

2 Material und Methoden

Zwei Meßreihen bilden den Kern der vorliegenden Arbeit:

1. Die Vorversuchs-Meßreihe zu den Klimaspurengas-Flüssen (CH_4 , N_2O) des Grünlands (Unterschiede in N-Düngung, Schnitffrequenz, Stauwasserflurabstand), bei der mit 2 Hauben pro Variante von Mai 1996 bis Oktober 1997 gemessen wurde.
2. Die Hauptversuchs-Meßreihe zur Auswirkung von erhöhtem CO_2 auf die Flüsse der Spurengase (CO_2 , CH_4 , N_2O). Hierzu wurde mit je 3 Hauben in jedem CO_2 -Ring (= 9 Hauben pro CO_2 -Behandlung) von April 1997 bis Dezember 2000 gemessen.

Näheres zur Versuchsfläche, den Meßreihen, zusätzlichen Untersuchungen und neu entwickelten Techniken wird in den folgenden Abschnitten geschildert.

2.1 Die Versuchsfläche Linden

2.1.1 Beschreibung der Versuchsfläche: Lage, Klima, Pflanzenbestand

Die für das Vor- und das Hauptexperiment genutzte Versuchsfläche ist Teil der vom Institut für Pflanzenökologie sowie des Hessischen Landesamts für Umwelt und Geologie (HLUG) betriebenen Umweltbeobachtungs- und Klimafolgenforschungsstation Linden. Sie liegt südöstlich der Stadt Gießen in der Talau des Lückebachs, zwischen den Stadtteilen Linden-Leihgestern und Pohlheim-Watzenborn-Steinberg, bei $50^\circ 32'$ Nord und $8^\circ 41,3'$ Ost auf einer Höhe von 172 m über NN. Die Lückebachau gehört naturräumlich zum Großen-Lindener Hügelland und dieses zum Marburg-Gießener Lahntal, dessen übergeordnete naturräumliche Einheit das Westhessische Berg- und Senkenland ist. Das Großen-Lindener Hügelland ist nahezu waldfrei und als Lößlandschaft für die Landwirtschaft sehr fruchtbar (KLAUSING 1988). Die Versuchsfläche liegt am auslaufenden Hangfuß (Auenrandlage) und ist schwach nach Norden geneigt.

Das langjährige Mittel des Jahresniederschlags beträgt in Gießen 644 mm, das langjährige Lufttemperatur-Mittel liegt bei $9,9^\circ\text{C}$. Seit Bestehen der Station Linden (1993) wiesen 4 Jahre unterdurchschnittliche Niederschläge auf; vor allem 1997 war mit 440 mm sehr trocken. Das Jahr 1998 dagegen lag über dem langjährigen Gießener Mittel, hauptsächlich aufgrund seines regenreichen Herbsts (Abb. 2.1-A). Es ist anzumerken, daß auf der Versuchsfläche Linden der Jahresniederschlag stets geringer war als der der Station Gießen (im Zeitraum 1996 bis 1999 im Schnitt um $69,5$ mm pro Jahr), in Gießen geringer als in Hessen, und in Hessen stets niedriger als im Bundesdurchschnitt (nicht gezeigt). Daher wird der Jahresniederschlag 1994 und 2000 bei Ergänzen der Daten durch die der Station Gießen wahrscheinlich eher überschätzt (Abb. 2.1-A; die November- und Dezemberdaten 2000 für die Station Linden lagen bei Druck der Arbeit noch nicht vor).

Verglichen mit der städtischen Meßstation Gießen war die Temperatur im ländlichen Bereich Linden im Mittel um 0,8 °C geringer (Tab. 2.1-A). Zudem liegt die Station Linden in einem Talgrund, in dem sich die kalte Luft z.B. gegen Abend sammelt; Nebel fällt dort zuerst und weicht morgens oder vormittags zuletzt.

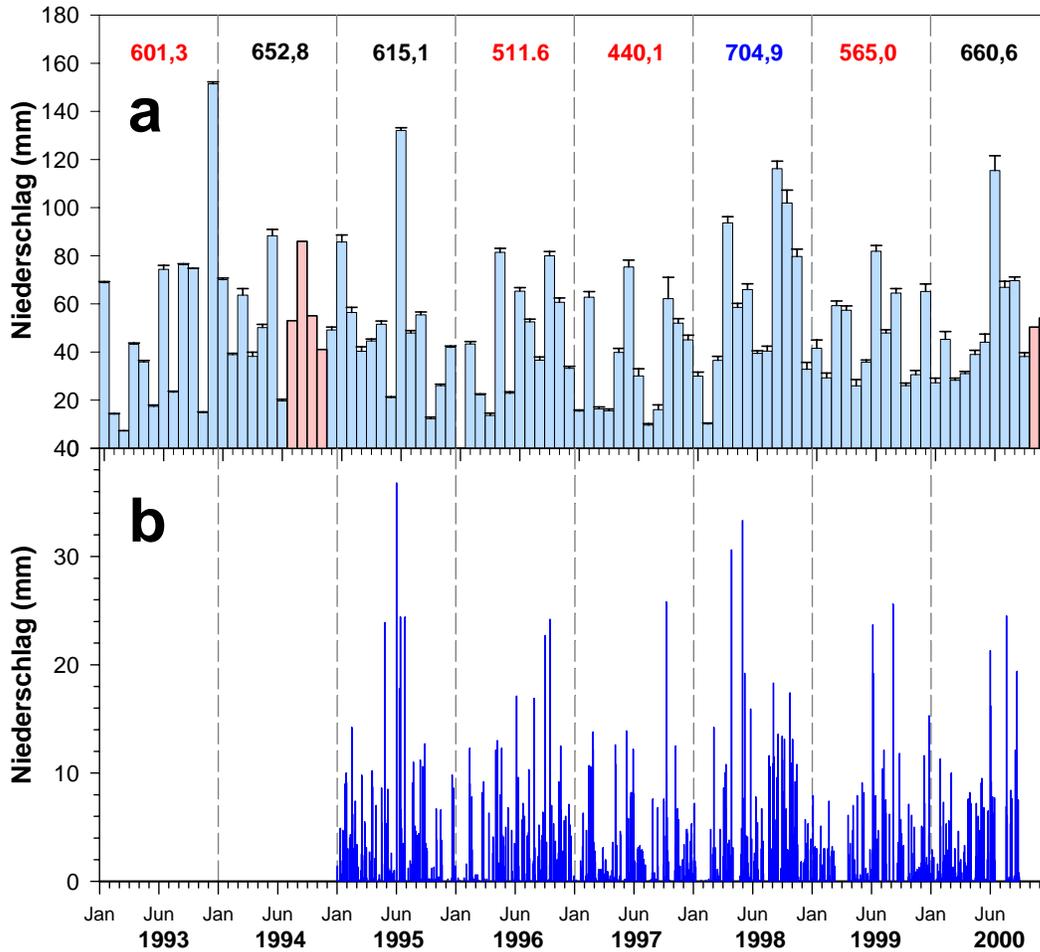


Abbildung 2.1-A: a) Monats-Niederschlagssummen, b) Tages-Niederschlagssummen auf der Versuchsfläche Linden in den Jahren 1993 bis 2000. Fehlende Daten (rosa Säulen) wurden durch die monatlichen Niederschlagssummen der Station Gießen ergänzt (einschließlich Berechnung der Jahres-Niederschlagssumme) aus: Deutscher Wetterdienst (DWD), Offenbach a.M., Monatliche Witterungsberichte.

Zum chemischen Klima der eher ländlichen Station Linden ist anzumerken, daß sie z.B. gegenüber der Station Gießen deutlich geringer belastet ist (NO, NO₂, CO, SO₂). Linden weist jedoch deutlich höhere Ozonkonzentrationen auf (GRÜNHAGE *et al.* 1992; GRÜNHAGE *et al.* 1996). Die Stickstoff-Deposition (nasse und trockene, z.B. NO_x aus dem Straßenverkehr oder NH₃ aus der Landwirtschaft) beträgt auf dem Gelände der Station Linden etwa 10 kg N ha⁻¹ a⁻¹ (GRÜNHAGE *et al.* 1992; GRÜNHAGE *et al.* 1996). Der Pflanzenbestand kann als frische bis wechselfeuchte Glatthaferwiesen bezeichnet werden (*Arrhenatheretum elatioris* Br.-Bl. *Filipendula ulmaria* sub-community, vgl. GRÜNHAGE *et al.* 1996; Feuchtezeigerwerte: JANZE 1996). Die Versuchsfläche ist arten-

reich (69 Arten insgesamt), wobei hiervon 12 Gräser, 2 Leguminosen und 15 Kräuter eine Stetigkeit von über 60 % erreichen. Als wichtigste Massebildner dieser 3 Hauptgruppen sind zu nennen: *Arrhenatherum elatius*, *Holcus lanatus*, *Poa pratensis*, *Alopecurus pratensis*, *Festuca rubra*, *Trifolium pratense* und *Galium mollugo* (Benennung nach OBERDORFER 1983). Die N-Zeigerwerte weisen den Bestand der Versuchsfläche als im Mittel mäßig nährstoffreich aus. Darunter befinden sich jedoch auch 20% Magerkeitszeiger. Näheres zu Artenlisten, Zeigerwerten und vegetationskundlicher Kartierung siehe bei GRÜNHAGE *et al.* (1996) oder JANZE (1996).

Tabelle 2.1-A: Monats- und Jahresmitteltemperaturen der Jahre 1996 bis 2000 auf der Versuchsfläche Linden sowie in der Stadt Gießen (Quelle Station Gießen: DWD, Monatliche Witterungsberichte).

Jahr Station	1996		1997		1998		1999		2000	
	Linden	Gießen								
Januar	-3,3	-2,2	-4,0	-3,1	2,5	2,8	3,2	3,4	1,8	2,0
Februar	-1,1	-0,4	4,6	5,1	3,3	4,4	1,3	1,7	4,5	4,6
März	2,3	2,7	7,2	7,9	5,9	6,4	6,2	6,6	6,7	6,8
April	8,2	9,4	6,7	7,8	8,8	9,4	9,4	9,8	10,1	11,0
Mai	11,1	11,8	12,7	13,9	13,8	15,3	13,7	14,9	14,6	15,7
Juni	15,3	16,7	15,4	16,8	16,2	17,5	15,5	16,6	16,7	18,4
Juli	15,7	17,0	16,9	18,0	16,3	17,4	19,2	20,2	15,3	15,6
August	16,8	17,7	19,5	21,0	16,7	18,0	17,4	18,1	17,8	18,6
September	11,1	11,7	13,3	14,6	13,3	14,0	17,0	17,6	14,2	14,7
Oktober	9,1	9,5	7,7	8,1	9,1	9,1	9,1	9,3	10,7	10,8
November	5,1	5,2	4,4	4,8	2,3	2,5	4,0	4,1	6,8	6,8
Dezember	-1,9	-1,7	2,9	3,1	1,5	1,7	3,2	3,2	3,3	3,3
Jahr	7,5	8,1	9,0	9,8	9,2	9,9	10,0	10,5	10,2	10,7

2.1.2 Das Versuchsgelände: bisheriges Management der Untersuchungspartellen

Das Lindener Versuchsgelände steht seit Jahrzehnten unter extensiver bis mäßig intensiver Wiesennutzung mit 2 Schnitten pro Jahr und einer Düngungsintensität von 50 bis 80 kg N ha⁻¹ a⁻¹. Auf dem Versuchsgelände wurden 1993 insgesamt 16 Parzellen à 100 m² als spätere Auswahlflächen für das Freiland-CO₂-Anreicherungs-Experiment (FACE, *free air carbon dioxide enrichment*) angelegt und von 1993 bis 1995 mit 80 kg N ha⁻¹ a⁻¹ gedüngt. Ab dem Jahr 1996 wurde die jährlich applizierte N-Dünger-Menge auf 40 kg N ha⁻¹ reduziert. Im Jahr 1997 wurden von diesen 16 Parzellen diejenigen 6 ausgewählt, bei denen jeweils 2 (Pärchen) sich in Pflanzenbestand, Bodenfeuchte, Biomassertrag usw. am meisten glichen. Auf diesen Parzellen wurden CO₂-Anreicherungsringe installiert, auf zwei Pärchen-Parzellen immer ein CO₂ freisetzender Ring und ein Kontrollring ohne Freisetzung (Beschreibung des FACE-Experiments erfolgt weiter unten).

Zur Abschätzung der Reaktionen des Grünland-Systems auf unterschiedliche Bewirtschaftungsmaßnahmen (N-Düngungsintensität in Kombination mit Schnitffrequenz) sowie des Ertragspotentials wurden 1993 zusätzlich 52 kleine Parzellen à 9 m² angelegt. Diese wurden in 6 Blöcken mit je 8 Parzellen in Reihe zwischen den großen Parzellen über das Feld verteilt angelegt (*randomized block design experiment*) und wie in Abb. 2.4-A dargestellt bewirtschaftet. Dieser Versuch ergab, daß das Ertragsoptimum des Lindener Grünlands von 0,9 bis 1 kg Trockenmasse pro m² (d.h. 90 – 100 dt ha⁻¹ a⁻¹) bereits bei einer Düngungsintensität von etwa 100 kg N ha⁻¹ a⁻¹ erreicht wird (GRÜNHAGE *et al.* 1996). Aus dem Bestand dieser kleinen Parzellen wurden einige für die Vorversuchs-Meßreihe herangezogen (vgl. Tab. 2.4-A).

2.1.3 Charakterisierung des Grünlandbodens

Das geologische Ausgangsmaterial für die Bodenbildung besteht im Untersuchungsgebiet hauptsächlich aus tonigen und auch sandigen Sedimenten aus dem Miozän (Tertiär), welche später von holozänen, fluviatil abgelagerten Auensedimenten überdeckt wurden. Der Boden der Lindener Versuchsfläche wird daher als Auenboden-Pseudogley aus holozänen Auensedimenten über miozänen Tonen angesprochen (FAO-Klassifikation: *stagnofluvic gleysol on loamy-sandy sediments over gley*).

Charakteristikum der Versuchsfläche ist eine in unterschiedlichen Tiefen zur Geländeoberfläche liegende, stauende Tonschicht, wodurch Sw-Horizonte entstehen. An einigen Stellen ist der stauende Einfluß lang andauernd, d.h. die Horizonte darüber zeigen einen Übergang zum Gley (Horizonte GoSw).

Eine bodenkundliche Bohrstock-Kartierung des Versuchsgeländes (48 Punkte) erfolgte im Februar 1995 durch das Ingenieurbüro "Schnittstelle Boden", Gießen. Details zu den Ergebnissen sind bei GRÜNHAGE *et al.* (1996) aufgeführt. Die Bodenparameter der Versuchsfläche sind in Tab 2.1-B sowie in Abb 2.1-B dargestellt. Die Einteilung in die Bodeneinheiten 1 bis 3 wurde ausschließlich anhand ihres unterschiedlichen Staukörperflurabstands vorgenommen ("Schnittstelle Boden", vgl. GRÜNHAGE *et al.* 1996). Anschließend wurde an jeweils einer typischen Stelle pro Bodeneinheit eine Grube ausgehoben, an der die Daten für die in Tab 2.1-B sowie Abb. 2.1-B dargestellten Ergebnisse erhoben wurden (praktische Arbeiten hierzu durchgeführt von Sibylle Janze im Frühjahr 1996).

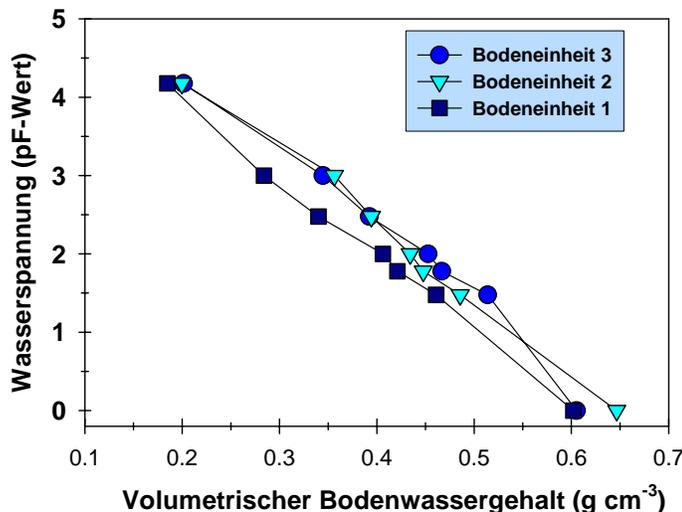
Am 8./9. April 1998 wurde eine Lagerungsdichte - Bestimmung in jedem der 6 CO₂-Ringe vorgenommen. Hierbei wurden pro Ring an 8 Stellen im 1-m-Sicherheitsstreifen sowie in der Mitte Stechzylinder-Proben aus 0 bis 5 cm Tiefe entnommen, sowie an 4 dieser Stellen und in der Mitte zusätzlich Proben aus 5 bis 10 und 10 bis 15 cm Tiefe (Stechzylinder- Volumen: 70,4 cm³). Die Oberflächen-Probe enthielt jeweils Boden aus 1 bis 5 cm Tiefe, der oberste Wurzelfilz-Zentimeter wurde verworfen. Von den Stechzylinder-Proben wurde das Frischgewicht bestimmt, die Proben bei 105°C über Nacht bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und anschließend rückgewogen. Somit

konnte die Lagerungsdichte in g Trockengewicht pro cm³ Bodenvolumen sowie der aktuelle Wassergehalt errechnet werden. Die Ergebnisse sind unter 5.1 aufgeführt.

Tabelle 2.1-B: Bodenparameter des extensiv bewirtschafteten Grünlands der Versuchsfläche Linden.

Horizont	untere Horizontgrenze (cm)	Probenschicht (cm)	Bodenart*	pH	org. C (%)	Lagerungsdichte (g cm ⁻³)	partikuläre Dichte (g cm ⁻³)	Sand (2000 – 63 µm) (%)	Schluff (63 - 2 µm) (%)	Ton (<2 µm) (%)
<i>Bodeneinheit 1: Staukörperflurabstand. > 120 cm</i>										
Ah	10	2-7	Lsu	5,90	2,96	1,04	2,61	43,25	39,00	17,75
M	32	12-17	Lsu	6,20	1,49	1,41	2,65	40,89	42,13	16,97
SwM		40-45	Lts	7,05	0,71	1,48	2,69	48,10	51,90	nb
SwM		60-65	Lts	6,85	0,49	1,66	2,68	54,04	35,25	10,70
SwM	78	70-80	Lts	7,00	0,47	nb	2,68	49,38	36,08	14,54
GoSw		90-95	Lts	6,95	0,46	1,63	2,71	37,57	41,51	20,92
GoSw	128	100-125	Lts	7,05	0,36	nb	2,74	42,40	35,32	22,28
II Sd		130-135	Ts	7,00	0,13	1,47	2,784	62,35	25,51	12,13
<i>Bodeneinheit 2: Staukörperflurabstand zwischen 75 und 100 cm</i>										
Ah	12	2-7	Lu	6,20	6,59	0,89	2,51	9,98	58,13	31,89
M	20	15-20	Lu	7,05	3,47	1,24	2,64	9,78	55,56	34,66
MSw	50	40-45	Lu	7,25	1,11	1,44	2,67	14,94	50,56	34,50
II Sw		50-70	Lts	7,10	0,64	nb	2,69	21,08	42,58	36,34
II Sw	85	80-85	Lts	6,95	0,39	1,49	2,68	32,63	30,10	37,27
IIISd1	110	100-110	TI	7,00	0,12	nb	2,69	66,58	16,87	16,55
<i>Bodeneinheit 3: Staukörperflurabstand. < 75 cm</i>										
Ah	12	2-7	Lu	6,25	6,50	1,01	2,55	59,26	20,89	19,85
MSw	42	15-20	Lu	7,05	2,61	1,29	2,62	34,52	40,50	24,98
GoSw	65	50-55	Lu	7,00	0,75	1,66	2,70	35,34	52,33	12,33
II Sd		70-75	TI	7,10	0,86	nb	2,71	33,79	46,63	19,58
II Sd	135	80-85	TI	7,00	0,34	1,59	2,73	45,52	34,21	20,28

*) Bodenart-Angabe nach Feldansprache (siehe dazu auch Sand-, Schluff- und Tonanteile); Die Probenschicht ist diejenige, aus der die Proben zur Bestimmung der angegebenen Werte in dieser Tabelle stammen (n=8). nb = Wert nicht bestimmt bzw. fehlend



Die Porengrößen-Verteilung im obersten Horizont der drei Bodeneinheiten war sehr ähnlich (Abb. 2.1-B). Nur bei Bodeneinheit 1 war der oberste Horizont bei gleicher Saugspannung etwas stärker entwässert, d.h. der Anteil an Grob- und Mittel-Poren war hier etwas höher als bei den anderen Bodeneinheiten (vgl. KAMMANN *et al.* 2000b)

Abbildung 2.1-B: pF-Kurven der Ah-Horizonte der drei Bodeneinheiten, Proben aus 0-7 cm Tiefe.

2.2 Die gaschromatographische Analytik

Angelehnt an das zuerst von MOSIER & MACK (1980) beschriebene Prinzip wurde zur Analyse der Spurengase CO₂, N₂O und CH₄ ein Gaschromatograph (HP 6890, Fa. Hewlett Packard), ausgestattet mit einem FID (*flame ionization detector*) und einem ECD (*electron capture detector*), verwendet. Die Detektorsignale wurden an einen 486DX Personal Computer geleitet und unter Verwendung eines Softwarepakets (ELAB; später PROBE65, Fa. LAL, Göttingen) ausgewertet (Peakflächen integriert und Werte gespeichert). Die Steuerung der zur Probenaufgabe und zum Analysenverlauf nötigen Ventilschaltungen erfolgte ebenfalls über die jeweilige Integrationssoftware.

Vom Frühjahr 1996 bis März 1997 wurden die Analysen mit dem in Abb. 2.2-A vorgestellten GC-Flußschema durchgeführt. Hierbei bestand noch nicht die Möglichkeit zur Analyse von CO₂, zudem wurde die Injektion der Proben in diesem Zeitraum von Hand durchgeführt. Anfang April 1997 wurde der Flußweg am Gaschromatographen (GC) umgebaut, um die Analytik auf eine Automatisierung der Probenaufgabe vorzubereiten (Flußschema Abb. 2.2-B).

