

Die Bedeutung der Temperatur für die Inaktivierung von Samen im Biogas-Reaktor

The importance of temperature in the inactivation of seeds in biogas reactors

Juliane Hahn^{1*}, David Parzych¹, Paula R. Westerman¹, Monika Heiermann², Bärbel Gerowitt¹

¹Universität Rostock, Phytomedizin, Satower Straße 48, 18051 Rostock,
juliane.hahn2@uni-rostock.de

²Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V., Max-Eyth-Allee 100, 14469 Potsdam

*Korrespondierende Autorin, juliane.hahn2@uni-rostock.de



DOI 10.5073/jka.2016.452.017

Zusammenfassung

Samen von Unkräutern können mit der Ernte von Biomasse oder Zufuhr von Dung in den Biogas-Reaktor gelangen. Alle Unkrautsamen, die auf diese Weise in die Biogas-Prozesskette gelangen und die anaerobe Vergärung überleben, können mit der Ausbringung des Gärrestes verbreitet werden. Die Inaktivierung der Samen im Biogas-Reaktor erfolgt hauptsächlich über die Temperatur. Im Vergleich von Labor-Biogas-Reaktor und Wasserbad haben wir den Einfluss der Temperatur auf das Überleben der Samen von einer hartschaligen und einer nicht-hartschaligen Art überprüft.

Von den Tomatensamen, die auch als Indikator für die Hygienisierung von Vergärungsanlagen genutzt werden, überlebten im Mittel nur 20 % die maximale Expositionszeit im Reaktor und im Wasserbad. Die Samen verloren ihre Vitalität im Reaktor schneller als unter ausschließlichen Temperatureinfluss. Die Vitalität der hartschaligen Art, *Melilotus albus*, sank bis zur maximalen Expositionszeit (12 Tage) auf etwa 70 % ab. Die Abnahme der Vitalität erfolgte gleichermaßen in Wasserbad und Reaktor.

Die Inaktivierung der Samen von *M. albus* beruhte hauptsächlich auf der Wirkung der Temperatur. Bei der Tomate waren auch andere Faktoren beteiligt. Die Tomate ist kein geeigneter Indikator-Organismus für die Inaktivierung von (hartschaligen) Pflanzensamen im Biogas-Reaktor.

Stichwörter: Biogas-Reaktor, Hartschaligkeit, Temperatur, Tomate, Wasserbad

Abstract

Weed seeds can enter the biogas reactor by the harvest of biomass or by animal manure. All seeds that enter the biogas process chain and survive anaerobic digestion can be spread with the digestate. The inactivation of seeds in the biogas reactor is mainly due to temperature. In comparison of a laboratory-scale biogas reactor and a water bath experiment, we tested the contribution of temperature in the inactivation of seeds from one hardseeded and one non-hardseeded species.

On average, as few as 20 % of the tomato seeds, which are used as an indicator species for the sanitation of fermentation plants, survived the maximum exposure time in the reactor and water bath. In the reactor the seeds lost their viability quicker than could solely be explained by temperature. Viability of the hardseeded species, *Melilotus albus*, declined to 70 % after the maximum exposure time of 12 days. The decline was similar in water baths and reactor.

Inactivation of *M. albus* seeds was mainly due to temperature. For tomato seeds, factors other than temperature must have contributed to inactivation. Tomato appears to be no appropriate indicator for inactivation of (hardseeded) seeds in biogas reactors.

Keywords: Biogas reactor, hardseededness, temperature, tomato, water bath

Einleitung

Mit der Ernte von Biomasse oder der Zufuhr von Dung gelangen auch Samen von Unkräutern in den Biogas-Reaktor. Mais für die Biogasproduktion wird gewöhnlich so früh geerntet, dass nicht alle Unkräuter die Möglichkeit zur Vermehrung haben. Dennoch fanden WESTERMAN et al. (2012A) neben Arten, die unterhalb der Schnitthöhe des Maises wuchsen und nur wenige Samen produzierten, auch hochwachsende, viele Samen produzierende Arten, deren Fruchtstände größtenteils oberhalb der Schnitthöhe lagen. Es handelte sich hauptsächlich um *Chenopodium album* (L.) und *Echinochloa crus-galli* (L.) P. BEAUV. Alle Unkrautsamen, die auf diese Weise in die Biogas-Prozesskette gelangen und die anaerobe Vergärung überleben, können mit der Ausbringung des Gärrestes verbreitet werden.

