

**Erstellung reiner Pollenkonzentrate mittels Durchflusszytometrie  
für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung zur Bildung einer Chronologie für die holozänen  
Sedimente des Vansees**

Dissertation  
zur  
Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)  
der  
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

**Christoph Kurt Steinhoff**

aus  
Kleve

Bonn 2023

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

Gutachter: Prof. Dr. Thomas Litt

Gutachter: Prof. Dr. Christian März

Tag der Promotion: 24.11.2023

Erscheinungsjahr: 2024

## Zusammenfassung

Die  $^{14}\text{C}$ -Datierung von makroskopischen Pflanzenresten ist eine weit verbreitete Methode, das Alter von Seesedimenten präzise zu bestimmen. Das Fehlen großer Makrofossilien in vielen limnischen Klimaarchiven, die für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung erforderlich sind, verdeutlicht die Limitation dieser Methode. Dies gilt insbesondere für sehr große Seen oder auch Seen in semi-ariden bis ariden Klimazonen, wie etwa der Vansee in Ostanatolien (Türkei). Aufgrund ihres terrestrischen Ursprungs und der allgegenwärtigen Präsenz in limnischen Ablagerungen eignen sich alternativ Pollenkörner in besonderem Maße für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung. Dies wird unter anderem auch durch stetige Weiterentwicklungen in der AMS-Messtechnik ermöglicht, wodurch die erforderliche Probenmasse auf weniger als 100  $\mu\text{g}$  reduziert werden kann.

Nach wie vor stellen verfügbare Methoden zur Separation fossiler Pollen für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung eine Herausforderung dar. Herkömmliche chemisch-physikalische Trennverfahren erlauben es zwar, den Fremdpartikelanteil in den Sedimentproben zu reduzieren, trotzdem kann die Gefahr der Kontamination der Pollenproben durch kohlenstoffhaltige Fremdpartikel nicht vollständig ausgeschlossen werden. Die Verwendung der Durchflusszytometrie stellt eine innovative Methode dar, in kurzer Zeit fossile Pollenkörner entsprechend ihrer Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften zu sortieren und in reinen Konzentraten zu isolieren.

In der vorliegenden Arbeit wird ein Laborprotokoll zur Pollenanreicherung mittels Durchflusszytometrie für heterogene Sedimentproben präsentiert, das es ermöglicht, aus heterogenen Sedimentproben in relativ kurzer Zeit reine Pollenkonzentrate zu separieren und mittels AMS-Messung belastbare  $^{14}\text{C}$ -Datierungen zu erzeugen. Für eine präzise zeitliche Klassifizierung und Validierung der aus fossilen Pollen abgeleiteten  $^{14}\text{C}$ -Datierungen können die jährlich geschichteten Schichten aus dem holozänen Abschnitt der Sedimentkerne verwendet werden. Dabei können Abschnitte im Sedimentprofil bestimmt werden, in denen allochthone und umgelagerte Sedimente zu einer Zerstörung von Warven und damit zu Fehlern in der Warvenchronologie geführt haben.

Die Ergebnisse zeigen, dass es möglich ist, basierend auf dem hier präsentierten Laborprotokoll, aus den holozänen Sedimenten des Vansees reine Pollenkonzentrate zu erzeugen, die sich hervorragend zur  $^{14}\text{C}$ -Datierung eignen und eine unabhängige zeitliche Kontrolle bestehender Chronologien bietet. Die Laborversuche zeigen jedoch auch, dass es für eine Adaption der Methodik für weitere semi-aride Klimaarchive einer spezifischen Anpassung an die jeweilige Sedimentzusammensetzung bedarf.

## Abstract

$^{14}\text{C}$  dating of macroscopic plant remains is a widely used method to determine the age of lake sediments. The lack of large macrofossils in many limnic climate archives required for  $^{14}\text{C}$  dating highlights the limitations of this method. This is especially true for large lakes or lakes in semi-arid to arid climates, such as Lake Van in eastern Anatolia (Turkey). Alternatively, because of their terrestrial origin and ubiquitous presence in limnic sediments, pollen grains are particularly suitable for  $^{14}\text{C}$  dating. This is facilitated by continuous advancements in AMS measurement technology, which resulted in the reduction of the required sample mass to less than 100  $\mu\text{g}$ .

Still, available methods for separating fossil pollen for  $^{14}\text{C}$  dating are challenging in terms of pollen purity and quantity. Conventional chemical-physical separation methods allow to reduce the number of foreign particles in sediment samples, but still the risk of contamination of pollen samples by carbonaceous foreign particles cannot be excluded. The use of flow cytometry represents an innovative method to sort fossil pollen grains according to their scattered light and fluorescence properties in a short time and to isolate them in pure concentrates.

In this thesis, a laboratory protocol for pollen enrichment by flow cytometry for heterogeneous sediment samples is presented, which allows to separate pure pollen concentrates from heterogeneous sediment samples in a relatively short time and to generate robust  $^{14}\text{C}$  dating by AMS measurement.

For a precise temporal classification and a validation of  $^{14}\text{C}$  ages derived from fossil pollen, the annually laminated layers from the Holocene sediments can be used. This allows the identification of sections in the sediment profile where allochthonous and redeposited sediments have caused destruction of varves, leading to errors in the varve chronology.

The results show that it is possible, based on the laboratory protocol presented here, to produce pure pollen concentrates from Holocene Lake Van sediments that are suitable for robust  $^{14}\text{C}$  dating and provide an independent temporal control for existing chronologies. However, the laboratory experiments also show that transferring the methodology for other semi-arid climatic archives requires a specific adaptation to the archive's sediment composition.



# Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	I
ABSTRACT	II
INHALTSVERZEICHNIS	III
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS	VIII
1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	1
1.1. EINLEITUNG	1
1.2. ZIELSETZUNG	3
2. FORSCHUNGSSTAND	4
2.1. GEOGRAPHISCHER UND GEOLOGISCHER ÜBERBLICK	4
2.2. KLIMA	7
2.3. VEGETATION	9
2.4. SEDIMENTATION	11
2.5. FORSCHUNGSGESCHICHTE VANSEE	15
2.6. AMS RADIOKARBONDATIERUNG	16
2.7. POLLENDATIERUNG	19
3. MATERIAL UND METHODEN	29
3.1. PROBENAHME	29
3.2. CHEMISCHE AUFBEREITUNG	34
3.2.1. Rezente Markerproben und Erstellung von Standards	37
3.3. DURCHFLUSSZYTOMETRIE	38
3.3.1. Strömungstechnisches System	39
3.3.2. Optisches Erkennungssystem	40
3.3.3. Fluoreszenzaktivierte Zellsortierung	43
3.3.4. BD FACSDiva™-Software	44
3.3.5. Durchgeführte zytometrische Experimente	45
3.3.6. Methoden der Pollenseparation	47
3.4. AMS RADIOKARBONDATIERUNG	49
3.5. BESTIMMUNG DER GERÄTESPEZIFISCHEN HINTERGRUNDBELASTUNG	50
3.6. VALIDIERUNG ÜBER DIE WARVENCHRONOLOGIE	51
3.7. WEITERE EXPERIMENTE	52
3.7.1. Schweretrennung	52
3.7.2. Flusssäure-Experimente	53
4. ERGEBNISSE	55
4.1. DURCHFLUSSZYTOMETRIE UND DATIERUNG DER TEPHREN (CT)	55
4.2. DURCHFLUSSZYTOMETRIE UND KONTROLLDATIERUNGEN DER TEPHREN (CC)	61
4.3. DURCHFLUSSZYTOMETRIE UND POLLENDATIERUNGEN ZWISCHEN DEN TEPHREN (CS)	64
4.4. CONSTANT CONTAMINATION	67
4.5. METHODISCHE ERGEBNISSE	68
4.5.1. Salpetersäure als Ersatz für die Acetolyse	68
4.5.2. Sortieransatz	70
4.5.3. Vergleich der verschiedenen FACSAria™ III Geräte und Flüssigkeiten	70
4.5.4. Markerpollen	71
4.6. WEITERE EXPERIMENTE	73
4.6.1. Schweretrennung	73

4.6.2. Flusssäure-Experimente	75
5. DISKUSSION	77
5.1. QUALITÄTSSICHERUNG DER DURCHFLUSSZYTOMETRIE	77
5.2. AMS-RADIOKARBONDATIERUNGEN DER POLLENKONZENTRATE	80
5.2.1. Validierung der verwendeten Durchflusszytometer	80
5.2.2. Validierung der Sortieransätze	82
5.2.3. Qualitätssicherung der <sup>14</sup> C-Datierung	84
5.3. VALIDIERUNG DER <sup>14</sup> C-DATIERUNG	85
5.4. KORRELATION ZU CHRONOLOGIEN AUS DER LITERATUR	86
5.4.1. Korrelation zur Warvenchronologie nach Nieder 2020	88
5.4.2. Bewertung der <sup>14</sup> C-Daten der Pollenkonzentrate	91
6. FAZIT UND ZUSAMMENFASSUNG	97
DANKSAGUNG	99
LITERATURVERZEICHNIS	100

## Abbildungsverzeichnis

- ABB. 1: BATHYMETRISCHE KARTE DES VANSEES. DER TIEFSTE PUNKT DES SEES BEFINDET SICH IM WESTLICH GELEGENEN TATVAN BASIN (460 M TIEFE). DIE IN DER VORLIEGENDEN ARBEIT BEHANDELTEN BOHRLOKALITÄTEN LIEGEN AM AHLAT RIDGE, EINER SUBLAKUSTRINEN ERHEBUNG (375 M TIEFE) NÖRDLICH DES TATVAN BASIN (STEINHOFF ET AL. 2022). ..... 4
- ABB. 2: VEREINFACHTE DARSTELLUNG DER GEOLOGIE UM DEN VANSEE. DIE ÄLTESTEN GESTEINE STELLEN METAMORPH ÜBERPRÄGTE SEDIMENTGESTEINE DES PALÄOZOIKUMS DAR UND SIND IM SÜDEN AUFGESCHLOSSEN. IM OSTEN WERDEN DIE METAMORPHITE VON KRETAZISCHEN UND PALÄOGENEN SEDIMENTGESTEINEN ÜBERLAGERT, DER NORDEN UND OSTEN WIRD DURCH JUNGE VULKANITE DOMINIERT (NACH AKBAŞ ET AL. 2011; DEGENS ET AL. 1984; KESKIN 2007)..... 5
- ABB. 3: KLIMADIAGRAMME DER STÄDTE TATVAN (LINKS) UND VAN (RECHTS). WÄHREND DIE DURCHSCHNITTSTEMPERATUREN SEHR ÄHNLICH SIND, UNTERSCHIEDET SICH DIE NIEDERSCHLAGSMENGE VOM WESTEN DES VANSEES (TATVAN: 839 MM/A) ZUM OSTEN (VAN: 431 MM/A) DEUTLICH (QUELLE: CLIMATE-DATA.ORG). ..... 8
- ABB. 4: AUSBREITUNG DER VEGETATIONSZONEN IM EINZUGSGEBIET DES VANSEES. IM WESTEN DES SEES UND IN DEN GEBIRGSLAGEN DOMINIEREN EICHENSTEPPEWÄLDER DER KURDO-ZAGROSISCHEN VEGETATIONSZONE. IN DEN TROCKENEREN GEBIETEN IM OSTEN DES VANSEES HERRSCHT DIE IRANO-TURANISCHE STEPPENVEGETATION VOR (VERÄNDERT NACH LITT ET AL. 2014; PICKARSKI ET AL. 2015B)..... 10
- ABB. 5: POLLENDIAGRAMM DER WICHTIGSTEN PFLANZEN-TAXA DER JÜNGEREN DRYAS UND DES HOLOZÄNS. IM AUSGEHENDEN PLEISTOZÄN UND ZU BEGINN DES HOLOZÄNS DOMINIEREN TYPISCHE TAXA DER STEPPENVEGETATION. DIESE WERDEN JEDOCH ALLMÄHLICH VON TYPISCHEN TAXA DER EICHENSTEPPEVEGETATION VERDRÄNGT (VERÄNDERT NACH LITT ET AL. 2009; PICKARSKI ET AL. 2015B).11
- ABB. 6: FOTOS DER LAMINIERTEN SEDIMENTBOHRKERNE DES VANSEES (AHLAT-RIDGE). DIE ROTEN PUNKTE MARKIEREN DIE LAGE VON PYROKLASTISCHEN SEDIMENTEN IN FORM VON TEPHREN. BESONDERS MARKANT SIND DIE VULKANISCHEN ASCHELAGEN V-3A UND V-3B AUS DEM HOLOZÄN UND V-8 BIS V-10 SOWIE V-15 AUS DEM SPÄTEN PLEISTOZÄN (© FOTOS: G. OLESCHINSKI. GRAPHISCHE ZUSAMMENSTELLUNG: T. LITT UND G. HEUMANN)..... 14
- ABB. 7: SEDIMENTOLOGISCHE BESCHREIBUNG DER SEDIMENTE DES AHLAT-RIDGE. DIE PROBENAHMEPUNKTE KONZENTRIEREN SICH AUF DIE PYROKLASTISCHEN ABLAGERUNGEN (V-1 BIS V-7) UND DIE SEDIMENTE DES HOLOZÄNS (VERÄNDERT NACH LITT ET AL. 2009). ..... 30
- ABB. 8: SCHEMATISCHER AUFBAU DES DURCHFLUSSZYTOMETERS. IN DER DURCHFLUSSZELLE WERDEN DIE PARTIKEL HYDRODYNAMISCH FOKUSSIERT UND VEREINZELT. ANSCHLIEßEND STRÖMEN DIE PARTIKEL AN DEN VERSCHIEDENEN LASERN VORBEI UND WERDEN ANALYSIERT. BESTIMMUNGSRELEVANTE PARAMETER SIND DIE STREULICHT- UND FLUORESCENZEIGENSCHAFTEN DER PARTIKEL. UNTERHALB DES LASERSYSTEMS KÖNNEN DIE PARTIKEL IM ELEKTRISCHEN SYSTEM SEPARIERT WERDEN..... 39
- ABB. 9: ANSATZ DER UNDIFFERENZIIERTEN, HOCHFLUORESCENTEN POLLENSEPARATION (UHF). ZUNÄCHST WURDEN BEI DER ANALYSE PARTIKEL BETRACHTET, DIE BEI DER STREUUNG DES LICHTS IN KLEINEN WINKELN EINE HOHE INTENSITÄT AUFWEISEN (LINKS). ES WURDE SO EINE UNTERSCHIEDUNG ZWISCHEN PARTIKELN MIT EINER GLATTEN (SCHWARZ) UND EINER KOMPLEXEN (GRÜN) OBERFLÄCHE VORGENOMMEN. LETZTERE WURDEN ANSCHLIEßEND BEI DER ANALYSE DER FLUORESCENZINTENSITÄTEN IM WELLENLÄNGENBEREICH  $450 \pm 20$  NM UND  $510 \pm 25$  NM BETRACHTET (RECHTS). PARTIKEL MIT EINEM STARKEN FLUORESCENZSIGNAL (ROT) WURDEN ANSCHLIEßEND ISOLIERT..... 48
- ABB. 10: ANSATZ DER DIFFERENZIIERTEN POLLEN- UND SPORENSPARATION (DA). AUCH HIER WURDEN BEI DER ANALYSE ZUNÄCHST PARTIKEL BETRACHTET, DIE BEI DER STREUUNG DES LICHTS IN KLEINEN WINKELN EINE HOHE INTENSITÄT AUFWEISEN (LINKS). POTENTIELLE POLLENKÖRNER WURDEN ANSCHLIEßEND BEI DER ANALYSE DER FLUORESCENZINTENSITÄTEN EBENFALLS IM WELLENLÄNGENBEREICH  $450 \pm 20$  NM UND  $510 \pm 25$  NM BETRACHTET (RECHTS). BEI DEM DIFFERENZIIERTEN ANSATZ WURDE DIE HOCHFLUORESCENTE

POPULATION NOCHMALS IN EINE CHARAKTERISTISCHE POLLEN- (ORANGE) UND SPORENPOPULATION (BLAU) GETRENNT.....	49
ABB. 11: SCHEMATISCHER AUFBAU DER VERSUCHE ZUR SCHWERETRENNUNG. IN DEN MIT SPT GEFÜLLTEN SCHEIDETRICHTER WURDE DAS CHEMISCH AUFBEREITETE SEDIMENT GEGEBEN. NACH DER GRAVITATIVEN TRENNUNG HAT SICH EINE LEICHTE POLLENFRAKTION ( $\rho < 1,4 \text{ M/CM}^3$ ) AUF DER FLÜSSIGKEIT UND EINE SCHWERE FRAKTION ( $\rho > 1,4 \text{ M/CM}^3$ ) AM GRUND GEBILDET, DIE ÜBER DEN HAHN SEPARAT ABGELASSEN UND AUFGEFANGEN WERDEN KONNTEN. ....	53
ABB. 12: ZUSAMMENFASSENDES LABORPROTOKOLL, DAS ERFOLGREICH FÜR DIE AUFBEREITUNG VON SEESSEDIMENTEN UND DIE ISOLIERUNG DER IM SEDIMENT ENTHALTENEN POLLEN GETESTET WURDE (NACH STEINHOFF ET AL. 2022) . ....	55
ABB. 13: DIE KONTROLLE DER SORTIERTEN POLLENKONZENTRATE MIT DEM MIKROSKOP ZEIGTE FÜR CT 2-1 GFZ EINE GERINGE PARTIKELDICHTE. DER ANTEIL NICHT PALYNOMORPHER PARTIKEL WAR NACH WIE VOR SEHR HOCH. CT 3-2 UND CT 7-1 POLLEN HINGEGEN BESTANDEN ZU 95 % BIS 100 % AUS POLLEN. CT 5-1 WIES ZWAR MIT 70 % EINEN VERHÄLTNISSMÄßIG HOHEN ANTEIL AN POLLEN AUF, JEDOCH FÜHRTE DIE VERHÄLTNISSMÄßIG GERINGE ANZAHL AN PARTIKELN (117.700) ZU EINER GERINGEN PARTIKELDICHTE. ....	58
ABB. 14: DIE KONTROLLE DER SORTIERTEN POLLENKONZENTRATE MIT DEM MIKROSKOP ZEIGTE FÜR DIE MIT DEM DIFFERENZIIERTEN SORTIERANSATZ BEHANDELTEN POLLENKONZENTRATE EINEN SEHR HOHEN GEHALT VON 70 % BIS 90 %. HIER DARGESTELLTE MIKROSKOPAUFNAHMEN DER PROBEN CC 1-6, CC 2-2 UND CC 3-1 WIESEN ZU 90 % POLLEN AUF. CC 1-4 (40 % POLLEN) BELEGT JEDOCH, DASS ES SCHWIERIG SEIN KANN, DIE POLLENPOPULATION VOM UNDIFFERENZIIERTEN DETRITUS WÄHREND DER MULTIPARAMETERANALYSE KLAR ZU TRENNEN. ....	62
ABB. 15: WÄHREND NACH DER CHEMISCHEN AUFBEREITUNG DER SEDIMENTPROBEN NOCH DUNKLE, DETRITISCHE PARTIKEL IN DER PROBE VERBLEIBEN KÖNNEN, ERLAUBT ES DIE DURCHFLUSSZYTOMETRIE DIESE WEITESTGEHEND ZU ENTFERNEN. ....	65
ABB. 16: DARGESTELLT SIND DIE STREUDIAGRAMME FÜR DEN FLUORESZENZBEREICH $510 \pm 25 \text{ NM}$ UND $450 \pm 20 \text{ NM}$ DER PROBE CT 6-1. WÄHREND BEI DER CHEMISCHEN AUFBEREITUNG OHNE $\text{HNO}_3$ EINE KLARE POLLENPOPULATION ERKENNBAR IST, IST DIESE BEI DER MIT $\text{HNO}_3$ BEHANDELTEN PROBE NICHT MEHR VON DEN DETRITISCHEN PARTIKELN ZU UNTERSCHIEDEN (STEINHOFF ET AL. 2022). ....	69
ABB. 17: STREULICHTEIGENSCHAFTEN VERSCHIEDENER REZENTER MARKERPOLLEN. ARTEMISIA-POLLEN (ROT) UND QUERCUS-POLLEN (GRÜN) ZEIGTEN EINE SEHR HOMOGENE FORM MIT EINER SEHR HOMOGENEN OBERFLÄCHENSTRUKTUR. POACEAE-POLLEN (BLAU) ZEIGTEN ZWAR EINE HOMOGENE OBERFLÄCHE, VARIIERTEN ABER IN FORM UND GRÖßE. DIE BISACCATEN POLLEN VON PINUS ZEIGTEN EINE STARKE STREUUNG ALS HINWEIS AUF EINE HETEROGENE FORM UND OBERFLÄCHENSTRUKTUR. ....	72
ABB. 18: DIE FLUORESZENZEIGENSCHAFTEN VERSCHIEDENER GATTUNGEN WIESEN IM WELLENLÄNGENBEREICH VON $450 \pm 20 \text{ NM}$ UND $510 \pm 25 \text{ NM}$ ÜBERSCHNEIDUNGEN AUF. ROT EINGEFÄRBTE PARTIKEL WIESEN CHARAKTERISTISCHE FLORESZENZEN VON ARTEMISIA AUF. DIESE ÜBERSCHNITTEN SICH ABER AUCH MIT DEN CHARAKTERISTISCHEN FLORESZENZEN VON QUERCUS (B) UND POACEAE. EINE EINDEUTIGE WELLENLÄNGENSPEZIFISCHE ZUORDNUNG WAR NICHT MÖGLICH. ....	73
ABB. 19: ZUSAMMENSETZUNG DER SCHWEREN (LINKS) UND LEICHTEN (RECHTS) FRAKTION DER PROBE ST 4 NACH DER SCHWERETRENNUNG. DIE PARTIKELDICHTE WAR IN DER LEICHTEN FRAKTION HÖHER. AUCH WIES DIESE PROBE EINEN HÖHEREN POLLENANTEIL AUF. DENNOCH BEFAND SICH IN DER SCHWEREN FRAKTION NACH WIE VOR EIN GERINGER ANTEIL AN POLLEN. ....	75
ABB. 20: DIE VERWENDUNG VON FLUSSSÄURE MIT EINER KONZENTRATION VON $< 20 \text{ VOL.}\%$ WAR NICHT AUSREICHEND, UM DEN GROßEN ANTEIL AN SILIKATEN IN DEN VANSEE SEDIMENTEN ZU ENTFERNEN. TROTZ DER REAKTIONSZEIT VON 3 TAGEN ZEIGTE SICH AN DER ERHALTUNG DER POLLENKÖRNER KEIN NEGATIVER EINFLUSS. ....	76
ABB. 21: ALTERS-TIEFEN-MODELL DER HOLOZÄNEN SEDIMENTE DES AHLAT-RIDGE. 65 % DER VORLIEGENDEN $^{14}\text{C}$ -DATIERUNGEN (GRAUE, BLAUE UND GRÜNE KREISE) ÜBERLAPPEN MIT DEM ALTERS-TIEFEN-MODELL, DAS EIN MITTLERES KONFIDENZINTERVALL (95 %) VON 659 JAHREN AUFWEIST. DIE GRÖßTE STATISTISCHE	

UNSICHERHEIT LIEGT IN 69,4 CM TIEFE ZWISCHEN V-1 UND V-2 UND BETRÄGT 1237 JAHRE. MIT 282 JAHREN IST DAS KONFIDENZINTERVALL BEI 24,4 CM TIEFE, OBERHALB VON V-1, AM GERINGSTEN. .... 80

ABB. 22: DIE VERGLEICHENDE DARSTELLUNG ZU DEN UNTERSCHIEDLICHEN SORTIERANSÄTZEN ANGEWENDET AUF AUSGEWÄHLTE PROBEN DER TEPHREN V-1 UND V-7 ZEIGT, DASS DAS <sup>14</sup>C-ALTER DER POLLENFRAKTIONEN (ORANGE) JÜNGER IST, ALS DAS <sup>14</sup>C-ALTER DER SEPARIERTEN UHF-POPULATION (GRAU) ODER DER SPORENPOPULATION (BLAU). ANHAND DER <sup>14</sup>C-DATIERUNGEN DER TEPHREN V-2 UND V-3 KANN GEZEIGT WERDEN, DASS DURCH DAS VERWENDETE DURCHFLUSSZYTOMETER/FLIEßMEDIUM KEINE BEEINFLUSSUNG DES <sup>14</sup>C-ALTERS VORLIEGT (VERÄNDERT NACH STEINHOFF ET AL. 2022). .... 82

ABB. 23: WAHRSCHEINLICKEITSDICHTEVERTEILUNG DER VORLIEGENDEN <sup>14</sup>C-DATIERUNGEN ZU DEN TEPHREN V-4 BIS V-7. WIE IN DEN ERGEBNISSEN BESCHRIEBEN, WERDEN DIE <sup>14</sup>C-DATIERUNGEN MIT EINER UNSICHERHEIT VON 2 $\sigma$  ANGEGEBEN. ZUR KALIBRIERUNG WERDEN DIESE DATIERUNGEN ÜBER DIE INTCAL 2020-KALIBRATIONS-KURVE GEEICHT. DURCH DEN UNSTETEN VERLAUF DER KALIBRATIONS-KURVE KANN DAS ALTER DER KURVE NUR MIT EINER WAHRSCHEINLICHKEIT ANGEGEBEN WERDEN, DIE ÜBER DIE VORLIEGENDEN DICHTEVERTEILUNGEN DARGESTELLT WIRD. .... 85

ABB. 24: A) DIE ALLOCHTHONEN, TURBIDITISCHEN ABLAGERUNGEN OBERHALB DER TEPHRA V-1 (DÜNNSCHLIFF VAN04-2-V4\_27-37) DEUTEN DIE EROSION UND UMLAGERUNG ÄLTERER SEDIMENTE AN. ENTSPRECHEND LIEFERN PROBEN, DIE OBERHALB VON V-1 FÜR DIE <sup>14</sup>C-POLLENDATIERUNG HERANGEZOGEN WURDEN, EIN HÖHERES ALTER ALS PROBEN, DIE UNTERHALB VON V-1 ENTNOMMEN WURDEN. B) DIE GELBEN LINIEN VERDEUTLICHEN DEN VERLAUF EINZELNER LAMINAE, DIE DURCH TEKTONISCHE BEANSPRUCHUNG DES SEDIMENTS GESTÖRT WURDEN (DÜNNSCHNITT 5034\_2D\_1H\_82-92). SIE SIND CHARAKTERISTISCH FÜR DIE SEDIMENTE OBERHALB VON V-4. .... 89

ABB. 25: DER ERHALTUNGSZUSTAND DER VERSCHIEDENEN DÜNNSCHLIFFE VARIERT STARK (MAßSTAB DER BALKEN 1 CM). DIE DÜNNSCHLIFFE DES BOHRKERNS VAN04-2-V2-A WEISEN FEINE MIKRO-RISSE AUF. 5034\_2D-1H\_1\_W\_66-76 ZEIGT EXEMPLARISCH DEN EINFLUSS VON TEKTONIK (MIKROVERWERFUNGEN IM UNTEREN BEREICH) UND EVENTABLAGERUNGEN (TURBIDITE IM OBEREN CM). EINE WEITERE FORM VON EREIGNISABLAGERUNGEN SIND DUNKLE VULKANISCHE ASCHELAGEN (LVKP37). .... 90

ABB. 26: BETRACHTET MAN DIE ANZAHL DER WARVEN VON V-1 BIS ZUR HOLOZÄN-PLEISTOZÄN-GRENZE AUSGEHEND VON DEM GSSP (ORANGE), IST ES MÖGLICH, DIE INTERVALLE ZWISCHEN DEN EINZELNEN TEPHREN ÜBER DIE POLLENDATIERUNGEN (HIER DARGESTELLT ALS WAHRSCHEINLICKEITSDICHTEVERTEILUNGEN) DARZUSTELLEN. ES ZEIGT SICH, DASS DIE UNSICHERHEIT DER VORLIEGENDEN DATIERUNGEN IM OBEREN TEIL DES SEDIMENTPROFILS HÖHER IST, ALS UNTERHALB VON V-4. .... 92

ABB. 27: WAHRSCHEINLICKEITSDICHTEVERTEILUNGEN DER <sup>14</sup>C-DATIERUNGEN ZUR TEPHRA V-1 (ROT UND BLAU) UND DEN DARÜBERLIEGENDEN SEDIMENTEN (GRÜN). DIE UNMITTELBAR OBERHALB VON V-1 ENTNOMMENEN POLLENPROBEN (ROT) WEISEN EIN HÖHERES ALTER AUF ALS SOLCHE, DIE UNTERHALB V-1 ENTNOMMEN WURDEN (BLAU). .... 94

ABB. 28: ALTERS-TIEFEN-MODELLE DER HOLOZÄNEN SEDIMENTE DES AHLAT-RIDGE BASIEREND AUF DEN POLLENDATIERUNGEN (BLAU) UND AUF DER „FLOATING CHRONOLOGY“ (ORANGE) NACH NIEDER (2020). SETZT MAN DEN ÜBERGANG ZWISCHEN HOLOZÄN UND PLEISTOZÄN ALS AUSGANGSPUNKT DER WARVENZÄHLUNG AN (GRAUE ALTERSLINIE), ZEIGT SICH, DASS DIE BEREICHE, DIE DURCH EROSION UND ZERSTÖRUNG VON WARVEN GEKENNZEICHNET SIND, AUF DIE SEDIMENTE OBERHALB DER TEPHREN V-2 UND V-3A EINGEGRENZT WERDEN KÖNNEN. ZUSÄTZLICH IST DIE WARVENCHRONOLOGIE VON LANDMANN ET AL. (1996B) DARGESTELLT (SCHWARZ). .... 95

## Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: PROBENAHMEPUNKTE DER ERSTEN VERSUCHSREIHE AN DEN VULKANISCHEN ASCHELAGEN. ....	31
TABELLE 2: PROBENAHMEPUNKTE DER ZWEITEN VERSUCHSREIHE DER KONTROLLPROBEN. ....	33
TABELLE 3: PROBENAHMEPUNKTE DER DRITTEN VERSUCHSREIHE OBERHALB VON V-1, ZWISCHEN V-3B UND V-4 SOWIE ZWISCHEN V-6 UND V-7. ....	34
TABELLE 4: PROBENAHMEPUNKTE UND AUFBEREITUNGSSCHRITTE DER SEDIMENTPROBEN ZU DEN EXPERIMENTEN MIT FLUSSSÄURE. DIE UNTERSCHIEDE LAGEN IN DER KONZENTRATION (5 VOL.% - 20 VOL.%) DER VERWENDETEN SÄURE SOWIE IN DER VERSUCHSDAUER (3 TAGE BIS 7 TAGE).....	54
TABELLE 5: ERGEBNISSE DER ZYTOMETRISCHEN ANALYSE (UKB) UND DER QUANTITATIVEN UND QUALITATIVEN KONTROLLE DER PROBEN DER MESSREIHE CT. ....	56
TABELLE 6: ERGEBNISSE DER ZYTOMETRISCHEN ANALYSE (GFZ) UND DER QUANTITATIVEN UND QUALITATIVEN KONTROLLE DER PROBEN DER MESSREIHE CT. ....	58
TABELLE 7: ERGEBNISSE DER <sup>14</sup> C-DATIERUNGEN DER PROBEN DER MESSREIHE CT. DAS KALIBRIERTE <sup>14</sup> C-ALTER IST IN BEZUG AUF DAS JAHR 1950 N. CHR. ANGEGEBEN (BP).....	59
TABELLE 8: ERGEBNISSE DER ZYTOMETRISCHEN ANALYSE UND DER QUANTITATIVEN UND QUALITATIVEN KONTROLLE DER KONTROLLPROBEN DER MESSREIHE CC. ....	61
TABELLE 9: ERGEBNISSE DER <sup>14</sup> C-DATIERUNGEN DER KONTROLLPROBEN DER MESSREIHE CC. DAS KALIBRIERTE <sup>14</sup> C-ALTER IST IN BEZUG AUF DAS JAHR 1950 N. CHR. ANGEGEBEN (BP).....	63
TABELLE 10: ERGEBNISSE DER ZYTOMETRISCHEN ANALYSE UND DER QUANTITATIVEN UND QUALITATIVEN KONTROLLE DER PROBEN DER MESSREIHE CS. ....	66
TABELLE 11: ERGEBNISSE DER <sup>14</sup> C-DATIERUNGEN DER PROBEN DER MESSREIHE CS. DAS KALIBRIERTE <sup>14</sup> C-ALTER IST IN BEZUG AUF DAS JAHR 1950 N. CHR. ANGEGEBEN (BP).....	67
TABELLE 12: PROBENAHMEPUNKTE UND ERGEBNISSE DER SCHWERETRENNUNG. BEI KEINER PROBE WAR ES MÖGLICH, EINE KLARE TRENNUNG ZWISCHEN DEN POLLEN UND DEN DETRITISCHEN PARTIKELN VORNEHMEN ZU KÖNNEN.....	74

# 1. Einleitung und Zielsetzung

## 1.1. Einleitung

Im Zeitalter der globalen Erwärmung und des Klimawandels rückt die Betrachtung klimatischer Veränderungen vergangener Epochen der Erdgeschichte immer wieder in den Fokus der Öffentlichkeit. So erlaubt es die Erforschung der Klimageschichte Rückschlüsse auch auf gegenwärtige Veränderungen und deren Auswirkung auf die Natur und die menschliche Gesellschaft ziehen zu können.

Eine besondere Rolle nimmt dabei die Quartärgeologie ein. Eine Vielzahl an Klimaarchiven des Eiszeitalters Quartär geben einen genauen Einblick in die Wechselwirkung zwischen geologischen Prozessen und Klimaphänomenen wie Glaziale und Interglaziale, die nicht zuletzt auch den Siegeszug des Homo sapiens beschreiben.

Zu den bekanntesten Klimaarchiven zählen die Eisbohrkerne der grönländischen und antarktischen Eisschilde, Sedimentbohrkerne oder Speläothemen (Tropfsteine). Auf vielfältige Weise bieten jahreszeitliche Ablagerungen aus marinen oder limnischen Sedimentbohrkernen ein außergewöhnliches Potential zur Rekonstruktion des Paläoklimas sowie von natürlichen oder anthropogenen Vegetationsveränderungen auf einer regionalen oder lokalen Basis.

Hierfür werden die organischen und anorganischen Bestandteile des Sediments in Abhängigkeit von ihren Ablagerungsbedingungen analysiert. So können zum Beispiel Pollenanalysen, Analysen der Kieselalgenzusammensetzung (Diatomeen) oder die quantitative Erfassung von Holzkohle im Sediment einen Aufschluss über die Ökologie des Sees und seinem Einzugsgebiet geben, aus dem sich anschließend Rückschlüsse auf die klimatischen Begebenheiten ziehen lassen. Die Präzision solcher Analysen ist dabei von der zeitlichen und räumlichen Auflösung abhängig, mit der die Ablagerungsbedingungen rekonstruiert werden können, sowie der Einordnung dieser in entsprechende Chronostratigraphie. Die Chronostratigraphie erlaubt es, lokale und regionale geologische Einheiten sowie archäologische Archive zeitlich zu korrelieren. Jedoch bedarf es für die absolute Altersdatierung einer lagerstättenbezogenen Geochronologie.

So hat die Wissenschaft eine Vielzahl verschiedener Datierungsmethoden hervorgebracht, die es ermöglichen, Sedimente präzise in einen zeitlichen Kontext einordnen und eine belastbare Geochronologie erstellen zu können. Die Wahl der Datierungsmethode hängt dabei von dem zur Verfügung stehenden Material und dem zu betrachtenden Zeitrahmen ab.

Jahreszeitlich geschichtete Sedimente (Warven) bieten das Potential, zeitlich hochauflösende Rekonstruktionen von Umwelt- und Klimabedingungen zu erzeugen. Das Klimaarchiv des Vansees in Ostanatolien (Türkei) zeichnet sich durch seine außergewöhnlich gut erhaltenen jahreszeitlich feingeschichteten Sedimente aus. Sie entstehen unter ungestörten anoxischen Verhältnissen am Grund eines Sees und variieren in ihrer Zusammensetzung in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Entsprechend dieser Saisonalität sind jahreszeitlich geschichtete Sedimente besonders charakteristisch für Interglaziale (z.B. Holozän) und für warme Abschnitte während des Pleistozäns (z.B. Interstadiale). Die visuelle Zählung feinlaminiertes Sedimente erlaubt die Erstellung einer robusten und präzisen Warvenchronologie. Da relative Alters-Datierungen ein hohes Fehlerpotential aufweisen, müssen zusätzlich für robuste Chronologien absolute physikalische Datierungsmethoden herangezogen werden.

Für eine absolute Datierung von Materialien der letzten 50.000 Jahre hat sich die  $^{14}\text{C}$ -Datierung als Methode der Wahl etabliert. Sie erlaubt es, organisches Material wie Foraminiferen, als einzellige Protisten in marinen Archiven, oder pflanzliche Makrofossilien (Blattreste, Samen oder Holzkohlepartikel) aus Seesedimenten präzise zu datieren.

Die Verfügbarkeit von geeigneten Materialien in einer ausreichenden Reinheit und ausreichenden Quantität stellt den maßgebend limitierenden Faktor der  $^{14}\text{C}$ -Datierung dar. Vor allem Sedimente aus Klimaarchiven in ariden Klimazonen weisen kaum pflanzliche Makrofossilien auf, die für eine Datierung geeignet sind, so wie in den Sedimenten des Vansees. An ihrer statt können auch terrestrische Mikrofossilien wie zum Beispiel Pollen verwendet werden.

Pollen zeichnen sich durch ihre Vielzahl und die weite Verbreitung auch über weite Distanzen aus. Gelingt es, diese in einer ausreichenden Quantität und in einer ausreichenden Reinheit aus den heterogenen Sedimentproben zu isolieren, können Pollenkörner eine vielversprechende Alternative zur Erstellung einer belastbaren Geochronologie sein.

Für eine präzise und belastbare Radiokarbon-Datierung stellt die Isolierung von terrestrischen Mikrofossilien eine große Herausforderung dar. Bislang erfolgt die Separation von Pollen anhand von zeitintensiven, physikalisch-chemischen Trennverfahren, wie zum Beispiel die manuelle Auslese oder die dichtebasierte Schwertrennung, die jedoch kontaminationsanfällig bleiben. Eine erfolgversprechende Methode, die Qualität der Pollenanreicherung deutlich zu erhöhen, ist die Verwendung der Durchflussszytometrie nach Tennant et al. (2013a). Durch die ursprünglich biomedizinische Methode können einzelne Partikel entsprechend ihrer optischen Eigenschaften von heterogenem Probenmaterial differenziert und separiert werden (Tennant et al. 2013a).



## 1.2. Zielsetzung

In der vorgelegten Dissertation soll zum einen die Methode der Durchflusszytometrie zur Separation von fossilen Pollenkörnern aus heterogenen Sedimentproben weiter erprobt werden. Dabei geht es primär um die Entwicklung eines Ansatzes zur schonenden Aufbereitung der holozänen Sedimente des Vansees. Dessen Sedimente sind durch einen relativ niedrigen Anteil organischer Bestandteile gekennzeichnet und daher prädestiniert für die Verwendung der Durchflusszytometrie. Die Herausforderung bleibt dabei, ausreichend Pollen aus dem Sediment separieren zu können und damit die Präzision der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen zu erhöhen und gleichzeitig den Anteil der Fremdbestandteile in den Pollenkonzentraten gering zu halten, um fehlerhafte Datierungen, die sich auf Kontaminationen zurückführen lassen, ausschließen zu können.

Darüber hinaus soll über die erstellten Pollenkonzentrate und die  $^{14}\text{C}$ -Datierungen eine Chronologie für die Sedimente des Vansees erstellt werden. So soll aus den holozänen Sedimentbohrkernen des Vansees systematisch Probenmaterial entnommen, aufbereitet und datiert werden. Die tiefenabhängige Altersbestimmung wird anschließend über bestehende Chronologien, die in den letzten Jahrzehnten für die Sedimente des Vansees erstellt wurden, validiert.

## 2. Forschungsstand

### 2.1. Geographischer und geologischer Überblick

Der Vansee (38.6°N, 42.8°E; 1648 m ü. NHN) befindet sich auf dem Ostanatolischen Hochplateau, das sich über den östlichen Teil der Türkei erstreckt (Cukur et al. 2013; Stockhecke et al. 2012).

Die maximale Ausdehnung des Vansees beträgt 130 km in ENE-WSW Richtung und 52 km in WNW-ESE Richtung (Degens et al. 1984). Es ergibt sich eine Wasseroberfläche von 3574 km<sup>2</sup>. Der tiefste Punkt des Sees befindet sich im Tatvan Basin im Westen des Sees (Abb. 1), wo der Vansee eine Tiefe von 460 m erreicht (Litt et al. 2009; Stockhecke et al. 2014b). Das gesamte Wasservolumen beträgt 607 km<sup>3</sup> (Degens et al. 1984; Litt et al. 2009; Stockhecke et al. 2014b).

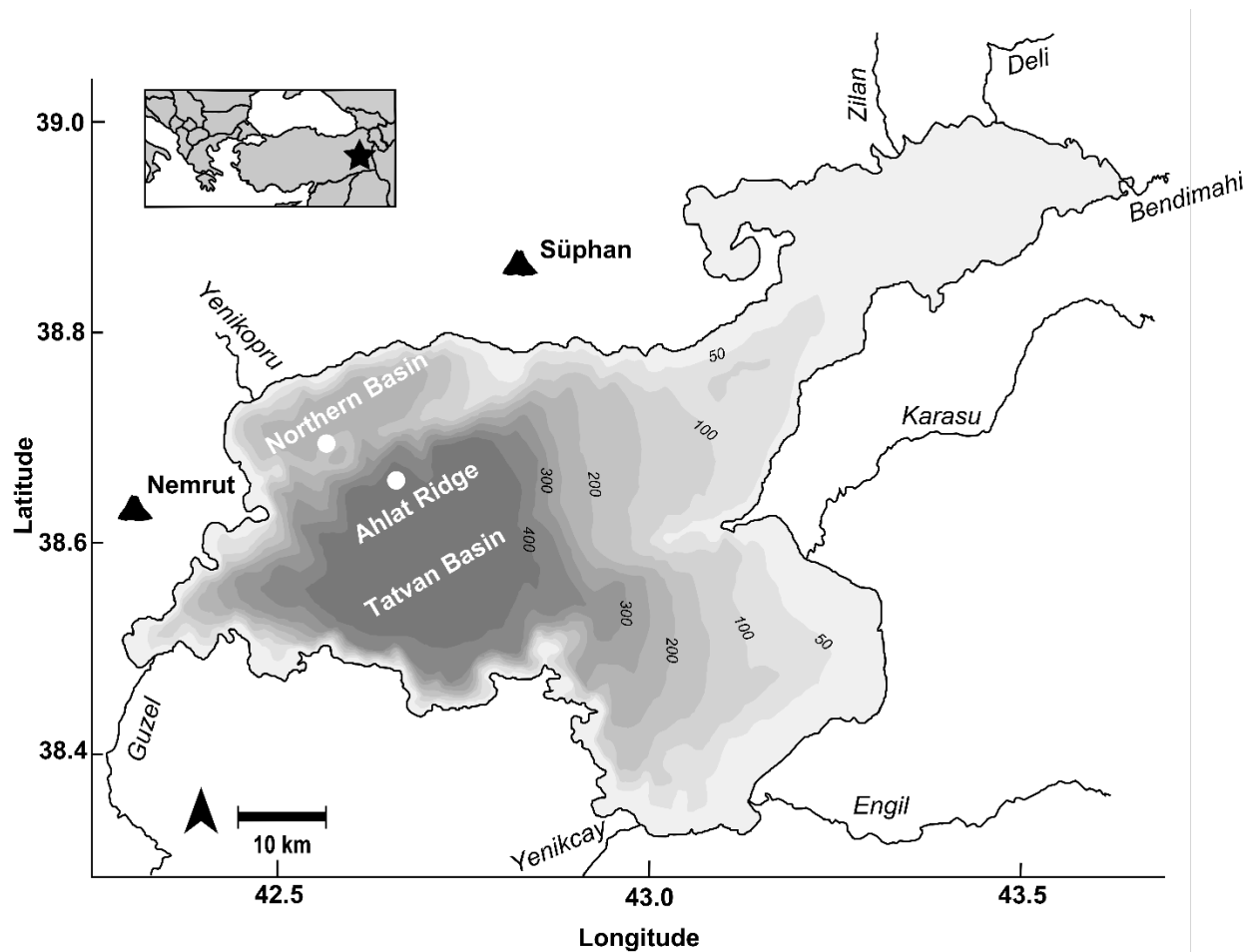
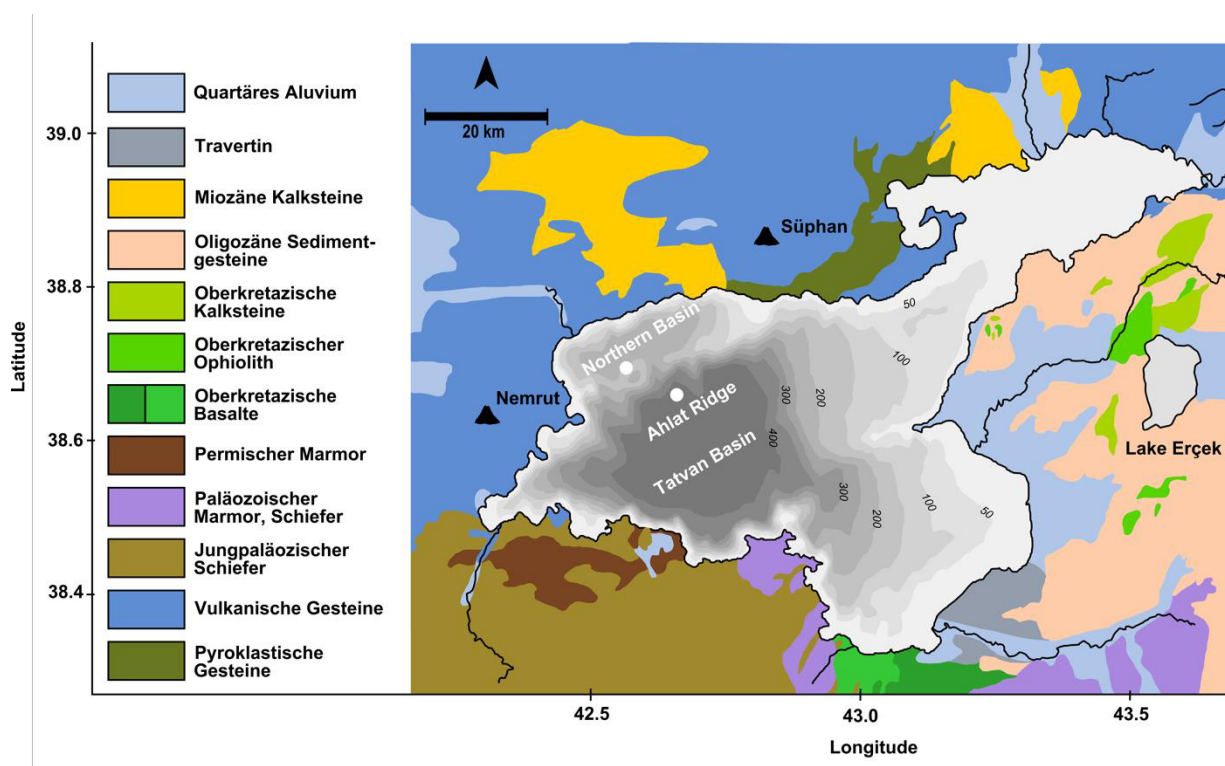


Abb. 1: Bathymetrische Karte des Vansees. Der tiefste Punkt des Sees befindet sich im westlich gelegenen Tatvan Basin (460 m Tiefe). Die in der vorliegenden Arbeit behandelten Bohrlokalitäten liegen am Ahlat Ridge, einer sublakustrinen Erhebung (375 m Tiefe) nördlich des Tatvan Basin (Steinhoff et al. 2022).

Die Tektonik Anatoliens ist durch die Lage in dem Kontaktbereich der Arabischen, Eurasischen und Anatolischen Platte äußerst dynamisch. Durch die nordwärts gegen die Eurasische Platte driftende Arabische Platte kommt es südlich des Vansees, an der Bitlis-Zagros-Sutur, zu einer Kontinent-Kontinent Kollision und zum Herausheben des Bitlis-Massivs. Diese Kollision und Verformung ist ein Teil der alpidischen Orogenese und dauert seit ca. 50 Mio. Jahren an.

In Folge der anhaltenden störungstektonischen Aktivität bildete sich nördlich der Bitlis-Zagros-Sutur das Muş-Becken als eine E-W streichende tektonische Senke aus (Cukur et al. 2013; Cukur et al. 2014; Stockhecke et al. 2014b; Toker et al. 2017). Auch das Van-Becken ist Teil der tektonischen Senke, ist aber räumlich vom Muş-Becken getrennt.

Gleichzeitig führt die Kollision der beiden Kontinentalplatten dazu, dass die Anatolische Platte als Kontinentalfragment der Eurasischen Platte nach Westen gedrückt wird (Toker et al. 2017). An den Kontaktstellen zu Eurasischer und Arabischer Platte entstanden zwei weitläufige Transformstörungen: die Ostanatolische Verwerfungszone (sinistral) und die Nordanatolische Verwerfungszone (dextral). Der Tripelpunkt dieser Strukturen liegt westlich des Vansees (Toker et al. 2017).



**Abb. 2:** Vereinfachte Darstellung der Geologie um den Vansee. Die ältesten Gesteine stellen metamorph überprägte Sedimentgesteine des Paläozoikums dar und sind im Süden aufgeschlossen. Im Osten werden die Metamorphite von kretazischen und paläogenen Sedimentgesteinen überlagert, der Norden und Osten wird durch junge Vulkanite dominiert (nach Akbaş et al. 2011; Degens et al. 1984; Keskin 2007).

Entlang der Verwerfungszonen erstreckt sich das Südost-Taurusgebirge, dessen östliche Fortsetzung das Bitlis-Massiv ist. Während der Konvergenz der Arabischen und Eurasischen Platten in der oberen Kreide begann die Hebung dieses Gebirges. Zu dieser Zeit setzte eine erste Phase der vulkanischen Aktivität ein. Eine weitere Phase vulkanischer Aktivität im Bereich nördlich der Bitlis-Zagros-Sutur folgte im Miozän und dauert weiter an (Keskin 2003).

