

Umsatz und Stabilisierung von organischem Kohlenstoff in Böden

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt dem Rat der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von

Diplom-Chemikerin (Umweltchemie)

Christiane Kramer

geboren am 21. Januar 1975 in Arnstadt / Thüringen

Gutachter:

1. Prof. Dr. Günter Kreisel Institut für Technische Chemie und Umweltchemie
Friedrich-Schiller-Universität, Jena
2. PD Dr. Gerd Gleixner Max-Planck-Institut für Biogeochemie, Jena

Tag der öffentlichen Verteidigung: 17. November 2004

meinem lieben Freund Christian M. Schmidt gewidmet

Danksagung

Ich möchte allen danken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt,

PD Dr. Gerd Gleixner für die spannende Aufgabenstellung, seine immer währende Diskussionsbereitschaft und fachliche Hilfe,

Prof. Dr. Günter Kreisel für das stete Interesse am Fortgang der Arbeit sowie für die freundliche Betreuung von Seiten der Friedrich-Schiller-Universität Jena,

Dr. Lazlo Zelles (GSF Neuherberg) für die freundliche Aufnahme in seiner Arbeitsgruppe, für wertvolle Tipps und Diskussionen bezüglich der Phospholipide,

Dr. Dietmar Schlosser und Dr. Roland Geyer (UFZ Halle) für anregende Diskussionen über Mikroorganismen und Phospholipide,

Dr. Axel Steinhof (MPI-BGC) für die freundliche Unterstützung bei der ^{14}C -Analytik sowie für wertvolle Diskussionen diesbezüglich,

Prof. Dr. Pieter-Meiert Grootes und Janet Rethemeyer (Leibniz-Labor für Altersbestimmung und Isotopenforschung der Universität Kiel) für die freundschaftliche und erfolgreiche Zusammenarbeit bezüglich der substanzspezifischen ^{14}C -Altersbestimmung,

den Mitarbeitern des Isotopenlabors (MPI-BGC) unter der Leitung von Dr. Willi Brand und der Zentralen Analytik (MPI-BGC) unter der Leitung von Dr. Michael Rässler,

meinen Kollegen am MPI-BGC für die gute Zusammenarbeit im Labor, vor allem Dr. Jan Rothe für viele wertvolle Diskussionen und seine fachliche Hilfe sowie Steffen Rühlow für die technische Unterstützung bei der GC/MS-C-IRMS-Analytik,

Stefanie Lenk für ihre tatkräftige Unterstützung bei all der Laborarbeit, für ihre Freundschaft und die gute Laune, die sie stets mitbrachte,

meinem lieben Freund Christian M. Schmidt, dem ich ganz herzlich für viele anregende fachliche Diskussionen, seine Geduld und das Verständnis danke, das er mir während der Anfertigung dieser Arbeit entgegenbrachte,

meinen Eltern Brigitte und Roland Kramer für die Ausbildung, die sie mir ermöglicht haben

sowie der Max-Planck-Gesellschaft und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung.

Diese Arbeit umfasst 119 Seiten, 56 Abbildungen, 12 Tabellen und 105 Literaturangaben.

Christiane Kramer

Jena

Max-Planck-Institut für Biogeochemie

2004

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	iii
Tabellenverzeichnis.....	vii
Abkürzungsverzeichnis.....	viii
1 Einleitung	1
2 Material und Methoden	4
2.1 Proben und Standorte	4
2.2 Probenvorbereitung.....	8
2.3 Analysen an der organischen Bodensubstanz	9
2.3.1 Elementaranalyse zur Bestimmung der C- und N- Gehalte	9
2.3.2 Isotopenanalysen zur Bestimmung der C- und N- Isotopenverhältnisse.....	9
2.3.3 Bestimmung von ¹⁴ C-Gehalten.....	10
2.4 Extraktion von Phospholipidfettsäuren aus Bodenproben.....	12
2.5 Analyse substanzspezifischer ¹³ C-Gehalte.....	17
2.6 Probenvorbereitung zur Analyse substanzspezifischer ¹⁴ C-Gehalte	21
2.6.1 Isolierung von Phospholipidfettsäuren	21
2.6.2 Probenaufbereitung isolierter Phospholipidfettsäuren.....	22
2.7 Statistik	23
3 Ergebnisse und Diskussion	24
3.1 Bestimmung von Umsatzraten der organischen Bodensubstanz durch natürliche Markierungsexperimente.....	24
3.1.1 Natürliche Isotopenmarkierungen in C3- und C4-Pflanzen	24
3.1.2 Berechnung von Umsatzraten anhand von ¹³ C-Gehalten	26
3.1.3 Bestimmung der Verweilzeiten anhand von ¹⁴ C-Gehalten.....	29
3.2 Charakterisierung und Umsatzraten der organischen Bodensubstanz.....	32
3.2.1 Elementgehalte (C, N) und Isotopenverhältnisse ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert, $\delta^{15}\text{N}$ -Wert).....	32
3.2.2 Einfluss der Menge des eingetragenen Pflanzenmaterials auf Elementgehalte (C, N) und Isotopenverhältnisse ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert, $\delta^{15}\text{N}$ -Wert).....	39
3.2.3 Zeitliche Veränderungen der C-Gehalte und ¹³ C-Gehalte nach dem Vegetationswechsel	42

3.2.4	Abhängigkeit der ^{14}C -Gehalte der OBS von Standort und Menge an eingetragendem Pflanzenmaterial.....	44
3.2.5	Kohlenstoffumsatz.....	47
3.3	Molekulare Umsatzraten der organischen Bodensubstanz anhand von Pyrolyseprodukten.....	49
3.3.1	Pyrolyse organischer Bodensubstanz	49
3.3.2	Pyrolyseprodukte der organischen Bodensubstanz und des in den Boden eingetragenen Pflanzenmaterials	50
3.3.3	^{13}C -Isotopenverhältnisse der Pyrolyseprodukte	54
3.3.4	Umsatzraten der verschiedenen Kohlenstoffpools im Boden	58
3.3.5	Rückschlüsse aus Pyrolyseprodukten zur Stabilität organischer Bodensubstanz	59
3.4	Phospholipidfettsäuren als Biomarker des aktiven Kohlenstoffpools	62
3.4.1	Herkunft und Zusammensetzung von Phospholipidfettsäuren in Böden	62
3.4.2	Die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften.....	67
3.4.3	Einfluss der Bodentiefe und Menge an eingetragendem Pflanzenmaterial auf die mikrobielle Biomasse	70
3.4.4	Substanzspezifische ^{13}C -Isotopenanalyse an Phospholipidfettsäuren.....	72
3.4.4.1	Methodenüberprüfung zur substanzspezifischen ^{13}C -Analyse.....	72
3.4.4.2	Identifizierung mikrobieller Kohlenstoffquellen.....	74
3.4.4.3	Einfluss der Bodentiefe auf mikrobielle Kohlenstoffquellen	78
3.4.4.4	Einfluss der Menge an eingetragendem Pflanzenmaterial auf die Nutzung unterschiedlicher mikrobieller Kohlenstoffquellen	84
3.4.4.5	Abhängigkeit der ^{13}C -Isotopengehalte der Phospholipidfettsäuren von Standortfaktoren und Menge an eingetragendem Pflanzenmaterial.....	87
3.4.5	^{14}C -Gehalte mikrobieller Biomasse.....	90
3.4.5.1	Methodenüberprüfung zur substanzspezifischen ^{14}C -Analyse.....	91
3.4.5.2	Einfluss der Bodentiefe auf die ^{14}C -Gehalte mikrobieller Biomasse	97
3.4.5.3	^{14}C -Gehalte mikrobieller Biomasse an unterschiedlichen Standorten	100
3.4.6	Rückschlüsse aus Phospholipidfettsäuren zur Speicherung von organischem Kohlenstoff durch Mikroorganismen im Boden.....	103
4	Zusammenfassung	108
5	Literatur	111

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Das Julius-Kühn Versuchsfeld in Halle.	4
Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Beschleunigermassenspektrometers.	11
Abbildung 3: Schematische Darstellung zur Auftrennung der Phospholipide und Phospholipidfettsäuren (PLFA).	13
Abbildung 4: Gaschromatogramme des Gesamtextraktes und der einzelnen PLFA-Fractionen.	16
Abbildung 5: Kopplung eines Gaschromatographen an ein Ionenfallenmassenspektrometer und an ein Isotopenverhältnismassenspektrometer (GC/MS-C-IRMS).	17
Abbildung 6: Fragmentierung und Massenspektrum des Dimethyldisulfid-Derivates der FAME 18:1 (ω 11).	19
Abbildung 7: Kopplung eines Gaschromatographen an einen präparativen Fraktionssammler.	21
Abbildung 8: Fixierung von CO ₂ und Bildung von <i>Glycerat-3-phosphat</i> als erstes Photosyntheseprodukt bei der Photosynthese in C ₃ -Pflanzen.	24
Abbildung 9: Vorfixierung von CO ₂ bei der Photosynthese in C ₄ -Pflanzen sowie Transport von Malat und NADP ⁺ aus den Mesophyllzellen in die Bündelscheidenzellen.	26
Abbildung 10: Schema eines natürlichen ¹³ C-Markierungsexperimentes.	27
Abbildung 11: Atmosphärischer $\Delta^{14}\text{CO}_2$ Trend über Europa. Die ¹⁴ C-Daten bis 1959 stammen von Baumringen, (Stuiver & Quay, 1981) spätere Daten sind von Luftproben der Stationen Vermunt (Österreich), Jungfrauoch (Schweiz) und Schauinsland (Deutschland) (Levin & Kromer, submitted; Levin <i>et al.</i> , 2003).	31
Abbildung 12: C- und N-Gehalte sowie C/N-Verhältnisse der organischen Bodensubstanz der C ₃ und C ₄ -Böden des Standortes Rothalmünster in 0-100 cm Bodentiefe.	33
Abbildung 13: ¹³ C- und ¹⁵ N-Gehalte der C ₃ - und C ₄ -OBS von Rothalmünster im Bodenprofil.	34
Abbildung 14: C- und N-Gehalte der C ₃ - und C ₄ -OBS sowie die C/N-Verhältnisse im Bodenprofil, U = ungedüngt, NPK = mineralisch gedüngt.	36
Abbildung 15: ¹³ C- und ¹⁵ N-Gehalte der C ₃ - (gefüllte Symbole) und C ₄ -OBS (offene Symbole); aus ungedüngten (U) und mineralisch gedüngten (NPK) Böden nach der Vegetationsumstellung.	37
Abbildung 16: Stickstoff- und ¹⁵ N-Isotopengehalte der OBS von Archivproben der ungedüngten Böden einer Zeitreihe.	38

Abbildung 17: Kohlenstoff- und ^{13}C -Isotopengehalte der OBS von Archivproben der ungedüngten Böden einer Zeitreihe.....	43
Abbildung 18: ^{14}C -Gehalte der organischen Bodensubstanz der Standorte Halle und Rotthalmünster im Bodenprofil.	44
Abbildung 19: ^{14}C -Gehalte der C3- und C4-OBS bei verschiedenen Mengen an eingetragendem Pflanzenmaterial.....	46
Abbildung 20: Pyrogramme der Wurzelproben, spezifische Pyrolyseprodukte sind unterstrichen.....	53
Abbildung 21: Pyrogramme der organischen Bodensubstanz, spezifische Pyrolyseprodukte sind unterstrichen.....	53
Abbildung 22: ^{13}C -Gehalte der Pyrolyseprodukte des C3- und C4-Pflanzenmaterials.	54
Abbildung 23: ^{13}C -Gehalte der Pyrolyseprodukte der C3- und C4-OBS 16 Jahre nach dem Vegetationswechsel.....	55
Abbildung 24: Boxdiagramm der ^{13}C -Isotopengehalte der Pyrolyseprodukte der C3- und C4-OBS. Die Mittelwerte der C3-OBS und der C4-OBS sind jeweils miteinander verbunden.....	56
Abbildung 25: Differenzen der ^{13}C -Gehalte der Pyrolyseprodukte verschiedener Ausgangsmaterialien seit dem Vegetationswechsel.	57
Abbildung 26: Mittlere Verweilzeiten der Bestandteile organischer Bodensubstanz anhand von Pyrolyseprodukten der OBS nach 16, 38 und 39 Versuchsjahren am Standort Halle.	59
Abbildung 27: Mittlere Verweilzeiten von Ausgangsmaterialien der einzelnen Pyrolyseprodukte des Standortes Halle (gefüllt) und des vergleichbaren französischen Standortes Boigneville (ungefüllt).....	61
Abbildung 28: Die Struktur eines Phospholipids (links) und einige charakteristische PLFA (rechts) a) 18:0 gesättigt; b) 20:1 (ω 11) einfach ungesättigt; c) 17:0 cyclopropyl; d) 15:0 iso; e) 15:0 anteiso.	62
Abbildung 29: Phospholipide als Strukturelemente biologischer Membranen, links: Bilayer-Anordnung von Phospholipiden, rechts: Modell einer Zellmembran mit Membranproteinen.....	63
Abbildung 30: Gaschromatogramme der PLFA aus C3- und C4-Böden.....	67
Abbildung 31: Gaschromatogramme der PLFA aus C3- und C4-Pflanzen.	68
Abbildung 32: Hauptkomponentenanalyse der PLFA-Verteilungen analysierter Bodenproben aus C3- (gefüllt) und C4-Böden (ungefüllt).	71

Abbildung 33: Reproduzierbarkeit der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei wiederholter Extraktion.....	72
Abbildung 34: ^{13}C -Gehalte der PLFA aus C3- und C4-Böden, Mittelwerte und Differenzen ihrer ^{13}C -Gehalte.....	74
Abbildung 35: Die Differenzen der ^{13}C -Gehalte der einzelnen PLFA aus C3- und C4-Böden über ihren ^{13}C -Gehalten der PLFA des C4-Bodens.....	75
Abbildung 36: Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PLFA aus C4- und C3-Böden über den ^{13}C -Gehalten der PLFA des C4-Bodens.	76
Abbildung 37: Mittlere Verweilzeiten des Kohlenstoffs in PLFA des Standortes Halle in 0-20 cm Bodentiefe.....	77
Abbildung 38: Abhängigkeit mikrobieller Kohlenstoffquellen von der Bodentiefe, a) 0-20 cm, b) 20-40 cm, c) 40-60 cm.....	79
Abbildung 39: Boxplot der Differenzen der ^{13}C -Gehalte der gesättigten (sat) und einfach ungesättigten (mu) PLFA in drei verschiedenen Bodentiefen 0-20 cm (T1), 20-40 cm (T2) und 40-60 cm (T3).	80
Abbildung 40: Vergleich der Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PLFA aus 0-20 cm und 40-60 cm Bodentiefe.....	81
Abbildung 41: Mittlere Verweilzeiten von PLFA in den Bodentiefen 0-20 cm, 20-40 cm und 40-60 cm.	82
Abbildung 42: Mittlere Verweilzeiten mikrobieller Kohlenstoffquellen in verschiedenen Bodentiefen.	83
Abbildung 43: Die Abhängigkeit mikrobieller Kohlenstoffquellen von der Menge an eingetragendem Pflanzenmaterial, a) ungedüngt, b) mineralisch gedüngt c) organisch gedüngt.....	85
Abbildung 44: Hauptkomponentenanalyse der ^{13}C -Gehalte der PLFA der verschiedenen C3-Böden.	88
Abbildung 45: Hauptkomponentenanalyse der ^{13}C -Gehalte der PLFA der verschiedenen C4-Böden.	89
Abbildung 46: ^{14}C -Gehalte von Wurzeln, OBS, Bodenlipiden und Phospholipiden.....	90
Abbildung 47: ^{14}C -Gehalte der Standardfettsäuremethylester C12, C18 und C28 in gelöster und fester Form sowie in unterschiedlichen Probenmengen.	92
Abbildung 48: Ermittlung geeigneter Temperaturen zur präparativen Isolierung von Fettsäuremethylestern der Kettenlängen C12 bis C28	93
Abbildung 49: ^{14}C -und ^{13}C -Gehalte der FAME C12 und C18 vor und nach der präparativen Isolierung.	95

Abbildung 50: ^{14}C -Gehalte der FAME C12 und C18 bei unterschiedlichen Isolierungskampagnen.	95
Abbildung 51: PLFA-Fractionen und präparativ daraus isolierte PLFA.	96
Abbildung 52: ^{14}C -Gehalte von PLFA aus verschiedenen Bodentiefen.	97
Abbildung 53: ^{14}C -Gehalte der organischen Bodensubstanz, der Lipidfraktion und der Phospholipidfraktion aus C3- und C4-Böden verschiedener Bodentiefen (Fehlerbalken der $\Delta^{14}\text{C}$ -Werte sind stets kleiner als die Symbole).	98
Abbildung 54: Gegenüberstellung von ^{14}C -Gehalten und mittleren Verweilzeiten der PLFA (MW: Mittelwert).	99
Abbildung 55: Vergleich der ^{14}C -Gehalte der PLFA aus Böden mit hohen und niedrigen ^{14}C -Gehalten der OBS.	101
Abbildung 56: Gegenüberstellung der ^{14}C -Gehalte und mittleren Verweilzeiten der PLFA der Standorte Halle und Rotthalmünster (MW: Mittelwert).	102

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Bodentypen und Kenngrößen der Standorte Halle und Rotthalmünster.	6
Tabelle 2: Bearbeitete Bodenproben der Standorte Halle und Rotthalmünster.....	7
Tabelle 3: Der Einfluss der Eintragsmenge an Pflanzenmaterial auf die Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte sowie auf die ¹³ C- und ¹⁵ N-Isotopenverhältnisse der Ap-Horizonte.	40
Tabelle 4: Mittlere Verweilzeiten der organischen Bodensubstanz in verschiedenen Bodentiefen und unterschiedlichen Mengen an eingetragendem Pflanzenmaterial.	47
Tabelle 5: Pyrolyseprodukte der C3- und C4-OBS und dem Pflanzenmaterial (P), ihr Vorkommen in OBS oder P sowie zugehörige Ausgangsmaterialien, welche die Herkunft der Pyrolyseprodukte widerspiegeln.....	52
Tabelle 6: Charakteristische Phospholipidfettsäuren verschiedener Gruppen von Mikroorganismen.....	65
Tabelle 7: Phospholipidfettsäuren aus C3- und C4-Böden.	69
Tabelle 8: ¹³ C-Isotopenüberprüfung der SPE- Trennungsschritte (Statistik: einfaktorielle ANOVA mit N = 4).	73
Tabelle 9: Zuordnung der identifizierten PLFA zu verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen.....	76
Tabelle 10: Verschiebung der ¹³ C-Gehalte der OBS und der PLFA* mit zunehmender Bodentiefe (Halle).....	79
Tabelle 11: Verschiebung der ¹³ C-Gehalte von OBS und PLFA* mit zunehmender Bodentiefe (Rotthalmünster).	81
Tabelle 12: ¹³ C-Differenzen und mittlere Verweilzeiten (in Klammern) der PLFA bei verschiedenen Mengen an eingetragendem Pflanzenmaterial.	86

Abkürzungsverzeichnis

AMS	Accelerator Mass Spectrometry
C	Kohlenstoff
C3-Boden	Boden auf dem ausschließlich C3-Pflanzen angebaut werden
C3-Pflanze	Pflanze deren erstes Photosyntheseprodukt die Phosphoglycerinsäure, ein Molekül mit drei Kohlenstoffatomen ist
C4-Boden	Boden auf dem ausschließlich C4-Pflanzen angebaut werden
C4-Pflanze	Pflanze deren erstes Photosyntheseprodukt Malat, ein Molekül mit vier Kohlenstoffatomen ist
Ch	Chitin
C-IRMS	Combustion-Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie
FAME	Fettsäuremethylester
GC	Gaschromatographie
GC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
Gram ⁻	Gram- negativ
Gram ⁺	Gram- positiv
IRMS	Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie
Lig	Lignin
Lp	Lipid
MRT	mittlere Verweilzeit
MS	Massenspektrometrie
N	Stickstoff
NPK	Stickstoff-Phosphor-Kalium (mineralischer Dünger)
OBS	organische Bodensubstanz
P	Phenol
PEPC	Phosphoenolpyruvat-Carboxylase
PLFA	Phospholipidfettsäure
Pp	Polyphenol
Pr	Protein
Ps	Polysaccharid
Py	Pyrolyse
PyP	Pyrolyseprodukt
RubisCO	Ribulosebisphosphat-Carboxylase/Oxygenase
SPE	Solid Phase Extraction, Festphasenextraktion

U	ungedüngt
Us	unspezifisch/unbekannt

1 Einleitung

Böden enthalten mit ca. 1550 Gt den größten Teil des organisch gebundenen Kohlenstoffs terrestrischer Ökosysteme. Im Vergleich dazu, sind in der Biomasse der Landpflanzen ca. 560 Gt und in der Atmosphäre 750 Gt Kohlenstoff enthalten (Schlesinger, 1997). Die Gesamtheit aller organischen Substanzen im Boden wird als organische Bodensubstanz (OBS) bezeichnet. Durch den Einfluss der OBS auf alle Bodenfunktionen und dem stetigen Kohlenstoffaustausch der Böden mit der Atmosphäre spielen Böden eine entscheidende Rolle im globalen Kohlenstoffkreislauf. Je nach Art der Bodennutzung und Bewirtschaftung können Böden signifikante Auswirkungen auf das globale Klima haben, da zwischen Biomasseaufbau und Biomassezersetzung CO₂ entweder aus Böden emittiert oder in den Böden gebunden wird. Demzufolge könnten Böden durch gezieltes Management dahingehend beeinflusst werden, entweder mehr organischen Kohlenstoff zu speichern oder ihn zu emittieren.

Für die steigende globale Erwärmung ist der Anstieg der Konzentration des klimarelevanten Gases Kohlendioxid (CO₂) in der Atmosphäre verantwortlich. Der gezielte Aufbau von OBS und somit Festlegung von organischem Kohlenstoff im Boden, könnte jedoch dem weiteren Anstieg der CO₂-Konzentration in der Atmosphäre und damit der globalen Klimaveränderung entgegenwirken. Deshalb stehen seit einigen Jahren der Kohlenstoffkreislauf und im Besonderen die Funktion der Böden als mögliche Kohlenstoffquelle oder Kohlenstoffsenke im Schwerpunkt der Klimaforschung (IPCC, 2001; Jobbagy & Jackson, 2000; Scholes & Noble, 2001; Wang *et al.*, 1996).

Die Erforschung der Abbauprozesse und der Dynamik von organischem Kohlenstoff in Böden stellen dabei eine Schlüsselrolle im Verständnis der Senkenfunktion für Kohlenstoff in terrestrischen Ökosystemen dar (Gleixner *et al.*, 2001). Bisher ist jedoch über den Abbau von Pflanzenrückständen und deren Umsetzung, über den Verbleib von pflanzenbürtigem Kohlenstoff im Boden und vor allem zur Rolle von Mikroorganismen im Kohlenstoffkreislauf des Bodens nur wenig bekannt. Um organischen Kohlenstoff gezielt langfristig im Boden binden zu können, müssen zunächst die Mechanismen der Stabilisierung organischer Bodensubstanz erkannt werden. Unter Stabilisierung sind die mögliche Festlegung im Boden und damit der Erhalt des organischen Kohlenstoffs im Kohlenstoffkreislauf des Bodens zu verstehen. Dabei kann die Stabilität von organischem Kohlenstoff im Boden aufgrund der chemischen Struktur oder als Folge von Wechselwirkungen mit der Mineralmatrix gewährleistet sein (Six *et al.*, 2002; Sollins *et al.*, 1996). So sind Verbindungen, die aromatische Strukturen enthalten, wie Tannine und Lignin, gegenüber biologischem Abbau

lange beständig. Im Gegensatz dazu sind Glukose oder Cellulose leicht biologisch abbaubar und somit unbeständig. Die Stabilität durch Wechselwirkungen mit der Mineralmatrix beruht dagegen hauptsächlich auf dem Einschluss organischer Substanzen in der mineralischen Matrix und somit auf dem Schutz vor mikrobiellem Angriff (Baldock & Skjemstad, 2000; Hedges & Oades, 1997; Kaiser *et al.*, 2002). In diesen beiden Formen der Stabilisierung bleibt die molekulare Struktur der organischen Substanzen erhalten. Weitere Möglichkeiten organischen Kohlenstoff im Boden zu stabilisieren sind bisher nicht bekannt.

Um zu bestimmen, wie lange organischer Kohlenstoff im Boden festgelegt werden kann, sind Analysen des stabilen Kohlenstoffisotopes ^{13}C an der OBS und deren Bestandteilen möglich. Böden von Dauerversuchsflächen, die einem Vegetationswechsel von C3-Pflanzen zu C4-Pflanzen unterzogen wurden, sind dafür besonders geeignet, weil dadurch zwischen neu eingetragenen, C4-bürtigen, und bereits vorhandenem, C3-bürtigen Kohlenstoff unterschieden werden kann. Aus den gemessenen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten können dann mittlere Verweilzeiten der OBS und deren Bestandteilen berechnet werden. Dabei zeigte sich, dass die mittleren Verweilzeiten einzelner Subfraktionen der OBS, wie z. B. verschiedener Partikelgrößenfraktionen, stark von der mittleren Verweilzeit der OBS-Gesamtfraktion abweichen (Balesdent & Mariotti, 1996).

Um die Umwandlungs- und Stabilisierungsprozesse im Boden besser beschreiben zu können, wurde die OBS in Fraktionen unterschiedlicher Verweilzeiten und somit unterschiedlicher Stabilität unterteilt. Die drei Hauptfraktionen sind dabei 1) der aktive oder schnelle Kohlenstoffpool mit Verweilzeiten von einigen Jahren, 2) der langsame Kohlenstoffpool mit Verweilzeiten von ca. 100 Jahren und 3) der passive Kohlenstoffpool mit Verweilzeiten von 1000 Jahren (Jenkinson *et al.*, 1999; Jenkinson & Rayner, 1977; Parton *et al.*, 1987). Die Existenz dieser Kohlenstoffpools im Boden konnte bisher nicht verifiziert werden (Becker-Heidmann & Scharpenseel, 1992; Scharpenseel & Becker-Heidmann, 1992; Scharpenseel *et al.*, 1996). Neben der Analyse charakteristischer Fraktionen der OBS sind jedoch auch Analysen der OBS auf molekularer Ebene notwendig, um substanzspezifische Verweilzeiten zu bestimmen und somit die Mechanismen der Umwandlung und Stabilisierung von organischem Kohlenstoff im Boden zu erfassen.

Von Gleixner *et al.* (2002) konnte damit gezeigt werden, dass einige organische Materialien über 200 Jahre im Boden überdauern, obwohl deren Ausgangssubstanzen mikrobieller Herkunft sind und damit dem schnellen Kohlenstoffpool angehören. Dieses unerwartete Ergebnis deutet die Möglichkeit einer Stabilisierung von organischem Material innerhalb der mikrobiellen Biomasse an. Im Gegensatz zu den beiden anderen Formen der

Kohlenstoff-Stabilisierung, aufgrund der Chemie oder durch Wechselwirkungen mit der Mineralmatrix, würde die molekulare Struktur organischer Substanzen bei der Stabilisierung durch die mikrobielle Biomasse jedoch nicht erhalten bleiben. Ob der organische Kohlenstoff im Boden tatsächlich durch biologische Wiederverwertung im schnellen Kohlenstoffpool stabilisiert wird und welche Faktoren dies beeinflussen, kann jedoch nur durch Analyse von Biomarkern, charakteristischen Substanzen der mikrobiellen Biomasse, beantwortet werden. Eine direkte Möglichkeit die Verweilzeit und damit die Stabilität von organischem Kohlenstoff im Boden zu bestimmen ist die Messung der ^{14}C -Gehalte und damit die Bestimmung des Alters der entsprechenden Fraktionen und einzelnen Substanzen (Becker-Heidmann & Scharpenseel, 1992). Aus ^{13}C -Gehalten berechnete mittlere Verweilzeiten können dadurch verifiziert werden. Jedoch werden bei der Analyse von OBS oder Fraktionen auch nur mittlere ^{14}C -Gehalte bestimmt, da stets unbekannte Anteile der verschiedenen Kohlenstoffpools in der OBS als Gesamtfraktion und deren Subfraktionen enthalten sind. Wie die molekularen Verweilzeiten von Substanzen bekannter Herkunft anhand von ^{13}C -Gehalten, so würden auch nur substanzspezifische ^{14}C -Gehalte dieser Substanzen Aussagen zur Dynamik der verschiedenen Kohlenstoffpools ermöglichen. Derartige Daten terrestrischer Ökosysteme existieren aber bislang noch nicht.

In der vorliegenden Arbeit soll der Kohlenstoffumsatz verschiedener Bestandteile organischer Bodensubstanz auf molekularer Ebene untersucht werden, um die Ergebnisse von Gleixner *et al.* (2002) mit den Ergebnissen anderer Böden zu vergleichen. Es soll erfasst werden, wie lange verschiedene organische Materialien dem Kohlenstoffkreislauf des Bodens erhalten bleiben.

Als Biomarker der mikrobiellen Biomasse sollen Phospholipidfettsäuren (PLFA) analysiert werden, um die Funktion der Mikroorganismen beim Kohlenstoffumsatz in Böden näher zu untersuchen. Es soll bestimmt werden, wie lange organischer Kohlenstoff in der mikrobiellen Biomasse gespeichert werden kann. Ein weiteres Ziel besteht darin, mikrobielle Kohlenstoffquellen sowie den Einfluss von Bodentiefe und Menge an eingetragendem Pflanzenmaterial auf die Kohlenstoffquellen von Mikroorganismen zu erfassen. Dabei sind Unterschiede der einzelnen Gruppen von Mikroorganismen beim Kohlenstoffumsatz von besonderem Interesse. Durch die Bestimmung substanzspezifischer ^{14}C -Gehalte soll überprüft werden, ob die berechneten mittleren Verweilzeiten für PLFA mit den gemessenen ^{14}C -Gehalten übereinstimmen. Dadurch soll die biologische Wiederverwertung als Form der Stabilisierung von organischem Kohlenstoff im Boden bewiesen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Proben und Standorte

Für die vorliegende Arbeit wurden Bodenproben der Dauerversuchsflächen in Halle (Sachsen-Anhalt) und Rotthalmünster (Bayern) verwendet (Tabelle 1). An beiden Standorten wurden Vegetationswechsel von C3-Pflanzen (Roggen oder Weizen), zu C4-Pflanzen (Mais) durchgeführt.

Die Dauerversuchsfläche „Ewiger Roggen“ in Halle befindet sich auf dem *Julius-Kühn* Versuchsfeld des Institutes für Bodenkunde und Pflanzenernährung der Martin Luther Universität Halle-Wittenberg (Schmidt *et al.*, 2002) (Abbildung 1). Der Versuchsstandort liegt 113 m über NN auf einer Hochfläche, die sich östlich des Saale-Götsche-Tals und in Nord-Südrichtung zwischen Petersberg und der Reideniederung erstreckt. Der Boden wurde als Parabraunerde/ Tschernosem klassifiziert (Haplic Phaeozem) (Tabelle 1).

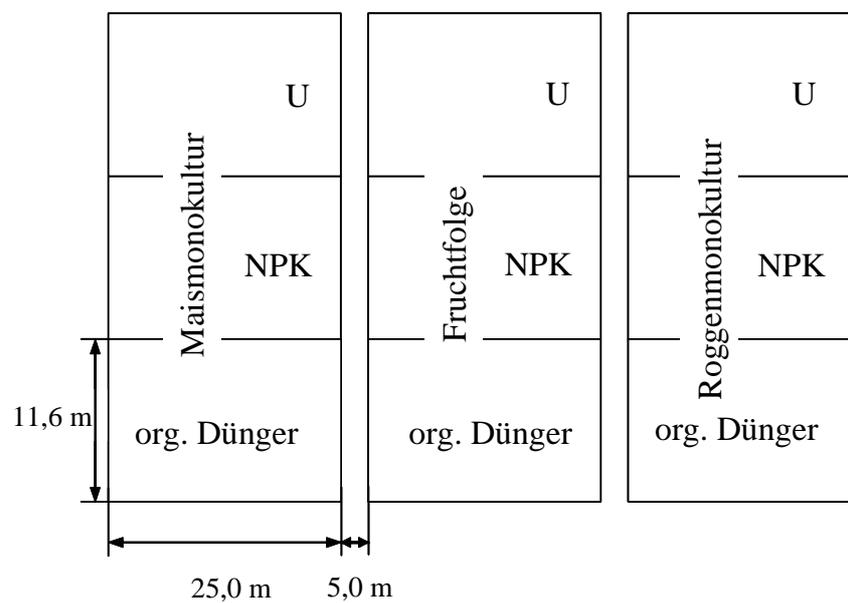


Abbildung 1: Das Julius-Kühn Versuchsfeld in Halle.

An diesem Standort wird seit 1878 Winterroggen (C3) als Monokultur angebaut. Zusätzlich wurden verschiedene Düngungsvarianten, mineralischer Volldünger (NPK), organische Düngung (Stallmist) und eine ungedüngte Kontrollvariante angelegt. Für die vorliegende Arbeit wurden Boden- und Pflanzenproben dieser drei Varianten bearbeitet (Tabelle 2), um

den Einfluss der Menge an eingetragenen Pflanzenmaterials auf den Kohlenstoffumsatz zu untersuchen. Im Herbst 1961 wurde ein Drittel der Roggen-Monokulturfläche auf Silomais- (C4) Monokultur umgestellt und ein weiteres Drittel auf Kartoffel-Roggen-Folge (Abbildung 1). Daraus ergab sich eine Teilstückgröße von 25 m × 11,60 m. Zwischen den Kulturen wurde ein Brachestreifen von 5 m Breite belassen. Die bereits bestehenden Düngungsvarianten wurden beibehalten. Nach der jährlichen Ernte wurden jeweils nur die Wurzeln mit Stoppelresten durch Pflügen in den Boden eingearbeitet. Die Pflugtiefe liegt bei 25 cm (Pflughorizont Ap). Die Entnahme von Bodenproben am Standort Halle erfolgte im September 2000 und 2001. Repräsentative Mischproben des jeweiligen Pflughorizontes (Ap-Horizont) wurden aus je sieben Teilproben hergestellt. Die Entnahme der Ap-Horizonte erfolgte mit Hilfe eines Split-Tube Probennehmers (Eijkelkamp). Proben im Profil bis 90 cm Tiefe wurden mit einem einteiligen Stechbohrer entnommen und für größere Probenmengen wurde ein Stechapparat (Eijkelkamp) verwendet. Die Entnahme von Pflanzenproben erfolgte unmittelbar vor dem Pflügen, und stellt somit den „Biomasseeintrag“ in den Boden dar. Seit der Vegetationsumstellung 1961 sind vom Institut für Bodenkunde und Pflanzenernährung jährlich Bodenproben entnommen und als Archivproben gelagert worden. Diese Proben wurden ebenfalls untersucht, um anhand des „markierten“ Pflanzenmaterials die Entwicklung und den Umsatz von organischem Material im Boden nach dem Vegetationswechsel zu verfolgen.

Die Versuchsfläche in Rotthalmünster gehört zur Höheren Landbauschule Rotthalmünster und verfügt ebenfalls über eine Fläche mit Vegetationswechsel von C3 nach C4. Das Versuchsfeld liegt 360 m über NN im tertiären Hügelland des unteren Rottals. Der Boden ist als Parabraunerde (Haplic Luvisol) klassifiziert (Tabelle 1). Als C3-Monokultur wird seit 1969 Weizen angebaut und als C4-Monokultur seit 1979 Körnermais auf einer früheren Sommer- bzw. Winterweizenkultur (C3). Auf beiden Flächen, Mais und Weizen, wird mineralischer Volldünger (NPK) aufgebracht (180 kg/ha N; 140 kg/ha P₂O₅; 280 kg/ha K₂O) (Schnellhammer & Sirch, 2001). Zusätzlich wird das Stroh der beiden Kulturen in den Boden eingearbeitet (C3-Stroh: 0,17 kg C/ m², C4-Stroh: 0,46 kg C/ m²) (John *et al.*). Eine Kontrollvariante sowie eine Zeitreihe belegt durch Rückstellproben existiert auf diesem Standort nicht.

Die Probenahme fand im September 2002 statt. Die NPK- gedüngte Versuchsfläche mit Körnermais hatte eine Größe von 5 × 9 m. An fünf zufällig ausgewählten Punkten je Versuchsfläche wurden die einzelnen Bodenhorizonte abgetragen und daraus repräsentative Mischproben von ca. 50 kg je Horizont hergestellt. Von jeder Mischprobe wurden ca. fünf kg

Boden entnommen und bearbeitet. Außerdem wurden mit einem Bodensäulenzylinder (Eijkelkamp) an drei Stellen je Versuchsfläche ungestörte Bodenproben von 100 cm Länge entnommen (Tabelle 2). Diese wurden zunächst luftgetrocknet und anschließend zerteilt. Dabei wurden von jedem Bodenkern die oberen 40 cm in jeweils acht stratigraphische Teilproben, die weiteren 60 cm in 6 stratigraphische Teilproben zerlegt. Die Teilproben der einzelnen Bodenkern wurden nicht gemischt, sondern als Einzelproben bearbeitet.

Die Böden der Dauerversuchsflächen in Halle und in Rotthalmünster wurden anhand von ausgehobenen Bodenprofilen neben den Versuchsflächen und durch Bodenkern, die auf den Versuchsflächen entnommen wurden, klassifiziert (Tabelle 1).

Tabelle 1: Bodentypen und Kenngrößen der Standorte Halle und Rotthalmünster.

Eigenschaft / Standort	Halle	Rotthalmünster
Charakteristika der beiden Standorte		
Bodentyp	Parabraunerde-Tschernosem	Parabraunerde
Substrattyp	Sandlöß über tiefem, kiesführenden Lehm	Löß
Nomenklatur nach FAO	Haplic Phaeozem	Haplic Luvisol
Kulturpflanzen	C3 Roggen C4 Silomais	C3 Weizen C4 Körnermais
C- Gehalt_{ges} (Ap- NPK)	1,28 %	1,15 %
N- Gehalt_{ges} (Ap- NPK)	0,082 %	0,13 %

Vom Standort Halle wurden Bodenproben der Ap-Horizonte und Pflanzenproben der drei Düngungsvarianten, mineralisch gedüngt, organisch gedüngt und ungedüngt als Kontrollvariante, Profilproben des ungedüngten Bodens sowie Archivproben der Jahre 1958

bis 1999 bearbeitet. Vom Standort Rothalmünster wurden Bodenproben der NPK-gedüngten Böden und entsprechende Pflanzenproben entnommen und bearbeitet (Tabelle 2).

Tabelle 2: Bearbeitete Bodenproben der Standorte Halle und Rothalmünster.

Proben / Standort	Halle	Rothalmünster
Bearbeitete Boden- und Pflanzenproben, jeweils C3 und C4		
Boden, ungedüngt	Rückstellproben seit 1958 Profilkerne 0-80 cm Ap-Horizonte 0-25 cm Profil- Mischproben (cm) (0-20, 20-40, 40-60)	—
Boden, NPK-gedüngt	Profilkerne 0-80 cm Ap-Horizonte 0-25 cm	Profilkerne 0-100 cm Ap-Horizonte 0-35 cm Profil-Mischproben (cm) (35-45, 45-65)
Boden, organisch gedüngt	Profilkerne 0-80 cm Ap-Horizonte 0-25 cm	—
Pflanzen	Stoppeln der drei Düngungsvarianten	ganze Pflanzen der NPK- gedüngten Flächen

2.2 Probenvorbereitung

Die entnommenen Bodenproben wurden zunächst luftgetrocknet und durch ein Analysensieb mit einem Durchmesser von 2 mm (Retsch) gesiebt. Karbonathaltige Proben wurden anschließend mit verdünnter Salzsäure entkarbonatisiert (s. Entkarbonatisierung). Für die Analyse des organischen Kohlenstoffs in Böden ist eine Entkarbonatisierung von karbonathaltigen Böden notwendig, da der ^{13}C -Gehalt von Karbonaten den ^{13}C -Gehalt der organischen Bodensubstanz einer Probe verfälscht. Jeweils eine Teilprobe der auf 2 mm gesiebten Bodenprobe wurde anschließend in einer Zirkon-Kugelmühle (Retsch) insgesamt fünfmal nacheinander 30 s bei 30 U/s mit einer Labor-Schwingmühle MM 200 (Retsch) gemahlen. Zwischen den Mahlgängen wurden Pausen von ca. 10 s eingelegt, um ein Aufheizen des Probenmaterials im Inneren der Kugelmühle zu verhindern. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Proben trocken gelagert. Wurzelproben wurden durch vorsichtiges Waschen von anhaftendem Boden befreit. Nach dem Trocknen im Trockenschrank bei 30 °C wurden sie manuell zerkleinert und ebenfalls in Kugelmühlen gemahlen.

Für PLFA-Analysen bestimmte Bodenproben wurden ungetrocknet durch das Analysensieb auf 2 mm gesiebt und anschließend extrahiert (s. Phospholipidextraktion) oder bis zur Extraktion bei -18 °C tiefgekühlt gelagert. Etwa 20 g dieser gesiebten Bodenproben wurden jeweils als repräsentative Teilprobe abgenommen, luftgetrocknet und für Analysen der organischen Bodensubstanz als Gesamtfraktion verwendet.

Entkarbonatisierung der Bodenproben

Etwa 2 g des in der Zirkon-Kugelmühle gemahlene Bodenmaterials werden in Zentrifugenröhrchen gefüllt und mit 5 ml 1 M HCl versetzt. Diese Mischung wird 1 min geschüttelt und anschließend 3 Stunden stehen gelassen. Danach wird bei 3500 U/min zentrifugiert und der klare Überstand abgenommen. Diese Prozedur wird mindestens zweimal wiederholt, bis kein Anzeichen von Karbonat (Bläschenbildung) mehr auftritt. Anschließend wird die Probe mit NaOH neutralisiert, wieder zentrifugiert und der Überstand entfernt. Dieser Arbeitsschritt wird so lange wiederholt bis die Lösung einen pH-Wert von 6-7 hat. Das neutralisierte Bodenmaterial wird bei 40 °C im Trockenschrank getrocknet und zur Homogenisierung danach erneut gemahlen.

2.3 Analysen an der organischen Bodensubstanz

2.3.1 Elementaranalyse zur Bestimmung der C- und N- Gehalte

Zur Bestimmung der Elementgehalte an Kohlenstoff und Stickstoff wurden ca. 20 mg der gemahlene Boden- und Wurzelproben in Zinnschiffchen der Größe 6 x 6 x 12 mm eingewogen (Elementar Analysensysteme GmbH). Die Analyse erfolgte an einem Elementaranalysator (Vario EL; Elementar).

Zunächst wird das Zinnschiffchen mit der Probe in einem Verbrennungsröhrchen auf 1150 °C erhitzt. Dabei schmilzt das Zinn und gibt die Probe frei, die pyrolytisch zersetzt wird. Im Anschluss werden die Pyrolyseprodukte im Sauerstoff-Überschuss über Wolframtrioxid oxidiert. Durch die exotherme Reaktion zum Zinnoxid wird eine Temperaturerhöhung der Probe auf 1800 °C erreicht. Die entstandenen Gase strömen anschließend bei 850 °C durch ein mit Kupfer gefülltes Reduktionsrohr, dabei werden Stickoxide zu Stickstoff (N₂) reduziert. Anschließend werden die Gase N₂ und CO₂ nach einem der Gaschromatographie ähnlichen Prinzip (Purge and Trap) getrennt und von einem thermischen Leitfähigkeitsdetektor quantitativ erfasst.

2.3.2 Isotopenanalysen zur Bestimmung der C- und N- Isotopenverhältnisse

Zur Bestimmung der Isotopenverhältnisse $\delta^{13}\text{C}$ und $\delta^{15}\text{N}$ an Boden- und Pflanzenproben wurde das gemahlene Probenmaterial in Zinnkapseln (Größe: \varnothing 4 / 16 mm) eingewogen. Zusätzlich wurden einzelne Fraktionen der Lipidextrakte analysiert. Die Extrakte wurden dafür in Zinn-Flüssigkapseln pipettiert (Größe: \varnothing 3,5 / 15,5 mm, IVA), das Lösungsmittel wurde verdampft, die Kapsel bis zur Massekonstanz gewogen und anschließend mit einer Pinzette verschlossen.

Die Analyse erfolgte in einer Kopplung eines Elementaranalysators (NA 1110, CE Instruments, Milan, Italien) mit einem Isotopenverhältnis-Massenspektrometer (Delta⁺XL, Finnigan MAT, Bremen, Deutschland). Die im Elementaranalysator entstandenen Gase CO₂ und N₂ werden auf einer Kapillarsäule bei 80 °C gaschromatographisch getrennt und in ein Isotopenverhältnismassenspektrometer geleitet. Darin werden die entsprechenden Massen m/z 30 (¹⁴N-¹⁶O) 29 (¹⁴N-¹⁵N) und 28 (¹⁴N-¹⁴N) für Stickstoff und die Massen m/z 46 (¹²C-¹⁶O-¹⁸O) 45 (¹³C-¹⁶O-¹⁶O) und 44 (¹²C-¹⁶O-¹⁶O) für Kohlenstoff detektiert. Für das Sauerstoffisotop ¹⁷O, das nur mit sehr geringer Häufigkeit vorkommt, wird eine

mathematische Korrektur durchgeführt, um m/z 45 ($^{12}\text{C}-^{16}\text{O}-^{17}\text{O}$) zu korrigieren (Werner & Brand, 2001). Mit Hilfe der Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie wird das $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ - bzw. das $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ -Verhältnis einer Probe gemessen und mit dem Wert internationaler Standards verglichen. Als Standardmaterial wird für Kohlenstoff ein Belemnit aus der kreidezeitlichen Pee Dee Formation (PDB) von South Carolina verwendet, für Stickstoff der ^{15}N -Gehalt der Atmosphäre (Mariotti, 1983). Weil das Originalmaterial PDB nicht mehr existiert, wird ein anderes Carbonat (NBS-19) als Standard verwendet.

Die Isotopenzusammensetzung einer Probe wird durch δ -Werte mit der Einheit Promille (‰) relativ zum Originalstandard PDB als Vienna-PDB (v-PDB) angegeben (1) (Craig, 1953; Werner & Brand, 2001).

$$\delta^{13}\text{C} - \text{Wert [‰]}_{v - \text{PDB}} = \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Probe}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Standard}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Standard}}} \cdot 1000 \quad (1)$$

2.3.3 Bestimmung von ^{14}C -Gehalten

Das zu analysierende Probenmaterial wird analog zu 2.3.2 in Zinnkapseln eingewogen und anschließend in einem Elementaranalysator verbrannt. Die entstandenen Gase CO_2 und N_2 werden gaschromatographisch getrennt, danach wird nur CO_2 in eine Kühlfalle geleitet und in einem gekühlten Glasröhrchen (flüssiger Stickstoff) ausgefroren. In dieser Glasapparatur befindet sich bereits der Katalysator (2 mg elementares Eisen) für die Reduktion des CO_2 zu Graphit. Durch Zugabe von Wasserstoff wird das CO_2 anschließend bei $600\text{ }^\circ\text{C}$ zum Graphit reduziert. Zur Messung des ^{14}C -Gehaltes wurden die graphitisierten Proben an das Leibniz-Labor für Altersbestimmung und Isotopenforschung nach Kiel versandt.

Bestimmung der ^{14}C - Gehalte mit Beschleunigermassenspektrometrie

Aufgrund der geringen Konzentration von ^{14}C im Vergleich zu ^{12}C von weniger als 10^{-12} kann dieses Kohlenstoffisotop nicht mit üblichen Massenspektrometern gemessen werden, sondern erfordert eine Messung mit Beschleunigermassenspektrometrie (Accelerator Mass Spectrometry AMS). Die Bestimmung des radioaktiven Zerfalls, die prinzipiell auch ein mögliches und angewandtes Analysenverfahren zur Bestimmung des ^{14}C -Gehaltes darstellt, erfordert zu große Probenmengen von ca. 1 g Probenmaterial. Die ^{14}C -Analyse mit AMS benötigt dagegen nur Probenmengen im mg-Bereich.

Zur Analyse befindet sich die Probe (an Eisen gebundenes Graphit) in einem Probenhalter (Target) und wird zusammen mit anderen Probenhaltern in ein Targetrad montiert, um Proben und Referenzmaterial in einer festgelegten Abfolge zu messen. Durch Beschuss der Probe mit Cäsium-Ionen entstehen negative Kohlenstoffionen (C^-), die durch eine Spannungsdifferenz von 2,5 Millionen Volt beschleunigt werden (Abbildung 2). Für die ^{14}C -Bestimmung stellt das Stickstoffisotop ^{14}N die größte Gefährdung für Kontaminationen dar. Es ist einerseits das am meisten verbreitete Stickstoffisotop, aus dem 80 % der Atmosphäre bestehen und kommt somit im Verhältnis zu ^{14}C sehr häufig vor. Andererseits besitzt es fast dasselbe Gewicht wie das Kohlenstoffisotop ^{14}C . Jedoch werden beim ersten Beschleunigungsschritt Elemente wie Stickstoff, die keine stabilen negativ geladenen Ionen bilden, eliminiert. Die negativ geladenen Kohlenstoff-Ionen verlieren an einer dünnen Folie („Stripper“) im Beschleuniger ihre Elektronen und bilden dreifach positiv geladene Ionen (C^{3+}). Vorhandene Molekülionen bilden keine stabilen Ladungszustände mit einer Ladung von mehr als 2^+ und können auf diese Weise eliminiert werden. Nach weiterer Beschleunigung werden die C^{3+} -Ionen im Magnetfeld entsprechend ihrer Masse abgelenkt und können so als ^{14}C , ^{13}C und ^{12}C getrennt detektiert werden (Bowman; Trumbore, 1996) (Abbildung 2).

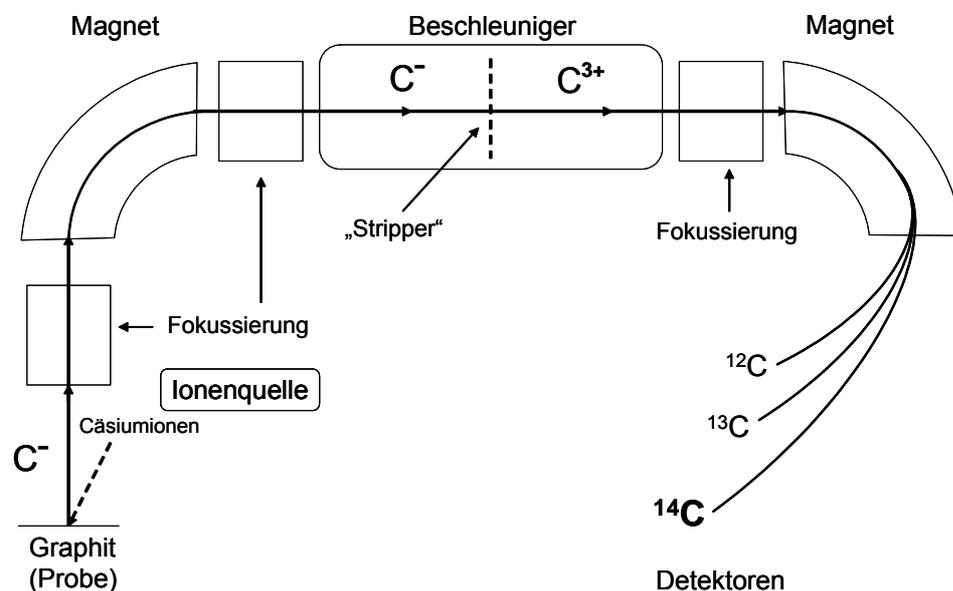


Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Beschleunigermassenspektrometers.

Die ^{14}C -Datierungen an organischer Bodensubstanz wurden am Leibniz-Labor für Altersbestimmung und Isotopenforschung der Universität Kiel an einem 3 MV Tandetron 4130 (High Voltage Engineering Europa HVEE) durchgeführt.

2.4 Extraktion von Phospholipidfettsäuren aus Bodenproben

Extraktion der Bodenlipide

500 g Boden (Gewicht in der Trockenmasse) werden in einer 2000 ml Laborglasflasche mit 500 ml Methanol, 250 ml Chloroform und 200 ml 0,05 M Phosphatpuffer versetzt und 4 h in einem Überkopfschüttler (Heidolph REAX 20) bei 15 U/min geschüttelt. Anschließend werden weitere 250 ml Wasser (bidestilliert) und 250 ml Chloroform hinzugegeben. Zur Phasentrennung lässt man die Mischung 24 h stehen, danach entfernt man einen Teil der wässrigen Phase und verwirft sie. Die organische Phase des Bodenextraktes wird über einen Glasfiliertiegel (G3, Schott), der mit ca. 2 cm Celite 545 gefüllt ist, filtriert. Die vollständige Separation der beiden Phasen erfolgt mit Hilfe eines Scheidetrichters (Bligh & Dyer, 1959). Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer (Büchi Rotavapor R-114) auf ca. 2 ml eingeengt. Das Konzentrat wird auf ein definiertes Volumen (10 ml) aufgefüllt, und in einer Glasflasche bei -18 °C bis zur weiteren Verarbeitung (Abbildung 3) aufbewahrt. Die Extraktion von Phospholipidfettsäuren aus Bodenproben sowie die weitere Aufarbeitung der Extrakte durch Festphasenextraktion erfolgten nach Zelles & Bai (1993).

Auftrennung des Rohextraktes in Neutrallipide, Glycolipide und Phospholipide

Zur Trennung wird eine Festphasensäule, gefüllt mit schwach saurem Kieselgel, der Größe 2 g / 12 ml (Varian) verwendet. Diese Säule wird zunächst mit einem Säulenvolumen Chloroform konditioniert. Vom Lipid-Rohextrakt, der in Chloroform gelöst vorliegt, werden 2 ml auf die Säule gegeben. Die Elution erfolgt mit einem Säulenvolumen Chloroform, zur Gewinnung der Neutrallipide, mit einem Säulenvolumen Aceton, zur Gewinnung der Glycolipide und mit vier Säulenvolumen Methanol zur Gewinnung der Phospholipide (Abbildung 3).