Während der mesophilen Vergärung im Biogasreaktor herrschen ein dunkles, feuchtes und anaerobes Milieu bei Temperaturen zwischen 20 und 40 °C sowie pH-Werte, die zwischen 6,8 und 8 liegen. Neben Wasser, Methan und Kohlenstoffdioxid tritt eine Vielzahl von Substanzen in Biogasreaktoren auf z. B. Enzyme, organische Säuren, Alkohole, Schwefelwasserstoff-Verbindungen, Cyanide und Ammoniak. Zusätzlich werden die Samen bei ihrem Eintritt in den Reaktor von einem Biofilm aus Bakterien, Archen und Protisten besiedelt. Pflanzensamen im Biogasreaktor können demzufolge auf thermischem, biologischem und chemischem Wege inaktiviert werden (WESTERMAN und GEROWITT, 2013).

Pflanzensamen unterscheiden sich stark in ihrer Fähigkeit, die extremen Bedingungen in Biogas-Anlagen zu überleben (WESTERMAN et al., 2012). Die Temperatur gilt hierbei als der wichtigste Parameter, von dem das Überleben der Samen abhängt (WESTERMAN und GEROWITT, 2013). Die sogenannte Thermoresistenz der Samen ist daher von besonderer Bedeutung. Die Thermoresistenz hängt stark vom Wassergehalt der Samen ab. In der mesophilen, anaeroben Vergärung liegt die Temperatur bei 20 °C oder höher und die Samen sind vollständig wassergesättigt (Wassergehalt > 20 %). Solange die Temperaturen nicht zu hoch sind ($T = 20 - 35$ °C), können vollständig wassergesättigte Samen einige Zeit überleben, wenn sie nicht keimen oder verrotten (z.B. VILLIERS, 1974; MURDOCH und ELLIS, 2000). Bei höheren Temperaturen ($T > 35$ °C) nimmt ihre Lebensfähigkeit exponentiell mit der Zeit ab (ECONOMOU et al. 1998; DAHLQUIST et al., 2007; WESTERMAN et al., 2012C). Im Allgemeinen gilt: je höher die Temperatur, desto kürzer die Zeitspanne bis zur thermischen Inaktivierung (WESTERMAN und GEROWITT, 2013).

Es gibt allerdings Mechanismen und Bestandteile, die den Effekt von hohen Temperaturen auf die Sameninaktivierung modifizieren können. In einer Literaturstudie identifizierten WESTERMAN und GEROWITT (2013) Unkrautarten mit harten Samen (physikalische Dormanz), hoher Thermoresistenz, einer dicken Samenschale oder mit Anpassungen an Endozoochorie als Hochrisiko-Arten für das Überleben in Biogasreaktoren. Einen Spezialfall stellen hier solche Samen dar, die über eine wasserundurchlässige Schicht in ihrer Samenschale verfügen (ROLSTON, 1978) und nachweislich ungewöhnlich widerstandsfähig gegenüber anaerober Vergärung sind. Diese Samen werden als „hartschalig“ bezeichnet und sind weniger anfällig für Hitze-Stress, weil sie kein Wasser aufnehmen, nicht quellen und nicht weich werden wie „nicht-hartschalige“ Samen (WESTERMAN und GEROWITT, 2013). Hartschaligkeit findet sich oft bei den *Fabaceae*, wurde aber auch bei *Convolvulaceae*, *Geraniaceae*, *Malvaceae* und *Solanaceae* beobachtet (ROLSTON, 1978; BASKIN et al., 2000; MURDOCH und ELLIS, 2000).

