

Final Report

The Final Report contains this document + appendix 1 (project results). The final report forms the basis of evaluation and collecting project results.

Project acronym and title	ASHBACK Ash from biofuel in energy plants back to the forest and field; ecotoxicological consequences
Project nr.	0603-00587B
Contact person of the project (project leader)	Søren Christensen
Administrator	Anitha Sharma (INNOFOND) / Milena Sladoje (arbejdsplads for projektleder)
Date of status	April 1 st 2017
Project duration, incl. any extensions	[01.01.2013 – 31.12.2018]
Parties	Københavns Universitet, Biologisk Institut
Possible home page for the project	http://ashback.dk Center for Bioenergy Recycling
Total budget	20.685.800 kr.
Investment amount	x,xx mio. kr.
Co. financing	6.924.251 kr.
External financing	731.400 kr.

A: Final report – executive summary

The project leader's status (short summary of the report):

- 5 most important results/experiences in the project

- There is no sign of toxic effect of heavy metals from bio-ash on any of the organisms tested up to ash doses an order of magnitude higher than relevant applications.
- We do not observe any leaching of nutrients or heavy metals down the soil profile in the plantation soil investigated.
- The ash gives a dramatic change in soil environment (pH increase) and the soil biota undergoes marked shifts in populations present from fungal based towards bacterial based activity.
- In spite of the change in prevailing organisms, no marked change is observed in ecosystem function, such as carbon sequestration, greenhouse gas emission or nutrient leaching.
- We therefore suggest that we can allow spreading up to 3 times more ash a time (9 t/ha) than currently allowed (3 t/ha) to forest plantations without critical increase in the total load over a 75 year period. This would benefit the economy of the ash spreading.

- Most important results/events/activities in the project

- We have worked on several levels of description from the detailed ecotoxicology test in the laboratory via studies of plant growth and movement of compounds in pots of soil to field studies in a forest plantation as well as an arable field site.
- This involved the work of forest managers, engineers and biologists, the latter including work with species identification, with quantifying processes and with toxic effects on single organisms.
- Only with such a broad-spectered approach identifying mismatches between results obtained at different levels of description we get a better understanding of how systems work.

- The biggest challenges for continuation of the project after the end of the investment period.

- We have worked at a plantation site on a coarse sandy soil planted with Norway spruce, very typical for sites producing bio-fuel in this country.
- It would be very interesting to see, if similar results would be obtained with deciduous trees on more heavy textured soils in the eastern part of the country.

- Status of the project at the end of the investment compared to the original vision/success criteria.

- We do think that status at project end corresponds fully to what we aimed at from the start.

B. Final report – Value Creation

The project's commercial and societal potential and/or application

C. Final report – Scientifically

- Starting point and development in the investment period, incl. positioning in regard to competitors, patents, markets, customers and collaborators.

Well, this is a Strategic Research Council project and we do not have such an investment plan.

- The partners' strategy for value creation in regard to project results, incl. specific actions within the companies (eg sales, marketing, recruitment etc.) as a result of the progress in the project

There are three partners in this, (1) the plantation owners growing the bio-fuel, (2) the engineering companies transporting bio-fuel to and ash away from energy plants (3) energy plants receiving bio-fuel and producing ash.

- Who is intended to make the next investment in the project (project partners, public or private investors etc.)?

Partner (2) the engineers are most likely the ones that, based on our results, will invest in handling ash as a valuable resource for plantation owners instead of as a waste product to dump at a cost. Such a partner –HedeDanmark- invested 750.000,- in the project which shows their commercial interest in the project.

Status on the scientific developments on work package level

- At the starting point – the original targets and hypotheses

WP1 - Heavy metals in ash and in the environment

- 1) Database of existing analyses of heavy metals in bio-ash.
- 2) Heavy metal analyses of organisms and soils.
- 3) Ash from a large power plant, spatial and temporal variation.

WP2 - Field experiments, formulation of ash products

- 1) Establishment of field experiments.
- 2) Sampling and analyses of field experiments.
- 3) Formulation and improved ashes.
- 4) Model experiments on heavy metal movement in soil.

WP 3 – Eco-toxicology

- 1) Literature survey and review on ash eco-toxicology.
- 2) Protozoa.
- 3) Soil animals.
- 4) Fungal growth.
- 5) Eco-toxicology of improved ashes.

WP4 – Bioaccumulation and food webs

- 1) Ash effects on food web structure:
- 2) Relationship between Cd accumulation and food web complexity:
- 3) Cd accumulation in key soil animals in field experiments:
- 4) Cd accumulation in fungi:
- 5) Heavy metals in plants:

WP5 - Ecosystem services

- 1) Carbon sequestration:
- 2) Greenhouse gasses:
- 3) Nature quality:

- The development in the investment period, incl. status on results compared to the project plan and mile stones. State any notable changes in the project plan and describe the changes and the background for the changes.

WP1 1) Database of existing analyses of heavy metals in bio-ash.

We have analysed heavy metal in 13 ashes from nine Danish energy plants, see Figur 2 in "Ashback results", manuscript 28.

WP1 2) Heavy metal analyses of organisms and soils.

Heavy metal in soils and in organisms exposed to different ash loads is seen in Tabel 1 and Tabel 3, respectively, of "Ashback results", paper 2, 3, 6, 7, 12.

WP1 3) Ash from a large power plant, spatial and temporal variation.

These analyses were conducted on ash from Herningværket with monthly samplings for a year (2014-2015). For all five heavy metals analysed there was balance between metal intake in bio-fuel and metal output in the ash. Within the restriction that neither bio-fuel, nor ash could be sampled in a systematic manner by project people, no marked seasonal variations were observed.

WP2 1) Establishment of field experiments.

Field experiments were established in a Norway spruce plantation at Gedhus and at an arable field site in Foulum.

WP2 2) Sampling and analyses of field experiments.

This was performed during three years; three times for soils, two times for plants, 30 times for soil water (Figur 27 in "Ashback results") and 19 times for gas emission (Figur 24-25 in "Ashback results"), manuscript 26.

WP2 3) Formulation and improved ashes.

This was abandoned because we did not find any toxic ashes.

WP2 4) Model experiments on heavy metal movement in soil.

Fig. 29 in "Ashback, results", paper 13, 14, 15.

WP 3 1) Literature survey and review on ash eco-toxicology.

Publication Johansen Jesper L, Regin Rønn and Flemming Ekelund (2018) 20 Toxicity of cadmium and zinc to small soil protists. Environmental Pollution 242, 1510-1517.

WP3 2) Protozoa.

Fig. 13 in "Ashback results", paper 8.

WP3 3) Soil animals.

Figs. 14-17 in "Ashback results", paper 9, 18, manuscript 30, 35.

WP3 4) Fungal growth.

Fig. 20, 23 in "Ashback results".

WP3 5) Eco-toxicology of improved ashes.

This issue dropped; we did not find toxic ashes.

WP4 1) Ash effects on food web structure:

Figs 9, 10, 11, 15, 16, 17 in "Ashback results", paper 20, manuscript 21, 22, 25.

WP 4 2) Relationship between Cd accumulation and food web complexity:

"Ashback results", manuscript 33

WP4 3) Cd accumulation in key soil animals in field experiments:

Tabel 3 in "Ashback results", paper 16.

WP4 4) Cd accumulation in fungi:

Fig 20 in "Ashback results", paper 11.

WP4 5) Heavy metals in plants:

Tabel 3, Fig. 22 in "Ashback results", paper 10, 19, 29, 31, 34.

WP5 1) Carbon sequestration:

Fig 24 in "Ashback results", paper17, manuscript 32.

WP5 2) Greenhouse gasses:

Fig 25 in "Ashback results", manuscript 23, 24.

WP5 3) Nature quality:

Fig 19 in "Ashback results", manuscript 27.

- The most important results (e.g. breakthrough, rejection of hypothesis etc.) in relation to the general targets and vision of the project.

- That our approach –research at several levels of description- has provided clear results on a complex problem; the effect of applying a xenobiotic (ash) on ecosystem functioning and on the organisms in the system.
- Ash in quite large amounts does not harm organisms within the system.
- Neither does the ash affects ecosystem functioning and ecosystem services provided by plantations.
- We have rejected the hypothesis that ash doses in the range allowed and 2-3 times above will have marked toxic effects on organisms and clear effects on ecosystem functioning.

- The most important tasks and challenges in regard to continuation of the project and its results.

- To see if similar results will be obtained on more clayey soils and with deciduous trees.
- In particular we need to see if Cd accumulation in earthworms poses a problem where their biomass is much larger than experienced in our acidic spruce plantation.
- To put data from North European studies on ash effects into a database that will qualify decisions made on land-use.

D. Final report – Management and cooperation

Status on management and cooperation in the project.

Describe the interaction and cooperation between the parties in the project with emphasis on special challenges and consequences for the project.

- A challenge has been to establish cooperation between the organisations and people with the different competences needed. (1) Forest managers (HedeDanmark hosting our experiment at Gedhus Plantage, Dansk Skovforening); (2) energy plant managers (Herningværket, Dansk Fjernvarme), (3) entrepreneurs handling bio-fuel and ash (HedeDanmark), the Ashback project group with researchers from (4) forestry, (5) engineering and (6) biology.
- People from these six organisations as members of the “Følgegruppe” have met seven times during the project period to discuss planning and possible changes of the project; this has worked extremely well.
- The final report is based on, as of end March 2019, 20 publications in peer-reviewed journals and 15 manuscripts there is still worked on.
- We regard this in itself as a success for a project with seven ph.d.’s and two post docs.

E. Final report – Other results and evaluations

- What has made it especially attractive for the individual partners to participate in the project?

- Forest owners, power plant people and in particular entrepreneurs have learned how bio-ash can be managed and treated as a resource more than as a waste product.

- What has been the most surprising learning from participating in the project?

- Scientifically: That cadmium, commonly regarded as the most heavy metal toxic compound, never gets toxic with the chemical composition of ashes from bio-fuel.
- Management-wise: That coordination of the very different activities in Ashback has not been problematic.
- Due to the clear aim of the project for all participating sub-projects and obvious integration of these, experience was that management of the project did not require extensive meetings or gave unresolved conflicts among participating project partners or members of the “Følgegruppe”.

- Other results and evaluations?

- No.

Appendices:

Appendix 1 - project results:

"Ashback results"; Ashback resultater marts 2019 endelig.pdf.

Bioaske: et bidrag til en cirkulær bioøkonomi

ASHBACK

[Ash from biofuel in energy plants back to the forest and field - ecotoxicological consequences]

1. Baggrund, jordens fødenet	8
2. Vores forsøg - i felten, drivhuset og laboratoriet	10
3. Kemiske undersøgelser	11
3.1. Undersøgte aske	11
3.2. Askeeffekter på jordbundskemien	12
3.3. Konklusion, kemiske undersøgelser	17
4. Organismernes forekomst	17
4.1. Effekter af aske og Cd på jordens mikroorganismer	18
4.2. Effekter på større dyr i jorden	23
4.3. Effekter på mosser	25
4.4. Konklusion, organismernes forekomst	26
5. Akkumulering af tungmetal i fødenettet over og under jorden	27
5.1. Askens effekt på organismernes Cd indhold	27
5.2. Konklusion, akkumulering af tungmetal	30
6. Effekter på jord og ecosystem-services	31
6.1. Effekter på jordens akkumulering af kulstof og emission af drivhusgasser.	31
6.2. Systemets evne til at holde på næringsstoffer og tungmetaller	35
6.3. Asken virker som gødning på højere planter	37
6.4. Konklusion, ecosystem service	37
7. Er det forsvarligt at tilføre mere aske af gangen end tilladt i dag?	38
8. Samlet konklusion og anbefalinger	39
9. Referencer	40

1. Baggrund, jordens fødenet

I Danmark, såvel som i en række andre lande, anvender vi i stigende grad biobrændsel, dvs. træflis, træpiller, halm og haveparkaffald mm., i stedet for fossile brændsler. I modsætning til fossilt brændsel, giver biobrændsler ikke netto-forøgelse af atmosfærens kuldioxid-indhold. Ved intensiv høst af biomasse fra skov til produktion af bioenergi fjerner man ofte relativt store mængder næringsstoffer i forhold til hvis man kun fjerner stammer, idet man, ved høst af biomasse til bioenergiproduktion typisk fjerner hel-træer, med grene, bark og en vis mængde nåle/blade. Ved høst af biomasse på næringsfattige jorder til energiformål er der derfor et betydeligt behov for at kompensere næringsstofeksperten så så skovdyrkeren ikke udpiner sin jord. Ved forbrændingen omdannes hovedparten af materialet til luftarter (CO_2 , H_2O , N_2), mens næringsstofferne bortset fra kvælstof i relativ stor udstrækning bevares i asken. Derfor er det en naturlig tanke at tilbageføre asken med dens værdifulde næringsstoffer som gødning til de steder, hvor man dyrkede biobrændslet.

En sådan tilbageførsel er ikke problemfri, idet asken indeholder forskellige kemiske forbindelser, der kan skade eller ændre økosystemet, der hvor asken tilføres. Det drejer sig dels om stærkt basiske forbindelser og dels om forskellige tungmetaller, hvor man primært har fokuseret på cadmium, der anses for at være meget giftigt.

I dag er det ikke almindelig praksis at tilføre aske, og der er begrænset fokus på næringsbegrænsning i dansk skovbrug; selv på hovedparten af de sandede og næringsfattige jorder, hvor man ofte høster biobrændsel. Thy Statsskovdistrikt er dog en undtagelse hvor spredning af bioaske har været praktiseret i mere end 20 år. Da det ikke er grundigt undersøgt hvilke skadelige virkninger, bioasken kan have, er det i dag kun tilladt at tilføre 3 t ha^{-1} ad gangen, og i alt 9 t ha^{-1} pr. 75 år (hvis de øvrige grænseværdier ikke overskrides). Hvis det var tilladt at tilføre mere aske ad gangen ville det sænke omkostningerne og give mulighed for større grad af recirkulering af næringsstoffer, da den enkelte udbringning er dyr.

I forskningscentret ASHBACK (*Center for Energy Recycling*), har vi undersøgt de miljømæssige konsekvenser af askeudbringning. Kan man tilføre større mængder ad gangen og større mængder totalt, end det er tilladt i dag, uden at det skaber miljømæssige problemer? Askens sammensætning, jordbundstype og organismesamfund, hvor den bringes ud er faktorer, der alle har betydning for eventuelle u hensigtsmæssige følger af askeudbringning, fx ophobning af cadmium (Cd) i organismer (Mortensen et al. 2018). Vi har derfor forsøgt at trænge dybere ned i hvilken betydningen disse faktorer har.

Vores hovedfokus har været jordbundens økosystem, både organismer der lever i jordbunden og de processer de udfører og hvordan de understøtter plantevækst. Jorden myldrer med tusindvis af bakterier og svampe, der lever i et tæt samspil med de organismer der æder dem. Det er dette samspil, der får terrestriske økosystemer til at fungere, regulerer plantevæksten og forsyner planterne med næringsstoffer. Vi har derfor undersøgt hvorledes disse helt centrale organismer og processer "soil services" i jordbunden påvirkes af bio-asken. Vi har også undersøgt om askens indhold af tungmetal afspejler sig i et øget optag i organismerne. *Soil services* er et meget bredt begreb, der dækker de forskellige processer i økosystemet, som vi mennesker på den ene eller anden måde har interesse i fungerer optimalt. Det kan være jordens evne til at begrænse frigivelse af drivhusgasser eller omvendt til at ophobe organisk kulstof; i begge tilfælde *services* der modvirker klimaforandringer. Det kan også være jordens evne til at modvirke udvaskning af skadelige stoffer til grundvandet (tungmetaller og plantenæringsstoffer), og endelig kan det være økosystemets evne til at understøtte vækst af højere planter, mosser og svampe uden at de indeholder store mængder af tungmetaller. Det sidste er til gavn for både skovbruget, for dyrene i skoven, og for mennesker der bruger skoven rekreativt til at samle bær og svampe.

En så stor forskningsindsats har krævet mange partnere: 1) Biologisk Institut, sektion for Terrestrisk Økologi, Københavns Universitet har ledet projektet og bidraget med analyser af aske, mikrobiologi, protister, mindre jordbundsdyr samt flux af gasser fra jordbunden; 2) Institut for Geovidenskab og Naturforvaltning, sektion for Skov, Natur og Biomasse har stået for feltforsøget i Gedhus plantage og opbygning af jordbundens vand- og stofbalance herunder kontinuerlig indsamling og kemiske analyse af regnvand, gennemdryp, og jordvand i forskellige dybder, samt kemisk analyse af jordbunden. Derved kan vi bestemme mængden af stoffer, der akkumuleres i jordbunden samt mængden af stoffer, der siver ned igennem jorden og forlader økosystemet under træernes rodzone, 3) Institut for Bioscience, sektion for Jordfaunaøkologi og Økotoksikologi, Aarhus Universitet har analyseret de større jordbundsdyr samt udviklet meta-barcodings teknikker til disse, 4) Institut for Miljøvidenskab, Aarhus Universitet har karakteriseret bakteriesamfundet i jorden og 5) Institut for Vand og Miljøteknologi, Danmarks Tekniske Universitet har undersøgt bioaskers kemiske sammensætning, karakteriseret mobilitet og fastlæggelse af metaller i aske og i jord. Disse data blev sammenstillet med data fra feltforsøget for at opnå viden om mulighederne for at modellere de observerede feltdata ud fra kendskab til asken og jordbunden.

2. Vores forsøg - i felten, drivhuset og laboratoriet

Et så omfattende og ambitiøst projekt som ASHBACK kræver undersøgelser af mange parametre på forskellige beskrivelsesniveauer: Vi har derfor udført både storskala feltforsøg (20 x 25 m og 2 x 2 m plots), drivhusforsøg med plantevækst i potter og laboratorie-forsøg med enkeltorganismer.

Storskala-forsøgene er blevet udført i Jylland dels på landbrugsjord i Foulum, nær Viborg, dels i en rødgranplantage i Gedhus Plantage nær Karup. Da den maximalt tilladte askedosering nu er 3t tør aske ha⁻¹ ad gangen tog vi udgangspunkt i dette, men tilførte også højere koncentrationer. På landbrugsjorden deltog vi i et mini-plot forsøg, hvor vi undersøgte effekter af aske på vårbyg. Her brugte vi den samme aske som anvendt til rødgran. Rødgranplantagen i Gedhus var anden-generations plantage på grovsandet tidligere hede-jord. De store plots tilførtes 0, 3, 4.5, 6, 15 og 30 t aske ha⁻¹ og de små plots fik 0, 3, 9, 15, 30 og 90 t aske ha⁻¹. Der var tre gentagelser af de store plots med 0, 3, 4.5 og 6 t ha⁻¹ mens der var fem replikater af alle de små plots. Store plots med 15 og 30 t ha⁻¹ var enkeltplots. Vi ønskede her at undersøge effekter af asken på bevægelse af næringsstoffer og tungmetaller i jordbunden, udledning af drivhusgasser og hvordan asken påvirkede jordbundorganismer. Drivhus- og laboratorieforsøg har i høj grad fokuseret på cadmium-optag og -effekter på planter og mikroorganismer, men også på askes potentielle plantegødningspotentiale.