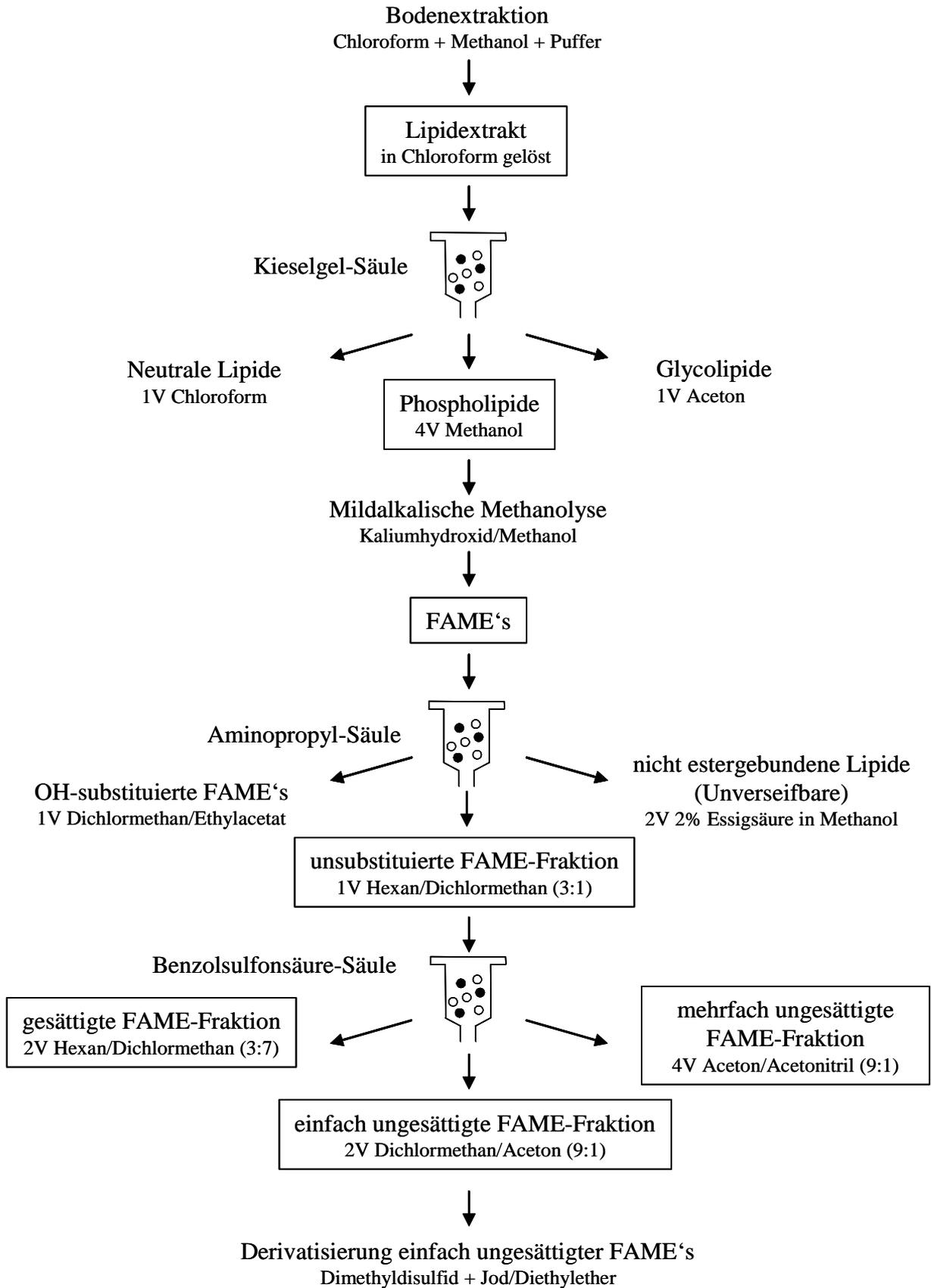


Abbildung 3: Schematische Darstellung zur Auftrennung der Phospholipide und Phospholipidfettsäuren.

Hydrolyse der Phospholipide und Methylierung der Phospholipidfettsäuren

Die gewonnene Phospholipidfraktion liegt in Methanol vor und wird am Rotationsverdampfer bis auf ca. 0,5 ml eingengt. Der Rückstand wird mit 1 ml einer Mischung aus Methanol / Toluol (1:1 v/v) aufgenommen und in ein Zentrifugenglas überführt. Danach werden noch 5 ml einer frisch zubereiteten 0,2 M Lösung Kaliumhydroxid in Methanol hinzugefügt. Die Methanolyse erfolgt 20 min bei 37 °C. Anschließend wird die Mischung mit 1 M Essigsäure neutralisiert. Nachdem noch 10 ml Wasser und 10 ml Chloroform dazugegeben wurden wird die Mischung 1 min geschüttelt und anschließend bei 3000 U/min zentrifugiert (Heraeus Megafuge 3.0R). Nach dem Abnehmen der Chloroformphase wird die wässrige Phase noch zweimal mit 5 ml Chloroform extrahiert. Die Chloroformphasen werden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend am Rotationsverdampfer auf ein kleines Volumen (0,5 ml) eingengt. Die Phospholipidfettsäuren liegen nun als Fettsäuremethylester (FAME) vor.

Isolierung unsubstituierter FAME's

Als Festphasensäule wird eine mit aminopropyl- modifiziertem Kieselgel gefüllte Säule, der Größe 0,5 g / 3 ml verwendet (Macherey-Nagel). Die Säule wird mit einem Säulenvolumen einer Mischung aus Hexan / Dichlormethan (3:1 v/v) konditioniert. Danach wird die Probe, die in 0,5 ml Chloroform gelöst ist, aufgetragen. Die Elution erfolgt mit einem Säulenvolumen Hexan / Dichlormethan (3:1) zur Gewinnung der unsubstituierten FAME's (Gesamtfraktion) und mit einem Säulenvolumen Dichlormethan / Ethylacetat (9:1 v/v) zur Gewinnung der OH-substituierten FAME's. Die Abtrennung von nicht-estergebundenen Lipiden (sogenannten „Unverseifbaren Lipiden“) von den FAME's, die während der alkalischen Methanolyse gebildet werden, erfolgt mit zwei Säulenvolumen 2 % Essigsäure in Methanol (Abbildung 3). Diese Fraktion wurde in der vorliegenden Arbeit nicht näher untersucht.

Trennung von gesättigten und ungesättigten FAME's

Für die Trennung wird eine Festphasensäule, gefüllt mit benzolsulfonsäure-modifiziertem Kieselgel, der Größe 0,5 g/ 3 ml verwendet (Varian). Zur Vorbehandlung der Säule werden 0,1 g Silbernitrat (Sigma) in 1,5 ml Acetonitril / Wasser (10:1 v/v) gelöst und auf die Säule

gegeben. Danach wird die Säule mit zwei Säulenvolumen Acetonitril, zwei Säulenvolumen Aceton und vier Säulenvolumen Dichlormethan gereinigt. Die Fraktion der unsubstituierten FAME's, vorliegend in Hexan / Dichlormethan (3:1) wird zunächst im Stickstoffstrom bis zur Trockne eingengt und in 0,5 ml Hexan / Dichlormethan (3:7 v/v) aufgenommen und auf die Festphasensäule gegeben. Die gesättigten FAME's werden anschließend mit zwei Säulenvolumen Hexan/Dichlormethan (3:7 v/v) von der Festphasensäule eluiert, die einfach ungesättigten mit zwei Säulenvolumen Dichlormethan/Aceton (9:1 v/v) und die mehrfach ungesättigten FAME's mit vier Säulenvolumen Aceton/Acetonitril (9:1 v/v) (Abbildung 3).

Derivatisierung einfach ungesättigter FAME's zur Lokalisierung der Position der Doppelbindung

Die gesamte Fraktion der einfach ungesättigten FAME's wird in ein Zentrifugenglas überführt, im Stickstoffstrom bis zur Trockne eingengt und in 50 µl Hexan gelöst. Danach werden 100 µl Dimethyldisulfid (DMDS) und 1-2 Tropfen einer Iodlösung (6 % in Diethylether, w/v) zugegeben. Diese Mischung wird kurz geschüttelt. Die Derivatisierung findet 72 h bei 60 °C statt. Anschließend wird überschüssiges Iod durch Zugabe von 1 ml 5 % igem Natriumthiosulfat beseitigt. Die Probe wird dreimal mit 1,5 ml Hexan extrahiert, um die DMDS-Derivate zu gewinnen. Die Hexanphasen werden vereinigt, bis auf ca. 50 µl eingengt und mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert.

PLFA mit gleicher Anzahl von Kohlenstoffatomen aber unterschiedlicher Verzweigung bzw. unterschiedlichen Positionen von Doppelbindungen eluieren oft in einem sehr engen Zeitfenster. Dadurch kann es zu Peaküberlagerungen kommen wodurch im Gaschromatogramm nicht mehr alle vorhandenen PLFA detektiert werden können. Nur durch die Auftrennung der PLFA in die gesättigte, einfach ungesättigte und mehrfach ungesättigte Fraktion ist die Erfassung aller vorhandenen PLFA einer Probe möglich. Ein Beispiel hierfür ist die Überlagerung der PLFA 16:0 und 16:1 (a), 18:0, 18:1 und 18:2 (c) sowie 17:0 und 17:1 (b) in der PLFA-Gesamtfraction und die anschließende sichere Detektion dieser PLFA in den einzelnen Fraktionen, gesättigt, einfach ungesättigt und mehrfach ungesättigt (Abbildung 4).

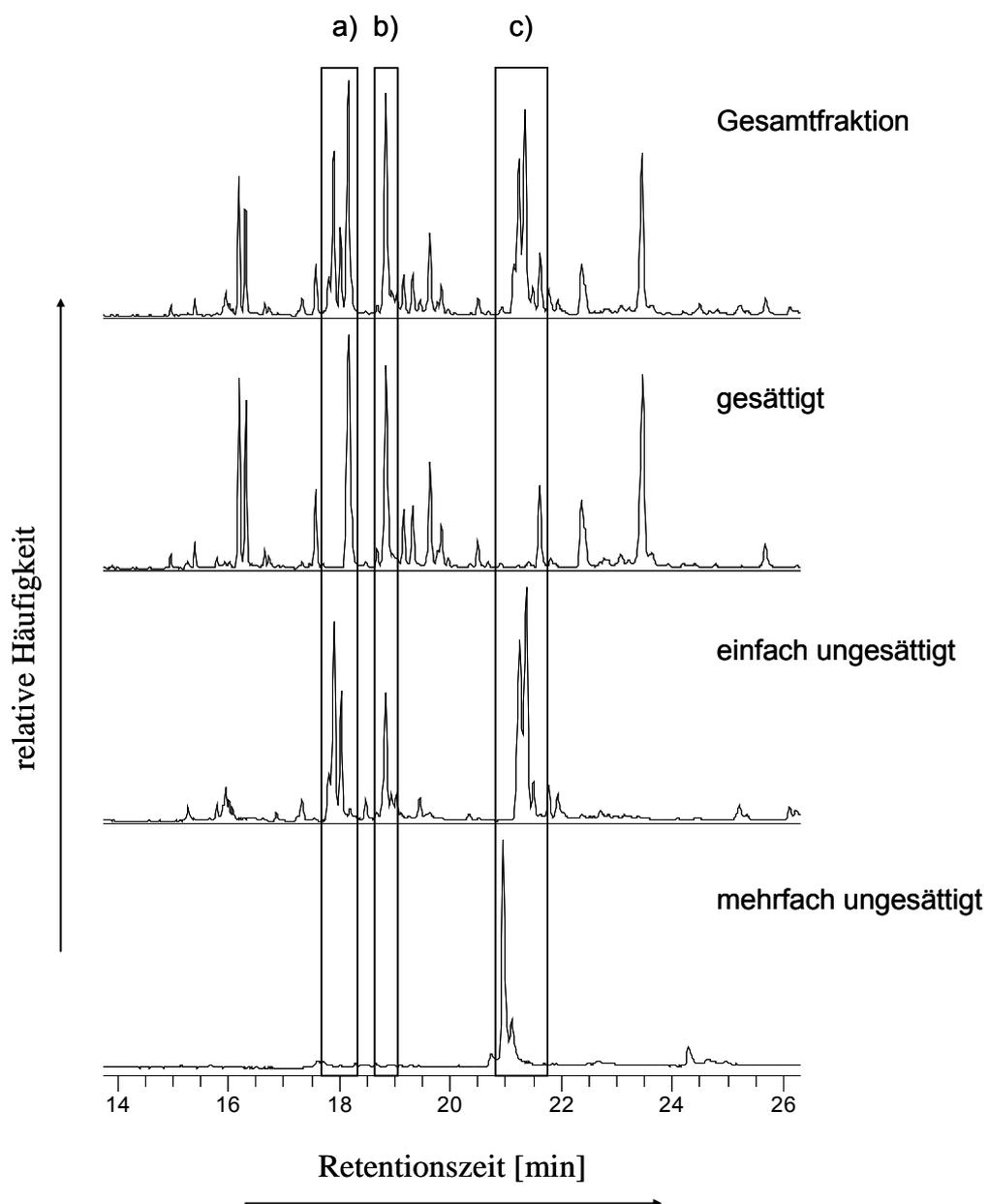


Abbildung 4: Gaschromatogramme des Gesamtextraktes und der einzelnen PLFA-Fractionen.

2.5 Analyse substanzspezifischer ^{13}C -Gehalte

Isotopenverhältnismessungen an Phospholipidfettsäuremethylestern

Die Phospholipidfettsäuren werden in Form ihrer Methylester analysiert. Die gaschromatographische Trennung erfolgte mit einer HP Ultra 2 Trennsäule (50 m x 0,32 mm ID, Filmdicke: 0,52 μm). Als Trägergas diente Helium 6.0 bei einem Fluss von 2,0 ml/min. Die Injektion erfolgte im Split Modus, bei einem split-Verhältnis von 1:5, die Injektortemperatur betrug 280 °C. Die Trennung erfolgte bei einem Temperaturprogramm von 140°C 1 min isotherm, dann mit einer Heizrate von 3 °C/min bis 300 °C, bei 300 °C 15 min isotherm und abschließend mit einer Heizrate von 15 °C/min bis 320 °C. Die Aufgabe der Probe (1 μl) erfolgte mit einem Autosampler CTC-A 200 S der Firma Finnigan MAT.

Der Gaschromatograph ist on-line an ein Ionenfallenmassenspektrometer (MS) (ThermoQuest GCQ) und ein Isotopenverhältnismassenspektrometer (IRMS) (Thermo Finnigan MAT Delta^{Plus}XL) gekoppelt (Abbildung 5). Nach der Trennung gelangen 10 % des Gasstromes von der Trennsäule in das MS und 90 % in das IRMS. Die Temperatur der Transferkapillare vom GC zum MS betrug 275 °C, die der Ionenquelle 200 °C. Die Bildung der Fragment-Ionen erfolgte durch Elektronenstoßionisation (EI) bei 70 eV.

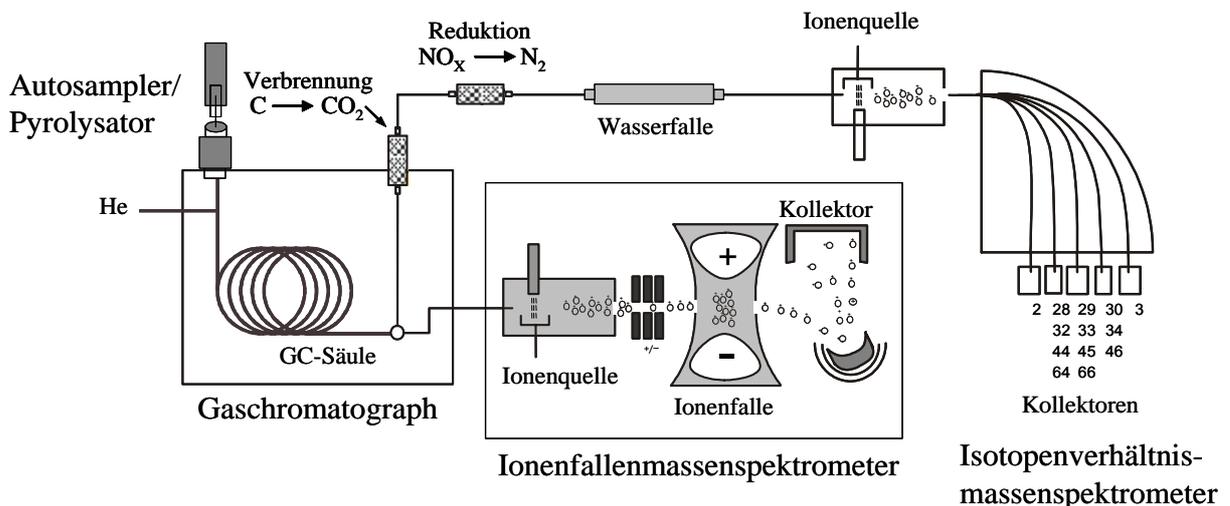


Abbildung 5: Kopplung eines Gaschromatographen an ein Ionenfallenmassenspektrometer und an ein Isotopenverhältnismassenspektrometer (GC/MS-C-IRMS).

Die restlichen 90 % des Gasstromes werden im Verbrennungsofen bei 940 °C katalytisch zu CO₂, Stickoxiden und H₂O verbrannt. Als Katalysator wird eine Mischung aus Kupferoxid (CuO), Nickeloxid (NiO) und Platinoxid (PtO) verwendet. Die Stickoxide werden zu N₂ reduziert, das entstandene Wasser wird durch eine Wasserfalle (Nafion[®]-Dryer) entfernt. Darin diffundiert das Wasser durch eine semipermeable Membran und wird durch Helium im Gegenstrom abtransportiert. Anschließend gelangt das entstandene CO₂ ins IRMS, wo die Massenzahlen 44, 45 und 46 für CO₂ detektiert werden (Abbildung 5). Die Isotopenverhältnisse werden relativ zu CO₂-Standardgas mit einem δ¹³C-Wert von -38,16 ‰ gemessen. Jede Probe wird mindestens viermal nacheinander analysiert, danach folgen vier Analysen des externen Standards Koffein mit einem δ¹³C-Wert von -51,8 ‰. Die jeweils gemessenen Werte des Koffeins werden zur Korrektur gegen systembedingte Schwankungen während einer Sequenz herangezogen. Weiterhin wird über den δ¹³C-Wert des Koffeins der Zustand des Verbrennungsofens überwacht, d.h., weicht der Wert um mehr als 1 ‰ vom Sollwert -51,8 ‰ ab, wird mit Sauerstoff reoxidiert, um die volle Oxidationskapazität wieder herzustellen. Die Berechnung des Isotopenverhältnisses ¹³C/¹²C (δ¹³C-Wert) erfolgte mit der ISODAT NT-Software (Finnigan MAT). Die minimale Amplitude zur Auswertung der Peaks wurde auf 100 mV festgelegt, die Untergrundkorrektur wurde dynamisch durchgeführt.

δ³C- Methanolkorrektur der FAME's

Die Phospholipidfettsäuren (PLFA) wurden vor der Analyse zu Fettsäuremethylestern FAME's derivatisiert (s. mildalkalische Methanolyse). Hierbei werden die extrahierten Phospholipide hydrolysiert und die freiwerdenden Fettsäuren gleichzeitig methyliert. Durch diese Methylierung wird ein zusätzliches Kohlenstoffatom aus dem Methanol in die Fettsäuren eingebaut. Da dieses C-Atom nicht mit zum Analyt gehört, muss nach der Isotopenanalyse dagegen korrigiert werden. Es wurde der ¹³C Gehalt des Methanols bestimmt und der δ¹³C-Wert der FAME's mit dem entsprechenden Wert korrigiert (2).

$$\delta^{13}C_{PLFA} \langle Korr. \rangle = \frac{\delta^{13}C_{PLFAMe} \cdot (N + 1) - \delta^{13}C_{MeOH}}{N} \quad (2)$$

Dabei ist $\delta^{13}C_{PLFAMe}$ das gemessene Isotopenverhältnis des entsprechenden Phospholipidfettsäuremethylesters, $\delta^{13}C_{MeOH}$ das Isotopenverhältnis des eingesetzten Methanols und N die Anzahl der Kohlenstoffatome der Phospholipidfettsäure. Schließlich

stellt $\delta^{13}C_{PLFA}$ (*Korr.*) das korrigierte Isotopenverhältnis der jeweiligen Phospholipidfettsäure dar. Bei der Derivatisierung tritt kein Isotopeneffekt auf (Abrajano *et al.*, 1994; Cifuentes & Salata, 2001).

Die Identifizierung der Fettsäuremethylester erfolgte durch Vergleich mit Referenzmassenspektren der GCQ Massenspektrenbibliothek sowie der Wiley 6.0 Spektrenbibliothek. Die Massenspektren der zum Vergleich genutzten Bibliotheken wurden mit Quadrupol-Massenspektrometern aufgenommen. Weil das hier verwendete Analysensystem über ein Ionenfallen-Massenspektrometer verfügt, war eine eindeutige Identifizierung der FAME der gemessenen Proben oft schwierig. Zur Absicherung wurden deshalb entsprechende Fettsäuremethylester-Standardsubstanzen mit dem hier verwendeten Ionenfallen-Massenspektrometer gemessen und deren Spektren zum Vergleich herangezogen. Die Position von Doppelbindungen bei einfach ungesättigten FAME's wurde durch die charakteristische Fragmentierung ihrer Dimethyldisulfid-Derivate ermittelt (Abbildung 6).

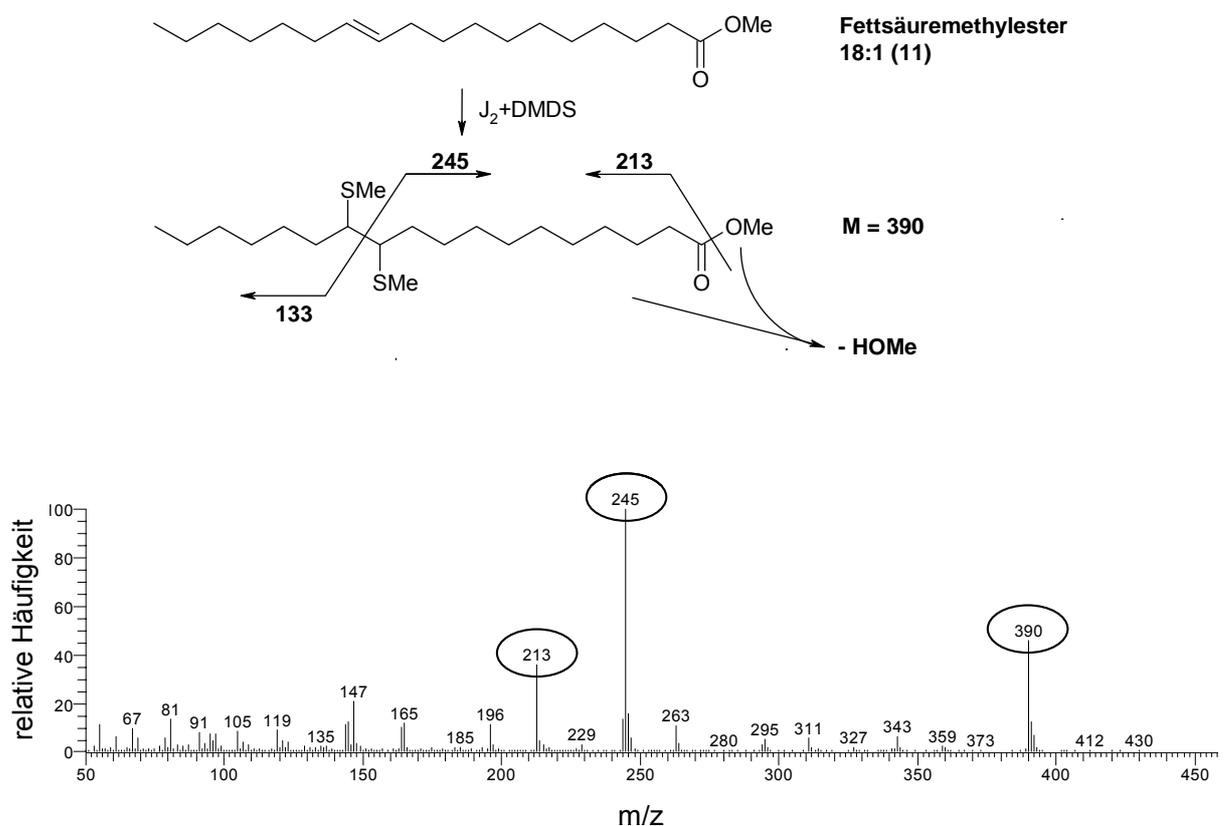


Abbildung 6: Fragmentierung und Massenspektrum des Dimethyldisulfid-Derivates der FAME 18:1 ($\Delta 11$).

***Curiepunkt-Pyrolyse-Gaschromatographie/Massenspektrometrie-
Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (Py-GC/MS-C-IRMS)***

Es wurden 10-20 mg des Probenmaterials in ein ferromagnetisches Probengefäß eingewogen und anschließend 9,9 s in einem Curiepunkt Pyrolysator (Fischer 0316) pyrolysiert. Die Reaktortemperatur des Pyrolysators lag bei 250 °C. Die Curiepunkt-Temperatur des Probengefäßes lag bei 500 °C. Die Pyrolyse erfolgte somit bei 500 °C. Unmittelbar vor der Pyrolyse wurde der Pyrolysator 30 s mit Helium gespült, die Spülzeit nach der Pyrolyse betrug 60 s, um sicherzugehen, dass alle Pyrolyseprodukte auf die Trennsäule gelangt sind. Nach der Pyrolyse wurden die Pyrolyseprodukte on-line in einen HP 5890 Gaschromatographen und auf eine BPX-5 Trennsäule (60 m x 0,32 mm ID, Filmdicke: 1,0 µm) überführt. Als Trägergas diente Helium 6.0 bei einem Fluss von 2,0 ml/min. Die Injektion erfolgte bei einem split-Verhältnis von 10:1, die Injektortemperatur betrug 280 °C. Die Trennung erfolgte bei einem Temperaturprogramm von 36°C 5 min isotherm, dann mit einer Heizrate von 5°C/min bis 300 °C. Auch hier werden 10 % des Gasstromes vom Ende der Trennsäule in das MS und 90 % in das IRMS geleitet.

Die Bestimmung der ¹³C-Isotopenverhältnisse der Pyrolyseprodukte und die Korrektur der δ¹³C-Werte mit dem externen Standard Koffein erfolgte analog zu den Isotopenverhältnismessungen an Phospholipidfettsäuremethylestern. Eine weitere Isotopenkorrektur der Pyrolyseprodukte war nicht notwendig, weil keine Derivatisierungen der Analyten durchgeführt wurden. Zur Auswertung wurde die minimale Amplitude der Peaks auf 100 mV festgelegt. Die Untergrundkorrektur erfolgte dynamisch.

2.6 Probenvorbereitung zur Analyse substanzspezifischer ^{14}C -Gehalte

2.6.1 Isolierung von Phospholipidfettsäuren

Zur Isolierung von Einzelkomponenten wurde eine Kopplung eines HP-6890-GC und eines präparativen Fraktionssammlers (PFC) (Gerstel) verwendet (Abbildung 7). Die Probe mit den FAME's wird auf einer DB-5 MS GC-Trennsäule (30 m x 0,53 mm ID, Filmdicke: 0,5 μm) gaschromatographisch getrennt. Die Probenaufgabe erfolgt über einen on-column-Injektor. Die GC-Injektortemperatur betrug 280 °C, Helium 6.0 wurde bei einem Fluss von 4,8 ml / min als Trägergas verwendet. Die Trennung erfolgte bei 140 °C 1 min isotherm, dann bei einer Heizrate von 15°C / min bis 220 °C, 2°C / min bis 260 °C und 15°C / min bis 320 °C. Nach der Auftrennung gelangen 99 % der Probe in den präparativen Fraktionssammler und nur 1 % in einen Flammenionisationsdetektor (FID), der als Monitordetektor geschaltet ist.

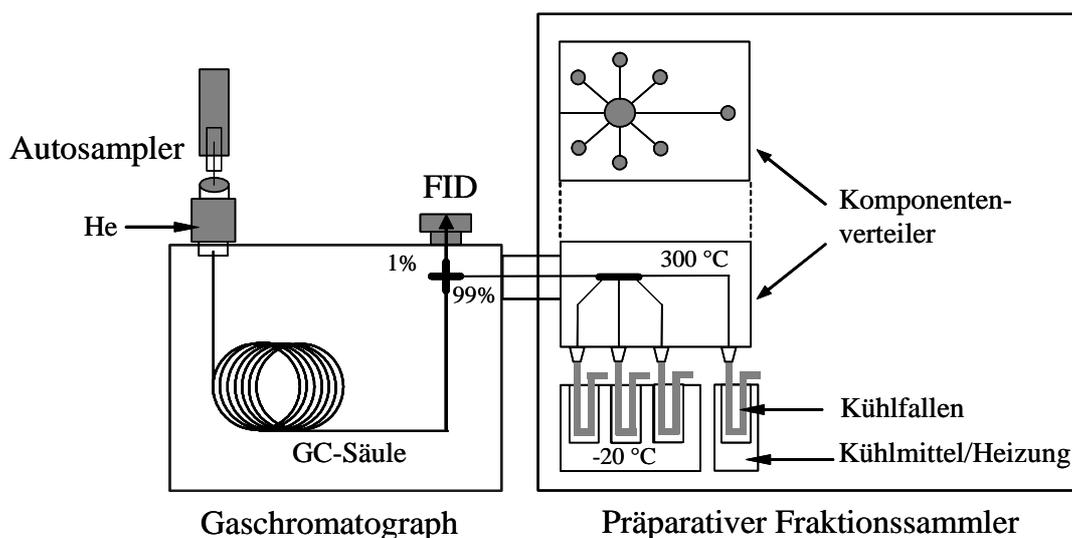


Abbildung 7: Kopplung eines Gaschromatographen an einen präparativen Fraktionssammler.

Der präparative Fraktionssammler besteht aus sechs Komponentenfallen (1 μl) und einer Rest-Falle (100 μl). Das Fallenmaterial ist Quarzglas. Über eine Transferkapillare wird der Gasstrom vom Ende der Trennsäule in den Komponentenverteiler und anschließend durch die einzelnen Fallen geleitet. Um eine Komponente zu isolieren wird der Gasstrom zu der zuvor festgelegten Retentionszeit des entsprechenden FAME durch eine der sechs Komponentenfallen geleitet. Der restliche Gasstrom wird durch die Rest-Falle geleitet und

verworfen. Die Komponentenfallen können geheizt oder gekühlt werden, was sich nach dem Siedepunkt der zu isolierenden Substanz richtet. Während der Isolierung der FAME's betrug die Kühltemperatur -10 °C und die Temperatur des Komponentenverteilers 320 °C . Durch die sechs Komponentenfallen ist es möglich während einer Isolierung sechs Einzelkomponenten gleichzeitig zu isolieren. Da für die ^{14}C -Analyse ca. $100\text{ }\mu\text{g}$ Kohlenstoff benötigt werden, müssen ca. 30 Isolierungen durchgeführt werden, um genügend Kohlenstoff zu sammeln.

2.6.2 Probenaufbereitung isolierter Phospholipidfettsäuren

Die Probenvorbereitung der Einzelsubstanzen im $100\text{ }\mu\text{g}$ Maßstab erfolgte am Leibniz-Labor in Kiel. Die isolierten Substanzen liegen zunächst in Dichlormethan gelöst vor. Jede gelöste Substanz wird quantitativ in ein Quarzglasröhrchen mit 4 mm Innendurchmesser pipettiert, welches zuvor mit $400\text{-}500\text{ mg}$ Kupferoxid und $140\text{-}150\text{ mg}$ Silberwolle 4 h bei 900 °C ausgeglüht wurde. Das Lösungsmittel lässt man über Nacht verdampfen. Anschließend wird das Röhrchen wieder zusammen mit CuO und Silberwolle in ein Glassystem überführt, und bei 10^{-4} mbar evakuiert. Um den Verlust leichtflüchtiger Substanzen zu vermeiden, wird bei -80 °C evakuiert, wobei das Röhrchen, indem sich die Probe befindet, gekühlt wird. Das evakuierte Quarzglasröhrchen wird abgeschmolzen und das Probenmaterial wird 4 h bei 900 °C im Muffelofen zu CO_2 oxidiert. Anschließend wird das Quarzglasröhrchen mit dem CO_2 an die Reduktionsapparatur angeschlossen und mit 20% igem Überschuss an Wasserstoffgas über einem Eisenkatalysator 6 h bei 625 °C zu Graphit reduziert (Nadeau *et al.*, 1997). Das Graphit ist danach an Eisen gebunden und kann aus dem Glasgefäß entnommen und in Targets gepresst werden.

Die Targets werden im Autosampler des AMS positioniert und der ^{14}C -Gehalt der Probe kann bestimmt werden. Die Präparation von Einzelsubstanzen und besonders die Handhabung von Probenmengen im μg -Bereich sind sehr anspruchsvoll und erfordern eine sorgfältige Arbeitsweise bei jedem Arbeitsschritt.

$\Delta^{14}\text{C}$ -Methanolkorrektur der FAME's

Wie bei der Analyse der ^{13}C -Gehalte, so muss auch der ^{14}C -Gehalt der FAME's gegen das durch die Methylierung zusätzliche Kohlenstoffatom korrigiert werden. Dafür wurde der

^{14}C -Gehalt des verwendeten Methanols bestimmt (-1000 ‰ (0 +/- 0,27 pMC)). anschließend konnte der Messwert gegen das zusätzliche Kohlenstoffatom korrigiert werden (3).

$$\Delta^{14}\text{C}_{PLFA}(\text{Korr.}) = \frac{\Delta^{14}\text{C}_{PLFAMe} \cdot (N+1) - \Delta^{14}\text{C}_{MeOH}}{N} \quad (3)$$

Dabei ist $\Delta^{14}\text{C}_{PLFAMe}$ das gemessene Isotopenverhältnis des entsprechenden Fettsäuremethylesters, $\Delta^{14}\text{C}_{MeOH}$ das Isotopenverhältnis des verwendeten Methanol und N die Anzahl der Kohlenstoffatome der Phospholipidfettsäure. Schließlich stellt $\Delta^{14}\text{C}_{PLFA}(\text{Korr.})$ das korrigierte Isotopenverhältnis der jeweiligen Phospholipidfettsäure dar.

Chemikalien

Sofern nicht anders erwähnt wurden alle Lösungsmittel und Chemikalien von VWR bezogen. Alle verwendeten Laborglasgeräte sowie die Komponentenfallen des präparativen Fraktionssammlers wurden vor Gebrauch gereinigt, mit bidestilliertem Wasser und Aceton gespült und anschließend bei 500 °C im Trockenschrank ausgeglüht.

2.7 Statistik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem Programm SPSS 11.0. Die Daten wurden mit dem *Kolmogorov-Smirnov*-Test auf Normalverteilung und mit dem *Levene*-Test auf Varianzenhomogenität geprüft. Sofern nicht anders erwähnt wurde zum Prüfen der Signifikanz der gepaarte t-Test mit einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ angewendet. Bei Vergleich von mehr als zwei Datenreihen wurde das Verfahren der einfaktoriellen Analyse der Varianzen (one-way analysis of variance ANOVA) verwendet. Dafür wurden die Post-Hoc-Tests nach Scheffe und nach Student-Newman-Keuls (S-N-K) angewendet. Das Signifikanzniveau wurde ebenfalls mit $p < 0,05$ angesetzt.

Die Hauptkomponentenanalysen wurden mit dem Programm Canoco 4.5, die zugehörige graphische Darstellung mit CanoDraw ausgeführt. Die Daten wurden nicht transformiert. Die Ergebnisse wurden als zweidimensionale Komponentendiagramme dargestellt.

3 Ergebnisse und Diskussion

Um dem Verbleib von Pflanzenmaterial und der möglichen Stabilisierung organischer Substanzen im Boden nachzugehen, erfolgte die Charakterisierung der organischen Bodensubstanz (Kapitel 3.2), der Pyrolyseprodukte pyrolysierter Bodenproben (Kapitel 3.3) und von Phospholipidfettsäuren als Biomarker mikrobieller Biomasse (Kapitel 3.4).

Für dieses Ziel wurden natürlich markierte Bodenproben verwendet, wodurch Umsatzraten organischer Bodensubstanz bestimmt werden konnten (Kapitel 3.1). Zusätzlich dazu wurden an ausgewählten Proben ^{14}C -Gehalte gemessen.

3.1 Bestimmung von Umsatzraten der organischen Bodensubstanz durch natürliche Markierungsexperimente

3.1.1 Natürliche Isotopenmarkierungen in C3- und C4-Pflanzen

Pflanzen, die zur Kohlenstofffixierung ausschließlich den Calvin-Zyklus verwenden, werden als C3-Pflanzen bezeichnet, da als erstes Photosyntheseprodukt die Phosphoglycerinsäure, ein Molekül mit drei Kohlenstoffatomen, gebildet wird (Abbildung 8). Bei diesem Mechanismus wird CO_2 durch das Enzym Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase / Oxygenase (RuBisCO) in den CO_2 -Akzeptor Ribulose-1-5-bisphosphat gebunden (Zubay, 1993).

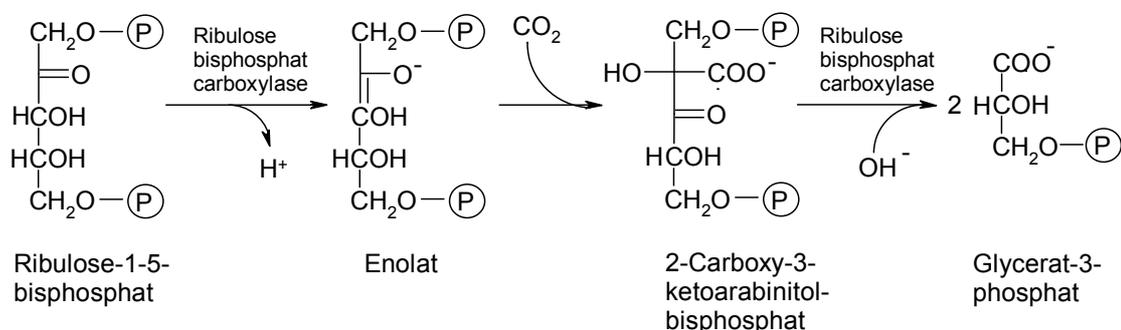


Abbildung 8: Fixierung von CO_2 und Bildung von *Glycerat-3-phosphat* als erstes Photosyntheseprodukt bei der Photosynthese in C3-Pflanzen.

Pflanzen enthalten weniger ^{13}C als die Atmosphäre (-8 ‰), weil bei enzymatischen und physikalischen Prozessen das schwerere ^{13}C -Isotop langsamer reagiert als das leichtere ^{12}C -Isotop. Zum einen wird CO_2 durch einen kinetischen Isotopeneffekt bei der Diffusion in die Spaltöffnungen um 4,4 ‰ gegenüber atmosphärischem CO_2 angereichert. Zum anderen liegt auf der Carboxylierungsreaktion, die durch RuBisCO katalysiert wird, ein weiterer kinetischer Isotopeneffekt der die Reaktionsprodukte um weitere 29 ‰ abreichert. Wäre die Aufnahme des CO_2 allein durch die Diffusion kontrolliert, würde der ^{13}C -Gehalt von C3-Pflanzen bei -12 ‰ liegen. Wäre die CO_2 -Aufnahme allein enzymkontrolliert wäre dagegen ein ^{13}C -Wert von -37 ‰ zu erwarten. Da jedoch beide Fraktionierungsprozesse nebeneinander ablaufen liegt der ^{13}C -Gehalt von C3-Pflanzen zwischen den ^{13}C -Werten einer diffusionskontrollierten CO_2 -Fixierung von -12 ‰ und einer enzymkontrollierten Reaktion von -37 ‰. Für C3-Pflanzen typisch sind Werte zwischen -25 ‰ und -29 ‰ (Lajtha & Marshall, 1994).

Bei C4-Pflanzen wird CO_2 zunächst in den Mesophyllzellen durch das Enzym Phosphoenolpyruvat / Carboxylase (PEPC) an den CO_2 -Akzeptor Phosphoenolpyruvat gebunden und vorübergehend durch die Bildung von Malat-Ionen, Molekülen mit vier Kohlenstoffatomen, gespeichert (Abbildung 9). Daher nennt man diese Pflanzen auch C4-Pflanzen. Malat-Ionen dienen als Transportmetaboliten, um CO_2 und NADP^+ aus den Mesophyllzellen in die Bündelscheidenzellen zu transportieren, in denen sich die Enzyme des Calvin-Zyklus befinden (Abbildung 9). Dort erfolgen der CO_2 -Einbau und die Bildung der Kohlenhydrate (Zubay, 1993).

Der ^{13}C -Gehalt von C4-Pflanzen ist erheblich höher als bei C3-Pflanzen und liegt bei ca. -14 ‰, da auf der Carboxylierungsreaktion, die durch das Enzym PEPC katalysiert wird, ein Isotopeneffekt von ca. -6 ‰ liegt. Während der Aufnahme des CO_2 durch RuBisCO tritt in den Bündelscheidenzellen ein Verlust an CO_2 auf. Dieses CO_2 ist durch die starke Isotopendiskriminierung auf der RuBisCO-Reaktion reich an ^{13}C und hat eine Anreicherung an ^{13}C der gebildeten Produkte zur Folge. Der tatsächliche ^{13}C -Gehalt der C4-Pflanzen liegt daher nur etwas negativer als die diffusions-kontrollierte CO_2 -Fixierung (-12 ‰) bei ca. -14 ‰. Das Enzym PEPC hat eine viel höhere Affinität zu CO_2 als RuBisCO, daher kann der Einbau des CO_2 bei den C4-Pflanzen noch bei wesentlich geringeren CO_2 -Konzentrationen erfolgen als bei C3-Pflanzen. Der CO_2 -Einbau ist deshalb bei C4-Pflanzen effektiver als bei C3-Pflanzen.

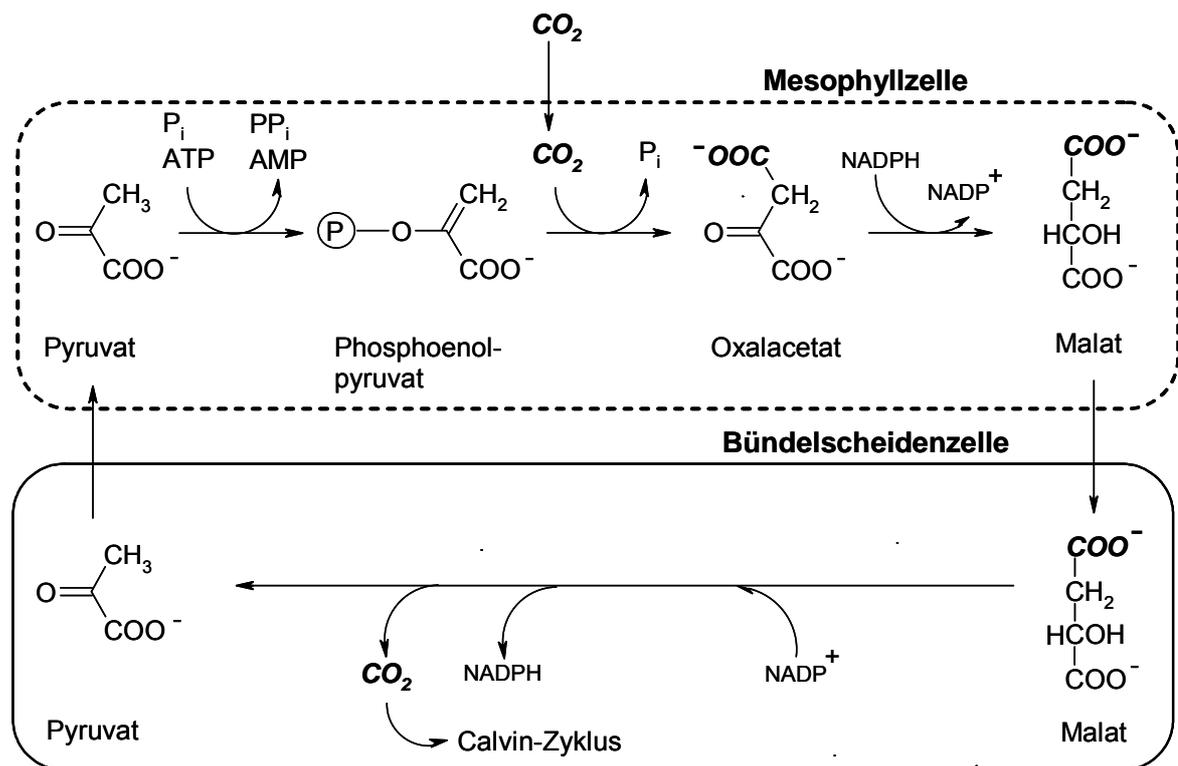


Abbildung 9: Vorfixierung von CO_2 bei der Photosynthese in C_4 -Pflanzen sowie Transport von Malat und NADP^+ aus den Mesophyllzellen in die Bündelscheidenzellen.

Durch die Anreicherung des CO_2 in den Bündelscheidenzellen der C_4 -Pflanzen besteht immer ein Vorrat an CO_2 , was den C_4 -Pflanzen erlaubt ihre Stomata weniger weit zu öffnen und mit geringerem Wasserverlust einhergeht (Nultsch, 1996). Damit haben sich C_4 -Pflanzen (z.B. Mais und Zuckerrohr) optimal an warme Klimazonen angepasst, während C_3 -Pflanzen (z.B. Weizen, Roggen, Nadelgehölze) in gemäßigten Klimazonen vorherrschen.

3.1.2 Berechnung von Umsatzraten anhand von ^{13}C -Gehalten

Mit Hilfe natürlicher Isotopenanreicherungen in C_4 -Pflanzen gegenüber C_3 -Pflanzen kann die Herkunft von organischem Material, dessen Umsetzung und Dynamik im Boden verfolgt werden. Die Vegetation eines Bodens wird dafür von C_3 - auf C_4 -Pflanzen umgestellt. Die Differenz der Isotopengehalte der C_3 - bzw. C_4 -Pflanzen von ca. 13 ‰ kann zur isotopischen Markierung der organischen Bodensubstanz (OBS) genutzt werden, um zwischen neu eingetragenem, C_4 -bürtigen und bereits vorhandenem, C_3 -bürtigen Kohlenstoff unterscheiden zu können (Balesdent & Mariotti, 1996) (Abbildung 10). Zum Zeitpunkt des

Vegetationswechsels t_0 ist die isotopische Zusammensetzung des organischen Bodenkohlenstoffs δ_{A0} , und spiegelt die Signatur des C3-Ausgangsmaterials δ_{vegA} wider. Der Gehalt an organischem Kohlenstoff zu dieser Zeit entspricht C_{A0} . An einem beliebigen Zeitpunkt nach dem Vegetationswechsel t_n wird organischer Kohlenstoff der Vegetation A zunehmend durch Kohlenstoff der neuen Vegetation B ersetzt. Der C-Gehalt des Bodens setzt sich nun aus der Summe von C_A und C_B zusammen. Die Isotopenzusammensetzung der organischen Bodensubstanz am Zeitpunkt t_n ist das Produkt aus δ_{A+B} und C_{A+B} und stellt ein Mischsignal aus beiden Vegetationen A und B dar (4) (Abbildung 10).

$$\delta_{A+B} \cdot C_{A+B} = \delta_A \cdot C_A + \delta_B \cdot C_B \quad (4)$$

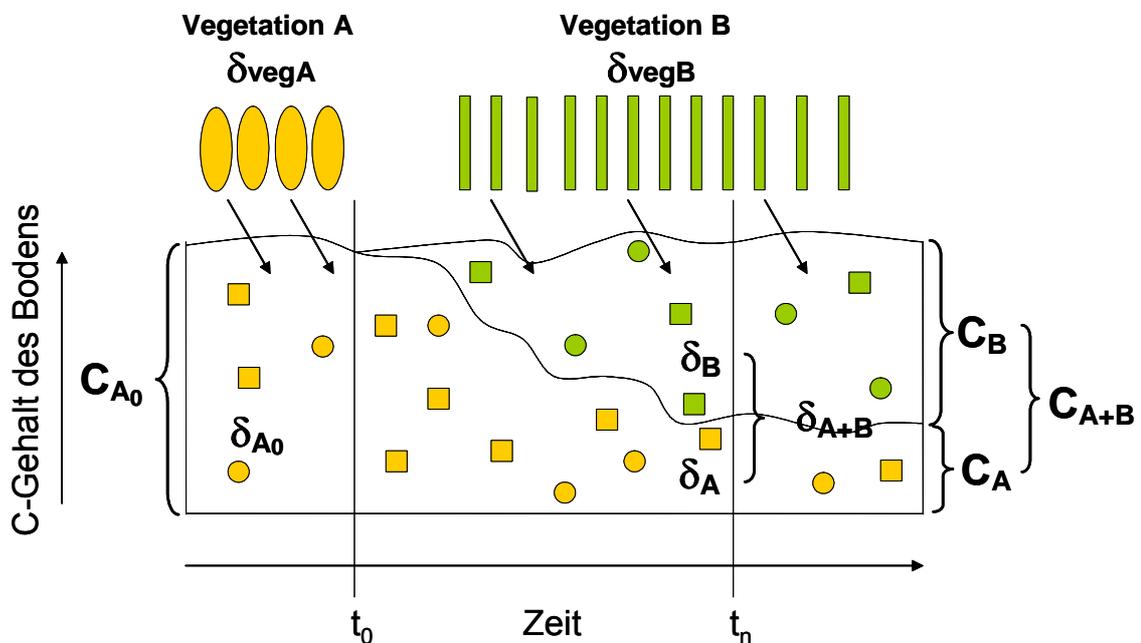


Abbildung 10: Schema eines natürlichen ^{13}C -Markierungsexperimentes.

Neben dem C4-Boden wird jeweils noch ein Referenzboden mit kontinuierlicher C3-Vegetation untersucht. Der ^{13}C -Gehalt dieses Bodens entspricht dabei der anfänglichen Isotopenzusammensetzung des C4-Bodens zum Zeitpunkt t_0 . Unter den Voraussetzungen dass a) die Isotopenzusammensetzung des Ausgangsbodens mit der des Referenzbodens und b) die Differenz der Isotopenzusammensetzung der organischen Bodensubstanz aus C3- und C4-Pflanzen gleich der der Pflanzen ist, kann mit F_B der Anteil an neuem Kohlenstoff im Boden angegeben werden (5).

$$\begin{aligned} \text{a)} \quad & \delta_A = \delta_{ARef} \\ \text{b)} \quad & \delta_B - \delta_A = \delta_{vegB} - \delta_{vegA} \end{aligned}$$

$$F_B = \frac{C_B}{C_{A+B}} = \frac{\delta_{A+B} - \delta_A}{\delta_B - \delta_A} = \frac{\delta_{A+B} - \delta_{ARef}}{\delta_{vegB} - \delta_{vegA}} \quad (5)$$

Weiterhin wird vorausgesetzt, dass alle Stoffflüsse und Prozesse sowie die Kinetik des Abbaus von organischem Material im Boden auf der C4-Fläche und der Referenzfläche im Fließgleichgewicht „steady state“ sind und sich die Gesamt-C-Konzentrationen durch den Vegetationswechsel nicht ändern.

Der Abbau des Ausgangsmaterials der anfänglichen Vegetation im Boden folgt einer Reaktion erster Ordnung (Balesdent & Mariotti, 1996; Paul & Clark, 1996). Die Konzentration des Ausgangsmaterials zurzeit t_0 entspricht C_{A0} . Die Abnahme des Ausgangsmaterials ist abhängig von der Geschwindigkeitskonstante k und der jeweiligen Konzentration C (6). Daraus kann nun die Konzentration an Ausgangsmaterial (C_A) zu einer beliebigen Zeit (t_n) angegeben werden (7).

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C \quad (6) \quad C_A = C_{A0} \cdot e^{-kt} \quad (7)$$

Für Reaktionen erster Ordnung ist die mittlere Verweilzeit (*Mean Residence Time MRT*) des Ausgangsmaterials gleich $1/k$. Um die *MRT* des Ausgangsmaterials zu berechnen, wird Gleichung 6 zunächst nach $-kt$ (8) und dann nach $1/k$ umgestellt (9).

$$-kt = \ln\left(\frac{C_A}{C_{A0}}\right) \quad (8) \quad \frac{1}{k} = \frac{-t}{\ln\left(\frac{C_A}{C_{A0}}\right)} \quad (9)$$

Dabei ist t die Differenz zwischen dem Zeitpunkt der Umstellung (t_0) und dem der Probenahme (t_n) unter „steady state“-Bedingungen. C_{A0} stellt den Kohlenstoffgehalt des Referenzbodens dar (c) und C_A das Produkt des C-Gehaltes des umgestellten Bodens und dem noch vorhandenen Kohlenstoff der früheren Vegetation (d).

$$\begin{aligned} \text{c)} \quad & C_{A0} = C_{ARef} \\ \text{d)} \quad & C_A = (1 - F_B) \cdot C_{A+B} \end{aligned}$$

Alle nötigen Parameter [t , t_0 , C_{ARef} , C_{A+B} , (δ_A und δ_{A+B} zur Ermittlung von F)] zur Berechnung mittlerer Verweilzeiten organischer Bodensubstanz sind somit gegeben (10 und 11).

t_0 = Zeit der Vegetationsumstellung

t_n = Zeit der Probenahme

C_{ARef} = C-Gehalt des C3-Referenzbodens C_{A+B} = C-Gehalt des umgestellten Bodens (C4)

δ_{ARef} = ^{13}C -Gehalt des C3-Referenzbodens δ_{A+B} = ^{13}C -Gehalt des umgestellten Bodens (C4)

$$MRT = \frac{-t_n - t_0}{\ln\left(\frac{C_A}{C_{A0}}\right)} \quad (10) \quad MRT = \frac{-t_n - t_0}{\ln\left(\frac{(1 - F_B) \cdot C_{A+B}}{C_{ARef}}\right)} \quad (11)$$

Analog zur Berechnung von Umsatzraten der OBS als Gesamtfraction, können unter Verwendung substanzspezifischer ^{13}C -Isotopengehalte und Kohlenstoffkonzentrationen auch molekulare Umsatzraten berechnet werden (Gleixner *et al.*, 1999; Gleixner *et al.*, 2002).

