Entwicklung eines mechanistischen Modells zur Simulation der frostbedingten N₂O Emission aus Böden



Diplomarbeit

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Naturwissenschaftliche Fakultät III Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften

eingereicht von Eva Höhne geb. am 30.11.1981 in Wismar

1.Prüfer: Prof. Dr. rer. nat. Florian Stange
 2.Prüfer: Prof. Dr. habil. Georg Guggenberger

Abgabetermin: 20.02.2008

Halle (Saale), den 20.02.2008

Eingangsstempel des Prüfungsamtes

Datum der Abgabe

Unterschrift

Bibliographische Beschreibung

Höhne, Eva

Entwicklung eines mechanistischen Modells zur Simulation der frostbedingten N₂O Emission aus Böden

2008- 85 S.,-69 Lit.,-5 Tab.,-19 Abb.

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Naturwissenschaftliche Fakultät III, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften

Diplomarbeit

Autorreferat

An nur wenigen Tagen können bis zu über 70% der N₂O-Gesamtjahresemission während Frost-Tau-Ereignissen aus Böden emittieren. Die Klärung der Ursachen hinter diesem Phänomen ist noch bruchstückhaft und hypothetisch.

In dieser Diplomarbeit ist ein einfaches Modell entwickelt worden, das sowohl eine vollständige Denitrifikation simulieren, aber auch auf die Einflüsse, die ein Frostereignis mit sich bringt, reagieren kann. Die Implementierung der verzögerten Aktivität der N₂O-Reduktase war in diesem Modell ein neuer Ansatz.

Nach einer Literaturstudie wurden 5 Hypothesen zu den möglichen Ursachen der N_2O -Emissionen während der Frost-Tau-Phase erstellt und mit Hilfe des entwickelten Modells untersucht und bewertet.

Abkürzungsverzeichnis5	
1 Einleitung	
2 Stand des Wissens 10	
2.1 N ₂ O	
2.2 Allgemeine Grundlagen des Stickstoffkreislaufes im Boden	
2.3 N ₂ O-Bildung während Frostereignisse14	
2.3.1 Einfluss auf die Bodenphysik15	
2.3.2 Einfluss auf die Bodenchemie16	
2.3.3 Einfluss auf die Bodenbiologie18	
2.4 Denitrifikation	
2.4.1 Biologische Denitrifikation19	
2.4.1.1 Bakterielle Enzyme der Denitrifikation20	
2.4.1.2 Pilzliche Denitrifikation und Codenitrifikation	
2.4.2 Chemodenitrifikation	
2.4.3 Regulation der Denitrifikation25	
2.5 Denitrifikationsmodelle – kurzer Überblick	
3 Materialien und Methoden 32	
3.1 Materialien	
3.1.1 Daten aus Literatur	
3.1.1 Daten aus Literatur	
3.1.1 Daten aus Literatur 32 3.1.2 ModelMaker© 34 3.2 Methoden 35	
3.1.1 Daten aus Literatur323.1.2 ModelMaker©343.2 Methoden353.2.1 Integrationsverfahren35	
3.1.1 Daten aus Literatur 32 3.1.2 ModelMaker© 34 3.2 Methoden 35 3.2.1 Integrationsverfahren 35 3.2.2 Enzymkinetik 38	
3.1.1 Daten aus Literatur 32 3.1.2 ModelMaker© 34 3.2 Methoden 35 3.2.1 Integrationsverfahren 35 3.2.2 Enzymkinetik 38 3.2.3 ¹⁵ N-Tracer-Technik 40	
3.1.1 Daten aus Literatur 32 3.1.2 ModelMaker© 34 3.2 Methoden 35 3.2.1 Integrationsverfahren 35 3.2.2 Enzymkinetik 38 3.2.3 ¹⁵ N-Tracer-Technik 40 4 Modellentwicklung 41	
3.1.1 Daten aus Literatur 32 3.1.2 ModelMaker© 34 3.2 Methoden 35 3.2.1 Integrationsverfahren 35 3.2.2 Enzymkinetik 38 3.2.3 ¹⁵ N-Tracer-Technik 40 4 Modellentwicklung 41 4.1 Modellbeschreibung 41	
3.1.1 Daten aus Literatur323.1.2 ModelMaker©343.2 Methoden353.2.1 Integrationsverfahren353.2.2 Enzymkinetik383.2.3 ¹⁵ N-Tracer-Technik404 Modellentwicklung414.1 Modellbeschreibung414.2 Graphische Darstellung des Modells55	
3.1.1 Daten aus Literatur323.1.2 ModelMaker©343.2 Methoden353.2 Methoden353.2.1 Integrationsverfahren353.2.2 Enzymkinetik383.2.3 ¹⁵ N-Tracer-Technik404 Modellentwicklung414.1 Modellbeschreibung414.2 Graphische Darstellung des Modells555 Sensitivitätsanalyse57	