Figur 1. Gedhus plantagen. Felter på 2x2 m er tilført forskellige askemængder 1. april 2014, fire måneder før billedet blev taget.

3. Kemiske undersøgelser

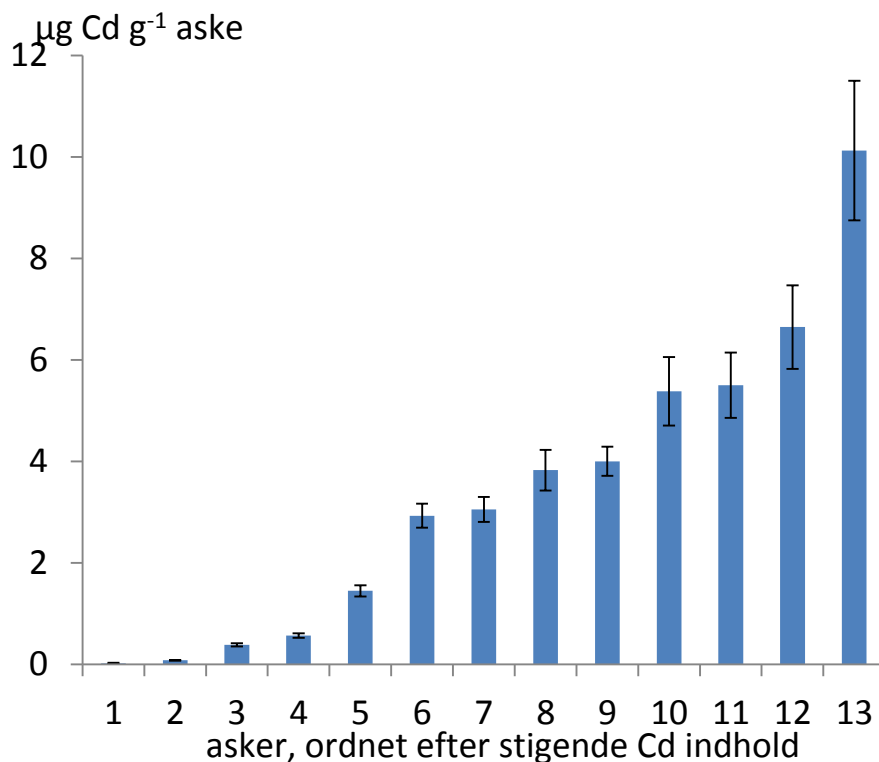
De kemiske undersøgelser i ASHBACK adresserede dels den kemiske sammensætning og egenskaber af forskellige danske asker, dels effekterne på jordbundens kemi samt jordbundens stofbalancer over tid.

3.1. Undersøgte asker

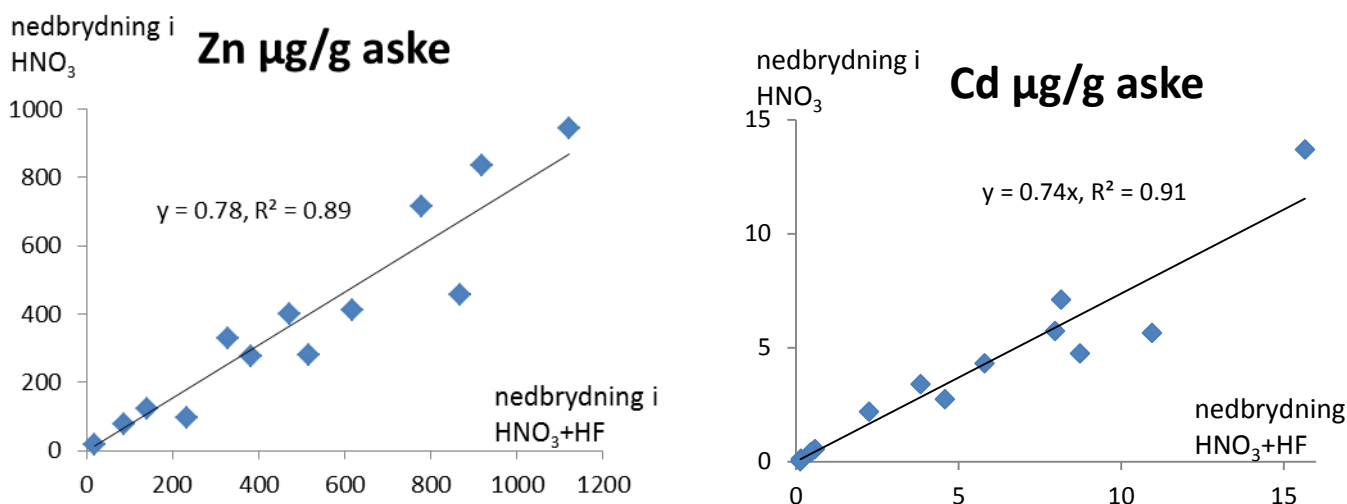
Inden vi startede vores forsøg, undersøgte vi 13 danske træ-asker fra ni forskellige kraftvarme- og varmegærker. Vi fandt at 12 af disse overholdt kravene med hensyn til indholdet af tungmetaller, hvis de skulle tilføres til skovjorder med den gældende lovgivning, én aske havde 20% mere bly end tilladt i træaske til skovbrug (Bioaskebekendtgørelsen). Fig. 2 viser askernes Cd koncentration der i alle tilfælde var under $20 \mu\text{g g}^{-1}$ aske der er grænseværdien. Til forsøget i skovplantagen valgte vi en nåletræs- aske med et repræsentativt indhold af Cd, aske nr. 6 på fig. 2 med $3,1 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ aske. Blandt tungmetallerne har vi især fokuseret på Cd fordi de aktuelle koncentrationer af dette stof, i forhold til andre metaller, i mange jorder, allerede ligger tæt på grænseværdien (Bioaskebekendtgørelsen 2008).

Det skal bemærkes at værdierne for Cd koncentrationen i fig. 2 kun udgør godt omkring 75% af det totale Cd indhold i asken. Dette skyldes at der ved forbrændingen i kraft-varmegærker, som foregår ved en temperatur på over 1000°C , dannes små glasagtige partikler og de tungmetaller der er bundet indeni glaskuglerne bliver derfor ikke, opløst ved de metoder, man normalt anvender når man ekstraherer og analyserer metaller (35% salpetersyre og oplukning i mikrobølgeovn). I projektet har vi også arbejdet med total destruktion af asken vha. salpetersyre + flussyre og Fig. 3 viser at der er god korrelation mellem de to metoder og som sagt at kun ca. 75% procent af det totale indhold bliver frigivet med standard metoden.

På ét kraftværk finder vi i gennemsnit for seks metaller (4 tungmetaller og to andre) at mængde metal i det indfyrede brændsel er lig mængde metal i asken indenfor 10 procent afvigelse. Hvis vi tager usikkerheden med udtagning af repræsentative prøver af aske og især af brændsel i betragtning konkluderer vi derfor at der ikke tilføres metal eller forsvinder metal gennem værket. Den samme overensstemmelse fandt vi for 8 plantenæringsstoffer. Tilsvarende er for metaller beskrevet tidligere (Ingerslev et al. 2011).



Figur 2. Cd indhold (pr g tørsvægt) i 13 asker fra Danske kraft-varmeværker.

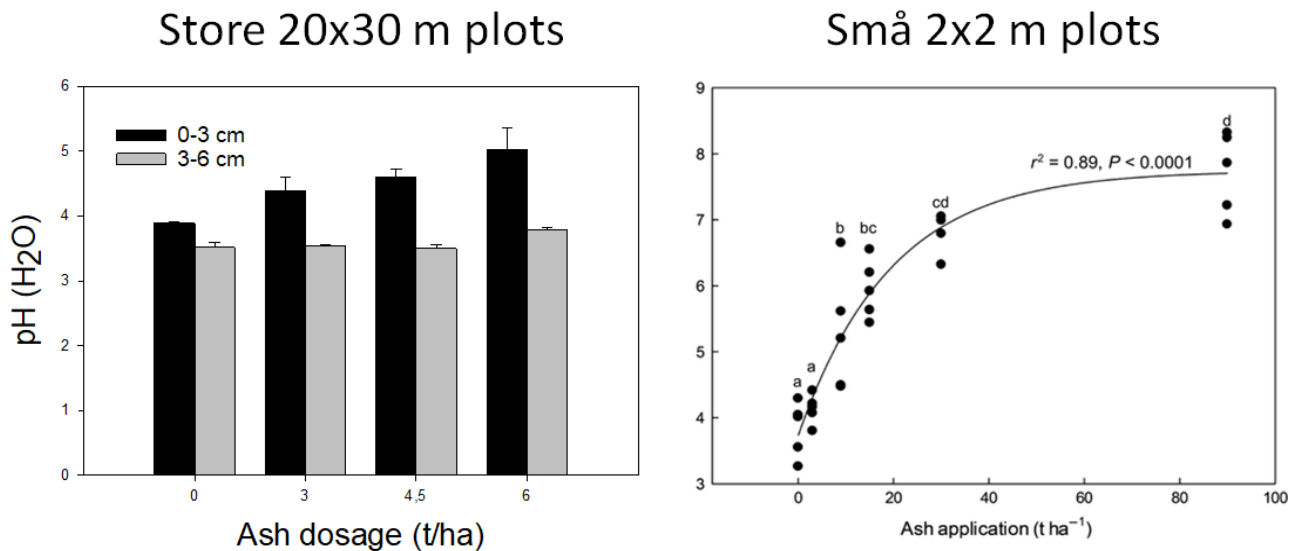


Figur 3. Indhold af zink (Zn) og cadmium (Cd) i de 13 asker fra Fig. 2, bestemt efter nedbrydning af askerne i salpetersyre + flussyre (x-aksen) og efter nedbrydning i salpetersyre alene (y-aksen).

3.2. Askeeffekter på jordbundskemien

Askes effekter på jordbundskemien kan opdeles i effekter på jordens pH, tilførsel af makronæringsstoffer og tilførsel af mikro-næringsstoffer og tungmetaller. Endelig har asken effekter på jordbundsbiologien som igen påvirker jordbundskemien. Som forventet resulterede den aske der blev tilført til vores feltforsøg en stigning i pH i de øverste jordlag (Fig. 4). Dette skyldes askens indhold af oxider, hydroxider og carbonater. Bemærk at stigningen i pH kun er synlig i det allerøverste jordlag. Det

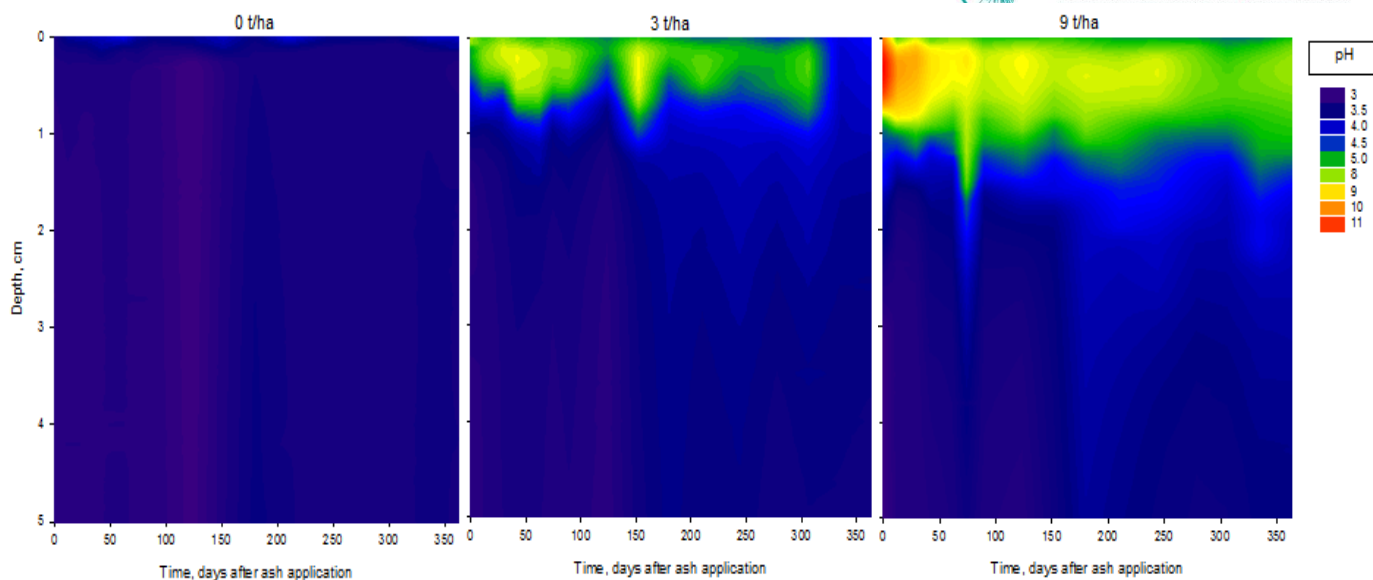
må dog baseret på erfaringer fra vores nabolande forventes at den basiske effekt langsomt vil forskyde sig nedefter i jordsøjlen, samtidig med at vertikale pH-gradienter udlignes og disse processer vil pågå i årtier efter asketilførsel. I en undersøgelse fra Finland viste det sig at pH stadig var øget én enhed 23 år efter tilførsel af 3 t aske ha^{-1} (Hansen et al. 2016).



Figur 4. pH stigningen ét år efter asketilførsel i de store plots i de øverste 0-3 og 3-6 cm af jordoverfladen (primært det organiske jordlag) og tilsvarende i de små plots med doser helt op til 90t aske ha^{-1} (Mortensen et al. *upubliceret-1* og Vestergård et al. 2018).

I et opfølgende og meget detaljeret laboratorie-forsøg blev pH ændringen fulgt i en konstrueret jordkolonne. Forsøget viste at den stigning i jordbundens pH som asken giver kun nåede to centimeter ned det første år med en vandtilførsel tilsvarende Gedhus plantage (Fig. 5).

Asketilsætningen øger naturligvis også indholdet af næringsstoffer i jordbundens øverste lag, se resultater 2½ år efter asketilsætningen (Fig. 6).



feltforsøget. pH ændringerne blev målt vertikalt i små 0,5 mm trin (y-aksen). Målinger blev foretaget over et år ned til 5 cm. Jordkolonnerne blev tilført hvad der svarer til 3 og 9 t aske ha⁻¹ (Hansen et al. 2017)

Organisk lag

0-5 cm A-horisont

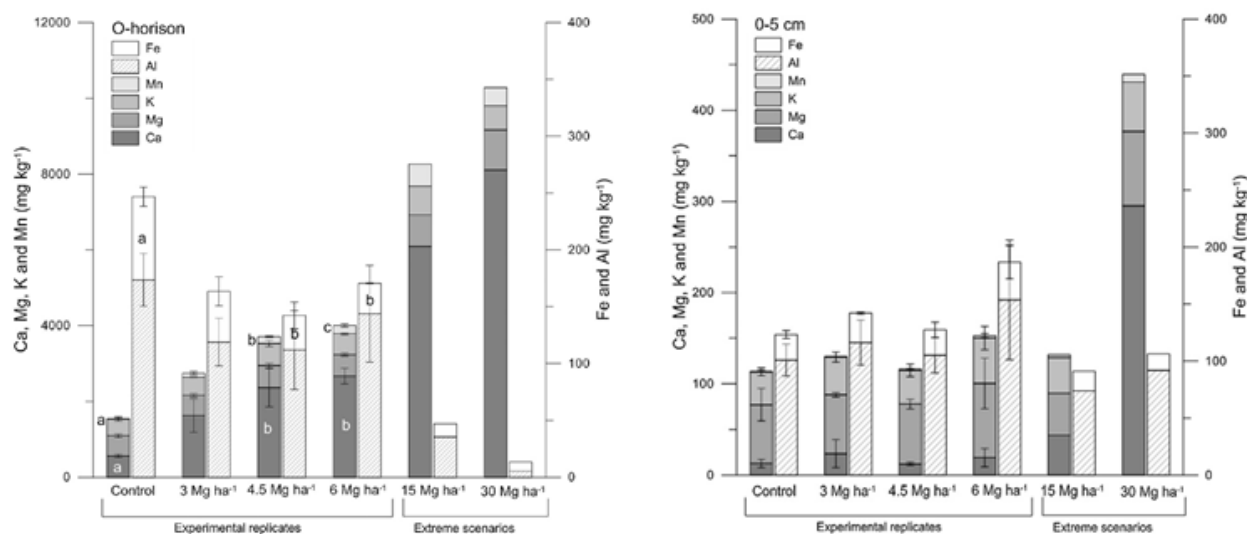


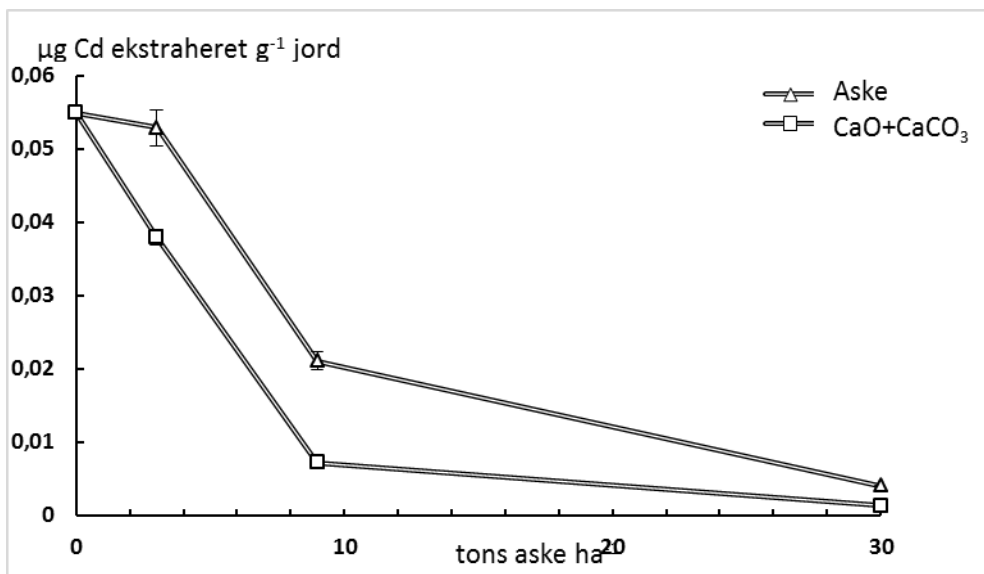
Fig. 6. Plantenæringsstoffer i Gedhus jorden, organisk lag (venstre) og 0-5 cm dybde nedenunder (højre). Mellem 3 og 30 t aske ha⁻¹ blev tilsat de store plots. Analyseret efter destruktion med 35% HNO₃. (Hansen et al. 2018).