3.1.3 Bestimmung der Verweilzeiten anhand von ^{14}C -Gehalten

Lebende Biomasse steht im Kohlenstoffaustausch mit der Atmosphäre und weist den entsprechenden ^{14}C -Gehalt von derzeit $\Delta^{14}\text{C} = 73 \text{ ‰}$ auf. Bei totem Material besteht kein Austausch mehr mit der Atmosphäre, d.h. es wird kein ^{14}C mehr eingebaut. Wäre ^{14}C ein stabiles Isotop, würde sich dessen Konzentration nicht ändern. Da ^{14}C jedoch ein radioaktives Isotop ist, unterliegt das Material weiterhin dem radioaktiven Zerfall. Dabei nimmt die ^{14}C -Konzentration exponentiell ab, die Halbwertszeit $T_{1/2}$ für ^{14}C beträgt 5730 Jahre. Durch Bestimmung des verbleibenden ^{14}C -Gehaltes einer organischen Probe kann so die Zeit seit dem Tod des organischen Materials bestimmt werden (Bowman).

Der ^{14}C -Gehalt einer Probe wird dabei meist als $\Delta^{14}\text{C}$ mit der Einheit Promille [‰] angegeben (12) (Stuiver & Polach, 1977). Je geringer der gemessene $\Delta^{14}\text{C}$ -Wert einer Probe ist, umso älter ist das analysierte Probenmaterial. Aufgrund des exponentiellen Zerfalls von ^{14}C mit der Zeit kann der ^{14}C -Gehalt einer Probe auch als Alter in Jahren angegeben werden (13). Dabei

ist t das Alter in Jahren, T_m die mittlere Lebensdauer von ^{14}C , A_0 die spezifische Aktivität des Standardmaterials (Oxalsäure) und A_s die spezifische Aktivität der Probe. Ein $\Delta^{14}\text{C}$ -Wert von -10 ‰ entspricht dabei einem Alter von ≈ 29 Jahren, -20 ‰ ≈ 121 Jahre, -50 ‰ ≈ 360 Jahre und -100 ‰ entsprechen ≈ 800 Jahren.

$$\Delta^{14}\text{C} [\text{‰}] = \left(\frac{(^{14}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Probe}}}{(^{14}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Standard}}} - 1 \right) \cdot 1000 \quad (12)$$

$$t [\text{Jahre}] = T_m \ln \frac{A_0}{A_s} \quad (13)$$

Die Bestimmung von ^{14}C -Gehalten der organischen Bodensubstanz (OBS) ist wie die Bestimmung mittlerer Verweilzeiten von OBS anhand natürlicher ^{13}C -Isotopenmarkierungen geeignet, um die Dynamik des Kohlenstoffkreislaufs im Boden zu beschreiben (Trumbore, 1996; Wang *et al.*, 1996). Die Verweilzeiten des organischen Materials im Boden werden dabei direkt gemessen. Wie auch ^{13}C -Analysen an der gesamten OBS, so stellen auch entsprechende ^{14}C -Analysen nur Mittelwerte aller organischen Komponenten des Bodens dar. Um die Verweilzeiten von Kohlenstoff in verschiedenen Kohlenstoffpools zu untersuchen ist es daher notwendig, verschiedene Pools als separate Fraktionen oder substanzspezifisch einzelne charakteristische Substanzen dieser Pools zu untersuchen (Bol *et al.*, 1996; Eglinton *et al.*, 1996; Eglinton *et al.*, 1997; Trumbore *et al.*, 1989).

Die Bestimmung von Verweilzeiten der OBS und deren Bestandteilen durch ^{14}C -Analyse stellt somit eine Ergänzung zur Berechnung der Verweilzeiten auf Basis der ^{13}C -Gehalte dar. Der ^{14}C -Gehalt der Atmosphäre ist jedoch nicht konstant. Natürlich bedingte langzeitliche Veränderungen aufgrund von Schwankungen der kosmischen Strahlung und der Stärke des Erdmagnetfeldes beeinflussen die Produktionsrate von ^{14}C in der unteren Stratosphäre bzw. der oberen Troposphäre. Neben diesen natürlichen Faktoren haben anthropogene Einflüsse eine wesentlich größere Auswirkung auf die globale ^{14}C -Konzentration.

Zum einen bewirkt die Verbrennung fossiler Rohstoffe, deren ^{14}C -Konzentration nahe null ist, seit dem 19. Jh. durch den Eintrag von CO_2 in die Atmosphäre eine relative Absenkung des aktuellen ^{14}C -Gehaltes (Suess-Effekt) (Suess, 1955). Daher sind gemessene ^{14}C -Gehalte stets niedriger als erwartet. Dieser Effekt wird jedoch berücksichtigt, indem Oxalsäure, deren ^{14}C -Gehalt gegen den Suess Effekt korrigiert wurde, als Standardmaterial für ^{14}C -Messungen

verwendet wird. Zum anderen beeinflussten Kernwaffentests seit den 1950er Jahren („Bomben-Effekt“), bei denen riesige Mengen an ^{14}C produziert wurden, den atmosphärischen ^{14}C -Gehalt (Abbildung 11) (Rethemeyer *et al.*). Dadurch wurde der ^{14}C -Gehalt der Atmosphäre um bis zu 70 % gegenüber dem Gehalt vor den Kernwaffentests erhöht. Durch den ständigen Stoffaustausch lebender Biomasse mit der Atmosphäre kann dieser Effekt in allen Bereichen terrestrischer Ökosysteme und damit auch in der organischen Bodensubstanz detektiert werden (Goh, 1991). Der Eintrag dieses sogenannten „Bomben- ^{14}C “ kann jedoch als Markierung genutzt werden, um den Kohlenstoffkreislauf des Bodens zu untersuchen, wenn Archivproben aus der Zeit vor dem „Bomben-Effekt“ zur Verfügung stehen (Harkness *et al.*, 1986; Trumbore *et al.*, 1989).

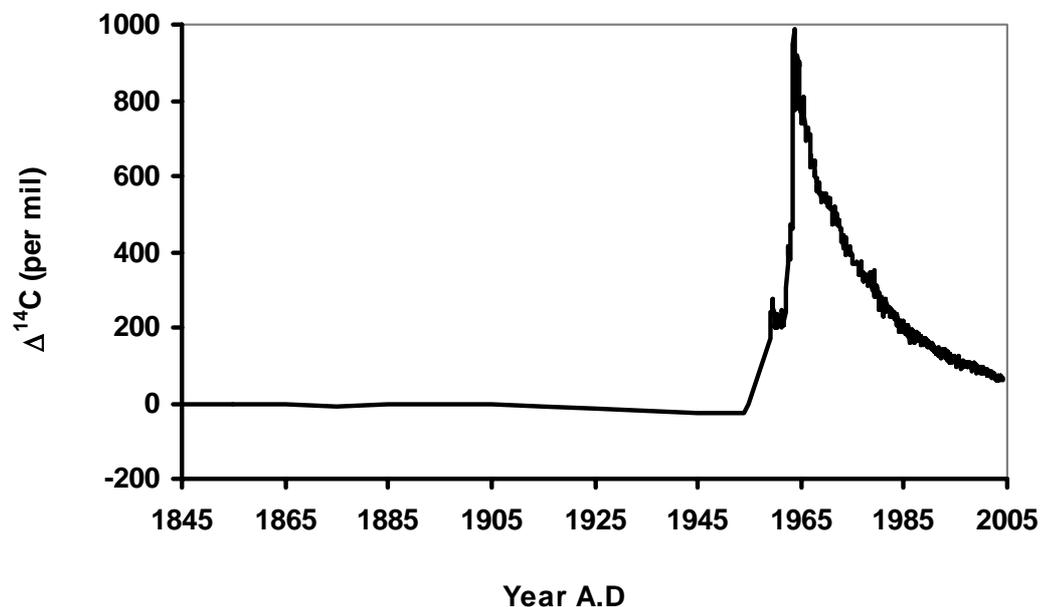


Abbildung 11: Atmosphärischer $\Delta^{14}\text{CO}_2$ Trend über Europa. Die ^{14}C -Daten bis 1959 stammen von Baumringen, (Stuiver & Quay, 1981) spätere Daten sind von Luftproben der Stationen Vermunt (Österreich), Jungfraujoch (Schweiz) und Schauinsland (Deutschland) (Levin & Kromer, submitted; Levin *et al.*, 2003).

3.2 Charakterisierung und Umsatzraten der organischen Bodensubstanz

In diesem Kapitel werden die Böden der Untersuchungsstandorte Rotthalmünster und Halle durch ihre Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte (C,N) sowie die Kohlenstoffisotopengehalte ($\delta^{13}\text{C}$) und Stickstoffisotopengehalte ($\delta^{15}\text{N}$) ihrer organischen Bodensubstanz vorgestellt.

3.2.1 Elementgehalte (C, N) und Isotopenverhältnisse ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert, $\delta^{15}\text{N}$ -Wert)

Standort Rotthalmünster

Die Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte der organischen Bodensubstanz mit C3- (C3-OBS) bzw. C4-Vegetation (C4-OBS) nehmen von 1,4 % (C) bzw. 0,15 % (N) in 0-10 cm auf 0,1 % (C) bzw. 0,02 % (N) in 90-100 cm Bodentiefe ab. Ebenso nimmt das C/N-Verhältnis im Bodenprofil von 9 auf 5 ab (Abbildung 12).

Die höchsten Gehalte für C und N konnten im Ap-Horizont (0-35 cm) festgestellt werden. Dies liegt zum einen an der hohen Wurzelmasse. Bei Maispflanzen befinden sich ca. 80 % der gesamten Wurzelmasse in den oberen 30 cm des Bodens. Zum anderen wird jährlich die verbleibende pflanzliche Biomasse in den Ap-Horizont des C4-Bodens eingearbeitet, was zu einer gleichmäßigen Verteilung der organischen Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte in diesem Horizont führt. Die Gehalte für C und N im Ap-Horizont des C3-Bodens sind nicht gleichmäßig verteilt und nehmen von 0-35 cm ab. Dies ist ein eindeutiger Effekt der Bodenbearbeitung. Das gesamte C4-Pflanzenmaterial wird in den Ap-Horizont des C4-Bodens jährlich durch Pflügen eingearbeitet, während das C3-Pflanzenmaterial nur durch Grubbern in den C3-Boden gebracht wird. Dabei werden in den Boden mit C4-Vegetation jährlich $0,46 \text{ kg C / m}^2$, in den Boden mit C3-Vegetation nur $0,17 \text{ kg C / m}^2$ durch Pflanzenmaterial eingetragen.

Aufgrund geringerer Durchwurzelung des Bodens mit zunehmender Bodentiefe nehmen die C- und N-Gehalte schnell ab. Außerdem findet nur in die Ap-Horizonte ein direkter Eintrag an Pflanzenmaterial statt, aber nicht in tiefere Bodenschichten. Die C- und N-Gehalte der C3-OBS und C4-OBS beider Böden unterscheiden sich dementsprechend voneinander. Dabei weist die C4-OBS signifikant höhere C- und N-Gehalte und höhere C/N-Verhältnisse auf als die C3-OBS (C-Gehalt: $t = 3,54$; $p < 0,01$; N-Gehalt: $t = 3,46$; $p < 0,01$; CN-Verhältnis: $t = 4,32$; $p = 0,001$; bei $N = 13$) (Abbildung 12).

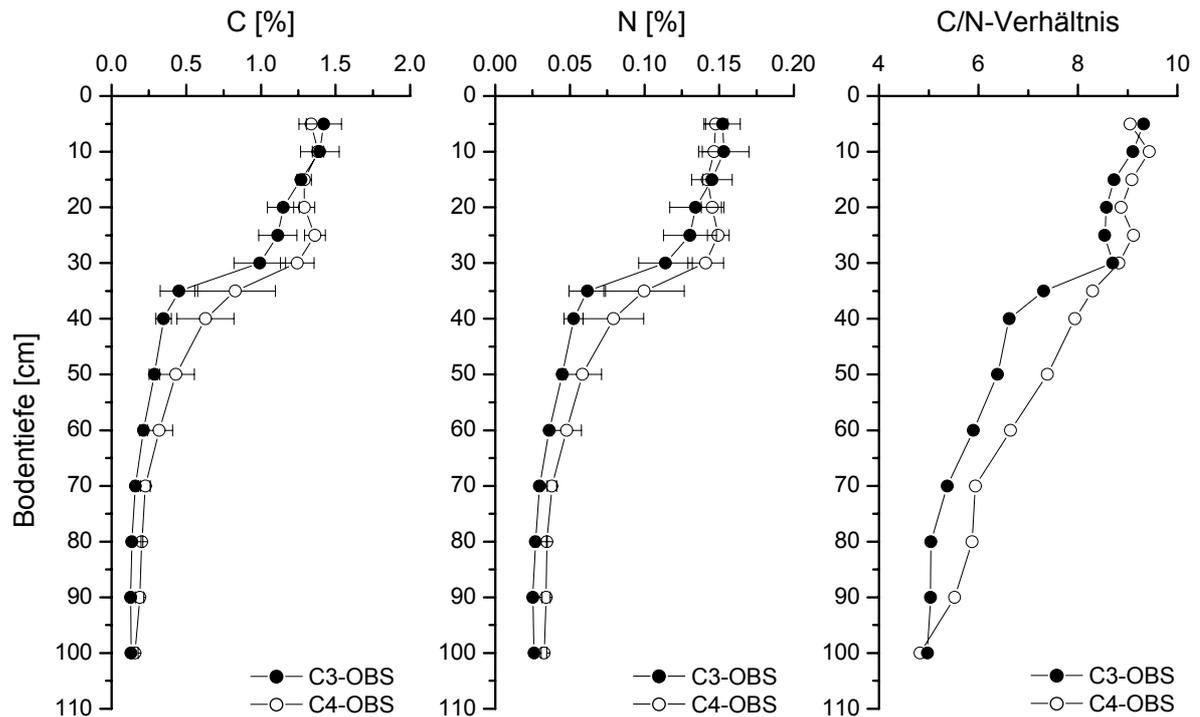


Abbildung 12: C- und N-Gehalte sowie C/N-Verhältnisse der organischen Bodensubstanz der C3 und C4-Böden des Standortes Rotthalmünster in 0-100 cm Bodentiefe.

Die ^{13}C -Gehalte der C3-OBS und der C4-OBS unterscheiden sich entsprechend der unterschiedlichen natürlichen Isotopensignatur der C3- bzw. C4-Vegetation signifikant voneinander ($t = 4,29$; $p = 0,001$; bei $N = 13$) (Abbildung 13).

Im Ap-Horizont liegen die ^{13}C -Gehalte der C3-OBS bei $-27,01\text{‰}$ und die ^{13}C -Gehalte der C4-OBS bei $-22,17\text{‰}$, sodass durch den Vegetationswechsel eine isotopische Veränderung von $4,84\text{‰}$ zwischen C3-OBS und C4-OBS seit der Vegetationsumstellung von C3- zu C4-Pflanzen zu verzeichnen ist (Abbildung 13). Mit zunehmender Bodentiefe verringert sich jedoch der isotopische Abstand zwischen C3-OBS und C4-OBS. Dabei nimmt bei C4-OBS der Einfluss des ^{13}C -reichen Maiseintrags mit einer isotopischen Signatur von $-12,30\text{‰}$ ab und der ^{13}C -Gehalt der C4-OBS sinkt. Ab ca. 80 cm Bodentiefe ist kein Einfluss der C4-Vegetation auf den ^{13}C -Gehalt der C4-OBS mehr feststellbar. Bei C3-OBS sinkt der Einfluss mit einer isotopischen Signatur von $-26,95\text{‰}$, so dass dessen ^{13}C -Gehalt mit zunehmender Bodentiefe zunimmt. Deshalb nähern sich mit zunehmender Tiefe die ^{13}C -Gehalte beider OBS an. Die Zunahme des ^{13}C -Gehaltes der C3-OBS um ca. $3,5\text{‰}$ mit zunehmender Bodentiefe spiegelt zum einen die abnehmende Menge an ^{13}C -armen Weizeneintrag wider. Zum anderen zeigt sich dadurch, dass vorwiegend leichtes ^{12}C durch die Mikroben veratmet wird und den Boden verlässt, während sich das schwerere ^{13}C in der

mikrobiellen Biomasse bzw. in der OBS anreichert. Dies nennt man auch Trophiestufeneffekt. Im Oberboden liegt ein Überschuß an ^{13}C -armen Pflanzenmaterial vor, so dass dieser Effekt hier nicht festzustellen ist. Erst in unteren Bodenschichten, wenn Pflanzenmaterial limitierend ist, wird die Anreicherung des ^{13}C im Boden sichtbar.

Der ^{15}N -Gehalt der C4-OBS unterscheidet sich ebenfalls signifikant vom ^{15}N -Gehalt der C3-OBS ($t = 8,57$; $p < 0,001$; $N = 13$). Die C4-OBS weist dabei signifikant höhere ^{15}N -Gehalte auf als die vergleichbare C3-OBS. Die ^{15}N -Gehalte der C3-OBS steigen von 6,2 ‰ im Ap-Horizont bis auf 7,4 ‰ in 30 cm Tiefe an und nehmen dann kontinuierlich bis auf 4,9 ‰ in 100 cm Tiefe ab. Die ^{15}N -Gehalte der C4-OBS erreichen bei 35 cm Bodentiefe ein Maximum mit einem $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von 8,1 ‰ und sinken dann auf 5,39 ‰ in 100 cm Bodentiefe (Abbildung 13). Die ^{15}N -Gehalte sollten mit zunehmender Bodentiefe ansteigen (Nadelhoffer & Fry, 1994; Steward, 2001). Dies trifft hier nur bis zum Ende der Ap-Horizonte zu, danach sinken die ^{15}N -Gehalte beider Proben um jeweils ca. 2,5 ‰ bis 100 cm Bodentiefe. Der ^{15}N -Gehalt des applizierten Düngers ist nicht bekannt. Möglicherweise ist aber die ^{15}N -Signatur des Düngers und zunehmende Akkumulation mit der Tiefe die anthropogene Ursache für die beobachteten ^{15}N -Gehalte.

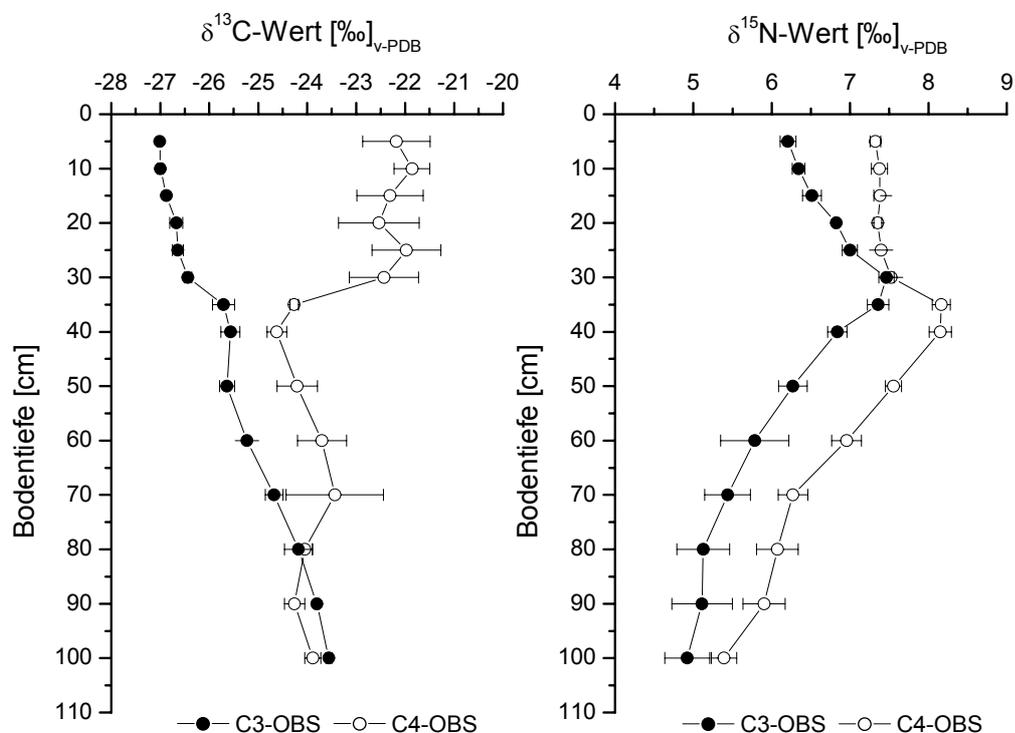


Abbildung 13: ^{13}C - und ^{15}N -Gehalte der C3- und C4-OBS von Rotthalmünster im Bodenprofil.

Standort Halle

Am Standort Halle wurde ebenfalls ein Vegetationswechsel von C3- zu C4-Pflanzen durchgeführt, dieser fand 1961 statt. Neben mineralischer Düngung gibt es an diesem Standort auch organisch gedüngte sowie ungedüngte C3- und C4-Flächen. In Halle wird als C4-Pflanze Silomais angebaut. Dies führt zu wesentlich geringeren Einträgen an Pflanzenmaterial in den Boden, da nur die Wurzeln eingearbeitet werden, anstelle der gesamten Pflanzen beim Anbau von Körnermais am Standort Rotthalmünster (Tabelle 3).

Die C-Gehalte der C3- und C4-OBS der mineralisch gedüngten und der ungedüngten Böden liegen zwischen 1,1 % und 1,3 % im Ap-Horizont und sinken bis auf 0,1 % in 80 cm Bodentiefe (Abbildung 14). Die Ursachen dafür sind, wie am Standort Rotthalmünster, die gute Durchwurzelung und der jährliche Eintrag an Pflanzenmaterial in den Ap-Horizont. Dabei konnte festgestellt werden, dass die C4-OBS des ungedüngten und mineralisch gedüngten Bodens in 40, 50 und 60 cm Bodentiefe etwas höhere Kohlenstoffgehalte aufweisen als die beiden vergleichbaren C3-OBS. Weiterhin sind die C-Gehalte der C4-OBS der mineralisch gedüngten und der ungedüngten Böden sowie die C-Gehalte der beiden entsprechenden C3-Böden nahezu gleich. (Abbildung 14). Die auftretenden Differenzen in 40, 50 und 60 cm Bodentiefe sind möglicherweise durch leicht voneinander abweichende Bodenprofile der C3- und der C4-Fläche zu erklären.

Die N-Gehalte der OBS am Standort Halle liegen mit 0,07 % im Ap-Horizont und 0,02 % in 80 cm Bodentiefe deutlich unter den N-Gehalten der OBS von Rotthalmünster, was folglich zu wesentlich größeren C/N- Verhältnissen führt (Abbildung 14). Dabei weist die C4-OBS des ungedüngten und mineralisch gedüngten Bodens signifikant höhere N-Gehalte auf als die entsprechende C3-OBS (ungedüngt: $t = 4,255$; $p < 0,01$; $N = 7$; min. gedüngt: $t = 2,660$; $p < 0,05$; $N = 7$). Die N-Gehalte der ungedüngten und mineralisch gedüngten C4-OBS unterscheiden sich nicht voneinander, während die C3-OBS des mineralisch gedüngten Bodens signifikant höhere N-Gehalte aufweist als die des ungedüngten Bodens ($t = -3,53$; $p = 0,01$; bei $N = 7$). Die N-Gehalte der OBS dieser 4 Böden sind im Ap-Horizont sehr ähnlich, nur die C3-OBS des ungedüngten Bodens weist geringere N-Gehalte auf. Wie schon bei den C-Gehalten ist eine Differenz zwischen C3- und C4-OBS in 40 und 50 cm Bodentiefe zu beobachten. Diese Differenzen sind nicht durch die unterschiedlichen Mengen an pflanzlichem Eintrag zu erklären, denn dies müsste sich am deutlichsten in den C- und N-Gehalten der Ap-Horizonte widerspiegeln. Wahrscheinlich sind, wie bereits erwähnt, geringfügige Unterschiede im Bodenprofil dafür verantwortlich. Bezüglich der C/N-Verhältnisse konnten keine Unterschiede zwischen den OBS der verschiedenen gedüngten

C3- und C4-Böden festgestellt werden. Gemäß den Elementgehalten an C und N nehmen sie mit zunehmender Bodentiefe ab.

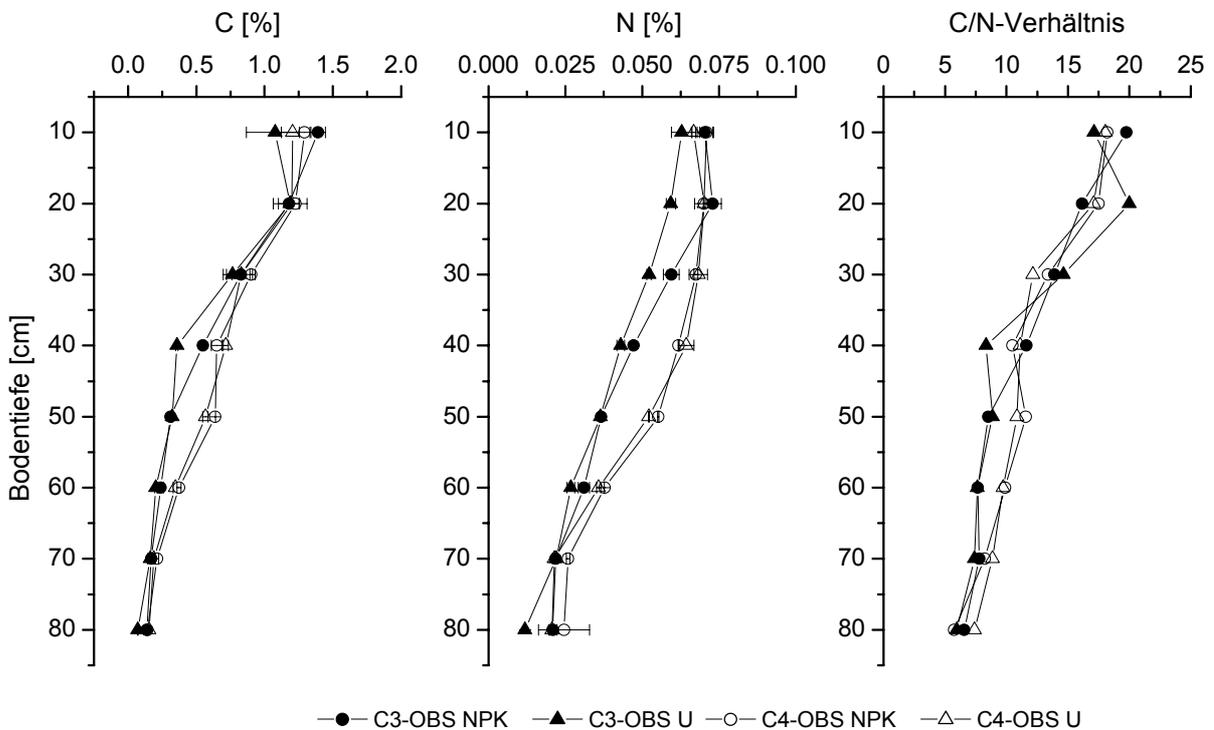


Abbildung 14: C- und N-Gehalte der C3- und C4-OBS sowie die C/N-Verhältnisse im Bodenprofil, U = ungedüngt, NPK = mineralisch gedüngt.

Die ^{13}C -Gehalte der C4-OBS des ungedüngten ($t = 6,40$; $p < 0,001$; $N = 7$) und mineralisch gedüngten Bodens ($t = 7,26$; $p < 0,001$; $N = 7$) sind signifikant höher als die ^{13}C -Gehalte der jeweiligen C3-OBS. Im Ap-Horizont des ungedüngten Bodens beträgt der ^{13}C -Gehalt der C3-OBS $-25,50\text{‰}$ und der C4-OBS $-23,51\text{‰}$. Damit ist der isotopische Abstand zwischen C3- und C4-OBS $1,99\text{‰}$. Die C3-OBS des mineralisch gedüngten Bodens hat einen ^{13}C -Gehalt von $-25,69\text{‰}$, die C4-OBS liegt bei $-23,24\text{‰}$. Der isotopische Abstand zwischen C3-OBS und C4-OBS liegt damit bei $2,45\text{‰}$. Infolge höherem pflanzlichen Eintrag bei mineralisch gedüngten Böden liegen die ^{13}C -Gehalte der C3-OBS und der C4-OBS näher an der ^{13}C -Signatur des Pflanzenmaterials von $-12,4\text{‰}$ für C4- und $-29,3\text{‰}$ für C3-Pflanzen und der isotopische Abstand beider OBS wird größer (Abbildung 15, Tabelle 3).

Mit zunehmender Bodentiefe nähern sich die ^{13}C -Gehalte der C3-OBS und C4-OBS an und der Einfluss des pflanzlichen Eintrags nimmt ab. Die ^{13}C -Gehalte der mineralisch gedüngten C3-OBS sind signifikant höher als die der ungedüngten C3-OBS ($t = 4,164$; $p < 0,01$; $N = 7$). Ebenso spiegeln die ^{13}C -Gehalte der C4-OBS des mineralisch gedüngten Bodens bis 60 cm

Bodentiefe signifikant den Einfluss der größeren Eintragsmenge gegenüber der C4-OBS des ungedüngten Bodens wider ($t = -3,164$; $p < 0,05$; $N = 5$). Dies zeigt, dass die ^{13}C -Gehalte der OBS deutlich von der Menge des pflanzlichen Eintrags abhängen.

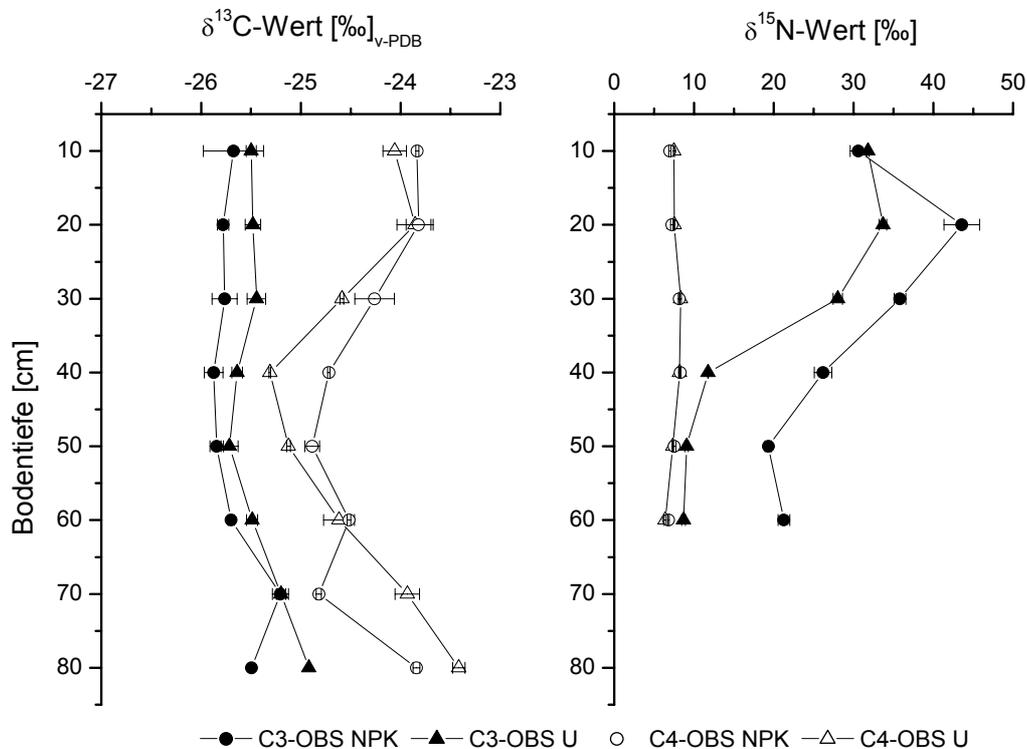


Abbildung 15: ^{13}C - und ^{15}N -Gehalte der C3- (gefüllte Symbole) und C4-OBS (offene Symbole); aus ungedüngten (U) und mineralisch gedüngten (NPK) Böden nach der Vegetationsumstellung.

Die ^{15}N -Gehalte der C3-OBS sind mit 30-40 ‰ im Oberboden unerwartet hoch, während die vergleichbaren ^{15}N -Gehalte der C4-OBS bei 7,5 ‰ liegen (Abbildung 15). Mit zunehmender Bodentiefe nimmt der ^{15}N -Gehalt der C3-OBS ab, liegt aber bei 60 cm mit 17 ‰ noch deutlich über dem vergleichbaren ^{15}N -Gehalt der C4-OBS von 7 ‰. Dabei weist die mineralisch gedüngte C3-OBS signifikant höhere ^{15}N -Gehalte auf als die ungedüngte C3-OBS ($t = -3,997$; $p = 0,01$; $N = 5$). Die ^{15}N -Gehalte der C4-OBS des ungedüngten Bodens unterscheiden sich nicht signifikant von den ^{15}N -Gehalten der C4-OBS des mineralisch gedüngten Bodens. Im Gegensatz zu den ^{13}C -Gehalten haben höhere Mengen an pflanzlichen Eintrag in den Boden keinen Einfluss auf die ^{15}N -Gehalte der OBS.

Der mineralisch gedüngte und zum Teil auch der ungedüngte C3-Boden unterlagen dem Einfluss eines mehrjährigen Experiments mit ^{15}N -markiertem Dünger, was zu erhöhten ^{15}N -Gehalten der C3-OBS führt. Nach Angaben des Betreibers fand dieses Experiment

Anfang der 1990er Jahre statt. Anhand von Archivproben der ungedüngten C3- und C4-Böden konnte die Markierung der OBS dieser Proben dargestellt werden (Abbildung 16). Archivproben der Jahre 1980 bis 1990 standen nicht zur Verfügung.

Die N-Gehalte der C4- und C3-OBS in 0-20 cm nehmen von Versuchsbeginn bis zum Versuchsjahr 39 um 0,02 % ab. In 20-40 cm Bodentiefe zeigen die N-Gehalte beider OBS eine höhere Variabilität als in 0-20 cm. Die C4-OBS nimmt um ca. 0,01 % in 39 Versuchsjahren ab, der N-Gehalt der C3-OBS scheint etwa um diesen Wert zuzunehmen. Dieses Ergebnis ist aber durch zu wenige Proben, vor allem in den frühen Versuchsjahren, nicht gesichert. Die N-Gehalte der C4-OBS in 0-20 und 20-40 cm Bodentiefe sind signifikant höher als die der C3-OBS (0-20 cm: $t = 4,027$; $p = 0,001$; $N = 20$; 20-40 cm: $t = -7,021$; $p < 0,001$; $N = 10$).

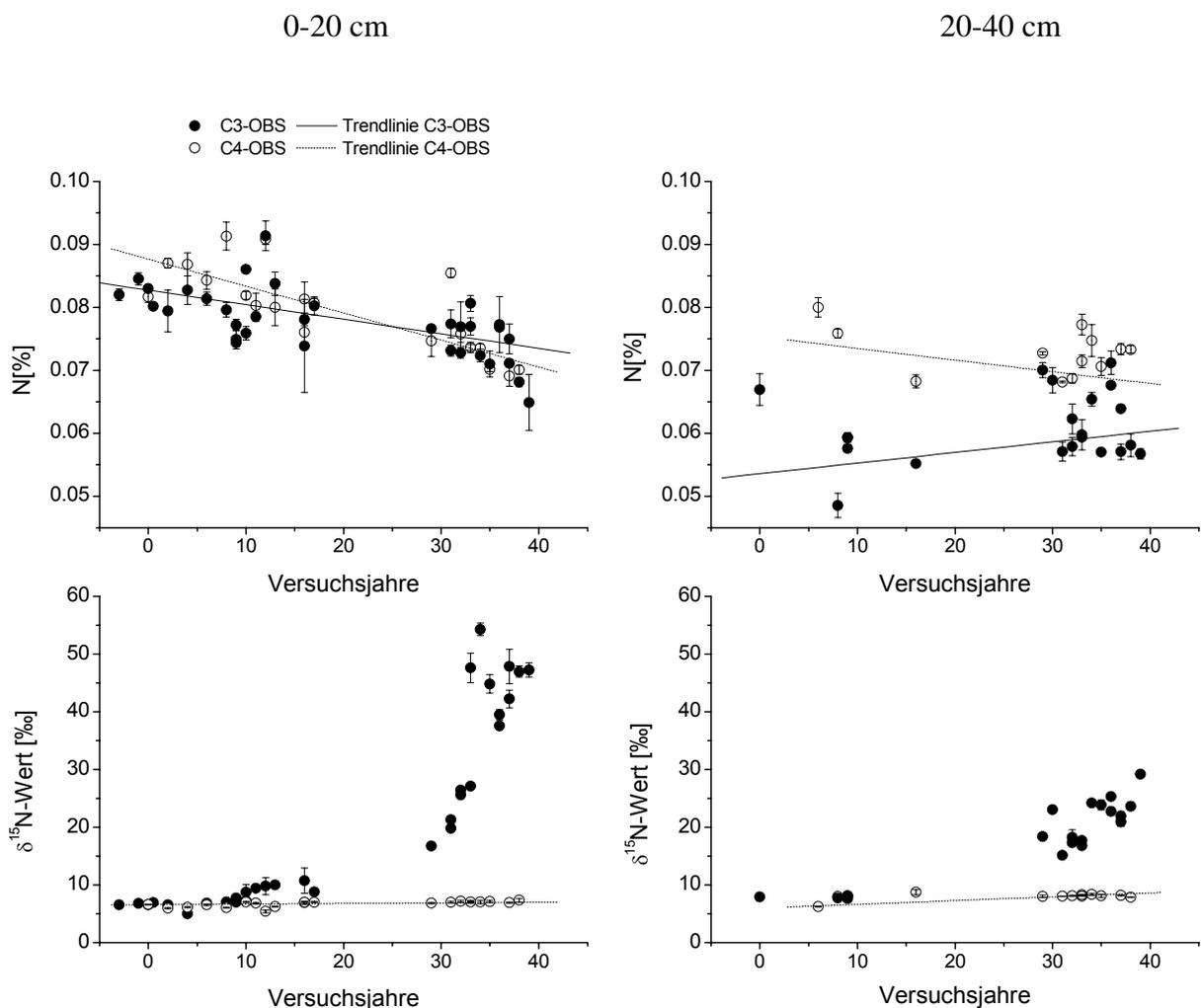


Abbildung 16: Stickstoff- und ^{15}N -Isotopengehalte der OBS von Archivproben der ungedüngten Böden einer Zeitreihe.

Die ^{15}N -Gehalte der C3-OBS zeigen in 0-20 und 20-40 cm Bodentiefe deutlich den Einfluss der Markierungsexperimente. Während in 0-20 cm eine Markierung von 55 ‰ gemessen wurde, beträgt die Markierung in 20-40 cm noch maximal 30 ‰. Dies spricht für eine Akkumulation der markierten Substanzen im Boden und widerspricht einer schnellen Auswaschung des Düngers aus dem Boden. Die ^{15}N -Gehalte der C4-OBS sind nicht durch eine Markierung beeinflusst. Trotz einer Abnahme der N-Gehalte der C4-OBS in 0-20 und in 20-40 cm Bodentiefe ist keine Veränderung der ^{15}N -Gehalte in der gesamten Versuchszeit zu beobachten. Dies zeigt, dass in den Boden eingetragenes N-haltiges Material vollständig umgesetzt wird, während festgelegte Stickstoffverbindungen im Boden verbleiben. Demzufolge findet in den einzelnen Bodenschichten keine Isotopenfraktionierung für Stickstoff statt. Die ^{15}N -Gehalte der C3-OBS zeigten durch die Anwendung des ^{15}N -markierten Düngers ebenfalls, dass Stickstoffverbindungen über Jahre im Boden festgelegt werden können (Abbildung 16).

3.2.2 Einfluss der Menge des eingetragenen Pflanzenmaterials auf Elementgehalte (C, N) und Isotopenverhältnisse ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert, $\delta^{15}\text{N}$ -Wert)

Neben den schon beschriebenen OBS ungedüngter und mineralisch gedüngter Böden aus Tiefenprofilen wurden auch Ap-Horizonte dieser Böden sowie organisch gedüngter Böden untersucht. Im Vergleich der drei Düngungsvarianten weisen die OBS der ungedüngten Böden entsprechend des geringsten Eintrags an Pflanzenmaterial auch die geringsten C- und N-Gehalte auf. Die Gehalte der OBS mineralisch gedüngter Böden sind etwas höher, während die höchsten Gehalte an C und N an der OBS organisch gedüngter Böden gemessen wurden (Tabelle 3). Die C/N-Verhältnisse nehmen von ungedüngt mit ca. 22,5 zu organisch gedüngt mit einem C/N-Verhältnis von 17 ab. Dies liegt an den stetig zunehmenden C- und noch stärker zunehmenden N-Gehalten der OBS von ungedüngt zu organisch gedüngtem Boden.

Die ^{13}C -Gehalte der C3-OBS und der C4-OBS nehmen von ungedüngt zu organisch gedüngt ab, sie nähern sich damit dem Wert des Pflanzenmaterials von -29,3 ‰ an. Dies steht im Einklang mit dem steigenden Eintrag an Pflanzenmaterial von ungedüngt, mineralisch gedüngt bis organisch gedüngt (Tabelle 3). Trotz des höchsten Eintrags an Pflanzenmaterial bei organisch gedüngten Böden weisen die C3-OBS und die C4-OBS dieser Böden nicht wie zunächst erwartet die höchsten ^{13}C -Gehalte im Vergleich zu ungedüngten und mineralisch gedüngten Böden auf. Vielmehr liegen sie mit -26,52 ‰ für C3-OBS und -24,42 ‰ für C4-OBS in Richtung des ^{13}C -Gehaltes des C3-Pflanzenmaterials hin verschoben, was eine

Folge des zusätzlichen Eintrags an C3-Stroh mit dem organischen Dünger (Stallmist) ist. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des organischen Düngers beträgt -24,6 ‰.

Tabelle 3: Der Einfluss der Eintragsmenge an Pflanzenmaterial auf die Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte sowie auf die ^{13}C - und ^{15}N -Isotopenverhältnisse der Ap-Horizonte.

	Variante	ungedüngt	mineralisch	organisch	organisch (korr)*
C-Eintrag (kg C/m ²)	C3	0,048	0,061	0,073	
	C4	0,023	0,055	0,066	
C-Gehalt (%)	C3	1,05	1,17	1,62	1,42*
	C4	1,12	1,20	1,54	1,47*
$\delta^{13}\text{C}$ -Gehalt (‰)	C3	-26,05	-26,17	-26,52	-28,02*
	C4	-24,40	-23,80	-24,42	-22,91*
N-Eintrag (kg N/m ²)	C3	0,00085	0,00108	0,00130	
	C4	0,00028	0,00049	0,00071	
N-Gehalt (%)	C3	0,048	0,057	0,093	0,085*
	C4	0,048	0,057	0,091	0,083*
$\delta^{15}\text{N}$ -Gehalt (‰)	C3	61,25	33,70	23,70	-
	C4	7,15	6,97	8,96	7,96*

* gegen den Einfluss des organischen Düngers korrigierte Werte.

Die OBS der C3-Böden haben, wie schon erläutert, durch den Eintrag an markiertem Dünger sehr hohe ^{15}N -Gehalte, die bei ungedüngtem Boden 62,25 ‰, bei mineralischer Düngung 33,7 ‰ und bei organischer Düngung 23,7 ‰ betragen. Die unterschiedlich hohen ^{15}N -Gehalte der C3-OBS sind nicht die Folge unterschiedlicher Mengen pflanzlichen Eintrags in den Boden, sondern beruhen allein auf dem Eintrag unterschiedlicher Mengen an markiertem Dünger auf die einzelnen Varianten.

Der ^{15}N -Gehalt der C4-OBS des ungedüngten Bodens beträgt 7,15 ‰, des mineralisch gedüngten Bodens 6,97 ‰ und des organisch gedüngten Bodens 8,96 ‰ (Tabelle 3). Der ^{15}N -Gehalt des organischen Düngers beträgt 10,35 ‰.

Die gemessenen C- und N-Gehalte sowie die ^{13}C - und ^{15}N -Gehalte können jedoch gegen den zusätzlichen Eintrag des organischen Düngers korrigiert werden. Dabei unterscheiden sich die C-Gehalte der Messwerte und der korrigierten Werten um ca. 0,1 % und die N-Gehalte um 0,008 % voneinander (Tabelle 3). Die korrigierten Werte sind erwartungsgemäß niedriger als die einschließlich des organischen Düngers gemessenen Werte. Nur bei der OBS des organisch gedüngten Bodens ist eine deutliche Erhöhung der C- und N-Gehalte der OBS im Vergleich zu ungedüngten und mineralisch gedüngten Böden messbar. Dies zeigt, dass die Eintragsmenge an Pflanzenmaterial in den Boden eine geringere Auswirkung auf die C- und N-Gehalte der OBS hat als der zusätzliche Eintrag von organischem Dünger.

Durch die Korrektur der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wird der alleinige Einfluss des Eintrags an Pflanzenmaterial auf den ^{13}C -Gehalt der OBS freigelegt. Die korrigierten ^{13}C -Gehalte liegen für C4-OBS bei -22,91 ‰ (Messwert: -24,42 ‰) und für C3-OBS bei -28,02 ‰ (Messwert: -26,52 ‰). Dadurch wird deutlich, dass sich die ^{13}C -Gehalte der C3- und C4-OBS deutlich den ^{13}C -Signaturen des jeweiligen Pflanzenmaterials mit -12,40 ‰ (C4-Eintrag) und -29,30 ‰ (C3-Eintrag) annähern. Auch hier zeigt sich bei den einzelnen Düngungsvarianten ein geringer Einfluss der Eintragsmenge an Pflanzenmaterial auf die ^{13}C -Gehalte der OBS, aber ein großer Einfluss des organischen Düngers. Dies konnte auch bezüglich der ^{15}N -Gehalte beobachtet werden (Tabelle 3). Der korrigierte ^{15}N -Gehalt der OBS des organisch gedüngten Bodens liegt bei 7,96 ‰ und damit noch 0,99 ‰ höher als die OBS des mineralisch gedüngten Bodens. Die Differenz der ^{15}N -Gehalte der OBS des mineralisch gedüngten und des ungedüngten Bodens beträgt dagegen nur 0,18 ‰.

Durch die zusätzliche Gabe von organischem Dünger, und somit auch Stickstoff, werden die mikrobielle Biomasse und deren Aktivität im Boden erhöht. Dies kann zu einer erhöhten Abbaurate an Pflanzenmaterial führen und auch den verstärkten Abbau pflanzenbürtiger Substanzen auslösen, die bereits über Jahrzehnte im Boden vorlagen (Neff *et al.*, 2002). Diese Auswirkung ist auch als „priming effect“ bekannt, dessen Ursachen und Mechanismen bislang noch unbekannt sind (Fontaine *et al.*, 2003; Kuzyakov, 2002).

3.2.3 Zeitliche Veränderungen der C-Gehalte und ^{13}C -Gehalte nach dem Vegetationswechsel

Die Entwicklung der Qualität der organischen Bodensubstanz (OBS) seit der Vegetationsumstellung im Jahr 1961 wurde anhand von Archivproben seit 1958 analysiert. Es wurden Bodenproben der ungedüngten C3- und C4-Flächen aus 0-20 cm und 20-40 cm Bodentiefe verwendet. Die Kohlenstoffgehalte der C3-OBS und C4-OBS aus 0-20 und 20-40 cm Bodentiefe unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Abbildung 17). Jedoch nehmen die Kohlenstoffgehalte der C3- und der C4-OBS in 0-20 cm Bodentiefe von 1,37 % C zu Beginn bis auf 1,13 % C (C3) und 1,24 % C (C4) im Versuchsjahr 39 leicht ab. Beide Trendlinien überlagern sich bei einer Steigung von -0,0062. Die Kohlenstoffgehalte der C3- und C4-OBS in 20-40 cm Bodentiefe verändern sich nicht, C3-OBS: 0,88 % C (Versuchsbeginn), 0,90 % C (nach 39 Versuchsjahren), C4-OBS: 0,92 % C (nach 38 Versuchsjahren) (Abbildung 17). Die C-Gehalte streuen jedoch sehr stark über die gesamte Versuchszeit, bei C3-OBS zwischen 0,5 und 1,17 % C und bei C4-OBS zwischen 0,77 und 0,98 % C.

Die ^{13}C -Gehalte der OBS in 0-20 cm und in 20-40 cm Bodentiefe zeigen bereits wenige Jahre nach der Vegetationsumstellung zu C4-Pflanzen den Einfluss der ^{13}C -Isotopensignatur der neuen Vegetation. Dabei nimmt der ^{13}C -Gehalt der OBS stetig zu, das ^{13}C -Signal der früheren C3-Vegetation wird durch die neue C4-Vegetation ersetzt (Abbildung 17). Der ^{13}C -Gehalt der C3-OBS bleibt mit -25,6 ‰ zu Versuchsbeginn und -25,7 ‰ nach 38 Versuchsjahren konstant. Jedoch der ^{13}C -Gehalt der C4-OBS verändert sich erwartungsgemäß und zeigt mit -23,7 ‰ nach 38 Versuchsjahren den Einfluss der neuen ^{13}C -reichen Vegetation. Die Differenz der ^{13}C -Gehalte in 0-20 cm Bodentiefe zwischen C3- und C4-OBS liegt damit bei 1,84 ‰, 39 Jahre nach der Vegetationsumstellung. Nach ca. 30 Versuchsjahren scheint sich bei -23,7 ‰ ein Gleichgewicht einzustellen, denn trotz jährlichem Eintrag des ^{13}C -reichen C4-Materials war keine Veränderung des ^{13}C -Gehaltes der C4-OBS mehr feststellbar. Die ^{13}C -Markierung der C4-OBS durch die neue Vegetation kann jeweils durch eine logarithmische Funktion beschrieben werden (0-20 cm $R^2 = 0,92$; 20-40 cm $R^2 = 0,71$) (Abbildung 17).

Die C3-OBS in 20-40 cm Bodentiefe zeigt mit -25,7 ‰ zu Versuchsbeginn und -26,0 ‰ nach 39 Versuchsjahren keine Veränderung des ^{13}C -Gehaltes während der gesamten Versuchszeit. Die C4-OBS wird dagegen von der ^{13}C -Isotopensignatur der neuen C4-Vegetation beeinflusst. Jedoch beträgt die ^{13}C -Markierung im Vergleich zu 1,84 ‰ in 0-20 cm

Bodentiefe in 20-40 cm Bodentiefe nur ca. 1,0 ‰. Auch hier stellt sich nach ca. 30 Versuchsjahren ein Gleichgewicht ein. Trotz stetigem Eintrag des ^{13}C -reichen Pflanzenmaterials konnte keine Veränderung der Isotopensignatur der C4-OBS mehr festgestellt werden (Abbildung 17). Dies zeigt, dass nicht der gesamte Kohlenstoff des Bodens durch die neue Biomasse markiert werden kann. Es findet weiterhin keine Isotopenfraktionierung für Kohlenstoff im Boden statt, denn obwohl die C-Gehalte der C3-OBS während der gesamten Versuchszeit abnehmen bleiben die ^{13}C -Gehalte konstant. Weiterhin konnte anhand der Archivproben festgestellt werden, dass der Boden nur eine begrenzte Kapazität besitzt Kohlenstoff zu speichern, denn trotz regelmäßiger Einträge an Pflanzenmaterial steigen die C-Gehalte der Böden nicht weiter an, sondern nehmen aufgrund langjähriger Monokultur sogar ab.

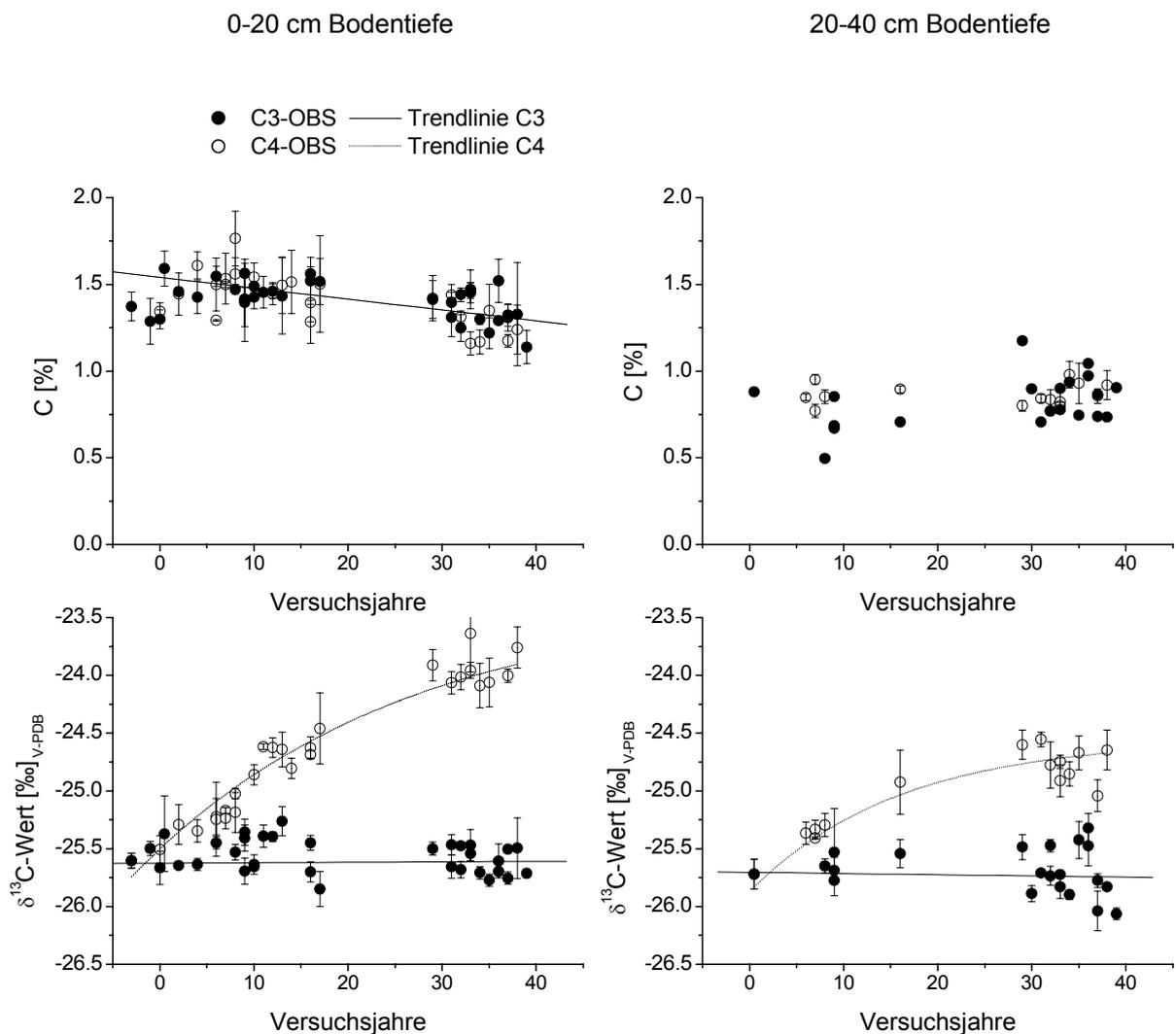


Abbildung 17: Kohlenstoff- und ^{13}C -Isotopengehalte der OBS von Archivproben der ungedüngten Böden einer Zeitreihe.