Nach diesem Umbau konnte auch CO₂ über den ECD detektiert werden. Zudem entfiel die Notwendigkeit, die in den Proben vorhandene Luftfeuchtigkeit mittels Kühlschleifen vor der eigentlichen Trennung und Analyse auszufrieren. Da die Ausfriererschleife nach einer nicht-vorhersagbaren Anzahl von Proben dichtfror und während laufender Analyse rasch gegen eine andere ausgetauscht werden mußte, wäre diese Technik für eine Automatisierung gänzlich ungeeignet gewesen. Im Juli 1997 wurde eine Probenaufgabe-Automatisierungs-Einheit durch den Konstrukteur, N. Loftfield, installiert und an den betriebenen GC angeschlossen. Die Probenaufgabe erfolgte von diesem Zeitpunkt an ausschließlich mit dem Loftfield'schen System (vgl. LOFTFIELD *et al.* 1997) sowie der zugehörigen Steuerungs- und Integrationssoftware PROBE65.

2.2.1 Die GC-Probenganalytik bis März 1997

Die GC-Betriebsparameter während dieses Zeitraums sind Tabelle 2.2-A weiter unten zu entnehmen. Nach dem Einspritzen der Probe in den Probenaufgabeweg wurde das Gasgemisch zunächst durch eine gewickelte 1/16" Edelstahlleitung (Ausfriererschleife) geleitet, die in ein Dewar mit -20 bis -10°C kalter Kühlflüssigkeit eingetaucht war. Hierdurch wurde die in der Probe enthaltene Luftfeuchtigkeit ausgefroren. Danach verzweigte sich der Analyseweg in 2 getrennte Wege, einschließlich 2 getrennter Probeschleifen zur Injektion einer definierten Gasmenge auf die Trennsäulen (Abb. 2.2-A; Tab. 2.2-A). Die Schaltungen wurden über ein mit Prebluft betriebenes 10-Port- und ein 6-Port-Valco-Ventil (Fa. Valco Instruments, Schweiz) ausgeführt.

Tabelle 2.2-A: Die GC-Betriebsparameter im Überblick.

Parameter	Juni 1996 – März 1997	April 1997 – Dezember 1999
Temperatur ECD	350 °C	280 oder 290 °C
Temperatur FID	190 °C	210 °C
Ofentemperatur	200 °C	80 °C
Trärgase	FID: N ₂ (5.0) ECD: Argon-CH ₄ (95%-5%)	N ₂ (5.0), später N ₂ (ECD-Qualität)
Vorsäule ?	Zwei Hauptsäulen, keine Vorsäule	Eine Vor- und eine Hauptsäule
Trennsäulen-Typ	FID: Molekularsieb 80-100 Mesh ECD: Molekularsieb 5 Å	Vorsäule: Porapak Q (1m) Hauptsäule: Porapak Q (3,2 m)
Probenschleife(n)	Zwei; je 3 ml	Eine; 2 ml

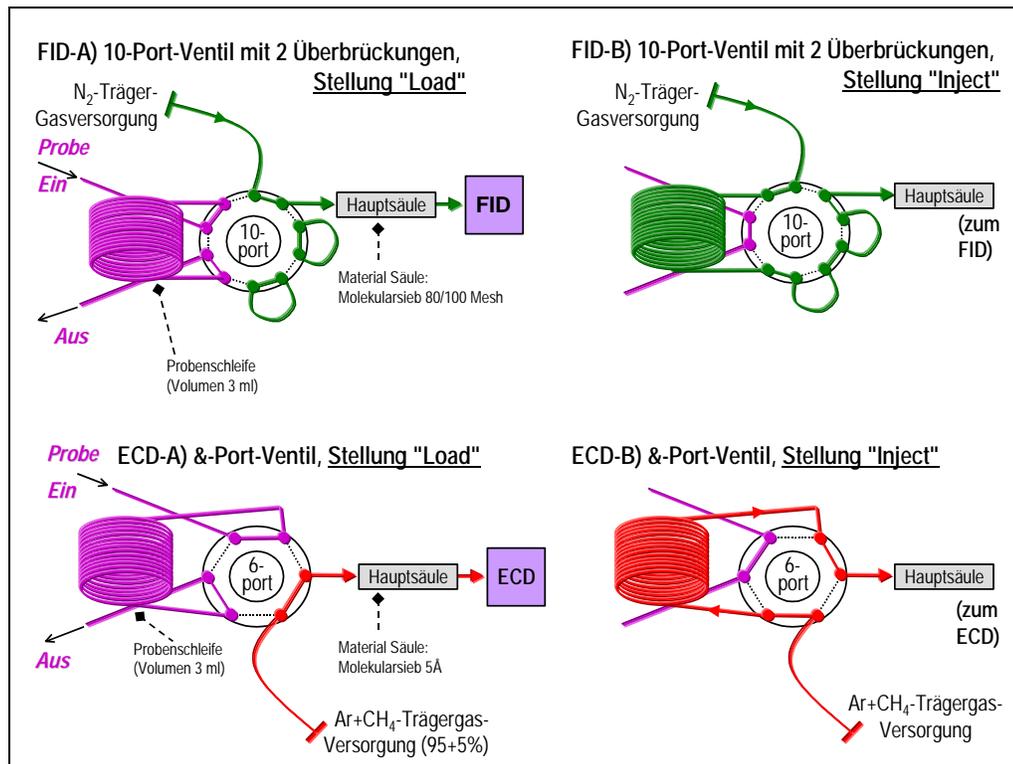


Abbildung 2.2-A: Flußschema der GC-Analytik vom Frühjahr 1996 bis März 1997. Die Proben-Wege zum FID und ECD sind voneinander getrennt. Das 10-Port-Ventil wurde wie ein 6-Port benutzt. Vor der Probenaufgabe mußte die Luftfeuchte ausgefroren werden (nicht dargestellt).

2.2.2 Die GC-Probenanalytik von April 1997 bis heute

Die GC-Betriebsparameter sind wiederum Tabelle 2.2-A zu entnehmen. Seit dem Umbau bestehen nicht mehr zwei getrennte Gaswege für die Analyse von CH₄ und N₂O, sondern das Gasmisch wurde über *eine* Probenschleife auf eine Vorsäule aufgegeben. Hier trennen sich die "schnellen" (z.B. O₂, CH₄, CO₂ und N₂O) von den

"langsameren" Komponenten wie H₂O. Nachdem die "schnellen" Komponenten bereits in die Hauptsäule gelangt sind, wird die Vorsäule durch Ventilschaltung rückwärts durchspült und die "langsameren" Komponenten dadurch verworfen (Abb. 2.2-B). Dadurch entfällt die Notwendigkeit des Ausfrierens von Luftfeuchte. Nachdem die ersten beiden "schnellen" Komponenten den FID passiert haben (O₂ und CH₄), erfolgt über das zweite Valco-Ventil eine Umlenkung des Hauptsäulen-Ausgangs auf den ECD, so daß die noch folgenden Komponenten CO₂ und N₂O detektiert werden können. Dadurch, daß im Gegensatz zum vorherigen Flußschema (Abb. 2.2-A) O₂ auf den FID geleitet wird, erscheint (bei etwas niedrigerer Betriebstemperatur des ECD, siehe Tabelle 2.2-A) auch der CO₂-Peak vor dem N₂O-Peak, der vorher im "O₂-Nachrauschen" des ECD-Signals unterging.

Dieses Schalt-Prinzip mit Vor- und Hauptsäule wird von MOSIER & MACK (1980, für CH₄ und N₂O) sowie von LOFTFIELD *et al.* (1997, für CH₄, N₂O und CO₂) beschrieben. Ab August 1997 wurde die von LOFTFIELD *et al.* (1997) für den Gebrauch von Gasproben in Glasflaschen beschriebene automatische Probenaufgabeeinheit verwendet, in einer an den Spritzengebrauch (s.u.) angepaßten Modifikation durch N. Loftfield.

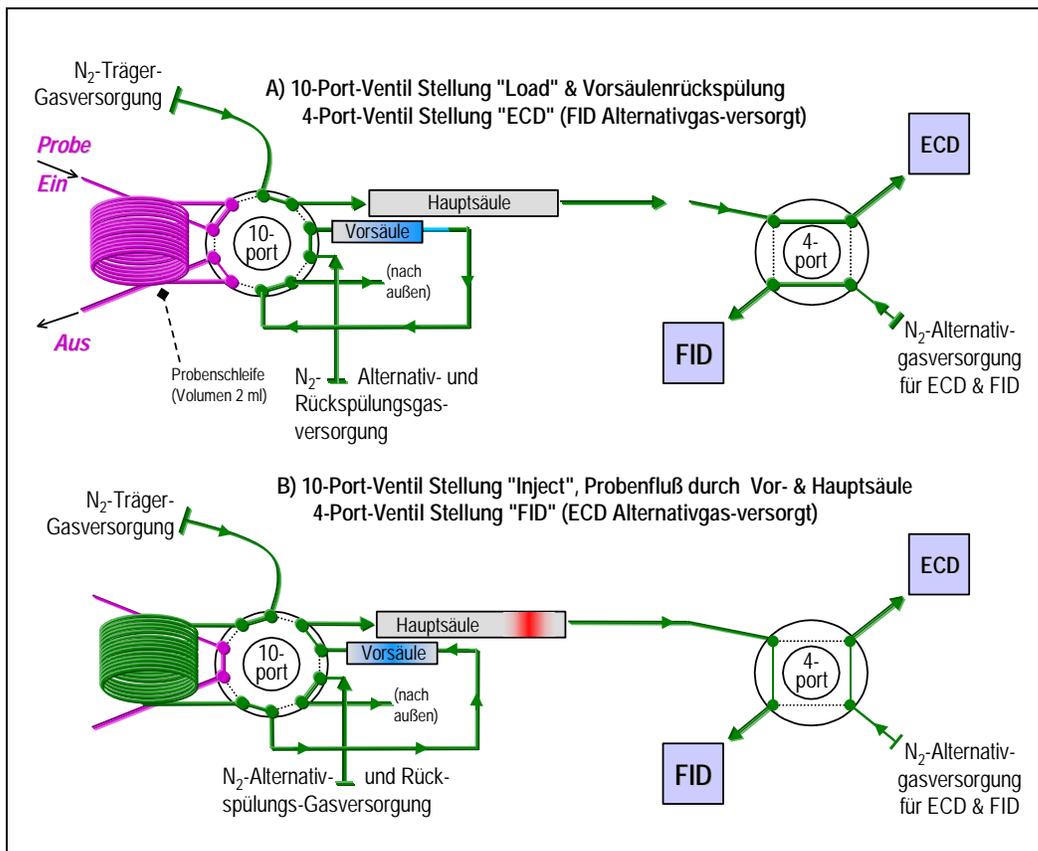


Abbildung 2.2-B: Flußschema der GC-Analytik ab April 1997. Die Vorsäulenrückspülung in der Stellung **B** sorgt für Ausschluß langsamerer Komponenten wie H₂O. Wegen starker Abnutzung wurde das bis Herbst 1998 verwendete überbrückte 6-Port- schließlich gegen ein neues 4-Port-Ventil ausgetauscht.

2.2.3 *Fehlende Daten durch Analytik-Probleme*

Ab Anfang Oktober 1997 lieferte der GC aus zunächst unerkannter Ursache plötzlich inverse CO₂-Peaks (d.h. CO₂- "Täler" statt Peaks) sowie wesentlich kleinere N₂O-Peaks, die sich als vom CO₂-Wert beeinflusst herausstellten (steigende CO₂-Werte verursachten sinkende N₂O-Werte bei gleichbleibender N₂O-Konzentration).

Als Hauptursache stellte sich ein verschmutztes N₂-Trägergas (5.0 Stickstoff) heraus: Da die Gasflaschen nach telefonischer Auskunft des Siegener Messer-Griesheim-Werks mitunter mit organischen Lösungsmitteln wie z.B. Trichlorethylen gereinigt werden oder die Druckminderer (durch Kunden) gefettet werden, kann bisweilen der hochreine (bis dato von uns verwendete) 5.0 Stickstoff mit diesen Substanzen kontaminiert sein. Der ECD reagiert generell auf derartige Verschmutzungen sehr empfindlich, und da diese das Trägergas betraf, wurde die Kontamination immer wieder aufs neue nach einer thermischen Reinigung ins System eingetragen. Seit dieser Erfahrung wurde ausschließlich N₂ in ECD-Qualität verwendet (d.h. der von der Fa. Messer-Griesheim angebotene 5.0 Stickstoff befindet sich in besonders sorgsam behandelten Spezialflaschen, die auf organische Verunreinigungen geprüft und als "sauber" zertifiziert sind). Die Fehlersuche bei diesem erst spät erkannten Problem verursachte eine Datenlücke von November 1997 bis Ende Februar 1998.

2.3 **Die *closed-chamber*-Methode zur Messung von Spurengasflüssen**

2.3.1 *Die verwendeten Gas auffang-Hauben*

Die Flüsse der Spurengase CH₄, N₂O und später auch CO₂ wurden mit geschlossenen runden Hauben aus semitransparentem Polyethylen (PE)-Material gemessen (*closed-chamber*-Technik, HUTCHINSON & LIVINGSTON 1993). Jede Haube (100 cm Innendurchmesser, 50 cm Höhe) war mit einem batteriebetriebenen Ventilator, einer Probenentnahmestelle, einer Öffnung zur Insertion eines Stopfens mit Thermometer und einem Stangenriff zum Transport ausgestattet (Abb. 2.3-A). Aufgesetzt wurde die Haube auf einen runden, 15 cm tief im Boden verankerten Rahmen, der oberirdisch mit einer U-förmigen, wassergefüllten Schiene zur Abdichtung zwischen Haubenvolumen und Bodenoberfläche versehen war (Abb. 2.3-A). Die Rahmen wurden mindestens 6 Wochen vor Meßbeginn im Boden installiert, um auf die Störung zurückgehende Meßergebnisse zu vermeiden (wie von NORMAN *et al.* 1997 oder KELLER *et al.* 2000 untersucht und beschrieben).

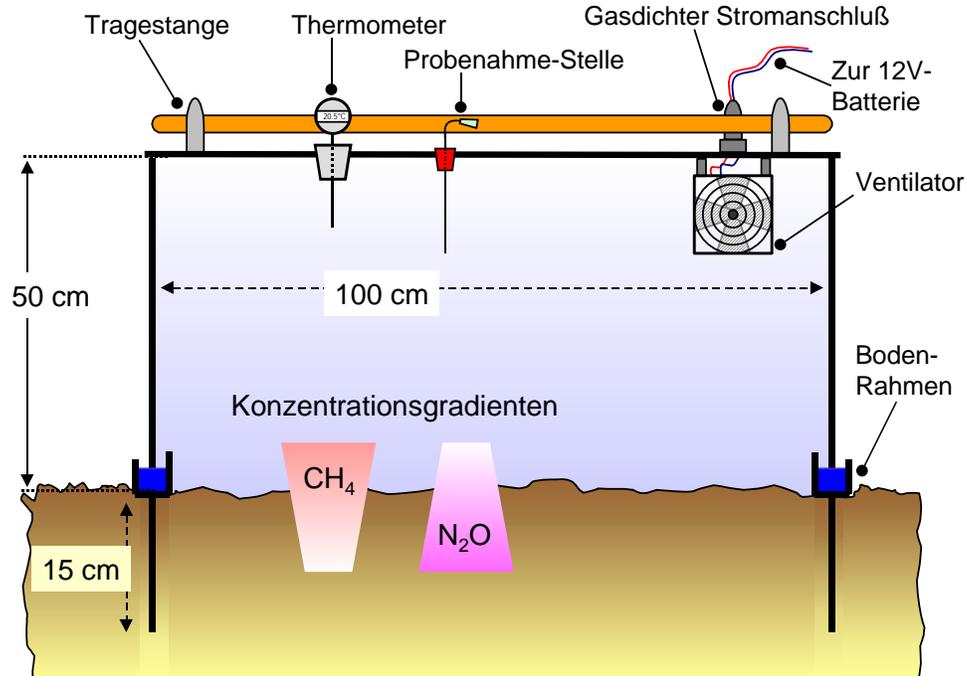


Abbildung 2.3-A: Schematischer Querschnitt durch eine Gas auffang-Haube mit Bodenrahmen. Die Innenwandung der U-förmigen Wasserschleife des Bodenrahmens ist höher als die Außenwandung, so daß überlaufendes Wasser (z.B. nach hohen Niederschlägen) niemals auf die Innenfläche laufen kann.

2.3.2 Maßnahmen zur Qualitätssicherung der closed-chamber-Messungen

1. Vor jeder Messung, wurden die Rinnen der Bodenrahmen auf einen ausreichenden Wasserstand hin kontrolliert und ggf. nachgefüllt. Abhängig von der Jahreszeit wurden die Rinnen alle 1 bis 5 Monate gänzlich vom veralgten Wasser (mit diversen Zersetzungsrückständen von Regenwürmern, Insekten, Pflanzenmaterial und Erde) mit Hilfe eines Wasserstaubsaugers gereinigt. Tests im Sommer 1998, bei denen "Brühe" aus diversen Rinnen entnommen und in verschließbaren Glasgefäßen bei gleichbleibender Temperatur (22 °C) für mehrere Stunden inkubiert worden war, ergaben keinerlei N₂O- und CH₄-Produktion.
2. Das Thermometer wurde erst *nach* dem Aufsetzen der Haube eingesetzt (Abb. 2.3-A). So konnte zuvor durch die Öffnung überschüssige Luft entweichen, die andernfalls beim Absenken der Haube in die Wasserrinne komprimiert worden wäre und einen "Druckstoß" in den Boden verursacht hätte (Störung des Konzentrationsgradienten im Bodenporensystem).
3. Im Sommer, insbesondere vor der ersten Ernte, kippten bisweilen Teile des hohen Grasbestands von außerhalb oder innerhalb der Meßfläche über die Wasserrinne des Bodenrahmens. Dies bedeutete a) eine (Zer-)Störung der betreffenden Pflanzen durch das Hauben-Aufsetzen, b) die Gefahr, daß die Abdichtung der Haube gegen die Bodenfläche nicht gegeben war und c) wurde das Wasser durch die Kapillarkräfte zwischen den Halmen aus den Rinnen zur Pflanzenbasis gezogen, was die

Versuchsfläche durch ungewollte Bewässerung gestört hätte und sehr häufiges Nachfüllen nötig gemacht hätte.

Daher wurden kleine Zäune mit knapp 100 cm Durchmesser aus 30 bis 40 cm hohem, engmaschigem Maschendrahtzaun gefertigt, mit denen der Pflanzenbestand innerhalb des Bodenrahmens umfaßt wurde, so daß dieser nicht mehr in die Rinnen fallen konnte. Dieser Zaun wurde installiert, sobald der Bestand die kritische Höhe erreichte. Der Pflanzenbestand innerhalb der Bodenrahmen wurde niemals außerhalb der Ernten abgeschnitten. Wenn sich jedoch der *außerhalb* der Bodenrahmen stehende Pflanzenbestand nicht mehr "bändigen" ließ und zu häufig in die Rinnen kippte, wurde er etwa 10 cm breit ringsum den Bodenrahmen abgeschnitten.

4. Um im Winter bei Temperaturen unter Null Grad Messungen durchführen zu können, wurde das Ringwasser einige Stunden zuvor mit Streusalz versetzt und auf diese Weise aufgetaut. Dabei wurde stets darauf geachtet, daß keinerlei überhängende Gräser aus dem Ring-Inneren oder von außerhalb der Rinne in das Salzwasser hingen. Dieses wäre andernfalls über Kapillarkräfte zur Pflanzenbasis gewandert und hätte so die Versuchsflächen gestört.

2.3.3 Berechnung der Spurengas-Flußraten

Bei einer Messung mit 3 Probenahmen wurde stets eine lineare Regression (1.Ordnung) zur Berechnung der pro Zeiteinheit aufgenommenen oder abgegebenen Spurengasmenge (ppb oder ppm) verwendet, da die Kammerbedeckung meist hinreichend kurz war (40 – 60 min.).

Lineare Regression:

$$f(t) = b[1] * t + b[0], \text{ Konzentrationsänderung pro Zeit: } f'(t) = b[1] \quad \text{Gl. 2-I}$$

In der Hauptversuchsreihe hingegen betrug die Bedeckungszeit bei 4 Probenahmen aus arbeitstechnischen Gründen i.d.R. 90 Minuten. Hierbei war bei hohen Emissions- oder Konsumptionsraten oft ein Abknicken des linearen Konzentrationsanstiegs zu beobachten, so daß von einem *Feedback* des sich verringern den Konzentrationsgradienten zwischen Bodenluft und Haubenatmosphäre ausgegangen werden muß (HUTCHINSON & MOSIER 1981). Da die Zeitabstände zwischen 2 Probenahmen nicht immer absolut gleich waren ("Handarbeit") und zudem 4 statt 3 Proben genommen wurden (Verbesserung der Meßgenauigkeit), konnte die von den Autoren vorgeschlagene Berechnungsweise hier nicht verwendet werden. Statt dessen wurde dem *Feedback*-Mechanismus Rechnung getragen, indem bei "abknickendem" Konzentrationsverlauf (vgl. Abb. 2.3-B) die Steigung der linearen Regression zweiter Ordnung im Punkt $t=0$ min zur Berechnung des Konzentrationsanstiegs pro Zeiteinheit verwendet wurde (d.h. die Steigung zu Beginn, als das *Feedback* noch keine Rolle spielte). Die

Verwendung der linearen Regression 2. Ordnung erfolgte nach einem selbst definierten Algorithmus (s.u.), um für die Auswertung immer gleichbleibende Kriterien zu schaffen sowie "nonsense"-Berechnungen auszuschließen. Die Koeffizienten hierfür wurden mit dem Graphikprogramm SigmaPlot (SPSS Inc.) ermittelt, da sich mit Excel nur Koeffizienten für eine lineare Regression erster Ordnung errechnen lassen.

Lineare Regression (2. Ordnung):

$$f(t) = b[2] * t^2 + b[1] * t + b[0] \quad \text{Gl. 2-II}$$

$$\frac{dGas}{dt} (\text{ppm bzw. ppb h}^{-1}) \text{ bei } t = 0 \text{ min.} : \quad f'(t = 0) = b[1] \quad \text{Gl. 2-III}$$

Der Algorithmus bestand aus einer Reihe von ineinander geschachtelten *Wenn-dann*-Funktionen des Programms Excel'97 (Microsoft), wobei folgende Bedingungen zur Zulassung einer *second-order*-Berechnung in dieser Reihenfolge überprüft wurden:

- 1) Wenn die Krümmung der linearen Regression 2. Ordnung (= b[2]) >0, d.h. positiv ist, verwende die lineare Regression 1. Ordnung
- 2) Wenn der Korrelationskoeffizient (R²) der linearen Regression 2. Ordnung kleiner als derjenige der linearen Regression erster Ordnung ist, verwende die lineare Regression 1. Ordnung
- 3) Wenn der Konzentrationsanstieg in der Haube pro Stunde unterhalb eines definierten Mindestwerts bleibt (Berechnet nach der linearen Regression erster Ordnung), verwende die lineare Regression 1. Ordnung [Mindestwerte: *dc* CO₂ = 200 ppm h⁻¹; *dc* N₂O = 50 ppb h⁻¹; *dc* CH₄ = -40 ppb h⁻¹: negativ = CH₄-Oxidation]
- 4) Wenn der Korrelationskoeffizient (R²) der linearen Regression erster Ordnung kleiner als 0,799 ist, verwende die lineare Regression 1. Ordnung
- 5) Erst wenn all diese Kriterien *nicht* zutreffen, verwende die lineare Regression 2. Ordnung (und hier die Steigung im Punkt t = 0 min.)