Det ses hvordan især Ca bygges op efter asketilsætning men også hvordan mængden af Al og Fe mindskes fordi metaller bindes bedre til jorden ved et højere pH. Der sås et øget indhold af nogle metaller (Cd, Co, Cr og Zn) efter asketilsætning i feltforsøget, især i det øverste organiske lag (Tabel 1). For metallerne Al, Mg, Mn samt næringsstofferne P, K, Ca ses det øgede indhold også 23 år efter tilførsel af 3 t aske ha⁻¹ i en Finsk skov (Hansen et al. 2016). I en Svensk undersøgelse fandt man ligeledes forhøjede næringsindhold (Na, K, Ca, SO₄) og metalindhold (Al) i 50 cm dybde 9 år efter tilførsel af bio-aske (Ring et al. 2006) og denne effekt ses stadig 18 år efter asketilførslen (Lars Högbom, Ashback møde oktober 2015).

Som nævnt ovenover har ASHBACK haft særlig fokus på tungmetallet Cd. Vi har derfor udover feltforsøget lavet en række potte og laboratorieforsøg med fokus på Cd. I potteforsøg giver asketilsætning svarende til 0, 3, 9 og 30 t ha⁻¹ også en proportional øgning af jordens Cd indhold målt efter nedbrydning med HNO₃ på linje med resultatet fra feltforsøget (Tabel 1). Når man derimod laver en saltekstraktion af jorden (med NH₄NO₃) i stedet for syrenedbrydning er resultatet helt anderledes, her får man mindre Cd ud af jorden jo mere aske der er tilsat (Fig. 7). Ekstraktion med NH₄NO₃ simulerer det Cd der er tilgængeligt for optagelse i jordbundens organismer. Resultaterne skyldes at de organiske syrer i jordbunden bliver bedre til at absorbere tungmetaller ved en højere pH, da vi så den samme reduktion i salt-ekstraherbart Cd efter tilsætning af kalk som CaO+CaCO₃ (Fig. 7). Det er bemærkelsesværdigt at tilsætning af aske der indeholder Cd giver en mindre mængde tilgængeligt Cd i jorden, en følge af askens virkning på jordbundens pH.

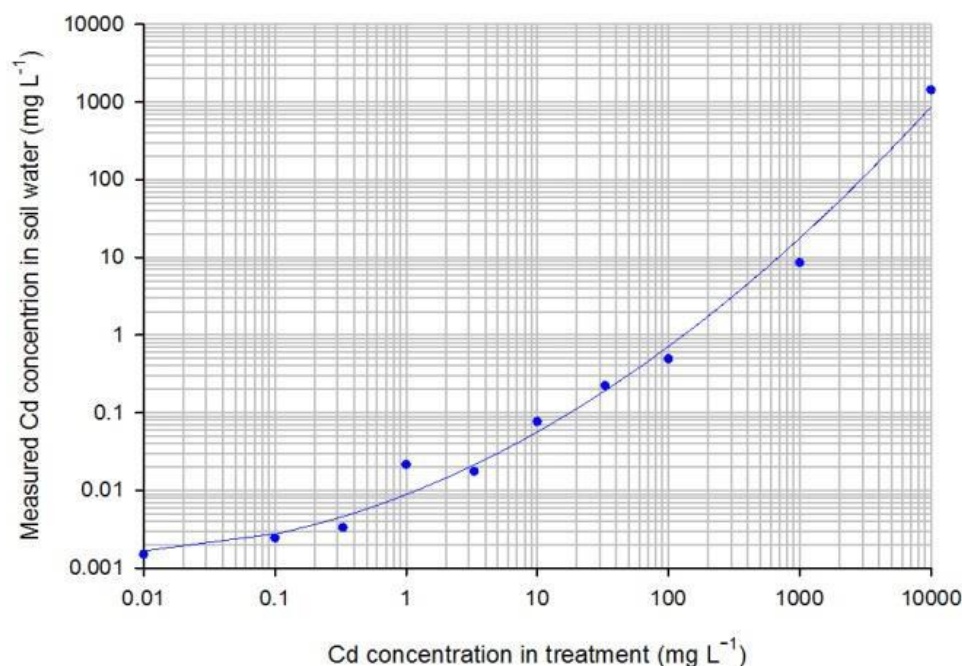
Tabel 1. Tungmetal i Gedhus jorden, 0-10 cm. Analyseret efter destruktion med 35% HNO₃ (Hansen et al. 2018). Værdier i fed er dem der er ændret af asketilsætningen.

	Depth	pH	CEC	BS	C	N	Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn	
	cm		cmol(+) kg ⁻¹	%			µg g ⁻¹							
Experimentally replicated treatments	Control	0-hor	2.78^a	19.3	53.4	47.1	1.45	0.380^a	0.362^a	3.37^a	6.86	7.99	30.4	23.7^a
		0-5	2.66	5.62	16.2	6.70	0.191	0.125	0.110	3.84	1.03	2.51	11.4	4.33
		5-15	2.79	4.45	9.15	4.66	0.131	0.100	0.088	2.70	0.506	0.611	8.13	2.67
		15-30	3.13	5.93	3.45	2.71	0.089	0.043	0.138	5.46	0.319	0.702	3.14	1.64
		30-60	3.79	5.26	1.69	1.46	0.060	0.018	0.577	8.70	0.436	0.379	2.38	3.89
	3 Mg ha ⁻¹	0-hor	3.06	22.3	72.0	42.0	1.27	0.415^a	0.470	3.76	7.23	9.99	30.8	31.8^b
		0-5	2.65	6.07	16.2	6.78	0.194	0.167	0.136	3.15	1.21	3.20	13.9	4.96
		5-15	2.81	4.09	9.30	3.54	0.113	0.0830	0.074	3.03	0.406	1.21	5.85	2.42
		15-30	3.21	7.35	2.34	3.08	0.116	0.0432	0.287	7.12	0.412	0.306	3.37	3.01
		30-60	3.98	3.38	1.75	0.679	0.039	0.0096	0.650	8.60	0.585	0.380	2.07	4.80
	4.5 Mg ha ⁻¹	0-hor	3.24^b	26.8	75.6	45.2	1.40	0.480	0.495^b	3.99	8.18	8.95	32.6	38.7^{bc}
		0-5	2.70	5.49	16.6	6.24	0.187	0.145	0.114	2.41	1.14	2.76	12.5	4.42
		5-15	2.85	4.91	6.50	3.86	0.119	0.080	0.089	3.92	0.431	1.73	6.65	2.44
		15-30	3.28	6.79	2.30	2.85	0.108	0.043	0.318	9.02	0.441	0.324	3.39	2.91
		30-60	4.06	3.39	1.62	0.786	0.042	0.009	0.623	8.21	0.431	0.345^a	1.75	4.21
	6 Mg ha ⁻¹	0-hor	3.35^b	26.8	81.6	40.6	1.25	0.603^b	0.566^b	4.23^b	8.35	12.8	32.3	44.0^c
		0-5	2.67	7.58	15.2	9.60	0.270	0.189	0.140	2.19	1.29	3.43	16.9	5.54
		5-15	2.87	4.64	9.01	3.78	0.107	0.066	0.074	2.16	0.431	0.520	5.48	1.91
		15-30	3.16	6.66	2.37	3.21	0.109	0.045	0.198	5.10	0.332	0.262	3.48	2.40
		30-60	3.85	4.28	1.50	0.944	0.044	0.013	0.687	10.1	0.462	0.488^b	2.28	4.67
Extreme scenarios	15 Mg ha ⁻¹	0-hor	4.34	46.0	93.5	40.7	1.27	0.917	0.834	5.55	14.8	12.1	23.6	87.7
		0-5	2.77	4.49	19.4	4.88	0.153	0.078	0.076	1.42	0.538	1.61	7.63	2.91
		5-15	2.93	5.83	4.85	3.46	0.127	0.059	0.078	3.52	0.281	0.077	4.83	2.00
		15-30	3.25	8.84	2.62	3.42	0.141	0.038	0.316	8.41	0.288	0.347	3.58	3.24
		30-60	4.06	2.85	1.58	0.543	0.054	0.007	0.716	8.74	0.325	0.361	1.79	4.56
	30 Mg ha ⁻¹	0-hor	5.49	54.1	99.8	35.0	1.07	1.08	0.947	5.41	16.5	11.5	24.1	86.5
		0-5	2.93	6.29	40.5	7.04	0.246	0.219	0.147	2.55	1.64	2.79	15.0	5.93
		5-15	3.09	5.41	26.4	4.01	0.162	0.102	0.086	3.61	1.48	2.55	5.74	6.31
		15-30	3.28	6.48	3.99	2.94	0.150	0.034	0.445	10.4	0.353	0.399	3.45	2.85
		30-60	4.22	2.00	2.48	0.331	0.056	0.005	0.523	7.41	0.319	0.303	1.81	3.84



Figur 7. Aske ekstraheret fra jorden med en saltopløsning. Potteforsøg med asketilførsel svarende til 0, 3, 9, 30 t ha⁻¹ eller kalk (CaO+CaCO₃) svarende til 1, 3, 10 t ha⁻¹. Kalkmængden er valgt til at give samme virkning på jordbundens pH som asken (Kindtler et al. 2019).

Det samme forhold ses ved tilsætning af Cd til jord. Den målte koncentration af Cd i jordvandet er ca. 100 gange lavere end den skulle have været hvis alt det tilsatte Cd var tilgængeligt (20Johansen et al. Fig. 8).



Figur 8. Vandopløseligt Cd i væskefasen i jord efter tilsætning af opløst CdCl₂ (Johansen et al. 2018).

De ovenfor beskrevne ændringer i pH ændrer også aktiviteten og sammensætningen af jordbundsorganismerne (se næste kapitel 4). Asken påvirker også jordens indhold af uorganisk N, ammonium (NH₄) og nitrat (NO₃). Som det ses af tabel 2 øges mængden af ammonium og nitrat i de øverste 5 cm af jorden med højere asketilførsninger. Øgningen skyldes

øget nedbrydningsaktivitet af jordbundens organiske stof da asken ikke indeholder kvælstof. Vi har i de samme felter målt øget bakterie vækst som følge af asketilsætning (Cruz-Paredes et al. 2017). Der sås ikke nogen udsivning af nitrat i de store plots under rodzonen (Hansen et al.). Dette viser at kvælstof som bliver materialiseret i de øverste jordlag enten forbliver i en aktiv immobiliserings-mineraliserings loop eller optages af planterne. Den øgede nedbrydelighed af organisk stof efter asketilførsel er langvarig idet den stadig ses 23 år efter tilførsel af 3 t aske ha⁻¹ i en Finsk undersøgelse (Hansen et al. 2016).

Tabel 2. pH og indhold af uorganisk kvælstof i de øverste 5 cm af jordprofilet i Gedhus, ét år efter tilførsel af asken. (Vestergård et al. 2018)

Asketilsætning t ha ⁻¹	pH	Ammonium (NH ₄ ⁺) mg N l ⁻¹ jord i de øverste 5 cm	Nitrat (NO ₃ ⁻) mg N l ⁻¹ jord i de øverste 5 cm
0	3.8	1.5 (0.3)	0.1 (0.0)
3	4.1	1.7 (0.3)	0.1 (0.1)
9	5.3	11.4 (3.1)	1.2 (0.5)
15	5.9	14.0 (3.1)	1.0 (0.2)
30	6.8	19.0 (3.3)	2.6 (0.7)
90	7.7	13.9 (4.6)	5.9 (1.8)

3.3 Konklusion, kemiske undersøgelser

Samlet kan man sige at asken giver en markant øgning af jordbundens pH i det øverste jordlag og ligeledes kvantitativt tilbagefører det tungmetal der var i det vedmateriale der blev fjernet. Dette tungmetal fastlægges for størstedelens vedkommende i det organiske lag i de øverste centimeter. Hvis dette skulle frigives derfra på grund af dette lags nedbrydning vil det blive bundet på jordpartiklerne i mineraljorden nedenunder så det ikke er tilgængeligt i jordvandet og dermed ikke medfører en øget udvaskning med de undersøgte doser. De effekter af asken vi sér på jordkemien har i andre undersøgelser vist sig at opretholdes i årtier efter tilførslen. Plantenæringsstoffer tilbageføres ligeledes med asken.

4. Organismernes forekomst

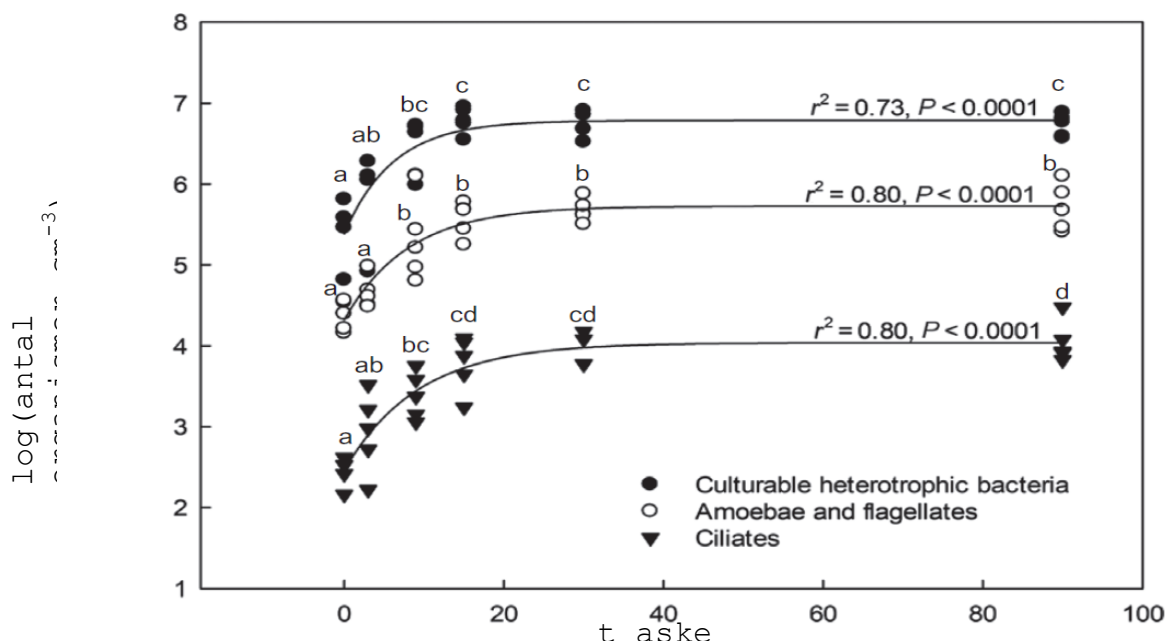
Biologiske effekter efter tilbageførsel af bioaske til skov og landbrugssystemer har været et hovedfokus i ASHBACK. Projektet har på den måde adskilt sig væsentligt fra tilsvarende forskningsprojekter i vores nabolande i Norden og Baltikum som primært har fokuseret på jordbundskemiske ændringer og udvaskning. Vores undersøgelser har adresseret biologiske effekter over og under jordoverfladen og i det følgende vil 1) effekter af aske og Cd på jordens mikroorganismer 2) effekter på større dyr i jorden

3) tungmetalakkumulering i fødenettet og endelig 4) effekter på mosser blive gennemgået.

4.1. Effekter af aske og Cd på jordens mikroorganismer

Mikroorganismer er en samlebetegnelse for bakterier, svampe, protister og nematoder. Jordens mikroorganismer udfører en lang række essentielle funktioner som primærnedbrydere af dødt organisk stof, som græssere af bakterier og svampe hvorved der frigives plantetilgængelige næringsstoffer, og som symbiotiske partnere for planter. At ASHBACK har undersøgt både bakterier, svampe, protister og nematoder i et og samme projekt er unikt også i international sammenhæng.

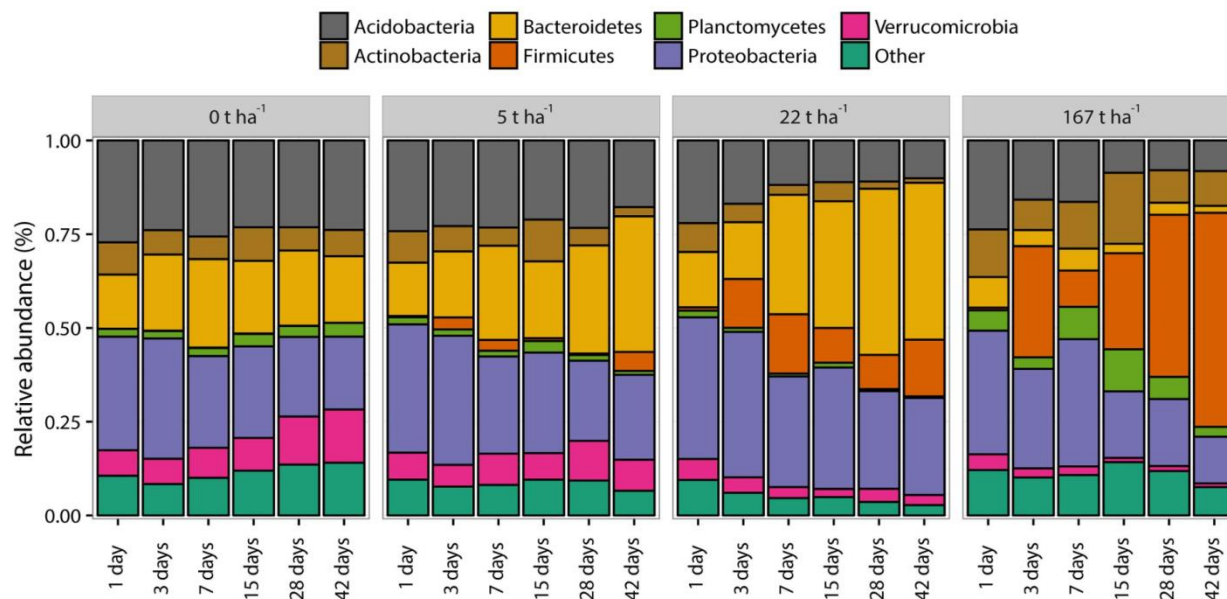
Tilsætning af aske giver en markant forskydning i samfundet af nedbryderorganismer i de øverste centimeter af jordbunden (Cruz Paredes et al. 2017, Vestergård et al. 2018, Bang-Andreassen et al. 2017). Bakteriernes vækst stimuleres (Cruz Paredes et al. 2017) og bakterietallet i jorden øges voldsomt (Vestergård et al. 2018). Tilsætning af høje askekoncentrationer, 9-15 t aske ha⁻¹, øger antallet af dyrkbare bakterier i det øverste jordlag mere end 60 gange (Fig. 9). Samtidig øges tætheden af de organismer der æder bakterier (amøber, flagellater, ciliater) 30-45 gange (Fig. 9), hvilket viser at også den bakterielle produktion i jordbunden er markant forøget.