3.2.4 Abhängigkeit der ^{14}C -Gehalte der OBS von Standort und Menge an eingetragenem Pflanzenmaterial

Die Standorte Halle und Rotthalmünster

Die ^{14}C -Gehalte der organischen Bodensubstanz des Standortes Rotthalmünster nehmen wie allgemein üblich mit zunehmender Bodentiefe ab, d.h. die organische Bodensubstanz wird mit der Tiefe älter. Diese Abnahme ist für die C3-OBS mit +35,6 ‰ in 0-35 cm; -109,9 ‰ in 35-45 cm und -239,4 ‰ in 45-65 cm Bodentiefe wesentlich stärker als für C4-OBS mit +55,8 ‰ in 0-35 cm, -37,0 ‰ in 35-45 cm und -96,2 ‰ in 45-65 cm Bodentiefe (Abbildung 18). Die C3-OBS ist somit in allen Bodentiefen älter als die C4-OBS. Eine Ursache ist die mit $0,46 \text{ kg C/m}^2$ wesentlich größere Eintragsmenge an C4-Pflanzenmaterial in den C4-Böden, verglichen mit $0,17 \text{ kg C/m}^2$ an C3-Pflanzenmaterial in den C3-Böden. Dadurch gelangt auch mehr ^{14}C -reiches Pflanzenmaterial in tiefere Bodenschichten des C4-Böden, dessen OBS so höhere ^{14}C -Gehalte aufweist. Die ^{14}C -Gehalte beider Pflanzen liegen zwischen 70 und 85 ‰ und sind damit erwartungsgemäß im Bereich des atmosphärischen ^{14}C -Gehaltes von 73 ‰.

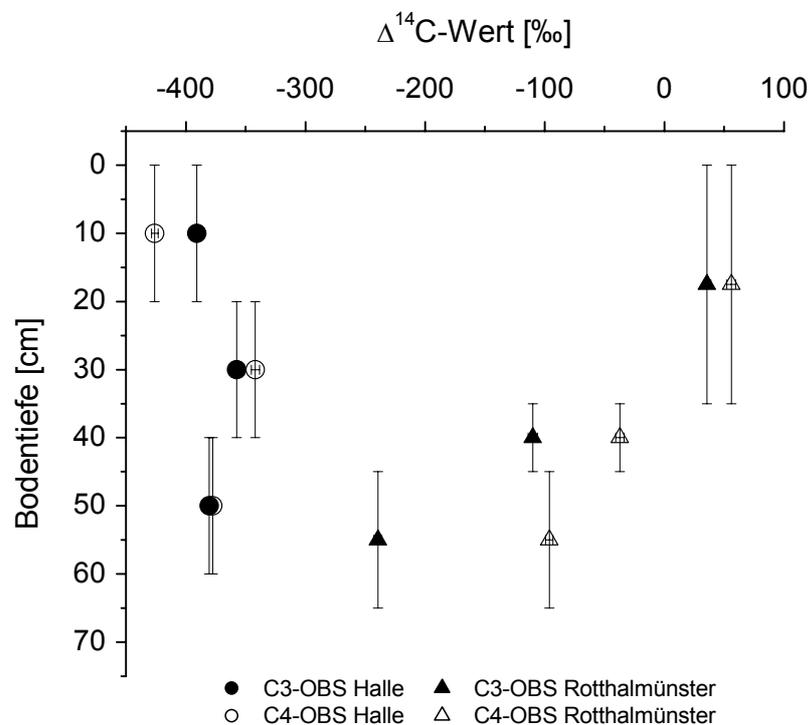


Abbildung 18: ^{14}C -Gehalte der organischen Bodensubstanz der Standorte Halle und Rotthalmünster im Bodenprofil.

Die Differenz der ^{14}C -Gehalte zwischen C3- und C4-OBS steigt ebenfalls mit zunehmender Tiefe an, weil der Eintrag von Kohlenstoff aus der Vegetation entsprechend abnimmt. Besonders deutlich wird dies in 45-65 cm Bodentiefe. Die Differenz zwischen C3-OBS und C4-OBS beträgt hier 133 ‰, in 35-45 cm 72 ‰ und in 0-35 cm 20 ‰. Möglicherweise wird die Differenz zwischen C3- und C4-OBS zusätzlich durch die Bodenbearbeitung beeinflusst. Wie bereits erwähnt wird die C4-Pflanzenmasse in den Ap-Horizont (0-35 cm) eingepflügt, während der Eintrag des C3-Pflanzenmaterials nur durch Grubbern erfolgt. Die höheren ^{14}C -Gehalte der C4-OBS deuten an, dass durch die intensivere Durchwurzelung und bessere Durchlüftung des Bodens im Ap-Horizont mehr junger Kohlenstoff in tiefere Bodenschichten eintragen wird, was zu erhöhtem Kohlenstoffumsatz führt.

Im Gegensatz zur OBS der Böden des Standortes Rotthalmünster steigen die ^{14}C -Gehalte der C3- und C4-OBS der Böden von Halle mit zunehmender Bodentiefe an (Abbildung 18). Die Unterschiede der ^{14}C -Gehalte der OBS des Standortes Halle sind mit -390 ‰ (C3-OBS) und -426 ‰ (C4-OBS) in 0-20 cm, -357 ‰ (C3-OBS) und -341 ‰ (C4-OBS) in 20-40 cm und -380 ‰ (C3-OBS) und -377 ‰ (C4-OBS) in 40-60 cm Bodentiefe wesentlich geringer als die OBS der Böden des Standortes Rotthalmünster (Abbildung 18). Die Ursache für den höheren ^{14}C -Gehalt der C3-OBS in 0-20 ist die größere Eintragsmenge an ^{14}C -reichem Pflanzenmaterial in den C3-Böden als in den C4-Böden, da in Halle nur die Wurzeln von Mais und Roggen in die Böden eingearbeitet werden. Die Menge an Kohlenstoff, die durch die C3-Wurzeln in den C3-Böden eingearbeitet wird, ist mit $0,048 \text{ kg C/m}^2$ doppelt so hoch wie mit $0,023 \text{ kg C/m}^2$ die in den C4-Böden eingearbeitete Menge.

Erwartungsgemäß nehmen die ^{14}C -Gehalte der organischen Bodensubstanz am Standort Rotthalmünster mit zunehmender Bodentiefe ab, da der Stoffaustausch mit den Pflanzen, den oberen Bodenschichten und der Atmosphäre mit der Bodentiefe abnimmt. Durch die Lage des Standorts Halle in einer industrialisierten Region waren die Böden der Versuchsflächen den Verbrennungsrückständen der umliegenden chemischen Industrie ausgesetzt. Durch Verbrennung fossiler Rohstoffe wird Kohlenstoff, dessen ^{14}C -Gehalt nahe null ist, in die Atmosphäre und auch in die umliegenden Böden eingetragen. Durch diesen ^{14}C -abgereicherten Eintrag an Kohlenstoff wird auch der ^{14}C -Gehalt der OBS in den oberen Bodenhorizonten geringer. Der Eintrag des fossilen Kohlenstoffs ist im Oberboden am größten, wodurch diese Bodenschichten die geringsten ^{14}C -Gehalte aufweisen. Mit zunehmender Bodentiefe nimmt der Einfluss des fossilen Kohlenstoffs ab, und die ^{14}C -Gehalte der OBS nehmen zu (Abbildung 18). Anhand dieses Beispiels lässt sich sehr gut

verdeutlichen wie sehr die Zusammensetzung von Gemischen die Untersuchungsergebnisse beeinflussen können. Werden entsprechende Analysen auf der molekularen Ebene durchgeführt können derartige Fehler meist ausgeschlossen werden.

Der Einfluss der Düngung auf die ^{14}C -Gehalte der organischen Bodensubstanz

Um den Einfluss des Eintrags an Pflanzenmaterial auf die ^{14}C -Gehalte der OBS zu überprüfen wurde die OBS verschieden gedüngter Böden analysiert. Dabei zeigte sich, dass die Menge des eingetragenen Pflanzenmaterials einen entscheidenden Einfluss auf die ^{14}C -Gehalte der OBS hat. Durch die Düngung steigt die Biomasseproduktion der Pflanzen und so die Eintragsmenge an ^{14}C -reichem Pflanzenmaterial in den Boden an (Tabelle 3) und führt von ungedüngtem, über mineralisch und organisch gedüngten Boden zu einem Anstieg der ^{14}C -Gehalte der OBS (Abbildung 19).

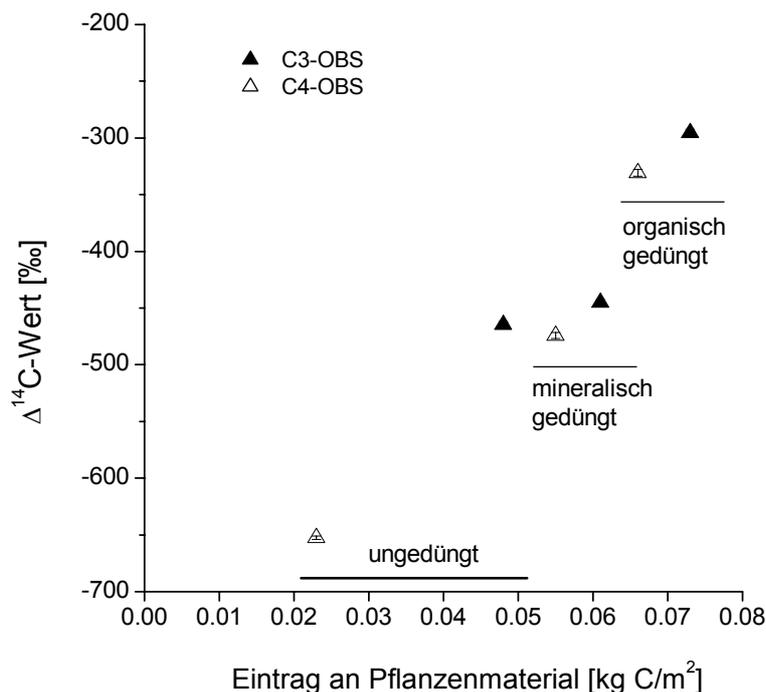


Abbildung 19: ^{14}C -Gehalte der C3- und C4-OBS bei verschiedenen Mengen an eingetragenen Pflanzenmaterial.

Dabei zeigte sich unabhängig von der Düngungsvariante, dass die C4-OBS jeweils geringere ^{14}C -Gehalte aufweist als die C3-OBS. Auch dies ist, wie bereits erwähnt, die Folge von geringeren Mengen an pflanzlichem Eintrag durch C4-Pflanzenmaterial in den C4-Boden, verglichen mit der Eintragsmenge an C3-Pflanzenmaterial in den C3-Boden.

3.2.5 Kohlenstoffumsatz

Die unterschiedliche ^{13}C -Markierung des eingetragenen Kohlenstoffs aus dem C4- bzw. C3-Pflanzenmaterial kann zur Bestimmung von Umsatzraten der OBS genutzt werden. Dafür wurden die ^{13}C -Gehalte der organischen Substanz der C3- und C4-Böden verschiedener Standorte, Bodentiefen und Düngungsvarianten bestimmt, um deren Einfluss auf die mittleren Verweilzeiten des organischen Kohlenstoffs im Boden zu ermitteln. Es zeigte sich, dass mit abnehmendem Eintrag an Pflanzenmaterial und damit auch mit zunehmender Bodentiefe, die mittlere Verweilzeit der OBS ansteigt. Dies konnte für die Profilproben der Standorte Halle (348 a in 0-20 cm, 513 a in 20-40 cm und 1272 a in 40-60 cm Bodentiefe) und Rotthalmünster (71 a in 0-35 cm, 173 a in 35-45 cm und 216 a in 45-65 cm Bodentiefe) beobachtet werden. Je niedriger der Eintrag an Pflanzenmaterial ist, desto geringer ist auch der Umsatz an Kohlenstoff und dementsprechend hoch ist die mittlere Verweilzeit des Kohlenstoffs im Boden (Tabelle 4). Die OBS des Standortes Halle weist jeweils höhere mittlere Verweilzeiten auf als die OBS des Standortes Rotthalmünster.

Tabelle 4: Mittlere Verweilzeiten der organischen Bodensubstanz in verschiedenen Bodentiefen und unterschiedlichen Mengen an eingetragenen Pflanzenmaterial.

Standort	Probenahme (Monat/Jahr)	Bodentiefe [cm]	ungedüngt MRT [a]	mineralisch MRT [a]	organisch MRT [a]
Halle	09 / 2000	0-25 (Ap)	1029	337	217 (96)*
	09 / 2001	0-20	348	-	-
	09 / 2001	20-40	513	-	-
	09 / 2001	40-60	1272	-	-
Rotthalmünster	09 / 2002	0-35 (Ap)	-	71	-
	09 / 2002	35-45	-	173	-
	09 / 2002	45-65	-	216	-

*MRT des organisch gedüngten Bodens, berechnet mit korrigierten C- und ^{13}C -Gehalten.

Dafür ist einerseits der wesentlich geringere Eintrag an Pflanzenmaterial in Halle (C4 ~ 0,055 kg C/m², C3 ~ 0,061 kg C/m²) als in Rotthalmünster (C4 ~ 0,46 kg C/m², C3 ~ 0,17 kg C/m²) verantwortlich. Die mittlere Verweilzeit der OBS steigt mit abnehmender ^{13}C -Markierung durch den Eintrag an Pflanzenmaterial an. Andererseits kann der Abbau

frischer Biomasse im Boden durch Zugabe von Stickstoff erhöht werden (Neff *et al.*, 2002). Da die N-Gehalte der OBS in Halle wesentlich geringer sind als in Rotthalmünster, könnte dies zu geringeren mittleren Verweilzeiten in Halle beitragen. Weiterhin ist der Eintrag von Verbrennungsrückständen mit ^{13}C -Gehalten im Bereich von C3-Pflanzen, ca. -25 ‰ in Halle zu berücksichtigen (John, 2003). Dadurch wird die eigentliche Markierung mit ^{13}C -reichem C4-Material verringert, was eine Erhöhung der mittleren Verweilzeit zur Folge hat. Auch Standortfaktoren könnten einen Einfluss darauf haben. Dies kann jedoch durch die bereits beschriebenen Verschiedenheiten beider Standorte nicht abgeschätzt werden.

Die mittlere Verweilzeit der OBS des Ap-Horizontes (0-25 cm) in Halle ist mit ca. 1000 a wesentlich höher als die in 0-20 cm Bodentiefe (Tabelle 4). Durch die 5 cm tiefere Probenahme beim Ap-Horizont enthält die Probe mehr OBS mit geringerer ^{13}C -Markierung, denn mit zunehmender Bodentiefe nimmt die Markierung durch die neue Vegetation ab (vgl. Abbildung 15). Deshalb ist die mittlere Verweilzeit der OBS des Ap-Horizontes höher als die der Probe aus 0-20 cm Bodentiefe. Dies kann jedoch nicht die alleinige Ursache sein, weil die Verweilzeit der OBS aus 20-40 cm Bodentiefe ebenfalls geringer ist als die im Ap-Horizont. Möglicherweise sind auch die Probenahmen, 2000 oder 2001, dafür verantwortlich, denn schon geringe Differenzen der ^{13}C -Gehalte der OBS, wie sie über die einzelnen Versuchsjahre üblich sind, wirken sich auf die mittlere Verweilzeit aus.

Die berechneten mittleren Verweilzeiten der OBS verschiedener Düngungsvarianten sind eine Folge der Eintragungsmengen. Je weniger Pflanzenmaterial in den Boden gelangt, desto geringer ist die ^{13}C -Markierung der OBS und umso höher die mittlere Verweilzeit. Sie beträgt für die OBS von organisch gedüngtem Boden ca. 300 Jahre; für die OBS von mineralisch gedüngtem Boden ca. 350 Jahre und für die OBS von ungedüngtem Boden ca. 1000 Jahre. Wird die Verweilzeit der OBS des organisch gedüngten Bodens gegen den C3-Einfluss des organischen Düngers korrigiert, so beträgt die Verweilzeit nur noch ca. 100 Jahre (Tabelle 4).

Durch Analyse der OBS verschiedener Düngungsvarianten und Bodentiefen konnte festgestellt werden, dass der Kohlenstoffgehalt, die ^{13}C -Isotopensignatur, der ^{14}C -Gehalt und folglich auch der Kohlenstoffumsatz im Boden primär von der Menge des pflanzlichen oder anthropogenen Kohlenstoffeintrags und zusätzlich auch von der verfügbaren Menge an Stickstoff abhängt. Wahrscheinlich kommt der mikrobiellen Biomasse im Boden eine Schlüsselrolle beim Abbau von Pflanzenmaterial und bei der Metabolisierung organischer Bodensubstanz beim Kohlenstoffumsatz im Boden zu.

3.3 Molekulare Umsatzraten der organischen Bodensubstanz anhand von Pyrolyseprodukten

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der substanzspezifischen ^{13}C -Isotopenanalysen von Pyrolyseprodukten (PyP) pyrolysierter Wurzelproben des Jahres 2000 und Bodenproben einer Zeitreihe von 1958 bis 2000 des Standortes Halle vorgestellt. Diese Analysen wurden durchgeführt, um die Funktion der mikrobiellen Biomasse beim Kohlenstoffumsatz im Boden zu untersuchen.

3.3.1 Pyrolyse organischer Bodensubstanz

Durch Pyrolyse organischer Materialien und anschließende Analyse der entstandenen Pyrolyseprodukte (PyP) sind Informationen zur chemischen Struktur und Zusammensetzung des pyrolysierten Ausgangsmaterials erhältlich (Tsuge, 1995). Bei der Pyrolyse der organischen Bodensubstanz (OBS) werden die verschiedenen organischen Bestandteile des Bodens, wie z.B. Pflanzenmaterial, Huminstoffe und mikrobielle Biomasse durch die Entstehung charakteristischer PyP widerspiegelt. Durch gaschromatographische Trennung der entstandenen PyP und Kopplung an ein Massenspektrometer können diese identifiziert und ihren Ausgangsmaterialien im Boden zugeordnet werden (Dijkstra *et al.*, 1998; Hempfling & Schulten, 1989; Leinweber & Schulten, 1999). Dabei sind Furane und Furaldehyde typische PyP von Polysacchariden, während Methoxyphenole charakteristisch für Lignin sind. Substituierte Pyridine dagegen deuten auf Proteine als Bestandteile mikrobieller Biomasse hin (Gleixner *et al.*, 1999; Gleixner *et al.*, 2002; Nierop *et al.*, 2001a; Schulten & Gleixner, 1999). Durch Kopplung eines Pyrolysators an einen Gaschromatographen mit Massendetektor und zusätzlich an ein Isotopenverhältnis-Massenspektrometer können gleichzeitig die Identität und der Isotopengehalt, z.B. bei Kohlenstoff der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert, der PyP ermittelt werden.

Wie bei der Gesamtfraktion der OBS können auch aus den ^{13}C -Gehalten der PyP eines C3- und eines auf C4-Vegetation umgestellten Bodens mittlere Verweilzeiten (MRT) für die entsprechenden Ausgangsmaterialien berechnet werden (Gleixner *et al.*, 1999). Der Vorteil der substanzspezifischen Isotopenanalyse und damit der Berechnung von molekularen Verweilzeiten, die auf charakteristische Ausgangssubstanzen zurückgeführt werden können, liegt in der separaten Analyse einzelner Kohlenstoffpools des Bodens. Durch den Eintrag von

natürlich markiertem C4-Pflanzenmaterial in den ursprünglichen C3-Boden kann die Umwandlung und der Verbleib des Kohlenstoffs aus dem eingetragenen Pflanzenmaterial in den Boden auf molekularer Ebene verfolgt werden (Gleixner *et al.*, 2002; Gregorich *et al.*, 1996; Monreal *et al.*, 1997). Gleixner *et al.* (2002) ermittelten anhand von PyP landwirtschaftlich genutzter Böden mittlere Verweilzeiten zwischen 21 und 125 Jahren. Dabei lagen die maximalen mittleren Verweilzeiten für labile Bodenbestandteile wie Polysaccharide bei 125 Jahren und für stickstoffhaltige Verbindungen die charakteristisch für mikrobielle Biomasse sind bei ca. 100 Jahren. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zur leichten biologischen Abbaubarkeit dieser Ausgangsmaterialien im Boden, mögliche Ursachen sind bisher noch nicht bekannt. Es ist daher Ziel dieser Arbeit zu untersuchen, ob diese Ausgangsmaterialien tatsächlich über 100 Jahre im Boden festgelegt werden können, oder ob eher die Wiederverwertung von organischem Material im Boden dafür verantwortlich ist.

3.3.2 Pyrolyseprodukte der organischen Bodensubstanz und des in den Boden eingetragenen Pflanzenmaterials

Pyrolyseprodukte des Pflanzenmaterials

Von den Pyrolyseprodukten (PyP), die aus dem Pflanzenmaterial (Wurzeln und Stoppeln) erzeugt wurden, konnten insgesamt 23 Substanzen identifiziert werden. Davon waren sieben Substanzen ausschließlich im Pflanzenmaterial (P), aber nicht im Boden zu finden. Für Roggen- und Maispflanzen wurden gleiche PyP erzeugt, es wurden somit keine charakteristischen Substanzen für C3- bzw. C4-Pflanzen gefunden. Jedoch konnten aus dem C4-Pflanzenmaterial wesentlich größere Mengen der einzelnen PyP als aus dem C3-Pflanzenmaterial erzeugt werden. Die beiden lignin-spezifischen PyP 4-Vinylphenol (Nr.26) und 2-Methoxy-vinyl-phenol (Nr.29, OBS+P) stellen die intensivsten Peaks des C4-Materials dar. Die größten Peaks des C3-Pflanzenmaterials sind der Doppelpeak 2-Furaldehyd und 2,4-Pentadienal (Nr.8, 9, OBS+P), beide polysaccharidbürtig und das ligninbürtige 2-Methoxy-vinyl-phenol (Nr.29, OBS+P) (Tabelle 5; Abbildung 20).

Die Pyrolyseprodukte, die ausschließlich im Pflanzenmaterial identifiziert wurden, sind hauptsächlich auf die Ausgangsmaterialien Lignin (*Lig*) und Polysaccharide (*Ps*) (Cellulose) zurückzuführen und entsprechen damit den Hauptbestandteilen pflanzlicher Biomasse. Lignin konnte bei zwei PyP, 4-Vinylphenol und trans-4-Allyl-2,6-dimethoxyphenol, beides substituierte Phenole (Nr: 26, 32), als Ausgangsmaterial ermittelt werden. Polysaccharide sind bei fünf PyP, 2(3H)-Furanon, 2(5H)-Furanon, 2,5-Dihydro-5-methylfuran-2-on,

4 Hydroxy 5,6-dihydro-(2H)-pyran-2-on und 5,6-Dihydropyran-2,5-dion, die Pyran- und Furanderivate sind (Nr: 6, 12, 13, 17, 18), als Herkunft bestimmt worden (Tabelle 5, Abbildung 20).

Pyrolyseprodukte der organischen Bodensubstanz

Das in den Boden eingebrachte Pflanzenmaterial liegt zunächst unverändert im Boden vor, wird jedoch durch die mikrobielle Aktivität rasch abgebaut. Die entstandenen Zwischen- und Abbauprodukte sowie unveränderte Pflanzenrückstände liegen dann nebeneinander im Boden vor. Deshalb spiegeln die Böden einerseits durch lignin- (*Lig*) und polysaccharidbürtige (*Ps*) Pyrolyseprodukte (PyP) den Eintrag des Pflanzenmaterials, andererseits durch lipid- (*Lp*), protein- (*Pr*) oder chitinbürtige (*Ch*) Pyrolyseprodukte die Aktivität der mikrobiellen Biomasse im Boden wider.

Aus der pyrolysierten organischen Bodensubstanz (OBS) wurden insgesamt 25 PyP identifiziert, davon konnten 16 PyP des Pflanzenmaterials in den Pyrogrammen der OBS wiedergefunden werden, während neun PyP ausschließlich im Boden, aber nicht in den Pflanzen zu finden waren (Abbildung 21, Tabelle 5). In der C3- und C4-OBS konnten die gleichen PyP identifiziert werden. Der intensitätsstärkste Peak der C4-OBS ist der Doppelpeak aus 2-Furaldehyd (Nr.8,OBS+P) und 2,4-Pentadienal (Nr.9, OBS+P), beides polysaccharidbürtige Substanzen. Die C3-OBS enthält neben diesem Doppelpeak einen weiteren intensitätsstarken Peak, n-Dodecan (Nr.28, nur OBS), der Lipiden als Ausgangsmaterial zugeordnet werden kann. Weitere, nur aus Böden erzeugte PyP sind Benzen (Nr.1) und Phenylpropen (C₉H₁₀) (Nr.16) als Abbauprodukte von Lignin. Als nicht ligninbürtiges Phenol konnte p-Ethylphenol (Nr.21) identifiziert werden. Dianhydrorhamnose (Nr.22) stellt ein Abbauprodukt von Polysacchariden dar, während Cycloalken (C₇H₈) (Nr.2) lipidbürtig und die stickstoffhaltigen PyP Pyridin (Nr.3) und 1H-Pyrrol (Nr.4) mikrobieller Herkunft sind. Außerdem wurde ein substituiertes Alkan (Nr.27) unbekannter Herkunft identifiziert. Die PyP, die nur aus OBS erzeugt wurden stellen diejenigen Substanzen dar, die im Boden synthetisiert wurden. Dagegen müssen die Ausgangsmaterialien von PyP der OBS, die sowohl aus OBS als auch aus Pflanzenmaterial erzeugt wurden von pflanzlichem Material stammen, das im Boden stabilisiert vorliegt und somit vor dem Abbau geschützt ist. In den untersuchten Proben konnten 16 dieser PyP, hauptsächlich lignin- oder polysaccharidbürtig (Nr: 7, 8, 9, 10, 14, 15, 20, 23, 29, 31), gefunden werden. Es wurden weiterhin drei PyP identifiziert, welche durch Proteine als Ausgangsmaterial die mikrobielle Aktivität im Boden, möglicherweise aber auch mikrobiell stark zersetztes Lignin repräsentieren. Dies sind Toluol

(Nr.5), Ethylbenzen / Styren und 3-Methylphenol (Nr.19). Ein substituiertes Alkan (Nr.25) der Kettenlänge $C_{10}H_{20}$ wurde Lipiden zugeordnet, während Naphthalen (Nr.24) und Dimethylnaphthalin (Nr.30) unbekannter Herkunft sind (Tabelle 5; Abbildung 21).

Tabelle 5: Pyrolyseprodukte der C3- und C4-OBS und dem Pflanzenmaterial (P), ihr Vorkommen in OBS oder P sowie zugehörige Ausgangsmaterialien, welche die Herkunft der Pyrolyseprodukte widerspiegeln.

Peaknr.	Pyrolyseprodukt	Vorkommen	Ausgangsmaterial
1	Benzen	OBS	Polyphenol (Pp)
2	Cycloalken (C_7H_{10})	OBS	Lipid (Lp) / Huminsäure
3	Pyridin	OBS	Chitin (Ch)
4	1H-Pyrrol	OBS	Chitin (Ch) / Protein (Pr)
5	Toluol	OBS+P	Lignin / Polyphenol / Protein
6	2[3H]Furanon	P	Polysaccharid (Ps)
7	3-Furaldehyd	OBS+P	Polysaccharid (Ps)
8	2-Furaldehyde	OBS+P	Polysaccharid (Ps)
9	2,4-Pentadienal	OBS+P	Polysaccharid (Ps)
10	2-Methylphenol	OBS+P	Lignin (Lig)
11	Ethylbenzen+Styren	OBS+P	Lignin / Protein
12	2(5H)-Furanon	P	Polysaccharid (Ps)
13	2,5-Dihydro-5-methylfuran-2-one	P	Polysaccharid (Ps)
14	5-Methyl-2-furaldehyd	OBS+P	Polysaccharid (Ps)
15	Ethylmethylbenzen	OBS+P	Lignin (Lig)
16	Phenylpropen (C_9H_{10})	OBS	Lignin (Lig)
17	4-Hydroxy-5,6-dihydro-(2H)-pyran-2-on	P	Polysaccharid (Ps)
18	5,6-Dihdropyran-2,5-dione	P	Polysaccharid (Ps)
19	3-Methyl-phenol	OBS+P	Polyphenol / Lignin / Protein
20	3-Methylphenol+2-Hydroxymethyl-2,3-dihydro-pyran-4-on	OBS+P	Polysaccharid (Ps) / Polyphenol (Pp)
21	p-Ethylphenol	OBS	Phenol (P) (nicht ligninbürtig)
22	Dianhydrorhamnose	OBS	Polysaccharid (Ps)
23	4-Methyl-2-methoxyphenol	OBS+P	Lignin (Lig)
24	Naphthalen	OBS+P	Unbekannt (U)
25	substituiertes Alkan ($C_{10}H_{20}$)	OBS+P	Lipid (Lp) / Huminsäure
26	4-Vinylphenol	P	Polyphenol (Pp) / Lignin (Lig)
27	subst. Alkan	OBS	Unbekannt (U)
28	n-Dodecan	OBS	Lipid (Lp)
29	2-Methoxy-4-vinylphenol	OBS+P	Lignin (Lig)
30	Dimethylnaphthalin	OBS+P	Unbekannt (U)
31	trans-4-Propenyl-2-methoxyphenol	OBS+P	Lignin (Lig)
32	trans-4-Allyl-2,6-dimethoxyphenol	P	Lignin (Lig)

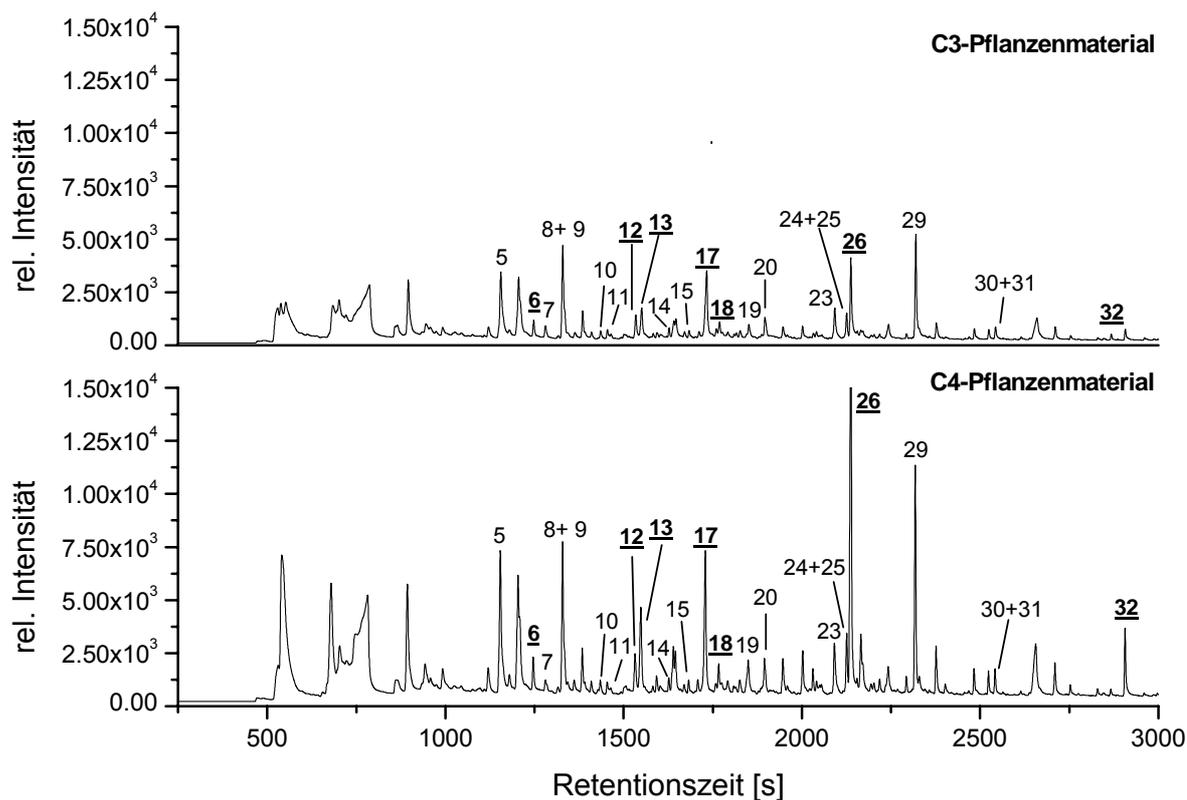


Abbildung 20: Pyrogramme der Wurzelproben, spezifische Pyrolyseprodukte sind unterstrichen.

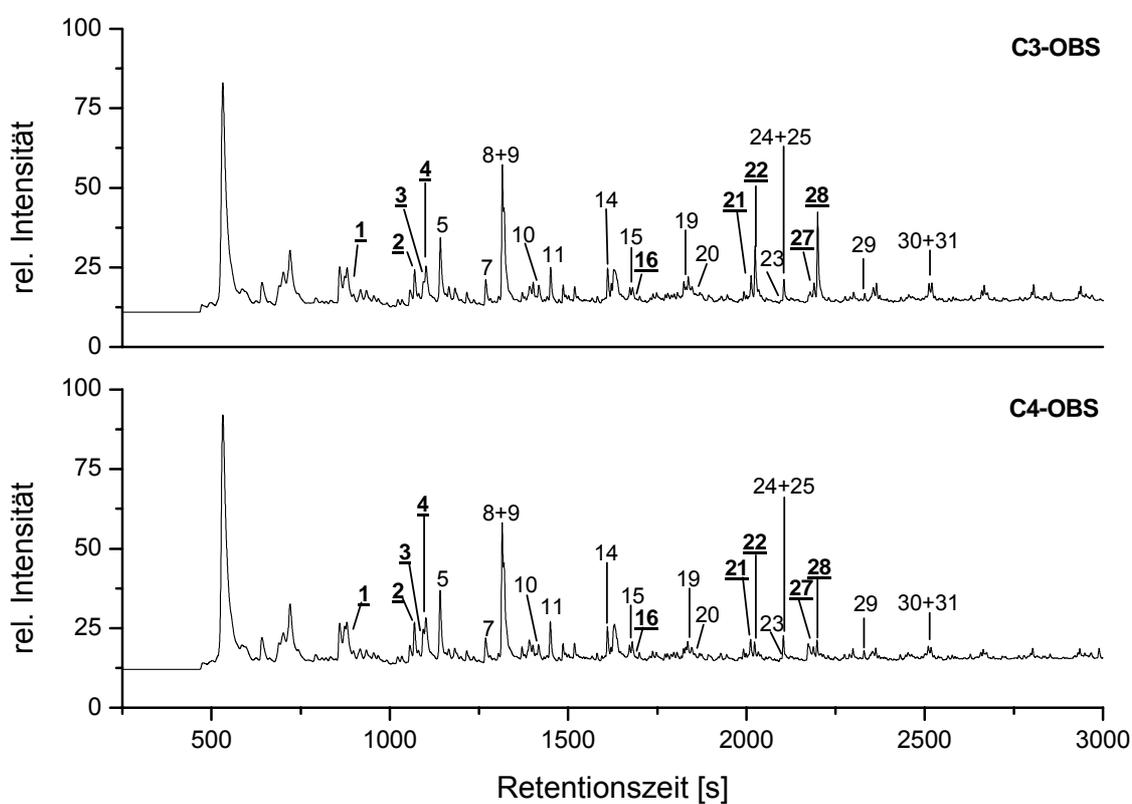


Abbildung 21: Pyrogramme der organischen Bodensubstanz, spezifische Pyrolyseprodukte sind unterstrichen.

3.3.3 ^{13}C -Isotopenverhältnisse der Pyrolyseprodukte

Um den Verbleib des Kohlenstoffs aus dem Pflanzenmaterial in der organischen Bodensubstanz (OBS) zu detektieren wurden ^{13}C -Isotopengehalte der PyP der C3- und C4-OBS sowie des entsprechenden Pflanzenmaterials bestimmt. Die ^{13}C -Gehalte der PyP der Wurzeln spiegeln die für C3- und C4-Pflanzen charakteristischen ^{13}C -Gehalte von $-29,3\text{‰}$ (C3) und $-12,4\text{‰}$ (C4) wider (Abbildung 22). Die Differenz der PyP zwischen C3- und C4-Wurzeln ist bei allen PyP gleich und liegt bei $16,96\text{‰} \pm 1,56\text{‰}$. Dabei sind die polysaccharidbürtigen PyP ^{13}C -reicher als die ligninbürtigen PyP. Eine Ausnahme bilden die PyP Nr. 23 und Nr. 10, die bei C3- und bei C4-Wurzeln höhere ^{13}C -Gehalte aufweisen als die übrigen ligninbürtigen PyP. Jedoch wurden diese beiden PyP als 4-Methyl-2-methoxyphenol (Nr. 23) und 2-Methoxyphenol (Nr. 10) identifiziert, denen Lignin als Ausgangsmaterial zugeordnet werden konnte (Tabelle 5). Die PyP Nr. 20, 19, 26, 11 und 5 konnten keiner eindeutigen Herkunft zugeordnet werden. Das PyP Nr. 20 könnte polysaccharid- oder polyphenolbürtig sein, die übrigen PyP deuten auf Polyphenole oder Ligninstrukturen als Ausgangsmaterial hin (Steinbeiß, 2003).

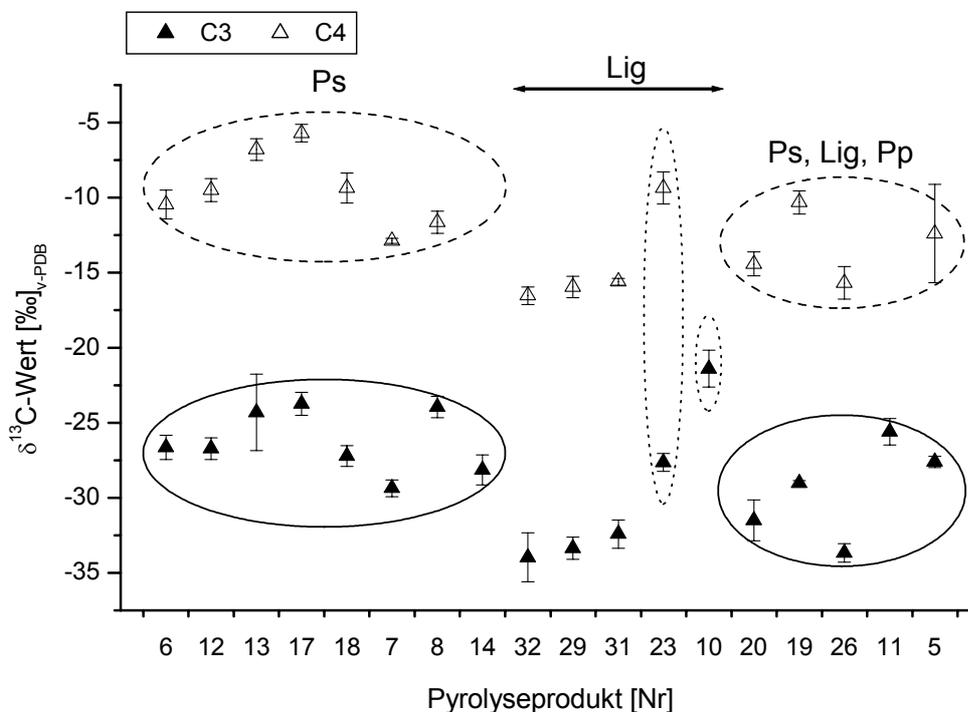


Abbildung 22: ^{13}C -Gehalte der Pyrolyseprodukte des C3- und C4-Pflanzenmaterials.

Die ^{13}C -Gehalte der PyP der organischen Bodensubstanz spiegeln ebenfalls den Einfluss der jeweiligen Vegetation wider. Dabei unterscheiden sich die ^{13}C -Gehalte der PyP der C3-OBS signifikant von den ^{13}C -Gehalten der PyP der C4-OBS. Das ^{13}C -reiche C4-Pflanzenmaterial liegt jedoch nicht unverändert im Boden vor, sondern wurde bereits durch die Aktivität der Mikroorganismen verändert.

In den OBS konnten zum einen PyP identifiziert werden, die auf Polysaccharide und Lignin (Ps, Pp, P, Lig) und damit auf eingetragenes Pflanzenmaterial hindeuten. Zum anderen konnten neben pflanzenbürtigen auch PyP mikrobieller Herkunft (Pr, Ch, Lp) identifiziert werden. Die PyP der C4-OBS tragen jedoch nicht wie erwartet die ursprüngliche ^{13}C -Signatur des C4-Pflanzenmaterials, sondern ihre ^{13}C -Gehalte sind in Richtung der ^{13}C -Gehalte des früheren C3-Pflanzenmaterials verschoben. Die PyP des C4-Bodens die auf Proteine (Pr) und Lipide (Lp) hindeuten zeigen den deutlichen Einfluss des C4-Eintrags, jedoch sind ihre ^{13}C -Gehalte auch in Richtung des C3-Pflanzenmaterials verschoben (Abbildung 23). Die ^{13}C -Gehalte des chitinbürtigen PyP Nr. 3 und der PyP Nr. 24 und 30 unbekannter Herkunft (Us) der C3- und C4-Böden unterscheiden sich nur sehr wenig voneinander. Dies könnte ein Hinweis auf weitere, vom eingetragenen Pflanzenmaterial unabhängige, Ausgangsmaterialien sein.

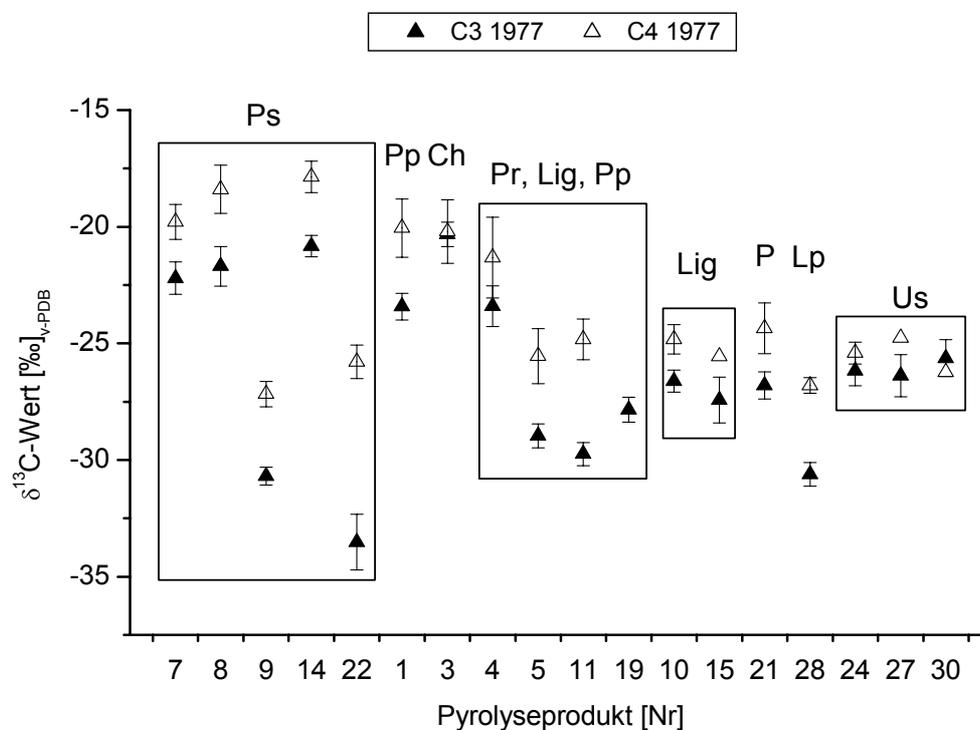


Abbildung 23: ^{13}C -Gehalte der Pyrolyseprodukte der C3- und C4-OBS 16 Jahre nach dem Vegetationswechsel.

Die Differenz der ^{13}C -Gehalte der PyP der C3- und C4-OBS ist mit $2,7\text{‰} \pm 1,9\text{‰}$ wesentlich geringer als die Differenz der ^{13}C -Gehalte der PyP des C3- und C4-Pflanzenmaterials mit $16,9\text{‰} \pm 1,5\text{‰}$ (Abbildung 23, Abbildung 22). Dies zeigt, dass die organische Bodensubstanz des C4-Bodens noch nicht vollständig durch die ^{13}C -Signatur der neuen C4-Vegetation markiert ist, sondern ein großer Teil der OBS noch die ^{13}C -Signatur der früheren C3-Vegetation trägt. Trotzdem ist der Einfluss der C4-Vegetation auf den ^{13}C -Gehalt der PyP der OBS deutlich erkennbar. Aufgrund der Vielzahl an organischen Substanzen im Boden mit unterschiedlichen ^{13}C -Gehalten variieren die ^{13}C -Differenzen der einzelnen PyP der OBS deutlich mehr als die ^{13}C -Differenzen der PyP des Pflanzenmaterials.

Um den zeitlichen Einfluss der neuen ^{13}C -reichen C4-Pflanzen auf die organische Bodensubstanz zu untersuchen, wurden die ^{13}C -Gehalte der PyP von Archivproben bestimmt. Dabei konnte erst 16 Jahre nach dem Vegetationswechsel ein signifikanter Einfluss der C4-Vegetation auf die PyP der C4-OBS nachgewiesen werden ($t = -5,234$; $N = 18$; $p < 0,001$) (Abbildung 24). Der ^{13}C -Gehalt aller PyP der C4-OBS steigt von ca. -28‰ zu Versuchsbeginn auf ca. $-20,5\text{‰}$ nach 39 Versuchsjahren um $7,5\text{‰}$ an und spiegelt damit den Einfluss der neuen ^{13}C -reichen C4-Vegetation wider. Der ^{13}C -Gehalt aller PyP der C3-OBS verändert sich dagegen nur sehr wenig und streut zwischen $-24,3\text{‰}$ und $-26,4\text{‰}$.

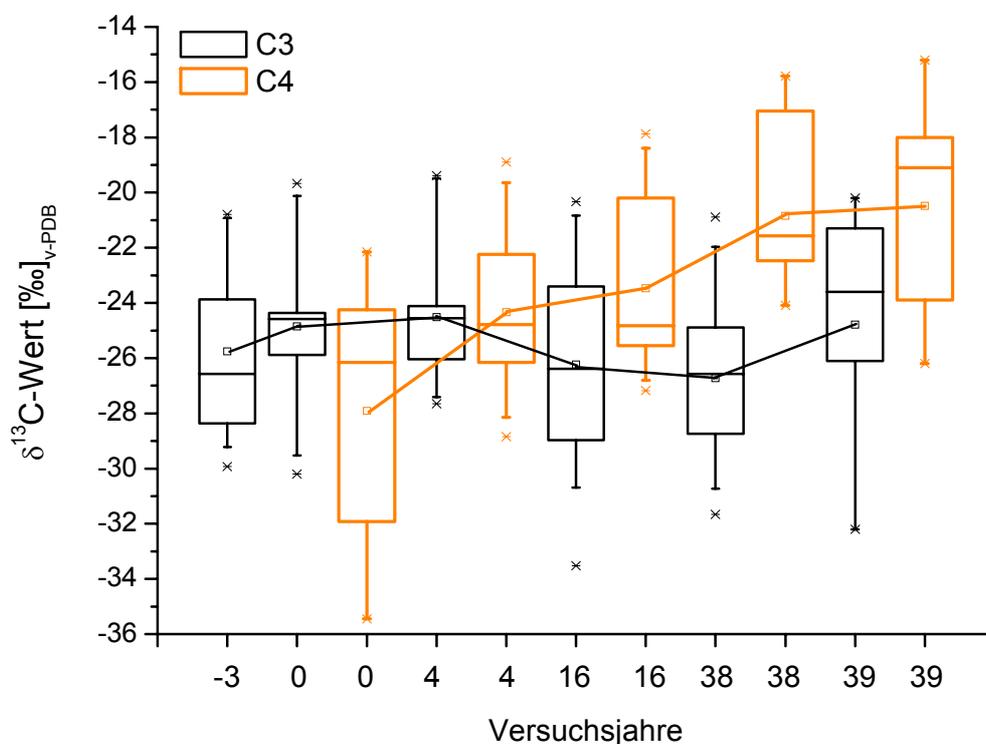


Abbildung 24: Boxdiagramm der ^{13}C -Isotopengehalte der Pyrolyseprodukte der C3- und C4-OBS. Die Mittelwerte der C3-OBS und die der C4-OBS sind jeweils miteinander verbunden.

Die PyP der C4-OBS sind zu Versuchsbeginn mit $-27,91\text{‰}$ ^{13}C -reicher als die PyP der C3-OBS mit $-24,36\text{‰}$. Dies ist wahrscheinlich durch die Probenahme während der Vegetationsumstellung bedingt. Nach den ersten vier Versuchsjahren konnte anhand der PyP des C4-Bodens kein signifikanter Einfluss der neuen C4-Vegetation festgestellt werden (Abbildung 24).

Der Einfluss der neuen ^{13}C -reichen C4-Vegetation kann auch als isotopische Differenz der ^{13}C -Gehalte der PyP der C3-OBS und der PyP der C4-OBS dargestellt werden. Dabei zeigte sich, dass diese Differenz der PyP von $0,13\text{‰}$ (nach vier Versuchsjahren) bis auf $5,16\text{‰}$ (nach 38 Versuchsjahren) ansteigt. Die Markierung der organischen Bodensubstanz des C4-Bodens durch die ^{13}C -Signatur der C4-Vegetation nimmt somit zu. Die isotopische Differenz der PyP des Pflanzenmaterials beträgt ca. $17,5\text{‰}$. Gemäß dieser großen Differenz waren zunächst auch größere Differenzen, als nur $5,16\text{‰}$, der PyP pflanzlicher und mikrobieller Herkunft in der OBS zu erwarten. Weiterhin zeigten die PyP der OBS dieser beiden Ausgangsmaterialien die gleichen isotopischen Differenzen während der gesamten Versuchszeit (Abbildung 25).

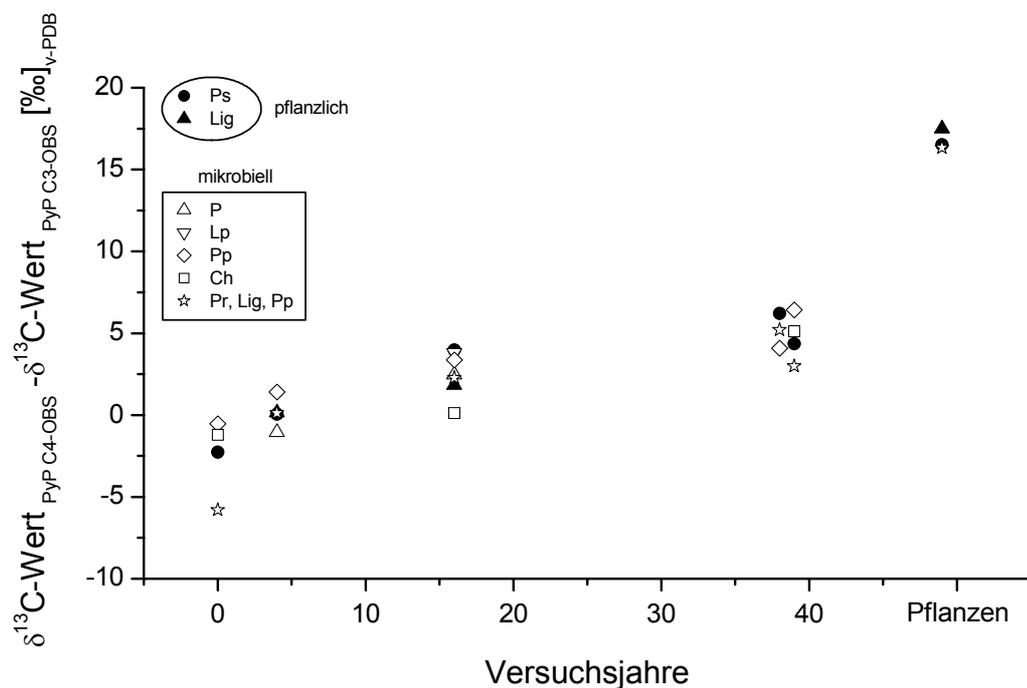


Abbildung 25: Differenzen der ^{13}C -Gehalte der Pyrolyseprodukte verschiedener Ausgangsmaterialien seit dem Vegetationswechsel.