Charakteristisch, auch für die Sedimente des Vansees, sind die aktiven quartären Stratovulkane am Nord- und Westufer des Sees (Degens et al. 1984). Namentlich handelt es sich hierbei um den Nemrut Dağı (im Westen; 2948 m), der das Van-Becken vom Muş-Becken trennt, und den Süphan Dağı (im Norden; 4058 m) (Degens et al. 1984; Sumita and Schmincke 2013). Sie sind eine Folge der anhaltenden konvergenten Plattenbewegung. Weitere große Vulkane, die mit dieser in Zusammenhang gebracht werden können, aber nicht unmittelbar am Vansee liegen, sind der Stratovulkan Ararat (5137 m) sowie der Schildvulkan Tendürek Dağı (3584 m) nordöstlich des Vansees an der Grenze zum Iran.

Nördlich des Muş-Beckens erstreckt sich der Ostanatolische Akkretionskomplex als Teil des Ostanatolischen Hochplateaus (Keskin 2007). Es ist während der Subduktion der Arabischen Platte und der Eurasischen Platte in der späten Kreide und dem Oligozän entstanden (Şengör et al. 2003). Typische Gesteine stellen kretazische Kalke, tiefmarine Flysch-Sedimente aus dem Paläogen und Reste ozeanischer Kruste (Abb. 2) dar (Şengör et al. 2003). Sie werden größtenteils von Basalten, aber auch Vulkaniten aus saurer Schmelze überlagert, die seit dem späten Miozän den Ostanatolischen Akkretionskomplex und damit den Untergrund nördlich des Vansees (Abb. 2) dominieren (Keskin 2003; 2007). Die Hebung des Komplexes und die Bildung eines Hochplateaus erfolgte im mittleren Miozän (Keskin 2007).

Das südlich des Muş-Beckens gelegene Bitlis-Massiv wird durch metamorph überprägte paläozoische Sedimentgesteine und permische Kalksteine (Abb. 2) gebildet (Degens et al. 1984; Keskin 2007). Im Osten des Vansees schließen sich tertiäre Sedimentgesteine sowie kretazische Kalk- und Sandsteine des Grundgebirges an (Kurtman et al. 1978; Stockhecke et al. 2014a). Zwischen dem Vansee und dem Erçeksee im Osten sowie in der unmittelbaren Umgebung sind auch ophiolitische Fragmente aufgeschlossen (Akbaş et al. 2011; Keskin 2007; Kurtman et al. 1978).

Eine Besonderheit bilden Travertin-Ablagerungen südlich der Stadt Van, im Südosten des Sees (Abb. 2), die eine Mächtigkeit von bis zu 50 m erreichen können. Ihre Entstehung ist eng mit der des Vansees verknüpft, jedoch ist deren Bildung nach wie vor nicht geklärt (Degens et al. 1986; Valetton 1978).

Vor ca. 600.000 Jahren bildete sich im Van-Becken aus einem zunächst fluviatilen System allmählich der Vansee (Stockhecke et al. 2014a; Stockhecke et al. 2014b). Eruptionen und pyroklastische Ströme, die mit dem Nemrut Dağı in Verbindung gebracht werden, schnitten den noch jungen Vansee von seinem Entwässerungsweg zum Euphrat im Westen ab und ein endorheischer See entstand (Degens et al. 1984; Karaoğlu et al. 2004; Litt et al. 2009; Toker et al. 2017). Der Wasserhaushalt wird ausschließlich über die Niederschläge und Evaporation reguliert. Die Hauptzuflüsse stellen Bendimahı Cay und Zilan Dere im Nordosten und Engil Suyu im Südosten des Vansees dar (Abb. 1). Der Anteil am gesamten Wassereintrag beträgt für die Hauptzuflüsse ca. 50 %. Während früher die jährlichen Seespiegelschwankungen deutlich ausgeprägter sein konnten, liegt die Amplitude heutzutage bei ca. 0,5 m (Lemcke 1996; Reimer et al. 2009; Stockhecke et al. 2012).

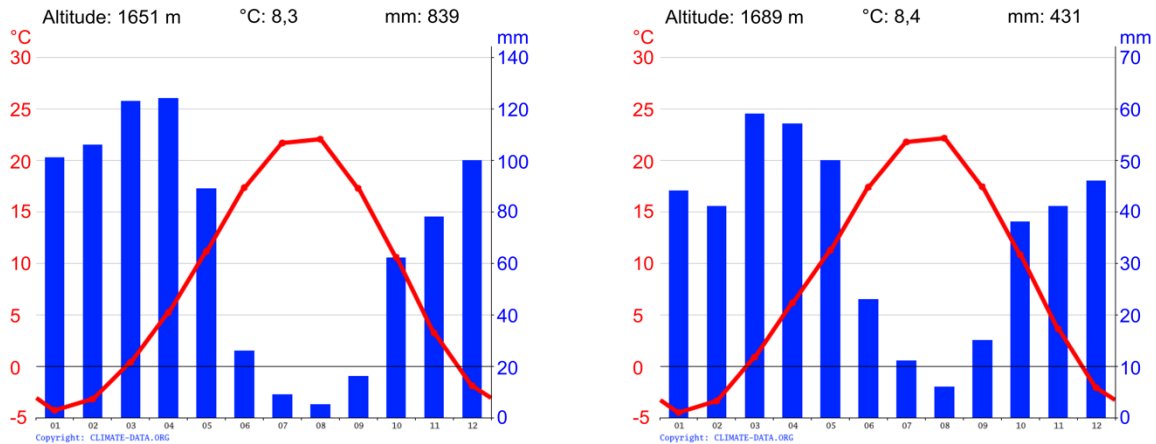
Mit dem Vulkanismus in Zusammenhang stehende, subaquatische, hydrothermale Quellen führen, in Kombination mit der chemischen Verwitterung der vulkanischen Ablagerungen und der Evaporation, zu einem ausgeprägten basischen Charakter (Keskin 2007; Kipfer et al. 1994; Litt et al. 2012; Toker et al. 2017). Dabei liegt der pH-Wert des Wassers bei 9,72, die Alkalinität bei  $155 \text{ m eq l}^{-1}$  und der Salzgehalt bei 23‰ (Kaden et al. 2010; Kempe et al. 1991; Reimer et al. 2009; Stockhecke et al. 2014b). Aus diesem Grund ist auch die Biodiversität des Vansees sehr gering (Kempe et al. 1991; Landmann et al. 1996a). Der Vansee gilt als der weltgrößte Soda-See (Kadioğlu et al. 1997; Landmann et al. 1996a).

## 2.2. Klima

Der ostmediterrane Raum liegt im Einflussbereich großer Hochdrucksysteme, die eine ausgeprägte klimasensitive Entwicklung des Vansees zur Folge haben.

Ostanatolien wird als semi-arid und winterhumid gekennzeichnet (LaFontaine et al. 1990; Lemcke 1996; Pickarski et al. 2015b; Stockhecke et al. 2012). So fällt der jährliche Niederschlag ( $\varnothing$  300 mm – 800 mm) fast ausschließlich in den Wintermonaten (Abb. 3) in Form von Schnee, während die Sommer heiß und trocken sind (Huguet et al. 2012; Van Zeist et al. 1975; Wick et al. 2003). Dabei gibt es eine erhebliche Disparität der Niederschlagsverteilung, die durch die Orographie Ostanatoliens begünstigt wird (Litt et al. 2014). Während im Südwesten die Niederschläge 600 mm – 800 mm betragen können (Abb. 3), fallen im Nordosten lediglich 300 mm – 400 mm Niederschlag im Jahr (Abb. 3), bedingt durch das Südost-Taurusgebirge sowie das Bitlis-Massiv als natürliche Barriere (Kurtman et al. 1978).

Als Folge des kontinentalen Klimas liegen die Schwankungen der mittleren Temperaturen im Jahresverlauf bei 25-30°C (Degens et al. 1984; Van Zeist et al. 1975). Die Durchschnittstemperatur im Juli beträgt 21,2°C und im Januar -3,7°C. Durch den Chemismus des Vansees friert dieser in den Wintermonaten nur partiell zu (Landmann et al. 1996b).



**Abb. 3: Klimadiagramme der Städte Tatvan (links) und Van (rechts).** Während die Durchschnittstemperaturen sehr ähnlich sind, unterscheidet sich die Niederschlagsmenge vom Westen des Vansees (Tatvan: 839 mm/a) zum Osten (Van: 431 mm/a) deutlich (Quelle: climate-data.org).

Die Ausprägung des Klimas wird maßgeblich durch die Lage des Subtropen-Jetstreams und des Polarfront-Jetstreams beeinflusst (Litt et al. 2012; Roberts and Wright Jr 1993; Stockhecke et al. 2014b). In den Wintermonaten liegen die Jetstreams in südlicher Lage. Dabei verläuft der Subtropen-Jetstream über der Sahara und der Polarfront-Jetstream über Südeuropa und das Schwarze Meer, sodass feuchte Luftmassen des zyprischen Tiefdrucksystems vom Mittelmeer in Richtung des Vansees gelangen (LaFontaine et al. 1990; Litt et al. 2009). Die sehr niedrigen Temperaturen in Ostanatolien werden dabei von der Lage des sibirischen Hochdrucksystems nordöstlich des Vansees bestimmt. Im Laufe des Jahres wandern die Jetstreams von ihrer Position nach Norden (Kadioğlu et al. 1997). Der Subtropen-Jetstream liegt nun nördlich des Vansees über dem Schwarzen Meer, sodass sich aufgrund des parallel nach Norden verlagernden, subtropischen Hochdrucksystems eine stabile, heiße und trockene Wetterlage über dem Vansee ausbildet (Akçar and Schlüchter 2005; Stockhecke et al. 2014b).

Die Oszillation der Jetstreams als Folge auf globale Klimaveränderungen führt dazu, dass die Ökosysteme in Ostanatolien und besonders der Vansee auf diese Veränderungen reagieren. Dies macht die Sedimente des Vansees zu einem ausgesprochen wertvollen Archiv für die Untersuchung klimatischer und ökologischer Veränderungen, besonders für das letzte Eiszeitalter.

Entsprechend der charakteristischen Ausbildung von Glazial-Interglazial-Zyklen des Pleistozäns lässt sich der Wechsel von Kalt- und Warmzeiten an der Pollenzusammensetzung der Vansee-Sedimente nachvollziehen.

Die Bildung des Vansees setzte in der Marinen Isotopenstufe MIS 15, rund 600.000 Jahre vor heute, ein (Stockhecke et al. 2014a). Thermophile Elemente wie Eichen deuten auf ein Interglazial hin, das am Beginn der sedimentären Sequenz der Ahlat-Ridge Bohrkerns steht (Litt et al. 2014). Auch während der nächstjüngeren Interglaziale MIS 13, MIS 11, MIS 9 und MIS 7 deutet der hohe Anteil an Eichenpollen in den Sedimenten des Vansees auf eine weitläufige Ausbreitung von Eichen- und Eichenmischwäldern hin und damit auf ein gemäßigttes Klima (Litt et al. 2014; Stockhecke et al. 2014a).

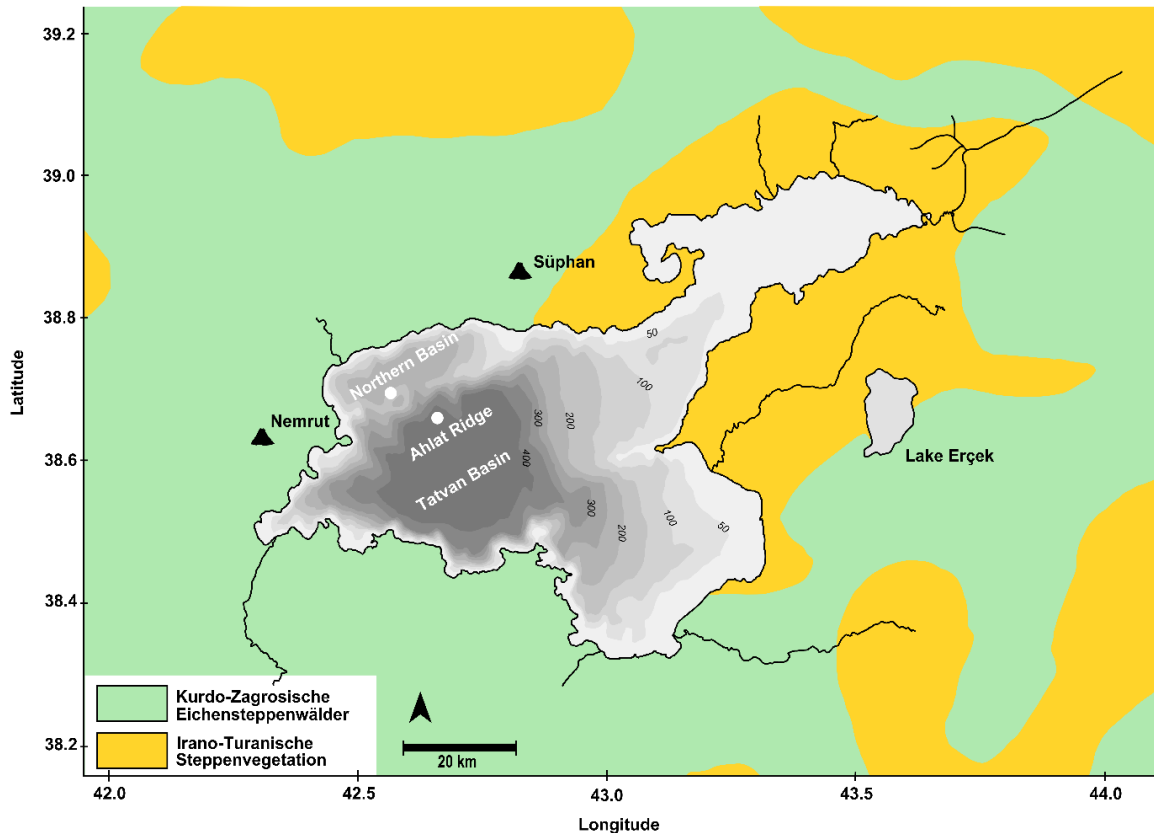
Die Glaziale hingegen zeigen eine abnehmende Verbreitung der wärmeliebenden Gehölze sowie eine abnehmende Vegetationsdichte an. Der hohe Anteil von Chenopodiaceen und *Artemisia*-Pollen deuten auf eine weite Ausbreitung von Steppen und Wüstensteppen hin (Litt et al. 2014).

Während der Eem-Warmzeit vor ca. 126.000 – 115.000 Jahren (MIS 5e) dominierten erneut offene Eichenmischwälder. Als Indikator für ein gesteigertes kontinentales Klima (im Vergleich zum Holozän) mit wärmeren Sommern, aber auch ausgeprägteren, kälteren Wintermonaten, weisen die Sedimente einen hohen Anteil an Kiefernpollen auf (Litt et al. 2014). Das Interglazial war durch einen Xero-Euxinischen-Steppenwald charakterisiert (Zohary 1973).

Im Laufe des Weichsel-Glazials nahm der Anteil wärmeliebender Gehölze erneut ab und es bildete sich eine fast baumlose Steppe aus. Diese wurde im Laufe des Holozäns allmählich durch einen Eichensteppenwald verdrängt.

### **2.3. Vegetation**

Die klimatischen und topographischen Gegebenheiten des Einzugsgebiets des Vansees führen zur Entstehung niederschlagsbedingter Vegetationszonen. Allgemein wird Südwest-Anatolien durch die Irano-Turanische Vegetationszone dominiert (Abb. 4). Sie zeichnet sich durch baumlose Steppen und Steppenwälder aus. Vor allem die Plateaus nördlich und nordöstlich des Vansees sind stark durch das semi-aride Klima beeinflusst und weisen typische Steppenelemente, wie Chenopodiaceae oder Poaceae auf (Litt et al. 2014; Van Zeist and Bottema 1991). Namensgebend für die Steppenvegetation ist *Artemisia fragrans* (Frey and Kürschner 1989; Zohary 1973).



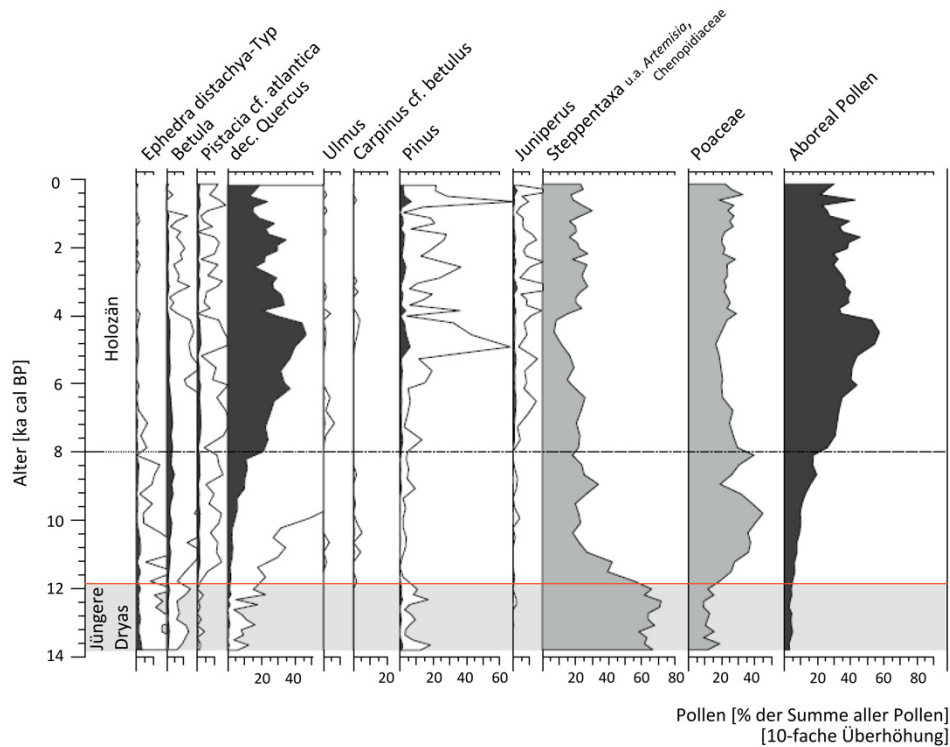
**Abb. 4:** Ausbreitung der Vegetationszonen im Einzugsgebiet des Vansees. Im Westen des Sees und in den Gebirgslagen dominieren Eichensteppenwälder der Kurdo-Zagrosischen Vegetationszone. In den trockeneren Gebieten im Osten des Vansees herrscht die Irano-Turanische Steppenvegetation vor (verändert nach Litt et al. 2014; Pickarski et al. 2015b).

In den Gebirgslagen südlich des Vansees dominiert die Kurdo-Zagrosische Vegetation in Form von winterharten Eichen-Steppenwäldern (Abb. 4). Vorherrschende Taxa sind hier sommergrüne Eichen (*Quercus brantii*, *Q. ithaburensis*, *Q. infectoria*, *Q. boissieri*, *Q. robur*, *Q. petraea*), Wacholder (*Juniperus excedrus*), Pistazie (*Pistacia atlantica*), aber auch Kiefer (*Pinus sylvestris*) (Frey and Kürschner 1989). Als charakteristisches Steppenelement sind auch hier *Artemisia fragrans* sowie Cruciferae, Chenopodiaceae oder auch *Ranunculus spp.* zu nennen (Van Zeist et al. 1975; Wick et al. 2003; Zohary 1973).

Palynologische Untersuchungen (Abb. 5) zeigen, dass während zu Beginn des Holozäns die Region des Vansees von Grassteppen, repräsentiert durch Chenopodiaceae oder *Artemisia*-Pollen, dominiert war, der Anteil an Eichenwäldern bei humiderem Klima allmählich zunahm (Litt et al. 2009; Wick et al. 2003). Mit zunehmender Aridität ab 4.000 BP (before present = 1950) stieg der Anteil an Steppenelementen, sodass sich die Eichenwälder zu einem Eichensteppenwald wandelten. Dominierende Gattungen wie *Quercus calliprinos*, *Q. robur*, and *Q. brantii*, oder auch *Pistacia atlantica* und *Juniperus oxycedrus* machen bis zu 50 % der terrestrischen Pollenkörner in den



Sedimenten aus (Litt et al. 2014; Pickarski et al. 2015a; Wick et al. 2003). Zusätzlich sind eine große Anzahl kleiner ( $\varnothing$  20-25  $\mu\text{m}$ ), sphärischer, farbloser Moosporen (Bryophyta) im Sediment enthalten (Pickarski et al. 2015b; Pickarski and Litt 2017), deren Vorkommen stark schwankt und mit dem Verlauf der Glazial-Interglazial-Zyklen korreliert. Während in den Glazialen der Anteil sehr gering ist, machen die Moosporen in den Interglazialen und im Holozän den überwiegenden Anteil der Sporomorphen in den Sedimenten aus (Pickarski et al. 2015b; Pickarski and Litt 2017).



**Abb. 5:** Pollendiagramm der wichtigsten Pflanzen-Taxa der Jüngeren Dryas und des Holozäns. Im ausgehenden Pleistozän und zu Beginn des Holozäns dominieren typische Taxa der Steppenv egetation. Diese werden jedoch allmählich von typischen Taxa der Eichensteppenv egetation verdrängt (verändert nach Litt et al. 2009; Pickarski et al. 2015b).

## 2.4. Sedimentation

Die starke Saisonalität und die Niederschlagsverteilung tragen maßgeblich zum Eintrag und der Zusammensetzung der Sedimente des Vansees bei (Stockhecke et al. 2012).

Dieser jährliche Akkumulationszyklus setzt sich aus einer hellen, grobkörnigen Sommerlage, bestehend aus autochthonen Karbonaten, und einer dunklen, feinkörnigen Winterlage aus allochthonen, detritischen Tonen, Silten und organischem Material zusammen (Litt and Anselmetti 2014; Wick et al. 2003). Die Kombination aus heller und dunkler Lage, die die Sedimente eines Jahres

widerspiegelt, wird als Warve bezeichnet. Die jahreszeitlich geschichteten Sedimente ermöglichen eine hochauflösende Analyse sedimentologischer und klimatologischer Prozesse und wie sie sich über bestimmte Zeiträume verändern (Zolitschka et al. 2015). Da die Bildung der Warven im Vansee mit den Jahreszeiten einhergeht, lassen sie sich ausschließlich in solchen Klimaphasen finden, die durch ein Jahreszeitenklima geprägt sind (Abb. 6). In den Sedimenten aus den Hochphasen der Glaziale fehlt die Lamination.

Zu der Ablagerung jahreszeitspezifischer Minerale trägt die Stratifizierung der Wassersäule maßgeblich bei. Während im Sommer der Vansee in Epi-, Meta- und Hypolimnion geteilt ist, kann es im Winter und bei sinkenden Wassertemperaturen zu einem Durchmischen der Wasserschichten kommen. Im Falle des Vansees reicht die Durchmischung nicht bis zum Grund des Sees, weshalb sich eine alljährliche anoxische Zone ausbildet (Huguet et al. 2011). Dies hat zur Folge, dass es am lebensfeindlichen Seeboden zu keiner biologisch bedingten Störung der Sedimentablagerung kommen kann (Landmann and Kempe 2005). Die Mächtigkeit der anoxischen Zone ist abhängig vom Grad der Durchmischung, sodass diese erst in 440 m Tiefe einsetzen kann, aber auch auf eine Tiefe von 250 m ansteigen kann (Kaden et al. 2010; Stockhecke et al. 2012).

Steigende Temperaturen und ein erhöhter Eintrag von Süßwasser durch die Schneeschmelze ermöglichen die allmähliche Stratifizierung des Vansees ab dem Frühjahr. Mit der einsetzenden Schneeschmelze nimmt der Eintrag an Nährstoffen, in Form von detritischen Mineralen und gelösten  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen aus den karbonathaltigen Gesteinen, im Einzugsgebiet in den Vansee zu (Kuzucuoğlu et al. 2010; Reimer et al. 2009). Mit Engil Suyu, Bendimahi Cay und Zilan Dere befinden sich die Hauptzuflüsse des Vansees im Osten (Abb. 1).

Der große Anteil an Nährstoffen und steigende Temperaturen führen zu einer Algenblüte. Die mit der Photosynthese des Phytoplanktons einhergehende Assimilation von Kohlenstoffdioxid ( $\text{CO}_2$ ) führt zu einer verstärkten autochthonen Ausfällung von Calciumkarbonat ( $\text{CaCO}_3$ ). Aufgrund des hohen pH-Wertes des Seewassers liegt sämtlicher gelöster Kohlenstoff in Hydrogenkarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ) vor. Bei der Aufnahme von  $\text{CO}_2$  durch das Phytoplankton reagieren die verbliebenen Bestandteile mit dem eingetragenen Calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) zu  $\text{CaCO}_3$  und fallen aus. Dieser Prozess wird durch Evaporation und die mangelnde Durchmischung der Wassersäule begünstigt, da dadurch das Epilimnion sowohl mit  $\text{HCO}_3^-$  als auch mit  $\text{Ca}^{2+}$  übersättigt ist.

Mit beginnender Trockenheit in den Sommermonaten lässt auch die Karbonatausfällung allmählich nach (Huguet et al. 2011; Stockhecke et al. 2012). Dies resultiert aus dem nachlassenden Eintrag von gelösten  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen. Trotzdem trägt die anhaltende Evaporation dazu bei, dass nach wie vor autochthon  $\text{CaCO}_3$  ausfällt (Landmann and Kempe 2005).

Die teilweise Durchmischung des Vansees in den Wintermonaten begünstigt die Ablagerung organischer Partikel und siltig-tonigem Detritus (Stockhecke et al. 2012). Durch die anoxischen Bedingungen am Seeboden werden die organischen Bestandteile des Sediments nicht zersetzt. Sie sorgen so für die charakteristische dunkle Färbung der Winter-Lagen (Huguet et al. 2011; Kaden et al. 2010; Litt et al. 2009).

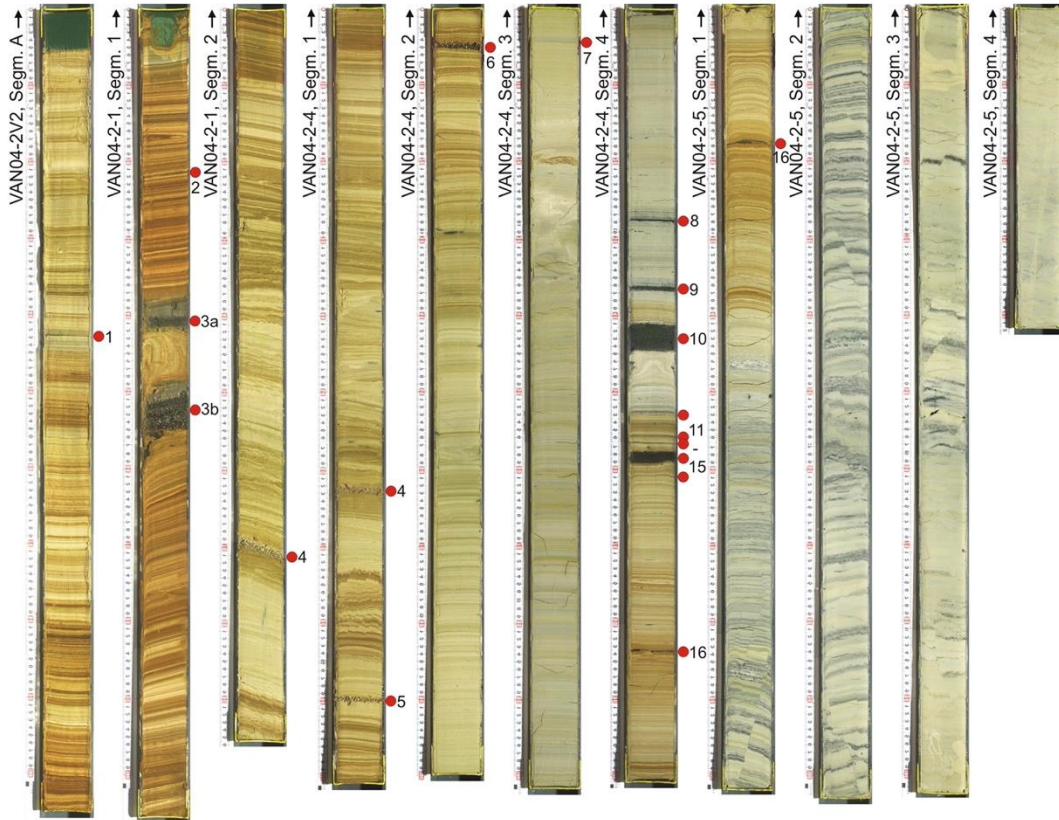
Die eingetragenen Sedimente bestehen zu einem großen Anteil aus autochthonem Calciumkarbonat ( $\text{CaCO}_3$ ; 33 % - 67 %) und detritischen Mineralen (bis 58 %) (Stockhecke et al. 2012). Hinzu kommen in geringen Mengen organische Materialien (7 %) und biogene Silikate (3 %). Das biogene Silikat entstammt der Biomassenproduktion des Sees.

Witterungsbedingte Variabilität des Eintrags an Sedimenten führt zu einer variablen Ausprägung der Warven. So kann eine Warve in ihrer Mächtigkeit von  $< 0,5$  mm bis ca. 1 mm schwanken, oder zwischen den Laminae einen schwer erkennbaren, graduellen Übergang haben (Stockhecke et al. 2014b). Die Sedimente der Glaziale sind weitestgehend undifferenziert. Bedingt durch fehlende, bzw. nur schwach ausgeprägte Jahreszeiten, fehlten die charakteristischen Gegebenheiten, die zur Ausbildung einer zyklischen Warve führen (Litt et al. 2014). Darüber hinaus ist für die Sedimente des Vansees die Ablagerung von Massenstromablagerungen und vulkanischen Aschen charakteristisch (Abb. 6). Die vulkanischen Aschelagen sind an ihrer Farbe und der Korngröße gut von denen der normalen Lamination zu unterscheiden.

Anhand der Sedimente lassen sich zwei Hauptphasen der vulkanischen Aktivität seit dem LGM am Vansee ausmachen. Es kann eine aktive Phase zwischen 11.900 – 12.900 Jahren BP und zwischen 2.600 – 7.200 Jahren BP anhand von vulkanischen Aschelagen (Tephren) im Sediment (Abb. 6) bestimmt werden (Landmann et al. 2011). Für das Holozän lassen sich sieben Tephren bestimmen. Es wird angenommen, dass sich Tephra V-1 bis V-6 auf Eruptionen des Nemrut Dağı im Westen des Vansees und Tephra V-7 auf Auswürfe des Süphan Dağı zurückführen lassen (Sumita and Schmincke 2013).

Bei den Massenstromablagerungen muss zwischen Turbiditen und Rotationsblock-Rutschungen unterschieden werden. Beiden gemein ist der subaquatische, gravitativ bedingte Transport in tiefere Bereiche des Sees. Charakteristisch für die Ablagerung von Turbiditen ist die Gradierung. In den Suspensionströmungen wird die vorhandene Struktur des Sediments aufgelöst und die Partikel werden in Abhängigkeit von Korngröße und Gewicht resedimentiert. Turbidite sind durch eine grobkörnige Basis erkennbar, die zum Hangenden hin feiner wird und von einer Tonschicht abge-

geschlossen wird (Bouma 1964). Aufgrund der tonig-siltigen Zusammensetzung der Vansee-Sedimente fehlt den Turbiditen meist eine grobkörnige Basis. In den Sedimentbohrkernen können Turbidite daher primär über die Ausbildung von Homogenbereichen identifiziert werden.



**Abb. 6:** Fotos der laminierten Sedimentbohrkerne des Vansees (Ahlat-Ridge). Die roten Punkte markieren die Lage von pyroklastischen Sedimenten in Form von Tephren. Besonders markant sind die vulkanischen Aschelagen V-3a und V-3b aus dem Holozän und V-8 bis V-10 sowie V-15 aus dem späten Pleistozän (© Fotos: G. Oleschinski. Graphische Zusammenstellung: T. Litt und G. Heumann).

Unverfestigte Rotationsblockströme werden hingegen nicht resuspendiert, sondern können als Sedimentpaket von den Hängen eines Sedimentationsbeckens gravitativ nach unten transportiert werden. Dabei wird das Sedimentpaket deformiert und lagert sich zum Teil diskordant auf den Ablagerungen im Becken ab (Stockhecke et al. 2014b). Ursächlich für die Entstehung der Suspensionsströme und subaquatischen Rutschungen können unter anderem auch seismische Ereignisse sein.

## 2.5. Forschungsgeschichte Vansee

Erste hydrologische Untersuchungen am Vansee wurden 1974 durchgeführt (Degens et al. 1984; Kempe and Degens 1978). Neben allgemeinen hydrochemischen, seismischen und geophysikalischen Untersuchungen wurden auch neun Bohrkerne für geochemische, mineralogische und paläobotanische Untersuchungen entnommen (Degens et al. 1984; Kempe and Degens 1978). Sie konnten genutzt werden, um eine erste Warvenchronologie zu erstellen, die fast das komplette Holozän (10.420 Jahre) abdeckt (Degens et al. 1984; Kempe 1977; Kempe and Degens 1978). Die Zählung der annuellen Laminae erfolgte dabei makroskopisch visuell ab der jüngsten identifizierbaren vulkanischen Aschelage, da der Erhaltungszustand der darüber liegenden Warven als schlecht gekennzeichnet wurde (Kempe and Degens 1978). Diese vulkanische Aschelage wurde mit dem historisch belegten Ausbruch des Nemrut Dağı im Jahr 1331 in Verbindung gebracht (Kempe and Degens 1978).

Eine weitere Bohrkampagne führte 1990 in das Tatvan Basin des Vansees (Kempe et al. 1991; Landmann et al. 1996b; Lemcke 1996). Auch hier wurden für sedimentologische, biologische und geochemische Untersuchungen Bohrkerne entnommen. Diese erreichten eine Länge von bis zu 10 m und deckten einen Zeitraum bis zum letzteiszeitlichen Maximum (Last glacial maximum: LGM) vor ca. 26.000 bis 21.000 Jahren ab. Unbeeinflusst von großen, subaquatischen Rutschungen sind die Sedimente in den letzten 14.570 Jahren durchgehend laminiert, was eine hochauflösende Analyse dieser gewährleistete (Landmann and Kempe 2005; Landmann et al. 1996b; Wick et al. 2003). Anhand von Warvenzählungen (visuell und automatisiert) konnte die Holozän-Pleistozän Grenze auf ein Alter von  $10.920 \pm 132$  Jahren BP datiert werden (Landmann et al. 1996b).

Bereits Landmann et al. (1996b) beschrieben eine Diskrepanz zu der vorangegangenen Warvenchronologie von Kempe and Degens (1978), die am Ende des Kerns mehrere tausend Jahre betrug. Als Ursache dafür wurde sowohl die schlechte Erhaltung der Laminae im oberen Bereich der Sedimentbohrkerne von 1974, als auch die Fehleranfälligkeit beim Zählen an der Sedimentoberfläche gesehen.

Im Jahr 2004 wurden, zur Vorbereitung des ICDP-Projekts PALEOVAN, Voruntersuchungen am Vansee durchgeführt (Litt et al. 2009). Neben seismologischen Untersuchungen wurden 34 Kurzbohrkerne an zehn verschiedenen Lokalitäten im See für geochemische und paläoklimatische Analysen entnommen (Litt et al. 2009). Hierfür wurde ein Deep-Water Percussion-Style Piston Corer (UWITEC) verwendet (Litt et al. 2009). Besonderes Augenmerk wurde hierbei auf den Ahlat Ridge, eine sublakustrische Erhebung in 375 m Wassertiefe am Nordwestrand des tiefen Tatvan Basins, gelegt. Dessen Morphologie begünstigt die störungsfreie und kontinuierliche Ablagerung

der Sedimente bei gleichzeitig erschwerter Ablagerung von Massenstromablagerungen (Litt et al. 2009). Sie bilden die Grundlage zu den in diesem Promotionsvorhaben verwendeten Sedimenten und auch für die Durchführung des PALEOVAN-Projekts von 2010. Ein erstelltes Kompositprofil erreicht eine Länge von 9 m und reicht, ähnlich wie die Sedimentbohrkerne von 1990, in das letzte Glazial (ca. 20.000 Jahre) zurück (Litt et al. 2009).

Im Zuge des ICDP-Projektes PALEOVAN wurden am Ahlat Ridge (ICDP-Site 5034-2) und zusätzlich im Northern Basin (ICDP-Site 5034-1) nordwestlich des Tatvan Basins Bohrungen abgeteuft. Dabei konnte im Northern Basin 140 m Sediment abgeteuft werden, am Ahlat Ridge 219 m. Das Profil des Ahlat-Ridge bildet eines der längsten kontinentalen Klimaarchive im Nahen Osten (Litt et al. 2012; Litt et al. 2011). Die Sedimente des Ahlat Ridge umfassen die letzten 600.000 Jahre und reichen bis zur Entstehung des Vansees (Litt et al. 2014). Darin enthalten sind fünf Glazial-Interglazial-Zyklen (Kwiecien et al. 2014; Stockhecke et al. 2014a). Die Sedimente aus dem Northern Basin können genutzt werden, um den Einfluss vulkanischer Eruptionen auf die Sedimentationsprozesse im Vansee zu untersuchen (Çağatay et al. 2014; Litt and Anselmetti 2014). Die Geochronologie der Sedimente des Ahlat Ridge von Stockhecke et al. (2014a) stützt sich vor allem auf absolute Datierungsmethoden ( $^{14}\text{C}$ -Daten und  $^{39}\text{Ar}/^{40}\text{Ar}$ -Datierungen von ca. 20 vulkanischen Aschelagen) und den klimatostratigraphischen Abgleich zu den grönländischen und antarktischen Eisbohrkernen, sowie Speläothemen-Daten ( $^{230}\text{Th}/^{234}\text{U}$ -Datierung, stabile Isotope und Spurenelemente) aus China. Speläothemen sind sekundär geschichtete Mineralablagerungen in feuchten Höhlen, wie sie Stalaktiten und Stalagmiten bilden. Für die Datierung der letzten 116.000 Jahre wurden NGRIP und GICC05 Eisbohrkerne, Speläothemen-Daten für den Zeitraum 116.000 – 400.000 BP und für die ältesten Segmente der Vansee-Kerne antarktische Eisbohrkerne (400.000 – 600.000 BP) verwendet. Daneben wurde zusätzlich ein unabhängiger Stellvertreter-Datensatz, ein sogenannter Proxy-Datensatz, aus geochemischen Element-Messungen (XRF-Messungen) (Kwiecien et al. 2014), Messungen des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) (Stockhecke et al. 2014a) und palynologischen Daten (Litt et al. 2014) für die Konstruktion des Alterstiefenmodells verwendet. Die Sedimente des Holozäns konnten anhand von fünf markanten vulkanischen Aschelagen zur Warvenchronologie von Landmann et al. (1996b) korreliert werden (Stockhecke et al. 2014a).

## 2.6. AMS Radiokarbondatierung

Die Radiokarbondatierung ( $^{14}\text{C}$ ) ist eine vielfältig genutzte Methode, um belastbare Geochronologien für Sedimente aus Seen als wichtige Klimaarchive erstellen zu können.

Die Methode basiert auf dem radioaktiven Zerfall kosmogen gebildeter  $^{14}\text{C}$ -Nuklide. Sie entstehen unter dem Einfluss kosmischer Strahlung aus stabilen  $^{14}\text{N}$ -Nukliden. In Form von  $^{14}\text{CO}_2$  wird das Radionuklid von Organismen aufgenommen. Bedingt durch den Stoffwechsel ist das Verhältnis der Kohlenstoffnuklide in den Organismen stets identisch zum natürlichen Verhältnis der Nuklide in der Atmosphäre. Mit dem Absterben des Organismus kann sich das Equilibrium nicht mehr ausbilden und es beginnt der Zerfall der eingebauten  $^{14}\text{C}$ -Nuklide. Mit einer Halbwertszeit von  $5.730 \pm 40$  Jahren zerfallen die radioaktiven  $^{14}\text{C}$ -Nuklide unter der Abgabe eines Elektrons zu stabilem Stickstoff ( $\beta$ -Zerfall) (Holden 1990). Dadurch ändert sich allmählich das Verhältnis der Kohlenstoffnuklide im Organismus.

Über die Bestimmung des Verhältnisses der Kohlenstoffnuklide können das Einsetzen des radioaktiven Zerfalls und damit der Zeitpunkt der Ablagerung / des Absterbens des Organismus bestimmt werden. Dafür haben sich zwei Methoden etabliert.

Die konventionelle Radiokarbondatierung misst die Zerfallsevents der Radionuklide in einem Zählrohr. Da die Zerfallsrate mit der verbleibenden  $^{14}\text{C}$ -Konzentration korreliert, ist es möglich, das Alter des Probenmaterials zu bestimmen. Mit steigendem Alter und mit einer abnehmenden  $^{14}\text{C}$ -Konzentration sinkt daher auch die Zahl der detektierten Zerfallsevents (Vogel et al. 1989). Um der sinkenden Anzahl detektierbarer Events entgegenzuwirken, wird ein großes Ausgangsvolumen verwendet (Gottschalk et al. 2018). Dies stellt jedoch eine maßgebliche Limitation der konventionellen Radiokarbon-Methode dar, besonders für Proben mit einer begrenzten Menge an Material oder für besonders alte Proben (Ruff et al. 2010).

Eine weitere Methode zur präzisen Altersbestimmung über die Radiokarbonmethode ist die Bestimmung der Kohlenstoffisotop-Verhältnisse über die Beschleuniger-Massenspektrometrie (Accelerator mass spectrometry AMS). Diese ermöglicht, anstelle der Zerfallsevents, die Kohlenstoffnuklide direkt aus der Probe zu quantifizieren (Hajdas 2009). Zunächst wird das Probenmaterial graphitisiert und die kohlenstoffhaltigen Gase mittels eines Katalysators aufgefangen. Als Katalysator werden, je nach Gerät und Labor, Eisen, Kupfer oder Zeolith verwendet (Christl et al. 2013). Bevor die kohlenstoffhaltigen Gase in das Massenspektrometer eingeleitet werden können, werden unter Verwendung eines Ionenstrahls, beispielsweise aus Caesium, die Kohlenstoffmoleküle ionisiert und solche mit einer Atommasse von 14 u (entspricht ca.  $2,32475469324 \cdot 10^{-26}$  kg) anschließend in das AMS eingeleitet.

Bei der Spektrometrie werden die Kohlenstoffnuklide  $^{12}\text{C}^+$ ,  $^{13}\text{C}^+$  und  $^{14}\text{C}$  beschleunigt und anschließend im Massenspektrometer getrennt. Die Trennung der Ionen erfolgt dabei anhand der Ablenkung in den Magnetfeldern des Massenspektrometers. Bedingt durch die Ladung und auch die

Masse der Ionen, werden diese unterschiedlich stark abgelenkt und dadurch getrennt. Dabei werden die leichten Nuklide  $^{12}\text{C}^+$ ,  $^{13}\text{C}^+$  und  $^{13}\text{CH}^-$  in sogenannten Faradaybechern aufgefangen (Christl et al. 2013). Letzteres kann zur Abschätzung der gerätespezifischen Hintergrundkontamination verwendet werden (Christl et al. 2013). Am Ende der Beschleunigerröhre können die  $^{14}\text{C}$ -Ionen mittels eines Gasionisationsdetektors erfasst werden (Christl et al. 2013; Suter et al. 2007). Durch die Quantifizierung der Ionen kann das Verhältnis dieser untereinander bestimmt werden und so auch ein Alter für das Ausgangsmaterial (Hajdas 2009). Diese präzisere Messmethodik erlaubt eine deutliche Reduzierung des Ausgangsvolumens und ermöglicht so die Datierung von kleinen/leichten Materialien  $< 500 \mu\text{g}$  (Fewlass et al. 2018).

Die stetige Weiterentwicklung der Aufbereitung des Probenmaterials und die Entwicklung neuer Messgeräte hat inzwischen dazu beigetragen, dass Materialien, die weniger als  $100 \mu\text{g}$  Kohlenstoff enthalten, mit einer belastbaren Präzision gemessen werden können (Bronk and Hedges 1987; Ramsey and Hedges 1997).

Ähnlich zur herkömmlichen Probenaufbereitung der AMS  $\text{C}^{14}$ -Datierung wird das Probenmaterial zunächst verbrannt. Doch anstatt das dabei entstandene Gas anschließend über einen Katalysator zu graphitisieren und die Messung an dem kohlenstoffhaltigen Residuum durchzuführen, kann mit der Verwendung eines dem AMS vorgeschalteten, so genannten „Gas Ion Source“, das Alter des Probenmaterials direkt über dessen Gasphase bestimmt werden (Kromer et al. 2013).

Hierfür wurde an der ETH Zürich in Kooperation mit dem Unternehmen Ionplus das MICADAS (Mini Carbon Dating System) entwickelt, das die Analyse von gasförmigen Proben mit einem Kohlenstoffgewicht von  $5 \mu\text{g}$  bis  $100 \mu\text{g}$  erlaubt (Fahrni et al. 2013; Ruff et al. 2007; Synal et al. 2007; Wacker et al. 2013).

Auch hier wird das Probenmaterial zunächst graphitisiert.  $\text{CO}_2$  wird anschließend zusammen mit Helium in eine Kapsel aus Titan und Aluminium gegeben. Ein Strahl aus positiv geladenen Cesium-Ionen wird in die Kapsel geleitet, der negativ geladene C-Ionen erzeugt (Ruff et al. 2007). Alternativ kann das  $\text{CO}_2$  auch gemischt mit Helium in eine Spritze geleitet werden, welche anschließend mit einer konstanten Flussrate in eine Ionenquelle gegeben werden kann (Ruff et al. 2007). Die Ionenquelle wird dabei mit einer Energie von bis zu  $430 \text{keV}$  betrieben und erlaubt die Selektion positiv geladener Ionen und Moleküle (Christl et al. 2013; Jacob et al. 2000; Synal et al. 2007). Anschließend wird der Ionenstrahl in die Beschleunigerröhren eingeleitet.

Damit der erzeugte Ionenstrahl in der Beschleunigerröhre des MICADAS nach wie vor stabil ist, und so eine stabile Messung der radioaktiven Kohlenstoffisotope gewährleistet, wird dieser mit



einer Stromstärke von ca. 40  $\mu\text{A}$  bedient (Fewlass et al. 2018; Ramsey et al. 2004). Niedrigenergie-Ionenstrahle von bis zu 10  $\mu\text{A}$  – 6  $\mu\text{A}$  sind möglich (Christl et al. 2013; Ruff et al. 2007).

In der Beschleunigerröhre des MICADAS herrscht ein Vakuum vor (Ruff et al. 2007). Die Beschleunigungsspannung liegt bei 200 kV (Christl et al. 2013; Synal et al. 2007).

Die Graphitisierung und die anschließende Separation der kohlenstoffhaltigen Gase für Proben < 50  $\mu\text{g}$  erfolgt direkt in einem Elemental Analyzer, der unmittelbar an das MICADAS gekoppelt ist (Haghipour et al. 2019; Ruff et al. 2007; Welte et al. 2018). Das Probenmaterial wird dabei in Schiffchen aus Aluminium, Zink oder Silber gegeben und in diesen bei einer Temperatur von bis zu 950 °C verbrannt (Ruff et al. 2010). Gemischt mit Helium als Trägergas werden die kohlenstoffhaltigen Gase, vorbei an einer X13 Zeolithfalle zur Anreicherung von  $\text{CO}_2$ , direkt in das MICADAS geleitet (Fewlass et al. 2018; Ruff et al. 2010).

Durch eine Reduktion der Arbeitsschritte im AMS-Labor kann das Risiko der Kontamination mit modernem Kohlenstoff aus den verwendeten Geräten reduziert werden (Fahrni et al. 2013; Fewlass et al. 2018). Die direkte Kopplung eines Elemental Analyzers zur Verbrennung des Probenmaterials und zur Bindung des  $\text{CO}_2$  und der anschließenden Messung des  $\text{CO}_2$  mittels AMS reduziert sowohl die Anzahl der Arbeitsschritte als auch die gesamte Bearbeitungszeit der Proben auf ca. 15 Minuten (Fewlass et al. 2018; Ruff et al. 2010). Wie der von Fewlass et al. (2018) dargestellte Vergleich unterschiedlicher europäischer AMS-Labore zeigt, ist dabei die Präzision der Datierung der Gasphase genauso präzise, wie die Altersbestimmung über die graphitisierte Probe.

## 2.7. Pollendatierung

Entsprechend des untersuchten Zeitraums und der Gegebenheiten des Untersuchungsgebiets ist die Wahl des zu datierenden Materials von essentieller Bedeutung. Im Fall der Analyse der klimatischen Veränderungen in Ostanatolien seit dem Beginn des Holozäns sind die Seesedimente aus dem Vansee prädestiniert für die zeitliche Einordnung von paläoklimatischen Untersuchungen.

Idealerweise werden Materialien verwendet, die zweifelsfrei terrestrischen Ursprungs sind, um einen Reservoir-Effekt vermeiden zu können (Lanting and Van Der Plicht 1998). Der Reservoir-Effekt beschreibt eine Folge der Datierung von kohlenstoffhaltigen Materialien, die sich in der Hydrosphäre gebildet haben. Der Eintrag von gelöstem Kohlenstoff führt zu einer sukzessiven Abreicherung des Meer- oder Seewassers mit radioaktivem  $^{14}\text{C}$ . Diese Form des Reservoir-Effekts wird als Hartwassereffekt bezeichnet (Cohen 2003). Zwar gibt es zwischen der Hydrosphäre

und der Atmosphäre auch einen oberflächennahen Austausch, dessen Einfluss auf die Fraktionierung des Wassers jedoch gering bleibt. Kohlenstoff, der von Organismen über das Wasser aufgenommen wird, spiegelt dabei die Zusammensetzung des Wasserreservoirs wider. Dabei führt die Datierung dieser Organismen zu höheren Altersangaben.

Um den Einfluss eines Reservoir-Effekts auf die  $^{14}\text{C}$ -Datierung umgehen zu können, eignen sich pflanzliche Makrofossilien, wie z.B. Blattreste, Pflanzensamen oder Holzkohlepartikel. Ein Problem ist jedoch die geringe Transportfähigkeit der Makrofossilien. Je nach Größe des Sees kann die Ablagerung pflanzlicher Großreste in das Zentrum des Sees durch sehr lange Transportwege verhindert werden. Speziell in semiariden bis ariden Klimazonen führt die Vegetationsdichte im Einzugsgebiet des Sees zudem dazu, dass kaum makroskopische Pflanzenreste den See erreichen und im Sediment akkumuliert werden (Tunno et al. 2021). Der Reservoir-Effekt spielt vor allem für solche Klimaarchive eine Rolle, deren Sedimente keine terrestrischen Makrofossilien enthalten und eine Altersabschätzung daher über die Datierung von Muschelschalen oder die organischen Bestandteile des Sediments („Total Organic Content“ – TOC) erfolgen muss (Bonani et al. 1987; Hajdas 2009). Die organischen Bestandteile des Sediments stellen eine Mischung aus terrestrischen und aquatischen Komponenten dar (Andree et al. 1986; Zimmerman and Myrbo 2015). Damit eine belastbare  $^{14}\text{C}$ -Datierung dennoch möglich ist, kann die Altersverschiebung, die durch den Reservoir-Effekt entsteht, über eine Validierung mit verlässlichen, absoluten Datierungen ermittelt werden.