Figur 9. Dyrkbare bakterier, og bakterieædende amøber, flagellater og ciliater i de øverste 5 cm af jordbunden i Gedhus, ét år efter asketilførsel (Vestergård et al. 2018). Data er fra de små 2x2 m plots i Gedhus plantage hvor aske blev tilsat helt op til 90 t aske ha⁻¹.

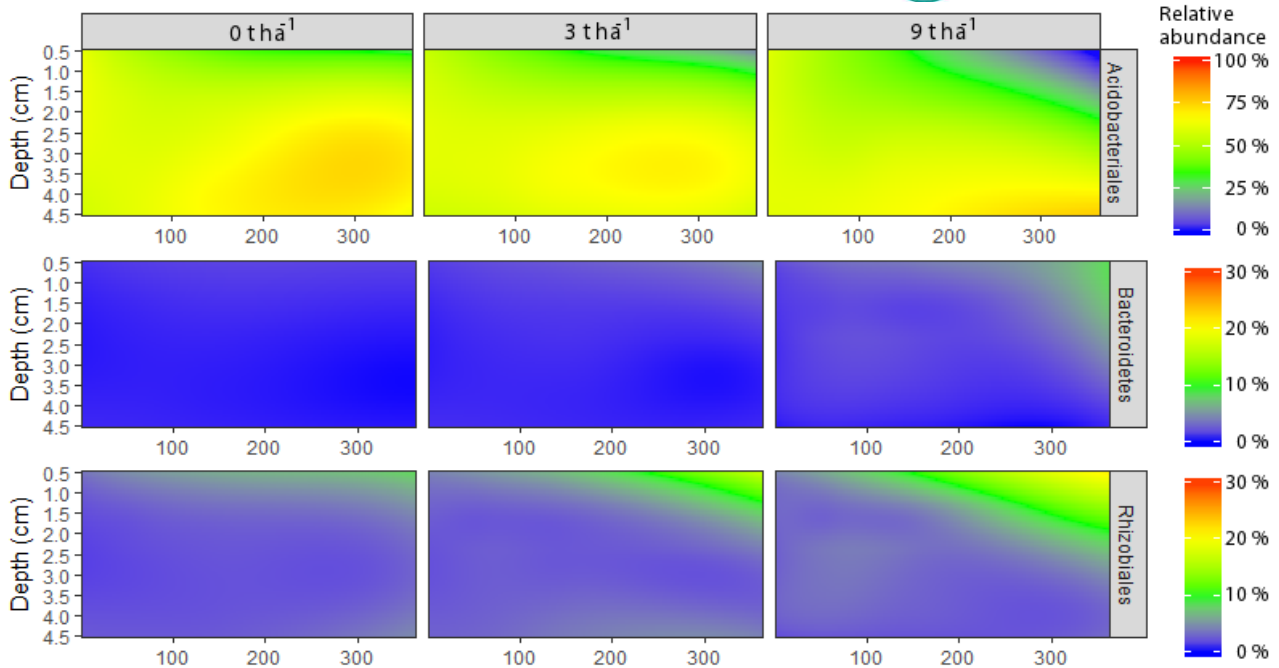
Artssammensætningen af bakterier ændres også ved af asketilsætning. I et laboratorieforsøg fandt vi at 5 og 22 t aske ha⁻¹ sænker forekomsten af Acidobacteria, men øger forekomsten af

rækkerne Bacterioides og Firmicutes (Fig. 10). Dette svarer samtidig til en forskydning i bakteriesamfundet fra bakterier med lave til bakterier med høje næringskrav (Bang-Andreassen et al.2017).



Figur 10. Udviklingen i bakteriesamfundets sammensætning gennem 42 dage i jord fra Gedhusplantagen tilsat 5, 22 eller 167 t aske ha⁻¹. Analysen er foretaget ved at sekvensere det bakterielle DNA (Bang-Andreassen et al.2017).

Tilsvarende viser Figur 11 hvordan tre overordnede bakteriegrupper ændrer sig over tid og i forskellige jorddybder i forsøget vist på Figur 5. Det ses at mens Acidobakteriales hæmmes ved højere aske tilsætninger (og dermed højere pH) stimuleres grupperne Bacteroidetes og Rhizobiales. Bemærk at Bacteroidetes og Rhizobiales bliver meget mere hyppige ved høje askepåvirkninger mens Acidobakteriales fra at have været en af de mest dominerende grupper næsten forsvinder som del af bakteriesamfundet. Vi ser også at bakteriesamfundet kun ændres i de øverste få cm hvor også jordbundens pH er påvirket af asken (Fig. 5).

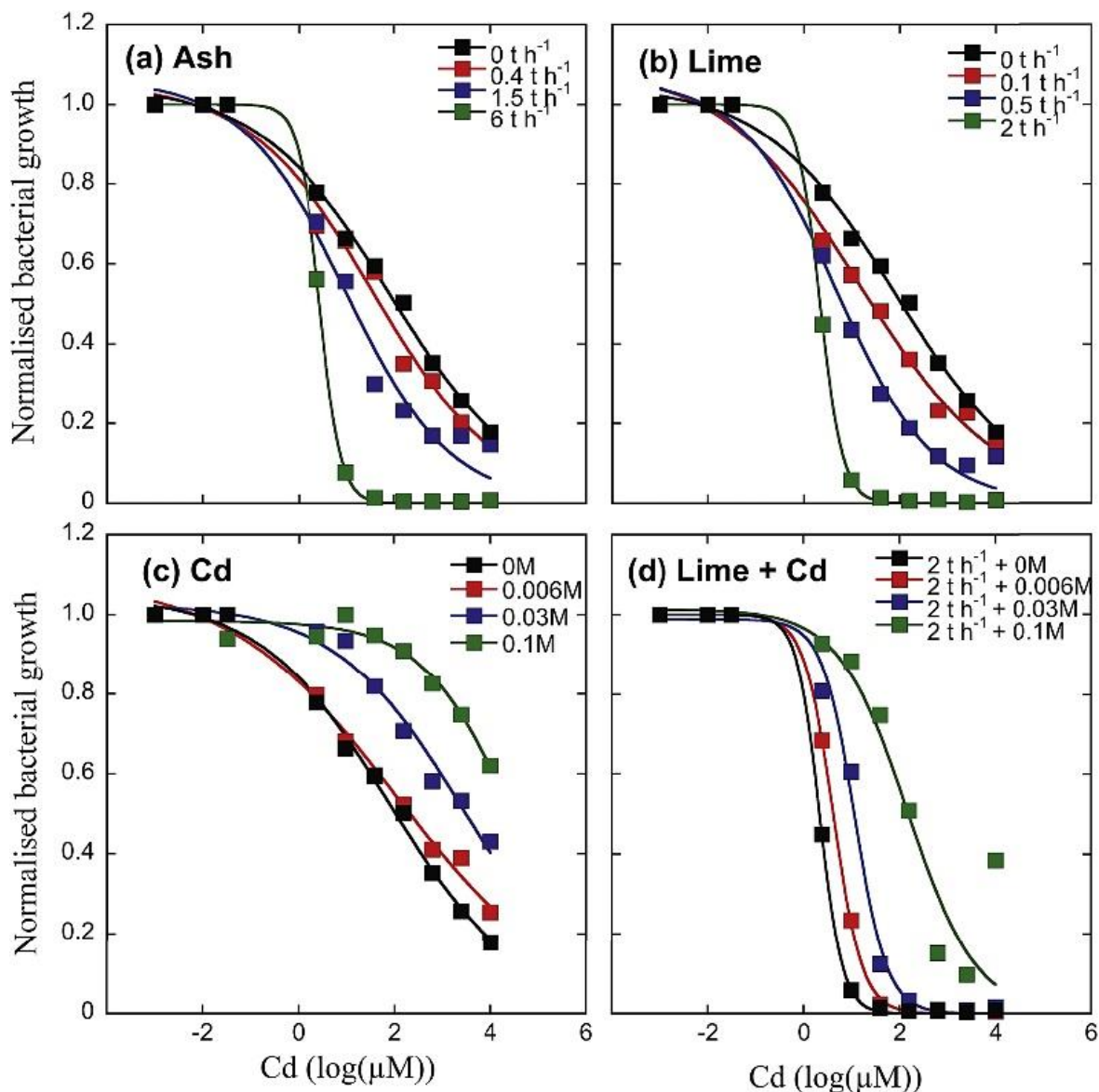


Figur 11. Relativ hyppighed af tre overordnede bakteriegrupper i forskellige jorddybder i en jordkolonne tilsat 0, 3 og 9 t aske ha^{-1} . Jordkolonnen blev vandet med regnvand så den naturlige nedbør blev simuleret. Forsøget løb over et år (x-aksen) (Bang-Andreassen et al. *upubliceret*).

Artssammensætningen af svampe kan også ændres også af asketilsætning (Kjøller et al. 2017), men i vores forsøg sås først ændringer fra 9 t ha^{-1} (Cruz-Paredes et al. *upubliceret*). Heller ikke biomassen af svampemycelium ellers myceliets evne til at optage uorganisk N ændres ved moderate (3-6 t ha^{-1}) asketilsætninger (Cruz-Paredes et al). Dette betyder sandsynligvis at mykorrhiza-svampenes evne til at modvirke nedsivning af nitrat er uændret. Biodiversiteten af både bakterier og svampe var fortsat høj, også efter aske-tilsætninger op til 22 eller selv 90 t ha^{-1} (Bang-Andreassen et al. 2017; Cruz-Paredes et al. *upubliceret*) hvilket er vigtigt for at sikre en bred vifte af specialiserede funktioner i jordbunden fx i forbindelse med nedbrydning af komplekse substrater som førne og dødt ved. I landbrugsjorden sås heller ingen negative effekter på de symbiotiske arbuskulære mykorrhiza-svampe efter asketilsætning (Cruz-Paredes et al. 2017-1).

Selvom asken indeholder Cd og bakterierne som sagt viste øget vækst og ændringer i artssammensætningen efter asketilsætning blev bakteriesamfundets tolerance for Cd ikke øget. Bakterier der er blevet eksponeret for Cd tidligere ved tilsætning af CdCl til jord blev som forventet mere tolerante overfor Cd (Fig. 12c og 12d) i forhold til bakterier i kontrol jord. Omvendt forholdt det sig med bakterierne der tidligere var blevet udsat for aske (Fig. 12a), de havde ikke opnået denne tolerance, faktisk er aske-udsatte bakterier blevet mindre tolerante overfor Cd! Den manglende inducering af Cd-tolerance skyldes formentlig at Cd tilsat med

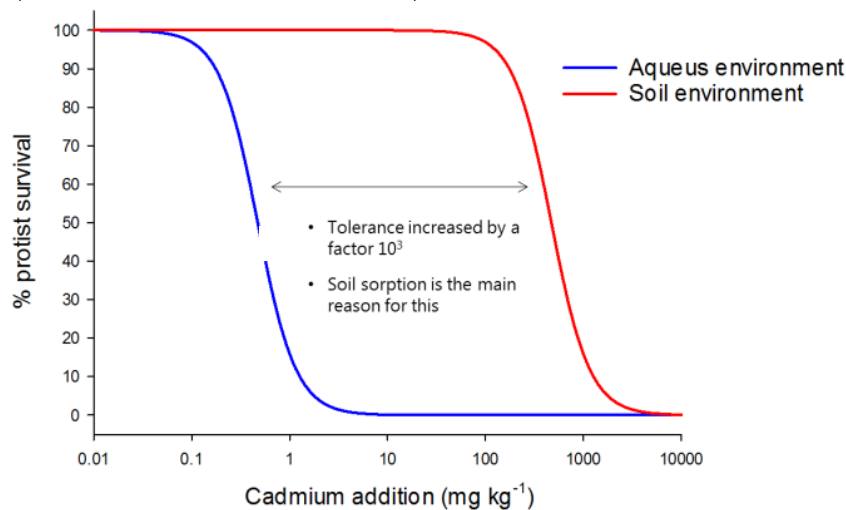
asken slet ikke er tilgængeligt for jordbundsorganismerne. Vi ser også at virkningen af aske på bakteriernes vækst skyldes askens effekt på jordbundens pH idet kalks virkning på Cd-tolerancen (Fig. 12b) er den samme som askens (Fig. 12a).



Figur 12. Figuren viser vækst af bakterier (y-akse) over ti forskellige Cd koncentrationer (x-akse). Bakteriesamfundene blev, før de blev eksponeret for Cd, udsat for fire koncentrationer af enten aske (a), kalk (b), Cd (c) eller Cd plus kalk (d), (Cruz-Paredes et al. 2017-2).

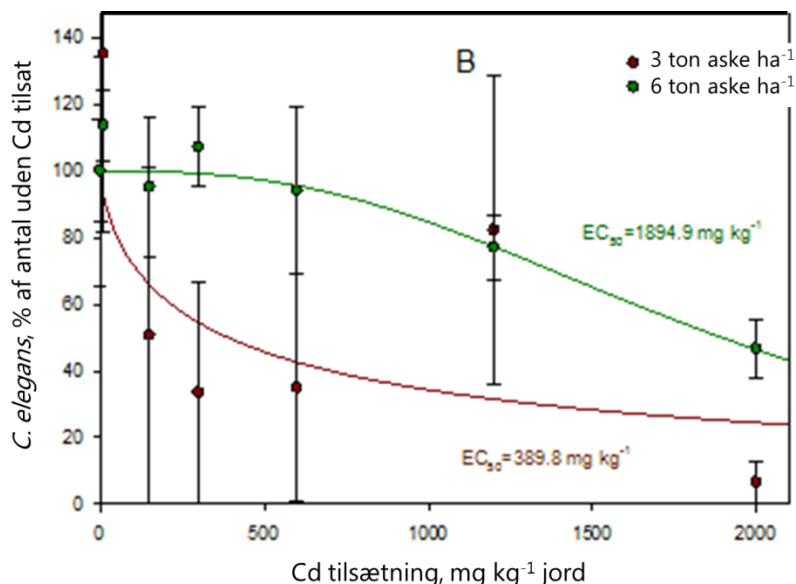
Som tidligere omtalt (Fig. 8), er tilgængeligheden af tungmetaller i jord langt mindre end i vand. Derfor ser vi også at toksiciteten af Cd overfor jordbundsprotozoer er langt lavere i jord; faktisk er toksiciteten af Cd 1000 gange lavere i jord end i vand (Fig. 13, Johansen et al. 2018). Vi har også vist at Zn er lige så toksisk som Cd overfor jordbundsorganismer og da Zn findes i 100 gange højere koncentration i jord såvel som i aske er det

sandsynligt at Zn toksicitet forekommer hyppigere end Cd toxicitet (Johansen et al. 2018).



Figur 13. Modelleret toksicitet af Cd overfor jordbundsprotozoer, i vand (blå kurve) og i jord (rød kurve). Modellen er baseret på data fra Johansen et al. (2018)

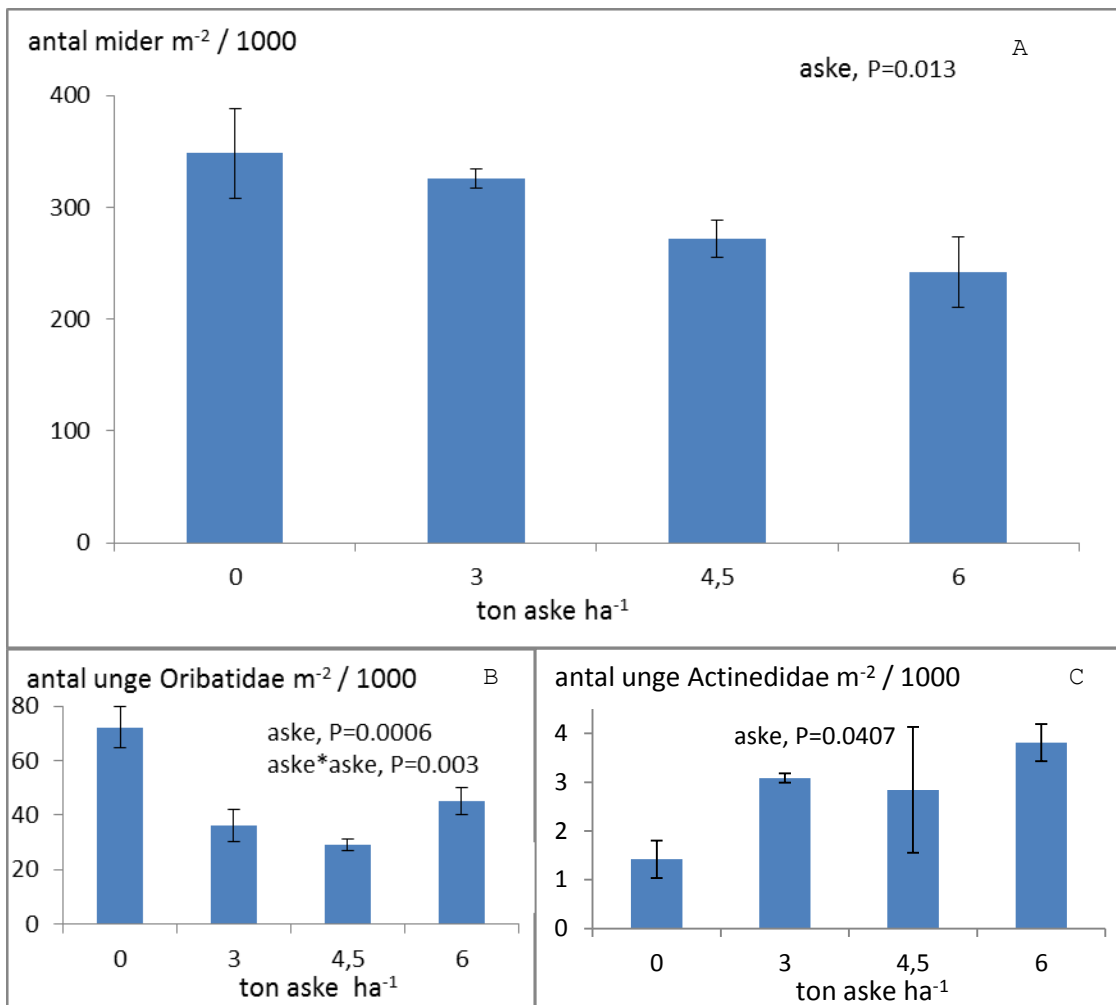
Vi har også undersøgt giftigheden af Cd (tilsat som CdCl_2) overfor en nematod (*Caenorhabditis elegans*) i jord fra Gedhus med og uden asketilsætning. Hvis jorden har fået aske svarende til 6 t ha^{-1} er Cd ikke giftigt overfor nematoden helt op til $500 \text{ mg Cd kg}^{-1}$ jord, hvorimod Cd er mere giftigt i jord der kun har fået 3 t aske ha^{-1} (Fig. 14). Det viser sig således at aske nedsætter giftigheden af tilsat tungmetal, sandsynligvis fordi metallet bindes stærkere i jorden ved den forhøjede pH som asketilsætning medfører (Johansen et al. 2018). Den mindste Cd tilsætning er dog 1000 gange større end Cd-tilførslen med 9 t aske ha^{-1} .



