sowie tageszeitliche Zyklen beeinflusst.

Die Photosynthese ist die Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie durch Pflanzen. Dieser Prozess erfolgt in den Chloroplasten der Pflanzenzellen und basiert auf der Absorption von Licht. Kohlenstoffdioxid ( $CO_2$ ) wird zusammen mit Wasser ( $H_2O$ ) und Lichtenergie umgewandelt und in Form von Glucose ( $C_6H_{12}O_6$ ) gespeichert, wobei Sauerstoff ( $O_2$ ) als Nebenprodukt entsteht. Die allgemeine Reaktionsgleichung lautet

Photosynthese: Lichtenergie + 
$$6 \text{ CO}_2$$
 +  $6 \text{ H}_2 \text{O} \longrightarrow \text{C}_6 \text{H}_{12} \text{O}_6 + 6 \text{ O}_2$ .

Pflanzen betreiben nicht nur Photosynthese, sondern auch den umgekehrten Reaktionsweg, die Zellatmung. Am Tag überwiegt die Photosynthese und in der Nacht die Zellatmung. Die Ausgangsstoffe für die Zellatmung sind die Produkte der Photosynthese. Dabei wird Glucose zusammen mit Sauerstoff in Wasser und Kohlenstoffdioxid umgewandelt, wobei Energie freigesetzt wird. Die allgemeine Reaktionsgleichung lautet

Zellatmung: 
$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow Energie + 6CO_2 + 6H_2O$$
.

Der Stoffwechsel von Pflanzen wird jedoch nicht nur durch tageszeitliche Zyklen, sondern auch durch Umweltbedingungen beeinflusst. Bei hoher Lichtintensität steigt die Photosyntheserate bis zu einem Sättigungspunkt an. Die Zellatmung hingegen ist lichtunabhängig und läuft kontinuierlich ab. Beide Prozesse sind grundsätzlich nicht stark temperaturabhängig, doch bei extremen Temperaturen können Enzyme, welche die Reaktion steuern, zerstört werden. Dies führt zu einer Störung des Stoffwechsels.

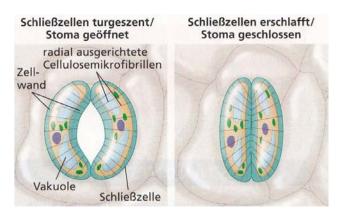
<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Ganzer Abschnitt nach [1, 2].

Wasser spielt in der lichtabhängigen Photosynthese-Phase eine wichtige Rolle. Ein Wassermangel führt zur Schliessung der Spaltöffnungen (Stomata) und hemmt dadurch die Aufnahme von Kohlenstoffdioxid CO<sub>2</sub> (siehe Kap. 2.2). Die Auswirkungen des Wasserhaushaltes der Pflanze können jedoch nicht nur durch die Öffnungs- und Schliessbewegungen der Stomata sichtbar gemacht werden, sondern auch durch kurzfristige Umfangsänderungen des Baumstamms. Kurz vor Sonnenaufgang hat der Baumstamm den höchsten Wassergehalt, da die Pflanzen die Nacht hindurch während der Zellatmungsphase Wasser aufnehmen. Der Umfang vergrössert sich bei hohem Wassergehalt, so ist der Baum kurz vor Sonnenaufgang am dicksten. Im Verlaufe des Tages nimmt der Umfang ab, bis er kurz vor Sonnenuntergang sein Minimum erreicht. Diese Umfangsänderungen können mit einem Dendrometer gemessen werden und liegen im Mikrometerbereich.

#### **2.2.** Stomata <sup>2</sup>

Die äusserste Schicht eines Blattes ist die Epidermis, welche als Barriere gegen äussere Einflüsse dient. In dieser befinden sich zwischen den Epidermiszellen die Stomata (auch Spaltöffnungen genannt). Diese sind kleine Öffnungen, die den Gasaustausch zwischen den photosynthetisch aktiven Zellen im Inneren und der Aussenluft ermöglichen. Sie werden durch die zwei flankierenden Schliesszellen, welche sich bei Wasseraufnahme durch Osmose biegen, geöffnet und geschlossen. Deswegen sind die Spaltöffnungen für den lebenswichtigen Kohlenstoffdioxid- und Sauerstoffaustausch unerlässlich.

Mit einer umkehrbaren Aufnahme und Abgabe von Kaliumionen wird der osmotische Druck, in diesem Zusammenhang Tugordruck genannt, verändert. Werden Kaliumionen aktiv aus Nachbarzellen aufgenommen, entsteht ein osmotischer Druck, der Wasser in die Schliesszelle einströmen lässt. Das Gleiche gilt auch umgekehrt für die Schliessung des Spalts. Die Stomata machen ein bis zwei Prozent der äusseren Blattoberfläche aus und sind für 95 % des Wasserverlustes verantwortlich. Tendenziell sind die Spaltöffnungen tagsüber offen und nachts geschlossen, damit kein Wasser verloren geht, wenn ohnehin keine Photosynthese stattfinden kann. Der Öffnungsgrad



**Abb. 1:** Spaltöffnung schematisch [1, S. 577].

hängt von mehreren Faktoren ab. Die wichtigsten sind Licht, CO<sub>2</sub>-Mangel und eine «innere Uhr». Durch Lichteinwirkung werden die Schliesszellen dazu angeregt, Kaliumionen aufzunehmen. Als Reaktion auf einen Kohlenstoffdioxidmangel in den Interzellularräumen des Blattes durch Absinken der Konzentration im Tagesverlauf, öffnen sich die Stomata, falls die Wasserversorgung ausreichend ist. Der Tagesrhythmus wird mehr oder weniger durch eine Art «innere Uhr» beibehalten. Durch verschiedene Reize können sich die Stomata so dem Tagesrhythmus, den Wetterbedingungen und den Ressourcen anpassen.

# 3. Methodik

Die Photosynthese von Pflanzen wurde durch Messungen von Umweltfaktoren und Stoffwechsel-Produkten untersucht. Verschiedene Methoden wurden verwendet, um Änderungen im Tagesverlauf zu erfassen: Mit einer selbst zusammengestellten Messkammer konnten verschiedene Gase und weitere Umweltparameter gemessen werden. Weiter wurde der Öffnungsgrad von Spaltöffnungen an den Unterseiten von Blättern ausgemessen. Schliesslich wurde ein Dendrometer verwendet, das kleinste Änderungen im Umfang eines Baumes aufzeichnet, wodurch die Wasserzirkulation in einem Baum nachvollzogen werden kann.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Ganzer Abschnitt sinngemäss nach [1, S. 555 u. 576ff].



#### 3.1. Messkammer

Für die Messung von pflanzenrelevanten Gasen und Umweltkonditionen wurde ein Messgerät eigens zusammengestellt. Verschiedene Parameter können mit den eingebauten Sensoren gemessen und aufgezeichnet werden, sowohl Gase als auch Umweltparameter (siehe Abb. 2).



#### Sensoren des Messgeräts

Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>)
Ozon (noch nicht funktionsfähig)
Partikelgrössen (PM1, PM2.5, PM4 & PM10)
Temperatur, relative Feuchte, Luftdruck
Lichtstärke von sichtbarem und UV-Licht
Flüchtige organische Verbindungen (VOC)
Stickoxide (NO<sub>x</sub>)

Abb. 2: Selbst zusammengestelltes Messgerät mit verschiedenen Sensoren und deren Messgrössen.

Das Messgerät wurde zum Test in eine durchsichtige, geschlossene Kammer mit einer Basilikumpflanze gestellt (*Ocimum basilicum*, siehe Abb. 3), um die Änderungen der Messgrössen in Anwesenheit einer Pflanze zu ermitteln. Zunächst wurden möglichst natürliche Bedingungen belassen. Es wurde jedoch nicht nur ein normaler Tag-Nacht-Zyklus, sondern auch das Verhalten der Pflanze bei künstlichem Verlängern von Tagen beziehungsweise Nächten untersucht. Dies erfolgte durch Bestrahlung der Pflanze mit einer leistungsstarken Lampe oder durch Abdeckung der Pflanze mit einer Decke. Diese Experimente ergaben interessante Ergebnisse, die jedoch in diesem Bericht nicht thematisiert werden.



Abb. 3: Messkammer mit Sensoren und Testpflanze Basilikum.

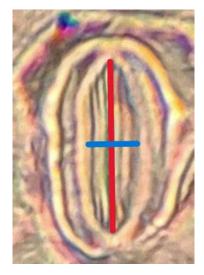


#### 3.2. Stomata

In diesem Projektteil wurde der Öffnungszustand der Spaltöffnungen von Blättern vermessen, um Rückschlüsse auf die Aktivität der Pflanzen ziehen zu können. Es wurden verschiedene Blätter zu verschiedenen Tageszeiten ausgesucht und noch am Baum auf der Blattunterseite mit durchsichtigem Nagellack bestrichen. Dies dient der Fixierung der Blattstrukturen und -zellen im momentanen Zustand. Nach Aushärtung des Nagellacks wird mit einem durchsichtigen Klebefilm der Nagellack abgetragen und so auf einen Objektträger geklebt. Dabei wird die Struktur und einige Zellschichten des Blatts auf den Objektträger übertragen. Folglich kann die Probe unter dem Mikroskop begutachtet werden, und Spaltöffnungen können entdeckt werden. Die Breite b und Länge l des Spalts werden ausgemessen (siehe Abb. 4). Der Öffnungsgrad

$$q = \frac{b}{l}$$

beschreibt, wie weit ein Stoma geöffnet ist, wobei eine Spaltöffnung mit q=0 vollständig geschlossen und mit q=1 vollständig geöffnet ist. Die Stomata können mit einem Computerprogramm ausgemessen werden. In



**Abb. 4:** Ausmessung eines Stomas: blau die Breite *b*, rot die Länge *l*.

diesem Projekt wurde das Programm ImageJ verwendet, welches insbesondere für wissenschaftliche Bildanalyse und Vermessung von Strukturen auf Mikroskopbildern geeignet ist. Die exakte und nicht nur relative Bestimmung der Längenwerte kann durch das Verwenden eines Messokulars und das Zurückrechnen der Mikroskopvergrösserung gesichert werden.

