

Fachgebiet Bodenbiologie und Pflanzenernährung
am Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften
der Universität Kassel

Produktion und Nutzung von
mikrobiellen Residuen als
labiler Zwischenspeicher für Nährstoffe

Dissertation zur Erlangung
des Doktorgrades der Agrarwissenschaften (Dr. agr.)

vorgelegt von:

Brigitte Engelking aus Kassel

1. Gutachter: Professor Dr. Rainer Georg Jörgensen
2. Gutachter: Professor Dr. Heiner Flessa

Witzenhausen, November 2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Aspekte und Zielsetzung	2
3	Literaturübersicht	4
3.1	Bedeutung und Umsetzung der mikrobiellen Residuen	4
3.2	Bedeutung und Umsetzung der mikrobiellen Biomasse	5
3.3	Mineralisation von Kohlenstoff und Stickstoff durch die mikrobielle Biomasse	8
3.4	Abbau von Cellulose durch Mikroorganismen	11
3.5	Einsatz von natürlichen ¹³ C-Vorkommen zur Verfolgung von Kohlenstoffflüssen	12
3.5.1	¹³ C-Fraktionierung bei Pflanzen	12
3.5.2	¹³ C-Diskriminierung durch Mikroorganismen	14
3.5.3	Bestimmung des prozentualen Anteils eines zugegebenen Substrates	15
4	Material und Methoden	17
4.1	Bodeneigenschaften	17
4.2	Herstellung und Merkmale der Additive	17
4.3	Dynamische Mikrokosmenanlage	19
4.4	Gesamtstickstoff, mineralischer Stickstoff und Gesamtkohlenstoff .	20
4.5	Mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff	20
4.6	Ergosterol	21
4.7	CO ₂ -Bestimmung	22
4.8	Bestimmung des δ ¹³ C-Wertes	23
4.9	Berechnung der mikrobiellen Residuen	25
4.10	Statistische Auswertung	25
5	Abbau von C₄-Rohrzucker und C₄-Cellulose mit N-Ausgleich in einem Lößboden	26
5.1	Methodische Aspekte	26

5.1.1	Vorbehandlung des Bodens	26
5.1.2	Versuchsdurchführung	26
5.2	Ergebnisse	27
5.2.1	Mineralisation von Kohlenstoff und Stickstoff	27
5.2.2	Mikrobieller Kohlenstoff (C_{mik}) und Stickstoff (N_{mik})	31
5.2.3	Ergosterol	36
5.2.4	$\delta^{13}C$ -Werte des Bodens, der mikrobiellen Biomasse sowie des CO_2	38
5.2.5	Cellulose- und maisbürtiger Kohlenstoff im Boden, in der mikrobiellen Biomasse und im CO_2 -C	42
5.3	Diskussion	45
5.3.1	Mineralisation der C_4 -Kohlenstoffe	45
5.3.2	Einfluss der C_4 -Zugaben auf die Stickstoffmineralisation	47
5.3.3	Entwicklung der mikrobiellen Biomasse	48
5.3.4	Effekt der C_4 -Zugaben auf C_3 - C_{mik} und C_3 - CO_2	54
5.3.5	Umsatz der C_3 -Cellulose	56
5.3.6	Bildung mikrobieller Residuen	58
5.3.7	Verbrauch an mikrobiellen Residuen	63
5.3.8	An- und Abreicherung von ^{13}C im Boden	64
5.3.9	An- und Abreicherung von ^{13}C in der mikrobiellen Biomasse	65
5.3.10	Diskriminierung von ^{13}C während der mikrobiellen Verat- mung der Cellulose und des Rohrzuckers	66
5.3.11	Relative Verteilung des C_4 -Kohlenstoffs	68
5.4	Auswahl des Kohlenstoffsubstrates für den Versuch mit gebrann- tem Löß	69
6	Umsatz von C_4-Rohrzucker mit N-Ausgleich in gebranntem Löß	70
6.1	Methodische Aspekte	70
6.1.1	Verwendetes Substrat	70
6.1.2	Herstellung und Eigenschaften der Bodensuspension	70
6.1.3	Versuchsdurchführung	70
6.1.4	Präextraktion	71

6.2	Ergebnisse	71
6.2.1	C- und N-Mineralisation	71
6.2.2	Mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff	74
6.2.3	Ergosterol	77
6.2.4	$\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Substrats, der mikrobiellen Biomasse sowie des CO_2	78
6.3	Diskussion	80
6.3.1	Mineralisation des rohrzuckerbürtigen Kohlenstoffs ($\text{C}_4\text{-C}$)	80
6.3.2	Einfluss des rohrzuckerbürtigen Kohlenstoffs ($\text{C}_4\text{-C}$) auf die Stickstoffmineralisation	81
6.3.3	Entwicklung der mikrobiellen Biomasse	82
6.3.4	Umsatz der C_3 -Cellulose	85
6.3.5	Bildung und Verbrauch von mikrobiellen Residuen	87
6.3.6	Diskriminierung von ^{13}C im Substrat, der mikrobiellen Bio- masse und des CO_2	90
7	Schlussfolgerung und Ausblick	92
8	Zusammenfassung	96
9	Literaturverzeichnis	100

Tabellenverzeichnis

1	Eigenschaften des verwendeten Bodens	17
2	Herstellung der Cellulose aus <i>Zea mays</i> , verändert nach LAWATHER ET AL. (1995)	18
3	Ausbeute und Merkmale der Cellulose aus <i>Zea mays</i> und <i>Acetob- acter xylosum</i>	19
4	Priming Effect, ermittelt anhand von C_3 -CO ₂ ($\mu\text{g g}^{-1}$ Boden d ⁻¹) und C_3 -C _{mik} ($\mu\text{g g}^{-1}$ Boden), ermittelt aus der Differenz zwischen C_3 -C und Kontrolle (n=12).	55
5	Kohlenstoffgehalte (C _{res}) und Stickstoffgehalte (N _{res}) der mikrobi- ellen Residuen in $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden sowie das C _{res} /N _{res} -Verhältnis an Tag 33	62
6	Gesamtkohlenstoff, C ₄ -Kohlenstoff sowie der prozentuale Anteil des C ₄ -Kohlenstoffs am Gesamtkohlenstoffgehalt.	72
7	C ₃ -Kohlenstoff sowie der prozentuale Anteil des C ₃ -Kohlenstoffs am Gesamtkohlenstoffgehalt der Variante RZ+C am 38., 45. und 67. Inkubationstag.	73
8	N _{min} -Gehalte über den Inkubationsverlauf	74
9	Mikrobieller Kohlenstoff (C _{mik}) und Stickstoff (N _{mik}) sowie das dar- aus berechnete C _{mik} /N _{mik} -Verhältnis	76
10	Mikrobieller C ₄ -Kohlenstoff (C ₄ -C _{mik}) und der daraus errechnete prozentuale Anteil an C _{mik}	77
11	Ergosterolgehalt sowie der errechnete prozentuale Anteil am mi- krobiellen Kohlenstoff.	78
12	$\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Substrates ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Substrat}}$), des mikrobiellen Kohlen- stoffs ($\delta^{13}\text{C}_{\text{mik}}$) und des CO ₂ -C ($\delta^{13}\text{CO}_2$).	79
13	Residualer Kohlenstoff (C _{res}) und Stickstoff (N _{res}) sowie das dar- aus berechnete C _{res} /N _{res} -Verhältnis.	88

Abbildungsverzeichnis

1	Beispiele für natürliche $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und das prozentuale Vorkommen von ^{13}C -Atomen. Quelle: MEIER-AUGENSTEIN (1999)	13
2	Aufbau der dynamischen Mikrokosmenanlage	20
3	C_4 -Kohlenstoff des Bodens über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽).	28
4	C_3 -Kohlenstoff des Bodens in dem Inkubationsabschnitt Tag 33 bis Tag 67. Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	28
5	Kumulierte C_4 -C-Gehalte gemessen im CO_2 über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽).	29
6	N_{min} -Gehalte über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	30
7	Gehalte an mikrobiellem Kohlenstoff (C_{mik}) über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	32
8	C_4 -Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse ($\text{C}_4\text{-C}_{mik}$) über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽).	33
9	Gehalte an mikrobiellem Stickstoff (N_{mik}) über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	34
10	C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse ($\text{C}_{mik}/\text{N}_{mik}$) über den Versuchsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	35
11	Ergosterolgehalte über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	37

12	Quotient aus Ergosterol und dem Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse (Erg/C_{mik}) über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	38
13	$\delta^{13}C$ -Werte des Bodens, des mikrobiellen Kohlenstoffs und des CO_2 . Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□).	41
14	C_4 -bürtiger Kohlenstoff im Verhältnis zum Gesamtkohlenstoff im Boden, in der mikrobiellen Biomasse und im CO_2 über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽).	44
15	Anteil des kalkulierten Kohlenstoffs in den mikrobiellen Residuen ($C_{res} = C_4 - C_{Boden} - C_4 - C_{mik}$); Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽).	59
16	Kumulierte CO_2 - C_4 -Gehalte über den Inkubationsverlauf. Rohrzucker (●); Rohrzucker+C (○)	73

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
C ₃ -Cellulose	Cellulose aus C ₃ -Kohlenstoff der Fa. Sigma
C ₄ -Cellulose	Cellulose extrahiert aus <i>Zea mays</i>
C _{mik}	mikrobieller Biomasse Kohlenstoff
C ₃ -C _{mik}	C ₃ -Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse
C ₄ -C _{mik}	C ₄ -Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse
CO ₂	Kohlendioxid
C ₃ -CO ₂	C ₃ -Kohlenstoff im CO ₂
C ₄ -CO ₂	C ₄ -Kohlenstoff im CO ₂
C _{org}	organischer Kohlenstoff
C ₄ -C _{Boden}	C ₄ -Kohlenstoff des Bodens
C _{FUM}	nach der Fumigation 0,05 M K ₂ SO ₄ -extrahierbares C
CHCl ₃	Chloroform
C _{res}	Kohlenstoff der mikrobiellen Residuen
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
KAK	Kationenaustauschkapazität
NH ₄ NO ₃	Ammoniumnitrat
N _{imb}	immobilisierter Stickstoff
N _{mik}	mikrobieller Biomasse Stickstoff
N _{min}	mineralischer Stickstoff
N _t	Gesamtstickstoff
N _{res}	Stickstoff der mikrobiellen Residuen
⁶³ Ni-ECD	Electron Capture Detektor

PDB	PeeDeeBelmnite
RZ	Rohrzucker
RZ+C	Rohrzucker+C ₃ -Cellulose
Tab.	Tabelle
TM	Trockenmasse
WHK	Wasserhaltekapazität

1 Einleitung

Die wichtigste ökologische Funktion der meist heterotrophen Mikroorganismen besteht in der Rückführung der durch Pflanzen festgelegten Nährstoffe und Elemente in die jeweiligen Kreisläufe. Die Mikroorganismen wirken dabei nicht nur als Vermittler zwischen den Umsatzprozessen, sondern bilden selbst einen wichtigen Zwischenspeicher für Nährstoffe, insbesondere für Stickstoff, Phosphor und Schwefel, die überwiegend in organischen Formen vorliegen (JENKINSON und LADD 1981). So wird organischer Stickstoff bei Überschuss mineralisiert und bei Mangel immobilisiert (HADAS ET AL. 1992). Ebenso wird mineralischer Stickstoff von der mikrobiellen Biomasse immobilisiert, wenn stickstoffarme Substrate mit einem weiten C/N-Verhältnis dem Boden hinzugegeben werden (OCIO ET AL. 1991a, TRINSOUTROT ET AL. 2000, HADAS ET AL. 2004). Wird Stickstoff durch die mikrobielle Biomasse immobilisiert, findet sich jedoch meist nur ein kleiner Teil in derselbigen wieder (OCIO ET AL. 1991b, JOERGENSEN ET AL. 1995). Der Anteil an immobilisiertem Stickstoff, der sich nicht in der mikrobiellen Biomasse befindet, muss folglich in den mikrobiellen Syntheseprodukten, der mikrobiellen Residualmasse, inkorporiert sein (JOERGENSEN 1995, MUELLER ET AL. 1998b). Diese besteht aus der Summe der Exoenzyme, Exudaten und der Nekromasse, welche zeitweise auch gegen eine Remineralisation geschützt sind (MUELLER ET AL. 1997). Je höher der Umsatz der mikrobiellen Biomasse ist, umso höher ist auch die Produktion der mikrobiellen Residuen, wobei ein Teil in leicht und ein Teil in schwer abbaubare Komponenten transformiert wird (JOERGENSEN 1998). Durch die Zugabe von leicht verfügbarem Substrat, wie Glukose oder Stroh, wird die mikrobielle Biomasse aktiviert (WU ET AL. 1993, HAIDER 1999) und damit der Umsatz und auch die Bildung der mikrobiellen Residualmasse erhöht (JOERGENSEN 1995). Je nach Verfügbarkeit der Substrate kann der Pool der gebildeten mikrobiellen Residualmasse zwischen 30-70 % des zugegebenen Kohlenstoffs (JOERGENSEN ET AL. 1995, GAILLARD ET AL. 1999, CHANDER und JOERGENSEN 2001) und bis zu 100 % des zugegebenen mineralischen Stickstoffs (JOERGENSEN ET AL. 1995, MAYER ET AL. 2003, SHINDO und NISHIO 2005) beitragen. Die mikrobielle Residualmasse kann so als Ort der Nährstoffspeicherung

und -immobilisierung angesehen werden, wobei dadurch insbesondere die Auswaschung von Stickstoff reduziert wird (VINTEN ET AL. 1998). Sie ist aber auch gleichzeitig ein Ort der Nährstofffreisetzung, da nach einer anfänglichen Immobilisation von Stickstoff oft eine Phase der Remineralisation folgt (RECOUS ET AL. 1995, MARY ET AL. 1996, TRINSOUTROT ET AL. 2000). Der so freigesetzte Stickstoff kann von den Pflanzen aufgenommen, ausgewaschen oder von der mikrobiellen Biomasse wieder verwendet werden (GIJSMAN ET AL. 1997). Durch diese wiederholten Auf- und Abbauprozesse erlangt die mikrobielle Residualmasse einen immer komplexeren Aufbau, wodurch sie ihre Umsetzbarkeit verliert (JOERGENSEN 1995). Die mikrobielle Biomasse bleibt bei diesem als "cryptic growth" bezeichneten Prozess oft unverändert (OCIO ET AL. 1991b, JOERGENSEN und SCHEU 1999, SHINDO und NISHIO 2005). Die mikrobielle Residualmasse hat somit als fluktuierender und leicht verfügbarer Zwischenspeicher für Nährstoffe eine wichtige Bedeutung für Mobilisations- und Immobilisationsprozesse (JOERGENSEN 1995, MUELLER ET AL. 1998a).

2 Aspekte und Zielsetzung

Verbesserte Kenntnisse über die Bildung und den Verbrauch der mikrobiellen Residualmasse sind eine wichtige Voraussetzung für das Verständnis der Zusammenhänge zwischen Mobilisierung und Immobilisierung von Nährstoffen.

Das Ziel dieser Arbeit soll daher die Verifizierung folgender Hypothesen sein:

1. Die Bildung der mikrobiellen Residuen kann durch die Zugabe von leicht umsetzbaren Kohlenstoffsubstraten gesteigert werden.
2. Nach Zugabe eines N-freien Substrates werden diese Residuen bevorzugt abgebaut, um den N-Bedarf der Mikroorganismen zu decken.

Zur Erarbeitung der genannten Hypothesen sollen im Folgenden zwei Abbauveruche durchgeführt werden. Bei beiden Versuchen soll durch Zugabe von leicht verfügbarem Kohlenstoff mit N-Ausgleich in einer ersten Phase (33 Tage) eine erhöhte Produktion der mikrobiellen Residuen erreicht werden. Am 33. Tag wird

ein N-freies Substrat in Form von C₃-Cellulose hinzugegeben, um in der zweiten Phase des Versuches (Tag 33-67) einen erhöhten Verbrauch der mikrobiellen Residuen zu induzieren. Sichtbar würde dies werden durch die höhere Mineralisation des C₄-Kohlenstoffs nach Zugabe der C₃-Cellulose sowie der Remineralisation von immobilisiertem Stickstoff. In beiden Versuchen soll auch überprüft werden, ob und in welchem Ausmaß es zu einer Fraktionierung bei der Umsetzung des C₄-Kohlenstoffs kommt und ob sich dies beim Abbau der mikrobiellen Residuen widerspiegelt.

In dem ersten Versuch wird C₄-Kohlenstoff in Form von Rohrzucker und Cellulose mit N-Ausgleich einem Lößboden zugegeben. Durch die Zugaben verschiedener C-Substrate sollen Unterschiede im Abbauverhalten sowie in der Bildung und im Verbrauch der mikrobiellen Residuen herausgearbeitet werden. Diese Ergebnisse sollen auch Entscheidungsgrundlage für die Wahl der Kohlenstoffquelle im zweiten Versuch sein.

In dem zweiten Versuch soll der gleiche Lößboden verwendet werden wie in Versuch 1, nur dass dieser vorher bei 580° C gebrannt wird, also keine organische Substanz mehr enthält. Hiermit soll der Einfluss der organischen Substanz auf Mineralisations- und Immobilisationsprozesse erarbeitet werden.

Kapitel 2 gibt eine Übersicht der Literatur und des Forschungsstandes.

In Kapitel 3 erfolgt eine Beschreibung der verwendeten Materialien und angewandten Methoden.

In Kapitel 4 und 5 werden die durchgeführten Versuche mit ihrem methodischen Aufbau, den Ergebnissen und der Diskussion dargestellt.

Die Schlussfolgerung der Untersuchungen sowie einen Ausblick werden in Kapitel 6 dargestellt; in Kapitel 7 erfolgt eine Zusammenfassung der hier vorgelegten Arbeit.

3 Literaturübersicht

3.1 Bedeutung und Umsetzung der mikrobiellen Residuen

Die mikrobielle Residualmasse kann als der Teil der organischen Substanz im Boden bezeichnet werden, der von der mikrobiellen Biomasse abstammt und nicht mehr zur lebenden Körpersubstanz gehört (JOERGENSEN 1995). Nach Zugabe organischer Substanz zum Boden wird immer nur ein bestimmter Teil davon während des mikrobiellen Umsatzes veratmet und lässt sich als CO₂ nachweisen. Der restliche Kohlenstoff verbleibt im Boden oder wird in die mikrobielle Biomasse inkorporiert. Wird Glukose dem Boden hinzugegeben, so ist diese gewöhnlich nach 3 Tagen vollständig umgesetzt (LADD ET AL. 1996). Es müsste sich dann die gesamte noch im Boden befindliche Glukose in der mikrobiellen Biomasse befinden. Untersuchungen von CHANDER und JOERGENSEN (2001) zeigten jedoch nach 3 Tagen eine Differenz von 40 % zwischen dem Glukosegehalt im Boden, dem der mikrobiellen Biomasse und der veratmeten Glukose. GAILLARD ET AL. (1999) konnten nahezu 44 % des zugegebenen ¹³C-markierten Strohkohlenstoffs der nicht lebenden organischen Substanz zurechnen. Den Autoren nach lag diese entweder als unlösliche mikrobielle Komponenten oder als adsorbierte Moleküle, abgeleitet vom Stroh oder vom mikrobiellen Metabolismus, vor. VAN GESTEL ET AL. (1996) stellten 7 Tage nach Glukosezugabe zu einem schluffigen Lehm ebenfalls eine Differenz zwischen dem verbleibenden Glukose-C und dem mikrobiellen Biomasse-C zwischen 2 und 23,7 µg C g⁻¹ Boden fest und rechnen diese überwiegend den mikrobiellen Produkten, wie exocellulären Sustanzen und toten Zellen, zu. JOERGENSEN ET AL. (1995) kalkultierten nach 33 Tagen Inkubation von heizölbelasteten Böden eine Zunahme des Kohlenstoffs der mikrobiellen Residualmasse, die mehr als das Doppelte des mikrobiellen Kohlenstoffs betrug. Nach Glukosezugabe liegt die Umsatzzeit der sich aus Glukose abgeleiteten mikrobiellen Biomasse bei weniger als einem Tag, was wiederum bedeutet, dass die Bildung der mikrobiellen Residuen beginnt, bevor die gesamte Glukose umgesetzt ist (GRANT ET AL. 1993b).

Im Gegensatz zum Kohlenstoff wird Stickstoff von der mikrobiellen Biomasse immobilisiert oder mineralisiert und gelangt auf diesem Wege über mikrobielle Metabolite oder das Absterben der mikrobiellen Biomasse in die mikrobielle Residualmasse. Dies bedeutet, dass die Überführung von mineralischem Stickstoff in organischen Stickstoff nicht unbedingt zu einer Zunahme der mikrobiellen Biomasse führen muss (OCIO ET AL. 1991b, SHINDO und NISHIO 2005). Es besteht allerdings auch die Möglichkeit, dass die Abnahme des mikrobiellen Stickstoffs wesentlich größer ist als die Zunahme an mineralischem Stickstoff. Dies bedeutet, dass der von der mikrobiellen Biomasse entbundene Stickstoff nicht sofort mineralisiert wird, sondern in Form von mikrobieller Residualmasse gebunden bzw. geschützt ist (MUELLER ET AL. 1998a, 1998b, 2003).

3.2 Bedeutung und Umsetzung der mikrobiellen Biomasse

Die mikrobielle Biomasse eines Bodens ist die Substanz der lebenden Organismen, die kleiner sind als ca. $5 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ und macht ungefähr 2-3 % des organischen Kohlenstoffs im Boden aus (JENKINSON und LADD 1981). Sie umfasst alle Mikroorganismen und bildet eine Lebensgemeinschaft aus Bakterien, Pilzen, Algen und Protozoen. Da die Anzahl der Algen und Protozoen relativ klein ist, kann die mikrobielle Biomasse auch mit der heterotrophen Mikroflora gleichgesetzt werden (JOERGENSEN 1995). Die mikrobielle Biomasse stellt zwar einen sehr kleinen Anteil der gesamten organischen Substanz im Boden dar, dafür aber den umsatzstärksten (JENKINSON und LADD 1981). Die Wahrscheinlichkeit, dass die in der mikrobiellen Biomasse gebundenen Nährstoffe wieder freigesetzt werden (auch wenn diese nicht von den Pflanzen direkt aufgenommen werden), ist größer als die Nährstofffreisetzung in allen anderen Kompartimenten der toten organischen Substanz. Dieser Umsatz ist die Antriebskraft für Mobilisations- und Immobilisationsvorgänge von Pflanzennährstoffen, insbesondere bei Stickstoff, Schwefel und Phosphor (GIJSMAN ET AL. 1997). Die mikrobielle Biomasse befindet sich in einem ungestörten Boden zu einem überwiegenden Teil im Ruhezustand (JENKINSON und LADD 1981, HAIDER 1999). Die meisten Mikroorganismen sind im Boden sesshaft bzw. können sich nicht eigenständig im Boden fort-

bewegen, da sie auf der Oberfläche von organischer Substanz angesiedelt sind. Für ihre Fortbewegung nutzen sie die Wurzeln der Pflanzen oder im Boden vorhandene Tiere (POTTHOFF ET AL. 2001). Jedes Mischen des Bodens führt nun zu einer Bewegung der organischen Substanz und damit auch zu einer gesteigerten Kohlenstoff- und Stickstoffmineralisation (JOERGENSEN und RAUBUCH 2003b). Die Autoren untersuchten bei 5 verschiedenen Böden den Effekt einer Störung in verschiedener Intensität und konnten keine signifikante Veränderung des mikrobiellen Biomasse-C feststellen, wohl aber eine Zunahme des 0,5 M K_2SO_4 extrahierbaren Kohlenstoffs bei permanenter Durchmischung des Bodens. JOERGENSEN und POTTHOFF (2005) stellten nach Inkubation eines Graslandbodens bei 40 % Wasserhaltekapazität unter ständigem Mischen eine Zunahme der Abbauraten der organischen Substanz und eine Abnahme des Biomasse-C und des Biomasse-N fest. FRANZLUBBERS (1999) untersuchte den Einfluss von Tocknen und Sieben des Bodens in Abhängigkeit vom Tongehalt auf die C- und N-Mineralisation und konnte keinen Einfluss auf die mikrobielle Biomasse und ihre Aktivität feststellen. OCIO und BROOKES (1990b) konnten in einem schluffig-lehmigen Tonboden nach Begasung mit $CHCl_3$ keinen Unterschied im mikrobiellen Biomasse-C bei gesiebttem und ungesiebttem Boden feststellen. STENBERG ET AL. (1998) untersuchten den Einfluss verschiedener Lagertemperaturen (+ 2 °C und - 20 °C) und -zeiten (1 Tag, 1, 3 und 13 Monate) auf die mikrobielle Biomasse und ihre Aktivität in 12 verschiedenen Böden. Die Autoren stellten fest, dass die gekühlte Lagerung eher zu einer Abnahme des mikrobiellen Biomasse-C führte als die Lagerung bei - 20 °C.

Gelangt organische Substanz in den Boden, so wird die mikrobielle Biomasse aktiviert und ihr Umsatz erhöht. Quantitativ ermittelt werden kann die Zunahme der mikrobiellen Biomasse, ausgedrückt in Biomasse-C oder -N $\mu g g^{-1}$ Boden, mittels der Chloroform-Fumigations-Extraktions-Methode, kurz CFE-Methode genannt (VANCE ET AL. 1987). Die Begasung (Fumigation) von Bodenmaterial mit Chloroform ($CHCl_3$) bewirkt bei lebenden Organismen eine Zerstörung der Zellmembran. Während der Begasungsdauer von 24 h kommt es durch autolytische Prozesse zum Abbau von Oligomeren und Monomeren. Dadurch steigt der

Anteil an extrahierbaren Substanzen gegenüber einer gleichbehandelten aber unbegasteten Bezugsprobe (JENKINSON 1966). Das Prinzip der CFE-Methode beruht darauf, dass die Zunahme an extrahierbaren Substanzen proportional zu der mikrobiellen Biomasse ist.

WICHERN ET AL. (2004) konnten nach 9 Tagen Inkubation eine Zunahme des Biomasse-C und Biomasse-N von jeweils 150 % im Vergleich zur Kontrolle nach Zugabe verschiedener Dünger und einer Wiederbefeuchtung des Bodens ermitteln. JOERGENSEN und RAUBUCH (2002) konnten durch Zugabe von Glukose eine Zunahme des Biomasse-C von $291 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden erreichen. Biomasse-N stieg dagegen nur um $15 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden. CHANDER und JOERGENSEN (2002) stellten nach Zugabe von ^{14}C -markierter Glukose zu bleikontaminierten Böden einen Anstieg des Biomasse-C zwischen 1 und $62 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden fest. CHANDER und JOERGENSEN (2001) untersuchten den Abbau von ^{14}C -markierter Glukose in Böden mit unterschiedlicher Schwermetallbelastung. Das mikrobielle Biomasse-C zeigte bei der geringsten Belastung die größte Zunahme ($250 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden); wurde mit der Glukose auch mineralischer Stickstoff verabreicht, lag das mikrobielle Biomasse-C noch um $110 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden darüber. In Untersuchungen von TARAFDAR ET AL. (2001) wurde durch Strohzugabe zu einem lehmigen Sand und anschließender Inkubation die mikrobielle Biomasse um 142 % erhöht. POTTHOFF ET AL. (2001) ermittelten nach Zugabe von Stroh eine Zunahme des mikrobiellen Biomasse-C von $380 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden und des Biomasse-N von $31 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden.

Die Bestimmung der pilzlichen Biomasse an der Gesamtbiomasse kann mit unterschiedlichen Methoden erfolgen. BAILEY ET AL. (2002) untersuchten das Verhältnis von pilzlicher zu bakterieller Biomasse mittels der Phospholipid-Fettsäure-Analyse. Die beiden wichtigsten indirekten Methoden sind die "selective inhibition technique" (ANDERSON und DOMSCH 1973) und die Messung von pilzspezifischen Komponenten, wie Ergosterol (DJAJAKIRANA ET AL. 1996). Ergosterol ist ein wichtiger Bestandteil der Zellmembran und für die Permeabilität, Mikroviskosität und die Aktivität der Enzyme, die für die Membranbindung zuständig sind, notwendig (PEACOCK und GOOSEY 1989). DJAJAKIRANA ET AL. (1996) fanden Ergosterolgehalte zwischen 0,8 und $12,9 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in verschiede-

nen Böden und einen Ergosterol/ C_{mik} -Quotienten zwischen 1,4 und 7,7. Bei Untersuchungen von AHL ET AL. (1998) in verschiedenen Böden und unterschiedlichen Tiefen lagen die Ergosterolgehalte im Bereich von $0,56 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in 30-50 cm Tiefe eines schluffigen Lehms und $2,49 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in einer Tiefe von 7-14 cm in einem sandigen Lehm. Das Verhältnis aus Ergosterol und mikrobieller Biomasse schwankte zwischen 0,27 und 0,95 %. JOERGENSEN ET AL. (2002) untersuchten eine kolluvierte Schwarzerde in verschiedenen Tiefen und fanden Ergosterolgehalte zwischen $0,07 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in 120 cm Tiefe und $1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in den oberen 30 cm. Der Quotient aus Ergosterol und C_{mik} lag zwischen 0,24 % in tieferen Schichten und 0,39 % im oberen Bereich des Bodens. CHANDER ET AL. (2002) fanden nach Einarbeitung mehrerer organischer Stoffe, darunter auch Jute, einen Anstieg der Ergosterolgehalte auf $4,02 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden nach 10 Tagen Inkubation; die Kontrolle zeigte einen Wert von $0,8 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden. Das Ergosterol/Biomasse-C-Verhältnis lag bei 1,46. Ebenso ermittelten POTTHOFF ET AL. (2001) nach Zugabe von Stroh einen Anstieg der Ergosterolgehalte von $6 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden zu Versuchsbeginn auf ca. $14 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden an Tag 8. Beide Autoren erklären den Anstieg von Ergosterol bei gleichbleibendem Biomasse-C mit einer Umstrukturierung der mikrobiellen Biomasse hin zu einem höheren Pilzanteil, da Materialien wie Cellulose, Hemicellulose und Lignin das Wachstum von Pilzen fördern.

3.3 Mineralisation von Kohlenstoff und Stickstoff durch die mikrobielle Biomasse

Durch die Einarbeitung von kohlenstoffhaltigen Substraten in den Boden, die bevorzugt von der mikrobiellen Biomasse umgesetzt werden sollen, können Umsatzrate, Wachstums- und Absterbephase der mikrobiellen Biomasse verfolgt werden. KÖGEL-KNABNER (2002) untersuchte die Mineralisation verschiedener organischer Substrate. So war nach 1 Woche die zugegebene Glukose zu 74 % und nach 28 Tagen zu 91 % mineralisiert. Von der Cellulose waren nach einer Woche 27 % und nach 28 Tagen 84 % mineralisiert. In einer Untersuchung von CHANDER und JOERGENSEN (2001) waren in einem mit Schwermetall belasteten Boden nach 10 Tagen 45 bis 60 % der zugegebenen Glukose mineralisiert. Umsatzraten von

82 Tagen für Glukose und 95 Tagen für Weidelgras konnten KOUNO ET AL. (2002) in einem Inkubationsexperiment ermitteln. GRANT ET AL. (1993a) konnten nachweisen, dass nach Zugabe von ^{14}C -markierter Glukose zu einem sandigen Lehmboden nach 36 Stunden bereits 96 % umgesetzt, aber nur 36 % veratmet waren. Cellulose-C wurde in den Konzentrationen 1000, 2000 und 4000 $\mu\text{g C g}^{-1}$ Boden zum Boden hinzugegeben und war nach 30 Tagen jeweils zu 50-60 % veratmet.

Im Gegensatz zum Kohlenstoff kann Stickstoff von der mikrobiellen Biomasse immobilisiert werden, d.h. er wird in organische Bindungsformen, wie Peptid oder Aminosucker bzw. -säuren, überführt und ist somit nicht mehr pflanzenverfügbar. Eine vorübergehende N-Immobilisation in der mikrobiellen Biomasse des Bodens und der organischen Substanz kann eintreten, wenn Material mit einem weiten C/N-Verhältnis (z.B. Cellulose oder Stroh) zugegeben wird. Hierdurch kann eine Auswaschung von Nitrat ins Grundwasser vermieden werden (VINTEN ET AL. 1998). Dominieren Bakterien den Abbau, kann die anfängliche Immobilisation genauso schnell ablaufen wie das Bakterienwachstum. Wenn Pilze dominieren, ist die Immobilisation weniger intensiv und die Remineralisation geringer als bei Bakterien (DE RUITER ET AL. 1993). Einen Einfluss auf die Remineralisation kann auch die Partikelgröße des eingearbeiteten Materials (BENDING und TURNER 1999) sowie die Anlagerung der organischen Substanz auf den Oberflächen der Bodenkolloide und der Tongehalt des Bodens haben (HASINK und WHITMORE 1997).

Nutzt die mikrobielle Biomasse nicht nur das zugegebene Substrat sondern auch die im Boden vorhandene organische Substanz, so spricht man von einem "Priming-Effect". Die Möglichkeit eines Priming-Effects ist bei leicht verfügbaren Substraten, wie Glukose, Fruktose oder mineralischen Nährstoffen, geringer als bei komplexeren Materialien, wie Weidelgras, Cellulose oder Weizenstroh (BINGEMAN ET AL. 1953). WU ET AL. (1993) konnten ebenso bei leicht verfügbarem (Glukose) sowie auch bei komplexerem Substrat (Weidelgras) einen Priming-Effect feststellen. Dieser stand allerdings bei Glukosezugabe in Abhängigkeit zur verabreichten Konzentration. So war der Priming-Effect bei einer Konzentration von 5000 $\mu\text{g C g}^{-1}$ Boden wesentlich höher als bei 500 $\mu\text{g C g}^{-1}$ Boden. Die Auto-

ren erklären dies mit einem durch die Molarität ausgelösten osmotischen Schock, der das Absterben der nativen Biomasse bewirkte. Dieser Unterschied, basierend auf der verabreichten Kohlenstoffkonzentration, konnte bei Weidelgraszugabe nicht festgestellt werden. CHANDER und JOERGENSEN (2001) konnten nach Zugabe von ^{14}C -markierter Glukose ein abnehmendes Biomasse- ^{12}C und ein zunehmendes $^{12}\text{CO}_2\text{-C}$ feststellen. Die Autoren führen das zusätzliche CO_2 auf die native mikrobielle Biomasse zurück, nicht jedoch auf die Mineralisation von bodenorganischer Substanz. KOUNO ET AL. (2002) stellten nach Einarbeitung von Glukose und Weidelgras dagegen bei beiden Substraten einen Priming-Effect fest. CONDE ET AL. (2005) konnten einen durch Ammonium begünstigten Priming-Effect vermehrt nach Zugabe von Mais und Glukose zu einem alkalischen Salzboden beobachten.

KUZYAKOV ET AL. (2000) geben einen Überblick der verschiedenen Mechanismen, die für einen Priming-Effect verantwortlich sein können. Die Autoren unterscheiden dabei zwischen einem positiven und einem negativen Priming-Effect. Als positiver Priming-Effect wird eine zusätzliche Mineralisation von organischem Kohlenstoff (DALENBERG und JAGER 1989) und als negativer Priming-Effect eine reduzierte Mineralisation nach Zugabe von leicht zersetzbaren organischen Substanzen zum Boden bezeichnet (KUZYAKOV ET AL. 2000). Tritt das Maximum des Priming-Effects zeitgleich mit dem Maximum der mikrobiellen Biomasse oder ihrer Aktivität auf, so handelt es sich um einen realen Priming-Effect. Unabhängig von der mikrobiellen Biomasse scheint der Priming-Effect zu sein, wenn das Maximum sehr kurz nach Zugabe des Substrates zum Boden erfolgt, ohne dass die mikrobielle Biomasse ausreichend aktiviert wurde bzw. ihre Menge sich geändert hat. Als dritte Variante des Priming-Effects nennen KUZYAKOV ET AL. (2000) eine Induzierung durch das Freiwerden der Nährstoffe aus toten Mikroorganismen. Dies ist der Fall, wenn der Priming-Effect auftritt währenddessen die mikrobielle Biomasse wieder abnimmt oder ihr Maximum schon überschritten hat. FONTAINE ET AL. (2003) postulieren den Priming Effect als Ergebnis einer Konkurrenz um Nährstoffe und Energie zwischen den Mikroorganismen, die sich darauf spezialisiert haben, die frische organische Substanz abzubauen (r-Strategen) und

denen, die als Quelle die polymerisierte bodenorganische Substanz verwenden (k-Strategen).