In dieser Pilotstudie wollten wir den Einfluss der Temperatur auf die Inaktivierung von Pflanzensamen im Biogasreaktor quantifizieren. Dazu haben wir die Überlebenswahrscheinlichkeit der Samen von zwei Arten während der anaeroben Vergärung bei 42 °C im Labormaßstab bestimmt. Um den alleinigen Einfluss der Temperatur auf das Überleben der Samen zu ermitteln, wurden sie zusätzlich in einem Wasserbad bei 42 °C inkubiert.

Material und Methoden

Pflanzensamen

Als Testorganismen haben wir die Tomate und eine Art aus einer Pflanzenfamilie mit bekannter Hartschaligkeit gewählt. Das erlaubte uns, zusätzlich zu überprüfen, wie gut die Samen der Tomate als Indikator für die Phytohygienisierung in der mesophilen anaeroben Vergärung geeignet sind.

Tomatensamen (Sorte St. Pierre) (*Lycopersicon esculentum* (L.)) wurden als Präzisionsaatgut von Bingenheimer Saatgut AG (Echzell-Bingenheim, Deutschland) bezogen. Als Beispielart für hartschalige Samen diente in dieser Studie ein Vertreter der Familie der *Fabaceae*, der Weiße Steinklee (*Melilotus albus* (L.)). Die Samen von *M. albus* wurden von Appels Wilde Samen GmbH (Darmstadt, Deutschland) bezogen.

Überlebenswahrscheinlichkeit bei 42 °C in Biogas-Reaktoren im Labormaßstab

Die kontinuierlich durchmischten Laborreaktoren (Arbeitsvolumen 8l) wurden mit einer Mischung aus Maissilage und Rindergülle betrieben. Die Vergärungstemperatur in den Reaktoren lag mit 42 °C im oberen mesophilen Bereich. Abhängig von der Expositionszeit wurden 100, 200 oder 300 Samen pro Art in feinmaschige Polyester-Beutel eingenäht (WESTERMAN et al., 2012B) und am Rührer der Reaktoren befestigt. Die Samen wurden der anaeroben Vergärung bei 42 °C in vier Replikaten für 1, 3, 6 oder 9 Tage ausgesetzt. Nach den unterschiedlichen Expositionszeiten wurde die Lebensfähigkeit der Samen wie bei WESTERMAN et al. (2012B) beschrieben durchgeführt. Zusammengefasst: Die Samen wurden für 2 min mit 1 % NaOCl-Lösung oberflächensterilisiert, drei Mal in destilliertem Wasser gespült und auf „Diasporen-Agar“ ausgelegt. Die Keimungsraten der Samen wurden 21 Tage lang überprüft. Die Lebensfähigkeit der Samen, die in den 21 Tagen nicht keimten, wurde mittels Tetrazolium-Färbung getestet. Als Kontrolle wurde die Keim- und Lebensfähigkeit der Samen, die nicht der anaeroben Vergärung ausgesetzt wurden, bestimmt. Dazu wurden sie zwei Tage vor Beginn der Tests im Dunkeln angequollen. Die Anzahl der gekeimten und lebensfähigen Samen wurde zur Bestimmung des Anteils vitaler Samen addiert.

Überlebenswahrscheinlichkeit bei 42 °C im Wasserbad

Um den Einfluss der Temperatur auf die Überlebenswahrscheinlichkeit der Samen während der anaeroben Vergärung zu quantifizieren, wurden Samen in Präzisionswasserbädern (WB-6, Firma witeg Labortechnik GmbH, Wertheim, Deutschland) bei 42 °C inkubiert. Die Wasserbäder waren auf 0.1 °C genau regelbar. Die Samen wurden für 2 min mit 1 % NaOCl-Lösung oberflächensterilisiert, drei Mal in destilliertem Wasser gespült und mit 2 ml 0.5M Puffer (HEPES, pH 7.0) in Reagenzgläser gegeben. Die Reagenzgläser wurden für 1, 3, 6, 9 und 12 Tage inkubiert. Pro Art und Expositionszeit wurden je acht Replikate mit 50 Samen untersucht. Nach den verschiedenen Expositionszeiten wurde die Lebensfähigkeit der Samen mittels Tetrazolium-Färbung bestimmt.