Für sehr viele Klimaarchive bietet sich die Datierung von terrestrischen Mikrofossilien, wie Pollen und Sporen, als Alternative an. Neben ihrem weit verbreiteten Vorkommen zeichnen sich Pollenkörner durch ihre gute Erhaltungsfähigkeit auch in anoxischen Systemen/Milieus aus. Voraussetzung für eine  $^{14}\text{C}$ -Datierung ist die Separation der Pollenkörner in einer ausreichenden Menge und einer entsprechend hohen Reinheit.

Erste erfolgreiche Experimente mit der Datierung von Pollenkörnern wurden von Brown et al. (1989) und Brown et al. (1992) durchgeführt. Als Ausgangspunkt wurde hier die für palynologische Untersuchungen standardisierte, chemische Aufbereitung nach Faegri and Iversen (1989) verwendet. Um die Kontamination mit modernem Kohlenstoff, der in dem Essigsäureanhydrid ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$ ) enthalten ist, zu verhindern, wurde auf die Acetolyse verzichtet. Da die Acetolyse aber auch zur Lösung der Zellulose anderer feiner organischer Partikel verwendet wird, die nicht bereits durch die acid-base-acid Aufbereitung (AAA oder ABA) gelöst wurden, wurde den Pollenproben stattdessen 2 % - 3 % Natriumhypochlorid ( $\text{NaOCl}$ ) hinzugegeben (Brown et al. 1989). Dieser Arbeitsschritt des Bleichens eignet sich besonders für organik-reiche Sedimente und führte zu

einer deutlichen Effizienzsteigerung der mechanischen Trennverfahren (Brown et al. 1992). Es ist darauf zu achten, dass die Reaktionszeit auf wenige Minuten beschränkt wird, da in Abhängigkeit des verwendeten Bleichmittels auch die Exine der Pollenkörner angegriffen werden kann.

Die geringe Reaktionszeit kann aber besonders bei organik-reichen Sedimenten, wie etwa Torfen, oder bei Proben mit einem sehr großen Ausgangsvolumen (hier ca. 22 cm<sup>3</sup>) dazu führen, dass die Reaktion nicht vollständig stattgefunden hat, was zu einem Rückstand an Holzfragmenten, Torfmoosen und Algen in der behandelten Probe führen kann (Brown et al. 1992; Brown et al. 1989). Um einem zu erwarteten Reservoir-Effekt entgegenzuwirken, wurden die Pollenkörner durch ein mechanisches Separationsverfahren, in Form von verschiedenen Siebvorgängen und der manuellen Auslese, von den detritischen Kontaminanten getrennt. Diese Arbeitsschritte gestalteten sich als effizient, jedoch auch als ausgesprochen zeitaufwendig, da für eine belastbare <sup>14</sup>C-Datierung eine entsprechend große Anzahl an Pollenkörnern separiert werden muss (Brown et al. 1992). Es ist herauszustellen, dass sich diese Form der Separation besonders für große Pollenkörner (> 60 µm Durchmesser) eignet. Mit Hilfe der Siebung der Proben konnte eine Fraktion von 44 µm - 88 µm isoliert werden. Dadurch war der überwiegende Anteil feindetritischer Partikel, sowie großer Partikel bereits vor der manuellen Auslese aus der Probe entfernt und erleichterte diese erheblich (Brown et al. 1992).

Long et al. (1992) konnten diesen Ansatz für Seesedimente durchführen. Der große Anteil an Kiefernpollen in der Fraktion 63 µm - 84 µm bildete auch hier eine sehr gute Voraussetzung für die manuelle Pollenanreicherung, jedoch gestaltet sich dieser Prozess als sehr zeitaufwendig, sodass die physikalisch-chemische Aufbereitung der Sedimentproben zur Pollenseparation mehrere Tage andauert (Long et al. 1992).

Alternativ zur manuellen Pollenanreicherung verwendeten Regnéll (1992) und Regnéll and Everitt (1996) die Schwereretrennung zur Isolierung der Pollenkörner. Die Schwereretrennung ist ein Verfahren zur Trennung verschiedener Phasen anhand der spezifischen Dichte. Sie eignet sich in besonderem Maße für die Separation von Flüssigkeiten. Jedoch erlaubt es der Einsatz von Schwerelösungen auch, bestimmte Feststoffe voneinander zu trennen. Dabei kann die gewünschte Dichte der Schwerelösung in einem gewissen Rahmen variiert werden, sodass die Dichte auf die jeweilige Anwendung angepasst ist. In Abhängigkeit von Form, Größe und der spezifischen Dichte der mineralischen und organischen Partikel lassen sich diese auftrennen (Chester and Prior 2004). Es gibt verschiedene Schwerelösungen, die sich zur Differenzierung des heterogenen Probenmaterials eignen. Die Wahl der Schwerelösung hängt vor allem von der Art der Anwendung ab (Chester and Prior 2004). Regnéll and Everitt (1996) verwendeten eine Caesiumchlorid-Lösung (CsCl). CsCl zeichnet sich durch eine sehr gute Wasserlöslichkeit aus und erlaubt eine einfache

Erstellung und genaue Einstellung von Schwerelösungen mit speziellen spezifischen Dichten bis  $1,89 \text{ g/cm}^3$  (Regnéll and Everitt 1996). Zur Separation verschiedener Fraktionen werden drei Lösungen mit unterschiedlicher Dichte ( $1,89 \text{ g/cm}^3$ ,  $1,41 \text{ g/cm}^3$  und  $1,34 \text{ g/cm}^3$ ) eingestellt. Bei der Dichtentrennung kann zwischen zwei verschiedenen Verfahren unterschieden werden. Zum einen gibt es die gravitative Trennung und die Separation durch Zentrifugieren. Während die gravitative Methode deutlich zeitaufwendiger ist, ist sie jedoch schonender für die Partikel, als der Gebrauch einer Zentrifuge. Regnéll and Everitt (1996) verwendeten eine Zentrifuge, wobei das Probenmaterial bei 30.000 Umdrehungen pro Minute für drei Stunden zentrifugiert wurde. Durch Fraktionierung der abgestuften Lösung war es möglich, organische Partikel zielsicher zu isolieren (Regnéll and Everitt 1996). Darüber hinaus wurde die mittlere spezifische Dichte verschiedener moderner Baumpollenarten gemessen. Sie schwankten zwischen  $1,43 \text{ g/cm}^3$  für *Alnus glutinosa* und  $1,525 \text{ g/cm}^3$  für *Tilia cordata* (Regnéll and Everitt 1996). Es muss aber darauf hingewiesen werden, dass die spezifische Dichte von der Aufbereitung der Proben und der verwendeten Chemikalien abhängen kann (Chester and Prior 2004). So führt die Anwendung der Acetolyse zu einer höheren Dichte der Pollenkörner als beispielsweise die Verwendung von Schwefelsäure ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) (Regnéll and Everitt 1996). Auch wenn die Aufbereitung der Proben für die Anwendung der Radiokarbonmethode spezialisiert wurde, wurden keine  $^{14}\text{C}$ -Messungen durchgeführt.

Piotrowska et al. (2004) oder auch Vasil'chuk et al. (2004) verwendeten ergänzend zur chemischen acid-base-acid Aufbereitung der Sedimentproben eine  $\text{ZnCl}_2$ -Lösung. Diese weist ähnliche Eigenschaften wie  $\text{CsCl}$  auf und bietet zudem den Vorteil, dass sie Pflanzenfasern lösen kann und somit prädestiniert für organik-reiche Sedimente ist. Die chemisch inerten Pollenkörner, bzw. das Sporopollenin der Exine, bleiben bestehen. Großer Nachteil von  $\text{ZnCl}_2$  ist, dass diese Schwerelösung ätzend und giftig ist. Nach der chemischen Aufbereitung erfolgte die Schwerentrennung, wobei die Fraktion mit einer Dichte von  $1,3 \text{ g/cm}^3 - 1,5 \text{ g/cm}^3$  unter der Verwendung einer Zentrifuge separiert wurde (Vasil'chuk et al. 2005). Diese bestand zu einem überwiegenden Anteil aus Pollenkörnern. Die separierte, leichte Fraktion bei Piotrowska et al. (2004) umfasste Partikel mit einer Dichte von  $1,13 \text{ g/cm}^3 - 1,66 \text{ g/cm}^3$ . Der feindetritische Anteil der Sedimente stellte dabei ein wesentliches Problem dar, da dieser sich durch die Schwerentrennung nur mühsam entfernen ließ. Erst nach der Schwerentrennung erfolgte die weitere Pollenanreicherung mithilfe von Siebvorgängen und Bleichen mittels Natriumchlorit ( $\text{NaClO}_2$ ) (Piotrowska et al. 2004). Diese Kombination aus chemischer Aufbereitung, Schwerentrennung und sorgfältigen Siebvorgängen erlaubten die Separation von Pollenkonzentraten, die bis zu 95 % aus Sporomorphen bestanden (Piotrowska et al. 2004). Ein sehr großes Potential hat diese Methode besonders für Sedimente mit einem geringen Anteil an feindetritischen Partikeln.

Der Ansatz der Schwereretrennung wurde auch von Zhou et al. (1997) und Zhou et al. (1999) aufgegriffen und auf Löss- und äolisch abgelagerte Paläosole übertragen. Der hohe Anteil an Sanden und karbonathaltigen Mineralen in der Probe führte bereits zu einer hohen Effizienz der chemischen Aufbereitung der Proben, wobei aufgrund des hohen Ausgangsgewichts der Proben (200 g) die Arbeitsschritte wiederholt werden mussten (Zhou et al. 1997). Auch hier wurde eine acid-base-acid Behandlung angewendet, die durch das Bleichen der Pollenproben mit Natriumchlorit ( $\text{NaClO}_2$ ) ergänzt wurde. Für die Schwereretrennung wurde eine Mischung aus Kaliumiodid (KI), Iodwasserstoff (HI) und Zink (Zn) verwendet, die eine spezifische Dichte von  $2,2 \text{ g/cm}^3$  aufwies (Zhou et al. 1999). Nach der chemischen Aufbereitung und einer wiederholten Schwereretrennung in der Zentrifuge bestand die residuale Fraktion aus 50 % Pollenkörnern und ca. 45 % Phytolithen, die sich beide als terrestrische Mikrofossilien für eine belastbare Datierung eigneten (Zhou et al. 1997; Zhou et al. 1999).

Eine andere Schwereflüssigkeitslösung wurde von Vandergoes and Prior (2003), Newnham et al. (2007) und Fletcher et al. (2017) verwendet: Natrium-Polywolframat (SPT). Auch SPT zeichnet sich durch eine sehr gute Wasserlöslichkeit aus und bietet darüber hinaus den Vorteil, dass es nicht toxisch ist. Auch wenn es in der Anschaffung sehr teuer ist, kann die Schwereflüssigkeit nach dem Gebrauch recycelt werden. Das heißt, dass die Schwereflüssigkeit nach der Reinigung verdampft und das auskristallisierte Granulat erneut verwendet werden kann. Das Kontaminationsrisiko bleibt dabei gering. Ausgehend von einer spezifischen Dichte der SPT-Lösung von  $2,1 \text{ g/cm}^3$  kann durch die Zugabe von Wasser die Dichte reduziert werden, sodass es möglich ist, über verschiedene Schwereretrennungsdurchläufe Fraktionen mit einer spezifischen Dichte von  $1,16 \text{ g/cm}^3$  –  $1,6 \text{ g/cm}^3$  zu isolieren (Newnham et al. 2007). Auch hier wurden für eine schnelle und effiziente Separation die vorbehandelten Proben zentrifugiert (5 Minuten bei 3500 Umdrehungen/min). Dabei stellte sich heraus, dass die meisten Pollen von Bäumen und Sträuchern eine Dichte von  $1,15 \text{ g/cm}^3$  –  $1,2 \text{ g/cm}^3$  aufweisen (Fletcher et al. 2017; Vandergoes and Prior 2003). Diese eignen sich besonders für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung, können aber trotzdem noch organische Pflanzenfasern enthalten, sodass das Potential der Kohlenstoffkontamination bei der Interpretation der Datierungen betrachtet werden muss (Vandergoes and Prior 2003). In diesem Fall stellten Newnham et al. (2007) und Fletcher et al. (2017) heraus, dass eine weitere chemische und mechanische Behandlung der Pollenkonzentrate dieses Risiko reduzieren konnte.

In ähnlicher Weise kann auch eine Lithium-Polywolframat-Lösung (LST) zur Separation der Pollen anhand ihrer spezifischen Dichte verwendet werden (Howarth et al. 2013). Ähnlich zu SPT ist auch diese Schwereflüssigkeit nicht toxisch und leicht recycelbar (Caffrey and Horn 2013). Durch die niedrige Viskosität hat sie zusätzlich den Vorteil, dass die Zweiphasenbildung deutlich schneller

einsetzt und daher nicht so lange zentrifugiert werden muss, bzw. die Experimente schneller ablaufen. Howarth et al. (2013) verwendeten eine sehr kleinschrittige, aufwendige Aufbereitung der feinsandigen, siltigen Sedimentproben, die sich aus chemischer Aufbereitung, Siebvorgängen und Schwereretrennung zusammensetzte. Das Ausgangsvolumen des Sediments lag bei 50 g. Dieses wurde zunächst grob mit NaOH vorbehandelt, gefolgt von einem ersten Siebvorgang (90 µm). Hierauf folgte die Schwereretrennung mit einer Dichte der LST von zunächst 1,8 g/cm<sup>3</sup>, die anschließend in einem zweiten Trennverfahren auf 1,6 g/cm<sup>3</sup> reduziert wurde. Die leichte Fraktion (< 1,6 g/cm<sup>3</sup>) wurde mit Salzsäure (HCl), Salpetersäure (HNO<sub>3</sub>) und Natronlauge (NaOH) weiterbehandelt, gefolgt von einer weiteren Schwereretrennung der Fraktion 1,1 g/cm<sup>3</sup> – 1,4 g/cm<sup>3</sup> (Howarth et al. 2013). Diese Fraktion bestand zu einem überwiegenden Anteil aus Pollenkörnern und wurde vor der <sup>14</sup>C-Datierung abschließend nochmals feingesiebt. Die Fraktionen 25 µm – 37 µm und 10 µm – 25 µm wurden separat voneinander datiert.

Experimente von Richardson and Hall (1994), Mensing and Southon (1999), Kilian et al. (2002), Li et al. (2014) oder Schiller et al. (2020) rückten die chemisch-physikalische Aufbereitung zur Isolierung der Pollenfraktion in den Vordergrund. Sie orientierten sich in großen Teilen an dem Laborprotokoll von Brown et al. (1989), unterschieden sich aber in der Wiederholung einiger Aufbereitungsschritte zu deren Effektivitätssteigerung. So führte beispielsweise eine Wiederholung des Bleichens der Probe zur gründlichen Entfernung von organischem Detritus, ohne dabei eine fortschreitende Korrosion der Pollenkörner zu riskieren (Mensing and Southon 1999). Außerdem wurden alternativ Schwefelsäure (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) oder Salpetersäure (HNO<sub>3</sub>) als starke Säuren verwendet, die die Effektivität der chemischen Aufbereitung steigern sollten und auch zur Entfernung von Zellulose und Lignin beitragen konnten (Kilian et al. 2002; Schiller et al. 2020). Richardson and Hall (1994) wiesen jedoch darauf hin, dass eine rein chemisch-physikalische Trennung der Pollenkörner nicht ausreichte, um einen Großteil der Kontaminanten zu entfernen. Dies traf vor allem auf organik-reiche Proben oder Torfproben zu und erforderte eine sorgfältige Behandlung. Neben der Anwendung von Kalilauge (KOH; Reaktionszeit: 12 Stunden) war hier die (Grob-)Siebung der Proben für die Effizienz der Pollenaufbereitung besonders entscheidend. Jedoch schwankte der Anteil an Pollen in den präparierten Pollenkonzentraten zum Teil sehr stark. Während Torfproben einen Anteil von 77 % Pollen enthalten konnten, erwies sich eine Übertragung der chemisch-physikalischen Aufbereitung auf Seesedimente als wenig effektiv, da lediglich 25 % der Partikel des Konzentrates den Palynomorphen zugeordnet werden konnten (Richardson and Hall 1994).

Wie bereits bei Long et al. (1992) durchgeführt, bildet die manuelle Auslese/Pipettieren der Pollenkörner eine effektive, aber zeitaufwendige Möglichkeit zur Steigerung der Pollenausbeute

(Mensing and Southon 1999; Neulieb et al. 2013; Schiller et al. 2020). Entsprechend des Verhältnisses zwischen Detritus und Pollen in einer Probe ist es möglich, in einer Stunde bis zu 2.500 Pollenkörner manuell zu separieren (Mensing and Southon 1999). Handelt es sich hierbei um große Pollen (z.B. Koniferen), ist diese Pollenausbeute für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung bereits ausreichend (Neulieb et al. 2013; Schiller et al. 2020). Der Vergleich zwischen der Datierung von terrestrischen Makrofossilien und den Datierungen der Pollenkonzentrate zeigt, dass es dennoch nicht möglich ist, reine Pollenproben zu erzeugen. Daher bleibt es schwierig, präzise und korrekte Altersabschätzungen zu erzeugen (Li et al. 2014; Neulieb et al. 2013; Schiller et al. 2020).

Die Verwendung zytometrischer Analysemethoden zur Erfassung und Separation von Pollenkörnern aus einer heterogenen Probe wurde als erstes von Byrne et al. (2003) durchgeführt.

Die Zytometrie ist eine biologische, molekular-medizinische Messmethode zur Vermessung von Zellen anhand ihrer Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften. Diese Charakteristiken werden durch die Interaktion mit Lasern unterschiedlicher Wellenlängen gemessen. Die Entwicklung dieser laserbasierten Vermessung heterogener Proben reicht bis in die 1960er zurück (Givan 2011). Seitdem wurde die Zytometrie in vielfältiger Weise eingesetzt, um zum Beispiel aus einer heterogenen Sammelprobe lebende Blutzellen, Bakterien, Krebszellen oder DNA-Sequenzen zu identifizieren und zu analysieren. Der Anwendungsbereich liegt bei Zellen mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 1  $\mu\text{m}$  bis 35  $\mu\text{m}$ . Dennoch können auch weitaus größere Partikel wie Pollenkörner mit Hilfe entsprechend angepasster Geräte zytometrisch charakterisiert werden, sodass der Anwendungsbereich außerhalb des üblichen medizinischen Gebrauchs auf bis zu 130  $\mu\text{m}$  große Partikel erweitert werden kann. Neben der Identifikation von spezifischen Populationen in der heterogenen Probe können verschiedene zytometrische Geräte auch genutzt werden, um diese Populationen durch fluoreszenzbasierte Zellsortierung (fluorescence activated cell sorting - FACS) zu isolieren (Mitsumoto et al. 2009). Die Durchflusszytometrie ermöglicht es, den zeitlichen Aufwand der Pollenaufbereitung auf ein Minimum zu reduzieren.

Bei der fluoreszenzbasierten Zytometrie von fossilen Sedimentproben wird sich die Autofluoreszenz, die von den Pollenkörnern ausgeht, zu Nutze gemacht. Strukturelemente der Exine der Pollen können, wenn sie von einem Laser bestrahlt werden, Licht emittieren. Das starke Fluoreszenzsignal, was von diesen ausgeht, kann zur Identifikation genutzt werden. Byrne et al. (2003) gelangen es, eine ausreichende Menge an Pollen zu isolieren, sodass diese datiert werden konnten. Aufgrund ihrer Größe und der klaren differenzierbaren Fluoreszenzeigenschaften eigneten sich hierfür vor allem große Pollen von Koniferen (*Pinus*, *Picea* oder *Abies*) (Byrne et al. 2003).

Eine spezielle Form ist die Durchflusszytometrie bei der das Probenmaterial als Suspension durch das Zytometer strömt. Dabei werden die Partikel im Zentrum des Flüssigkeitsstroms fokussiert und strömen in diesem einzeln an den Lasern vorbei (Fulwyler 1965). Dieser Ansatz wurde später, basierend auf den erfolgsversprechenden Experimenten von Byrne et al. (2003), sowohl für die Separation und Datierung fossiler Pollenkörner (Tennant et al. 2013a) als auch für Diatomeen (Tennant et al. 2013b) aufgegriffen. Es ist herauszustellen, dass eine Nutzung der Durchflusszytometrie ohne vorhergehende Aufbereitung des Probenmaterials zu unzureichender Reinheit der separierten Proben führen kann und darüber hinaus das Durchflusszytometer beschädigen kann. Die Aufbereitung der Sedimentproben wurde dabei an deren Zusammensetzung angepasst. Während die Proben für die Separation von Diatomeen lediglich filtriert werden mussten (Tennant et al. 2013b), durchliefen die Pollenproben zusätzlich eine chemische Aufbereitung (Tennant et al. 2013a), die sich an der verbreiteten Pollenaufbereitung nach Faegri and Iversen (1989) orientierte. Diese wurde dahingehend modifiziert, als dass die Acetolyse durch Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ) ersetzt wurde. Ähnlich zu dem Einsatz von Essigsäureanhydrid, löst die  $\text{HNO}_3$  die Cellulose in den Proben (Tennant et al. 2013a). Um die Reinheit der Proben jedoch noch weiter zu erhöhen, wurde die Pollenprobe im Anschluss mit dem Durchflusszytometer analysiert und sortiert.

Die Identifikation und anschließende Separation basieren auf der Multiparameteranalyse. Die gemessene Intensität des gebrochenen Lichts bzw. die gemessene Wellenlänge kann mittels der BD DivaSoftware V8.02 dargestellt werden. Hier wird eine zweidimensionale Darstellung von Streudiagrammen bevorzugt, die es erlaubt, über die verschiedenen Achsen zwei gemessene Parameter in Abhängigkeit voneinander darzustellen. Dabei repräsentiert jeder Punkt der Punktwolke ein detektiertes Pollenkorn. In Abhängigkeit von der Art der Pollen können diese in verschiedenen Gruppen clustern. Über den Vergleich zu den Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften rezenter Pollen und die Definition von sogenannten „Gates“ und „Regions“ wird diesen Gruppen eine charakteristische Spannweite der betrachteten Parameter zugeordnet, anhand derer die Sortierung erfolgen kann. Dabei kann jeder Partikel, der innerhalb der Spannweite der Gates und Regions liegt, der Gruppe zugeordnet und in einem entsprechenden Probenröhrchen isoliert werden.

Zimmerman et al. (2019) und Tunno et al. (2021) kombinierten die Separation mittels Durchflusszytometrie mit der vielfach verwendeten Schwereretrennung. Die Schwereretrennung ersetzte hierbei die Flusssäure zur Entfernung der Silikate (Tunno et al. 2021). Als Schwerelösung wurde LST (Zimmerman et al. 2019) und SPT (Tunno et al. 2021) mit einer Dichte von  $1,98 \text{ g/cm}^3$  verwendet. Die karbonatischen und organischen Bestandteile des Sediments wurden durch den Einsatz von  $\text{HCl}$  sowie  $\text{KOH}$  und  $\text{HNO}_3$  gelöst. Durch Grob- und Feinsiebung konnte die Pollenfraktion



weiter eingegrenzt werden (Tunno et al. 2021). Auch die bei Zimmerman et al. (2019) und Tunno et al. (2021) verwendeten Sedimente zeichneten sich durch einen hohen Anteil von *Pinus*-Pollen aus. Sie wurden mit einem COPAS (Complex Object Parametric Analyzer and Sorter) zytometrisch analysiert und die Fraktion der Kiefernpollen separiert. Diese spezielle Form des Durchflusszytometers ist für die Separation großer Partikel ausgelegt und eignet sich besonders für die Bearbeitung von Pollenproben. Die Separation wurde auf der Grundlage der Pollengröße (FSC) und der Oberflächenstruktur (SSC) durchgeführt, wobei Partikel mit einem hohen SSC-Signal als primäre Zielpopulation betrachtet wurden (Tunno et al. 2021). Die dieser Population entsprechenden Partikel wurden anschließend, entsprechend der Stärke der Autofluoreszenz, in einem Wellenlängenbereich von  $610 \pm 10$  nm unter Verwendung eines Lasers mit einer Anregungswellenlänge von 488 nm betrachtet (Tunno et al. 2021). Die hochfluoreszenten Partikel wurden hierbei erfasst und separiert. Es konnten 10.000 bis 70.000 Partikel separiert und datiert werden. Auch Zimmerman et al. (2019) beschrieben eine Diskrepanz zwischen der bestehenden Chronologie und den  $^{14}\text{C}$ -Datierungen der Pollenkonzentrate. Diese konnte unter anderem durch ein geringes Gewicht der Pollenkonzentrate und dem damit einhergehenden ansteigenden Einfluss verbleibender Fremdpartikel erklärt werden (Tunno et al. 2021).

Auch Yamada et al. (2021) verwendeten für die Separation von Pollenkörnern aus heterogenen Sedimenten eine Kombination aus Schwereretrennung und Durchflusszytometrie. Nach der chemischen Aufbereitung wurde das Probenmaterial in eine  $\text{ZnCl}_2$ -Lösung mit einer Dichte von  $1,88 \text{ g/cm}^3 - 1,78 \text{ g/cm}^3$  gegeben. Diese spezifische Dichte eignet sich für Sedimente mit einem hohen Anteil organischer Partikel (Yamada et al. 2021). Anschließend wurde die leichte Fraktion ( $< 1,7 \text{ g/cm}^3$ ) mittels Grob- und Feinsiebung auf die Partikel mit einem Durchmesser von  $50 \mu\text{m} - 10 \mu\text{m}$  reduziert und mit einem Durchflusszytometer sortiert. Die Multiparameteranalyse erfolgte anhand der Streulichteigenschaften (FSC) und der Autofluoreszenz in einem Wellenlängenbereich von  $785 \pm 30$  nm (Yamada et al. 2021). Große Partikel mit einem starken Fluoreszenzsignal wurden anschließend anhand ihrer optischen Eigenschaften im hochenergetischen Spektrum weiter analysiert. Dabei wurden Partikel mit einem starken Signal bei  $525 \pm 25$  nm bei einer Anregungswellenlänge von 405 nm und 488 nm separiert. Diese Population bestand zu 99 % aus Pollenkörnern (Yamada et al. 2021).

Die Entwicklung der Pollendatierung zeigt, dass die verschiedenen Ansätze zur Aufbereitung der Sedimente einer stetigen Anpassung unterliegen. Vielfach bestehen diese aus einer Kombination

unterschiedlicher Arten der Aufbereitung, die, auf die Zusammensetzung der Sedimente des Untersuchungsgebiet angepasst, erfolgreich dazu beitragen, die Pollenkörner soweit zu isolieren, dass sie für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung verwendet werden können.

Dies zeigt jedoch auch, dass die beschriebenen Anwendungen keine allgemeine Gültigkeit besitzen. Der Großteil der beschriebenen Verfahren zur Datierung von Pollenkonzentraten beruht auf der Isolation von bisaccaten Pollenkörnern, vornehmlich von *Pinus*. Aufgrund der Größe und des entsprechend hohen Gewichtes der Pollenkörner ist die Separation und Datierung dieser besonders vielversprechend.

Dennoch zeigen unter anderem Schiller et al. (2020), dass nach wie vor ein Altersunterschied zwischen der Datierung von *Pinus*-Pollen und anderen Makrofossilien oder Bulk-Proben desselben Sediments besteht. Dies zeigt, dass auch die Pollenproben einem Reservoir-Effekt unterliegen können, der auf die Kontamination der Pollenproben deutet.

Es ist von entscheidender Wichtigkeit, die Kontamination durch kohlenstoffhaltige Materialien aus den Sedimentproben gleichermaßen wie durch externen, modernen Kohlenstoff zu vermeiden. In dieser Arbeit soll eine Labormethode zur Aufbereitung von Sedimentproben entwickelt werden, deren Pollenspektrum sich überwiegend aus kleinen und mittelgroßen Pollen zusammensetzt. Gleichzeitig muss das Kontaminationspotential so gering wie möglich gehalten werden, um eine präzise Altersbestimmung der Pollenkonzentrate zu gewährleisten und so belastbare Datierungen zu generieren.

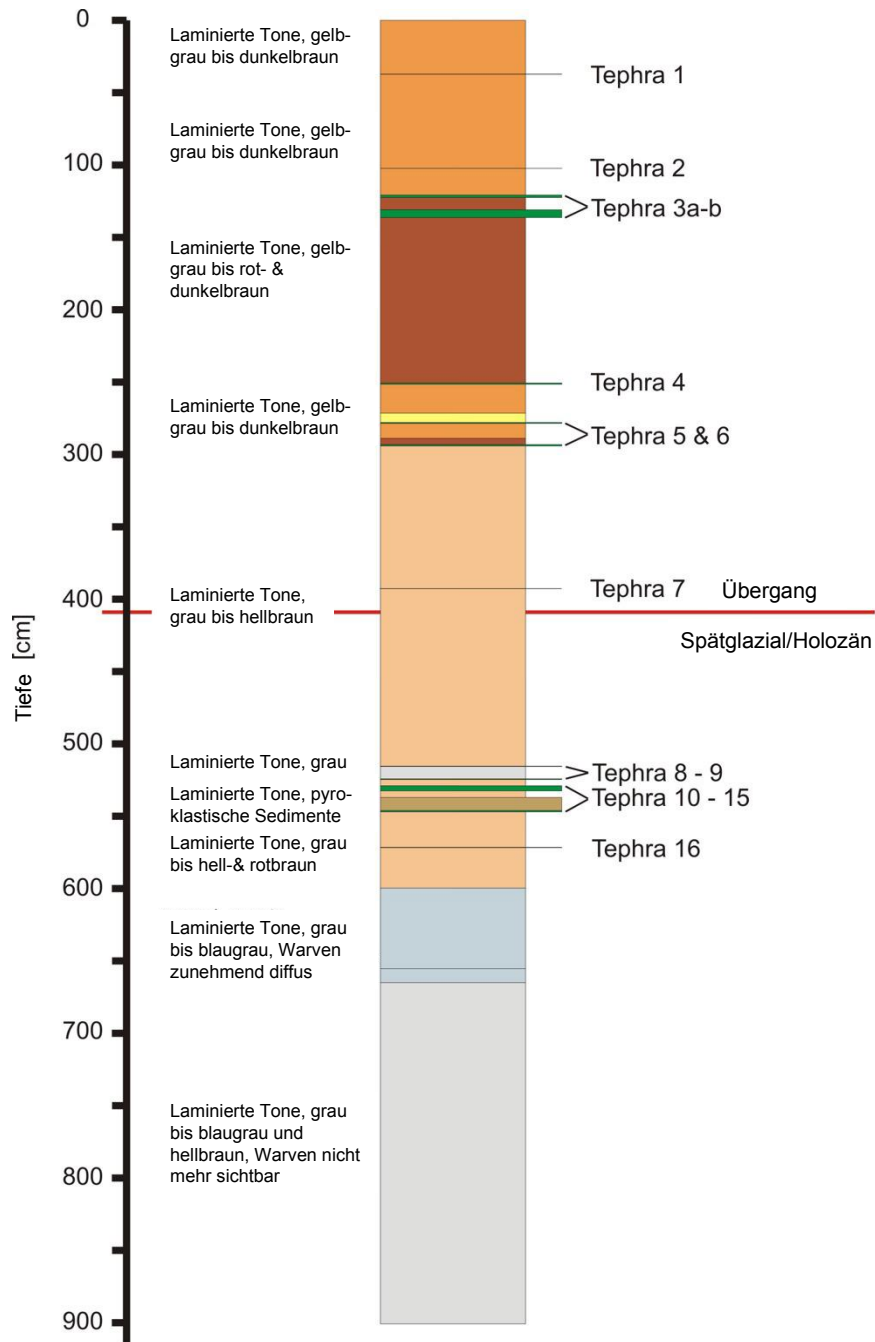
### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Probenahme

Zur Erprobung der Datierung von Pollenkörnern und zu deren Validierung wurden die holozänen Tephren beprobt, deren Alter anhand der Warvenchronologie nachvollzogen werden konnte. Hierfür ist unmittelbar oberhalb und unterhalb der sieben Tephren (Abb. 7) Sedimentmaterial entnommen worden. Es ergab sich ein Probenumfang von 14 Proben für diese Messreihe. Sofern möglich wurde hierbei auf die Sedimentbohrkerne des 2004 etablierten Kompositprofils Van04-2 zurückgegriffen. Dies umfasste die Vorfallkerne Van04-2-V2 und Van04-2-V3, erbohrt mit einem Gravity Corer, sowie die (Kolbenlot-)Bohrkerne Van04-2-1, Van04-2-2 und Van04-2-3. Die Vorfallkerne wurden zur Beprobung der zwei jüngsten Tephren herangezogen. Aus ihnen konnte Material für die Proben CT 1-1 und CT 1-2, benachbart zu Tephra V-1 (Van04-2-V2 Seg. A) entnommen werden, sowie für die Proben CT 2-1 und CT 2-2, benachbart zu Tephra V-2 (Van04-2-V3). Aus der Bohrung Van04-2-3 wurde Probenmaterial unterhalb der Tephra V-3b entnommen (CT 3-2). Tephra V-6 konnte in einem weiteren Kernsegment derselben Bohrung beprobt werden (CT 6-1 und CT 6-2). Die Proben CT 4-1 und CT 4-2 wurden oberhalb und unterhalb der Tephra V-4 aus dem Bohrkern Van04-2-1 entnommen. Die weiteren Proben CT 5-1, CT 5-2, CT 7-1 und CT 7-2 stammten aus den Kernen der Bohrung Van04-2-2. Die herangezogenen Sedimentbohrkerne sowie die entsprechenden Tiefen der Probenahmepunkte können der Tab. 1 entnommen werden.

Für Abschnitte, in denen für die Probenahme die entsprechend benötigte Menge an Material nicht vorhanden war, wurde auf weitere Bohrkerne des Ahlat Ridge zurückgegriffen. Dabei erfolgte die Korrelation über die markanten vulkanischen Aschelagen in den Sedimenten. Dies betraf für die erste Messreihe zur Beprobung der Tephren ausschließlich die Probe CT 3-1 aus Segment 2 der Bohrung Van04-7.

Maßgebend für das Volumen der Sedimentproben sind die Pollenkonzentration und die Warvendicke in den entsprechenden Abschnitten der Bohrkerne. Im Mittelpunkt steht hier die Aussagekraft der  $^{14}\text{C}$ -Datierung, die mit hoher Pollenquantität und somit mit der Probenmenge steigt. Hierbei sinkt jedoch die Präzision der Datierung, da bei einem erhöhten Probenvolumen Sedimente mit unterschiedlichen Entstehungsaltern (zu erkennen an den Warven) in einer Probe zusammengefasst sein können.



**Abb. 7: Sedimentologische Beschreibung der Sedimente des Ahlat-Ridge. Die Probenahmepunkte konzentrieren sich auf die pyroklastischen Ablagerungen (V-1 bis V-7) und die Sedimente des Holozäns (verändert nach Litt et al. 2009).**

Die Beprobung des Bohrkerns über den gesamten Durchmesser (6 cm) erlaubt es, die Probenmenge zu erhöhen, ohne dabei die Präzision der Datierung zu beeinflussen. Die minimale Dicke der entnommenen Proben betrug 1 cm. Sofern nicht ausreichend Material vorhanden war, konnte auch auf das Material in der Archivhälfte zurückgegriffen werden. Dies war für die Proben der

Tephren V-5 bis V-7 und zusätzlich für die Probe CT 3-2 möglich. In diesem Fall ergab sich ein errechnetes, wassergesättigtes Volumen des Ausgangsmaterials von ca. 14,13 cm<sup>3</sup> bzw. 28,26 cm<sup>3</sup>, wenn das Material derselben Tiefe aus der Archivhälfte hinzugezogen wurde.

Proben-Nr.	Bohrkern-bezeichnung	Tiefe (cm)	Komposittiefe (cm)	Berechnetes Proben-volumen (cm <sup>3</sup> )
CT 1-1	Van04-2-V2	38,3 - 41,3	32,0 - 35,0	42,39
CT 1-2	Seg. A Archiv	41,4 - 44,4	35,1 - 38,1	42,39
CT 2-1	Van04-2-V3	111,0 - 113,0	97,7 - 99,7	28,26
CT 2-2		113,1 - 115,1	99,8 - 101,8	28,26
CT 3-1	Van04-7 Seg. 2	18,0 - 19,0	113,6 - 114,6	14,13
CT 3-2	Van04-2-3 Seg. 1	11,6 - 13,1	131,0 - 133,5	70,65
CT 4-1	Van04-2-1	69,2 - 70,1	242,6 - 243,5	12,72
CT 4-2	Seg. 2 Archiv	72,2 - 73,2	245,6 - 246,6	14,13
CT 5-1	Van04-2-2	8,1 - 10,0	274,1 - 276,1	53,69
CT 5-2	Seg. 1	15,5 - 17,3	276,8 - 278,6	50,87
CT 6-1	Van04-2-3	5,4 - 8,1	284,9 - 287,4	76,30
CT 6-2	Seg. 2	9,8 - 12,8	287,4 - 289,8	84,78
CT 7-1	Van04-2-2	63,0 - 65,0	380,0 - 382,0	56,52
CT 7-2	Seg. 1	68,6 - 71,0	382,0 - 384,4	67,82

Tabelle 1: Probenahmepunkte der ersten Versuchsreihe an den vulkanischen Aschelagen.

Zur Vermeidung von Kontaminationen durch verschleppte Sedimente während der Bohrung und während der Öffnung der Bohrkern, oder zur Minimierung des bestehenden Kontaminationspotentials durch Fremdpartikel, wurde das Probenmaterial, das unmittelbar in Kontakt mit diesem stand, bei der Probenahme verworfen. Dadurch reduzierte sich das zur Verfügung stehende Probenvolumen. Zusätzlich war der Wassergehalt der Sedimente uneinheitlich und nahm im Bohrkern vom Top der Kerne nach unten hin ab, sodass das tatsächliche, wasserungesättigte Sedimentvolumen erst während der chemischen Aufbereitung der Proben bestimmt werden konnte.

Für Abschnitte des Kerns, die eine geringe Pollenkonzentration aufwiesen, wurde die Dicke der Probe erhöht, um eine vergleichbare quantitative Pollenausbeute zu erzielen. Mit Ausnahme von Tephra V-2 weisen die Sedimente um die holozänen vulkanischen Aschelagen eine Pollenkonzentration von ca. 20.000 Pollen pro cm<sup>3</sup> auf (Litt et al. 2009). Für die hier entnommenen Proben wurde die Dicke des Sediments auf bis zu 3 cm erhöht. Um die Präzision der <sup>14</sup>C-Datierung hoch zu halten, wurde die Mächtigkeit des Sediments so gewählt, dass das Zeitintervall, also die Anzahl an Warven einer Probe, 100 Jahre nicht überstieg.

Somit variierte das wassergesättigte Volumen sehr stark von 12,72 cm<sup>3</sup> bei Probe CT 4-1 bis zu 84,78 cm<sup>3</sup> für die Probe CT 6-2 (Tab. 1). Dies entspricht einem tatsächlichen Probenvolumen von

bis zu 34 cm<sup>3</sup>. Das hier gewählte Probenvolumen überstieg das in der Literatur verwendete Volumen für die Pollendatierung um ein Vielfaches.

Ursächlich hierfür ist der Anteil großer Koniferen-Pollen in den Sedimenten des Van-Sees. Diese machen weniger als 5 % der gesamten Palynomorphen aus (Litt et al. 2009; Wick et al. 2003). Um auch bei der Separation von kleinen bis mittelgroßen Pollen und Sporen eine vergleichbare Masse für die zu datierenden Pollenkonzentrate zu erreichen, musste eine größere Anzahl von Pollen separiert und daher, entsprechend der Pollenzusammensetzung und -konzentration, ein erhöhtes Ausgangsvolumen gewählt werden (Yamada et al. 2021). Entsprechend zum variierenden Probenvolumen war außerdem mit einer sehr stark variierenden Pollenquantität zu rechnen, die jedoch für alle Proben ausreichend sein sollte, um ein belastbares <sup>14</sup>C-Alter zu erzeugen.

Im Zuge eines Pilotversuches wurde die Sedimentprobe CT 3-1 zur Evaluierung der Machbarkeit der Pollendatierung verwendet. Aufgrund der eindeutigen Korrelation der vulkanischen Aschelagen V-3a und V-3b der verschiedenen parallelen Bohrungen mit bereits etablierten Chronologien, wurde die Probe oberhalb dieser prominenten Schichten entnommen. Die Mächtigkeit der Probe betrug 1 cm und wurde unabhängig von der Pollenkonzentration in der entsprechenden Tiefe gewählt.

Die zweite Messreihe fokussierte sich auf die Bewertung und Bestätigung der Pollendatierungen der holozänen Tephren. Entgegen der Beprobungen aus der ersten Messreihe wurden hierfür auch Bohrkerne aus dem östlichen Bereich des Van Sees verwendet, sofern eine zweifelsfreie Korrelation der vulkanischen Aschelagen möglich war. Dies betrifft die Kontrollproben der Tephren V-3a und V-3b (CC 3-1 und CC 3-2), die aus dem ersten Segment von Van04-3 entnommen wurden (Tab. 2). Die Lokalität der Bohrung befindet sich westlich der Stadt Van. Weitere Bohrkerne, die hier hinzugezogen wurden, stammen aus parallel zum Kompositprofil entnommenen Bohrkerne des Ahlat Ridge (Van04-7V, Van04-7 und Van04-2-3).

Insgesamt wurden für diese Messreihe 11 Sedimentproben an den Tephren V-1 bis V-4 entnommen, die zur weiteren Analyse und anschließenden Datierung verwendet wurden (Tab. 2). Dabei korrelierten sechs Proben mit Tephra V-1 und jeweils zwei mit den Tephren V-2 und V-4. Zudem wurde das Sediment oberhalb der Tephra V-3a beprobt. Eine Probenliste und die Entnahmestellen in den entsprechenden Bohrkerne können der Tabelle 2 entnommen werden. Bei Sedimentproben, die aus einer identischen Tiefe stammen, wurden die Proben aus der zur Analyse ver-

wendeten Laborhälfte und aus der zur Archivierung vorgesehenen Kernhälfte entnommen und getrennt aufbereitet. Sie erlauben eine zweifelsfreie Korrelation der Proben und können maßgeblich zur Evaluierung der Pollendatierungen beitragen.

Das Sedimentvolumen der Proben wurde im Vergleich zur ersten Messreihe nicht verändert, einerseits, um die Präzision der Altersbestimmungen nicht zu beeinflussen und andererseits, um eine Vergleichbarkeit der Kontrollprobe mit den Proben der Tephren zu gewährleisten. Lediglich für die Sedimentprobe CC 2-1 wurde, aufgrund einer eingeschränkten Materialverfügbarkeit, ein Volumen von 11,30 cm<sup>3</sup> berechnet.

Proben-Nr.	Bohrkern-bezeichnung	Tiefe (cm)	Komposittiefe (cm)	Berechnetes Probenvolumen (cm <sup>3</sup> )
CC 1-1	Van04-7-V	41,2 - 44,2	32,0 - 35,0	42,39
CC 1-2		44,3 - 47,3	35,1 - 38,1	42,39
CC 1-3	Van04-7 Seg. 1	27,5 - 29,5	32,0 - 35,0	28,26
CC 1-4		29,6 - 31,6	35,1 - 38,1	28,26
CC 1-5		27,5 - 29,5	32,0 - 35,0	28,26
CC 1-6		29,6 - 31,6	35,1 - 38,1	28,26
CC 2-1	Van04-7 Seg.2	19,0 - 19,8	97,7 - 99,7	11,30
CC 2-2		19,9 - 21,9	99,8 - 101,8	28,26
CC 3-1	Van04-3 Seg. 1	69,0 - 71,0	112,6 - 114,6	28,26
CC 4-2	Van04-2-3 Seg. 1	67,0 - 68,0	245,6 - 246,6	42,39
CC 4-4		67,0 - 68,0	245,6 - 246,6	42,39

Tabelle 2: Probenahmepunkte der zweiten Versuchsreihe der Kontrollproben.

In einer weiteren Messreihe wurden die Abschnitte oberhalb von Tephra V-1, sowie die Zwischenräume zwischen Tephra V-3b und Tephra V-4 bzw. Tephra V-6 und Tephra V-7 beprobt. Sie lassen eine kontinuierliche Betrachtung der Sedimentation von der Sedimentoberfläche am Top des Kerns bis Tephra V-7 zu und decken damit fast das ganze Holozän ab. In Kombination mit den vorangegangenen Messreihen war es möglich, eine Chronologie, basierend auf den <sup>14</sup>C-Datierungen, aufzubauen.

Für die Analyse der Sedimente oberhalb von Tephra V-1 wurde das erste Segment des Bohrkerns Van04-7 verwendet. In diesem Kern wurde bereits die Kontrollprobe CC 1-3 (27,5 cm – 29,5 cm) entnommen. Die Beprobung erfolgte in einem Abstand von ca. 5 cm, sodass zwischen dem Top des Profils und der ersten vulkanischen Aschelage fünf Proben (CS 1-1 bis CS 1-5) entnommen werden konnten.

Ein ähnliches Intervall wurde für die Probenahme des Zwischenraums zwischen Tephra V-3b und Tephra V-4 angesetzt. Es wurde der Kern Van04-2-3 verwendet, aus dem bereits die Proben CT 3-2 (11,6 cm - 13,1 cm) und Kontrollproben CC 4-2 (67 cm – 68 cm) stammten. Dabei ergab sich ein Umfang von fünf Sedimentproben, die in der Tabelle 3 zusammengefasst dargestellt sind.

Proben-Nr.	Bohrkern-bezeichnung	Tiefe (cm)	Komposittiefe (cm)	Berechnetes Proben-volumen (cm <sup>3</sup> )
CS 1-1	Van04-7 Seg. 1	5,0 - 7,0	4,4 - 6,4	28,26
CS 1-2		10,0 - 12,0	10,8 - 12,8	28,26
CS 1-3		15,0 - 17,0	17,2 - 19,2	28,26
CS 1-4		20,0 - 22,0	23,6 - 25,6	28,26
CS 1-5		25,0 - 27,0	30,0 - 32,0	28,26
CS 3-1	Van04-2-3 Seg. 1	15,0 - 16,5	143,4 - 144,4	21,20
CS 3-3		25,0 - 26,5	165,1 - 166,1	21,20
CS 3-5		35,0 - 36,5	186,9 - 187,9	14,13
CS 3-7		45,0 - 46,5	208,6 - 209,6	14,13
CS 3-9		55,0 - 56,5	230,4 - 231,4	14,13
CS 6-1	Van04-2-3 Seg. 2	15,0 - 16,0	295,0 - 296,0	14,13
CS 6-3		25,0 - 26,0	312,2 - 313,2	14,13
CS 6-5		35,0 - 36,0	329,4 - 330,4	14,13
CS 6-7		45,0 - 46,0	346,6 - 347,6	14,13
CS 6-9		55,0 - 56,0	363,8 - 364,8	14,13

Tabelle 3: Probenahmepunkte der dritten Versuchsreihe oberhalb von V-1, zwischen V-3b und V-4 sowie zwischen V-6 und V-7.

Der Kern Van04-2-3 diente ebenfalls zur Beprobung des Zwischenraums von Tephra V-6 (CT 6-2: 110,4 cm - 113,1 cm) und Tephra V-7 (217 cm). Auch hier wurden fünf Sedimentproben entnommen, die in einem Abstand von 10 cm liegen.

Vor der Beprobung wurde keine Bestimmung der Pollenkonzentration vorgenommen, weswegen die Dicke der Sedimentproben bei 1 cm bis 1,5 cm lag, was einem Volumen von 14,13 cm<sup>3</sup> bis 21,20 cm<sup>3</sup> entsprach. Lediglich die Mächtigkeit der Proben oberhalb von Tephra V-1 lag bei 2 cm, was einem berechneten Volumen von 28,26 cm<sup>3</sup> entsprach.

### 3.2. Chemische Aufbereitung

Die chemische Aufbereitung der Sedimentproben wurde an die Methodik nach Tennant et al. (2013a) und Zimmerman et al. (2019) angelehnt. Aufgrund der Sedimentzusammensetzung und



der speziellen Anwendungszwecke ist es nur bedingt möglich, die beschriebenen Herangehensweisen zur Pollenaufbereitung für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung auf andere Klimaarchive und deren Sedimente anzuwenden. Aus diesem Grund bedarf es einer spezifischen Anpassung (Newnham et al. 2007). Da keine vergleichbaren Anwendungen und Ergebnisse für Seesedimente aus semi-ariden Klimazonen mit einem sehr geringen Anteil großer, leicht zu separierender Pollen vorliegen, werden in dieser Arbeit verschiedene Herangehensweisen beschrieben und ein verbessertes Laborprotokoll für diese Art von Sedimenten erstellt.

Die 14 Sedimentproben der erste Messreihe (CT) wurden nach der Methodik von Tennant et al. (2013a) aufbereitet. Es wurde lediglich die Menge der zugegebenen Chemikalien an das stark erhöhte Sedimentvolumen ( $4,5 - 34,0 \text{ cm}^3$ ) angepasst. Somit wurden für die Karbonatreaktion 20 ml HCl (10 Vol.%) hinzugegeben. Die stark verlaufende Reaktion deutete auf einen hohen Karbonatgehalt in den Sedimenten hin. Hierbei reagierten 2HCl mit den  $\text{CaCO}_3$  im Sediment zu Calciumchlorid ( $\text{CaCl}_2$ ),  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{CO}_2$ .  $\text{CaCl}_2$  ist gut in Wasser löslich und kann daher durch das Reinigen der Sedimentprobe mit Reinstwasser ( $55 \mu\text{S/m}$ ) gelöst und entfernt werden. Im Hinblick auf ein sicheres Arbeiten oder auch, um den Verlust an Probenmaterial während der Reaktion ausschließen zu können, kann die Karbonatreaktion auch in größeren Gefäßen durchgeführt werden. Dies bot sich vor allem für jene Proben an, die ein sehr großes Volumen hatten, z.B. CT 6-2 mit  $34,0 \text{ cm}^3$ . Für die Proben CT 6-1 und CT 6-2 wurde die Menge der zugegebenen HCl auf 40 ml – 50 ml erhöht, um das Calciumcarbonat vor der Zugabe der Flusssäure (HF) vollständig aus dem Sediment zu entfernen. Verbliebene Calcitkristalle in der Probe hätten exotherm mit der HF reagieren und damit eine sichere Handhabung der Probe gefährden können.