3.4 Abbau von Cellulose durch Mikroorganismen

Cellulose ist das am häufigsten vorkommende Biopolymer und besteht ausschließlich aus D-Glukoseeinheiten. Diese sind durch β -1,4-Bindungen zu langen Ketten verknüpft, die aus bis zu 14000 Molekülen bestehen können. Diese Ketten werden durch interne Wasserstoffbrücken miteinander verbunden und liegen dadurch als stabile kristalline Fibrillen in der Zellwand von Pflanzen vor. Es handelt sich hier um ein Polysaccharid, dessen Moleküle ein hohes Molekulargewicht aufweisen und daher von den Mikroorganismen nicht in dieser Form aufgenommen werden können. Diese Makromoleküle müssen erst außerhalb der Zellwand enzymatisch durch Endo-Glucanasen gespalten und damit der kristalline Zusammenhalt in eine amorphe Form überführt werden. Dabei entstehen neue freie Enden an den Glukoseketten, von denen durch Exoglucanasen schrittweise Cellobiose (ein Disaccharid) abgespalten wird. Diese Disaccharide werden durch weitere Enzyme, die Glucosidasen, zu monomerer Glukose hydrolysiert. Diese Zuckereinheiten können von den Mikroorganismen aufgenommen und vollständig als Kohlenstoff und Energiequelle verwertet werden (HAIDER 1999).

Abgebaut wird die kristalline Cellulose überwiegend von Pilzen, aber auch von aeroben und anaeroben Bakterien. Maßgeblich daran beteiligt sind Pilze der Gruppe der Basidiomyceten (Weiß- und Braunfäulepilze) sowie der Ascomyceten und Fungi imperfecti (*Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Verticillium*). Zu den bodenbürtigen celluloseabbauenden Bakterien gehören die aeroben Gattungen, wie z.B. *Cellulomas*, *Bacillus*, *Cellvibrio*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces* und *Pseudomonas*, aber auch anaerobe Bakterien wie *Clostridium*, *Bacteroides* und *Micromonospora* (HAIDER 1996).

3.5 Einsatz von natürlichen ^{13}C -Vorkommen zur Verfolgung von Kohlenstoffflüssen

Im Durchschnitt liegen 98,89 % aller Kohlenstoffe als ^{12}C -Atome vor und nur 1,11 % als ^{13}C -Atome. Angegeben wird dieses Verhältnis in delta (δ) Promille. Die massenspektrometrische Bestimmung findet stets gegen einen international anerkannten Standard statt, dessen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert auf 0 ‰ gesetzt wurde (Abb. 1). Bei Kohlenstoff ist dies ein fossiler Kohlenstoff aus der Kreidezeit *Bellemnitella americana* aus der Peedee Formation in Süd Carolina, USA (PDB, PeeDeeBelmnite). Das Verhältnis dieser beiden Isotope in natürlichen Materialien als Ergebnis isotopischer Fraktionierung während physikalischer, chemischer und biologischer Prozesse, variiert nur geringfügig um diesen Durchschnittswert (BOUTTON 1991). So wird z.B. durch Prozesse, wie Evaporation und Kondensation, gegen das schwerere Isotop diskriminiert, wodurch das Kondensat isotopisch leichter ist als das Ausgangsmaterial (BARRIE und PROSSER 1996). Über das Isotopenverhältnis kann der jeweilige Anteil an $\text{C}_4\text{-C}$ bzw. $\text{C}_3\text{-C}$ in den für die bodenbiologischen Prozesse wichtigen Kompartimenten (Boden, mikrobielle Biomasse und CO_2) berechnet werden. In zahlreichen Studien wird die Veränderung von C_4 -bürtigem Kohlenstoff im Boden, in der mikrobiellen Biomasse sowie im CO_2 des Bodens nach einer Vegetationsänderung von C_3 auf C_4 beschrieben (GREGORICH ET AL. 1996, COLLINS ET AL. 1999, GREGORICH ET AL. 2000, LUDWIG ET AL. 2003).

3.5.1 ^{13}C -Fraktionierung bei Pflanzen

In Bezug auf das System Boden-Pflanze können mittels des natürlichen Vorkommens von ^{13}C Kenntnisse darüber gewonnen werden, ob z.B. ein Wechsel in der Vegetation von C_3 - zu C_4 -Pflanzen stattgefunden hat. Pflanzen mit einem C_3 -Photosyntheseweg reduzieren CO_2 zu Phosphoglycerin, einer C_3 -Komponente, über das Enzym Ribulose-Biphosphate-Carboxylase/Oxygenase (RuBisCo). C_4 -Pflanzen reduzieren CO_2 zu Aspargin oder Apfelsäure, beides C_4 -Komponenten, über das Enzym Phosphoenolpyruvat (PEP)-Carboxylase. C_4 -Pflanzen diskriminieren also weniger gegen $^{13}\text{CO}_2$ als C_3 -Pflanzen und haben daher auch einen

höheren $\delta^{13}\text{C}_{PDB}$ zwischen -9 und -17 ‰PDB (Abb. 1). Bei C_3 -Pflanzen liegt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert zwischen -22 und -32 ‰PDB (BOUTTON 1996). DIELS ET AL. (2001) untersuchten verschiedene Pflanzenarten auf ihren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert hin und fanden eine Amplitude für C_3 -Pflanzen zwischen -25,8 und -29,9 ‰PDB und für C_4 -Pflanzen von -10,0 bis -14,3 ‰PDB.

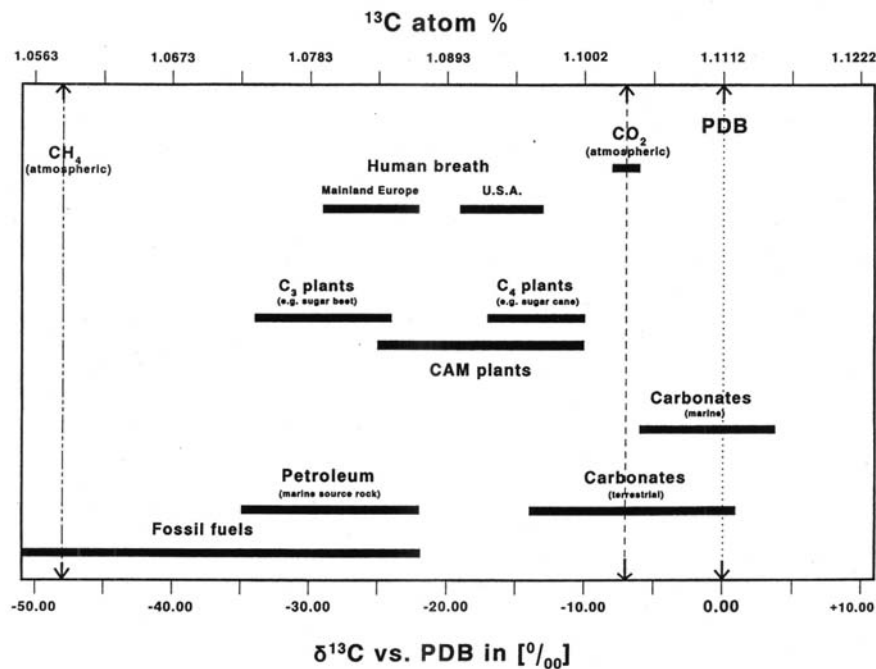


Abbildung 1: Beispiele für natürliche $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und das prozentuale Vorkommen von ^{13}C -Atomen. Quelle: MEIER-AUGENSTEIN (1999)

Innerhalb verschiedener Pflanzenteile differiert der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ebenfalls. WINKLER ET AL. (1978) untersuchten von mehreren Pflanzenarten verschiedene Pflanzenteile auf ihre isotopische Zusammensetzung. So lag der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von Weizenblättern zwischen -29,7 und -32,1 ‰PDB und derjenige der Halme zwischen -30,5 und -32,8 ‰PDB. Bei Mais reichten die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Blätter von -11,0 bis -12,2 ‰PDB und die der Halme von -12,9 bis -13,5 ‰PDB. Werden aus Pflanzen oder bestimmten Pflanzenteilen Inhaltsstoffe extrahiert, so unterscheiden sich diese in ihrem Isotopenverhältnis vom Ausgangsmaterial her. Pektine, Aminosäur-

en, Hemicellulose und Zucker tendieren eher zu einer Anreicherung an ^{13}C . Cellulose, Lignin und Lipide neigen dagegen zur Abreicherung, d.h. ihr $\delta^{13}\text{C}$ -Wert wird negativer (BOUTTON 1996). In einer Untersuchung von verschiedenen Pflanzenmaterialien auf ihr Kohlenstoffisotopenverhältnis hin fanden BENNER ET AL. (1987) eine Anreicherung von ^{13}C bei Cellulose und Hemicellulose von ungefähr 2 ‰PDB und eine Abreicherung bei Lignin bis zu 6 ‰PDB.

3.5.2 ^{13}C -Diskriminierung durch Mikroorganismen

In einem ungestörten System hat die organische Substanz eines Bodens nahezu den gleichen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert wie die Pflanzengesellschaft, aus der sie sich entwickelt hat (BOUTTON 1996). Die mikrobielle Biomasse ist der lebende Teil der bodenorganischen Substanz (vgl. Kapitel 3.2, S. 5) und kann als eine Station verstanden werden, die alle in den Boden eingearbeiteten Materialien aufnimmt und in neue Komponenten umwandelt. Diese werden anschließend entweder aktiv oder passiv in einen anderen Pool entlassen (RYAN ET AL. 1995). Bei dieser Umwandlung der eingearbeiteten Materialien durch die mikrobielle Biomasse kommt es zu einem isotopischen Effekt, für den sich in der Literatur zwei Erklärungen finden lassen.

1. Während des Metabolismus werden bei der katabolischen Reaktion leichtere Moleküle (^{13}C -abgereichert) bevorzugt. Das bedeutet, dass mikrobielles CO_2 ein geringeres $\delta^{13}\text{C}$ aufweist als das veratmete Material. Die schwereren Moleküle verbleiben in der mikrobiellen Biomasse und führen zu einer Anreicherung nicht nur der mikrobiellen Biomasse selbst, sondern auch der organischen Substanz des Bodens (BLAIR ET AL. 1985, NADELHOFFER und FREY 1988, ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. 2000a).
2. Bodenheterotrophe Mikroorganismen selektieren die verwendeten organischen Materialien, die sich in Alter, Herkunft und Grad der Zersetzung unterscheiden und daher auch in chemischer und isotopischer Zusammensetzung differieren. Wenn leicht verfügbare Komponenten, die ^{13}C -angereichert sind, verbraucht werden, ist das verbleibende organische

Material ^{13}C -abgereichert. Werden im Gegensatz dazu komplexere Komponenten mit höherem ^{12}C -Anteil (z.B. Lignin oder Lipide) mineralisiert, so ist die verbleibende organische Substanz ^{13}C angereichert (DEINES 1980, ÅGREN ET AL. 1996).

Diese Veränderung lässt sich sowohl in der mikrobiellen Biomasse als auch im CO_2 , das durch die Veratmung von organischer Substanz freigesetzt wird, nachweisen. Das Kohlenstoffisotopenverhältnis der mikrobiellen Biomasse lässt sich nicht auf direktem Wege bestimmen, sondern nur über den freigesetzten Kohlenstoff. Am häufigsten und erfolgreichsten angewandt wurde die Kombination der Chloroform-Fumigations-Extraktion (JOERGENSEN 1995) mit der Bestimmung der natürlichen ^{13}C -Vorkommen (RYAN und ARAVENA 1994, GREGORICH ET AL. 2000, POTTHOFF ET AL. 2003, JOHN ET AL. 2003). So fanden RYAN und ARAVENA (1994) Werte für die mikrobielle Biomasse von $-16,9 \text{ ‰ PDB}$ unter Mais (nach 6-jährigem Vegetationswechsel), in einem Boden unter C_3 -Bewuchs lag der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der mikrobiellen Biomasse zwischen $-24,5$ und $-26,1 \text{ ‰ PDB}$. BRUULSEMA und DUXBURY (1996) ermittelten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der mikrobiellen Biomasse im Boden unter Mais von -21 bis $-24,5 \text{ ‰ PDB}$ und unter Weizen von $-23,4$ bis $-24,4 \text{ ‰ PDB}$. Kohlenstoffisotopenverhältnisse von $-16,6$ bis $-18,4 \text{ ‰ PDB}$ in verschiedenen Böden unter Mais fanden GREGORICH ET AL. (2000). Das von der mikrobiellen Biomasse freigesetzte CO_2 unterscheidet sich ebenfalls in seiner isotopischen Zusammensetzung je nach Substrat, das den Mikroorganismen zur Verfügung stand. So liegt der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des CO_2 eines C_3 -Bodens bei -22 ‰ PDB und der eines C_4 -Bodens bei -8 ‰ PDB (BOUTTON 1996). $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des CO_2 von $-26,5 \text{ ‰ PDB}$ bei einem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Bodens von $-28,3 \text{ ‰ PDB}$ fanden BUCHMANN ET AL. (1997, 1998). ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. (2000b) konnten eine Anreicherung des $\delta^{13}\text{CO}_2$ von $0,9 \text{ ‰ PDB}$ in einem Boden mit C_4 -Bewuchs nachweisen.

3.5.3 Bestimmung des prozentualen Anteils eines zugegebenen Substrates

Über die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes lässt sich auch der prozentuale Anteil einer zugegebenen Substanz am Gesamtanteil des Kompartimentes, z.B. der mikrobiellen Biomasse-C, ermitteln. POTTHOFF ET AL. (2005) ermittelten nach Ein-

arbeitung von Mais in einen Graslandboden einen markierten Anteil der mikrobiellen Biomasse zwischen 73 und 78 %. In einem Experiment von GUGGENBERGER ET AL. (1999) lag 4 Tage nach Zugabe von ^{13}C -markierter Stärke zu einem Feinlehm (Duroc Lehm) gemischt mit Löß und Alluvium der Anteil der markierten Biomasse bei 45 und 55 %. JOHN ET AL. (2003) untersuchten den Einfluss einer Langzeitdüngung auf gesamt- C_{mik} , CO_2 und weitere bodenbiologische Größen sowie den maisbürtigen Anteil darin. Die Autoren inkubierten Boden aus einem Langzeitversuch über einen Zeitraum von 280 Tagen und konnten einen maisbürtigen Anteil im C_{mik} zwischen 23 und 46 % und im CO_2 zwischen 42 und 79 % nachweisen. VANLAUWE ET AL. (1994) ermittelten nach Zugabe von ^{14}C -markierten Maisblättern zu einem Alfisol einen maisbürtigen Anteil von 93 % zu Versuchsbeginn, von 44 % an Tag 2 und von 40 % an Tag 23.

4 Material und Methoden

4.1 Bodeneigenschaften

Der verwendete Boden stammte aus dem Versuchsgut Frankenhäusen der Universität Kassel und wurde den oberen 10 cm entnommen. Der Gehalt an organischem Kohlenstoff (C_{org}) lag bei 12,5 % und der des Gesamtstickstoffs (N_t) bei 1,2 % (s. Tab. 1). C_{mik} und N_{mik} lagen bei 98 bzw. 17,8 $\mu\text{g g}^{-1}$, der Ergosterolgehalt bei 0,45 $\mu\text{g g}^{-1}$. Die Korngrößenfraktionen teilten sich auf in 80 % Schluff, 17,2 % Ton und 3,5 % Sand. Die Wasserhaltekapazität lag bei 50 % und der pH-Wert bei 7,4.

Tabelle 1: Eigenschaften des verwendeten Bodens

C_{org} (%)	N_t (%)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	C_{mik}	N_{mik} $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden	Ergosterol
1,3	0,12	-26,5	98	17,8	0,45
WHK (%)	KAK $\mu\text{mol}_C \text{ g}^{-1}$	Sand (%)	Ton (%)	Schluff (%)	pH
50	135	3,5	17,2	80	7,4

4.2 Herstellung und Merkmale der Additive

Der verwendete Rohrzucker stammt aus handelsüblicher Herstellung. Der C-Gehalt lag bei 41 %, der N-Gehalt bei 0,1 % und der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert bei -10,5 ‰PDB. Die C_3 -Cellulose (SigmaCell Typ 20, Best.-Nr. S-3504) mit einer Partikelgröße von 20 μm (Fa. Sigma, Deutschland) wies einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -24,5 ‰PDB und einen C-Gehalt von 41 % auf.

Die Cellulose wurde in zwei verschiedenen Verfahren hergestellt. Zum einen durch die Extraktion aus Mais (*Zea mays*) nach LAWATHER ET AL. (1995) (Tab. 2)

und zum anderen durch die Anzucht von *Acetobacter xylosum*, einem Cellulose produzierenden Bakterium.

Tabelle 2: Herstellung der Cellulose aus *Zea mays*, verändert nach LAWTHOR ET AL. (1995)

Schritt	Behandlung	Zeit/Temperatur
1	Trocknen bei Raumtemperatur, Zerkleinern ca. 0,5 cm ²	
2	davon 20 g auf 2,5 l Phosphatpuffer (pH 7,5), Trypsin (2,5 mg g ⁻¹ Stroh)	6 h bei 40 °C
3	2 l destilliertes Wasser	2 x 2 h kochen
4	1 l Ammoniumoxalat (0,25 %)	4 h bei 85 °C
5	1 l Ethanol (80 %)	3 h kochen
6	1 l Dimethylsulfoxid (70 ml l ⁻¹ Stroh)	2 h bei 80 °C
7	1 l Kaliumhydroxid (10 %), Natriumborat (0,05 %)	16 h bei 20 °C
8	1 l Essigsäure (10 %, 60 ml l ⁻¹ H ₂ O), Natriumchlorit (30g l ⁻¹ H ₂ O)	1 h bei 75 °C
9	10 ml Essigsäure (10 %) dazu geben + Natriumchlorit (15g l ⁻¹ H ₂ O) dazugeben	1 h bei 75 °C
10	3 x Waschen mit destilliertem Wasser	

Die Herstellung der C₄-Cellulose erfolgte durch Anzucht von Cellulose produzierenden Bakterien auf einer Rohrzuckerlösung (1 %) mit Pepton (0,5 %), Hefeextrakt (0,5 %) und 0,1 M Kaliumphosphat. Die Anzucht erfolgte in 3 l Erlenmeyerkolben, um ein möglichst hohes Verhältnis zwischen Volumen und Oberfläche zu erreichen. Die Inkubationszeit betrug 14 Tage bei 30 °C. Die Cellulosescheibe wurde von dem Nährmedium getrennt, gut mit H₂O gewaschen und insgesamt fünf mal in 400 ml 2 M NaOH 30 min. gekocht. Nach dem dritten Kochvorgang erfolgte ein Zerkleinern der Cellulosescheibe mit einem Pürierstab. Nach Abschließen der Kochvorgänge wurde die Cellulose solange mit dest. Wasser gespült, bis sich ein neutraler pH-Wert eingestellt hatte. Anschließend wurde die Cellulose in Petrischalen überführt und gefriergetrocknet.

Die Produktion der C₄-Cellulose von *Acetobacter xylosum* lag bei 280 mg l⁻¹ Nährmedium (Tab. 3) in einem Zeitraum von 14 Tagen. Für den hier gewählten

Versuchsansatz hat sich demnach die Produktion der C₄-Cellulose von *Acetobacter xyloxydans* als zu gering erwiesen. Daher wurde die von *Zea mays* abstammende C₄-Cellulose für die Versuchsdurchführung verwendet.

Tabelle 3: Ausbeute und Merkmale der Cellulose aus *Zea mays* und *Acetobacter xyloxydans*

Cellulosequelle	Celluloseausbeute	C (%)	$\delta^{13}\text{C}$ (‰PDB)
<i>Acetobacter xyloxydans</i>	280 mg*	40	-12
<i>Zea mays</i> (Blatt)	20 %	41	-10,5
<i>Zea mays</i> (Halm)	41 %	41	-10,5

*pro Liter Nährmedium

4.3 Dynamische Mikrokosmenanlage

Für die Installation der Mikrokosmenanlage wurde in einem Klimaschrank eine Vorrichtung zur Spülung von 21 Gefäßen mit Labordruckluft installiert. Jedes Inkubationsgefäß wurde über einen Schlauch an einen Gasverteilerrechen angeschlossen (Abb. 2). Mittels Teflonhähne konnte der Gasstrom für jedes Inkubationsgefäß individuell eingestellt werden. Somit war jedes Gefäß für sich steuerbar und die Luftzufuhr konnte unabhängig von den anderen Gefäßen eingestellt werden. Der Luftstrom betrug während der Inkubationsdauer ca. 80 ml min⁻¹. Gemessen und überprüft wurde dieser mittels eines Blasen Zählers der Fa. Ochs, Göttingen. Damit eine vollständige Spülung der Gefäße gewährleistet werden konnte, wurde die Luft durch einen perforierten Silikonschlauch im Innern des Gefäßes auf ein Glasfaservlies geleitet. Dieses sollte eine Austrocknung des Bodens verhindern. Ein Anfeuchten des Vlieses erfolgte jeweils nach 3 Tagen, wobei ca. 10 ml dest. Wasser auf das Vlies aufgesprüht wurden.

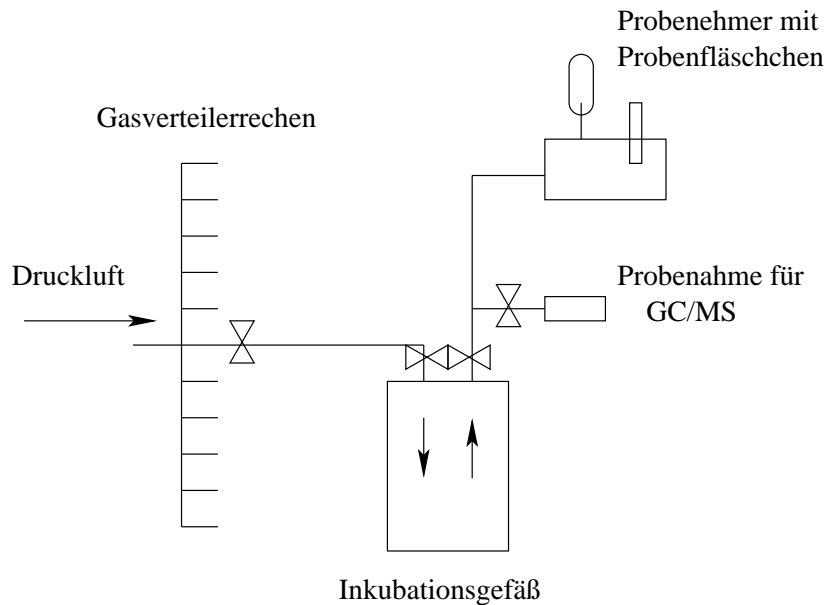


Abbildung 2: Aufbau der dynamischen Mikrokosmenanlage

4.4 Gesamtstickstoff, mineralischer Stickstoff und Gesamtkohlenstoff

Die Bestimmung von Gesamtstickstoff und -kohlenstoff erfolgte nach Verbrennung bei 900 °C gaschromatographisch mit dem Elementaranalyser (VarioMAX) am Institut für Bodenwissenschaften der Universität Göttingen.

Mineralischer Stickstoff wurde mittels der Kontinuierlichen Durchflussanalyse photometrisch mit dem Autoanalyser der Fa. Alliance Instruments GmbH gemessen.

4.5 Mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff

Der mikrobielle Kohlenstoff und Stickstoff wurde nach der Chloroform-Fumigations-Extraktionsmethode (CFE-Methode) von VANCE ET AL. (1987) bestimmt. Die Molarität des Extraktionsmittels wurde auf 0,05 M abgesenkt, da es mit 0,5 M K_2SO_4 zu Problemen bei der massenspektrometrischen Bestimmung kommen kann (POTTHOFF ET AL. 2003).

Es wurde eine feuchte Bodenprobe von 30 g in zweimal 15 g geteilt. Eine der beiden Proben wurde 24 h mit CHCl_3 begast. Nach der Fumigation wurde diese Probe, ebenso wie die unbegaste Probe, mit 60 ml 0,05 M (BRUULSEMA und DUXBURY 1996, GAILLARD ET AL. 1999) 30 min. lang auf einem Horizontalschüttler bei 200 rev min^{-1} extrahiert. Anschließend wurde zur Trennung von Boden und Extrakt bei 800g 45 min lang zentrifugiert, der Überstand mit einer Pasteurpipette abgenommen und in ein separates Probengefäß überführt. Bis zur Analyse wurden die Proben im gefrorenen Zustand bei $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ gelagert.

Die Bestimmung des organisch gebundenen Kohlenstoffs erfolgte am Dimatoc 100 der Fa. Dimatec durch eine thermisch-katalytische Oxidation bei $850 \text{ }^\circ\text{C}$. Das dabei entstandene CO_2 wurde mittels Infrarotspektrometrie gemessen. Die Messung des gebundenen Stickstoffs basierte auf der Chemolumineszenzdetektion. Hierbei wird das stickstoffhaltige Gas der am Dimatoc thermisch-katalytisch aufgeschlossenen Probe bei $330 \text{ }^\circ\text{C}$ im Dima-N in reines Stickstoffmonoxid (NO) überführt. Durch die Zugabe von Ozon (O_3) entsteht angeregtes Stickstoffdioxid (NO_2^*), das sofort nach seiner Bildung wieder in Stickstoffmonoxid und Sauerstoff (O_2) zerfällt. Die hierbei abgegebene Energie kann als Strahlung im Bereich des roten und des infraroten Lichtes durch einen Photomultiplier erfasst werden.

Die Berechnung erfolgte über den Zusammenhang: $\text{Biomasse-C} = E_C/k_{EC}$, wobei E_C den organischen Kohlenstoff aus der fumigierten Probe minus dem organischen Kohlenstoff aus der nicht fumigierten Probe darstellt und $k_{EC} = 0,45$ ist (WU ET AL. 1990, JOERGENSEN 1996). $\text{Biomasse N} = E_N/k_{EN}$, wobei E_N das gesamt N aus der fumigierten Probe minus dem Gesamt-N aus der nicht fumigierten Probe darstellt und $k_{EN} = 0,54$ ist (JOERGENSEN und MUELLER 1996).

4.6 Ergosterol

Die Ergosterolbestimmung erfolgte nach DJAJAKIRANA ET AL. (1996). Dafür wurden 2 g feldfeuchter Boden in Braunglas-Weithalsflaschen (100 ml) eingewogen. Anschließend wurde die Probe mit 100 ml Ethanol versetzt und auf dem Horizontalschüttler 30 min bei 250 rev min^{-1} extrahiert. Die Trennung von Boden

und Extrakt erfolgte über einen Glasfieberfilter (Watman GF/A) in einer Absauganlage. Der Extrakt wurde in einen 250 ml Rundkolben aufgefangen und anschließend in einem Rotationsverdampfer bei 40 °C Wassertemperatur und 150 rev min⁻¹ eingengt. Der Rückstand im Rundkolben wurde in 9 ml Methanol gelöst und in einen 10 ml Messkolben überführt. Anschließend wurde das Methanol durch einen Spritzmembranfilter (Cellulose-Acetat-Filter, 2 cm Durchmesser, Porengröße 0,45 µm) gegeben. Die Analyse erfolgte mittels der HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) mit dem Detektor UVD 170 S der Firma Dionex und einer Wellenlänge von 282 nm. Die Trennung erfolgte bei 26 °C auf der Trennsäule Spherisorb ODS II 5 µm Durchmesser. Als mobile Phase wurde 100 % Methanol verwendet, die Flussrate betrug 1,1 ml min⁻¹.

Die Berechnung erfolgte nach untenstehender Formel:

$$\text{Ergosterol } [\mu\text{g g}^{-1} \text{ Boden}] = \frac{\mu\text{g ml}^{-1} \text{ Ergosterol im Extrakt}}{TS} \times 10 \quad (1)$$

4.7 CO₂-Bestimmung

Die Entnahme der Gasproben aus den Mikrokosmen erfolgte mittels eines batteriebetriebenen Gasprobenehmers, auf den zuvor eine evakuierte Gasprobenflasche mit einem Volumen von 100 ml aufgesteckt wurde. Vor der Probenahme ermöglichte der Gasprobenehmer ein Spülen der Ansaugleitung mit dem Gas des Inkubationsgefäßes sowie eine Überprüfung auf Dichtigkeit der evakuierten Probenflaschen (LOFTFIELD ET AL. 1997).

Die Gasanreicherungszeit variierte je nach Probenahmezeitpunkt und der im Mikrokosmos befindlichen Bodenmenge zwischen 30 min und 24 h. Um einen Unterdruck im Gefäß zu vermeiden, wurde dieses nach der ersten Probenahme 2 min mit Labordruckluft gespült. Die quantitative CO₂-Bestimmung erfolgte mit einem von LOFTFIELD ET AL. (1997) entwickelten Gasanalysesystem (Probe 64), bestehend aus einem Autosampler für Gassammelflaschen und einem Gaschromatographen der Firma Shimadzu (14 B), der mit einem ⁶³Ni-ECD (Electron Capture Detektor) ausgestattet war.

Die Errechnung der Gasflussrate erfolgte anhand der Änderung der Gaskonzentration im Headspace des Inkubationsgefäßes nach folgender Gleichung:

$$CO_2 - C [\mu g g^{-1} Boden h^{-1}] = \frac{dc}{dt} \times 10^{-6} \times h \times \left(\frac{Mi \times 10^6 \times Vh}{MV \times B} \right) \times R \quad (2)$$

$\frac{dc}{dt}$ = Konzentrationsänderung, h = Zeit, Mi = Molmasse CO₂ = 12 g mol⁻¹, Vh = Volumen des Leerraumes, MV = Molvolumen CO₂ = 22,26 l mol⁻¹, B = Bodenmenge, R = Reduktionsfaktor 0,9278 = po/pa*(1+0,00367+Ta), (po Normaldruck, pa Luftdruck bei Probenahme, Ta Lufttemperatur bei Probenahme)

4.8 Bestimmung des $\delta^{13}C$ -Wertes

Der $\delta^{13}C$ -Wert wird berechnet aus dem gemessenen Kohlenstoffisotopenverhältnis der Probe und des Pee Dee Belmnite Standard (BOUTTON 1991). Als interner Standard wurde Acetanilid ($\delta^{13}C$ -29,5 ‰PDB) verwendet.

$$\delta^{13}C = \frac{R_{Sample} - R_{Standard}}{R_{Standard}} \times 1000 \quad (3)$$

R_{Sample} = 13/12C der Probe, $R_{Standard}$ = 13/12C der Pee Dee Belmnite = 0,0112372

Der jeweilige Anteil der C-Fractionen (x) berechnet sich nach BALESIDENT und MARIOTTI (1996).

$$\delta_s = x\delta_{C4} + (1 - x)\delta_{C3} \text{ oder } x = \frac{\delta_s - \delta_{C3}}{\delta_{C4} - \delta_{C3}} \quad (4)$$

δ_s = $\delta^{13}C$ der Probe, δ_{C3} und δ_{C4} = $\delta^{13}C$ der C3- und C4-Kohlenstoffquelle

Für die Bestimmung des $\delta^{13}C$ -Wertes im Boden wurde dieser bei 40 °C getrocknet, gemahlen und in Zinnkapseln eingewogen. Die Bestimmung erfolgte im Massenspektrometer (Finnigan MAT 251) mit vorgeschaltetem Elementaranalyser (Carlo-Erba 1500).

Der $\delta^{13}C$ -Wert der mikrobiellen Biomasse wurde anhand der CFE-Extrakte bestimmt. Dazu wurden 17 ml des Extraktes gefriergetrocknet und anschließend in

Zinnkapseln eingewogen. Dabei war zu beachten, dass das Probengewicht nicht mehr als 80 mg betrug, da es bei höheren Probengewichten zu Problemen bei der Verbrennung im Massenspektrometer kam.

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der mikrobiellen Biomasse wurde aus der Differenz zwischen den Isotopenverhältnissen, bezogen auf den Kohlenstoffgehalt der fumigierten und nicht fumigierten Probe, ermittelt (RYAN ET AL. 1995):

$$\delta^{13}C_{mik} = \frac{\delta^{13}C_{FUM} \times C_{FUM} - \delta^{13}C_{CON} \times C_{CON}}{C_{FUM} - C_{CON}} \quad (5)$$

C_{FUM} = C-Gehalt des Extraktes der fumigierten Probe, $\delta^{13}C_{FUM}$ = $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Extraktes der fumigierten Probe, C_{CON} = C-Gehalt des Extraktes der nicht fumigierten Probe, $\delta^{13}C_{CON}$ = $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Extraktes der nicht fumigierten Probe

Für die Bestimmung des $\delta^{13}\text{CO}_2$ wurde das CO_2 im Leerraum des Gefäßes angereichert. Bei der Kontrolle betrug die Anreicherungszeit 24 h und bei den Proben mit Zugabe je nach Probenahmezeitpunkt zwischen 1 und 24 h. Mit einer Spritze wurden 2 x 60 ml des Luftgemisches aus dem Mikrokosmos entnommen. Die ersten 60 ml dienten zum Spülen der Spritze, die zweiten 60 ml wurden in ein 2 ml Probenvial überführt. Dazu wurde in das Septum des Vials eine zweite Kanüle eingestochen, um eine Spülung des Vials zu gewährleisten. Als interner $\delta^{13}\text{CO}_2$ -Standard (ISO-TOP -25,3 ‰PDB) wurden 3 Proben in gleicher Weise in die Vials überführt und analysiert. Zusätzlich wurde in 3-facher Wiederholung die Laborluft mitbeprob (-9 ‰PDB). Die Analyse erfolgte mit dem GC-IRMS (Finnigan MAT, Delta C). Die Berechnung des $\delta^{13}\text{CO}_2$ der Gasprobe (δ_{BP}) des Bodens berechnete sich wie folgt:

$$\delta^{13}CO_{2BP} = \frac{(\delta_{PROBE} - \delta_{LUFT}) \times \left(\frac{CO_{2LUFT}}{CO_{2PROBE}}\right) \times CO_{2PROBE}}{(CO_{2PROBE} - CO_{2LUFT})} \quad (6)$$

δ_{PROBE} = $\delta^{13}\text{CO}_2$ der Gasprobe des Bodens, δ_{LUFT} = $\delta^{13}\text{CO}_2$ der Labordruckluft, CO_{2PROBE} = CO_2 -Konzentration der Gasprobe des Bodens, CO_{2LUFT} = CO_2 -Konzentration der Labordruckluft

4.9 Berechnung der mikrobiellen Residuen

Der Kohlenstoffgehalt der mikrobiellen Residuen (C_{Res}) errechnete sich unter der Annahme, dass aller C_4 -Kohlenstoff von der mikrobiellen Biomasse umgesetzt wurde, aus der Differenz des im Boden bestimmten C_4 -Kohlenstoffs ($C_4 - C_{Boden}$) und dem C_4 -Kohlenstoff der mikrobielle Biomasse ($C_4 - C_{mik}$).

$$C_{Res} = C_4 - C_{Boden} - C_4 - C_{mik} \quad (7)$$

Der in den mikrobiellen Residuen befindliche Stickstoff (N_{Res}) berechnete sich aus der Differenz des immobilisierten Stickstoffs (N_{imb}) und dem der mikrobiellen Biomasse (N_{mik}).

$$N_{Res} = N_{imb} - N_{mik} \quad (8)$$

4.10 Statistische Auswertung

Die Verarbeitung der Daten und die statistische Auswertung wurde mit dem Programm StatView (SAS) und MS Excel 4.0 durchgeführt. Die grafische Darstellung erfolgte mit dem Programm Sigma Plot 2000. Es wurde eine Varianzanalyse (ANOVA) mit anschließendem Tukey-Kramer-Test (α 0,05) durchgeführt. Die Differenz zwischen den Mittelwerten der Varianten wurde als signifikant angesehen, wenn sie größer war als die Grenzdifferenz (CD = Critical Difference).