Dies bedeutet, dass in den Boden eingetragenes Pflanzenmaterial zwar schnell von Mikroorganismen metabolisiert wird, der organische Kohlenstoff den Kohlenstoffkreislauf

des Bodens aber nicht ebenso schnell wieder verlässt, sondern eine Stabilisierung von organischem Material, pflanzlicher und mikrobieller Herkunft, im Boden stattfindet. Durch diese Stabilisierung ist es möglich Kohlenstoff über längere Zeit im Boden zu speichern. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass die OBS des C4-Bodens noch immer Anteile der früheren C3-Vegetation mit entsprechender ^{13}C -Isotopensignatur enthält. Dies erklärt auch die in den analysierten Bodenproben mit 5,16 ‰, nach 39 Versuchsjahren, nur geringe Differenz der ^{13}C -Gehalte der PyP der C3- und C4-OBS (Abbildung 25). Den gleichen isotopischen Differenzen der PyP der OBS pflanzlicher und mikrobieller Herkunft zufolge, können beide Ausgangsmaterialien gleichermaßen im Boden gespeichert werden.

Die geringe isotopische Differenz könnte auch durch die mikrobielle Nutzung verschiedener Substrate erklärt werden. Dabei wäre die Nutzung von frischem Pflanzenmaterial mit C4-Signatur und die Nutzung von stabilisierter organischer Bodensubstanz mit C3-Signatur möglich.

3.3.4 Umsatzraten der verschiedenen Kohlenstoffpools im Boden

Um die Verweildauer der verschiedenen Bestandteile organischer Bodensubstanz im Boden zu bestimmen, können aus den ^{13}C -Gehalten der zugehörigen Pyrolyseprodukte (PyP) der C3- und C4-OBS mittlere Verweilzeiten berechnet werden.

Dabei wurde festgestellt, dass die Bestandteile der OBS zwischen 26 und 348 Jahren im Boden verweilen können (Abbildung 26). Die unterschiedlichen Verweilzeiten gleicher PyP nach 16, 38 und 39 Versuchsjahren zeigten, dass sowohl Probenahme als auch klimatische Faktoren einen erheblichen Einfluss auf die mittleren Verweilzeiten und damit auf den Kohlenstoffumsatz im Boden haben. Die mittleren Verweilzeiten der PyP der einzelnen Ausgangsmaterialien streuen jeweils sehr stark, sodass keine Bestandteile des Bodens, die einem schnellen Umsatz und auch keine die einem langsamen Umsatz unterliegen eindeutig identifiziert werden konnten. Die mittleren Verweilzeiten für PyP pflanzlicher (*Ps*, *Lig*, *P*, *Pp*) und mikrobieller Herkunft (*Pr*, *Lp*) sind, wie schon durch die isotopischen Differenzen der ^{13}C -Gehalte angedeutet (Abbildung 25), sehr ähnlich. Dabei beträgt die höchste Verweilzeit eines PyP pflanzlicher Herkunft ca. 190 Jahre für 3-Furaldehyd (Nr.7), die niedrigste dagegen ca. 26 Jahre für Dianhydrorhamnose (Nr.22). Die Verweilzeiten der PyP mikrobieller Herkunft, ein Doppelpeak Ethylbenzene / Styren (Nr.11), 1-H-Pyrrol (Nr.4) und Toluol (Nr.5), liegen zwischen 50 und 170 Jahren. Die PyP, Naphthalen (Nr.24) und ein substituiertes Alkan (Nr.27) konnten keinem Ausgangsmaterial zugeordnet werden.

Jedoch deuten die hohen mittleren Verweilzeiten der PyP pflanzlicher und mikrobieller Herkunft die Stabilisierung von OBS im Boden an. Es konnte gezeigt werden, dass organische Substanzen über mehrere hundert Jahre im Boden gespeichert werden (Abbildung 26). Über die Mechanismen der Speicherung von organischem Kohlenstoff im Boden ist jedoch bisher nur wenig bekannt. Die unerwartet hohen Verweilzeiten der PyP mikrobieller Herkunft stehen im Widerspruch zu nur kurzen Lebenszeiten von Mikroorganismen, könnten aber auch, wie die ^{13}C -Differenzen, durch Nutzung stabilisierter OBS mit C3-Isotopensignatur erklärt werden. Somit wird auch durch die mittleren Verweilzeiten dieser PyP die mikrobielle Nutzung der verschiedenen Substrate, Pflanzenmaterial und OBS vorgeschlagen.

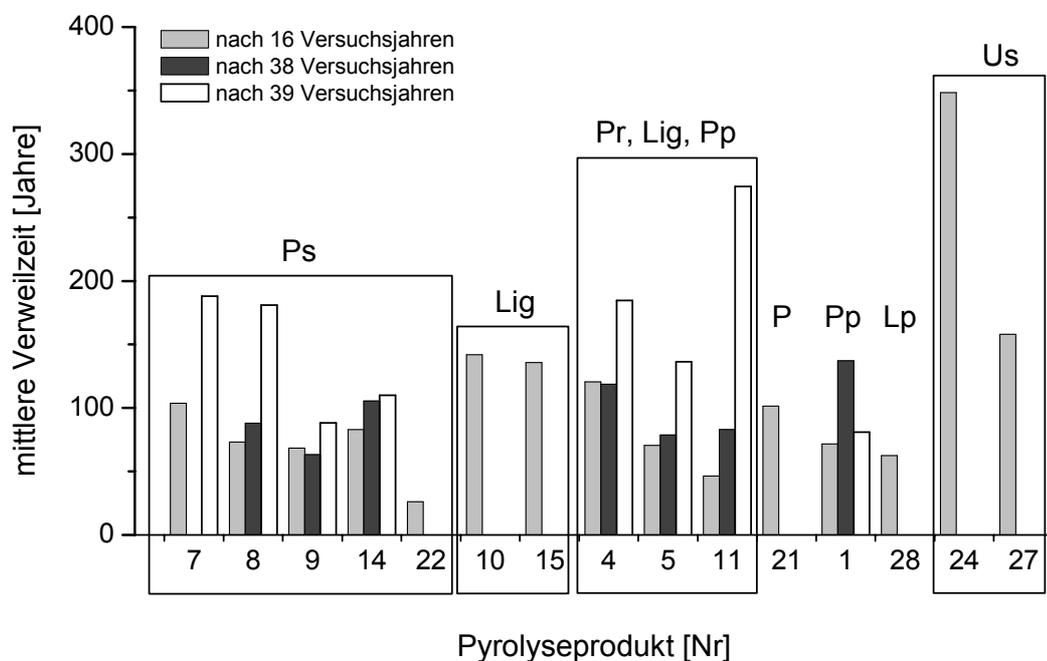


Abbildung 26: Mittlere Verweilzeiten der Bestandteile organischer Bodensubstanz anhand von Pyrolyseprodukten der OBS nach 16, 38 und 39 Versuchs Jahren am Standort Halle.

3.3.5 Rückschlüsse aus Pyrolyseprodukten zur Stabilität organischer Bodensubstanz

Die Pyrolyseprodukte (PyP) der Wurzeln, die durch Polysaccharide und Lignin typische Pflanzenbestandteile widerspiegeln und die PyP der OBS, die Bestandteile pflanzlicher und mikrobieller Herkunft enthalten, stehen im Einklang mit Ergebnissen zu PyP anderer ähnlich genutzter Böden und deren Pflanzeneintrag (Chefetz *et al.*, 2002; Gleixner *et al.*, 1999; Gleixner *et al.*, 2002; Leinweber & Schulten, 1995; Nierop *et al.*, 2001b; Schulten &

Schnitzer, 1998). Die ^{13}C -Gehalte der PyP des C3- und C4-Pflanzenmaterials unterscheiden sich um 16,9 ‰, die PyP der C3- und C4-OBS des Standortes Halle dagegen nur um ca. 5 ‰ bereits 39 Jahre nach der Umstellung der Vegetation von C3 zu C4. Vergleichbare PyP der OBS von Böden eines Standortes in Boigneville (Frankreich) unterscheiden sich bereits 23 Jahre nach der Vegetationsumstellung um 6,1 ‰ (Gleixner *et al.*, 2002). Die Ursache der geringen isotopischen Veränderung der PyP der OBS von Halle liegt an den geringen Einträgen an Pflanzenmaterial in den Boden, denn durch den Anbau von Silomais in Halle werden nur die Wurzeln in den Boden eingearbeitet, während in Boigneville durch Anbau von Körnermais das gesamte Pflanzenmaterial in den Boden gebracht wird, was zu einer höheren Markierung und damit zu größeren ^{13}C -Differenzen der PyP führt (Balesdent & Balabane, 1996). Jedoch liegt auch am Standort Boigneville die ^{13}C -Differenz der PyP beider Böden (6,1 ‰) deutlich unter der ^{13}C -Differenz der Wurzeln (13,8 ‰). Dies zeigt, dass auch die OBS der Böden in Boigneville noch nicht vollständig durch die ^{13}C -Signatur der neuen C4-Vegetation markiert ist, sondern noch Anteile der früheren C3-Vegetation mit ^{13}C -Signatur enthält.

Die geringere ^{13}C -Differenz der PyP der OBS von Halle wird auch durch die mittleren Verweilzeiten der Ausgangsmaterialien der PyP deutlich, die in Halle zwischen 26 und 348 Jahren, für die Böden aus Boigneville dagegen zwischen 21 und 125 Jahren liegen (Gleixner *et al.*, 2002). Dabei konnten für Bestandteile mikrobieller Biomasse in Halle mittlere Verweilzeiten von bis zu 250 Jahren berechnet werden, während die mittleren Verweilzeiten dieser PyP in Boigneville stets kürzer sind und nur maximal 125 Jahre betragen (Abbildung 27). Die Ursache dafür liegt, neben dem geringeren Eintrag an Pflanzenmaterial, zusätzlich am Eintrag von Ruß und Braunkohlestäuben durch die umliegende Industrie in die Böden des Standortes Halle (Rehemeyer *et al.*, 2004 a; Schmidt *et al.*, 1996). Dieser so eingetragene Kohlenstoff stellt bis zu 30 % des gesamten organischen Kohlenstoffs im Boden dar. Mit einem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von ca. -25 ‰ (John, 2003) verringert er den Einfluss des ^{13}C -reichen C4-Eintrags in den Boden und führt zu geringeren Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PyP zwischen C3- und C4-OBS und damit zu geringeren mittleren Verweilzeiten.

Hohe mittlere Verweilzeiten von PyP der OBS in Halle spiegeln einerseits die geringe ^{13}C -Markierung durch geringen Eintrag an Pflanzenmaterial und andererseits durch den atmosphärischen Eintrag des Braunkohlenstaubs das fossile Material im Boden wider. Die hohen mittleren Verweilzeiten von Bestandteilen mikrobieller Biomasse zeigen deshalb die Nutzung der organischen Bodensubstanz aber auch die Nutzung des fossilen Materials als mikrobielle Kohlenstoffquelle an. Der Abbau von Kohle und Huminstoffen durch

Mikroorganismen ist bekannt (Fakoussa & Hofrichter, 1999; Rumpel *et al.*, 2001; Rumpel & Kögel-Knabner, 2004; Steffen *et al.*, 2002) und konnte auch in dieser Arbeit gezeigt werden (Rethemeyer *et al.*, 2004a; Rethemeyer *et al.*, 2004b) (Abbildung 27). Die hohen mittleren Verweilzeiten von PyP mikrobieller Herkunft wie *Proteine* und *Lipide* können durch die mikrobielle Metabolisierung organischer Bodensubstanz und kohlebürtiger Rückstände erklärt werden. Bei der Nutzung von OBS als Substrat wird Kohlenstoff stets biologisch wiederverwertet und bleibt dem Kohlenstoffkreislauf des Bodens durch „biologisches Recycling“ erhalten. Zusätzlich kann auch fossiles Material genutzt und in diesen Kreislauf aufgenommen werden. Diese Ergebnisse bestätigen den von Gleixner *et al.* (2002) vorgeschlagenen Mechanismus einer biologischen Wiederverwertung von organischem Kohlenstoff im Boden.

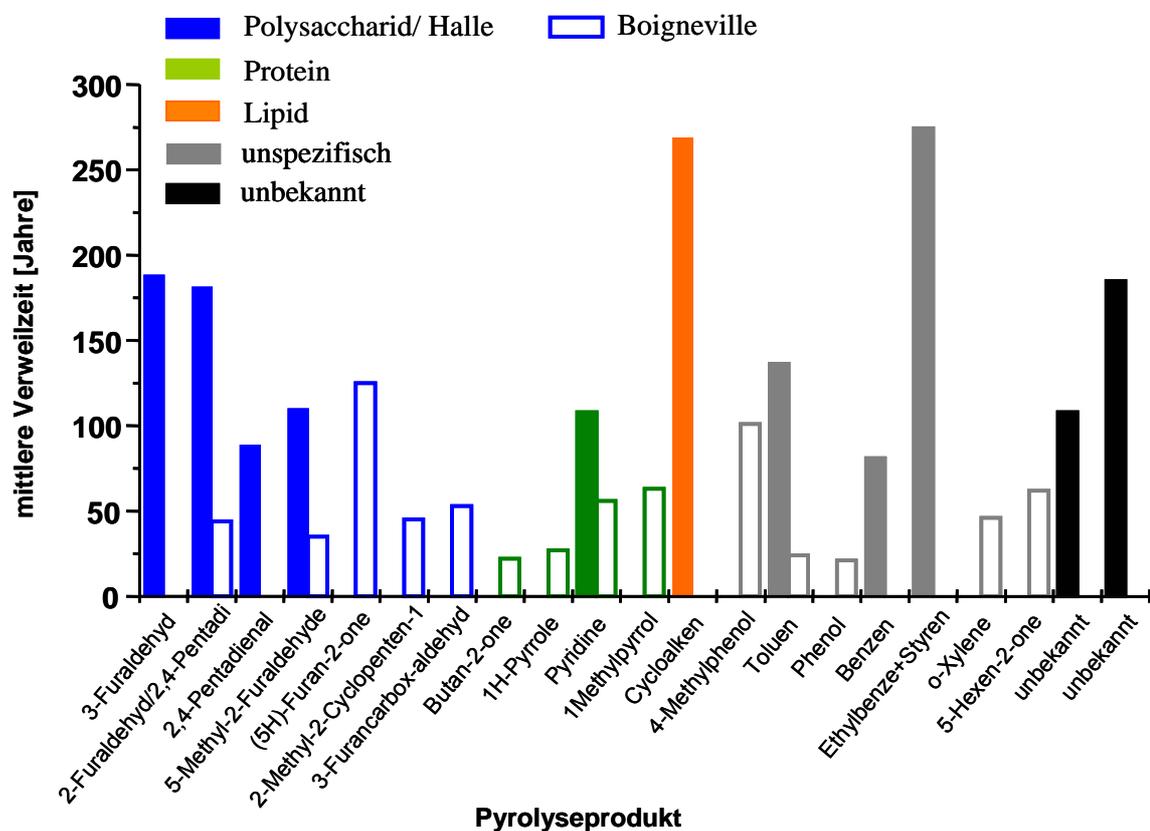


Abbildung 27: Mittlere Verweilzeiten von Ausgangsmaterialien der einzelnen Pyrolyseprodukte des Standortes Halle (gefüllt) und des vergleichbaren französischen Standortes Boigneville (ungefüllt).

Durch „biologisches Recycling“ von Kohlenstoff erhält die mikrobielle Biomasse des Bodens eine neue Bedeutung bezüglich des Umsatzes und der möglichen Stabilisierung organischer Bodensubstanz, die jedoch durch PyP nicht im Detail verfolgt werden kann. Dazu müssten charakteristische Bestandteile der mikrobiellen Biomasse untersucht werden.

3.4 Phospholipidfettsäuren als Biomarker des aktiven Kohlenstoffpools

In diesem Kapitel werden Phospholipidfettsäuren (PLFA) als Bestandteile mikrobieller Biomasse aus C3- und C4-Böden vorgestellt sowie deren ^{13}C - und ^{14}C -Gehalte, um den Kohlenstoffumsatz durch die mikrobielle Biomasse zu bestimmen.

3.4.1 Herkunft und Zusammensetzung von Phospholipidfettsäuren in Böden

Phospholipide sind neben Sphingolipiden und Cholesterol die wichtigsten Bestandteile der Zellmembranen lebender Organismen. Sie werden in Phosphoglyceride und Sphingomyelin unterteilt, wobei Phosphoglyceride die dominierenden Phospholipide biologischer Membranen sind. Phospholipide sind essentielle Membranbestandteile aller lebenden Zellen und werden nach dem Tod eines Organismus innerhalb von Stunden bis weniger Tage abgebaut (Mudd, 1980). Phospholipide sind deshalb wichtige Biomarker für lebende Organismen (Zelles, 1999). Charakteristische Strukturmerkmale der Phosphoglyceride sind das Glycerolgrundgerüst, die Phosphatgruppe und die als Ester gebundenen sogenannten Phospholipidfettsäuren (PLFA) mit verschiedenen Resten **R1** und **R2** (Abbildung 28) (Ratledge & Wilkinson, 1988a; Zubay, 1993).

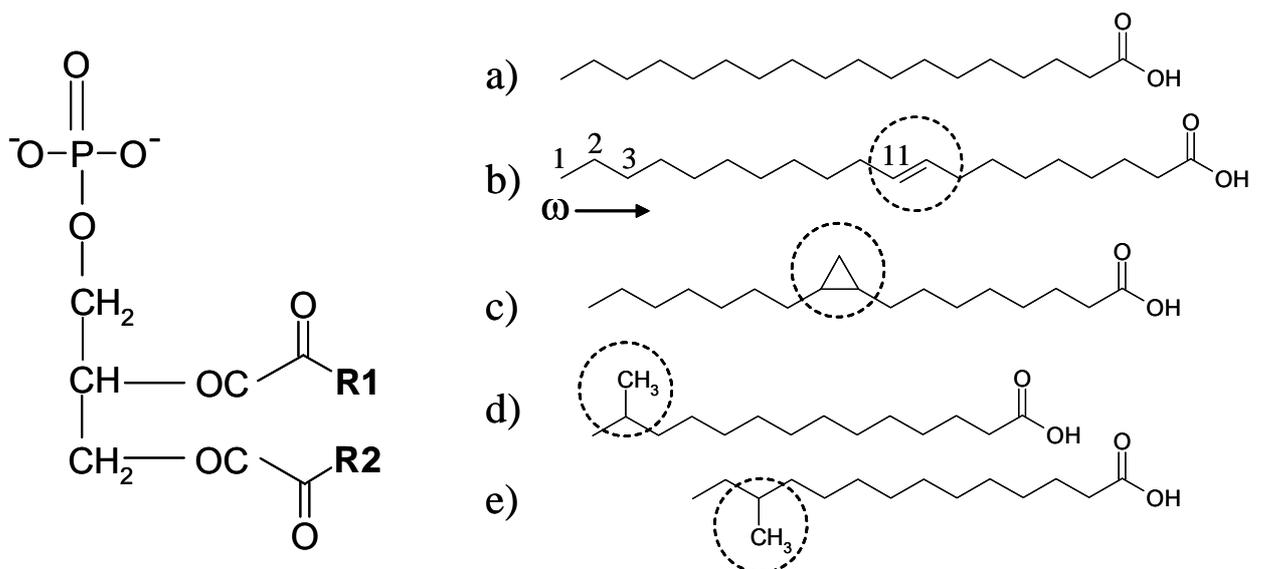


Abbildung 28: Die Struktur eines Phospholipids (links) und einige charakteristische PLFA (rechts) a) 18:0 gesättigt; b) 20:1 (ω 11) einfach ungesättigt; c) 17:0 cyclopropyl; d) 15:0 iso; e) 15:0 anteiso.

PLFA können gesättigt verzweigt oder unverzweigt sein, eine oder mehrere Doppelbindungen haben und durch Hydroxyl- bzw. Methylgruppen oder durch Cyclopropyleinheiten substituiert sein (Abbildung 28). Die am ersten Kohlenstoffatom des Glycerols gebundenen Phospholipidfettsäuren (PLFA) sind meist gesättigt, die am zweiten meist ungesättigt. An die Phosphatgruppe können zusätzlich Stickstoffbasen gebunden sein, wie z.B. Cholin beim Phospholipid Lecithin. Aufgrund ihrer polaren Kopfgruppe und den unpolaren Fettsäureenden sind Phospholipide in der Lage geordnete „Bilayer“ auszubilden. In den Zellmembranen von Organismen haben sie deshalb wichtige Strukturfunktionen und sie isolieren damit das Innere der Zellen von ihrer Umgebung (Abbildung 29).

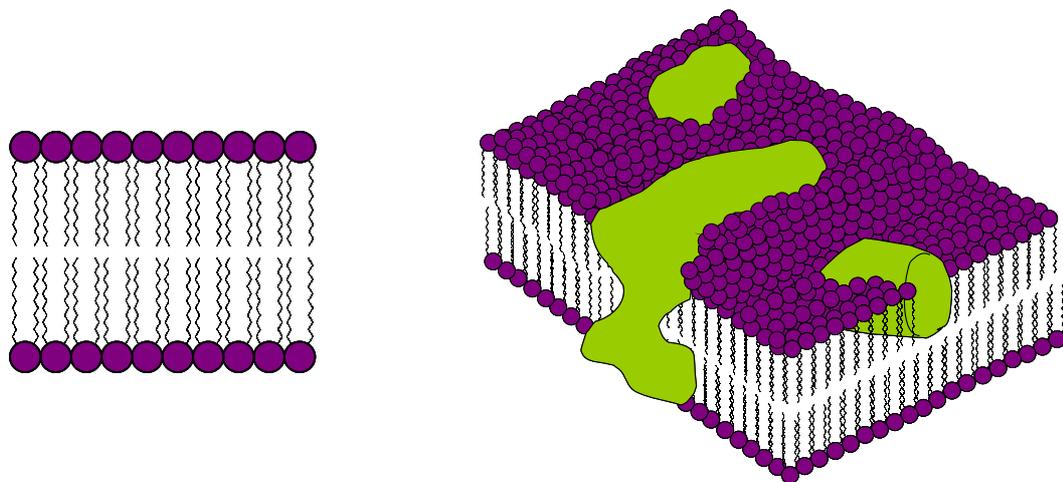


Abbildung 29: Phospholipide als Strukturelemente biologischer Membranen, links: Bilayer-Anordnung von Phospholipiden, rechts: Modell einer Zellmembran mit Membranproteinen.

Die Phospholipide in den Zellmembranen verschiedener Gruppen von Mikroorganismen haben verschiedene Phospholipidfettsäuren, die wiederum charakteristisch für die einzelnen Mikroorganismengruppen sind. Daher ist die Analyse der entsprechenden PLFA eine geeignete Methode um mikrobielle Gemeinschaften zu untersuchen. Um aber die identifizierten PLFA, z.B. der mikrobiellen Biomasse einer Bodenprobe, den richtigen Mikroorganismen zuordnen zu können, muss bekannt sein, welche PLFA charakteristisch für welche taxonomischen Gruppen von Mikroorganismen sind. Hierzu wurden die PLFA aller kultivierbaren Gruppen von Mikroorganismen separat analysiert und verglichen, um die charakteristischen PLFA der einzelnen Mikroorganismengruppen zu erfassen (Bossio *et al.*, 1998; Frostegård *et al.*, 1996; Zelles, 1997; Zelles, 1999) (Ratledge & Wilkinson, 1988c). Mit Hilfe dieser Informationen können mikrobielle Gemeinschaften verschiedener Ökosysteme zuverlässig charakterisiert und Veränderungen in ihrer Zusammensetzung detektiert werden.

Einige PLFA sind nahezu ubiquitär und deshalb nur von geringem taxonomischen Wert, sie können jedoch, wie auch alle anderen PLFA, als generelle Indikatoren mikrobieller Biomasse genutzt werden. Hierzu zählen unverzweigte gesättigte PLFA wie z.B. 16:0 und 18:0. Es gibt aber viele spezielle PLFA die charakteristisch für einzelne Gruppen von Mikroorganismen und daher von hohem diagnostischen Wert sind (Tabelle 6).

Geradzahlige PLFA sind in allen Organismen weit verbreitet. Davon sind langkettige PLFA (über 20 C-Atome) charakteristisch für Eukaryoten, Moose und höhere Pflanzen. Einzigartig für Bakterien sind z.B. β -OH- und cyclopropyl substituierte sowie methyl- verzweigte PLFA (Lechevalier & Lechevalier, 1988). Während die gesättigten unverzweigten sowie die gesättigten methyl- verzweigten PLFA vorwiegend auf Gram-positive Bakterien (Gram⁺) hinweisen, können gesättigte geradzahlige PLFA mit cyclopropyl- Substitution auch charakteristisch für einige Gram-negative Bakterien (Gram⁻) sein (O'Leary & Wilkinson, 1988; Wilkinson, 1988). Jedoch kommen die PLFA mit cyclopropyl- Substitution auch in einigen Stämmen Gram-negativer Bakterien vor (Ratledge & Wilkinson, 1988b), so dass sie nicht eindeutig Gram⁺-Bakterien zugeordnet werden können. Außerdem sind die verzweigten PLFA außer in Gram⁺-Bakterien auch in einigen sulfat-reduzierenden Gram⁻-Bakterien sowie in den Gattungen *Cytophaga* und *Flavobacterium* zu finden (Haack *et al.*, 1994). Die hydroxylsubstituierten PLFA sind ebenfalls von taxonomischer Bedeutung, hier ist die Position der Hydroxylgruppe von diagnostischem Wert. So können PLFA mit OH- Substitution in Position 2 vom Carbonylende der Gattung *Pseudomonas* zugeordnet werden. Eine Substitution an Position 3 ist dagegen charakteristisch für *Mycobacterium*.

Einfach ungesättigte PLFA, besonders jene mit der Doppelbindung an Position 11 vom aliphatischen Ende (ω 11) sind grundsätzlich nur in anaeroben und in den meisten Gram⁻-Bakterien zu finden (Paul & Clark, 1996). In Gram⁺-Bakterien spielen diese PLFA nur eine untergeordnete Rolle. Sie sind daher gute Biomarker für Gram⁻-Bakterien (Ratledge & Wilkinson, 1988b). Arbuskuläre Mycorrhizapilze (AM- Pilze) der Gattung *Glomus* sind durch die PLFA 16:1(ω 5) gekennzeichnet, die ausschließlich dort vorkommt. Dies ermöglicht eine sichere Identifizierung anderer Pilze, die nicht zu den AM-Pilzen gehören.

Mehrfach ungesättigte PLFA sind charakteristisch für Eukaryoten, können aber in Ausnahmefällen auch in *Cyanobakterien* vorkommen. Besonders die PLFA 18:2 (ω 6) ist ein ganz typischer Biomarker für Bodenpilze. Insgesamt 47 Arten von Bodenpilzen weisen zu 43 % ihrer gesamten PLFA diese Fettsäure auf (Paul & Clark, 1996). Außerdem korreliert das Auftreten dieser PLFA mit einem weiteren Biomarker für Pilze, dem Ergosterol, was diese Zuordnung zusätzlich unterstützt (Frostegård & Bååth, 1996). Allerdings konnte diese PLFA

nicht nur in Pilzen, sondern in größeren Mengen auch in Pflanzen gefunden werden (Zelles, 1997). Wenn jedoch pflanzliches Material in der Probe ausgeschlossen werden kann, stellt die PLFA 18:2 (ω 6) einen äußerst zuverlässigen Indikator für Pilze dar (Tabelle 6).

Tabelle 6: Charakteristische Phospholipidfettsäuren verschiedener Gruppen von Mikroorganismen.

Strukturmerkmal	PLFA	Indikator für:
PLFA		Biomarker mikrobieller Biomasse
gesättigt		Gram-positive-Bakterien
unverzweigt	16:0, 18:0	ubiquitär verbreitet
langkettig > C20	22:0, 24:0, 26:0	Eukaryoten, Moose, höhere Pflanzen
verzweigt	17:0 br, 18:0 br	Gram ⁺ , einige sulfatreduzierende Gram ⁻
methyl verzweigt am 10. C-Atom	10Me16:0	<i>Actinomyceten</i> , <i>Sulfatreduzierer</i>
verzweigt iso/anteiso	15:0 i, 15:0 a	Gram ⁺ und einige Gram ⁻ , <i>Cytophaga</i> , <i>Acetobacter</i>
hydroxyl (OH)- substituiert	Δ 2*, Δ 3	<i>Pseudomonas</i> , <i>Mycobakterium</i>
cyclopropyl- substituiert	cy 17:0, cy 19:0	Bakterien: Gram ⁻ , einige anaerobe Gram ⁺
ungesättigt		
einfach		Gram-negative-Bakterien
	16:1 (ω 9) [•]	Eubakterien, <i>Cyanobacterien</i> , <i>Actinomyceten</i>
	16:1 (ω 5)	AM-Pilze <i>Glomus</i> , <i>Cyanobacterien</i>
	17:1 (ω 6)	<i>Sulfatreduzierer</i>
	18:1 (ω 9)	<i>einige Gram⁺</i>
	18:1 (ω 11)	<i>Anaerobe Gram⁺ und Gram⁻</i>
mehrfach	18:2 (ω 6)	Pilze
	20:3 (ω 6)	Protozoen

* Δ gibt die Position vom Carbonylende an, [•] ω gibt die Position vom endständigen C-Atom an.

Zur Analyse der PLFA mikrobieller Gemeinschaften aus Bodenproben stehen mehrere Verfahren zur Verfügung (Frostegård *et al.*, 1993; White *et al.*, 1979; Zelles, 1999). Zunächst werden mit einem Gemisch aus Chloroform / Methanol / Phosphatpuffer die Phospholipide extrahiert. Anschließend werden diese auf einer Kieselsäule von neutralen Lipiden und Glycolipiden abgetrennt. Nun kann die so gewonnene Phospholipidfraktion hydrolysiert und durch Derivatisierung die Phospholipidfettsäuremethylester gewonnen werden. Nach diesem Schritt können die PLFA analysiert werden (Frostegård *et al.*, 1991). Durch die Vielfalt an PLFA treten aber bei der gaschromatographischen Trennung Peaküberlagerungen auf, die eine Identifizierung aller PLFA einer Probe oft unmöglich machen. Um alle vorliegenden PLFA zu erfassen wird bei der Methode nach Zelles die weitere Vortrennung in gesättigte, einfach ungesättigte und mehrfach ungesättigte PLFA durch modifizierte Kieselsäulen

durchgeführt. Um einen Überblick zu vorhandenen Mikroorganismen zu erhalten ist die Methode nach Frostegård ausreichend. Wenn jedoch alle PLFA erfasst und / oder weitere Analysen, z.B. Isotopenverhältnismessungen, durchgeführt werden sollen, so ist die erweiterte Methode nach Zelles notwendig.

3.4.2 Charakterisierung der Kohlenstoffdynamik in Böden anhand mikrobieller Biomasse

Der Abbau von Pflanzenmaterial sowie der Kohlenstoffumsatz im Boden werden hauptsächlich durch die Aktivität mikrobieller Biomasse bestimmt (Gregorich *et al.*, 2000). Dabei steigt die Gesamtheit der aktiven mikrobiellen Biomasse mit dem Eintrag an organischen Material in den Boden an (Lavelle & Spain, 2001; Sparling, 1985).

Durch Analyse mikrobieller Biomasse oder einzelner PLFA und $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenanalyse dieser Proben ist es möglich die Nutzung mikrobieller Kohlenstoffquellen im Boden zu detektieren, um so die Rolle der Mikroorganismen im Kohlenstoffkreislauf des Bodens zu untersuchen. Dafür werden häufig ^{13}C -markierte Substrate eingesetzt (Abraham *et al.*, 1998; Arao, 1999; Ekblad *et al.*, 2002). Jedoch ist auch eine natürliche Markierung z.B. durch die spezifische Isotopensignatur von C3- oder C4-Pflanzen für diese Arbeiten geeignet (Gleixner *et al.*, 2002; Gregorich *et al.*, 2000; Lichtfouse *et al.*, 1995; Potthoff *et al.*, 2003). Es konnte von Steffen *et al.* gezeigt werden, dass Mikroorganismen in der Lage sind Kohle und Huminstoffe, die oft als stabilisierte und deshalb schwer abbaubare organische Bodensubstanz gelten (Kögel-Knabner, 2002), als Kohlenstoffquelle zu nutzen. (Steffen *et al.*, 2002).

Durch Beschleunigermassenspektrometrie wurde es möglich, die ^{14}C -Gehalte organischer Bodensubstanz und mikrobieller Biomasse zu bestimmen. Dabei konnte von Rumpel *et al.* die mikrobielle Nutzung von Kohle durch ^{14}C -Bestimmung an der mikrobiellen Biomasse braunkohlereicher Bergbauböden angedeutet werden (Rumpel *et al.*, 2001; Rumpel & Kögel-Knabner, 2004). Weiterhin wurden in einem Laborexperiment, bei dem Mikroorganismen auf Schwarzschiefern gezüchtet wurden, von Petsch *et al.* substanzspezifische ^{14}C -Gehalte an PLFA bestimmt und die Nutzung des Schwarzschiefers als Substrat nachgewiesen (Petsch *et al.*, 2001). Zur substanzspezifischen ^{14}C -Analyse bodenbürtiger PLFA oder anderer Bodenbestandteile liegen jedoch derzeit noch keine Daten vor.

Deshalb sollen im Rahmen dieser Arbeit neben ^{13}C -Analysen an PLFA zur Identifizierung mikrobieller Kohlenstoffquellen im Boden, auch ^{14}C -Gehalte an PLFA von Bodenmikroorganismen bestimmt werden.

3.4.2 Die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften

Die bearbeiteten Böden der Standorte Halle und Rothalmünster zeigten sehr ähnliche Muster an Phospholipidfettsäuren. Die häufigsten PLFA's waren dabei jeweils die geradzahlig gesättigten 16:0n, 17:0br, 18:0n, die gesättigten verzweigten 15:0 iso, 15:0 anteiso, die cyclopropyl substituierten PLFA 17:0 cyclo und 19:0 cyclo sowie die einfach ungesättigten 16:1(ω 9), 17:1(ω 9) und 18:1(ω 11). Als mehrfach ungesättigte PLFA konnte hauptsächlich 18:2(ω 6) nachgewiesen werden. In den untersuchten Böden liegt somit ein Gemisch taxonomisch wertvoller und weit verbreiteter PLFA vor. Das Muster der Phospholipidfettsäuren der untersuchten Böden spiegelt im Wesentlichen die mikrobielle Zusammensetzung landwirtschaftlich genutzter Flächen wider (Zelles & Bai, 1993; Zelles *et al.*, 1992). Dabei konnten keine Mikroorganismen gefunden werden die bevorzugt in C3- oder C4-Böden vorkommen (Abbildung 30).

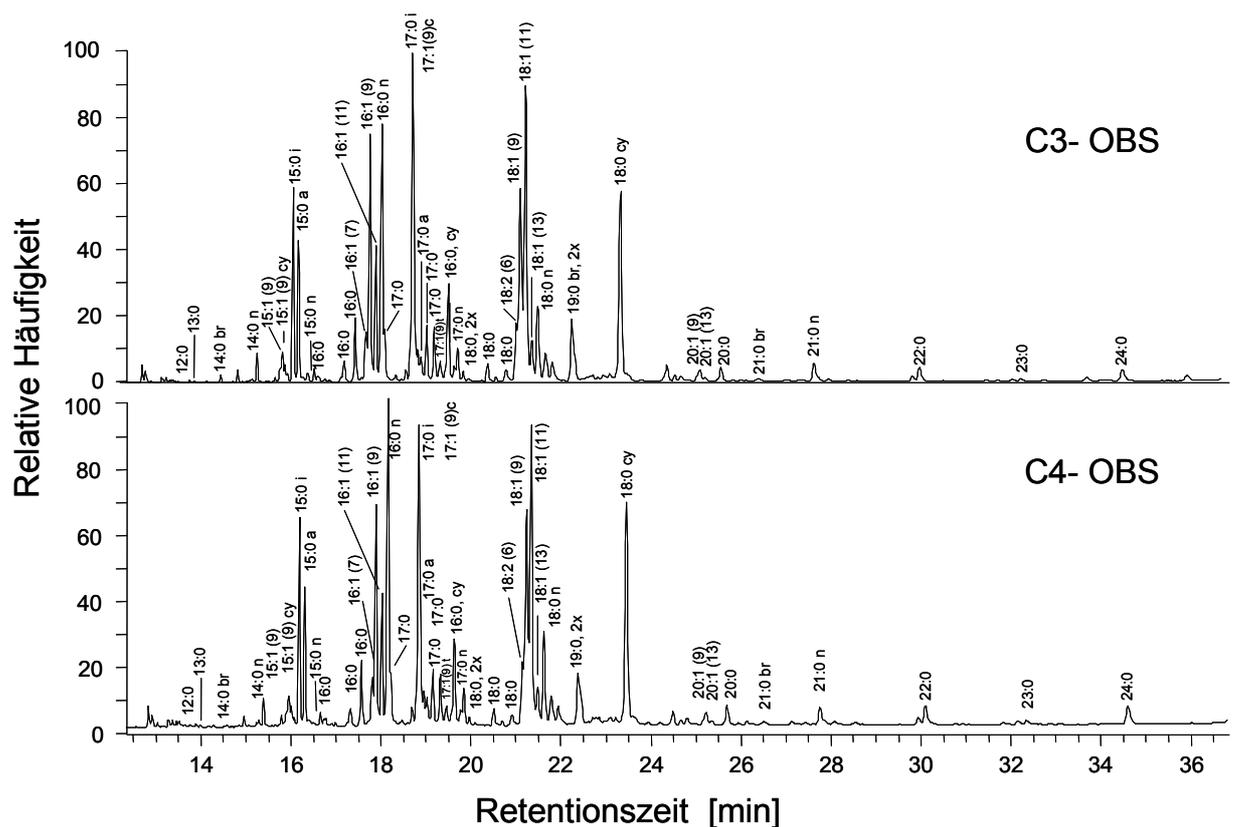


Abbildung 30: Gaschromatogramme der PLFA aus C3- und C4-Böden.

Die sehr ähnlichen PLFA-Muster in C3- bzw. C4-Böden sprechen für eine sehr ähnliche Zusammensetzung ihrer mikrobiellen Gemeinschaften. Während die PLFA 16:0 n und 18:0 n sehr verbreitet und daher unspezifisch sind, konnten viele der in den Böden identifizierten

PLFA's charakteristischen Gruppen von Mikroorganismen zugeordnet werden (Tabelle 7). Die verzweigten PLFA 15:0 iso und 15:0 anteiso sind typische Vertreter Gram-positiver Bakterien, die einfach ungesättigten PLFA sind charakteristisch für Gram-negative Bakterien und die mehrfach ungesättigte PLFA 18:2 (ω 6) ist ein spezifischer Biomarker für Pilze.

Zusätzlich zu den Bodenproben wurden auch Phospholipidfettsäuren des pflanzlichen Eintrags in den Boden, C4- und C3-Pflanzenmaterial, extrahiert und analysiert. Die PLFA-Muster dieses Materials unterscheiden sich erwartungsgemäß von den PLFA-Mustern der Böden (Abbildung 31). Im Vergleich zu den Böden war die Anzahl an PLFA darin wesentlich geringer. Die häufigsten PLFA des C3- und C4-Pflanzenmaterials sind die einfach ungesättigten 18:1(ω 9) und 18:1(ω 11) sowie die mehrfach ungesättigten Fettsäuren 18:2(ω 6) und 18:3 mit unbekannter Position der Doppelbindungen. Die hohe Konzentration der mehrfach ungesättigten PLFA ist dabei charakteristisch für pflanzliche Biomasse (Zelles, 1997).

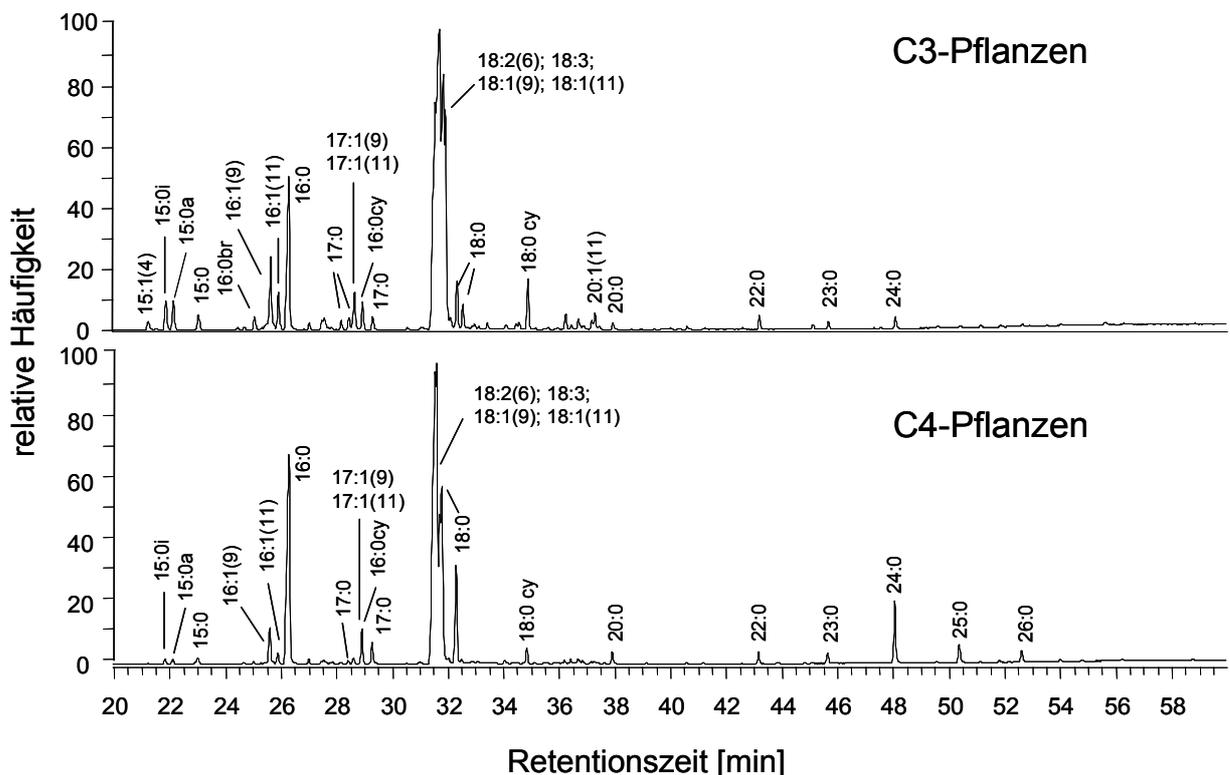


Abbildung 31: Gaschromatogramme der PLFA aus C3- und C4-Pflanzen.

Außerdem konnten unterschiedliche Zusammensetzungen an PLFA der C3- und C4-Pflanzen festgestellt werden. Zunächst enthalten die C4-Pflanzen weniger und geringere

Konzentrationen kurzkettiger PLFA (<C20) als die C3-Pflanzen. Die C4-Pflanzen dagegen enthalten mehr und höhere Konzentrationen der langkettigen PLFA 22:0; 23:0; 24:0; 25:0 und 26:0 (>C20), die in den C3-Pflanzen nur als Spuren nachgewiesen werden konnten.

Im Vergleich zu den Böden weisen die Pflanzen eine deutlich geringere Vielfalt an PLFA auf. Jedoch konnten die in den Pflanzen detektierten PLFA auch in den PLFA-Mustern der Böden gefunden werden und zudem noch eine Vielzahl weiterer PLFA (Tabelle 7). Dadurch wird die Aktivität von Mikroorganismen in den Böden zum Ausdruck gebracht.

Tabelle 7: Phospholipidfettsäuren aus C3- und C4-Böden.

PLFA	Zuordnung	PLFA	Zuordnung
14:0 br	Gram positive Bakterien	20:0	Gram positive Bakterien
14:0 n	Gram positive Bakterien	22:0	Gram positive Bakterien
15:0 i	Actinomyceten	15:1	Gram-negative Bakterien
15:0 a	Gram positive Bakterien	16:1 a	Gram-negative Bakterien
15:0 n	Actinomyceten	16:1 b	Gram-negative Bakterien
16:0 br1	Gram positive Bakterien	16:1 9	Actinomyceten
16:0 br2	Gram positive Bakterien	16:1 11	Gram-negative Bakterien
16:0 n	Gram positive Bakterien	17:1 9	Gram-negative Bakterien
17:0 br1	Gram positive Bakterien	17:1 a	Gram-negative Bakterien
17:0 br2	Gram positive Bakterien	17:1 b	Gram-negative Bakterien
17:0 br3	Gram positive Bakterien	17:1 c	Gram-negative Bakterien
17:0 br4	Gram positive Bakterien	17:1 d	Gram-negative Bakterien
17:0 br5	Gram positive Bakterien	18:1 9	universal
16:0 cy	Gram positive Bakterien (+ einige Gram negative)	18:1 11	universal
18:0 br1	Gram positive Bakterien	18:1 13	Gram-negative Bakterien
18:0 br2	Gram positive Bakterien	19:1 a	Gram-negative Bakterien
18:0 br3	Gram positive Bakterien	19:1 b	Gram-negative Bakterien
18:0 br4	Gram positive Bakterien	20:1	Gram-negative Bakterien
18:0 n	Gram positive Bakterien	18:2 6	Pilze
19:0 br	Gram positive Bakterien	18:2	Gram-negative Bakterien
19:0 n	Gram positive Bakterien	18:3	Grünalgen
18:0 cy	Gram positive Bakterien	20:4	Gram-negative Bakterien

3.4.3 Einfluss der Bodentiefe und Menge an eingetragenen Pflanzenmaterial auf die mikrobielle Biomasse

Die PLFA- Vorkommen in den Bodenproben der beiden Standorte Halle und Rotthalmünster sind unabhängig von der Kultur (C3- oder C4-Pflanzen), der Bodentiefe und der applizierten Düngung. Jedoch konnten in den verschiedenen Proben unterschiedliche relative Mengen der einzelnen PLFA (PLFA- Verteilungen) festgestellt werden. Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den PLFA-Verteilungen der verschiedenen Proben festzustellen, wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass sich die Proben eines Standortes bezüglich ihrer PLFA-Verteilung ähnlicher sind als die Proben unterschiedlicher Standorte (Abbildung 32).

Die Profilproben des C4-Bodens des Standortes Halle (HMU-20; HMU-40 und HMU-60) liegen nah zusammen, was ähnliche PLFA-Verteilungen in diesen Proben anzeigt. Dabei sind die PLFA-Verteilungen zwischen 20-40 cm und 40-60 cm Bodentiefe ähnlicher als die Verteilungen der PLFA dieser beiden Proben und der Probe in 0-20 cm Bodentiefe. Die PLFA-Verteilungen der C3-Profilproben des Standortes Halle (HRU-20; HRU-40 und HRU-60) unterscheiden sich mehr voneinander als die C4-Profilproben. Mit zunehmender Bodentiefe nähern sich die relativen PLFA-Verteilungen der C3- bzw. C4-Böden an, denn die Proben in 20-40 cm und 40-60 cm liegen jeweils näher zusammen als die Proben in 0-20 und 20-40 cm Bodentiefe. Die PLFA mit den höchsten Konzentrationen sind 17:1_c, 18:1_b, 19:1_a, 17:0n und 22:0.

Am Standort Rotthalmünster sind die PLFA-Verteilungen der C4-Böden im Profil (RMN-35, RMN-45 und RMN-65) ebenfalls für 35-45 cm und 45-65 cm Bodentiefe ähnlicher als die PLFA-Verteilung dieser beiden Proben und der Probe in 0-35 cm Bodentiefe. In den C3-Böden (RWN-35, RWN-45 und RWN-65) unterscheiden sich die PLFA-Verteilungen dagegen wesentlich mehr voneinander. Dabei ist die PLFA-Verteilung der Probe in 0-35 cm Bodentiefe der PLFA-Verteilung der Probe in 45-65 cm ähnlicher als der Probe in 35-45 cm Tiefe. Im Gegensatz zum Standort Halle sind die PLFA-Verteilungen der C3- und C4-Böden in 0-35 cm Bodentiefe sehr ähnlich, unterscheiden sich aber in 35-45 cm und 45-65 cm Bodentiefe sehr stark voneinander. Die PLFA mit den höchsten Konzentrationen sind an diesem Standort 15:0a, 15:1, 16:0cy, 17:1_d, 19:0_br, 19:1_b, 19:0n, 18:2 und 20:4.

Die PLFA-Verteilungen in Ap-Horizonten der C3- und C4-Böden verschiedener Düngungsvarianten des Standortes Halle sind bei beiden ungedüngten (HMU-25, HRU-25), mineralisch gedüngten (HMN-25, HRN-25) und bei organisch gedüngten Böden (HMO-25,

HRO-25) erwartungsgemäß sehr ähnlich zueinander. Die PLFA-Verteilungen der beiden organisch gedüngten Böden sind dabei nahezu identisch, sie weisen die höchsten Konzentrationen der PLFA 15:0n, 16:0_br2, 17:0_br3, 18:0_br4, 18:2 (6) und 18:3 auf. Die Ähnlichkeit der PLFA-Verteilung in diesen Böden ist durch den qualitativ und quantitativ gleichen Eintrag an organischem Dünger zu erklären.

Die Konzentration der einzelnen PLFA im Boden ist von Standortfaktoren, von der Bodentiefe, der applizierten Düngung sowie von der kultivierten Pflanzenart abhängig (Abbildung 32).

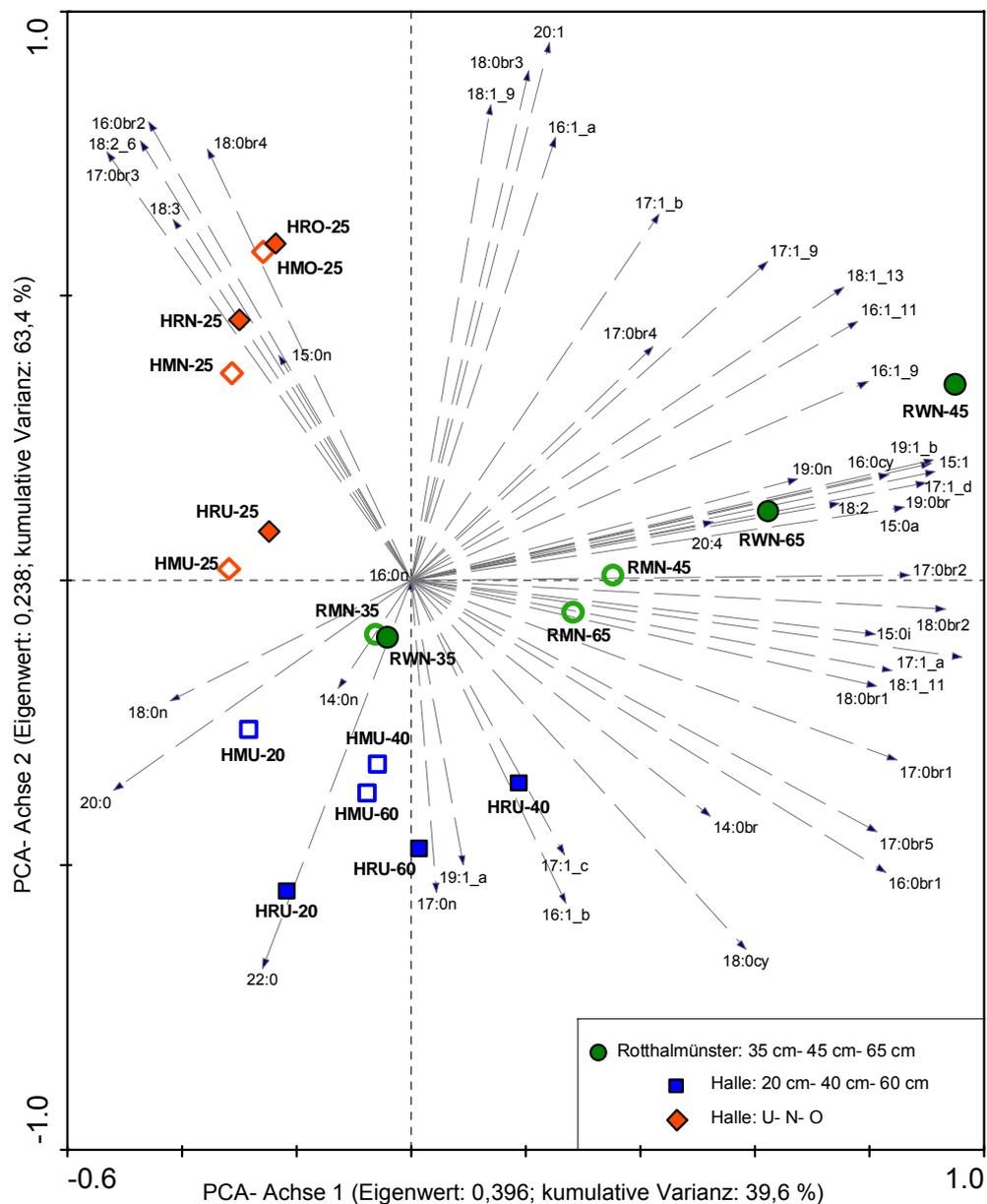


Abbildung 32: Hauptkomponentenanalyse der PLFA-Verteilungen analysierter Bodenproben aus C3- (gefüllt) und C4-Böden (ungefüllt).

3.4.4 Substanzspezifische ^{13}C -Isotopenanalyse an Phospholipidfettsäuren

3.4.4.1 Methodenüberprüfung zur substanzspezifischen ^{13}C -Analyse

Die angewendete Probenvorbereitung für die substanzspezifische ^{13}C -Isotopenanalyse wurde zunächst mit Standardsubstanzen auf mögliche Isotopenfraktionierungen überprüft.

Reproduzierbarkeit der Extraktion von Phospholipiden

Aus zwei Teilproben einer repräsentativen Mischprobe wurden Phospholipide extrahiert und deren PLFA durch Festphasenextraktion (SPE) getrennt (s. 2.4). Diese Trennung der PLFA in gesättigte, einfach ungesättigte und mehrfach ungesättigte PLFA für substanzspezifische ^{13}C -Isotopenanalysen ist ein wichtiger Aufarbeitungsschritt, weil die ^{13}C -Gehalte von Einzelkomponenten bei stark überlagerten Peaks nicht bestimmt werden können. Anschließend wurden die ^{13}C -Gehalte der PLFA beider Teilproben gemessen und verglichen (Abbildung 33).