Für die nachfolgenden Messreihen der Kontrollproben (CC) und der Beprobung der Zwischenräume (CS) wurde das Volumen auf 20 ml HCl beschränkt. Für die meisten Proben war dies ausreichend, um eine vollständig abgelaufene Karbonatreaktion zu gewährleisten.

Durch den geringen Anteil an groben organischen Bestandteilen der Vansee-Sedimente (Litt et al. 2007; Litt et al. 2009; Stockhecke et al. 2014b) wurde auf eine Entflockung des Probenmaterials durch den Einsatz einer Lauge (z.B. KOH) verzichtet. Anschließend erfolgte die Zugabe von 20 ml Flusssäure (HF – 40 Vol.%) an. Dabei reagierte die HF mit Silikaten ( $\text{SiO}_2$ ) zu  $\text{SiF}_4$  und  $\text{H}_2\text{O}$  (Vasil'chuk et al. 2004). Siliciumtetrafluorid ( $\text{SiF}_4$ ) ist bei Raumtemperatur gasförmig und entweicht. Probenmaterial, das an den vulkanischen Aschelagen entnommen wurde, reagierte dabei sehr stark. Sedimentproben, die aus den Zwischenräumen der Tephren stammten, reagierten nur sehr schwach, als Indiz für einen geringen Silikatgehalt.

Aus Sicherheitsgründen sollte das zugegebene Volumen der HF nicht erhöht werden. Sedimentproben mit einem sehr hohen Ausgangsvolumen wurden vor der Silikatreaktion geteilt, die entsprechenden Teile mit HF behandelt und anschließend wieder zusammengeführt. Für die erste Messreihe zur Beprobung der Tephren (CT) wurden die Proben nach der Zugabe von HF verschlossen und für ein bis zwei Tage sicher verstaut. Anschließend wurde das Residuum intensiv mit Reinstwasser ( $0,055 \mu\text{S/m}$ ) gereinigt, um eine sichere Handhabung des Probenmaterials im weiteren Verlauf zu gewährleisten.

Trotz des angepassten Volumens der zugegebenen HF können kleine silikatische Partikel in der Pollenprobe verbleiben. Um die Verwendung eines höheren Volumens, aus Sicherheitsgründen, umgehen zu können, wurde die Reaktionszeit für die weiteren Versuchsreihen (CC und CS) auf drei Tage erhöht.

Die erneute Zugabe von HCl (10 Vol.%) sollte Fluoride lösen, die sich in den Proben nach der Behandlung mit HF gebildet haben können.

Entgegen der Methodik nach Tennant et al. (2013a) wurde auf eine anschließende Zugabe von Salpetersäure ( $\text{HNO}_3$ ) zunächst verzichtet. Dennoch, um den Einfluss von  $\text{HNO}_3$  auf die Alterierung der Pollenkörner und auf die Fluoreszenz dieser testen zu können, wurde die Sedimentprobe CT 6-1 nach der Silikatreaktion geteilt. Eine Hälfte des Sediments wurde mit  $\text{HNO}_3$  (10 ml, 10 Vol.%) behandelt. Dies erlaubte einen direkten Vergleich der Effizienz der Anwendung. Die Reaktionszeit darf ein Maximum von 5 Minuten nicht überschreiten, da die Säure bei längerer Reaktionszeit auch die Exine der Pollenkörner, und damit deren Identifikationsmerkmal, auflösen kann. Darüber hinaus konnte so ermittelt werden, ob die Verwendung von  $\text{HNO}_3$  und das damit verbundene Entfernen der inneren Zellulose der Pollenwand, die fluoreszenzbasierte Identifizierung von Pollenkörnern während der zytometrischen Analyse verbessert und somit deren Separation zu reinen Pollenkonzentraten ermöglicht.

Nicht nur aufgrund der variierenden Sedimentzusammensetzung, sondern auch aufgrund der Routine im Pollenlabor des Instituts für Geowissenschaften, wurden, ergänzend zu der chemischen Aufbereitung der Proben, mechanische Trennverfahren auf die Sedimente angewandt. Dies diente besonders dem Entfernen großer Mineralkörner und feiner Tonpartikel. Dies führte nicht nur dazu, dass die Reinheit der Pollenprobe weiter zunahm (Brown et al. 1992; Brown et al. 1989; Kilian et al. 2002; Long et al. 1992; Mensing and Southon 1999; Richardson and Hall 1994), sondern hatte auch den Nebeneffekt, dass die Handhabung der Probe verbessert wurde und auch die Effizienz nachfolgender Arbeitsschritte für eine weitere Zunahme der Reinheit der Pollenprobe verbessert wurde.

Entgegen der standardisierten Verwendung von Siebgazen mit einer Maschenweite von 200  $\mu\text{m}$  wurde für einen ersten Schritt der Grobsiebung (nach der ersten Zugabe von HCl) eine Maschenweite von 105  $\mu\text{m}$  gewählt. Um eine einfache Handhabung der Probe und einen störungsfreien Gebrauch der Durchflusszytometrie gewährleisten zu können, wurde die Maschenweite nachträglich durch einen weiteren Siebvorgang auf 53  $\mu\text{m}$  verringert. Dies orientierte sich an der Pollenzusammensetzung der Vansee-Sedimente. Die am häufigsten vorkommenden Pollengattungen reichten in ihrer Größe von 18  $\mu\text{m}$  (*Artemisia*) bis 66  $\mu\text{m}$  (Poaceae, inkl. *Cerealia*-Typ).

Als letzter Schritt vor der Durchflusszytometrie erfolgte die Feinsiebung der Proben in einem Ultraschall-Wasserbad. Die Maschenweite der Siebgaze lag bei 10  $\mu\text{m}$ . Die Dauer der Ultraschallsiebung sollte 5 Minuten nicht überschreiten, um die Beschädigung und den Verlust von Pollenmaterial zu vermeiden. Vor allem kleine Pollenkörner und Sporen könnten sich in den Maschen der Siebgaze verfangen. Um eine Kreuzkontamination vermeiden zu können, wurden die Siebgaze daher anschließend im Wasserbad gereinigt.

Das Residuum wurde in 5 ml Polypropylen-Röhrchen, befüllt mit Reinstwasser (< 0,5 ml), aufbewahrt. Entgegen allgemein bevorzugter Glasröhrchen wurden viele chemische Reaktionen und Aufbereitungsschritte in Polypropylen-Röhrchen durchgeführt. Für die Silikatreaktion war dies ohnehin zwingend notwendig, da HF auch mit dem Borosilikat der Glasröhrchen reagiert. Wie die beschriebenen Experimente und auch Erfahrungsberichte aus der Literatur zeigen, kann eine Kontamination des Probenmaterials durch den Gebrauch von Polypropylen-Röhrchen ausgeschlossen werden. Diese können daher alternativ zu den empfohlenen Glasröhrchen verwendet werden (Tunno et al. 2021). Zwar sind die Polypropylen-Röhrchen inert in Bezug auf den Gebrauch von Chemikalien, jedoch nicht gegen mechanische Beanspruchung durch das Rühren des Probenmaterials. Aus diesem Grund wurde darauf geachtet, die Röhrchen vor einer starken Beanspruchung und Beschädigung zu schützen. Dies konnte unter anderem durch die Verwendung eines Reagenzglas-Vortex-Schüttlers erreicht werden.

Vor der zytometrischen Analyse der Pollenproben wurden diese unter dem Mikroskop bezüglich des Pollengehalts untersucht.

### **3.2.1. Rezente Markerproben und Erstellung von Standards**

Zusätzlich zu den fossilen Pollenproben wurden auch rezente Markerproben für die Durchflusszytometrie aufbereitet. Sie boten einen Anhaltspunkt zur Identifikation der Pollenpopulation während

der Multiparameteranalyse. Es war darauf zu achten, dass die Aufbereitung der rezenten Pollenproben identisch zu der beschriebenen Aufbereitung der fossilen Proben war, damit ein optischer oder fluoreszenzbasierter Unterschied ausgeschlossen werden konnte.

Die gesammelten Pflanzengattungen orientierten sich an dem holozänen Pollenspektrum des Vansees. So wurden zwei verschiedene Arten der Familie der Süßgräser (Poaceae) verwendet: Chinaschilf (*Miscanthus oligostachyus* – Ø bis 37 µm) und Blaues Pfeifengras (*Molinia caerulea* – Ø 26-35 µm). Aus der Familie der Chenopodiaceae wurden Pollen der Gattung der Melden (*Artiplex lentiformis* – Ø 26-35 µm) gesammelt. Zusätzlich wurden Wermutkraut- (*Artemisia absinthium* – Ø 18-29 µm) und Stieleichenpollen (*Quercus robur* – Ø bis 35 µm) präpariert.

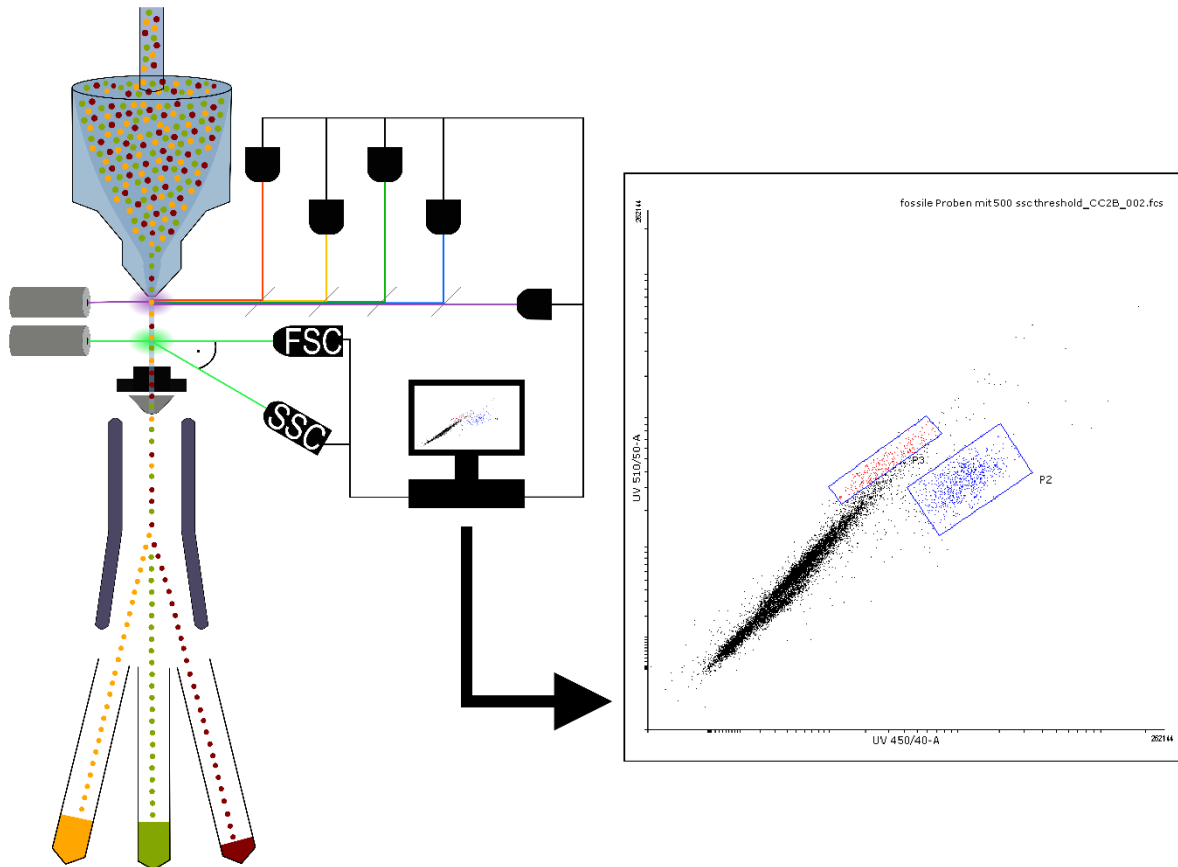
Die rezenten Markerpollen wurden zu Beginn jedes zytometrischen Experiments eingelesen. Die Erfassung von 10.000 Pollenkörnern erlaubte es, die Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften der Pollen festzustellen und die Lage der Populationen einzugrenzen.

### **3.3. Durchflusszytometrie**

Die Durchflusszytometrie stellt eine einfache Methode dar, Partikel aus einer meistens heterogenen Probe einzeln zu erfassen und sie entsprechend ihrer Morphologie und ihrer Fluoreszenzeigenschaften zu charakterisieren. Eine stetige Weiterentwicklung der Methode und des strömungstechnischen Systems hat dazu geführt, dass die verschiedenen Parameter der Zellvermessung simultan erfolgen können, während die Partikel mit einer hohen Geschwindigkeit durch das Lasersystem des Durchflusszytometers strömen. Diese hohe Durchflussrate sorgt auch dafür, dass der zeitliche Aufwand der Durchführung selbst bei einer hohen Partikelkonzentration minimal ist. Anhand der verschiedenen wellenlängenspezifischen Laser ist es möglich, neben der Form und der Komplexität der Oberflächenstruktur, die mittels der Streulichteigenschaften der Zellen gemessen werden, auch die Fluoreszenzsignale, die von jeder Zelle ausgehen, zu erfassen und als Identifikationskriterium zu nutzen (Tennant et al. 2013a). Die Durchflusszytometrie ist die renommierteste Technik, nicht nur, um aus einer heterogenen Probe verschiedene Populationen anhand der Lichtbeugung an der Partikeloberfläche und der Fluoreszenzeigenschaften zu identifizieren, sondern auch, um diese zu separieren und quantitativ zu erfassen (Mitsumoto et al. 2009).

### 3.3.1. Strömungstechnisches System

Die Suspension mit dem heterogenen Probenmaterial wird zunächst in die Probenkammer des Durchflusszytometers (sample injection chamber) gegeben. Das Probenröhrchen wird durch Rotation mit ca. 300 Umdrehungen pro Minute in Bewegung gehalten, sodass Turbulenzen in der Flüssigkeit erzeugt werden. Diese Turbulenzen sollen das Absetzen der Schwebeteilchen verhindern und lassen so eine kontinuierliche Suspension entstehen.



**Abb. 8:** Schematischer Aufbau des Durchflusszytometers. In der Durchflusszelle werden die Partikel hydrodynamisch fokussiert und vereinzelt. Anschließend strömen die Partikel an den verschiedenen Lasern vorbei und werden analysiert. Bestimmungsrelevante Parameter sind die Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften der Partikel. Unterhalb des Lasersystems können die Partikel im elektrischen System separiert werden.

Über die Sample Line, die in die Suspension reicht, wird die Probe kontinuierlich aufgesogen und strömt in die Durchflusszelle (Flow Cell). Bei Bedarf kann die Sample Line mit einem Filter versehen werden, der verhindert, dass große Partikel oder Partikelaggregate an die Sample Line gelangen und diese verstopfen. Im Falle einer Verstopfung des Filters und einer Unterbrechung des Experiments kann dieser wesentlich schneller und effektiver gereinigt werden als die Sample Line selbst. Darüber hinaus vergrößert der Sample Line-Filter die Ansaugfläche, sodass kontinuierlich

Partikel zur Sample Line strömen und auch die Akkumulation am Boden des Probenröhrchens gehemmt wird.

Beim Eintritt in die Sample Line erhöht sich die Fließgeschwindigkeit der Suspension. Diese kann entsprechend der Partikeldichte in der Suspension höher oder niedriger eingestellt werden.

Über die Sample Line gelangt die Suspension in die Durchflusszelle. Während in der Sample Line Partikel mit Durchmesser im niedrigen  $\mu\text{m}$ -Bereich stark verteilt in deren Querschnitt auftreten können, dient die Durchflusszelle zur Fokussierung der Suspension im Zentrum des Stroms (Abb. 8). Dabei wird der schmale Strom mit der Suspension aus der Sample Line in die Mitte einer schnell fließenden Trägerflüssigkeit gegeben, die als Hüllströmung (sheath stream) fungiert (Givan 2011). Die Fließgeschwindigkeit des Hüllstroms wird durch Luftdruck gesteuert. Dieser kann zwischen 0,35 bar und 5,2 bar variieren und betrug in den hier durchgeführten Experimenten konstant 1,38 bar. Durch die erzeugte laminare Strömung, die die Vermischung zwischen dem Flüssigkeitsstrom inklusive Probenmaterial und dem Hüllstrom verhindert, werden die Partikel in das Zentrum des Stroms gedrängt. Dieser Vorgang wird als hydrodynamische Fokussierung bezeichnet. Dabei nehmen die Partikel im Zentrum die Geschwindigkeit der Hüllströmung an. Dies führt dazu, dass beim Eintritt der Partikel in das Lasersystem ein konstanter Abstand zum Laser besteht und somit deutlichen Unterschieden in der Intensität des Streulichtimpulses, hervorgerufen durch variierende Abstände, vorgebeugt wird.

### **3.3.2. Optisches Erkennungssystem**

Von der aus Quarzglas bestehenden Durchflusszelle wird der Strom in einen schmalen Mikrokanal geleitet, wodurch der Durchmesser des geteilten Stroms, bestehend aus Suspension und Hüllstrom, reduziert wird und die Fließgeschwindigkeit ansteigt. Dadurch nimmt der Abstand zwischen den Partikeln zu, sodass jede Zelle nun einzeln als „single cell suspension“ durch den Mikrokanal fließt (Givan 2013). Der Mikrokanal befindet sich im Zentrum einer Küvette aus Quarz, deren planparallele Seitenflächen eine ungestörte optische Analyse der Suspension im Mikrokanal ermöglichen. Dort trifft der Hüllstrom mit den Partikeln auf den ersten Laser (Abb. 8). Durch die planparallelen Seitenflächen wird das Licht des Lasers auf das Zentrum des Probenstroms fokussiert, sodass das stärkste Lichtsignal auch mit den Partikeln im Strom interagiert und so auch das Signal des Streulichts maximal ist (Cossarizza et al. 2021). Der Analysepunkt, an dem die Partikel den Laser passieren, wird als „interrogation point“ bezeichnet (Givan 2011). Entsprechend der Anzahl der Laser kann es bis zu sechs solcher Messpunkte geben. Wenn die Partikel entlang der Laser strömen, haben sie eine Geschwindigkeit von 5 m/s bis 50 m/s. Somit beträgt die Zeit,

die die Partikel im Einflussbereich der einzelnen Laser verbringen, wenige Millionstel-Sekunden (Givan 2011). Im Gegensatz zu Durchflusszytometern, die keine Quarzküvette besitzen und bei denen die zytometrischen Messpunkte außerhalb der Durchflusszelle liegen, so genannte Stream-in-Air-Sorter, ist die Fließgeschwindigkeit in dem Mikrokanal geringer (Mitsumoto et al. 2009). Dies ermöglicht eine größere Analysezeit der einzelnen Partikel an den Analysepunkten und erhöht somit die Genauigkeit des Zähl- und Sortiervorgangs.

Die Wellenlänge des ersten Lasers, eines Argon-Ionen-Lasers, liegt bei 488 nm (Givan 2011). Die Partikel, die das Licht des Lasers schneiden, reflektieren den Strahl des Lasers. Ein Detektor, der in einer Linie mit dem Laser und dem Analysepunkt hinter dem Partikel liegt, nimmt das Licht auf, das in kleinen Winkeln (bis  $22^\circ$ ) um die Partikel gestreut wird. In einem Durchflusszytometer wird ein Photomultiplier als Detektor verwendet (Herzenberg et al. 2002). Ihm ist eine Linse vorgelagert, die das Streulicht der Vorwärtsrichtung fokussiert, sowie ein Bandpassfilter. Bei dem Bandpassfilter handelt es sich um einen 488/10-Filter. Das bedeutet, dass der Filter Licht einer Wellenlänge von 488 nm mit einer Abweichung von  $\pm 10$  nm transmittiert und Photonen einer abweichenden Wellenlänge reflektiert. Dies verhindert, dass Fluoreszenzsignale, die durch eine andere Lichtquelle erzeugt werden, von diesem Detektor erfasst werden. Trifft Licht anschließend auf die Photokathode des Detektors, wird ein Elektronenfluss zur Anode des Photomultipliers erzeugt und in einen elektrischen Impuls umgewandelt (Bio-Rad Laboratorie 2017). Dabei ist die Intensität des elektrischen Impulses proportional zur Lichtmenge bzw. zur Anzahl der Photonen, die um die Partikel in einem bestimmten Zeitintervall gestreut wird (Cossarizza et al. 2021). Die Magnitude der Vorwärtsmessung (Forward Scatter - fsc) ist dabei proportional zu der Größe und dem Volumen der Partikel (Tennant et al. 2013a). Forward Scatter und Volumen stehen aber nur in einem groben Verhältnis zueinander. Somit ist es nicht möglich mit einem Durchflusszytometer die absolute Größe der Partikel zu messen. Während bei kleinen Partikeln der Winkel, in dem das Licht gestreut wird, klein bleibt, zeichnen sich größere Partikel durch einen größeren Streuwinkel aus und können so differenziert werden.

Das Streulicht, das in deutlich größeren Winkeln reflektiert und gestreut wird, wird vor allem durch die Oberflächenstruktur und die interne Komplexität der Partikel erzeugt (Tennant et al. 2013a). Dieses Seitwärtsstreulicht (Side Scatter - ssc) wird durch ein Linsensystem, das orthogonal zum Laserstrahl verläuft, zunächst fokussiert und anschließend über einen weiteren Detektor aufgenommen. Auch bei dieser Streulichtmessung gilt, dass der elektrische Impuls, der am Detektor erzeugt wird, mit zunehmender Granularität und struktureller Komplexität der Oberfläche zunimmt (Tennant et al. 2013a).

Neben den morphologischen Charakteristiken des Volumens und der Oberflächenstruktur lassen sich die Partikel auch durch unterschiedliche Fluoreszenzeigenschaften differenzieren (Mitsumoto et al. 2009). Die Fluoreszenz wird in einem Durchflusszytometer durch verschiedene Laser generiert. Sie liegen parallel zum Argon-Ionen-Laser. Bei der Fluoreszenz handelt es sich um eine Eigenschaft der Partikel, bei der Absorption eines Lichtquants mit definierter Wellenlänge zur spontanen Emission von Quanten mit niedriger Energie und dementsprechend größerer Wellenlänge neigen (Cossarizza et al. 2021). Der Wellenlängenunterschied ist dabei substanzspezifisch.

Um die Fluoreszenzeigenschaften der Partikel untersuchen zu können, werden bei molekularmedizinischen Experimenten diese erst angefärbt. Hierfür werden fluoreszente chemische Verbindungen, so genannte Fluorophore oder Fluorochrome, verwendet (Cossarizza et al. 2021; Liu et al. 2013). Dabei heften sich die Fluorophore an die Rezeptoren der molekularen Struktur der Partikel und regen diese so, bei der Interaktion mit Licht, zur Remission von Licht an. Die molekulare Zusammensetzung der Partikel bestimmt dabei die Fluoreszenzausbeute und somit die Wellenlänge, die von den Partikeln emittiert wird (Cossarizza et al. 2021; Liu et al. 2013)).

Viele der verwendeten Fluorophore sind sowohl pH-sensitiv als auch lichtempfindlich. Aus diesem Grund wird den Proben neben den Fluorophoren auch eine Phosphat-Pufferlösung (PBS) mit einem definierten pH-Wert hinzugegeben. Da die Carotinoide und Carotinoidester, die in die Außenhülle der Pollen, der Exine, eingebaut sind, zur Autofluoreszenz neigen, kann bei der Analyse von Pollenproben auf den Einsatz von Fluoreszenzfarbstoffen verzichtet werden (Ivleva et al. 2005).

Die Lichtquanten, die dabei von den Partikeln ausgesendet werden, werden über eine Lichtsammeloptik fokussiert und durch Glasfasern an ein Detektorsystem weitergeleitet (Givan 2013). Die Detektorsysteme bestehen aus einer Reihe von dichroitischen Spiegeln und wellenlängenabhängigen Bandpassfiltern. In Abhängigkeit von den Wellenlängen, die das emittierte Licht charakterisieren, wird dieses entweder von den Spiegeln reflektiert oder es durchläuft den Bandpassfilter und trifft auf einen Photodetektor bzw. eine Photomultiplier-Röhre (PMT), sodass das Licht auf dem Weg durch das Detektorsystem nach und nach spektral aufgespalten wird (Cossarizza et al. 2021).

An den Photodetektoren wird ein elektrischer Impuls erzeugt, der verstärkt und in ein digitales Signal umgewandelt wird. Die Intensität des Impulses und des digitalen Signals ist proportional zu den Fluoreszenzeigenschaften des zu analysierenden Partikels. Je nach Durchflusszytometer können bis zu 20 Photodetektoren eingebaut sein, sodass bis zu 18 verschiedene Farbspektren (+ FSC und SSC) aufgenommen werden können. Jeder Laser ist dabei mit einem eigenen Detektorsystem verbunden.



### 3.3.3. Fluoreszenzaktivierte Zellsortierung

Die ersten Durchflusszytometer, die mit einem Zellsortierer ausgestattet waren, wurden bereits in den 1960ern entwickelt (Herzenberg et al. 1976). Der fluoreszenzaktivierte Zellsortierer ermöglicht es, neben der Analyse und der Identifikation verschiedener Populationen in einem heterogenen Probenmaterial, diese auch zu sortieren. Unterhalb der Laser, an der Düse, wird der Hüllstrom mit den Partikeln durch Vibration dazu angeregt, in einzelne Tropfen zu zerfallen (Abb. 8). Der Durchmesser der Düse beträgt 100  $\mu\text{m}$ . Die Vibration wird durch einen Schwingquarz erzeugt. Dabei handelt es sich um eine Scheibe eines Quarzkristalls, dessen Oberfläche durch ein elektrisches Wechselfeld in Schwingung versetzt wird (Campbell and Jones 1968). Quarz zeichnet sich in diesem Zusammenhang durch ein sehr stabiles Taktsignal aus, das eine gleichbleibende Frequenz erzeugt und so die Zerlegung des Hüllstroms in einzelne Tropfen gewährleistet. Dabei hängt die Größe der Tropfen von der Frequenz ab, mit der der Hüllstrom angeregt wird. Die benötigte Frequenz wiederum leitet sich aus der Geschwindigkeit des Stroms, dem Abstand der Partikel im Strom, sowie dem „dropdelay“, also dem Abstand zwischen den Analysepunkten der Laser und der Düse, wo sich die Tropfen bilden, ab (Bio-Rad Laboratorie 2017). Die im UKB und am GFZ verwendete Frequenz variierte zwischen 20 kHz und 30 kHz bei einer Amplitude von 2.3.

Das Ziel der Zerlegung in Tropfen ist es, jeden Partikel in einem Tropfen zu isolieren, um anschließend die Partikel sortieren zu können. Es kann vorkommen, dass in einem Tropfen auch mehrere Partikel enthalten sein können.

Anschließend an die Analyse der Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften der Partikel in dem Flüssigkeitsstrom werden die entsprechenden Subpopulationen, die für die Sortierung interessant sind, durch Hochspannungsplatten elektrisch aufgeladen. Dabei wird der gesamte Hüllstrom im Mikrokanal der Quarzküvette oberhalb der Düse mit einer Ladung versehen, sofern sie den benutzerdefinierten Kriterien für eine relevante Subpopulation entsprechen (Givan 2011). Diese Ladung richtet sich nach dem Partikel, welcher sich in der Düse befindet und darauffolgend in einem Tropfen isoliert wird. Der Tropfen ist dann mit einer dem Partikel entsprechenden Ladung versehen. Die Ladung des Hüllstroms ändert sich daraufhin wieder, je nachdem, zu welcher Subpopulation sich der anschließende Partikel zuordnen lässt. Die Durchflussrate hat Einfluss auf die Geschwindigkeit, mit der die Zellen analysiert und sortiert werden, und auch auf die Effizienz des Sortierens. Bei steigender Sortiertrate, also die Events, die pro Sekunde analysiert werden, sinkt die Reinheit der Probe. Ebenso sinkt die Effizienz bei steigender Partikelzahl (Givan 2013).

In einem elektrischen Feld unterhalb des Lasersystems (Abb. 8) werden die positiv und negativ geladenen Tropfen vom Rest des Probenmaterials (Waste) getrennt (Bio-Rad Laboratorie 2017).

Zwei Deflektorplatten, die sich rechts und links im Sortierblock befinden, lenken die Bahn der Tropfen ab und sortieren sie in verschiedene Sammeltubes (Herzenberg et al. 2002). Dabei ist es möglich, vier verschiedene Populationen zu differenzieren.

### **3.3.4. BD FACSDiva™-Software**

Die Informationen, die an den Photodioden erfasst werden, umfassen vor allem die Magnitude der Lichtimpulse. Für die Fluoreszenzparameter sind diese wellenlängenabhängig. Somit spiegeln die Daten der verschiedenen Laser die Lichtintensität für die an den dichroitischen Spiegeln definierten Wellenlängenbereiche wider. Dies umfasst sowohl das Impulsmaximum als auch die gesamte Anzahl an Photonen, die bei der Fluoreszenz der Partikel emittiert werden. Die gesammelten Informationen können mit entsprechender Software auch graphisch ausgewertet werden. Für die unmittelbare Auswertung der Daten im Labor des UKB und GFZ wurde die BD FACSDiva™-Software V8.02 verwendet.

Die Daten lassen sich als Histogramm darstellen, in dem die Ausprägung oder Intensität der Lichtsignale gegen die Häufigkeit ihres Erscheinens quantitativ visualisiert werden kann (Bio-Rad Laboratoire 2017). Anhand der Höhe oder der Fläche, die das Histogramm einnimmt, lässt sich ungefähr die Anzahl der Photonen ableiten, die detektiert wurden. Schaut man sich beispielsweise das Vorwärtsstreulicht (Forward Scatter) an, erhält man einen Überblick über die Größenverteilung der Partikel in der Probe. Jedoch erlauben es die Histogramme nicht, verschiedene Subpopulationen aus dem heterogenen Probenmaterial vergleichen und differenzieren zu können. Hierfür bedarf es der Kombination verschiedener Parameter zu einem Streudiagramm, um so verschiedene Populationen oder Arten zu unterscheiden.

Für die Multiparameteranalyse der Partikel in der Suspension werden vorab 10.000 Partikel mit dem Durchflusszytometer analysiert. Diese Anzahl spiegelt eine statistisch signifikante Stichprobe wider, die die Verteilung der verschiedenen Subpopulationen in der heterogenen Probe darstellt. Anhand dieses Stichprobendatensatzes erfolgt die Identifikation der Subpopulationen.

Auswertungsprogramme, wie zum Beispiel FCSalayer oder Flowing Software 2.5.1 erlauben es, über die Definition von „Gates“ und „Regions“ Subpopulationen zu differenzieren und gesondert zu analysieren (Givan 2011). Regions werden dazu eingesetzt, in der Darstellung von Side Scatter vs. Forward Scatter, also der Art und Weise, wie Licht an der Oberfläche der Partikel gebrochen wird, eine Population einzugrenzen. Dafür wird manuell ein Rahmen um die Subpopulationen gezeichnet. Dieser Rahmen legt fest, dass alle Partikel, die innerhalb dieser Region plotten, anhand

ihrer Streulichteigenschaften einer bestimmten Subpopulation zugeordnet werden können (Tennant et al. 2013a).

In einem anschließenden Schritt werden die Fluoreszenzeigenschaften der Probe betrachtet. Da eine zweifelsfreie Identifikation der Subpopulationen nicht über die morphologischen, sondern über die Fluoreszenzeigenschaften erfolgt, lassen es die Auswerteprogramme zu, dass bei der Interpretation der Streudiagramme zur Fluoreszenz nur die Events dargestellt werden, die den Kriterien entsprechen, die vorher über die Region definiert wurden. Daran anschließend lassen sich die Subpopulationen, die sich in der Region befinden, über Gates noch weiter differenzieren (Tennant et al. 2013a). Über die Benutzeroberfläche der BD FACSDiva™-Software lassen sich zu jedem Zeitpunkt die quantitative Sortierung des Probenmaterials verfolgen und die Zwischenstände der isolierten Populationen ablesen.

### **3.3.5. Durchgeführte zytometrische Experimente**

Die Experimente zur Durchflusszytometrie wurden an der Flow Cytometry Core Facility des Universitätsklinikums in Bonn (UKB) und am Helmholtz-Zentrum Potsdam – Deutsches GeoForschungsZentrum (GFZ) durchgeführt. Beide Institute verwenden einen BD FACSAria™ III digitalen Hochgeschwindigkeitssorter (Hersteller: Becton, Dickinson and Company, USA). Dieser ist mit Festkörperlaser ausgestattet, die eine Anregungswellenlänge von 405 nm, 488 nm, 561 nm und 640 nm haben. Die angeschlossenen Detektorsysteme verwenden Emissionsfilter, die die Messung von Photonen in einem lückenlosen Wellenlängenbereich von  $450 \pm 25$  nm bis  $780 \pm 30$  nm ermöglichen.

Grundsätzlich ist es für die Separation und anschließende Datierung von sehr kleinen Pollenproben wichtig, dass keine gerätespezifischen Eigenschaften Einfluss auf das Ergebnis nehmen. Daher erlaubt die Analyse von Pollenproben aus denselben Sedimentabschnitten mit unterschiedlichen Durchflusszytometern einen Vergleich der Gerätekonfigurationen und zeigt so, ob die Partikelsignale hinsichtlich Wellenlänge und vor allem Intensität übertragen werden können. Zusätzlich kann die AMS-Datierung von sortierten Pollenkonzentraten den Einfluss der in den Strömungssystemen des Durchflusszytometers verwendeten Flüssigkeit auf das  $^{14}\text{C}$ -Alter zeigen.

Ferner wurde ein BD FACSAria™ Fusion Cell Sorter der Flow Cytometry Core Facility zur Sortierung der Pollenproben aus den Zwischenräumen der Tephren verwendet. Dabei wurde das Setup, also die Wahl der Laser (355 nm, 405 nm, 488 nm, 561 nm, 635 nm) und Emissionsfilter, des

Sorters so gewählt, dass dieses mit dem der FACS Aria™ III vergleichbar ist und dessen Verwendung daher keinen Einfluss auf die zytometrische Analyse der Pollenproben und die Separation der Pollenpopulationen hat.

Im Vorfeld der Durchflusszytometrie und fluoreszenzaktivierten Zellsortierung (FACS) wurde das Probenmaterial zunächst manuell vorgefiltert. Die dabei verwendeten Nylon-Membranfilter reichten in ihrer Maschenweite von 40 µm, 50 µm, 70 µm bis 100 µm. Dieser Schritt diente nicht nur zum Entfernen großer, in den Pollenproben verbliebener Partikel, sondern konnte verschiedene Zellen, die durch Lagerung und Transport Aggregate gebildet haben, weitestgehend vereinzeln. Beides beugte einer Verstopfung der Leitungen und Schläuche des Durchflusszytometers vor.

Zunächst wurden die rezenten Pollenproben verschiedener Gattungen als Markerproben eingemessen. Sie erlaubten es, die zytometrischen Charakteristiken der Pflanzengattungen festzustellen und auf das heterogene Probenmaterial zu übertragen, und so die Identifikation der Pollenpopulationen zu erleichtern. Anhand der homogenen Pollenproben wurden Gates der charakteristischen Streuung in den Scatterplots der verschiedenen Arten definiert. Diese ließen sich auf die Scatterplots der heterogenen Probe übertragen, wobei alle Partikel, die innerhalb dieser Gates plotteten, mit hoher Wahrscheinlichkeit der entsprechenden Pflanzengattung zugeordnet werden konnten.

Die Sortierung erfolgte durch die fluoreszenzaktivierte Zellanalyse. Im Anschluss an die einzelnen Analysepunkte der Laser wurde die Einzelzellsuspension über Schallimpulse mit einer Frequenz von 30 kHz in Schwingung versetzt, sodass der Strahl in einzelne Tropfen zerfiel, wobei jeder Tropfen ein Partikel der heterogenen Probe enthielt und im elektrischen Feld in verschiedene Sammelröhrchen sortiert wurde.

Die Konzentration der Suspension sollte dabei bei 100.000 bis 1.000.000 Partikeln pro ml Flüssigkeit liegen (Givan 2011). Dadurch wurde gewährleistet, dass die Zählrate bei niedriger Partikelkonzentration nicht zu gering war. Während der Experimente schwankte die Sortierate, also die Partikel, die pro Sekunde erfasst und gezählt wurden, stark. Sie korrelierte mit der Zusammensetzung der Pollenproben und konnte < 50 detektierte Ereignisse pro Sekunde (evt/sec) bis > 2.000 evt/sec betragen. Eine geringe Sortierate ist ein Hinweis darauf, dass das Durchflusszytometer die Suspension nicht richtig aufnehmen kann. Grund hierfür kann unter anderem ein verstopfter Ansaugpunkt sein. In diesem Fall wurde die Pollenprobe nochmals aufgerührt und die Sample Line gereinigt. Andersherum ist bei einer sehr hohen Konzentration und Durchflussrate nicht auszuschließen, dass mehrere Partikel zeitgleich am Analysepunkt erfasst werden und so in einem Tropfen isoliert und als ein Partikel sortiert werden. Im Durchschnitt lag die Sortierate aller Experimente bei ca. 200 detektierten Ereignissen pro Sekunde. Die Sortierung erfolgte in „4-

Way-Purity“, d.h. dass simultan ein einzelner Tropfen erzeugt und sortiert wird. Die Tropfen wurden in 5 ml Sammelröhrchen gesammelt.

Im Anschluss an die Durchflusszytometrie wurden die Konzentrate intensiv mit Reinstwasser ( $0,055 \mu\text{S/m}$ , 3 – 4-mal) gespült. Zur Kontrolle der Reinheit der Konzentrate und des Pollengehalts wurde anschließend ein Dünnschliffpräparat erstellt, das mittels Durchlichtmikroskopie auf den Pollengehalt untersucht wurde. Dabei wurde durch Zählen der sichtbaren Partikel das Verhältnis zwischen Pollen und nicht-palynomorphem Detritus erfasst. Die anschließende Auswertung der Scatterplots sowie die Erstellung der dargestellten Abbildungen erfolgte mit den Freewares „FCSalyser“ und „Flowing Software 2.5.1“.

### **3.3.6. Methoden der Pollenseparation**

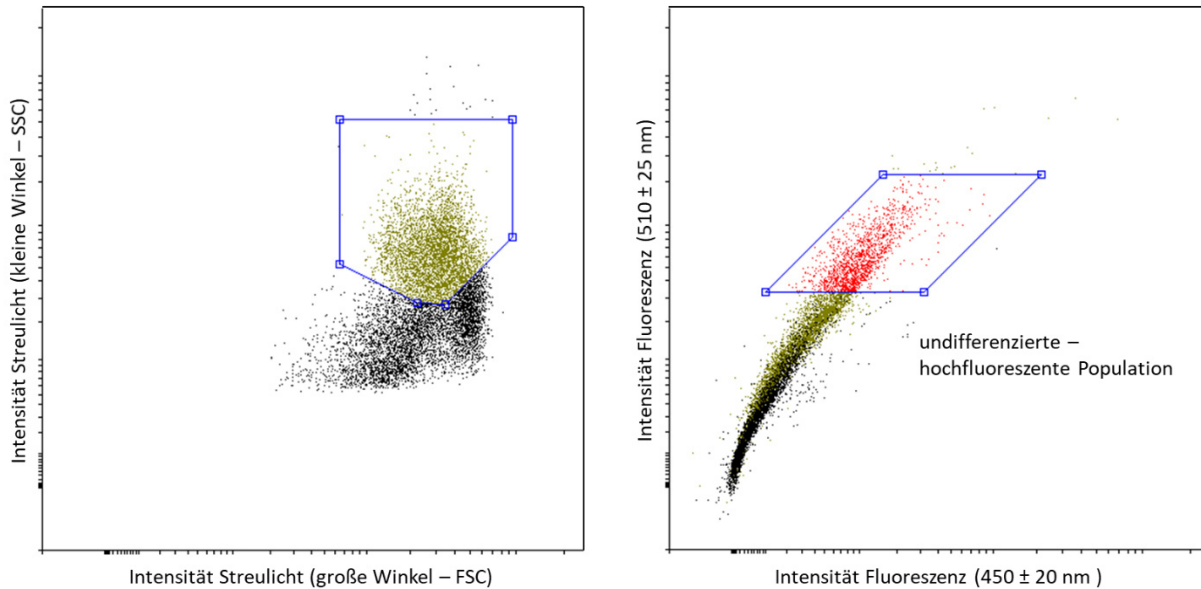
Die Identifikation und die fluoreszenzaktivierte Sortierung erfolgte anhand der Streulichteigenschaften (FSC-H und SSC-A) und der Fluoreszenzeigenschaften im hochenergetischen Wellenlängenbereich. Die verwendeten Emissionsfilter waren V/UV 450/40-A und V/UV 510/50-A und deckten die Detektion von Fluoreszenzsignalen mit den Wellenlängen  $450 \pm 20 \text{ nm}$  und  $510 \pm 25 \text{ nm}$  ab. Mittels der BD DivaSoftware V8.02 ließen sich die Streulicht- sowie die Fluoreszenzeigenschaften graphisch darstellen und analysieren.

Gemäß der verwendeten Siebgaze und Filter ist anzunehmen, dass die Pollen die Partikel mit dem größten Durchmesser in der Probe sind. Dies lässt Grund zur Annahme, dass bei der Betrachtung des in großen Winkeln um die Partikel gestreuten Lichts, Pollen ein deutliches Signal mit einer hohen Intensität erzeugen. Zusätzlich ist anzunehmen, dass viele detritische Partikel, insbesondere mineralische Partikel, eine weniger komplexe Oberflächenstruktur aufweisen als Pollen, sodass auch bei der Lichtbrechung in kleinen Winkeln, also an der Oberflächenstruktur der Partikel, Pollen ein starkes Signal erzeugen.

Anhand der Verteilung der potentiellen Pollen in den Streudiagrammen ließen diese sich theoretisch klar von den detritischen Partikeln differenzieren. Zur weiteren Identifikation der Pollen wurden die Fluoreszenzsignale bei  $450 \pm 20 \text{ nm}$  und  $510 \pm 25 \text{ nm}$  gegeneinander dargestellt. Dabei wurden zwei Sortieransätze auf die vorbehandelten Pollenproben angewandt und so drei unterschiedliche Populationen mit ausreichenden Mengen für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung isoliert.

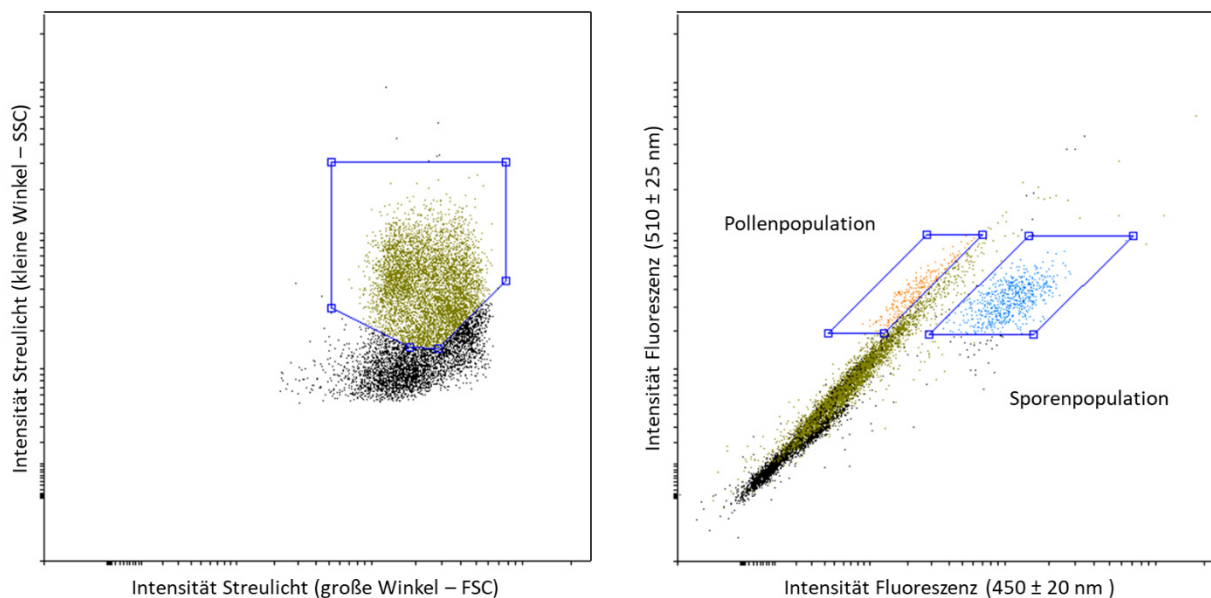
Der erste Ansatz der Pollenidentifikation und -separation basierte auf der Annahme, dass das Autofluoreszenzsignal des Sporopollenins das intensivste Signal ist, das detektiert werden kann (Hunt et al. 2007; Tennant et al. 2013a). Somit wurden die Fluoreszenzsignale der Partikel im

hochenergetischen Wellenlängenbereich betrachtet, wobei sich zwei deutlich trennbare Populationen herausbildeten. Die relevante und anschließend isolierte Population beschränkte sich auf Partikel mit einer starken Fluoreszenzintensität (Wellenlänge bei  $450 \pm 20$  nm und  $510 \pm 25$  nm) und wurde daher als „undifferenzierte – hochfluoreszente“ Population bezeichnet (UHF). Sie wurde mit einem Gate anvisiert (Abb.9 - rot) und anschließend aussortiert.



**Abb. 9:** Ansatz der undifferenzierten, hochfluoreszenten Pollenseparation (UHF). Zunächst wurden bei der Analyse Partikel betrachtet, die bei der Streuung des Lichts in kleinen Winkeln eine hohe Intensität aufweisen (links). Es wurde so eine Unterscheidung zwischen Partikeln mit einer glatten (schwarz) und einer komplexen (grün) Oberfläche vorgenommen. Letztere wurden anschließend bei der Analyse der Fluoreszenzintensitäten im Wellenlängenbereich  $450 \pm 20$  nm und  $510 \pm 25$  nm betrachtet (rechts). Partikel mit einem starken Fluoreszenzsignal (rot) wurden anschließend isoliert.

Ein zweiter „differenzierter“ Ansatz (DA) ermöglichte die Unterscheidung und Trennung von in einer Probe enthaltenen Partikeln in Pollen- und Sporenpopulationen. Auch hier wurden als Ausgangspunkt die Fluoreszenzsignale der Wellenlängen  $450 \pm 20$  nm und  $510 \pm 25$  nm betrachtet. Jedoch wurde die UHF-Population differenziert betrachtet, sodass sich für diesen Ansatz zwei neue Subpopulationen ergaben. Sie befanden sich zu den Seiten der beschriebenen UHF-Population und wurden durch ein leichtes bis starkes Fluoreszenzsignal in einem der beiden Wellenlängenbereiche ( $450 \pm 20$  nm oder  $510 \pm 25$  nm) charakterisiert (Abb. 10). Es ließen sich kleine Moosporen (Bryophyta) anhand einer charakteristischen Signalstärke im Wellenlängenbereich um 450 nm eindeutig unterscheiden und trennen (Abb. 10). Für die Pollenkörner war es schwieriger eine eindeutige Population festzustellen. Sie wiesen ein starkes Fluoreszenzsignal mit einer Wellenlänge von  $510 \pm 25$  nm auf, im hochenergetischen Wellenlängenbereich ( $450 \pm 20$  nm) war ihr Fluoreszenzsignal eher schwach (Abb. 10). Aus dieser Subpopulation konnten Pollenkörner verschiedener Taxa eindeutig differenziert werden. Eine weitere gattungsspezifische Differenzierung der Pollenkörner war nicht möglich.



**Abb. 10:** Ansatz der differenzierten Pollen- und Sporenseparation (DA). Auch hier wurden bei der Analyse zunächst Partikel betrachtet, die bei der Streuung des Lichts in kleinen Winkeln eine hohe Intensität aufweisen (links). Potentielle Pollenkörner wurden anschließend bei der Analyse der Fluoreszenzintensitäten ebenfalls im Wellenlängenbereich  $450 \pm 20$  nm und  $510 \pm 25$  nm betrachtet (rechts). Bei dem differenzierten Ansatz wurde die hochfluoreszente Population nochmals in eine charakteristische Pollen- (orange) und Sporenpopulation (blau) getrennt.

### 3.4. AMS Radiokarbondatierung

Die Radiokohlenstoffmessungen wurden mit dem AMS-System MICADAS (Mini CARbon DAting System) am Labor für Ionenstrahlphysik der ETH Zürich (Schweiz) durchgeführt. Das MICADAS ist mit einer Gasionenquelle ausgestattet, die die Analyse von ca. 10 µg leichten Kohlenstoffproben ermöglicht (Ruff et al. 2010; Wacker et al. 2013; Welte et al. 2018), was ca. 20 µg reinen Pollen entspricht.

In dieser Arbeit basieren die  $^{14}\text{C}$ -Analysen nur auf den Gasmessungen aufgrund der zu geringen Menge an Pollen, die aus den Sedimentproben extrahiert wurde (Minimum 40.000), und aufgrund der entsprechend geringen Masse reinen Kohlenstoffs (Minimum 6 µg). Vor der AMS-Analyse wurden die in Wasser konservierten Pollenkonzentrate in vorgereinigte und gewogene Al-Kapseln überführt und vor äußerer Kontamination geschützt in einem Trockenschrank ( $37\text{-}40^\circ\text{C}$ ) gelagert. Das getrocknete Material in den Kapseln wurde sorgfältig verschlossen, erneut gewogen und in den EA eingebracht.

Nach der Einwaage der Probe wurde diese in einem Elemental Analyzer (EA) verbrannt. Entstandenes CO<sub>2</sub> wurde an einem Abscheider aus Zeolith gebunden und von den restlichen Gasen getrennt, mit Helium gemischt und in die Schnittstelle des MICADAS AMS mit einer Fließrate von ca. 2 µg C/min injiziert (Fewlass et al. 2018; Ruff et al. 2010; Wacker et al. 2013).