Am 45. Inkubationstag des ersten Versuches kam es zu messtechnischen Problemen bei der Bestimmung des mikrobiellen Stickstoffs, der Wert dieses Termines wurde daher aus dem Mittel der Werte von Tag 38 und 68 errechnet.

5 Abbau von C₄-Rohrzucker und C₄-Cellulose mit N-Ausgleich in einem Lößboden

5.1 Methodische Aspekte

5.1.1 Vorbehandlung des Bodens

Der Boden wurde 1 Monat vor Beginn der ersten Versuchshälfte gesiebt und anschließend tiefgefroren. 5 Tage vor Versuchsbeginn wurde der Boden im Kühlschrank gelagert und 1 Tag zuvor bei Raumtemperatur 24 h adaptiert.

5.1.2 Versuchsdurchführung

Die Versuchsdauer betrug 67 Tage bei 25 °C und wurde in einer dynamischen Mikrokosmenanlage durchgeführt (s. Abb. 2). Es wurden 400 g Boden (WHK 50 %) in ein Inkubationsgefäß (1,5 l) eingewogen. Die Probenahme erfolgte jeweils am 5., 12., 33., 38., 45. und 67. Tag. Bei jedem Probenahmetermin wurden 50 g des Bodens aus dem Gefäß entnommen. Am 33. Tag wurde in 6 der 12 Parallelen jeder Variante 3 mg C₃-Cellulose-C g⁻¹ Boden eingearbeitet. Dazu wurde der Boden aus dem Gefäß genommen, ausgebreitet und die Cellulose homogen eingearbeitet. Die Anordnung der Gefäße wurde vollständig randomisiert. Der Inkubationsversuch wurde aus arbeitstechnischen Gründen in zwei Durchgängen mit jeweils 6 Parallelen pro Variante durchgeführt. Folgende Varianten wurden für den Versuchsansatz gewählt:

- **Kontrolle:** ohne Zugabe
- **Cellulose:** 3,0 mg C₄-Cellulose-C g⁻¹ Boden
+ 200 µg NH₄NO₃-N g⁻¹ Boden zu Beginn der Inkubation
- **Rohrzucker:** 3,0 mg C₄-Rohrzucker-C g⁻¹ Boden
+ 200 µg NH₄NO₃-N g⁻¹ Boden zu Beginn der Inkubation

Die Varianten, die am 33. Inkubationstag C₃-Cellulose erhielten, sind mit "+C" gekennzeichnet.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Mineralisation von Kohlenstoff und Stickstoff

An Tag 5 konnten in der Cellulosevariante noch 1,73 mg C₄-C g⁻¹ Boden und bei der Rohrzuckervariante 1,15 mg C₄-C g⁻¹ Boden nachgewiesen werden. Bis Tag 33 nahmen die Gehalte an C₄-C auf einen Wert von 0,91 mg g⁻¹ Boden bei Cellulose und 0,76 mg g⁻¹ Boden bei Rohrzucker ab (Abb. 3). Ausgehend von den zu Versuchsbeginn eingearbeiteten 3 mg C₄-C g⁻¹ Boden wurden also bis Tag 33 bei Cellulose ca. 70 % und bei Rohrzucker 75 % mineralisiert. An Tag 67 fanden sich bei beiden Varianten noch 0,68 mg C₄-C g⁻¹ Boden (Cellulose) und 0,63 mg C₄-C g⁻¹ Boden (Rohrzucker). Die Mineralisation betrug über den gesamten Versuchsverlauf bei Cellulose insgesamt 2,32 mg C₄-C g⁻¹ Boden (77 %) und bei Rohrzucker 2,37 mg C₄-C g⁻¹ Boden (79 %). Signifikante Unterschiede bestanden zwischen beiden Varianten nur an Tag 5 und Tag 12. Die Zugabe der C₃-Cellulose führte zu keiner Veränderung in der C₄-C-Mineralisation der Varianten. Von der Variante Cellulose+C wurden insgesamt 74 % und von der Variante Rohrzucker+C 77 % mineralisiert.

In Abb. 4 ist die Mineralisation der beigegebenen C₃-Cellulose (3 mg g⁻¹ Boden) dargestellt. Da die Zugabe erst an Tag 33 erfolgte, beginnt die Darstellung auch erst mit dem 33. Tag. Am 38. Tag konnten noch 1,71 mg C₃-C g⁻¹ Boden (Cellulosevariante) und 1,91 mg C₃-C g⁻¹ Boden (Rohrzuckervariante) nachgewiesen werden. Die Kontrolle lag bei 1,82 mg C₃-C g⁻¹ Boden. Dies entspricht einer Mineralisation in den ersten 5 Tagen nach Substratzugabe von 39 % bei Kontrolle+C, 43 % bei Cellulose+C und 36 % bei Rohrzucker+C. Über die zweite Versuchshälfte (34 Tage) wurden von der Kontrolle+C 46 % und von Cellulose+C 56 % mineralisiert. Die Variante Rohrzucker+C lag auf gleichem Niveau wie die Variante Kontrolle+C. Signifikante Unterschiede zwischen den Varianten konnten nicht festgestellt werden.

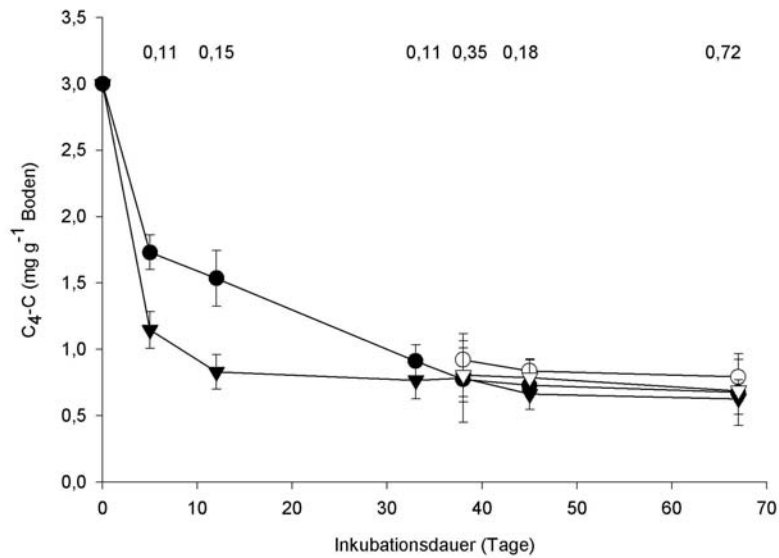


Abbildung 3: C₄-Kohlenstoff des Bodens über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽). Bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung. Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

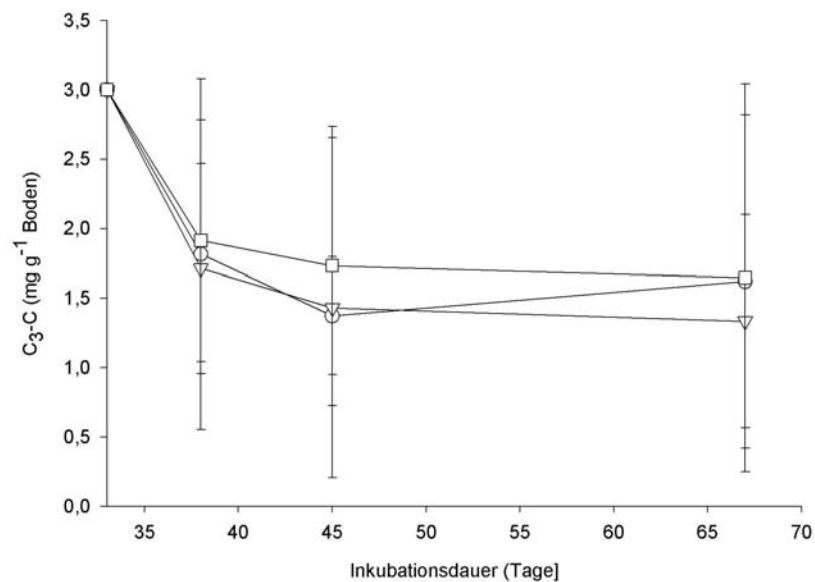


Abbildung 4: C₃-Kohlenstoff des Bodens in dem Inkubationsabschnitt Tag 33 bis Tag 67. Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). n=6, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung.

Zur Ermittlung der Gesamtsumme der C_4 -Gehalte im CO_2 wurde der Wert an Tag 5 aus der C_4 -C-Mineralisierung übernommen. Alle weiteren Werte wurden aus dem Mittelwert errechnet, der sich aus zwei aufeinander folgenden Probenahmeterminen ergibt, multipliziert mit der Anzahl Tage für den jeweiligen Inkubationsabschnitt. So beträgt der an Tag 5 veratmete Anteil für die Rohrzuckervariante 1,85 und für die Cellulosevariante 1,27 $mg C_4-C g^{-1}$ Boden (Abb. 5). Ab Tag 12 erfolgte bei Rohrzucker keine nennenswerte Steigerung des C_4 -C im CO_2 mehr. Im Gegensatz dazu kam es bei der Cellulosevariante noch bis Tag 33 zu einem leichten Anstieg. Über den gesamten Inkubationsverlauf wurden 61 % des C_4 -C in der Cellulosevariante und 74 % des C_4 -C in der Rohrzuckervariante veratmet. Nach Zugabe der C_3 -Cellulose konnten bei beiden Varianten keine erhöhten Werte an C_4 -C im CO_2 beobachtet werden.

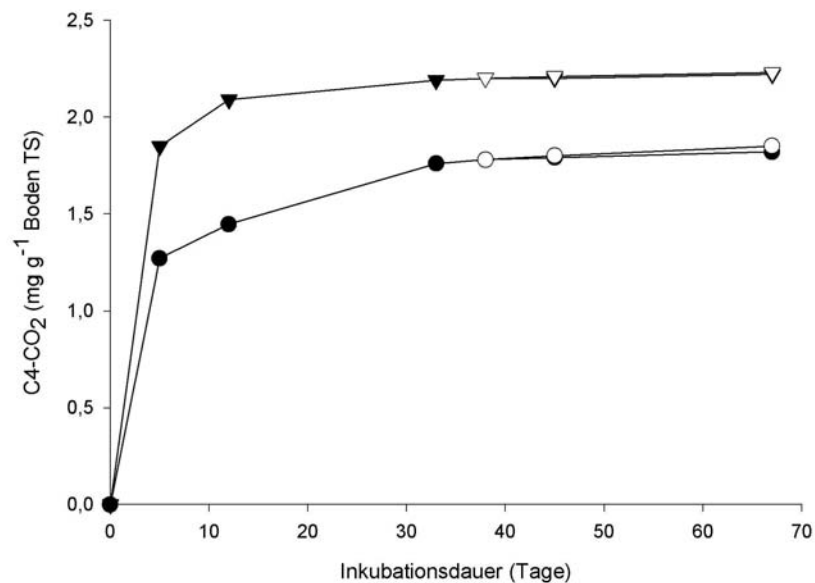


Abbildung 5: Kumulierte C_4 - CO_2 -Gehalte über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽). Berechnung über den Mittelwert der einzelnen Untersuchungstermine.

Die N_{min} -Werte errechnen sich aus der Summe von Ammonium und Nitrat. Die Gehalte an Ammonium lagen bereits nach 5 Tagen unterhalb der Nachweisgrenze. Es wurden bereits am 5. Tag von dem zu Inkubationsbeginn zugegebenen mineralischen Stickstoff ($200 \mu\text{g } N_{min} \text{ g}^{-1}$ Boden) bei der Cellulosevariante $37 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden und bei der Rohrzuckervariante $110 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden (ohne Kontrollwerte) in organische Bindungsformen überführt (Abb. 6). Nach dem 33. Tag konnte bei den Varianten Rohrzucker und Rohrzucker+C eine Remineralisation bis Inkubationsende beobachtet werden, welche bei $18 \mu\text{g N g}^{-1}$ bzw. $23 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden lag. Signifikante Unterschiede konnten nicht festgestellt werden. Bei der Variante mit anfänglicher Cellulosezugabe wie auch bei späterer ^{12}C -Zugabe waren Remineralisationsvorgänge ($40 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden) nur zwischen dem 33. und 38. Tag zu beobachten.

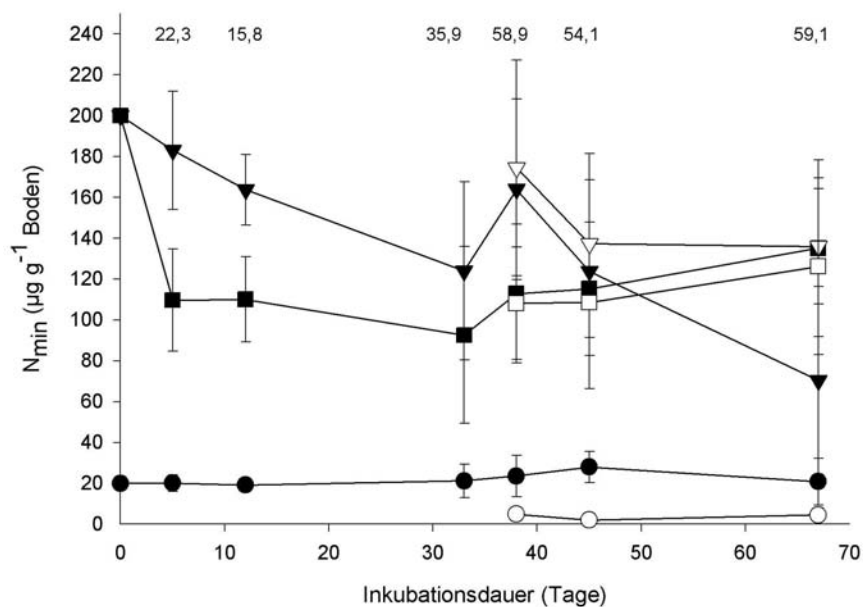


Abbildung 6: N_{min} -Gehalte über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). Bis Tag 33 $n=12$, Tag 38 bis 67 $n=6$, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

Anschließend kam es bei der Cellulosevariante zur N-Immobilisation von ca. $90 \mu\text{g N g}^{-1}$ bis zum Tag 67. Auch bei derjenigen Cellulosevariante, der am 33. Tag Kohlenstoff beigefügt wurde, erfolgte bis Tag 45 eine N-Immobilisierung. Bis Tag 67 zeigten sich keine Veränderungen mehr. Signifikante Unterschiede an Tag 67 waren zwischen beiden Varianten zu beobachten. Im Gegensatz zu den Varianten mit $\text{C}_4\text{-C}$ -Zugabe zeigte sich bei der Kontrolle durch die Zugabe der C_3 -Cellulose eine deutlich höhere Immobilisation. So konnten gleichbleibend geringe N_{min} -Gehalte nachgewiesen werden, die jedoch an keinem der verbleibenden Termine signifikante Unterschiede zeigten.

5.2.2 Mikrobieller Kohlenstoff (C_{mik}) und Stickstoff (N_{mik})

An Tag 5 wurden bei der Rohrzuckervariante die höchsten Gehalte an C_{mik} ($572 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden; Abb. 7) gemessen, die das 6-fache der Kontrolle betragen. Anschließend folgte eine starke Abnahme der Gehalte auf $243 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden an Tag 12. Über den restlichen Versuchsverlauf nahmen die C_{mik} -Gehalte dieser Variante geringfügig um $40 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden zu. Bei der Variante mit C_4 -Cellulose konnten dagegen nur $218 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden an Tag 5 nachgewiesen werden, über den restlichen Versuchsverlauf kam es nur noch zu geringen Schwankungen von $\pm 10 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden. Signifikanzen zwischen der Rohrzucker- und der Cellulosevariante konnten nur an Tag 5 festgestellt werden. Nach Einarbeitung der C_3 -Cellulose am 33. Tag kam es an den Tagen 38 und 45 nur bei der Variante Kontrolle+C zu einem signifikanten Anstieg des C_{mik} gegenüber der Kontrollvariante um $80 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden. Über den restlichen Inkubationsverlauf blieb diese Differenz bei leichter Zunahme der Gehalte relativ konstant. Bei der Rohrzucker- und der Cellulosevariante bewirkte die Einarbeitung der C_3 -Cellulose insgesamt eine leichte, aber nicht signifikante Erhöhung gegenüber den Varianten ohne C_3 -Cellulose.

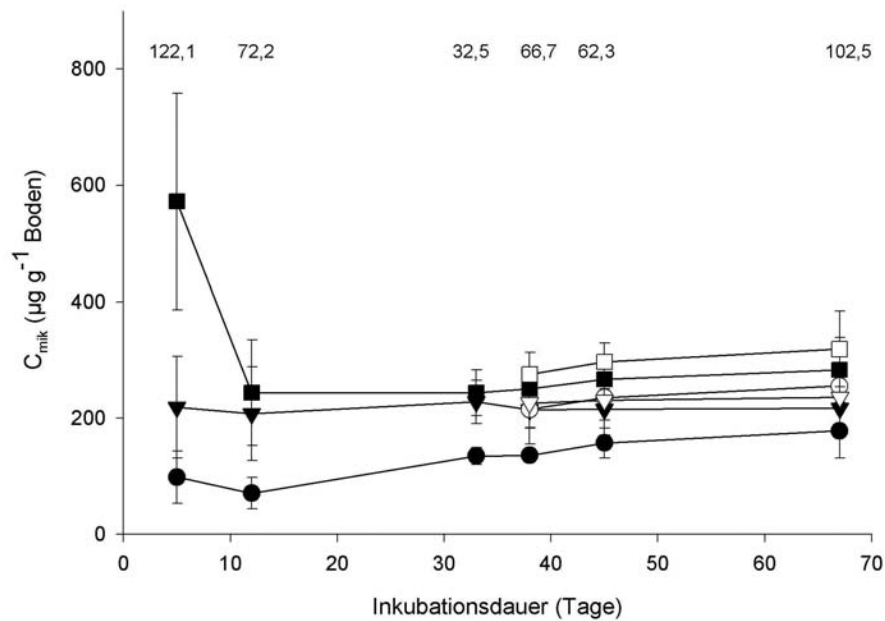


Abbildung 7: Gehalte an mikrobiellem Kohlenstoff (C_{mik}) über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). Bis Tag 33 $n=12$, Tag 38 bis 67 $n=6$, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

Der von der mikrobiellen Biomasse inkorporierte C_4 -Kohlenstoff (Abb. 8) lag an Tag 5 bei der Rohrzuckervariante ($390 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden) signifikant höher als bei der Cellulosevariante ($89 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden). An Tag 12 zeigten sich ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen beiden Varianten, wobei es bei Rohrzucker zu einer starken Abnahme ($139 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden) und bei Cellulose zu einer Zunahme des C_4 -Kohlenstoffs um $50 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden kam. Im weiteren Inkubationsverlauf zeigten sich an den Tagen 45 und 67 signifikante Unterschiede. Die Einarbeitung von C_3 -Cellulose bewirkte an Tag 38 keine signifikante Veränderung. Diese konnte nur zwischen den Varianten mit und ohne C_3 -C-Einarbeitung am 45. Tag bei der Cellulosevariante festgestellt werden.

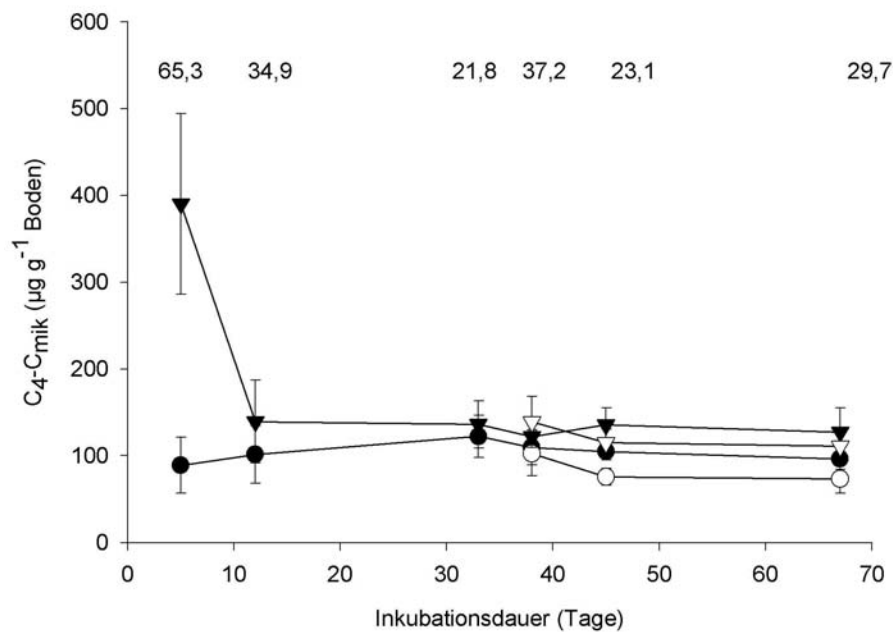


Abbildung 8: C_4 -Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse (C_4-C_{mik}) über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽). Bis Tag 33 $n=12$, Tag 38 bis 67 $n=6$, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

Die Gehalte an N_{mik} zeigten an Tag 5 und Tag 12 signifikante Unterschiede zwischen allen Varianten, wobei Rohrzucker an Tag 5 die höchsten Werte aufwies ($41 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden) (Abb. 9). An Tag 12 kam es bei allen Varianten zu einer geringen Abnahme der Gehalte. Diese Abnahme setzte sich beim Rohrzucker und der unbehandelten Variante fort und zeigte an Tag 33 Werte von $31 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden (Rohrzucker) und $13 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden (Kontrolle). Dagegen kam es bei der Cellulosevariante zu einem leichten Anstieg auf das Niveau der Variante mit Rohrzuckereinarbeitung. An Tag 38 kam es zu einer starken Abnahme von N_{mik} bei der Cellulosevariante auf $7,6 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden und bei Rohrzucker auf $16,6 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden. Die Einarbeitung der C_3 -Cellulose führte bei vorheriger Rohrzuckerzugabe zu einer signifikanten Zunahme von N_{mik} auf $28 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden, bei der Cellulosevariante konnte dagegen kein Unterschied zur Variante ohne C_3 -Zugabe festgestellt wer-

den. Im weiteren Verlauf kam es bei Cellulose+C zu einer Zunahme von N_{mik} auf $16,0 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden bis Tag 45. Bis Tag 67 nahmen die Werte wieder geringfügig ab ($13,3 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden). Die Cellulosevariante ohne C_3 -Cellulose zeigte bis Tag 67 keine Veränderung. Nach dem 38. Tag konnte in der Rohrzuckervariante+C ein abnehmender N_{mik} -Gehalt auf einen Wert von $15,5 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden verzeichnet werden.

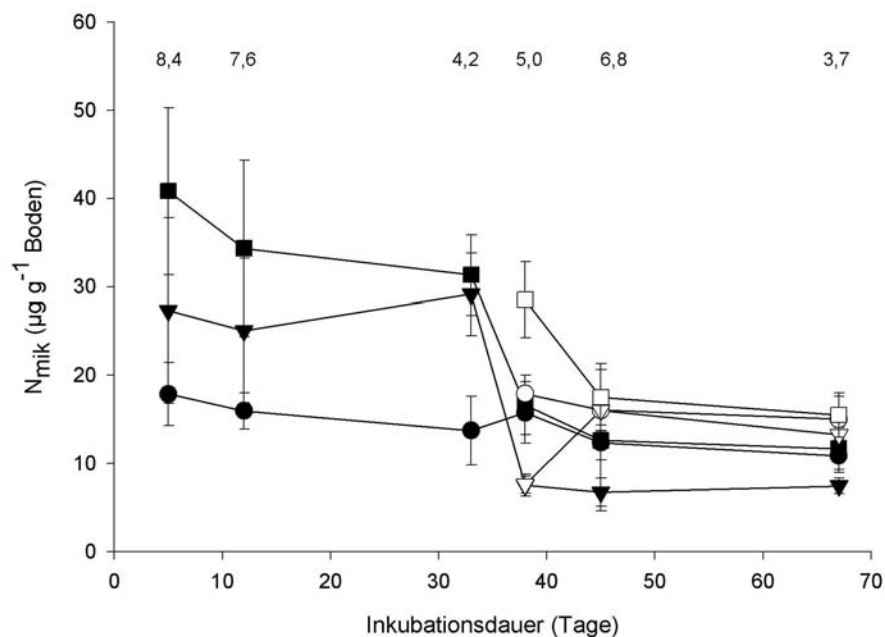


Abbildung 9: Gehalte an mikrobiellem Stickstoff (N_{mik}) über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). Bis Tag 33 $n=12$, Tag 38 bis 67 $n=6$, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

Durch den gegenläufigen Verlauf von mikrobiellem Kohlenstoff und Stickstoff in der Kontrollvariante kam es zu einer kontinuierlichen Zunahme des C_{mik}/N_{mik} -Verhältnisses in der Kontrollvariante (Abb. 10). An Tag 5 lag dieser Wert bei 5,4 und am 33. Tag bei 10,5, an Tag 67 bei 16,9. C_{mik}/N_{mik} der Cellulosevariante lag am 5. Tag bei 8,7, danach kam es zu einer Abnahme bis Tag 33 auf 7,8. Die Rohrzuckervariante lag zu Versuchsbeginn bei 14,8 und zeigte eine Abnahme von

C_{mik}/N_{mik} bis Tag 33 auf einen Wert von 7,9. Signifikante Unterschiede konnten nur an Tag 5 zwischen Kontrolle und Rohrzuckervariante sowie zwischen Rohrzucker- und Cellulosevariante festgestellt werden. Am 33. Tag konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten festgestellt werden.

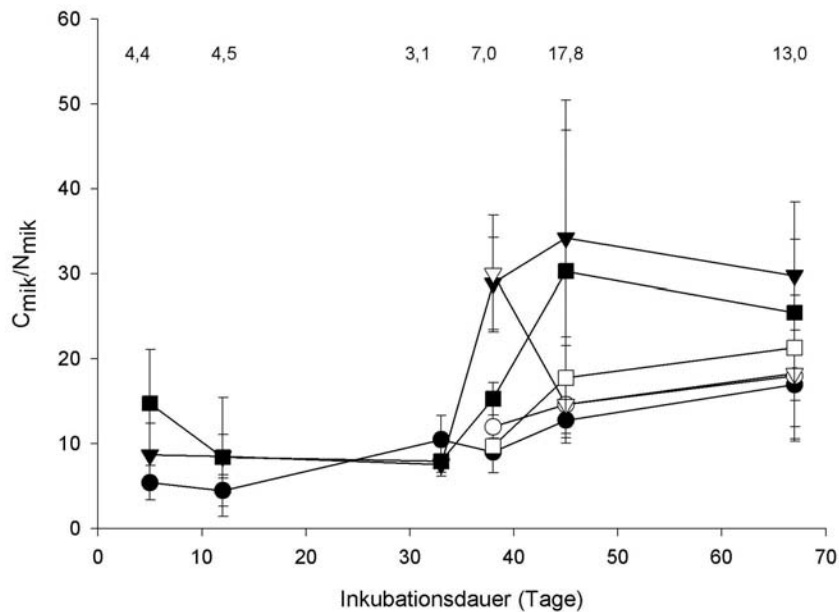


Abbildung 10: C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse (C_{mik}/N_{mik}) über den Versuchsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). Bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

Die Einarbeitung der C_3 -Cellulose in die Kontrollvariante (Kontrolle+C) führte zu einem Anstieg von C_{mik}/N_{mik} auf 12,0, das Verhältnis der Kontrolle ohne C_3 -Cellulose lag bei 9,0. Im weiteren Versuchsverlauf kam es zu einem kontinuierlichen Anstieg in beiden Kontrollvarianten auf einen Wert von 17,0 ohne C_3 -Cellulose und 18,0 mit C_3 -Cellulose. Bei dem Variantenpaar Cellulose und Cellulose+C lagen die Werte an Tag 38 bei 28,9 bzw. 30,0. Bis Tag 45 zeigte sich bei Cellulose ein Anstieg auf 34,2; bei Cellulose+C verringerte sich der Wert auf 14,7, um an Tag 67 wieder auf 18,3 anzusteigen. Die Cellulosevariante ohne C_3 -Cellulose zeigte dagegen eine leichte Abnahme. Bei der Rohrzuckervariante konnte nach

der Einarbeitung der C₃-Cellulose ein C_{mik}/N_{mik}-Verhältnis von 9,7 und ohne Zugabe ein solches von 15,3 ermittelt werden. Bis Tag 45 zeigte die Variante Rohrzucker (30,3) einen stärkeren Anstieg als die Variante Rohrzucker+C (17,8). An Tag 67 konnte bei Rohrzucker eine Abnahme des C_{mik}/N_{mik}-Verhältnisses auf 25,5 und bei Rohrzucker+C eine Zunahme auf 21,3 festgestellt werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Variantenpaaren mit und ohne C₃-Cellulose konnten nur an Tag 45 bei der Cellulosevariante nachgewiesen werden. An Tag 38 zeigte sich dies auch zwischen den Varianten Cellulose+C und Rohrzucker+C.

5.2.3 Ergosterol

Die Ergosterolgehalte der Kontrollvariante lagen an allen Tagen zwischen 0,4 und 0,5 µg g⁻¹ Boden. Bei der Cellulosevariante kam es zwischen Tag 5 und Tag 33 zu einem starken Anstieg des Ergosterolgehaltes von 0,6 auf 5,0 µg g⁻¹ Boden (Abb. 11). Die Ergosterolgehalte der Rohrzuckervariante stiegen nur bis Tag 5 auf 1,9 µg g⁻¹ Boden an und nahmen anschließend bis Tag 33 auf 1,2 µg g⁻¹ Boden wieder ab. Signifikante Unterschiede konnten an Tag 5 zwischen der Kontrolle bzw. der Variante mit Cellulosezugabe und der Rohrzuckervariante festgestellt werden. An Tag 12 und Tag 33 unterschieden sich beide Varianten mit Zugabe signifikant von der Kontrolle. Am 33. Tag kam es auch zwischen Rohrzucker- und Cellulosevariante zu einem signifikanten Unterschied. Von Tag 33 bis 67 kam es zu einer Abnahme der Ergosterolgehalte von 5,0 auf 1,9 µg g⁻¹ Boden bei Cellulose und von 1,2 auf 0,6 µg g⁻¹ Boden bei Rohrzucker. Die Zugabe der C₃-Cellulose am 33. Tag bewirkte bei allen Varianten keine signifikante Veränderung der Ergosterolgehalte gegenüber den Varianten ohne C₃-Cellulose. Lediglich an Tag 67 kam es in der Variante Cellulose+C zu einer geringeren Abnahme als bei der Variante Cellulose, die sich als signifikant unterschiedlich erwies.

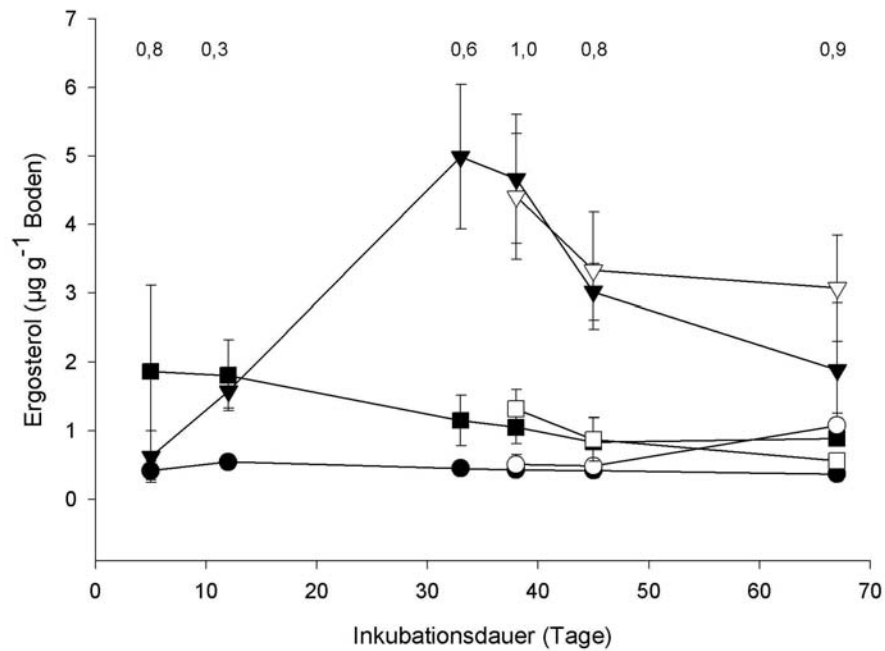


Abbildung 11: Ergosterolgehalte über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). Bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

Zwischen Tag 5 und 12 kam es zu einer leichten Zunahme des Anteils der pilzlichen Biomasse innerhalb der mikrobiellen Biomasse (Erg/C_{mik}) von 0,4 auf 0,8 % bei Rohrzucker und Cellulose, bei der Kontrollvariante nahmen die Gehalte von 0,6 auf 0,8 % zu (Abb. 12). Danach nahm Erg/C_{mik} der Rohrzucker- und der Kontrollvariante bis auf 0,5 bzw. 0,3 % wieder ab; dagegen stieg der Anteil pilzlicher Biomasse bei der Variante mit Celluloseeinarbeitung signifikant an und lag an Tag 33 sowie an Tag 38 bei jeweils 2,2 %. Nach der Einarbeitung der C_3 -Cellulose zeigte Erg/C_{mik} der Variantenpaare zunächst einen sinkenden Verlauf. Bei Cellulose+C stabilisierten sich die Werte nach dem 45. Tag bei 1,4 %, wohingegen bei der Cellulosevariante ohne C_3 -Einarbeitung der Gehalt weiter abnahm und an Tag 67 bei 1 % lag. Bei Kontrolle+C zeigte sich nach dem 45. Tag sogar ein leichter Anstieg von 0,2 %, der sich aber nicht signifikant von dem der Kontroll-

le ohne ^{13}C -Zugabe unterschied. Signifikante Unterschiede konnten nur zwischen den Cellulosevarianten und den Rohrzucker- sowie den Kontrollvarianten nachgewiesen werden.

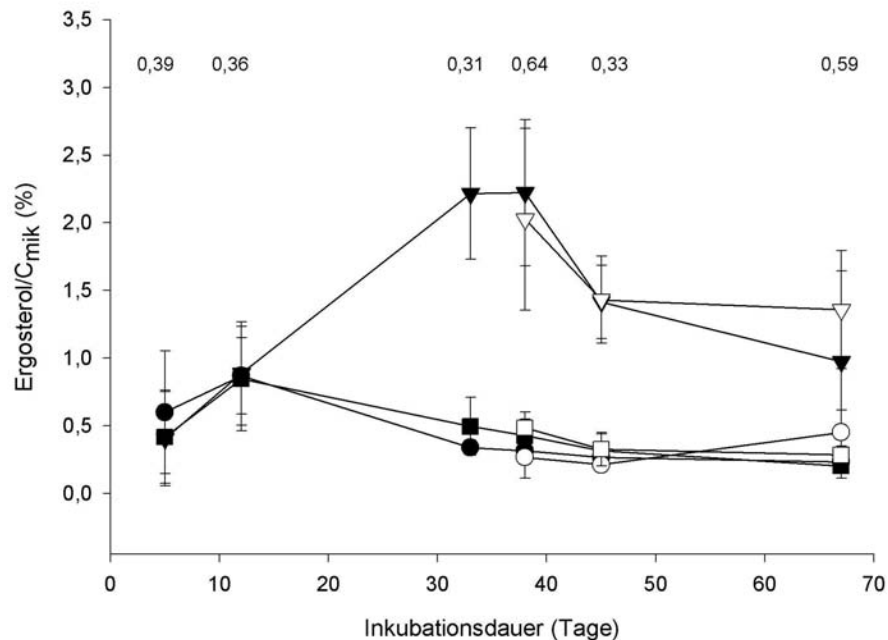


Abbildung 12: Quotient aus Ergosterol und dem Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse (Erg/C_{mik}) über den Inkubationsverlauf. Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). Bis Tag 33 $n=12$, Tag 38 bis 67 $n=6$, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

5.2.4 $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Bodens, der mikrobiellen Biomasse sowie des CO_2

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert gibt das Verhältnis von ^{13}C -Molekülen zu ^{12}C -Molekülen in Promille wieder. Nimmt der Anteil an ^{13}C -Molekülen zu, wird von einer Anreicherung gesprochen und der ^{13}C -Wert wird größer bzw. in seiner Negativität kleiner. Von einer Abreicherung ist die Rede, wenn der Anteil der ^{13}C -Moleküle abnimmt und damit der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert kleiner bzw. negativer wird.