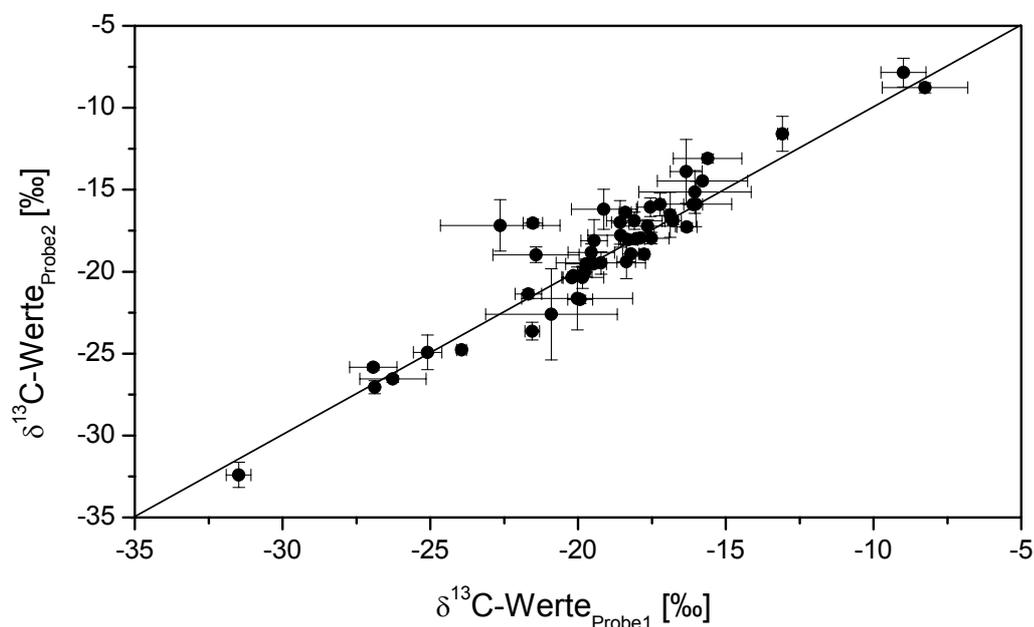


Abbildung 33: Reproduzierbarkeit der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei wiederholter Extraktion.

Dabei konnte gezeigt werden, dass sich die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der PLFA beider unabhängig extrahierter und getrennter Teilproben nicht signifikant voneinander unterscheiden ($z = -1,713$; $N = 50$; $p > 0,05$; Wilcoxon-Test).

Die verwendete Extraktionsmethode ist somit reproduzierbar und kann für die geplanten Analysen angewendet werden.

¹³C-Überprüfung der PLFA- Probenvorbereitung

Um eine Isotopenfraktionierung während der Probenvorbereitung ausschließen zu können, wurden die einzelnen Trennschritte der Festphasenextraktion (s. 2.4) mit Standardsubstanzen überprüft. Als Standardmaterialien wurden Phospholipide und Fettsäuremethylester (FAME) verwendet. Zunächst wurden die ¹³C-Gehalte der FAME sowie der aus den Phospholipiden gewonnenen PLFA bestimmt (Schritt 1). Vier verschiedene Bodenproben wurden extrahiert bis keine PLFA mehr zu detektieren waren und anschließend mit einer Mischung der FAME's und Phospholipide versetzt. Aus diesen Proben wurden die Standardsubstanzen extrahiert und durch SPE-Säulen (Schritt 2-4) getrennt und nach jedem Trennschritt die ¹³C-Gehalte der Standardsubstanzen aus den vier Proben bestimmt (Tabelle 8). Durch den Vergleich der Isotopengehalte der Standardsubstanzen zu Beginn des Versuches (Schritt 1) und jeweils nach den einzelnen Trennungsschritten mit SPE-Säulen (Schritt 2-4) wird jeder Schritt auf mögliche Isotopenfraktionierungen überprüft.

Dabei zeigten sich zwischen den einzelnen Trennschritten der verschiedenen PLFA keine signifikanten Unterschiede der ¹³C-Gehalte (Tabelle 8). Bei FAME 16:0 unterscheiden sich Schritt 1 von Schritt 2, die weiteren Schritte unterscheiden sich jedoch nicht voneinander und auch nicht vom Ausgangswert. Die Extraktion und Auftrennung von PLFA nach Zelles (Zelles & Bai, 1993) kann somit für die Analyse stabiler Kohlenstoffisotope an PLFA angewendet werden.

Tabelle 8: ¹³C-Isotopenüberprüfung der SPE- Trennungsschritte (Statistik: einfaktorielle ANOVA mit N = 4).

FAME	14:0	16:0	18:0	19:0	18:1	18:2
p	0,983	0,014	0,521	0,642	0,503	0,175
F	0,018	5,330	0,792	0,469	0,541	2,365
Schritt	($\delta^{13}\text{C}$ -Wert)					
1	-	-30,0 ^a ± 0,7	-28,5 ± 0,0	-	-29,8 ± 0,4	-30,0 ± 0,6
2	-28,7 ± 0,2	-31,5 ^b ± 0,2	-28,4 ± 0,1	-27,2 ± 0,1	-	-
3	-28,7 ± 0,7	-31,3 ^{ab} ± 0,2	-28,8 ± 0,1	-27,1 ± 0,3	-	-
4	-28,6 ± 0,8	-30,8 ^{ab} ± 0,7	-28,6 ± 0,9	-27,0 ± 0,2	-30,3 ± 0,7	-30,7 ± 0,7

3.4.4.2 Identifizierung mikrobieller Kohlenstoffquellen

Aus Ap-Horizonten eines C3-Bodens und eines von C3 nach C4-umgestellten Bodens wurden Phospholipide als mikrobielle Biomarker extrahiert und an deren Phospholipidfettsäuren Isotopenverhältnismessungen ($\delta^{13}\text{C}$) durchgeführt. Durch die unterschiedlichen Isotopensignaturen der Pflanzen kann zwischen neu eingetragenem, C4-bürtigen und bereits vorhandenem, C3-bürtigen Kohlenstoff unterschieden werden. Anhand der ^{13}C -Signatur der PLFA können so verschiedene mikrobielle Kohlenstoffquellen identifiziert werden.

Die ^{13}C -Gehalte der PLFA des Bodens unter C3-Vegetation spiegeln deutlich den Einfluss des ^{13}C -armen pflanzlichen Kohlenstoffeintrags mit $\delta^{13}\text{C} = -29,3 \text{ ‰}$ wider. Die vorwiegende mikrobielle Kohlenstoffquelle im C3-Boden ist C3-Pflanzenmaterial, bzw. stammt ursprünglich aus dieser Quelle (Abbildung 34). Der Mittelwert der PLFA des C3-Bodens liegt bei $-25,1 \text{ ‰} \pm 1,6 \text{ ‰}$. Die PLFA des C4-Bodens sind deutlich durch die neue C4-Vegetation mit $\delta^{13}\text{C} = -12,4 \text{ ‰}$ markiert und unterscheiden sich signifikant von den ^{13}C -Gehalten der PLFA des C3-Bodens ($t = -15,569$; $N = 38$; $p < 0,001$), ihr Mittelwert liegt bei $-16,2 \pm 3,7 \text{ ‰}$. Jedoch sind nicht alle PLFA des C4-Bodens durch die neue Vegetation markiert.

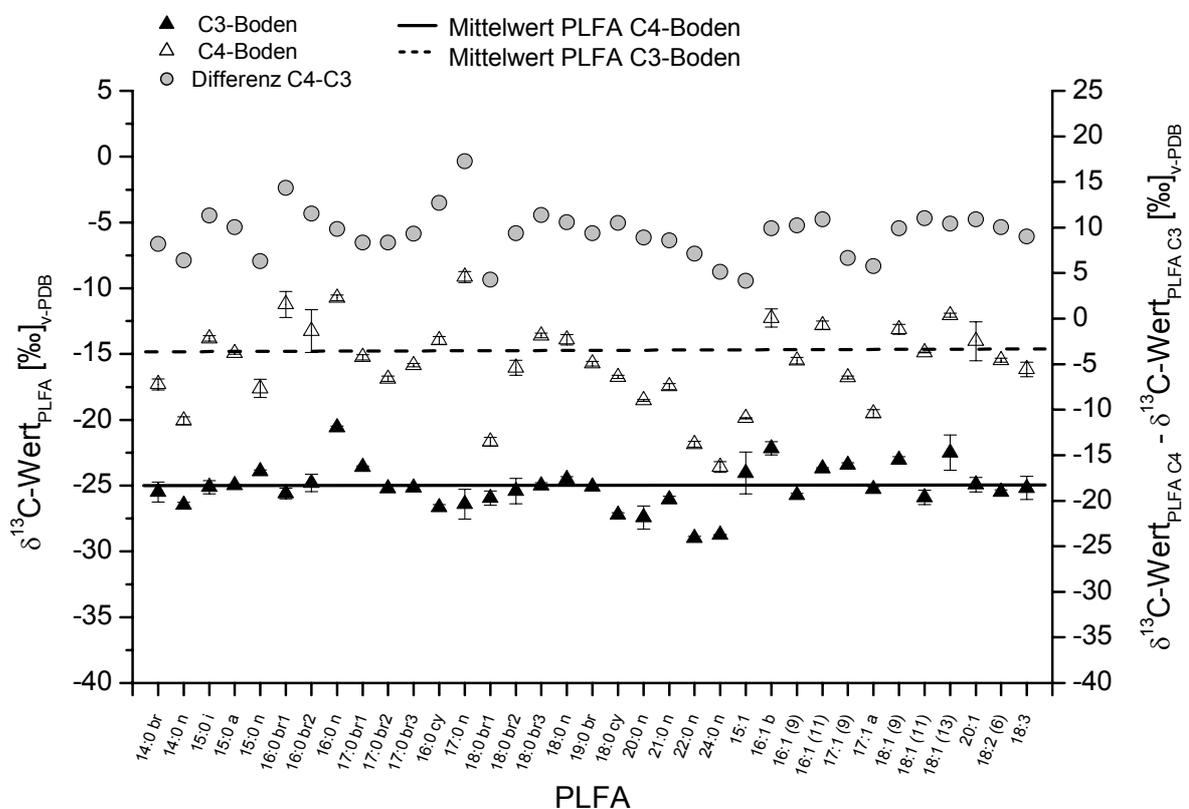


Abbildung 34: ^{13}C -Gehalte der PLFA aus C3- und C4-Böden, Mittelwerte und Differenzen ihrer ^{13}C -Gehalte.

Die Differenz der ^{13}C -Gehalte der PLFA zwischen C3-Böden und C4-Böden liegt im Mittel bei $8,9 \text{ ‰} \pm 3,2 \text{ ‰}$. Dabei weisen die meisten PLFA Differenzen von 8 ‰ und mehr auf, was die Nutzung von Pflanzenmaterial als mikrobielle Kohlenstoffquelle andeutet. Jedoch haben einige PLFA Differenzen von 5 ‰ und darunter (Abbildung 34). Pflanzenmaterial kann hier nur eine untergeordnete Rolle als mikrobielle Kohlenstoffquelle spielen. Vielmehr scheint organische Bodensubstanz als Kohlenstoffquelle für Mikroorganismen von Bedeutung zu sein. Betrachtet man nun die Differenzen der PLFA aus C4- und C3-Böden über den ^{13}C -Gehalten der einzelnen PLFA des C4-Bodens so werden die unterschiedlichen Kohlenstoffquellen deutlich (Abbildung 35). Anhand der PLFA des auf C4-Pflanzen umgestellten Bodens ist erkennbar, dass zu einem großen Anteil ^{13}C -schweres C4-Pflanzenmaterial als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt wird. Die ^{13}C -Gehalte dieser PLFA liegen im Bereich der Signatur des C4 Pflanzenmaterials. Dagegen sind einige PLFA vom Pflanzenmaterial nahezu unbeeinflusst, ihre ^{13}C -Gehalte liegen im Bereich der organischen Bodensubstanz, deren ^{13}C -Gehalt nahe dem der C3-Pflanzen ist. Dieses Material, welches die ^{13}C -Signatur von C3-Pflanzen trägt, muss aus der Zeit vor der Umstellung der Vegetation stammen, denn seit 1961 wird ausschließlich C4-Pflanzenmaterial in den Boden eingebracht.

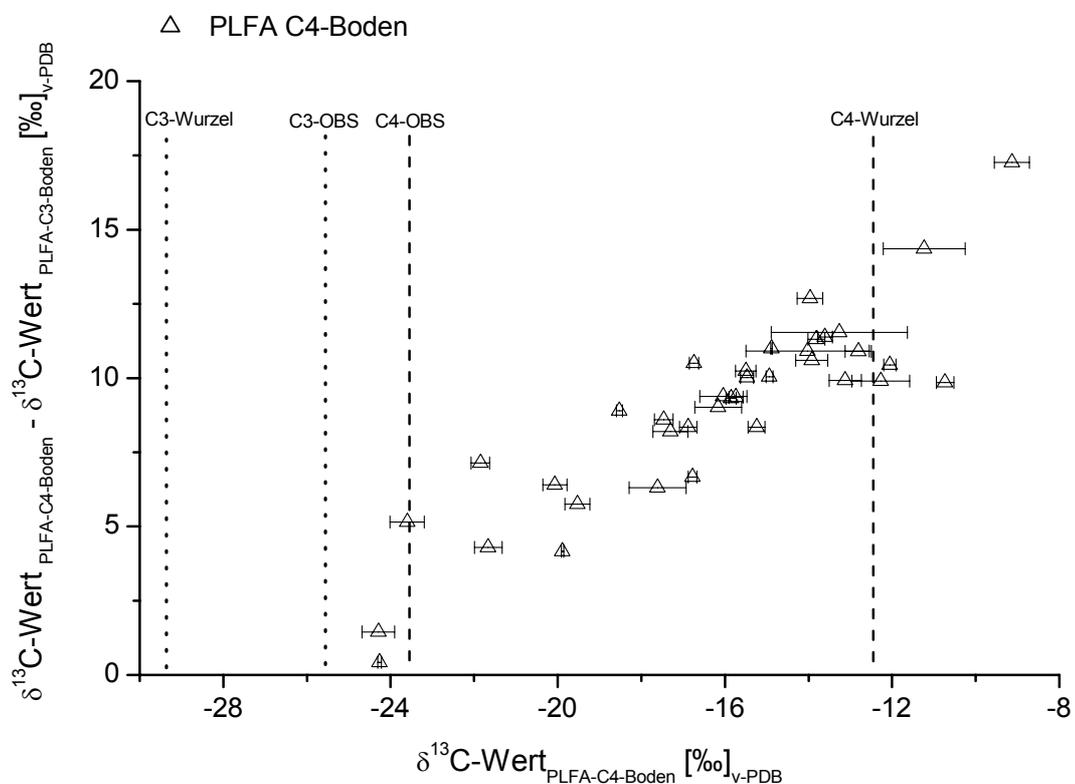


Abbildung 35: Die Differenzen der ^{13}C -Gehalte der einzelnen PLFA aus C3- und C4-Böden über ihren ^{13}C -Gehalten der PLFA des C4-Bodens.

Die identifizierten PLFA können verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen zugeordnet werden (Tabelle 9). Dabei zeigte sich, dass Grünalgen, Bodenpilze und Actinomyceten stets eine Mischung der vorhandenen Kohlenstoffquellen nutzen, während Bakterien in der Lage sind auch einzelne C-Quellen, entweder nur Pflanzenmaterial oder nur OBS, ausschließlich zu nutzen (Abbildung 36).

Tabelle 9: Zuordnung der identifizierten PLFA zu verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen.

PLFA	Zuordnung
18:3	Grünalgen
18:2 ω 6	Pilze
alle übrigen einfach ungesättigten PLFA	Gram-negative Bakterien (Gram ⁻)
alle übrigen gesättigten PLFA	Gram-positive Bakterien (Gram ⁺)
15:0 i; 15:0 n; 16:1 ω 9	Actinomyceten
18:1 ω 9; 18:1 ω 11	universal

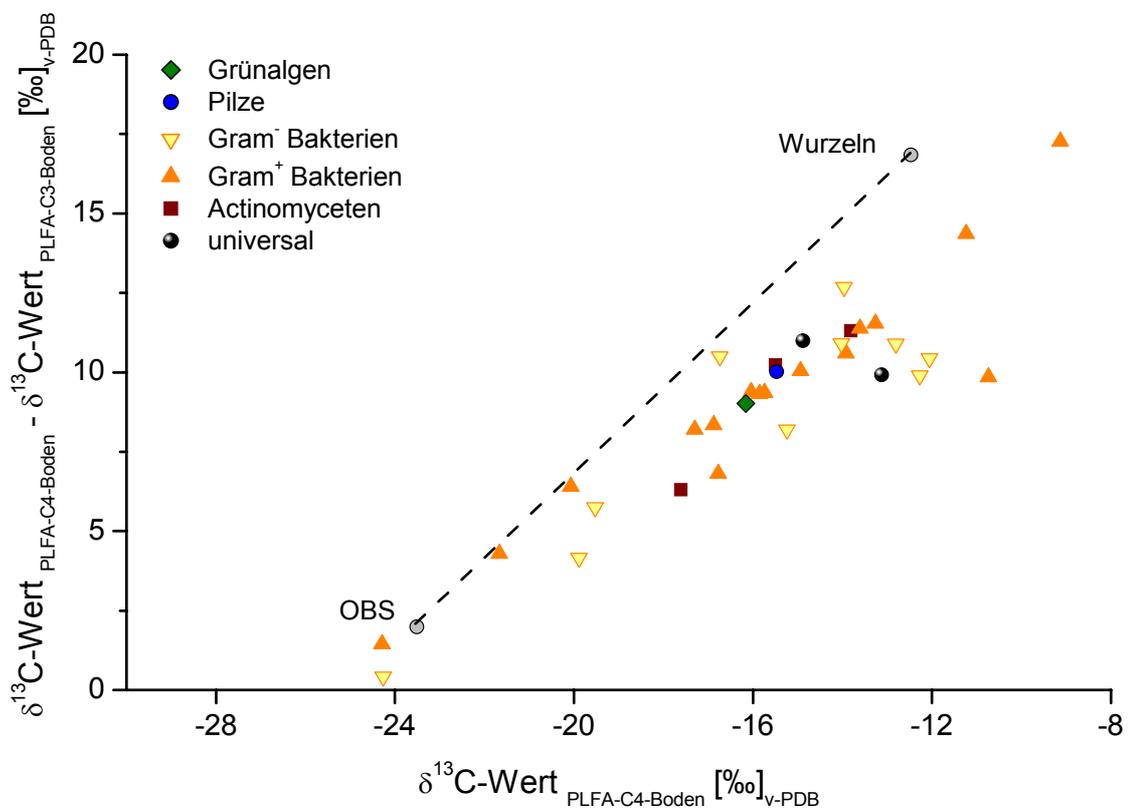


Abbildung 36: Differenzen der ¹³C-Gehalte der PLFA aus C4- und C3-Böden über den ¹³C-Gehalten der PLFA des C4-Bodens.

Dabei wurden zunächst keine Unterschiede zwischen Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien bezüglich der genutzten Kohlenstoffquelle festgestellt. Generell konnte gezeigt werden: wenn Mikroorganismen des C4-Bodens frisches Pflanzenmaterial als hauptsächliche Kohlenstoffquelle nutzen, so liegen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ihrer PLFA nahe des ^{13}C -Gehaltes des pflanzlichen Eintrags von ca. -12,4 ‰. Die Differenz der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der PLFA zwischen C4- und C3-Boden ist dann >12 ‰. Liegen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der PLFA des C4-Bodens jedoch nahe des ^{13}C -Gehaltes der OBS, und ist die Differenz der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der PLFA zwischen C4- und C3-Boden <12 ‰, so deutet sich die zunehmende Nutzung von OBS als mikrobielle Kohlenstoffquelle an. Ist die Differenz kleiner als <7 ‰, so wird hauptsächlich organische Bodensubstanz verwertet. Isotopengehalte der PLFA zwischen -15 ‰ und -18 ‰ deuten die Nutzung unterschiedlicher Kohlenstoffquellen an, die Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PLFA zwischen C4- und C3-Boden sind dann intermediär (Abbildung 36). Damit sind Pflanzenmaterial und organische Bodensubstanz die wichtigsten Kohlenstoffquellen von Mikroorganismen im Boden.

Um abzuschätzen wie schnell sich einzelne PLFA durch die neue Vegetation markieren lassen, können mittlere Verweilzeiten der PLFA berechnet werden. Dabei zeigte sich, dass die mittlere Verweilzeit der PLFA im Boden ca. 40 Jahre beträgt (Abbildung 37). Die hohe Verweilzeit der PLFA 18:3 von ca. 130 Jahren, die typisch für Grünalgen ist, deutet auf zusätzliche Kohlenstoffquellen, neben OBS und Pflanzenmaterial, hin.

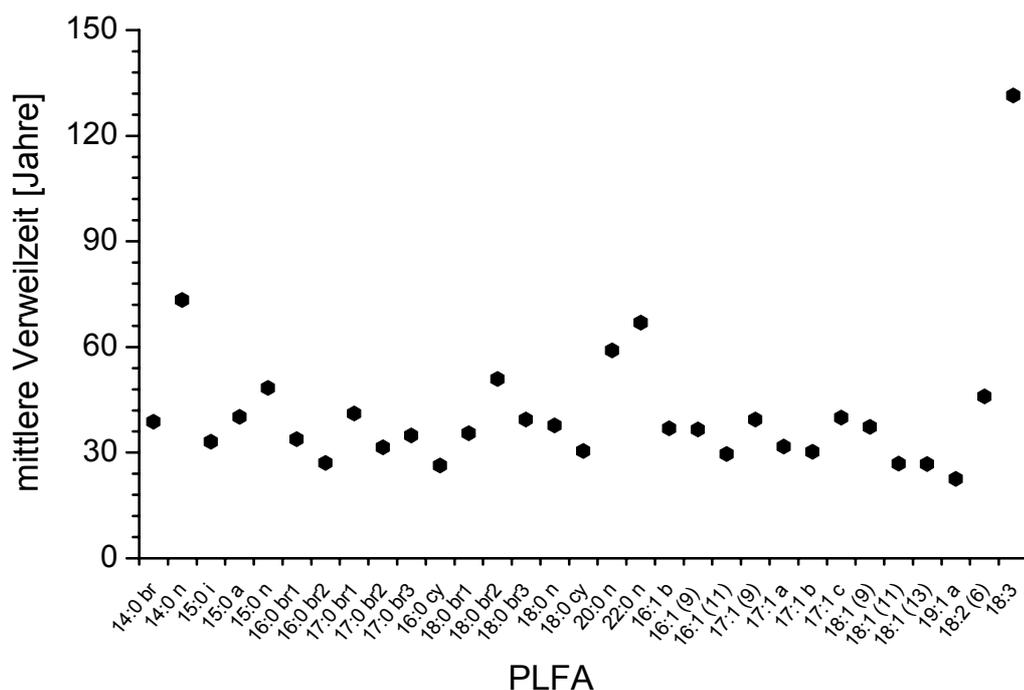


Abbildung 37: Mittlere Verweilzeiten des Kohlenstoffs in PLFA des Standortes Halle in 0-25 cm Bodentiefe.

Mikroorganismen gehören konzeptionell zum schnell umsetzbaren Kohlenstoffpool, da sie nur kurze Zeit leben. Phospholipide und deren Fettsäuren stellen die Biomarker lebender Mikroorganismen dar, die nach dem Absterben der Organismen innerhalb von Stunden bis Tagen abgebaut werden. Dies widerspricht einer Verweildauer der PLFA von 40 Jahren. Hohe mittlere Verweilzeiten von PLFA könnten daher bedeuten, dass Phospholipide im Boden doch beständiger sind als bislang nachgewiesen, oder aber, dass organische Kohlenstoffverbindungen, die als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt werden und letztlich als Bestandteile mikrobieller Zellmembranen untersucht werden können, im Boden ständig umgebaut und wiederverwertet werden. Danach würden zur Biosynthese neuer Moleküle die Fragmente bereits vorliegender Moleküle genutzt werden, die z.B. noch die isotopische Signatur einer früheren Vegetation tragen können. Mit dieser Möglichkeit ließen sich auch die hohen Verweilzeiten der PLFA im Boden erklären. Ein Beweis dieser Hypothese könnte durch die Bestimmung der ^{14}C -Gehalte an diesen PLFA erbracht werden.

3.4.4.3 Einfluss der Bodentiefe auf mikrobielle Kohlenstoffquellen

Die Verfügbarkeit der mikrobiellen Kohlenstoffquellen ist abhängig von der Bodentiefe. Da mit zunehmender Bodentiefe die Menge an pflanzlichem Eintrag abnimmt, wäre zu erwarten, dass mit zunehmender Bodentiefe mehr OBS als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt wird und somit mehr Kohlenstoff im Boden wiederverwertet wird. Die ^{13}C -Gehalte der PLFA sollten deshalb mit der Tiefe abnehmen, weil die OBS noch die ^{13}C -Signatur der früheren, ^{13}C -armen, C3-Vegetation trägt. Um dieser Vermutung nachzugehen wurden an PLFA aus Bodenproben in 0-20 cm, 20-40 cm und 40-60 cm Bodentiefe ^{13}C -Isotopenanalysen durchgeführt.

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der PLFA des C4-Bodens in 40-60 cm Bodentiefe liegen mit $-22,3\text{‰} \pm 4,7\text{‰}$ näher am ^{13}C -Gehalt der OBS von $-25,0\text{‰}$ als die PLFA in 0-20 cm Bodentiefe mit $-18,3\text{‰} \pm 4,2\text{‰}$ (Abbildung 38, Tabelle 10). Die OBS hat in 0-20 cm Bodentiefe einen ^{13}C -Gehalt von $-23,7\text{‰}$. Dementsprechend sind in 40-60 cm Bodentiefe auch die isotopischen Differenzen zwischen den PLFA des C4-Bodens und des C3-Bodens mit $5,7\text{‰}$ wesentlich geringer als in 0-20 cm Bodentiefe, bei der die Differenz $10,8\text{‰}$ beträgt. Die Differenzen der entsprechenden OBS betragen $1,9\text{‰}$ in 0-20 cm und nur noch $0,5\text{‰}$ in 40-60 cm Bodentiefe und unterscheiden sich in den drei Bodentiefen signifikant voneinander ($F = 39,94$; $N = 29$; $p < 0,001$; einfaktorische ANOVA). Die OBS des C4-Bodens und auch die

analysierten PLFA in 40-60 cm Bodentiefe zeigen damit in ihrer Isotopensignatur noch deutlich den Einfluss der früheren C3-Vegetation (Tabelle 10).

Tabelle 10: Verschiebung der ¹³C-Gehalte der OBS und der PLFA* mit zunehmender Bodentiefe (Halle).

Bodentiefe [cm]	C3-OBS [‰]	C4-OBS [‰]	C3-PLFA [‰]	C4-PLFA [‰]
0-20 cm	-25,69 ± 0,06	-23,74 ± 0,13	-29,1 ± 3,9	-18,3 ± 4,2
20-40 cm	-25,73 ± 0,09	-24,63 ± 0,11	-30,8 ± 4,5	-19,7 ± 4,3
40-60 cm	-25,58 ± 0,07	-25,01 ± 0,07	-28,0 ± 4,2	-22,3 ± 4,7

* es sind jeweils Mittelwerte aller PLFA mit zugehöriger Standardabweichung angegeben.

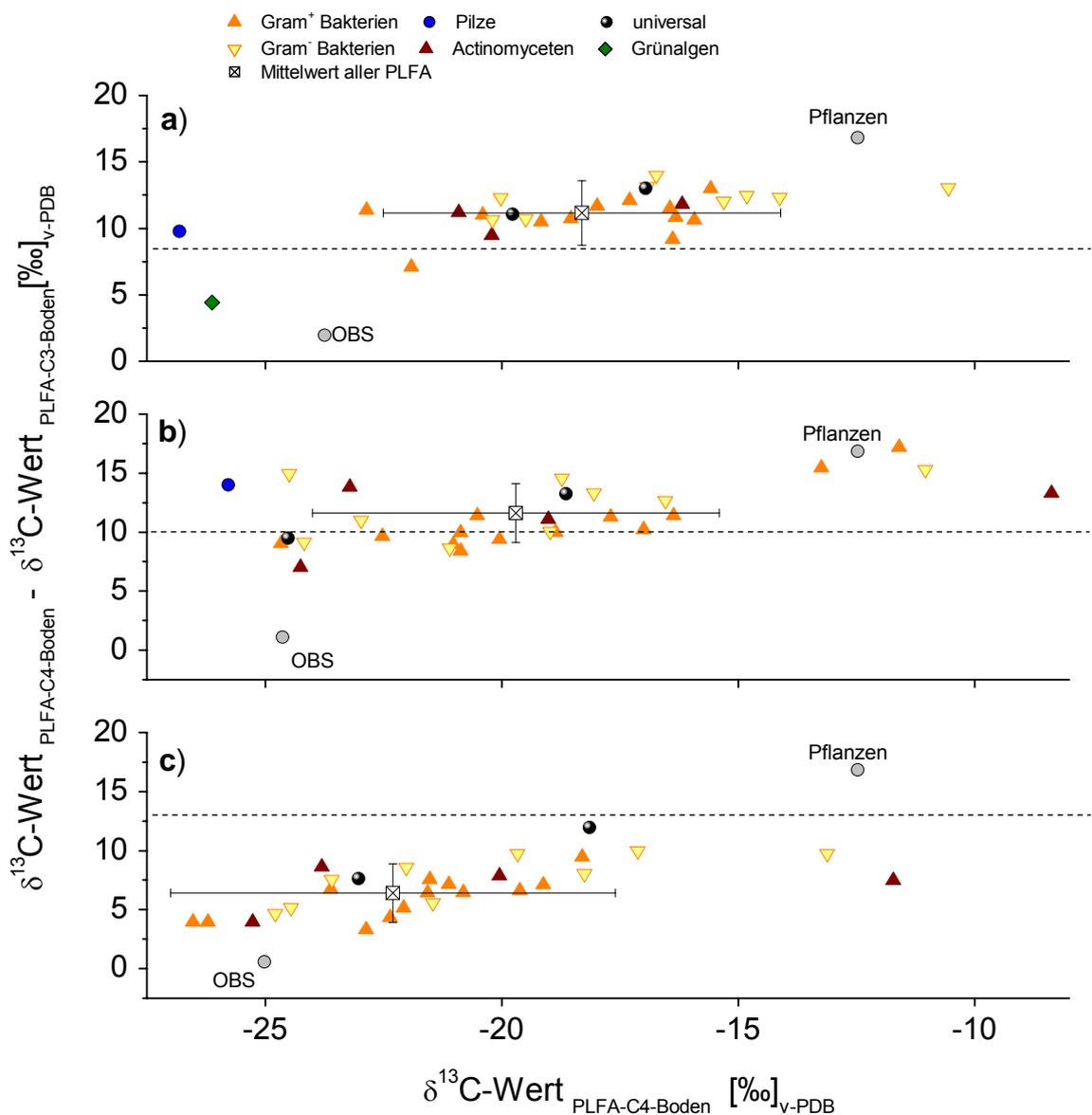


Abbildung 38: Abhängigkeit mikrobieller Kohlenstoffquellen von der Bodentiefe, a) 0-20 cm, b) 20-40 cm, c) 40-60 cm.

Durch Annäherung der ^{13}C -Gehalte der PLFA an die isotopische Signatur der OBS zeigte sich die zunehmende Nutzung von OBS als mikrobielle Kohlenstoffquelle (Abbildung 38). PLFA, die charakteristisch für Pilze sind, konnten nur in 0-20 cm und 20-40 cm, PLFA die auf Grünalgen hinweisen nur in 0-20 cm Bodentiefe detektiert werden. Diese beiden Organismengruppen sind durch wenige, aber charakteristische PLFA repräsentiert. Die sehr niedrigen ^{13}C -Gehalte der PLFA von $-26,12\text{‰}$ bei Grünalgen und von $-26,81\text{‰}$ bei Pilzen widersprechen der Nutzung von Pflanzenmaterial als Kohlenstoffquelle. Bei Pilzen deuten die hohen Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PLFA nach dem Vegetationswechsel an, dass auch OBS als mikrobielle Kohlenstoffquelle nicht in Frage kommt. Offensichtlich sind beide Gruppen in der Lage andere Kohlenstoffquellen wie z.B. Biota, Kohlendioxid und Methan zur Biomassebildung zu nutzen.

Actinomyceten sind wie Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien in allen drei Bodentiefen zu finden und nutzen mit zunehmender Bodentiefe mehr OBS als Kohlenstoffquelle (Abbildung 38). Dabei zeigte sich, dass Gram⁻-Bakterien, welche durch einfach ungesättigte PLFA charakterisiert sind, größere ^{13}C -Differenzen der PLFA aufweisen als Gram⁺-Bakterien, die hauptsächlich durch gesättigte PLFA charakterisiert sind. Diese Tendenz konnte in den drei untersuchten Bodentiefen festgestellt werden und zeigt, dass Gram⁻-Bakterien mehr Pflanzenmaterial als Kohlenstoffquelle nutzen als Gram⁺-Bakterien (Abbildung 39).

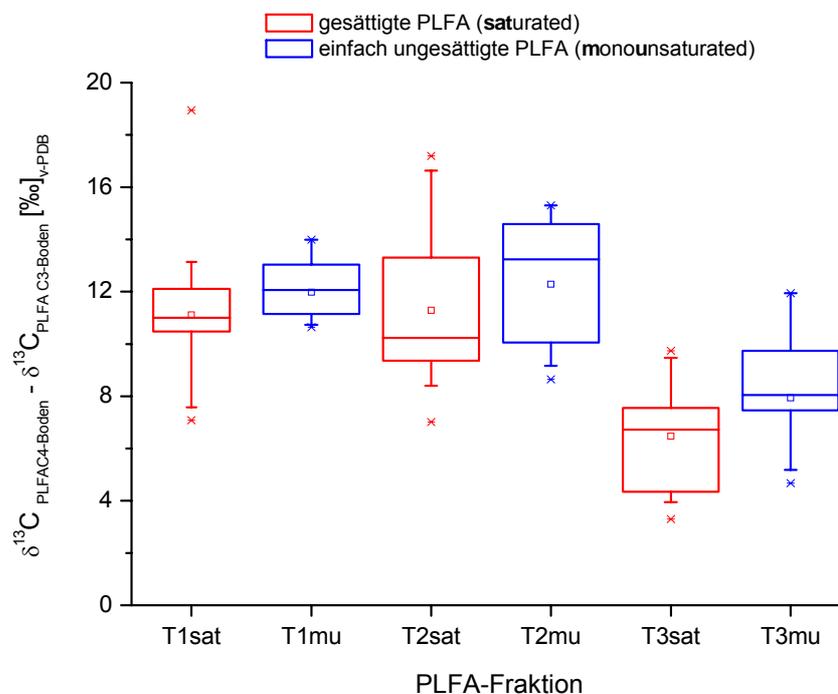


Abbildung 39: Boxplot der Differenzen der ^{13}C -Gehalte der gesättigten (sat) und einfach ungesättigten (mu) PLFA in drei verschiedenen Bodentiefen 0-20 cm (T1), 20-40 cm (T2) und 40-60 cm (T3).

Weiterhin konnte festgestellt werden, dass PLFA die in 0-20 cm Bodentiefe große bzw. kleine Differenzen ihrer ^{13}C -Gehalte zwischen C4- und C3-Boden zeigen, auch in 40-60 cm große bzw. kleine Differenzen aufweisen. In 40-60 cm sind die Differenzen jedoch etwas geringer als in 0-20 cm Bodentiefe (Abbildung 40). Dies bedeutet, dass Mikroorganismen, die in 0-20 cm vorwiegend Pflanzenmaterial bzw. vorwiegend OBS nutzen, diese Kohlenstoffquelle, soweit verfügbar, auch in 40-60 cm Bodentiefe nutzen. Somit werden bevorzugte Kohlenstoffquellen von den einzelnen Mikroorganismen unabhängig von der Bodentiefe beibehalten.

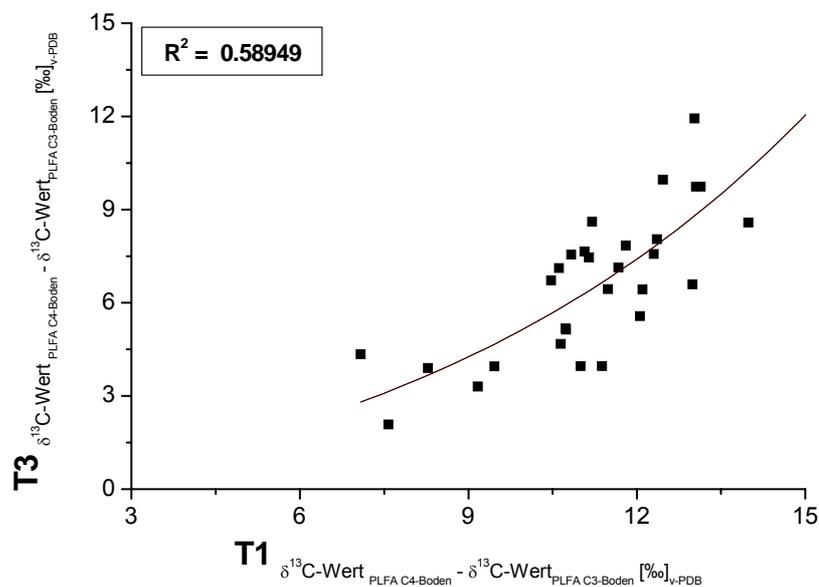


Abbildung 40: Vergleich der Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PLFA aus 0-20 cm und 40-60 cm Bodentiefe.

Am Vergleichsstandort Rotthalmünster wurden ebenfalls ^{13}C -Isotopenanalysen an PLFA im Bodenprofil durchgeführt. Auch hier konnte anhand der ^{13}C -Gehalte der PLFA beobachtet werden, dass mit steigender Bodentiefe zunehmend OBS als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt wird (Tabelle 11).

Tabelle 11: Verschiebung der ^{13}C -Gehalte von OBS und PLFA* mit zunehmender Bodentiefe (Rotthalmünster).

Bodentiefe [cm]	C3-OBS [‰]	C4-OBS [‰]	C3-PLFA [‰]	C4-PLFA [‰]
0-35	-26,65 ± 0,04	-22,02 ± 0,03	-28,3 ± 4,6	-18,8 ± 4,1
35-45	-25,55 ± 0,14	-23,45 ± 0,04	-26,2 ± 3,4	-19,0 ± 3,2
45-65	-24,91 ± 0,19	-23,22 ± 0,10	-29,1 ± 3,7	-21,5 ± 3,1

* es sind jeweils Mittelwerte aller PLFA mit zugehöriger Standardabweichung angegeben.

Eine Ursache für die höhere Nutzung der OBS mit zunehmender Bodentiefe ist die Verteilung der Pflanzenwurzeln im Bodenprofil. So befinden sich ca. 80 % der gesamten Wurzelmasse von Maispflanzen in den oberen 20 cm des Bodens. Die restlichen 20 % der Wurzelmasse verteilen sich sukzessiv auf die tieferen Bodenschichten. Damit ist in den oberen 20 cm des Bodens eine gute Versorgung mit Pflanzenmaterial gewährleistet, das als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt werden kann, während in tieferen Bodenschichten die Menge des Pflanzenmaterials als hauptsächliche Kohlenstoffquelle nicht mehr ausreicht. Aus diesem Grund wird mit zunehmender Bodentiefe mehr organische Bodensubstanz als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt. Dies konnte auch durch signifikant ansteigende mittlere Verweilzeiten der PLFA mit zunehmender Bodentiefe bestätigt werden ($F = 5,499$; $N = 33$; $p < 0,01$) (Abbildung 41).

Im Ap-Horizont (0-25 cm) beträgt die mittlere Verweilzeit von PLFA im Boden ca. 40 Jahre (Abbildung 37). In 0-20 cm Bodentiefe beträgt sie ebenfalls ca. 40 Jahre und in 40-60 cm ca. 100 Jahre (Tabelle 10, Tabelle 11).

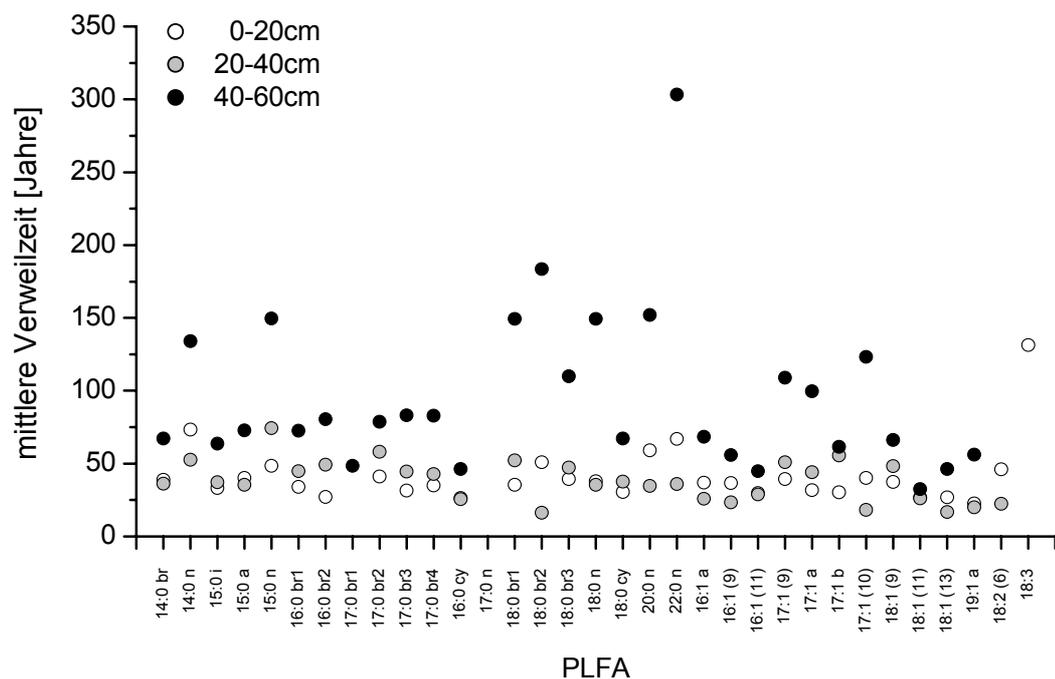


Abbildung 41: Mittlere Verweilzeiten von PLFA in den Bodentiefen 0-20 cm, 20-40 cm und 40-60 cm.

Für ein mögliches biologisches Recycling von organischem Kohlenstoff im Boden würde dies eine höhere Recyclingrate von organischem Kohlenstoff mit zunehmender Bodentiefe bedeuten. Dies konnte durch steigende mittlere Verweilzeiten der Kohlenstoffquellen verschiedener Gruppen von Mikroorganismen mit steigender Bodentiefe bestätigt werden.

Zudem wurde festgestellt, dass die Kohlenstoffquellen Gram⁺-Bakterien unabhängig von der Bodentiefe stets höhere mittlere Verweilzeiten aufweisen als die Kohlenstoffquellen von Gram⁻-Bakterien, was durch die Analysen der PLFA von Bodenproben des Vergleichsstandortes Rotthalmünster bestätigt werden konnte (Abbildung 42). Hiermit werden erneut die unterschiedlichen präferenziellen Kohlenstoffquellen von Gram⁻- und Gram⁺-Bakterien aufgezeigt, die bereits durch größere ¹³C-Differenzen bei ungesättigten PLFA gegenüber den gesättigten PLFA angedeutet wurden (Abbildung 39).

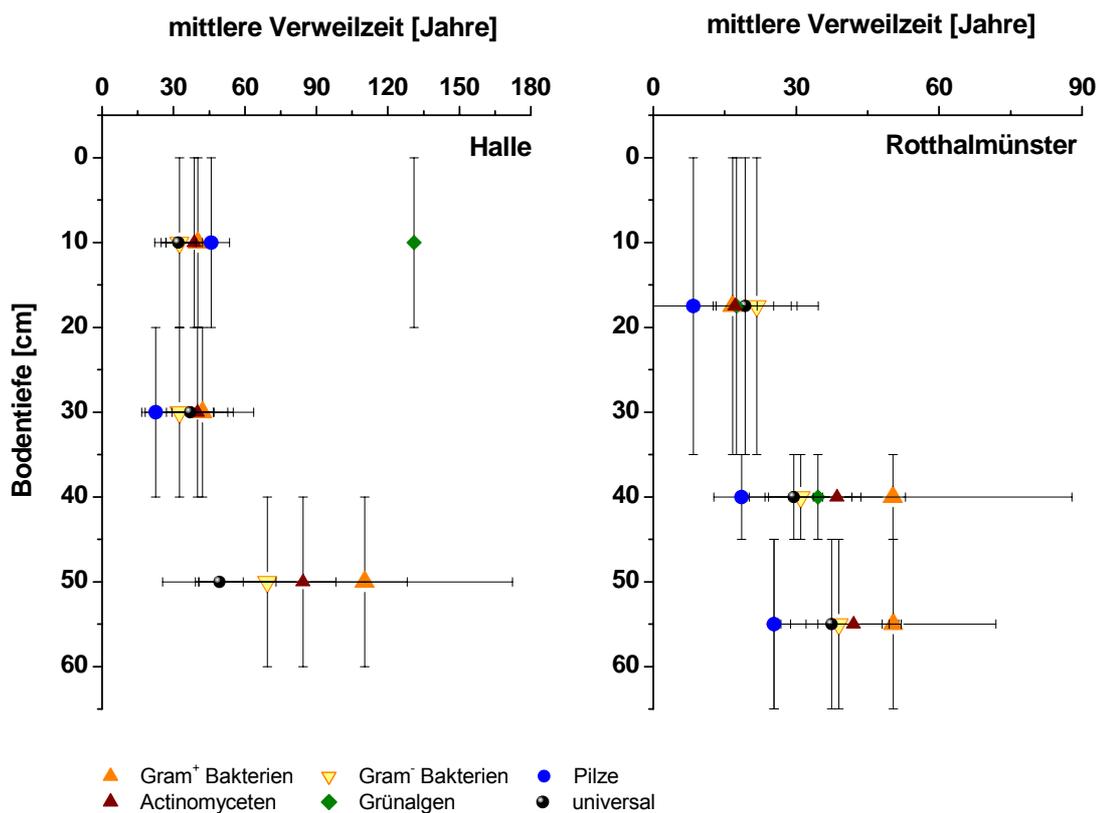


Abbildung 42: Mittlere Verweilzeiten mikrobieller Kohlenstoffquellen in verschiedenen Bodentiefen.

Durch Bestimmung der ¹³C-Gehalte an PLFA aus Böden verschiedener Bodentiefen konnte festgestellt werden, dass mit zunehmender Bodentiefe generell mehr organische Bodensubstanz als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt wird. Weiterhin zeigte sich, dass Gram⁻-Bakterien mehr Pflanzenmaterial als Gram⁺-Bakterien verwerten. Die Differenzen der ¹³C-Gehalte von PLFA des C3- und C4-Bodens sind in den untersuchten Bodentiefen sehr ähnlich. Dies zeigt, dass bevorzugte Kohlenstoffquellen einzelner Gruppen von Mikroorganismen unabhängig von der Bodentiefe beibehalten werden.

3.4.4.4 Einfluss der Menge an eingetragem Pflanzenmaterial auf die Nutzung unterschiedlicher mikrobieller Kohlenstoffquellen

Um mikrobielle Kohlenstoffquellen in Abhängigkeit von der eingetragenen Menge an Pflanzenmaterial zu untersuchen, wurden ^{13}C -Analysen an PLFA von drei verschiedenen gedüngten Böden durchgeführt, mineralisch (*min*), organisch (*org*) und ungedüngt (*u*). Durch die applizierte Düngung werden unterschiedliche Mengen an Pflanzenmaterial, $66,6 \text{ g C/m}^2$ bei organischer Düngung, $54,8 \text{ g C/m}^2$ bei mineralischer Düngung und $23,1 \text{ g C/m}^2$ ohne Düngung in die Böden eingetragen. Aufgrund der unterschiedlichen Eintragsmengen an Pflanzenmaterial in die Böden ist zu erwarten, dass die ^{13}C -Markierung der PLFA des C4-Bodens umso größer ist je mehr C4-Pflanzenmaterial in den Boden gelangt. Dies sollte sich in steigenden ^{13}C -Gehalten der PLFA und steigenden Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PLFA aus C3- und C4-Böden mit zunehmender Menge an eingetragem Pflanzenmaterial widerspiegeln.

Diese Annahme konnte jedoch nicht bestätigt werden. Trotz mehr als doppelt so hohem Eintrag an Pflanzenmaterial in den mineralisch gedüngten Boden unterscheiden sich die ^{13}C -Gehalte der PLFA des *mineralisch gedüngten* und des *ungedüngten* Bodens nicht voneinander. Auch zwischen den Differenzen der ^{13}C -Gehalte von C3- und C4-Böden konnten bei diesen beiden Düngungsvarianten keine Unterschiede festgestellt werden.

Eine größere Menge an eingetragem Pflanzenmaterial führt zu einer Erhöhung der mikrobiellen Biomasse im Boden und entsprechend zu einem gleichermaßen höheren Verbrauch der einzelnen Kohlenstoffquellen, Pflanzenmaterial und OBS. In der Bilanz ist deshalb keine Veränderung, d.h. kein Unterschied zwischen mineralisch gedüngtem und ungedüngtem Boden festzustellen (Abbildung 43 a und b). Die einzelnen Gruppen von Mikroorganismen behalten dabei ihre bevorzugten Kohlenstoffquellen bei.

Doch die ^{13}C -Gehalte der PLFA des organisch gedüngten Bodens unterscheiden sich signifikant von denen der beiden anderen Böden ($F = 10,249$; $N = 34$; $p < 0,001$) (Abbildung 43). Sie weisen aber keine hohen, sondern sehr niedrige ^{13}C -Gehalte auf. In diesen Boden wird zum einen die größte Menge an Pflanzenmaterial eingetragen, zum anderen aber zusätzlich auch Stallmist als organischer Dünger. Stallmist enthält Stroh mit C3-Signatur ($-24,5 \text{ ‰}$), was der Markierung durch ^{13}C -reichen C4-Eintrag entgegenwirkt. Dies hat zur Folge, dass die ^{13}C -Gehalte der PLFA des organisch gedüngten C4-Bodens niedriger sind als die des mineralisch gedüngten und des ungedüngten Bodens. Weiterhin kann die Nutzung des organischen Düngers als mikrobielle Kohlenstoffquelle nicht von der Nutzung organischer

Bodensubstanz unterschieden werden (Abbildung 43 c). Eine Korrektur der ^{13}C -Gehalte der PLFA dieses Bodens gegen den Einfluss des organischen Düngers ist nicht möglich, weil dessen PLFA-Zusammensetzung nicht bekannt ist.

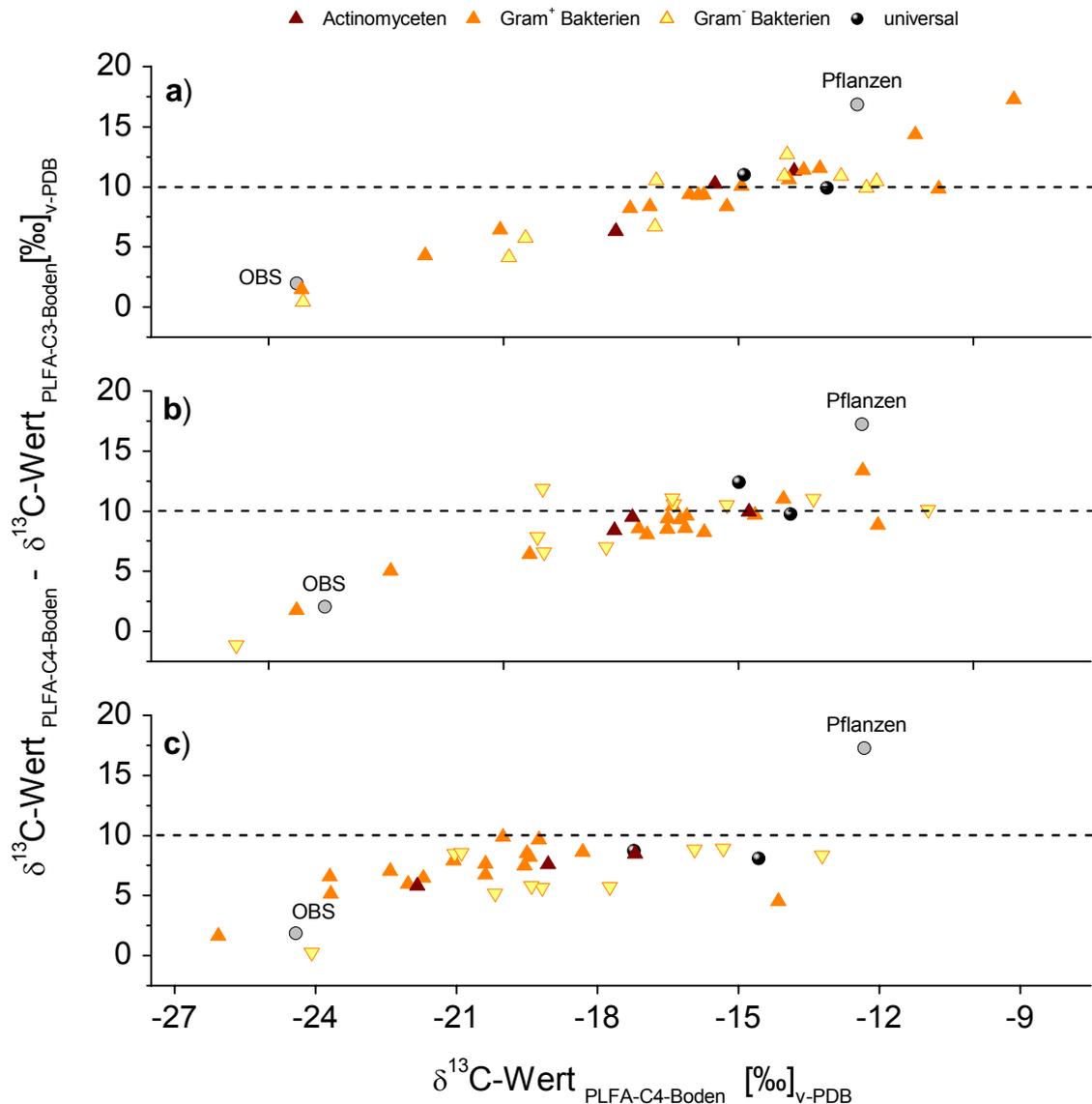


Abbildung 43: Die Abhängigkeit mikrobieller Kohlenstoffquellen von der Menge an eingetragenen Pflanzenmaterial, a) ungedüngt, b) mineralisch gedüngt c) organisch gedüngt.