### 3.5. Bestimmung der gerätespezifischen Hintergrundbelastung

Bei der <sup>14</sup>C-Datierung der fossilen Proben bedarf es zusätzlich auch der Messung rezenter Kohlenstoffproben, sowie <sup>14</sup>C-freier Proben (Alter > 50.000 Jahre). Sie dienen zur Korrektur des natürlichen Kohlenstoffhintergrunds während der Verarbeitung der Pollen und während der chemischen und zytometrischen Aufbereitung des Probenmaterials. Hierfür sollen bevorzugt Materialien verwendet werden, die der Zusammensetzung der untersuchungsrelevanten Proben sehr ähnlich sind. Als rezente Kohlenstoffprobe wurden Pollen des Spitzahorns (*Acer plantanoides*) gesammelt. Für das <sup>14</sup>C-freie Material wurden vier Core Catcher Proben der PALEOVAN Bohrkampagne von 2010 verwendet, aus denen die Pollen und Sporen separiert wurden. Um ein entsprechendes Alter von > 50.000 Jahren zu gewährleisten, wurden ebensolche Proben gewählt, die aus einer Tiefe von 199,56 m bis 216,80 m stammen. Aufgrund der geringen Pollenausbeute der Core Catcher Proben, wurde außerdem miozäne Braunkohle aus dem Tagebau Hambach (Alter: ca. 23 Mio. Jahre) als Alternative zu den Sedimentproben verwendet. Zwar unterschieden sie sich in der Zusammensetzung sehr von den fossilen Pollenproben, dennoch war sichergestellt, dass die Proben <sup>14</sup>C-frei waren und auch für die Datierung ausreichend Kohlenstoff enthielten. Die Braunkohle wurde zunächst zu einem feinen Pulver gemörsert. Die anschließende physikalisch-chemische Aufbereitung der Pollen- und Braunkohleproben war identisch zu der der fossilen Sedimentproben.

Die Core Catcher Proben wurden mit dem UHF-Separationsansatz analysiert. So war zwar die Reinheit der Pollenkonzentrate gering, trotzdem sollten ausreichend Partikel für die <sup>14</sup>C-Datierung separiert worden sein. Für die Ahornpollen und die Braunkohle wurde keine zusätzliche Multiparameteranalyse durchgeführt. Unter der Annahme, dass die verschiedenen Proben ausschließlich aus Pollen bzw. Kohle bestehen, wurden alle detektierten Partikel aufgefangen. So wurden in < 50 Minuten 11,6 Mio. Ahornpollen bzw. 1,2 Mio. Kohlepartikel separiert.

Vor der <sup>14</sup>C-Datierung wurden die Konzentrate intensiv gespült, um einen Rückstand des PBS zu vermeiden, getrocknet und in Aluminium-Schiffchen eingewogen. Um den Einfluss möglicher Kontaminationen der Geräte besser einschätzen zu können, wurden Referenzproben in unterschied-



lichen Gewichtsstufen erstellt. Das gewählte Gewicht orientierte sich dabei an dem Kohlenstoffgewicht der fossilen Pollenproben. So wurden Proben mit einem Gewicht von 10 µg, 20 µg, 30 µg, 40 µg und 50 µg eingewogen. Pollenkörner bestehen nur zu 75 % - 80 % aus Kohlenstoff, Braunkohle nur zu 65 % (Schiller et al. 2020). Daher überstieg das tatsächliche Gewicht der Proben das ideale Gewicht leicht. Zusätzlich wurden Proben mit einem Gewicht von 2 mg - 3 mg eingewogen. Diese konnten graphitisiert werden und lieferten so präzise  $^{14}\text{C}$ -Datierungen, die anschließend mit den Ergebnissen der Datierung über die Gasphase verglichen werden konnten.

Zur Bestimmung der Hintergrundbelastung der Geräte am Labor für Ionenstrahlphysik mit modernem und fossilem Kohlenstoff (z.B. durch Reinigungsprozesse), wurden mit Oxalsäure und Phthalsäure eingewogene Schiffchen gemeinsam mit den fossilen Proben gemessen.

Die stabilen Kohlenstoffisotope wurden in der Deltanotation in Bezug zu dem durch die IAEA definierten Standard des Vienna PeeDee Belemnite (VPDB) dargestellt.

### **3.6. Validierung über die Warvenchronologie**

Zur Evaluierung der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen wurden die Pollendatierungen mit den Ergebnissen der Warvenzählung, die im Zuge der Masterarbeit von Colin Nieder (2020) durchgeführt wurde, verglichen. Diese erfolgte anhand von Dünnschliffen der Sedimentbohrkerne des Vansees von 2004 und erlaubt somit eine sehr gute Korrelation der verschiedenen Altersbestimmungen. Zusätzlich wurde diese Auswahl durch Sedimentabschnitte aus dem PALEOVAN-Projekt für Dünnschliffe mit einem ungenügenden Erhaltungszustand ergänzt. Dafür wurden diese zunächst zu dem Kompositprofil Van04-2 (2004) korreliert (Nieder 2020). Die Ergebnisse dieser Masterarbeit bilden die Grundlage für die Bewertung der hier erhobenen  $^{14}\text{C}$ -Datierungen.

Die Warvenchronologie von Nieder (2020) basiert auf der rein visuellen Zählung der Laminae und wird in dieser Arbeit durch eine automatisierte Zählung ergänzt, die eine unabhängige Validierung der Zählung und  $^{14}\text{C}$ -Messungen erlaubt. Diese quantitative Erfassung erfolgt anhand des von Weber et al. (2010) entwickelten PEAK und BMPix tools, ein erweiterndes Makro, das mit Microsoft Excel verwendet werden kann.

Basierend auf den hochauflösenden Photographien der Sedimentbohrkerne weist dieses Tool jedem Pixel der BMP-Dateien einen Wert im RGB-Farbraum sowie einen Graustufenwert zu (Weber et al. 2010). Analog zu den optischen Unterschieden zwischen den hellen Sommerlagen und den dunklen Winterlagen, die eine Warve aufbauen, erfasst das BMPix tool die Veränderung der Farbe. Das Tool ermöglicht darüber hinaus, die Minima und Maxima quantitativ zu bestimmen

(Weber et al. 2010). Minima und Maxima entsprechen in diesem Fall den besonders dunklen und hellen Lagen im Sediment und erlauben es, eine Zählung dieser Lagen vorzunehmen. Die Farbanalyse bzw. die Zählung der hellen oder dunklen Schichten erfolgt anhand einer selbstbestimmten Linie. In diesem Fall entspricht diese Linie der Linie, anhand derer auch die visuelle Zählung vorgenommen wurde (Weber et al. 2010).

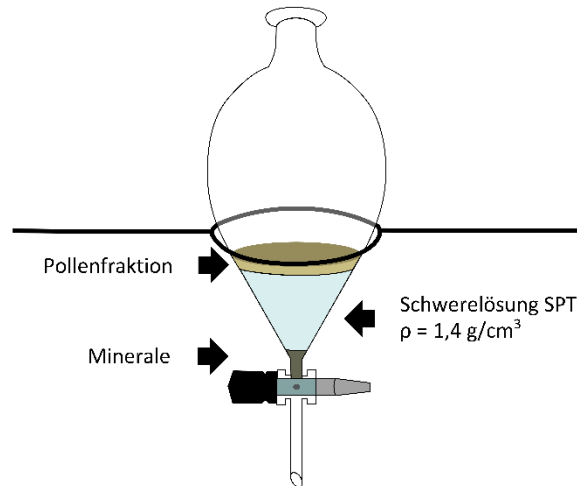
### **3.7. Weitere Experimente**

#### **3.7.1. Schwerentrennung**

Mit dem Ziel des effizienten und sicheren Arbeitens im Labor, wurde die Verwendung der HF durch die Schwerentrennung mit SPT ersetzt. Hierfür wurden zusätzlich fünf Proben aus dem Bohrkern Van04-9 (82 – 86 cm Tiefe) entnommen. Das Probenvolumen lag bei  $3 \text{ cm}^3 - 3,5 \text{ cm}^3$ . Diese Sedimentproben wurden ausschließlich mit HCl vorbehandelt. Da SPT mit Karbonaten reagieren kann, muss die durch die Anwendung von HCl ausgelöste Karbonatreaktion vollständig abgelaufen sein. Zusätzlich wurden sowohl die Grob- als auch die Feinsiebung vor der Schwerentrennung durchgeführt, da der hohe Anteil an feinen Partikeln während der gravitativen Schwerentrennung zu Aggregatbildung führen kann und sich die unterschiedlichen Fraktionen nicht voneinander trennen lassen.

Mit den bei Regnéll and Everitt (1996) beschriebenen spezifischen Dichten für weit verbreitete Baumpollenarten, wurde die Schwerelösung auf eine Dichte von  $1,3 - 1,4 \text{ g/cm}^3$  eingestellt. Dies ermöglichte eine Zweiphasentrennung mit einer dichteren Fraktion, die sich unterhalb der Schwerelösung sammelte und einer leichten Fraktion oberhalb. Dafür wurden 150 g des SPT-Granulats in 200 ml Wasser gelöst und in einen Scheidetrichter gegeben. Anschließend kam das getrocknete Probenmaterial hinzu und wurde durch Rühren mit der SPT-Schwerelösung in Suspension gebracht.

Die Sedimentationszeit betrug 24 Stunden, wobei sich die Partikel mit einer höheren Dichte als  $1,4 \text{ g/cm}^3$  unten absetzten (Abb. 11). Sowohl die schwere als auch die leichte Fraktion wurden auf einem Filterpapier aufgefangen und mit Wasser gespült. Die leichte Fraktion enthielt die Pollen. Zur Kontrolle der Effizienz der Schwerentrennung wurden die schwere und die leichte Fraktion bezüglich Pollengehalt und Reinheit der Pollen unter dem Mikroskop untersucht.



**Abb. 11: Schematischer Aufbau der Versuche zur Schwereretrennung.** In den mit SPT gefüllten Scheidetrichter wurde das chemisch aufbereitete Sediment gegeben. Nach der gravitativen Trennung hat sich eine leichte Pollenfraktion ( $\rho < 1,4 \text{ g/cm}^3$ ) auf der Flüssigkeit und eine schwere Fraktion ( $\rho > 1,4 \text{ g/cm}^3$ ) am Grund gebildet, die über den Hahn separat abgelassen und aufgefangen werden konnten.

### 3.7.2. Flusssäure-Experimente

Zusätzlich wurden Versuche durchgeführt, die zur Reduzierung der Arbeitsschritte im Laborprotokoll beitragen sollten. Auf der einen Seite sollte dies die zeitliche Effizienz steigern und die chemische Belastung für das Pollenmaterial vermindern. Auf der anderen Seite durfte dadurch die Effizienz der Pollenanreicherung nicht sinken. Es wurden fünf Proben ( $4 \text{ cm}^3 - 5 \text{ cm}^3$ ) aus dem Sedimentbohrkern Van04-7 (12 cm – 18 cm Tiefe) entnommen. Zu Beginn der physikalisch-chemischen Aufbereitung wurden diese Proben mit Siebgazen der Maschenweiten  $105 \mu\text{m}$  und  $10 \mu\text{m}$  filtriert. Anschließend erfolgte die direkte Zugabe von 10 ml HF. Die dadurch hervorgerufene Reaktion sollte sowohl die Silikate als auch die Karbonate der Sedimente lösen.

Um die Sicherheit der Beteiligten im Labor zu gewährleisten, wurde die HF auf 5 Vol.%, 10 Vol.%, 15 Vol.% und 20 Vol.% verdünnt. Nach dem vollständigen Ablaufen der chemischen Reaktion wurden die Pollenproben intensiv gereinigt und stichprobenartig mit dem Mikroskop bezüglich der Pollenerhaltung und der Reinheit der Proben untersucht.

Proben-Nr.	Bohrkern	Tiefe [cm]	Probenvolumen	Aufbereitung
HF 1	Van04-7 Seg. 1	12	ca. 4 cm <sup>3</sup>	20 ml HF (5 Vol.%) Versuchsdauer: 3 Tage
HF 2		14	ca. 4 cm <sup>3</sup>	20 ml HF (15 Vol.%) Versuchsdauer: 3 Tage
HF 3		16	ca. 5 cm <sup>3</sup>	20 ml HF (10 Vol.%) Versuchsdauer: 3 Tage
HF 4		18	ca. 4 cm <sup>3</sup>	20 ml HF (20 Vol.%) Versuchsdauer: 3 Tage
HF 5		12	ca. 4 cm <sup>3</sup>	20 ml HF (20 Vol.%) Versuchsdauer: 7 Tage

**Tabelle 4: Probenahmepunkte und Aufbereitungsschritte der Sedimentproben zu den Experimenten mit Flusssäure. Die Unterschiede lagen in der Konzentration (5 Vol.% - 20 Vol.%) der verwendeten Säure sowie in der Versuchsdauer (3 Tage bis 7 Tage).**

## 4. Ergebnisse

Für die holozänen Sedimente des Vansees konnte ein vereinfachtes Laborprotokoll entwickelt werden (Abb. 12), das sich in großen Teilen an bestehenden Laborverfahren orientiert und es ermöglicht, Pollenpopulationen mit einer ausreichenden Quantität an Pollen in einer ausreichenden Reinheit zu isolieren, sodass diese für die Bestimmung belastbarer Radiokarbonalter verwendet werden können.

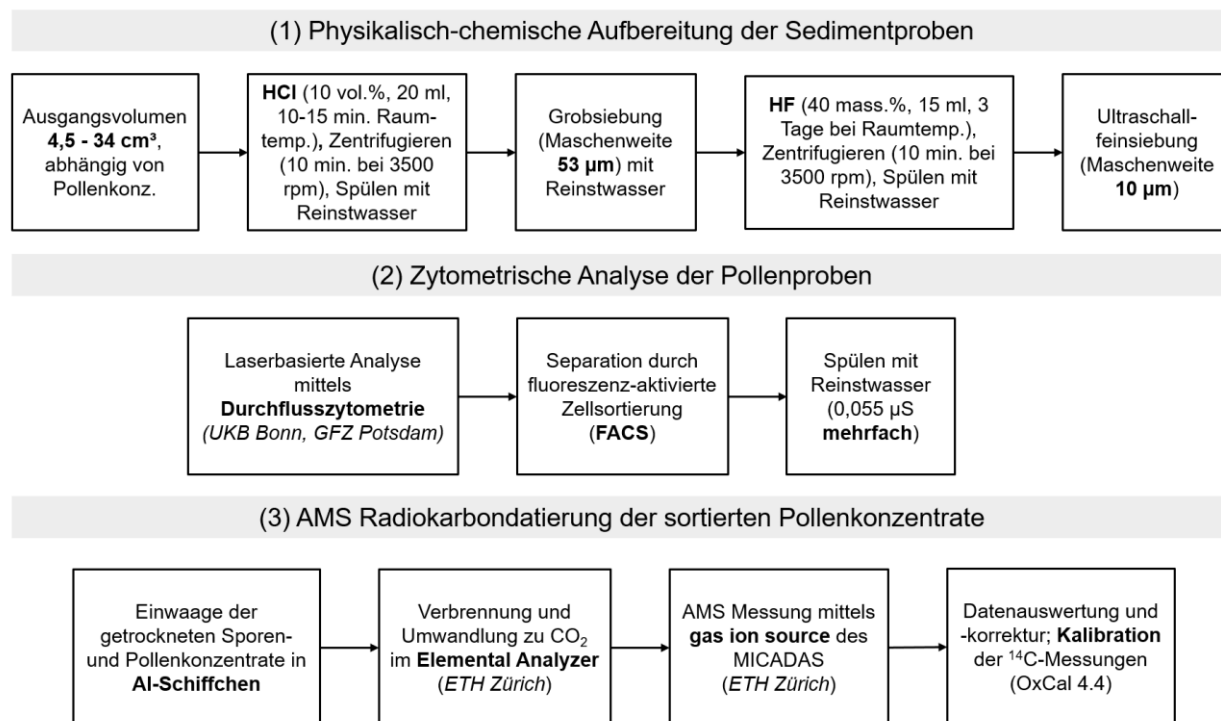


Abb. 12: Zusammenfassendes Laborprotokoll, das erfolgreich für die Aufbereitung von Seesedimenten und die Isolierung der im Sediment enthaltenen Pollen getestet wurde (nach Steinhoff et al. 2022) .

In den nachfolgenden Kapiteln werden die wesentlichen Unterschiede zu bereits bestehenden Forschungsreihen und die Auswirkung auf die Qualität der Pollenproben beschrieben.

### 4.1. Durchflusszytometrie und Datierung der Tephren (CT)

Bei der Beschreibung der methodischen Herangehensweise der Pollenseparation wurde bereits auf die zwei unterschiedlichen Ansätze der fluoreszenzaktivierten Zellsortierung FACS eingegangen. Folgend werden die quantitativen Ergebnisse und die Qualität der Pollenausbeute des einfachen UHF und des differenzierten DA Sortieransatzes dargestellt.

Die chemisch aufbereiteten Pollenproben der ersten Versuchsreihe wurden anhand des einfachen, undifferenzierten Sortieransatzes behandelt, der sich auf die Population mit einem hohen Fluoreszenzsignal im Wellenlängenbereich  $450 \pm 20$  nm und  $510 \pm 25$  nm beschränkte. Diese Proben wurden mit dem FACSAria™ III des Uniklinikums in Bonn sortiert. Der Pollengehalt der Proben schwankte sehr stark und reichte von 35.750 Partikeln für Probe CT 6-1 bis 732.092 Partikel in der Probe CT 5-2 (Tab. 5). Im Mittel konnten 200.265 Partikel in der Hochfluoreszenz-Population separiert werden. Dies entsprach etwa 2,8 % (CT 2-2) bis 31,3 % (CT 4-1) aller mit dem Durchflusszytometer erfassten Partikel (Tab. 5).

Neben der Anzahl der separierten Partikel wurde zudem im Nachgang der Zellsortierung das Verhältnis zwischen Pollen und nicht-palynomorphem Detritus betrachtet. Das Verhältnis oder der Anteil der Pollen gibt einen Hinweis auf die Reinheit der separierten Pollenkonzentrate.

Proben-Nr.	Separierte Partikel	Gehalt an Gesamtzahl der Partikel	Pollenanteil	Dauer der Sortierung (min)
CT 1-1	53.200	19,7 %	70 %	90
CT 1-2	52.278	11,3 %	60 %	20-30
CT 2-1 UKB	429.800	7,8 %	35 %	20-30
CT 2-2	247.700	2,8 %	35 %	20-30
CT 3-1	200.000	-	-	-
CT 3-2 UKB	182.599	13,3 %	80 %	20-30
CT 4-1	245.219	31,3 %	65 %	20-30
CT 4-2	39.998	13,0 %	90 %	20-30
CT 5-1	117.711	2,5 %	70 %	20-30
CT 5-2	732.092	25,0 %	70 %	20-30
CT 6-1	35.750	4,0 %	40 %	90
CT 6-2	108.027	2,0 %	90 %	90
CT 7-2	159.070	4,5 %	70 %	90

**Tabelle 5: Ergebnisse der zytometrischen Analyse (UKB) und der quantitativen und qualitativen Kontrolle der Proben der Messreihe CT.**

Aufgrund der Verwendung der Probe CT 3-1 für den Pilotversuch dieser Versuchsreihe wurde im Zuge der Aufbereitung noch keine Datenerhebung bezüglich Reinheit oder Versuchsdauer durchgeführt. Diese Probe wurde oberhalb der markanten Tephra V-3a entnommen und diente lediglich dazu, die Machbarkeit dieses methodischen Ansatzes zur Pollendatierung festzustellen.

Während die Proben CT 2-1 (UKB), entnommen oberhalb von V-2, und CT 2-2 nur zu etwas mehr als einem Drittel aus Pollenkörnern bestanden, konnte für die Proben CT 4-2 und CT 6-2 eine Reinheit von mehr als 90 % erzielt werden. Im Mittel bestanden die Pollenkonzentrate zu 65 % aus Pollen und Sporen.

Die Dauer der FACS lag bei 20-30 Minuten bzw. 90 Minuten. Eine Korrelation zu den Proben oder der Zusammensetzung der Proben war nicht erkennbar.

An dieser Stelle soll die Probe CT 4-2 herausgestellt werden. Diese Probe enthielt nach einem ersten Separationsvorgang, bei dem der hochfluoreszente Anteil der Hauptpopulation isoliert wurde, nach wie vor einen hohen Anteil detritischer Partikel. Sie wurde nochmals in das Durchflussszytometer gegeben und analysiert. Dabei wurden die Fluoreszenzeigenschaften nach der Bestrahlung mit dem violetten/ultra-violetten Laser in einem Wellenlängenbereich von  $450 \pm 20$  nm und  $780 \pm 30$  nm betrachtet. Während bei der ersten Separation 520.049 Partikel separiert wurden, konnten 211.618 Partikel für die neue Hauptpopulation detektiert werden. Von dieser Hauptpopulation wurde jedoch nur ein kleiner Teil separiert, der sich erkennbar von dieser abhob. In dieser Population konnten 40.000 Partikel isoliert werden, die zu 90 % aus blassen Moossporen bestanden.

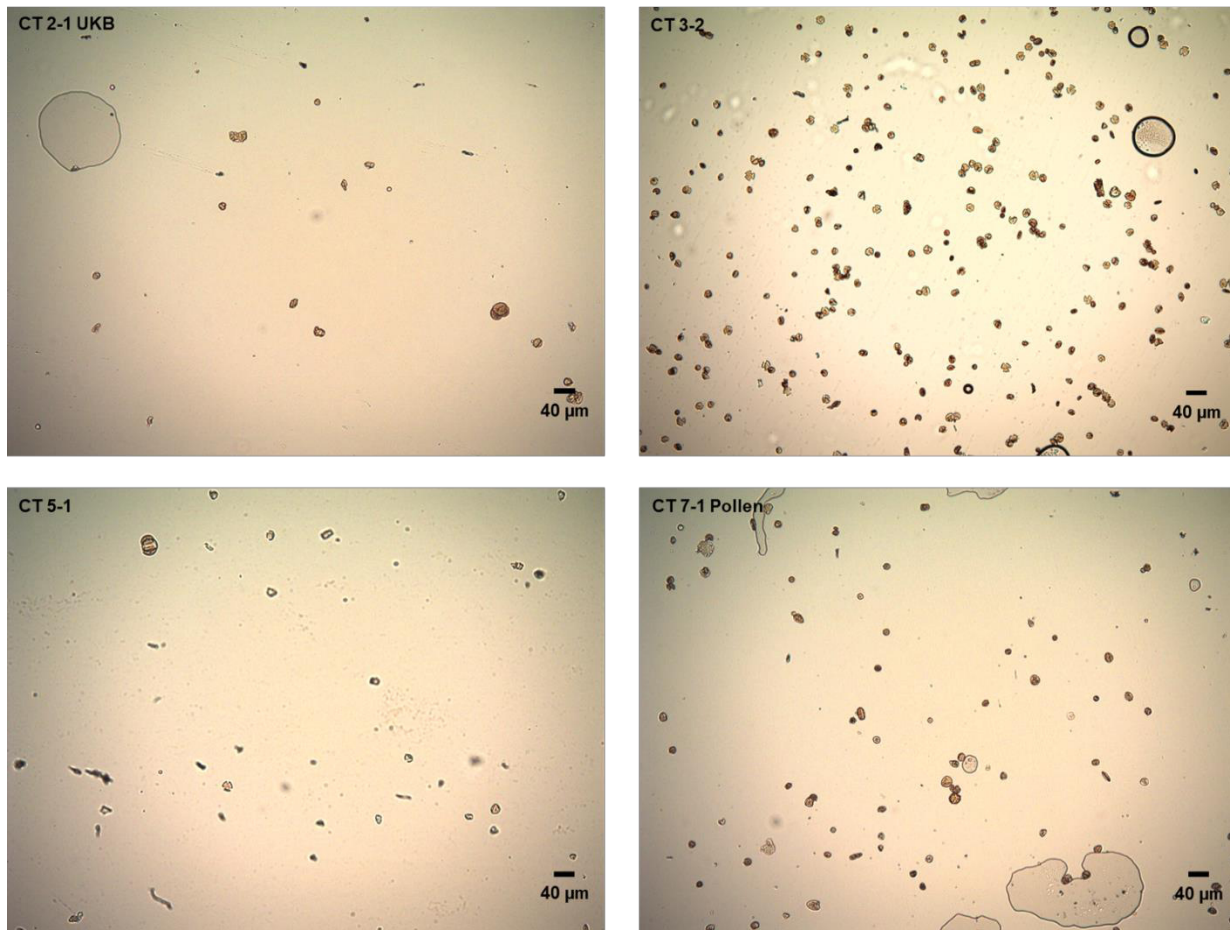
Die Proben, die oberhalb von Tephra V-2 sowie unterhalb von V-3b entnommen wurden, wurden auch aufgrund der Größe der Proben nach der chemischen Aufbereitung in zwei Teile geteilt und die Proben CT 2-1 (GFZ) und CT 3-2 (GFZ) am Geoforschungszentrum in Potsdam untersucht (Tab. 6.). Sie sollten dazu genutzt werden, den Einfluss der verschiedenen Durchflussszytometer auf die Identifikation und Separation der Pollenkörner und einen möglichen Einfluss auf die Pollendatierung zu ermitteln. Auch die Probe CT 7-1, entnommen oberhalb von V-7, wurde am GFZ analysiert und separiert (Tab. 6). Die Pollenprobe CT 7-1 wurde anschließend genutzt, um einen verbesserten Sortieransatz zu erproben und erlaubte darüber hinaus die Differenzierung von Pollen- und Sporenkonzentraten, die anschließend datiert wurden. Vergleichend dazu wurde CT 7-2 mit dem herkömmlichen Sortieransatz (UHF) separiert.

Für CT 2-1 (GFZ) konnten in 125 Minuten 800.575 Partikel separiert werden, die sich zu 30 % aus Pollenkörnern zusammensetzten (Abb. 13). CT 3-2 (GFZ) enthielt 134.434 Partikel, die zu 95 % aus fossilen Pollen und Sporen bestanden (Abb. 13). Um einen Vergleich zu den im UKB bearbeiteten Proben vornehmen zu können, wurde für die beschriebenen Proben der UHF-Sortieransatz angewandt, der sich auf die Separation der undifferenzierten, hochfluoreszenten Population beschränkte.

Proben-Nr.	Separierte Partikel	Gehalt an Gesamtzahl der Partikel	Pollenanteil	Dauer der Sortierung (min)
CT 2-1 GFZ	800.575	12,0 %	30 %	125
CT 3-2 GFZ	134.434	15,0 %	95 %	20
CT 7-1 Sporen	235.361	5,5 %	90 %	45
CT 7-1 Pollen	230.010	5,5 %	100 %	45

**Tabelle 6: Ergebnisse der zytometrischen Analyse (GFZ) und der quantitativen und qualitativen Kontrolle der Proben der Messreihe CT.**

Hiervon unterschied sich die Analyse der Probe CT 7-1. Für diese Pollenprobe war es möglich, eine eindeutige Differenzierung zwischen Pollen und Sporen vornehmen zu können. Entsprechend des entwickelten „differenzierten“ Sortieransatzes konnten zwei distinkte Populationen separiert werden, wobei die Pollenpopulation aus 230.010 Partikeln und die Sporenpopulation aus 235.361 Partikeln bestand. Die Reinheit lag bei 100 % für das Pollenkonzentrat und bei 95 % für das Sporenkonzentrat (Abb. 13).



**Abb. 13: Die Kontrolle der sortierten Pollenkonzentrate mit dem Mikroskop zeigte für CT 2-1 GFZ eine geringe Partikeldichte. Der Anteil nicht palynomorpher Partikel war nach wie vor sehr hoch. CT 3-2 und CT 7-1 Pollen hingegen bestanden zu 95 % bis 100 % aus Pollen. CT 5-1 wies zwar mit 70 % einen verhältnismäßig hohen Anteil an Pollen auf, jedoch führte die verhältnismäßig geringe Anzahl an Partikeln (117.700) zu einer geringen Partikeldichte.**



Bei der Verarbeitung der Proben im Elemental Analyzer und der anschließenden  $^{14}\text{C}$ -Messung mittels MICADAS des LIP in Zürich konnte neben dem Alter der Proben auch das Gewicht des organischen Kohlenstoffs in den Pollenkonzentraten gemessen werden. Eine Zusammenstellung ist der Tabelle 7 zu entnehmen.

Das Gewicht der kohlenstoffhaltigen Bestandteile der Sporen- und Pollenkonzentrate reichte von 6  $\mu\text{g}$  (CT 4-2) bis 160  $\mu\text{g}$  (CT 2-1 GFZ), wobei es sich hierbei um Extreme handelte. Im Allgemeinen lag das Kohlenstoffgewicht der Proben bei 20  $\mu\text{g}$  – 50  $\mu\text{g}$ . Die Proben eigneten sich daher für die direkte Datierung über die  $\text{CO}_2$ -Phase.

Proben-Nr.	Gewicht [ $\mu\text{g C}$ ]	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	$^{14}\text{C}$ Alter	$^{14}\text{C}$ Alter $\sigma$	$^{14}\text{C}$ cal BP	$^{14}\text{C}$ cal BP $\sigma$
CT 1-1	-	-	-	-	-	-
CT 1-2	22	-32,8	1901	$\pm 75$	1818	$\pm 92$
CT 2-1 UKB	25	-23,7	4285	$\pm 75$	4858	$\pm 134$
CT 2-1 GFZ	160	-19,8	5045	$\pm 74$	5789	$\pm 88$
CT 2-2	-	-	-	-	-	-
CT 3-1			2364	$\pm 89$	2434	$\pm 149$
CT 3-2 UKB	17	-23,7	6118	$\pm 76$	6999	$\pm 109$
CT 3-2 GFZ	30	-17,9	5567	$\pm 104$	6367	$\pm 115$
CT 4-1	-	-	-	-	-	-
CT 4-2	6	-18,1	7423	$\pm 269$	8248	$\pm 290$
CT 5-1	28	-25,9	3939	$\pm 85$	4374	$\pm 136$
CT 5-2	140	-20,6	7895	$\pm 98$	8745	$\pm 144$
CT 6-1	13	-21,0	7790	$\pm 153$	8626	$\pm 195$
CT 6-2	28	-17,0	9595	$\pm 126$	10.929	$\pm 179$
CT 7-1 Sporen	40	-11,3	11.136	$\pm 113$	13.031	$\pm 128$
CT 7-1 Pollen	50	-18,9	9380	$\pm 106$	10.612	$\pm 190$
CT 7-2	55	-21,0	9648	$\pm 117$	10.970	$\pm 168$

**Tabelle 7: Ergebnisse der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen der Proben der Messreihe CT. Das kalibrierte  $^{14}\text{C}$ -Alter ist in Bezug auf das Jahr 1950 n. Chr. angegeben (BP).**

Große Teile der Probe CT 1-1, unmittelbar oberhalb von Tephra V-1 entnommen, sind bei der Verarbeitung des Konzentrats im Elemental Analyzer verloren gegangen, sodass eine Messung

des Alters nicht möglich war. Das Alter der Probe CT 1-2, die unterhalb der V-1 entnommen wurde, konnte auf  $1901 \pm 75$  Jahren BP bestimmt werden.

Für die nach der chemischen Aufbereitung getrennt behandelten Pollenkonzentrate CT 2-1 spiegelte sich der große Unterschied in der Anzahl der sortierten Pollen (429.800 vs. 800.575) auch im Gewicht der Proben wider. Während der reine Kohlenstoff der Probe CT 2-1 (UKB) ein Gewicht von 25  $\mu\text{g}$  hatte, wies die Probe CT 2-1 (GFZ) ein Vielfaches davon auf (160  $\mu\text{g}$ ). Trotz der identischen Ausgangsprobe wurde für CT 2-1 (UKB) ein Alter von  $4285 \pm 75$  Jahren BP bestimmt, während CT 2-1 (GFZ) ein Alter von  $5045 \pm 45$  Jahren BP ergab.

Ähnlich zur Probe CT 1-1 sind auch die unterhalb von V-2 entnommene Probe CT 2-2 und später Probe CT 4-1, entnommen oberhalb von V-4, in Teilen verloren gegangen, sodass für deren Residuen keine  $^{14}\text{C}$ -Alter bestimmt werden konnten.

Die bereits im Vorfeld des Dissertationsvorhabens untersuchte Probe CT 3-1 konnte auf  $2364 \pm 89$  BP bestimmt werden.

Durch die Teilung der Probe CT 3-2 konnten zwei  $^{14}\text{C}$ -Alter erhoben werden, die einen Vergleich der verwendeten Durchflusszytometer zuließen. Die Probe, die mit dem FACS Aria III™ im UKB untersucht wurde, wies ein Alter von  $6118 \pm 76$  BP auf. Die Probe, die mit dem entsprechenden Durchflusszytometer am GFZ sortiert wurde, war  $5567 \pm 104$  Jahre alt. Mit 17  $\mu\text{g}$  (CT 3-2 UKB) und 30  $\mu\text{g}$  Kohlenstoff (CT 3-2 GFZ) war das Gewicht der Proben verhältnismäßig ähnlich.

CT 4-2 enthielt nur 40.000 Pollen und Sporen. Dies entsprach, trotz der hohen Reinheit von mehr als 90 %, nur 6  $\mu\text{g}$  Kohlenstoff. Das Alter des Pollenkonzentrats, das die Sedimente unmittelbar unterhalb von V-4 repräsentiert, lag bei 7423 BP. Entsprechend dem geringen Probengewicht belief sich die Unsicherheit der Datierung auf 269 Jahre.

Während die Probe CT 5-1 ein durchschnittliches Probengewicht von 28  $\mu\text{g}$  Kohlenstoff aufwies, konnten für die Probe CT 5-2 140  $\mu\text{g}$  Kohlenstoff gemessen werden. Beide Proben wurden in unmittelbarer Nähe zu Tephra V-5 entnommen. Das für diese Proben bestimmte  $^{14}\text{C}$ -Alter der Konzentrate unterschied sich jedoch deutlich. CT 5-1 konnte lediglich auf  $3939 \pm 85$  BP datiert werden, während die Messung der Probe CT 5-2 ein Alter von  $7895 \pm 98$  BP ergab.

Mit zunehmender Tiefe steigt allmählich der Fehler der AMS-Messungen. Die Proben, die oberhalb und unterhalb der Tephra V-6 entnommen wurden, wiesen ein Alter von  $7790 \pm 153$  BP (CT 6-1) und  $9595 \pm 126$  BP (CT 6-2) auf. Das Kohlenstoffgewicht lag für CT 6-2 bei 28  $\mu\text{g}$ . Besonders die Masse des Konzentrats CT 6-1 von lediglich 13  $\mu\text{g}$  könnte eine Ursache für den verhältnismäßig großen Fehler der Probe sein.

Für die Tephra V-7 wurde wieder oberhalb und unterhalb der vulkanischen Aschelage eine Sedimentprobe entnommen und aufbereitet. Es lagen drei verschiedene Sporen- und Pollenkonzentrate vor, die mit den unterschiedlichen Sortieransätzen UHF und DA analysiert wurden. Die drei Fraktionen wiesen ein vergleichbares Gewicht von 40 µg bis 55 µg Kohlenstoff auf. Die Pollenfraktion der Probe CT 7-1 wurde auf  $9380 \pm 106$  BP datiert, die undifferenzierte Fraktion von CT 7-2 auf  $9648 \pm 117$  BP. Die Sporenpopulation aus der Probe CT 7-1 wies dagegen ein Alter von  $11.136 \pm 113$  BP auf.

#### 4.2. Durchflusszytometrie und Kontrolldatierungen der Tephren (CC)

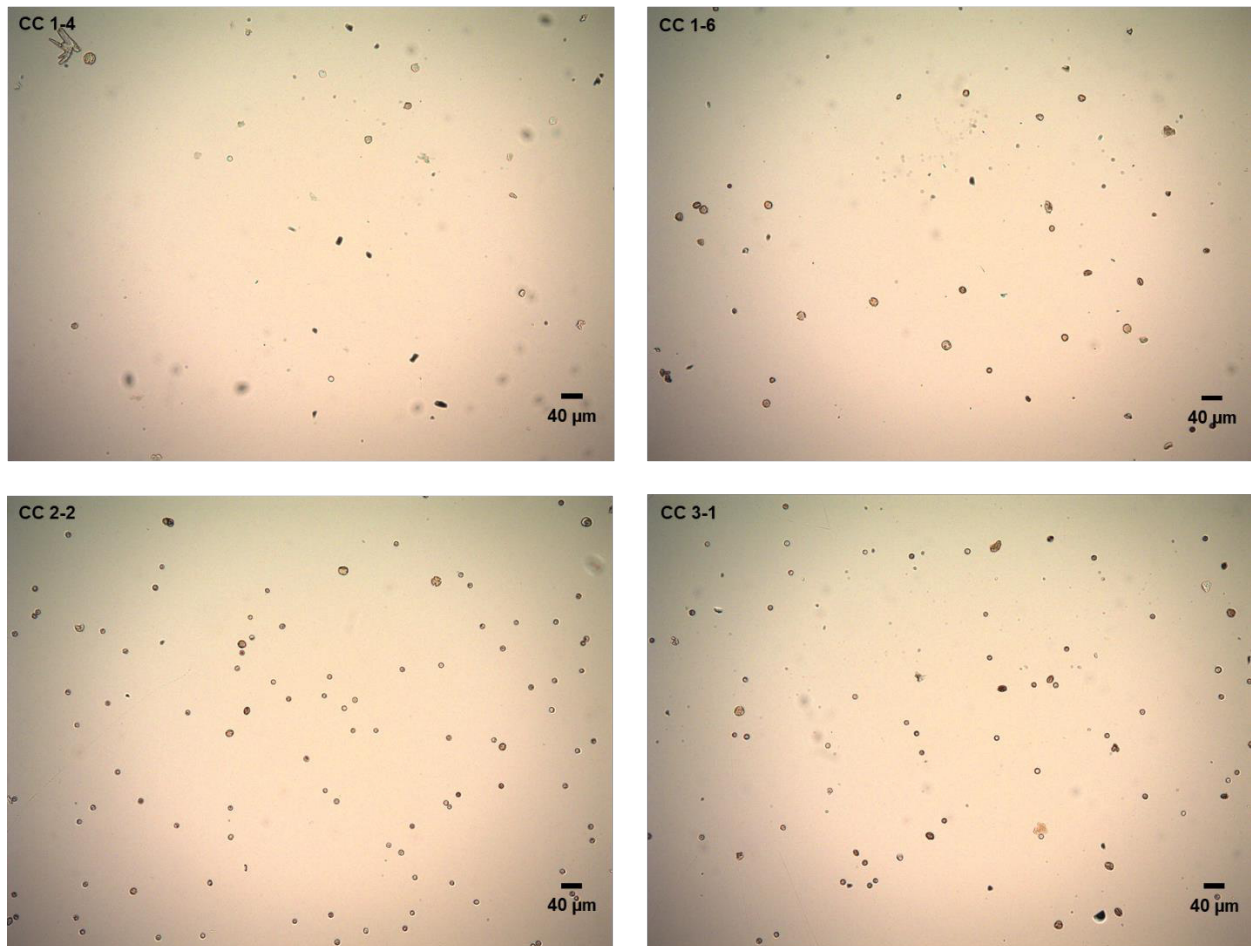
Die Kontrollproben der zweiten Messreihe wurden ausschließlich mit dem FACSria™ III des Geoforschungszentrums in Potsdam sortiert. Die Ergebnisse der zytometrischen Analyse sind in Tabelle 8 dargestellt.

Proben-Nr.	Separierte Partikel	Gehalt an Gesamtzahl der Partikel	Pollenanteil	Dauer der Sortierung (min)	Sortieransatz
CC 1-1	369.215	9,0 %	70 %	60	UHF
CC 1-2 Sporen	655.258	2,0 %	70 %	50	DA
CC 1-2 Pollen	81.204	2,0 %	90 %	50	DA
CC 1-3	695.700	22,0 %	80 %	60	UHF
CC 1-4	455.457	22,5 %	40 %	60	UHF
CC 1-5	376.649	15,0 %	40 %	60	UHF
CC 1-6	181.787	5,0 %	90 %	80	DA
CC 2-1	130.731	1,5 %	90 %	105	DA
CC 2-2	891.326	1,5 %	90 %	135	DA
CC 3-1	315.385	3,0 %	95 %	90	DA
CC 4-2	133.086	2,5 %	80 %	30	DA
CC 4-4	104.269	3,0 %	90 %	30	DA

**Tabelle 8:** Ergebnisse der zytometrischen Analyse und der quantitativen und qualitativen Kontrolle der Kontrollproben der Messreihe CC.

Der Pollengehalt der sortierten Konzentrate lag zwischen 81.204 Partikeln (Pollenkonzentrat der Probe CC 1-2) und 891.326 Partikeln (CC 2-2). Im Mittel enthielten die Konzentrate 365.839 Partikel. Dieser Pollengehalt entsprach 1,5 % (CC 2-1 und CC 2-2) bis ca. 22,5 % (CC 1-4) der mit

dem Durchflusszytometer erfassten Partikel. Dabei zeigte sich ein Unterschied zwischen den beiden Sortieransätzen. Bei der gröberen Sortierung des UHF-Ansatzes umfassten die Pollen und Sporen ca. 9,0 % bis 22,5 %. Die durch den differenzierten Sortieransatz (DA) separierten Pollenpopulationen enthielten nur bis zu 5,0 % aller detektierten Partikel und waren damit deutlich feiner. Die Reinheit der Pollenkonzentrate (s. Abb. 14) variierte zwischen 40 % (CC 1-4 und CC 1-5) und 95 % (CC 3-1). Mit einer mittleren Reinheit von 77 % war die Qualität der separierten Pollenkonzentrate deutlich höher als bei der vorangegangenen Versuchsreihe. Ein großer Anteil der Proben wurde mit dem differenzierten Sortieransatz behandelt.



**Abb. 14:** Die Kontrolle der sortierten Pollenkonzentrate mit dem Mikroskop zeigte für die mit dem differenzierten Sortieransatz behandelten Pollenkonzentrate einen sehr hohen Gehalt von 70 % bis 90 %. Hier dargestellte Mikroskopaufnahmen der Proben CC 1-6, CC 2-2 und CC 3-1 wiesen zu 90 % Pollen auf. CC 1-4 (40 % Pollen) belegt jedoch, dass es schwierig sein kann, die Pollenpopulation vom undifferenzierten Detritus während der Multiparameteranalyse klar zu trennen.

Aus der zweiten Versuchsreihe der Kontrollproben (s. Tab. 9) ergaben sich für die vulkanische Aschelage V-1 sieben zusätzliche  $^{14}\text{C}$ -Datierungen aus den Pollenkonzentraten CC 1-1 bis CC 1-6. Trotz des identischen Ausgangsvolumens variierte das Gewicht des reinen Kohlenstoffs in den Proben, in Abhängigkeit von der Anzahl der isolierten Pollen und Sporen in den Konzentraten,

zwischen 20 µg und 80 µg. CC 1-1 wies dabei ein Alter von  $2606 \pm 67$  BP auf. Ein ähnliches Alter konnte für die Proben CC 1-3 ( $2366 \pm 64$  BP) und CC 1-5 ( $2458 \pm 86$  BP) ermittelt werden. Alle Proben wurden oberhalb von V-1 entnommen.

CC 1-6 war mit  $1546 \pm 66$  BP ca. 900 - 1100 Jahre jünger als die vorangegangenen Proben. Für die Pollenprobe CC 1-2 konnten, ähnlich zu der Probe CT 7-1, während der zytometrischen Analyse zwei Populationen identifiziert und separat aufgefangen werden. Daher war es möglich, aus der Probe CC 1-2 jeweils ein  $^{14}\text{C}$ -Alter für die Pollenpopulation und eines für die Population der Moossporen zu bestimmen. Dabei ergab die Datierung der Pollenprobe ein Alter von  $1559 \pm 102$  Jahren BP. Mit  $2356 \pm 65$  Jahren BP war das Sporenkonzentrat älter als das der Pollen.

Proben-Nr.	Gewicht [µg C]	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	$^{14}\text{C}$ Alter	$^{14}\text{C}$ Alter $\sigma$	$^{14}\text{C}$ cal BP	$^{14}\text{C}$ cal BP $\sigma$
CC 1-1	40	-21,3	2606	$\pm 67$	2725	$\pm 107$
CC 1-2 Sporen	60	-19,4	2356	$\pm 65$	2411	$\pm 128$
CC 1-2 Pollen	20	-17,1	1559	$\pm 102$	1454	$\pm 99$
CC 1-3	80	-24,8	2366	$\pm 64$	2426	$\pm 124$
CC 1-4	30	-23,3	3095	$\pm 82$	3291	$\pm 102$
CC 1-5	30	-20,8	2458	$\pm 86$	2540	$\pm 117$
CC 1-6	40	-20,3	1546	$\pm 66$	1435	$\pm 66$
CC 2-1	20	-21,0	3182	$\pm 102$	3397	$\pm 127$
CC 2-2	150	-13,3	4379	$\pm 71$	4980	$\pm 126$
CC 3-1	60	-15,2	4388	$\pm 73$	4996	$\pm 129$
CC 4-2	30	-18,3	7749	$\pm 109$	8546	$\pm 145$
CC 4-4	30	-17,6	7995	$\pm 112$	8849	$\pm 163$

Tabelle 9: Ergebnisse der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen der Kontrollproben der Messreihe CC. Das kalibrierte  $^{14}\text{C}$ -Alter ist in Bezug auf das Jahr 1950 n. Chr. angegeben (BP).

Das höchste gemessene Alter für die Tephra V-1 wies die Probe CC 1-4 auf, die, ebenso wie CC 1-2 und CC 1-6, unterhalb der vulkanischen Aschelage entnommen wurde.

Zur Kontrolle der  $^{14}\text{C}$ -Datierung zu Tephra V-2 lagen zwei Messungen vor. CC 2-1 wurde oberhalb von V-2 entnommen. Die Masse des reinen Kohlenstoffs der separierten Probe beträgt 20 µg. Das Alter der Probe lag bei  $3182 \pm 102$  BP. Die unterhalb der Tephra entnommene Probe CC 2-

2 wies, nebst einem deutlich höheren Gehalt an enthaltenen Pollen und Sporen, ein Kohlenstoffgewicht von 160 µg auf und ließ sich auf  $4379 \pm 71$  BP datieren. Die Altersdifferenz zwischen CC 2-1 und CC 2-2 lag bei ca. 1370 Jahren.

Das Pollenkonzentrat CC 3-1 zu Tephra V3-a enthielt 60 µg Kohlenstoff und konnte auf  $4388 \pm 73$  BP datiert werden.

Zu der Tephra V-4 konnte für die Konzentrate CC 4-2 und CC 4-4 ein Alter von  $7749 \pm 109$  BP bzw.  $7995 \pm 112$  BP bestimmt werden. Beide Proben wiesen 30 µg Kohlenstoff auf.

### **4.3. Durchflusszytometrie und Pollendatierungen zwischen den Tephren (CS)**

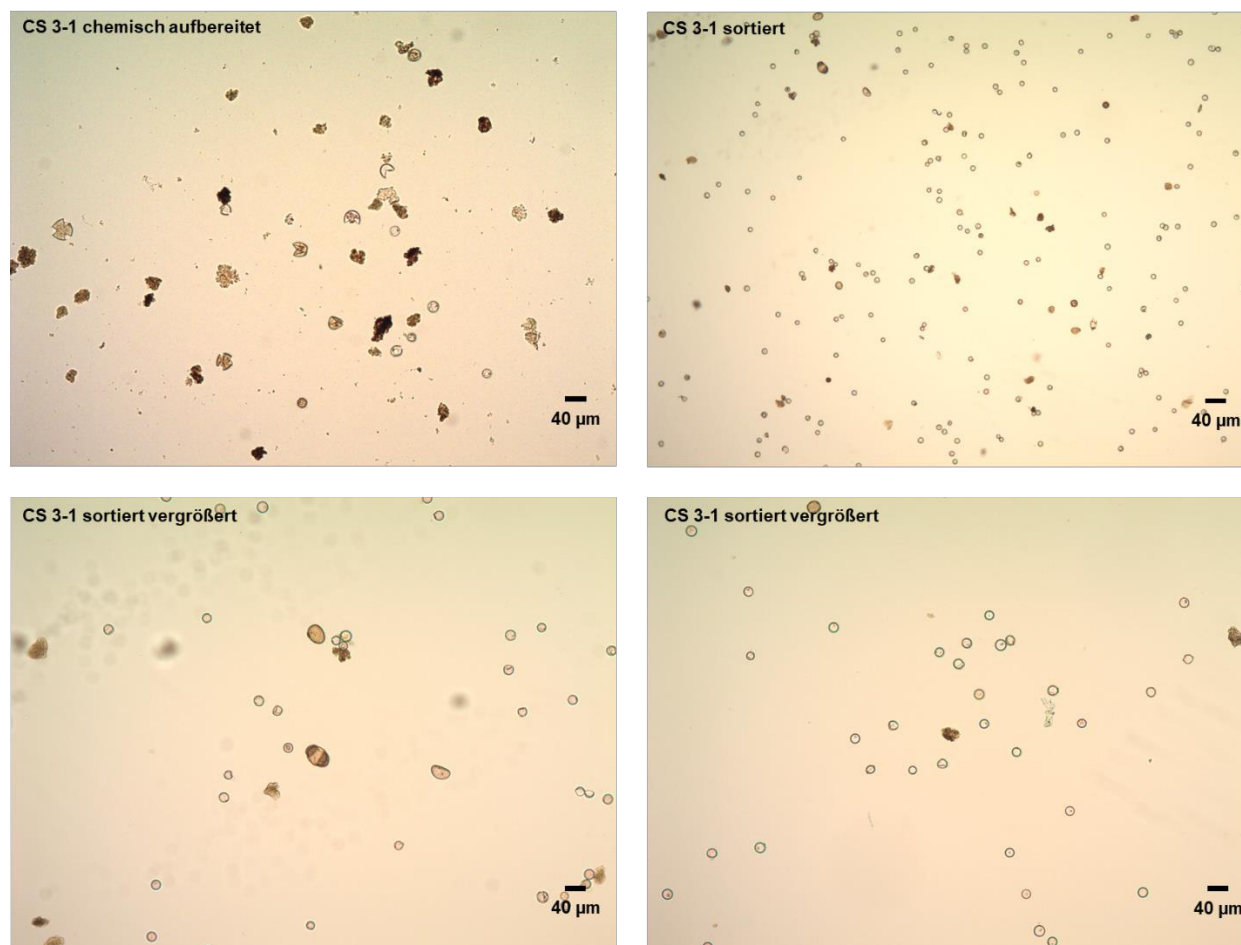
Die bis dahin gemessenen Pollenproben konzentrierten sich auf die Datierung der markanten vulkanischen Aschelagen in den Sedimenten des Vansees. Da diese jedoch unregelmäßig in den Sedimenten verteilt sind, wurden zur Erstellung eines kontinuierlichen Altersmodells für die holozänen Sedimente des Vansees auch die Abschnitte oberhalb von V-1, unterhalb von V-3b bis zu V-4 und zwischen V-6 und V-7 in einem regelmäßigen Abschnitt beprobt und die Proben entsprechend der vorangegangenen Versuchsreihen aufbereitet. Die Ergebnisse der Aufbereitung und zytometrischen Analyse dieser Messreihe sind in Tabelle 10 dargestellt.