Figur 14. Effekten på jordbunds-nematoden *C. elegans* af tilsætning af let tilgængeligt Cd (CdCl_2) til overjord fra Gedhus. Antal nematoder efter to ugers inkubering af jord tilsat 3 eller 6 t aske ha^{-1} med stigende Cd tilførsel er sammenlignet med nematod-tallet uden Cd tilsætning (Johansen et al. *upubliceret*)

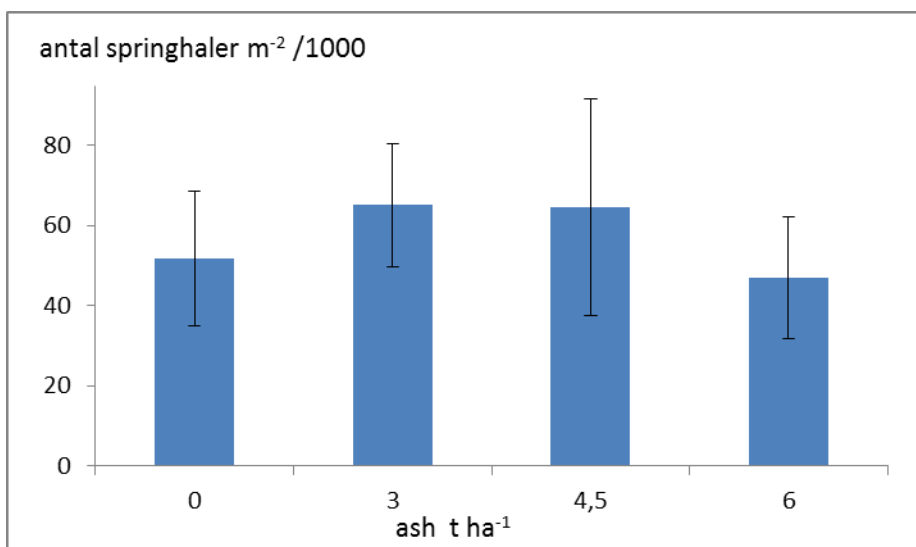
4.2. Effekter på større dyr i jorden

Asketilførsel reducerer antallet af mider i de øverste jordlag (Fig. 15A). Midernes hovedføde er svampehyfer, og da disse er upåvirkede af asketilsætningen, er det næppe fødemangel, der forårsager nedgangen i antallet af mider. Den mest sandsynlige forklaring er at miderne hæmmes af den øgede pH-værdi, asketilførslen medfører. Der ses også en forskydning i unge individer indenfor forskellige grupper af mider efter asketilsætningen, idet Oribatiderne er sænket (Fig. 15B) mens Actinedidae er øget (Fig. 15C).



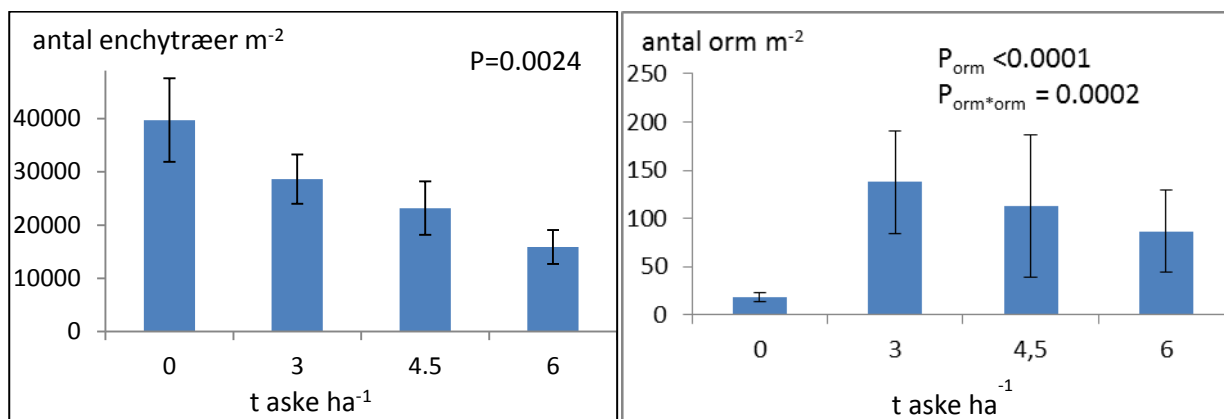
Figur 15. Tætheden af mider i de øverste 5 cm jord fra Gedhus. A: Det samlede antal falder fra 350.000 m⁻² uden aske til 240.000 m⁻² to år efter tilsætning af 6 t aske ha⁻¹. Antal unge mider af gruppen Oribatidae (detritus- og svampeædere) er faldet (B:) mens de tilsvarende af Actinedidae (rovdyr) er øget (C:) efter asketilførsel (Qin et al. 2017).

Springhalerne minder i økologisk henseende om miderne, de findeler organisk stof, og ligesom mange af miderne er de svampeædere. Selvom de har samme funktion som miderne er de dog ikke påvirket af asketilførslen (Fig. 16).



Figur 16. Tætheden af springhaler i de øverste 6 cm jord fra Gedhus (Qin et al. 2017).

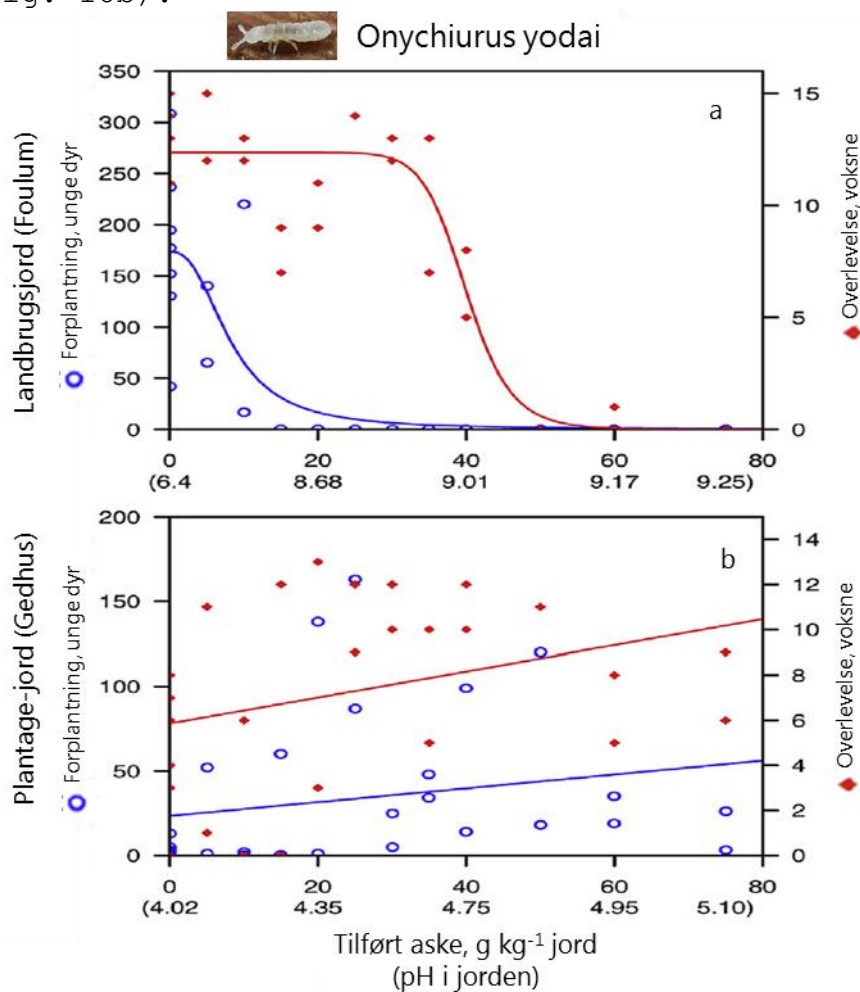
Af de to grupper af ledorme i jorden i nåletræsplantagen bliver enchytræernes antal reduceret med asketilsætning mens antallet af regnorme er øget (Fig. 17). Igen er der sandsynligvis tale om pH-effekter, enchytræer er ofte dominerende i sure jorde og regnorme i mere neutrale eller basiske.



Figur 17. tætheden af ledormene enchytræer (Qin et al. upubliceret) og regnorme (Mortensen et al. upubliceret) i de øverste 6 cm jord i Gedhus, 2 år efter asketilførsel.

Vi foretog også økotoksikologiske tests i laboratoriet med en forskellige grupper af jordbundsdyr og med vores to jorde fra plantagen (Gedhus) og fra marken (Foulum). På den sure skovjord blev vækst og overlevelse af nogle testdyr (mider og springhaler) stimuleret efter asketilsætning (Fig. 18b) mens andre testdyr (enchytræer) blev hæmmet. Højeste askedosering til skovjorden (75 g kg⁻¹) svarer til over 6 t ha⁻¹. I landbrugsjord er der en nedgang for alle testdyr. Dette skyldes formentlig at i landbrugsjorden i forvejen har en højere pH og efter asketilsætning kommer testjordens pH over 8.5 ved tilsætning af 20 g aske kg⁻¹ jord svarende

til 23 t ha⁻¹. (Fig. 18a). Når vi øgede jordens pH med ren base uden aske, fandt vi den samme nedgang i overlevelse og forplantning (ikke vist) som set med aske på Fig. 18a. Nedgangen er således en effekt af pH øgningen og ikke pga. askens øvrige indholdsstoffer. Den aske-inducerede pH øgning i jorden overstiger derfor det niveau som testdyrene kan tåle, hvilket vi også så for bakteriesamfundet i landbrugsjorden (Bang-Andreassen et al. 2017). I plantagejorden med lav pH virker asken nærmest stimulerende på testdyrene hvor pH også blot steget til ca. 5 efter asketilførsel (Fig. 18b).

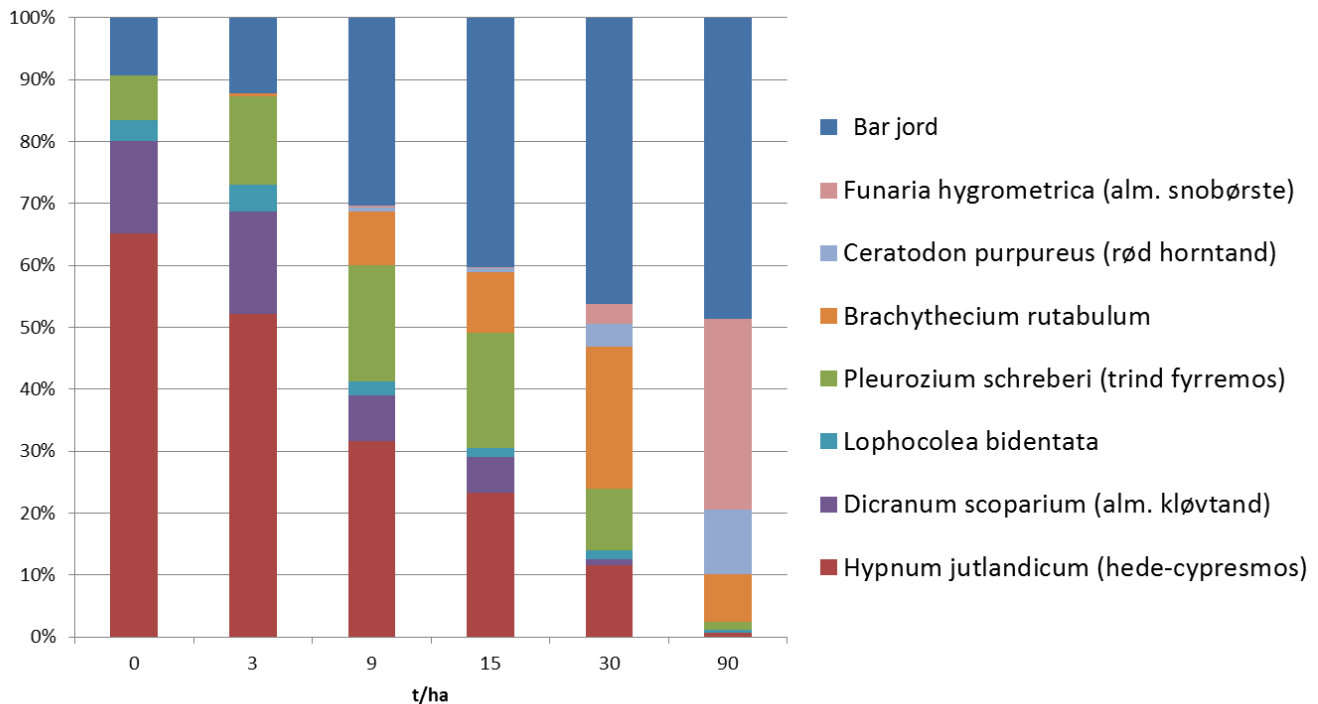


Figur 18. Aske er tilført prøver af en landbrugsjord (a) og en plantagejord (b). Fem uger senere tilsættes en springhale (*Onychiurus yodai*) og overlevelse samt forplantning gøres op fire uger senere (Qin et al. 2017).

4.3 Effekter på mosser

Asken har en markant effekt på organismerne ovenpå jorden. Mos-laget bliver temporært afsvedet (se Fig. 1) og artssammensætningen ændres (Findsen et al. *upubliceret*). Mens ca. 10% af arealet er uden mosdække i plots der ikke har fået aske stiger arealet uden mosser til 30% 2 år efter tilførsel af 9 t aske ha⁻¹ (Fig. 19). Man ser også at den mos der har kommerciel interesse (hede cypresmos) falder fra

at dække 65% af arealet uden aske til kun at dække 30% to år efter tilførsel af 9 t aske ha⁻¹.



Figur 19. fordeling af mosser på syv arter i Gedhus plantagen, to år efter asketilførsel (Findsen et al. upubliceret).

4.4 Konklusion, organismernes forekomst

Samlet kan man sige at asketilførslen bevirker markante ændringer i jordbundsorganismernes tilstedeværelse idet aktiviteten af bakteriers nedbrydning øges væsentligt. I den sure plantagejord bliver omsætning ved bakterier vigtigere i forhold til omsætning ved svampe. Der sker også markante forskydninger i forekomst af større jordbundsorganismer indenfor dyrene. Vi sér dog ingen tegn på toksiske effekter af tungmetal på de organismer vi har undersøgt og almindeligvis heller ikke en øget tolerance overfor tungmetal i jorden. Dette passer godt med den lave tilgængelighed af det tilførte tungmetal beskrevet under afsnit 3. ovenfor. Vi forventer ikke at de observerede ændringer i organismeforekomst vil udvikle sig yderligere med tiden da jordkemien som refereret ovenfor ikke ændres væsentligt gennem årtier efter asketilførslen. En mos af kommerciel interesse til dekorationsbrug (Hede cypresmos) skades dog af asken hvilket for øjeblikket er ved at blive undersøgt.

5. Akkumulering af tungmetal i fødenettet over og under jorden

Bio-akkumulering af tungmetaller er et velkendt fænomen, især i marine økosystemer, men er også beskrevet terrestrisk. Som nævnt før, er Cd generelt en parameter man har særlig fokus på når det kommer til brug af bio-asker. Derfor indsamlede vi og målte Cd-koncentrationer for en lang række organismer i Gedhus plantage: planter, svampe samt forskellige jordbundsdyr.

5.1 Askens effekt på organismernes Cd indhold

I rødgranplantagen så vi at Cd-indholdet i rødgran-nåle, tyttebærblade og jordlevende mider samt svampe-frugtlegemer ikke blev påvirket af asketilførsel (Tabel 3, Ekelund et al. *upubliceret*). Cd-koncentrationen i græsser, bølget bunke, rensdyrlav (*Cladonia*) og regnormen (*Dendrobaena octaedra*) øgedes med asketilsætningen. Regnormenes indhold af Cd pr m^2 øgedes 2-3 gange med 6 t aske ha^{-1} og oversteg langt puljerne i de andre nævnte jordbundsdyr (Tabel 3).