5.2 Kohlenstoffversorgung	
5.3 Sauerstoffgehalt	
5.4 Wassergehalt	
5.5 Nitratgehalte	
6 Modellvalidierung	66
7 Diskussion	67
8 Literatur	74
9 Abbildungsverzeichnis	
10 Tabellenverzeichnis	
11 Anhang	
Eidesstattliche Erklärung	

Abkürzungsverzeichnis

a	Jahr
abb.	abbaubar
Abb.	Abbildung
at-%	Atom-Prozent; Einheit der relativen Häufigkeit eines Isotops
bzw.	beziehungsweise
c	centi- [10 ⁻²]
С	Kohlenstoff
C/N	Kohlenstoff-Stickstoff-Verhältnis
ca.	circa
CaCl	Kalziumchlorid
CH_4	Methan
cm ³	Kubikzentimeter
CO	Kohlenmonoxid
CO_2	Kohlendioxid
C_{org}	organischer Kohlenstoff
d	Tag
DOC	gelöster organischer Kohlenstoff (engl. disolved organic carbon)
DON	gelöster organischer Stickstoff (engl. disolved organic nitrogen)
g	Gramm
GWP	globales Erwärmungspotential (engl. global warming potential)
Gt	Gigatonne (10 ⁹ t)
g TM	Gramm Trockenmasse
kg	Kilogramm (10 ³ g)
K_m	Michaelis-Menten-Konstante
1	Liter
Ld	Lagerungsdichte in g/cm ³
М	Molmasse (molare Masse) in g/mol
mg	Milligramm (10^{-3} g)
ng	Nanogramm (10 ⁻⁹ g)
n.H.	natürliche Häufigkeit eines stabilen Isotops, für ¹⁵ N Stickstoff 0,366 at-%
$\mathrm{NH_4}^+$	Ammonium
NH ₃	Ammoniak

NO	Stickstoffmonoxid
NO ₂ ⁻	Nitrit
NO ₃ -	Nitrat
N_2O	Distickstoffmonoxid
N_2	elementarer Stickstoff
¹⁵ N	Stickstoffisotop mit der Molmasse 15 g/mol
¹⁴ N	Stickstoffisotop mit der Molmasse 14 g/mol
O_2	Sauerstoff
pН	Negativer dekadischer Logarithmus der H ⁺ -Ionen-Konzentration
ppm	Teile pro Million (engl. parts per million)
ppmv	Teile pro Million Volumen, Volumenmischungsverhältnis
	(engl. parts per million by volume)
r	Radius in cm
TRD	Trockenrohdichte
TS	Trockensubstanz
WFPS	wassergefüllter Porenvolumen in % (engl. water filled pore space)
μg	Mikrogramm (10^{-6} g)



1 Einleitung

Böden spielen im Stoffhaushalt der Landschaften die zentrale Rolle. Sie sind die Senke für natürlich und anthropogen eingetragene Stoffe, die dort angereichert, transformiert und wieder abgegeben werden können. Die Transformationsprozesse sind hauptsächlich mikrobielle Umsetzungen und finden überwiegend in den humusreichen Oberböden statt. So finden auch zentrale Prozesse des Stickstoffkreislaufes im Boden statt, die Stickstoff-Mineralisierung (organisch \rightarrow anorganisch), die Stickstoff-Immobilisierung (anorganisch \rightarrow organisch), die Nitrifikation und die Denitrifikation (Friedel & Leitgeb, 2003).