#### 3.3. Dendrometer

Ein Dendrometer misst kleinste Umfangänderungen und kann so sowohl das Wachstum, als auch den Wasserhaushalt eines Baumes aufzeichnen. Für die Messungen mit dem Dendrometer wurde ein Nadelbaum mit einem Umfang von etwa 1.8 m in der Nähe des Lagerhauses ausgewählt. Das Dendrometer wurde auf einer Höhe von etwa 1.5 m installiert, dabei wurde die Rinde leicht abgefeilt, damit das Massband ohne Zwischenräume eng anliegt (siehe Abb. 5). Das Dendrometer wurde einige Tage zur Messung am gleichen Baum belassen. Die Daten wurden im Anschluss im Programm "mini32 EMSoft" ausgewertet. Seit Winter 2024 ist das Dendrometer für eine Langzeitmessung nahe der Kanti Wattwil an einem Baum installiert.



**Abb. 5:** An einem Nadelbaum installiertes Dendrometer (oben) und zusätzliche Messgeräte für Temperatur und Luftfeuchte, geschützt gegen Regen mit einer Eigenkonstruktion (unten).



#### 4. Resultate

# 4.1. Verschiedene Methoden – ein Tageszyklus von Pflanzen

Nachfolgend sind verschiedene Messungen für einen Tag dargestellt (Abb. 6–9). Die Resultate der Messungen des CO<sub>2</sub>-Gehalts und der Lichtverhältnisse an einer Basilikumpflanze in einer geschlossenen Messkammer sind in Abb. 6 und 7 dargestellt. Die Messkammer befand sich während dieser Messung im Freien, dem Tageslichtzyklus ausgesetzt, jedoch unter einem Dach. Das Maximum des CO<sub>2</sub>-Gehalts in der Kammer wurde kurz nach 6 Uhr morgens erreicht, bis dahin überwiegt die Zellatmung der Pflanze (siehe Abb. 6). Nach Tagesanbruch und erhöhter Lichtzufuhr (siehe Abb. 7) beginnt die Photosynthese zu überwiegen und der CO<sub>2</sub>-Gehalt sinkt allmählich. Bereits vor 12 Uhr bleibt der CO<sub>2</sub>-Wert in der Kammer konstant bei etwa 400 ppm. Dies könnte auf Lecks und einen Luftaustausch mit der Aussenluft (CO<sub>2</sub>-Gehalt 400 ppm) zurückzuführen sein, oder auf eine geringe Effizienz der CO<sub>2</sub>-Aufnahme der Pflanze.

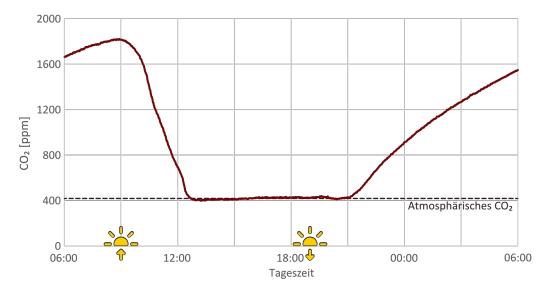


Abb. 6: Messung des CO<sub>2</sub>-Gehalts einer Basilikumpflanze in geschlossener Messkammer.

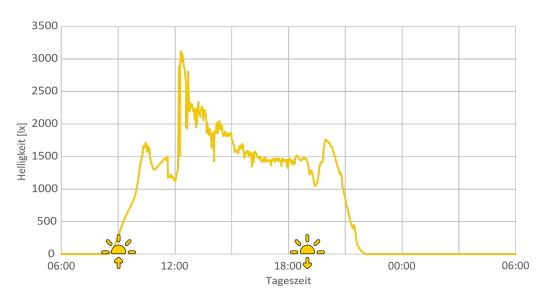


Abb. 7: Lichtmessungen einer Basilikumpflanze in geschlossener Messkammer.

Der Öffnungsgrad von Stomata während eines Tages ist in Abb. 8 dargestellt. Alle Blätterproben entstammen ein und derselben Eiche. Zu vier Tageszeiten wurden jeweils 15 Spaltöffnungen ausgemessen. Die einzelnen Messwerte sind mit hellgrauen Punkten dargestellt und die Mittelwerte mit grossen hellgrünen Punkten. Ein grösserer Spaltöffnungsquotient bedeutet eine grössere Öffnung des Stomas. Während der durchschnittliche



Öffnungsgrad morgens am grössten ist, erreicht dieser am Abend bei Sonnenuntergang seinen Tiefpunkt. In der Nacht sind die Stomata wieder leicht stärker geöffnet, was mit dem Regen während der Probenahme zusammenhängen könnte.

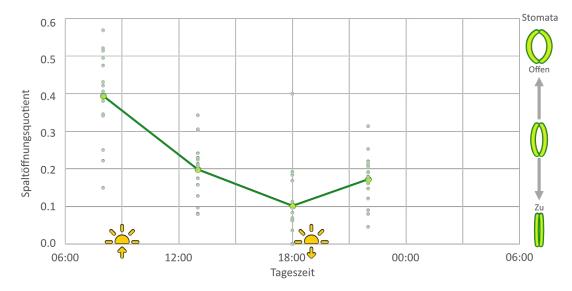
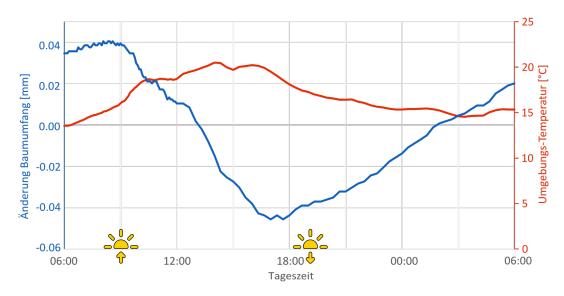


Abb. 8: Messungen der Spaltöffnungsgrade von Eichenblättern zu vier Zeitpunkten.

Die Änderung des Baumumfangs eines Nadelbaums in Vicosoprano wurde mit einem Dendrometer gemessen. Exemplarisch wird ein Tag des Messzeitraums in Abb. 9 dargestellt. Eine Betrachtung der Messungen über den gesamten Messzeitraum wird in Kap. 4.2 und Abb. 10 vorgenommen. Die blaue Linie in Abb. 9 stellt die Baumumfangsveränderung im Zeitverlauf dar. Der grösste Umfang wird ungefähr um 7 Uhr morgens erreicht, während der kleinste Umfang um ungefähr 17 Uhr nachmittags besteht. In Abb. 9 ist in rot die Umgebungstemperatur dem Baumumfang gegenübergestellt. Dabei lässt sich erkennen, dass die Kurven annähernd gegengleich verlaufen.

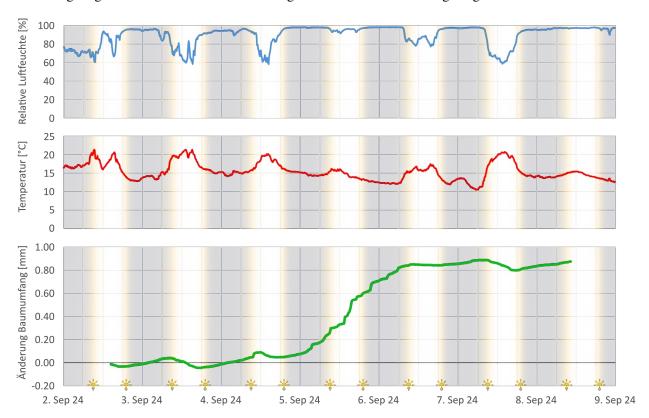


**Abb. 9:** Dendrometer-Messungen eines ausgewählten Tags (linke y-Achse, blau). Auf der rechten y-Achse ist die Umgebungstemperatur dargestellt (orange).

Die Messungen zeigen den Tagesverlauf der Aktivitäten der Pflanzen. Die Umsetzung von  $CO_2$  durch die Photosynthese passiert sehr schnell am Vormittag, bei ansteigender Helligkeit (Abb. 6–7). Analog sind die Stomata am Vormittag am stärksten geöffnet und der Baumumfang ist am höchsten (Abb. 8–9). Obwohl die Messbedingungen nicht immer ideal waren, konnten sowohl die Photosynthese-Aktivität, als auch der Wasserhaushalt der Pflanzen bereits nachvollzogen werden.