Die Ursache für den Unterschied zwischen den ^{13}C -Gehalten der PLFA des organisch gedüngten Bodens und den PLFA der beiden anderen Böden konnte jedoch nicht eindeutig festgestellt werden. Im Vergleich zur Menge des eingetragenen Pflanzenmaterials von $66,6 \text{ g C/m}^2$ werden durch den organischen Dünger 320 g C/m^2 und mikrobielle Biomasse in den Boden eingebracht. Der nahezu 5-fache Überschuss an Kohlenstoff aus dem Stallmist könnte dazu geführt haben, dass nicht genügend Pflanzenmaterial vorhanden war, um einen

adäquaten Verbrauch der einzelnen Kohlenstoffquellen zu gewährleisten. Auch der zusätzliche Eintrag von Stickstoff mit dem organischen Dünger könnte den mikrobiellen Abbau aller verfügbaren Kohlenstoffquellen unterstützt haben.

Die mittleren Verweilzeiten der PLFA des ungedüngten und mineralisch gedüngten C4-Bodens unterscheiden sich nicht voneinander. Jedoch konnte bei beiden Böden eine signifikant größere Differenz der ^{13}C -Gehalte, und somit geringere mittlere Verweilzeiten, für ungesättigte PLFA gegenüber gesättigten PLFA festgestellt werden (Tabelle 12). Dies bestätigt erneut unterschiedlich bevorzugte Kohlenstoffquellen der Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien. Aufgrund der zusätzlichen Markierung durch organischen Dünger konnten keine Verweilzeiten für PLFA des organisch gedüngten Bodens berechnet werden.

Tabelle 12: ^{13}C -Differenzen und mittlere Verweilzeiten (in Klammern) der PLFA bei verschiedenen Mengen an eingetragenem Pflanzenmaterial.

Düngung	C4-PLFA [‰] (MRT [a])	C4-PLFA [‰] gesättigt (MRT [a])	C4-PLFA [‰] ungesättigt (MRT [a])
ungedüngt	9,1 ± 3,0 (67)	9,1 ± 3,2 (71)	9,5 ± 1,9 (50)
mineralisch	8,8 ± 2,3 (63)	8,4 ± 2,3 (69)	9,8 ± 1,9 (46)
organisch	6,8 ± 2,0	6,9 ± 1,8	7,6 ± 1,4

Die Erhöhung der Menge an eingetragenem Pflanzenmaterial hat somit keinen, oder nur geringen Einfluss auf mikrobielle Kohlenstoffquellen und mittlere Verweilzeiten des Kohlenstoffs im Boden. Zusätzliche Kohlenstoffeinträge, wie z. B. Stallmist als organischer Dünger, können dagegen sehr große Auswirkungen darauf haben.

3.4.4.5 **Abhängigkeit der ^{13}C -Isotopengehalte der Phospholipidfettsäuren von Standortfaktoren und Menge an eingetragenen Pflanzenmaterial**

Um den Einfluss von Standortfaktoren und den Eintrag verschiedener Mengen an Pflanzenmaterial auf die ^{13}C -Gehalte der PLFA zu untersuchen, wurde für die PLFA aller C3-Böden und aller C4-Böden je eine Hauptkomponentenanalyse mit den entsprechenden ^{13}C -Gehalten der PLFA durchgeführt. Dabei konnte zunächst eine Gruppierung der Profilproben des Standortes Rotthalmünster, eine Gruppierung der Profilproben des Standortes Halle sowie eine Gruppierung der Proben verschiedener Düngungsvarianten des Standortes Halle beobachtet werden (Abbildung 44; Abbildung 45).

Bei den Profilproben der C3-Böden des Standortes Rotthalmünster (RWN-35; RWN-45 und RWN-65) unterscheiden sich die ^{13}C -Gehalte der PLFA der Probe in 0-35 cm Bodentiefe erheblich von den ^{13}C -Gehalten der Probe in 35-45 cm, jedoch weniger von denen der Probe in 45-65 cm Bodentiefe. Der gleiche Trend konnte an den ^{13}C -Gehalten der PLFA des Standortes Halle (HRU-20; HRU-40; HRU-60) festgestellt werden (Abbildung 44). Infolge des langjährigen Einflusses der C3-Monokultur für die drei Profilproben beider Standorte wurden ähnliche ^{13}C -Gehalte erwartet. Die Abweichung der ^{13}C -Gehalte der beiden Proben in 35-45 cm (RWN-45) und 20-40 cm (HRU-40) von den beiden anderen Profilproben konnte nicht erklärt werden.

Die ^{13}C -Gehalte der PLFA der Bodenproben der verschiedenen Düngungsvarianten (HRU-25; HRN-25; HRO-25) sind bei der ungedüngten und der mineralisch gedüngten Variante sehr ähnlich. Die ^{13}C -Gehalte der PLFA der organisch gedüngten Variante unterscheiden sich jedoch von denen der beiden ersteren (Abbildung 44). Die Ursache für diesen Unterschied ist die Art und Menge des in den Boden eingetragenen Pflanzenmaterials. In die ungedüngten Böden wird, aufgrund geringerer Pflanzenproduktion, weniger Pflanzenmaterial eingetragen als bei mineralisch gedüngten Böden, die Art des Eintrags ist jedoch gleich. In die organisch gedüngten Böden wird neben dem Pflanzenmaterial zusätzlich Stallmist als organischer Dünger eingetragen. Dies hat zur Folge, dass die ^{13}C -Gehalte der PLFA der C4-Böden der ungedüngten und mineralisch gedüngten Variante sehr ähnlich sind. Die ^{13}C -Gehalte der PLFA der organisch gedüngten Variante unterscheiden sich dagegen deutlich von denen der beiden anders gedüngten Böden (Abbildung 45).

Der organische Dünger enthält C3-Stroh, was einen Einfluss auf die ^{13}C -Gehalte der PLFA des organisch gedüngten C4-Bodens hat. Jedoch kann dies nicht der Grund für den Unterschied der ^{13}C -Gehalte dieses Bodens und der beiden anders gedüngten Böden sein, weil

3.4.5 ^{14}C -Gehalte mikrobieller Biomasse

Durch ^{13}C -Analysen an Phospholipidfettsäuren (PLFA) und den daraus berechneten mittleren Verweilzeiten für PLFA wurde die Möglichkeit der biologischen Wiederverwertung von Kohlenstoff im Boden als Form der Kohlenstoffstabilisierung angedeutet. Um dies detaillierter zu untersuchen wurden die ^{14}C -Gehalte organischer Bodensubstanz (OBS), der Fraktionen von Bodenlipiden und Phospholipiden sowie ausgewählter einzelner PLFA durchgeführt.

Die OBS der Böden des Standortes Halle enthält durch den Eintrag an fossilem Kohlenstoff niedrigere ^{14}C -Gehalte (-474 ‰, C4-OBS; -445 ‰, C3-OBS) als die OBS der Böden des Standortes Rotthalmünster (55 ‰, C4-OBS; 35 ‰, C3-OBS). Es zeigte sich, dass neben der OBS auch die Bodenlipid- und Phospholipidfraktionen der Böden des Standortes Halle durch fossilen Kohlenstoff beeinflusst sind. Der ^{14}C -Gehalt der Phospholipidfraktion des Bodens von Halle liegt bei -426 ‰, der ^{14}C -Gehalt dieser Fraktion des Bodens von Rotthalmünster dagegen bei 62 ‰. Der ^{14}C -Gehalt dieser Fraktion des Standortes Halle würde dabei einem Alter von ca. 4400 Jahren entsprechen, während diese Fraktion des Standortes Rotthalmünster nahezu rezent ist. Damit deuten auch die ^{14}C -Gehalte an, dass Bodenmikroorganismen am Standort Halle den fossilen Kohlenstoff als Kohlenstoffquelle nutzen und in ihre Zellmembranen einbauen (Abbildung 46) (Rethemeyer *et al.*, 2004a).

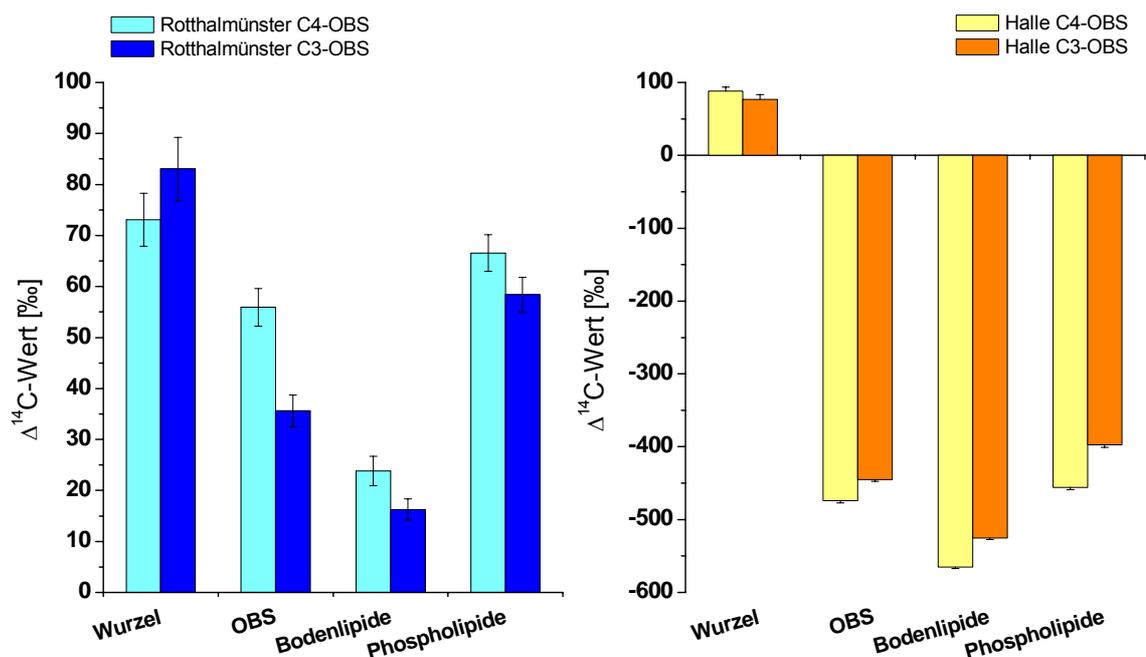


Abbildung 46: ^{14}C -Gehalte von Wurzeln, OBS, Bodenlipiden und Phospholipiden.

Die ^{14}C -Gehalte der C4-OBS, der C4-Bodenlipide und der C4-Phospholipide der Böden in Rotthalmünster sind höher als die ^{14}C -Gehalte der entsprechenden C3-Fractionen. Am Standort Halle dagegen weisen die C3-Fractionen höhere ^{14}C -Gehalte auf als die C4-Fractionen. Die Ursache dafür sind die unterschiedlichen Mengen an eingetragendem C3- bzw. C4-Pflanzenmaterial, mit hohen ^{14}C -Gehalten. Die Pflanzen beider Standorte repräsentieren mit einem $\Delta^{14}\text{C}$ -Wert von ca. 80 ‰ erwartungsgemäß den ^{14}C -Gehalt der Atmosphäre von 73 ‰. Die Differenzen zwischen C3- und C4-Wurzeln liegen im Bereich der Standardabweichungen und sind durch die Messungenauigkeit des Analysenverfahrens bedingt (Abbildung 46).

Um die bereits angedeutete mikrobielle Nutzung fossiler Kohlenstoffquellen zu beweisen, ist es nötig, ^{14}C -Gehalte molekularer Bestandteile mikrobieller Biomasse zu bestimmen. Dazu sollen einzelne PLFA präparativ isoliert und der substanzspezifischen Bestimmung der ^{14}C -Gehalte durch Beschleunigermassenspektrometrie (AMS) zugeführt werden.

3.4.5.1 Methodenüberprüfung zur substanzspezifischen ^{14}C -Analyse

Für die substanzspezifische ^{14}C -Analyse wurde zunächst eine isotopeneffektfreie Methode zur Isolierung der PLFA aus komplexen Gemischen und eine Methode zur Probenaufarbeitung kleinster Probenmengen ($\approx 100 \mu\text{g}$) bis zur AMS- Analyse entwickelt.

$\Delta^{14}\text{C}$ -Werte bei unterschiedlichen Probenmengen

Um die ^{14}C -Gehalte von Einzelsubstanzen bestimmen zu können, müssen diese zunächst aus komplexen Substanzgemischen präparativ isoliert werden. Die übliche Probenmenge für diese Analysen liegt bei ca. 1 mg Probenmaterial, welches direkt verbrannt und zu Graphit reduziert wird. Für die substanzspezifische Bestimmung der ^{14}C -Gehalte können diese Probenmengen durch Isolierung einer einzelnen Substanz jedoch nicht gewonnen werden. Hier arbeitet man mit kleinsten Probenmengen von ca. 100 μg . Die isolierten Substanzen liegen zunächst gelöst vor und müssen quantitativ in Probengefäße pipettiert werden. Danach wird das Lösungsmittel im Stickstoffstrom entfernt. Die für 1 mg Probenmaterial optimierte Probenaufarbeitung kann für Proben im μg -Bereich nicht angewendet werden, sie muss erst an diese kleinsten Probenmengen angepasst werden. Diese Anpassung erfolgte in enger Zusammenarbeit mit J. Rethemeyer und P.M. Grootes vom Leibniz-Labor für Altersbestimmung und Isotopenforschung in Kiel. Nicht nur die kleinsten Probenmengen von

ca. 100 µg stellten eine Herausforderung bei der Probenvorbereitung dar, sondern auch das Vorliegen der Proben in gelöster Form. Deshalb sollte zunächst neben dem Einfluss verschiedener Probenmengen auch der Einfluss gelöster Proben im Vergleich zu Festsubstanzen auf den $\Delta^{14}\text{C}$ -Wert untersucht werden. Dazu wurden die ^{14}C -Gehalte von Fettsäuremethylestern (FAME) als Standardsubstanzen in Festsubstanz (400 µg) sowie in unterschiedlichen Probenmengen in gelöster Form (100 µg und 200 µg) bestimmt. Es wurden FAME's der Kettenlänge C12, C18 und C28 verwendet. Die gelösten Substanzen lagen in Dichlormethan vor. Die Probenvorbereitung dieser Proben wurde am Leibniz-Labor durchgeführt. Dabei wurde die 400 µg Probe, die als Festsubstanz vorlag, nach der Methode für Proben im mg-Bereich vorbereitet (s. 2.3.3). Die beiden gelösten Proben wurden nach der neu entwickelten Methode für Proben im 100 µg-Bereich vorbereitet (s. 2.6.2).

Es konnten kein Konzentrationseffekt sowie kein Unterschied im ^{14}C -Gehalt fester und gelöster Substanzen festgestellt werden (Abbildung 47). Die Standardabweichungen der Mittelwerte der $\Delta^{14}\text{C}$ -Gehalte von 400 µg Festsubstanz, 100 µg und 200 µg gelöst liegen für die FAME C12 bei 19 ‰, für C18 bei 26 ‰ und für C28 bei 11 ‰. Für ^{14}C -Analysen im µg-Bereich sind diese Abweichungen ein sehr gutes Ergebnis. Somit können auch kleinste Probenmengen zuverlässig direkt vorbereitet und deren ^{14}C -Gehalte bestimmt werden.

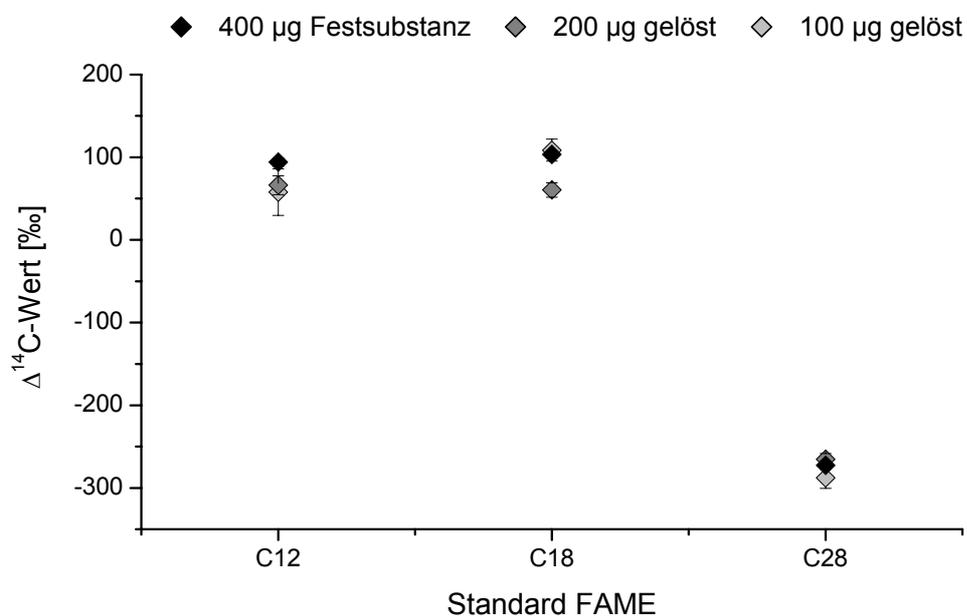


Abbildung 47: ^{14}C -Gehalte der Standardfettsäuremethylester C12, C18 und C28 in gelöster und fester Form sowie in unterschiedlichen Probenmengen.

Zusätzliche Versuche zur Messung der ^{14}C -Gehalte kleinster Probenmengen durch AMS wurden am Leibniz-Labor in Kiel durchgeführt.

Ermittlung geeigneter Temperaturen der Kühlfallen

Um die gewünschten Einzelsubstanzen aus einer Probe und damit aus dem Gasstrom des Gaschromatographen quantitativ isolieren zu können, muss zunächst die optimale Temperatur der Kühlfalle für die einzelnen Substanzen ermittelt werden. Dazu wurden die drei Standardfettsäuremethylester C12, C18 und C28 präparativ isoliert und die Ausbeute in Abhängigkeit von der Temperatur der Kühlfalle bestimmt. Dabei stellt C12 ein Beispiel kurzkettiger, leicht flüchtiger FAME dar, C18 ist ein Vertreter mittlerer Kettenlänge und schwerer flüchtig während C28 einen Vertreter schwerflüchtiger langkettiger FAME darstellt. Damit decken diese drei Standardsubstanzen den gesamten Bereich potentiell isolierbarer FAME's ab. Durch diese Versuchsreihe konnte festgestellt werden, dass langkettige FAME's um C28 am besten bei +45°C und FAME der Kettenlänge C12 bis C18 am besten bei -10°C zu isolieren sind (Abbildung 48).

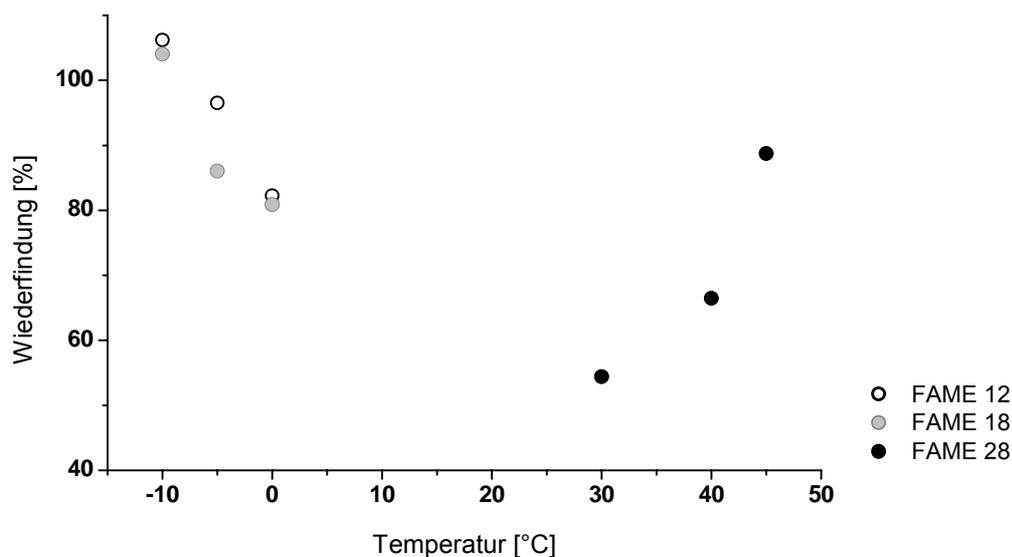


Abbildung 48: Ermittlung geeigneter Temperaturen zur präparativen Isolierung von Fettsäuremethylestern der Kettenlängen C12 bis C28.

Die isolierten FAME wurden mit Dichlormethan aus den Komponentenfallen gelöst und quantitativ in GC-Vials überführt. Anschließend wurden sie an einer Kopplung eines Gaschromatographen mit einem Atomemissionsdetektor (GC-AED) gemessen, um die Reinheit der isolierten Substanzen sicherzustellen und deren Ausbeute zu bestimmen.

Mögliche Kontamination des Probenmaterials

Während der Probenaufarbeitung und während der Isolierung gibt es vielfältige Quellen für mögliche Verunreinigungen, z.B. durch die verwendeten Lösungsmittel, bei der Probenvorbereitung oder durch das Trennsäulenmaterial (Säulenbluten) während der gaschromatographischen Trennung. Deshalb wurden zunächst die ^{14}C -Gehalte der verwendeten Lösungsmittel n-Hexan, Chloroform, Dichlormethan, Ethylacetat und Methanol gemessen. Diese liegen im Mittel bei $-996,7 \pm 1,2 \text{ ‰}$. Der ^{14}C -Gehalt einer Probe, deren ^{14}C -Gehalt nahe null ist, würde dagegen ca. -1000 ‰ betragen. Damit können Kontaminationen durch junge, ^{14}C -reiche Substanzen aus den verwendeten Lösungsmitteln ausgeschlossen werden.

Um mögliche Verunreinigungen durch das Trennmaterial der GC-Säule zu detektieren, wurde der Säulenhintergrund präparativ gesammelt und dessen ^{14}C -Gehalt bestimmt. Die gemessenen $\Delta^{14}\text{C}$ -Werte liegen bei $-996,1 \pm 0,2 \text{ ‰}$. Mögliche Verunreinigungen mit jungem, ^{14}C -reichem Material durch das Trennsäulenmaterial können somit ebenfalls ausgeschlossen werden. Um eine mögliche Kontamination mit altem, ^{14}C -armem Material zu überprüfen wurde die ^{14}C -junge FAME C12 ($\Delta^{14}\text{C} = +83 \text{ ‰}$) präparativ isoliert und ihr ^{14}C -Gehalt bestimmt. Der gemessene ^{14}C -Gehalt nach der Isolierung betrug 25 ‰ . Eine Kontamination mit ^{14}C -armem Material kann somit ebenfalls ausgeschlossen werden, denn der Messwert wäre beim Auftreten einer derartigen Kontamination wesentlich negativer, etwa zwischen -900 ‰ und -1000 ‰ . Bei der Probenvorbereitung treten somit keine Kontaminationen auf. Dennoch besteht vor allem bei jungen, ^{14}C -reichen, Proben immer die Gefahr der Kontamination mit ^{14}C -armem Material und bei ^{14}C -armen Proben die Kontaminationsgefahr mit ^{14}C -jungem Material.

Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Bestimmung der ^{14}C -Gehalte

Um auf mögliche Isotopenfraktionierungen während der präparativen Isolierung zu überprüfen, wurden die Standardfettsäuremethylester C12, C18 und C28 aus einer Mischung isoliert und deren ^{13}C bzw. ^{14}C -Gehalte vor und nach der Isolierung gemessen. Dabei zeigte sich, dass weder für ^{13}C ($R^2 = 0,94$) noch für ^{14}C ($R^2 = 0,98$) eine Isotopenfraktionierung auftritt (Abbildung 49).

Zusätzlich wurden bei jeder Isolierungskampagne die FAME C12 und C18 isoliert und deren ^{14}C -Gehalte bestimmt, um so den Zustand des Gerätes und die Probenaufarbeitung

kontrollieren zu können (Abbildung 50). Die vorhandenen Abweichungen zwischen den einzelnen Isolierungen sind nur geringfügig und liegen im Bereich der Standardabweichungen (C12 $77,4 \pm 13,4$ ‰; C18 $70,9 \pm 8,9$ ‰). Die starke Abweichung der FAME C12 im August 2002 vom Sollwert wurde wahrscheinlich durch eine Isotopenfraktionierung bei der Einengung gelöster Proben oder durch Kontamination verursacht. Außer bei der Isolierung bzw. Aufarbeitung dieser Substanz im August 2002 traten bei der präparativen Isolierung und bei der Probenvorbereitung der Standardsubstanzen weder Isotopenfraktionierungen noch Kontaminationen des Probenmaterials auf (Abbildung 49, Abbildung 50). Diese Versuche bestätigen zusätzlich, dass keine Kontamination während der Probenaufbereitung auftritt.

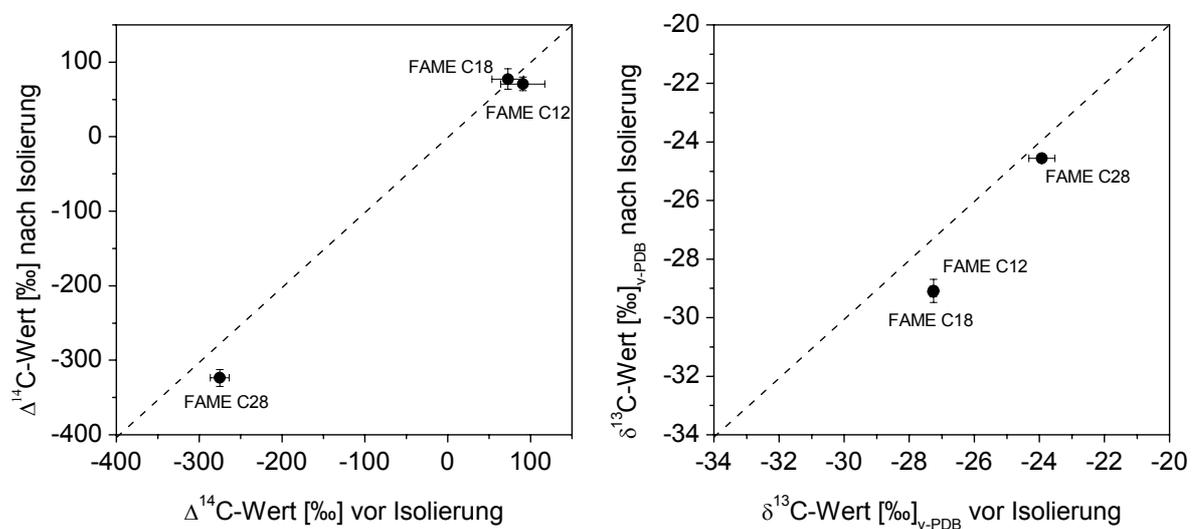


Abbildung 49: ^{14}C - und ^{13}C -Gehalte der FAME C12 und C18 vor und nach der präparativen Isolierung.

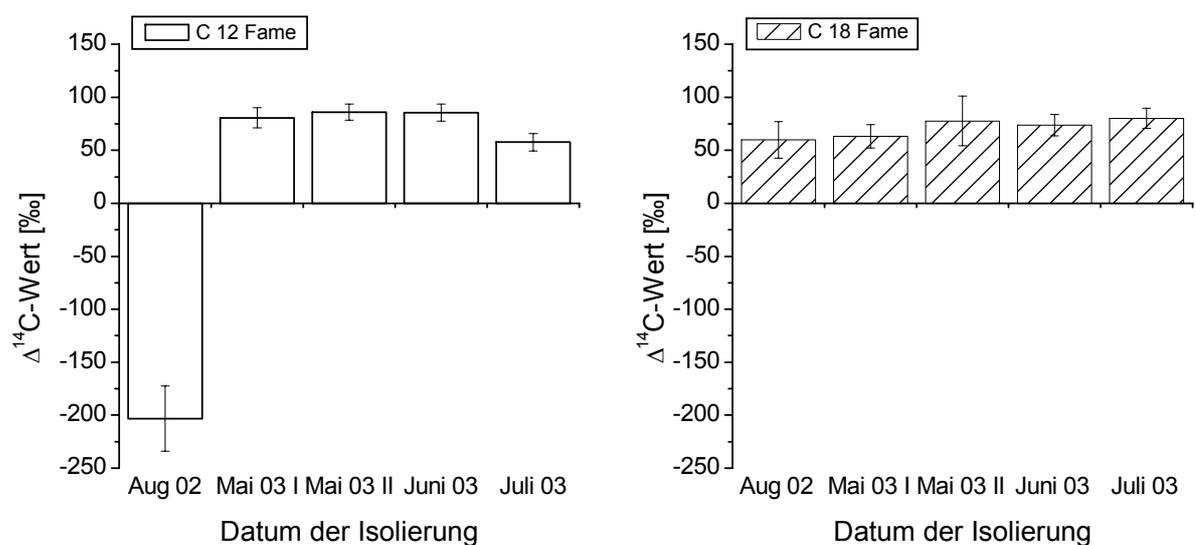


Abbildung 50: ^{14}C -Gehalte der FAME C12 und C18 bei unterschiedlichen Isolierungskampagnen.

Es konnte gezeigt werden, dass die präparative Gaschromatographie eine geeignete isotopeneffektfreie Methode zur Isolierung einzelner Substanzen für die Bestimmung substanzspezifischer ^{14}C -Gehalte ist. Die Aufbereitung kleinster Probenmengen sowie die ^{14}C -Bestimmung der präparierten Proben in der Größenordnung von 100 μg sind mit sehr guter Präzision möglich.

Nach erfolgreichem Abschluss der Methodenevaluierung zur präparativen Isolierung und Aufarbeitung von ca. 100 μg Probenmenge konnten einzelne Phospholipidfettsäuren aus komplexen Substanzgemischen isoliert werden. Zuvor wurden die Lipidfraktionen in die Teilfraktionen der gesättigten und ungesättigten PLFA getrennt, um mögliche Peaküberlagerungen zu verhindern, die durch unzureichende gaschromatographische Trennung auftreten können (Abbildung 51). Bei der präparativen Isolierung wurden die PLFA's 15:0 iso und 15:0 anteiso, sowie die verschiedenen Isomere der einfach ungesättigten PLFA's 16:1, 17:1 und 18:1 jeweils gemeinsam gesammelt, da keine ausreichende gaschromatographische Trennung der einzelnen Substanzen erreicht werden konnte.

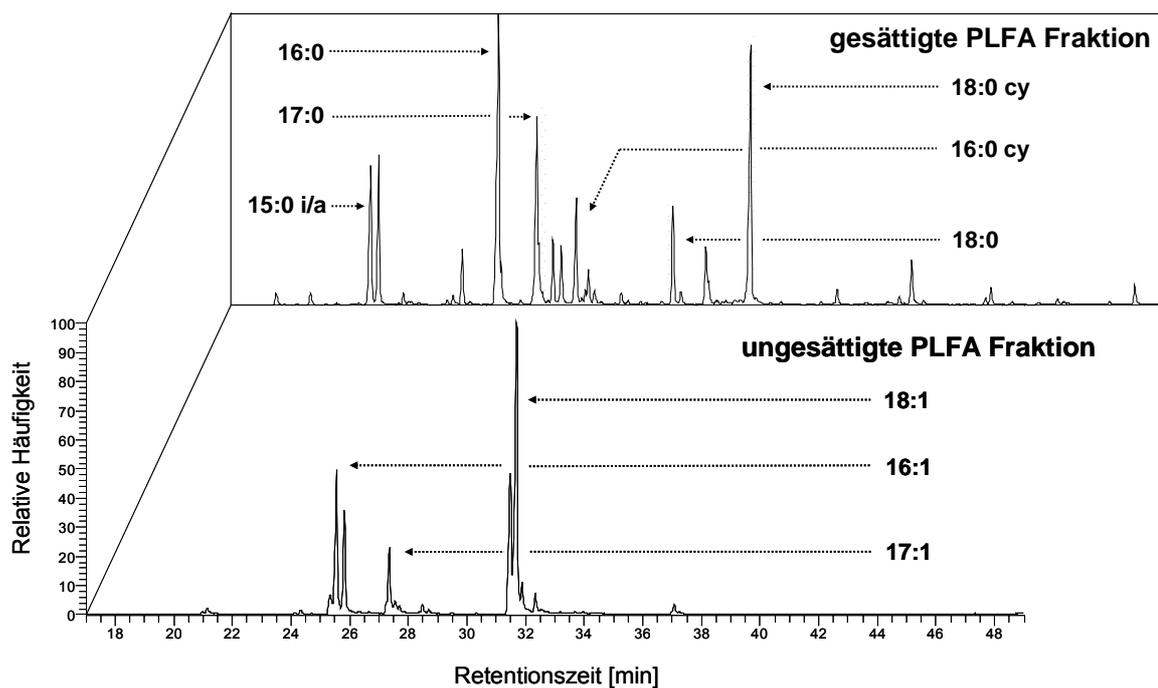


Abbildung 51: PLFA-Fractionen und präparativ daraus isolierte PLFA.

Es konnten aus den Ap-Horizonten der NPK gedüngten C3- und C4-Böden der Standorte Halle und Rotthalmünster, sowie aus Profilproben in 35-45 cm Bodentiefe des Standortes Rotthalmünster die PLFA 15:0 iso / anteiso; 16:0 n; 17:0 br; 16:0 cyclo (cy); 18:0 n; 18:0 cyclo (cy) sowie die ungesättigten PLFA's 16:1; 17:1 und 18:1 isoliert werden.

3.4.5.2 Einfluss der Bodentiefe auf die ^{14}C -Gehalte mikrobieller Biomasse

Die ^{14}C -Gehalte der PLFA aus 0-35 cm Bodentiefe des Standortes Rotthalmünster liegen zwischen -33 ‰ und 128 ‰ und entsprechen damit einem Alter von 215 Jahren bis rezent. Dabei haben die einfach ungesättigten PLFA des C4-Bodens höhere ^{14}C -Gehalte (16:1=87 ‰; 17:1 = 107 ‰; 18:1 = 94 ‰) als die ungesättigten PLFA des C3 Bodens (16:1 = 78 ‰; 17:1 = -5 ‰; 18:1 = 82 ‰). Die gesättigten PLFA 15:0 i/a, 16:0 n, und 18:0 cy des C4-Bodens haben ebenfalls höhere ^{14}C -Gehalte als die PLFA des C3-Bodens. Betrachtet man jedoch die Standardabweichungen der Messwerte so sind die Unterschiede der PLFA aus C3- und C4-Böden nur für 17:1 und 16:0 cy gesichert. Die beiden PLFA 16:0 cy und 18:0 n haben deutlich geringere ^{14}C -Gehalte als die übrigen PLFA (16:0 cy = -33 ‰ (C4), 43 ‰ (C3); 18:0 n = 23 ‰ (C4), 38 ‰ (C3)) (Abbildung 52).

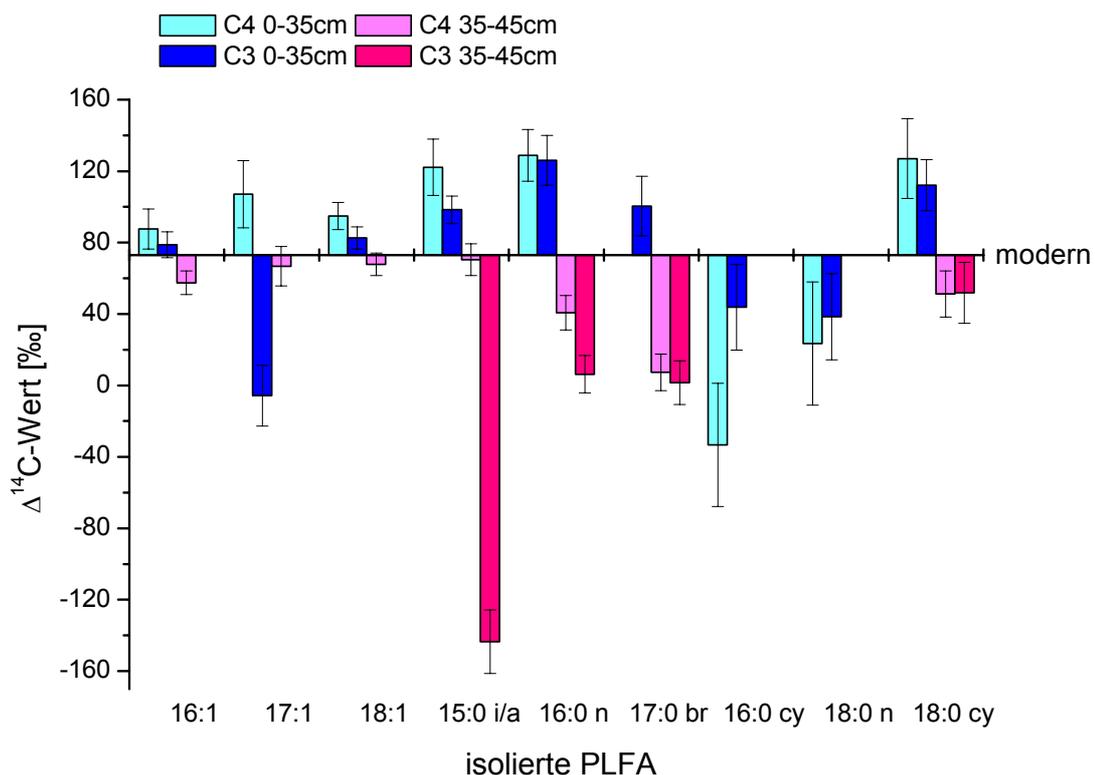


Abbildung 52: ^{14}C -Gehalte von PLFA aus verschiedenen Bodentiefen.

Aus Bodenproben in 35-45 cm Tiefe wurden die PLFA 16:1; 17:1; 18:1; 15:0 i/a; 16:0 n; 17:0 br und 18:0 cy isoliert. Dabei konnten die einfach ungesättigten PLFA nur aus dem C4-Boden isoliert werden. Es konnte festgestellt werden, dass die PLFA in 35-45 cm Bodentiefe, mit $\Delta^{14}\text{C}$ -Werten zwischen -143 ‰ und 11 ‰, stets niedrigere ^{14}C -Gehalte

aufweisen als die PLFA in 0-35 cm Bodentiefe (Abbildung 52). Die älteste PLFA ist dabei 15:0 i/a, mit einem Alter von ca. 1200 Jahren. Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit den ^{14}C -Gehalten der jeweiligen organischen Bodensubstanzen und den Lipid- bzw. Phospholipidfraktionen, bei denen mit zunehmender Bodentiefe auch geringere ^{14}C -Gehalte gemessen wurden, z.B. beträgt die C3-OBS in 0-35 cm = 35 ‰; die C3-OBS in 35-45 cm dagegen -109 ‰; C3-Lipidfraktion 0-35 cm = 16 ‰; C3-Lipidfraktion 35-45 cm = -74 ‰; C3 Phospholipidfraktion 0-35 cm = 58 ‰ und C3-Phospholipidfraktion 35-45 cm = -32 ‰. Die gleiche Tendenz konnte bei den OBS und entsprechenden Fraktionen der C4-Böden festgestellt werden (Abbildung 53).

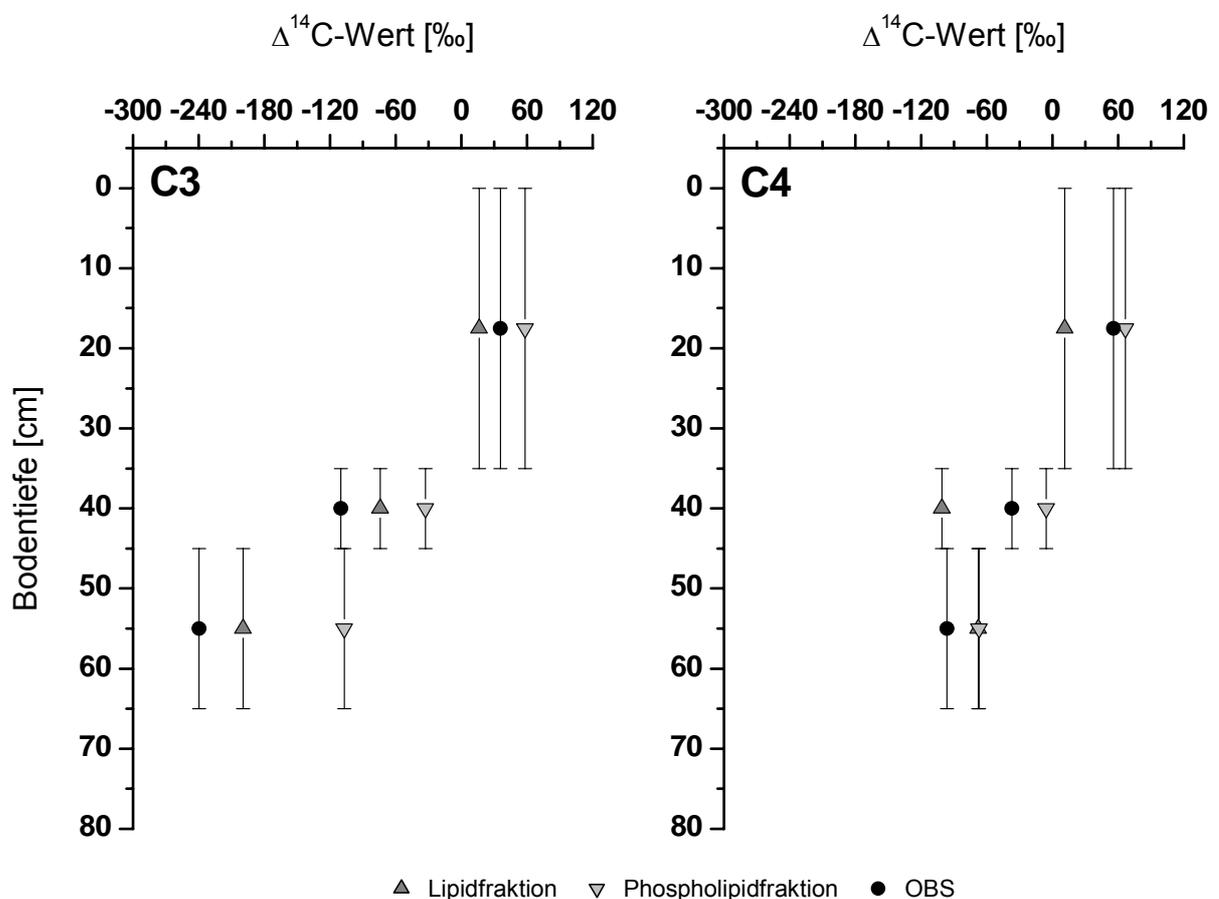


Abbildung 53: ^{14}C -Gehalte der organischen Bodensubstanz, der Lipidfraktion und der Phospholipidfraktion aus C3- und C4-Böden verschiedener Bodentiefen (Fehlerbalken der $\Delta^{14}\text{C}$ -Werte sind stets kleiner als die Symbole).

Weiterhin sind die ^{14}C -Gehalte der PLFA 15:0 i/a und 16:0 n des C4-Bodens deutlich höher (15:0 i/a = 70 ‰; 16:0 n = 40 ‰) als die ^{14}C -Gehalte dieser PLFA des C3-Bodens (15:0 i/a = -143 ‰; 16:0 n = 6 ‰). Die Ursache hierfür könnte die größere Menge an pflanzlichem Eintrag in den C4-Boden sein (0,46 kg C/m²), wodurch auch mehr ^{14}C -reiches Material bis in tiefere Bodenschichten gelangt und als mikrobielle Kohlenstoffquelle zur

Verfügung steht (C4-Phospholipidfraktion = -5 ‰). Der pflanzliche Eintrag in den C3-Boden ist mit $0,17 \text{ kg C/m}^2$ wesentlich geringer, wodurch weniger pflanzenbürtiges ^{14}C -reiches Material und folglich mehr organische Bodensubstanz als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt wird (C3-Phospholipidfraktion = -32 ‰) (Abbildung 53). Da die PLFA 17:0 br und 18:0 cy diese Differenzen zwischen C3- und C4-Boden nicht zeigen, müssten diese PLFA von Mikroorganismen stammen, die anstelle von Pflanzenmaterial andere Kohlenstoffquellen nutzen (Abbildung 52).

Die ungesättigten PLFA 16:1, 17:1 und 18:1 aus 35-45 cm Bodentiefe zeigten wie auch in 0-35 cm Tiefe höhere ^{14}C -Gehalte als die gesättigten PLFA (Abbildung 52). Da die ungesättigten PLFA charakteristisch für Gram-negative und gesättigte PLFA typisch für Gram-positive Bakterien sind, deuten sich unterschiedlich bevorzugte Kohlenstoffquellen der einzelnen Gruppen von Mikroorganismen an. Außerdem zeigen geringere ^{14}C -Gehalte der PLFA in 35-45 cm Bodentiefe, verglichen mit ^{14}C -Gehalten der PLFA in 0-35 cm Bodentiefe, längere Verweilzeiten der organischen Substanzen mikrobieller Biomasse an. Mikroorganismen, deren PLFA ^{14}C -Gehalte nahe am ^{14}C -Gehalt der Atmosphäre zeigen, nutzen als Kohlenstoffquelle vorwiegend ^{14}C -reiches Pflanzenmaterial. Liegen die ^{14}C -Gehalte ihrer PLFA dagegen deutlich unter dem ^{14}C -Gehalt der Atmosphäre (z.B. PLFA 16:0 cy mit -33 ‰ und 18:0 n mit 23 ‰ in 0-35 cm Bodentiefe) wird organische Bodensubstanz als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt.

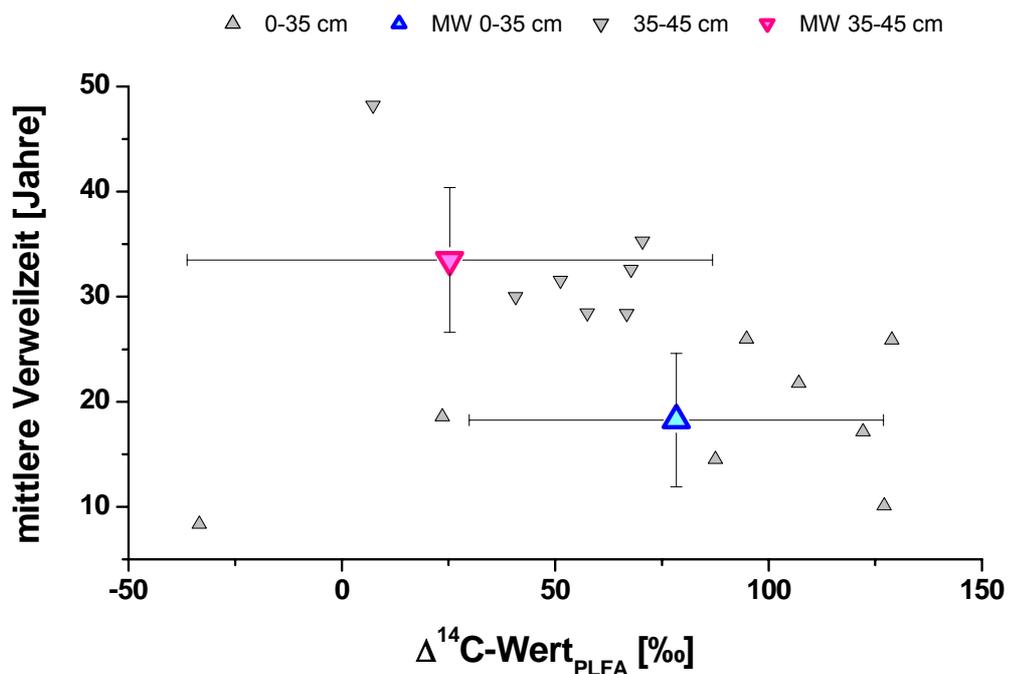


Abbildung 54: Gegenüberstellung von ^{14}C -Gehalten und mittleren Verweilzeiten der PLFA (MW: Mittelwert).

Anhand von PLFA verschiedener Bodentiefen konnte festgestellt werden, dass die ^{14}C -Gehalte mikrobieller Kohlenstoffquellen mit zunehmender Bodentiefe abnehmen, d.h. sie werden älter (Abbildung 54). Dies steht im Einklang mit den ^{14}C -Gehalten der OBS (Abbildung 53). Es wurde zum einen gezeigt, dass die organische Bodensubstanz mit zunehmender Bodentiefe eine wichtige mikrobielle Kohlenstoffquelle darstellt. Zum anderen wird durch die geringen ^{14}C -Gehalte der PLFA deutlich, dass die organische Bodensubstanz von der mikrobiellen Biomasse wiederverwertet wird. Würde die biologische Wiederverwertung nicht stattfinden, so wären die ^{14}C -Gehalte der PLFA auch in 35-45 cm Bodentiefe nahe dem atmosphärischen ^{14}C -Gehalt. Die mittleren Verweilzeiten der PLFA zeigen ebenfalls, dass die als mikrobielle Kohlenstoffquellen genutzten Substanzen in 0-35 cm Bodentiefe ca. 18 ± 6 Jahre dem Kohlenstoffkreislauf des Bodens erhalten bleiben und in 35-45 cm Bodentiefe ca. 33 ± 6 Jahre. Da die organische Bodensubstanz und auch die PLFA in 35-45 cm Bodentiefe geringere ^{14}C -Gehalte aufweisen als in 0-35 cm Bodentiefe und zudem auch die mittleren Verweilzeiten mit der Tiefe ansteigen, ist das biologische Recycling von Kohlenstoff als Form der Stabilisierung organischer Substanzen im Boden nachgewiesen (Abbildung 54).

3.4.5.3 ^{14}C -Gehalte mikrobieller Biomasse an unterschiedlichen Standorten

Für die Arbeiten an mikrobieller Biomasse standen zwei, in ihren ^{14}C -Gehalten gegensätzliche Böden zur Verfügung. Einmal die Böden des Standortes Rotthalmünster mit hohen ^{14}C -Gehalten ($\approx 45\%$) und die Böden des Standortes Halle mit sehr niedrigen ^{14}C -Gehalten (ca. -408%). Die Böden des Standortes Halle unterlagen dem langjährigen Eintrag von fossilem Kohlenstoff in Form von Braunkohlestaub und Rußpartikeln durch die umliegende Industrie im Raum Halle. Durch die ^{14}C -Gehalte der PLFA der Böden dieser beiden Standorte soll die Verfügbarkeit von fossilem Kohlenstoff als mikrobielle Kohlenstoffquelle untersucht werden.

Es konnten aus den NPK-gedüngten C3- und C4-Böden aus 0-25 cm Bodentiefe des Standortes Halle die PLFA 16:1; 17:1; 18:1; 15:0 i/a; 16:0 n; 17:0 br; 16:0 cy; 18:0 n und 18:0 cy isoliert werden. Zwischen den ^{14}C -Gehalten der PLFA des C3- und den PLFA des C4-Bodens konnten keine Unterschiede festgestellt werden (Abbildung 55). Von den PLFA des Standortes Halle weisen die ungesättigten PLFA höhere ^{14}C -Gehalte auf als die gesättigten PLFA. Dies zeigt, wie bei den PLFA des Standortes Rotthalmünster, verschiedene präferenzielle mikrobielle Kohlenstoffquellen Gram-negativer und Gram-positiver Bakterien

an. Durch die ^{14}C -Gehalte der ungesättigten PLFA, die näher am atmosphärischen ^{14}C -Gehalt von 73 ‰ liegen, wird die vorwiegende Nutzung von Pflanzenmaterial als mikrobielle Kohlenstoffquelle widerspiegelt. Dagegen zeigen die gesättigten PLFA 15:0 i/a; 16:0 n; 17:0 br und 18:0 cy mit niedrigeren ^{14}C -Gehalten die Nutzung von organischer Bodensubstanz und von fossilem Kohlenstoff als mikrobielle Kohlenstoffquelle an. Dies wird durch hohe ^{14}C -Gehalte dieser PLFA in 0-35 cm Bodentiefe am Standort Rotthalmünster unterstützt. Die PLFA 16:0 cy und 18:0 n weisen zwar auch niedrige ^{14}C -Gehalte auf, jedoch sind die ^{14}C -Gehalte dieser PLFA des Standortes Rotthalmünster ebenfalls gering. Deshalb kommt bei diesen PLFA fossiles Material als mikrobielle Kohlenstoffquelle nur in geringem Ausmaß in Frage. Vielmehr spiegeln diese beiden PLFA wahrscheinlich andere mikrobielle Kohlenstoffquellen wider, die unabhängig von Pflanzenmaterial und OBS sind (Abbildung 55).