Die Denitrifikation und die Nitrifikation haben große globale Bedeutung bei der Bildung der gasförmigen Stickstoffverbindungen Stickstoffmonoxid (NO), Distickstoffmonoxid (N₂O) und elementarer Stickstoff (N₂). Diese emittieren in die Atmosphäre und der mineralische Stickstoff wird so aus dem Boden entfernt und steht den Pflanzen nicht mehr zur Verfügung (Madigan et al., 2000). N₂O steht nach Kohlenstoffdioxid (CO₂) und Methan (CH₄) an dritter Stelle der wichtigsten Treibhausgase und besitzt darüber hinaus ein Ozon zerstörendes Potential.

Landwirtschaftlich genutzte Böden sind die größte Quelle für anthropogen verursachte N₂O-Emissionen (Ruser, 2001).

Die N₂O-Emissionsrate zeigt das ganze Jahr durchweg hohe Variationen, zwischen den Monaten aber auch von Woche zu Woche, von Tag zu Tag und sogar innerhalb eines Tages (Granli & Bockman, 1994). Von aktuell besonderem Interesse sind vor allem N₂O-Emissionen nach Frost-Tau Ereignissen. An wenigen Tagen können bis über 70% der Gesamtjahresemission nach solchen Ereignissen emittieren (Röver, 1998). Die Ursachen hinter diesem Phänomen sind noch nicht vollständig aufgeklärt und das Wissen über die Prozesse, die sich dahinter verbergen könnten, ist noch sehr gering (Öquist, 2007).

Seid ca. 100 Jahren existiert die Ammoniaksynthese nach Haber-Bosch und damit auch die Möglichkeit Luftstickstoff zu binden und Stickstoffdünger in großen Massen industriell zu produzieren. Neben den positiven Effekten einer Stickstoffdüngung treten auch unerwünschte Nebenwirkungen, wie die erhöhte Emission von N₂O und NO aus Böden und die Nitratbelastung von Grund- und Oberflächengewässern auf. Die N₂O-

Emissionen aus nitratbelasteten Gewässern können von der gleichen Größenordnung sein wie die direkten N₂O-Flüsse aus dem Boden (Onigkeit, 2006).

Seit dem 27.02.2007 gilt die Neufassung der Düngeverordnung. In ihr werden sowohl Aussagen zum Schutz vor Nährstoffeinträgen aus landwirtschaftlichen Quellen in Gewässer gemacht, als auch auf die "Anwendung von Berechnungs- und Schätzverfahren, die auf fachspezifischen Erkenntnisse beruhen." (Düngeverordnung, 2007) hingewiesen.

Da Böden sehr heterogene Medien sind, lokale Umweltparameter sehr differenziert wirken können und darüber hinaus die Prozesse in ihnen in einer sehr kleinen Skalenebene ablaufen, sind Messungen gasförmiger Stickstoffverbindungen nicht ganz unproblematisch. Als hilfreiches Werkzeug werden daher verstärkt experimentell die ¹⁵N-Tracertechnik sowie theoretisch Computermodelle eingesetzt, um diese Prozesse besser nachzuvollziehen und zu erforschen.

Die vorliegende Diplomarbeit hat das Ziel ein mechanistisches Modell zu entwickeln, welches die speziell während Frost-Auftau-Phasen auf den mikrobiellen Stickstoffumsatz im Boden wirkenden Prozesse simulieren kann. Die Arbeit dient somit zum einen der Verbesserung des Prozessverständnisses unter besonderer Frost-Auftau-Phasen Berücksichtigung von sowie darüber hinaus der Weiterentwicklung bestehender Stickstoffumsatzmodelle zur Verbesserung der Prognosesicherheit bodenbürtiger Stickstoffemissionen.