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Bodens der Kontrollvariante (Abb. 13) schwankte während des gesamten Experimentes um einen Wert von $-26,4 \text{ ‰PDB} \pm 0,1$. Durch die Einarbeitung des Rohrzuckers erfolgte eine Anreicherung von $1,2 \text{ ‰PDB}$ auf einen Wert von $-25,1 \text{ ‰PDB}$ gegenüber der Kontrolle. Bis Tag 67 zeigte sich nur eine leichte Veränderung auf einen Wert von $-25,3 \text{ ‰PDB}$. Die Cellulosezugabe bewirkte eine Anreicherung gegenüber der Kontrolle von $1,9 \text{ ‰PDB}$ auf $-24,4 \text{ ‰PDB}$ an Tag 5. Bis zum Tag 45 kam es zu einer Abreicherung von 1 ‰PDB ; bis Tag 67 konnte keine weitere Veränderung nachgewiesen werden. Die Zugabe der C_3 -Cellulose ($-24,5 \text{ ‰PDB}$) an Tag 33 führte bei allen drei Varianten zu einer leichten, aber nicht signifikanten Anreicherung zwischen $0,2$ und $0,4 \text{ ‰PDB}$. Bis Inkubationsende konnte keine weitere Ab- bzw. Anreicherung nachgewiesen werden.

Das C_{mik} der Kontrollvariante lag zu Versuchsbeginn bei $-24,8 \text{ ‰PDB}$ und nahm bis Tag 67 bis auf einen Wert von $-25,8 \text{ ‰PDB}$ stetig zu. Nach Einarbeitung der C_4 -Cellulose konnte ein $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von $-17,7 \text{ ‰PDB}$ an Tag 5 nachgewiesen werden. Bis Tag 12 war eine Anreicherung des ^{13}C bis auf einen Wert von $-16,4 \text{ ‰PDB}$ zu verzeichnen. Erst ab dem 33. Tag erfolgte eine Abreicherung von $-16,9 \text{ ‰PDB}$ auf $-18,1 \text{ ‰PDB}$ bei Inkubationsende. Bei der Rohrzuckervariante konnte dagegen ab dem 5. Tag eine Abreicherung von $-14,1 \text{ ‰PDB}$ auf $-18,2 \text{ ‰PDB}$ festgestellt werden. Nach Einarbeitung der C_3 -Cellulose am 33. Tag kam es zunächst in allen Varianten zu keiner signifikanten Veränderung. Erst an Tag 45 zeigte sich in der Variante Cellulose+C eine signifikante Abreicherung auf $-18,9 \text{ ‰PDB}$ gegenüber der Variante Cellulose. Auch im weiteren Versuchsverlauf konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten mit und ohne C_3 -Zugabe festgestellt werden.

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des CO_2 der Kontrollvariante schwankte während der Inkubationsdauer zwischen $-24,3 \text{ ‰PDB}$ und $-23,3 \text{ ‰PDB}$. Die Varianten mit C_4 -Zugabe lagen an Tag 5 bei $-13,6 \text{ ‰PDB}$ (Cellulose) und bei $-12,9 \text{ ‰PDB}$ (Rohrzucker). Bei beiden Varianten erfolgte im weiteren Inkubationsverlauf eine Abreicherung

bis Tag 67 auf -15,9 ‰PDB bei der Cellulosevariante und bis -16,6 ‰PDB bei der Variante Rohrzucker. Signifikante Unterschiede ergaben sich an allen Inkubationstagen zwischen der Kontrolle und den Varianten mit C₄-Zugabe.

Die Einarbeitung der C₃-Cellulose an Tag 33 führte bei der Kontrollvariante zu keiner signifikanten Veränderung. Bei den Varianten Cellulose+C und Rohrzucker+C konnte dagegen an den verbleibenden Terminen jeweils eine signifikante Abreicherung des ¹³C im CO₂ beobachtet werden. So lag an Tag 38 der δ¹³C-Wert der Variante Cellulose+C bei -19,4 ‰PDB und bei Rohrzucker+C bei -19,8 ‰PDB. Bis Tag 67 zeigte sich nur eine geringe Veränderung auf einen Wert von -19,1 ‰PDB (Cellulose+C) und -19,6 ‰PDB (Rohrzucker+C).

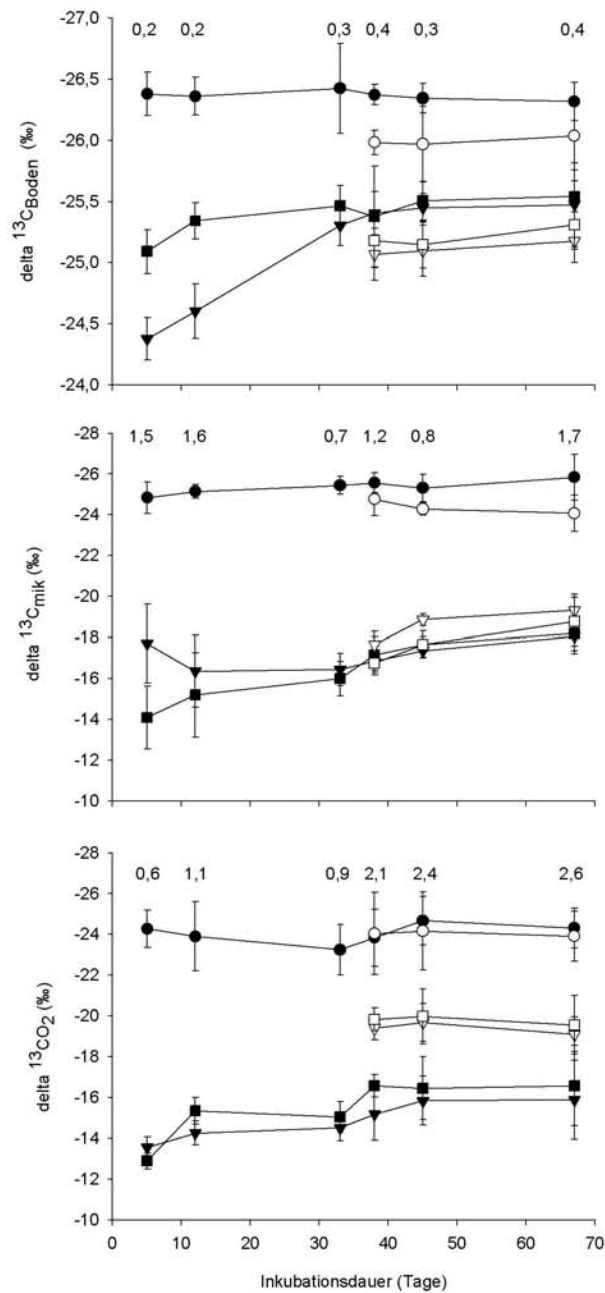


Abbildung 13: $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Bodens, des mikrobiellen Kohlenstoffs und des CO_2 . Kontrolle (●); Cellulose (▼); Rohrzucker (■); Kontrolle+C (○); Cellulose+C (▽); Rohrzucker+C (□). Bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung, Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

5.2.5 Cellulose- und maisbürtiger Kohlenstoff im Boden, in der mikrobiellen Biomasse und im CO₂-C

Für die Berechnung der Anteile des C₄-bürtigen Kohlenstoffs wurden die Kohlenstoffgehalte des Bodens, der mikrobiellen Biomasse sowie des CO₂ nicht um den der Kontrolle korrigiert.

Zu Versuchsbeginn lag der Anteil des C₄-Kohlenstoffs am Gesamtkohlenstoff bei 19 %. Bereits an Tag 5 konnten nur noch 12 % der Cellulose und 8,4 % des Rohrzuckers nachgewiesen werden (Abb. 14). Bis Tag 33 nahmen die Gehalte an C₄-Kohlenstoff kontinuierlich ab, am 33. Tag fanden sich bei Cellulose nur noch 6,8 % und bei Rohrzucker 5,8 %. Von Tag 38 bis Tag 67 kam es zu einer leichten Absenkung von 5,9 auf 5,1 % bei Cellulose und von 6,1 auf 4,7 % bei Rohrzucker. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Varianten konnte am 5., 12., und 33. Tag festgestellt werden.

Der Anteil des mikrobiellen C₄-Kohlenstoffs (C₄-C_{mik}) am Gesamtkohlenstoff der mikrobiellen Biomasse (C_{mik}) betrug an Tag 5 bei der Cellulosevariante 42,2 % und bei der Rohrzuckervariante 69,7 %. Bis Tag 33 zeigten beide Varianten unterschiedliche Verläufe. Bei der Variante mit Cellulose stiegen die Gehalte auf einen Wert von 53,4 % und sanken bei der Rohrzuckervariante auf 55,6 %. Signifikante Unterschiede fanden sich am 5. und 12. Tag. Zwischen Tag 38 und Tag 67 kam es bei beiden Varianten zu einer Abnahme der Gehalte von 51,0 auf 45,1 % bei Cellulose und von 48,9 auf 45,2 % bei Rohrzucker. An allen 3 Beprobungsterminen konnte zwischen Cellulose und Rohrzucker kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Die C₃-Zugabe am 33. Tag führte zunächst nur bei Cellulose+C zu einer leichten Abnahme um 5 %, bei Rohrzucker+C kam es sogar zu einer leichten Zunahme. Nach dem 38. Tag zeigten die Varianten mit C₃-Zugabe eine stärkere Abnahme der Gehalte. Die Unterschiede lagen an Tag 45 zwischen dem Variantenpaar Cellulose bei ca. 16 % und zwischen denen des Rohrzuckers bei ca. 12 %. An Tag 67 nahmen die Differenzen zwischen den Variantenpaaren leicht ab und lagen bei 14 % (Cellulose) und 10 % (Rohrzucker). Signifikante Unterschiede zeigten sich am 45. Tag zwischen Cellulose und Cellulose+C sowie zwischen

Rohrzucker und Rohrzucker+C. Am 67. Tag konnten Signifikanzen noch zwischen Cellulose und Cellulose+C festgestellt werden.

An Tag 5 konnte bei Cellulose ein Anteil des C_4 -CO₂ am CO₂ von 75 % und bei Rohrzucker von 79,7 % nachgewiesen werden. Bis zu Tag 33 fielen die Gehalte auf 65,9 % (Cellulose) und 61,9 % (Rohrzucker) ab. Bis Tag 67 kam es zu einer weiteren Abnahme der Gehalte auf 59,4 % bei Cellulose und 54,5 % bei Rohrzucker. Signifikante Unterschiede zwischen der Cellulose- und der Rohrzuckervariante bestanden nur an den ersten 3 Probenahmeterminen. Durch die Einarbeitung von C₃-Cellulose am 33. Tag kam es zu einer deutlichen Absenkung des C_4 -CO₂-Anteils im CO₂. Bei der Variante Cellulose+C konnten noch 32,2 % (Cellulose 62,7 %) und bei Rohrzucker+C noch 29,1 % (Rohrzucker 52,3 %) nachgewiesen werden. Bis Tag 67 zeigten beide Varianten mit C₃-Zugabe eine leichte Zunahme auf 34,6 % (Cellulose+C) und 31,5 % (Rohrzucker+C). Signifikante Unterschiede konnten zwischen den Variantenpaaren Cellulose und Cellulose+C sowie Rohrzucker und Rohrzucker+C an den letzten drei Terminen beobachtet werden.

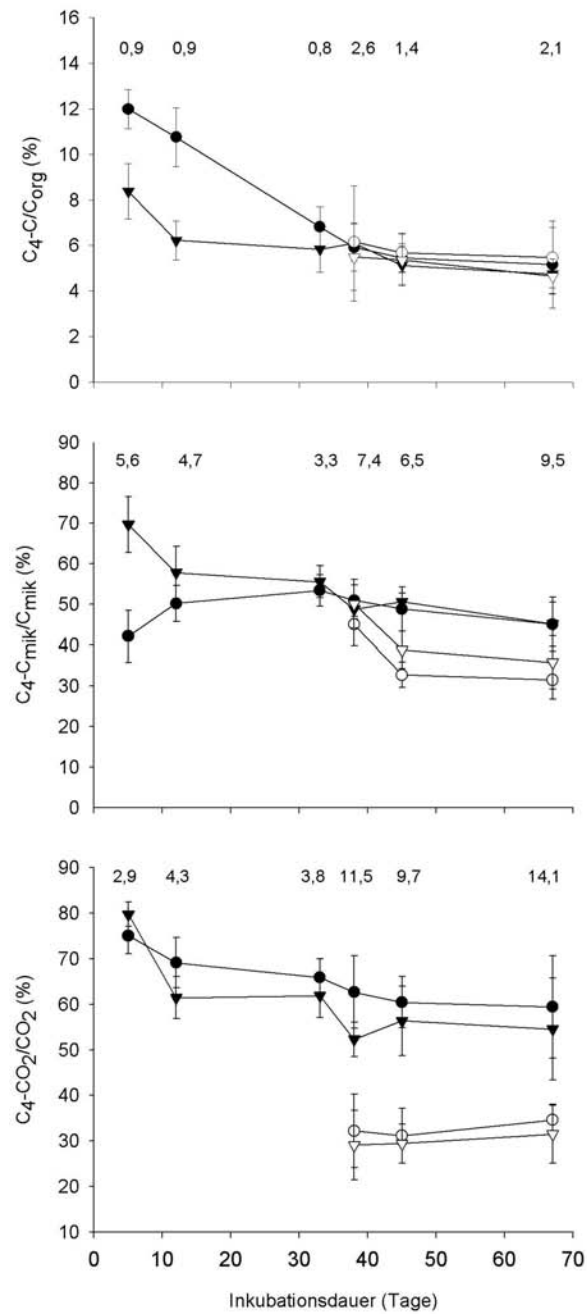


Abbildung 14: C_4 -bürtiger Kohlenstoff im Verhältnis zum Gesamtkohlenstoff im Boden, in der mikrobiellen Biomasse und im CO_2 über den Inkubationsverlauf. Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽). Bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung. Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

5.3 Diskussion

Ziel dieses Inkubationsexperimentes war es, Produktion und Verbrauch von mikrobiellen Residuen in Abhängigkeit von der C₄-Quelle (Rohrzucker und Cellulose) zu ermitteln. Des Weiteren sollten die Kohlenstoffflüsse im Boden mittels C₄-markierter Substrate (Cellulose und Rohrzucker) nachvollzogen werden. Dazu wurde der Kohlenstoff in der mikrobiellen Biomasse, dem CO₂ und im Boden untersucht und den jeweiligen Kompartimenten zugeordnet.

5.3.1 Mineralisation der C₄-Kohlenstoffe

Die bodenorganische Substanz umfasst verschiedene Komponenten, die in ihrer Größe und Umsatzrate variieren. Diese Dynamik spiegelt die biologische Aktivität, die Bodeneigenschaften (z.B. Textur) sowie die Qualität und Quantität von Pflanzenrückständen oder Substraten, die in den Boden eingebracht wurden, wider (GREGORICH ET AL. 1996, 2000). Humus ist der größte und stabilste C-Pool im Boden. Durch die Einarbeitung von verschiedenen Materialien in den Boden, die bevorzugt von der mikrobiellen Biomasse umgesetzt werden sollen, können Umsatzrate sowie Wachstums- und Absterbephase der mikrobiellen Biomasse verfolgt werden.

Zu Versuchsbeginn wurden 3 mg C₄-C g⁻¹ Boden in Form von Rohrzucker und Cellulose homogen in den Boden eingearbeitet. Von diesen 3 mg C₄-C g⁻¹ Boden waren bereits nach 5 Tagen 43 % der Cellulose und 62 % des Rohrzuckers mineralisiert und nach 33 Tagen 70 % bzw. 75 %. Die Ergebnisse der Cellulose- und Rohrzuckermineralisierung entsprechen im Wesentlichen denen anderer Untersuchungen über die Mineralisation von Residuen oder Stoffen aus pflanzlichen Beigaben. SCHLESER ET AL. (1999) beobachteten in einem Experiment die Zersetzung verschiedener Arten von Holzcellulose und konnten eine komplette Zersetzung schon nach 8 bis 12 Tagen nachweisen. HENRIKSEN und BRELAND (1999a) untersuchten den Abbau von verschiedenen Pflanzenmaterialien und fanden nach 721 Tagen noch 7,4 % Cellulose und 39,4 % Hemicellulose. KÖGEL-KNABNER (2002) untersuchte die Mineralisation verschiedener organischer Substrate. Glu-

kose war dabei nach 1 Woche zu 74 % und nach 28 Tagen zu 91 % mineralisiert, Cellulose zu 27 % bzw. 84 %. Bei Untersuchungen von CHANDER und JOERGENSEN (2001) waren in einem mit Schwermetall belasteten Boden nach 10 Tagen 45 bis 60 % der zugegebenen Glukose mineralisiert. Es kann also bei dem hier durchgeführten Experiment davon ausgegangen werden, dass nach 33 Tagen Inkubation der im Boden noch vorhandene C₄-Kohlenstoff der Cellulose und des Rohrzuckers vollständig umgesetzt wurde und sich demnach in der mikrobiellen Biomasse und in den mikrobiellen Residuen befinden muss. Einen fördernden Einfluss der C₃-Cellulose auf die Mineralisation des C₄-Kohlenstoffs konnte bei beiden Varianten nicht beobachtet werden. Die C₃-Cellulose scheint eher noch eine hemmende Wirkung auf die C₄-Mineralisation auszuüben.

Über den gesamten Inkubationsverlauf (67 Tage) wurden 61 % des C₄-Cellulose-C und 74 % des C₄-Rohrzuckers-C als CO₂-C nachgewiesen. In Untersuchungen von AOYAMA ET AL. (2000) wurden nach 14 Tagen 53 bis 56 % der zugegebenen C₄-C-Glukose veratmet. FONTAINE ET AL. (2004) konnten nach 70 Inkubationstagen nur noch 22 % der zugegebenen Cellulose nachweisen. VANLAUWE ET AL. (1994) konnten nach 40 Tagen 50 % des zugegebenen ¹⁴C-markierten Maissubstrates als CO₂-C identifizieren.

Bei einem Vergleich beider Methoden zur Bestimmung der Mineralisation ergab sich eine Differenz von 0,5 mg g⁻¹ Boden bei der Cellulose- und von 0,15 mg g⁻¹ Boden bei der Rohrzuckervariante. Dies ist darauf zurückzuführen, dass es sich bei dieser CO₂-Bestimmung nur um eine punktuelle, an einem Termin durchgeführte Messung handelt und nicht um eine akkumulative, bei der das CO₂-C über einen bestimmten Zeitraum aufgefangen und im Gesamten gemessen wird. Dieser Umstand erwies sich als problematisch, da für die CO₂-Produktion kurz nach Beigabe der Substrate keine Aussage gemacht werden konnte. Dies zeigt sich deutlich bei der Bestimmung des C₄-CO₂ nach Zugabe der C₃-Cellulose. Eine Aussage darüber, ob innerhalb der ersten 5 Tage eine Zunahme stattfand, konnte mit dieser Methode nicht getroffen werden. Mit einem Anstieg des C₄-CO₂ nach Zugabe des N-freien Substrates hätte ein Verbrauch der mikrobiellen Residuen, induziert durch N-Mangel, belegt werden können.

5.3.2 Einfluss der C₄-Zugaben auf die Stickstoffmineralisation

Bereits 5 Tage nach Zugabe des Ammoniumnitrates konnte kein Ammonium mehr nachgewiesen werden. Für die mikrobielle Biomasse ist Ammonium energetisch günstiger als Nitrat, da es für die Inkorporation in organische Komponenten nicht mehr reduziert werden muss (PURI und ASHMAN 1999, CHRISTIE und WASSON 2001). Auch CRIPPA und ZACCHCO (1995) konnten eine hohe Immobilisation von NH_4^+ nach Zugabe von Weidelgras feststellen.

Die Ergebnisse der N_{min} -Messungen für die erste Versuchshälfte stimmen mit der allgemein anerkannten und in vielen Experimenten nachgewiesenen These überein, dass in der frühen Phase der Zersetzung von Pflanzenmaterial (z.B. Stroh) mineralischer Stickstoff immobilisiert wird (RECOUS ET AL. 1995, HENRIKSEN und BRELAND 1999b, VINTEN ET AL. 2002). Am 5. Tag konnte eine Immobilisierung des mineralischen Stickstoffs ($200 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden) bei der Cellulosevariante von $50 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden und bei der Rohrzuckervariante von $111 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden beobachtet werden. Untersuchungen von VINTEN ET AL. (2002) zeigten ebenfalls eine geringere Immobilisation bei der Zersetzung von Cellulose gegenüber Glukose. Die Autoren führten dies auf einen höheren pilzlichen Anteil bei der Cellulosemineralisation zurück. Dominieren Bakterien den Abbau, kann die anfängliche Immobilisation höher sein als die mikrobielle Assimilation von Stickstoff. Wenn Pilze dominieren ist die Immobilisation weniger intensiv und die Remineralisation geringer als bei Bakterien (DE RUITER ET AL. 1993). Nach MARY ET AL. (1996) erfolgt nach Zugabe von Pflanzenresiduen oft eine Phase der Immobilisation, an die sich eine Phase der Remineralisation anschließt. In diesem Experiment setzte diese Phase der Remineralisation nach dem 33. Tag ein. In der Cellulosevariante geschah dies stärker als in der Rohrzuckervariante, dafür aber nur kurzzeitig, so dass es nach dem 38. Tag bereits wieder zur Immobilisation kam. Bei der Rohrzuckervariante hielt die Remineralisation bis Versuchsende an. So wurde von der Cellulosevariante innerhalb von 5 Tagen (zwischen Tag 33 und 38) nahezu genauso viel N remineralisiert wie von der Rohrzuckervariante in der gesamten zweiten Versuchshälfte. RECOUS ET AL. (1995) konnten bei Zugabe von Maisstroh und verschiedenen hohen N-Konzentrationen ab dem 40. Tag Remine-

realisationsvorgänge beobachten. TRINSOUTROT ET AL. (2000) konnten in einem Inkubationsexperiment nach anfänglicher Immobilisation eine Remineralisation ab dem 49. Tag feststellen, die in Abhängigkeit zu den N-Gehalten der zugegebenen Residuen stand. Bei den Residuen mit einem geringeren N-Gehalt war die anfängliche Immobilisation und die Remineralisierung höher als bei Residuen mit hohen N-Gehalten. In Anbetracht der Tatsache, dass beide Varianten (mit und ohne C₃-Cellulose) zwischen Tag 33 und Tag 38 gleiche Remineralisationsvorgänge zeigten, ist anzunehmen, dass dieser Prozess unabhängig von der C-Zugabe an Tag 33 ablief. Die Remineralisation zwischen Tag 33 und 38 deckt sich allerdings auch mit der Feststellung, dass in diesem Zeitraum der größte Anteil an C₃ mineralisiert wurde. HENRIKSEN und BRELAND (1999b) dagegen konnten bei ihren Experimenten mit unterschiedlichen Konzentrationen an mineralischem Stickstoff und Kohlenstoff keine Remineralisation nachweisen. EHALIOTIS ET AL. (1998) konnten nach Zugabe von Cellulose nur einen geringen Anstieg der Immobilisation des im Boden vorliegenden N aus Maisresiduen feststellen. Einen Einfluss auf die Remineralisation können auch die Partikelgröße des eingearbeiteten Materials (BENDING und TURNER 1999) sowie die Anlagerung der organischen Substanz auf den Oberflächen der Bodenkolloide und der Tongehalt des Bodens haben (HASSINK 1997).

5.3.3 Entwicklung der mikrobiellen Biomasse

Mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff

Die C_{mik}- und N_{mik}-Gehalte der Kontrolle zeigten keinen gleichbleibenden Wert über den Inkubationsverlauf. So nahmen in diesem Experiment die Gehalte an C_{mik} von 98 an Tag 5 auf 178 µg g⁻¹ Boden an Tag 67 zu und die Gehalte an mikrobiellem Stickstoff von 17,8 auf 10,9 µg g⁻¹ Boden ab. TARAFDAR ET AL. (2001) fanden ebenfalls ansteigende C_{mik}-Gehalte in der Kontrolle, die an Tag 25 ihr Maximum erreichten, danach aber wieder auf ihren Anfangswert abfielen. GUGGENBERGER ET AL. (1999) konnten in den Mikroaggregaten eines Kontrollbodens ebenfalls einen Anstieg des Biomasse-C bis Tag 4 feststellen, anschließend

kam es wieder zu einer Abnahme. FRANZLUEBBERS (1999) konnte keine Beeinflussung der mikrobiellen Biomasse durch Trocknen und Sieben des Bodens beobachten. OCIO und BROOKES (1990b) konnten ebenfalls keinen Unterschied des Biomasse-C zwischen gesiebttem und ungesiebttem Boden bei 40 % Wasserhaltekapazität feststellen. STENBERG ET AL. (1998) untersuchten die Einwirkung verschiedener Lagertemperaturen des Bodens auf die Aktivität der mikrobiellen Biomasse und konnten nachweisen, dass eine Lagerung bei -20 °C über 13 Monate hinweg keinen Einfluss auf die mikrobielle Biomasse hatte. Bei Untersuchungen von POTTHOFF ET AL. (2001) zeigte sich im Verlauf von 16 Tagen im Biomasse-C eher eine abnehmende Tendenz. JOERGENSEN und POTTHOFF (2005) inkubierten Boden (40 % WHK) bei permanenter Durchmischung über einen Zeitraum von 40 Wochen und konnten gegenüber der Kontrollvariante (ohne Mischen) eine signifikante Abnahme des mikrobiellen Biomasse-C und -N feststellen. Der Boden, der in dem hiesigen Experiment verwendet wurde, wurde dagegen nur einmal zu Versuchsbeginn gesiebt und bei Zugabe der Additive gemischt. Der Grund für den kontinuierlichen Anstieg von C_{mik} könnte also weniger in der Vorbehandlung des Bodens als vielmehr an den Inkubationsbedingungen liegen. In den Mikrokosmen herrschte über die gesamte Versuchsdauer ein kontinuierlicher Luftstrom, dadurch bedingt erfolgte eine Befeuchtung des Bodens alle 2-3 Tage. Dies hatte eventuell eine aktivierende Wirkung auf die mikrobielle Biomasse, was sich in einem zunehmenden C_{mik} widerspiegelte.

Die Zugabe von leicht umsetzbarem Material führte wie erwartet zu einem Anstieg von C_{mik} , der allerdings bei der Rohrzuckervariante wesentlich ausgeprägter verlief als in der Cellulosevariante. Einen Anstieg von C_{mik} stellten TARAFDAR ET AL. (2001) und JOERGENSEN ET AL. (2002) in ihren Untersuchungen fest und führten dies auf eine je nach Substrat, mehr oder weniger schnelle Umsetzung und damit auch auf eine Zunahme bzw. erhöhte Aktivität der mikrobiellen Biomasse zurück. TARAFDAR ET AL. (2001) fanden in Abhängigkeit von der Partikelgröße das 3-fache (ausgehend von der Kontrolle) an Biomasse-C nach Zugabe von feingemahlenem Maisstroh an Tag 15. Anschließend erfolgte eine langsame Abnahme des Biomasse-C bis Tag 45 bzw. 90. CHANDER ET AL. (2002) konnten

bei verschiedenen Materialien, wie z.B. Jute, erst nach 25 Tagen ein Maximum des Biomasse-C feststellen, das doppelt so hoch war wie das der Kontrolle. Untersuchungen von JOERGENSEN und RAUBUCH (2002) zur Umsetzung von Glukose mit und ohne N-Zugaben zeigten ein Maximum des mikrobiellen Kohlenstoffs nach 24 Stunden mit anschließender Abnahme. LADD ET AL. (1996) konnten nach Zugabe von Glukose ein Maximum des mikrobiellen Biomasse-C an Tag 3 der Inkubation beobachten. Auch in diesem Versuch zeigten sich Unterschiede in der Entwicklung des mikrobiellen Kohlenstoffs. So bewirkte der Rohrzucker eine schnelle und hohe Zunahme des C_{mik} an Tag 5 und einen raschen Abfall von C_{mik} bis Tag 12. In der Cellulosevariante dagegen kam es zu einer wesentlich geringeren Zunahme, wobei die Gehalte an C_{mik} aber bis Versuchsende relativ stabil blieben.

Von dem zugegebenen C_4 -Kohlenstoff konnten an Tag 5 bei Rohrzucker $390 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden und bei Cellulose $89 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in der mikrobiellen Biomasse nachgewiesen werden. Dies entspricht, ausgehend von den zugegebenen 3 g C g^{-1} Boden, 13 % des Rohrzucker-C und nur 2,9 % des Cellulose-C. Je nach Art und Verfügbarkeit des Substrates entsprechen die Ergebnisse denen anderer Autoren. So konnten CHANDER und JOERGENSEN (2001) einen Tag nach Zugabe von ^{14}C -markierter Glukose bereits zwischen 18,5 und 32 % derselben in der mikrobiellen Biomasse wiederfinden. Nach der Einarbeitung von Stroh zwischen zwei Bodenschichten konnten GAILLARD ET AL. (1999) am 5. Inkubationstag in der mikrobiellen Biomasse 1,3 % und an Tag 30 2,2 % des markierten Strohs nachweisen. Dass bei dem hier durchgeführten Experiment in der Rohrzuckervariante der Hauptumsatz innerhalb der ersten 5 Inkubationstage erfolgte, zeigen die nach dem 12. Tag relativ gleichbleibenden C_4 - C_{mik} -Gehalte. Dagegen konnte in der Cellulosevariante eine Zunahme der C_4 - C_{mik} -Gehalte um $50 \mu\text{g C g}^{-1}$ Boden bis Tag 33 beobachtet werden. Hier zeigt sich deutlich die unterschiedliche Verfügbarkeit der Substrate. Cellulose als Polymer der Glukose besteht aus Glukoseeinheiten (10.000-14.000), die zu langen Ketten verknüpft sind und durch Wasserstoffbrücken miteinander verbunden sind. Die Glukoseeinheiten müssen vor der Verwertung durch die Mikroorganismen erst abgespalten und in mono-

mere Glukose hydrolisiert werden (s. Kapitel 3.4). Im Gegensatz dazu gehört der Rohrzucker zu den Disacchariden, die nur aus zwei glykosidisch miteinander verknüpften Monosaccharidmolekülen bestehen. Die Reduzierung zu monomere Glukose geht hier dementsprechend schneller und bedarf keiner besonderen Mikroorganismen, wie sie für die Mineralisation von Cellulose in Form von celluloseabbauenden Bodenorganismen notwendig ist.

Ähnlich wie bei C_{mik} kam es auch bei N_{mik} am 5. Tag zu einem Anstieg der Gehalte ($41 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden bei Rohrzucker und $27 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden bei Cellulose) gegenüber der Kontrolle. Nach Zugabe von Stroh konnten auch POTTHOFF ET AL. (2001) einen kurzzeitigen Anstieg des mikrobiellen Stickstoffs feststellen, der nach dem 2. Tag wieder abnahm und ab dem 4. Inkubationstag wieder kontinuierlich anstieg. WICHERN ET AL. (2004) konnten ebenfalls einen Anstieg des mikrobiellen Stickstoffs feststellen, der aber weitaus größer war als der in dem hier vorgestellten Experiment. Der im Gegensatz zu C_{mik} geringe Anstieg von N_{mik} zu Versuchsbeginn könnte auf einen hohen Transfer von Stickstoff (über die mikrobielle Biomasse) in die mikrobiellen Residuen hindeuten (JOERGENSEN und MUELLER 1996). Eine starke Abnahme von N_{mik} stellte sich, insbesondere in der Cellulosevariante, ab dem 33. Tag ein. Es kam hier zu einem regelrechten Zusammenbruch des mikrobiellen Stickstoffs. Gleichzeitig wurde der zuvor immobilisierte Stickstoff remineralisiert, wobei die Zunahme des remineralisierten Stickstoffs in der Cellulosevariante um $20 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden größer war als die Abnahme von N_{mik} . In der Rohrzuckervariante lag der Unterschied nur bei $5 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden. Welcher Anteil des remineralisierten Stickstoffs aus dem Pool der mikrobiellen Biomasse oder der mikrobiellen Residualmasse stammte, kann nicht eindeutig bestimmt werden. Es kann aber angenommen werden, dass beide Pools daran beteiligt waren. Durch die Einarbeitung von C_3 -C in die Cellulosevariante kam es erst nach dem 38. Tag zu einem Anstieg von N_{mik} ($11 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden). Die Rohrzuckervariante+C zeigte dagegen eine langsamere Abnahme gegenüber der Variante ohne C_3 -Einarbeitung.

EHALIOTIS ET AL. (1998) konnten nach anfänglicher N-Gabe und einer Cellulosezugabe nach 20 Tagen eine kurzzeitige Zunahme des Biomasse-N nachweisen. Nach weiteren 20 Tagen erfolgte eine weitere Zugabe von Bohnenresiduen, hierauf erfolgte eine Abnahme des Biomasse-N.

JOERGENSEN und RAUBUCH (2002) konnten wenige Stunden nach Zugabe von Glukose ein gegenüber der Kontrolle erhöhtes C_{mik}/N_{mik} -Verhältnis feststellen. Die Autoren führen dies, genau wie CHANDER und JOERGENSEN (2001), auf ein N-Defizit, bedingt durch die Glukosezugabe, zurück. Dies konnte auch in diesem Versuch, insbesondere bei der Rohrzuckervariante, festgestellt werden. Diese hatte an Tag 5 ein signifikant höheres C_{mik}/N_{mik} -Verhältnis (14,8) als die anderen Varianten. Das C_{mik}/N_{mik} der Cellulosevariante lag dagegen in einem Bereich zwischen 8,7 an Tag 5 und 7,9 an Tag 33. Ein ähnliches C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse von ca. 7,7 konnten WICHERN ET AL. (2004) nach Zugabe verschiedener Dünger in Verbindung mit Trocknungs- und Wiederbefeuchtungszyklen über eine Inkubationsperiode von 18 Tagen feststellen. JOERGENSEN und RAUBUCH (2003a) fanden bei 5 verschiedenen Böden, die bei 8 unterschiedlichen Temperaturen inkubiert wurden, ein C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse zwischen 6,0 und 7,5. JOERGENSEN (1995) konnte in Untersuchungen von Böden aus Acker- und Grünlandstandorten ein C_{mik}/N_{mik} von 6,9 bzw. 6,6 ermitteln. SALAMANCA ET AL. (2002) untersuchten Boden des sekundären Tropenwaldes und konnten hier ein C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse zwischen 11,1 und 17,5 nachweisen. Ein höheres C/N der mikrobiellen Biomasse führen MARY ET AL. (1996) auf einen höheren Anteil pilzlicher Biomasse zurück, da diese beim Abbau von Cellulose und Lignin eine maßgebliche Rolle spielen, während Bakterien eher die löslichen Komponenten mineralisieren. Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse aus dieser Untersuchung, da in den ersten 33 Tagen kein höheres C/N der mikrobiellen Biomasse durch Celluloseabbau festgestellt werden konnte. Zu einer Zunahme von C_{mik}/N_{mik} kam es erst nach dem 33. Tag. So konnte in beiden Varianten ohne die C_3 -Zugabe ein Anstieg auf 30,3 bei Rohrzucker und 34,2 bei Cellulose bis Tag 45 nachgewiesen werden. Die Einarbeitung der C_3 -Cellulose bewirkte in der Cellulosevariante einen Anstieg des Verhältnisses bis

Tag 38 auf einen Wert von 30. Dabei scheint es in beiden Varianten ohne C₃-C zu einem N-Mangel gekommen zu sein, ebenso wie in der Cellulosevariante mit C₃-C. In der Rohrzuckervariante mit C₃-C scheint dagegen weniger ein Problem des N-Defizites aufgetreten zu sein. Hier erfolgte zwar ebenfalls eine Zunahme von C_{mik}/N_{mik} , die aber weit geringer war als die der Variante ohne C₃-Zugabe.