Hierdurch wurden folgende Fälle ausgeschlossen:

- 1) Bei weitgehend linearen Konzentrationsanstiegen mittlerer Größenordnung konnte ein *second-order-curve-fit* bei etwas besserem R² zufällig eine positive Krümmung aufweisen, der kein physikalischer Prozeß zugrunde liegen konnte.
- 2) Bei besserem *fit* wurde die bessere Anpassung verwendet.
- 3) Bei nur sehr geringem oder gar keinem Konzentrationsanstieg (N₂O und CH₄) konnten GC-Meßungenauigkeiten bisweilen seltsame Kurven-Anpassungen 2. Ordnung bewirken, die ausgeschlossen werden mußten.
- 4) Dieser Fall trat ebenfalls v.a. bei minimalen Spurengas-Flüssen auf. Bei knapp oberhalb der Nachweisgrenze schwankenden Werten stellt die lineare Regression die beste "Mittelung" des Anstiegs über die Zeit bzw. Anpassung dar.

Durch die gesetzten Kriterien wurden nur hohe Spurengasflüsse, die deutlich den abknickenden Anstiegs- oder Abnahme-Verlauf erkennen ließen (vgl. Beispiel Abb. 2.3-B), nach der linearen Regression 2. Ordnung berechnet. Ohne diese Art der Berechnung wären hohe Flußraten permanent unterschätzt worden. Abbildung 2.3-B zeigt weiterhin, wie mit steigenden Flußraten von N₂O- und CO₂-Abgabe und CH₄-Verzehr die Krümmungen der Kurven zunehmen.

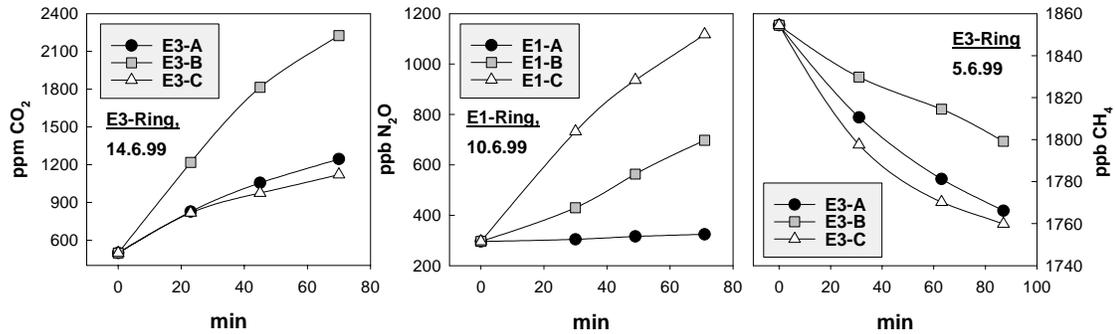


Abbildung 2.3-B: Mit steigender Flußrate steigt die Krümmung der Anstiegskurven. Links: Anstieg der CO₂-Konzentration in Kammer B: Berechnung 1. Ordnung 24,8 ppm min⁻¹ (R² = 0,980), Berechnung 2. Ordnung 36,3 ppm min⁻¹ (R² = 0,999). Mitte: Anstieg der N₂O-Konzentration in Kammer C: mit Berechnung 1. Ordnung 11,6 ppb min⁻¹ (R² = 0,982), mit Berechnung 2. Ordnung 16,6 ppb min⁻¹ (R² = 0,999). Rechts: Verringerung der CH₄-Konzentration in Kammer C: mit Berechnung 1. Ordnung -1,08 ppb min⁻¹ (R² = 0,925), mit Berechnung 2. Ordnung -2,13 ppb min⁻¹ (R² = 0,998).

Berechnung der Spurengasflüsse (in mg oder µg C oder N m⁻² h⁻¹):

$$Spurengas - Fluß = \frac{dGas}{dt} * 10^x * \frac{V_{Kammer} * p * 100 * MG}{R * T} * 10^y * \frac{1}{A} \quad \text{Gl. 2.6-4}$$

- mit: $\frac{dGas}{dt}$ Rate Konzentrationsanstieg bzw. -abfall [ppm h⁻¹ oder ppb h⁻¹]
 10^x Umrechnung ppm: ml/m³ = 10⁻⁶ m³/m³; ppb: µl/m³ = 10⁻⁹ m³/m³
 V_{Kammer} Kammervolumen [m³]
 p aktueller Luftdruck [hPa] (1 Pa = 1 N m⁻²)
 MG Molekulargewicht [g mol⁻¹]
 R allgemeine Gaskonstante = 8,314 J mol⁻¹ K⁻¹ (1 J = 1 N m)
 T Temperatur in Kelvin [K]
 10^y Umrechnung g in mg (10³) oder g in µg (10⁶)
 A von der Kammer überdeckte Bodenfläche [m²]

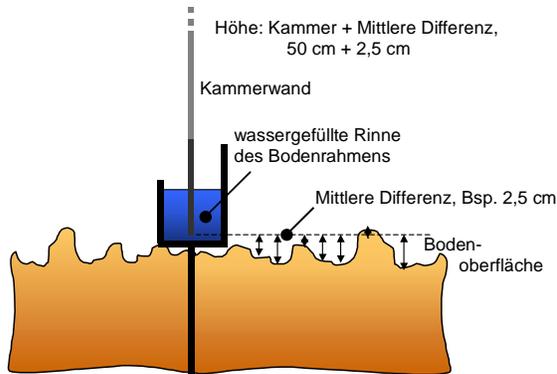


Abbildung 2.3-C: Die 10 x pro Kammerfläche gemessene Differenz wurde zur Hauben-Höhe hinzu addiert.

Das Kammervolumen wurde für jede einzelne Haube (an ihrer Meßstelle, Bsp. E1-A, oder Plot 2.4-A) berechnet. Da der Boden nie ganz eben ist, wurde in jeder Kammerfläche einmal jährlich der Abstand zwischen Rinnenboden und der Bodenoberfläche gemessen und zur Haubenhöhe hinzu addiert (Abb. 2.3-C). Daher ergibt sich bei der Berechnung ein leicht unterschiedliches Kammervolumen für jede Meßstelle.

2.3.4 Die Probenahme während der Kammerbedeckung

Die Probenahmen erfolgten generell mit 60 ml PE-Spritzen mit 3-Wege-Hahn (Plastipak, Becton Dickinson®) über die Probeentnahme-Stellen in den Hauben (Luer-Lock-Prinzip für den gasdichten Anschluß). Zur Anzahl der entnommenen Proben pro Kammerbedeckungszeit in der Vor- und Hauptversuchsreihe siehe Tab. 2.4-C. Die Proben wurden i.d.R. innerhalb von 24 Stunden nach Probenahme analysiert, in Ausnahmefällen spätestens innerhalb von 48 Stunden. Mußten sie 2 Tage gelagert werden, wurden die Standard-Eichgase ebenfalls auf PE-Spritzen abgefüllt und die Eichkurven aus diesen Werten berechnet.

2.4 Vor- und Hauptversuchsreihe: Durchführung und Zusatzversuche

Eine Übersicht über Parameter, Termine und Zusatzuntersuchungen gibt Tab. 2.4-A. weiter unten, Details werden in den folgenden Unterpunkten beschrieben.

2.4.1 Die Vorversuchs-Meßreihe

Die Auswahl der Vorversuchs-Parzellen aus dem *randomized-block-design*-Experiment erfolgte dergestalt, daß die feuchteste und trockenste mit $40 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ gedüngte Fläche (entsprechend der Düngung im späteren FACE-Experiment) mit einbezogen waren und weiterhin verschiedene Schnitffrequenzen unter der gleichen N-Düngung und Bodenfeuchte verglichen werden konnten (vgl. Abb. 2.4-A; Tab. 2.4-A). Für die unterschiedlichen N-Dünger-Gaben wurden Parzellen des "feuchtesten" Blocks 4 des *randomized-block-design*-Experiments ausgewählt, mit Ausnahme der ungedüngten Parzelle. Diese war, wie sich von Mai bis August 1996 herausstellte, im Block 4 weniger feucht als die ungedüngte Parzelle im ebenfalls "feuchteren" Block 2, daher wurden in die Parzelle 1.2 Bodenrahmen zur Messung inseriert. Einzelheiten zu den verschiedenen Behandlungen sind in Tab. 2.4-A angegeben.

Tabelle 2.4-A: Dünge- und Schnitt-Behandlung sowie hydrologische Parameter (in Klammern: Anzahl der N-Applikations-Dosen für die angegebene Gesamtdosis pro Jahr)

Behandlungs-Parzelle	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^b	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^c
Dünger-N (kg ha ⁻¹ a ⁻¹)	0	40 (1)	40 (1)	80 (2)	80 (2)	120 (2)	240 (3)	400 (3)	80 (2)
Schnitte pro Jahr	2	2	2	2	3	3	4	4	6
Bodeneinheit (vgl. 2.1.3)	3	1	3	3	3	3	2	3	3
Grundwasserstand ^d	<70	>120	<70	<70	<70	<70	75-100	<70	<70
Bodenfeuchte (Vol.%) ^e	34.8	28.1	53.9	43.8	44.6	43.4	32.1	41.1	(44.6)
Bodenluftsonden ? ^f	nein	ja	ja	nein	ja	ja	ja	ja	nein

Beginn kontinuierlicher Messungen: ^a 1.8.1996; ^b 1.10.1996; ^c 7.5.1997; ^d Mittelwert während des Sommers; ^e Mittelwert der Zeitperiode vom 10.2.1997 to 31.10.1997; ^f Die Sonden wurden in je 5, 15 und 30 cm Tiefe nach Beendigung der Flußmessungen Mitte Juli 1998 eingesetzt. In die feuchteste 40-kg-N Fläche wurde zusätzlich eine Sonde in 50 cm Tiefe eingesetzt.

Die Bodenwasser-Messungen mit den TDR-Sensoren (siehe 2.4) wurden am 1996 zuerst auf den beiden 40 kg N ha⁻¹ a⁻¹-Flächen aufgenommen. Mit dem Erwerb weiterer Sensoren kamen innerhalb der folgenden Monate weitere kleine Flächen hinzu (zum besseren Vergleich wurden daher aus dem in Tab. 2.4-A angegebenen Zeitraum Mittelwerte gebildet). Bodentemperatur-Messungen (in 5, 10 und 20 cm Tiefe) wurden am 20.06.1996 in den beiden mit 40 kg N ha⁻¹ a⁻¹ gedüngten Flächen aufgenommen. Die gelieferten Temperatur-Werte erfassen somit die kälteste (feuchteste) und die wärmste (trockenste) Fläche dieser Versuchsreihe. Für die Parzellen aus dem "feuchtesten" Block 4 (Parzellen 3-9 in Tab. 2.4-A) gilt der Grundwasserstand von Pegel 6, für die trockene Parzelle (2.4) gilt der Pegel 1 (vergleiche auch Abb. 2.4-A).

Die Bodenluftsonden wurden nach Beendigung der Flußmessungen eingebaut. Da diese Methode erst im Laufe der vorliegenden Arbeit neu entwickelt wurde, waren die Flußmessungen der Vorversuchsphase bereits abgeschlossen, als die Sonden betriebsbereit waren (wenige simultane Messungen mit den Hauben und den Sonden). Zu der Bodenluft-Sonden-Methodik sowie der Einbau-Technik siehe Anhang 2.

2.4.2 Die Hauptversuchs-Meßreihe

Die Hauptversuchs-Meßreihe galt der zentralen Frage der vorliegenden Arbeit, den Auswirkungen steigender atmosphärischer CO₂-Konzentrationen auf die Flüsse der Klimaspurengase CH₄ und N₂O im Lindener Grünland. Die Lage der CO₂-Anreicherungs-Ringe auf dem Versuchsfeld, vom Sommer 1997 bis zum Frühjahr 1998 auf den 100 m² - Parzellen installiert, sowie die Lage der Flächen des *randomized-block-design*-Experiments und der Wasserstandspegel-Meßstellen sind in Abb. 2.4-A dargestellt. Die 100 m²-Parzellen wurden von 1993 bis 1995 mit 80 kg N ha⁻¹ a⁻¹ gedüngt, ab 1996 wurde die Düngungsintensität auf 40 kg N ha⁻¹ a⁻¹ reduziert.

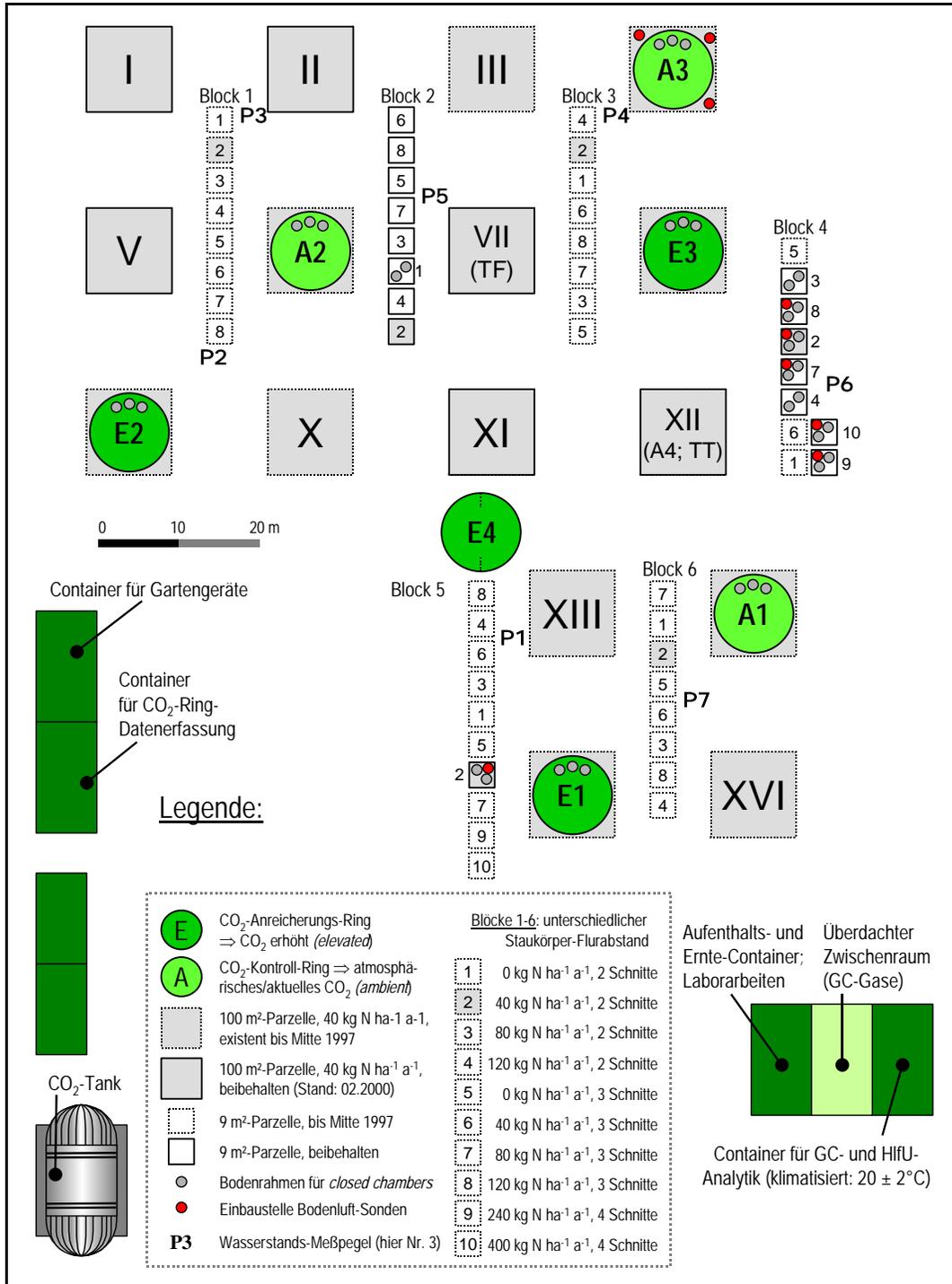


Abbildung 2.4-A: Schematische Darstellung der Versuchsfläche Linden vor und nach Beginn des Gießener CO₂-Anreicherungs-Experiments (*Gießen-FACE*).

Gepunktete Quadrate: Derzeit nicht mehr existente Flächen: 1993 angelegte 100 m²-Parzellen, sowie 9 m²-Parzellen des *randomized-block-design* Experiments. Für das CO₂-Experiment wurden 1997 einige der 100 m²-Parzellen ausgewählt: Grüne Ringe in gepunkteten Quadraten.

Mindestens 3 der 4 "Ecken" des ehemaligen Quadrats (mit 3 m Kantenlänge) wurden unter gleichbleibender Behandlung beibehalten (40 kg N ha⁻¹ a⁻¹, 2 Schnitte a⁻¹).

Kleine Quadrate mit Meßstellen (seit Frühjahr 1996): Aus dem *randomized-block-design*-Experiment ausgewählte Vorversuchsflächen.

Die Freiland-CO₂-Anreicherungs-Ringe

Es wurden insgesamt 3 Ringe zur CO₂-Anreicherung installiert (im folgenden mit "E" wie "*elevated*" oder "erhöhtes CO₂" bezeichnet) und 3 Kontrollringe ohne CO₂-Anreicherung (mit "A" wie "*ambient*" oder "aktuelles CO₂" bezeichnet). Ein weiterer CO₂-Anreicherungs-Ring (E4) wurde auf einer zuvor unbehandelten Fläche des Versuchsfelds aufgestellt. Auch diese Innenfläche wurde von 1998 an mit 40 kg N ha⁻¹ a⁻¹ gedüngt. Der E4 diente zur Hälfte Versuchen der Arbeitsgruppe Dr. Fangmeier mit Kulturpflanzen in Töpfen (Kartoffeln, EU-Projekt CHIP = *Changing Climate and Potential Impacts on Potato Yield and Quality*), zur anderen Hälfte stand diese Fläche für die destruktive Entnahme von Bodenproben zur Verfügung.



Abbildung 2.4-B: Blick über einen Teil der Versuchsfläche mit CO₂-Anreicherungsringen. Im Vordergrund: Ring E1, dahinter links E4 und in größerer Entfernung E3 und A3.

An der Nordseite (=südexponiert) des E1 befinden sich drei Bodenrahmen für die Spurengas-Flußmessungen. Auf den mittleren ist eine Gas auffang-Haube aufgesetzt (Durchmesser 1 m, Höhe 0,5 m). Hinter den Meßstellen befindet sich eine Gitterkonstruktion zur Vermeidung von Bodenverdichtung durch Tritt.

Rechts und links des E1: "Ecken" der ehemaligen 100 m²-Parzelle, gleich behandelt (Düngung, Schnitt) wie die innere Ringfläche. Von diesen Flächen wurden kleine Bodensäulen als Ersatz für Bodenproben aus den Ringflächen entnommen.

Jede Ringfläche wurde von außen nach innen wie folgt angelegt (Abb. 2.4-C): Innerhalb der Ringkonstruktion liegt nach dem 1 m breiten "Sicherheitsstreifen" die eigentliche Untersuchungsfläche. Diese gliedert sich in eine Nord- und eine Südhälfte, zwischen denen sich ebenfalls ein 1 m breiter Abstandstreifen befindet. In der Mitte eines Rings wurde eine Meßstelle zur Ansaugung der CO₂-angereicherten (oder normalen) Außenluft in 0,6 m Höhe eingerichtet. Die Innenfläche enthält insgesamt 25 Parzellen zur Ernte der oberirdischen Biomasse. Je neun dieser Parzellen mit jeweils 0,36 m² werden durch zwei Gitterflächen in der Nord- und Südhälfte (hergestellt aus gestrichenen Stahl-Armierungsmatten aus dem Betonbau) gekennzeichnet. In der Nordhälfte befinden sich

zusätzlich die drei Bodenrahmen der *closed chambers*, in der Südhälfte vier weitere separate Gitter (Abb. 2.4-C). Die fest installierten Ernteparzellen ermöglichen eine wiederholte Beprobung der exakt gleichen Stelle in jedem Ring. In jedem der sechs CO₂-Ringe befinden sich weiterhin vier TDR-Sensoren (Typ P2G, Fa. Imko) zur Messung des volumetrischen Bodenwassergehalts sowie vier Temperaturfühler, zwei in 5 cm Tiefe und je einer in 10 und in 20 cm Tiefe (Pt 100, Fa. Imko).

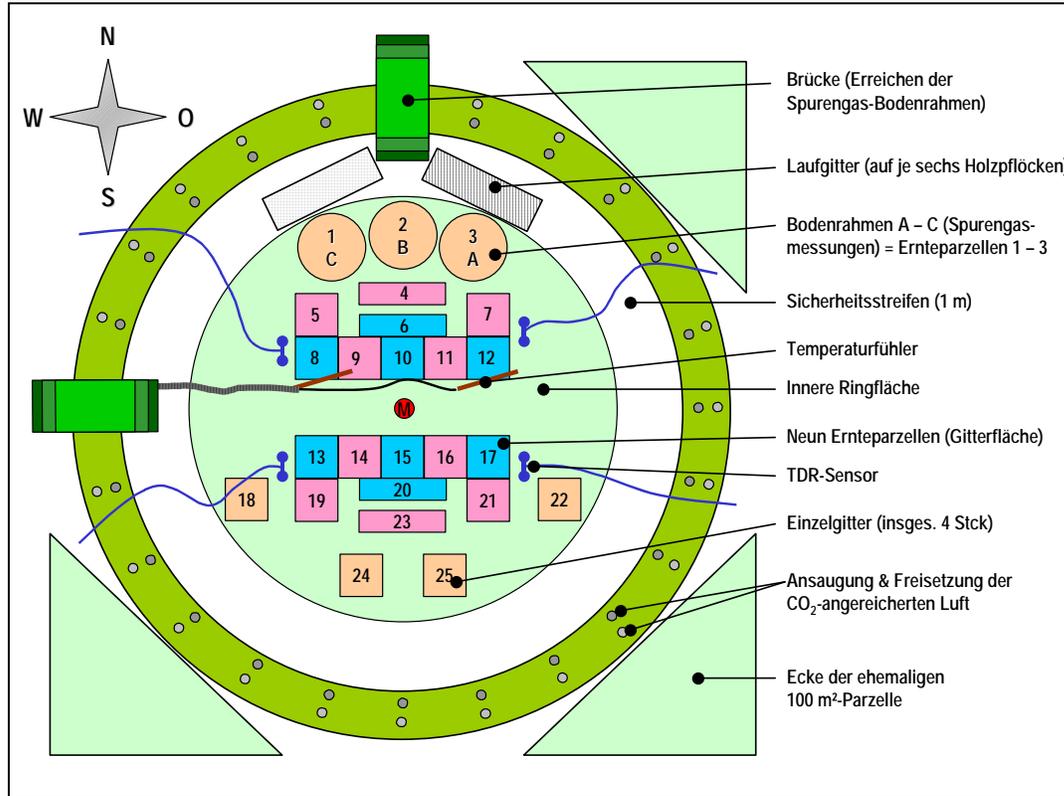


Abbildung 2.4-C: Schematische Darstellung des Aufbaus eines CO₂-Rings (A oder E). Ernteparzellen: Nr. 1 bis 25; Nr. 1 bis 3 sind zugleich die Bodenrahmen der Spurengas-Meßstellen. Die Laufgitter dienen der Vermeidung von Bodenverdichtung durch Tritt. Roter Kreis (M) in der Mitte: Ansaugung der Luft zur Kontrolle des CO₂-Gehalts. Bodentemperaturfühler in 5 cm Tiefe; unter dem linken sind weitere Temperaturfühler in 10 und 20 cm Tiefe installiert.