Statistische Analyse

Für die Modellierung des nicht-linearen Zusammenhangs zwischen Expositionszeit („dose“) und Vitalität der Samen („response“), wurde das Paket „Dose-response-curves“ (drc, Version 2.5-12, RITZ und STREIBIG, 2015) für R (Version 3.2.1) verwendet.

Mittels der Funktion „mselect“ wurde ein Ausgangsmodell mit verschiedenen anderen Modellen verglichen. Die Art wurde als Gruppenvariable gesetzt. Als das bestangepasste Modell wurde das gewählt, welches den kleinsten AIC Wert und Standardfehler der Residuen, sowie den größtmöglichen lack-of-fit-Wert aufwies. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Parametern wurden mit Funktion „compParm“ festgestellt. Außerdem wurden ED₅₀- und ED₉₀-Werte berechnet, die die Zeit angeben, nach der laut Modellierung 50 % bzw. 90 % der Samen bei 42 °C abgestorben wären.

Ergebnisse

Tomatensamen

Die Vitalität der Tomatensamen im Biogasreaktor sank innerhalb der ersten drei Tage rapide auf 20 %. In den folgenden sechs Tagen verblieb sie entweder auf diesem Niveau oder die Samen starben vollständig ab. Im Wasserbad war der Verlauf umgekehrt: in den ersten drei Tagen nahm die Vitalität kaum ab und sank bis zur maximalen Expositionszeit von 12 Tagen auf Werte zwischen 0 % und 40 % (Abb.1A).

Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Tomatensamen in Abhängigkeit von der Expositionszeit bei 42 °C wurde mit der vier-parametrischen Weibull-Funktion modelliert, die definiert ist als: $f(x) = c + (d - c) \exp(-\exp(b(\log(x) - \log(e))))$. Die einzelnen Parameterwerte sind in Tabelle 1 angegeben. Im

Vergleich der Modellparameter zwischen Wasserbad und Reaktor unterschieden sich c (untere Asymptote) und e (Wendepunkt der Kurve) signifikant. Entsprechend der Modellierung lagen die ED₅₀-Werte bei 8,7 Tagen im Wasserbad und 1,6 Tagen im Reaktor. Die ED₉₀ Werte lagen bei 13,9 Tagen im Wasserbad und 11,8 Tagen im Reaktor.

Samen von *M. albus*

Die Überlebenswahrscheinlichkeit der Samen von *M. albus* war im Reaktor und Wasserbad verhältnismäßig ähnlich. Bis zur maximalen Expositionszeit von 12 Tagen sank sie auf ca. 70 % ab (Abb. 1B).

Das beste Modell zur Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeit von *M. albus* war ebenfalls die Weibull-Funktion mit drei Parametern und mit fester unterer Asymptote (c) bei 0 % (Tab. 1). Die Koeffizienten beider Modelle unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Die Modellierung ergab eine ED₅₀ von 83 Tagen im Reaktor und 171 Tagen im Wasserbad. Als ED₉₀ Werte wurden 7 Jahre im Reaktor und 547 Jahre im Wasserbad berechnet.

Tab. 1 Mittlere geschätzte Parameterwerte (± Standardfehler) der Weibull-Modelle für die Überlebenswahrscheinlichkeit von Tomate (*L. esculentum*) und Weißem Steinklee (*M. albus*) in Abhängigkeit von der Expositionszeit bei 42 °C im Wasserbad und im Labor-Biogas-Reaktor.

Tab. 1 Mean parameter estimates (± standard errors) of the Weibull models for the survival probability of tomato (*L. esculentum*) and White sweet clover (*M. albus*) as a function of exposure time at 42 °C in water baths and in laboratory-scale biogas reactors, respectively.