Der Ergosterolgehalt als Indikator der pilzlichen Biomasse

Der Ergosterolgehalt der Kontrollvariante (0,4 bis 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden) lag unter den Ergebnissen anderer Autoren. JOERGENSEN (2000) konnte bei Untersuchungen von 13 verschiedenen Graslandböden nach vorheriger Entfernung der Wurzeln Ergosterolgehalte zwischen 1,57 und 6,88 $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden ermitteln. POTTHOFF ET AL. (2001) konnten in einem Inkubationsexperiment Gehalte von ca. 5 $\mu\text{g Ergosterol g}^{-1}$ Boden nachweisen. In einem Inkubationsexperiment ermittelten CHANDER ET AL. (2002) in der Kontrollvariante Ergosterolgehalte von 0,81 $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden, die in einem Zeitraum von 85 Tagen auf einen Wert von 0,73 $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden abnahmen. Die Einarbeitung von Jute führte zu einem Anstieg bis Tag 10 auf 4,02 $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden. Die Autoren führten die starke Entwicklung der pilzlichen Biomasse auf den hohen Anteil an Cellulose und Hemicellulose in der Jute zurück. Dies bestätigen auch GLEIXNER ET AL. (1993) sowie HENRIKSEN und BRELAND (1999b) in ihren Untersuchungen. In dem hier durchgeführten Experiment führte die Zugabe der C₄-Cellulose ebenfalls zu einem Anstieg der Ergosterolgehalte (ca. 5 $\mu\text{g g}^{-1}$ Boden bis zum 33. Tag) und entspricht somit den Ergebnissen der genannten Autoren. In der Rohrzuckervariante war dagegen nur ein anfänglicher Anstieg des Ergosterolgehaltes zu verzeichnen, der aber nach dem 5. Tag in eine gleichmäßige Abnahme umschwang.

Der Anteil der pilzlichen Biomasse an der mikrobiellen Biomasse kann über das Verhältnis Erg/C_{mik} beschrieben werden. So lag an Tag 33 das Erg/C_{mik} -Verhältnis der Cellulosevariante bei ca. 2,2 % und war damit auch signifikant unterschiedlich gegenüber den anderen Varianten. Der starke Anstieg der Ergosterolgehalte und demnach auch das Verhältnis Erg/C_{mik} deutet auf einen Strukturwandel in der mikrobiellen Zersetzergemeinschaft hin (CHANDER und JOER-

GENSEN 2002, CHANDER ET AL. 2002, POTTHOFF ET AL. 2001). Dabei gilt es allerdings zu erwähnen, dass der Gehalt an Ergosterol zwischen den Pilzspezies stark variiert (DJAJAKIRANA ET AL. 1996). Es kann also auch zu einer Umstrukturierung der pilzlichen Biomasse hin zu Pilzarten mit höheren Ergosterolgehalten gekommen sein. Anhand einer alleinigen Bestimmung des Ergosterolgehaltes kann somit keine Aussage über die pilzliche Zusammensetzung im Boden gemacht werden. STAHL und PARKIN (1996) weisen darauf hin, dass eine alleinige Bestimmung von Ergosterol (ohne eine Bestimmung der Länge der lebenden Pilzhyphen) die Möglichkeit einer Fehleinschätzung erhöhen kann. MALOSSO ET AL. (2004) konnten keine Zunahme der pilztypischen Phospholipid-Fettsäure (PLFA) 18:2 ω 6 bei zunehmendem Ergosterolgehalt während der Zersetzung von C₄-markiertem Pflanzenmaterial feststellen. JOERGENSEN und POTTHOFF (2005) konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen dem Ergosterolgehalt und den pilztypischen Phospholipid-Fettsäuren ermitteln. Auch ZHAO ET AL. (2005) kommen zu dem Ergebnis, dass eine alleinige Bestimmung von Ergosterol als Indikator für die pilzliche Biomasse nicht ausreichend ist, da pilzliches Biomasse-C nach einer Fumigation wesentlich schneller abgebaut wurde als endogenes Ergosterol. Es kann daher in diesem Experiment lediglich die Aussage getroffen werden, dass die Zugabe der Cellulose zu einer Erhöhung der Ergosterolgehalte geführt hat, was aber nicht gleichzusetzen ist mit einer Zunahme der pilzlichen Biomasse.

5.3.4 Effekt der C₄-Zugaben auf C₃-C_{mik} und C₃-CO₂

Im Idealfall mineralisiert die mikrobielle Biomasse nur die dem Boden zugegebenen Substrate. Wird aber auch die im Boden vorhandene native organische Substanz veratmet, ist die Rede von einem Priming Effekt. Dabei scheint die Mineralisation von bodenorganischer Substanz weniger durch leicht verfügbare Zugaben wie Glukose, Fruktose oder mineralischen Dünger ausgelöst zu werden, als vielmehr durch Cellulose, Weidelgras oder Weizenstroh (BINGEMAN ET AL. 1953). Nach Zugabe des Rohrzuckers bzw. der Cellulose wurde ein Anstieg des C₃-Kohlenstoffs in der mikrobiellen Biomasse und im CO₂ über den Wert der

Kontrolle hinaus festgestellt (Tab. 4), wobei dieser Effekt bei der Rohrzuckervariante größer war als bei der Cellulosevariante.

Tabelle 4: Priming Effect, ermittelt anhand von $C_3\text{-CO}_2$ ($\mu\text{g g}^{-1}$ Boden d^{-1}) und $C_3\text{-C}_{mik}$ ($\mu\text{g g}^{-1}$ Boden), ermittelt aus der Differenz zwischen $C_3\text{-C}$ und Kontrolle (n=12).

	Tag 5		Tag 12	
	$C_3\text{-CO}_2$	$C_3\text{-C}_{mik}$	$C_3\text{-CO}_2$	$C_3\text{-C}_{mik}$
Cellulose	8,9	129	10,1	106
Rohrzucker	15,2	182	4,7	104
Kontrolle	7,5	98	1,2	71
Priming Effect				
Cellulose	1,4	31	8,9	35
Rohrzucker	7,7	84	3,5	33

Dagegen konnten CHANDER und JOERGENSEN (2001) nach Zugabe von ^{14}C -markierter Glukose ein abnehmendes Biomasse- ^{12}C und ein zunehmendes $^{12}\text{CO}_2\text{-C}$ feststellen. Die Autoren führen das zusätzliche CO_2 auf die native mikrobielle Biomasse zurück, nicht jedoch auf die Mineralisation von bodenorganischer Substanz. WU ET AL. (1993) konnten bei höherer Glukosezugabe ($5000 \mu\text{g C g}^{-1}$ Boden) eine größere Abnahme der nativen Biomasse bei gleichzeitiger Zunahme des $\text{CO}_2\text{-C}$ feststellen als bei geringerer Zugabe ($500 \mu\text{g C g}^{-1}$ Boden). Bei Zugabe von Weidelgras konnten die Autoren ebenfalls einen Priming Effect ermitteln; dieser war allerdings unabhängig von der Konzentration des zugegebenen Kohlenstoffs. KOUNO ET AL. (2002) stellten jeweils nach Einarbeitung von Glukose und Weidelgras einen leichten Priming Effect fest. Die Autoren führen den Zuwachs des nicht markierten Biomasse-C allerdings auf eine ungleichmäßige Markierung des Weidelgrases zurück. FLESSA ET AL. (2002) konnten nachweisen, dass die auf Pflanzenresiduen angesiedelte mikrobielle Biomasse mehr CO_2 produzierte als die autochthone Mikroflora des Bodens. EKB-

LAD und HÖGBERG (2000) konnten in ihren Experimenten nachweisen, dass die mikrobielle Mineralisation von C₄-Rohrzucker ebenfalls CO₂ freisetzt, das aber aus der nativen mikrobiellen Biomasse stammt. Die mikrobielle Mineralisation des Rohrzuckers in dem hiesigen Experiment setzte ebenfalls mehr C₃-CO₂ frei als die Kontrollvariante. Würde dieses C₃-CO₂ aus der abgestorbenen nativen mikrobiellen Biomasse stammen, hätte es auch zu einer Abnahme des C₃-C_{mik} gegenüber der Kontrollvariante kommen müssen (WU ET AL. 1993, CHANDER und JOERGENSEN 2001). Da es hier aber auch zu einer Zunahme der C₃-Biomasse kam, kann daraus geschlossen werden, dass es sich um einen realen Priming Effect handelt. Dies bestätigt auch die Tatsache, dass das Maximum von C_{mik} und CO₂ zeitgleich verlief wie das Maximum des Priming Effectes (KUZYAKOV ET AL. 2000). In der Cellulosevariante lag dagegen das Maximum des Priming Effectes an Tag 12, wobei kein Maximum der mikrobiellen Biomasse (C_{mik}) zu erkennen war. Folgt man der Darstellung von FONTAINE ET AL. (2003), kam es in der Cellulosevariante zu einer Entwicklung von K-Strategen, die geringere Wachstumsraten aufweisen als R-Strategen, welche in der Lage sind, polymerisierte bodenorganische Substanz zu mineralisieren. Den Autoren nach entlassen K-Strategen mehr Enzyme, als für die Polymerisierung des zugegebenen Substrates nötig ist. Diese Überproduktion führt letztendlich auch zur Mineralisation der nativen organischen Substanz und somit zum Priming Effect. Dies entspricht auch der Annahme von BINGEMAN ET AL. (1953), wonach die Intensität des Priming Effectes abhängig ist von der Art der Population, die durch die Zugabe von frischer organischer Substanz aktiviert wird.

5.3.5 Umsatz der C₃-Cellulose

Die Mineralisation der an Tag 33 zugegebenen C₃-Cellulose verlief in den ersten 5 Tagen nach Zugabe bei allen drei Varianten (Kontrolle+C, Cellulose+C und Rohrzucker+C) in gleichem Maße (Abb 4, S. 28). Bis Tag 67, also im Zeitraum von 34 Tagen, wurden zwischen 46 und 56 % des C₃-Kohlenstoffs mineralisiert. Im Gegensatz dazu wurden von dem Kohlenstoff aus der C₄-Cellulose innerhalb der ersten 33 Tage nahezu 70 % mineralisiert. Die Mineralisation der C₃-Cellulose

liegt in einem Bereich, den auch GRANT ET AL. (1993a) bestätigen können. HADAS ET AL. (2004) kalkulierten für Cellulose eine Halbwertszeit von 2 Wochen. Das bedeutet, die zugegebene Cellulose ist nach 14 Tagen zu 50 % mineralisiert bzw. nach 8 Wochen zu 95 % .

Die Tatsache, dass kein signifikanter Unterschied im Abbau der C₃-Cellulose zwischen den Varianten mit N-Gabe (Rohrzucker und Cellulose) und der Kontrolle bestand, stimmt mit den Ergebnissen von OCIO und BROOKES (1990a) überein. Die Autoren konnten keinen Unterschied in der Mineralisation von Weizenstroh (ca. 40 % Cellulose) bei unterschiedlichen N-Gehalten in zwei verschiedenen Böden feststellen. HENRIKSEN und BRELAND (1999b) stellten nach Beigabe von Stroh und verschiedenen Stickstoffkonzentrationen eine höhere C-Mineralisation bei hohen N-Gaben fest. Auch JINGGUO und BAKKEN (1997) konnten eine höhere C-Veratmung bei besserer N-Verfügbarkeit feststellen. Wird Stroh dem Boden zugegeben (C/N-Verhältnis zwischen 50 und 100), kann die mikrobielle Biomasse das entstehende N-Defizit mit dem Stickstoff aus dem Stroh ausgleichen (OCIO ET AL. 1991a). Die in diesem Experiment verwendete C₃-Cellulose hatte jedoch ein C/N-Verhältnis von 820, d.h. bei einer Zugabe von 3 mg Cellulose-C g⁻¹ Boden kommen 0,003 mg N g⁻¹ Boden zusätzlich in den Boden. Der Stickstoff, der mit der C₃-Cellulose in den Boden gelangte, scheidet also als Motor für die Kohlenstoffmineralisation in der Kontrollvariante aus. Allerdings ist zu bedenken, dass zu diesem Zeitpunkt der Gehalt an mineralischem Stickstoff in der Kontrollvariante bei ca. 20 µg g⁻¹ Boden lag, wovon ein Großteil nach Zugabe der C₃-Cellulose immobilisiert wurde.

Auf die Entwicklung der Ergosterolgehalte hatte die C₃-Cellulose nicht den gleichen Effekt wie die C₄-Cellulose, die zu Versuchsbeginn verabreicht wurde. Es zeigte sich hier zwar eine leichte Veränderung im Gegensatz zu den Varianten ohne Zugabe der C₃-Cellulose, diese waren aber nicht signifikant.

5.3.6 Bildung mikrobieller Residuen

Einlagerung von Kohlenstoff in die mikrobielle Residualmasse

Rohrzucker ist, ähnlich wie Glukose, eine lösliche und schnell abbaubare Komponente, die durch Diffusion viele, wenn auch nicht alle, Mikroorganismen erreicht. Erreicht der gelöste Zucker die Mikroorganismen, wird der ruhende Teil aktiviert und ihre Aktivität gesteigert. Damit erhöht sich auch der Biomasseumsatz und die Bildung von mikrobiellen Residuen (JOERGENSEN und SCHEU 1999). Ähnlich schnell abgebaut werden dürfte auch der Rohrzucker, da auch er, wie die Glukose, nicht erst depolymerisiert werden muss. Ein Teil des durch die mikrobielle Biomasse aufgenommenen C₄-Rohrzuckers wird durch den Energiestoffwechsel zu C₄-CO₂ veratmet und teilweise für die Synthetisierung von mikrobiellen Zellkomponenten verwendet. Durch Exkretion von exocellulären Produkten, wie Exoenzymen, Schleimhüllen sowie abgestorbenen, mikrobiellen Zellen (Nekromasse), verlässt das C₄-C die lebende mikrobielle Biomasse und geht in die Fraktion der mikrobiellen Residualmasse über (JOERGENSEN 1995). Ist also sämtliches zugegebenes Substrat umgesetzt, kann die mikrobielle Residualmasse aus der Differenz zwischen C₄-C_{org} und C₄-C_{mik} errechnet werden (JOERGENSEN 1995, VAN GESTEL ET AL. 1996). Das in den mikrobiellen Residuen inkorporierte Rohrzucker-C lag bei dieser Untersuchung an Tag 5 bei 755 µg C₄-C g⁻¹ Boden, was ca. 25 % des zugegebenen C₄-Kohlenstoffs entspricht, und nahm bis Tag 33 nur geringfügig ab (Abb. 15). Zu diesem Zeitpunkt waren noch 21 % des zugegebenen C₄-C in den mikrobiellen Residuen inkorporiert. Diese Ergebnisse entsprechen denen anderer Autoren. JOERGENSEN ET AL. (1995) konnten nach 33 Tagen in einem mit Heizöl kontaminierten Boden 57 bzw. 68 % des zugegebenen Heizöl-C in den mikrobiellen Residuen wiederfinden. VAN GESTEL ET AL. (1996) konnten nach nur 7 Inkubationstagen ca. 17,5 % des verabreichten ¹⁴C in Form von Pflanzenextrakten in der mikrobiellen Residualmasse wiederfinden. CHANDER und JOERGENSEN (2001) konnten bereits 2 Tage nach Zugabe von ¹⁴C-Glukose zwischen 34 und 58 % und nach 10 Tagen noch zwischen 20 und 37 % des zugegebenen Glukose-C in den mikrobiellen Residuen nachweisen.

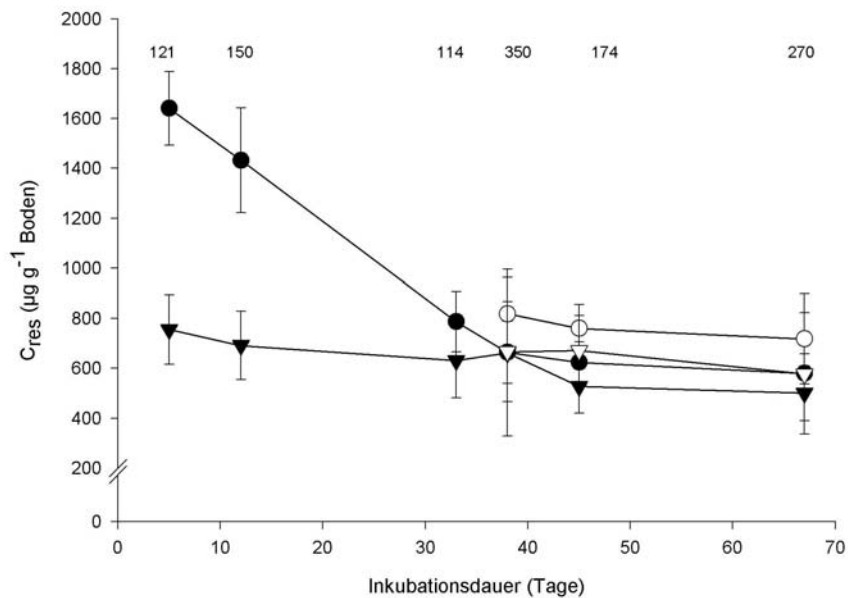


Abbildung 15: Anteil des kalkulierten Kohlenstoffs in den mikrobiellen Residuen ($C_{res} = C_4 - C_{Boden} - C_4 - C_{mik}$); Cellulose (●); Rohrzucker (▼); Cellulose+C (○); Rohrzucker+C (▽). Bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6, die Symbole zeigen Mittelwerte und die Fehlerbalken Standardabweichung. Angabe der Critical Difference bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer Test.

Im Gegensatz zum Rohrzucker gehört die Cellulose zu den Polysacchariden und somit zu den Polymeren der Glukose. Hierbei handelt es sich um Moleküle mit hohem Molekulargewicht, die von den Mikroorganismen nicht in dieser Form aufgenommen werden können. Ein Abbau kann demnach nur erfolgen, wenn diese Makromoleküle außerhalb der Zelle enzymatisch aufgespaltet werden. Die Cellulose muss von den Mikroorganismen erst in eine lösliche Form überführt werden, damit der Kohlenstoff aufgenommen und als Energiequelle genutzt werden kann (HAIDER 1999). Daher ist davon auszugehen, dass die C_4 -Cellulose bis Tag 5 des Experimentes noch nicht vollständig abgebaut wurde. Darauf deutet auch der C_4 -Anteil in der mikrobiellen Biomasse hin, der erst an Tag 33 eine Stabilität aufzeigte. Auch die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des C_{org} und des C_{mik} deuten auf eine Abreicherung hin, also auf die Mineralisation noch vorhandener C_4 -Cellulose bis Tag 33. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass erst zu diesem Zeitpunkt

die Cellulose komplett umgesetzt wurde (SCHLESER ET AL. 1999, HENRIKSEN und BRELAND 1999a, KÖGEL-KNABNER 2002). Demnach lag der Anteil gebildeter mikrobieller Residuen an Tag 33 bei ca. $730 \mu\text{g C}_4\text{-C g}^{-1}$ Boden. Konstante Werte traten aber erst ab dem 38. Tag ein. Zu diesem Zeitpunkt lagen beide Varianten mit C_4 -Zugabe auf dem gleichen Niveau bei $660 \mu\text{g C}_4\text{-C g}^{-1}$ Boden, was ca. 22 % des zugegebenen Kohlenstoffs entspricht. Obwohl die Umsetzung der Cellulose wesentlich langsamer verlief als die des Rohrzuckers, lagen beide an Tag 38 auf gleichem Niveau. Ungeklärt bleibt die Frage nach dem genauen Zeitpunkt der Bildung von mikrobiellen Residuen. Bei einem sehr leicht verfügbaren Substrat, wie z.B. Glukose, kann die Bildung der mikrobiellen Residuen beginnen, bevor die Glukose vollends umgesetzt ist (GRANT ET AL. 1993b).

Inkorporation von Stickstoff in die mikrobielle Residualmasse

Wird mineralischer Stickstoff zusammen mit leicht verfügbaren Kohlenstoffkomponenten einem Boden verabreicht, so kommt es zur Immobilisation des mineralischen Stickstoffs durch die mikrobielle Biomasse. Da die mikrobielle Biomasse bei hohem Stoffumsatz auch eine hohe Absterberate aufweist, kann sich der immobilisierte Stickstoff auch in den mikrobiellen Syntheseprodukten und der abgestorbenen mikrobiellen Biomasse befinden. Ein Hinweis auf die Inkorporation von Stickstoff in die mikrobiellen Residuen ist die Immobilisation von mineralischem Stickstoff nach Zugabe von leicht umsetzbaren Materialien (vgl. Kapitel 5.3.2, S. 47). Dabei wird aber nur ein relativ kleiner Teil des in organische Bindungsformen überführten N in der mikrobiellen Biomasse wiedergefunden (OCIO ET AL. 1991b, JOERGENSEN ET AL. 1995, MUELLER ET AL. 1998b). Dies konnte deutlich an Tag 5 des Experimentes in der Rohrzuckervariante beobachtet werden. Es kam zu einer schnellen und hohen Immobilisierung des mineralischen Stickstoffs von $110 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden, wobei der mikrobielle Stickstoff bis zu diesem Zeitpunkt nur um $23 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden zugenommen hatte. Es bestand also eine Differenz in der Stickstoffbilanz von $87 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden. MUELLER ET AL. (1998b) wiesen darauf hin, dass eine negative N-Bilanz nach Zugabe von Pflanzenrückständen auf den Pool der mikrobiellen Residuen zurückzuführen ist. Auf Basis der N-Bilanz befinden sich in der Cellulosevariante gegenüber der

Rohrzuckervariante nur $27 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden in der mikrobiellen Residualmasse. VINTEN ET AL. (2002) konnten diesen Effekt nur bei Einarbeitung von Cellulose in einen lehmigen Sandboden feststellen, nicht jedoch bei Zugabe von Glukose. SHINDO und NISHIO (2005) stellten ebenfalls eine Diskrepanz zwischen immobilisiertem und in der mikrobiellen Biomasse inkorporiertem N fest und erklären dies mit einem Wechsel von Biomasse-N zu resistenteren, organischen Formen, wie z.B. humifizierten Substanzen. PURI und ASHMAN (1998) fanden über den Jahresverlauf keinen direkten Zusammenhang zwischen der Bruttomineralisation und dem Pool des mikrobiellen Biomasse-Stickstoffs. JOERGENSEN ET AL. (1995) gehen in ihren Untersuchungen davon aus, dass nach Zugabe von anorganischem N dieser nach 33 Tagen vollständig in die mikrobiellen Residuen inkorporiert wurde. Bis Tag 33 konnte in dieser Untersuchung in beiden Varianten eine Zunahme der mikrobiellen Residuen errechnet werden. So lag der Anteil an organischem Stickstoff in den mikrobiellen Residuen bei der Rohrzuckervariante bei 111 und bei der Cellulosevariante bei $82 \mu\text{g N g}^{-1}$ Boden.

C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residualmasse

Über das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residualmasse lassen sich in der Literatur nicht allzu viele Anhaltspunkte finden. Je nachdem, welche Bestandteile vorherrschen, kann es sehr stark variieren. So weisen Exoenzyme, die als Proteine aus Aminosäuren bestehen, ein C/N-Verhältnis von ca. 3,1 auf (JOERGENSEN ET AL. 1995). Das C/N-Verhältnis der Nekromasse, also der abgestorbenen mikrobiellen Zellen, dürfte aufgrund des hohen Zellwandanteiles höher sein als das der mikrobiellen Biomasse selbst. Das C/N-Verhältnis kann ebenfalls höher sein, wenn die mikrobielle Residualmasse aus einem höheren Anteil von Zellwandkomponenten und Schleimen besteht (JOERGENSEN ET AL. 1995). MAYER ET AL. (2003) errechneten den Anteil mikrobieller Residuen nach Zugabe von Leguminosen unter der Annahme, dass die mikrobiellen Residuen das gleiche C/N-Verhältnis aufweisen, wie die mikrobielle Biomasse. JOERGENSEN ET AL. (1995) konnten in einem mit Heizöl belasteten Boden ein C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residualmasse von 7,5 ermitteln, welches sich hauptsächlich aus abgestorbenen Mikroorganismenzellen ableitete. Das in diesem Experiment ermittelte

C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residuen in der Rohrzuckervariante lag bei 8,6 an Tag 5 und bei 5,7 an Tag 33 (Tab. 5), also in einem Bereich, den auch die oben genannten Autoren in ihren Arbeiten ermittelten. An beiden Terminen lag das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residuen unter dem der mikrobiellen Biomasse, die ein C/N-Verhältnis an Tag 5 von 14,8 und an Tag 33 von 7,8 aufwies. Dies könnte auf einen höheren Anteil an Exoenzymen hinweisen (JOERGENSEN ET AL. 1995).

Tabelle 5: Kohlenstoffgehalte (C_{res}) und Stickstoffgehalte (N_{res}) der mikrobiellen Residuen in μg^{-1} Boden sowie das C_{res}/N_{res} -Verhältnis an Tag 33

Variante	C_{res}	N_{res}	C_{res}/N_{res}
Cellulose	789	82	9,6
Rohrzucker	631	111	5,7

In der Cellulosevariante erschien es hingegen sinnvoll, das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residuen erst ab dem 33. Tag zu betrachten, da die Cellulose vorher wahrscheinlich noch nicht vollständig umgesetzt wurde. An Tag 5 lag C_{res}/N_{res} bei 60, was ebenfalls auf einen fortdauernden Abbau der Cellulose hindeutet. Bis Tag 33 nahm C_{res}/N_{res} bis auf 9,6 ab und lag damit über dem C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse, das bei 7,8 lag. Da Cellulose überwiegend von Pilzen abgebaut wird (HAIDER 1999) und das C/N-Verhältnis von Pilzen (4,5 bis 15) häufig höher ist als das von Bakterien (3 bis 5, PAUL und CLARK 1989), liegt der Schluss nahe, dass das höhere C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residuen in der Cellulosevariante am 33. Tag auf den höheren pilzlichen Anteil zurückgeführt werden kann. Dies steht auch in Übereinstimmung mit den sehr hohen Ergosterolgehalten der Cellulosevariante, die ab dem 33. Tag wieder abnahmen und damit auch auf einen Rückgang von lebender pilzlicher Biomasse hindeuten.

5.3.7 Verbrauch an mikrobiellen Residuen

Je größer die Umsatzrate ist, umso größer ist auch der Anteil an gebildeten mikrobiellen Residuen, wobei ein Teil in leicht und ein Teil in schwer abbaubare Komponenten transformiert wird (JOERGENSEN 1998). Die gebildeten mikrobiellen Residuen können von der mikrobiellen Biomasse erneut verstoffwechselt und in neue mikrobielle Residualmasse überführt werden. Dieser Zyklus von Zersetzung und Neubildung der mikrobiellen Residuen führt letztendlich zu schwer abbaubarer, bodenorganischer Substanz. Von Interesse ist hier der Pool der leicht verfügbaren mikrobiellen Residuen, also derjenige, der erst neu gebildet wurde. Durch die Zugabe der C₃-Cellulose (C/N 820) sollte ein Mangel an mineralischem Stickstoff induziert werden, der, ausgelöst durch die angeregte Kohlenstoffmineralisation, die mikrobielle Biomasse dazu veranlasst, organischen Stickstoff zu remineralisieren. Im Idealfall wird nach Zugabe einer leicht verfügbaren Kohlenstoffquelle zusammen mit mineralischem Stickstoff dieser vollständig immobilisiert. Tritt nun ein Mangel an mineralischem N auf, wird der immobilisierte Stickstoff wieder remineralisiert und gelangt in Form von NH₄⁺ wieder in den anorganischen Stickstoffpool zurück (HADAS ET AL. 1992). Bei Betrachtung der N_{min}-Gehalte nach dem 33. Tag (Abb. 6, S. 30) kam es, mit Ausnahme der Kontrolle, in allen Varianten zu einer Remineralisation, allerdings nicht in Form von NH₄⁺. Dass kein Unterschied zwischen den Varianten mit und ohne C₃-Zugabe festzustellen war, deutet darauf hin, dass kein ausreichendes Stickstoffdefizit vorlag. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass der zu Versuchsbeginn verabreichte Kohlenstoff vollends umgesetzt wurde und somit die mikrobielle Biomasse, um ihren Umsatz zu decken, die mikrobielle Residualmasse konsumiert hat (JOERGENSEN 1995). Dies kann auftreten, wenn nach Zugabe von leicht verfügbarem Kohlenstoff in sehr kurzer Zeit ein hoher Anteil an mineralischem Stickstoff immobilisiert wird. Ist die Kohlenstoffquelle erschöpft, folgt eine Phase der Remineralisation (MARY ET AL. 1996). Demnach müsste der zu Versuchsbeginn zugegebene C₄-Kohlenstoff zum Zeitpunkt der C₃-Zugabe komplett von der mikrobiellen Biomasse umgesetzt worden sein und in einer schwer verfügbaren Form vorliegen (JOERGENSEN 1998). Ein Anzeichen dafür ist die fortschreiten-

de Abreicherung des C₄-C in der mikrobiellen Biomasse sowie im CO₂ (Abb. 13, S. 41), was auf die Mineralisation von schwer umsetzbaren Komponenten hindeutet (BENNER ET AL. 1987, ÅGREN ET AL. 1996, ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. 2000b). Die Abnahme des Kohlenstoffs in den mikrobiellen Residuen könnte ein Hinweis darauf sein (Abb. 15). Vom 33. bis 67. Tag konnte in der Cellulosevariante eine Abnahme von 150 µg C₄-C g⁻¹ Boden und in der Rohrzuckervariante von 130 µg C₄-C g⁻¹ Boden berechnet werden. Dagegen lag in den Varianten, die eine ¹²C-Gabe am 33. Tag erhielten, der Verbrauch an mikrobiellen Residuen zwischen 13 und 50 µg g⁻¹ Boden. Es fand demnach trotz der Zugabe von leicht verfügbarem Kohlenstoff eine Mineralisation der mikrobiellen Residualmasse statt, wenn auch nur in geringem Umfang.

5.3.8 An- und Abreicherung von ¹³C im Boden

Der δ¹³C-Wert des verwendeten Bodens lag vor Versuchsbeginn bei -26,5 ‰PDB und nach 5 Tagen Inkubation bei -26,3 ‰PDB (Kontrolle), also in einem Bereich, der auf eine C₃-Vegetation hinweist (BOUTTON 1996). Dass der Wert über den gesamten Versuchsverlauf wenig Veränderung zeigte, weist auf ein relativ stabiles Isotopenverhältnis hin, das durch die Inkubation und die in den Mikrokosmen herrschenden Verhältnisse (Temperatur, Feuchte) wenig beeinflusst wurde. Durch die Zugabe von Cellulose und Rohrzucker (-10,5 ‰PDB für beide Substrate) wurde der δ¹³C-Wert des Bodens, gemessen an Tag 5, auf einen Wert von -25,1 ‰PDB beim Rohrzucker und auf -24,4 ‰PDB bei der Cellulose angehoben. Da von beiden Substraten (Cellulose und Rohrzucker) die gleichen Mengen an Kohlenstoff mit dem gleichen C-Isotopenverhältnis verabreicht wurden, ist anzunehmen, dass zu Beginn der Untersuchung der gleiche δ¹³C-Wert bei beiden Varianten vorlag. Nach 5 Tagen bestand bereits ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Varianten, was darauf hindeutet, dass die leicht verfügbaren Komponenten des Rohrzuckers stärker angereichert waren als die schwer verfügbaren (ÅGREN ET AL. 1996, ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. 2000b). Im Gegensatz zur Rohrzuckervariante konnte bei der Cellulosevariante eine Abreicherung bis Tag 33 festgestellt werden, danach blieb der δ¹³C-Wert bei -25,5 ‰PDB relativ

konstant. Dies weist auf eine langsamere Umsetzung der Cellulose gegenüber dem Rohrzucker hin. Nach ÅGREN ET AL. (1996) verändert sich das Kohlenstoffisotopenverhältnis während der Zersetzung der bodenorganischen Substanz. Diese Veränderung resultiert aus der Tatsache, dass leicht verfügbare Komponenten von der mikrobiellen Biomasse schneller umgesetzt werden als schwer verfügbare Komponenten, die isotopisch angereichert sind. Da die mikrobielle Biomasse die Cellulose erst enzymatisch polymerisieren musste (HAIDER 1999), erfolgte deren Mineralisation und damit die Abreicherung langsamer als beim Rohrzucker.

5.3.9 An- und Abreicherung von ^{13}C in der mikrobiellen Biomasse

Der mikrobielle Kohlenstoff der Kontrollvariante war an Tag 5 gegenüber dem des Bodens (-26,3 ‰PDB) um 1,5 ‰PDB angereichert. RYAN ET AL. (1995) konnten einen Unterschied von 1,8 ‰PDB zwischen dem mikrobiellen Biomasse-C und dem Kohlenstoff im Boden nachweisen. ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. (2000a) konnten in einer Untersuchung von 21 Graslandböden der Tropen und der gemäßigten Breiten eine Anreicherung der mikrobiellen Biomasse gegenüber dem Boden von 2 ‰PDB feststellen. POTTHOFF ET AL. (2003) beobachteten bei einem Methodenvergleich ebenfalls eine Anreicherung von 2 ‰PDB in einem unbehandelten C_3 -Boden. Durch die Beigabe von Maisstroh war nach 28 Tagen Inkubationsdauer chloroform-labiles Biomasse-C im Vergleich zum Boden um ca. 10 ‰PDB angereichert. Dies entspricht auch dem Anreicherungswert, der sich bei dem hiesigen Experiment durch die Einarbeitung des Rohrzuckers ergab; er lag bei 10 ‰PDB an Tag 5. Durch die Zugabe der C_4 -Cellulose war C_{mik} an Tag 5 um 6,7 ‰PDB gegenüber dem Boden angereichert. Die kontinuierliche Abreicherung der mikrobiellen Biomasse in der Rohrzuckervariante von -14,1 ‰PDB (Tag 5) auf -18,2 ‰PDB (Tag 67) deutet, je nach Inkubationszeitpunkt, auf die Mineralisation von unterschiedlichen Substratkomponenten hin. So ist im frühen Stadium der Inkubation die Aktivität der mikrobiellen Biomasse und damit auch deren Anreicherung am höchsten. Je nach Wachstumsstadium synthetisieren Mikroorganismen Zellkomponenten mit unterschiedlichem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert. Dabei wer-

den bei Zellwachstum, also dem Wachstum der mikrobiellen Biomasse, überwiegend proteinogene Komponenten synthetisiert, die in ^{13}C angereichert sind (ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. 2000a). Dagegen werden in Zellen einer im Wachstum limitierten mikrobiellen Biomasse überwiegend Komponenten eingelagert, die der Speicherung dienen und in ^{13}C abgereichert sind (DEINES 1980). Bei der Cellulosevariante kam es noch bis Tag 12 zu einer Anreicherung von ^{13}C in der mikrobiellen Biomasse, was auf eine langsamere Umsetzung der leicht verfügbaren Komponenten der Cellulose gegenüber dem Rohrzucker hindeutet. Im weiteren Versuchsverlauf kam es zur weiteren Abreicherung, also zur Umsetzung und Einlagerung von schwerer umsetzbaren Kohlenstoffkomponenten (ÅGREN ET AL. 1996, ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. 2000b).