# 4.2. Fokus: Dendrometer-Messungen

Die Änderung des Baumumfangs eines Nadelbaums wurde im Lager während mehrerer Tage mit dem Dendrometer gemessen, in Abb. 10 sind alle Messtage dargestellt. Als Vergleich werden Wetterdaten von Meteoschweiz hinzugezogen [3]. Beim Betrachten der Grafik sind in allen Messungen die Tageszyklen erkennbar. Es fällt jedoch auf, dass ein starker, auch über länger als einen Tag verlaufender Baumumfangsanstieg den Tagesrhythmus zu verdecken scheint (5. bis 6. September). Der erkennbare konstante Anstieg des Baumumfangs über fast zwei Tage wirft Fragen auf. Durch Korrelation mit der Umgebungstemperatur und der relativen Luftfeuchte wurde eine mögliche Erklärung dafür gesucht. Im Zeitraum des plötzlichen Anstiegs des Umfangs bleibt die Luftfeuchte konstant hoch und die Temperaturen sind eher sinkend. Der Anstieg des Baumumfangs könnte also damit erklärt werden, dass der Baum sich bei feuchter, kühler Umgebung ausdehnt. Es könnte sich jedoch auch um eine externe Fehlerquelle handeln. Die Baumrinde wurde nämlich etwas ungenügend entfernt und könnte sich wegen der Feuchte übermässig ausgedehnt haben.



**Abb. 10:** Der gesamte Messzeitraum des Dendrometers in Vicosoprano, ergänzt mit den Messdaten der relativen Feuchte und Temperatur auf 2 m über Boden der Messstation Vicosoprano. Im Hintergrund sind die Tages- und Nachtzyklen eingefärbt.

#### 5. Diskussion

Es gilt in der Zukunft, die Messungen auf längere Perioden auszudehnen. Konkret bedeutet das, dass das Dendrometer über mehrere Monate oder Jahre den Baumumfang messen sollte, um das Verhalten durch eine grössere Datenlage besser interpretieren zu können und ebenfalls saisonale und langfristig wachstumsbedingte Veränderungen feststellen zu können. Dieses Projekt ist bereits gestartet, das Dendrometer ist seit Winter 2024 nahe der Kanti Wattwil an einem Baum stationiert.

Für die Messungen der Luftverhältnisse in einem pflanzenbestückten Gefäss ist eine Erweiterung der Messdauer ebenfalls vorzunehmen. Dabei wäre vor allem eine mehrtägige Messperiode ohne künstliche Beeinflussung zur besseren Beurteilung des Pflanzenzyklus im abgeschlossenen Raum anzustellen. Des Weiteren könnte die Pflanzenvielfalt in der Messkammer variiert werden. Die vollständige Abdichtung, wie momentan, verhindert längere Laufzeiten und einen natürlichen Ablauf durch Ansammlung von zum Beispiel Feuchtigkeit und dem Fehlen eines vollständigen Ökosystems. Ein weiterer Schritt wäre der Ausbau zu einer periodisch schliessenden und öffnenden Messkammer. Durch den Öffnungs- und Schliessmechanismus



könnten die Luftverhältnisse möglichst natürlich gestaltet werden, während die Veränderungen der Messwerte in Momentaufnahmen festgestellt werden könnten. In Zukunft könnte der Mechanismus automatisiert werden. Um dieses Experiment auch draussen in der Natur ausführen zu können, wäre ein wetterbeständiger Ausbau der Sensorik, beziehungsweise der Kammer, vorteilhaft.

Eine effektive Kalibrierung der eingesetzten Sensorik durch Messung von bekannten Stoffkonzentrationen steht noch aus. Dies könnte für den Kohlenstoffdioxid-Sensor mit Referenzgasen ohne CO<sub>2</sub>-Gehalt für den Nullwert und für höhere Werte mit kontrollierten Verbrennungen und so bekannten CO<sub>2</sub>-Gehalten erfolgen. Alternativ kann mit sehr genauen Referenzmessgeräten gearbeitet werden. Durch Inbetriebnahme und Kalibrierung aller Sensoren soll das Spektrum möglicher Messungen in Zukunft ausgebaut und die Messgenauigkeit abgesichert werden.

#### 6. Fazit

Das Ziel des Projekts war, Messmethoden zur Photosynthese von Pflanzen auszutesten und zu vergleichen. Im Projekt konnte ein eigener Prototyp eines Messgeräts für Gase und andere Umweltparameter entwickelt werden. Hier geht unser grosser Dank an den Physikassistenten Christian Bircher, der die Sensorik der Messkammer für uns zusammenbaute. Zusätzlich wurde ein neues Dendrometer gekauft, getestet und ist jetzt für eine langfristige Messung nahe der Kanti Wattwil an einem Baum installiert. Die Methodik der **academia** zur Vermessung von Stomata wurde verfeinert und ist jetzt systematischer, genauer und einfacher durch das Ausmessen der Mikroskopbilder mit einem Programm. Der Weg ist nun geebnet für zukünftige Projekte mit systematischen, langfristigen Fragestellungen. Ebenfalls kann in Zukunft die Sensorik des Messgerät-Prototyps weiterentwickelt und kalibriert werden, und Daten des Dendrometers können über den Jahreszyklus ausgewertet werden.

# 7. Literaturverzeichnis

- [1] Urry L. et al., «Campbell Biologie Gymnasiale Oberstufe», (3. Auflage), Pearson Deutschland GmbH (2021).
- [2] Aneska A., «Fotosynthese und Zellatmung», https://nawi.naturundbildung.at/wp/?page\_id=3132 (Zugriff 08.02.2025, Stand 2018).
- [3] Bundesamt für Meteorologie und Klimatologie MeteoSchweiz, «Station Vicosoprano», https://gate.meteoswiss.ch/idaweb (Zugriff 06.11.2024).



# Geographische Verteilung von Haus- und Italiensperlingen im Bergell

Nuria Gaudenz, Andreas Heeb, Jakob Mostert, Fynn Tremmel

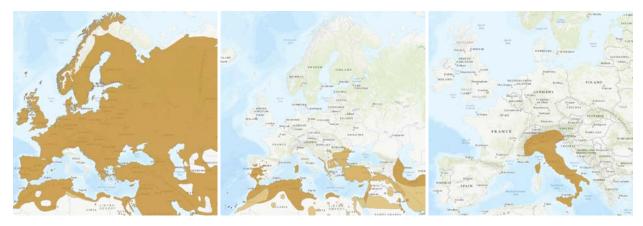
#### 1. Vorwort

In der Schweiz sind drei Sperlingsarten heimisch: der Feldsperling, der Haussperling und der Italiensperling. Der Haus- und der Italiensperling haben in ihren Habitaten jeweils dieselbe Lebensweise und unterscheiden sich lediglich im Aussehen und in der Verbreitung. Dabei besiedelt der Haussperling die nördlichen und der Italiensperling die südlichen Habitate der Schweiz. Dazwischen befindet sich eine Hybridzone, in welcher beide Arten und deren Hybriden¹ vorkommen. Ein Artikel der Schweizer Vogelwarte [2] deutet darauf hin, dass sich südliche Vogelarten aufgrund des Klimawandels nach Norden ausbreiten. Zudem hat eine Studie aus dem Jahr 1980 [3] die räumliche Verteilung von Haussperlingen, Italiensperlingen und deren Hybriden im Tessin und Misox betrachtet. Dabei wurde festgestellt, dass im Norden der Anteil an Haussperlingen überwiegt, im Süden dagegen der Anteil an Italiensperlingen. Aufgrund dieser Erkenntnisse haben wir uns dazu entschieden, das Bergell auf eine solche Verteilung zu untersuchen. Dabei wurde die These aufgestellt, dass sich das Verhältnis von Haussperlingen und Italiensperlingen von Norden (Maloja) nach Süden (Castasegna) zu Gunsten des Italiensperlings verschiebt.

#### 2. Theorie

In Europa existieren vier verschiedene Sperlingsarten der Gattung *Passer*, der Haussperling (*Passer domesticus*), der Weidensperling (*Passer hispaniolensis*), der Italiensperling (*Passer italiae*) und der Feldsperling (*Passer montanus*). Der Feldsperling bildet eine klar abtrennbare Art und wird in dieser Studie nicht weiter behandelt. Die anderen drei Arten hingegen werden als Schwesterarten gewertet. Das heisst, sie sind sehr eng verwandt, es können fruchtbare Hybriden entstehen und ihr Habitus<sup>2</sup> und ihre Habitatsansprüche sind ähnlich.

Die drei Arten besiedeln verschiedene geographische Regionen. Das Verbreitungsgebiet des Haussperlings erstreckt sich, mit Ausnahme der Apenninhalbinsel (Italien), über den ganzen Europäischen Kontinent (Abb. 1, links). Der Weidensperling besiedelt hauptsächlich die iberische Halbinsel sowie Nordafrika und den Nahen Osten (Abb. 1, mitte). Die Apenninhalbinsel wird von diesen beiden Arten weitestgehend nicht besiedelt. Dort kommt die dritte Sperlingsart vor, der Italiensperling (Abb. 1, rechts).



**Abb. 1:** Habitatszonen des Haussperlings (*Passer domesticus*, links [5]), Weidensperlings (*Passer hispaniolensis*, mitte [6]) und Italiensperlings (*Passer italiae*, rechts [7]).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Hybriden sind Individuen, die durch geschlechtliche Fortpflanzung zwischen verschiedenen Gattungen, Arten, Unterarten, Ökotypen oder Populationen hervorgegangen sind [1].

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Unter Habitus versteht man die Gesamtheit aller wesentlichen und typischen sichtbaren Eigenarten eines Tieres [4].