Während die zytometrische Analyse und die FACS der Proben CS 1-1, CS 1-2 und CS 1-3 noch mit dem FACSAria™ III des Uniklinikums in Bonn durchgeführt wurden, wurde für alle folgenden Proben das Durchflusszytometer FACSFusion™ des Uniklinikums verwendet.

Anknüpfend an die Ergebnisse der Separation der Pollenproben mit dem differenzierten Sortieransatz wurde dieser auch bei den Pollenproben dieser Messreihe angewandt. Es wurden ebenfalls eine Sporenpopulation und eine Pollenpopulation identifiziert und separiert. Für die Datierung der Proben wurde nur das Konzentrat der Pollenpopulation verwendet.

Die niedrigste Anzahl sortierter Partikel wurde für die Proben CS 1-1, CS 1-2 und CS 1-3 festgestellt. Hier wurden lediglich 20.682 – 32.953 Partikel gezählt. Das Maximum der sortierten Partikel betrug 239.559 (CS 3-3). Im Mittel konnten für die Proben dieser Versuchsreihe 124.300 Partikel pro Probe sortiert werden.

Die geringe Anzahl der separierten Partikel in den Proben CS 1-1, CS 1-2 und CS 1-3 hat außerdem dazu geführt, dass keine Aussage über die Reinheit der Konzentrate getroffen werden konnte. Zwar wurde die Probe bezüglich des Pollengehalts überprüft, jedoch war die Partikeldichte für die Bestimmung des Pollen/Nicht-Pollen-Verhältnisses zu gering.



**Abb. 15:** Während nach der chemischen Aufbereitung der Sedimentproben noch dunkle, detritische Partikel in der Probe verbleiben können, erlaubt es die Durchflusszytometrie diese weitestgehend zu entfernen.

Für die anderen Pollenkonzentrate variierte die Reinheit zwischen 43 % (CS 3-7) und 90 % (CS 3-1). Mit einer mittleren Reinheit von 67 % lag die qualitative Ausbeute dieser Messreihe unterhalb der mittleren Reinheit der Kontrollmessreihe (CC), sie bestätigte jedoch die erfolgreiche Anwendung des differenzierten Sortieransatzes für die Sedimente des Vansees. So verdeutlicht Abb. 15, dass die hier etablierte Methode der chemisch-physikalischen Aufbereitung der Probe, in Kombination mit dem differenzierten Sortieransatz der Durchflusszytometrie, die Erstellung annähernd reiner Pollenkonzentrate ermöglicht.

Die Dauer der zytometrischen Analyse und der FACS variierte stark von 18 Minuten für die Probe CS 6-1 bis zu 99 Minuten für die Probe CS 1-5.

Entsprechend der unterschiedlichen Anzahl der separierten Partikel, variierte auch das am LIP der ETH Zürich bestimmte Gewicht des in den Konzentraten enthaltenen Kohlenstoffs. Im Mittel wiesen die Pollenkonzentrate ein Gewicht von 86 µg Kohlenstoff auf. Die Konzentrate, die weniger

als 100.000 Partikel enthielten, wiesen lediglich ein Gewicht von 24 µg (CS 1-1) bis 46 µg Kohlenstoff (CS 6-5) auf. Das höchste Gewicht erreichte CS 3-7 mit 146 µg Kohlenstoff.

Proben-Nr.	Separierte Partikel	Gehalt an Gesamtzahl der Partikel	Pollenanteil	Dauer der Sortierung (min)	Sortieransatz
CS 1-1	28.707	2,6 %	zu geringe Partikeldichte für Bestimmung	73 Minuten	DA
CS 1-2	20.682	1,9 %	zu geringe Partikeldichte für Bestimmung	37 Minuten	DA
CS 1-3	32.953	4,2 %	zu geringe Partikeldichte für Bestimmung	50 Minuten	DA
CS 1-4	180.536	11,8 %	66 %	93 Minuten	DA
CS 1-5	204.444	12,4 %	73 %	99 Minuten	DA
CS 3-1	179.361	9,0 %	90 %	66 Minuten	DA
CS 3-3	239.559	10,0 %	51 %	55 Minuten	DA
CS 3-5	158.739	10,6 %	59 %	25 Minuten	DA
CS 3-7	127.497	7,6 %	43 %	21 Minuten	DA
CS 3-9	102.043	14,9 %	74 %	30 Minuten	DA
CS 6-1	44.233	2,8 %	83 %	18 Minuten	DA
CS 6-3	208.044	2,8 %	65 %	24 Minuten	DA
CS 6-5	81.675	5,6 %	77 %	21 Minuten	DA
CS 6-7	185.211	4,1 %	55 %	41 Minuten	DA
CS 6-9	70.685	3,1 %	63 %	45 Minuten	DA

**Tabelle 10:** Ergebnisse der zytometrischen Analyse und der quantitativen und qualitativen Kontrolle der Proben der Messreihe CS.

Bei der Datierung der Sedimente (s. Tab. 11) oberhalb von Tephra V-1 ergaben sich <sup>14</sup>C-Alter, die von 490 ± 80 Jahre BP (CS 1-2) bis 1740 ± 50 Jahre BP (CS 1-5) reichten. Die Betrachtung der Datierungen von CS 1-2 bis CS 1-5 zeigte eine sukzessive Alterszunahme bei zunehmender Tiefe an. Lediglich CS 1-1 wies mit 1270 ± 90 Jahren BP ein Alter auf, das dem der 10 cm bis 15 cm darunterliegenden Sedimente entsprach.

Auch bei den Datierungen der Pollenkonzentrate, die aus den Sedimenten zwischen V-3b und V-4 erzeugt wurden, zeigte sich eine gewisse Sprunghaftigkeit. Die jüngste Probe war die tiefste Probe CS 3-9 mit einem Alter von 3860 ± 70 Jahren BP. CS 3-5, ca. 20 cm oberhalb von CS 3-9 entnommen, wies das höchste Alter von 6450 ± 70 Jahre BP auf.



Die Datierungen, die den Zwischenraum zwischen V-6 und V-7 abdeckten, konnten in zwei Gruppen eingeordnet werden. CS 6-1 und CS 6-4 deuteten ein Alter von  $6690 \pm 130$  Jahren BP bis  $6820 \pm 90$  Jahre BP an. Die weiteren Datierungen wiesen jedoch auf eine sukzessive Alterszunahme von  $8150 \pm 90$  Jahren BP bis  $8950 \pm 120$  Jahren BP hin.

Proben-Nr.	Gewicht [ $\mu\text{g C}$ ]	$\delta^{13}\text{C}$ [‰]	$^{14}\text{C}$ Alter	$^{14}\text{C}$ Alter $\sigma$	$^{14}\text{C}$ cal BP	$^{14}\text{C}$ cal BP $\sigma$
CS 1-1	24	-14,6	1270	$\pm 90$	1184	$\pm 91$
CS 1-2	27	-11,6	490	$\pm 80$	520	$\pm 81$
CS 1-3	16	-24,7	710	$\pm 110$	662	$\pm 90$
CS 1-4	140	-21,9	1510	$\pm 50$	1387	$\pm 57$
CS 1-5	143	-22,7	1740	$\pm 50$	1629	$\pm 56$
CS 3-1	135	-23,4	5190	$\pm 60$	5959	$\pm 97$
CS 3-3	125	-22,2	4950	$\pm 60$	5683	$\pm 80$
CS 3-5	102	-25,0	6450	$\pm 70$	7360	$\pm 68$
CS 3-7	146	-28,1	5360	$\pm 90$	6136	$\pm 103$
CS 3-9	59	-23,5	3860	$\pm 70$	4277	$\pm 104$
CS 6-1	27	-24,6	6690	$\pm 130$	7560	$\pm 114$
CS 6-3	84	-21,3	8150	$\pm 90$	9109	$\pm 148$
CS 6-5	46	-24,0	6820	$\pm 90$	7665	$\pm 86$
CS 6-7	62	-18,4	8690	$\pm 90$	9690	$\pm 145$
CS 6-9	37	-19,3	8950	$\pm 120$	10.029	$\pm 179$

Tabelle 11: Ergebnisse der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen der Proben der Messreihe CS. Das kalibrierte  $^{14}\text{C}$ -Alter ist in Bezug auf das Jahr 1950 n. Chr. angegeben (BP).

#### 4.4. Constant Contamination

Die Datenauswertung und -korrektur erfolgte nach der in Welte et al. (2018) und Hanke et al. (2017) beschriebenen Methode. Um auf konstante Kontaminationsparameter zugreifen zu können, wurden zwei Datensätze (Standards) analysiert: (1) moderne (*Acer platanoides*-Pollen) und (2)  $^{14}\text{C}$ -abgereicherte (Braunkohle- und Core-Catcher-Proben aus dem Van-See) Standards mit unterschiedlichen C-Massen. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die chemische Aufbereitung und die fluoreszenzaktivierte Zellsortierung der Standards identisch zu den fossilen Pollenproben durchgeführt.

Entgegen der Annahme, dass die Aufbereitung und Verwendung der Core Catcher Proben für die Bestimmung und die Korrektur der Constant Contamination ausreichen, konnte für die Proben ein  $^{14}\text{C}$ -Alter von 24.799 BP bis 29.884 BP bestimmt werden. Sie enthielten zwischen 70  $\mu\text{g}$  und 450  $\mu\text{g}$  Kohlenstoff und boten daher ein scheinbar ausreichendes Gewicht für eine präzise Datierung. Der  $F^{14}\text{C}$ -Gehalt („fraction modern“) der  $^{14}\text{C}$ -abgereicherten Proben lag zwischen  $0,024 \pm 0,00293$  und  $0,046 \pm 0,0031$  und wich damit von dem für die Korrektur der fossilen Proben idealen Wert von  $F^{14}\text{C} = 0$  ab (Hanke et al. 2017). Die Messungen der Braunkohleproben ergaben  $F^{14}\text{C}$ -Werte von  $-0,0026 \pm 0,0000$  bis  $0,0061 \pm 0,0003$ . Sie eigneten sich daher für die Bestimmung des Kontaminationspotentials während der Probenaufbereitung.

Für die Messung der rezenten Ahornpollen konnten  $F^{14}\text{C}$ -Werte von  $0,9767 \pm 0,0013$  bis  $1,0158 \pm 0,0003$  bestimmt werden. Sie zeigten eine sehr gute Übereinstimmung mit dem idealen Wert für rezentes Probenmaterial von  $F^{14}\text{C} \geq 1$  (Hanke et al. 2017). Sowohl die Braunkohle als auch die rezenten Pollenproben eigneten sich hervorragend für die Bestimmung der Constant Contamination und zeigten außerdem, dass im Verlauf der Aufbereitung und der Messung der fossilen Pollenproben ein zu vernachlässigendes Kontaminationsrisiko durch die Benutzung der unterschiedlichen Geräte besteht.

Die fossilen Pollen- und Sporenkonzentrate wurden entsprechend den Ergebnissen der Standardmessungen korrigiert. Alle Radiokarbonalter wurden mit OxCal 4.4 (Bronk Ramsey 2001; 2009) und der IntCAL20-Kalibrierungskurve (Reimer et al. 2020) kalibriert.

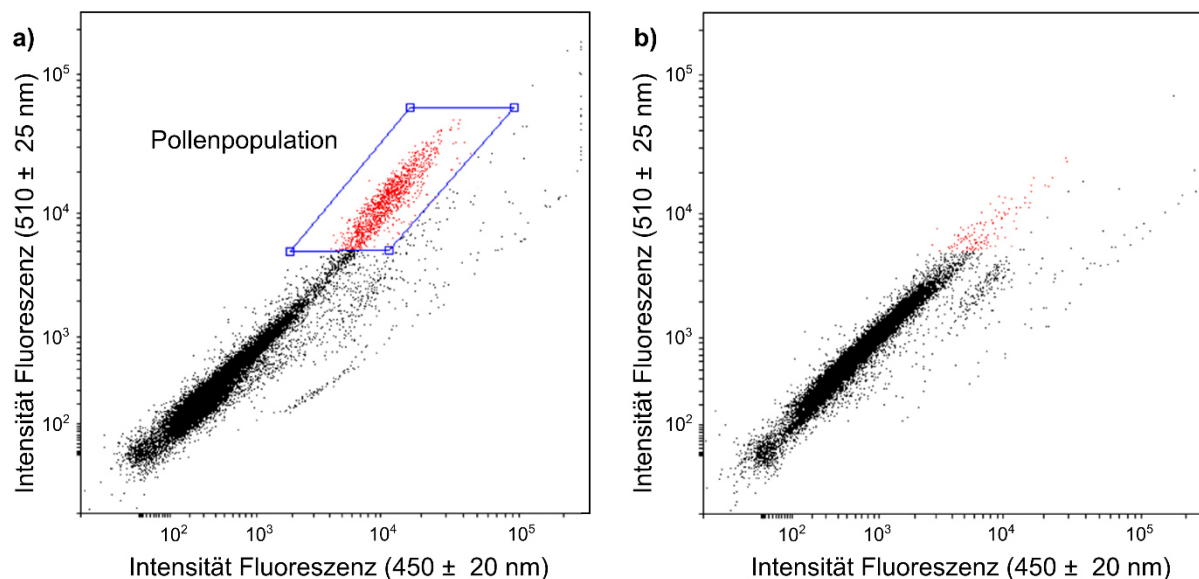
## **4.5. Methodische Ergebnisse**

### **4.5.1. Salpetersäure als Ersatz für die Acetolyse**

Tennant et al. (2013a) und Zimmerman et al. (2019) haben bereits gezeigt, dass der Einsatz von  $\text{HNO}_3$  einen Einfluss auf die Effizienz der Zellstoffentfernung oder der zytometrischen Analyse bzw. Sortierung hat. Um jedoch die standardmäßige kohlenstoffhaltige Acetolyse zu ersetzen und die Verwendung von  $\text{HNO}_3$  auf die Konservierung fossiler Pollen und deren Fluoreszenz zu testen, wurde die fossile Probe CT 6-1 geteilt und zur Hälfte mit  $\text{HNO}_3$  behandelt. Bei der chemischen Behandlung ist Vorsicht geboten, da starke Säuren oder Basen wie  $\text{HNO}_3$  oder  $\text{NaOH}$  (wie von Jahren (2004) beschrieben) nicht nur die in Pollenkörnern enthaltene Zellulose entfernen, sondern auch die Exine erheblich verändern können (Descolas-Gros and Schölzel 2007).

Die Untersuchung der präparierten Pollenproben mittels Durchlichtmikroskopie zeigte, dass durch die Zugabe von  $\text{HNO}_3$  die Zellulose im Inneren der Pollenkörner entfernt werden kann (Lowe and

Walker 2000). Dennoch blieb der Anteil feinen Detritus in den Pollenproben sehr hoch und zeigte, dass eine chemische Aufbereitung, die sich vor allem auf die  $\text{HNO}_3$  stützt, nicht ausreichend ist und zwingend mit anderen Trennungsverfahren, wie der Durchflusszytometrie, kombiniert werden muss.



**Abb. 16:** Dargestellt sind die Streudiagramme für den Fluoreszenzbereich  $510 \pm 25 \text{ nm}$  und  $450 \pm 20 \text{ nm}$  der Probe CT 6-1. Während bei der chemischen Aufbereitung ohne  $\text{HNO}_3$  eine klare Pollenpopulation erkennbar ist, ist diese bei der mit  $\text{HNO}_3$  behandelten Probe nicht mehr von den detritischen Partikeln zu unterscheiden (Steinhoff et al. 2022).

Die Ergebnisse der Populationsverteilung zeigten, dass das Autofluoreszenzsignal der Pollenkörner durch den Einsatz von  $\text{HNO}_3$  erheblich beeinflusst wurde (Abb. 16). Die visuell erkennbare Bleichwirkung der  $\text{HNO}_3$  auf die Pollenkörner führte zu einer abgeschwächten Intensität der Fluoreszenzsignale. Dadurch bildet die hochfluoreszente Pollenpopulation einen nicht unterscheidbaren Teil der Hauptpopulation (schwarze Punkte; Abb. 6) und die Pollenkörner konnten nicht mehr von den detritischen Partikeln unterschieden werden. Wie Abb. 16 zeigt, betraf dies vor allem die Fluoreszenz im Wellenlängenbereich zwischen 450 nm und 510 nm, wo normalerweise eine eindeutige Differenzierung von Moossporen, Eichen- und Kräuterpollen möglich ist. Zusätzlich können die Verwendung von  $\text{HNO}_3$  als starke Säuren und die chemische Reaktion die chemische Zusammensetzung der Exine beeinflussen, sodass weitere Isotopenanalysen an den Konzentraten, und dementsprechend auch die  $^{14}\text{C}$ -Datierung, fehlerhaft werden (Descolas-Gros and Schölzel 2007; Jahren 2004). In Sedimenten mit einem geringen organischen Anteil, wie dem Vansee, empfiehlt es sich, den Gebrauch von  $\text{HNO}_3$  als Ersatz für die Acetolyse zu vermeiden, um die Handhabung, Analyse und Trennung der Pollenproben sicherzustellen (Steinhoff et al. 2022). Die mit  $\text{HNO}_3$  behandelte Pollenprobe CT 6-1 wurde für die AMS-Datierung nicht weiter berücksichtigt.

#### 4.5.2. Sortieransatz

Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln erläutert wurde, wurden zwei Sortierverfahren entwickelt und auf ausgewählte Sedimentproben angewandt. Dies ermöglicht es, drei verschiedene Populationen (UHF, Sporen- und Pollenpopulation) zu unterscheiden und zu datieren.

Die Sporenpopulation bestand ausschließlich aus rundlichen, blassen, 15 µm - 20 µm großen Moosporen (Bryophyta). Die Pollenkonzentrate zeigten ein breites Spektrum verschiedener terrestrischer Taxa (< 20 µm - 50 µm), dominiert von Eichenpollen und krautigen Taxa, wie *Artemisia*, Apiaceae und Chenopodiaceae. Zusätzlich wurden auch einzelne Fragmente großer Pollenkörner, wie zum Beispiel *Pinus* (67 µm - 96 µm), identifiziert.

Die in diesem Zusammenhang durchgeführten <sup>14</sup>C-Datierungen an den verschiedenen Populationen zeigten, dass das Pollenkonzentrat CC 1-2 (Pollen) deutlich jünger war (1559 ± 102 BP), als das CC 1-2 Sporenkonzentrat (2356 ± 65 BP), obwohl sie aus derselben Sedimentprobe separiert wurden. Das datierte Alter der UHF-Probe CT 1-2, die ebenfalls unmittelbar unterhalb von V-2 entnommen wurde, lag genau zwischen den Sporen- und Pollen-Datierungen (1901 ± 75 BP).

Dasselbe Muster zeigte sich für die drei sortierten Proben der Tephra V-7. Eine besonders hohe Reinheit von 89 % Moosporen und 100 % reinen Pollen konnte mit der Separation der Konzentrate CT 7-1 (Sporen) und CT 7-1 (Pollen) erreicht werden. Ähnlich wie bei V-1 war das datierte Alter des Sporenkonzentrats (CT 7-1: 11.136 ± 131 BP) deutlich älter als das des Pollenkonzentrats (CT 7-1: 9380 ± 106 BP) und auch des entnommenen UHF-Konzentrats, welches unterhalb von V-7 entnommen wurde (CT 7-1: 9648 ± 117 BP).

#### 4.5.3. Vergleich der verschiedenen FACSAria™ III Geräte und Flüssigkeiten

Um den Einfluss der FACSAria™ III-Geräte des UKB und GFZ, hinsichtlich des Setups oder der verwendeten Flüssigkeiten des strömungstechnischen Systems, auf die Reinheit der Proben und die entsprechenden Datierungen darstellen zu können, wurden, wie beschrieben, zwei Sedimentproben, neben den Tephren V-2 und V-3b entnommen, nach der chemischen Aufbereitung getrennt und separat in den jeweiligen verschiedenen Durchflusszytometern unter Verwendung des UHF-Sortierverfahrens analysiert.

Die Proben CT 2-1 UKB und CT 2-1 GFZ enthielten eine hohe Anzahl an gezählten Partikeln (429.800 bzw. 800.575), bestanden aber nur zu 37 % (UKB) und 30 % (GFZ) aus Palynomorphen. Das erreichte Kohlenstoffgewicht der beiden Konzentrate zeigte jedoch einen deutlichen Unterschied von 25 µg (CT 2-1, UKB) und 160 µg Kohlenstoff (CT 2-1, GFZ). Das resultierende Alter

der in einer phosphatgepufferten Salzlösung (PBS) sortierten CT 2-1 (UKB) ( $4285 \pm 76$  BP) war niedriger als das von CT 2-1 (GFZ) ( $5045 \pm 74$  BP), sortiert mit der FACSFlow™-Flüssigkeit.

Im Gegensatz dazu lieferten die UHF-Proben CT 3-2 (PBS) und CT 3-2 (FACSFlow™), die unterhalb von V-3b entnommen wurden, eine deutlich höhere Reinheit: 77 % Palynomorphe (PBS, UKB) und 95 % Palynomorphe (FACSFlow™, GFZ). Hier fiel auf, dass das Alter von CT 3-2 (PBS,  $6120 \pm 80$  BP) im Gegensatz zu CT 3-2 (PBS) und ETH-104620 (FACSFlow™) älter als Probe CT 3-2 (FACSFlow™  $5570 \pm 100$  BP) ist. Dieser Unterschied der PBS und der FACSFlow™-Proben war dabei gegensätzlich zu den über die Proben CT 2-1 (GFZ) und CT 2-1 (UKB) erhobenen Datierungen.

Bei der zytometrischen Analyse der Pollenproben konnten keine signifikanten gerätespezifischen Unterschiede in der Handhabung und Sortierung der Proben festgestellt werden. Auch die  $^{14}\text{C}$ -Daten zeigten keine Abhängigkeit vom Durchflusszytometer oder den verwendeten Flüssigkeiten. Letzteres ließ sich dabei auf den umfangreichen Reinigungsprozess der sortierten Konzentrate vor der AMS-Datierung zurückführen.

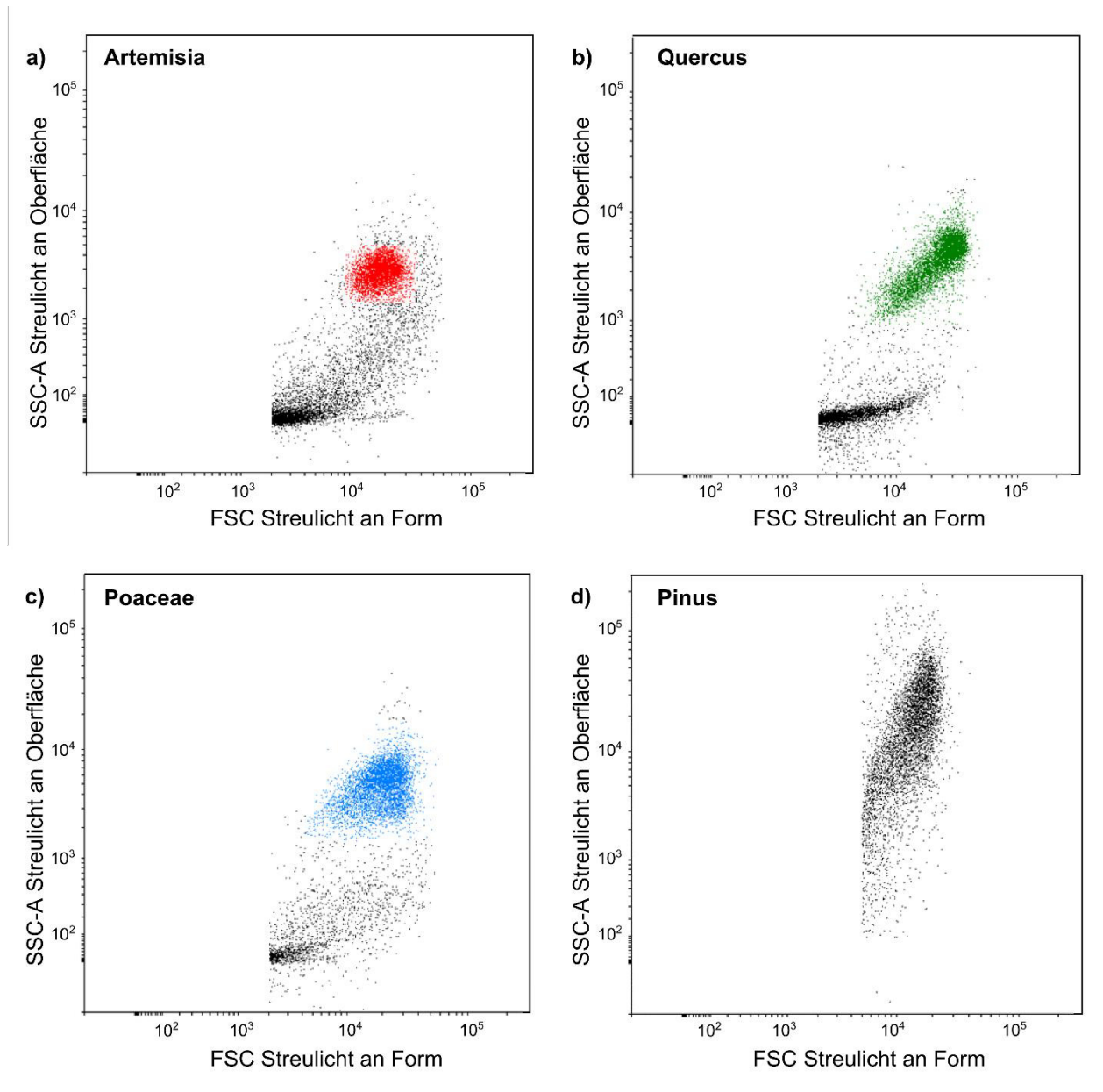
#### 4.5.4. Markerpollen

Die Scatterplots der rezenten Markerproben veranschaulichten die Schwierigkeit der zweifelsfreien Identifikation der Pollenpopulation deutlich. Während die Pollenkörner der Süßgräser (Poaceae) in ihrer Größe sehr heterogen waren und die Intensität des Vorwärtsstreulichts (FSC-H) stark variierte, sorgte die psilate Oberflächenstruktur der Exine für eine geringe Streuung der Intensität des Seitwärtsstreulichts (SSC-A). Andersherum sorgte die homogene Größe der *Artemisia*-Markerprobe ( $\varnothing$  18-29  $\mu\text{m}$ ) für eine geringe Streuung des Vorwärtsstreulichts. Die unregelmäßige Oberflächenstruktur resultierte jedoch in einer Variation der Streulichtintensitäten SSC-A (Abb. 17).

Vor allem bisaccate Pollenkörner, wie die der Kiefer (*Pinus sylvestris*), wiesen eine deutliche Streuung der Intensitäten auf, sodass es anhand der Streulichteigenschaften nicht möglich war, die Pollenpopulationen zweifelsfrei zu identifizieren und daher die Fluoreszenzsignale der Pollen betrachtet werden mussten.

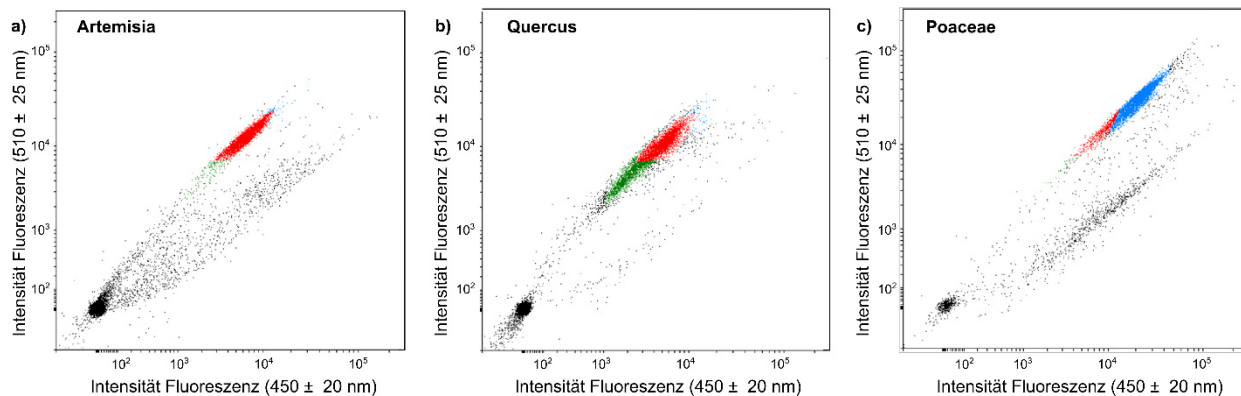
Generell zeigte sich, dass sich die charakteristischen Populationen und somit die Streulicht- (Abb. 17) und Fluoreszenzsignale (Abb. 18) der verschiedenen Gattungen auch überlappen. Daraus resultierend war eine gattungsspezifische Trennung der Pollenproben nicht möglich. Dennoch hat

der differenzierte Sortieransatz gezeigt, dass zumindest eine Differenzierung zwischen Pollen und Sporen (hier Moossporen) möglich ist.



**Abb. 17: Streulichteigenschaften verschiedener rezenter Markerpollen. *Artemisia*-Pollen (rot) und *Quercus*-Pollen (grün) zeigten eine sehr homogene Form mit einer sehr homogenen Oberflächenstruktur. Poaceae-Pollen (blau) zeigten zwar eine homogene Oberfläche, variierten aber in Form und Größe. Die bisaccaten Pollen von *Pinus* zeigten eine starke Streuung als Hinweis auf eine heterogene Form und Oberflächenstruktur.**

Darüber hinaus war davon auszugehen, dass aufgrund von Alterierungsprozessen die Streulicht- und Fluoreszenzsignale der fossilen Pollen beeinflusst sein können. Dadurch ließen sich die über die Markerproben identifizierten, charakteristischen Regionen in den Streudiagrammen nur bedingt auf die fossilen und heterogenen Pollenproben übertragen.



**Abb. 18:** Die Fluoreszenzeigenschaften verschiedener Gattungen wiesen im Wellenlängenbereich von  $450 \pm 20$  nm und  $510 \pm 25$  nm Überschneidungen auf. Rot eingefärbte Partikel wiesen charakteristische Floreszenzen von *Artemisia* auf. Diese überschritten sich aber auch mit den charakteristischen Floreszenzen von *Quercus* (b) und *Poaceae*. Eine eindeutige wellenlängenspezifische Zuordnung war nicht möglich.

## 4.6. Weitere Experimente

### 4.6.1. Schwerentrennung

Der beschriebene Versuchsaufbau und die Durchführung sind das Ergebnis von mehreren Testdurchläufen. Diese sind in Tabelle 12 beschrieben. Der Erfolg der Schwerentrennung hängt maßgeblich von der eingestellten Dichte ( $1,4 \text{ g/cm}^3 - 1,5 \text{ g/cm}^3$ ) ab, die sehr präzise eingestellt werden kann. Wird der Schwerelösung jedoch weiter Flüssigkeit zugegeben, kann sich die Dichte in einem unbekanntem Maße ändern und so eine dichtespezifische Trennung der Fraktionen nicht gewährleistet werden. So ist es essenziell, dass die Pollenproben nach der chemischen Aufbereitung getrocknet werden. Um die Proben während des Trocknens vor externen Kontaminationen zu schützen, wurden die Probenröhrchen mit einer Kappe bedeckt, aber nicht verschlossen. Dies erforderte jedoch eine sehr lange Dauer der Trocknung von mindestens sechs Tagen.

Zusätzlich war die Versuchsdurchführung durch die Anwesenheit von Tonmineralen und durch Aggregatbildung erschwert. Auch Pollenkörner können durch die Aggregate eingeschlossen werden. Sie ließen sich daher schwerer trennen. Es zeigte sich, dass die Schwerentrennung die Siebvorgänge nicht ersetzen, aber in Kombination zu diesen auf die Sedimentproben angewandt werden kann.

Eine Kontrolle der separierten Fraktionen mit dem Mikroskop zeigte, dass der überwiegende Anteil der Pollenkörner in der leichten Fraktion ( $\rho < 1,4 \text{ g/cm}^3$ ) zu finden war. Dennoch war der Anteil an organischem Detritus nach wie vor sehr hoch.

Proben-Nr.	Bohrkern	Tiefe [cm]	Proben-volumen	Ergebnisse Schwereretrennung
ST 1	Van04-9 Seg. 1	82	ca. 3 cm <sup>3</sup>	Trennung durch Feinfraktion (< 10 µm) behindert
ST 2			ca. 3 cm <sup>3</sup>	Keine Unterschiede zwischen schwerer und leichter Fraktion
ST 3		84	ca. 3 cm <sup>3</sup>	Leichte Fraktion = Pollenfraktion; weiterhin viele Fremdpartikel
ST 4			ca. 3 cm <sup>3</sup>	Keine Unterschiede zwischen schwerer und leichter Fraktion
ST 5		86	ca. 3 cm <sup>3</sup>	Leichte Fraktion = Pollenfraktion; weiterhin viele Fremdpartikel

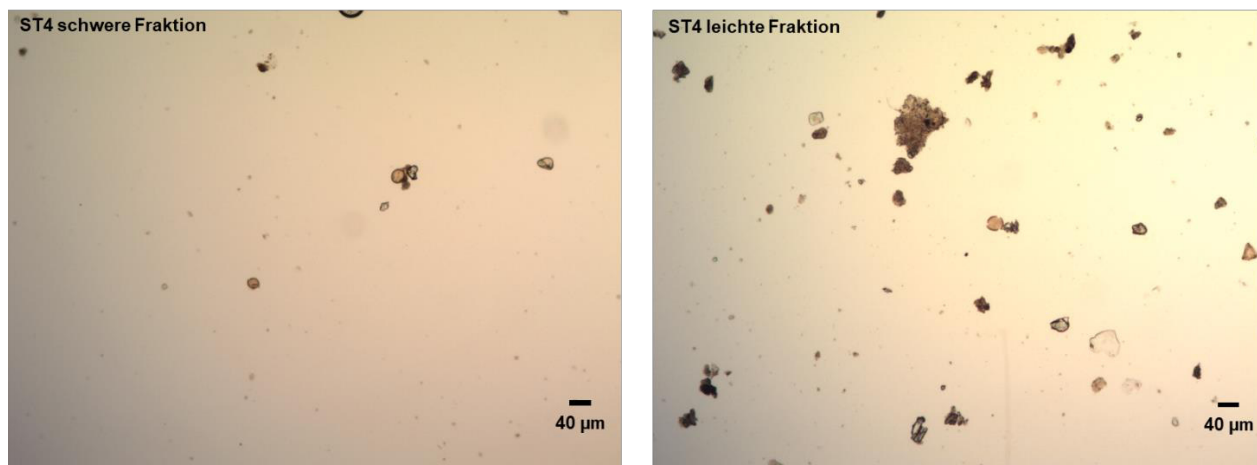
**Tabelle 12: Probenahmepunkte und Ergebnisse der Schwereretrennung. Bei keiner Probe war es möglich, eine klare Trennung zwischen den Pollen und den detritischen Partikeln vornehmen zu können.**

Die Zusammensetzung der schweren Fraktion ( $\rho > 1,4 \text{ g/cm}^3$ ) fiel sehr unterschiedlich aus. Bedingt durch das niedrige Ausgangsvolumen war auch die Partikelkonzentration gering. Es waren vor allem die mineralischen Partikel enthalten. Sie zeigten, dass die Verwendung der Schwereretrennung als Alternative zur Flusssäure erfolgreich dazu beitragen kann, silikatische Partikel aus dem Sediment zu entfernen. Die Kontrolle unter dem Mikroskop zeigte aber auch, dass auch Pollen (z.B. bisaccate Pollen von Koniferen oder auch Chenopodiaceae) in unterschiedlicher Häufigkeit in der schweren Fraktion enthalten sein können. So zeigte zum Beispiel die Probe ST4, dass sowohl in der schweren als auch in der leichten Fraktion Pollen und organischer Detritus enthalten waren (Abb. 19), und dass in einigen Proben sogar kein Unterschied in der Zusammensetzung zu erkennen war.

Zudem zeigte die Separation mittels Schwereretrennung, dass die Anwendung auch ein großes Risiko des unkontrollierten Materialverlusts birgt. So hat sich die Pollen enthaltende, leichte Fraktion beim Ablassen der Schwereflüssigkeit mit dieser wieder vermischt und ist in weiten Teilen verloren gegangen.

Die leichten Fraktionen der Proben ST3, ST4 und ST5 wurden für die zytometrische Analyse genutzt. Entsprechend des UHF-Ansatzes wurde die hochfluoreszente Population im hochenergetischen Wellenlängenbereich separiert. Es zeigte sich kein Unterschied in der Handhabung der Pollenproben gegenüber der herkömmlichen Methode zur Aufbereitung der Sedimentproben. Bei der Zellsortierung wurden für die Proben lediglich ca. 3.000 Pollen erfasst, sodass die Konzentrate und die Schwereretrennung im Allgemeinen nicht für die <sup>14</sup>C-Datierung von fossilen Pollenkörnern geeignet sind.





**Abb. 19:** Zusammensetzung der schweren (links) und leichten (rechts) Fraktion der Probe ST 4 nach der Schwereretrennung. Die Partikeldichte war in der leichten Fraktion höher. Auch wies diese Probe einen höheren Pollenanteil auf. Dennoch befand sich in der schweren Fraktion nach wie vor ein geringer Anteil an Pollen.

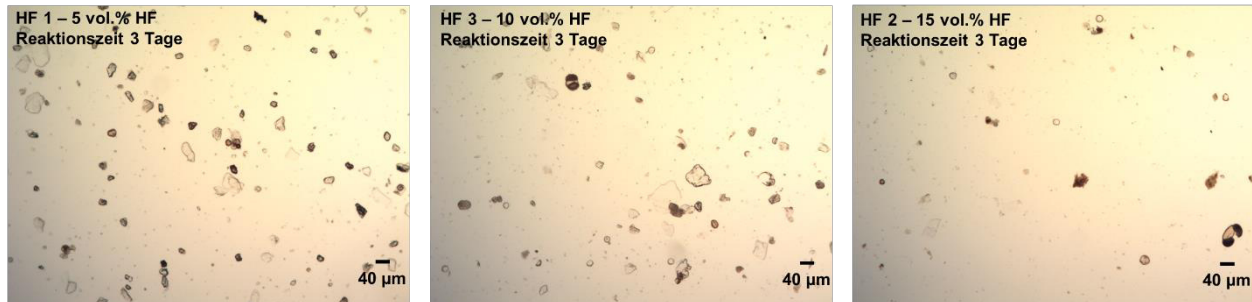
Die beschriebenen Experimente zeigten, dass die Schwereretrennung zur Isolierung der Pollenfraktion aus den Sedimenten des Vansees, als Ergänzung zur chemischen Aufbereitung der Proben, ungeeignet ist. Hauptverantwortlich hierfür war die Zusammensetzung des Sediments. Die Schwereretrennung eignet sich vorrangig zur Separation von groben Mineralen mit einer hohen Dichte. Diese treten im Vansee nur unmittelbar an den vulkanischen Ablagerungen auf. Weite Teile des Sediments sind jedoch siltig bis tonig. Diese Minerale müssen im Vorfeld entfernt werden, wodurch sich durch die Schwereretrennung, entgegen der Beschreibungen von Piotrowska et al. (2004), kein Vorteil zur Trennung der organischen Bestandteile aus organik-armen Sedimenten ergibt.

#### 4.6.2. Flusssäure-Experimente

Weitere Experimente wurden dazu verwendet, das erarbeitete Laborprotokoll zu verkürzen, ohne dabei die Effizienz der physikalisch-chemischen Aufbereitung der Proben zu vermindern. Dies zielte vor allem auf die Minimierung der Arbeitsschritte ab und umfasste konkret die unmittelbare Zugabe von Flusssäure, ohne die Karbonate im Vorfeld mit einer separaten Reaktion zu entfernen.

Sedimentproben, die mit 5 Vol.% HF (20 ml) behandelt wurden, zeigten eine mäßig starke exotherme Reaktion. Das bedeutet, dass sich die Proben nach wie vor gefahrenlos handhaben ließen. Bereits bei der Verwendung einer 10 Vol.% HF-Lösung (20 ml) war die Reaktion so stark, dass bei einem größeren Probenvolumen von einem großen Sicherheitsrisiko auszugehen war. Dies galt ebenso für Proben, die mit 15 Vol.% HF (20 ml) behandelt wurden.

Eine Untersuchung mit dem Mikroskop zeigte außerdem, dass noch sehr viele Silikate in den Proben enthalten waren (Abb. 20). Dies zeigte, dass die Konzentration und das Volumen der Säure zu niedrig waren, um in dem Reaktionszeitraum von drei Tagen alle Karbonate und Silikate zu lösen. Dies traf vor allem auf die Proben, die mit einer 5 Vol.% - 15 Vol.% HF-Lösung behandelt wurden, zu (Abb. 20). Sie eigneten sich nicht für die Durchflusszytometrie, da die groben silikatischen Partikel zu einer Beschädigung der feinen Leitungen und Schläuche des Durchflusszytometers führen können.



**Abb. 20:** Die Verwendung von Flusssäure mit einer Konzentration von < 20 Vol.% war nicht ausreichend, um den großen Anteil an Silikaten in den Vansee Sedimenten zu entfernen. Trotz der Reaktionszeit von 3 Tagen zeigte sich an der Erhaltung der Pollenkörner kein negativer Einfluss.

Trotzdem lässt sich sagen, dass die Pollenerhaltung nach wie vor sehr gut ist und somit weder die Stärke der Säure noch die lange Reaktionszeit zu einer Beschädigung oder Alterierung der Pollen führen.

Die Pollenproben HF4 und HF5, welche mit einer 20 Vol.% HF behandelt wurden, konnten mit dem Durchflusszytometer analysiert und die Pollen sortiert werden. Es war möglich, bei der Betrachtung der Fluoreszenzsignale im Wellenlängenbereich zwischen  $450 \pm 20$  nm und  $510 \pm 20$  nm Palynomorphe zu identifizieren. Jedoch konnten aufgrund des geringen Probenvolumens nur 7604 (HF4) bzw. 6688 (HF5) Pollen separiert werden. Auch diese Pollenkonzentrate eigneten sich aufgrund der geringen Pollenausbeute nicht für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung.

## 5. Diskussion

### 5.1. Qualitätssicherung der Durchflusszytometrie

Die  $^{14}\text{C}$ -Datierung von Pollenkörnern wurde erfolgreich von Brown et al. (1989) unter Verwendung von Bisaccate-Pollenkörnern etabliert und vielfach adaptiert und verbessert (Brown et al. 1992; Byrne et al. 2003; Long et al. 1992; Mensing and Southon 1999; Neulieb et al. 2013; Schiller et al. 2020; Tunno et al. 2021; Zimmerman et al. 2019). In der vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Ansätze („undifferenziert-hoch-fluoreszent“ und „differenziert“) für die Separation fossiler Pollenkörner mittels Durchflusszytometrie an kleinen bis mittelgroßen Pollen und Moossporen aus dem Van-See getestet.

Der UHF-Ansatz ermöglicht die Analyse und Trennung einer großen Anzahl von Partikeln (bis zu 800.000 Events) in kurzer Zeit (20 min bis 125 min), jedoch zeigt die qualitative Untersuchung der Pollenkonzentrate mittels Lichtmikroskopie, dass dieser Ansatz die klare Trennung von reinen Pollenpopulationen nicht erlaubt. Viele Proben wiesen einen hohen Anteil an nicht definierbaren, detritischen Partikeln auf (z.B. CT 2-1 UKB und CT 2-1 GFZ, 30 % - 35 %). Handelt es sich hierbei um organischen Detritus, ist von einer möglichen Kontamination auszugehen, die einen Einfluss auf die  $^{14}\text{C}$ -Datierung der sortierten Pollenkonzentrate haben kann.

Naheliegende Ursachen für die Kontamination sind die Effizienz der fluoreszenzaktivierten Zellsortierung sowie deren potentielle Fehleranfälligkeit.

Schon die Größe der Pollenkörner und die diversen Formen der heterogenen Partikel können zu Problemen bei der Separation in der Sortiereinheit des Durchflusszytometers führen. Das Sprühen der an der Düse der Durchflusszelle entstehenden Tropfen weist bereits darauf hin, dass bei der Isolierung der Partikel in einzelnen Tropfen diese eine ungewollte größenspezifische Ablenkung erfahren können. Diese hat einen erheblichen Einfluss auf die weitere Ablenkung im elektrischen Feld der Sortiereinheit des Durchflusszytometers und kann in einer fehlerhaften Zuordnung in die verschiedenen Probenröhrchen resultieren.

Aufgrund der Größe und des dementsprechenden Gewichts besteht zudem die Möglichkeit, dass die Ladung, mit der die potentiellen Pollen versehen werden, bevor sie in Tropfen isoliert und im elektrischen Feld sortiert werden, nicht ausreicht, um die gewünschte Ablenkung im elektrischen Feld zu erzeugen. Auch in diesem Fall kann es zu einer fehlerhaften Zuordnung kommen.

Dies wird dadurch weiter verschärft, dass die Partikel zur Bildung von Aggregaten neigen, die bei der hydrodynamischen Fokussierung in der Single-Cell-Suspension der Durchflusszelle schwer

zu trennen sind und dadurch die Wahrscheinlichkeit einer falschen Zuordnung im elektrischen Feld der Sortiereinheit steigen kann.

Die stetige Kontrolle der Bildung und der Position der Tropfen an der Düse der Durchflusszelle sowie der Präzision der Ablenkung im elektrischen Feld durch die standardmäßige Verwendung der FACS Diva™ Software garantiert eine hohe Sortiereffizienz des Durchflusszytometers, sodass falsch sortierte Partikel (niedrige Sortiereffizienz) als Ursache für den hohen Anteil detritischer Partikel in den Pollenkonzentraten eliminiert werden können. Es ist sowohl möglich, die Frequenz der Tropfenbildung zu kontrollieren und zu regulieren als auch bei einer beobachteten starken Ablenkung der Partikel, die Ablenkung der Tropfen zu kontrollieren und gegebenenfalls neu auf die Probenröhrchen auszurichten. Dies resultiert in einer sehr hohen Effizienz beim Sortieren der Pollenproben.

Anstelle einer Kontamination, bedingt durch das strömungstechnische System des Durchflusszytometers, ist es wahrscheinlicher, dass die stark fluoreszierende Population, die dem UHF-Ansatz zugrunde liegt, bereits detritische Partikel enthält. Gemäß der Multiparameteranalyse wären auch diese Partikel durch ein starkes (Auto-)Fluoreszenzsignal gekennzeichnet.

Da keine Fluoreszenzfarbstoffe verwendet wurden, kann davon ausgegangen werden, dass sämtliche Partikel, die in der UHF-Population erfasst und separiert wurden, autofluoreszierend sind. So können auch molekulare Strukturen von Chlorophyll oder DNA durch die Anregung Photonen emittieren, sodass z.B. auch Algen autofluoreszierende Eigenschaften haben können (Hunt et al. 2007; O'Connor et al. 2011). Dadurch können die stark fluoreszierenden Signale von Algen detektiert und bei der Analyse/Separation fälschlicherweise in das Pollenkonzentrat eingeordnet werden (Steinhoff et al. 2022).

Dennoch muss betont werden, dass sich die Durchflusszytometrie besonders für die Analyse von Sedimenten mit einem geringen Anteil organischer Bestandteile, wie denen des Vansees, eignet. So war der Anteil organischer Partikel, die auch in die Pollenkonzentrate verschleppt werden können, von Beginn an gering. Zudem gelangten nur sehr wenige klastische Partikel in die sortierten Pollenkonzentrate. Dies war auch auf die chemische Behandlung der Sedimente zurückzuführen, die sowohl die klastischen Bestandteile effektiv entfernt als auch die fossilen Pollen schont. Darüber hinaus trug die Siebung (10 µm und 53 µm) wesentlich zur einfacheren Handhabung der Probe am Durchflusszytometer bei, da die Entfernung von groben Partikeln und feinen Tonpartikeln eine effektive Flüssigkeitssortierung unterstützt hat.

Durch die chemisch schonende Behandlung der Sedimentproben und den Verzicht auf Alkalien und Bleichmittel können jedoch auch organische Partikel, vor allem Algen, in der chemisch aufbereiteten Pollenprobe verbleiben und anschließend die sortierten Pollenkonzentrate verunreinigen.

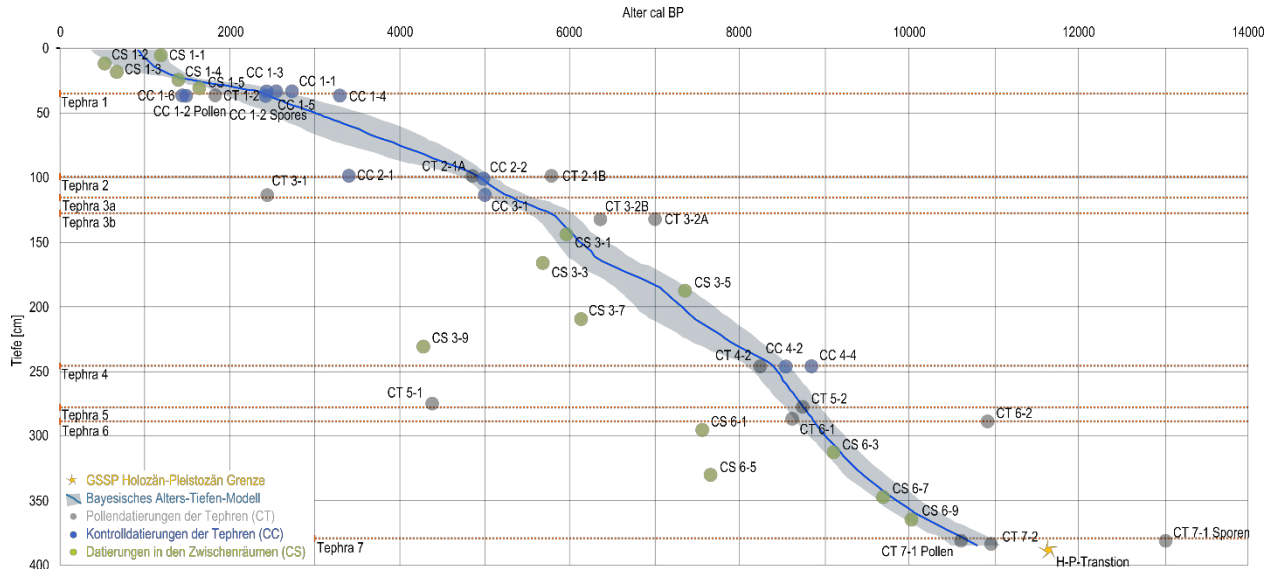
Um eine Algenkontamination zu vermeiden, erlaubte es der hier etablierte „differenzierte“ Ansatz, Pollenkörner und Moossporen von den heterogenen Sedimenten effektiv zu trennen. Wie bei der Beschreibung des verbesserten Ansatzes der Pollenseparation dargestellt, zeigten die Moossporen ein starkes und deutlich unterscheidbares Signal im unteren Wellenlängenbereich zwischen 430 nm und 470 nm. Dieses Fluoreszenzspektrum ist vergleichbar mit dem charakteristischen Spektrum anderer Sporenarten, wie z. B. Pilzsporen mit einem maximalen Signal im Wellenlängenbereich um 415 nm (O'Connor et al. 2011; Steinhoff et al. 2022).