5.3.10 Diskriminierung von ^{13}C während der mikrobiellen Veratmung der Cellulose und des Rohrzuckers

Das $\delta^{13}\text{CO}_2$ der Kontrolle lag an Tag 5 bei $-24,3 \text{ ‰PDB}$ und war gegenüber dem des Bodens ($-26,3 \text{ ‰PDB}$) um 2 ‰PDB angereichert. Dies konnte bis auf geringe Schwankungen über den gesamten Versuchsverlauf hindurch beobachtet werden. KRISTIANSEN ET AL. (2004) stellten in den ersten 6 Tagen eines Inkubationsexperimentes ebenfalls eine Anreicherung von $1\text{-}2 \text{ ‰PDB}$ bei einem C_3 -Boden fest. Einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des CO_2 von $-26,5 \text{ ‰PDB}$ bei einem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Bodens von $-28,3 \text{ ‰PDB}$ fanden BUCHMANN ET AL. (1997). Nach BOUTTON (1991) liegt die Anreicherung von CO_2 gegenüber dem Boden bei ca. 5 ‰PDB . Die Einarbeitung der C_4 -Cellulose und des C_4 -Rohrzuckers (beides $-10,5 \text{ ‰PDB}$) führte gegenüber dem Boden und der mikrobiellen Biomasse zu einer Anreicherung von ^{13}C im CO_2 . Der $\delta^{13}\text{CO}_2$ -Wert beider Varianten lag am 5. Tag bei einem Wert von $-13,5 \text{ ‰PDB}$ (Cellulose) und $-12,9 \text{ ‰PDB}$ (Rohrzucker). Dass die höchste Anreicherung im CO_2 zu finden war, deutet auf eine verstärkte Mineralisation von C_4 -Kohlenstoff hin. An Tag 12 des Experimentes lag der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des CO_2 bei $-15,4 \text{ ‰PDB}$ und der von C_{mik} bei $-15,2 \text{ ‰PDB}$. ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. (2000a) konnten nach 10 Tagen eine Abreicherung zwischen $0,1$ und $5,7 \text{ ‰PDB}$ des CO_2 gegenüber der mikrobiellen Biomasse nachweisen. Auch KRI-

STIANSEN ET AL. (2004) kamen zu dem Ergebnis, dass die Zersetzung von komplexen Substraten verbunden ist mit der Diskriminierung gegen ^{13}C , was zu einer Abreicherung des CO_2 und einer Anreicherung der mikrobiellen Biomasse führt. Eine Abreicherung des CO_2 gegenüber der mikrobiellen Biomasse begründet sich in der bevorzugten Verwendung von ^{12}C während des Katabolismus und der Präferenz von ^{13}C für den Metabolismus, also dem Zellwachstum (BLAIR ET AL. 1985, SCHMIDT und GLEIXNER 1998). In dieser Untersuchung konnte in den beiden Varianten zu keinem Zeitpunkt eine Anreicherung von ^{13}C in C_{mik} gegenüber CO_2 festgestellt werden. Allerdings wurde eine Abreicherung des CO_2 gegenüber dem zugegebenen Substrat (-10,5 ‰PDB) zwischen 3 bis 3,5 ‰PDB an Tag 5 beobachtet. Dies entspricht den Ergebnissen von KRISTIANSEN ET AL. (2004), EKBLAD und HÖGBERG (2000) sowie BLAIR ET AL. (1985). KRISTIANSEN ET AL. (2004) konnten nach Zugabe von Mais einen um 3 ‰PDB geringeren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert im CO_2 ermitteln. EKBLAD und HÖGBERG (2000) konnten im veratmeten CO_2 nach Einarbeitung von C_4 -Rohrzucker ($\delta^{13}\text{C}$ -9,9 ‰PDB) einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von ca. -19 ‰PDB ermitteln. Die Autoren begründen die hohe Abreicherung an ^{13}C mit einer Anreicherung von ^{12}C als Folge des erhöhten mikrobiellen Umsatzes. EKBLAD ET AL. (2002) stellten in ihren Untersuchungen nur eine geringe Diskriminierung von ^{13}C während der mikrobiellen Veratmung fest. BLAIR ET AL. (1985) beobachteten eine Abreicherung von 3,4 ‰PDB nach Zugabe von Glukose. Im Gegensatz dazu fanden ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. (2000b) eine Anreicherung von ^{13}C im CO_2 im Vergleich zum Ausgangssubstrat. HULLAR ET AL. (1996) fanden in ihren Untersuchungen in Abhängigkeit vom Ausgangssubstrat unterschiedliche Ergebnisse. Wächst die mikrobielle Biomasse auf einer Mischung von Substraten, so reflektiert das veratmete CO_2 einen weiten Durchschnitt der verschiedenen Kohlenstoffpools. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ist dann von den Molekülen abhängig, die gerade katabolisiert werden. Nach KRISTIANSEN ET AL. (2004) ist eine Zersetzung von komplexen Substraten (z.B. Mais) verbunden mit einer Diskriminierung gegen ^{13}C , was zu einer Abreicherung im CO_2 und zu einer Anreicherung der mikrobiellen Biomasse führt. Demnach müssten auch die im Boden verbleibenden mikrobiellen Produkte in ^{13}C angereichert sein.

5.3.11 Relative Verteilung des C₄-Kohlenstoffs

An Tag 5 des Experimentes nahm der prozentuale Anteil von C₄-C in der Reihenfolge CO₂ > C_{mik} > C_{org} in beiden Varianten ab. JOHN ET AL. (2003) konnten bei Untersuchungen an ungestörten Bodenproben die höchsten maisbürtigen C-Anteile im CO₂ beobachten, gefolgt von der mikrobiellen Biomasse und der bodenorganischen Substanz. Ist der Anteil an C₄-Kohlenstoff in der mikrobiellen Biomasse geringer als im CO₂, deutet dies auf eine größere aktive Population der mikrobiellen Biomasse hin, die sich überwiegend auf den leicht verfügbaren C₄-Kohlenstoff begründet und eine kleinere, weniger aktive, die sich im Ruhezustand befindet (HAIDER 1999) und auf dem C₃-Kohlenstoff der organischen Substanz im Boden basiert (JOHN ET AL. 2003). Demnach müsste sich ein hoher Anteil der mikrobiellen Biomasse der Rohrzuckervariante und der Cellulosevariante zu Versuchsbeginn in einem aktiven Zustand befinden. Mit fortschreitender Inkubationsdauer wird die Differenz des C₄-C zwischen dem CO₂ und C_{mik} immer geringer, was demnach bedeutet, dass der inaktive Anteil der mikrobiellen Biomasse zunimmt.

Wie unterschiedlich sich beide C₄-Zugaben auf die Entwicklung der mikrobiellen Biomasse auswirkten, zeigt deutlich die Zunahme von C₄-C in der mikrobiellen Biomasse bei gleichzeitig abnehmendem C₄-C im CO₂ in der Cellulosevariante. In der Rohrzuckervariante konnte dieser konträre Verlauf nicht beobachtet werden, hier nahmen beide Fraktionen gleichzeitig ab. Dies stimmt mit der Hypothese von LADD ET AL. (1995, 1996) überein, wonach die mikrobielle Biomasse nicht gleichförmig ist, sondern sich innerhalb einer Population in Aktivität und Umsatzzeit unterscheidet.

5.4 Auswahl des Kohlenstoffsubstrates für den Versuch mit gebranntem Löß

Betrachtet man die durch beide Substrate Rohrzucker und Cellulose ausgelösten Umsatzprozesse der mikrobiellen Biomasse, so zeigt sich eine schnellere Umsetzung des Rohrzuckers gegenüber der Cellulose. Die Inkorporation von Kohlenstoff und Stickstoff in die mikrobielle Biomasse war nach Zugabe von Rohrzucker wesentlich höher. Mit dem Ziel, eine möglichst hohe Produktion an mikrobiellen Residuen zu erreichen, scheint Rohrzucker hier das geeignetere Substrat zu sein.

Die Zugabe von $200 \mu\text{g NH}_4\text{NO}_3\text{-N g}^{-1}$ Boden führte zwar zu einer hohen Immobilisation, insbesondere bei Zugabe von Rohrzucker, aber nicht zu einem N-Mangel nach Zugabe der C_3 -Cellulose. In Konsequenz daraus scheint es ratsam, für den 2. Versuch als Kohlenstoffquelle Rohrzucker einzusetzen, sowie die zugeführte Menge an mineralischem Stickstoff auf $100 \mu\text{g NH}_4\text{NO}_3\text{-N g}^{-1}$ Boden zu verringern.

6 Umsatz von C₄-Rohrzucker mit N-Ausgleich in gebranntem Löß

6.1 Methodische Aspekte

6.1.1 Verwendetes Substrat

In diesem Versuch wurde der gleiche Lößboden verwendet wie in Versuch 1. Der Boden wurde bei 580 °C über eine Dauer von 6 Stunden im Muffelofen gebrannt. Nach dem Brennen lag die Wasserhaltekapazität (WHK) bei 35 % und die Kationenaustauschkapazität (KAK) bei 104 $\mu\text{mol}_C \text{ g}^{-1}$ Boden.

6.1.2 Herstellung und Eigenschaften der Bodensuspension

Für die Herstellung der Bodensuspension wurde 1 g Boden in 1 l Wasser 24 Stunden lang mit einem Magnetrührer gerührt. Als Nährlösung wurden 0,05 % Pepton, 0,05 % Hefe, 0,1 M Kaliumdiphosphat und 0,1 % Magnesiumsulfat der Bodensuspension zugegeben; anschließend wurde der pH-Wert derselben auf 6,3 eingestellt. Die Bodensuspension enthielt nach Zugabe der Nährmedien 422 mg C l⁻¹ und 108,6 mg N l⁻¹. N_{min} konnte in ihr nicht nachgewiesen werden. Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Bodensuspension lag bei $-24,29 \pm 0,1$ ‰ PDB.

6.1.3 Versuchsdurchführung

Der Versuch wurde in den ersten 33 Tagen in 12-facher Wiederholung durchgeführt. Es wurden 350 g des gebrannten Lößbodens (im Folgenden als Substrat bezeichnet) mit 60 ml der Bodensuspension (WHK 50 %) versetzt. Dies entspricht einer Menge an zugeführtem C pro Gefäß von 25,3 mg ($70 \mu\text{g C g}^{-1}$ Substrat) und zugeführtem N von 6,5 mg ($18 \mu\text{g N g}^{-1}$ Substrat). Zusätzlich wurden an Rohrzucker-C 3 mg g⁻¹ Substrat und 82 $\mu\text{g NH}_4\text{NO}_3\text{-N g}^{-1}$ Substrat dazugegeben (Variante RZ). Bei einer Gesamtmenge von 100 $\mu\text{g N g}^{-1}$ Substrat und 3,07 mg C g⁻¹ Substrat ergab sich ein C/N-Verhältnis von 30.

Nach 33 Tagen Inkubationsdauer wurden in 6 Wiederholungen 3 mg C g⁻¹ Substrat in Form von C₃-Cellulose zugegeben. Diese Variante wird im Folgenden als RZ+C gekennzeichnet.

Im Abstand von 2-3 Tagen wurde das auf dem Substrat befindliche Vlies mit ca. 10 ml dest. H₂O angefeuchtet.

6.1.4 Präextraktion

Vor der Durchführung der CFE-Methode erfolgte in Anlehnung an MUELLER ET AL. (1996) eine Präextraktion. Dafür wurden 30 g der Bodenprobe in 2 x 15 g geteilt, mit 60 ml 0,05 M K₂SO₄ versetzt und anschließend auf dem Horizontalschüttler bei 200 rev. Min.⁻¹ 30 Minuten geschüttelt. Im Anschluss daran wurde die Suspension 45 Minuten bei 800g zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und auf die Gehalte an C_{org}, N_{org} sowie Ammonium und Nitrat analysiert (vgl. Kapitel 4, S. 17).

6.2 Ergebnisse

6.2.1 C- und N-Mineralisation

Der Kohlenstoffgehalt lag zu Versuchsbeginn bei 3,07 mg g⁻¹ Substrat. Davon waren 0,07 mg g⁻¹ C₃-Kohlenstoff und 3,00 mg g⁻¹ C₄-Kohlenstoff. An Tag 5 waren bereits 0,95 mg C₄-C g⁻¹ Substrat mineralisiert (Tab. 6). An Tag 33 konnte noch ein C₄-C-Gehalt von 1,30 mg g⁻¹ Substrat nachgewiesen werden. Die Einarbeitung von C₃-Cellulose (RZ+C) am 33. Tag führte zu einer höheren C₄-C-Mineralisation gegenüber der Variante RZ. So lagen die C₄-C-Gehalte bei RZ+C um 0,11 mg g⁻¹ Substrat (Tag 38), 0,17 mg g⁻¹ Substrat (Tag 45) und um 0,2 mg g⁻¹ Substrat (Tag 67) unter denen der Variante RZ. Signifikante Unterschiede im C₄-Gehalt zwischen den Varianten konnten an Tag 45 und 67 nachgewiesen werden. Bei der Variante RZ lag der Anteil des C₄-Kohlenstoffs zwischen 96,7 und 100 %. Nach Zugabe von C₃-Kohlenstoff am 33. Tag lag dieser Anteil 5 Tage später nur noch bei 29,8 %. Bis Tag 67 war eine weitere Verringerung des prozentualen Anteils des C₄-Kohlenstoffs am Gesamtkohlenstoff um 6,6 % zu verzeichnen.

Tabelle 6: Gesamtkohlenstoff (C_{org}), C_4 -Kohlenstoff sowie der prozentuale Anteil des C_4 -Kohlenstoffs am Gesamtkohlenstoffgehalt. Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6. Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer-Test.

Tag	C_{org} (mg g ⁻¹ Substrat)		C_4 -C (mg g ⁻¹ Substrat)		C_4 -C/ C_{org} (%)	
	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C
5	2,05 (0,15)	-	2,06 (0,13)	-	100,5 (2,0)	-
12	1,53 (0,09)	-	1,50 (0,07)	-	97,9 (7,1)	-
33	1,30 (0,14)	-	1,30 (0,14)	-	100,00 (18,9)	-
38	1,28 (0,06)	3,92* (0,22)	1,28 (0,05)	1,17 (0,19)	100,00 (6,4)	29,8* (5,8)
45	1,18 (0,46)	4,02* (0,46)	1,14 (0,06)	0,98* (0,17)	96,8 (8,5)	24,3* (2,2)
67	1,10 (0,08)	3,74* (0,12)	1,07 (0,08)	0,87* (0,09)	97,3 (10,5)	23,2* (2,0)

An Tag 38 lag der Gehalt an C_3 -Kohlenstoff bei 2,75 mg g⁻¹ Substrat (Tab. 7). Da an Tag 33 noch 0,02 mg C_3 -C g⁻¹ Substrat vorhanden waren, wurden also bis Tag 38 0,27 mg g⁻¹ Substrat des eingearbeiteten C_3 -Kohlenstoffs mineralisiert. Von Tag 38 bis 45 kam es zu keiner signifikanten Absenkung der Gehalte. Der prozentuale Anteil des C_3 -Kohlenstoffs am Gesamtkohlenstoff zeigte von Tag 38 bis Tag 67 einen Anstieg von 70,1 auf 76,7 %.

Die Kumulation des C_4 -CO₂ zeigte, dass bis zum 33. Tag 1,57 mg C_4 -C g⁻¹ Substrat veratmet wurden (Abb. 16). Die Einarbeitung der C_3 -Cellulose an Tag 33 führte nicht zu einer erhöhten C_4 C-Veratmung gegenüber der Variante ohne Zugabe. Bei beiden Varianten (RZ und RZ+C) lag der kumulierte C_4 -CO₂-Gehalt an Tag 67 bei 1,72 mg g⁻¹ Substrat. Bei Betrachtung des mineralisierten C_4 -Kohlenstoffs ergibt sich hier eine Differenz im C_4 -C-Gehalt von 0,2 mg g⁻¹ Substrat bei RZ und von 0,41 mg g⁻¹ Substrat bei RZ+C.

Tabelle 7: C₃-Kohlenstoff sowie der prozentuale Anteil des C₃-Kohlenstoffs am Gesamtkohlenstoffgehalt der Variante RZ+C am 38., 45. und 67. Inkubationstag. Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6. CD=Critical Difference bei Signifikanzniveau 5 %, Tukey-Kramer-Test.

Tag	C ₃ -Kohlenstoff (mg g ⁻¹ Substrat)	C ₃ -C/C _{org} (%)
38	2,75 (0,23)	70,1
45	3,04 (0,31)	75,1
67	2,87 (0,09)	76,7
CD	0,41	

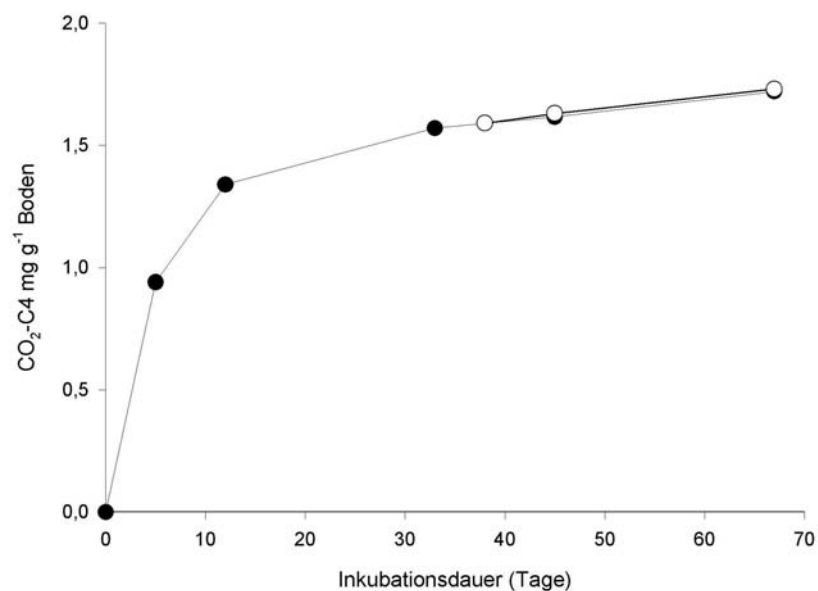


Abbildung 16: Kumulierte CO₂-C₄-Gehalte über den Inkubationsverlauf. Rohr-zucker (●); Rohr-zucker+C (○). Bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6. Berechnung über den Mittelwert der einzelnen Untersuchungstermine.

An Tag 5 konnte von den zugegebenen $82 \mu\text{g N}_{min} \text{ g}^{-1}$ Substrat nur noch $6,5 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat nachgewiesen werden (Tab. 8). Im weiteren Versuchsverlauf kam es bis Tag 33 zu einer leichten Remineralisation von $2 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. An Tag 38 lagen die Gehalte an N_{min} wieder bei $6,8 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. An den restlichen Untersuchungsterminen zeigte sich keine weitere Veränderung mehr. Nach Zugabe der C_3 -Cellulose konnten an Tag 38 und Tag 45 leicht höhere, aber nicht signifikante N_{min} -Gehalte gemessen werden.

Tabelle 8: N_{min} -Gehalte über den Versuchsverlauf. Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 $n=12$, Tag 38 bis 67 $n=6$. Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer-Test.

$\text{N}_{min} (\mu\text{g g}^{-1} \text{ Substrat})$		
Tag	RZ	RZ+C
5	6,5 (0,4)	-
12	7,4 (0,3)	-
33	8,4 (0,3)	-
38	6,8 (0,6)	7,6 (0,7)
45	6,9 (0,5)	7,5 (1,1)
67	7,0 (0,4)	6,8 (0,5)

6.2.2 Mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff

Der in der mikrobiellen Biomasse gebundene Kohlenstoff (Tab. 9) lag an Tag 5 bei $199,42 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Bis Tag 33 kam es zu einer Absenkung auf einen Gehalt von $108,99 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat, an Tag 67 konnten nur noch $71,96 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat nachgewiesen werden. Die Einarbeitung der C_3 -Cellulose führte gegenüber RZ zu einer signifikanten Anreicherung bei RZ+C an Tag 38 um 17,9 und an Tag 45 um $29,3 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Nach dem 45. Tag fiel der C_{mik} -Gehalt bei RZ+C auf einen Wert von $73,79 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat ab und befand sich somit auf ähnlichem Niveau wie der C_{mik} -Gehalt der Variante RZ.

An mikrobiellem Stickstoff konnten am 5. Tag $8,67 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat nachgewiesen werden. Bis zu Tag 33 kam es zu einer Abnahme von N_{mik} um $3,98 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat auf einen Wert von $4,69 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Nach dem 38. Tag war keine kontinuierliche Abnahme der N_{mik} -Gehalte zu erkennen. An Tag 38 stieg der mikrobielle Stickstoffgehalt auf $6,18 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat an, am 45. Tag lag er nur noch bei $3,40 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat und an Tag 67 kam es wieder zu einem leichten Anstieg auf $4,08 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Die Einarbeitung der C_3 -Cellulose am 33. Tag führte an Tag 38 zu einem leichten Anstieg der N_{mik} -Gehalte bei RZ+C ($6,41 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat) gegenüber RZ. An Tag 45 nahmen die N_{mik} -Gehalte bei RZ+C auf einen Wert von $4,76 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat ab und blieben bis Tag 67 konstant. Signifikante Unterschiede zwischen den Varianten konnten nicht nachgewiesen werden.

Das Verhältnis zwischen mikrobiellem Kohlenstoff und Stickstoff (Tab. 9) unterlag bei der Variante RZ über den gesamten Versuchsverlauf starken Schwankungen. So lag das C_{mik}/N_{mik} -Verhältnis am 5. Tag bei 22,9, am 12. Tag bei 37,3 und am 33. Tag bei 23,5. Bis Tag 38 erfolgte nochmals ein starker Rückgang auf 15,6 und an Tag 45 wieder ein Anstieg auf 26,5. Bis Tag 67 verengte sich das C_{mik}/N_{mik} -Verhältnis wieder auf 17,7. Die Einarbeitung der C_3 -Cellulose an Tag 33 bewirkte keine Veränderung des zyklischen Verlaufes; so kam es an Tag 38 ebenfalls zu einem Rückgang (17,7) bei RZ+C, der jedoch geringfügig höher lag als bei RZ. Bei RZ+C folgte bis Tag 45 wieder eine Zunahme (25,2) und an Tag 67 lag C_{mik}/N_{mik} bei 15,8. Signifikante Unterschiede zwischen den Varianten konnten nicht festgestellt werden.

Tabelle 9: Mikrobieller Kohlenstoff (C_{mik}) und Stickstoff (N_{mik}) sowie das daraus berechnete C_{mik}/N_{mik} -Verhältnis. Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6. Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer-Test.

Tag	C_{mik} ($\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat)		N_{mik} ($\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat)		C_{mik}/N_{mik}	
	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C
5	199,42 (31,76)	-	8,67 (0,75)	-	22,9 (3,29)	-
12	170,79 (21,61)	-	4,63 (0,48)	-	37,3 (6,4)	-
33	108,99 (12,18)	-	4,69 (0,57)	-	23,5 (3,9)	-
38	94,70 (5,21)	112,60* (4,44)	6,18 (0,95)	6,41 (0,74)	15,6 (2,7)	17,7 (2,5)
45	88,36 (8,13)	117,66* (6,18)	3,40 (0,53)	4,76 (0,75)	26,5 (4,9)	25,2 (3,5)
67	71,96 (8,23)	73,79 (4,74)	4,08 (0,32)	4,77 (0,69)	17,7 (2,4)	15,8 (3,1)

In der mikrobiellen Biomasse konnten am 5. Tag $178,38 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat als C_4 -Kohlenstoff nachgewiesen werden (Tab. 10). Bis Tag 33 nahm der C_4 -C-Anteil auf $105,27 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat ab. Der prozentuale Anteil des mikrobiellen C_4 -C am mikrobiellen Biomasse-C stieg demgegenüber von 89,9 % an Tag 5 auf 96,6 % an Tag 33 an. An Tag 38 konnten bei RZ noch $91,34 \mu\text{g C}_4\text{-C g}^{-1}$ Substrat in der mikrobiellen Biomasse nachgewiesen werden. Die Zugabe von C_3 -Kohlenstoff führte zwar bei RZ+C zu einer absoluten Erhöhung um $17,03 \mu\text{g C}_4\text{-C g}^{-1}$ Substrat, der prozentuale Anteil blieb jedoch gleich. Signifikante Unterschiede zwischen den Varianten konnten über den gesamten Versuchsverlauf nicht festgestellt werden.

Tabelle 10: Mikrobieller C_4 -Kohlenstoff (C_4-C_{mik}) und der daraus errechnete prozentuale Anteil an C_{mik} . Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6. Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer-Test.

Tag	C_4-C_{mik} ($\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat)		C_4-C_{mik}/C_{mik} (%)	
	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C
5	178,38 (27,11)	-	89,8 (7,0)	-
12	155,66 (27,84)	-	91,1 (9,4)	-
33	105,27 (7,64)	-	96,6 (10,5)	-
38	91,34 (5,36)	108,37* (2,96)	96,4 (3,1)	96,3 (1,5)

6.2.3 Ergosterol

Der Gehalt an Ergosterol (Tab. 11) lag an Tag 5 bei $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat, was einen Anteil von 0,17 % des mikrobiellen Kohlenstoffs ausmacht. An Tag 12 war der höchste Ergosterolgehalt ($1,54 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat, 0,91 %) zu verzeichnen. Bis Tag 33 kam es zu einer Abnahme um $0,52 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Die Einarbeitung von C_3 -Cellulose führte an Tag 38 bei RZ+C ($1,24 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat) gegenüber der Variante RZ ($1,06 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat) zu einer signifikanten Erhöhung der Ergosterolgehalte; der prozentuale Anteil lag jedoch bei beiden Varianten bei 1,12 %. Am 45. Tag zeigten beide Varianten zwar die gleichen Ergosterolgehalte (RZ 0,66, RZ+C 0,69), unterschieden sich aber signifikant in den prozentualen Anteilen (RZ 0,75 %, RZ+C 0,59 %). Bis zum 67. Inkubationstag kam es nochmals bei beiden Varianten zu einer Abnahme der Gehalte auf $0,41 \mu\text{g Ergosterol g}^{-1}$ Substrat, was einem Anteil von 0,5 % am mikrobiellen Kohlenstoff entspricht.

Tabelle 11: Ergosterolgehalt sowie der errechnete prozentuale Anteil am mikrobiellen Kohlenstoff. Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 n=12, Tag 38 bis 67 n=6. Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer-Test.

Tag	Ergosterol ($\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat)		Ergosterol/ C_{mik} (%)	
	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C
5	0,33 (0,07)	-	0,17 (0,04)	-
12	1,54 (0,23)	-	0,91 (0,17)	-
33	1,02 (0,12)	-	0,95 (0,21)	-
38	1,06 (0,07)	1,24* (0,04)	1,12 (0,05)	1,12 (0,07)
45	0,67 (0,04)	0,69 (0,08)	0,75* (0,06)	0,59 (0,08)
67	0,41 (0,03)	0,41 (0,03)	0,58 (0,07)	0,56 (0,04)

6.2.4 $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des Substrats, der mikrobiellen Biomasse sowie des CO_2

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Substrats der Variante RZ lag zu Versuchsbeginn bei -10,5 ‰PDB und zeigte bis Tag 67 kaum Veränderung (Tab. 12). Durch die Einarbeitung der C_3 -Cellulose an Tag 33 wurde $\delta^{13}\text{C}_{\text{Substrat}}$ gegenüber der Variante ohne Zugabe (RZ) signifikant auf -19,4 ‰PDB abgesenkt. An Tag 67 lag dieser Wert bei -20,2 ‰PDB.

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der mikrobiellen Biomasse ($\delta^{13}\text{C}_{\text{mik}}$) lag in einem ähnlichen Bereich wie der des Substrats (-11,5 ‰PDB) und zeigte bis Tag 38 eine Anreicherung von 1,4 ‰PDB (Tab. 12). Die Zugabe der C_3 -Cellulose führte an Tag 38 zu keiner Veränderung von $\delta^{13}\text{C}_{\text{mik}}$. Eine Bestimmung nach dem 38. Tag war nicht mehr möglich, da die Kohlenstoffgehalte der nicht fumigierten Probe für eine massenspektrometrische Bestimmung zu gering waren.

Das $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des CO_2 lag an Tag 5 bei -13,7 ‰PDB. Bis Tag 67 konnte in der Variante RZ eine kontinuierliche Abreicherung auf einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -15,4 ‰PDB beobachtet werden. Nach Zugabe der C_3 -Cellulose kam es gegenüber der Variante ohne Zugabe (RZ) zu einer weiteren signifikanten Abreicherung. An Tag 38

lag der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des CO_2 der Variante RZ+C bei $-16,3 \text{ ‰PDB}$; bis Tag 67 konnte keine weitere Abreicherung beobachtet werden.

Tabelle 12: $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Substrates ($\delta^{13}\text{C}_{\text{Substrat}}$), des mikrobiellen Kohlenstoffs ($\delta^{13}\text{C}_{\text{mik}}$) und des CO_2 -C ($\delta^{13}\text{CO}_2$). Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 $n=12$, Tag 38 bis 67 $n=6$. Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer-Test.

Tag	$\delta^{13}\text{C}_{\text{Substrat}}$ (‰PDB)		$\delta^{13}\text{C}_{\text{mik}}$ (‰PDB)		$\delta^{13}\text{CO}_2$ (‰PDB)	
	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C
5	-10,5 (0,3)	-	-11,5 (1,0)	-	-13,7 (0,2)	-
12	-11,0 (0,5)	-	-11,3 (1,4)	-	-13,4 (0,6)	-
33	-10,7 (0,4)	-	-10,1 (1,5)	-	-14,0 (0,4)	-
38	-10,4 (0,2)	-19,4* (0,6)	-10,1 (0,8)	-10,6 (0,2)	-13,8 (0,4)	-16,3* (0,1)
45	-10,8 (0,5)	-20,1* (0,2)	-	-	-14,6 (0,3)	-17,1* (0,2)
67	-10,8 (0,3)	-20,2* (0,3)	-	-	-15,4 (0,7)	-16,6* (0,4)

6.3 Diskussion

In diesem Inkubationsexperiment wurde die bodenorganische Substanz durch Brennen des Lößbodens zerstört. Hierdurch sollte der Einfluss der bodenorganischen Substanz ausgeschlossen und im Vergleich mit dem ersten Versuch dessen Bedeutung verdeutlicht werden. Um Tendenzen abzuleiten, sollen die hier dargestellten Ergebnisse in erster Linie mit den Ergebnissen des 1. Versuches verglichen werden. Durch das Fehlen der bodenorganischen Substanz können die Umsetzungsprozesse des C₄-markierten Rohrzuckers noch deutlicher dargestellt werden. Auch der Umsatz der C₃-Cellulose, die an Tag 33 hinzugegeben wurde, kann, da kein natives C₃-C mehr vorhanden war, eindeutiger dargestellt und abgegrenzt werden.

6.3.1 Mineralisation des rohrzuckerbürtigen Kohlenstoffs (C₄-C)

Von den zu Versuchsbeginn zugegebenen 3 mg C₄-C g⁻¹ Substrat waren nach 5 Inkubationstagen bereits 0,95 mg g⁻¹ Substrat mineralisiert. Bis Versuchsende nahm der Gehalt an C₄-C auf 1,1 mg g⁻¹ Substrat ab. Während des gesamten Versuchszeitraumes wurden also 1,90 mg C₄-C g⁻¹ Substrat mineralisiert, was 63 % des zugegebenen C₄-Kohlenstoffs entspricht. Die Ergebnisse bewegen sich in einem Bereich, den auch andere Autoren bei Untersuchungen mit reinem Sand ermittelten. Bei Untersuchungen von KRISTIANSEN ET AL. (2004) waren nach 117 Tagen ca. 50 % des Mais-C mineralisiert, im Boden waren dagegen im gleichen Zeitraum 63 % mineralisiert. SCHWEIZER ET AL. (1999) konnten nach 70 Tagen eine Mineralisation der zugegebenen C₄-Pflanzenmaterialien von nahezu 60 % feststellen. Im Vergleich dazu waren in dem Versuch mit Lößboden bereits nach 5 Tagen 62 % und nach 67 Tagen 74 % des Rohrzucker-C mineralisiert.

Nach Zugabe der C₃-Cellulose (RZ+C) an Tag 33 konnte eine leicht höhere Mineralisation des C₄-Kohlenstoffs beobachtet werden als bei der Variante ohne C₃-Zugabe. Bis Versuchsende wurden hier nahezu 2,13 mg C₄-C g⁻¹ Substrat mineralisiert, wohingegen in der Variante ohne C₃-Cellulose (RZ) nur 1,93 mg g⁻¹ Sub-

strat mineralisiert wurden. In dem Versuch mit Lößboden dagegen konnte keine erhöhte Mineralisation des C₄-Kohlenstoffs durch die Zugabe der C₃-Cellulose beobachtet werden.

6.3.2 Einfluss des rohrzuckerbürtigen Kohlenstoffs (C₄-C) auf die Stickstoffmineralisation

Zu Versuchsbeginn wurden 82 $\mu\text{g N}_{\text{min}} \text{g}^{-1}$ Substrat verabreicht. Nach 5 Inkubationstagen konnten im Substrat nur noch 6,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat nachgewiesen werden. Es wurden also nahezu 92 % des mineralischen Stickstoffs in organische Bindungsformen überführt, was auf ein hohes N-Defizit, ausgelöst durch die Rohrzuckerzugabe, schließen lässt (RECOUS ET AL. 1995, HENRIKSEN und BRELAND 1999b, VINTEN ET AL. 2002). Über den restlichen Versuchsverlauf konnten zwar geringe Schwankungen der N_{min}-Gehalte beobachtet werden, es kam aber nicht mehr zu eindeutigen Remineralisations- oder Immobilisationsereignissen, wie in dem Versuch mit Lößboden. Auch die ab Tag 33 aufgetretene Remineralisation in dem Lößboden konnte in diesem Versuch nicht beobachtet werden. In dem Versuch mit Lößboden wurden 200 $\mu\text{g N}_{\text{min}} \text{g}^{-1}$ Boden zu Beginn des Experimentes verabreicht. Wie in Kapitel 5.3.7 (S. 63) beschrieben, war der Gehalt an zugegebenem N_{min} g^{-1} Boden zu hoch, um durch die Zugabe der C₃-Cellulose einen N-Mangel zu erzeugen. Daher wurde in diesem Versuch die N_{min}-Zugabe auf 82 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat bei gleicher C-Zugabe herabgesetzt. Die Zugabe der C₃-Cellulose am 33. Tag führte, trotz des N-Mangels, nicht zu einer verstärkten Remineralisation, sondern gegenüber der Variante RZ lediglich zu einer schwächeren Immobilisation. Dies deutet daraufhin, dass der immobilisierte Stickstoff zu diesem Zeitpunkt in einer organischen Form vorlag, die für die Mikroorganismen kaum verfügbar war.

Verluste an mineralischem N durch Denitrifikation können hier weitgehend ausgeschlossen werden, da die Gehalte des Gesamtstickstoffs über den gesamten Versuchsverlauf zwischen 102 und 114 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat schwankten; es wurde hier eher noch zusätzlich Stickstoff in das System eingetragen, was auf eine symbiotische Stickstoffbindung durch Mikroorganismen hindeuten könnte.