Die taxonomische Einordnung des Italiensperlings ist nach wie vor Gegenstand wissenschaftlicher Diskussionen. Heutzutage wird der Italiensperling weitestgehend als eigene Art angesehen. Es gibt jedoch Quellen, die ihn sowohl als Unterart des Weidensperlings (*Passer hispaniolensis ssp. italiae*), als auch als Unterart des Haussperlings (*Passer domesticus ssp. italiae*) ansehen [8]. Lange Zeit wurde geglaubt, dass der Italiensperling eine stabilisierte Hybridpopulation von Weiden- und Haussperling (*P. hispaniolensis x P. domesticus*) ist, da der Italiensperling äusserlich intermediäre Merkmale beider Arten, und ebenfalls grosse Ähnlichkeit zu den Hybriden von Nordafrika (*P. hispaniolensis x P. domesticus*) aufweist. Dies wird heute jedoch stark bezweifelt. Es gibt bisher keine wissenschaftlich anerkannten Beweise, die für eine stabile Hybridpopulation sprechen. Fakt ist, dass die männlichen Individuen des Italiensperlings von den äusseren Merkmalen her eine Mischform von Haus- und Weidensperling darstellen und so von ihnen zu unterschieden sind. Die weiblichen Individuen der drei Sperlingsarten sind äusserlich nicht unterscheidbar und sind für diese Untersuchung daher nicht relevant. Die äusserlichen Unterschiedungsmerkmale der drei Sperlingsarten sind in Tab. 1 und Abb. 2 ersichtlich.

	Haussperling	Italiensperling	Weidensperling
Scheitel	grau	kein Grau	kein Grau
Supercilium	klein, zwischen Auge und	schwach, weiss	ausgeprägt, weiss
	Schnabel		
Wange	grau	heller als Haussperling	weiss

**Tab. 1:** Merkmale der betrachteten Sperlingsarten. Dabei steht *Scheitel* für die Oberseite des Kopfs, *Supercilium* für den weissen Strich über den Augen und *Wange* für die hellen Flächen am Hals unter den Augen.





**Abb. 2:** Merkmale des Haussperlings (oben, links [9]), Italiensperlings (oben, rechts [10]) und Weidensperlings (unten [11]).



# 3. Methodik

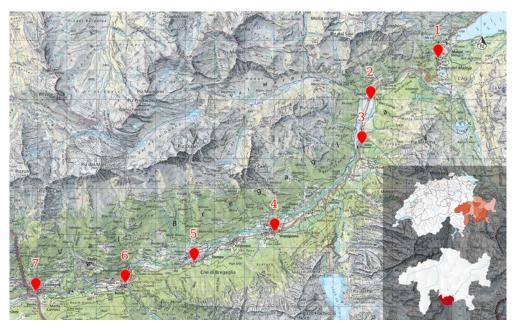
# 3.1. Datenerhebung

Während der Forschungswoche wurden sieben Standorte im Bergell untersucht. Dabei handelte es sich um Maloja (1), Casaccia (2), Löbbia (3), Vicosoprano (4), Stampa (5), Bondo (6) und Castasegna (7). Diese Standorte sind in Abb. 3 ersichtlich. Jeder Standort wurde einmal vormittags und einmal nachmittags oder abends begangen, wobei für jeden Standort zwischen zwei und drei Stunden aufgewendet wurden. Der Ablauf der Begehungen ist in Tab. 2 ersichtlich.

	Morgen	Nachmittag	Abend
Tag 1	Maloja (1)	Casaccia (2)	Löbbia (3)
Tag 2	Casaccia (2)	Maloja (1)	Stampa (5)
Tag 3	Löbbia (3)	Vicosoprano (4)	
Tag 4	Vicosoprano (4)	Bondo (6)	
Tag 5	Stampa (5)	Castasegna (7)	
Tag 6 (Halbtag)	Bondo (6) / Castasegna (7)		

Tab. 2: Ablauf der Standortsbegehungen.

Vor Ort wurde eine möglichst grosse Fläche begangen, um möglichst viele männliche Sperlinge mit Hilfe von zwei Kameras<sup>3</sup> zu fotografieren. Sobald ein männlicher Sperling entdeckt wurde, wurden Fotos aus möglichst vielen Winkeln gemacht. Dabei war es besonders wichtig, dass Augenpartie, Scheitel und Wange des Vogels auf den Bildern gut erkennbar waren. Sobald die Vögel begannen sich zu durchmischen oder wegzufliegen, wurde sofort aufgehört zu fotografieren, um sicherzustellen, dass einzelne Individuen nicht doppelt gezählt wurden. Zusätzlich war es so einfacher, in der Auswertung die Fotos den Individuen zuzuordnen. Im Anschluss wurde jeder Sperling auf einem Kartenausschnitt des Standorts eingetragen und im Feldjournal mit einer eindeutigen Nummer versehen. Zusätzlich wurde bereits vor Ort mit Hilfe der Rating-Funktion auf der Kamera eine gewisse Vorauswahl guter Bilder getroffen. Die Dateinamen dieser Bildserie wurden ebenfalls im Feldjournal eingetragen.



**Abb. 3:** Übersicht der Standorte im Bergell: Maloja (1), Casaccia (2), Löbbia (3), Vicosoprano (4), Stampa (5), Bondo (6), Castasegna (7) [12, 13, 14].

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Die verwendeten Kameras waren eine Canon EOS R6 Mark II mit einem Sigma 150-600mm f/5-6.3 DG OS HSM Objektiv und einen Sony Alpha 1 mit einem Sony FE 200-600mm f/5.6-6.3 G OSS Objektiv.

#### 3.2. Auswertung

Nach der Rückkehr ins Lagerhaus wurden die Fotos zentral gespeichert und nach Kamera, Tag und Standort sortiert. Im Anschluss wurde für jeden Sperling eine Fotosammlung erstellt und alle Fotos hineinkopiert und zugeschnitten, welche eindeutig diesem Individuum zugeordnet werden konnten. Um die Sperlinge zu kategorisieren, wurden drei Eigenschaften festgelegt. Dabei handelt es sich um die Ausprägung der grauen Verfärbung des Scheitels, die Grösse des Superciliums und den Weisston der Wange (weiss oder verwaschen grau). Jede Eigenschaft wurde mit einer Skala von 0 bis 100 quantifiziert. Für den Scheitel bedeutet 0, dass er überhaupt nicht grau ist (Italiensperling), und 100, dass der gesamte Scheitel bis in den Nacken stark grau verfärbt ist (Haussperling). Für das Supercilium bedeutet 0, dass kein weisser Streifen vor oder hinter dem Auge erkennbar ist (Haussperling) und 100, dass ein breiter und stark ausgeprägter Streifen ersichtlich ist (Italiensperling). Ein typischer Haussperling hat in dieser Skala einen Wert von 30, da vor dem Auge ein weisser Punkt zu sehen ist (Abb. 2, oben links). Für den Weisston der Wange bedeutet 0, dass die Wange perfekt weiss ist (Italiensperling) und 100, dass die Wange grau ist (Haussperling). Die Quantifizierung der Merkmale ist zur besseren Übersicht zusätzlich in Tab. 3 aufgeführt. Im Anschluss wurden alle Fotos anhand dieser Skala kategorisiert, wobei jedes Gruppenmitglied ein unabhängiges Votum abgegeben hat, welche dann gemittelt wurden.

	Italiensperling	Haussperling
Graufärbung Scheitel	0	100
Ausprägung Supercilium	100	0
Graufärbung Wange	0	100

Tab. 3: Quantifizierung der Merkmale.

#### 4. Resultate

Die Datenauswertung basiert auf 117 männlichen Individuen. Davon sind 84 Individuen auswertbar. Die restlichen 33 Sperlinge werden nicht weiter betrachtet, da mindestens ein Merkmal aufgrund von zu wenigen Fotos oder schlechter Bildqualität nicht eindeutig bestimmbar ist. Die Mittelwerte der Merkmale aller auswertbaren Vögel sind in drei Streudiagrammen, Scheitel / Supercilium (Abb. 4 oben, links), Scheitel / Wange (Abb. 4 oben, rechts) und Supercilium / Wange (Abb. 4, unten), dargestellt. Zusätzlich wird für jede Kombination von Eigenschaften die Korrelation ermittelt, welche durch

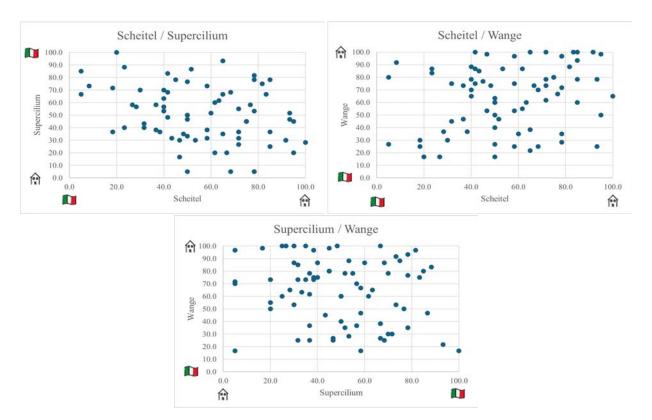
$$\operatorname{Korr}(X,Y) = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \sum_i (y_i - \bar{y})^2}}$$

gegeben ist, wobei  $\bar{x}$  und  $\bar{y}$  die Mittelwerte der Merkmale sind. Dabei steht -1 für eine stark negative Korrelation, 0 für keine Korrelation und 1 für eine stark positive Korrelation. Die berechneten Korrelationskoeffizienten sind in Tab. 4 ersichtlich, wobei eine Korrelation mit einem p-Wert von unter 5 % als statistisch aussagekräftig angenommen wird.

	Korrelationskoeffizient	p-Wert
Scheitel / Supercilium	-0.32	0.29 %
Scheitel / Wange	0.27	0.13 %
Supercilium / Wange	-0.19	8.30 %

Tab. 4: Korrelationskoeffizienten und p-Werte der Streudiagramme.