2 Stand des Wissens

$2.1 N_2 O$

N₂O zählt neben CO₂, CH₄, Ozon (O₃) und Wasserdampf zu den klimarelevanten Spurengasen. Das bedeutet, dass es durch seine Absorptionsfähigkeit im Infrarot-Spektralbereich einen Einfluss auf den Wärmehaushalt der Erdatmosphäre hat. Die wärmestauende Wirkung von Spurengasen verursacht den natürlichen Treibhauseffekt. Auf der Erdoberfläche würde eine durchschnittliche Temperatur von -18°C herrschen, wenn diese Spurengase nicht in der Atmosphäre vorhanden wären. Jedoch existiert ein zusätzlicher Treibhauseffekt, der durch die Erhöhung der natürlichen Konzentrationen von klimarelevanten Spurengasen erzeugt wird (Tabelle 2.1). Er wird als anthropogener Treibhauseffekt bezeichnet, da die Konzentrationsanstiege auf menschliches Handeln zurückgeführt werden (Ernst, 1997). Nach dem IPPC Bericht von 2007 betrug die N₂O-Konzentration in der Atmosphäre im Jahr 2005 319ppm (IPCC 2007). Seit der Industrialisierung ist diese Konzentration von ursprünglich 270ppm somit um 18% gestiegen. N₂O ist trotz seiner niedrigen Konzentration zu 6% am anthropogenen Treibhauseffekt beteiligt. Das liegt daran, dass N₂O eine 200-fach höhere Absorptionsfähigkeit für infrarote Strahlung und insgesamt das 310-fache GWP^b im Vergleich zu CO₂ besitzt. Außerdem hat es eine sehr lange mittlere atmosphärische Verweildauer von 114 Jahren (Tabelle 2.1).

	N_2O	CO_2	CH ₄	
vorindustrielle Konzentration				
(~1750) [ppb]	~270	~280	~700	
Konzentration 1998 [ppb]	314	365	1745	
jährliche Konzentrationsänderung ^a			+7,0	
[ppb]	+0,8	+1,5		
mittlere atmosphärische				
Verweildauer [a]	114	5-200	12	
GWP ^b (100 Jahre)	310	1	23	

Tabelle 2.1 Eigenschaften der Treibhausgase N₂O, CO₂ und CH₄ (IPCC 2001)

^a Berechnet für den Zeitraum 1990 bis 1999

^b Global Warming Potential: gibt an, um wie viel mal stärker oder schwächer eine bestimmte in die Atmosphäre emittierte Menge des Gases im Vergleich zur gleichen Menge CO₂ zum Treibhauseffekt beiträgt. Es wird die mittlere Erwärmungswirkung über einen bestimmten Zeitraum, meist über 100 Jahre, gemittelt betrachtet.

N₂O ist aber nicht nur wegen seiner Eigenschaften als Treibhausgas klimarelevant. Es spielt auch eine Rolle bei der Zerstörung von stratosphärischem O₃.

Durch Photolyse von O_3 oder N_2O entsteht elektronisch angeregter Sauerstoff $O(D^1)$. Dieser reagiert mit N_2O zu NO, welches dann mit O_3 zu NO_2 und O_2 reagiert und dadurch zum Ozonabbau in der Stratosphäre beiträgt.

Böden sind weltweit die wichtigsten Quellen für N₂O. Natürliche Quellen sind vor allem tropische Böden. Allerdings geben landwirtschaftlich genutzte Böden mehr als die Hälfte der anthropogen verursachten N₂O-Emission ab. Das bodenbürtige N₂O stammt zum überwiegenden Anteil aus den mikrobiologischen Prozessen Nitrifikation und Denitrifikation (Sehy, 2004).

Die höchsten N₂O-Emissionsraten werden unter feuchten Bedingungen auf gedüngten oder frisch gepflügten Böden sowie in auftauenden Böden gemessen (Munch, 2007).

Die Beziehung zwischen Denitrifikationsrate (Nitratreduktion) und N₂O-Emission ist nicht immer positiv linear. Im Zuge einer vollständigen Denitrifikation kann N₂O weiter zum Endprodukt N₂ reduziert werden, wobei jedoch die N₂O-Reduktion und die Nitratreduktion von wirkenden Umweltparametern unterschiedlich beeinflusst werden (Tabelle 2.2).

	Effekt auf Denitrifikation	Effekt auf N ₂ O/N ₂ - Verhältnis
Erhöhung des NO ₃ ⁻ - Gehalts	+	+
Erhöhung des O ₂ -Gehalts	-	+
Erhöhung des verfügbaren C _{org} -Gehaltes	+	-
Erhöhung der Temperatur	+	-
Senkung des pH-Wertes	-	+

Tabelle 2.2 Effekt von Umweltparametern auf die Denitrifikation und das N_2O/N_2 - Verhältnis der Denitrifikation (nach Munch, 2007)

2.2 Allgemeine Grundlagen des Stickstoffkreislaufes im Boden

Die zentralen mikrobiellen Prozesse des Stickstoffkreislaufes im Boden sind die N-Mineralisation, die N-Immobilisierung, die Nitrifikation und die Denitrifikation sind in Abbildung 2.1 dargestellt.