6.3.3 Entwicklung der mikrobiellen Biomasse

Mikrobieller Kohlenstoff und Stickstoff

An Tag 5 des Experimentes lag der Gehalt an mikrobiellem Kohlenstoff bei $199 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat, davon lagen $178 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat als C_4 -Kohlenstoff vor, was ca. 90 % entspricht. Über den Gehalt an mikrobiellem Kohlenstoff und Stickstoff der reinen Bodensuspension (ohne $\text{C}_4\text{-C}$) nach Zugabe zum gebrannten Lößboden konnte leider keine Aussage gemacht werden, da keine Unterschiede der Kohlenstoff- bzw. Stickstoffgehalte zwischen der fumigierten und der nicht fumigierten Probe bestanden. Es kann aber angenommen werden, dass die an Tag 5 gemessenen $21 \mu\text{g C}_3\text{-C g}^{-1}$ Substrat mit der Bodensuspension in den gebrannten Boden gelangt sind. Nimmt man diesen Wert als Kontroll- bzw. Ausgangspunkt für die Entwicklung der mikrobiellen Biomasse, so lag an Tag 5 $\text{C}_4\text{-C}_{mik}$ um das 8,5-fache höher. Dieses Ergebnis liegt weit über dem anderer Experimente, in denen Böden mit vorhandener organischer Substanz und wesentlich höheren Ausgangsgehalten an C_{mik} verwendet wurden. TARAFDAR ET AL. (2001) konnten in ihren Untersuchungen nach Zugabe von Maisstroh eine Zunahme von C_{mik} um das 3-fache der Kontrollvariante feststellen. CHANDER ET AL. (2002) ermittelten einen Anstieg des mikrobiellen Kohlenstoffs nach Beigabe von Jute um das 2,6-fache gegenüber einer Kontrollvariante. JOERGENSEN und RAUBUCH (2002) stellten in einem sandigen Lehm nach Zugabe von Glukose und 6 Tagen Inkubationsdauer eine Zunahme um das 2,3-fache der Kontrollvariante fest. In dem Versuch mit Lößboden stieg C_{mik} nach der Zugabe des Rohrzuckers im Vergleich zur Kontrolle um das 4-fache an. Der Gehalt an C_3 -Kohlenstoff in der Bodensuspension betrug in diesem Experiment nur $70 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Selbst wenn noch eine Mineralisation dieses C_3 -Kohlenstoffs stattgefunden hätte und damit auch eine Zunahme des $\text{C}_3\text{-C}_{mik}$, so wäre dieser Anteil jedoch sehr gering. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass sich die mikrobielle Biomasse auf Basis des $\text{C}_3\text{-C}_{mik}$ entwickelt hat. Im weiteren Versuchsverlauf konnte eine Abnahme des $\text{C}_4\text{-C}_{mik}$ bis Tag 38 beobachtet werden; C_{mik} verringerte sich bis Tag 67. In dem Versuch mit Lößboden dagegen blieben die Gehalte an C_{mik} und an $\text{C}_4\text{-C}_{mik}$ ab dem 12. Tag relativ konstant. JOERGENSEN (1995) zeigte anhand eines Langzeitin-

kubationsversuches (120 Tage), dass der Humuskörper bei Substratmangel eine wichtige Energiequelle für die mikrobielle Biomasse darstellt.

Die Zugabe der C₃-Cellulose führte gegenüber der Variante ohne C₃-Zugabe zu einem signifikanten Anstieg von C₄-C_{mik} am 38. Tag. Zu diesem Zeitpunkt lag der Anteil von C₄-C_{mik} an C_{mik} bei 96 %, was darauf hindeutet, dass das zugegebene C₃ nicht in die mikrobielle Biomasse inkorporiert wurde. Leider konnte die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes nur bis Tag 38 erfolgen, da die C-Gehalte der nicht fumigierten Proben zu gering waren. Eine massenspektrometrische Messung war nur möglich bei C-Gehalten von mindestens 50 $\mu\text{g C}$ pro Probe und einem Probengewicht von maximal 80 mg K₂SO₄ (WILKE und JOERGENSEN 2004, POTTHOFF ET AL. 2003, GREGORICH ET AL. 2000). Betrachtet man die Gehalte an C₄-C im Substrat, erfolgte in der Variante mit C₃-Cellulose eine erhöhte Mineralisation des C₄-Kohlenstoffs. Da der Rohrzucker bis zu diesem Zeitpunkt komplett umgesetzt wurde, muss das zusätzlich mineralisierte C₄-C aus den mikrobiellen Residuen stammen. In dem Versuch mit Lößboden wurde zwar die C₃-Cellulose mineralisiert, dies konnte jedoch nicht anhand der Entwicklung der mikrobiellen Biomasse nachvollzogen werden.

Die Gehalte an N_{mik} lagen an Tag 5 bei 8,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat und nahmen bis Tag 67 auf einen Gehalt von 4,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat ab. Diese Werte sind gegenüber den Gehalten an C_{mik} als sehr gering einzustufen. Mit der Bodensuspension wurden 18 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat verabreicht. Diese lagen nicht in Form von mineralischem Stickstoff vor und waren an Tag 5 auch nicht in der mikrobiellen Biomasse gebunden, ansonsten hätte N_{mik} an diesem Tag höher sein müssen. Betrachtet man die hohen Gehalte an immobilisiertem Stickstoff (75,5 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat) zu diesem Zeitpunkt, so ist anzunehmen, dass die Gehalte an N_{mik} zu einem Zeitpunkt vor dem 5. Tag wesentlich höher gewesen sein müssen. An Tag 33 lag der Gehalt an N_{mik} bei 4,69 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Nach Einarbeitung der C₃-Cellulose kam es zu einer Zunahme von N_{mik} in der Variante mit Zugabe (RZ+C) auf einen Wert von 6,41 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat. Allerdings konnte eine Zunahme von N_{mik} auf einen Gehalt von 6,18 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat auch in der Variante ohne C₃-Cellulose (RZ) beobachtet werden. Am darauffolgenden Probenahmetermin (Tag 45) lagen die Gehalte

von N_{mik} wieder auf dem Niveau des 33. Tages. Diese Schwankungen wurden, insbesondere nach dem 33. Tag, auch in dem Versuch mit Lößboden beobachtet. Da in diesem Experiment mit einem gebrannten Tonboden gearbeitet wurde, der keine organische Substanz mehr enthielt, können die Schwankungen auf das Fehlen einer sich im Ruhezustand befindlichen mikrobiellen Biomasse hinweisen (HAIDER 1999). Diese kann als relativ stabile Fraktion des Bodens angesehen werden, die gerade bei kurzen Untersuchungsintervallen Schwankungen ausgleicht (JOERGENSEN ET AL. 1994, POTTHOFF ET AL. 2001). Deutlich wird dies bei Betrachtung des C_{mik}/N_{mik} -Verhältnisses, das über den gesamten Versuch sehr hohe Werte zwischen 37,3 und 15,8 aufwies. BREMER und VAN KESSEL (1992) kamen in ihren Untersuchungen zu dem Schluss, dass eine aktive Biomasse ein höheres C/N-Verhältnis aufweist als eine inaktive. Ein hohes C_{mik}/N_{mik} -Verhältnis kann sich auch aus der vollständigen Immobilisation von mineralischem N ergeben (JOERGENSEN ET AL. 1995) oder durch die Induzierung eines N-Mangels durch die Zugabe von leicht verfügbarem Kohlenstoff (CHANDER und JOERGENSEN 2001). In dieser Untersuchung konnte ein Zusammenwirken der oben genannten Mechanismen beobachtet werden. Es gab nur eine sehr geringe inaktive mikrobielle Biomasse, die durch Zugabe von leicht verfügbarem Kohlenstoff aktiviert und zur Inkorporation des Kohlenstoffs angeregt wurde. Der zugegebene mineralische Stickstoff wurde dabei von der mikrobiellen Biomasse in kurzer Zeit nahezu komplett immobilisiert und relativ schnell wieder abgegeben. Das Verhältnis von zugegebenem Kohlenstoff zu verabreichtem mineralischem Stickstoff betrug 37, es herrschte also ein Stickstoffmangel, der letztendlich in diesem Versuch als limitierender Faktor angesehen werden kann. Warum die mikrobielle Biomasse bei N-Mangel den immobilisierten Stickstoff nicht remineralisierte, bleibt eine offene Frage.

Ergosterol

Der Ergosterolgehalt als Indikator für die pilzliche Biomasse lag an Tag 5 des Experimentes bei $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat und damit leicht unter dem Ergosterolgehalt der Kontrollvariante ($0,4 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden) des Versuches mit Lößboden. An Tag 12 zeigten sich die höchsten Gehalte an Ergosterol von $1,54 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat,

die über den restlichen Versuchszeitraum wieder auf einen Wert von $0,41 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat abnahmen. In dem Versuch mit Lößboden stieg dagegen der Ergosterolgehalt bis Tag 5 auf einen Wert von $1,86 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden und nahm dann bis Tag 33 kontinuierlich auf einen Wert von $1,15 \mu\text{g g}^{-1}$ wieder ab. Auch nach Zugabe der C_3 -Cellulose entwickelten sich die Ergosterolgehalte in beiden Versuchen unterschiedlich. In diesem Versuch kam es nach Einarbeitung der C_3 -Cellulose zu einem signifikanten Anstieg an Tag 38 gegenüber der Variante ohne Zugabe und einer anschließenden Abnahme auf den gleichen Wert wie die Variante ohne Zugabe. In dem Versuch mit Lößboden dagegen war nur ein leichter, aber nicht signifikanter Anstieg der Ergosterolgehalte zu erkennen und anschließend eine Abnahme bis unter den Wert der Variante ohne Zugabe. Demnach scheint sich eine Veränderung der Bedingungen in dem gebrannten Tonsubstrat, hier die Zugabe der C_3 -Cellulose, stärker auf die pilzliche Biomasse auszuwirken als im Lößboden.

Das Verhältnis Erg/C_{mik} lag an Tag 5 des Versuches bei 0,17, nahm aber bis Tag 38 kontinuierlich bis auf einen Wert von 1,12 zu. Da die mikrobielle Biomasse ab Tag 5 aber wieder einen abnehmenden Verlauf zeigte, kann daraus geschlossen werden, dass die pilzliche Biomasse in geringerem Umfang abnahm als die restliche mikrobielle Biomasse. Nach Zugabe der C_3 -Cellulose konnte zunächst keine Veränderung im Verhältnis Erg/C_{mik} gegenüber der Variante RZ festgestellt werden. An Tag 45 kam es dann zu einer Abnahme von 1,12 auf 0,59, wobei C_{mik} zunahm und der Ergosterolgehalt abnahm. Demnach hatte die Zugabe der C_3 -Cellulose nur kurzzeitig zu einer Erhöhung der pilzlichen Biomasse geführt, welche aber im Anschluss daran auch ebenso schnell wieder abnahm.

6.3.4 Umsatz der C_3 -Cellulose

Die an Tag 33 zugegebene C_3 -Cellulose wurde nur zu einem sehr geringen Anteil mineralisiert. So betrug der C_3 -C-Gehalt, der ja ausschließlich aus der C_3 -Cellulose stammt, an Tag 38 noch $2,75 \text{ mg g}^{-1}$ Substrat. Bis Tag 67 konnte keine signifikante Abnahme beobachtet werden. Der prozentuale Anteil des C_3 -C am Gesamtkohlenstoff nahm zwischen Tag 38 und 67 von 70 auf 76 % zu, was

eher auf eine verstärkte Mineralisation des C₄-Kohlenstoffs hindeutet. In dem Versuch mit Lößboden dagegen wurden im zweiten Versuchsabschnitt ca. 56 % der C₃-Cellulose mineralisiert. Es wurde ebenfalls kein Unterschied im Abbau der C₃-Cellulose zwischen den Varianten mit N-Gabe und der Kontrolle festgestellt (OCIO und BROOKES 1990a). EHALIOTIS ET AL. (1998) stellten nach Zugabe von Cellulose zu einem sandigen Boden eine reduzierte Verfügbarkeit des Boden-N fest. Es stellt sich demnach hier die Frage, ob der hohe Anteil an immobilisiertem Stickstoff für die fehlende Mineralisation der C₃-Cellulose verantwortlich ist. Der in den mikrobiellen Residuen befindliche Stickstoff müsste dann in einer Form vorliegen, die für die mikrobielle Biomasse nicht mehr verfügbar ist. Die Transformation der mikrobiellen Residuen in labile oder nicht lösliche Humusfraktionen mit sehr langen Umsatzzeiten ist nicht nur von der mikrobiellen Biomasse selbst, sondern auch von den unterschiedlichen Bodenbedingungen abhängig, wie z.B. dem pH-Wert und dem Tongehalt (JOERGENSEN 1998). Eine weitere Erklärung für die verminderte Cellulosemineralisation ist das Fehlen der dafür geeigneten Mikroorganismen. Werden cellulosehaltige Materialien, z.B. Stroh, in den Boden eingebracht, so sind diese meist von einer zymogenen, strohzersetzenden Mikroflora besiedelt, die in der Lage ist, Holocellulose zu mineralisieren (POTTHOFF ET AL. 2001, 2005). Fehlt diese zymogene Mikroflora, wie es bei reiner Cellulose der Fall ist, so ist auch die Mineralisation gehemmt oder bleibt ganz aus. Dies entspricht auch den Ergebnissen von DALENBERG und JAGER (1989). Die Autoren konnten nach Inkubation eines sandigen Lehms mit ¹⁴C-markierter organischer Substanz und einer Cellulosezugabe nach 30 Tagen keinen Abbau derselbigen feststellen. An dem hiesigen Versuch kann dies deutlich nachvollzogen werden. Es handelte sich bei dem verwendeten Substrat um gebrannten Boden, dem eine Bodensuspension zugegeben wurde. Nach der Zugabe des Rohrzuckers konnte sich nur eine Population von Mikroorganismen entwickeln, die auf leicht verfügbares Substrat konditioniert war. Dies zeigte auch der Unterschied zu dem Versuch mit Lößboden, in dem trotz der Rohrzuckerzugabe die C₃-Cellulose mineralisiert wurde.

6.3.5 Bildung und Verbrauch von mikrobiellen Residuen

Die Berechnung der mikrobiellen Residualmasse erfolgte unter der Annahme, dass der zu Versuchsbeginn eingearbeitete Kohlenstoff von der mikrobiellen Biomasse an Tag 5 des Experimentes komplett umgesetzt war und sich somit aus der Differenz zwischen dem Kohlenstoff im Substrat und dem Kohlenstoff der mikrobiellen Biomasse errechnen lässt (JOERGENSEN 1995, VAN GESTEL ET AL. 1996). Der Berechnung folgend beträgt der Gehalt an Kohlenstoff in den mikrobiellen Residuen (C_{res}) am 5. Tag $1,88 \text{ mg C g}^{-1}$ Substrat (Tab. 13), was 63 % des zugegebenen C_4 -Kohlenstoffs ausmacht. Im Vergleich mit anderen Autoren, die für ihre Experimente Böden mit organischer Substanz verwendeten, ist dieses Ergebnis eher als hoch einzuschätzen. Auf der Datengrundlage von VAN GESTEL ET AL. (1996) konnten in einem sandigen Lehmboden nach 7 Inkubationstagen ca. 28 % des zugegebenen Kohlenstoffs in der mikrobiellen Residualmasse kalkuliert werden. CHANDER und JOERGENSEN (2001) konnten nach 10 Inkubationstagen bis zu 37 % des zugegebenen Glukose-C in der mikrobiellen Residualmasse eines sandigen Lehmbodens errechnen. GAILLARD ET AL. (1999) konnten nach 100 Tagen 44 % des dem Boden zugegebenen C_4 -Kohlenstoffs der nicht lebenden Biomasse zurechnen. In dem hier beschriebenen Versuch konnte nach 12 Tagen noch ein C_{res} von $1,35 \text{ mg C g}^{-1}$ Substrat ermittelt werden, was 45 % des zugegebenen C ausmacht. Bis Tag 38 verringerte sich der Anteil von C_{res} auf $1,20 \text{ mg g}^{-1}$ Substrat. In dem Versuch mit Lößboden lag C_{res} an Tag 5 nur bei ca. 25 % des zugegebenen Kohlenstoffs. C_{res} betrug somit mehr als das Doppelte im Vergleich zu dem Versuch mit Lößboden. Eine hohe Absterberate, also die Bildung der mikrobiellen Residualmasse, bedeutet auch stets einen hohen Umsatz der mikrobiellen Biomasse (JOERGENSEN 1995). Durch die Zugabe des leicht verfügbaren C_4 -Kohlenstoffs in Form von Rohrzucker wurde der Umsatz der mikrobiellen Biomasse gesteigert und Enzyme, Schleimhüllen und die Nekromasse verstärkt gebildet (JOERGENSEN 1995). Die Zugabe der C_3 -Cellulose führte zu einer leichten, aber nicht signifikanten Abnahme von C_{res} um 14 mg C g^{-1} Substrat. Im Gegensatz dazu führte die Zugabe der C_3 -Cellulose in dem Versuch mit Lößboden zu einer Zunahme des in den mikrobiellen Residuen gebundenen Kohlenstoffs.

Tabelle 13: Residualer Kohlenstoff (C_{res}) und Stickstoff (N_{res}) sowie das daraus berechnete C_{res}/N_{res} -Verhältnis. Angabe der Mittelwerte und Standardabweichung in Klammern; bis Tag 33 n=12, an Tag 38 n=6. Mit * gekennzeichnete Werte unterscheiden sich signifikant bei Signifikanzlevel 5 %, Tukey-Kramer-Test.

Tag	C_{res} (mg g ⁻¹ Substrat)		N_{res} (µg g ⁻¹ Substrat)		C_{res}/N_{res}	
	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C	RZ	RZ+C
5	1,88 (0,12)	-	66,8 (1,0)	-	28,2 (1,9)	-
12	1,35 (0,08)	-	70,0 (0,6)	-	19,2 (1,2)	-
33	1,20 (0,14)	-	69,0 (0,7)	-	17,4 (2,0)	-
38	1,20 (0,05)	1,06 (0,19)	69,1 (1,3)	68,0 (0,9)	17,3 (0,7)	15,6 (2,7)

Der Stickstoffgehalt der mikrobiellen Residuen berechnete sich aus der Differenz des immobilisierten Stickstoffs und des Stickstoffs in der mikrobiellen Biomasse. Dies ergibt sich aus der Annahme, dass sämtlicher in organischer Form vorliegender Stickstoff, der sich nicht in der mikrobiellen Biomasse befindet, in Form von mikrobieller Residualmasse gebunden sein muss (OCIO ET AL. 1991b, JOERGENSEN ET AL. 1995, MUELLER ET AL. 1998a). In diesem Versuch kam es ebenso wie in dem Versuch mit Lößboden zu einer hohen Immobilisation des mineralischen Stickstoffs, wovon aber nur ein sehr geringer Teil in die mikrobielle Biomasse inkorporiert wurde. Bis Tag 5 wurden 75 µg N_{min} g⁻¹ Substrat in organische Bindungsformen überführt, davon konnten aber nur 8,7 µg g⁻¹ Substrat in der mikrobiellen Biomasse nachgewiesen werden. Demnach beträgt der Anteil an Stickstoff, der in der mikrobiellen Residualmasse gespeichert ist, 66,8 µg g⁻¹ Substrat (Tab. 13). In Bezug auf den zugegebenen mineralischen Stickstoff entspricht dies 81 %. Betrachtet man den Zeitraum von 33 Tagen, so ist eine leichte Zunahme auf 84 % des zugegebenen N_{min} zu verzeichnen. Im Vergleich dazu befanden sich bei dem Versuch mit Lößboden an Tag 33 nur ca. 52 % des zugegebenen N_{min} in der mikrobiellen Residualmasse. In diesem Versuch führte die zugegebene C₃-Cellulose nur zu einer sehr geringen Remineralisation des organisch gebundenen Stickstoffs und zu keiner signifikanten Zunahme der mikrobiellen Biomasse. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass nur ein sehr geringer Umsatz

des in den mikrobiellen Residuen gebundenen organischen Stickstoffs durch die mikrobielle Biomasse stattfand. Dies würde bedeuten, dass der Stickstoff in der mikrobiellen Residualmasse gegen Remineralisation geschützt ist (MUELLER ET AL. 1997). Da aber C_4 -Kohlenstoff aus der mikrobiellen Residualmasse mineralisiert wurde, ist es sehr wahrscheinlich, dass auch der inkorporierte Stickstoff davon berührt wurde. Es liegt nahe, dass der organische Stickstoff remineralisiert wurde und die mikrobielle Biomasse passierte, ohne dass es zu einer sichtbaren Veränderung beider Pools kam (MUELLER ET AL. 1998b). Dies wiederum würde bedeuten, dass beide Prozesse, Remineralisation und Immobilisation, gleichzeitig ablaufen können (CHANDER und JOERGENSEN 2001). JENKINSON und PARRY (1989) bezeichnen diesen Vorgang als „N-Recycling durch die mikrobielle Biomasse“ und verstehen darunter das Absterben der mikrobiellen Biomasse und die Zersetzung durch diese, aber auch die mikrobielle Attacke auf schon gebildeten Humus.

Berechnet man das Verhältnis aus dem Kohlenstoff und dem Stickstoff der mikrobiellen Residuen (C_{res}/N_{res}), so lag dieses an Tag 5 bei 28,2. Im weiteren Verlauf kam es bis Tag 38 zu einer Verengung dieses Verhältnisses auf 17,3 (Tab. 13). In einem ähnlichen Bereich lag auch das C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse. An Tag 5 errechnete sich ein Wert von 22,9 und an Tag 38 ein solcher von 15,6 (Tab. 9). Dies entspricht der Annahme von MAYER ET AL. (2003), wonach die mikrobiellen Residuen ein ähnliches oder gleiches C/N-Verhältnis aufweisen wie die mikrobielle Biomasse, von der sie abstammen. JOERGENSEN ET AL. (1995) ermittelten in einem mit Heizöl kontaminierten sandigen Lehm ein C/N-Verhältnis der mikrobiellen Biomasse und der mikrobiellen Residualmasse von jeweils 7,5. Die Autoren weisen darauf hin, dass ein höheres C/N-Verhältnis der mikrobiellen Residualmasse auf einen höheren Prozentsatz an Zellwandkomponenten oder Schleimen hinweist. Ein höheres C/N-Verhältnis kann aber auch auf abgestorbene pilzliche Biomasse hinweisen (HAIDER 1999, PAUL und CLARK 1989). Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass die mikrobielle Residualmasse zu einem großen Anteil schon in die mikrobielle Nekromasse eingegangen war, deren C/N-Verhältnis über dem der mikrobiellen Biomasse lag. Bei diesem Pro-

zess erhält die mikrobielle Residualmasse durch wiederholte Zersetzungs- und Aufbauzyklen einen sehr komplexen Aufbau und verliert so nach und nach ihre Umsetzbarkeit (JOERGENSEN 1995). Ein Hinweis darauf ist die fehlende Remineralisation des organisch gebundenen Stickstoffs nach Zugabe der C₃-Cellulose.

6.3.6 Diskriminierung von ¹³C im Substrat, der mikrobiellen Biomasse und des CO₂

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des zugegebenen Rohrzuckers lag bei -10,5 ‰PDB, der der Bodensuspension bei -24,3 ‰PDB. Die Zugabe des Rohrzuckers und der Bodensuspension zum gebrannten Ton bzw. Substrat hätte also einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ergeben müssen, der zwischen den beiden Mischungspartnern liegt. Das Substrat weist ebenfalls einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -10,5 ‰PDB (Tab. 12) auf, was darauf schließen lässt, dass das mit der Bodensuspension zugegebene C₃-C bis zu diesem Tag schon vollständig umgesetzt wurde. Dafür spricht auch die geringere Anreicherung von ¹³C in der mikrobiellen Biomasse und im CO₂ gegenüber derjenigen im Substrat. Zu einer Anreicherung von ¹³C bzw. Abreicherung von ¹²C in der mikrobiellen Biomasse kam es erst an Tag 33; hier entsprach der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des Substrats dem der mikrobiellen Biomasse. Die Abreicherung von ¹³C im CO₂ bei gleichzeitiger ¹³C-Anreicherung in der mikrobiellen Biomasse könnte ein Hinweis darauf sein, dass die mikrobielle Biomasse gegen ¹³C diskriminierte. D.h. der Kohlenstoff, der für den Substanzaufbau verwendet wurde, bestand überwiegend aus ¹³C-Molekülen, wobei im veratmeten CO₂ dann ein höherer Anteil an ¹²C-Molekülen enthalten ist (NADELHOFFER und FREY 1988, ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. 2000a). KRISTIANSEN ET AL. (2004) konnten nach Zugabe von Mais und Gülle zu Sand ebenfalls eine Abreicherung von ¹³C im CO₂ und eine Anreicherung von ¹³C in der mikrobiellen Biomasse feststellen. Auch SCHWEIZER ET AL. (1999) stellten nach Zugabe von verschiedenen Pflanzenmaterialien zu einer Sand-Nährlösung eine Abreicherung von ¹³C im CO₂ fest und führten dies auf eine isotopische Fraktionierung zurück.

Die Zugabe der C₃-Cellulose am 33. Tag führte wie erwartet zu einer Abreicherung von ¹³C im Substrat und im CO₂, aber nicht zu einer Abreicherung der

mikrobiellen Biomasse. Diese zeigte an Tag 38 gegenüber der Variante ohne C₃-Zugabe (RZ) keine signifikante Veränderung. Die geringe Mineralisation der C₃-Cellulose durch die mikrobielle Biomasse (Tab. 7) wird jedoch durch die Anreicherung von ¹²C im CO₂ wiedergegeben. Es ist anzunehmen, dass die Mineralisation der C₃-Cellulose nur bis Tag 38 anhielt. Dies zeigten auch die bei ca. -20 ‰PDB gleichbleibenden δ¹³C-Werte des Substrates an den verbleibenden Untersuchungsterminen. Damit bestärkt sich die Annahme, dass die Mineralisation der C₃-Cellulose stark gehemmt war, was auf der Zusammensetzung der mikrobiellen Struktur beruhen könnte (DALENBERG und JAGER 1989, POTTHOFF ET AL. 2001, POTTHOFF ET AL. 2005). Die Anreicherung von ¹³C in der mikrobiellen Biomasse lässt ebenso vermuten, dass für den Substanzaufbau überwiegend ¹³C-Moleküle verwendet wurden (NADELHOFFER und FREY 1988, SCHWEIZER ET AL. 1999, ŠANTRŮČKOVÁ ET AL. 2000a).

7 Schlussfolgerung und Ausblick

In dem ersten Versuch mit Lößboden führte die Einarbeitung des C_4 -Kohlenstoffs in Form von Rohrzucker und Cellulose zusammen mit dem mineralischen Stickstoff zu einer Aktivierung und einem erhöhten Umsatz der mikrobiellen Biomasse. Aus diesem erhöhten Umsatz der mikrobiellen Biomasse resultierte die Produktion der mikrobiellen Residuen (Hypothese 1). In der Rohrzuckervariante war die Produktion der mikrobiellen Residuen schon an Tag 5 des Experimentes abgeschlossen, wohingegen bei der Cellulosevariante dieser Prozess vermutlich erst an Tag 33 endete. Dies konnte mittels der $\delta^{13}C$ -Werte und der Berechnung des C_4 -Kohlenstoffs in den Fraktionen Boden und mikrobielle Biomasse gut nachvollzogen werden. In der Cellulosevariante kam es bis Tag 12 zu einer kontinuierlichen Anreicherung von ^{13}C in der mikrobiellen Biomasse, was auf eine noch anhaltende Mineralisation der Cellulose und damit auch auf die Produktion von mikrobiellen Residuen hindeutet. In der Rohrzuckervariante kam es dagegen schon ab dem 5. Tag zu einer Abreicherung von ^{13}C , was auf eine vollständige Umsetzung des Rohrzucker-C hindeutet und damit auch auf eine abgeschlossene Produktion der mikrobiellen Residuen. Hier kam es sehr wahrscheinlich auch zu einer erneuten Verstoffwechselung der mikrobiellen Residuen. Dies kann mit jedem Aufbau- und Zersetzungszyklus zu einem immer komplexeren Aufbau der mikrobiellen Residualmasse führen, wodurch diese ihre Umsetzbarkeit und damit ihre Eigenschaft als labiler Zwischenspeicher für Nährstoffe verliert. Dies zeigte sich auch nach Einarbeitung der C_3 -Cellulose ohne Stickstoffausgleich. Bedingt durch den Stickstoffmangel müsste als Ergebnis ein Verbrauch der mikrobiellen Residuen bewirkt werden (Hypothese 2). Dieser sollte sich in einer erhöhten Produktion von C_4 - CO_2 und einer Abnahme von C_4 -Kohlenstoff im Boden äußern. Eine signifikante Veränderung gegenüber der Variante ohne C_3 -Cellulose konnte jedoch weder im C_4 -C-Gehalt des Bodens noch im C_4 -Gehalt des CO_2 beobachtet werden. Da es aber zu einer Mineralisation der C_3 -Cellulose kam, war offensichtlich die mikrobielle Biomasse nicht auf den Stickstoff aus den mikrobiellen Residuen angewiesen, sondern deckte den Mangel an N aus dem noch im Boden vorhandenen mineralischen Stickstoff.

Innerhalb der ersten fünf Inkubationstage kam es zu einer hohen Immobilisation von mineralischem Stickstoff, der sich aber nicht in der mikrobiellen Biomasse wiederfand und folglich in den mikrobiellen Residuen inkorporiert sein musste. Die kontinuierliche Immobilisation von mineralischem Stickstoff bis Tag 33 in der Cellulosevariante führte nur zu einer sehr geringen Zunahme des mikrobiellen Stickstoffs, was auf eine Zunahme der mikrobiellen Residuen in dieser Variante hindeutet. Die langsame und kontinuierliche Immobilisation des mineralischen Stickstoffs in der Cellulosevariante könnte in Verbindung mit der Zunahme der Ergosterolgehalte stehen. Ist ein hoher Anteil der mikrobiellen Biomasse pilzlicher Natur, so verläuft die Immobilisation langsamer als bei einer Biomasse, die überwiegend auf bakterieller Struktur basiert. In der Rohrzuckervariante konnte dagegen nur ein geringer Anstieg der Ergosterolgehalte festgestellt werden. Dies spiegelte sich auch in der Immobilisation wieder, die innerhalb der ersten 5 Inkubationstage sehr hoch war. Die Zugabe der C₃-Cellulose ohne N-Ausgleich an Tag 33 sollte zu einem Stickstoffmangel führen, den die mikrobielle Biomasse mit dem Stickstoff aus den mikrobiellen Residuen auszugleichen versucht (Hypothese 2). Der dabei erwartete Prozess wäre die Remineralisation des zuvor immobilisierten Stickstoffs. Remineralisationsereignisse konnten bis Tag 38 bei beiden Varianten (Rohrzucker und Cellulose) sowie bei den Varianten mit und ohne C₃-Zugabe (Rohrzucker+C und Cellulose+C) beobachtet werden. Erst im Anschluss daran kam es zu erkennbaren Unterschieden. Zwar nicht zwischen den Varianten mit und ohne Zugabe, wohl aber zwischen den Varianten, die zu Versuchsbeginn Rohrzucker bzw. Cellulose erhielten. In den Varianten Rohrzucker und Rohrzucker+C wurde bis Tag 67 gleichermaßen Stickstoff remineralisiert, in den Varianten Cellulose und Cellulose+C jedoch nur bis Tag 38. Anschließend kam es bei beiden Varianten wieder zu einer Immobilisation. Erst an Tag 67 zeigten sich signifikante Unterschiede. Die fehlende Wirkung der C₃-Cellulose könnte sich darin begünden, dass nach Immobilisationsereignissen und dem Aufbrauch des zugegebenen Substrates häufig Remineralisationsereignisse auftreten. Diese könnten die Remineralisation, bedingt durch die C₃-Zugabe, überlagert haben. Es besteht allerdings auch die Möglichkeit, dass die Zugabe der C₃-Cellulose nicht

zu einem Stickstoffmangel führte, was bedeuten würde, dass die Zugabe an mineralischem Stickstoff ($200 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden) zu Versuchsbeginn zu hoch angesetzt war. Ein Hinweis darauf ist die geringe Veränderung der mikrobiellen Biomasse nach Zugabe der C_3 -Cellulose.

In dem 2. Versuch wurde ein Substrat verwendet, dessen organische Substanz durch Ausglühen bei $580 \text{ }^\circ\text{C}$ vollständig zerstört wurde. Daher entwickelte sich die mikrobielle Biomasse nur auf der organischen Substanz, die mit der Bodensuspension dem Substrat hinzu gegeben wurde. Die Zugabe des C_4 -Rohrzuckers führte zu einer Zunahme des mikrobiellen C_4 -Kohlenstoffs, der um das 8,5-fache über dem mikrobiellen C_3 -Kohlenstoff lag. Die im Vergleich zu dem Versuch mit Lößboden stärkere Entwicklung der mikrobiellen Biomasse führte aber nicht zu einer höheren Mineralisation des C_4 -Kohlenstoffs, was auf eine höhere Produktion von mikrobiellen Residuen hindeutet (Hypothese 1). Die stetige Abnahme des C_4 -Kohlenstoffs in der mikrobiellen Biomasse und die fortlaufende Mineralisation des C_4 -C im Substrat spiegelt sich wieder in einem bis Tag 67 zunehmenden kumulativen C_4 - CO_2 . Die Zugabe der C_3 -Cellulose führte zu einem signifikanten Anstieg des C_4 - C_{mik} und einer Zunahme der Ergosterolgehalte gegenüber der Variante ohne Zugabe. Gleichzeitig kam es zu einer signifikanten Abnahme von C_4 -Kohlenstoff im Substrat gegenüber der Variante, die keine Zugabe erhielt. Die Zugabe der C_3 -Cellulose führte also demnach zu einem Verbrauch von C_4 -C aus den mikrobiellen Residuen (Hypothese 2).

Der zugegebene mineralische Stickstoff wurde innerhalb der ersten 5 Inkubationstage nahezu vollständig immobilisiert. Da sich dieser in organische Formen überführte Stickstoff nur zu einem sehr geringen Teil in der mikrobiellen Biomasse wiederfand, musste der größte Anteil in den mikrobiellen Residuen inkorporiert sein. Nach Zugabe der C_3 -Cellulose hätte die Remineralisation des zuvor immobilisierten Stickstoffs erfolgen müssen. Das Ausbleiben dieses Effektes zeigt an, dass der in den mikrobiellen Residuen gespeicherte Stickstoff für die mikrobielle Biomasse nicht mehr verfügbar war. Dies würde auch erklären, warum es der mikrobiellen Biomasse nicht möglich war, die C_3 -Cellulose zu mineralisieren.

Die Bestimmung der Kohlenstoffpools über den Einsatz stabiler Isotope stellte ein handhabbares Werkzeug dar, mittels dessen der Fluss des C₄-Kohlenstoffs durch die 3 Kompartimente Boden, mikrobielle Biomasse und CO₂ qualitativ sowie quantitativ ermittelt werden konnte. Problematisch stellte sich die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes der mikrobiellen Biomasse dar. Die bei der CFE-Methode anfallenden Extrakte wurden gefriergetrocknet und in getrocknetem Zustand massenspektrometrisch bestimmt. Zum einen durfte hier ein Probenumfang von 80 mg K₂SO₄ nicht überschritten, zum anderen eine C-Konzentration von 50 μg pro Probe nicht unterschritten werden. Dies führte dazu, dass in dem Versuch mit gebranntem Ton ab dem 38. Tag die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes nicht mehr möglich war. Dennoch war mittels dieser Methode ein Einblick in die verschiedenen Prozesse der Kohlenstoffumsetzung möglich.

In dieser Arbeit wurden wichtige Kenntnisse über die Bildung und den Verbrauch von frisch gebildeten mikrobiellen Residuen erlangt. In den durchgeführten Versuchen konnte die Bildung der mikrobiellen Residuen gut ermittelt und durch den Einsatz von C₄-Kohlenstoff auch gut nachvollzogen werden. Dagegen konnte der Verbrauch an mikrobiellen Residuen nach Zugabe der C₃-Cellulose nicht eindeutig ermittelt werden. So ergeben sich aus den gewonnenen Erkenntnissen folgende Fragen:

- Wie wirken sich verschiedene kohlenstoffhaltige Substrate auf die Mobilisation von zuvor immobilisiertem Stickstoff aus?
- Wann setzt die Bildung der mikrobiellen Residuen ein und können Bildung und Verbrauch auch zeitgleich verlaufen?
- Ist die Bildung der mikrobiellen Residuen von der Menge des zugegebenen Substrates abhängig?

8 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, den Fluss von Kohlenstoff und Stickstoff durch die mikrobiellen Residuen zu erfassen. Durch die Zugabe von leicht verfügbarem Kohlenstoff mit Stickstoffausgleich sollte die mikrobielle Biomasse aktiviert, ihr Umsatz gesteigert und damit auch die Bildung der mikrobiellen Residualmasse erhöht werden. Hierbei sollte sich der Blick auf den Teil der mikrobiellen Residuen richten, der für die mikrobielle Biomasse leicht verfügbar ist. Durch die Zugabe von C₃-Cellulose (ohne N-Ausgleich) nach 33 Tagen sollte ein Stickstoffmangel entstehen, der die mikrobielle Biomasse dazu veranlasst, bedingt durch die Mineralisation der C₃-Cellulose, auf den Stickstoff in den mikrobiellen Residuen zurückzugreifen.