Die geographische Verteilung der Merkmale von Norden nach Süden ist in Abb. 5 ersichtlich. Da keine Sperlinge aus Castasegna (7) auswertbar waren, wird dieser Standort nicht weiter behandelt. Dabei kann kein Zusammenhang zwischen Standort und Ausprägung der Merkmale festgestellt werden.



**Abb. 4:** Streudiagramm von Scheitel und Supercilium (oben, links), Scheitel und Wange (oben, rechts) und Supercilium und Wange (unten).

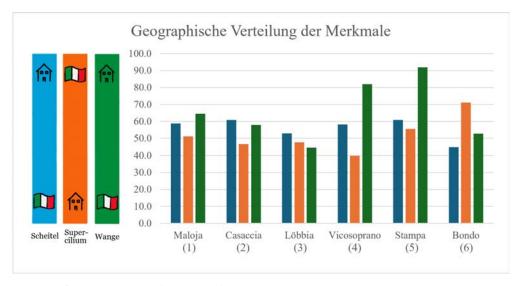


Abb. 5: Geographische Verteilung der Merkmale von Norden nach Süden.

# 5. Diskussion

Die Ergebnisse zeigen keine eindeutigen Korrelationen zwischen Kombinationen von untersuchten morphologischen Merkmalen (Scheitel, Supercilium, Wange) sowie deren geographischer Verteilung. Dies deutet darauf hin, dass die aufgestellte Hypothese, dass eine konstant veränderliche Hybridzone von Haus- und Italiensperlingen zu finden ist, nicht bestätigt werden kann. Da kein Zusammenhang zwischen geographischen Orten und den ausgeprägten Merkmalen festgestellt werden konnte, kann auch nicht bestätigt werden, dass die Sperlinge im Süden des Bergells genetisch näher beim Italiensperling und die Sperlinge im Norden näher beim Haussperling sind. Es ist anzunehmen, dass innerhalb einer breiten Hybridzone keine der Merkmale Aufschluss über die Genetik des Individuums liefern können.

Eine mögliche Erklärung für die fehlenden Korrelationen könnte die Methodik der Datenerhebung sein.

Zwar wurde eine gründliche Dokumentation der Beobachtungen und Fotografien vorgenommen, jedoch könnten mehrere Faktoren die Qualität der Daten beeinflusst haben. Einerseits war die angewandte Methode im Feld womöglich nicht ausgereift genug, wodurch das Auseinanderhalten der Individuen erschwert wurde. Um Doppelbeobachtungen vermeiden zu können, musste die Datenerhebung sofort gestoppt werden, sobald sich die Individuen durchmischten. Aufgrund dessen konnten oft keine, oder nicht genügend Bilder von ausreichender Qualität gemacht werden, um eine sinnvolle Auswertung der Merkmale zu gewährleisten. Dementsprechend ist die Qualität und Quantität der Daten möglicherweise nicht ausreichend, um eindeutige Ergebnisse zu liefern. Die Auswahl zusätzlicher Merkmale könnte die Ergebnisse verbessern. Dabei ist es wichtig zu beachten, dass die Merkmale unabhängig voneinander und artenspezifisch sind. Zudem ist es bei allen erfassten Merkmalen wichtig, dass die Quantifizierung auf möglichst klaren Messungen basiert und nicht durch grobe Abschätzungen entschieden wird.

Es ist anzunehmen, dass bei einer grösseren geographischen Spannbreite die Übergänge zwischen den Zonen ohne Hybride und der Hybridzone erkennbar würden. In den Zonen ohne Hybride würden die Merkmale extreme Werte auf den Skalen annehmen und in der Hybridzone allmählich von einem extremen Zustand in den anderen übergehen. Da kein solcher Trend im Bergell erkannt werden konnte, liegt die These nahe, dass sich die Hybridzone weit über das Bergell hinaus erstreckt. Um diese These zu bestätigen, müsste in einem weiteren Projekt ein deutlich grösserer Datensatz über eine grössere Distanz erhoben werden. Diese Hypothese deckt sich auch mit den Resultaten der Studie aus dem Tessin und Misox [3], welche erst ab einer Distanz von über 30 km einen nennenswerten Gradienten festgestellt hat.

# 6. Danksagung

Unser besonderer Dank gilt dem Wildhüter Renato Roganti, der uns im Rahmen des Projekts als lokaler Ansprechpartner zur Verfügung stand. Als erfahrener Wildhüter beantwortete er unsere Fragen mit grossem Fachwissen und unterstützte uns auch bei zusätzlichen Aspekten des Projekts, die in diesem Bericht nicht näher erläutert wurden. Darüber hinaus nahm er sich grosszügig Zeit, um uns das Bergell näherzubringen und uns wertvolle Einblicke in die dortige Tier- und Naturlandschaft zu ermöglichen.

#### 7. Literaturverzeichnis

- [1] «Hybride», https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Hybride&oldid=2 50913555 (Zugriff: 05.09.2024).
- [2] Sattler T., «Südliche Arten breiten sich Richtung Norden aus», https://www.vogelwarte.c h/modx/de/atlas/focus/suedliche-arten-breiten-sich-richtung-norde n-aus (Zugriff: 18.12.2024).
- [3] Schifferli L. und Schifferli A., «Die Verbreitung des Haussperlings *Passer domesticus domesticus* und des Italiensperlings *Passer domesticus italiae* im Tessin und im Misox», Der Ornithologische Beobachter 77, 21-26 (1980).
- [4] «Habitus», https://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Habitus\_(Biologie) &oldid=246162169 (Zugriff: 05.09.2024).
- [5] IUCN, «House Sparrow», https://www.iucnredlist.org/species/103818789/19 9147773 (Zugriff: 07.01.2025).
- [6] IUCN, «Spanish Sparrow», https://www.iucnredlist.org/species/22718179/166 398308 (Zugriff: 07.01.2025).
- [7] IUCN, «Italian Sparrow», https://www.iucnredlist.org/species/103819014/200218787 (Zugriff: 07.01.2025).
- [8] Schweizerische Vogelwarte Sempach, «Italiensperling» https://www.vogelwarte.ch/de/voegel-der-schweiz/italiensperling/(Zugriff: 08.01.2025).



- [9] Aeschlimann R., «Haussperling», https://www.vogelwarte.ch/de/voegel-der-sch weiz/haussperling/(Zugriff: 07.01.2025).
- [10] Occhiato D., «Italiensperling», https://www.vogelwarte.ch/de/voegel-der-schweiz/italiensperling/(Zugriff: 07.01.2025).
- [11] Burkhardt M., «Weidensperling», https://www.vogelwarte.ch/de/voegel-der-sch weiz/weidensperling/(Zugriff: 07.01.2025).
- [12] Bundesamt für Landestopografie, «Swisstopo», https://map.geo.admin.ch/(Zugriff: 07.01.2025).
- [13] Graubünden Tourismus, «Region Bregaglia Engadin», https://www.graubuenden.ch/de/graubuenden/regionen/bregaglia-engadin (Zugriff: 07.01.2025).
- [14] «Kanton Graubünden», https://de.wikipedia.org/wiki/Kanton\_Graub%C3%BCnd en (Zugriff: 27.01.2025).



# Sequenzierung des Abschnitts ycf1 der Chloroplasten-DNA von *Pinus mugo*

Sarina Braendle, Jasmin Jauch, Sara Looser, Thaniya Rajalingam, Jan Raymann, Arina Sprecher

# 1. Einführung

Für das diesjährige DNA-Projekt der **academia** wurde die Chloroplasten-DNA (cpDNA) von *Pinus*-Arten untersucht. Die bekanntesten Arten davon sind Arven und Föhren, welche im Bergell (GR) sehr häufig vorkommen. Dabei gestaltet sich die Unterscheidung der verschiedenen *Pinus*-Arten als sehr kompliziert. Grund dafür sind die überlappenden Lebensräume sowie die natürliche morphologische Variation. Neuste wissenschaftliche Forschungen ergaben allerdings, dass die verschiedenen Arten mittels Sequenzierung der Chloroplasten-DNA unterscheidbar sind [1]. Diese Untersuchung wurde in diesem Projekt der **academia** auch an den Bäumen im Bergell, auf dem Malojapass und dem Ofenpass (alle GR) versucht. Dabei wurde die DNA aus den Nadeln extrahiert und anschliessend so verarbeitet, dass die Proben mit zwei unterschiedlichen Primern und zwei verschiedenen Methoden sequenziert werden konnten. Einerseits ist das der Primer matK welcher mit der Sanger-Sequenzierung analysiert wurde, andrerseits wurde die Stelle ycf1 mittels Oxford-Nanopore-Technology (ONT) untersucht.



Abb. 1: Eine Population von Legföhren in der Nähe des Oberalppasses.