Das Funktionsprinzip der aus je 24 Untereinheiten bestehenden CO₂-Ringe ("Plumex-Ringe") mit je 8 m Innendurchmesser wird vom Konstrukteur der CO₂-Anreicherungsringe, Herrn Dipl.-Ing. Schmidt, in seiner Dissertation beschrieben (in Vorbereitung).

Die dem Wind zugewandte Luv-Hälfte eines CO₂-Anreicherungs-Rings setzt über die längeren Röhren (Abb. 2.4-B) CO₂ frei, während ein Teil der über die Fläche driftenden "CO₂-Fahne" von den kurzen Röhren der Lee-seitigen Ringhälfte angesaugt und erneut ins Ringsystem eingemischt wird. Auf diese Weise wird der CO₂-Verbrauch gemindert. Jede Freisetzungs- oder Ansaug-Röhre besitzt Ventile, die von einem zentralen Steuerungssystem in Abhängigkeit von der Windrichtung und -Geschwindigkeit geöffnet oder geschlossen werden.

Tabelle 2.4-B: Monatl. CO₂-Anreicherungs-Dauer während der Tageslichtstunden (vgl. Abb. 2.4-D)

Monat	von (Angaben in MEZ)	bis	Anreicherungs- dauer (in Stunden)
Januar	11:01	14:00	3
Februar	10:01	15:00	5
März	09:01	16:00	7
April	08:01	17:00	9
Mai	07:01	18:00	11
Juni	06:01	19:00	13
Juli	06:01	19:00	13
August	07:01	18:00	11
September	08:01	17:00	9
Oktober	09:01	16:00	7
November	11:01	14:00	3
Dezember	12:01	13:00	1

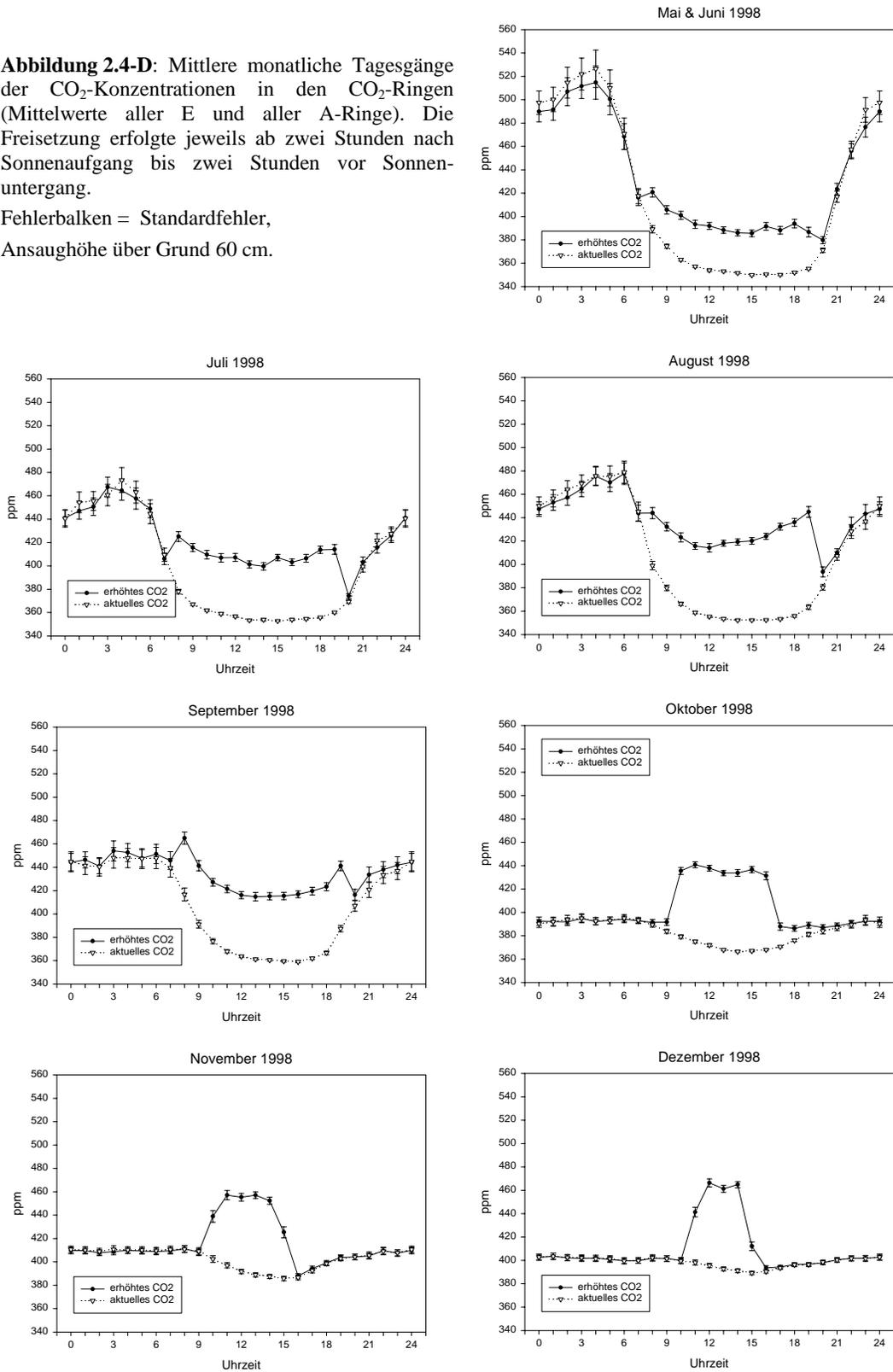
Des weiteren besitzt jede Ring-Untereinheit ein CO₂-Dosierventil, mit dem in Abhängigkeit von dem erzielten CO₂-Wert in der Flächenmitte (Meßstelle in 60 cm Höhe) der auszublasenden Luft CO₂ zudosiert wird. Bei steigendem CO₂-Bedarf steigt die Öffnungsfrequenz des CO₂-Dosierventils. Die CO₂-Konzentration in den Ringen E1 bis E3 wurde seit Beginn der CO₂-Anreicherung im Mai/Juni 1998 um 20 bis 25% erhöht (Abb. 2.4-D), im Ring E4 (für das CHIP-Projekt) wurde sie um etwa 50% erhöht. Die CO₂-Anreicherung erfolgt in den Tageslichtstunden, jeweils zwei Stunden nach Sonnenaufgang bis zwei Stunden vor Sonnenuntergang, vgl. Tab. 2.4-B.

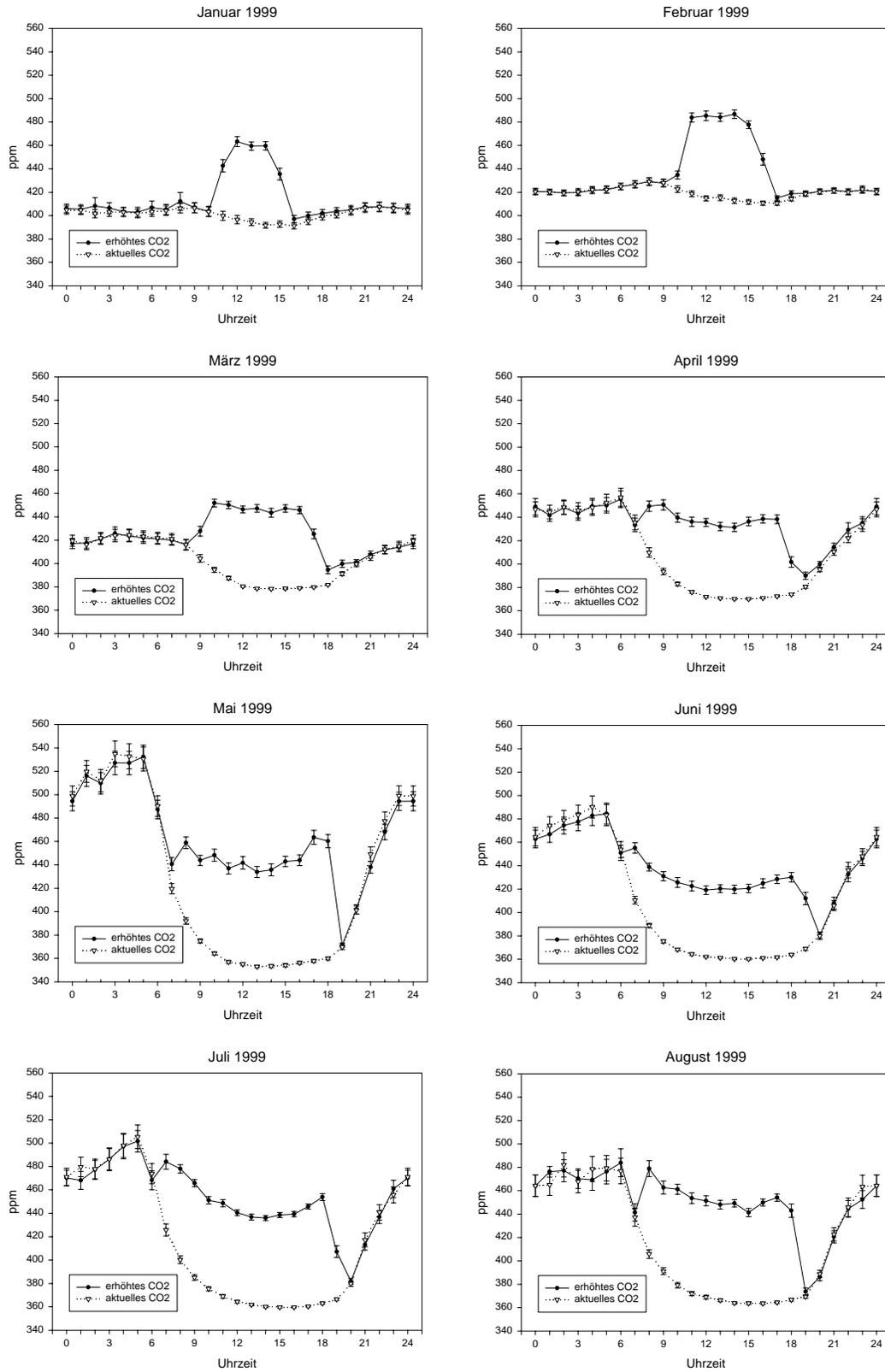
Die Spurengas-Messungen der Hauptversuchsreihe

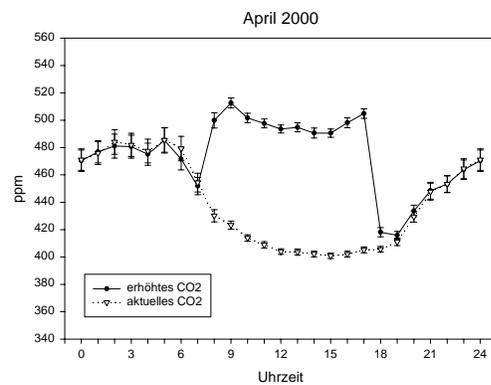
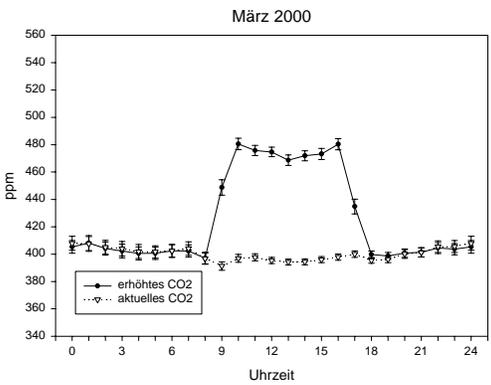
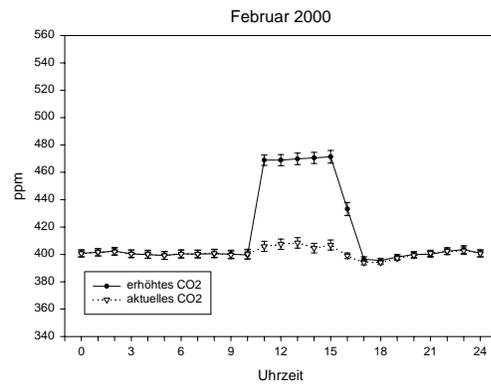
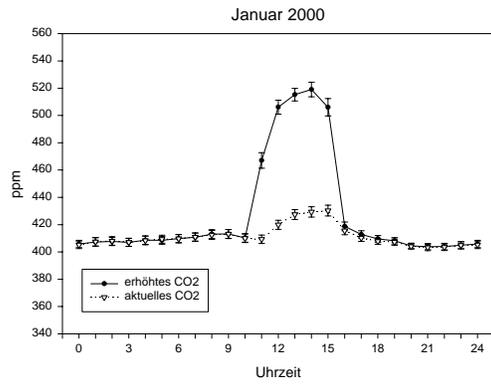
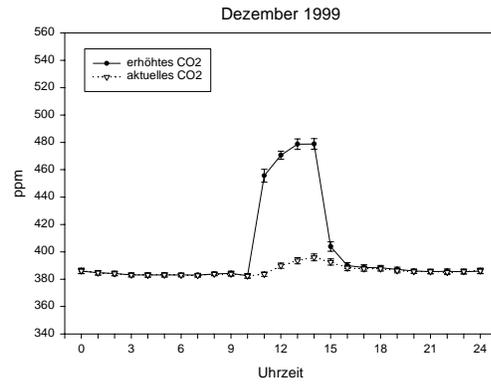
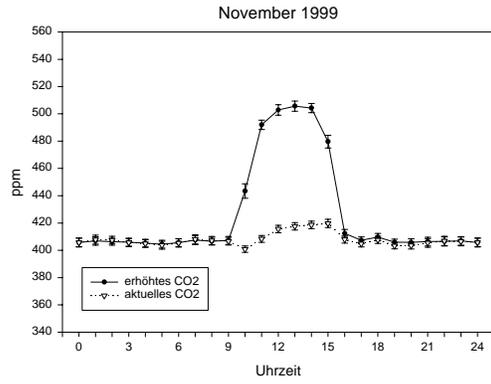
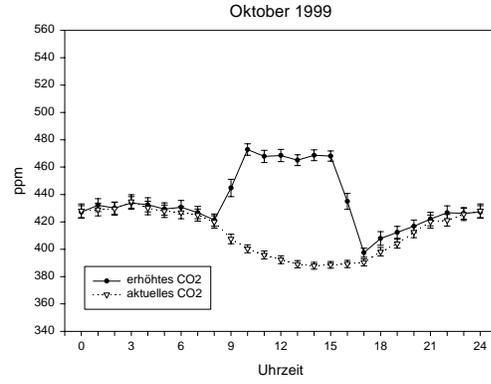
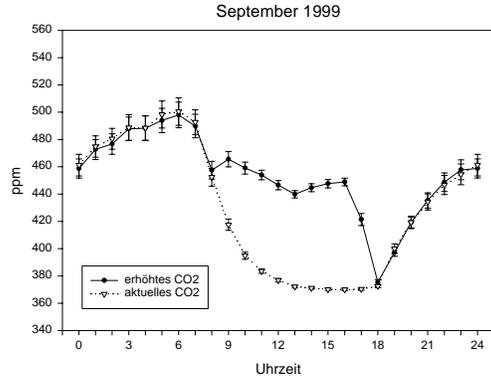
In jeder Ringfläche wurden Anfang März 1997 drei Bodenrahmen für die Spurengas-Flußmessungen eingelassen (genaue Lage: Abb. 2.4-C). Die CO₂-Ringe wurden ab Sommer 1998 darum herum aufgebaut. Vor der Düngung im April 1997 wurden die Messungen mit einem bis zwei Meßtagen pro Woche aufgenommen. Mit Beginn der CO₂-Anreicherung im Mai 1998 sowie Beendigung der Vorversuchs-Meßreihe wurde die Meßfrequenz (nach Möglichkeit) auf zwei bis drei Meßtage pro Woche erhöht. Zusätzlich wurde alle drei bis vier Wochen ein Tagesgang der Spurengasflüsse gemessen, indem die Kammern über den ganzen Tag jeweils für eine Stunde aufgesetzt (3 Probenahmen) und für mindestens eine Stunde abgenommen wurden. Zu weiteren Zusatzmessungen und Untersuchungen im Rahmen des Hauptversuchs siehe Tab. 2.4-C sowie die entsprechenden Abschnitte weiter unten.

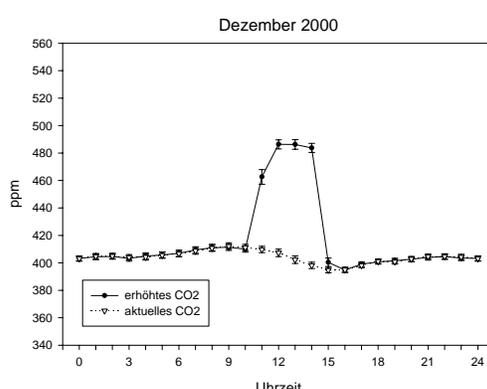
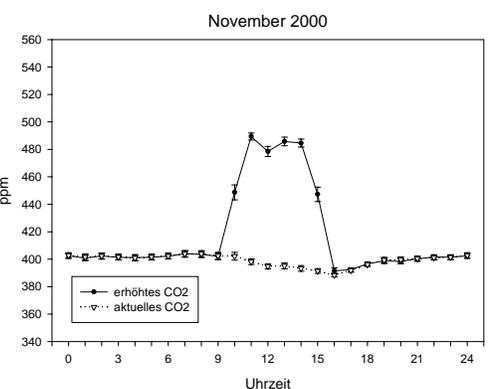
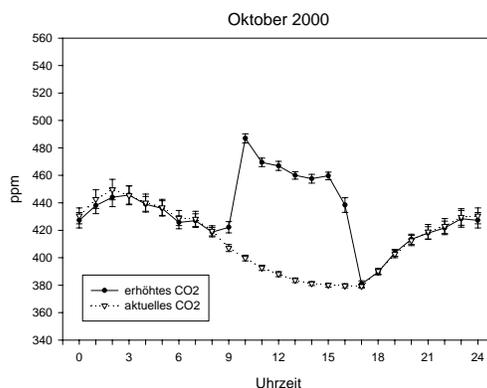
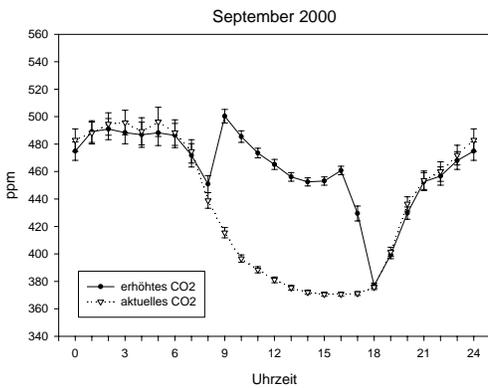
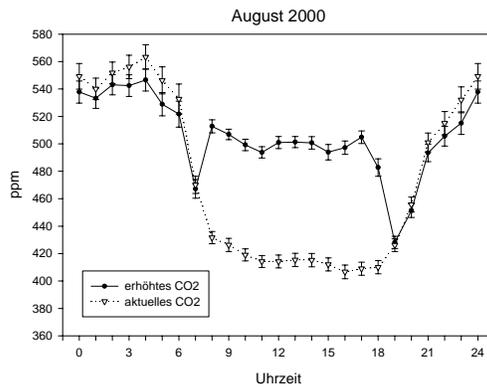
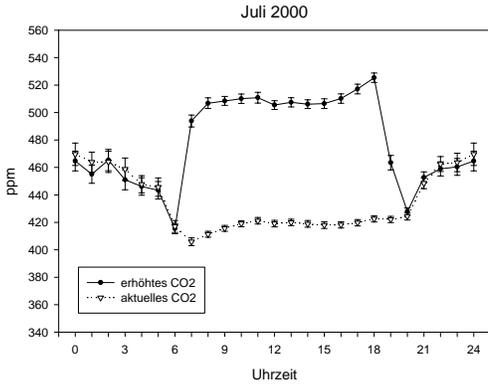
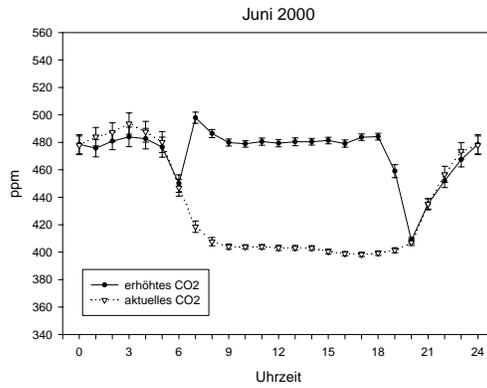
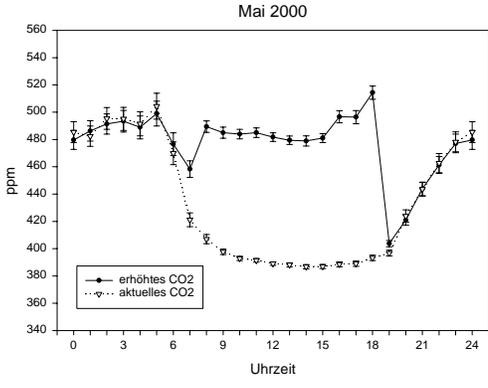
Abbildung 2.4-D: Mittlere monatliche Tagesgänge der CO₂-Konzentrationen in den CO₂-Ringen (Mittelwerte aller E und aller A-Ringe). Die Freisetzung erfolgte jeweils ab zwei Stunden nach Sonnenaufgang bis zwei Stunden vor Sonnenuntergang.