Art	Behandlung	Modell	Parameterwerte							
			b	c		d		e		
<i>L. esculentum</i>	Wasserbad	W1.4	2,10	± 0,4	-69,04	± 104,6*	100,54	± 2,7	14,69	± 6,4*
	Reaktor	W1.4	1,84	± 0,3	10,89	± 3,1	97,72	± 2,8	1,98	± 0,2
<i>M. albus</i>	Wasserbad	W1.3	0,18	± 0,1	0		91,95	± 5,6	2566,8	± 3258,7
	Reaktor	W1.3	0,40	± 0,3	0		86,76	± 2,1	371,38	± 1035,8

W1.4 = vier-parametrische Weibull-Funktion; 4-parameter Weibull function

W1.3 = vier-parametrische Weibull-Funktion mit fester unterer Asymptote (c); 4-parameter Weibull function with fixed lower limit (c)

b = Steigung; slope

c = untere Asymptote; lower limit

d = obere Asymptote; upper limit

e = Wendepunkt der Kurve; inflection point

* signifikante Unterschiede zwischen den Parametern für Tomatensamen in Wasserbad und Biogas-Reaktoren; indicates significant differences between the parameter estimates for tomato seeds in water baths and biogas reactors

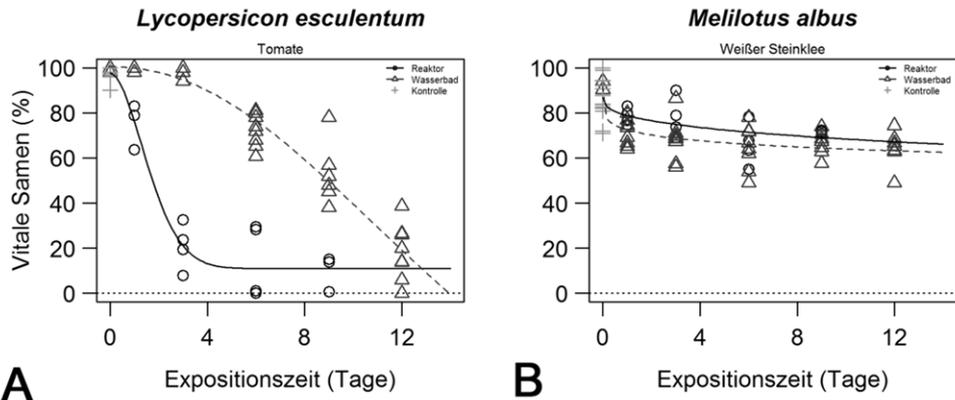


Abb. 1 Überlebenswahrscheinlichkeit der Samen von *L. esculentum* (A) und *M. albus* (B) bei 42 °C über 12 Tage im Wasserbad (Dreiecke) oder 9 Tage in der anaeroben Vergärung im Biogas-Reaktor im Labormaßstab (Kreise). Die gestrichelte und die durchgezogene Linie sind die gefitteten dose-response-Modelle.

Fig. 1 Probability of survival of seeds from *L. esculentum* (A) and *M. albus* (B) at exposure to 42 °C for 12 days in water baths (triangles) and 9 days at laboratory-scale anaerobic digestion (circles), respectively. The dotted and solid lines are the fitted dose-response-models.