# 2. Theorie

# 2.1. Die Familie der Pinaceae

Die Familie der *Pinaceae*, auch Kieferngewächse genannt, gehört zu den Nacktsamern (*Gymnospermae*) und umfasst in der Schweiz 14 verschiedene Baumarten. Die bekanntesten Vertreter dieser Familie sind die Lärche (*Larix decidua*), die Arve (*Pinus cembra*) sowie die Rottanne (*Picea abies*) und die Weisstanne (*Abies alba*). Fast alle Kieferngewächse sind immergrüne Nadelbäume. Einzig die Lärchen sind eine sommergrüne Gattung. Auch der Artenkomplex von *Pinus mugo* gehört zur Familie der *Pinaceae*. Dieser umfasst in der Schweiz drei Gruppen, welche als Unterarten oder eigenständige Arten geführt werden. In dieser Studie wird deshalb von einem Artkomplex mit verschiedenen Unterarten geschrieben. Diese unterscheiden sich vor allem in ihrem Vorkommen und den entsprechenden Anpassungen an ihren Habitus. So

wächst *Pinus mugo mugo*<sup>1</sup>, auch Legföhre genannt, in steilem Gelände und gilt als Pionierpflanze. Das sind Pflanzen, welche unbelebte Flächen wie Geröllhalden als Erstes besiedeln und Lebensraum für weitere Arten schaffen. Durch die anspruchsvollen Bedingungen wächst sie meist buschartig. Die Zapfen sind klein und sehr kompakt (vgl. Abb. 2a). Im Gegensatz dazu neigen die Zapfen der Unterart *Pinus mugo uncinata* zu krummen Zapfen mit hakigen Schuppenschildern. Die Wuchsform ist deutlich höher, dafür mit weniger Breitenwachstum. Diese Unterart hat besonders wenige Ansprüche an ihren Lebensraum und ist deshalb sowohl auf sauren als auch basischen Böden zu finden. Die subalpine Höhenlage wird bevorzugt besiedelt. Zusätzlich zu den beiden vorgestellten Unterarten wird auch die Subspezies *Pinus mugo rotundata* beschrieben. Diese ist in der Schweiz kaum zu finden und wurde in der Folge in dieser Studie nicht näher betrachtet. Dafür wurde zusätzlich die Art *Pinus sylvestris* untersucht. Sie teilt ihren Habitus manchmal mit anderen *Pinus*-Arten und trägt dadurch ebenfalls zum Problem der Bestimmung bei. Besonders typisch für die Art *Pinus sylvestris* ist der rötliche Stamm sowie Nadeln mit 4–8 cm Länge. Die Zapfen werden 3–8 cm lang und besitzen längliche, rautenförmige Schuppen (vgl. Abb. 2b).





Abb. 2: Bild von typischen Zapfenformen der Arten (a) Pinus mugo mugo und (b) Pinus silvestris.

# 2.2. Chloroplasten-DNA

DNA ist ein Biomolekül, welches sich in allen Organismen befindet. In einzelnen Genabschnitten enthält die DNA die codierten Erbinformationen beider Eltern. Die Grundbausteine eines DNA-Stranges sind neben Phosphat und dem Zucker Desoxyribose auch die Stickstoffbasen Adenin, Thymin, Guanin und Cytosin. Bei Zellen eukaryotischer Lebewesen befindet sich die DNA im Nukleus (Zellkern). Ein Spezialfall sind die Mitochondrien, welche in Prokaryoten und Eukaryoten vorkommen. Mitochondrien sind für die Produktion von Adenosintriphosphat (ATP) und für die Verbrennung von Kohlenhydraten verantwortlich. Sie können durch extrachromosomale Vererbung mütterlicherseits weitergegeben werden. Das bedeutet, dass immer die Mitochondrien-Gene der Mutter vererbt werden. Nach dem gleichen Prinzip werden auch Chloroplasten vererbt. Chloroplasten-DNA (cpDNA) ist zirkulär und setzt sich aus circa 120 000 – 170 000 Basenpaaren zusammen. Auch durch ihre Funktionsweise unterscheiden sich die Chloroplasten-DNA von anderen DNA-Typen. Die Funktion ihrer Genabschnitte besteht nämlich darin, chloroplastenspezifische Funktionen und Proteine zu codieren, so zum Beispiel jene für die Photosynthese.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>In dieser Arbeit werden die Artbezeichnungen aus [2] verwendet. Konkret handelt es sich beim *Pinus mugo*-Komplex um die untersuchten Unterarten *Pinus mugo* TURRA *mugo* und *Pinus mugo uncinata* (DC.) DOMIN.



#### 2.3. Untersuchte Genabschnitte

#### 2.3.1. ycf1

Der Genabschnitt ycf1 befindet sich auf der Chloroplasten-DNA. Dieses Gen ist essenziell für die Funktion der Chloroplasten und somit in den meisten Pflanzenarten auffindbar. Hinzu kommt, dass der Genabschnitt eine hohe Variabilität aufweist, was bedeutet, dass bei unterschiedlichen Spezies unterschiedliche Sequenzen vorhanden sind. Diese Bedingungen machen ycf1 zu einem optimalen Kandidaten, um Pflanzenarten via ihrer Genetik taxonomieren zu können. Das Ziel ist, für dieses Identifizierungs-Gen einen universellen Primer zu erstellen, welcher für gleich mehrere taxonomische Gruppen funktioniert, anstelle von je einem spezifischen Primer für jede neue Art. In diesem Projekt wurden Primer aus der Literatur [3] verwendet (vgl. Tab. 1). Der forward Primer (ycf1 For) markiert den Startpunkt für die Synthese des DNA-Strangs welcher in 3'-5' Richtung läuft, der reverse Primer (ycf1 Rev) dementsprechend für den Strang in 5'-3' Richtung.

ycf1 For	TGAAAGCTTTAAGCAATGGATCTCC
ycf1 Rev	ATACGACCGATATTCTTGACTATTAT

**Tab. 1:** Basenabfolge der zwei ycf1-Primer [3].

#### 2.3.2. matK

Der Genabschnitt matK wird im Vergleich zu ycf1 häufiger verwendet. Ebenfalls auf dem Chloroplastengenom vorkommend ist er an der Reifung von RNA-Molekülen beteiligt. Er hat sich als effizient für die Bestimmung von Pflanzen erwiesen, da er ebenfalls eine essenzielle Rolle spielt und deshalb fast in jeder Art vorkommt. Im Vergleich zu ycf1 besitzt er jedoch eine kleinere Variabilität und ist dementsprechend auf Artenebene nicht so gut zur Bestimmung geeignet. Lediglich bei höheren taxonomischen Niveaus ist die Auflösung gut genug, um etwas aussagen zu können. Hier wurden ebenfalls Primer aus der Literatur [4] verwendet (vgl. Tab. 2).

matK For	Gym_R1A	TCAYCCGGARATTTTGGTTCG
matK Rev	Gym_F1A	ATYGYRCTTTTATGTTTACARGC

Tab. 2: Name und Basenabfolge der zwei matK-Primer, die verwendet wurden [4].

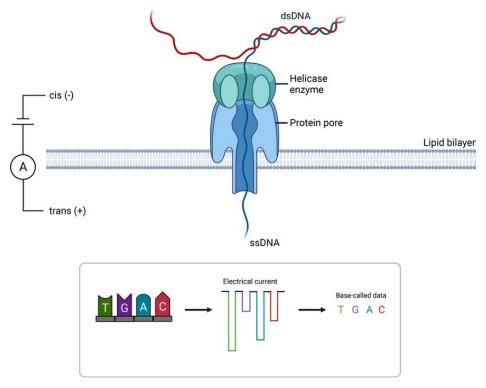
#### 2.4. Oxford-Nanopore-Technology

Die Oxford Nanopore Technology gehört zu den neusten Sequenzierungsmethoden in der aktuellen Forschung. Anders als bei bisherigen Verfahren, wird bei der Sequenzierung via ONT keine DNA-Polymerase, sondern Membranproteine verwendet, welche als Nanoporen fungieren (Abb. 3). Diese Nanoporen sind in einer künstlichen Membran verankert, welche so zwei voneinander abgetrennte Kammern bildet. Eine Elektrophorese ermöglicht einen Elektronenfluss zwischen diesen beiden Kammern. Die einsträngige DNA wird durch die Pore geschoben, wobei sie den Elektronenfluss hindert. Dies ändert den elektrischen Strom, was von einem Chip dauernd gemessen wird und charakteristisch für jede Base ist. Ein Algorithmus wertet die Ströme aus und liefert eine Basensequenz. Diese Technik liefert mehrere Vorteile im Vergleich zu den bisherigen Methoden. Es können Sequenzen mit einer Länge bis zu mehreren Millionen Basenpaaren generiert werden, was das Sequenzieren von ganzen Genomen erleichtert. Dabei wird relativ wenig Information verloren im Vergleich zur short-read Sequenzierung, da keine Primer an den Anfang der Abschnitte gesetzt werden müssen. Für die hier durchgeführte Analyse wurde die Sequenzierung durch die Microsynth AG vorgenommen.

#### 2.5. Sanger-Sequenzierung

Die Sanger-Sequenzierung oder Kettenabbruch-Sequenzierung ist ein Verfahren zur Bestimmung der Nukleotidsequenz von DNA und basiert auf der Verwendung von modifizierten Nukleotiden. In die zuvor

reproduzierte DNA werden modifizierte Nukleotide zufällig eingesetzt. Diese beenden die Sequenz, was zur Bildung von DNA-Fragmenten unterschiedlicher Länge führt. Diese Fragmente werden anschliessend durch eine Gelelektrophorese getrennt. Durch die Analyse der Fragmentlängen kann die Sequenz der DNA abgelesen werden, da jedes modifizierte Nukleotid einen fluoreszierenden oder radioaktiven Marker trägt. Dadurch wird die Identifikation des letzten Nukleotids möglich. Die Sanger-Sequenzierung galt lange als eine der präzisesten Methoden zur DNA-Sequenzierung und wurde aufgrund der einfachen Handhabung auch für diese Studie verwendet.



**Abb. 3:** Skizze zur ONT-Sequenzierung. Darauf ist eine Nanopore in der Membran zu erkennen, welche die Kammern voneinander trennt. Ein Einzelstrang der DNA passiert die Nanopore, woraufhin die Basen durch eine Strommessung identifiziert werden können [5].