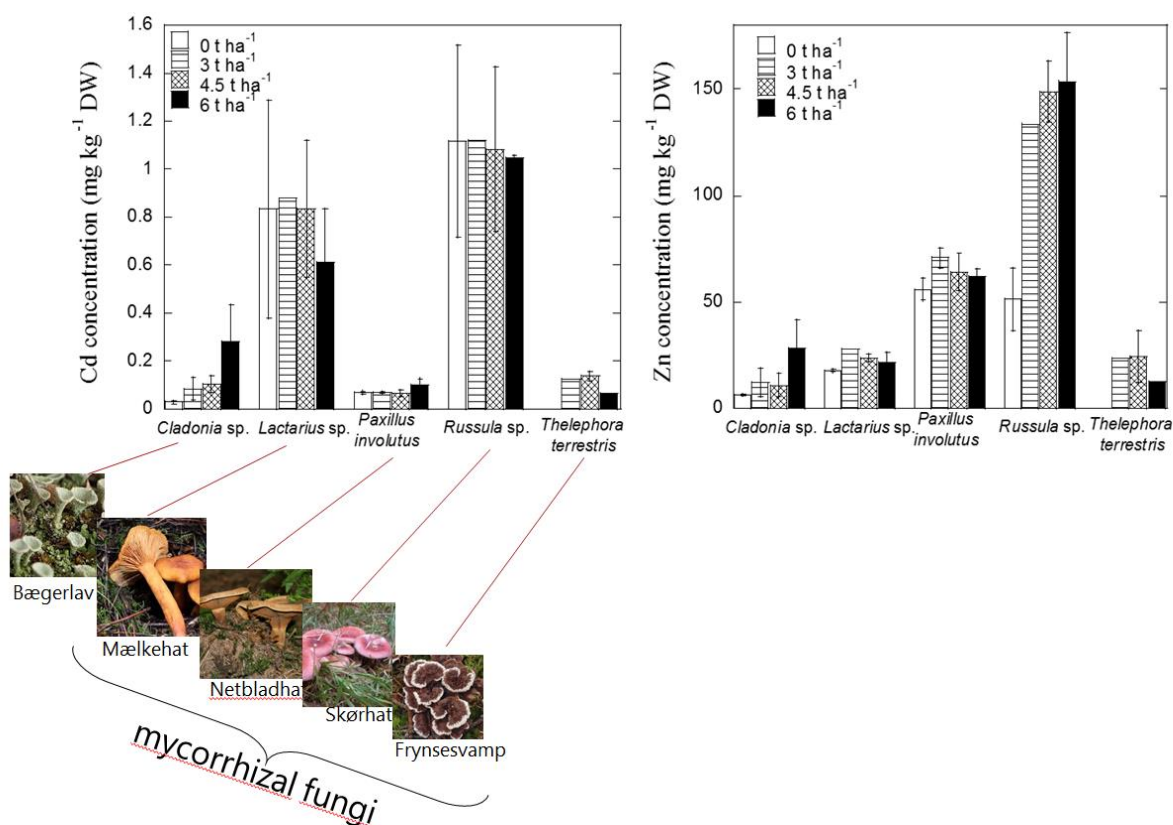
Tabel 3. Cd-koncentration i planter og jordbundsdyr i Gedhus plantage. Antal og biomasse er også opgjort for jordbundsdyr. [Ekelund et al. manuskript 26]

	aske tilført $t\ ha^{-1}$	0	3	4,5	6
Grannåle 2013 og før	$\mu g\ g^{-1}$	0,006	0,008	0,005	0,007
Grannåle 2016	$\mu g\ g^{-1}$	0,023	0,011	0,018	0,021
Tyttebær gamle blade	$\mu g\ g^{-1}$	0,031	0,031	0,022	0,027
Tyttebær 2016 blade	$\mu g\ g^{-1}$	0,036	0,035	0,019	0,044
Bølget bunke	$\mu g\ g^{-1}$	0,044	0,086	0,075	0,113
regnorme	antal, m^{-2}	15,7	138	113	87
	vægt, $mg\ dyr^{-1}$	13,8	5,6	10,1	8,0
	Cd i dyr, $\mu g\ g^{-1}$	1,9	3	4,3	5,1
	Cd i dyr, $\mu g\ m^{-2}$	0,41	2,32	4,91	3,55
Mider	antal, m^{-2}	34400	31500	25700	21700
	vægt, $mg\ dyr^{-1}$	0,24	0,24	0,24	0,24
springhaler	antal, m^{-2}	5540	6970	6930	5040
	vægt, $mg\ dyr^{-1}$	1,6	1,6	1,6	1,6
mider + springhaler	Cd i dyr, $\mu g\ g^{-1}$	1,9	1,9	1,9	1,9
	Cd i dyr, $\mu g\ m^{-2}$	0,032	0,036	0,033	0,025

Regnormenes tæthed er dog lille og de udgør sandsynligvis ikke en væsentlig føde for nogen andre organismer uden for jorden. Til sammenligning, har mykorrhiza-svampe en Cd-koncentration i

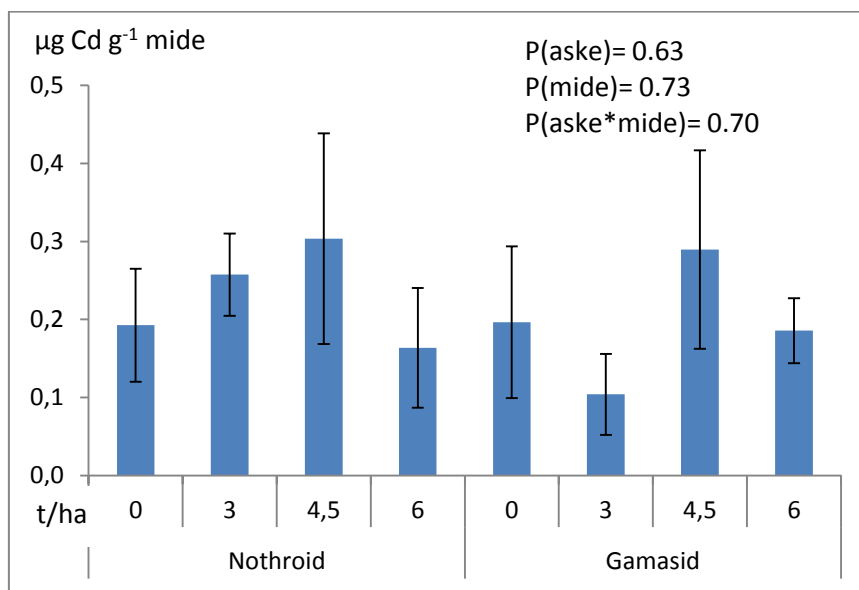
biomassen – uafhængigt af asketilførsel – der varierer mellem 0,1 og 1 $\mu\text{g Cd g}^{-1}$ tørvægt (19Ekelund et al.) og regnormenes Cd-koncentration er dermed op til 50 gange højere (Tabel 3). Mykorrhiza-svampenes biomasse pr areal i jordbunden er 70-90 g m^{-2} (Wallander et al. 2001) og dermed mindst 70 gange større end regnormenes 0,2-1,1 g m^{-2} (beregnet fra tabel 2). Sammenholder vi Cd-koncentration og biomasse af regnorme og mykorrhiza-svampe anser vi derfor ikke stigningen i regnormenes Cd-indhold for problematisk. Alle Cd koncentrationerne i organismer efter asketilførsel er for øvrigt under EU's grænseværdier for fødevarer [The EU Commission regulation setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (2001). The European Communities. No 466/2001].

Selvom Cd-indholdet i mykorrhizasvampe varierede med en faktor 10 mellem forskellige svampe grupper, var disse mængder ikke påvirket af asketilførsel (Fig. 20). Tilsvarende forskelle mellem arterne ses for Zn dog ikke sådan at det nødvendigvis er de samme arter der har høje eller lave koncentrationer (Fig. 20).



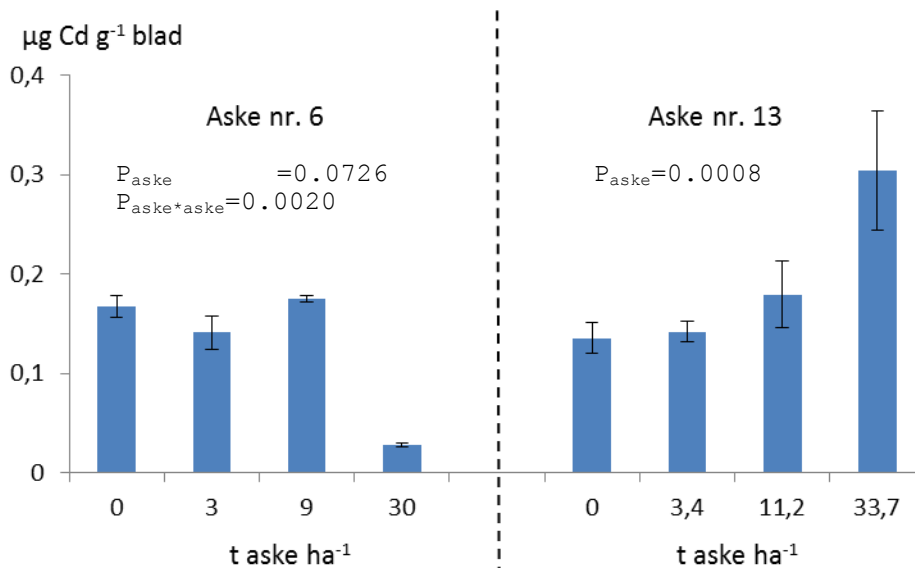
Figur 20. Cd og Zn indhold i svampe-hatte indsamlet på Gedhus-arealet (Ekelund et al. manuskript 26)

Ved analyse af jordbundsmider fandt vi at Nothrider, der primært æder svampehyfer indeholder samme mængde Cd som rovmider og at asketilførsel ikke ændrede Cd indholdet i de to miders biomasse (Fig. 21). Der er således ikke tale om akkumulering af tungmetal i fødekæden, hverken uden eller med tungmetal.



Figur 21. Cd indhold i svampeædende mider (Nothroid) og i rovmidler (Gamasid) to år efter tilførsel af 0, 3, 4.5 eller 6 t aske ha⁻¹ til Gedhusplantagen.

Når man tilfører aske med et lavt Cd-indhold til potter med græsken Bølget Bunke, så falder Cd indholdet i græsset med mere aske på trods af at der er tilført mere Cd (Fig. 22, Aske nr. 6). Dette kan skyldes to ting: (A) Aske tilfører både det essentielle metal Zn og det lignende, men giftige tungmetal Cd. Koncentrationen af Zn er ca. 100 gange højere end Cd i såvel jord som aske og da Zn hæmmer optagelsen af Cd i planter (Johansen et al. 2018) kan man se en nedgang i planteoptagelsen. (B) De ændrede jordbundsforhold, bl.a. den højere pH med aske, kan sammen med andre faktorer bevirke at tungmetallet bliver mindre biotilgængeligt (Mortensen et al. 2018). Anderledes forholder det sig for en aske med højere Cd-indhold (Fig. 22, Aske nr. 13). Her ses stadig ikke nogen øgning i plantens Cd op til 11,2 t aske ha⁻¹, men med 33,7 t aske ha⁻¹ bliver planternes Cd-indhold øget (Fig. 22, aske nr. 13). Baggrunds niveauet af Cd i græsset er i øvrigt på samme niveau som Cd-indholdet i majs (Christensen og Elsgaard 2015).



Figur 22. Græsset Bølget Bunke dyrket i pletter med jord fra Gedhus, tilsat aske. (Aske 6, Kindtler et al. 2019; Aske 13, Lundstad Nielsen et al. manuskript 34).

For bygplanter i landbrugsjord tilsat 24 t aske ha⁻¹ steg Cd koncentration i rødderne fra 0,5 til 0,8 µg g⁻¹ tørstof, mens indholdet i stængler, blade og kerner var henholdsvis 0,13 og 0,01 µg g⁻¹ uafhængigt af asketilsætningen. (Cruz-Paredes et al. 2017). Værdier på linje med Christensen & Elsgaard (2015).

Planterøddernes grad af infektion med mykorrhiza-svampe har stor indflydelse på Cd-indholdet i skuddene (24Rask et al.). Blandt seks plantearter (byg, hør, sorghum, kamille, sennep, nellike) var mængden af Cd overført fra rod til skud omvendt proportional med tætheden af mykorrhiza på rødderne (Rask et al. upubliceret).

5.2 Konklusion, akkumulering af tungmetal

Samlet set er Cd-indholdet i planter, svampe og jordbundsdyr efter aske-tilsætning ikke markant ændret. For de fleste undersøgte organismer sås der slet ikke en stigning i Cd-indholdet efter asketilsætning og for de få hvor der var en respons var mængderne stadig under sammenlignelige grænseværdier og/eller biomasserne meget lave. Der sås heller ikke akkumulering af Cd i fødekæden, hverken med eller uden asketilsætning til jorden. Som vist ovenover er der også en kompleks interaktion imellem tilgængelig Cd i aske og jord og askes basiske egenskaber således at Cd alt andet lige bliver mindre tilgængeligt efter tilsætning af aske. Nogle dyr som regnorme akkumulerer mere Cd i deres biomasse efter asketilførsel, men den akkumulerede mængde Cd i deres biomasse er samlet set mindre end i fx mykorrhizasvampene der er ganske upåvirkede af asketilførsel. Vi regner derfor regnormenes

Cd-akkumulering som uden betydning, da disse orme heller ikke er en væsentlig fødekilde for nogen andre organismer.

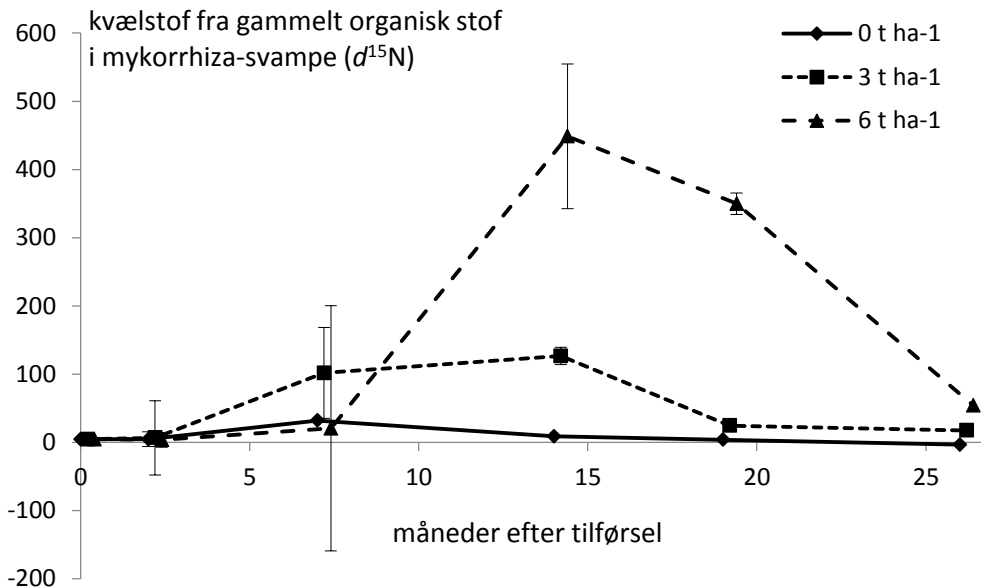
6. Effekter på ecosystem-services

Soil og ecosystem-services dækker de forskellige processer i økosystemet, som vi mennesker på den ene eller anden måde har interesse i fungerer optimalt. Det kan være jordens evne til at begrænse emission af drivhusgasser eller til at ophobe organisk kulstof; i begge tilfælde services der modvirker klimaforandringer. Det kan også være jordens evne til at modvirke udvaskning af skadelige stoffer til grundvandet (tungmetaller og plantenæringsstoffer), og endelig kan det være økosystemets evne til at understøtte vækst af højere planter, mosser og svampe uden at de indeholder store mængder af tungmetaller.

6.1 Effekter på jordens akkumulering af kulstof og emission af drivhusgasser.

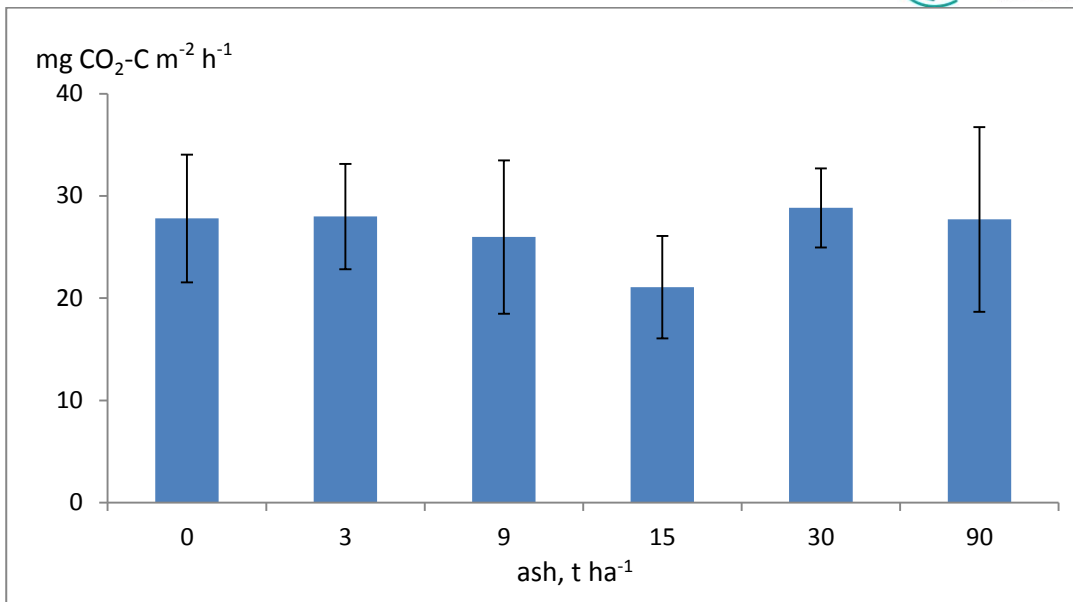
Tilførsel af aske tenderer til at sænke indholdet af organisk stof i det øverste jordlag; dette kan dog -helt eller delvis-skyldes at man med asken tilfører et materiale der ikke indeholder organisk stof. Når man tilfører 6 t aske ha⁻¹ til overfladen af en jordbund med volumenvægt 0.31 g cm⁻³ som udelukkende består af organisk stof, så vil det organiske indhold ved prøvetagning være faldet 9 % eller 4 % ved prøvetagning i 0-2 eller 0-5 cm dybde. Den øgede NH₄⁺ vi ser i jorden ét år efter asketilførsel (Tabel 2) viser at asketilsætningen stimulerer nedbrydning af jordbundens organiske stof idet asken ikke indeholder kvælstof.

Tre af vore arbejder tyder dog på at der ikke er sket en permanent øgning af nedbrydningen af jordbundens organiske lag men at der er frigjort én pulje organisk stof til nedbrydning som følge af asken: 1) Efter tilførsel af aske ser vi en øget mængde af kvælstofisotopen ¹⁵N i mykorrhizasvampene hvilket viser at gammelt organisk stof i jordbunden som indeholder mere af denne isotop er blevet nedbrudt (Fig. 23, Mortensen et al. *upubliceret*). Denne øgning ophører dog igen indenfor godt to år for askebehandlingerne 3 og 6 t ha⁻¹ (Fig. 23) så tilgængeligheden af kvælstof fra gammelt organisk stof er kun øget temporært.