Diskussion

Temperatureffekt und Modellierung

Die Samen der Tomate verloren ihre Vitalität im Reaktor innerhalb der ersten drei Tage schneller als im Wasserbad. Auch im Vergleich der Modelle war der Unterschied zwischen reinem Temperatureinfluss (= Wasserbad) und Reaktor sichtbar: Die Wendepunkte waren signifikant verschieden voneinander. Die Reduktion der Vitalität setzte unter alleinigen Einfluss der Temperatur später ein, was sich auch in den ED₅₀-Werten niederschlägt (1,6 Tage im Reaktor vs. 8,7 Tage im Wasserbad). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass bei der Inaktivierung von Tomatensamen im Biogas-Reaktor die Temperatur nicht der Hauptfaktor ist, sondern auch chemische und/oder biologische Prozesse eine Rolle spielen (WESTERMAN und GEROWITT, 2013). Der ED₉₀-Wert lag im Labor-Reaktor mit 11,8 Tagen viel höher als die 2,0 ± 1,8 Tage, die in Praxis-Biogas-Anlagen bei 41 °C ermittelt wurden (WESTERMAN et al., 2012C). Allerdings betonten WESTERMAN et al. (2012C) schon in ihrer Studie, dass Labor-Reaktoren nicht notwendigerweise ein gutes Modellsystem für Praxis-Biogas-Anlagen darstellen.

Die Abnahme der Vitalität der Samen von *M. albus* erfolgte fast deckungsgleich in Reaktor und Wasserbad. Auch die Modelle zur Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von der Expositionszeit unterschieden sich nicht signifikant voneinander. Offenbar war hier die Temperatur der entscheidende Faktor für Inaktivierung der Samen im Reaktor.

Wir möchten erwähnen, dass die Extrapolation der genutzten Modelle über den Messzeitraum hinaus fraglich ist. Deutlich wird diese Limitation in den errechneten ED₉₀-Werten für *M. albus*. Laut des Modells, das mit einer maximalen Expositionszeit von 12 Tagen erstellt wurde, würde es 547 Jahre dauern, um die 90 % der *M. albus* Samen im Wasserbad bei 42 °C zu inaktivieren. Das ist unrealistisch. Selbst in der Bodensamenbank, wo sie nicht permanent hohen Temperaturen ausgesetzt sind, bleiben nur wenige Samen weniger Arten länger als 100 Jahre keimfähig (THOMPSON et al., 1997). Mehr Messwerte in der Zeit wären notwendig, um die für hartschalige Arten zu erwartende, doppelt exponentielle Absterbedynamik (WESTERMAN et al., 2012C) plausibel modellieren zu können.

Tomate als Indikator-Organismus

In den Untersuchungen von WESTERIK und KLEIZEN (2006) und STRAUB et al. (2012) waren die Samen der Tomate widerstandsfähiger gegenüber der mesophilen, anaeroben Vergärung als die meisten der getesteten Arten. Dies führte zu der Annahme, dass Tomatensamen sich als Indikator-Organismus für die Phytohygiene von Gärresten eignen würden. In Deutschland wird zum Nachweis der phytohygienischen Unbedenklichkeit von Vergärungs- und Kompostierungsanlagen - laut der BioAbfV 1998 - die Tomate als Hygiene-Leitorganismus genutzt. Der Grenzwert im Biotest beträgt $\leq 2\%$ keimfähige Samen je Prüfbereich. In unserer Studie überlebten die Samen von *M. albus* sowohl die Vergärung im Labormaßstab als auch die Exposition im Wasserbad viel besser als die der Tomate. Zudem entwickelte sich die Überlebenswahrscheinlichkeit beider Arten in Abhängigkeit von der Expositionszeit unterschiedlich (unterschiedliche Modelle). Während *M. albus* im Reaktor vermutlich vorrangig durch den Einfluss der Temperatur inaktiviert wurde, waren die Tomatensamen auch für andere Faktoren anfällig. Damit ist die Tomate - in Übereinstimmung mit SCHRADER et al. (2003) und WESTERMAN et al. (2012B, C) - laut unseren Ergebnissen kein geeigneter Indikator-Organismus für die Phytohygienisierung des Gärrestes im Biogas-Prozess. Um die Wirkung der Temperatur im Biogasreaktor auf die Inaktivierung von Pflanzensamen und damit das Risiko einer Kontamination des Gärrestes abschätzen zu können, sollte die systematische Forschung zur Überlebensfähigkeit von Unkräutern aus verschiedenen taxonomischen und funktionellen Gruppen in der anaeroben Vergärung fortgesetzt werden (WESTERMAN und GEROWITT, 2013).