#### 3. Methodik

#### 3.1. Probennahme

Die zu bearbeitenden Proben wurden hauptsächlich auf der südexponierten Talseite in Vicosoprano (1100 – 1600 m ü. M.), in Maloja (1809 m ü. M.) und auf dem Ofenpass (2149 m ü. M.) gesammelt. Die Höhenlage der Probenahmestellen lag somit zwischen 1100 und 2149 m ü. M. In Vicosoprano wurde darauf geachtet, dass die Proben in verschiedenen Höhenlagen genommen wurden, um mögliche Verschiebungen im Vorkommen der Unterarten zu erkennen. In Maloja und am Ofenpass wurden vor allem Föhren und Arven (*Pinus cembra*) gesammelt, in Vicosoprano Lärchen (*Larix decidua*), Rottannen (*Picea abies*), Arven und die drei beschriebenen Föhren. An jedem Standort wurde von zwei unterschiedlichen Individuen der gleichen Art jeweils ein kleiner Zweig mit möglichst grünen Nadeln gesammelt und feucht und kühl gelagert. Dabei wurde so steril wie möglich gearbeitet. Bis zur Weiterverarbeitung wurden die zu untersuchenden Nadeln gekühlt und maximal 24 Stunden gelagert.

#### 3.2. Verarbeitung der DNA

#### 3.2.1. Extraktion

Vor der Extraktion mussten die Zellwände der Pflanzenzellen, welche sehr beständig sind, mechanisch durch Mörsern der Nadeln zerstört werden, damit die DNA freigesetzt werden kann. Erst im Anschluss beginnt der eigentliche Prozess der Extraktion. Während der Extraktion wird die DNA aus den Pflanzenzellen isoliert, damit diese für spätere Untersuchungen verwendet werden kann. Hierfür wurde das DNeasy plant mini Kit der QIAGEN AG [6] verwendet. Den Proben wurde mehrmals Buffer hinzugefügt und zentrifugiert, um die DNA herauszufiltern. Durch das Hinzufügen von Buffern wurden Enzyme und Proteine deaktiviert und Zellwände weiter aufgebrochen, welche nachher durch die Zentrifugation herausgefiltert wurden. Ein weiterer Buffer sorgt dafür, dass sich die DNA besser an den Filter anheften kann. Durch das Zentrifugieren fliessen die Reste durch den Filter und in das Auffang-Tube, wo sie ein Pellet bilden, während die DNA im Filter hängen bleibt. Reste wie z. B. Proteine zu entfernen ist wichtig, da diese sonst die Resultate bei der anschliessenden Sequenzierung beeinträchtigen können. Die DNA wird dann mit einem weiteren Buffer, der sie vom Filter löst, herausgewaschen. Die isolierte DNA wurde so im Kühlschrank gelagert, bis sie weiter verarbeitet wurde.

#### 3.2.2. Polymerase-Chain-Reaction

Da der DNA-Gehalt nach der Extraktion noch gering ist, wurde eine Polymerase-Chain-Reaction (PCR) durchgeführt, um das vorhandene Erbmaterial zu vervielfachen. Dabei wurden einerseits der ycf1- und andererseits der matK-Abschnitt vervielfacht. Sowohl für den ycf1- wie auch für den matK-Abschnitt wurde jeweils ein forward und ein reverse Primer verwendet, hergestellt von der Microsynth AG. Die Primer, freie Nukleotide und das Enzym taq-Polymerase wurden zusammen mit der jeweiligen Probe gemischt und in einen Thermocycler gegeben. Bei den ungefähr 40 Zyklen, die unterschiedliche Temperaturen durchliefen, teilte sich die DNA des ycf1-Abschnittes zuerst jeweils in zwei Einzelstränge bei 94°C, woraufhin die Primer bei 72°C binden und am Ende im letzten Schritt die Polymerase bei 72°C freie Nukleotide anknüpfen konnte und so nach und nach zwei Doppelstränge entstanden. Die genaue Dauer jeder Phase ist in Tab. 3 zu sehen. Durch die Repetition dieser Verdoppelungszyklen wurde die DNA exponentiell vervielfacht. Das Ziel dabei war, einen Gehalt an DNA zu erhalten, der gross genug ist, um ihn sequenzieren lassen zu können.

Primer	ycf1		matK	
Schritt	Temperatur [°C]	Zeit [min]	Temperatur [°C]	Zeit [min]
Denaturierung 1	94	4.00	94	4.00
Denaturierung 2	94	1.30	94	1.00
Annealing	54	1.00	45	1.30
Elongation	72	2.00	72	2.00

**Tab. 3:** Zeit und Temperatur jeder Phase während eines PCR-Durchlaufs. Die Temperaturen wurden nach der Anleitung aus [7] und den von der Microsynth AG angegebenen Schmelztemperaturen der Primer errechnet. Die Denaturierung 1 wurde nur ganz zu Beginn durchgeführt, danach wurde nach jedem Zyklus die Denaturierung 2 verwendet. Alle anderen Werte wurden aus dem DNA-Projekt 2023 [11] übernommen.

#### 3.2.3. Aufreinigung

Nach der PCR werden die Reste von Primern und Nukleotiden, die nach der PCR noch in der Lösung blieben, entfernt. Denn sie würden bei der Sequenzierung ebenfalls analysiert und dadurch die Präzision der Messung verkleinern. Für die Aufreinigung wurde das NucleoSpin Gel und PCR Clean-Up Mini Kit von Macherey-Nagel verwendet. Bei einem Spin Column Kit wird dem PCR-Produkt zuerst ein Buffer beigefügt. Danach wird die Flüssigkeit zentrifugiert, wodurch die Reste herausgewaschen werden. Während der Zentrifugation bleibt die DNA im Filter eines Spin Column Tube hängen. Dieser Prozess wird dreimal wiederholt, bis am Ende nur noch die gewünschte DNA übrig bleibt. Hierbei werden Reste wie Zelltrümmer oder Salze herausgefiltert, während die DNA im Filter bleibt. Beim letzten Durchlauf wird die DNA mit einem zusätzlichen Buffer herausgewaschen, sodass die DNA dann isoliert ist. Die DNA kann nun gekühlt gelagert werden, bis sie für die nächsten Schritte verwendet wird. Alle Schritte von der Probensammlung bis zur Aufreinigung wurden auch bei der Fehlersuche nochmals in den Labors der Kanti Wattwil nach dem selben Prinzip wiederholt.

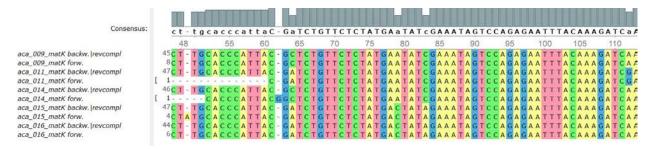
#### 3.3. Sequenzierung

Zur Analyse wurde der Service von Microsynth AG genutzt. Die Resultate wurden anschliessend im .fasta und .ab1 Format ausgewertet. Dies sind beides Dateitypen, welche mit einem Programm zu Basen-Sequenzen umgewandelt werden können. Mit diesen Daten wurde letztendlich die Auswertung der Daten vorgenommen.

#### 4. Resultate und Diskussion

# 4.1. matK

Acht Proben wurden zur Analyse an die Microsynth AG geschickt, wovon drei keine Resultate lieferten. Die untersuchten matK-Abschnitte, welche nicht einen vorzeitigen Abbruch erlitten (stark verkürzte Sequenz durch einen Fehler in der Analyse), befanden sich grösstenteils in einem Längenbereich zwischen 806 und 821 Basenpaaren. Die Vorwärts- und Rückwärtssequenzen zeigten nach Angleichung eine sehr hohe Ähnlichkeit auf. Einige Punktmutationen sind jedoch erkennbar und nicht zurückzuführen auf Fehler, da sie sowohl in der Vorwärts- sowie in der Rückwärtssequenz vorzufinden sind. Am Sequenzanfang und -ende befinden sich Artefakte, welche schwer zu interpretieren sind und wahrscheinlich von der Position des Primers abstammen. Beim Vergleich der Sequenzen ohne jene Start- und Endabschnitte wurden 66 Punktmutationen gefunden, welche in einer oder mehreren Proben auftraten.



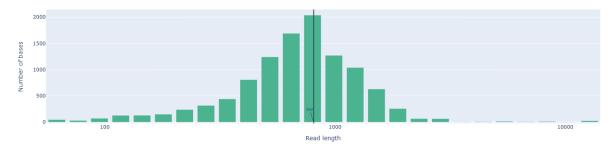
**Abb. 4:** Anfänge der angeglichenen Sequenzen mit Startartefakten und Punktmutationen. Die Abbildung zeigt beispielhafte eine mögliche Darstellung der Resultate. In dieser Ansicht sind sie nicht interpretierbar und dienen nur der Veranschaulichung.

#### 4.2. ycf1

Beim ycf1-Abschnitt wurde eine Länge von 4500 Basenpaaren erwartet. Nach der ONT-Sequenzierung bestanden die einzelnen Fragmente aber nur noch aus etwa 600 Basenpaaren. Dazu kommt, dass die Qualität der Sequenzierung ebenfalls spärlich ausgefallen ist. Bei den meisten Proben wurden ausserdem unterschiedliche Längen des Genabschnittes angezeigt, die sequenziert wurden. Es sind aber durchaus Unterschiede zwischen den einzelnen Proben sichtbar. Während bei einigen nur knapp 300 Basenpaare am Stück sequenziert wurden, gibt es auch solche mit mehreren 1000 sequenzierten Basenpaaren. Während einige Proben dazu neigen, kurze Sequenzen mit dafür hoher Häufigkeit zu besitzen (vgl. Abb. 5), wurden bei anderen Proben sowohl Sequenzen mit 200 bp als auch 8000 bp analysiert.