Im Gegensatz zu den Moossporen konnten die Fluoreszenzsignale der Pollenkörner keinem bestimmten Wellenlängenbereich zugeordnet werden (O'Connor et al. 2011; Steinhoff et al. 2022). Dafür gibt es zwei mögliche Gründe. Zum einen können Fluorophore in verschiedenen Strukturelementen der Pollenkörner (z.B. DNA oder Carotinoide im Sporopollenin) eine Variation der Fluoreszenzintensität mit mehreren unspezifischen Intensitätsspitzen zwischen 420 - 650 nm verursachen (Hunt et al. 2007; O'Connor et al. 2011). Zum anderen können die unterschiedlichen Fluoreszenzsignale durch unterschiedliche Pollen/Pflanzengattungen erklärt werden. Dies wurde unter anderem bei der Analyse der Streulichteigenschaften rezenter Markerpollen der Gattungen *Artemisia*, *Quercus*, *Chenopodiaceae* oder *Poaceae* nachgewiesen. Eine Überlappung der Fluoreszenzspektren hat jedoch eine weitere Differenzierung der Pollenpopulation und deren Zuordnung zu einem bestimmten Wellenlängenbereich verhindert. Daher hängen die Fluoreszenzeigenschaften der Pollenkörner von der Pollenzusammensetzung im Sediment ab und können von Probe zu Probe und von Klimaarchiv zu Klimaarchiv deutlich variieren.

Dennoch ermöglicht die hier vorgestellte Kombination aus schonender chemischer Behandlung und dem „differenzierten“ Sortieransatz die Herstellung reiner Pollenkonzentrate. Es sei noch einmal betont, dass sich diese Arbeitsschritte besonders für organik-arme Sedimente eignen. So können sogar Sedimente aus semi-ariden Klimazonen ohne datierbare Makrofossilien mithilfe der Durchflusszytometrie und der MICADAS AMS-Datierung datiert werden.

## 5.2. AMS-Radiokarbondatierungen der Pollenkonzentrate

Die kalibrierten AMS-Radiokarbonalter der Pollen-, Sporen- und UHF-Konzentrate sind im Alters-Tiefen-Modell unter Verwendung der Bayes'schen Altersmodellierung in Abbildung 21 dargestellt. Die Altersangaben dokumentieren, dass Pollen und kleine Moossporen trotz ihrer geringen Anzahl präzise datiert werden können. Hierbei zeigt die Streuung der einzelnen Datierungen und die Unsicherheit des Alters-Tiefen-Modells, dass die  $^{14}\text{C}$ -Datierung von Pollenkonzentraten Fehlerquellen beinhaltet, die bei der Altersbestimmung die Proben älter bzw. jünger erscheinen lassen kann. Diese müssen bei der Interpretation der Messung und bei der Validierung der Methode berücksichtigt werden. Wie Abbildung 21 zeigt, sind die Abweichungen in der Datierung einer Tephra trotz Mehrfachmessungen teilweise sehr hoch (z. B. V-1 und V-2) und führen zu einer hohen Unsicherheit des Alters-Tiefen-Modells (max. 1237 Jahre bei 69,4 cm Tiefe).



**Abb. 21:** Alters-Tiefen-Modell der holozänen Sedimente des Ahlat-Ridge. 65 % der vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Datierungen (graue, blaue und grüne Kreise) überlappen mit dem Alters-Tiefen-Modell, das ein mittleres Konfidenzintervall (95 %) von 659 Jahren aufweist. Die größte statistische Unsicherheit liegt in 69,4 cm Tiefe zwischen V-1 und V-2 und beträgt 1237 Jahre. Mit 282 Jahren ist das Konfidenzintervall bei 24,4 cm Tiefe, oberhalb von V-1, am geringsten.

### 5.2.1. Validierung der verwendeten Durchflusssysteme

Im Vorfeld der Interpretation der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen und der Erstellung einer Chronologie für die Sedimente des Vansees ist zu klären, welchen Einfluss die unterschiedlichen Durchflusssysteme, die bei den unterschiedlichen Versuchsreihen verwendet wurden, nicht nur auf die qualitativen und quantitativen Ergebnisse der Separation, sondern auch auf die Datierungen haben können.

Dieser Vergleich findet über die Proben CT 2-1 und CT 3-1 statt, die vor der Durchflusszytometrie geteilt und separat sortiert und auch datiert wurden (Abb. 22).

Proben CT 2-1 (UKB) und CT 2-1 (GFZ) konnten auf  $4858 \pm 134$  cal BP und  $5789 \pm 88$  cal BP datiert werden. Es zeigte sich, obwohl die Proben aus derselben Sedimentprobe stammten, eine Altersdifferenz von etwa 930 Jahren, wobei die Probe CT 2-1 (GFZ) ein höheres Alter aufwies. Der statistische Fehler der Datierungen wies ebenfalls eine große Differenz auf. Im Vergleich dazu zeigten die Datierungen der Proben CT 3-2 (UKB;  $6999 \pm 109$  cal BP) und CT 3-2 (GFZ;  $6367 \pm 115$  cal BP) eine Altersdifferenz von ca. 630 Jahren; hier wies jedoch die Probe CT 3-2 (UKB) ein höheres Alter auf. Der statistische Fehler war bei diesen Pollenkonzentraten vergleichbar.

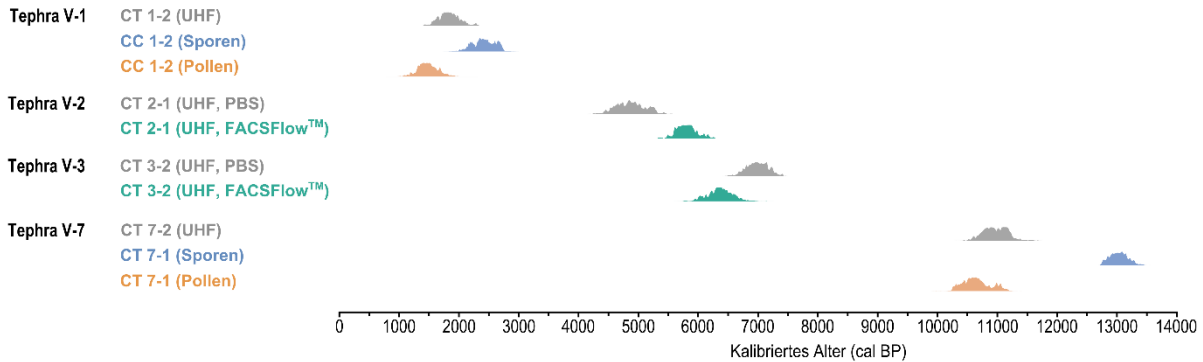
Eine naheliegende Ursache für die Diskrepanz der Radiokarbonalter ist das verwendete Fließmedium, das in den unterschiedlichen Durchflusszytometern verwendet wird. Während das FACSAria™ III und auch das FACSFusion™ im Uniklinikum Bonn mit einer kohlenstofffreien PBS-Lösung betrieben werden kann, wurde während der Experimente mit dem FACSAria™ III im GFZ-Potsdam das vom Hersteller vorgesehene FACS Flow™ verwendet, das Spuren von Kohlenstoff enthalten kann. Die vorgenannten Datierungen zeigen jedoch nicht, dass durch die Verwendung von FACS Flow™ eine Kontamination mit modernem Kohlenstoff festzustellen ist.

Darüber hinaus erzielte das intensive Reinigen des Probenmaterials nach der Zellsortierung mit Reinstwasser den gewünschten Effekt, dass der Kohlenstoff und die gelösten Salze des FACS Flow™ aus der Probe entfernt werden konnten (Steinhoff et al. 2022). Es ist jedoch anzumerken, dass bei einer intensiven und gründlichen Reinigung der Konzentrate Pollenmaterial verloren gehen kann. Hier ist besonders bei Konzentraten mit einer geringen Pollenausbeute Vorsicht geboten.

Es ist anzunehmen, dass die Altersdifferenz vor allem auf die Beschaffenheit der sortierten Pollenkonzentrate oder die Fehleranfälligkeit bei der Datierung von Proben im  $\mu\text{g}$ -Bereich zurückzuführen ist (Steinhoff et al. 2022).

Für die Interpretation relevanter Parameter der Probenbeschaffenheit sind zum einen die gezählten Partikel und das Gewicht der kohlenstoffhaltigen Komponenten und zum anderen der prozentuale Anteil an Pollen in der separierten Probe entscheidend. Während der Anteil der Pollen und Sporen für die jeweils zu vergleichenden Proben nur leichte Abweichungen zeigten (30 % vs. 35 % für CT 2-1, bzw. 80 % vs. 95 % für CT 3-2), wiesen vor allem die Proben der Tephra V-2 deutliche Unterschiede in der quantitativen Pollenausbeute auf, die sich anschließend auch in der Kohlenstoffmasse der Pollenkonzentrate widerspiegeln.

Da die Masse der kohlenstoffhaltigen Komponenten einen maßgeblichen Einfluss auf die Präzision der  $^{14}\text{C}$ -Datierung hat, zeigt die vorgenannte Differenz der Pollenkonzentrate, dass eine abweichende  $^{14}\text{C}$ -Datierung vor allem auf die Zusammensetzung dieser zurückgeführt werden kann und damit unabhängig von den verwendeten Geräten ist.



**Abb. 22:** Die vergleichende Darstellung zu den unterschiedlichen Sortieransätzen angewendet auf ausgewählte Proben der Tephren V-1 und V-7 zeigt, dass das  $^{14}\text{C}$ -Alter der Pollenfraktionen (orange) jünger ist, als das  $^{14}\text{C}$ -Alter der separierten UHF-Population (grau) oder der Sporenpopulation (blau). Anhand der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen der Tephren V-2 und V-3 kann gezeigt werden, dass durch das verwendete Durchflusszytometer/Fließmedium keine Beeinflussung des  $^{14}\text{C}$ -Alters vorliegt (verändert nach Steinhoff et al. 2022).

### 5.2.2. Validierung der Sortieransätze

Die durch die Durchflusszytometrie mögliche Trennung verschiedener Populationen (Pollen, Sporen, UHF-Population) erlaubt eine Validierung der in dieser Arbeit beschriebenen Sortieransätze zur Isolation der für die AMS-Radiokarbondatierung geeigneten Pollenproben. Hierzu standen die Proben CT 1-2 (UHF), CC 1-2 (Pollen) und CC 1-2 (Sporen), sowie die Proben CT 7-1 (Pollen), CT 7-1 (Sporen) und CT 7-2 zur Verfügung.

Der Vergleich zwischen der Datierung der undifferenzierten Pollenkonzentrate (UHF), die noch einen hohen Anteil an detritischen Partikeln aufwies, und den reinen Pollenkonzentraten der „differenzierten“ Sortierung zeigte, dass das ermittelte Alter der reinen Pollenkonzentrate unterhalb des Alters der Sporen- oder UHF-Konzentrate lag (Abb. 22).

Howarth et al. (2013) konnten in ihren Untersuchungen für die Datierung von Sporen ein deutlich höheres Alter im Vergleich zu der Datierung von Pollen- bzw. Bulkproben feststellen. Es liegt der Schluss nahe, dass die Sporen in Folge von Umlagerungsprozessen in entsprechende Schichten gelangt sind (Howarth et al. 2013). Die in dieser Arbeit erstellten Konzentrate und die Datierungen der Pollen- und Sporenpopulationen deuten darauf hin, dass auch die Sporen, ähnlich zu den UHF-Konzentraten oder allgemein zu Bulkproben, einem Reservoir-Effekt unterliegen



(Steinhoff et al. 2022). Entgegen der Annahme von Howarth et al. (2013) ist es für die vorliegenden Sedimentproben aus dem Vansee ausgeschlossen, dass die Sporenfraktion im Sediment, die aus derselben Schicht wie die Pollen stammt, von Umlagerungen betroffen ist. Daher ist ein sedimentologischer Grund für die beschriebene Altersdifferenz ausgeschlossen.

Stattdessen ist eine Diskrepanz möglich, die vor allem durch unterschiedliche Umweltbedingungen verursacht wird, in denen sich Pollen und Moossporen (Bryophyten-Sporen) bilden. Bryophyten sind nicht-vaskuläre Landpflanzen (z. B. Lebermoose, Hornmoose und Laubmoose), die eine trockene Umgebung vertragen, jedoch telmatische oder submerse Lebensräume bevorzugen. Die Assimilation von  $^{14}\text{C}$ -abgereichertem Grund- oder Oberflächenwasser aus der unmittelbaren Umgebung des Wachstumsstandortes trägt dazu bei, dass Moose und die produzierten Sporen einem Reservoir-Effekt unterliegen, der fälschlicherweise deutlich erhöhte  $^{14}\text{C}$ -Alter ergibt (MacDonald et al. 1987; Steinhoff et al. 2022; Turetsky 2003).

Auch die UHF-Radiokarbonaten müssen mit Vorsicht interpretiert werden. Howarth et al. (2013) konnten in ihren Untersuchungen zeigen, dass auch der Vergleich zwischen Pollen- und Bulk-Datierungen auf eine Altersdiskrepanz hindeutet.

Wie zuvor dargestellt wurde, zeigte die Kontrolle der Pollenkonzentrate, dass nach der fluoreszenzaktivierten Zellsortierung noch mikroskopisch kleine, organische Reste von Wasserpflanzen (z. B. Algenfragmente) und nicht identifizierbarer Detritus in den Pollenkonzentraten enthalten sein konnten. Vergleichbar mit dem Einfluss des Kohlenstoffreservoirs auf die Zusammensetzung der Kohlenstoffisotope der Moossporen, liegt auch für das Seewasser als Kohlenstofflieferant ein verschobenes Verhältnis der Kohlenstoffisotope vor. Daher deutet der Vergleich der Pollendatierung und der UHF-Datierung darauf hin, dass auch die UHF-Proben dem Reservoir-Effekt unterliegen (Andree et al. 1986; Long et al. 1992; Steinhoff et al. 2022; Vandergoes and Prior 2003).

Maßgebend für die Ausprägung und die Wahrscheinlichkeit eines festzustellenden Reservoir-Effekts, der sich im Altersunterschied zwischen Pollen und UHF einerseits und Pollen und Sporen andererseits widerspiegelt, ist das Pollen-Detritus-Verhältnis (P/D-Verhältnis; Tab. 2). Autochthon gebildeter kohlenstoffhaltiger Detritus ist in Bezug zur Atmosphäre und den simultan abgelagerten Pollenkörnern mit  $^{14}\text{C}$  abgereichert und hat, sofern er durch die Durchflusszytometrie nicht aus dem Sediment separiert werden kann, einen Einfluss auf die Datierung (Howarth et al. 2013).

### 5.2.3. Qualitätssicherung der $^{14}\text{C}$ -Datierung

Neben der Bewertung der Pollenseparation mittels Durchflusszytometrie erlaubt die Auswahl der Probenahmepunkte eine relative Bewertung der vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Daten. So wurden im Zuge der ersten und zweiten Messreihe die sieben markanten vulkanischen Aschelagen mehrfach beprobt, sodass zu diesen mindestens zwei  $^{14}\text{C}$ -Alter vorliegen.

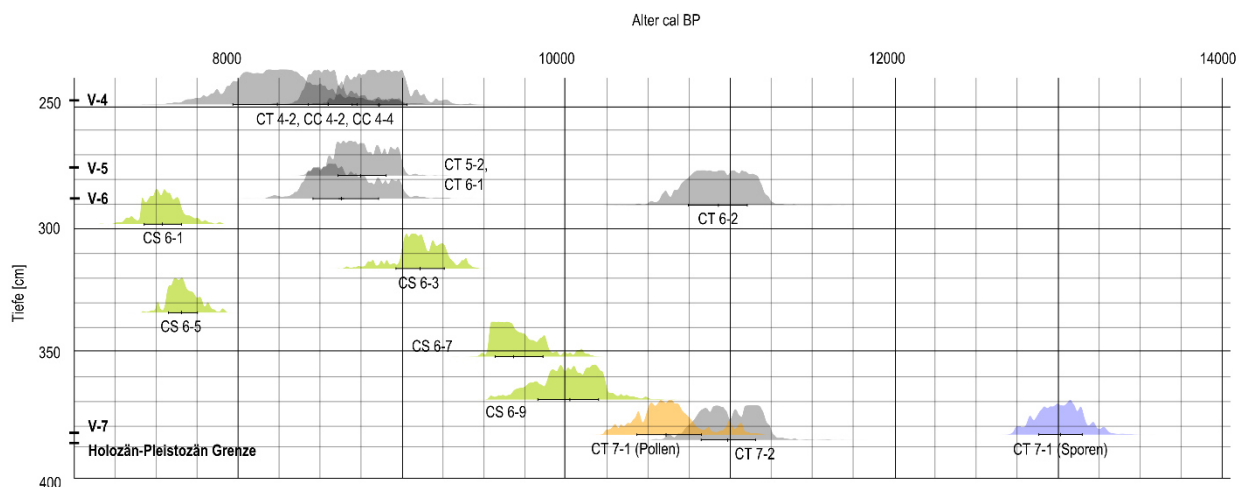
Die  $^{14}\text{C}$ -Alter sollten genutzt werden, um den Einfluss der Reinheit der Proben, die Anzahl der durch die Durchflusszytometrie separierten Partikel und die Masse des Kohlenstoffs in den Konzentraten auf das Alter dieser bewerten zu können.

Prinzipiell gilt, dass bei einer geringen Pollenausbeute (gezählte Partikel) auch der enthaltene Kohlenstoff ( $\mu\text{g C}$ ) der Proben sehr klein sein kann. Dies führt dazu, dass die Unsicherheit der  $^{14}\text{C}$ -Messung und entsprechend auch der Fehler der Datierung steigt.

An dieser Stelle sind beispielsweise die  $^{14}\text{C}$ -Daten zur vulkanischen Aschelage V-4 anzuführen (Abb. 23). Während CC 4-2 (133.086 Partikel) und CC 4-4 (104.269 Partikel) eine moderate Masse von 30  $\mu\text{g}$  aufwiesen, standen für die Datierung von CT 4-2 (40.000 Partikel) lediglich 6  $\mu\text{g}$  Kohlenstoff zur Verfügung. Daraus resultierte eine sehr hohe Unsicherheit des  $^{14}\text{C}$ -Alters von  $\pm 290$  Jahren, verglichen mit  $\pm 145$  Jahren (CC 4-2) bzw.  $\pm 163$  Jahren (CC 4-4). Es lässt sich aber als bemerkenswert herausstellen, dass die Verwendung des MICADAS zur Datierung von Kohlenstoff in der Gasphase die Datierung von sehr kleinen Pollen-Proben mit einer Masse von  $< 10 \mu\text{g}$  ermöglicht. Denn trotz der hohen Unsicherheit der Datierung CT 4-2 wiesen die drei Messungen eine sehr gute Übereinstimmung auf, sodass sich das Alter der Tephra V-4 auf  $8248 \pm 290$  cal BP bis  $8849 \pm 163$  cal BP eingrenzen ließ. Mit einer Reinheit von 80 % bis 90 % Pollen (P/D-Verhältnis) waren die beschriebenen Proben als ähnlich zu kennzeichnen, sodass ausweislich der geringen Streuung der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen das Risiko der Einwirkung eines Reservoir-Effekts minimal ist.

Anders verhielt sich dies bei den vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Datierungen zu Tephra V-6 oder auch zu V-5 (Abb. 23). Während CT 5-1 (28  $\mu\text{g}$  bei 117.700 Partikeln) und CT 5-2 (140  $\mu\text{g}$  bei 732.100 Partikeln) bei identischer Reinheit (70 %) deutliche Massenunterschiede aufwiesen, unterschieden sich CT 6-1 und CT 6-2 sowohl in der Reinheit (40 % vs. 90 %) als auch bei der Anzahl der separierten Pollen (35.700 vs. 108.000) und der Masse (13  $\mu\text{g C}$  vs. 28  $\mu\text{g C}$ ). Der Altersunterschied zwischen CT 6-1 und CT 6-2 betrug ca. 2300 Jahre, zwischen CT 5-1 und CT 5-2 sogar 4370 Jahre. Hierbei war die unterhalb der Tephra V-5 entnommene Probe CT 5-2 doppelt so alt wie CT 5-1, die oberhalb der Tephra entnommen wurde.

In Anbetracht der Korrelation zwischen Masse, Reinheit und Ergebnis der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen kann die geringe Belastbarkeit von CT 5-1 und CT 6-1 in Frage gestellt werden. Doch vergleicht man CT 5-2 ( $8745 \pm 144$  cal BP) mit CT 6-1 ( $8626 \pm 195$  cal BP) und setzt sie in Bezug zu ihrer Tiefe und ihrem Abstand von 11 cm, weisen die genannten Proben eine plausible Kontinuität auf und müssen bei der Plausibilitätskontrolle und der Validierung der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen berücksichtigt werden. Dies wird durch den Vergleich von CT 6-2 ( $10.929 \pm 179$  cal BP) zu den im Sedimentprofil unterhalb von V-6 entnommen Proben CS 6-1 bis CS 6-9 bekräftigt, die einschließlich CT 7-1 (Pollen) jünger waren als CT 6-2. CT 7-1 wurde dabei ca. 90 cm unterhalb von CT 6-2 entnommen.



**Abb. 23: Wahrscheinlichkeitsdichteverteilung der vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Datierungen zu den Tephren V-4 bis V-7. Wie in den Ergebnissen beschrieben, werden die  $^{14}\text{C}$ -Datierungen mit einer Unsicherheit von  $2\sigma$  angegeben. Zur Kalibrierung werden diese Datierungen über die INTCAL 2020-Kalibrationskurve geeicht. Durch den unsteten Verlauf der Kalibrationskurve kann das Alter der Kurve nur mit einer Wahrscheinlichkeit angegeben werden, die über die vorliegenden Dichteverteilungen dargestellt wird.**

Es wird deutlich, dass aufgrund der Größe der Pollenkonzentrate und einem nicht vollständig auszuschließenden Kontaminationspotential, eine Validierung der  $^{14}\text{C}$ -Datierungen wichtig ist.

### 5.3. Validierung der $^{14}\text{C}$ -Datierung

Für die Validierung der vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Datierungen ist es daher wichtig, dass diese nicht nur in Bezug auf ihre Eigenschaften bewertet, sondern auch relativ zu den weiteren Datierungen betrachtet werden.

So wird die Plausibilitätskontrolle der  $^{14}\text{C}$ -Datierung ermöglicht, jedoch wird auch verdeutlicht, dass neben den Eigenschaften der Konzentrate auch die Ablagerungsprozesse entscheidend für die Interpretation der  $^{14}\text{C}$ -Datierung sind.

Eine mögliche Ursache für ein hohes Alter der Pollendatierungen kann unter anderem die post-sedimentäre Umlagerung und der Eintrag alten Kohlenstoffs sein (Newnham et al. 2007). Vor allem in humiden Regionen mit starken Niederschlägen kann in terrestrischen Ablagerungen enthaltener Kohlenstoff durch Erosion mobilisiert und im See erneut akkumuliert werden (Lowe and Walker 2000; Newnham et al. 2007; Vandergoes and Prior 2003; Zimmerman and Myrbo 2015). Während dies für den Eintrag karbonathaltiger Minerale keine Auswirkungen auf die Datierung der Pollen hat, sind die Mobilisierung und der Eintrag bereits abgelagerter Pollen problematisch. Andersherum kann durch Bioturbation und Zersetzungsprozesse unter der Anwesenheit organischer Humin- oder Fulvosäuren auch jüngeres, kohlenstoffhaltiges Material in ältere Schichten gelangen und irreführende  $^{14}\text{C}$ -Datierungen erzeugen (Hajdas et al. 2007; Vandergoes and Prior 2003).

Der Vergleich der Fluoreszenzeigenschaften im Durchflusszytometer von modernen Pollen im Vergleich zu fossilen Pollen zeigte zwar, dass die fossilen Proben von Degradation betroffen sein konnten und ein leicht verändertes Fluoreszenzspektrum aufwiesen, jedoch war es nicht möglich verschiedene fossile Pollen unterschiedlichen Alters zu differenzieren (Fletcher et al. 2017; Howarth et al. 2013; Kasai et al. 2021; Mensing and Southon 1999; Neulieb et al. 2013). Somit können fossile Pollen, die durch Erosion mobilisiert werden und an anderer Stelle wieder abgelagert werden, anhand des Fluoreszenzspektrums nicht identifiziert werden. Kontaminationen können daher nicht ausgeschlossen werden.

Dies betrifft vor allem Sedimente, die deutliche Anzeichen von Umlagerungsprozessen aufweisen. So gibt es Hinweise auf mehr als 130 kleine Slumps und Turbidite in den Sedimenten oberhalb von V-2. Dieses umgelagerte Material führt bei der Datierung der resedimentierten Pollenkörner zu älteren  $^{14}\text{C}$ -Altern. Diese Fehleinschätzung des Alters fällt besonders deutlich bei der Altersbestimmung bei V-1 auf, wo die Altersangaben von  $1435 \pm 66$  cal BP (CC 1-6) bis  $3291 \pm 102$  cal BP (CC 1-4) reichen.

#### **5.4. Korrelation zu Chronologien aus der Literatur**

Das Kontaminationspotential und die Vielzahl an Fehlerquellen, die einen Einfluss auf das  $^{14}\text{C}$ -Alter von Pollenkonzentraten haben können, zeigen, dass, obwohl nun absolute Altersangaben vorliegen, eine Validierung der vorliegenden Daten zu bestehenden Chronologien zwingend notwendig ist.

Die Geochronologie von Stockhecke et al. (2014a) erstreckt sich über die gesamte Entwicklungsgeschichte des Vansees und umfasst ca. 600.000 Jahre. Da die Chronologie auf den Sedimenten des Ahlat Ridge beruht, eignet sie sich für die Korrelation zu den  $^{14}\text{C}$ -Daten der Pollenkonzentrate. Die Daten zur Erstellung des Alters-Tiefen-Modells der Chronologie umfassen Sauerstoffisotopie ( $\delta^{18}\text{O}$ ), Tephrostratigraphie und die  $^{14}\text{C}$ -Datierung organischer Makrofossilien. Bei der Sauerstoffisotopie und der Tephrostratigraphie handelt es sich um relative Datierungsmethoden, die sich nur bedingt für die Validierung der vorliegenden Pollendatierungen eignen, zumal die Tephrostratigraphie auf der Korrelation der markanten vulkanischen Aschelagen in den Sedimenten zu Sedimentbohrkernen aus dem südlichen Schelfbereich des Tatvan-Beckens basiert (Landmann and Kempe 2005; Landmann et al. 1996b; Landmann et al. 2011).

Der auf der Sauerstoffisotopie basierende Alterskontrollpunkt markiert die eindeutig zu bestimmende Holozän-Pleistozän-Grenze in den Sedimenten, dessen GSSP (Global Stratotype Section and Point) bei 11.650 Jahren BP liegt (Walker et al. 2009). Wie bereits beschrieben, konnte in den in dieser Arbeit verwendeten Sedimenten dieser Alterskontrollpunkt und damit der Beginn des Holozäns anhand der Analyse der Sauerstoffisotope ( $\delta^{18}\text{O}$ -Stratigraphie) sowie der Pollenanalysen auf eine Tiefe von 388,68 cm festgelegt werden (Litt et al. 2009).

Die anderen Alterskontrollpunkte des Alters-Tiefen-Modells nach Stockhecke et al. (2014a) sind, neben dem Übergang zwischen Holozän und Pleistozän, zwei  $^{14}\text{C}$ -Datierungen organischer Makrofossilien (OS-89765: 530-670 cal BP und OS-89728: 4640-5290 cal BP). Diese stammten aus den im Zuge des PALEOVAN-Projekts im nördlichen Becken des Van-Sees 2010 erbohrten und von Çağatay et al. (2014) beschriebenen Bohrkernen. Das nördliche Becken weist jedoch im Vergleich zum Ahlat-Ridge eine höhere Sedimentationsrate in Folge von mächtigen Massenstromablagerungen auf (Çağatay et al. 2014), die eine zuverlässige Korrelation der Sedimente des Nordbeckens zu den vorliegenden Sedimenten erschweren.

Eine von Landmann et al. (1996b) erstellte Warvenchronologie, basierend auf Sedimenten aus dem südlichen Schelfbereich des Tatvan-Beckens, konnte mit den Sedimenten des Ahlat-Ridges über die Erhaltung der markanten Vulkanaschelagen korreliert werden (Stockhecke et al. 2014a). Mit einer Gesamtanzahl gezählter Warven von  $10.920 \pm 132$  Jahren wurde der Zeitraum des Holozäns von 11.650 Jahren annähernd abgedeckt.

Während in den vorliegenden Sedimentbohrkernen für das Holozän sieben große Tephren beschrieben sind, wurden in den Sedimentbohrkernen des Tatvan-Beckens lediglich fünf Tephren von Landmann et al. (1996b) überliefert. Durch die unterschiedliche Morphologie des Ahlat-Ridge

und des Tatvan-Beckens ist es sehr wahrscheinlich, dass auch die Ablagerungsbedingungen unterschiedlich sein können, was eine zweifelsfreie Korrelation der Sedimente und somit auch die präzise Validierung der Pollendatierungen erschwert.

#### **5.4.1. Korrelation zur Warvenchronologie nach Nieder 2020**

Basierend auf den in dieser Arbeit verwendeten Sedimentbohrkernen wurde von Nieder (2020) ein Warvenzählung durchgeführt. Die jahreszeitliche Schichtung der Sedimente legt eine Validierung der Pollendatierungen über die von Nieder (2020) erstellte Warvenchronologie nahe.

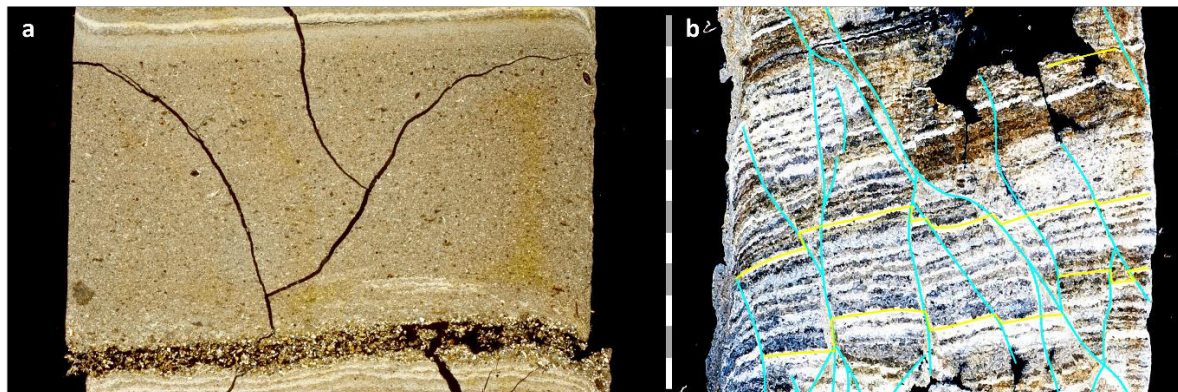
Anhand von Mehrfachzählungen konnte für das Holozän eine minimale und maximale Warvenzahl der manuellen und automatischen Zählung ermittelt werden. Die manuelle Warvenzählung für den Übergang Pleistozän-Holozän (388,68 cm) ergab ein Alter von min. 8226 und max. 8779 Warvenjahren (Nieder 2020). Um die Korrelation zu den  $^{14}\text{C}$ -Datierungen zu erleichtern, werden die Altersangaben von Warvenjahren in BP (BP before present; present = 1950 n.Chr.) umgerechnet. Dies entsprach einem Alter von 8172 BP und 8725 BP, da die Sedimentbohrkerne 2004 geborgen wurden. Es zeigte sich eine starke Abweichung des Übergangs vom Pleistozän zum Holozän von 2871 - 3424 Jahren zum GSSP (11.650 cal BP; Walker et al. 2009).

Nieder (2020) ist in seiner Masterarbeit auf die Korrelation der Warvenzählung zur Chronologie nach Landmann et al. (1996b) eingegangen, die an dieser Stelle nochmals zusammengefasst wird.

Tephra V-1 konnte in einer Tiefe von 35 cm lokalisiert und basierend auf der Warvenchronologie auf 439 - 510 Jahre BP datiert werden. Dies fällt augenscheinlich mit einem historisch dokumentierten Vulkanausbruch im Jahr 1441 n. Chr. (entspricht 509 BP) zusammen (Kempe and Degens 1978). Eine Korrelation mit der Warvenchronologie von Landmann et al. (1996b) und Landmann et al. (2011) war für die Aschelagen V-1 und V-2 nicht möglich, da sie in den entsprechenden Sedimenten aus dem südlichen Tatvan Becken nicht erhalten waren. Es war nicht möglich, die Warvenzählung mit bestehenden Chronologien aus der Region in Übereinstimmung zu bringen, die bis in die Gegenwart reichen. Diese Art der Chronologie wird als „floating chronology“ bezeichnet, die lediglich relative Altersangaben liefert.

Bis Tephra V-2 konnten 133 Eventablagerungen, in Form von Homogeniten und Turbiditen, im Sediment identifiziert werden (Abb. 24a). Ihre Ausprägungen können sehr unterschiedlich sein, erschweren aber die Identifikation und präzise Zählung der Laminae. Zwischen V-2 und V-3a

(114,6 cm) wurden weitere 18 Homogenite abgelagert. Das Alter der Tephra-Schicht V-3a beträgt 2462 - 2654 Jahre BP, was mit Tephra A (2607 Jahre BP) von Landmann et al. (2011) korreliert werden konnte.



**Abb. 24:** a) Die allochthonen, turbiditischen Ablagerungen oberhalb der Tephra V-1 (Dünnschliff Van04-2-V4\_27-37) deuten die Erosion und Umlagerung älterer Sedimente an. Entsprechend liefern Proben, die oberhalb von V-1 für die  $^{14}\text{C}$ -Pollendatierung herangezogen wurden, ein höheres Alter als Proben, die unterhalb von V-1 entnommen wurden. b) Die gelben Linien verdeutlichen den Verlauf einzelner Laminae, die durch tektonische Beanspruchung des Sediments gestört wurden (Dünnschnitt 5034\_2D\_1H\_82-92). Sie sind charakteristisch für die Sedimente oberhalb von V-4.

Auch wenn Tephra V-3a und V-3b als vulkanische Ablagerungen einer Nemrut-Dagi-Eruption (Landmann et al. 2011) miteinander in Verbindung gebracht werden konnten, war es möglich, laminierte Sedimente dazwischen zu identifizieren und zu zählen, so dass V-3b mit einem Alter von 2618 - 2815 Jahren BP etwa 150 Jahre älter als V-3a ist. Auch hier ist eine Korrelation zu Landmann et al. (1996b) möglich gewesen (Tephra B; 2820 Jahre BP).

Während die Ablagerung von V-3a und V-3b von der Ablagerung einiger Turbidite unterschiedlicher Mächtigkeit begleitet wird, ist das Sediment bis in eine Tiefe von 197,8 cm weitgehend störungsfrei. In den anschließenden Dünnschliffen sind einige Turbidite sowie Mikroverwerfungen zu erkennen, die auf eine seismische Beanspruchung des Sediments hindeuten (Abb. 24b). Diese Dünnschliffe enthalten auch die Tephren V-4 (244,8 cm; 4997–5380 Jahre BP), V-5 (276,2 cm; 5431–5917 Jahre BP) und V-6 (287,4 cm; 5643–6151 Jahre BP). Sie konnten mit der Warvenchronologie von Landmann et al. (1996b) korreliert werden, wiesen jedoch ein niedrigeres Alter als Tephra C (6110 Jahre BP), Tephra D (6888 Jahre BP) und Tephra E (7192 Jahre BP) auf.

Tephra V-7 liegt nur etwa 6 cm über dem Holozän-Pleistozän-Übergang (382 cm Tiefe) und wurde auf ein Alter von 8087 - 8633 Jahren BP datiert (Nieder 2020).

Trotz der ab Tephra V-3b beginnenden Diskrepanz der Chronologien von Nieder (2020) und Landmann et al. (1996b) bzw. Landmann et al. (2011) wurde der Fehler der Warvenzählung als gering angesehen. Große Abweichungen in der Warvenchronologie, die auf die schlechte Qualität



einiger Dünnschliffe (z. B. Van04-2V2-A-6-16 und Van04-2-V2-A\_14-24; Abb. 24b) mit zahlreichen Mikrorissen zurückzuführen sind und (siehe Abb. 25) eine Identifizierung von Laminae erschweren (Lotter and Lemcke 1999), konnten durch Mehrfachzählungen (Nieder 2020) und deren Kontrolle durch das automatisierte Programm PEAK ausgeschlossen werden. Das Alter des Pleistozän-Holozän-Übergangs betrug hier 7549 - 8468 vy (varve years; 7495 - 8414 BP) und konnte die Zählung von Nieder (2020) und damit auch die beschriebene Diskrepanz zur Holozän-Pleistozän Grenze bestätigen.

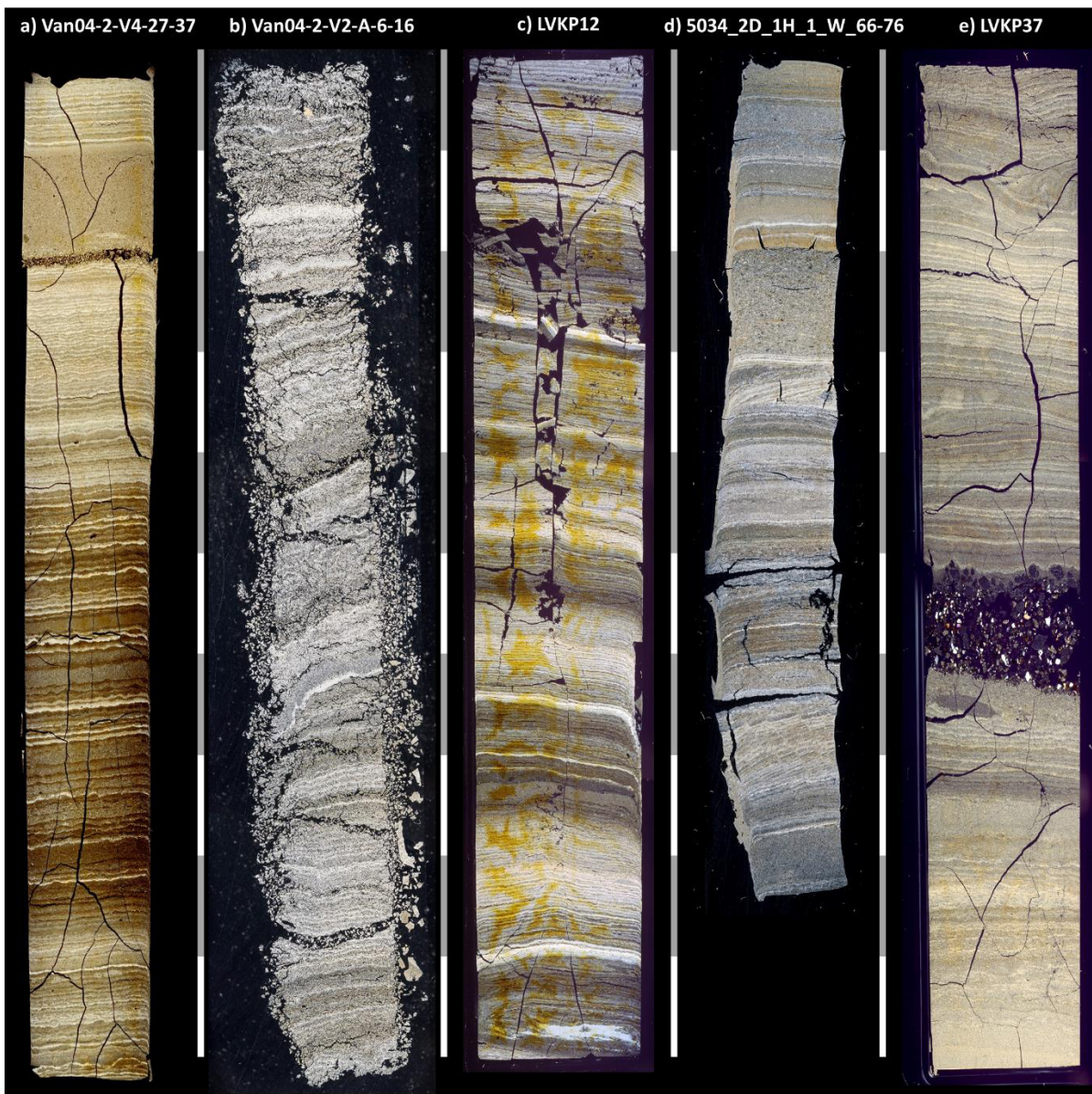


Abb. 25: Der Erhaltungszustand der verschiedenen Dünnschliffe variiert stark (Maßstab der Balken 1 cm). Die Dünnschliffe des Bohrkerns Van04-2-V2-A weisen feine Mikrorisse auf. 5034\_2D-1H\_1\_W\_66-76 zeigt exemplarisch den Einfluss von Tektonik (Mikroverwerfungen im unteren Bereich) und Eventablagerungen (Turbidite im oberen cm). Eine weitere Form von Ereignisablagerungen sind dunkle vulkanische Aschelagen (LVKP37).



Es ist davon auszugehen, dass diese Diskrepanz auf das Fehlen von Warven zurückzuführen ist und auf sedimentologische Prozesse hindeutet, die zur Abtragung von Warven geführt oder die Entstehung dieser verhindert haben kann. Da das Ausmaß und die zeitliche Einordnung der Erosion von Warven anhand der Zählung nicht eindeutig eingegrenzt werden konnte, ist eine Validierung über absolute Datierungen von z.B. Pollenkonzentraten zwingend notwendig.

#### 5.4.2. Bewertung der $^{14}\text{C}$ -Daten der Pollenkonzentrate

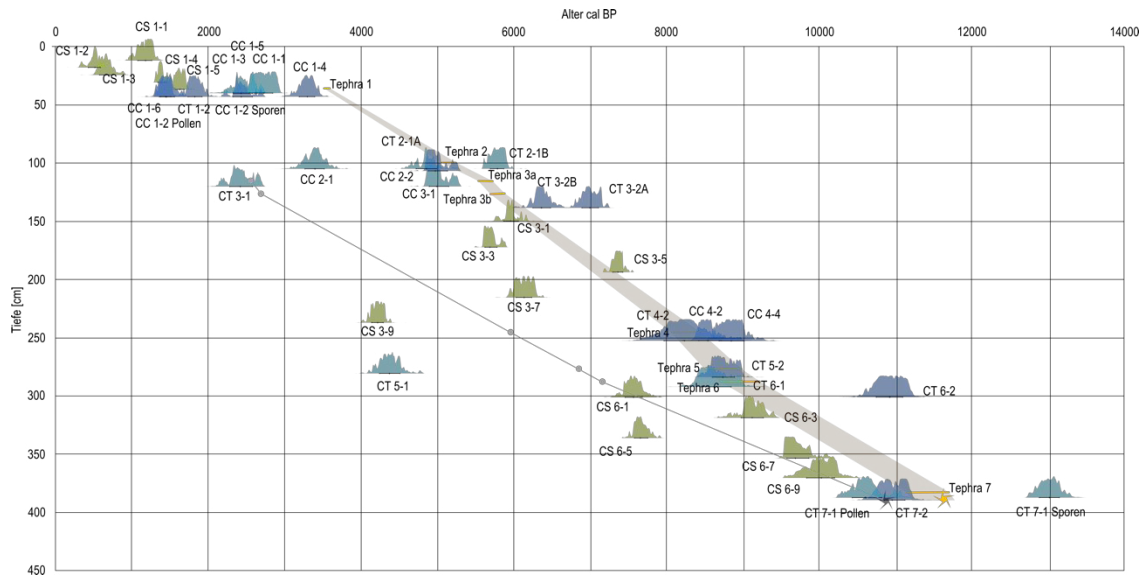
Auch die unterschiedlichen Warvenzählungen zeigen deutliche Diskrepanzen und erschweren die Interpretation der vorliegenden Daten zusätzlich, sodass der einzige verbliebene Punkt, der zur Validierung der Pollendatierungen genutzt werden kann, der GSSP der Holozän-Pleistozän-Grenze (11.650 BP) in 388,68 cm Tiefe ist, der über  $\delta^{18}\text{O}$ - und Pollenanalysen klar definiert ist.

Ausgehend von diesem Punkt konnte V-7, die 6 cm (382,01 cm Tiefe) oberhalb des GSSP liegt und nur in den Sedimenten des Ahlat-Ridge enthalten ist, auf ein  $^{14}\text{C}$ -Alter von  $10.612 \pm 190$  cal BP (CT 7-1 Pollen) bis  $10.970 \pm 168$  cal BP (CT 7-2) datiert werden (vgl. Abb. 23). Dies stimmt auch mit der Datierung der Holozän-Pleistozän-Grenze anhand der Warvenchronologie von Landmann et al. (1996b) überein, die auf  $10920 \pm 132$  vy BP eingestellt werden konnte. Basierend auf diesen Daten lässt sich die Zuverlässigkeit der Pollendatierung ansatzweise bewerten. Sie deutet darauf hin, dass die generierten Alter der reinen Pollenprobe (CT 7-1 Pollen) und der Probe CT 7-2 robust zu sein scheinen.

Schaut man sich aufbauend darauf das Intervall zwischen V-6 und V-7 an, beträgt dieses gemäß der Warvenzählung nach Nieder (2020) 1936 - 2990 Jahre. Mit einem Alter von  $8626 \pm 195$  cal BP beschreibt die Probe CT 6-1 ein vergleichbares Intervall (ca. 1986 Jahre zu CT 7-1 Pollen). Eine vergleichende Darstellung der Pollendatierungen und der Warvenzählung zeigt Abbildung 26. Um die zeitlichen Intervalle zwischen den genannten Tephren vergleichen zu können, wurde die maximale Warvenzahl mit der Holozän-Pleistozän-Grenze gleichgesetzt. Die Plausibilität der Datierungen CT 7-1 Pollen und CT 6-1 wird durch die zwischen V-6 und V-7 entnommenen Proben CS 6-3 ( $9109 \pm 148$  cal BP), CS 6-7 ( $9690 \pm 145$  cal BP) und CS 6-9 ( $10.029 \pm 179$  cal BP) unterstützt, die eine kontinuierliche Sedimentation zwischen den genannten  $^{14}\text{C}$ -Datierungen beschreiben (vgl. Abb. 23).

CS 6-1 und CS 6-5 weichen zum Teil deutlich von dieser Kontinuität ab, was unter anderem auch auf eine geringe Pollenausbeute und eine entsprechende Kohlenstoffmasse zurückgeführt wer-

den kann. An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass keine Mindestpollenzahl oder eine definierte Mindestmasse für eine belastbare  $^{14}\text{C}$ -Datierung angegeben werden kann. Zur Bewertung der vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Datierung ist auch immer die Reinheit der Proben und dementsprechend das Risiko eines Reservoir-Effekts sowie die Beschaffenheit des Sediments mit einzubeziehen.



**Abb. 26:** Betrachtet man die Anzahl der Warven von V-1 bis zur Holozän-Pleistozän-Grenze ausgehend von dem GSSP (orange), ist es möglich, die Intervalle zwischen den einzelnen Tephren über die Pollendatierungen (hier dargestellt als Wahrscheinlichkeitsdichteverteilungen) darzustellen. Es zeigt sich, dass die Unsicherheit der vorliegenden Datierungen im oberen Teil des Sedimentprofils höher ist, als unterhalb von V-4.

Tephren V-6 (287,42 cm Tiefe), V-5 (276,17 cm Tiefe) und V-4 (244,76 cm Tiefe) liegen in einem Abstand von 42,66 cm. Dies entspricht gemäß visueller und automatisierter Warvenzählung einem zeitlichen Intervall von 263 - 1154 Jahren. Landmann et al. 1996b konnten für das Intervall zwischen Tephra C (hier V-4) und Tephra E (hier V-6) eine Zeitspanne von 1187 Jahren bestimmen. Dies lässt sich auch anhand der vorliegenden  $^{14}\text{C}$ -Datierung der Pollenkonzentrate zu den Tephren V-4 bis V-6 nachvollziehen. Bedingt durch die Unsicherheiten der einzelnen  $^{14}\text{C}$ -Datierungen weisen diese ebenfalls Überlappungen auf, jedoch lässt sich anhand des geringen Fehlers an dieser Stelle im Alters-Tiefen-Modell (vgl. Abb. 21) auf eine hohe Belastbarkeit der vorliegenden Daten schließen.

Für den Zwischenraum zwischen V-3b und V-4 zeigen die vorliegenden Datierungen CS 3-1 bis CS 3-9 eine sehr große Streuung. Ein Blick auf die Beschaffenheit der Sedimente zeigt in den Dünnschliffen eine Beanspruchung des Sediments durch seismische Aktivität in Form von Mikrostörungen und Rissen (Abb. 25). Bei der Verfüllung dieser Risse nach dem tektonischen Event gelangen jüngere Sedimente in ältere Schichten, die so ein fehlerhaftes Alter hervorrufen können.