Die Umwandlung von organisch gebundenem Stickstoff in die anorganischen Stickstoffverbindungen Ammonium (NH_4^+) und Nitrat (NO_3^-) geschieht durch Mineralisation (Ammonifikation) und Nitrifikation. Endprodukt der Mineralisation und Substrat für die Nitrifikation ist Ammonium. NH_4^+ kann durch autotrophe und heterotrophe Nitrifikation zu Nitrat oxidiert werden. Bei Sauerstoffmangel wird das Nitrat oder Nitrit (NO_2^-) durch Denitrifikation zu den gasförmigen Stickstoffverbindungen NO, N₂O oder N₂ reduziert.

Pflanzen und Mikroorganismen können Nitrat und Ammonium aufnehmen und in Biomasse umwandeln und liefern nach dem Absterben neue stickstoffhaltige organische Substanz. Nitrat kann durch Auswaschung und die gasförmigen Stickstoffverbindungen NO, N₂O und N₂ können durch Emission dem Ökosystem verloren gehen.



Abbildung 2.1 Schema der Nitrifikation und Denitrifikation als wichtige Prozesse der

Die autotrophe Nitrifikation ist ein zweistufiger Prozess, der von unterschiedlichen Bakteriengruppen durchgeführt wird: den Ammoniakoxidierern, meist aus der Gruppe der *Nitrosomonas* und den Nitritoxideren, meist aus der Gruppe der *Nitrobacter*. CO₂ dient den Mikroorganismen als Kohlenstoffquelle (Robertson & Groffmann, 2007). Ammonium bildet ein Dissoziationsgleichgewicht mit Ammoniak. Wegen der Beteiligung eines Oxonium-Ions ist dieses Gleichgewicht vom pH-Wert abhängig. Der Anteil des Ammoniaks steigt mit zunehmendem pH-Wert und steigender Temperatur (Mortimer, 1976). Der erste Schritt dieser Oxidation wird durch das membrangebundene Enzym Ammoniak-Monooxigenase (AMO) katalysiert.

$$NH_3 + 2H^+ + O_2 + 2e^- \xrightarrow{AMO} NH_2OH + H_2O$$
(1)

Diese Reaktion ist nicht umkehrbar. Das gebildete Hydroxylamin (NH₂OH) wird weiter zu Nitrit durch die NH₂OH-Oxidoreduktase (NH₂OH-OR) oxidiert.

$$NH_2OH + H_2O \xrightarrow{NH2OH - OR} 4e^- + 5H^+ + NO_2^-$$
(2)

Zwei der gebildeten e⁻ gehen wieder in die vorherige Reaktion (Gleichung 1) ein. Die anderen zwei e⁻ werden für den Elektronentransport zur Energiegewinnung genutzt. Bei der Oxidation von NH₂OH zu NO₂⁻ kann auch NO entstehen, das dann in die Atmosphäre emittieren kann. Ammoniakoxidierer scheinen bei O₂-Mangel auch in der Lage zu sein NO₂⁻ als Elektronenakzeptor nutzen zu können und durch NO₂⁻ -Reduktion NO und weiter N₂O zu bilden. Man spricht dann von denitrifizierenden Nitrifizierern. Nitrit wird nicht vom Boden akkumuliert sondern relativ schnell von nitritoxidierenden Bakterien oxidiert. Die Reaktion (Gleichung 3) wird durch die membrangebundene Nitrit-Oxidoreduktase (NIOR) katalysiert und ist reversibel (Robertson & Groffman, 2007) (Stange, 2000).

$$NO_2^- + H_2O \xleftarrow{NOR} NO_3^- + 2H^+ + 2e^-$$
(3)

Die heterotrophe Nitrifikation umgeht den Weg der Mineralisierung und wandelt den organisch gebundenen Stickstoff gleich in Nitrat um. Die Mikroorganismen der heterotrophen Nitrifikation erzielen keinen Energiegewinn bei dieser Umsetzung (Ferguson, 2007).