Die Qualität der einzelnen Sequenzen wird mit dem Q-Wert beschrieben. Dieser besagt, wie wahrscheinlich eine Base korrekt bestimmt ist. Dabei wird in unterschiedlich genaue Q-Werte unterteilt, welche gleich funktionieren wie Perzentile. Q5 ist dementsprechend weniger genau als Q15. Bei den hier untersuchten Proben lag der Q15-Wert im Durchschnitt bei gerade einmal 30 Prozent. Im zweiten Durchlauf mit neuen Proben konnten dann immerhin Werte von bis zu 92 Prozent erreicht werden, im Durchschnitt lagen sie jedoch bei knapp 80 Prozent.

Das zeigt, dass es nicht gelungen ist, den ycf1-Abschnitt mit ONT korrekt zu sequenzieren. Einhergehend mit den fehlenden Resultaten konnte ebenfalls keine Verwandtschaftsanalyse gemacht werden. Aufgrund dieser schlechten Genauigkeiten und den nicht so kurz erwarteten Längen wurden die einzelnen Sequenzen nicht weiter miteinander verglichen. Stattdessen wurde auf eine umfangreiche und zeitintensive Fehleranalyse Wert gelegt.



**Abb. 5:** Darstellung der Leselänge von einer Probe mit dem Primer ycf1. Es ist zu erkennen, dass das Maximum bei ungefähr 900 bp liegt.

# 4.3. Fehleranalyse

Bei der Extraktion sollten keine grösseren Fehler aufgetreten sein, da diese Methodik bereits bekannt war und in der Vergangenheit stets funktioniert hat. Obwohl auch die PCR-Methodik bereits in anderen Projekten erfolgreich angewendet wurde, könnten hier mehr Fehler aufgetreten sein. Da in der Vergangenheit noch nie so lange DNA-Abschnitte vervielfältigt worden waren, war nicht klar, auf welche Zeit, Temperatur und Anzahl der Thermocycler eingestellt werden sollte. Bei falscher Einstellung hätte dies dazu führen können, dass die Abschnitte wegen zu kurzer oder zu weniger Zyklen gar nicht oder nicht vollständig vervielfacht werden konnten oder die DNA wegen zu hoher Temperaturen denaturiert wurde. Die nachfolgende Aufreinigung war der erste Prozess, der zuvor noch in keinem Projekt angewendet wurde und die Methodik dazu daher noch nicht bekannt war. Das bedeutet, dass es nicht sicher war, ob das Aufreinigungskit für dieses Projekt überhaupt funktionieren würde. Ausserdem hätten aufgrund der fehlenden Erfahrung auch Fehler bei der Umsetzung gemacht werden können. Der letzte Schritt des Projektes, die Sequenzierung, wurde von Microsynth AG durchgeführt. Daher kann davon ausgegangen werden, dass in diesem Schritt keine Fehler mehr gemacht wurden. Da kaum verwertbare Ergebnisse zurückkamen, ist davon auszugehen, dass in den vorherigen Schritten einer der oben genannten Fehler aufgetreten ist oder dass die Methodik qualitativ nicht genügend gute Produkte liefert, um diese mit einer so technologisch hochentwickelten Sequenziermethode auswerten zu können.

#### 4.4. Weitere Qualitätskontrolle der Proben

Aufgrund der bereits angesprochenen Unregelmässigkeiten in den Proben wurde entschieden, sämtliche Vorgänge und Verarbeitungsschritte für den Primer ycf1 nochmals in den Laboren der Kantonsschule Wattwild durchzuführen. Dafür wurden frische Proben einer Föhre und einer Fichte vor Ort gesammelt und erneut nach den aufgeführten Methoden verarbeitet. Jeder Schritt wurde dabei nochmals mit der SOP (academiainterne Anleitungen zu verschiedenen Methoden auf Basis der Erfahrungen der letzten Projekte) abgeglichen und von einer zweiten Person kontrolliert. Ebenso wurde auf besondere Sauberkeit, richtige Mengenangaben und präzises Arbeiten geachtet. Nach der Extraktion wurde eine erste Gel-Elektrophorese angesetzt, um zu prüfen, ob überhaupt DNA in den Proben vorhanden ist. Dabei musste erneut festgestellt werden, dass keine oder nur sehr stark verschwommene und schwache Färbungen im Gel auftraten. Wahrscheinlich handelt es sich dabei nur um Verfärbungen des Gels und nicht um eine tatsächliche Bande, die DNA anzeigt. Trotzdem wurde mit den Proben weitergearbeitet. Nach der PCR wurde die Hälfte der Proben direkt in ein Tube gegeben und dieses so für die Sequenzierung bei der Microsynth AG bereit gemacht, die weiteren Proben wurden aufgereinigt. Auch hier wurde alles unter dem Vier-Augen-Prinzip und mit genauem Abgleichen mit der Anleitung durchgeführt. Diese Proben wurden im Anschluss ebenfalls durch Microsynth AG mittels ONT sequenziert.

Die Analyse hat jedoch weiterhin sehr unterschiedliche Längen der gelesenen Stränge ergeben. Die durchschnittliche Lesequalität ist jedoch leicht gestiegen. Trotzdem sind die Resultate nicht so ausgefallen wie gewünscht.

# 5. Fazit

Insgesamt muss für dieses Projekt leider gesagt werden, dass die gesetzten Ziele, also die Sequenzierung des ycf1- und matK-Abschnittes der cpDNA von *Pinus*-Arten, nicht erreicht werden konnten. Grund dafür sind die oben aufgeführten Probleme bei der Aufbereitung und Sequenzierung der Proben. Auch die anschliessend durchgeführte Fehleranalyse brachte nicht die erhofften Schlüsse. Gleichzeitig konnte die Gruppe die selten kommunizierte Seite der Wissenschaft kennenlernen, bei der es neben den Resultaten auch um das saubere Aufarbeiten von nicht gelungenen Versuchen geht. Die dabei erlernten Techniken und die gewonnene Erfahrung können zudem für weitere Projekte in diesem Fachbereich sehr hilfreich sein. Denn für die **academia** war dies das erste Projekt mit einer ausgelagerten Sequenzierung. In Zukunft sollte deshalb der Fokus auf eine möglichst einfache Pflanze (beispielsweise Algen) und auf die exakte Entwicklung der Methodik mit den verfügbaren Geräten der Kantonsschule Wattwil gelegt werden. Sobald diese Schritte erfolgreich erledigt sind, wäre eine Wiederholung dieser Studie aber äusserst interessant.

#### 6. Dank

Für die Synthese der beiden Primer und alle Sequenzierungen durfte die **academia** auf die Unterstützung der Microsynth AG zählen. Neben der fachlichen Unterstützung half uns auch das Sponsoring der Firma sehr. Ein besonderes Dankeschön gehört dabei Bruno Müller und Christian Winiger, welche uns mit ihren Erfahrungen zur Seite standen. Ebenso bedanken wir uns bei der Macherey Nagel AG und der QIAGEN AG, bei denen wir unsere Kits bestellt und die uns dafür Rabatte gewährt haben.

# 7. Literaturverzeichnis

- [1] Sokolowska J. et al., «New Insight into Taxonomy of European Mountain Pines, Pinus mugo Complex, Based on Complete Chloroplast Genomes Sequencing», (2021).
- [2] Lauber K. et al. «Flora Helvetica, Illustrierte Flora der Schweiz», 6. Auflage, Haupt-Verlag Bern (2018).
- [3] Dong W. et al., «ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants, supplementary information», in «Scientific Reports», **5**, 8345 (2015).
- [4] Li Y. et al., «High universality of matK primers for barcoding gymnosperms», Journal of Systematics and Evolution **49**, 169-175 (2011).
- [5] Researchgate, «ONT-Sequenzierung», https://www.researchgate.net/figure/A-schematic-diagram-of-the-mechanism-of-Oxford-Nanopore-Technologies-ONT-sequencing\_fig2\_357111313 (Zugriff: 20. 2. 2025).
- [6] QIAGEN, «DNeasy Plant Kits», https://www.qiagen.com/us/products/discovery -and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/dneasy-plant-kits (Zugriff: 24. 2. 2025).
- [7] Thermofischer, «PCR-Temperaturen», https://www.thermofisher.com/ch/en/home/brands/thermo-scientific/molecular-biology/molecular-biology-learn ing-center/molecular-biology-resource-library/thermo-scientific-web-tools/tm-calculator.html (Zugriff: 26. 2. 2025).
- [8] Olsson S. et al., «Species-diagnostic markers in the genus Pinus: evaluation of the chloroplast regions matK and ycf1», Forest Systems **27**, e016 (2018).
- [9] Celiński K. et al., «Effectiveness of the DNA barcoding approach for closely related conifers discrimination: A case study of the Pinus mugo complex», Comptes Rendus Biologies 340(6-7), 339-348 (2017).



- [10] Dong W. et al., «ycf1, the most promising plastid DNA barcode of land plants», in «Scientific Reports», 5, 8345 (2015).
- [11] Ackermann R. et al. «Analyse der Chloroplasten-DNA verschiedener finnischer Pflanzenarten», in «Forschungsbericht über die Studienwoche 2023, Rajala», Forschungsgruppe **academia**, Wattwil (2023).