Lediglich CS 3-5 ( $5959 \pm 97$  cal BP) und CS 3-1 ( $7360 \pm 68$  cal BP) zeigen eine Übereinstimmung mit dem Alters-Tiefen-Modell. CS 3-3, CS 3-7 und CS 3-9 erscheinen deutlich jünger als das Alters-Tiefen-Modell. Eine Plausibilitätsprüfung für die vorliegenden Proben ist jedoch schwer, da sie in der Beschaffenheit der Konzentrate keine Auffälligkeiten zeigen. Mit einer Kohlenstoffmasse von  $59 \mu\text{g}$  bis  $146 \mu\text{g}$  und einer Anzahl separierter Partikel von ca. 102.000 bis ca. 240.000 weisen die Pollenproben eine ausreichende Quantität auf. Die Qualität der separierten Konzentrate variiert jedoch stark zwischen 43 % (CS 3-7) bis 90 % (CS 3-1) Pollen. Hieraus lässt sich als Ursache für die starke Streuung der  $^{14}\text{C}$ -Alter auf einen möglichen Reservoir-Effekt schließen.

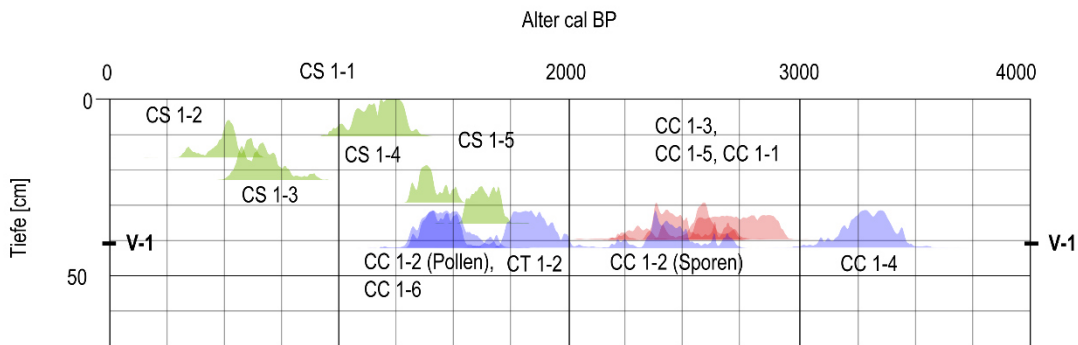
Verglichen mit den Warvenzählungen nach Landmann et al. (1996b) und Nieder (2020), zeigt sich für das Intervall zwischen der Ablagerung von Tephra V-2 und Tephra V-4 nach wie vor eine Übereinstimmung. Bei Nieder (2020) umfassen die Sedimente zwischen den genannten Tephren 2343 bis 3380 Jahre. In den Sedimenten des Tatvan Basins konnte die Ablagerung der Tephra V-2 nicht festgestellt werden. Dennoch beträgt das zeitliche Intervall zwischen Tephra A (hier V-3a) und Tephra C (hier V-4) 3398 Jahre. Gemäß des auf den  $^{14}\text{C}$ -Datierungen basierenden Alters-Tiefen-Modells trennen die Ablagerungen der Tephren V-2 und V-4 ca. 3700 Jahre.

Zur zeitlichen Einordnung der Tephren V-2, V-3a und V-3b lagen acht  $^{14}\text{C}$ -Datierungen, basierend auf den Pollenfraktionen der Sedimentproben, vor. Lediglich drei Pollendatierungen überschneiden sich mit dem berechneten Alters-Tiefen-Modell. So weisen die Pollenproben bereichsweise ein um mehr als 2500 Jahre abweichendes Alter auf. Die Beschaffenheit der Sedimente in diesem Bereich sowie die Beschaffenheit der Pollenkonzentrate bezüglich Reinheit und Quantität der separierten Pollen lassen jedoch keine Aussagen zur Plausibilität der vorliegenden Daten zu. Um einzelne  $^{14}\text{C}$ -Datierungen bestätigen zu können und das Alters-Tiefen-Modell zu verfeinern, bedarf es für die Sedimente und den Zwischenraum zwischen V-2 und V-3b weiterer auf der Pollenfraktion basierende Datierungen.

Bislang war es möglich die Datierungen über die Warvenzählung, ausgehend von der Holozän-Pleistozän-Grenze, ansatzweise zu validieren. Betrachtet man nun die Sedimente oberhalb von Tephra V-2, offenbart sich der Ursprung der Diskrepanz zwischen den vorliegenden Chronologien. Zwischen V-1 und V-2 konnte Nieder (2020) 1490 – 1745 Warven zählen. Gemäß der Pollendatierungen beträgt dieses zeitliche Intervall 1567 – 3423 Jahre. Entsprechend weist das Alters-Tiefen-Modell in diesem Abschnitt die höchste Unsicherheit auf.

Im Folgenden müssen, zur weiteren Eingrenzung des Alters von V-1, die vorliegenden Pollendatierungen genauer betrachtet werden. In Abbildung 27 sind die Pollendaten, die unmittelbar ober-

halb von V-1 entnommen wurden, in rot markiert, solche, die unterhalb von V-1 entnommen wurden, blau. So zeigen die überlagernden Sedimente (rot) ein übereinstimmendes Alter von  $2426 \pm 124$  cal BP (CC 1-3) bis  $2725 \pm 107$  cal BP (CC 1-1). Die Basis der Tephra scheint deutlich jünger zu sein mit einem Alter von  $1435 \pm 66$  cal BP (CC 1-6) bis  $1818 \pm 92$  cal BP (CT 1-2). CC 1-2 (Sporen) und CC 1-4 werden hier bewusst ausgeklammert, da die Belastbarkeit der Datierungen dieser Proben, entsprechend der Zusammensetzung der Konzentrate mit einem überwiegenden Anteil Bryophyten-Sporen (CC 1-2) bzw. ca. 60 % nicht identifizierbarem Detritus (CC 1-4), deutlich gemindert ist.



**Abb. 27: Wahrscheinlichkeitsdichteverteilungen der <sup>14</sup>C-Datierungen zur Tephra V-1 (rot und blau) und den darüberliegenden Sedimenten (grün). Die unmittelbar oberhalb von V-1 entnommenen Pollenproben (rot) weisen ein höheres Alter auf als solche, die unterhalb V-1 entnommen wurden (blau).**

Die inverse Altersverteilung der Proben unterhalb und oberhalb der Tephra V-1 weisen auf Umlagerungsprozesse hin (Abb. 24a). Dies ist entweder postsedimentär nach der vulkanischen Eruption geschehen oder gleichzeitig. Hinweis hierauf bietet ein Blick auf die Beschaffenheit der Sedimente, der die Ablagerung eines etwa 11 mm mächtigen, strukturlosen Homogenit offenbart. Auch die Pollendatierungen CS 1-4 ( $1387 \pm 57$  cal BP) und CS 1-5 ( $1629 \pm 56$  cal BP), die 8,5 cm bzw. 2 cm oberhalb des Homogenit entnommen wurden, weisen darauf hin, dass die <sup>14</sup>C-Datierungen unmittelbar oberhalb der Tephra V-1 das Alter der vulkanischen Ablagerung überschätzen.

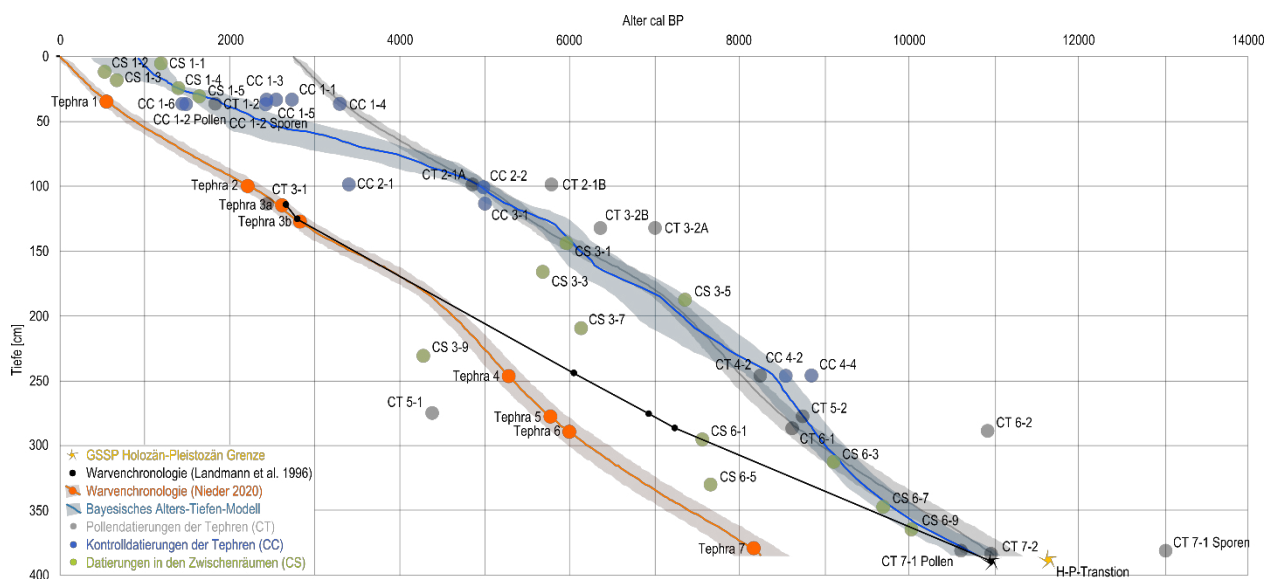
Homogene, strukturlose Sedimentstrukturen bilden den maßgebenden Grund für die Diskrepanz zwischen den Warvenzählungen und der in dieser Arbeit erstellten, auf Pollendatierung basierenden Chronologie. Wie bereits beschrieben, konnten für die Sedimente oberhalb und unterhalb von V-1 133 Eventablagerungen in Form von geringmächtigen Slumps und Turbiditen festgestellt werden. Sie spiegeln die Ablagerung allochthoner und umgelagerter Sedimente wider (Stockhecke et al. 2014b; Sturm and Matter 1978).

Diesen atypischen Sedimentationsformen wird ein erosiver Charakter zugeschrieben, dessen Ausmaß jedoch optisch im Sediment nicht zu bestimmen ist und daher in der Erstellung einer

warvenbasierten Chronologie nicht berücksichtigt werden kann. Die morphologische Struktur der erhöht gelegenen Bohrlokalisierung Ahlat Ridge sollte die Sedimentation von umgelagertem Material verhindern (Litt et al. 2009), jedoch können auch in unverfestigten Seesedimenten bei extrem geringer Neigung ( $< 1^\circ$ ) Rutschungen auftreten (Alsop and Marco 2013; Field et al. 1982). Daher ist es nicht ausgeschlossen, dass Rutschungen vom nordwestlich gelegenen Rücken, der das Northern Basin und das Tatvan-Basin trennt, auch den Ahlat Ridge erreichen können und es dort zur Ablagerung dieses Materials kommen kann.

In den Slumps und Turbiditen liegt der Grund für die starke Abweichung zwischen der Warvenzählung an den Sedimenten des Ahlat Ridge und dem vorliegenden Alters-Tiefen-Modell, basierend auf Pollendatierungen. Es liegt der Schluss nahe, dass durch die Ablagerungen der homogenen, strukturlosen Sedimente eine unbekannte Anzahl an Warven zerstört wurde. Da sich diese vor allem in den Sedimenten oberhalb von Tephra V-3a befinden, ist auch hier die Diskrepanz zwischen den Chronologien besonders hoch.

Es wurde gezeigt, dass es möglich ist, die Chronologien über die Intervalle zwischen den vulkanischen Aschelagen, die sich aus der Warvenzählung nach Nieder (2020) und den entsprechenden Pollendatierungen ergeben, zu validieren. Dies gelingt vor allem für die Sedimente von V-3b bis zur Holozän-Pleistozän-Grenze (vgl. Abb. 26 und Abb. 28).



**Abb. 28: Alters-Tiefen-Modelle der holozänen Sedimente des Ahlat-Ridge basierend auf den Pollendatierungen (blau) und auf der „floating chronology“ (orange) nach Nieder (2020). Setzt man den Übergang zwischen Holozän und Pleistozän als Ausgangspunkt der Warvenzählung an (graue Alterslinie), zeigt sich, dass die Bereiche, die durch Erosion und Zerstörung von Warven gekennzeichnet sind, auf die Sedimente oberhalb der Tephren V-2 und V-3a eingegrenzt werden können. Zusätzlich ist die Warvenchronologie von Landmann et al. (1996b) dargestellt (schwarz).**

Die Warvenchronologie nach Landmann et al. (1996b) zeigt für diese Intervalle jedoch weiterhin eine Diskrepanz (vgl. Abb. 28), die in Anbetracht des Mangels an Korrelationspunkten, vor allem auf die Beschaffenheit der Sedimente am Ahlat Ridge und im südlich gelegenen Tatvan Becken und die Ablagerungsbedingungen zurückzuführen ist. Dies spiegelt sich nicht zuletzt auch in der unterschiedlichen Anzahl eindeutig identifizierbarer vulkanischer Aschelagen wider. Somit ist auch eine Validierung der vorliegenden Pollendaten über diese Chronologie nur sehr eingeschränkt möglich.

## 6. Fazit und Zusammenfassung

Die Datierung von fossilen Pollenproben ist eine vielversprechende und bereits vielfach angewandte Methode, um das Alter von Sedimenten bestimmen zu können. Dennoch bleibt es eine Herausforderung, eine Methode zur Extraktion der Pollenkörner zu finden, die speziell auf das Untersuchungsgebiet und die Beschaffenheit der Sedimente angepasst ist.

In bisherigen Studien basieren die Methoden vor allem auf der Erfassung und Trennung von großen Bisaccaten-Pollenkörnern von Koniferen. Neben dem Vorteil der Masse der Pollenkörner lassen sich diese Pollen auch ausgesprochen gut aus dem heterogenen Sediment sortieren. Die Methoden der Wahl sind vor allem die Schwerentrennung und physikalisch-chemische Trennverfahren.

Bei kleineren Pollen erfolgt die Sortierung von reinen Pollenkonzentraten über die Durchflusssytometrie, anhand derer die Partikel der heterogenen Sedimentprobe, basierend auf den Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften, charakterisiert und separiert werden können. Diese Methode eignet sich besonders für Sedimente aus semi-ariden Klimazonen, die kaum datierbare Makrofossilien und generell einen geringen organischen Anteil aufweisen.

Bedingt durch die unterschiedliche Sedimentzusammensetzung, die Pollenzusammensetzung und die speziellen Anwendungszwecke unterschiedlicher Studien, ist es nicht möglich, die jeweiligen Herangehensweisen zur Pollenaufbereitung für die  $^{14}\text{C}$ -Datierung auf andere Klimaarchive und deren Sedimente anzuwenden. Da keine vergleichbaren Anwendungen für Seesedimente aus semi-ariden Klimazonen mit einem sehr geringen Anteil großer, leicht zu separierender Pollen vorliegen, wurde in dieser Arbeit ein verbessertes Laborprotokoll für diese Art von Sedimenten erstellt.

In der vorliegenden Arbeit werden zwei Ansätze der Sortierung von fossilen Pollenkörnern auf die Sedimente des Vansees (Türkei) angewandt. Ein erster Ansatz konzentriert sich auf die hochfluoreszente Population in den Streudiagrammen des Durchflusssytometers (UHF-Ansatz). Dieser ist vor allem an die Methodik nach Tennant et al. (2013a) und Zimmerman et al. (2019) angelehnt. Er ermöglicht die Separation einer großen Anzahl Partikel in einer kurzen Zeit. Jedoch enthält diese Population auch weitere organische Partikel, mutmaßlich Algen, die ebenfalls eine Autofluoreszenz besitzen, jedoch nicht weiter identifiziert werden können.

Eine differenzierte Betrachtung der Partikel mit einer starken Autofluoreszenz macht es möglich, die Pollen- und Sporenpopulationen präzise zu identifizieren und diese anschließend zu separieren.

Ein Vergleich der  $^{14}\text{C}$ -Datierung der undifferenzierten Pollenkonzentrate (UHF) sowie der Pollen- und der Sporenpopulation zeigt, dass die Moossporen und die UHF-Konzentrate ein deutlich höheres Alter aufweisen, das sich auf einen Reservoir-Effekt zurückführen lässt. Für die UHF-Konzentrate wird dieser durch die Kontamination der Konzentrate durch detritische Partikel hervorgerufen. Bei den Moossporen lässt sich der Reservoir-Effekt durch die Assimilation von  $^{14}\text{C}$ -angereichertem Grund- oder Oberflächenwasser erklären.

Die in dieser Arbeit vorgestellte Kombination aus schonender chemischer Behandlung, der Grob- und Feinsiebung sowie dem „differenzierten“ Sortieransatz ermöglicht die Separation reiner Pollenkonzentrate. Auf diese Weise lassen sich die Sedimente des Vansees mithilfe der Durchflussszytometrie und der MICADAS AMS-Datierung präzise datieren.

Die Bewertung der  $^{14}\text{C}$ -Datierung der fossilen Pollen erfolgt über die Validierung der Zählung der Jahresschichten der Vanseesedimente. Hier wird eine Diskrepanz zwischen den Warvenzählungen und der in dieser Arbeit erstellten, auf Pollendatierung basierenden Chronologie deutlich, die sich vor allem auf die Sedimentzusammensetzung zurückführen lässt. Den maßgebenden Grund bilden hierbei homogene, strukturlose Sedimentabschnitte, die die Ablagerung allochthoner und umgelagerter Sedimente widerspiegeln. Diese treten fast ausschließlich oberhalb von Tephra V-2 auf, wo 133 Eventablagerungen in Form von geringmächtigen Slumps und Turbiditen festgestellt werden konnten.

In den Slumps und Turbiditen liegt der Grund für die starke Abweichung zwischen der Warvenzählung an den Sedimenten des Ahlat Ridge und dem vorliegenden Alters-Tiefen-Modell, basierend auf Pollendatierungen.

Dennoch ist es möglich die Datierungsmethoden der Warvenzählung und der Pollendatierung über die Intervalle zwischen den vulkanischen Aschelagen miteinander zu korrelieren. Dabei zeigt sich eine hohe Übereinstimmung, die für die Sedimente zwischen der Tephra V-3b und der Holozän-Pleistozän-Grenze angewandt werden kann.



## Danksagung

Die vorliegende Arbeit stellt den Abschluss meiner 5-jährigen Forschungstätigkeit in der Arbeitsgruppe Paläobotanik am Institut für Geowissenschaften der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn dar. Mein Dank gilt daher allen dort tätigen Kollegen und Mitarbeitern, mit denen ich in dieser Zeit zusammengearbeitet habe und die mich stets mit Rat und Tat unterstützt haben. Namentlich besonders hervorheben möchte ich dabei Dr. Nadine Pickarski, Dr. Georg Heumann, Dr. Hannah Hartung, Dr. Andrea Miebach, Colin Nieder und Karen Schmeling.

Mein ganz besonderer Dank gilt Prof. Dr. Thomas Litt für sein Vertrauen und die Möglichkeit, mich beginnend mit meinen studentischen Abschlussarbeiten bis hin zu meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der unter seiner Leitung stehenden Arbeitsgruppe über eine Phase von nunmehr 8 Jahren weiter qualifizieren zu können. Ohne die vielen wertvollen Gespräche, Diskussionen und Anregungen wäre die in der vorliegenden Dissertationsschrift dokumentierte wissenschaftliche Ergebnislage sicherlich nicht möglich gewesen.

Herrn Prof. Dr. Christian März danke ich für seine Bereitschaft, das Promotionsverfahren als Zweitgutachter zu begleiten.

Von unverzichtbarer Bedeutung für das Gelingen meiner Arbeit war die vielfältige und überaus wertvolle Zusammenarbeit mit weiteren inner- und außeruniversitären Forschungseinrichtungen. Neben der kompetenten und engagierten Unterstützung von Andreas Dolf, Peter Wurst, Maximilian Germer und David Kühne von der Flow Cytometry Core Facility des Instituts für molekulare Medizin der Universität Bonn gilt mein Dank auch Dr. Jens Kallmeyer und Axel Kitte vom Geoforschungszentrum Potsdam wie auch Dr. Irka Hajdas und Dr. Caroline Welte vom Labor für Ionenstrahlphysik (LIP) der ETH Zürich. Der Zugang zu den dort jeweils verfügbaren hochwertigen Laboreinrichtungen mitsamt der zugehörigen Fachexpertise und die im Zuge der Zusammenarbeit geführten vielen fachlichen Diskussionen stellen einen wesentlichen Ergebnisbeitrag zur vorliegenden Dissertationsschrift dar.

Dank gilt auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die finanzielle Unterstützung des Projektes „Flow cytometry method for purification of fossil pollen from Lake Van varved sediments for AMS radiocarbon dating – a new approach“ (PI 1343/1-1) in dessen Verbund meine Forschungstätigkeit verortet war.

Zu guter Letzt danke ich natürlich auch meiner Familie, ohne deren Unterstützung ich nicht da wäre, wo ich jetzt bin! Vielen Dank Mama, Papa, Julia, Michael, Rebecca und Britta!

## Literaturverzeichnis

- Akbaş B, Akdeniz N, Aksay A, Altun İ, Balcı V, Bilginer E, Bilgiç T, Duru M, Ercan T, Gedik İ et al. 2011. Geological Map of Turkey. In: Üzer M, editor. General Directorate of Mineral Reserach and Exploration. Ankara, Turkey: MTA Ankara-Turkey.
- Akçar N, Schlüchter C. 2005. Paleoglaciations in Anatolia: a schematic review and first results. *Eiszeitalter und Gegenwart E&G/Quaternary science journal*. 55(1):102-121.
- Alsop GI, Marco S. 2013. Seismogenic slump folds formed by gravity-driven tectonics down a negligible subaqueous slope. *Tectonophysics*. 605:48-69.
- Andree M, Oeschger H, Siegenthaler U, Riesen T, Moell M, Ammann B, Tobolski K. 1986. <sup>14</sup>C Dating of Plant Macrofossils in Lake Sediment. *Radiocarbon*. 28(2A):411-416.
- Bio-Rad Laboratorie I. 2017. Flow Cytometry – Basics Guide. <https://www.bio-rad-antibodies.com/static/2017/flow/flow-cytometrybasics-guide.pdf>.
- Bonani G, Beer J, Hofmann H, Synal H-A, Suter M, Wölfli W, Pfeleiderer C, Kromer B, Junghans C, Münnich KO. 1987. Fractionation, precision and accuracy in <sup>14</sup>C and <sup>13</sup>C measurements. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 29(1):87-90.
- Bouma A. 1964. Turbidites. In: Bouma AH, Brouwer A, editors. *Developments in Sedimentology*. Elsevier. p. 247-256.
- Bronk CR, Hedges REM. 1987. A gas ion source for radiocarbon dating. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 29(1):45-49.
- Bronk Ramsey C. 2001. Development of the radiocarbon calibration program. Department of Geosciences, The University of Arizona. p. 355 - 363.
- Bronk Ramsey C. 2009. Bayesian Analysis of Radiocarbon Dates. *Radiocarbon*. 51(1):337-360.
- Brown TA, Farwell G, Grootes P, Schmidt F. 1992. Radiocarbon AMS dating of pollen extracted from peat samples. *Radiocarbon*. 34(3):550-556.
- Brown TA, Nelson DE, Mathewes RW, Vogel JS, Southon JR. 1989. Radiocarbon dating of pollen by accelerator mass spectrometry. *Quaternary Research*. 32(2):205-212.
- Byrne R, Park J, Ingram L, Hung T. 2003. Cytometric sorting of Pinaceae pollen and its implications for radiocarbon dating and stable isotope analyses. Paper presented at: 20th Annual Pacific Climate Workshop. Asilomar, California.
- Caffrey MA, Horn SP. 2013. The use of lithium heteropolytungstate in the heavy liquid separation of samples which are sparse in pollen. *Palynology*. 37(1):143-150.
- Çağatay MN, Öğretmen N, Damcı E, Stockhecke M, Sancar Ü, Eriş KK, Özeren S. 2014. Lake level and climate records of the last 90ka from the Northern Basin of Lake Van, eastern Turkey. *Quaternary Science Reviews*. 104:97-116.

- Campbell JJ, Jones WR. 1968. A method for estimating optimal crystal cuts and propagation directions for excitation of piezoelectric surface waves. *IEEE Transactions on Sonics and Ultrasonics*. 15(4):209-217.
- Chester PI, Prior CA. 2004. An AMS <sup>14</sup>C pollen-dated sediment and pollen sequence from the Late Holocene, southern coastal Hawke's Bay, New Zealand. *Radiocarbon*. 46(2):721-731.
- Christl M, Vockenhuber C, Kubik PW, Wacker L, Lachner J, Alfimov V, Synal HA. 2013. The ETH Zurich AMS facilities: Performance parameters and reference materials. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 294:29-38.
- Cohen AS. 2003. *Paleolimnology: the history and evolution of lake systems*. Oxford university press.
- Cossarizza A, Chang H-D, Radbruch A, Abrignani S, Addo R, Akdis M, Andrä I, Andreatta F, Annunziato F, Arranz E et al. 2021. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (third edition). *European Journal of Immunology*. 51(12):2708-3145.
- Cukur D, Krastel S, Demirel-Schlüter F, Demirbağ E, Imren C, Niessen F, Toker M, PaleoVan-Working G. 2013. Sedimentary evolution of Lake Van (Eastern Turkey) reconstructed from high-resolution seismic investigations. *International Journal of Earth Sciences*. 102(2):571-585.
- Cukur D, Krastel S, Schmincke H-U, Sumita M, Çağatay MN, Meydan AF, Damcı E, Stockhecke M. 2014. Seismic stratigraphy of Lake Van, eastern Turkey. *Quaternary Science Reviews*. 104:63-84.
- Degens E, Wong H, Wiesner M. 1986. The Black Sea region: sedimentary facies, tectonics and oil potential. *Mitt Geol-Paläont Inst Univ Hamburg*. 60:127-149.
- Degens ET, Wong HK, Kempe S, Kurtman F. 1984. A geological study of Lake Van, Eastern Turkey. *Geologische Rundschau*. 73(2):701-734.
- Descolas-Gros C, Schölzel C. 2007. Stable isotope ratios of carbon and nitrogen in pollen grains in order to characterize plant functional groups and photosynthetic pathway types. *New Phytologist*. 176(2):390-401.
- Faegri K, Iversen J. 1989. *Textbook of pollen analysis*. John Wiley & Sons Ltd.
- Fahrni SM, Wacker L, Synal HA, Szidat S. 2013. Improving a gas ion source for <sup>14</sup>C AMS. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 294:320-327.
- Fewlass H, Talamo S, Tuna T, Fagault Y, Kromer B, Hoffmann H, Pangrazzi C, Hublin J-J, Bard E. 2018. Size Matters: Radiocarbon dates of <200 µg ancient collagen samples with AixMICADAS and its gas ion source. *Radiocarbon*. 60(2):425-439.
- Field ME, Gardner JV, Jennings AE, Edwards BD. 1982. Earthquake-induced sediment failures on a 0.25° slope, Klamath River delta, California. *Geology*. 10(10):542-546.

- Fletcher WJ, Zielhofer C, Mischke S, Bryant C, Xu X, Fink D. 2017. AMS radiocarbon dating of pollen concentrates in a karstic lake system. *Quaternary Geochronology*. 39:112-123.
- Frey W, Kürschner H. 1989. Die Vegetation im Vorderen Orient: Erläuterungen zur Karte A VI, 1 Vorderer Orient, Vegetation des" Tübinger Atlas des Vorderen Orients". Reichert.
- Fulwyler MJ. 1965. Electronic separation of biological cells by volume. *Science*. 150(3698):910-911.
- Givan AL. 2011. Flow cytometry: an introduction. *Flow cytometry protocols*. Springer. p. 1-29.
- Givan AL. 2013. *Flow cytometry: first principles*. John Wiley & Sons.
- Gottschalk J, Szidat S, Michel E, Mazaud A, Salazar G, Battaglia M, Lippold J, Jaccard SL. 2018. Radiocarbon Measurements of Small-Size Foraminiferal Samples with the Mini Carbon Dating System (MICADAS) at the University of Bern: Implications for Paleoclimate Reconstructions. *Radiocarbon*. 60(2):469-491.
- Haghipour N, Ausin B, Usman MO, Ishikawa N, Wacker L, Welte C, Ueda K, Eglinton TI. 2019. Compound-specific radiocarbon analysis by Elemental Analyzer–Accelerator Mass Spectrometry: Precision and limitations. *Analytical Chemistry*. 91(3):2042-2049.
- Hajdas I. 2009. Applications of Radiocarbon Dating Method. *Radiocarbon*. 51(1):79-90.
- Hajdas I, Bonani G, Furrer H, Mäder A, Schoch W. 2007. Radiocarbon chronology of the mammoth site at Niederweningen, Switzerland: Results from dating bones, teeth, wood, and peat. *Quaternary International*. 164-165:98-105.
- Hanke UM, Wacker L, Haghipour N, Schmidt MWI, Eglinton TI, McIntyre CP. 2017. Comprehensive radiocarbon analysis of benzene polycarboxylic acids (BPCAs) derived from pyrogenic carbon in environmental samples. *Radiocarbon*. 59(4):1103-1116.
- Herzenberg LA, Parks D, Sahaf B, Perez O, Roederer M, Herzenberg LA. 2002. The History and Future of the Fluorescence Activated Cell Sorter and Flow Cytometry: A View from Stanford. *Clinical Chemistry*. 48(10):1819-1827.
- Herzenberg LA, Sweet RG, Herzenberg LA. 1976. Fluorescence-activated Cell Sorting. *Scientific American*. 234(3):108-118.
- Holden NE. 1990. Total half-lives for selected nuclides. *Pure and Applied Chemistry*. 62(5):941-958.
- Howarth JD, Fitzsimons SJ, Jacobsen GE, Vandergoes MJ, Norris RJ. 2013. Identifying a reliable target fraction for radiocarbon dating sedimentary records from lakes. *Quaternary Geochronology*. 17:68-80.
- Huguet C, Fietz S, Moraleda N, Litt T, Heumann G, Stockhecke M, Anselmetti FS, Sturm M. 2012. A seasonal cycle of terrestrial inputs in Lake Van, Turkey. *Environmental Science and Pollution Research*. 19(8):3628-3635.
- Huguet C, Fietz S, Stockhecke M, Sturm M, Anselmetti FS, Rosell-Melé A. 2011. Biomarker seasonality study in Lake Van, Turkey. *Organic Geochemistry*. 42(11):1289-1298.

- Hunt CO, Rushworth G, Dykes AP. 2007. UV-fluorescence microscopy and the coherence of pollen assemblages in environmental archaeology and Quaternary geology. *Journal of Archaeological Science*. 34(4):562-571.
- Ivleva N, Niessner R, Panne U. 2005. Characterization and discrimination of pollen by Raman microscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 381(1):261-267.
- Jacob SAW, Suter M, Synal HA. 2000. Ion beam interaction with stripper gas – Key for AMS at sub MeV. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 172(1):235-241.
- Jahren HA. 2004. The carbon stable isotope composition of pollen. *Review of Palaeobotany and Palynology*. 132(3):291-313.
- Kaden H, Peeters F, Lorke A, Kipfer R, Tomonaga Y, Karabiyikoglu M. 2010. Impact of lake level change on deep-water renewal and oxic conditions in deep saline Lake Van, Turkey. *Water Resources Research*. 46(11).
- Kadioğlu M, Şen Z, Batur E. 1997. The greatest soda-water lake in the world and how it is influenced by climatic change. *Ann Geophys*. 15(11):1489-1497.
- Karaoğlu Ö, Özdemir Y, Tolluoğlu A. 2004. Physical evolution, emplacement of ignimbrite and characteristic eruption types of Nemrut Stratovolcano: a caldera system at Eastern Anatolia-Turkey. Paper presented at: Proceedings of the 5th International Symposium on Eastern Mediterranean Geology.
- Kasai Y, Leipe C, Saito M, Kitagawa H, Lauterbach S, Brauer A, Tarasov PE, Goslar T, Arai F, Sakuma S. 2021. Breakthrough in purification of fossil pollen for dating of sediments by a new large-particle on-chip sorter. *Science Advances*. 7(16):eabe7327.
- Kempe S. 1977. *Warvenchronologie und organische Geochemie des Van Sees, Ostrrürkei*. Ph. D. thesis, Mitt. Geol. Palaeontol. Inst. Univ. Hamburg.
- Kempe S, Degens E. 1978. Lake Van varve record: the past 10,420 years. *Geology of Lake Van*. 169:56-63.
- Kempe S, Kazmierczak J, Landmann G, Konuk T, Reimer A, Lipp A. 1991. Largest known microbialites discovered in Lake Van, Turkey. *Nature*. 349(6310):605-608.
- Keskin M. 2003. Magma generation by slab steepening and breakoff beneath a subduction-accretion complex: An alternative model for collision-related volcanism in Eastern Anatolia, Turkey. *Geophysical Research Letters*. 30(24).
- Keskin M. 2007. Eastern Anatolia: a hotspot in a collision zone without a mantle plume. *Special Papers-Geological Society of America*. 430:693.
- Kilian MR, van der Plicht J, van Geel B, Goslar T. 2002. Problematic <sup>14</sup>C-AMS dates of pollen concentrates from Lake Gosciadz (Poland). *Quaternary International*. 88(1):21-26.
- Kipfer R, Aeschbach-Hertig W, Baur H, Hofer M, Imboden DM, Signer P. 1994. Injection of mantle type helium into Lake Van (Turkey): the clue for quantifying deep water renewal. *Earth and Planetary Science Letters*. 125(1):357-370.

- Kromer B, Lindauer S, Synal H-A, Wacker L. 2013. MAMS – A new AMS facility at the Curt-Engelhorn-Centre for Achaeometry, Mannheim, Germany. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 294:11-13.
- Kurtman F, Akkuş M, Gedik A. 1978. The geology and oil potential of the Muş-Van region. In: Degens ET, Kurtman F, editors. *The Geology of Lake Van*. Ankara: The Mineral Research and Exploration Institute of Turkey (MTA). p. 124-133.
- Kuzucuoğlu C, Christol A, Mouralis D, Doğu A-F, Akköprü E, Fort M, Brunstein D, Zorer H, Fontugne M, Karabiyikoğlu M et al. 2010. Formation of the Upper Pleistocene terraces of Lake Van (Turkey). *Journal of Quaternary Science*. 25(7):1124-1137.
- Kwiecien O, Stockhecke M, Pickarski N, Heumann G, Litt T, Sturm M, Anselmetti F, Kipfer R, Haug GH. 2014. Dynamics of the last four glacial terminations recorded in Lake Van, Turkey. *Quaternary Science Reviews*. 104:42-52.
- LaFontaine CV, Bryson RA, Wendland WM. 1990. Airstream Regions of North Africa and the Mediterranean. *Journal of Climate*. 3(3):366-372.
- Landmann G, Kempe S. 2005. Annual deposition signal versus lake dynamics: microprobe analysis of Lake Van (Turkey) sediments reveals missing varves in the period 11.2–10.2 ka BP. *Facies*. 51(1-4):135-145.
- Landmann G, Reimer A, Kempe S. 1996a. Climatically induced lake level changes at Lake Van, Turkey, during the Pleistocene/Holocene Transition. *Global Biogeochemical Cycles*. 10(4):797-808.
- Landmann G, Reimer A, Lemcke G, Kempe S. 1996b. Dating Late Glacial abrupt climate changes in the 14,570 yr long continuous varve record of Lake Van, Turkey. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 122(1):107-118.
- Landmann G, Steinhauser G, Sterba JH, Kempe S, Bichler M. 2011. Geochemical fingerprints by activation analysis of tephra layers in Lake Van sediments, Turkey. *Applied Radiation and Isotopes*. 69(7):929-935.
- Lanting JN, Van Der Plicht J. 1998. Reservoir effects and apparent <sup>14</sup>C-ages. *The Journal of Irish Archaeology*. 9:151-165.
- Lemcke G. 1996. *Paläoklimarekonstruktion am Van See (Ostanatolien, Türkei)*. ETH Zurich.
- Li C, Li Y, Burr GS. 2014. Testing the Accuracy of <sup>14</sup>C Age Data from Pollen Concentrates in the Yangtze Delta, China. *Radiocarbon*. 56(1):181-187.
- Litt T, Anselmetti FS. 2014. Lake Van deep drilling project PALEOVAN. *Quaternary Science Reviews*. 104:1-7.
- Litt T, Anselmetti FS, Baumgarten H, Beer J, Cagatay N, Cukur D, Damci E, Glombitza C, Haug G, Heumann G et al. 2012. 500,000 Years of Environmental History in Eastern Anatolia: The PALEOVAN Drilling Project. *Sci Dril*. 14:18-29.

- Litt T, Anselmetti FS, Cagatay MN, Kipfer R, Krastel S, Schmincke H-U, Sturm M. 2011. A 500,000-year-long sediment archive drilled in eastern Anatolia. *Eos, Transactions American Geophysical Union*. 92(51):477-479.
- Litt T, Krastel S, Örcen S, Karabiyikoglu M. 2007. Lake Van drilling project: A long continental record in eastern Turkey. *Scientific Drilling*. 4:40-41.
- Litt T, Krastel S, Sturm M, Kipfer R, Örcen S, Heumann G, Franz SO, Ülgen UB, Niessen F. 2009. 'PALEOVAN', International Continental Scientific Drilling Program (ICDP): site survey results and perspectives. *Quaternary Science Reviews*. 28(15):1555-1567.
- Litt T, Pickarski N, Heumann G, Stockhecke M, Tzedakis PC. 2014. A 600,000 year long continental pollen record from Lake Van, eastern Anatolia (Turkey). *Quaternary Science Reviews*. 104:30-41.
- Liu J, Liu C, He W. 2013. Fluorophores and Their Applications as Molecular Probes in Living Cells. *Current Organic Chemistry*. 17(6):564-579.
- Long A, Davis OK, de Lanois J. 1992. Separation and  $^{14}\text{C}$  dating of pure pollen from lake sediments: Nanofossil AMS dating. *Radiocarbon*. 34(3):557-560.
- Lotter AF, Lemcke G. 1999. Methods for preparing and counting biochemical varves. *Boreas*. 28(2):243-252.
- Lowe JJ, Walker MJC. 2000. Radiocarbon Dating the Last Glacial-Interglacial Transition (Ca. 14–9  $^{14}\text{C}$  ka BP) in Terrestrial and Marine Records: The Need for New Quality Assurance Protocols. *Radiocarbon*. 42(1):53-68.
- MacDonald GM, Beukens RP, Kieser WE, Vitt DH. 1987. Comparative radiocarbon dating of terrestrial plant macrofossils and aquatic moss from the "ice-free corridor" of western Canada. *Geology*. 15(9):837-840.
- Mensing SA, Southon JR. 1999. A simple method to separate pollen for AMS radiocarbon dating and its application to lacustrine and marine sediments. *Radiocarbon*. 41(1):1-8.
- Mitsumoto K, Yabusaki K, Aoyagi H. 2009. Classification of pollen species using autofluorescence image analysis. *Journal of bioscience and bioengineering*. 107(1):90-94.
- Neulieb T, Levac E, Southon J, Lewis M, Pendea IF, Chmura GL. 2013. Potential Pitfalls of Pollen Dating. *Radiocarbon*. 55(3):1142-1155.
- Newnham RM, Vandergoes MJ, Garnett MH, Lowe DJ, Prior C, Almond PC. 2007. Test of AMS  $^{14}\text{C}$  dating of pollen concentrates using tephrochronology. *Journal of Quaternary Science*. 22(1):37-51.
- Nieder C. 2020. Warvenchronologie im Holozän des Van-Sees, Türkei – Zählung und komperative Analytik zur Paläoklimatologie basierend auf neuen Dünnschliffen [Masterarbeit]. Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- O'Connor DJ, Iacopino D, Healy DA, O'Sullivan D, Sodeau JR. 2011. The intrinsic fluorescence spectra of selected pollen and fungal spores. *Atmospheric Environment*. 45(35):6451-6458.

- Pickarski N, Kwiecien O, Djamali M, Litt T. 2015a. Vegetation and environmental changes during the last interglacial in eastern Anatolia (Turkey): a new high-resolution pollen record from Lake Van. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 435:145-158.
- Pickarski N, Kwiecien O, Langgut D, Litt T. 2015b. Abrupt climate and vegetation variability of eastern Anatolia during the last glacial. *Clim Past*. 11(11):1491-1505.
- Pickarski N, Litt T. 2017. A new high-resolution pollen sequence at Lake Van, Turkey: insights into penultimate interglacial–glacial climate change on vegetation history. *Clim Past*. 13(6):689-710.
- Piotrowska N, Bluszcz A, Demske D, Granoszewski W, Heumann G. 2004. Extraction and AMS radiocarbon dating of pollen from Lake Baikal sediments. *Radiocarbon*. 46(1):181-187.
- Ramsey CB, Ditchfield P, Humm M. 2004. Using a gas ion source for radiocarbon AMS and GC-AMS. *Radiocarbon*. 46(1):25-32.
- Ramsey CB, Hedges R. 1997. Hybrid ion sources: radiocarbon measurements from microgram to milligram. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 123(1-4):539-545.
- Regnéll J. 1992. Preparing pollen concentrates for AMS dating – a methodological study from a hard-water lake in southern Sweden. *Boreas*. 21(4):373-377.
- Regnéll J, Everitt E. 1996. Preparative centrifugation — a new method for preparing pollen concentrates suitable for radiocarbon dating by AMS. *Vegetation History and Archaeobotany*. 5(3):201-205.
- Reimer A, Landmann G, Kempe S. 2009. Lake Van, Eastern Anatolia, Hydrochemistry and History. *Aquatic Geochemistry*. 15(1):195-222.
- Reimer PJ, Austin WEN, Bard E, Bayliss A, Blackwell PG, Bronk Ramsey C, Butzin M, Cheng H, Edwards RL, Friedrich M et al. 2020. The IntCal20 northern hemisphere radiocarbon age calibration curve (0–55 cal kBP). *Radiocarbon*. 62(4):725-757.
- Richardson F, Hall VA. 1994. Pollen concentrate preparation from highly organic Holocene peat and lake deposits for AMS dating. *Radiocarbon*. 36(3):407-412.
- Roberts N, Wright Jr H. 1993. Vegetational, lake-level, and climatic history of the near east. In: Wright Jr H, Kutzbach J, Webb III T, Ruddiman W, Street-Perrott F, Bartlein P, editors. *Global climates since the last glacial maximum*. Minnesota University Press. p. 194-220.
- Ruff M, Fahrni S, Gäggeler HW, Hajdas I, Suter M, Synal HA, Szidat S, Wacker L. 2010. On-line radiocarbon measurements of small samples using Elemental Analyzer and MICADAS gas ion source. *Radiocarbon*. 52(4):1645-1656.
- Ruff M, Wacker L, Gäggeler HW, Suter M, Synal HA, Szidat S. 2007. A gas ion source for radiocarbon measurements at 200 kV. *Radiocarbon*. 49(2):307-314.
- Schiller CM, Whitlock C, Elder KL, Iverson NA, Abbott MB. 2020. Erroneously old radiocarbon ages from terrestrial pollen concentrates in Yellowstone Lake, Wyoming, USA. *Radiocarbon*. 63(1):321-342.



- Şengör A, Özeren S, Genç T, Zor E. 2003. East Anatolian high plateau as a mantle-supported, north-south shortened domal structure. *Geophysical Research Letters*. 30(24):8045.
- Steinhoff C, Pickarski N, Litt T, Hajdas I, Welte C, Wurst P, Kühne D, Dolf A, Germer M, Kallmeyer J. 2022. New Approach To Separate And Date Small Spores And Pollen From Lake Sediments In Semi-Arid Climates. *Radiocarbon*. 64(5):1191-1207.
- Stockhecke M, Anselmetti FS, Meydan AF, Odermatt D, Sturm M. 2012. The annual particle cycle in Lake Van (Turkey). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 333-334:148-159.
- Stockhecke M, Kwiecien O, Vigliotti L, Anselmetti FS, Beer J, Çağatay MN, Channell JET, Kipfer R, Lachner J, Litt T et al. 2014a. Chronostratigraphy of the 600,000 year old continental record of Lake Van (Turkey). *Quaternary Science Reviews*. 104:8-17.
- Stockhecke M, Sturm M, Brunner I, Schmincke HU, Sumita M, Kipfer R, Cukur D, Kwiecien O, Anselmetti FS. 2014b. Sedimentary evolution and environmental history of Lake Van (Turkey) over the past 600 000 years. *Sedimentology*. 61(6):1830-1861.
- Sturm M, Matter A. 1978. Turbidites and Varves in Lake Brienz (Switzerland): Deposition of Clastic Detritus by Density Currents. *Modern and Ancient Lake Sediments*. p. 147-168.
- Sumita M, Schmincke H-U. 2013. Impact of volcanism on the evolution of Lake Van II: Temporal evolution of explosive volcanism of Nemrut Volcano (eastern Anatolia) during the past ca. 0.4Ma. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*. 253:15-34.
- Suter M, Döbeli M, Grajcar M, Müller A, Stocker M, Sun G, Synal H-A, Wacker L. 2007. Advances in particle identification in AMS at low energies. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 259(1):165-172.
- Synal H-A, Stocker M, Suter M. 2007. MICADAS: A new compact radiocarbon AMS system. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 259(1):7-13.
- Tennant RK, Jones RT, Brock F, Cook C, Turney CSM, Love J, Lee R. 2013a. A new flow cytometry method enabling rapid purification of fossil pollen from terrestrial sediments for AMS radiocarbon dating. *Journal of Quaternary Science*. 28(3):229-236.
- Tennant RK, Jones RT, Love J, Lee R. 2013b. A new flow cytometry method enabling rapid purification of diatoms from silica-rich lacustrine sediments. *Journal of paleolimnology*. 49(2):305-309.
- Toker M, Sengor AMC, Demirel Schluter F, Demirbag E, Cukur D, Imren C, Niessen F. 2017. The structural elements and tectonics of the Lake Van basin (Eastern Anatolia) from multi-channel seismic reflection profiles. *Journal of African Earth Sciences*. 129:165-178.
- Tunno I, Zimmerman SRH, Brown TA, Hassel CA. 2021. An improved method for extracting, sorting, and AMS dating of pollen concentrates from lake sediment. *Frontiers in Ecology and Evolution*. (9):668676.
- Turetsky MR. 2003. The role of bryophytes in carbon and nitrogen cycling. *The Bryologist*. 106(3):395-409.

- Valeton I. 1978. A morphological and petrological study of the terraces around Lake Van, Turkey. In: Degens ET, Kurtman F, editors. *Geology of Lake Van*. Ankara: The Mineral Research and Exploration Institute of Turkey (MTA). p. 64-80.
- Van Zeist W, Bottema S. 1991. Late quaternary vegetation of the Near East. *Beihefte zum Tübinger Atlas des Vorderen Orients A*. Reichert. p. 1-156.
- Van Zeist W, Woldring H, Stapert D. 1975. Late Quaternary vegetation and climate of southwestern Turkey. *Palaeohistoria*.53-143.
- Vandergoes MJ, Prior CA. 2003. AMS dating of pollen concentrates - a methodological study of late Quaternary sediments from south Westland, New Zealand. *Radiocarbon*. 45(3):479-491.
- Vasil'chuk A, Kim J-C, Vasil'chuk Y. 2005. AMS <sup>14</sup>C Dating of Pollen Concentrate from Late Pleistocene ICE Wedges From the Bison and Seyaha Sites in Siberia. *Radiocarbon*. 47(2):243-256.
- Vasil'chuk AC, Kim J-C, Vasil'chuk YK. 2004. The AMS dating of pollen from syngenetic ice-wedge ice. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 223-224:645-649.
- Vogel JS, Briskin M, Nelson DE, Southon JR. 1989. Ultra-Small Carbon Samples and the Dating of Sediments. *Radiocarbon*. 31(3):601-609.
- Wacker L, Fahrni SM, Hajdas I, Molnar M, Synal HA, Szidat S, Zhang YL. 2013. A versatile gas interface for routine radiocarbon analysis with a gas ion source. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 294:315-319.
- Walker M, Johnsen S, Rasmussen SO, Popp T, Steffensen J-P, Gibbard P, Hoek W, Lowe J, Andrews J, Björck S et al. 2009. Formal definition and dating of the GSSP (Global Stratotype Section and Point) for the base of the Holocene using the Greenland NGRIP ice core, and selected auxiliary records. *Journal of Quaternary Science*. 24(1):3-17.
- Weber ME, Reichelt L, Kuhn G, Pfeiffer M, Korff B, Thurow J, Ricken W. 2010. BMPix and PEAK tools: New methods for automated laminae recognition and counting—Application to glacial varves from Antarctic marine sediment. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*. 11(3).
- Welte C, Hendriks L, Wacker L, Haghypour N, Eglinton TI, Günther D, Synal H-A. 2018. Towards the limits: Analysis of microscale <sup>14</sup>C samples using EA-AMS. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 437:66-74.
- Wick L, Lemcke G, Sturm M. 2003. Evidence of Lateglacial and Holocene climatic change and human impact in eastern Anatolia: high-resolution pollen, charcoal, isotopic and geochemical records from the laminated sediments of Lake Van, Turkey. *The Holocene*. 13(5):665-675.
- Yamada K, Omori T, Kitaba I, Hori T, Nakagawa T. 2021. Extraction method for fossil pollen grains using a cell sorter suitable for routine <sup>14</sup>C dating. *Quaternary Science Reviews*. 272:107236.

- Zhou W, Donahue D, Jull AT. 1997. Radiocarbon AMS dating of pollen concentrated from eolian sediments: implications for monsoon climate change since the late Quaternary. *Radiocarbon*. 39(1):19-26.
- Zhou W, Zhou J, Xiao J, Donahue D, Jull AT. 1999. Preliminary study on radiocarbon AMS dating of pollen. *Science in China Series D: Earth Sciences*. 42(5):524-530.
- Zimmerman S, Myrbo A. 2015. Lacustrine environments ( $^{14}\text{C}$ ). *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer Netherlands. p. 365-371.
- Zimmerman SR, Brown TA, Hassel C, Heck J. 2019. Testing pollen sorted by flow cytometry as the basis for high-resolution lacustrine chronologies. *Radiocarbon*. 61(1):359-374.
- Zohary M. 1973. *Geobotanical foundations of the Middle East*. Stuttgart: Fischer Verlag.
- Zolitschka B, Francus P, Ojala AEK, Schimmelmann A. 2015. Varves in lake sediments – a review. *Quaternary Science Reviews*. 117:1-41.
- Website climate-data.org: Klimadaten für Städte und Orte weltweit.  
<https://de.climate-data.org/asien/tuerkei/bitlis/tatvan-15386/#climate-graph>  
<https://de.climate-data.org/asien/tuerkei/van/van-241/#climate-graph>