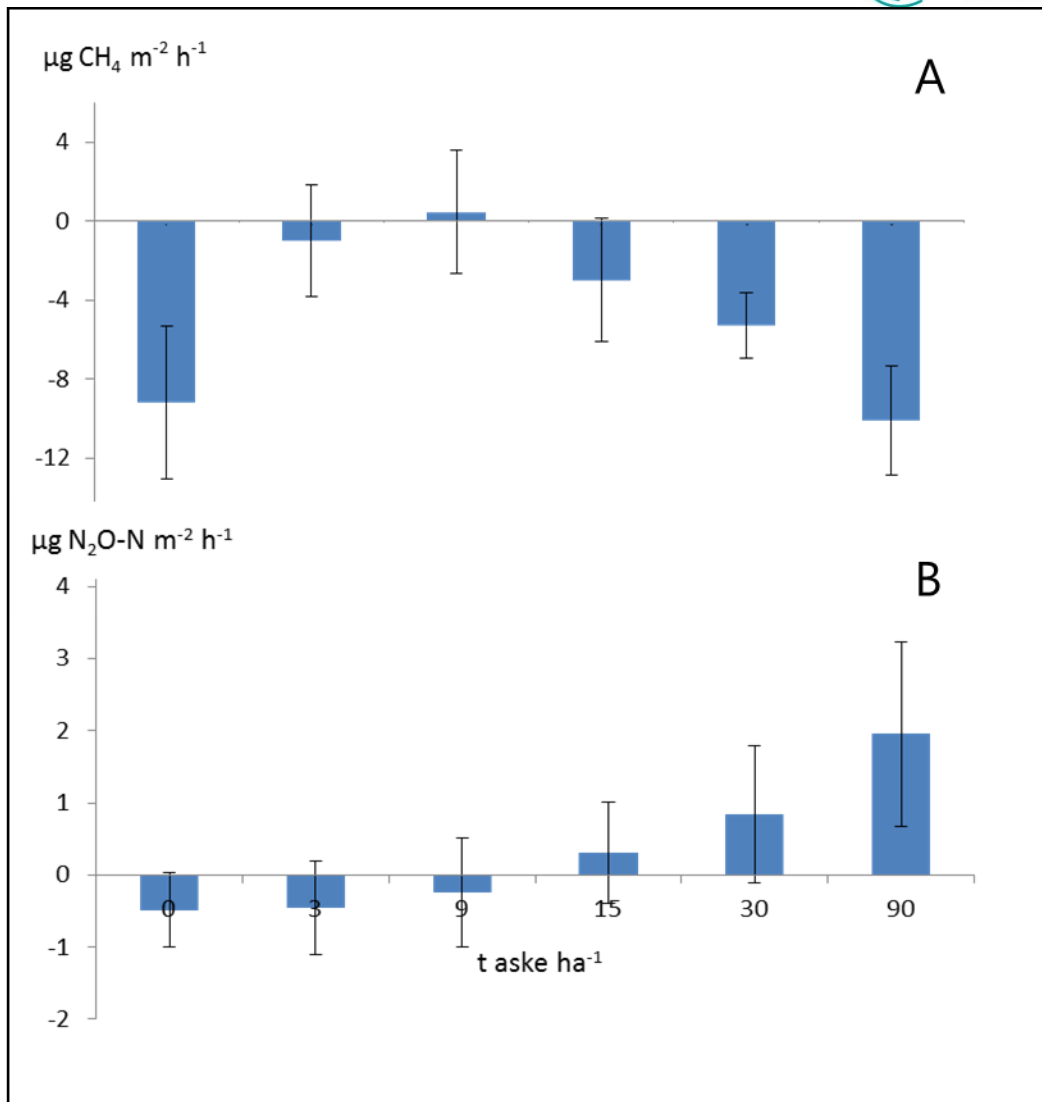
Figur 23. Fraktion af isotopen ^{15}N i kvælstof i mykorrhizasvampe. [26Mortensen et al. *upubliceret*]

2) Umiddelbart efter tilsætning af en askemængde svarende til 6 t ha⁻¹ er tilgængeligheden af det organiske stof i materiale fra det øverste jordlag øget med over 80%, men der ses ikke en øgning to år efter asketilsætning (Kelstrup et al. *upubliceret*). 3) Vi sér ikke en øget frigivelse af CO₂ fra jordbunden helt op til 90 t aske ha⁻¹ som gennemsnit over fire år efter asketilførsel (Fig. 24, Christensen et al. *upubliceret*). Med op til 9 t aske ha⁻¹ hvor pH kun er steget til 5.3 (Tabel 1) og al mineraliseret kulstof derfor frigøres som CO₂ kan vi derfor se at produktionen af CO₂ i jordbunden ikke er steget. På baggrund af disse tre informationer konkluderer vi derfor at asketilsætningen giver en relativt kortvarig øgning af nedbrydningen af en afgrænset pulje af jordbundens organiske stof og en nedsat stabilitet af dette (Hansen et al. 2016) men ikke en permanent øgning af nedbrydningen.



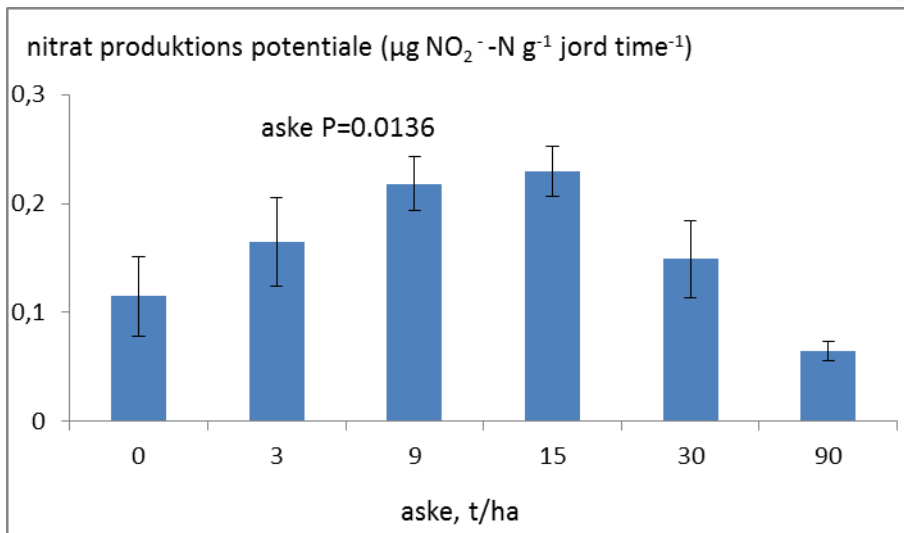
Figur 24. Afgivelsen af CO₂ fra jordoverfladen. Gennemsnit af 21 målinger gennem 52 måneder efter asketilførsel. (Christensen et al. *upubliceret*)

En anden bekymring i forbindelse med tilførsel af aske kunne være øget produktion af andre drivhusgasser (CH₄, N₂O). Vi fandt dog ikke nogen øgning i emissionen af CH₄ eller N₂O ved askemængder op til 15 t ha⁻¹ (Fig. 25, Christensen et al. *upubliceret*), selvom asketilsætning har øget ammonium-puljen ét år efter askebehandlingen (Tabel 1) og dermed potentialet for mikrobiel produktion af nitrat.



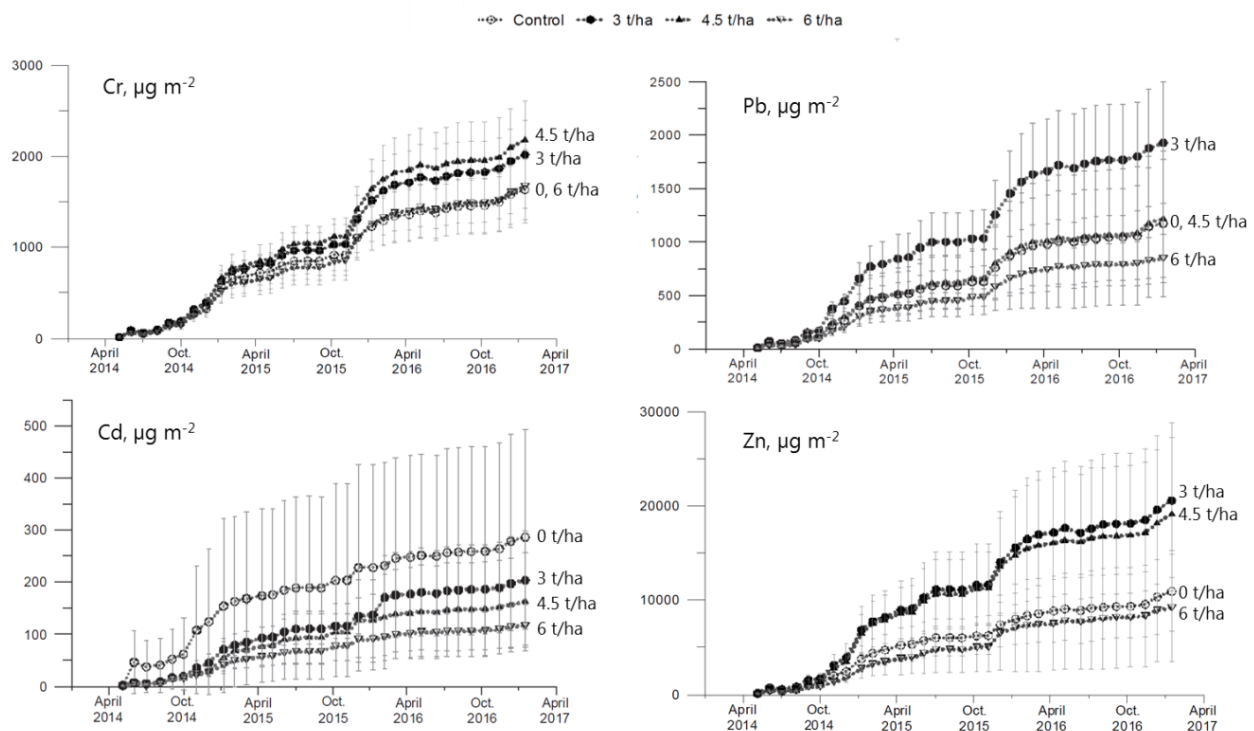
Figur 25. Udvekslingen af (A) CH₄ og (B) N₂O over jordoverfladen. Gennemsnit af hhv. 19 og 14 målinger gennem 46 måneder efter asketilførsel. (Christensen et al. Upubliceret-)

Et sådant øget potentiale for nitratproduktion med aske er også fundet fire år efter asketilførsel (Fig. 26) men da vi ikke ser øget nitratudvaskning (Fig. 28) må denne nitratproduktion blive immobiliseret i det organiske lag øverst i skovbunden hvor forholdet mellem organisk kulstof og kvælstof er meget højt, C/N = 30/1 og organismene derfor er i kvælstofunderskud.



Figur 26. Potentiell nitrifikation (NH₄⁺ => NO₂⁻) i Gedhus-jorden fire år efter asketilførsel (Christensen et al. *upubliceret*)

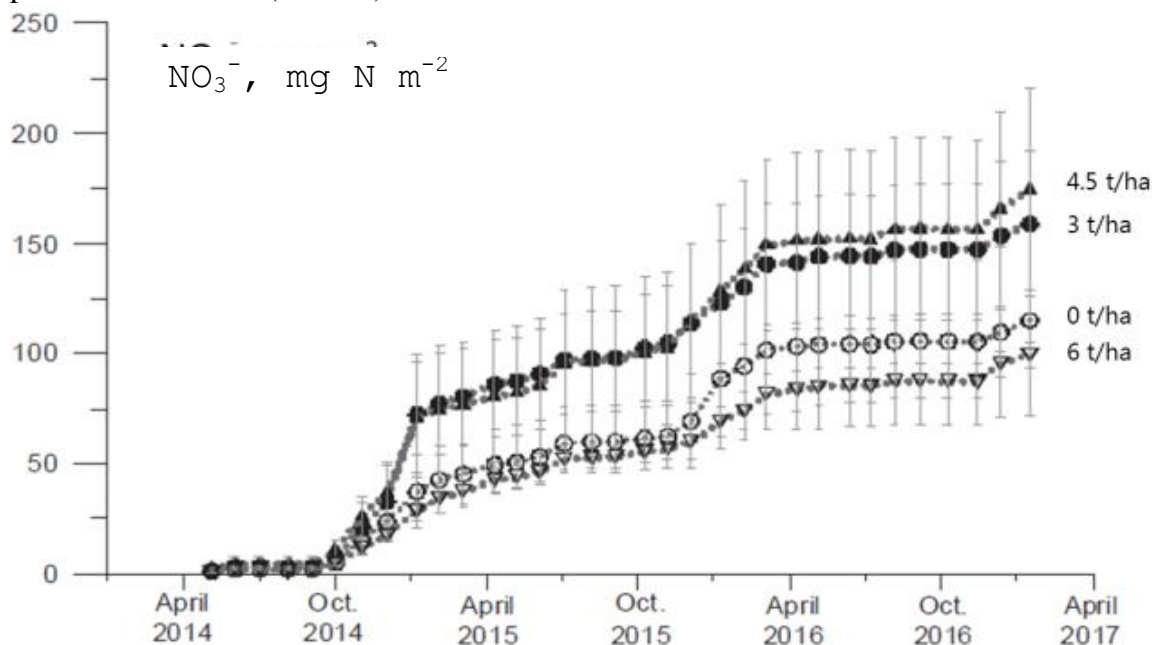
6.2 Systemets evne til at holde på næringsstoffer og tungmetaller
 Igennem de tre år de intensive målinger er foretaget fandt vi ikke en øget mobilitet af tungmetaller ned gennem jordprofilen idet indholdet i jordvandet i 15 og 60 cm dybde ikke var øget ved asketilførsler op til 30 t ha⁻¹ (Hansen et al. 2018). Den samlede mængde tungmetal udvasket til 15 cm dybde med nedbørsoverskuddet er vist for fire metaller på Fig. 27.



Figur 27. Akkumulerede mængder af tungmetal udvasket fra det øverste jordlag til 15 cm dybde med nedbørs-overskuddet opsamlet gennem tre år efter asketilførsel i Gedhus (Hansen et al. 2018). Bemærk at det få enkeltmålinger der gør at 3 og 4,5 t ha⁻¹ springer op til et andet niveau.

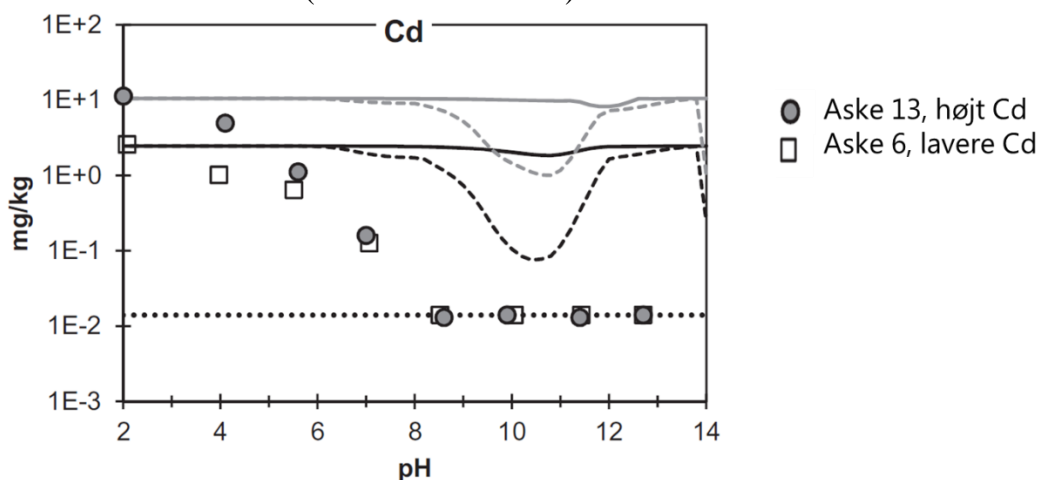
Det er bemærkelsesværdigt at koncentrationen af de fire metaller ikke ændres på samme måde med asketilførsel (Fig. 27) når de er udtaget fra de samme plots. Intet tyder dog på at det er asketilførslen der betinger disse forskelle (Hansen et al. 2018). Ligeledes fandt vi ikke en øget nedrivning af

nitrat gennem jordprofilet (Fig. 28) selvom asketilsætning har øget ammonium og den mikrobielle produktion af nitrat (Tabel 2).



Figur 28. Akkumuleret nitrat udvasket fra det øverste jordlag til 60 cm dybde med nedbørs-overskuddet gennem 2 $\frac{3}{4}$ år efter asketilførelse i Gedhus (15 Hansen et al. 2018). Bemærk at det kun er én måling i måleserien der gør at 3 og 4,5 t ha^{-1} springer op til et andet niveau.

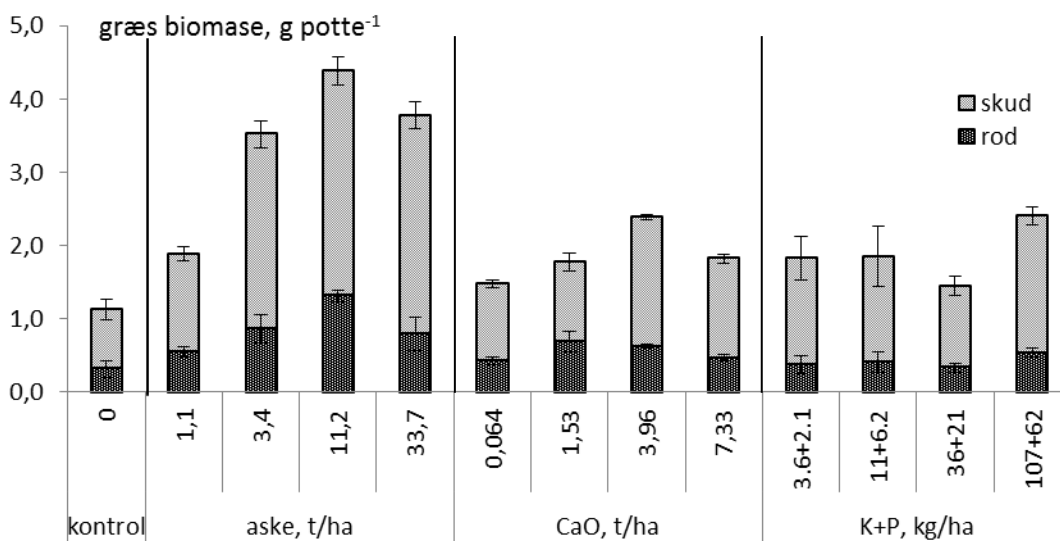
Aske 6 og aske 13 fra Figur 2 er nærmere undersøgt med hensyn til udvaskning af tungmetaller afhængigt af pH. Aske blev tilsat vand og derefter salpetersyre for at sænke pH svarende til den pH man finder i den jord hvor asken tilføres (Maresca et al. 2017). Når askens pH sænkes fra lige under 13 til omkring 4 som er pH i Gedhus jorden, så stiger opløseligheden af Cd (Fig. 29) med en faktor 1000 for aske 13 med et høje Cd indhold og med en faktor 200 for aske 6 med et lavere Cd indhold. Det er jordens absorption af tungmetal der gør at selvom Cd udvaskes i stor stil ved det lave jord-pH hvor asken tilføres (Fig. 29) så er der alligevel ingen udvaskning af Cd ned gennem jorden i felten (Fig. 27). I laboratorieundersøgelser sås heller ingen Cd udvaskning gennem jorden (Maresca et al. 2018). Hærdning af asken bevirkede ligeledes en stabilisering og dermed formindsket udskillelse af base-ioner (Maresca et al. 2019).



Figur 29. Udvasning af Cd fra to asker med høj Cd indhold (aske 13 fra Fig. 2) og lavere Cd indhold (aske 6 fra Fig. 2). linjerne er resultatet af en geokemisk modellering af forløbet (Maresca et al. 2017).