Fehlerbalken = Standardfehler,
Ansaughöhe über Grund 60 cm.









(Graphiken Dr. L. Grünhage)

Tabelle 2.4-C: Informationen zur Vor- und Hauptversuchsperiode

	Vorversuchs-Periode	Hauptversuchs-Periode
Zweck der Messungen	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Charakterisierung des Grünlands bezüglich der Spurengasflüsse ➤ Einfluß von N-Düngung, Schnittfrequenz und Grundwasserstand auf die Spurengasflüsse ➤ Datengrundlage für Hypothesenbildung zur Wirkung von erhöhtem CO₂ auf die Spurengasflüsse 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <u>Zentralfrage:</u> Welche Auswirkung haben steigende CO₂-Konzentrationen auf die Flüsse der Spurengase CH₄ und N₂O? ➤ Bilanzierungen der Spurengasflüsse für verschiedene Jahresperioden ➤ Prozeßverständnis (Wirkungsmechanismen d. erhöhten CO₂)
Zeitraum der Spurengas-Flußmessungen	Beginn Mai 1996; Verwendete Daten: August 1996 bis November 1997	April 1997 bis Dezember 2000
Fehlende Daten	November 1997 – Februar 1998 (2.1.3); FID-Daten: Winter 1996	November 1997 – Februar 1998; CO ₂ -Flüsse erst ab Sept. 1998
Versuchsflächen	Flächen je 9 m ² (3x3 m) pro Behandlung ("kleine Parzellen")	FACE-Flächen: Ringe auf den ehemaligen 100 m ² -Flächen mit je 8 m Durchmesser, sowie "Ecken" der ehem. 100 m ² -Flächen (Abb. 2.4-A)
Anzahl und Position von Bodenrahmen und Kammern (<i>closed chambers</i>)	2 Bodenrahmen und Kammern pro Behandlung, 9 Behandlungen insgesamt, anfangs 9, später 18 Kammern Je 1 m vom Rand entfernt in zwei einander diagonal gegenüber liegenden Ernteflächen (Gitter) jeder Parzelle (Bodenrahmen = Erntefläche)	3 Bodenrahmen in jedem Ring, d.h. 9 Kammern pro CO ₂ -Behandlung (18 Kammern insgesamt) An der Nordseite (=Südexposition) jeder FACE-Fläche in je 1 m Abstand zur Ringwand und mit 0,5 m Abstand zueinander (Abb. 2.4-C)
Probennahmen (Flußmessungen)	3 Proben pro Messung, nach jeweils t ₀ =0 min, t ₁ /2=30 min, t=60 min (= Bedeckungszeit insgesamt) <i>Die Probenahmezeiten variierten je nach Witterung um ± 10 Minuten, was jeweils genau notiert und in der Auswertung berücksichtigt wurde.</i>	4 Proben pro Messung, nach t ₀ =0 min, t ₁ /3=30 min, 2/3t=60 min, t=90 min (= Bedeckungszeit insgesamt)
Grunddüngung	600 kg ha ⁻¹ a ⁻¹ Thomaskali (15% K ₂ O, 3% Mg, 10% P ₂ O ₅ , 33% CaO+MgO), Düngung jeweils im April jeden Jahres	Wie im Vorversuch; Datum: wie N-Düngung, s.u.
Stickstoff-Düngung (kg N ha⁻¹ a⁻¹, Ca-NH₄NO₃ granulär)	0 – 400 kg N in 1 – 3 Dosen während der Vegetationsperiode, siehe auch Tab. 2.4-A	40 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹ jeweils im April 1996: 18. April 1997: 24. April 1998: 21./22. April 1999: 20./22. April 2000: 17./19. April
Biomasse-Ernten	Schnittfrequenz 2 – 4 pro Jahr, je nach Düngungsintensität (Tab. 2.4-A)	2 Schnitte pro Jahr (im Juni und September) 1996: 10./11. Juni; 09. September 1997: 09./10. Juni; 01. September 1998: 15./16. Juni; 03. Sept. (E1, A1), 07. Sept. (E2, A2; E3, A3) 1999: 14./15. Juni; 31. August 2000: 22. Mai; 11./12. September

Tabelle 2.4-C: Informationen zur Vor- und Hauptversuchsperiode (Fortsetzung)

	Vorversuchs-Periode	Hauptversuchs-Periode
Zusatzversuche	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Frost-Tau-Experimente zu winterlichen N₂O-Emissionen ➤ Entwicklung, Installation und Beprobieren der Silikon-Bodenluftsonden ➤ Inkubation von Bodenkernen zur Ermittlung des Methan-Produktionspotentials (Weiterentwicklung einer Methodik von WACHINGER <i>et al.</i> 2000) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Acetylen-Inhibierungs-Methode (AIM) zur Unterscheidung von N₂O-Emissionen aus Nitrifikation und Denitrifikation ➤ Denitrifikations-Enzym-Aktivitäts-Messungen (DEA) ➤ Netto-Nitrifikations-Aktivität (Methode nach GASCHÉ 1998)
Zusatz-Parameter	<ul style="list-style-type: none"> ➤ KCl-Bodenextraktionen zur Messung des mineralischen N-Gehalts (N_{min}) etwa 1x/Monat ➤ Messung des organ. N- und C-Gehalts (Kjehldahl, Muffelofen) ➤ pH-Werte ➤ Bodenwassergehalt mit TDR-Sensoren (werktags), 1 Sensor pro Parzelle ➤ Wasserstand im Boden (jeweils werktags, Pegel Abb. 2.4-A) ➤ Bodentemperaturen mit je 1 Sensor in 5, 10 und 20 cm Tiefe in den beiden 40-kg-N-Parzellen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ KCl-Bodenextraktionen zur Messung des mineralischen N-Gehalts (N_{min}), des KCl-extrahierbaren organischen N und organischen Kohlenstoffs ➤ Messung des organ. N- und C-Gehalts (Kjehldahl, Muffelofen) ➤ Bodenwassergehalte mittels TDR-Sensoren (werktags), 4 Sensoren pro CO₂-Ring ➤ Wasserstand im Boden (werktags, Pegel Abb. 2.4-A) ➤ Bodentemperaturen mit zwei Temp.-Fühlern in 5, einem in 10 und einem in 20 cm Tiefe in jedem CO₂-Ring

Abschätzung des Bodenatmungsanteils an der Bestandesatmung

Hierbei wurden zeitgleich die Bestandesatmung (mit einer abgedunkelten, temperaturisolierten Haube) und die Bodenatmung gemessen. Für Letzteres wurde eine sehr schmale, langgestreckte kleine Haube benutzt, in deren Bodenrahmen-Fläche vor der Vegetationsperiode 1999 die Pflanzen entfernt worden waren (Haubenmaße, B x H x L: 10 x 10 x 50 cm). Da der Bodenrahmen nur 3 cm in die Erde ragte, wuchsen die Wurzeln des seitlichen Bestandes in den Boden unter der Haube ein. Temperatur und Feuchte dieser offenen Bodenfläche wurden dadurch dem umliegenden Bestand angeglichen, daß die Fläche mit einer seitlich offenen (Niederschläge) styroporbelebten Abdeckung beschattet wurde. Messungen der Bodenoberflächentemperatur in 1 bis 2 cm Tiefe zeigten, daß sich der umliegende Bestand und die offenen Bodenflächen nicht mehr als 0,5 °C voneinander abwichen (Richtung variierend). Beide Messungen erforderten aufgrund des Verhältnisses von Kammervolumen zur Größe der Bodenoberfläche nur sehr geringe Bedeckungszeiten (einige Minuten), d.h. die Störung durch die Messungen war gering. Solche Messungen wurden im Juni 1999 mehrfach an sonnigen und bedeckten Tagen durchgeführt. HEINZ (2000) benutzte die gleiche Meßvorrichtung. Die auf diese Weise ermittelten Werte sind aber nur als Schätzwerte anzusehen, da mehr und besser etablierte Bodenatmungs-Meßstellen für eine zuverlässigere Abschätzung nötig sind. Im Oktober 2000 wurden in den 6 CO₂-Ringen je drei

Bodenatmungsrahmen installiert (B x T x L (cm) = 5 x 15 x 50). Diese Rahmen sind bis in 3 cm Tiefe solide und darunter mit einer 2 mm-Gaze bezogen, damit bei Verankerung der Rahmen im Boden zugleich von der Seite her Wurzeln einwachsen können. Zur Installation wurde eine Grube in Rahmengröße ausgehoben und der entfernte Boden in das Rahmen-Innere hineingesiebt (5 mm), um die vorhandenen Wurzeln zu entfernen. Erste Messungen mit diesen Meßstellen und Hauben (5 x 5 x 50 cm) wurden im März und April 2001 ausgeführt. Hierzu wurden dreimal alle 2 Minuten Proben mit 60 ml PE-Spritzen entnommen und am GC auf CO₂ analysiert.

2.5 Bodenchemische Analysen

2.5.1 Quantifizierung der mineralischen N-Verbindungen NO₃⁻, NO₂⁻ und NH₄⁺

Während der Vorversuchsreihe wurden 1997 an auf allen Parzellen etwa einmal pro Monat Bodenproben für die Analyse von mineralischem Stickstoff (NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻) genommen. Zur Probennahme wurde ein selbstgefertigter Probennehmer (3,4 cm Durchmesser) benutzt, mit dem Bohrkerne aus 0-5, 5-10 und 10-15 cm Tiefe entnommen wurden (je 2 pro Parzelle, Herstellen einer Mischprobe pro Tiefe). Die Probenaufbereitung und Ausschüttelung (1 h) fand innerhalb einer halben Stunde nach Probennahme direkt auf dem Versuchsfeld statt. Auf diese Weise sollte das sich rasch in NO₃⁻ verwandelnde NO₂⁻, wenn vorhanden, nachgewiesen werden können (SMITH & CHALK 1980; STEVENS & LAUGHLIN 1995). Die Proben wurden hierzu nicht gesiebt (Ausschluß der Feinwurzeln), sondern nur zerkrümelt, um die maximal verfügbare N_{min}-Menge zu extrahieren (da diese in extensiv gedüngtem Grünland ohnehin stets sehr gering ist). Je 40 g Probe (Frischgewicht) wurde mit je 200 ml 1 M KCl ausgeschüttelt und über Falten-Filter (Schleicher & Schüll 595½, Ø 180 mm) abfiltriert. Als Blindwert diente die ebenfalls abfiltrierte 1 M KCl-Lösung (200 ml).

Die Filtrate wurden eingefroren und bis zur Analyse bei -20°C aufbewahrt. Die Analysen für die Vorversuchs-Reihe wurden 'per Hand' im Institut für Angewandte Mikrobiologie durchgeführt, die der Hauptversuchsreihe wurden automatisiert mit Hilfe eines Autoanalyzers (s.u.) im Institut für Pflanzenernährung vorgenommen.

Ein Aliquot jeder Mischprobe (ca. 50 g Frischgewicht) wurde für die Wassergehaltsbestimmung eingewogen (Trocknung über Nacht bei 105°C) und nach Trocknung rückgewogen, ein weiteres luftgetrocknet für den Nachweis von organischem Kohlenstoff (Muffelofen: Veraschung) sowie organischem Stickstoff (Kjehldal-Aufschluß), siehe unten.

Berechnung des Trockengewichts bzw. der Wassermenge der Ausschüttelungs-Proben:

$$TG_{Probe} = FG_{Probe} - \left[FG_{Probe} * \left(\frac{FG_{H_2O} - TG_{H_2O}}{FG_{H_2O}} \right) \right] \quad \text{Gl. 2-V}$$

$$H_2O_{Probe} = FG_{Probe} - TG_{Probe} \quad \text{Gl. 2-VI}$$

wobei:

TG_{Probe}	= Trockengewicht der Ausschüttelungs-Boden-Probenmenge
FG_{Probe}	= eingewogenes Frischgewicht der Ausschüttelungs-Bodenprobe
FG_{H_2O}	= Frischgewichts-Einwaage zur Wassergehalts-Bestimmung
TG_{H_2O}	= Trockengewicht der Einwaage zur Wassergehalts-Bestimmung
H_2O_{Probe}	= Wassermenge (g) in der Ausschüttelungs-Probe

Die gemessenen N-Menge wurde auf das Boden-Trockengewicht bezogen (ppm = $\mu\text{g N g}^{-1}$ Trockengewicht). Die in der Probe enthaltene Wassermenge wurde der Ausschüttelungsmenge hinzuaddiert (s.u.).

Die quantitative Nitrat- ($\text{NO}_3\text{-N}$) Bestimmung (manuell):

Der Nachweis erfolgt über eine Farbreaktion von zu $\text{NO}_2\text{-N}$ reduziertem $\text{NO}_3\text{-N}$ mit den Reagenzien N-1-Naphthylethylendiaminhydrochlorid (=Naphthyl-(1)-amin; 0,2 g in 10 ml Essigsäure 96 % und 40 ml dest H_2O gelöst, ad 250 ml mit dest H_2O) und Sulfanilsäure (1 g in 15 ml Essigsäure 96 % und 15 ml H_2O erwärmen, durch Zugabe von 270 ml heißem dest. H_2O lösen). Zur Reduktion des $\text{NO}_3\text{-N}$ zu $\text{NO}_2\text{-N}$ wurden 1 bis max. 10 ml Filtrat mit Hilfe einer NH_4Cl -Spüllösung (5 g l^{-1}) über eine Reduktionssäule geschickt (Säule: ca. 50 g verkupfertes Cadmium-Granulat in 30 cm langer Glassäule mit 3 cm \varnothing , Durchflußrate etwa 110 ml min^{-1}). Als Blindwert wurde eine entsprechende Menge (1 –10 ml) des reinen KCl-Filtrats durch die Säule gespült. Die durchgespülte, reduzierte Lösung wurde in einem 100 ml-Meßkolben aufgefangen, 4 ml einer Mischung von Sulfanilsäure- und Naphthyl-(1)-amin-Lösung (1:1) zugesetzt und das Gemisch 30 min bei 20 bis 25°C unter dem Abzug im Dunkeln inkubiert. Zuletzt wurde mit dest. H_2O auf 100 ml aufgefüllt und die Extinktion bei 535 nm am Photometer gemessen. Nitrit verursacht eine Rosa- bis Pinkfärbung der zuvor klaren Lösung äquivalent der vorhandenen Menge (Nachweisprinzip: Autoanalyser-Methode).

Für die Eichreihe wurde eine Gebrauchslösung mit je $2 \mu\text{g NO}_3\text{-N ml}^{-1}$ (in 1 M KCl) hergestellt. Hiervon wurden Aliquots von 0, 1, 2, 3, 5 und 10 ml (entsprechend 0, 2, 4, 6, 10 und $20 \mu\text{g NO}_3\text{-N}$) durch die Reduktionssäule gespült und wie die Proben weiterbehandelt. Desgleichen wurden entsprechende ml-Mengen 1 M KCl-Lösung über die Säule gegeben und ebenfalls wie Proben behandelt, um die Grundextinktion des KCl für jeden Eichreihenpunkt herausrechnen zu können.

Die Eichkurve wurde als KCl-korrigierte Kurve mit SigmaPlot (Vers. 4.01, SPSS Inc.) berechnet ($y = \mu\text{g N}$, $x = \text{Ext.}_{STD}$: ermitteln der Koeffizienten $b[2]$, $b[1]$ und $b[0]$):

$$\mu\text{g N} = b[2] * (\text{Ext.}_{STD})^2 + b[1] * \text{Ext.}_{STD} + b[0] \quad \text{Gl. 2-VII}$$

Somit konnte die in der entsprechenden Bodenprobe enthaltene NO₃-N-Menge (in µg N g⁻¹ Bodentrockengewicht) wie folgt berechnet werden:

$$\mu\text{g N g}^{-1} = \frac{(b[2] * (E_{\text{Probe}})^2 + b[1] * E_{\text{Probe}} + b[0])}{L_{\text{Analyse}}} * \frac{L_{\text{Gesamt}}}{TG_{\text{Probe}}} \quad \text{Gl. 2-VIII}$$

wobei:

$$E_{\text{Probe}} = \text{Ext.}_{\text{Probe}} - \text{Ext.}_{\text{KCl}}$$

L_{Analyse} = zur Analyse eingesetzte Menge (1 – 10 ml) des Probenfiltrats

L_{Gesamt} = Ausschüttelungslösung (200 ml) + Bodenwasser-Menge (H_2O_{Probe})

Bei der Nitratbestimmung nach dieser Methode wird Nitrit mit erfaßt und muß daher später von dem errechneten Gesamt-Wert (NO₃-N + NO₂-N) subtrahiert werden.

Die quantitative Nitrit-(NO₂-N) Bestimmung (manuell):

Zur NO₂-N-Bestimmung wurden 40 ml Filtrat (einschließlich Blindwert-Filtrat) in einen 50 ml Meßkolben pipettiert und diesem 2 ml der bereits beschriebenen 1:1 Mischung von Sufanilamid- und Naphtyl-(1)-amin-Lösung zugesetzt. Diese Mischung wurde ebenfalls für 30 min (20 bis 25°C) im Abzug bei Dunkelheit inkubiert, dann auf 50 ml mit dest. H₂O aufgefüllt und die Extinktion bei 535 nm am Photometer gemessen. Für die Eichreihe wurden je 0, 2, 5, 10, 20, 30 und 40 ml eines Nitrit-Standards in 1 M KCl mit 0,1 µg NO₂-N ml⁻¹ in einen 50 ml Meßkolben gegeben und wie eine Probe weiterbehandelt. Weiterhin wurden die gleichen ml-Mengen 1 M KCl-Lösung in 50 ml Kolben pipettiert und ebenfalls wie Probe behandelt. Die Berechnung der Eichkurven-Parameter und der NO₂-N-Gehalte in den Bodenproben erfolgte analog zu der der Nitrat-Gehalte.

Die quantitative Ammonium-(NH₄-N) Bestimmung (manuell):

Hierzu wurden 1 bis 5 ml Probenfiltrat (bzw. Blindwert-Filtrat) in große Rollrandgläser pipettiert und mit dest H₂O auf 25 ml aufgefüllt. Anschließend wurden je 2 ml folgender beider Reagenzien zugegeben (Nachweisprinzip: Autoanalyser-Methode):

- Salicylat-Citrat-Lösung (130 g Na-Salicylat + 130 g Tri-Natriumcitrat x H₂O, zunächst in 800 ml dest H₂O gelöst, + 0,97 g Natrium-Nitroprussid, mit dest. H₂O ad 1000 ml)
- "Reagenzlösung" (3,2 g NaOH in 50 ml dest H₂O gelöst, + 0,2 g Natriumdichlorcyanurat x 2 H₂O)

Das Gemisch wurde 1 h im Dunkeln inkubiert und anschließend bei 655 nm am Photometer gemessen. Ammonium verursacht eine Grün- bis Blaugrünfärbung der zuvor gelben Lösung äquivalent der vorhandenen Menge.

Für die Eichkurve wurden je 0, 2, 5, 10, 15, 20 und 25 ml einer Lösung in 1 M KCl mit $1 \mu\text{g NH}_4\text{-N ml}^{-1}$ in Rollrandgläser pipettiert und genauso wie die Proben behandelt. Auch hier wurde wieder eine Parallel-"Eichkurve" mit entsprechenden KCl-Mengen hergestellt und deren Extinktions-Werte von denen der eigentlichen Eichkurve subtrahiert, ebenso wie der Proben-Blindwert von den Proben-Extinktionen. Die Berechnung der $\text{NH}_4\text{-N}$ -Gehalte in den Bodenproben erfolgte analog zu der der $\text{NO}_3\text{-N}$ -Gehalte.

Stickstoffanalyse mit dem Autoanalyser

Die Analyse von Nitrat, Ammonium und Gesamtstickstoff erfolgte kolorimetrisch mit Hilfe der drei Analysestraßen eines Autoanalyzers der Firma Technicon mit Autosampler. Die Reagenzien werden automatisch zudosiert (Schlauchpumpen); daher ist die Reaktionszeit für jede Probe exakt gleich lang.

Die KCl-haltigen Proben mußten zur Analysierbarkeit mit dem Autoanalyser-System vor der Messung 5-fach (auf 0,2 M KCl) verdünnt werden, da sonst v.a. bei Nitrat durch das Salz verursachte Aufsitzer-Peaks auf den eigentlichen Peaks erschienen. Zu Beginn einer Probenserie wurden Eichreihen-Standards in 0,2 M KCl aufgegeben, danach mindestens 2 Blindwerte (ebenfalls 1:5 verdünnt) und darauf folgend eine Probenserie von etwa 27 bis 29 Proben (bis Platz 39 des Autosampler-Tables). Auf Platz 40 folgte verdünnte HCl zu Reinigungszwecken. Für den neuen Zyklus wurde zwei mal der höchste Standard aufgegeben (Korrekturfaktor), danach erneut Proben bis zum Platz 39, dann HCl, usw. Pro Tag konnten so etwa 100 bis 120 Proben analysiert werden.

Die gemessenen Werte wurden mit dem Steuercomputer aufgezeichnet. Anschließend wurde mit einem dBase-Programm die Eichkurve automatisch berechnet und ebenso die darauf bezogenen Probewerte, die anschließend noch um die Basislinien- und Empfindlichkeitsdrift (über die jeweils zu Beginn eines Zyklus gemessenen Standards) korrigiert wurden. Die Berechnung der N-Konzentrationen in den Bodenproben aus den Meßwerten erfolgte wie für die manuelle N-Analyse anfangs beschrieben (s.o.).

Die quantitative $\text{NO}_3\text{-N}$ -Bestimmung mit dem Autoanalyser:

Die Standards enthielten Konzentrationen von 0,05, 0,1, 0,2 und 0,4 ppm $\text{NO}_3\text{-N}$ (mg l^{-1}). Sowohl die Standard-Konzentrationen von Nitrat als auch die von Ammonium waren hier niedriger als üblicherweise im Institut für Pflanzenernährung verwendet, da sie den sehr niedrigen N_{min} -Werten des extensiven Grünlands angepaßt worden waren.

Nachweisprinzip: Farbreaktion wie bei der manuellen Analyse; Im ersten Reaktionsschritt wurde das Nitrat im alkalischen Milieu in Anwesenheit von Cu-II-Sulfat durch Hydrazinsulfat zu Nitrit reduziert. Im folgenden Schritt reagierte NO_2^- im sauren Milieu mit Sulfanilsäure und N-1-Naphthylethylendiaminhydrochlorid zu einem Diazo-Farbstoff, dessen Extinktion bei 520 nm gemessen wurde.