Zur Umsetzung dieses Zieles wurden zwei Mikrokosmenversuche mit einer Inkubationsdauer von 67 Tagen durchgeführt. Die Probenahmen und Untersuchungen erfolgten jeweils an den Tagen 5, 12, 33, 38, 45 und 67. In dem ersten Versuch wurde ein Lößboden verwendet, als leicht verfügbare Kohlenstoffquelle wurden 3 mg C₄-C g⁻¹ Boden in Form von Cellulose (hergestellt aus *Zea mais*) und Rohrzucker zugegeben. Mit der Wahl zweier unterschiedlicher Kohlenstoffquellen sollte das unterschiedliche Umsatz- und Abbauverhalten beschrieben sowie darauf begründet eine Entscheidung über die Kohlenstoffquelle für den zweiten Versuch mit gebranntem Löß getroffen werden. Als N-Ausgleich wurden 200 µg NH₄NO₃-N g⁻¹ Boden verabreicht. In dem zweiten Versuch wurde der Lößboden bei 550 °C gebrannt, um einen Einfluss der organischen Substanz auf die Umsetzungsprozesse auszuschließen. Als Kohlenstoffquelle dienten 3 mg C₄-C g⁻¹ Boden, zugegeben als Rohrzucker. Als N-Ausgleich wurden 82 µg NH₄NO₃-N g⁻¹ Boden verabreicht und 18 µg N g⁻¹ Boden aus der Bodensuspension. An Tag 33 wurde in beiden Versuchen 3 mg C₄-C g⁻¹ Boden als Cellulose dem Boden hinzugegeben.

Die Zugabe der C₄-Kohlenstoffsubstrate führte in dem ersten Versuch mit Lößboden zu einer Zunahme des C₄-C in der mikrobiellen Biomasse gegenüber der Kontrolle, wobei die Zunahme zu Versuchsbeginn beim Rohrzucker (390 µg g⁻¹ Boden) gegenüber der Cellulose (89 µg g⁻¹ Boden) höher war und eine schnellere Abnahme zeigte. In der Cellulosevariante konnte eine Zunahme des C₄-C in der mikrobiellen Biomasse bis Tag 33 beobachtet werden. In der Cellulosevariante erfolgte eine Umstrukturierung der mikrobiellen Gemeinschaft hin zu einem höheren Pilzanteil (gemessen am Ergosterolgehalt), was auf die Entwicklung celluloseabbauender Mikroorganismen hinweist. Der Anteil an mineralisiertem C₄-Kohlenstoff war, über den gesamten Inkubationszeitraum betrachtet, in beiden Varianten gleich hoch und lag bei ca. 78 %. Signifikante Unterschiede zeigten sich hier nur an den Tagen 5 und 12. Während bei der Rohrzuckervariante der größte Teil an C₄-Kohlenstoff innerhalb der ersten 5 Tage mineralisiert wurde, konnte in der Cellulosevariante eine geringere, aber länger anhaltende Mineralisation bis Tag 33 beobachtet werden. Dies sowie die Entwicklung des C₄-C der mikrobiellen Biomasse deuten darauf hin, dass die Cellulose erst zu diesem Zeitpunkt vollständig umgesetzt war, der Rohrzucker dagegen aber schon nach 5 Inkubationstagen. Die mikrobielle Residualmasse berechnet sich nun aus der Differenz des noch im Boden vorhandenen C₄-Kohlenstoffs und demjenigen in der mikrobiellen Biomasse. An Tag 5 lag der Anteil des in den mikrobiellen Residuen inkorporierten C₄-Rohrzuckers bei 25 %. Der Anteil der C₄-Cellulose in den mikrobiellen Residuen konnte erst an Tag 33 eindeutig bestimmt werden und betrug zu diesem Zeitpunkt 28 %. Die Zugabe der C₃-Cellulose führte gegenüber den Varianten ohne C₃-Zugabe nicht zu einem erhöhten Verbrauch des in den mikrobiellen Residuen inkorporierten Kohlenstoffs. Dies zeigte sich an der geringeren C₄-Kohlenstoff-Mineralisation nach der C₃-C-Zugabe sowie an der ausbleibenden Anreicherung von C₄-C in der mikrobiellen Biomasse. Von dem zugegebenen mineralischen Stickstoff (200 µg NH₄NO₃-N g⁻¹ Boden) wurden in der Rohrzuckervariante innerhalb der ersten 5 Inkubationstage 110 µg N_{min} g⁻¹ Boden und in der Cellulosevariante 37 µg N_{min} g⁻¹ Boden immobilisiert. Diese hohe Immobilisation, insbesondere in der Rohrzuckervariante, zeigte sich nicht

in einer entsprechenden Zunahme des mikrobiellen Stickstoffs. Die Zunahme an N_{mik} gegenüber der Kontrolle betrug bei der Rohrzuckervariante $23 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden und bei der Cellulosevariante $10 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden. Der Anteil des mikrobiellen residualen Stickstoffs betrug demnach $87 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in der Rohrzucker- und $27 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in der Cellulosevariante. Bis Tag 33 konnte in beiden Varianten eine zunehmende Immobilisation von mineralischem N bei abnehmendem mikrobiellen Stickstoff beobachtet werden. So nahm der Anteil des in den mikrobiellen Residuen gespeicherten Stickstoffs auf einen Wert von $111 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in der Rohrzuckervariante und auf $82 \mu\text{g g}^{-1}$ Boden in der Cellulosevariante kontinuierlich zu. Nach dem 33. Tag kam es in allen Varianten zur Remineralisation des zuvor immobilisierten Stickstoffs, die wahrscheinlich durch den Substrataufbrauch ausgelöst wurde. Eine eindeutige Remineralisation, ausgelöst durch die Zugabe der C_3 -Cellulose, konnte nicht beobachtet werden, obwohl von der zugegebenen C_3 -Cellulose insgesamt zwischen 46 und 56 % mineralisiert wurden.

Im zweiten Versuch mit gebranntem Löß wurde von den zugegebenen $3 \text{ mg } C_4\text{-C g}^{-1}$ Boden über den gesamten Versuchsverlauf 64 % mineralisiert. In der mikrobiellen Biomasse konnte nach Zugabe des Rohrzuckers eine Einlagerung von C_4 -Kohlenstoff nachgewiesen werden, die an Tag 5 bei $199 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat lag und im restlichen Versuchsverlauf bis auf $72 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat abnahm. Dabei konnte eine Zunahme der Ergosterolgehalte von $0,33 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat an Tag 5 auf $1,54 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat an Tag 12 festgestellt werden. Der Anteil an eingelagertem C_4 -Kohlenstoff in den mikrobiellen Residuen, berechnet aus der Differenz des $C_4\text{-C}$ im Substrat und dem der mikrobiellen Biomasse, lag an Tag 5 bei $1,88 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat und nahm bis Tag 38 auf $1,20 \mu\text{g g}^{-1}$ Substrat ab. Durch die Zugabe der C_3 -Cellulose kam es an Tag 38 gegenüber der Variante ohne Zugabe zu einer signifikanten Abnahme des $C_4\text{-C}$ im Substrat und einer signifikanten Zunahme von $C_4\text{-C}$ in der mikrobiellen Biomasse. Eine Mineralisation der C_3 -Cellulose fand nicht statt. Der zugegebene mineralische Stickstoff wurde innerhalb der ersten 5 Inkubationstage zu 92 % immobilisiert. Über den restlichen Versuchszeitraum waren hier nur noch geringe Schwankungen der N_{min} -Gehalte zu beobachten. Dieser hohe Anteil an immobilisiertem Stickstoff ($73\text{-}75 \mu\text{g g}^{-1}$ Sub-

strat) fand sich nur zu einem sehr geringen Teil in der mikrobiellen Biomasse (3,4-8,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat) wieder und hätte daher in Form von mikrobiellen Residuen vorliegen müssen (66,8-70,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ Substrat). Die Zugabe der ^{12}C -Cellulose führte nicht zu einer Remineralisation des immobilisierten Stickstoffs. Möglicherweise war dieser bereits zum Zeitpunkt der C_3 -Zugabe durch Auf- und Abbauprozesse in eine stabile Form übergegangen und somit für die mikrobielle Biomasse nicht mehr verfügbar.

9 Literaturverzeichnis

- Ahl, C.; Joergensen, R.G.; Kandeler, E.; Meyer, B.; Woehler, V., 1998.** Microbial biomass and activity in silt and sand loams after long-term shallow tillage in central Germany. *Soil & Tillage Research* 49, 93-104.
- Anderson, J.P.E.; Domsch, K.H., 1973.** Quantification of bacterial and fungal contributions to soil respiration. *Archiv für Mikrobiologie* 93, 113-127.
- Aoyama, M.; Angers, D.A.; N'Dayegamiye, A.; Bissonnette, N., 2000.** Metabolism of ^{13}C -labeled glucose in aggregates from soils with manure application. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 295-300.
- Ågren, G.I.; Bosatta, E.; Balesdent, J., 1996.** Isotope discrimination during decomposition of organic matter: A theoretical analysis. *Soil Science Society of America Journal* 60, 1121-1126.
- Baily, V.L.; Smith, J.L.; Bolton Jr. H., 2002.** Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 997-1007.
- Balesdent, J.; Mariotti, A., 1996** Measurement of soil organic matter turnover using ^{13}C natural abundance. In: *Mass spectrometry of soils* (Boutton, T.W.; Yamasaki, S., Eds.), Marcel Dekker, New York, 83-111.
- Barrie, A.; Prosser, S.J., 1996.** Automated Analyses of Light-Element Stable Isotopes by Isotops Ratio Mass Spectrometry. In: *Mass spectrometry of soils* (Boutton, T.W.; Yamasaki, S., Eds.), Marcel Dekker, New York, 1-46.
- Bending, G.D.; Turner, M.K., 1999.** Interaction of biochemical quality and particle size of crop residues and its effect in the microbial biomass and nitrogen dynamics following incorporation into soil. *Biology and Fertility of Soils* 29, 319-327.
- Benner, R.; Fogel, M.L.; Sprague, E.K.; Hodson, R.E., 1987.** Depletion of ^{13}C in lignin and its implications for stable carbon isotope studies. *Nature* 329, 708-710.

- Bingeman, C.W.; Varner, J.E.; Martin, W.P., 1953.** The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 17, 34-38.
- Blair, N.; Leu, A.; Muñoz, E.; Olsen, J.; Kwong, E.; Des Marais, D., 1985.** Carbon isotopic fractionation in heterotrophic microbial metabolism. *Applied and Environmental Microbiology* 50, 996-1001.
- Boutton, T.W., 1991.** Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. Sample Preparation and Mass Spectrometric Analysis. In: *Carbon Isotope Techniques* (Coleman, D.C.; Fry, B., Eds.), Academic Press Inc. California, 155-171.
- Boutton, T.W., 1996.** Stable carbon isotopes ratios of soil organic matter and their use as indicator of Vegetation and Climate Change. In: *Mass spectrometry of soils* (Boutton, T.W.; Yamasaki, S., Eds.), Marcel Dekker, New York, 47-82.
- Bremer, E.; van Kessel, C., 1992.** Seasonal microbial biomass dynamics after addition of lentil and wheat residues. *Soil Science Society of American Journal* 56, 1141-1146.
- Bruulsema, T.W.; Duxbury, J.M., 1996.** Simultaneous measurement of soil microbial nitrogen, carbon, and carbon isotope ratio. *Soil Science Society of American Journal* 60, 1787-1791.
- Buchmann, N.; Guehl, J.-M.; Barigah, T.S.; Ehleringer, J.R., 1997.** Interseasonal comparison of CO₂ concentrations, isotopic composition, and carbon dynamics in an Amazonian rainforest (French Guiana). *Oecologia* 110, 120-131.
- Buchmann, N.; Brooks, J.R.; Flanagan, L.B.; Ehleringer, J.R., 1998.** Carbon isotope discrimination of terrestrial ecosystems. In: *Stable Isotopes* (Eds. Griffiths, H.) BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, 203-221.
- Chander, K.; Joergensen, R.G., 2001.** Decomposition of ¹⁴C glucose in two soils with different amounts of heavy metal contamination. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 1811-1816.

- Chander, K.; Joergensen, R.G., 2002.** Decomposition of ^{14}C labelled glucose in a Pb-contaminated soil remediated with synthetic zeolite and other amendments. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 643-649.
- Chander, K.; Mohanty, A.K.; Joergensen, R.G., 2002.** Decomposition of biodegradable packing materials jute, Biopol, BAK and their composites in soil. *Biol Fertil Soils* 36, 344-349.
- Christie, P.; Wasson, E.A., 2001.** Short-term immobilization of ammonium and nitrate added to a grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 1277-1278.
- Collins, H.P.; Blevins, R.L.; Bundy, L.G.; Christenson, D.R.; Dick, W.A.; Huggins, D.R.; Paul, E.A., 1999.** Soil carbon dynamics in corn-based agroecosystems: Results from carbon-13 natural abundance. *Soil Science Society of America Journal* 63, 584-591.
- Conde, E.; Cardenas, M.; Ponce-Mendoza, A.; Luna-Guido, M.L.; Cruz-Mondragón, C.; Dendooven, L., 2005.** The impacts of inorganic nitrogen application on mineralization of ^{14}C -labelled maize and glucose, and on priming effect in saline alkaline soil. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 681-691.
- Crippa, L.; Zaccheo, P., 1995.** Effect of composting on short-term transformations in soil of ^{15}N -labelled plant residues. *Soil Biology & Biochemistry* 27, 247-250.
- Dalenberg, J.W.; Jager, G., 1989.** Priming effect of some organic additions to ^{14}C -labelled soil. *Soil Biology & Biochemistry* 21, 443-448.
- De Ruiter, P.C.; Moore, J.C.; Zwart, K.B.; Bouwman, L.A.; Hassink, J.; Bloem, J.; Der Vos, J.A.; Marinissen, J.C.Y.; Didden, W.A.M.; Lebbink, G.; Brussaard, L., 1993.** Simulation of nitrogen mineralization in the below-ground food webs of two winter wheat fields. *Journal of Applied Ecology* 30, 95-106.

- Deines, P., 1980.** The isotopic composition of reduced organic carbon. Handbook of Environmental Isotope Geochemistry Vol. 1, 329-406. Eds. P. Fritz; J. Ch. Fontes, Elsevier Amstesdam.
- Diels, J.; Vanlauwe, B.; Sanginga, N.; Coolen, E.; Merckx, R., 2001.** Temporal variations in plant $\delta^{13}\text{C}$ values and implications for using the ^{13}C technique in long-term soil organic matter studies. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 1245-1251.
- Djajakirana, G.; Joergensen, R.G.; Meyer, B., 1996.** Ergosterol and microbial biomass relationship in soil. *Biol Fertil Soils* 22, 299-304.
- Ehaliotis, C.; Cadisch, G.; Giller, K.E., 1998.** Substrate amendments can alter microbial dynamics and N availability from maize residues to subsequent crops. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 1281-1292.
- Ekblad, A.; Högberg, P., 2000.** Analysis of $\delta^{13}\text{C}$ of CO_2 distinguishes between microbial respiration of added C_4 -sucrose and other soil respiration in a C_3 -ecosystem. *Plant and Soil* 219, 197-209.
- 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, 245-249.
- Flessa, H.; Potthoff, M.; Lofffield, N., 2002.** Greenhouse estimates of CO_2 and N_2O emissions following surface application of grass mulch: importance of indigenous microflora of mulch. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 875-879.
- Fontaine, S.; Mariotti, A.; Abbadie, L., 2003.** The priming effect of organic matter: a question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry* 35, 837-843.
- Fontaine, S.; Bardoux, G.; Benest, D.; Verdier, B.; Mariotti, A.; Abbadie, L., 2004.** Mechanism of priming effect in a savannah soil amended with cellulose. *Soil Science Society of America Journal* 68, 125-131.

- Franzluebbers, A.J., 1999.** Potential C and N mineralization and microbial biomass from intact and increasingly disturbed soils of varying texture. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 1083-1090.
- Gaillard, V.; Chenu, C.; Recous, S.; Richard, G., 1999.** Carbon, nitrogen and microbial gradients induced by plant residues decomposing in soil. *European Journal of Soil Science* 50, 567-578.
- Gijsman, A.J.; Oberson, A.; Friesen, D.K.; Sanz, J.I.; Thomas, R.J., 1997.** Nutrient cycling through microbial biomass under rice-pasture rotations replacing native savanna. *Soil Biology & Biochemistry* 29, 1433-1441.
- Gleixner, G.; Danier, H-J.; Werner, R.A.; Schmidt, H-L., 1993.** Correlation between the ^{13}C content of primary and secondary plant products in different cell compartments and that in decomposing basidiomycetes. *Plant Physiology* 102, 1287-1290.
- Grant, R.F.; Juma, N.G.; McGill, W.B., 1993a.** Simulation of carbon and nitrogen transformations in soil: Mineralization. *Soil Biology & Biochemistry* 25, 1317-1329.
- Grant, R.F.; Juma, N.G.; McGill, W.B., 1993b.** Simulation of carbon and nitrogen transformations in soil: Microbial biomass and metabolic products. *Soil Biology & Biochemistry* 25, 1331-1338.
- Gregorich, E.G.; Ellert, B.H.; Drury, C.F.; Liang, B.C., 1996.** Fertilization effects on soil organic matter turnover and corn residue C storage. *Soil Science Society of America Journal* 60, 472-476.
- 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, 581-587.
- Guggenberger, G.; Elliott, E.T.; Frey, S.D.; Six, J.; Paustian, K., 1999.** Microbial contributions to the aggregation of a cultivated grassland soil amended with starch. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 407-419.

- Hadas, A.; Sofer, M.; Molina, J.A.E.; Barak, P.; Clapp, C.E., 1992.** Assimilation of nitrogen by soil microbial population: NH_4 versus organic N. *Soil Biology & Biochemistry* 24, 137-143.
- Hadas, A.; Kautsky, L.; Goek, M.; Kara, E.E., 2004.** Rates of decomposition of plant residues and available nitrogen in soil, related to residue composition through simulation of carbon and nitrogen turnover. *Soil Biology & Biochemistry* 36, 255-266.
- Haider, K., 1996.** *Biochemie des Bodens*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.
- Haider, K., 1999.** Von der toten organischen Substanz zum Humus. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 162, 363-371.
- Hassink, J., 1997.** The capacity of soils to preserve organic C and N by their association with clay and silt particles. *Plant and Soil* 191, 77-87.
- Henriksen, T.M.; Breland, T.A., 1999a.** Decomposition of crop residues in the field: Evaluation of a simulation model developed from microcosm studies. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 1423-1434.
- Henriksen, T.M.; Breland, T.A., 1999b.** Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 1121-1134.
- Hullar, M.A.J.; Fry, B.; Peterson, B.J.; Wright, R.T., 1996.** Microbial utilization of estuarine dissolved organic carbon: a stable isotope tracer approach tested by mass balance. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 2489-2493.
- Jenkinson, D.S., 1966.** Studies on the decomposition of plant material in soil. II. Partial sterilization of soil and the soil biomass. *Journal of Soil Science* 17, 280-302.
- Jenkinson, D.S.; Ladd, J.N., 1981.** Microbial biomass in soil: Measurement and turnover. In *Soil Biochemistry*, Vol. 5 (Eds. E.A. Paul; J.N. Ladd) pp. 415-471. Dekker, New York.

- Jenkinson, D.S.; Parry, L.C., 1989.** The nitrogen cycle in the Broadbalk Wheat Experiment: A model for the turnover of nitrogen through the soil microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry* 21, 535-541.
- Jingguo, W.; Bakken, L.R., 1997.** Competition for nitrogen during mineralization of plant residues in soil: Microbial response to C and N availability. *Soil Biology & Biochemistry* 29, 163-170.
- Joergensen, R.G., 1995.** Die quantitative Bestimmung der mikrobiellen Biomasse in Böden mit der Chloroform-Fumigations-Extraktionsmethode. *Göttinger Bodenkundliche Berichte* 104, 1-229.
- Joergensen, R.G., 1996.** The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the k_{EC} value. *Biology & Biochemistry* 28, 25-31.
- Joergensen, R.G., 1998.** Role of soil microorganisms in formation and degradation of RSOM. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 87, 57-64.
- Joergensen, R.G., 2000.** Ergosterol and microbial biomass in the rhizosphere of grassland soils. *Biology & Biochemistry* 32, 647-652.
- Joergensen, R.G.; Mueller, T., 1996.** The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the k_{EN} value. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 33-37.
- Joergensen, R.G.; Scheu, S., 1999.** Response of soil microorganisms to the addition of carbon, nitrogen and phosphorus in a forest rendzina. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 859-866.
- Joergensen, R.G.; Raubuch, M., 2002.** Adenylate energy charge of a glucose-treated soil without adding a nitrogen source. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 1317-1324.
- Joergensen, R.G.; Raubuch, M., 2003a.** Adenylates in the soil microbial biomass at different temperatures. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 1063-1069.

- Joergensen, R.G.; Raubuch, M., 2003b.** Adenylate energy charge and ATP-to-microbial biomass C ratio in soils differing in the intensity of disturbance. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 1161-1164.
- Joergensen, R.G.; Potthoff, M., 2005.** Microbial reaction in activity, biomass, and community structure after long-term continuous mixing of a grassland soil. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 1249-1258.
- Joergensen, R.G.; Meyer, B.; Mueller, T., 1994.** Time-course of the soil microbial biomass under wheat: A one year field study. *Soil Biology & Biochemistry* 26, 987-994.
- Joergensen, R.G.; Schmaedeke, F.; Windhorst, K.; Meyer, B., 1995.** Biomass and activity of microorganisms in a fuel oil contaminated soil. *Soil Biology & Biochemistry* 27, 1137-1143.
- Joergensen, R.G.; Raubuch, M.; Brandt, M., 2002.** Soil microbial properties down the profile of a black earth buried by colluvium. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165, 274-280.
- John, B.; Ludwig, B.; Flessa, H., 2003.** Carbon dynamics determined by natural ^{13}C abundance in microcosm experiments with soils from long-term maize and rye monocultures. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 1193-1202.
- Kögel-Knabner, I., 2002.** The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 139-162.
- Kouno, K.; Wu, J.; Brookes, P.C., 2002.** Turnover of biomass C and P in soil following incorporation of glucose or ryegrass. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 617-622.
- Kristiansen, S.M.; Brandt, M.; Hansen, E.M.; Magid, J.; Christensen, B.T., 2004.** ^{13}C signature of CO_2 evolved from incubated maize residues and maize-derived sheep faeces. *Soil Biology & Biochemistry* 36, 99-105.

- Kuzyakov, Y.; Friedel, J.K.; Stahr, K., 2000.** Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1485-1498.
- Ladd, J.N.; Amato, M.; Grace, P.R.; Van Veen, J.A., 1995.** Simulation of ^{14}C turnover through the microbial biomass in soils incubated with ^{14}C -labelled plant residues. *Soil Biology & Biochemistry* 27, 777-783.
- Lawther, J.M.; Sun, R.; Banks, W.B., 1995.** Extraction, fractionation, and characterization of structural polysaccharides from wheat straw. *J. Agric. Food Chem.* 43, 667-675.
- Ladd, J.N.; Van Gestel, M.; Jocteur Monrozier, L.; Amato, M., 1996.** Distribution of organic ^{14}C and ^{15}N in particle-size fractions of soils incubated with ^{14}C , ^{15}N -labelled Glucose/ NH_4 , and legume and wheat straw residues. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 893-905.
- Loftfield, N.; Flessa, H.; Augustin, J.; Beese, F., 1997.** Automated gas chromatographic system for rapid analysis of the atmospheric trace gases methane, carbon dioxide, and nitrous oxide. *Journal of Environmental Quality* 26, 560-564.
- Ludwig, B.; John, B.; Ellerbrock, R.; Kaiser, M.; Flessa, H., 2003.** Stabilization of carbon from maize in a sandy soil in a long-term experiment. *European Journal of Soil Science* 54, 117-126.
- Malosso, E.; English, L.; Hopkins, D.W.; O'Donnell, A.G., 2004.** Use of ^{13}C -labelled plant materials and ergosterol, PLFA and NLFA analyses to investigate organic matter decomposition in Antarctic soil. *Soil Biology & Biochemistry* 36, 165-175.
- Mary, B.; Recous, S.; Darwis, D.; Robin, D., 1996.** Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. *Plant and Soil* 181, 71-82.

- Mayer, J.; Buegger, F.; Jensen, E.S.; Schloter, M.; Heß, J., 2003.** Turnover of grain legume N rhizodeposits and effect of rhizodeposition on the turnover of crop residues. *Biology and Fertility of Soils* 39, 153-164.
- Meier-Augenstein, W., 1999.** Applied gas chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 842, 351-371.
- Mueller, T.; Lavahun, M.F.E.; Joergensen, R.G.; Meyer, B., 1996.** The problem of pretreatment and unintentional variations in the fumigation-extraction method for time-course measurements in the field. *Biology and Fertility of Soils* 22, 167-170.
- Mueller, T.; Jensen, L.S.; Magid, J.; Nielsen, N.E., 1997.** Temporal variation of C and N turnover in soil after oilseed rape straw incorporation in the field: Simulation with the soil-plant-atmosphere model DAISY. *Ecological Modelling* 99, 247-262.
- Mueller, T.; Magid, J.; Jensen, L.S.; Svendsen, H.; Nielsen, N.E., 1998a.** Soil C and N turnover after incorporation of chopped maize, barley straw, and blue grass in the field: Evaluation of the DAISY soil-organic-matter submodel. *Ecological Modelling* 111, 1-15.
- Mueller, T.; Jensen, L.S.; Nielsen, N.E.; Magid, J., 1998b.** Turnover of carbon and nitrogen in a sandy loam soil following incorporation of chopped maize plants, barley straw and blue grass in the field. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 561-571.
- Mueller, T.; Magid, J.; Stoumann Jensen, L.; Nielsen, N.E., 2003.** Decomposition of plant residues of different quality in soil - DAISY model calibration and simulation based on experimental data. *Ecological Modelling* 166, 3-18.
- Nadelhoffer, K.J.; Fry, B., 1988.** Controls on natural nitrogen-15 and carbon-13 abundances in forest soil organic matter. *Soil Science Society of America Journal* 52, 1633-1640.

- Ocio, J.A.; Brookes, P.C., 1990a.** An evaluation of methods for measuring the microbial biomass in soils following recent additions of wheat straw and the characterization of the biomass that develops. *Soil Biology & Biochemistry* 22, 685-694.
- Ocio, J.A.; Brookes, P.C., 1990b.** Soil microbial biomass measurements in sieved and unsieved soil. *Soil Biology & Biochemistry* 22, 999-1000.
- Ocio, J.A.; Brookes, P.C.; Jenkinson, D.S., 1991a.** Field incorporation of straw and its effects on soil microbial biomass and soil inorganic N. *Soil Biology & Biochemistry* 23, 171-176.
- Ocio, J.A.; Martinez, J.; Brookes, P.C., 1991b.** Contribution of straw-derived N to total microbial biomass N following incorporation of cereal straw to soil. *Soil Biology & Biochemistry* 23, 655-659.
- Paul, E.A.; Clark F.E. 1989.** *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, San Diego.
- Peacock, G.A.; Goosey, M.W., 1989.** Separation of fungal sterols by normal-phase high-performance liquid chromatography: Application to the evaluation of ergosterol biosynthesis inhibitors. *Journal of Chromatography* 469, 293-304.
- Potthoff, M.; Joergensen, R.G.; Wolters, V., 2001.** Short-term effects of earthworm activity and straw amendment on the microbial C and N turnover in a re-moistened arable soil after summer drought. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 583-591.
- Potthoff, M.; Lofffield, N.; Buegger, F.; Wick, B.; John, B.; Joergensen, R.G.; Flessa, H., 2003.** The determination of $\delta^{13}\text{C}$ in soil microbial biomass using fumigation-extraction. *Soil Biology & Biochemistry* 35, 947-954.

- Potthoff, M.; Dyckmans, J.; Flessa, H.; Muhs, A.; Beese, F.; Joergensen, R.G., 2005.** Dynamics of maize (*Zea mays* L.) leaf straw mineralization as affected by the presence of soil and the availability of nitrogen. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 1259-1266.
- Puri, G.; Ashman, M.R., 1998.** Relationship between soil microbial biomass and gross N mineralisation. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 251-256.
- Puri, G.; Ashman, M.R., 1999.** Microbial immobilization of ¹⁵N-labelled ammonium and nitrate in a temperate woodland soil. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 929-931.
- Recous, S.; Robin, D.; Darwis, D.; Mary, B., 1995.** Soil inorganic N availability: Effect on maize residue decomposition. *Soil Biology & Biochemistry* 27, 1529-1538.
- Ryan, M.C.; Aravena, R., 1994.** Combining ¹³C natural abundance and fumigation-extraction methods to investigate soil microbial biomass turnover. *Soil Biology & Biochemistry* 26, 1583-1585.
- Ryan, M.C.; Aravena, R.; Gillham, R.W., 1995.** The use of ¹³C natural abundance to investigate the turnover of the microbial biomass and active fractions of soil organic matter under two tillage treatments. In: *Soils and Global Change* (Eds. Lal, R.; Levine, E.; Stewart, B.A.), CRC Lewis Publishers, Boca Raton, Fl., 351-360.
- Salamanca, E.F.; Raubuch, M.; Joergensen, R.G., 2002.** Relationship between soil microbial indices in secondary tropical forest soils. *Applied Soil Ecology* 21, 211-219.
- Šantrůčková, H.; Bird, M.I.; Lloyd, J., 2000a.** Microbial processes and carbon-isotope fractionation in tropical and temperate grassland soils. *Functional Ecology* 14, 108-114.

- Šantrůčková, H.; Bird, M.I.; Frouz, J.; Šustr, V.; Tajovský, K., 2000b.** Natural abundance of ^{13}C in leaf litter as related to feeding activity of soil invertebrates and microbial mineralisation. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1793-1797.
- Schleser, G.H.; Frielingsdorf, J.; Blair, A., 1999** Carbon isotope behaviour in wood and cellulose during artificial aging. *Chemical Geology* 158, 121-130.
- Schmidt, H.-L.; Gleixner, G., 1998.** Carbon isotope effects on key reactions in plant metabolism and ^{13}C -patterns in natural compounds. In: *Stable Isotopes* (Eds. Griffiths, H.) BIOS Scientific Publishers Ltd., Oxford, 13-25.
- Schweizer, M.; Fear, J.; Cadisch, G., 1999.** Isotopic (^{13}C) fractionation during plant residue decomposition and its implications for soil organic matter studies. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1284-1290.
- Shindo, H.; Nishio, T., 2005.** Immobilization and remineralization of N following addition of wheat straw into soil: Determination of gross N transformation rates by ^{15}N -ammonium isotope dilution technique. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 425-432.
- Stahl, P.D.; Parkin, T.B., 1996.** Relationship of soil ergosterol concentration and fungal biomass. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 847-855.
- Stenberg, B.; Johansson, M.; Pell, M.; Sjö Dahl-Svensson, K.; Stenström, J.; Torstensson, L., 1998.** Microbial biomass and activities in soil as affected by frozen and cold storage. *Soil Biology & Biochemistry* 30, 393-402.
- Tarafdar, J.C.; Meena, S.C.; Kathjua, S., 2001.** Influence of straw size on activity and biomass of soil microorganisms during decomposition. *European Journal of Soil Biology* 37, 157-160.
- Trinsoutrot, I.; Recous, S.; Mary, B.; Nicolardot, B., 2000.** C and N fluxes of decomposing ^{13}C and ^{15}N *Brassica napus* L.: Effects of residue composition and N content. *Soil Biology & Biochemistry* 32, 1717-1730.

- Van Gestel, M.; Merckx, R.; Vlassak, K., 1996.** Distribution of ^{14}C -labelled biomass and microbial products in microaggregates of a silty-loam soil. *Soil Biology & Biochemistry* 28, 1113-1115.
- Vance, E.D.; Brookes, P.C.; Jenkinson, D.S., 1987.** An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry* 19, 703-707.
- Vanlauwe, B.; Dendooven, L.; Merckx, R., 1994.** Residue fractionation and decomposition: The significance of the active fraction. *Plant and Soil* 158, 263-274.
- Vinten, A.J.A.; Davies, R.; Castle, K.; Baggs, E.M., 1998.** Control of nitrate leaching from a nitrate vulnerable zone using paper mill waste. *Soil Use Manage* 14, 44-51.
- Vinten, A.J.A.; Whitmore, A.P.; Bloem, J.; Howard, R.; Wright, F., 2002.** Factors affecting N immobilisation/mineralisation kinetics for cellulose-, glucose- and straw-amended sandy soils. *Biology Fertility of Soils* 36, 190-199.
- Wichern, F.; Müller, T.; Joergensen, R.G.; Buerkert, A., 2004.** Effects of manure quality and application forms on soil C and N turnover of a subtropical oasis soil under laboratory conditions. *Biology Fertility of Soils* 39, 165-171.
- Winkler, F.J.; Wirth, E.; Latzko, E.; Schmidt, H.-L.; Hoppe, W.; Wimmer, P., 1978.** Einfluß von Wachstumsbedingungen und Entwicklung auf $\delta^{13}\text{C}$ -Werte in verschiedenen Organen und Inhaltsstoffen von Weizen, Hafer und Mais. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 87, 255-263.
- Wilke, B.; Joergensen, R.G., 2004.** Probleme bei der Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes der mikrobiellen Biomasse in K_2SO_4 -Extrakten. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 103, 45-46.
- Wu, J.; Brookes, P.C.; Jenkinson, D.S., 1993.** Formation and destruction of microbial biomass during the decomposition of glucose and ryegrass in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 25, 1435-1441.

Wu, J.; Joergensen, R.G.; Pommerening, B.; Chaussod, R.; Brookes, P.C., 1990.

Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction an automated procedure. *Soil Biology & Biochemistry* 22, 1167-1169.

Zhao, X.R.; Lin, Q.; Brookes, P.C., 2005. Does soil ergosterol concentration provide a reliable estimate of soil fungal biomass? *Soil Biology & Biochemistry*

37, 311-317.

Danksagung

Herrn Professor Dr. Rainer Georg Jörgensen danke ich für die Vergabe des Themas, für die Anregung und die Möglichkeit zur Durchführung dieser Arbeit. Er begleitete diese in engagierter und freilassender Weise, gab mit seinem intuitiven Gespür die wesentlichen Denkanstöße und half über so manche Schwierigkeit hinweg.

Herrn PD Dr. Heiner Flessa danke ich für die Übernahme des Koreferates. Professor Dr. Torsten Müller danke ich für die vielen Anregungen und Ideen, insbesondere im Bereich der stabilen Isotope und der CO₂-Bestimmung.

Die gute Arbeitsatmosphäre sowie die Hilfsbereitschaft unter den Kolleginnen und Kollegen hat sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Gabriele Dormann hat mich stets mit viel Geduld und Ausdauer im Labor unterstützt. Ihre engagierte Art machte es mir leicht, die angewandten Methoden zu erlernen und mit Freude anzuwenden; dafür meinen herzlichen Dank. Astrid Appuhn, Katja Roose und Katja Grunz möchte ich für die vielen aufheiternden Momente und das konstruktive Beisammensein im Büro sowie im Labor danken. Frau Susanne Beck danke ich für ihre umfassende und herzliche Unterstützung, die weit über die administrativen Angelegenheiten hinausging.

Dem Kompetenzzentrum für Stabile Isotope (KOSI) der Georg-August-Universität Göttingen danke ich für die Durchführung der Isotopenmessungen. Herrn Dr. Normen Lofffield danke ich für seine Unterstützung bei der CO₂-Bestimmung sowie bei technischen Problemen am Gaschromatographen.

Meinem Mann, Lukas Engelking, und Sabine Malcher gilt besonderer Dank für die mühevollen Durchsicht und Rechtschreibkorrektur des Manuskriptes. Meiner Familie und meinen Freunden danke ich für die aufmunternden Worte in den schwierigen Phasen und für all das, was sie gewollt und ungewollt zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.