Danksagung

Diese Studie wurde gefördert durch die Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe e.V. im Auftrag des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (FKZ 22401114).

Literatur

- BASKIN J.M., C.C. BASKIN und X. LI, 2000: Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Species Biology* **15**, 139-152.
- BMU - BUNDESMINISTERIUM FÜR UMWELT, NATURSCHUTZ UND REAKTORSICHERHEIT im Einvernehmen mit dem BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND FORSTEN UND DEM BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, 1998: Verordnung über die Verwertung von Bioabfällen auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden. Bioabfallverordnung - BioAbfV. BMU, Berlin, 58 S.
- DAHLQUIST R.M., T.S. PRATHER und J.J. STAPLETON, 2007: Time and temperature requirements for weed seed thermal death. *Weed Science* **55**, 619-625.
- DASTGHEIB, F., 1987: Relative importance of crop seed, manure and irrigation water as sources of weed infestation. *Weed Research* **29**, 113-116.
- ECONOMOU G., G. MAVROGIANNOPOULOS und E.A. PASPATIS, 1998: Weed seed responsiveness to thermal degree hours under laboratory conditions and soil solarization in greenhouse. In: J.J. Stapleton, JE DeVay, C Elmore (Hrsg.). *Soil solarization and integrated management of soilborne pests*, 246-263. Rome, Food Agriculture Organization of the United Nations.
- MURDOCH, A.J. und R.H. ELLIS, 2000: Dormancy, viability and longevity. In: M. Fenner (Hrsg.). *Seeds, the ecology of regeneration in plant communities*, ed 2, 183-214. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxon, UK.
- RITZ, C. und J.C. STREIBIG, 2015. R package "drc". (<http://bioassay.dk/>)
- ROLSTON, M.P., 1978: Water impermeable seed dormancy. *Botanical Review* **44**, 365-396.
- SCHRADER, S., H. OECHSNER, C. PEKRUN und W. CLAUPEIN, 2003: Einfluss des Biogasprozesses auf die Keimfähigkeit von Samen. *Landtechnik* **58**, 90-91
- STRAUB, G., T. KAPLAN und T. JACOBI, 2012: Keimfähigkeit von Samen verschiedener (gentechnisch veränderter) Nutzpflanzen in Abhängigkeit von Prozessparametern und Verweildauer in einer Biogasanlage. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* **7**, 19-25.
- THOMPSON, K., J.P. BAKKER und R.M. BEKKE, 1997: *The soil seed banks of North West Europe: methodology, density and longevity*. New York: Cambridge University Press. 276 S.
- VILLIERS T.A., 1974: Seed aging: chromosome stability and extended viability of seeds stored fully imbibed. *Plant Physiology* **53**, 857-878.
- WESTERIK, M. und R. KLEIZEN, 2006: Onderzoek sanitatie tijdens anaërobe vergisting ter bestrijding van onkruidzaden en ziektekiemen. HoSt Bio-energy installations BV, Hengelo.
- WESTERMAN P.R. und B. GEROWITT, 2012A: The probability of maize biomass contamination with weed seeds. *Journal of Plant Diseases and Protection* **119**, 68-73.

27. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 23.-25. Februar 2016 in Braunschweig

WESTERMAN P.R., F. HILDENBRANDT und B. GEROWITT, 2012B: Weed seed survival following ensiling and mesophilic anaerobic digestion in batch reactors, *Weed Research* **52**, 286-295.

WESTERMAN, P.R., M. HEIERMANN, U. POTTBERG, B. RODEMANN und B. GEROWITT, 2012C: Weed seed survival during mesophilic anaerobic digestion in biogas plants. *Weed Research* **52**, 307-316.

WESTERMAN, P.R. und B. GEROWITT, 2013: Weed seed survival during anaerobic digestion in Biogas Plants. *Botanical Review* **79**, 281-316.