Anzumerken bleibt, daß die $\text{NO}_3\text{-N}$ -Werte in diesem Fall die $\text{NO}_2\text{-N}$ -Werte mitenthielten. Da sich im Vorversuch gezeigt hatte, daß NO_2^- im untersuchten Grünland im Prinzip nicht nachweisbar war, wurde kein Nitrit-Nachweis mehr vorgenommen.

Die quantitative NH_4 -Bestimmung mit dem Autoanalyzer:

Die Standards enthielten 0,1, 0,2, 0,4 und 0,8 ppm NH_4 -N.

Nachweisprinzip: Bei einem pH-Wert zwischen 12,6 und 12,8 bilden Ammonium-Ionen in Gegenwart von Nitroprussid mit Salicylat und freiem Chlor einen grünen Farbkomplex, dessen Extinktion bei 660 nm gemessen wurde.

Die quantitative Bestimmung des organischen N-Gehalts mit dem Autoanalyzer:

Als Standard-Werte wurden bei der Autoanalyzer-Messung die Gesamt-N-Werte aus dem NH_4 - und dem NO_3 -N-Anteil des betreffenden Standards verwendet, also 0,15, 0,3, 0,6 und 1,2 ppm Gesamt-N.

Nachweisprinzip: Nahezu alle N-haltigen Verbindungen werden durch UV-Strahlen in Gegenwart von Kaliumperoxodisulfat in stark alkalischem Milieu zu Nitrat oxidiert. Der weitere Nachweis des so gebildeten Nitrats erfolgte wie oben beschrieben. Durch Subtraktion des Nitrat- und Ammonium-N ließ sich die Konzentration an organischem (KCl-extrahierbarem) Stickstoff errechnen.

2.5.2 Die Quantifizierung des KCl-extrahierbaren organischen Kohlenstoffs ($C_{\text{org, H}_2\text{O}}$)

Diese Untersuchung wurde nur mit dem Autoanalyzer durchgeführt. Wasserlösliches C_{org} sollte eigentlich nur im "frischen" Zustand (d.h. direkt nach der Extraktion) nachgewiesen werden (die Werte verändern sich durch Einfrieren und Wiederauftauen im Gegensatz zu den N-Werten, Dr. Steffens, mündl. Mitt.). Daher konnte dieser Parameter bei den ersten Probensätzen (1997 bis 1998) nicht mehr bestimmt werden. Nach internen Versuchen im Institut für Pflanzenernährung stellte sich jedoch heraus, daß Proben, die 1 h bei 80°C pasteurisiert worden waren oder solche, die ungefroren bei 4°C gelagert worden waren, in ihrem C_{org} -Gehalt nahezu unverändert blieben. Daraufhin wurde bei Bodenprobenahme-Terminen ein Aliquot des Filtrats (15 - 20 ml) in PE-Szintillationsgefäße abgefüllt, erst eine Stunde bei 80°C pasteurisiert und anschließend bis zur Analyse bei 4°C aufbewahrt.

Die Autoanalyzer-Nachweismethode basiert auf einer Oxidation des C_{org} mittels UV-Licht und anschließendem photometrischen Nachweis von angefärbtem CO_2 in der wässrigen Lösung. Als Standards wurde Glukose-Lösung in 0,2 M KCl und mit 2,5, 5, 10 und 20 ppm Glukose-C verwendet. Der Analyseverlauf und die Beschickung des Probentellers erfolgten wie oben beschrieben.

2.5.3 Quantifizierung des organischen Kohlenstoff im Boden (Glühverlust)

Hierzu wurden 3 g gemörserter und 2-mm-gesiebter, luftgetrockneter Boden in einen Porzellantiegel eingewogen und im Muffelofen bei 500°C für 18 h verascht. Anschließend wurden die Tiegel rückgewogen und so der Glühverlust bestimmt.

2.5.4 Quantifizierung des organischen Stickstoff-Gehalts in der Bodensubstanz

Die Bestimmung des Gesamt-N-Gehalts wurde im Vorversuch mit der Kjehldal-Methode vorgenommen. Dazu wurde je 1000 mg homogener Boden in einen Kjehldal-Kolben eingewogen und genau wie Pflanzensubstanz durch Schwefelsäure-Zugabe unter Hitze aufgeschlossen. Der in NH_4^+ umgewandelte organische Stickstoff wurde durch Zugabe von NaOH und Wasser als NH_3 alkalisch ausgetrieben, in eine Borsäure-Vorlage mit pH-Indikator übergeleitet und zur Quantifizierung mit 0,1 M HCl gegentitriert. Die N-Gehalte wurden auf die Trockengewichts-Einwaage bezogen (ausgedrückt in mg g^{-1} Boden bzw. in %).

2.6 Bodenphysikalische und klimatische Parameter

2.6.1 Bodentemperaturen

Die Bodentemperaturen in 5 cm Tiefe (siehe Vor- und Hauptversuch, Tab. 2.4-C) wurden mit permanent installierten Stabsensoren gemessen. Bei diesen 50 cm langen, horizontal zur Bodenoberfläche inserierten Sensoren (Pt 100-Fühler) wurde an acht Punkten die Temperatur gemessen und als Mittelwert aufgezeichnet. Die Temperaturen in 10 und 20 cm Tiefe wurden mit Punktsensoren (Pt 100, Fa. Imko) gemessen.

Die Temperaturdaten wurden automatisch als 15-min-Mittelwerte für die drei Tiefen aufgezeichnet (Software Fa. Imko) und nachfolgend als qualitätsgeprüfte Halb-Stunden-Mittelwerte in einer Datenbank (Management durch Dr. L. Grünhage) abgelegt. Bei der Berechnung von Tagesmittel-Werten wurde das Mittel nicht berechnet (=fehlender Wert), wenn zwei oder mehr der 48 Halbstunden-Werte des Tages fehlten.

2.6.2 Bodenfeuchte

Die Bodenfeuchte wurde mittels vertikal inserierter TDR-Sensoren (Typ P2G, Fa. Imko, Ettlingen) als volumetrischer Wassergehalt in 0 bis 15,5 cm Tiefe einmal pro Werktag gemessen. TDR-Sensoren zeigen im Winter den ungefrorenen Wassergehalt des Bodens an (PATTERSON & SMITH 1981; PATTERSON & SMITH 1984). Im Vorversuch war in fast jeder Behandlungsparzelle ein Sensor inseriert (vgl. Tab. 2.4-A). Nach Beendigung des Hauptversuchs wurden diese TDR-Sensoren anderweitig verwendet, mit Ausnahme der beiden in den $40 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ -Behandlungen ("trocken" und "feucht"). Dort blieben die Sensoren bis heute (Frühjahr 2001) inseriert.

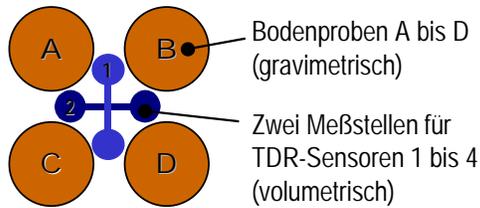


Abbildung 2.6-A: Anordnung von Probenahme und Sensormessungen im TDR-Sonden-Test.

Zur **Überprüfung der Meßgenauigkeit der TDR-Sensoren** wurde folgender kleiner Versuch durchgeführt: An einer Stelle des Grünlands, von der aktuelle Lagerungsdichtewerte existierten, wurden an vier Stellen Bodenproben (0 bis 15 cm) mit dem Bodenprobennehmer gezogen und der Wassergehalt gravimetrisch bestimmt (Trockenschrank, bei 105 °C).

Dazwischen (Abb. 2.6-A) wurde an zwei Stellen mit jeweils vier verschiedenen TDR-Sensoren der volumetrische Wassergehalt gemessen (d.h. acht Meßwerte). Nachdem über die an dieser Stelle geltende Lagerungsdichte von $0,88 \text{ g cm}^{-3}$ aus dem gravimetrischen der volumetrische Wassergehalt errechnet worden war (s.u.), konnten die Mittelwerte sowie die Streuung beider Messungen verglichen werden.

Berechnung des volumetrischen aus dem gravimetrischen Wassergehalt:

$$\text{Vol. WG} = \text{Grav. WG} * \text{LD} * 100 \qquad \text{Gl. 2-IX}$$

mit: Vol. WG (%) = Volumetrischer Wassergehalt ($\text{ml H}_2\text{O cm}^{-3}$ Boden)

Grav. WG = Gravimetrischer Wassergehalt ($\text{g H}_2\text{O g}^{-1}$ trockener Boden)

LD = Lagerungsdichte ($\text{g trockener Boden cm}^{-3}$ Bodenvolumen)

Der Test ergab eine sehr gute Übereinstimmung beider Methoden im Lindener Grünland: Der gravimetrisch ermittelte Wassergehalt betrug $0,33 \pm 0,008 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1}$ (Proben A bis D), der mit den Sonden gemessene betrug $29,21 \pm 1,24 \text{ Vol.-%}$ (Mittelwert der acht Sondenmessungen, d.h. vier Sonden an zwei Meßstellen). Umgerechnet auf den gravimetrischen Wassergehalt sind dies $0,32 \pm 0,014 \text{ g H}_2\text{O g}^{-1}$. Die mittlere Standardabweichung der TDR-Sonden-Messungen an einer Meßstelle lag mit $0,71 \text{ Vol.-%}$ bei $2,42 \%$ des Meßergebnisses (s.o.) und damit innerhalb der von der Firma Imko angegebenen Reproduzierbarkeit von $\pm 2 \%$ für den Bereich von 0 bis 40 Vol.-% (Angabe für 40 bis 70 Vol.-%: $\pm 3 \%$).

2.6.3 *Lufttemperatur, Luftdruck, Niederschläge und Strahlung*

Die Lufttemperaturen werden an mehreren Stellen der Versuchsfläche in verschiedenen Höhen gemessen. An mehreren Stellen befinden sich ventilierte Temperaturfühler (Pt 100, Fa. Thies, Göttingen) in 2 m Höhe, deren Mitteltemperaturen automatisch als 15-min-Mittelwerte aufgezeichnet werden. Die Werte werden als qualitätsgeprüfte Halbstunden-Mittelwerte in einer Datenbank abgelegt (Management: Dr. L. Grünhage). Die auf Bestandeshöhe auf der Mikrometeorologie-Fläche gemessene Lufttemperatur (Pt 100-Fühler, Fa. Thies, Göttingen) wurde bei der Kammerbedeckung als t_0 -Temperatur protokolliert (Hauptversuch).

Der aktuelle Luftdruck wird auf dem Versuchsgelände mit zwei Sensoren (Fa. Vaisalla) in 2 m Höhe gemessen. Er wurde zu jedem Probenahme-Zeitpunkt während der Kammerbedeckungen im Vor- und Hauptversuch notiert. Zur Berechnung der Flußraten wurde der Luftdruck-Mittelwert der Bedeckungszeit verwendet.

Die Niederschläge werden mittels eines Hellmann-Sammlers (Fa. Thies, Göttingen) als 15-Minuten-Summen gemessen, automatisch aufgezeichnet und als qualitätsgeprüfte Halbstunden-Summen in einer Datenbank abgelegt (Management Dr. L. Grünhage). Die Monats-Niederschlagssummen mit Standardabweichung ergeben sich aus den Mittelwerten der Bulksammler (Rotenkamp B91).

Die photosynthetisch aktive Strahlung (*photosynthetic active radiation*, PAR) wird mit zwei Quantumsensoren (Fa. LI-COR, Inc., Lincoln, USA) gemessen. Die Messung der CO₂-Bestandesatmung wurde abends erst begonnen, wenn die Einstrahlung auf unter 40 µmol m⁻² s⁻¹ gesunken war. Da die semitransparenten Gasauffanghauben etwa 2/3 der einfallenden Strahlung absorbierten (Messung mit tragbarem PAR-Sensor), betrug die den Bestand in der Kammer erreichende Strahlung zu diesem Zeitpunkt nur noch etwa 10 µmol m⁻² s⁻¹, d.h. für den Bestand war es (physiologisch) nahezu dunkel.

2.7 Die Ernten der oberirdischen Biomasse

2.7.1 Ernten im Vorversuch

Auf den kleinen Vorversuchs-Parzellen waren in jeweils 0,5 m Abstand zur Parzellengrenze je vier Gitter mit einer Fläche von jeweils 60 x 60 cm installiert. Während der Biomasse-Ernten (Termine siehe Tab. 2.7-A) wurde der Pflanzenbewuchs dieser Gitterflächen in etwa 3 Fingerbreit Höhe über der Erde mit Gartenscheren abgeschnitten (n = 4 pro Behandlung). Die mit 80 kg N ha⁻¹ a⁻¹ gedüngte 6-Schnitt-Variante, eingerichtet auf der vorherigen Parzelle 4.4 (bis 1996 mit 120 kg N ha⁻¹ a⁻¹ gedüngt, mit 2 Schnitten pro Jahr; vgl. Tab. 2.4-A), wurde jedes Mal abgeerntet, wenn die Bestandeshöhe 10 bis 15 cm erreicht hatte. Hieraus resultierten in der Vegetationsperiode 1997 sechs Schnitte (nicht in Tab. 2.7-A dargestellt).

Tabelle 2.7-A: Erntetermine der verschiedenen Behandlungen des Vorversuchs.

Schnittfrequenz	Jahr 1996	Jahr 1997	Jahr 1998	N-Düngung	Parzellen
2 Schnitte a ⁻¹	10. Juni	09. Juni	15. Juni	0 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹	1,2
	09. September	01. September	07. September	40 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹	2,4; 2,5
				80 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹	3,4
3 Schnitte a ⁻¹	21. Mai	21. Mai	19. Mai	80 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹	7,4
	22. Juli	24. Juli	21. Juli	120 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹	8,4
	07. Oktober	06. Oktober	05. Oktober		
4 Schnitte a ⁻¹	13. Mai	13. Mai	12. Mai	240 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹	9,4
	03. Juli	03. Juli	30. Juni	400 kg N ha ⁻¹ a ⁻¹	10,4
	22. August	18. August	20. August		
	07. Oktober	06. Oktober	05. Oktober		

2.7.2 Ernten im Hauptversuch

Die Erntetermine der großen Hauptversuchs-Parzellen sind Tab. 2.4-C zu entnehmen. Auf den großen (ehemals 100 m²-) Parzellen waren bis einschließlich 1996 acht kleine 0,36 m²-Gitter pro Parzelle zu Erntezwecken installiert. Ab 1997 wurden 25 Ernteflächen pro CO₂-Anreicherungs-Fläche eingerichtet, 22 davon mit 0,36 m² pro Gitter (siehe Abb. 2.4-C). Die Innenflächen der drei Bodenrahmen zur Spurengas-Messung wurden mit als Ernteflächen verwendet (jede 0,78 m², Abb. 2.4-C). Somit betrug ab 1997 die n-Zahl 75, entsprechend 30,8 m² pro CO₂-Behandlung.

Zu Ernteterminen wurde, wie auch im Vorversuch, die Biomasse einer Gitterfläche drei Finger breit über dem Boden abgeschnitten, in beschriftete Plastiktüten verpackt und kühl gelagert. Das gesamte Abernten der CO₂-Flächen wurde von 5 bis 8 Personen in der Regel in ein bis zwei Tagen bewältigt. Danach wurde die geerntete Biomasse in die drei funktionalen Hauptgruppen Gräser, Kräuter und Leguminosen differenziert. Die beschrifteten Proben wurden anschließend bei -20°C eingefroren. Im Anschluß wurden sie nach und nach im Trockenschrank bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und das Trockengewicht bestimmt. (Management der Ernten durch Birte Lenz.)

2.8 Die Messungen des Blattflächenindex (LAI)

Ab Mai 1998 wurde in den Ringen der Blattflächenindex (*leaf area index*, LAI) mit einem LAI-2000 *Plant Canopy Analyzer* (Fa. LI-COR Inc., Lincoln, USA) gemessen. Das Gerät besteht aus der LAI-2070 *Control Unit* zur Messung, Aufzeichnung und Wiedergabe der Daten und aus dem etwa 60 cm langen LAI-2050 *Optical Sensor*, der an der Spitze mit einer aus 5 konzentrischen Kreisen bestehenden "Fischaugen-Linse" ausgestattet ist. Jeder dieser Kreise ist ein eigener Sensor, der unter einem anderen Winkel die Menge des vertikal bis horizontal einfallenden diffusen Lichts mißt (der mittlere z.B. das nahezu senkrecht im 0 - 13° Winkel einfallende Licht). Bei einer Messung werden somit mindestens 5 Meßwerte oberhalb eines Bestandes genommen (einmalige Messung x 5 Ring-Sensoren) und weitere 5 innerhalb der interessierenden Bestandeshöhe. Berechnet wird vom Gerät die Abschwächung des diffusen Lichts durch den Bestand (unterhalb von 490 nm mittels optischem Filter). In diesem Blaulicht - Bereich reflektieren und transmittieren die Blätter sehr wenig und können daher als schwarze Körper betrachtet werden. Bei direkter Sonneneinstrahlung darf nicht gemessen werden – es wurde nur bei bedecktem Himmel gemessen, was teilweise die Datenlücken erklärt.

Neben der Blattfläche ermittelt das Gerät aus den gemessenen Parametern u.a. auch den Standardfehler des LAI, den Anteil des für den Sensor noch sichtbaren Himmels (0 = kein Himmel sichtbar; 1 = nur Himmel sichtbar) und den mittleren Winkel der Orientierung der Blätter sowie dessen Standardfehler. Diese Informationen wurden hier nicht verwendet, sind aber aufgezeichnet und stehen zur Verfügung.

Zu einem Meßzeitpunkt wurde in jedem CO₂-Ring separat der LAI der Nord- und der Südhälfte eines Ringes mit mindestens 2 Messungen pro Hälfte erfaßt. Eine Messung

bestand aus einem Wert oberhalb und drei bis vier Werten am Boden des Bestandes (= drei bis vier Meßwerte). Falls sich die Lichtverhältnisse rasch änderten (durchziehende Wolkenfelder), bestand eine Messung aus zwei Abfolgen "einmal oberhalb, zweimal auf dem Grund des Bestandes" (= vier Meßwerte). Die Linse wurde dabei mit einer 270°-Sicht-Schablone versehen (d.h. 90° waren mit einer schwarzen Scheibe überdeckt), damit die Messung nicht durch die messende Person, die der Sensor "sehen" würde, beeinflusst werden konnte. Der vom Gerät angegebene Standardfehler einer LAI-Messung betrug ab einem LAI von 1,5 bis 2 im Mittel 2 % des gemessenen LAI-Wertes (Minimum im Mittel 1 %, Maximum im Mittel 3,2 %: Mittelwerte von 14 Messungen 1998). Die aufgezeichneten Daten wurden aus dem LAI-2070 Handgerät über eine serielle RS-232-Schnittstelle auf einen IBM-compartiblen Computer (DOS-6.0) übertragen. Übertragung und Datenformatierung erfolgten mit der mitgelieferten 2000-90 LAI-2000 DOS Software (LI-COR Inc., Lincoln, USA).

2.9 N₂O-Anteile aus Nitrifikation und Denitrifikation

2.9.1 Methodisches Vorgehen bei der Acetylen-Inhibierungs-Technik (AIT)

Zur Trennung der N₂O-Emissionen aus Nitrifikation und Denitrifikation wird seit Jahrzehnten der Prozess der Nitrifikation (Ammonium-Monooxygenase) mit geringen Konzentrationen von Acetylen (5 bis 10 Pa C₂H₂) inhibiert (BOLLMANN & CONRAD 1997c). Der Einsatz dieser geringen C₂H₂-Mengen verursacht keinen Meßfehler; hohe Konzentrationen von Acetylen (bis 10 %) dagegen, wie sie seit Jahrzehnten auch unter oxidischen Bedingungen eingesetzt wurden, um die N₂-Produktion aus Denitrifikation abzuschätzen, können durch Förderung einer chemischen Reaktion von NO mit O₂ (zu NO₂) zu einer Unterschätzung der Denitrifikation führen (BOLLMANN & CONRAD 1997b; BOLLMANN & CONRAD 1997a; vgl. WATTS & SEITZINGER 2000). Daher wurde diese "klassische" Denitrifikationsmessung in der vorliegenden Arbeit nicht durchgeführt. Für die AIT-Messung wurde, leicht modifiziert, die Methode von MÜLLER *et al.* 1998) verwendet, bei der je 6 Bodensäulen à 5 cm Länge und 2,4 cm Durchmesser in einem gasdicht verschließbaren 800-ml-Gefäß mit 5 bis 10 Pa C₂H₂ inkubiert wurden.

Zum genauen Arbeitsablauf:

- Pro beprobter Parzelle bzw. Behandlung wurden 6 Inkubationsgefäße benutzt, drei mit und drei ohne C₂H₂-Zugabe.
- Nach der Entnahme der benötigten Anzahl von Bodensäulen aus 0 bis 5 cm Tiefe mit einem kleinen Handbohrer wurden je 6 in ein Glasgefäß mit bekanntem Volumen gegeben. Beim Verschließen der Gläser wurden Anfangsgasproben gezogen.

- Sofort nach dem Verschließen wurden die Gläser in ein Sandbeet eingegraben und der Deckel (mit Septumstopfen zur Probenahme) mit einem Aluminiumfolie umwickelten Blumenuntersetzer gegen Sonneneinstrahlung abgedeckt (Abb. 2.9-A). Die Sandbeet-Inkubation im Freiland bot nahezu bodenidentische Temperaturverhältnisse ($\pm 1,5^\circ\text{C}$ oder besser), wie ein Vergleich der stets protokollierten Bodensäulentemperaturen mit den 5-cm-Feldtemperaturen ergab.
- Probennahmen erfolgten für jedes Gefäß zu Beginn der Inkubation bei Verschließen und Eingraben der Gefäße. Nach einer halben Stunde (zweite Probenahme) wurden die entnommenen 50 ml Probe durch 50 ml mit bzw. ohne C_2H_2 ersetzt, so daß in 3 von 6 Gläsern eine Endkonzentration von 5 bis 10 Pa C_2H_2 erreicht wurde.
- Nach 5 weiteren Stunden wurde aus jedem Glas eine Endprobe genommen. Die Proben wurden innerhalb von 24 h am GC auf N_2O , CH_4 und CO_2 analysiert.



Abbildung 2.9-A: Probennahme (links) und *in-situ*-Inkubation der Bodenproben im Sandbeet (rechts) mit und ohne 5 bis 10 Pa C_2H_2 zur Trennung von N_2O -Emissionen aus Nitrifikation und Denitrifikation (Methodik nach MÜLLER *et al.* 1998).