6.3 Asken virker som gødning på højere planter

Den vigtigste soil-service i vores system er plantevækst. Tilførsel af aske forbedrede forholdene for plantevækst ved at øge pH og samtidig øgedes tilgængeligheden af P og K i jordbunden. I et potteforsøg med jord fra Gedhus plantagen og græsken Bølget Bunke der er hjemmehørende i Gedhus øgedes væksten efter asketilførsel (Fig. 30 venstre del). Tilsætning af CaO der øgede jordens pH på linje med asken øgede også plantevæksten, men ikke i samme omfang (Fig. 30 midterste del). Tilsætning af K og P, som er to af de vigtigste næringsstoffer i aske () øgede også plantevæksten (Fig. 30, højre del), men ikke så meget som asken. Man ser at askens positive effekt på plantevæksten kan tolkes som summen af et øget pH i jorden og en næringstilsætning.



Figur 30. Effekt af aske, CaO og næringsstofferne K+P på væksten af græsken bølget bunke. (Nielsen et al. *upubliceret*).

6.4 Konklusion, ecosystem service

Samlet kan man sige at jordbundens funktion ikke påvirkes negativt af asketilførslen selvom koncentrationen af en række tungmetaller i O-horisonten stiger proportionalt med askedoseringen. Når man holder askedoseringen indenfor den mængde der svare til træproduktionen tilføres dog ikke mere tungmetal end der naturligt er tilført området. Der udvaskes ikke mere tungmetal gennem jorden og ej heller mere næringsstof. Afgivelsen af drivhusgasser til atmosfæren er heller ikke påvirket ved realistiske asketilførsler. Planternes vækst stimuleres af asken uden at de optager mere tungmetal i deres væv.

For træerne på Gedhus Plantage gælder det at der indenfor det forholdsvis korte tidsforløb, ikke kunne forventes et øget optag af næringsstoffer eller øget vækst som funktion af askespredningen.

7. Er det forsvarligt at tilføre mere aske af gangen end tilladt i dag?

Ashback bygger hovedsageligt på (felt)arbejde, der er udført i en rødgranbevoksning på sandjord. Derfor er nedenstående konklusioner primært knyttet til denne vidt udbredte skovtype i det vestlige og nordlige Jylland. Netop sådanne jorde, med højt organisk indhold, lavt pH samt lav tæthed af bænkebidere, snegle og regnorme, er velegnede til askespredning uden at risikere bioakkumulering af tungmetal (Mortensen et al. 2018). Tætheden af snegle falder fire gange fra pH 4.5 til pH 3.5 (Martin og Sommer 2004), de store anøsiske regnorme forsvinder under pH 4,5 og de fleste bænkebidere foretrækker pH 6-7 (Van Straalen og Verhoef 1997).

Der er flere måder at bestemme hvilken dosis af udspredning der kunne tillades. Herunder opsætter vi fire potentielle beslutningskriterier:

- (1) **Mængden af tilbageført materiale skal ikke overstige det der er fjernet ved træhøsten.**
 Ved en høj træproduktion på fx 10 t ved-tørstof $\text{ha}^{-1} \text{år}^{-1}$ vil man producere 700 t ved per ha på 70 år. Da der bliver 1% aske ud af træ svarer det til 7 t aske ha^{-1} på 70 år^{-1} . I dag er maksimal tilførsel ifølge Bioaskebekendtgørelsen (2008) i denne størrelsesorden da der må tilbageføres $3 \times 3 = 9 \text{ t ha}^{-1}$ i løbet af 70 år.
- (2) **Der må ikke ske udvaskning af tungmetaller til undergrunden**
 Her fandt vi at man kunne tilføre op til 30 t aske ha^{-1} i Gedhus Plantage uden at udvaskningen af tungmetaller oversteg baggrundsniveauet.
- (3) **Mængden af skadeligt tungmetal skal ikke overstige accepterede grænseværdier.**
 Cd indholdet i jorden uden asketilsætning er $0,3 \mu\text{g g}^{-1}$ jord eller helt oppe på 60 % af grænseværdien på $0,5 \mu\text{g Cd g}^{-1}$ jord fra Slambekendtgørelsen (2006). Med en aske med $3 \mu\text{g Cd g}^{-1}$ aske, kan man således tilføre op til 9 t aske ha^{-1} uden at nå op på grænseværdien. Til sammenligning er koncentrationen af andre stoffer, fx krom, kun 10 % af grænseværdien på $30 \mu\text{g g}^{-1}$ jord.
- (4) **Der må ikke ses toksiske effekter på organismer eller være risiko for ophobning af tungmetal i fødekæderne (A:**

græsningsfødekæden; plante => planteæder => rovdyr eller B: nedbryderfødekæden; bakterie/svamp => jordbundsdyr => rovdyr).

Her fandt vi på sure jorde ingen toksiske effekter på jordbundsorganismernes funktion ved nogle af de tilførte aske-mængder forstået som at jordbundens funktion med hensyn til frigivelse af stoffer blev ændret, selvom der skete markante ændringer i sammensætningen af jordbundsorganismer.

Akkumulering af tungmetal i fødekæderne ses baseret på vores forsøg ikke som et problem. Den Cd ophobning vi har set i regnorme er ganske ubetydelig i forhold til det naturlige Cd indhold i f.eks. mykorrhizasvampe, og det regner vi derfor ikke for et problem i forbindelse med metal akkumulering i organismer. Da det tilførte metal vil være mest tilgængeligt i starten hvor vi har undersøgt effekterne og der ikke tilføres mere end den naturlige tilførsel til området forudser vi heller ikke noget langtids-problem i asketilførslen.

8. Samlet konklusion

1) vedrørende Cd:

a) Det er et sundt princip ved asketilbageførsel ikke at returnere mere af nogen substanser, f.eks. tungmetaller, end der fjernes over en vækstperiode.

b) Vi fandt dog ikke i nogen af vore undersøgelser antydning af at Cd ville være et problem, selv ved askedoseringer hvor mere end det der blev fjernet blev tilbageført.

c) Med den gennemsnitlige Cd Koncentration i de asker vi har undersøgt ($3.5 \mu\text{g Cd g}^{-1}$ aske, Fig. 2) vil tilførsel af aske svarende til én vækstperiode (9 t ha^{-1} over 75 år) give 30 g Cd ha^{-1} , hvilket er af samme størrelse som det estimerede Cd nedfald på ca. 70 g Cd ha^{-1} over denne periode (for Vestskoven, Lisbeth Sevel, 2009). Den tilførte tungmetalmængde ligger derfor indenfor det naturlige flux.

2) vedrørende askens alkaliske egenskaber:

d) Askens stærkt basiske egenskaber påvirker sammensætningen af arter både over og under Jorden, selv med moderate mængder tilført.

e) Vi finder dog ikke indikation af at jordbundens funktion er ændret i nogen uønsket retning, selv ved asketilførsler langt over det i dag tilladte.

f) Biodiversiteten som sådan bliver heller ikke påvirket.

3) Anbefaling

Baseret på de ovenstående overvejelser anbefaler vi at opretholde den tilladte maksimale dosering på 9 tons aske pr. hektar over 75 år. Denne tilførsel kan distribueres, ifølge de nuværende regler, som 3*3 tons pr hektar men også som f.eks. 2*4,5 eller som alle 9 tons pr hektar på én gang. Fordelene ved at tilføre asken på én gang er at skoven får færre forstyrrelser såsom sammenpresning (traktose) af jordoverfladen, mekaniske skader på træer samt forstyrrelse af organismernes. Desuden vil energiforbruget til spredning af asken være lavere. Fordele ved at tilføre af flere gange er primært æstetiske, men der vil også være færre effekter på underskovs-vegetationen, bl.a. moslaget. Der vil være skove hvor den alkaliske effekt vil være ganske uønsket; f.eks. på grund af fredning, forekomst af særlige arter, eller blot naturindholdet.

9. Referencer

Projektets 20 publicerede arbejder, Marts 2019

1. Bang-Andreasen Toke, Jeppe T. Nielsen, Jana Voriskova, Janine Heise, Regin Rønn, Rasmus Kjøller, Hans C.B. Hansen and Carsten S. Jacobsen (2017) Wood ash induced pH changes strongly affect soil bacterial numbers and community composition *Frontiers in Microbiology*. 8:1400. doi: 10.3389/fmicb.2017.01400.
2. Cruz-Paredes Carla, Álvaro López-García, Gitte H. Rubæk, Mads F. Hovmand, Peter Sørensen, Rasmus Kjøller (2017-1) Risk assessment of replacing conventional P fertilizers with biomass ash: Residual effects on plant yield, nutrition, cadmium accumulation and mycorrhizal status. *Science of the Total Environment* 575, 1168-1176.
3. Cruz-Paredes Carla, Håkan Wallander, Rasmus Kjøller, Johannes Rousk. (2017-2) Using community trait-distributions to assign microbial responses to pH changes and Cd in forest soils treated with wood ash. *Soil Biology & Biochemistry*, 112, 153-164 2017
4. Cruz-Paredes Carla, Tobias Guldberg Frøslev, Anders Michelsen, Toke Bang-Andreasen, Mette Hansen, Morten Ingerslev, Simon Skov, Håkan Wallander & Rasmus Kjøller. (2019) Wood ash application in a managed Norway spruce plantation did not affect ectomycorrhizal diversity or N retention capacity. *Fungal Ecology* 39, 1-11.
5. Hansen Mette, Anna Saarsalmi, Clement Peltre (2016) Changes in SOM composition and stability to microbial degradation over time in response to wood chip ash fertilization. *Soil Biology & Biochemistry* 99 179-186.
6. Hansen Mette, Toke Bang-Andreasen, Helle Sørensen, Morten Ingerslev (2017) Micro vertical changes in soil pH and base

- cations over time after application of wood ash on forest soil. *Forest Ecology and Management* 406, 274–280.
7. Hansen, Mette, Kepfer-Rojas, S., Bjerager, PER., Holm, PE., Skov, S., Ingerslev, M. (2018) Effects of ash application on nutrient and heavy metal fluxes in the soil and Clack for, soil solution in a Norway spruce plantation in Denmark. *Forest Ecology and Management* 424, 494–504.
 8. Johansen Jesper L, Regin Rønn and Flemming Ekelund (2018) Toxicity of cadmium and zinc to small soil protists. *Environmental Pollution* 242, 1510–1517.
 9. Johansen J L, David M-F, Ekelund F, Vestergård M. (2019) Wood ash decreases cadmium toxicity to the soil nematode *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 172, 290-295.
 10. Kindtler Nikolaj L, Flemming Ekelund, Regin Rønn, Rasmus Kjølner, Mads Hovmand, Mette Vestergård, Søren Christensen, Jesper Liengaard Johansen (2019) Effect of wood ash application on growth and cadmium uptake of *Deschampsia flexuosa* L. *Environmental Pollution*.
 11. Kjølner R, Cruz-Paredes C, Clemmensen KE, (2017) Ectomycorrhizal fungal responses to forest liming and wood ash addition: review and meta-analysis. *SOIL BIOLOGICAL COMMUNITIES AND ECOSYSTEM RESILIENCE* Springer Book Series: Sustainability in Plant and Crop Protection, Pages: 223–252
 12. Maresca Alberto, Jiri Hyks, Thomas F. Astrup (2018) Long-term leaching of nutrients and contaminants from wood combustion ashes (2017) *Waste Management* 74: 373-383. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.11.056>
 13. Maresca Alberto ; Kruger, O., Herzel, H., Adam, C., Kalbe, U., Astrup TF. (2019) Influence of wood ash pre-treatment on leaching behaviour, liming and fertilizer potential. *Journal of Waste Management*. 83, 113–122.
 14. Maresca Alberto, Jiri Hyks, Thomas F. Astrup (2017) Recirculation of biomass ashes onto forest soils: ash composition. *Waste Management* 70, 127–138. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.008>
 15. Maresca Alberto, Mette Hansen Morten Ingerslev, Thomas F. Astrup (2018) Column leaching from a Danish forest soil amended with wood ashes: fate of major and trace elements. *Biomass and Bioenergy* 109, 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2017.12.014>
 16. Mortensen Louise H, Regin Rønn, Mette Vestergård (2018) Bioaccumulation of cadmium in soil organisms, with focus on wood ash application. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Volume 156, 30 July 2018, s Pages 452–462. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.018>.
 17. Mortensen Louise H, Carla Cruz-Paredes, Olaf Schmidt, Regin Rønn, Mette Vestergård Ash application enhances decomposition of recalcitrant organic matter. *Subm. Soil Biology & Biochemistry* Jan 2019.

18. Qin Jiayi, Mads Frederik Hovmand, Flemming Ekelund, Regin Rønn, Søren Christensen, Gerard Arjen de Groot, Louise Hindborg Mortensen, Simon Skov, Paul Henning Krogh, 2017 Wood ash application increases pH but does not harm the soil mesofauna. *Environmental Pollution* 224, 581-589.
<https://doi:10.1016/j.envpol.2017.02.041>
19. Rask K A, Johansen J L, Kjøller R, Ekelund F. (2019) Differences in arbuscular mycorrhizal colonisation influence cadmium uptake in plants. *Environmental and Experimental Botany*. In press.
20. Vestergård Mette, Toke Bang-Andreasen, Sebastian Micki Buss, Carla Cruz-Paredes, Sara Bentzon-Tilia, Flemming Ekelund, Rasmus Kjøller, Louise Hindborg Mortensen, Regin Rønn (2018) The relative importance of the bacterial pathway and soil inorganic nitrogen increase across an extreme wood ash application gradient. *Global Change Biology - Bioenergy*, 2018

Projektets 15 arbejder under færdiggørelse, Marts 2019

21. Bang-Andreasen Toke, Lanzén, A., Kjøller, R., Rønn, R., Ekelund, E., Anwar, M. Z., Jacobsen, C. S. in prep. Divergent taxonomic and functional responses to wood ash application in agricultural and forest soil revealed by total RNA-sequencing. Manuscript in preparation for *ISME Journal*.
22. Bang-Andreasen Toke, Hansen, M., Ellegaard-Jensen, L., Hansen, L. H., Rønn, R., Kjøller, R., Jacobsen, C. S. in prep. Surface application of wood ash leads to strong vertical gradients in soil pH and prokaryotic community structure in forest top soil. Manuscript in preparation for *Soil Biology and Biochemistry*.
23. Bornø Marie Louise, Flemming. How ash affects gas emission and denitrification in various forest soils across Denmark.
24. Christensen Søren, Rønn Regin, Vestergård Mette, Mortensen Louise H, Cruz-Paredes Carla, Johansen Jesper L., Ekelund Flemming in prep. Ash doses up to 9 t/ha do not affect CO₂ emission, C mineralisation or N₂O and CH₄ exchange in a Norway spruce soil
25. Cruz-Paredes Carla, Toke Bang-Andreasen, Tobias Guldberg Frøslev, Rasmus Kjøller et al. In prep. Bacterial and fungal community responses over a steep wood-ash gradient in a spruce plantation. Manuscript in preparation. (This one we are working on it maybe by the summer I will be able to submit it) 15/2 2018
26. Ekelund Flemming Cadmium uptake in organisms following field application of bio ash.
27. Findsen, D.E., Jesper Liengaard Johansen, Regin Rønn and Flemming Ekelund Wood ash application changes bryophyte cover and species composition in a *Picea abies* (Norway spruce) plantation. (to be submitted to *Journal of Applied Ecology*).
28. Hovmand Mads F, Regin Rønn, Jørgen Kystøl in prep. Element concentrations in wood pellets and ash outlets from Power Plants. Resubmitted Jan 2019.

29. Johansen Jesper L, MF Hovmand F Ekelund (2017) Cadmium pollution in soil may lower plant cadmium accumulation due to zinc-cadmium interaction (submitted to Science of the total Environment).
30. Johansen, JL., Minodora-Florentina David, M-F., Ekelund, F., Vestergård M. in prep. Wood ash decrease cadmium toxicity to the soil nematode *Caenorhabditis elegans*.
31. Johansen, JL. et al. Wood ash and cadmium interaction in barley (*Hordeum vulgare* L.)
32. Kelstrup Mads, Oliver Henneberg, Rasmus Kjøller, Mette Vestergaard, Jesper Liengaard Johansen, Louise H. Mortensen, Mads F. Hovmand, Søren Christensen, Regin Rønn, Flemming Ekelund in prep. Wood ash stimulates soil microorganisms through increased availability of mineral nutrients with no increase in decomposition of soil carbon.
33. Mortensen Louise H, Regin Rønn, Mette Vestergård, Carla Cruz-Paredes, Rasmus Kjøller, Flemming Ekelund, Søren Christensen. in prep.-2 Change in Food Web in a Coniferous Forest after Ash Amendment - a Structural Equation Model. Ready for submission: winter 2018
34. Nielsen Maiken L, Mette Vestergård, Jesper Liengaard Johansen, Flemming Ekelund, Regin Rønn, Rasmus Kjøller, Mads Hovmand, Søren Christensen in prep. Impact of wood ash on plants and soil - effects of elevated pH and nutrients separated.
35. Qin Jiayi, Gerard Arjen de Groot, Tobias Guldborg Frøslev, Rüdiger Schmelz, Joaquín Vierna, Louise Hindborg Mortensen, Søren Christensen, Rasmus Kjøller, Regin Rønn, Lea Ellegaard-Jensen, Lars Hestbjerg Hansen, Anders Johannes Hansen, Paul Henning Krogh Wood ash decreases enchytraeid abundance but not richness: a case study of diversity assessment by DNA metabarcoding (Submission: March, 2018)

Andre referencer i teksten

- Bioaskebekendtgørelsen (2008): <https://mst.dk/affald-jord/affald/affaldsfraktioner/bioaske/>
- Christensen BT, Elsgaard L (2015) Plantekongres 2015; Gødskning og afgrødens indhold af tungmetaller.
- Ingerslev M, Skov S, Sevel L, Pedersen LB (2011) Element budgets of forest biomass combustion and ash fertilization, A Danish case-study. *Biomass and Bioenergy* 35, 2697-2704.
- Martin, K., Sommer, M. (2004) Relationships between land snail assemblage patterns and soil properties in temperate-humid forest ecosystems. *Journal of Biogeography* 31, 531-545.
- Ring E, Jacobson S, and Nohrstedt HÔ (2006) Soil-solution chemistry in a coniferous stand after adding wood ash and nitrogen *Can. J. For. Res.* 36: 153-163
- Slambekendtgørelsen (2006): <https://mst.dk/affald-jord/affald/affaldsfraktioner/spildevandsslam/affald-til-jord-bekendtgørelsen/>
- Van Straalen NM, Verhoef HA. (1997) The development of a bioindicator system for soil acidity based on arthropod pH preferences. *Journal of Applied Ecology* 34, 217-232.