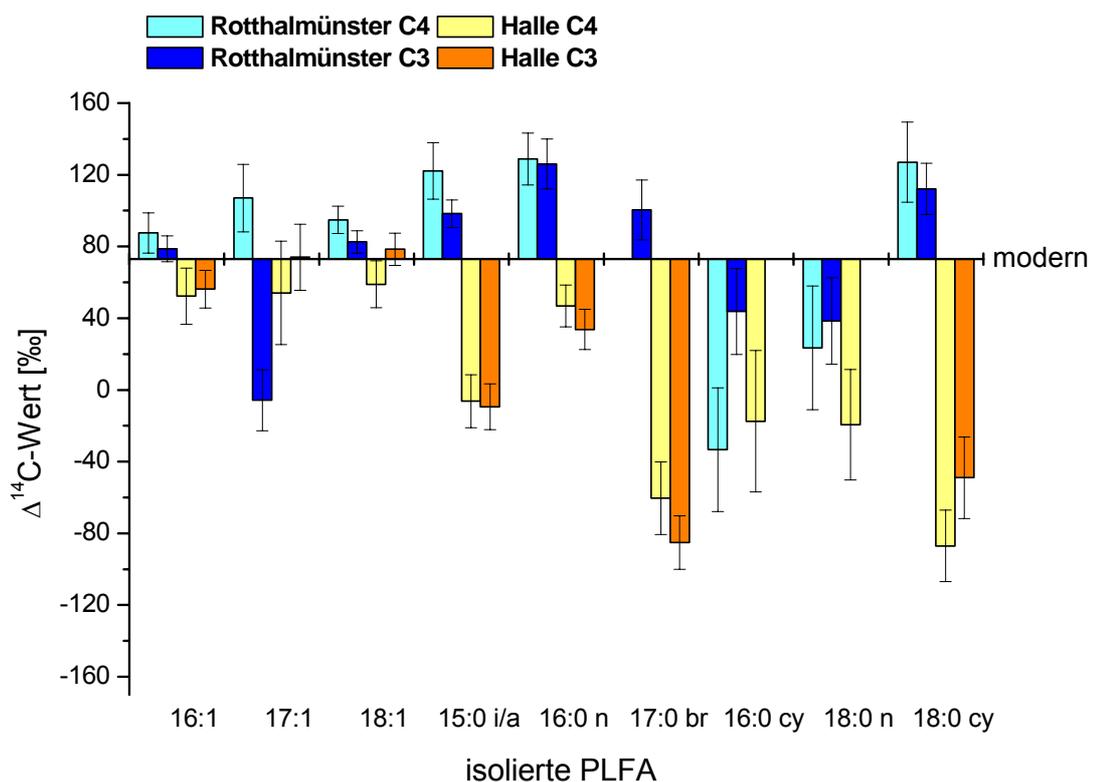


Abbildung 55: Vergleich der ^{14}C -Gehalte der PLFA aus Böden mit hohen und niedrigen ^{14}C -Gehalten der OBS.

Die mikrobielle Metabolisierung von fossilem Kohlenstoff am Standort Halle konnte nur durch den Vergleich substanzspezifischer ^{14}C -Daten von PLFA der beiden Standorte Halle und Rotthalmünster nachgewiesen werden (Abbildung 55). Allein mit ^{13}C -Analysen an PLFA wäre diese Erkenntnis nicht möglich gewesen. Die PLFA des Standortes Halle zeigten zudem höhere mittlere Verweilzeiten als die PLFA des Standortes Rotthalmünster, die den Einfluss

des fossilen Materials bestätigen (Abbildung 56). Aus Böden des Standorts Halle konnten unterschiedliche ^{14}C -Gehalte einzelner Partikel des fossilen Kohlenstoffs gemessen werden, die zwischen -930‰ (ca. 21 360 Jahre) und -786‰ (ca. 12 350 Jahre) variierten. Mit einem $\Delta^{14}\text{C}$ -Gehalt der OBS von -460‰ ist der Anteil des fossilen Kohlenstoffs am Anteil des organischen Kohlenstoffs in 0-20 cm Bodentiefe ca. 40 % (Rethemeyer *et al.*, 2004a). Die geringsten ^{14}C -Gehalte der PLFA der Böden aus Halle liegen bei -87‰ , was einem Alter von ca. 690 Jahren entspricht. Demzufolge werden bis zu 20 ‰ des fossilen Kohlenstoffs von Bodenmikroorganismen metabolisiert und als Kohlenstoffquelle genutzt. Das fossile Material ist somit nicht inert, es wird trotz guter Versorgung der Mikroorganismen mit frischem Pflanzenmaterial als Kohlenstoffquelle genutzt.

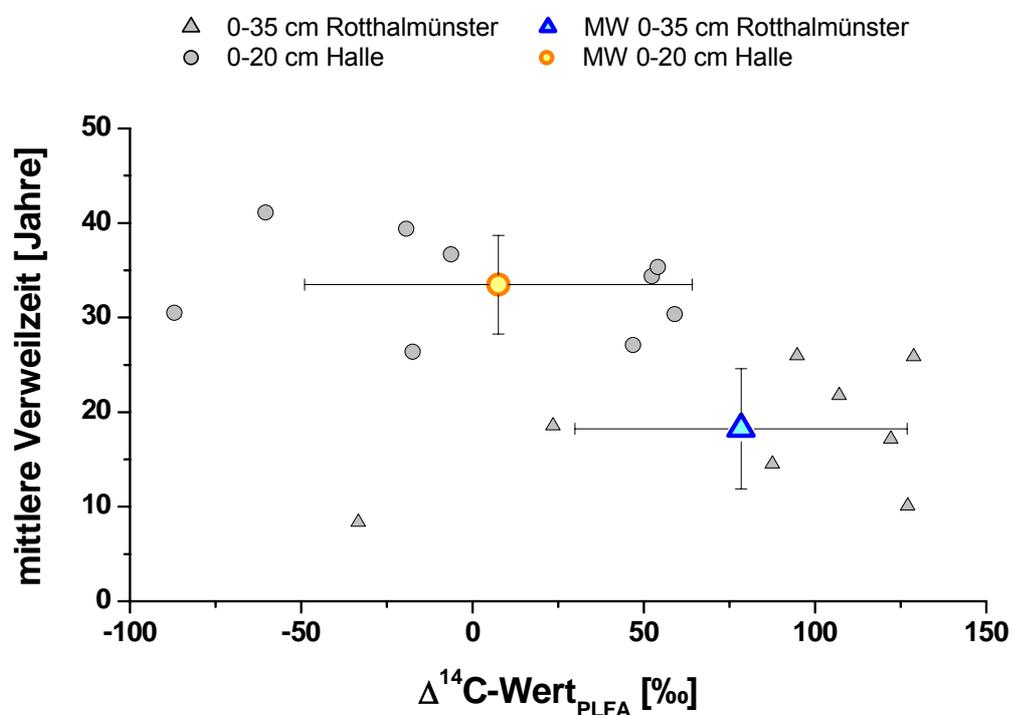


Abbildung 56: Gegenüberstellung der ^{14}C -Gehalte und mittleren Verweilzeiten der PLFA der Standorte Halle und Rotthalmünster (MW: Mittelwert).

Durch Untersuchungen in 0-35 cm und 35-45 cm Bodentiefe am Standort Rotthalmünster wurde die biologische Wiederverwertung als Form der Kohlenstoffstabilisierung in Böden bewiesen. Die ^{14}C -Gehalte der PLFA aus 0-25 cm Bodentiefe des Standortes Halle sind dabei vergleichbar mit den ^{14}C -Gehalten der PLFA aus 35-45 cm Bodentiefe des Standorts Rotthalmünster (Abbildung 54, Abbildung 56). Die Metabolisierung des fossilen Kohlenstoffs durch die Mikroorganismen am Standort Halle kann ebenfalls als biologische Wiederverwertung von Kohlenstoff im Boden angesehen werden.

3.4.6 Rückschlüsse aus Phospholipidfettsäuren zur Speicherung von organischem Kohlenstoff durch Mikroorganismen im Boden

In den analysierten Bodenproben konnten stets gleiche Muster an Phospholipidfettsäuren (PLFA) gefunden werden. Die Kettenlänge der PLFA lag zwischen 12 und 22, es kamen bevorzugt PLFA mit gerader Anzahl von Kohlenstoffatomen vor. Diese relativ kurzkettigen Fettsäuren sind charakteristisch für mikrobielle Biomasse (Paul & Clark, 1996; Zelles, 1999). Aufgrund der charakteristischen Struktur der einzelnen PLFA konnten sie so verschiedenen taxonomischen Gruppen von Mikroorganismen zugeordnet werden. Dabei wurden gesättigte PLFA den Gram-positiven Bakterien (Gram⁺) und einfach ungesättigte PLFA den Gram-negativen Bakterien (Gram⁻) zugeordnet (Zelles, 1999). Die PLFA-Muster der analysierten Pflanzenproben, die den pflanzlichen Eintrag in den Boden darstellen, unterscheiden sich deutlich vom PLFA-Muster der Böden. Jedoch spiegeln die Böden auch die PLFA des Pflanzenmaterials wider und zudem die Aktivität der mikrobiellen Biomasse. Obwohl in allen analysierten Bodenproben die gleichen PLFA-Muster gefunden wurden, konnten Unterschiede in der relativen Verteilung einzelner PLFA in den verschiedenen Bodenproben festgestellt werden. Aufgrund dieser Verteilungen gruppierten sich die Proben der jeweiligen Standorte. Somit waren die Proben des Standortes Rotthalmünster sehr ähnlich bezüglich der relativen Verteilung ihrer PLFA und trennten sich klar von den Proben des Standortes Halle ab. Ebenfalls konnten Unterschiede der PLFA-Verteilungen in verschiedenen Bodentiefen der beiden Standorte sowie unterschiedlich gedüngter Böden festgestellt werden. Damit sind die Unterschiede der PLFA-Verteilungen in den untersuchten Bodenproben auf Standortfaktoren wie Bodenart und Klima, aber auch auf die jeweils kultivierten Pflanzenarten, der Art und Menge des eingetragenen Pflanzenmaterials (Düngungsvariante) sowie Bodentiefe und das Jahr der Probenahme zurückzuführen. Jahreszeitlich bedingte Faktoren wie Nährstoffangebot, Feuchtigkeit und Temperatur haben einen erheblichen Einfluss auf die mikrobielle Biomasse und wirken sich stark auf die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften und somit auch auf die entsprechenden PLFA-Muster aus (Schutter *et al.*, 2001). Um diesem Einfluss zu umgehen, fanden die Entnahmen aller Bodenproben für diese Arbeit jeweils Anfang September der Jahre 2000, 2001 und 2002 vor dem Pflügen statt.

Durch substanzspezifische ¹³C-Isotopenanalyse an PLFA konnten verschiedene Kohlenstoffquellen von Mikroorganismen im Boden nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich,

dass nicht nur, wie zunächst erwartet, Pflanzenmaterial als Kohlenstoffquelle genutzt wird, sondern auch organische Bodensubstanz. Die ^{13}C -Gehalte der PLFA weisen bei mikrobieller Nutzung von Pflanzenmaterial den Isotopengehalt des Pflanzenmaterials auf und bei Nutzung organischer Bodensubstanz den Isotopengehalt der OBS. Durch die Zuordnung der einzelnen PLFA zu verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen konnten unterschiedliche Kohlenstoffquellen für Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien identifiziert werden. Dabei zeigte sich, dass Gram⁻-Bakterien vorwiegend Pflanzenmaterial als Kohlenstoffquelle nutzen, während Gram⁺-Bakterien hauptsächlich OBS nutzen. Als Maß für die Nutzung der entsprechenden Kohlenstoffquelle können die Differenzen der ^{13}C -Gehalte der PLFA des C3-Bodens und des C4-Bodens verwendet werden. Dabei sind die Differenzen groß, wenn vorwiegend Pflanzenmaterial als mikrobielle Kohlenstoffquelle genutzt wird und klein, wenn eher OBS genutzt wird. Weiterhin können die unterschiedlichen ^{13}C -Isotopensignaturen der PLFA des C3-Bodens und des C4-Bodens genutzt werden um mittlere Verweilzeiten (Umsatzraten) für die einzelnen PLFA zu berechnen. Die verschiedenen Kohlenstoffquellen für Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien konnten so durch Berechnung mittlerer Verweilzeiten bestätigt werden. Dabei lagen die mittleren Verweilzeiten aller PLFA bei ca. 40 Jahren. Für die PLFA der Gram⁺ Bakterien waren die mittleren Verweilzeiten in 0-20 cm ca. 40 Jahre, in 20-40 cm ebenfalls ca. 40 Jahre und in 40-60 cm Bodentiefe ca. 110 Jahre. Im Vergleich dazu, waren die mittleren Verweilzeiten der PLFA Gram⁻-Bakterien in 0-20 cm ca. 30 Jahre, in 20-40 cm auch ca. 30 Jahre und in 40-60 cm Bodentiefe ca. 70 Jahre. Damit unterscheiden sich diese beiden Bakteriengruppen bezüglich der genutzten Kohlenstoffquellen deutlich voneinander. Die hohen mittleren Verweilzeiten der PLFA, als Biomarker lebender mikrobieller Biomasse, stehen im Widerspruch zu den sehr kurzen Lebzeiten von Mikroorganismen. Jedoch können sie durch die Wiederverwertung organischer Bodensubstanz durch Mikroorganismen erklärt werden. Bezüglich der Stabilisierung von Kohlenstoff im Boden würde dies bedeuten, dass auf molekularer Basis eine Stabilisierung unwahrscheinlich ist. Auf Basis der biologischen Wiederverwertung der Strukturen organischer Bodensubstanz wäre ein „biologisches Recycling“ von Kohlenstoff im Boden möglich. Dadurch kommt der mikrobiellen Biomasse eine wichtige Bedeutung bei der Kohlenstoffstabilisierung im Boden zu. Mit zunehmender Bodentiefe nimmt die Nutzung von OBS als mikrobielle Kohlenstoffquelle zu, was sich wiederum auch in höheren mittleren Verweilzeiten der PLFA widerspiegelt. Dies ist eine Frage der Verfügbarkeit der entsprechenden Kohlenstoffquellen. Die Verfügbarkeit von Pflanzenmaterial nimmt mit zunehmender Bodentiefe ab, was zur Folge hat, dass entsprechend mehr organische Bodensubstanz als mikrobielle Kohlenstoffquelle verwendet

wird. Die verschiedenen mikrobiellen Kohlenstoffquellen für Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien konnten dabei auch in verschiedenen Bodentiefen nachgewiesen werden. Dabei behalten die unterschiedlichen Mikroorganismen unabhängig von der Bodentiefe ihre Kohlenstoffquellen bei, d.h. Mikroorganismen, die im Oberboden große bzw. kleine Differenzen ihrer ¹³C-Gehalte aufweisen, zeigen diese großen bzw. kleinen Differenzen, oder hohe und geringe mittlere Verweilzeiten, auch in tieferen Bodenschichten. Die Ursache dafür liegt in unterschiedlichen bevorzugten Kohlenstoffquellen für Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien. Danach bevorzugen Gram⁻-Bakterien hauptsächlich Pflanzenmaterial und Gram⁺-Bakterien dagegen vorwiegend organische Bodensubstanz als mikrobielle Kohlenstoffquelle. Die Ergebnisse zu verschiedenen Kohlenstoffquellen für Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien und zur biologischen Stabilisierung von Kohlenstoff im Boden konnten durch Isotopenanalysen von PLFA an Bodenproben eines weiteren Standortes (Rotthalmünster) bestätigt werden. Damit sind die Kohlenstoffquellen der Mikroorganismen unabhängig vom Standort, der kultivierten Pflanzen und der Düngung, denn vom Standort in Halle wurden auch ungedüngte Proben analysiert, während die Proben des Standortes Rotthalmünster mineralisch gedüngt waren.

Vergleichbare Beobachtungen aus der Literatur zu verschiedenen Kohlenstoffquellen mikrobieller Biomasse im Boden stehen bislang nicht zur Verfügung. Aber es gibt einige mikrobiologische Arbeiten zur Substratnutzung von Mikroorganismen in Laborexperimenten. Zum einen konnte in einem mit ¹³C-markiertem Toluol versetzten Boden festgestellt werden, dass nur 16 von insgesamt 59 im Bodenextrakt detektierten PLFA die Markierung trugen (Hanson *et al.*, 1999). Dagegen war bei Inkubation mit ¹³C-markierter Glukose die Mehrheit aller PLFA markiert. Dies zeigt bereits unterschiedliche Kohlenstoffquellen der Mikroorganismen im Boden. Am Beispiel dieser Substrate werden zusätzlich die unterschiedlichen Fähigkeiten der Mikroorganismen deutlich, auch komplexe Substrate zu erschließen. Weiterhin konnte anhand einzelner Kulturen von Mikroorganismen und dem Angebot von verschiedenen markierten Substraten festgestellt werden, dass jedes Substrat individuell metabolisiert wird (Abraham *et al.*, 1998). Dies führt zu einem weiten Bereich möglicher ¹³C-Isotopenverhältnisse in der mikrobiellen Biomasse und deutet die Komplexität von Bodenökosystemen mit vielen verschiedenen Substraten als mögliche mikrobielle Kohlenstoffquelle an.

Um die Stabilisierung von Kohlenstoff durch biologisches Recycling letztendlich zu beweisen, wurden an der organischen Bodensubstanz und substanzspezifisch an einzelnen PLFA die ¹⁴C-Gehalte bestimmt. Zum einen wurden die ¹⁴C-Gehalte der PLFA in

verschiedenen Bodentiefen des Standortes Rotthalmünster gemessen. Zum anderen wurden ^{14}C -Gehalte der PLFA des Standortes Halle bestimmt, der durch anthropogene Einträge von Braunkohlestaub und Rußpartikeln einen hohen Anteil an fossilem Kohlenstoff enthält. Am Standort Rotthalmünster sollte damit die Wiederverwertung von Kohlenstoff unter ungestörten Bedingungen untersucht werden, während am Standort Halle die mikrobielle Metabolisierung von fossilem Kohlenstoff, neben ausreichend verfügbaren anderen Kohlenstoffquellen wie Pflanzenmaterial, das Ziel der Untersuchungen war. Weiterhin sollte überprüft werden, ob PLFA, die aufgrund ihrer ^{13}C -Gehalte hohe mittlere Verweilzeiten haben, erwartungsgemäß auch niedrige ^{14}C -Gehalte aufweisen. Damit soll die Bestimmung von ^{14}C -Gehalten als Vergleich zur Bestimmung mittlerer Verweilzeiten angewendet werden. Bereits durch Messung der ^{14}C -Gehalte der Phospholipidfraktionen aus verschiedenen Bodentiefen des Standortes Rotthalmünster deutete sich die zunehmende Stabilisierung des organischen Kohlenstoffs durch Recycling an, denn die ^{14}C -Gehalte der Fraktionen nahmen mit zunehmender Bodentiefe ab. Hohe ^{14}C -Gehalte stehen dabei für junges, ^{14}C -reiches Material, niedrige ^{14}C -Gehalte dagegen für altes, ^{14}C -armes Material. Auch bei der substanzspezifischen Datierung an PLFA zeigte sich, dass die PLFA mit zunehmender Bodentiefe geringere ^{14}C -Gehalte aufweisen (0-35 cm 78,3 %; 35-45 cm 25,2 %). Zudem wurde festgestellt, dass gesättigte PLFA geringere ^{14}C -Gehalte aufwiesen als einfach ungesättigte PLFA. Dies stimmt überraschend gut mit den Ergebnissen der ^{13}C -Analysen an PLFA überein und bestätigt verschiedene Kohlenstoffquellen für Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien. Der Vergleich der ^{14}C -Gehalte von Phospholipidfraktionen der beiden Standorte Halle und Rotthalmünster deutete am Standort Halle bereits die mikrobielle Metabolisierung von anthropogen eingetragenen Braunkohlestäuben an. Die mikrobielle Nutzung von fossilem Kohlenstoff konnte auch an der Fraktion der mikrobiellen Biomasse braunkohlereicher Böden einer Bergbauregion angedeutet werden (Rumpel *et al.*, 2001). Doch erst durch substanzspezifische ^{14}C -Gehalte an PLFA aus Böden konnte letztendlich in der vorliegenden Arbeit bewiesen werden, dass fossiles schwer abbaubares Material neben anderen Kohlenstoffquellen mikrobiell metabolisiert werden kann. Dabei zeigte sich jedoch, dass nicht alle Mikroorganismen gleichermaßen in der Lage sind dieses Material als Substrat zu nutzen. Anhand ihres ^{14}C -Gehaltes lässt sich ableiten, dass Mikroorganismen der Böden von Halle bis zu 20 % des fossilen Materials als Kohlenstoffquelle nutzen. Fossiles Material als alleinige mikrobielle Kohlenstoffquelle konnte anhand der ^{14}C -Gehalte von PLFA von Mikroorganismen eines Verwitterungsprofils von Schwarzschiefern gezeigt werden (Petsch *et al.*, 2001).

Außerdem konnten die, durch ^{13}C -Analyse ermittelten, bevorzugten mikrobiellen Kohlenstoffquellen für Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien durch die substanzspezifischen ^{14}C -Analysen an PLFA bestätigt werden. Dabei zeigte sich erneut, dass Gram⁺-Bakterien in der Lage sind komplexe Substrate wie organische Bodensubstanz oder Braunkohlerückstände als mikrobielle Kohlenstoffquelle zu erschließen, während Gram⁻-Bakterien dazu weniger in der Lage sind und demzufolge auf leichter verwertbare Substrate wie Pflanzenmaterial beschränkt sind.

Die mikrobielle Biomasse im Boden ist nach diesen Erkenntnissen nicht nur entscheidend am Umsatz des eingetragenen Pflanzenmaterials beteiligt, sondern auch am Umsatz und der Wiederverwertung organischer Bodensubstanz. Durch Wiederverwertung organischer Bodensubstanz trägt die mikrobielle Biomasse so zur biologischen Stabilisierung von Kohlenstoff im Boden bei. Der organische Kohlenstoff ist dabei nicht durch Festlegung der Substanzen im Boden gespeichert, sondern befindet sich in einem aktiven, labilen Kohlenstoffpool. Molekulare Strukturen werden darin ständig umgebaut, um daraus biosynthetisch neue Moleküle herzustellen.

Das Ausmaß des „biologischen Recycling“ als Form der Kohlenstoffstabilisierung kann jedoch anhand der gewonnenen Erkenntnisse noch nicht gegenüber anderen Stabilisierungsmöglichkeiten abgeschätzt werden. Dazu müsste eine vollständige Quantifizierung des biologisch wiederverwerteten Kohlenstoffs und der genutzten Kohlenstoffquellen durchgeführt werden. Um die Erkenntnisse zur Nutzung verschiedener mikrobieller Kohlenstoffquellen Gram⁺- und Gram⁻-Bakterien zu erweitern, würden mikrobiologische Laborexperimente mit verschiedenen Kulturen von Mikroorganismen sowie verschiedenen Substraten wertvolle Informationen liefern.

4 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte die Dynamik des Kohlenstoffumsatzes im Boden im Hinblick einer möglichen Stabilisierung von organischem Kohlenstoff untersucht werden. Besonderes Interesse galt dabei dem Umsatz molekularer Bestandteile der organischen Bodensubstanz sowie der Funktion der mikrobiellen Biomasse.

Für diese Untersuchungen wurden Böden verwendet, die einem Vegetationswechsel von C3-Pflanzen mit $\delta^{13}\text{C} = -27\text{‰}$, zu C4-Pflanzen mit $\delta^{13}\text{C} = -14\text{‰}$ unterzogen wurden. Die Differenz der Isotopengehalte dieser Pflanzen von ca. 13 ‰ wird zur Markierung der organischen Bodensubstanz (OBS) genutzt, um zwischen neu eingetragenen, C4-bürtigen und bereits vorhandenem, C3-bürtigen Kohlenstoff unterscheiden zu können. Neben der Analyse des stabilen Kohlenstoffisotops ^{13}C wurden auch Analysen am radioaktiven Kohlenstoffisotop ^{14}C durchgeführt, um die Stabilität organischer Bodensubstanz direkt zu bestimmen.

Es zeigte sich, dass der Kohlenstoffumsatz im Boden primär von der Menge an eingetragenen Pflanzenrückständen in den Boden sowie von der verfügbaren Menge an Stickstoff abhängt. Der Umsatz des organischen Materials ist dabei umso höher, je höher die Menge an eingetragenen Pflanzenmaterial in den Boden ist. Deshalb nimmt die mittlere Verweilzeit organischer Substanzen im Boden mit steigendem Umsatz ab. Hohe mittlere Verweilzeiten der OBS von einigen hundert bis zu tausend Jahren deuten an, dass organischer Kohlenstoff über lange Zeit im Boden stabilisiert werden könnte.

Um festzustellen, welche Komponenten der OBS im Boden stabilisiert werden, wurden zunächst substanzspezifische Analysen an Pyrolyseprodukten (PyP) durchgeführt, die direkte Rückschlüsse auf ihre Herkunft zulassen. Dabei konnten einzelne Bestandteile der OBS identifiziert werden. In den Boden eingetragenes Pflanzenmaterial wird hauptsächlich durch lignin- und polysaccharidbürtige PyP repräsentiert. Dabei sind Furane und Furaldehyde typische PyP von Polysacchariden, während Methoxyphenole charakteristisch für Lignin sind. Stickstoffhaltige Substanzen wie Pyridine und Pyrrol stellen typische PyP der mikrobiellen Biomasse dar. Die mittleren Verweilzeiten von Ausgangsmaterialien der einzelnen PyP im Boden liegen hauptsächlich zwischen 50 und 100 Jahren und sind damit wesentlich niedriger als die mittleren Verweilzeiten der OBS als Gesamtfraktion mit 348 Jahren. Dies zeigt einerseits, dass die einzelnen Bestandteile der OBS nicht gleichermaßen pyrolysierbar sind

und spiegelt andererseits unbekannte Anteile der unterschiedlich schnellen Kohlenstoffpools in der OBS als Gesamtfraktion wider, die bei der Analyse als Mittelwert gemessen werden. Vor allem die PyP der mikrobiellen Biomasse, die mittlere Verweilzeiten von bis zu 100 Jahren für mikrobielle Biomasse andeuten, stehen im Widerspruch zum schnellen Transfer von Kohlenstoff im mikrobiellen Kohlenstoffpool. Mikroorganismen leben nur kurze Zeit, was ebenfalls den hohen mittleren Verweilzeiten ihrer Bestandteile widerspricht. Dieses Ergebnis ist jedoch ein Hinweis auf eine mögliche biologische Wiederverwertung von organischem Kohlenstoff im mikrobiellen Kohlenstoffpool des Bodens. Dabei werden bestehende molekulare Strukturen ständig im Boden umgebaut und ihre Molekülfragmente bzw. ihre atomaren Bestandteile zur Biosynthese neuer Strukturen genutzt. Der organische Kohlenstoff bleibt dabei dem Kohlenstoffkreislauf des Bodens über lange Zeit erhalten.

Um diese Hypothese zu beweisen, wurden Phospholipidfettsäuren (PLFA) als Biomarker der mikrobiellen Biomasse analysiert. Auf diese Weise konnten verschiedene mikrobielle Kohlenstoffquellen identifiziert werden. Zum einen wird frisches Pflanzenmaterial, zum anderen OBS und außerdem eine Mischung aus beiden zum Aufbau der mikrobiellen Biomasse genutzt. Mit zunehmender Bodentiefe konnte die vermehrte Nutzung von OBS festgestellt werden. Dies steht im Einklang mit der abnehmenden Verfügbarkeit an pflanzlichem Material mit zunehmender Bodentiefe. Dabei konnten erstmalig für Gram-positive (Gram⁺) und Gram-negative (Gram⁻) Bakterien unterschiedliche Kohlenstoffquellen identifiziert werden. Während Gram⁻-Bakterien vorwiegend Pflanzenmaterial als Kohlenstoffquelle nutzen, wird von Gram⁺-Bakterien auch OBS zum Aufbau der Biomasse genutzt. Die mittleren Verweilzeiten aller PLFA in 0-20 cm Bodentiefe liegen bei ca. 40 Jahren. Für die PLFA der Gram⁺-Bakterien konnten entsprechend der genutzten Kohlenstoffquellen höhere mittlere Verweilzeiten als für Gram⁻-Bakterien ermittelt werden. So waren die mittleren Verweilzeiten für die PLFA der Gram⁺-Bakterien in 0-20 cm Bodentiefe 40 Jahre, in 20-40 cm 42 Jahre und in 40-60 cm Bodentiefe 110 Jahre. Im Vergleich dazu, waren die mittleren Verweilzeiten der PLFA Gram⁻-Bakterien in 0-20 cm 32 Jahre, in 20-40 cm ebenfalls 32 Jahre und in 40-60 cm Bodentiefe 69 Jahre. Damit werden die bevorzugten Kohlenstoffquellen dieser beiden Gruppen von Mikroorganismen unabhängig von der Bodentiefe beibehalten.

Mit Analyse der ¹⁴C-Gehalte an ausgewählten PLFA konnten erstmals substanzspezifische ¹⁴C-Daten an Komponenten terrestrischer Ökosysteme erhoben werden. Dabei zeigte sich, dass PLFA mit hohen mittleren Verweilzeiten im Boden auch geringe ¹⁴C-Gehalte aufweisen und somit alt sind. Durch den Vergleich von zwei gegensätzlichen

Standorten, einem mit hohen ^{14}C -Gehalten der OBS (45 ‰) und einem mit sehr niedrigen ^{14}C -Gehalten der OBS (-459 ‰), konnte durch die substanzspezifische ^{14}C -Analyse an PLFA die mikrobielle Nutzung von fossilem Kohlenstoff eindeutig nachgewiesen werden. Am Standort mit hohen ^{14}C -Gehalten der OBS liegen die ^{14}C -Gehalte der PLFA im Mittel bei 78 ‰, während sie am Standort mit niedrigen ^{14}C -Gehalten der OBS bei nur 7,5 ‰ liegen.

Die PLFA der Gram⁻- Bakterien haben dabei mit $\Delta^{14}\text{C} = 64,0$ ‰ und $-62,3$ ‰ an beiden Standorten höhere ^{14}C -Gehalte als die PLFA der Gram⁺- Bakterien mit $\Delta^{14}\text{C} = 10,7$ ‰ und $-25,3$ ‰. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den beobachteten mittleren Verweilzeiten dieser beiden Gruppen von Mikroorganismen und zeigt, dass sie unterschiedliche Fähigkeiten besitzen, komplexe Kohlenstoffquellen zu erschließen. Während Gram⁺- Bakterien in der Lage sind komplexe Strukturen abzubauen, sind Gram⁻- Bakterien auf leichter verwertbare Substrate angewiesen. Durch ^{13}C - und ^{14}C - Analyse an PLFA konnte die biologische Wiederverwertung auf atomarer Ebene als Form der Stabilisierung von organischem Kohlenstoff im Boden nachgewiesen werden. Die Stabilisierung ist umso höher je niedriger die Menge an eingetragendem Pflanzenmaterial in den Boden ist. Durch niedrige ^{14}C -Gehalte labiler PLFA, die teilweise einem Alter von über 1000 Jahren entsprechen (15:0 i/a $-143,4$ ‰), wurde erkannt, dass zwischen den ^{14}C -Gehalten organischer Substanzen und deren Stabilität im Boden kein direkter Zusammenhang besteht. Wie der ^{13}C -Gehalt, hängt auch der ^{14}C -Gehalt der PLFA hauptsächlich von der genutzten Kohlenstoffquelle der Mikroorganismen ab. Wird ^{14}C -armes Material, wie z. B. Kohle als Substrat genutzt, so weisen die Zellen der Mikroorganismen ebenfalls einen geringen ^{14}C -Gehalt auf. Jedoch wird durch das hohe ^{14}C -Alter der Kohlenstoffquelle nur hohe Stabilität der PLFA, gemessen als hohes ^{14}C -Alter, vorgetäuscht, denn Mikroorganismen und deren Bestandteile sind biosynthetisch jung und ihre Biomasse wird nach dem Absterben sofort mineralisiert.

Inbesondere durch die in dieser Arbeit erstmalig auf molekulare Bestandteile der organischen Bodensubstanz angewandte Methode der substanzspezifischen ^{14}C -Datierung konnte ein neues Verständnis für Umsatz und Stabilität der organischen Bodensubstanz entwickelt werden. Im Gegensatz zur bisherigen Meinung konnte eindeutig nachgewiesen werden, dass Kohlenstoff im Boden eine dynamische Komponente darstellt. Durch geeignetes, nachhaltiges Kohlenstoffmanagement besteht daher die potentielle Möglichkeit, mehr organischen Kohlenstoff in Böden zu speichern, um so dem Klimawandel, bedingt durch massive Freisetzungen des klimarelevanten Gases Kohlenstoffdioxid, entgegenzuwirken.

5 Literatur

- Abraham, W.R., Hesse, C., Pelz, O., (1998) Ratios of carbon isotopes in microbial lipids as an indicator of substrate usage. *Applied & Environmental Microbiology*, 64(11), 4202-4209.
- Abrajano, T.A., Murphy, D.E., Fang, J., Comet, P., Brooks, J.M., (1994) ^{13}C ^{12}C ratios in individual fatty-acids of marine mytilids with and without bacterial symbionts. *Organic Geochemistry*, 21(6-7), 611-617.
- Arao, T., (1999) In situ detection of changes in soil bacterial and fungal activities by measuring ^{13}C incorporation into soil phospholipid fatty acids from ^{13}C acetate. *Soil Biology & Biochemistry*, 31(7), 1015-1020.
- Baldock, J.A., Skjemstad, J.O., (2000) Role of the soil matrix and minerals in protecting natural organic materials against biological attack. *Organic Geochemistry*, 31(7-8), 697-710.
- Balesdent, J., Balabane, M., (1996) Major contribution of roots to soil carbon storage inferred from maize cultivated soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 28(9), 1261-1263.
- Balesdent, J., Mariotti, A., (1996) Measurement of soil organic matter turnover using ^{13}C natural abundance. In: T.W. Boutton, S. Yamasaki (Eds.), *Mass spectrometry of soils* (Ed. by T.W. Boutton, S. Yamasaki), pp. pp. 83-111. Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong.
- Becker-Heidmann, P., Scharpenseel, H.-W., (1992) Studies of soil organic matter dynamics using natural carbon isotopes. *Science of the Total Environment*, 118, 305-312.
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917.
- Bol, R., Huang, Y., Meridith, J.A., Eglinton, G., Harkness, D.D., Ineson, P., (1996) The ^{14}C age and residence time of organic matter and its lipid constituents in a stagnohumic gley soil. *European Journal of Soil Science*, 47(2), 215-222.
- Bossio, D.A., Scow, K.M., Gunapala, N., Graham, K.J., (1998) Determinants of Soil Microbial Communities: Effects of Agricultural Management, Season, and Soil Type on Phospholipid Fatty Acid Profiles. *Microbial Ecology*, 36(1), 1-12.
- Bowman, S., *Radiocarbon dating*. British Museum Press.
- Chefetz, B., Tarchitzky, J., Deshmukh, A.P., Hatcher, P.G., Chen, Y., (2002) Structural characterization of soil organic matter and humic acids in particle-size fractions of an agricultural soil. *Soil Science Society of America Journal*, 66(1), 129-141.

- Cifuentes, L.A., Salata, G.G., (2001) Significance of carbon isotope discrimination between bulk carbon and extracted phospholipid fatty acids in selected terrestrial and marine environments. *Organic Geochemistry*, 32(4), 613-621.
- Craig, H., (1953) The geochemistry of the stable carbon isotopes. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 3, 53-92.
- Dijkstra, E.F., Boon, J.J., Vanmourik, J.M., (1998) Analytical pyrolysis of a soil profile under Scots pine. *European Journal of Soil Science*, 49(2), 295-304.
- Eglinton, T.I., Aluwihare, L.I., Bauer, J.E., Druffel, E.R.M., McNichol, A.P., (1996) Gas Chromatographic Isolation of Individual Compounds from Complex Matrices for Radiocarbon Dating. *Analytical Chemistry*, 68(5), 904-912.
- Eglinton, T.I., Beniteznelson, B.C., Pearson, A., McNichol, A.P., Bauer, J.E., Druffel, E.R.M., (1997) Variability in radiocarbon ages of individual organic compounds from marine sediments. *Science*, 277(5327), 796-799.
- Ekblad, A., Nyberg, G., Högberg, P., (2002) ^{13}C -discrimination during microbial respiration of added C_3 -, C_4 - and ^{13}C -labelled sugars to a C_3 -forest soil. *Oecologia*, 131(2), 245-249.
- Fakoussa, R.M., Hofrichter, M., (1999) Biotechnology and microbiology of coal degradation. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 52(1), 25-40.
- Fontaine, S., Mariotti, A., Abbadie, L., (2003) The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry*, 35(6), 837-843.
- Frostegård, Å., Bååth, E., (1996) The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 22(1-2), 59-65.
- Frostegård, Å., Tunlid, A., Bååth, E., (1991) Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods*, 14, 151-163.
- Frostegård, Å., Tunlid, A., Bååth, E., (1993) Phospholipid Fatty Acid Composition, Biomass, and Activity of Microbial Communities from Two Soil Types Experimentally Exposed to Different Heavy Metals. *Applied Environmental Microbiology*, 59(11), 3605-3617.
- Frostegård, Å., Tunlid, A., Bååth, E., (1996) Changes in microbial community structure during long-term incubation in two soils experimentally contaminated with metals. *Soil Biology & Biochemistry*, 28(1), 55-63.
- Gleixner, G., Bol, R., Balesdent, J., (1999) Molecular insight into soil carbon turnover. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 13(13), 1278-1283.

- Gleixner, G., Czimczik, C.J., Kramer, C., Lühker, B., Schmidt, M.W.I., (2001) Plant compounds and their turnover and stability as soil organic matter. In: E.-D. Schulze, M. Heimann, S. Harrison, E. Holland, J.L. Lloyd, C. Prentice, D. Schimel (Eds.), *Global Biogeochemical Cycles in the Climate System*. (Ed. by E.-D. Schulze, M. Heimann, S. Harrison, E. Holland, J.L. Lloyd, C. Prentice, D. Schimel), pp. 201-215. Academic Press, San Diego.
- Gleixner, G., Poirier, N., Bol, R., Balesdent, J., (2002) Molecular dynamics of organic matter in a cultivated soil. *Organic Geochemistry*, 33(3), 357-366.
- Goh, K.M., (1991) Bomb Carbon. In: D.C. Coleman, B. Fry (Eds.), *Carbon Isotope Techniques* (Ed. by D.C. Coleman, B. Fry), pp. 147-151. Academic Press Inc., San Diego, California.
- Gregorich, E.G., Liang, B.C., Drury, C.F., Mackenzie, A.F., McGill, W.B., (2000) Elucidation of the source and turnover of water soluble and microbial biomass carbon in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 32(5), 581-587.
- Gregorich, E.G., Monreal, C.M., Schnitzer, M., Schulten, H.R., (1996) Transformation of plant residues into soil organic matter - chemical characterization of plant tissue, isolated soil fractions, and whole soils. *Soil Science*, 161(10), 680-693.
- Haack, S., Garchow, H., Odelson, D., Forney, L., Klug, M., (1994) Accuracy, Reproducibility, and Interpretation of Fatty Acid Methyl Ester Profiles of Model Bacterial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(7), 2483-2493.
- Hanson, J.R., Macalady, J.L., Harris, D., Scow, K.M., (1999) Linking toluene degradation with specific microbial populations in soil. *Applied & Environmental Microbiology*, 65(12), 5403-5408.
- Harkness, D.D., Harrison, A.F., Bacon, P.J., (1986) The temporal distribution of bomb ¹⁴C in a forest soil. *Radiocarbon*, 28, 328-337.
- Hedges, J.I., Oades, J.M., (1997) Comparative organic geochemistries of soils and marine sediments. *Organic Geochemistry*, 27(7-8), 319-361.
- Hempfling, R., Schulten, H.-R., (1989) Selective preservation of biomolecules during humification of forest litter studied by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *The science of the Total Environment*, 81 / 82, 31-40.
- IPCC, (2001) Climate change 2001: Synthesis Report. A Contribution of working groups I, II, and III to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate change. (Ed. by R.T.a.t.C.W.T. Watson), pp. 398. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

- Jenkinson, D.S., Meredith, J., Kinyamario, J.I., Warren, G.P., Wong, M.T.F., Harkness, D.D., Bol, R., Coleman, K., (1999) Estimating net primary production from measurements made on soil organic-matter. *Ecology*, 80(8), 2762-2773.
- Jenkinson, D.S., Rayner, J.H., (1977) The turnover of soil organic matter in some of the Rothamsted classical experiments. *Soil Science*, 123, 298-305.
- Jobbagy, E.G., Jackson, R.B., (2000) The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications*, 10(2), 423-436.
- John, B., (2003) Carbon Turnover in aggregated soils determined by natural ¹³C abundance, Dissertation, pp. 135. Georg-August-Universität zu Göttingen, Göttingen.
- John, B., Yamashita, T., Ludwig, B., Flessa, H., Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different types of land use. *Geoderma*, submitted.
- Kaiser, K., Eusterhues, K., Rumpel, C., Guggenberger, G., Kogel-Knabner, I., (2002) Stabilization of organic matter by soil minerals - investigations of density and particle-size fractions from two acid forest soils. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 165(4), 451-459.
- Kögel-Knabner, I., (2002) The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry*, 34(2), 139-162.
- Kuzyakov, Y., (2002) Review: Factors affecting rhizosphere priming effects. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift Für Pflanzenernährung Und Bodenkunde*, 165(4), 382-396.
- Lajtha, K., Marshall, J.D., (1994) Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: K. Lajtha, R.H. Michener (Eds.), *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science, Methods in Ecology* (Ed. by K. Lajtha, R.H. Michener). Blackwell Scientific Publications, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna.
- Lavelle, P., Spain, A.V., (2001) *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.
- Lechevalier, H., Lechevalier, M.P., (1988) Chemotaxonomic use of lipids-an overview. In: C. Ratledge, S.G. Wilkinson (Eds.), *Microbial Lipids, 1* (Ed. by C. Ratledge, S.G. Wilkinson). Academic Press, London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Leinweber, P., Schulten, H.R., (1995) Composition, stability and turnover of soil organic-matter - Investigations by offline pyrolysis and direct pyrolysis massspectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 32, 91-110.

- Leinweber, P., Schulten, H.R., (1999) Advances in analytical pyrolysis of soil organic matter. *Journal of Analytical & Applied Pyrolysis*, 49(1-2), 359-383.
- Levin, I., Kromer, B., (submitted) The tropospheric $^{14}\text{CO}_2$ level in mid latitudes of the Northern Hemisphere. *Radiocarbon*.
- Levin, I., Kromer, B., Schmidt, M., Sartorius, H., (2003) A novel approach for independent budgeting of fossil fuel CO_2 over Europe by $^{14}\text{CO}_2$ observations. *Geophysical Research Letters*, 30(23), 2194.
- Lichtfouse, E., Berthier, G., Houot, S., Barriuso, E., Bergheaud, V., Vallaey, T., (1995) Stable carbon isotope evidence for the microbial origin of $\text{C}_{14}\text{-C}_{18}$ *n*-alkanoic acids in soils. *Organic Geochemistry*, 23(9), 849-852.
- Mariotti, A., (1983) Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural abundance ^{15}N measurements. *Nature*, 303, 685-687.
- Monreal, C.M., Schulten, H.R., Kodama, H., (1997) Age, turnover and molecular diversity of soil organic matter in aggregates of a Gleysol. *Canadian Journal of Soil Science*, 77(3), 379-388.
- Mudd, J.B., (1980) Phospholipid Biosynthesis. In: P.K. Stumpf (Ed.), *Lipids: Structure and Function*, 4, *The Biochemistry of Plants, A comprehensive Treatise* (Ed. by P.K. Stumpf). Academic Press Inc., New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco.
- Nadeau, M.J., Schleicher, M., Grootes, P.M., Erlenkeuser, H., Gottang, A., Mous, D.J.W., Sarnthein, J.M., Willkomm, H., (1997) The Leibniz-Labor AMS facility at the Christian-Albrechts University, Kiel, Germany. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section B Beam Interactions with Materials & Atoms*, 123(1-4), 22-30.
- Nadelhoffer, K.J., Fry, B., (1994) Nitrogen isotope studies in forest ecosystems. In: K. Lajtha, R.H. Michener (Eds.), *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science, Methods in Ecology* (Ed. by K. Lajtha, R.H. Michener). Blackwell Scientific Publications, London, Edinburgh, Boston, Melbourne, Paris, Berlin, Vienna.
- Neff, J.C., Townsend, A.R., Gleixner, G., Lehman, S.J., Turnbull, J., Bowman, W.D., (2002) Variable effects of nitrogen additions on the stability and turnover of soil carbon. *Nature*, 419(6910), 915-917.
- Nierop, K.G.J., Pulleman, M.M., Marinissen, J.C.Y., (2001a) Management induced organic matter differentiation in grassland and arable soil: a study using pyrolysis techniques. *Soil Biology & Biochemistry*, 33(6), 755-764.

- Nierop, K.G.J., van Lagen, B., Buurman, P., (2001b) Composition of plant tissues and soil organic matter in the first stages of a vegetation succession. *Geoderma*, 100(1-2), 1-24.
- Nultsch, W., (1996) *Allgemeine Botanik*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- O'Leary, W.M., Wilkinson, S.G., (1988) Gram-positive bacteria. In: C. Ratledge, S.G. Wilkinson (Eds.), *Microbial Lipids, 1* (Ed. by C. Ratledge, S.G. Wilkinson), pp. 117-185. Academic Press, London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Parton, W.J., Schimel, D.S., Cole, C.V., Ojima, D.S., (1987) Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plain Grasslands. *Soil Science Society of America Journal*, 51, 1173-1179.
- Paul, E.A., Clark, F.E., (1996) *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Petsch, S.T., Eglinton, T.I., Edwards, K.J., (2001) ^{14}C -dead living biomass: evidence for microbial assimilation of ancient organic carbon during shale weathering. *Science*, 292(5519), 1127-1131.
- Potthoff, M., Loftfield, N., Buegger, F., Wick, B., John, B., Joergensen, R.G., Flessa, H., (2003) The determination of delta ^{13}C in soil microbial biomass using fumigation-extraction. *Soil Biology & Biochemistry*, 35(7), 947-954.
- Ratledge, C., Wilkinson, S.G., (1988a) Fatty acids, related and derived lipids. In: C. Ratledge, S.G. Wilkinson (Eds.), *Microbial Lipids, 1* (Ed. by C. Ratledge, S.G. Wilkinson), pp. 23-52. Academic Press, London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Ratledge, C., Wilkinson, S.G., (1988b) *Microbial Lipids*. Academic Press, London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Ratledge, C., Wilkinson, S.G., (1988c) An overview of microbial lipids. In: C. Ratledge, S.G. Wilkinson (Eds.), *Microbial Lipids, 1* (Ed. by C. Ratledge, S.G. Wilkinson), pp. 3-21. Academic Press, London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Rethemeyer, J., Bruhn, F., Kramer, C., Gleixner, G., Andersen, N., Nadeau, M.-J., Grootes, P.M., (2004a) Age heterogeneity of soil organic matter. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, in press.

- Rethemeyer, J., Kramer, C., Gleixner, G., John, B., Yamashita, T., Flessa, H., Andersen, N., Nadeau, M.-J., Grootes, P.M., Transformation of organic matter in agricultural soils: Radiocarbon concentration versus soil depth. *Geoderma*, submitted.
- Rethemeyer, J., Kramer, C., Gleixner, G., Wiesenberg, G., Schwark, L., Andersen, N., Nadeau, M.-J., Grootes, P.M., (2004b) Complexity of soil organic matter: AMS ^{14}C analysis of soil lipid fractions and individual compounds. *Radiocarbon*, 46(1), 465-473.
- Rumpel, C., Grootes, P.M., Kogel-Knabner, I., (2001) Characterisation of the microbial biomass in lignite-containing mine soils by radiocarbon measurements. *Soil Biology & Biochemistry*, 33(14), 2019-2021.
- Rumpel, C., Kögel-Knabner, I., (2004) Microbial use of lignite compared to recent plant litter as substrates in reclaimed coal mine soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 36(1), 67-75.
- Scharpenseel, H.W., Becker-Heidmann, P., (1992) Twenty-five years of radiocarbon dating soils: paradigm of erring and learning. *Radiocarbon*, 34(3), 541-549.
- Scharpenseel, H.W., Pietig, F., Schiffman, H., Becker-Heidmann, P., (1996) Radiocarbon dating of soils: database contribution by Bonn and Hamburg. *Radiocarbon*, 38(2), 277-293.
- Schlesinger, W.H., (1997) *Biogeochemistry-An Analysis of Global Change*. Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Schmidt, H., Garz, J., Merbach, W., Wittenmayer, L., (2002) Exkursionsführer zu den Dauerdüngungsversuchen auf dem Julius-Kühn-Versuchsfeld in Halle (Saale), pp. 55. Institut für Bodenkunde und Pflanzenernährung der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Landwirtschaftliche Fakultät, Halle.
- Schmidt, M.W.I., Knicker, H., Hatcher, P.G., Kögel-Knabner, I., (1996) Impact of brown coal dust on the organic matter in particle-size fractions of a Mollisol. *Organic Geochemistry*, 25(1-2), 29-39.
- Schnellhammer, R., Sirch, J., (2001) Höhere Landbauschule Rotthalmünster-Versuchsbericht 2001., pp. 119. Staatliche Höhere Landbauschule, Rotthalmünster.
- Scholes, R.J., Noble, I.R., (2001) Climate change - Storing carbon on land. *Science*, 294(5544), 1012-1013.
- Schulten, H.R., Gleixner, G., (1999) Analytical pyrolysis of humic substances and dissolved organic matter in aquatic systems: structure and origin. *Water Research.*, 33(11), 2489-2498.

- Schulten, H.R., Schnitzer, M., (1998) The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biology & Fertility of Soils*, 26(1), 1-15.
- Schutter, M.E., Sandeno, J.M., Dick, R.P., (2001) Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems. *Biology & Fertility of Soils*, 34(6), 397-410.
- Six, J., Conant, R.T., Paul, E.A., Paustian, K., (2002) Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. *Plant & Soil*, 241(2), 155-176.
- Sollins, P., Homann, P., Caldwell, B.A., (1996) Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls. *Geoderma*, 74(1-2), 65-105.
- Sparling, G.P., (1985) The Soil Biomass. In: D. Vaughan, R.E. Malcolm (Eds.), *Soil Organic Matter and Biological Activity*, 16, *Developments in plant and Soil Sciences* (Ed. by D. Vaughan, R.E. Malcolm), pp. 223-247. Martinus Nijhoff / DR W. Junk Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster.
- Steffen, K.T., Hatakka, A., Hofrichter, M., (2002) Degradation of humic acids by the litter-decomposing basidiomycete *Collybia dryophila*. *Applied & Environmental Microbiology*, 68(7), 3442-3448.
- Steinbeiß, S., (2003) Untersuchungen des thermischen Abbaus von Cellulose, Lignin und deren Mischungen sowie der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ihrer Pyrolyseprodukte, Diplomarbeit, pp. 77. Friedrich- Schiller- Universität Jena, Jena.
- Steward, G.R., (2001) What do $\delta^{15}\text{N}$ Signatures tell Us about Nitrogen Relations in Natural Ecosystems? In: M. Unkovich, J. Pate, A. McNeill, D.J. Gibbs (Eds.), *Stable Isotope Techniques in the Study of Biological Processes and Functioning of Ecosystems*, 40, *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture* (Ed. by M. Unkovich, J. Pate, A. McNeill, D.J. Gibbs). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.
- Stuiver, M., Polach, H.A., (1977) Discussion reporting of ^{14}C data. *Radiocarbon*, 22, 1-24.
- Stuiver, M., Quay, P., (1981) Atmospheric ^{14}C changes resulting from fossil fuel CO_2 release and cosmic ray flux variability. *Earth and Planetary Science Letters*(53), 349-362.
- Suess, H.E., (1955) Radiocarbon concentration in modern wood. *Science*, 122(3166), 415-417.
- Trumbore, S.E., (1996) Applications of Accelerator Mass Spectrometry to Soil Science. In: T.W. Boutton, S. Yamasaki (Eds.), *Mass Spectrometry of Soils* (Ed. by T.W. Boutton, S. Yamasaki), pp. 311-340. Marcel Dekker, New York, Basel, Hong Kong.

- Trumbore, S.E., Vogel, J.S., Southon, J.R., (1989) AMS ^{14}C measurements of fractionated soil organic matter: an approach to deciphering the soil carbon cycle. *Radiocarbon*, 31(3), 644-654.
- Tsuge, S., (1995) Analytical pyrolysis - past, present and future. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 32, 1-6.
- Wang, Y., Amundson, R., Trumbore, S., (1996) Radiocarbon dating of soil organic matter. *Quaternary Research*, 45(3), 282-288.
- Werner, R.A., Brand, W.A., (2001) Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 15(7), 501-519.
- White, D.C., Davis, W.M., Nickels, J.S., King, J.D., Bobbie, R.J., (1979) Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. *Oecologia*, 40, 51-62.
- Wilkinson, S.G., (1988) Gram-negative bacteria. In: C. Ratledge, S.G. Wilkinson (Eds.), *Microbial Lipids*, 1 (Ed. by C. Ratledge, S.G. Wilkinson), pp. 299-457. Academic Press, London, San Diego, New York, Berkeley, Boston, Sydney, Tokyo, Toronto.
- Zelles, L., (1997) Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*, 35(1-2), 275-294.
- Zelles, L., (1999) Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology & Fertility of Soils*, 29(2), 111-129.
- Zelles, L., Bai, Q.Y., (1993) Fractionation of fatty acids derived from soil lipids by solid phase extraction and their quantitative analysis by GC-MS. *Soil Biol. Biochem.*, 25(4), 495-507.
- Zelles, L., Bai, Q.Y., Beck, T., Beese, F., (1992) Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.*, 24(4), 317-323.
- Zubay, G., (1993) *Biochemistry*. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa, Melbourne, Oxford.

Selbständigkeitserklärung

Ich erkläre, die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt zu haben.

Jena, den 11. August 2004

.....

Christiane Kramer

Curriculum Vitae

Name: Kramer, Christiane
Geboren am: 21.01.1975 in Arnstadt
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Ausbildung

9/1981 – 6/1985 Grundschole in Ingersleben
9/1985 – 6/1990 Polytechnische Oberschule in Neudietendorf
9/1990 – 6/1993 Gymnasium in Neudietendorf
10/1993 – 7/1999 Studium der Chemie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
8/1995 Vordiplom in Chemie
9/1995 – 7/1996 Studium der Chemie, University of Kent at Canterbury, UK
7/1999 Diplom in Chemie (Umweltchemie)

Praktika

7/1997 – 8/1997 Praktikum bei Labor und Umwelttechnik (LUT) in Jena
2/1998 – 4/1998 Praktikum an der University of Newcastle upon Tyne, UK

beruflicher Werdegang

9/1999 wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Geowissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität Jena
seit 12/1999 wissenschaftliche Angestellte am Max-Planck-Institut für Biogeochemie in Jena
seit 10/2000 Bearbeitung des Projektes: „Bestimmung und Modellierung der mittleren Verweilzeiten organischer Substanzen in Böden“ im Rahmen des DFG-Schwerpunktprogramms „Böden als Quelle und Senke für CO₂“.

Jena, den 11. August 2004

.....

Christiane Kramer