2.9.2 Durchgeführte AIT-Messungen

Im Jahr 1998 (und z.T. 1999) wurden alle 3 bis 4 Wochen Proben von den "Ecken" der CO_2 -Ringe A1 bis A3 sowie (nach Freigabe) aus dem Ring E4 entnommen. Da die Probenahme für jede Messung einiges an Fläche zerstört (36 Bodensäulen pro Fläche), konnten die Proben nicht von der Innenflächen der CO_2 -Ringe genommen werden.

Somit beschreiben die Ergebnisse von A1 bis A3 den Einfluß des Bodenfeuchte - Gradienten des Versuchsfelds sowie den CO_2 -Effekt, wenn man die Mittelwerte von A1 – A3 mit E4 vergleicht, jeweils über den Jahresgang betrachtet.

2.9.3 Berechnung der AIT-Ergebnisse

Berechnet wurde zunächst die zu den Probenahmezeitpunkten pro Glas vorhandene Menge an N₂O-N, zuzüglich der in der wässrigen Phase gelösten N₂O-Menge.

$$\mu\text{g } N_2O - N(t_{1,2}) = cN_2O \times 10^{-9} \times \frac{V_{Flasche} \times p \times 100 \times MG_{N_2O-N}}{R \times T(t_{1,2})} \times 10^6 + Solv_{N_2O} \quad \text{Gl. 2-X}$$

$$Solv_{N_2O} = (Ko \times MG_{N_2O-N} \times cN_2O \times 10^{-3}) \times \frac{V_{H_2O}}{10^3} \quad \text{Gl. 2-XI}$$

wobei: $Ko = \exp[A1 + A2 \times (100/T) + A3 \times \ln(T/100)] \quad \text{Gl. 2-XII}$

<u>mit:</u>	$t_{0,1,2}$	Probenahmezeitpunkt 1 (Start) und 2 (Ende)
	cN_2O	Konzentration N ₂ O in ppb [$\mu\text{l}/\text{m}^3$]
	$V_{Flasche}$	Volumen des Glases minus Festpartikel- u. Wasservolumen [m^3]
	p	aktueller Luftdruck bei Deckelschluß [hPa]
	MG	Molekulargewicht N ₂ O-N: 28 g mol ⁻¹
	R	allgemeine Gaskonstante = 8,314 J mol ⁻¹ K ⁻¹
	T	Temperatur in Kelvin [K]
	$Solv_{N_2O}$	im Bodenwasser gelöstes N ₂ O-N [$\mu\text{g N}$] bei aktuellem N ₂ O-Partialdruck und Temperatur
	Ko	Gaslöslichkeit bei aktueller Temperatur [$\text{mol L}_{H_2O}^{-1} \text{atm}^{-1}$]
<u>mit:</u>	$A1$	= -62,7062 [A1 - A3: Konstanten, von WEISS & PRICE (1980)]
	$A2$	= 97,3066 empirisch ermittelt]
	$A3$	= 24,1406

Zu der t₂-Probenmenge wurde die als Probe zum Zeitpunkt t₁ aus der Gasphase entnommene N₂O-N-Menge dazu gerechnet, während die zur Inhibierung bzw. zum Ersatz des t₁-Probenvolumens addierte N₂O-N-Menge abgezogen wurde. Beide Werte wurden nach Gleichung 2-X für das entnommene bzw. hinzugefügte Probenvolumen zuvor berechnet.

Durch einfache Subtraktion wurden im Anschluß für jedes Glas die Produktionsraten 1 (t₁ - t₀) und 2 (t₂ - t₁) berechnet. Aus den nicht-inhibierten drei Gläsern wurde nun das gemittelte Verhältnis der Raten 2 zu 1 gebildet, d.h. ein Korrekturfaktor [$\text{Mittel}_{\text{Glas 1-3}} d(t_1-t_0)/d(t_2-t_1)$] errechnet.

Mit Hilfe des Korrekturfaktors konnte aus den Raten 1 der drei inhibierten Gläsern die potentielle Rate 2 errechnet werden, die ohne Inhibierung gemessen worden wäre. Aus dem mittleren Rückgang der Produktion, d.h. Rate 2_{potentiell} minus Rate 2_{gemessen} wurde die Nitrifikationsrate bestimmt. Diese und die Denitrifikationsrate (= verbliebene N₂O-Produktionsrate 2 der inhibierten Gläser) wurden zusätzlich in Prozent der Gesamt-N₂O-Produktion angegeben. (Vergleiche auch MÜLLER *et al.* 1998).

2.10 Messungen der Denitrifikations-Enzym-Aktivität (DEA)

2.10.1 Theorie und Hintergrund

Um die Wirkung der CO₂-Anreicherung auf die denitrifizierenden Mikrobenpopulationen im Boden zu untersuchen, wurden (nach Vorversuchen im April/Mai) ab Juni 1998 regelmäßig Untersuchungen zur Denitrifikations-Enzym-Aktivität (DEA) durchgeführt. Darunter ist im folgenden die (N₂O-)N-Produktion über den Prozess der Denitrifikation unter Optimalbedingungen und bei 20°C (Inkubation im GC-Container) bei Inhibierung der N₂O-Reduktase zu verstehen.

Bietet man dem mikrobiellen Prozess der Denitrifikation optimale Bedingungen (Anaerobiose sowie ausreichende Substratmengen, d.h. Nitrat und organischen Kohlenstoff) und hemmt den letzten enzymatischen Schritt mittels Acetylen (die Reduktion von N₂O zu N₂ durch die N₂O-Reduktase), so ist die Aktivität und Menge der aktuell im Boden vorhandenen Denitrifikationsenzyme (bis auf die N₂O-Reduktase) in Form der N₂O-Produktion pro Zeiteinheit und Bodengewicht messbar.

Ursprünglich wurde die Denitrifikations-Enzym-Aktivität (DEA) durch Inkubation in Gegenwart von Chloramphenicol zur Hemmung der Neusynthese von Enzymen gemessen (SMITH & TIEDJE 1979); Versuche von PELL *et al.* (1996) ergaben jedoch, daß das Chloramphenicol nicht nur die Neusynthese, sondern auch die Aktivität der vorhandenen Enzyme hemmt. Zusatzversuche von Müller (unveröffentlicht) zeigten, in Übereinstimmung mit den Versuchen von PELL *et al.* (1996), nach gut einer Stunde anaerober Inkubation des Lindener Grünlandbodens bereits einen nicht mehr linearen, sondern zunehmend steileren Anstieg der N₂O-Konzentration nach oben (d.h. Zunahme der N₂O-Produktion durch *de-novo*-Enzymsynthese bzw. bakterielles Wachstum). Daher wurden die anaeroben Inkubationen zur DEA-Bestimmung innerhalb einer Stunde (nach Beginn der Anaerobiose) ohne den Einsatz von Chloramphenicol durchgeführt.

2.10.2 Durchführung der DEA-Analysen

- In jedem CO₂-Ring wurden in vier Quadranten (nahe dem 1-m-Sicherheitsstreifen) je 3–4 Bodensäulen (Höhe 6 cm, Durchmesser 2,4 cm) ausgestochen. In die Entnahmestellen wurden Bodensäulen von den Ecken außerhalb des Rings gesetzt und diese mit Cocktailspießen markiert, um Doppelbeprobungen zu vermeiden.
- Die entnommene Erde wurde homogenisiert, wobei der oberste Wurzelfilz (0,5 bis 1 cm) verworfen wurde. Grobwurzeln ($\varnothing > 2$ mm) wurden ebenfalls entfernt.
- Zur Wassergehaltsbestimmung wurde von der homogenisierten Bodenprobe aus jedem Ring ein Aliquot (> 50 g Bodenfrischgewicht) in ein verschließbares Glasgefäß eingewogen, ins Labor transportiert und über Nacht bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und rückgewogen.
- Pro Ring wurden in 3 Inkubationsgefäße (500 ml Duran-Glasflaschen mit GL 45 ISO-Gewinde mit einem effektiven Volumen von 604,5 ml \pm 1 ml) je 20 bis 23 g

feldfrischer Boden eingewogen und das Gewicht (auf 0,1 g genau) notiert. (Bei 6 CO₂-Ringern wurden insgesamt 18 Flaschen verwendet)

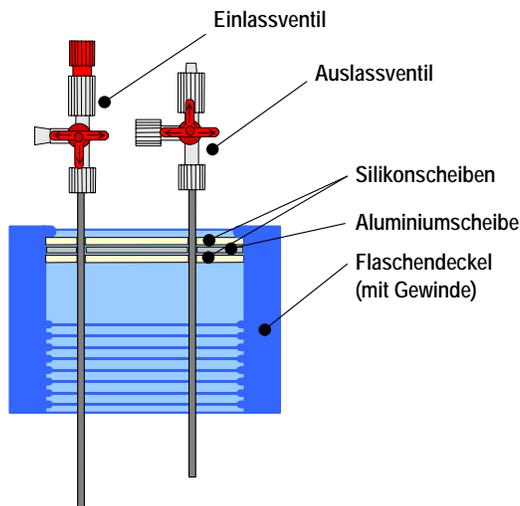


Abbildung 2.10-A: Modifizierter Deckel einer Schott-Duran-500 ml-Flasche:

Der Mittelteil des Deckels wurde kreisförmig ausgeschnitten. Statt dessen wurden (geschichtet) zwei Silikonscheiben (Dicke: 2 mm) und zur Diffusionsabdichtung dazwischen eine Aluminiumscheibe verwendet. In der Aluscheibe befinden sich 2 Bohrungen, die größer sind als der Durchmesser der Zu- und Ableitungsröhrchen, in den Silikonscheiben sind die Löcher sehr klein, damit vollständige Abdichtung gewährleistet wird. Die gasdichte Verbindung zwischen den Zu- und Ableitungsröhrchen (1/8" Edelstahlrohr, Außendurchmesser 3,175 mm) und dem Drei-Wege-Ventil wird im Anhang 2 (Herstellung der Bodenluftsonden) beschrieben.

- Zur DEA-Bestimmung wurden 40 ml einer Lösung mit 25 mg NO₃⁻-N Liter⁻¹ und 150 mg Glukose-C Liter⁻¹ in jede Flasche mit einer Dispensette hinzugegeben und diese mit den zugehörigen Deckeln verschlossen (Abb. 2.10-A). Die verfügbaren N- und C-Mengen betragen somit ca. 50 µg N g⁻¹ und 300 µg C pro Gramm Bodenfrischgewicht. Die Zugabe erfolgte unmittelbar vor der Anaerobisierung.
- Je 9 Flaschen wurden seriell miteinander verbunden (Abb. 2.10-B) und mit N₂ zur Anaerobisierung mindestens 5 Minuten lang mit einer Flussrate von > 5 Liter min⁻¹ durchgespült. Dabei wurden die Flaschen einige Male leicht geschwenkt, um den O₂-/N₂-Austausch zwischen Bodensuspension (Wasser) und Gasphase zu beschleunigen. In dieser Zeit wurden die nächsten 9 Flaschen bereits zur Anaerobisierung vorbereitet (Zugabe der DEA-Lösung, Schließen der Deckel, Aufsetzen der Verbinder), so dass die N₂-Versorgung einfach auf die zweite Flaschenreihe umgesteckt werden konnte.
- Nach der Anaerobisierung wurde das Ventil zur N₂-Versorgung sowie das letzte Ventil in der Flaschenreihe geschlossen. Um als Innendruck in der Flasche den aktuellen Atmosphärendruck zu erhalten, wurde jeweils das N₂-Zuleitungsventil geschlossen, während der Verbinder zur nächsten Flasche bei geöffnetem Auslassventil (und geschlossenem Einlassventil der zweiten Flasche) abgenommen wurde (Druckausgleich bei längerer Diffusionsstrecke). Nach Druckausgleich (ca. 2 – 3 Sekunden) wurde auch das Auslassventil geschlossen. Der aktuelle Luftdruck wurde notiert.
- Auf den Eingang (*male connector*) des Ventils, aus dem die Proben gezogen werden sollten, wurde ein Stopfen gesetzt, um das Ansaugen von O₂-haltiger Luft (Probenkontamination) bei der Beprobung zu verhindern (Abb. 2.10-A, -C).

- Anschließend wurden etwa 50 ml vom Innenvolumen jeder Flasche mit einer Spritze entfernt (Aufziehen der Spritze auf 55 ml). Durch Öffnen der entsprechenden Ventile (Abb. 2.10-C) wurde aus einem (schlaffen) Gassack frisch abgefülltes Acetylen bis zum Druckausgleich (=Atmosphärendruck) zugegeben. Auf diese Weise betrug die C_2H_2 -Konzentration in der Gasphase etwa 10 %, wie zur vollständigen Inhibierung der N_2O -Reduktase benötigt (KLEMETSON *et al.* 1990; KNOWLES 1990). Der Vorgang von der Lösungszugabe bis zur C_2H_2 -Addition dauerte für alle 18 Flaschen etwa 15 Minuten.

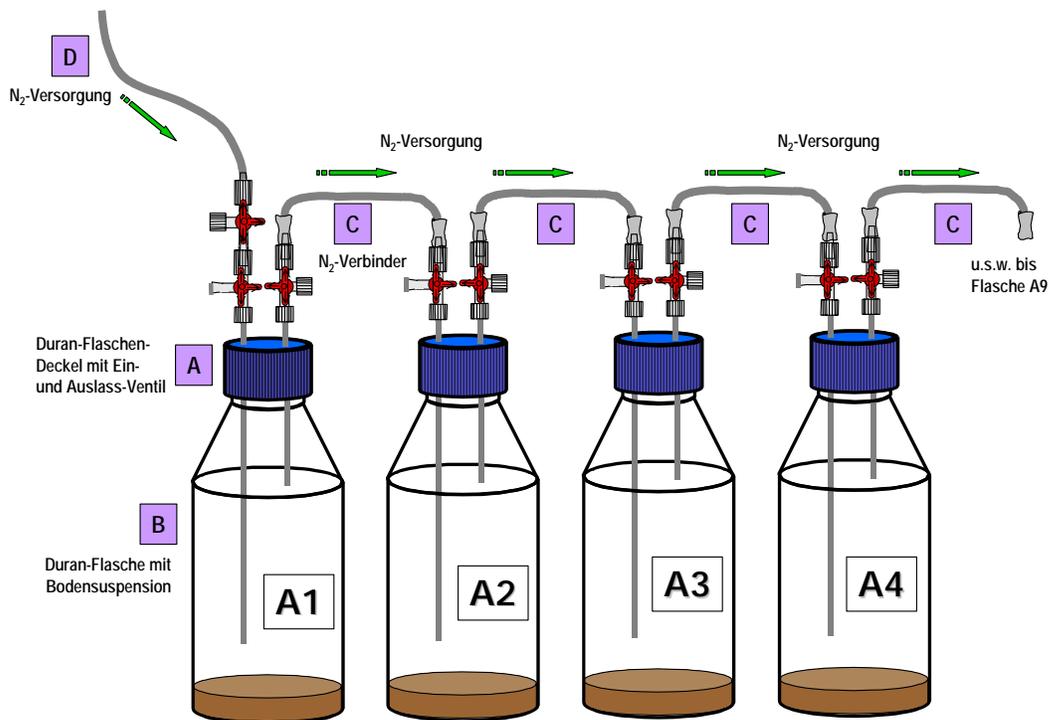


Abbildung 2.10-B: Anaerobisieren der Bodensuspensionen. **A:** Modifizierte Deckel (Abb. 2.10-A); **B:** Flasche mit Bodensuspension; **C:** Flaschen-Verbinder; **D:** N_2 -Zuleitung

- Die 18 anaerobisierten Flaschen wurden auf einem Schüttler (E. Bühler, Tübingen, Typ SM1) bei Stufe 7½ im klimatisierten GC-Container inkubiert.
- Nach 10 - 20 Minuten (t_1 -Proben) wurden aus jeder Flasche über das Einlaßventil 50 ml Startprobe entnommen und die entsprechende Menge über das Auslaßventil aus einer vorbereiteten Gastüte ersetzt (10 %iges N_2/C_2H_2 -Gemisch). Die Flaschen wurden nacheinander für die Entnahme vom sich bewegenden Schüttler genommen und danach sofort zurück gestellt.
- Nach genau 30 weiteren Minuten Inkubationsdauer wurden – im gleichen zeitlichen Abstand wie bei der Startprobe – die Flaschen nacheinander vom rotierenden Schüttler genommen und die Endprobe gezogen (t_2 -Probennahme).

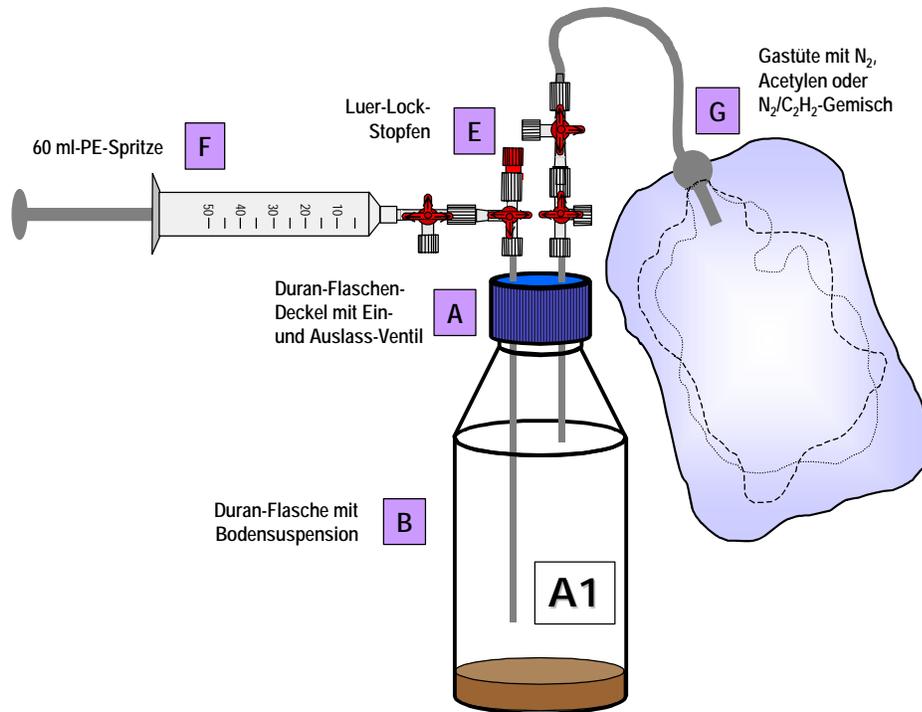


Abbildung 2.10-C: Probennahme mit PE-Spritze (F) aus einer Inkubationsflasche (A, B). Zur Ergänzung des entnommenen Gas-Volumens war eine Gastüte angeschlossen (G). Die Ergänzung erfolgte nach dem Schließen der Einlaß- und Spritzen-Ventile durch Öffnen des Auslaßventils. Der Stopfen (E) verhinderte die Kontamination der Flaschenatmosphäre durch O₂-haltige Luft beim Betätigen des Einlaßventils.

- Um die Dichtigkeit der Inkubationsflaschen grob zu überprüfen, blieben diese nach Probenentnahme ca. eine Minute lang stehen. Öffnete man dann eines der Ventile zur Atmosphäre, war bei Dichtigkeit der Flasche der Lufteinstrom hörbar. Fehlendes Zischen wurde notiert und die Werte dieser Flasche gegebenenfalls (s.u.) verworfen.
- Die 36 gezogenen Gasproben wurden innerhalb von 24 h am GC auf N₂O und CH₄ analysiert, wobei zur Eichung der höchste Standard, E3 (20.000 ppb N₂O) verwendet wurde.

2.10.3 Berechnung der DEA-Ergebnisse

Berechnet wurde zunächst die zu beiden Probenahmezeitpunkten pro Flasche vorhandene Menge an N₂O-N, zuzüglich der unter den herrschenden Druck- und Temperaturbedingungen in der wässrigen Phase gelösten N₂O-Menge. Hierzu wurde die Gleichung nach WEISS & PRICE (1980) verwendet¹; zur Gleichung für $Solv_{N_2O}$, **2-XI** und **2-II**, siehe Abschnitt 2.10, Acetylen-Inhibierung):

¹ Die Salinitätskomponente der Gleichung von WEISS & PRICE (1980), ermittelt für Seewasser, wurde bei der Berechnung nicht verwendet, da der Salzgehalt in der DEA- und Bodenlösung vernachlässigbar war.

$$\mu\text{g } N_2O - N(t_{1,2}) = cN_2O \times 10^{-9} \times \frac{V_{Flasche} \times p \times 100 \times MG_{N_2O-N}}{R \times T(t_{1,2})} \times 10^6 + Solv_{N_2O} \quad \text{Gl. 2-X}$$

<u>mit:</u>	$t_{1,2}$	Probenahmezeitpunkt 1 (Start) und 2 (Ende)
	cN_2O	Konzentration N_2O in ppb [$\mu\text{l}/\text{m}^3$]
	$V_{Flasche}$	Volumen der Flasche abzüglich Bodensuspension [m^3]
	p	aktueller Luftdruck bei Ventilschluss [hPa]
	MG	Molekulargewicht N_2O-N : 28 g mol^{-1}
	R	allgemeine Gaskonstante = $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
	T	Temperatur in Kelvin [K]

Zu der t_2 -Probenmenge wurde die mit der Spritze zum Zeitpunkt t_1 aus der Gasphase entnommene N_2O-N -Menge hinzu gerechnet. Anschließend wurde die im Zeitraum zwischen t_1 und t_2 produzierte N_2O-N -Menge, bezogen auf das Bodentrockengewicht, berechnet (in $\mu\text{g N kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$):

$$\frac{\mu\text{g } N_2O - N(t_2) - \mu\text{g } N_2O - N(t_1)}{t_{ink} \times TG_{Bodenprobe}} \times 60 \times 1000 \quad \text{Gl. 2-XIII}$$

<u>mit:</u>	t_{ink}	Inkubationsdauer von t_1 bis t_2 [min], i.d.R. 30 Minuten
	$TG_{Bodenprobe}$	Trockengewicht der eingewogenen Bodenprobe, berechnet über den pro Ring bestimmten Wassergehalt des Bodens [g]

Wurde am Ende des Versuchs bei einer Flasche eine grobe Undichtigkeit festgestellt (fehlendes Zischen), oder lag der Methanwert bereits bei der ersten Probenahme über 200 ppb (was nach Vorversuchen hierzu mangelnde Anaerobiose anzeigte), so wurden die Ergebnisse dieser Flaschen nicht verwendet.

2.11 Bestimmung der Netto-Nitrifikationsraten

2.11.1 Theorie, Auswahl der Methode und Durchführung

Auch beim Prozeß der Nitrifikation könnten durch erhöhtes CO_2 Änderungen eintreten (siehe Hypothesenbildung, 4.2). Daher wurde nach einer Methodik gesucht, mit der dieser Prozeß im Vergleich der beiden CO_2 -Behandlungen untersucht werden kann.

Die klassische, herkömmliche Freiland-Methode zur Bestimmung der Netto-Nitrifikationsrate (RUNGE 1965; RUNGE 1970) besteht darin, Beutel mit Bodenproben im Freiland zu vergraben, sie dort 6 Wochen zu belassen und vorher und nachher naßchemisch

den Nitratgehalt zu bestimmen. Diese Methode liefert also integrierend über 6 Wochen nur einen einzigen Wert. Neben der zeitlich sehr schlechten Auflösung kann die Reaktion der Nitrifikation auf sich kurzfristig ändernde Umweltbedingungen mit dieser "buried bag method" nicht erfasst werden.

Eine weitere mögliche Methode wäre die Messung der Brutto-Nitrifikationsrate über die ^{15}N -Verdünnungs-Methode (Bsp. BARRACLOUGH 1997; BURNS *et al.* 1996; JAMIESON *et al.* 1998; STEVENS *et al.* 1997), bei der eine bestimmte Menge markiertes Nitrat in den Boden appliziert wird. Sofort nach der Ausbringung sowie nach 1 bis 2 Tagen wird der Boden mit 2 M KCl ausgeschüttelt und die ^{15}N -Markierung analysiert. Der Grad der Verdünnung gibt Auskunft über die per Nitrifikation hinzu produzierte Menge nicht-markierten Nitrats. Abgesehen von der unerwünschten Destruktivbeprobung (es werden größere Boden-Mengen benötigt) bestand nicht die Möglichkeit, ^{15}N -Analysen durchzuführen. Zudem würde die Ausbringung von Nitrat in einem N-limitierten Grünland in einem Langzeit-Versuch wie dem Gießener FACE-Experiment eine völlig inakzeptable Störung des Systems darstellen. Eine weitere Methode zur Messung der Brutto-Nitrifikationsrate existierte zu Beginn des FACE-Experiments nicht.

R. GASCHE² entwickelte 1998 eine Methode zur Quantifizierung von *in-situ*-Netto-Nitrifikationsraten in hoher zeitlicher Auflösung unter Laborbedingungen. Er griff dabei auf eine Labor-Methode zur Messung der potentiellen Netto-Nitrifikationsraten von LENSİ *et al.* (1986) zurück. Bei der Gasche-Methode wird die in einer Bodenprobe aktuell vorhandene Nitratmenge über endogen vorhandene Denitrifizierer-Populationen bei optimierten Denitrifikationsbedingungen (Anaerobiose, Zugabe von organischem Kohlenstoff, pH 7) zu N_2O konvertiert (bei gleichzeitiger Acetylen-Inhibierung der N_2O -Reduktase). Da kein Nitrat zugegeben wird, kann nur soviel N_2O entstehen, wie NO_3^- in der Probe vorhanden ist. N_2O ist um mindestens eine Größenordnung empfindlicher detektierbar als Nitrat mit herkömmlichen kolorimetrischen oder ionenchromatographischen Methoden, und die Umsetzung von NO_3^- -N zu N_2O ist nahezu vollständig (GASCHE 1998). Diese Methode kommt mit relativ geringen Bodenmengen aus; sie wurde daher als geeignetste Methode ausgewählt und an die gegebenen Verhältnisse des Lindener Grünlands adaptiert:

GASCHE (1998) wog aus einer Bodenprobe 6 Aliquots à 5 g in Inkubationsflaschen ein, von denen 3 zur sofortigen Nitrat-Bestimmung durch Inkubation bestimmt waren ("Frischproben"). Drei weitere Gefäße wurden zur Bewahrung des Wassergehalts (bei O_2 -Austausch für die Nitrifikation) mit Parafilm verschlossen und bei der aktuellen Freiland-Durchschnittstemperatur für ca. drei Tage in einem Wasserbad im Labor inkubiert ("Bebrütungsproben"). Danach wurden sie der gleichen Prozedur unterzogen wie die Frischproben: Suspendieren der Proben in einer glukosehaltigen Pufferlösung (pH 7, 2 ml pro Gramm Frischgewicht), Anaerobisieren mit N_2 , und Inkubation auf einem Schüttler bei 25-30 °C bis zum Erreichen eines konstanten Endwerts. Die Differenz der Nitrat-Konzentration (ermittelt als N_2O -N) zwischen der Bebrütungs- und

² Rainer Gasche, Fraunhofer-Institut Atmosphärische Umweltforschung (IFU), Kreuzeckbahnstraße 19, 82467 Garmisch-Partenkirchen

der Frischprobe, bezogen auf kg Bodentrockengewicht und aerobe Inkubationszeit der Bebrütungsproben (in Tagen), lieferte die Netto-Nitrifikations-N-Nachlieferungsrate.

Modifiziert wurde die Methodik gegenüber der von GASCHE (1998) beschriebenen Durchführung in folgenden Punkten:

- Wie für die DEA (2.10) wurden in vier Quadranten eines CO₂-Rings kleine Bodensäulen (0 – 6 cm Tiefe, 2,4 mm Durchmesser) für eine Mischprobe pro Ring entnommen.

In der Regel wurden die DEA und die Bestimmung der Netto-Nitrifikationsraten gemeinsam und aus der gleichen Mischprobe durchgeführt. So mußte z.B. nur einmal der Wassergehalt bestimmt werden und nur einmal die CO₂-Ringe betreten werden (Minimierung des destruktiven Eingriffs).

- Es wurden die DEA-Inkubationsflaschen (500 ml Duran-Glasflaschen mit GL 45 ISO-Gewinde) mit einem effektiven Volumen von 604,5 ml verwendet (Gasche: 250 ml-Flaschen). Da aus methodischen Gründen größere Probenvolumina zur GC-Analyse entnommen werden mußten waren größere Probengefäße nötig.
- Die Einwaage des Bodenfrischgewichts wurde von 5 auf 15 g pro Inkubationsflasche erhöht, da der Lindener Graslandboden sehr viel geringere Nitratkonzentrationen (stets um Null) aufweist als der Höglwald-Boden. Die Probenmenge wurde nicht *noch* größer gewählt um den Grünlandboden-Verbrauch gering zu halten.
- Entsprechend wurden 30 ml (statt 10 ml) einer 10 mM Phosphat-Pufferlösung mit 1,44 mg Glukose-C ml⁻¹ (20 mM) zugegeben
- Zur Inkubation, Anaerobisierung und Probenentnahme wurden dieselben Gerätschaften benutzt und so vorgegangen wie unter 2.10 (DEA) beschrieben
- Die aerobe Inkubation der Bebrütungsproben erfolgte in einem Sandbeet auf dem Versuchsfeld statt in einem Wasserbad im Labor (vgl. 2.10, Trennung von N₂O aus Nitrifikation und Denitrifikation). Hierbei wurden die mit Parafilm verschlossenen Inkubationsflaschen bis zum Hals eingegraben und mit Aluminiumfolieüberzogenen Untersetzern gegen die Sonneneinstrahlung geschützt (vgl. 2.10). Die Inkubationsbedingungen waren daher "freilandnah", die Proben den gleichen Temperaturschwankungen ausgesetzt wie der Grünlandboden des Versuchsfelds.
- Aus methodischen Gründen musste die Probennahme mit den 60 ml-PE-Spritzen erfolgen (je 50 ml) (Gasche: 100 µl, Direktinjektion auf die GC-Trennsäulen); das entnommene Volumen wurde durch 50 ml eines Gemischs aus N₂/C₂H₂ (90/10 %) ersetzt und die entnommene Menge N₂O-N bei der Berechnung berücksichtigt.
- Die anaerobe Inkubation wurde im GC-Container auf der Versuchsfläche durchgeführt, d.h. bei etwa 20 °C statt wie bei Gasche bei 25-30 °C. Da die vorhandenen Nitratmengen trotz der höheren Einwaage sehr viel geringer waren als bei Gasche, dauerte die Inkubation einer Probe bis zur Wertekonstanz in etwa 40 bis 60 Stunden (Gasche: Etwa 100 Stunden).

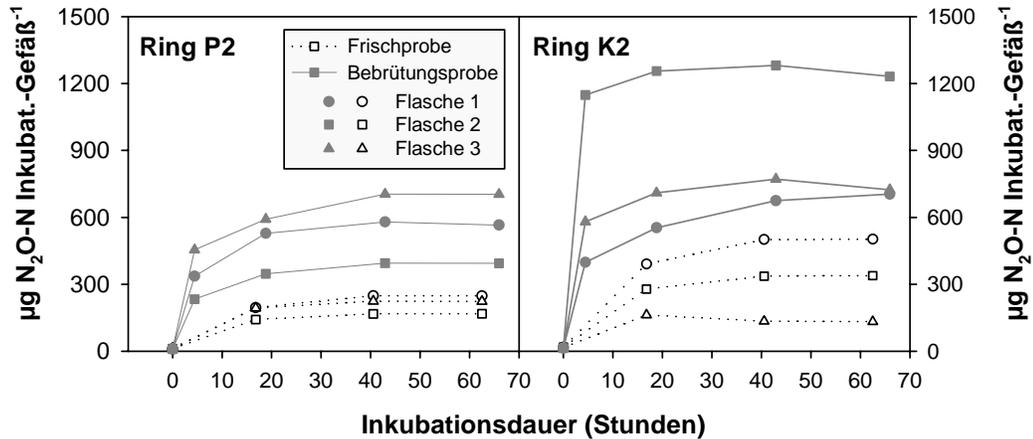


Abbildung 2.11-A: Beispiel eines Inkubationsverlauf der Frisch- und Bebrütungsproben (Beginn: 05.11.1998). Der Endwert wurde bei 20 °C (Schüttler Stufe 7½) jeweils nach knapp 2 Tagen erreicht.

2.11.2 Auswertung und Berechnung der Ergebnisse

Berechnet wurde zunächst anhand der Gleichungen 2-X bis 2-XIII die bis zum Entnahme-Zeitpunkt t_n produzierte N_2O-N -Menge (d.h. zuzüglich der durch die Probenahmen entfernten N -Mengen und des in der wässrigen Phase gelösten N_2O-N) in $\mu\text{g N kg}^{-1}$ Bodentrockengewicht. Der während der Inkubation aufgetretene Maximalwert (vgl. Abb. 2.11-A) wurde als die in der Probe vorhandene Nitratmenge verwendet. Die Netto-Nitrifikationsrate in $\mu\text{g N kg}^{-1} \text{Tag}^{-1}$ wurde für jeden Ring wie folgt errechnet:

$$\mu\text{g N kg}^{-1} \text{Tag}^{-1} = \frac{MW(BP_{1-3}) - MW(FP_{1-3})}{t_{\text{inkub}}} \quad \text{Gl. 2-XIV}$$

mit: $MW(BP_{1-3})$ Mittelwert der Bebrütungsproben 1 bis 3 [$\mu\text{g N kg}^{-1}$]

$MW(FP_{1-3})$ Mittelwert der Frischproben 1 bis 3 [$\mu\text{g N kg}^{-1}$]

t_{inkub} Inkubationsdauer der Bebrütungsproben in Tagen

Bei der Inkubationsdurchführung und Auswertung der Analyseergebnisse (N_2O - und CH_4 -Werte) wurden die gleichen Dichtigkeits-Kriterien angewendet wie bei der DEA-Auswertung (vgl. 2.10), d.h. Flaschen mit deutlicher Undichtigkeit bzw. zu hohen Methanwerten wurden von der Mittelwertberechnung ausgeschlossen.

2.12 Die Bodenluftsonden-Methodik: Entwicklung und Anwendung

Da viele Ergebnisse des Vorversuchs Fragen bezüglich der Spurengasdynamik in der vertikalen Bodensäule aufwarfen (siehe Anhang 4), wurde nach einer Idee von (JACINTHE & DICK 1996) eine einfache, kostengünstige Methode der Messung von Spurengas-Konzentrationen in der Bodenluft entwickelt. Entwicklung, Herstellung, Einbau in den Boden und die Beprobung wird in Anhang 2 (bzw. in KAMMANN *et al.* 2001a) beschrieben.

2.13 Methanproduktion: Inkubation von Bodenkernen

2.13.1 Entnahme der Bodenproben-Kerne

Um das Methan-Produktions-Potential des intakten Grünlandbodens zu ermitteln, wurden am 14. Oktober 1998 nach heftigen Regenfällen auf einer Fläche von 0,25 m² 10 Bodenkerne mit Stechzylindern (H: 4 cm, Ø 6 cm) aus 1 bis 5 cm Bodentiefe entnommen. Hierfür wurde zuvor die Grasnarbe einschließlich Wurzelfilz (= 0 bis 1 cm Tiefe) mit einem Messer entfernt. Die Kerne wurden auf speziellen Keramik-Platten platziert, an die eine Saugspannung entsprechend 630 mm Wassersäule angelegt wurde, um sie auf Feldkapazität herunter zu entwässern. Jegliche Art von eingeschlossenem organischen Material (Pflanzenwurzeln, Regenwürmer etc.) verblieb in den Kernen. Nachdem die Kerne einen Tag später Feldkapazität erreicht hatten, wurden sie mitsamt den Stechzylindern in Inkubationskammern aus Poly-Oxy-Methylen eingeschlossen (Methodik: WACHINGER *et al.* 2000) und bis zur Anaerobiose mit N₂ durchspült (Abb. 2.13-A). Die Inkubation erfolgte im klimatisierten GC-Meßcontainer auf dem Versuchsfeld bei 20 ± 2°C für 3,5 Monate.

2.13.2 Langzeit-Inkubation bei konstanter Temperatur

Anfangs erfolgte die Inkubation statisch wie bei WACHINGER *et al.* (2000), mit wöchentlichen Probenahmen, bei denen 50 ml N₂-Gas durch den Kern gespült und am gegenüberliegenden Ende mit einer Spritze aufgefangen wurde. Bereits nach 3 bis 4 Wochen (von Kern zu Kern verschieden) jedoch waren viele der zu messenden CH₄-Werte so hoch, daß sie die Detektionsgrenze des GC weit überschritten.

Daher wurde eine N₂-Durchstrom-Technik entwickelt, bei der jede der 10 inkubierten Kammern kontinuierlich mit etwa 3,5 ml N₂ min⁻¹ durchströmt wurde. Die genaue Menge des N₂-Flusses wurde für jede Kammer alle 2 bis 4 Probenahmen am Gasaustritt mit dem Seifenblasen-Zählrohr auf 0,1 ml min⁻¹ genau bestimmt. Die Kontinuität des N₂-Flusses war hierbei sehr wichtig, da sich ein Gleichgewicht zwischen CH₄- und CO₂-Produktion und dem Austrag dieser Gase über das (v.a. durch die Grobporen des Kerns) durchströmende N₂ einstellte. Eine ungewollte Unterbrechung des kontinuierlichen N₂-Flusses (leer gelaufene N₂-Druckgas-Flasche Sylvester 1998/1999) zeigte, daß zur Wiedererlangung des Gleichgewichtszustandes mehrere Tage benötigt wurden.

Das trockene N₂-Gas wurde in diesem (und dem unter 2.13.3 beschriebenen) Versuch vor dem Durchströmen der inkubierten Kerne durch eine Waschflasche geleitet, um das Austrocknen der Kerne zu verhindern. Die Probenahmen erfolgten alle 2 bis 4 Tage. Die Durchström-Methode ermöglichte es, bereits nach zwei Stunden wieder eine Probe zu entnehmen: Bei einer Flussrate von 3,5 ml min⁻¹ wird das 50-ml Spritzenvolumen in 1¼ Stunden 5 mal ausgetauscht. Zur Probennahme wurden die über Silikon-Verbinder aufgesteckten Spritzen-Nadeln herausgezogen, der Spritzen-3-Wege-Hahn geschlossen und die Spritze vom *male-male*-Verbinder abgeschraubt. Danach wurde sogleich eine neue Spritze mit aufgesteckter Nadel auf den Verbinder geschraubt. Die Gasproben in den Spritzen wurden innerhalb von 24 h am GC auf CH₄ und CO₂ analysiert.

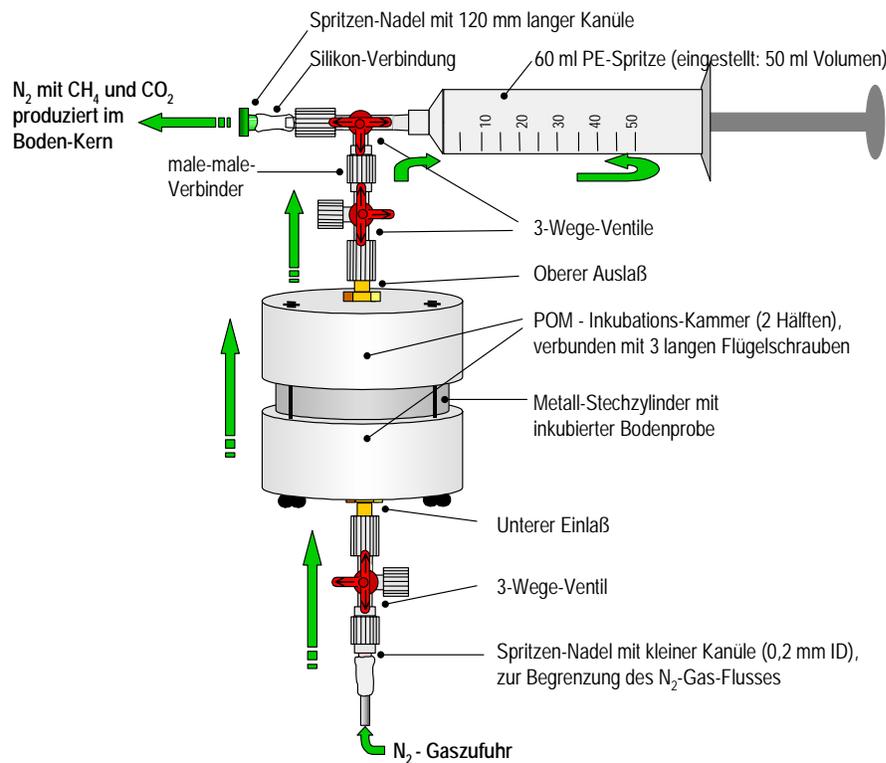


Abbildung 2.13-A: N₂-Durchstrom-Methode zur anaeroben Inkubation intakter Bodenkerne (verändert nach WACHINGER *et al.* 2000). Der N₂-Gasfluß wurde nach dem Passieren des Bodenkerne durch das Innenvolumen der aufgesteckten Spritze gelenkt, indem es durch die lange, gasdicht inserierte Spritzenkanüle abfloß, was eine gute Durchmischung in der Spritze gewährleistete.

2.13.3 Inkubation bei variablen Temperaturen

Zum Studium der Temperaturabhängigkeit der Methanogenese wurden die N₂-durchspülten Kammern am 9. Februar 1999 vom klimatisierten 20°C-GC-Container in den unbeheizten Zwischenraum gebracht, wo sie im Tagesgang Temperaturen von 2 bis max. 20°C ausgesetzt waren. In den ersten zwei Tagen wurde möglichst alle 2 Stunden eine Probe genommen, in der folgenden Zeit im Durchschnitt zwei pro Tag bei verschiedenen Temperaturen. In eine der nicht beprobten, aber N₂-durchströmten

Kammern wurde durch den oberen Auslaß bis in die Mitte des Kerns ein Temperaturfühler inseriert (Messung bei Probenahme). Das durchströmende N₂-Gas, das vorher durch Leitungen im Zwischenraum floß, erwärmte bzw. kühlte den Kern gleichmäßig.

2.14 Statistische Auswertung

Die statistische Prüfung der experimentellen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SigmaStat 2.0 sowie dem Graphikprogramm SigmaPlot in den Versionen 4.0 bis 6.0 (beide Programme Jandel Scientific, SPSS Inc., Chicago, USA). Zur statistischen Prüfung auf signifikante Unterschiede in den Mittelwerten zwischen zwei unabhängigen, normalverteilten Meßdatenreihen wurde der T-Test verwendet. Vor einem T-Test wurde stets ein Normalverteilungstest (Kolmogorov-Smirnov) und ein Test auf Varianzhomogenität (Levene-Test) durchgeführt; zeigten diese, daß die Daten nicht normalverteilt waren (was bei Spurengasfluß-Zeitreihen häufig der Fall war) so wurde der Nichtparametrische U-Test nach Mann und Whitney durchgeführt. In den Ergebnistabellen der Spurengas-Flußraten werden daher Minima und Maxima des gesamten Meßzeitraums angegeben. Zusätzlich werden zu den Mittelwerten mit Standardabweichung eines bestimmten Meßzeitraums auch die Medianwerte tabellarisch aufgeführt. Zur Analyse der Biomasse-Erntedaten wurden ebenfalls T-Tests bzw. U-Tests sowie die Zweifaktorielle ANOVA (Varianzanalyse) verwendet. Zu den Signifikanzniveaus siehe Tabelle 2.14-A.

Zur Überprüfung eines signifikanten linearen Zusammenhangs zwischen zwei Meßdaten-Zeitreihen wurde eine Korrelationsanalyse nach Pearson benutzt, oder, bei Nicht-Normalverteilung, der Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient berechnet (Korrelationskoeffizienten: Tab. 2.14-A). Zur Beschreibung der Stärke des Zusammenhangs wurde eine Regressionsgerade herangezogen. Hier bedeutet eine positive Steigung eine positive Beziehung zwischen abhängiger und unabhängiger Variable (Bsp. Bestandesatmung nimmt mit steigender Bodentemperatur zu), und eine negative Steigung eine gegenläufige Beziehung (Bsp. CH₄-Oxidation sinkt mit steigender Bodenfeuchte). Das Bestimmtheitsmaß B (oder R²) beschreibt die Güte der Gradenanpassung und gibt an, in welchem Ausmaß Veränderungen der unabhängigen Variablen die Veränderungen der abhängigen Variablen erklären können.

Tabelle 2.14-A: Einstufung der Korrelationsgüte und Signifikanzniveaus (nach ZÖFEL 1992)

Güte der Korrelation	Signifikanzniveau
$0 \leq r < 0,2$ sehr geringe Korrelation	$P > 0,05$ nicht signifikant
$0,2 \leq r < 0,5$ geringe Korrelation	$P \leq 0,05$ signifikant
$0,5 \leq r < 0,7$ mittlere Korrelation	$P \leq 0,01$ hoch signifikant
$0,7 \leq r < 0,9$ hohe Korrelation	$P \leq 0,001$ höchst signifikant
$0,9 \leq r < 1$ sehr hohe Korrelation	