Die Denitrifikation ist die Reduktion von Nitrat und Nitrit zu den Gasen NO, N₂O oder N₂. Sie findet unter anaeroben Bedingungen statt. Die Mikroorganismen der Denitrifikation nutzen die organische Substanz als Energiequelle (Robertson & Groffman, 2007). Lange wurde angenommen, dass nur die bakterielle Denitrifikation N₂ produzieren und somit den Stickstoffkreislauf schließen kann. In den letzten Jahren sind jedoch zwei weitere N₂ produzierende Prozesse entdeckt worden, die anaerobe Ammonium-Oxidation (Anammox) und die Codenitrifikation. Bei ersterer oxidieren spezielle Bakterien NH₄ und NO₂ zu N₂. Dieser Prozess findet nur unter strickt anaeroben Bedingungen statt und wurde bisher nur für aquatische Ökosysteme beschrieben (den Camp et al., 2006). Die Codenitrifikation ist aktuell nur bei Pilzen und Strahlenpilzen nachgewiesen worden. Ihre Bedeutung für den Stickstoffumsatz in Böden ist bisher jedoch nur unzureichend untersucht worden (Laughlin et al., 2002).

2.3 N₂O-Bildung während Frostereignisse

Fast ein Drittel der Kontinentalfläche ist für 3 bis 9 Monate Temperaturen von unter 0°C ausgesetzt. Solche Kälteperioden kann man in die 3 Abschnitte Gefrieren, anhaltender Frost und Eisschmelze/Tauen untergliedern. Im dritten Abschnitt kommt es vermehrt zu Frost-Tau-Zyklen. Die Ausdehnung und die Dauer dieser Perioden und ebenso die Stickstofftransformationsraten variieren sowohl lokal als auch temporär zwischen den Jahren (Stres, 2007).

In vielen Untersuchungen z.B. (Röver, 1998; Flessa, 1995; Teepe, 2000; Ruser, 2001) wurde eine erhöhte N₂O-Emission bei Frost-Tau-Prozessen beschrieben.

Versuche von Müller (2002), Sehy (2004), Morkved (2006) und Öquist (2007), in denen mit dem stabilen Stickstoffisotop ¹⁵N gearbeitet wurde, identifizieren eindeutig die Denitrifikation als verursachenden Prozess dahinter.

Hypothesen zur Ursache:

- das teilweise Gefrieren des Bodenwassers konzentriert die Substrate der Denitrifikation in der flüssige Phase auf
- durch den Bodenfrost kommt es zu einem teilweise Absterben der mikrobiellen Biomasse, so dass leicht verwertbare C- und N-Verbindungen freigesetzt werden und sich die Verfügbarkeit im Boden erhöht

- die Gasdiffusion wird durch Eisbildung in den Bodenporen verringert, so dass der Sauerstoffpartialdruck im Boden sinkt und gleichzeitig das N₂O nur vermindert entweichen kann
- durch die Bildung von Eis und das Aufkonzentrieren von Ionen im Restwasser, kommt es zu einer Erniedrigung des Matrixpotentials und zu einem kapillaren Aufstieg von Wasser aus dem Unterboden
- die N₂O-Reduktase wird bei Einsetzen denitrifikatorischer Bedingungen später von den Bakterien gebildet als die vorherigen Enzyme und/oder die Denitrifikation während Frost-Tau-Phasen wird von Pilzen dominiert, die keine N₂O-Reduktase besitzen

Im nachfolgenden Absatz sollen die Prozesse, die während des Frostes im Boden ablaufen und die N₂O-Emission beeinflussen, theoretisch betrachtet werden.

2.3.1 Einfluss auf die Bodenphysik

Aufgrund seiner hohen volumetrischen Wärmekapazität hat Wasser für die thermischen Eigenschaften der Böden eine besondere Bedeutung (Bachmann (a), 2006). Niedrige Temperaturen im Boden verursachen Bewegungsvorgänge wie die Kontraktion der Bodenmatrix infolge des Temperaturrückgangs (negative Wärmeausdehnung), die Eissprengung durch Volumenzunahme des gefrierenden Bodenwassers oder die Eislinsenbildung (Eiskristalle) (Scheffer, Schachtschabel, 2002).

Auf landwirtschaftlich genutzten Böden wurde über den Winter eine Verringerung der Lagerungsdichte und des Eindringungswiderstandes verursacht durch gefrierendes und wieder auftauendes Wasser beobachtet. Dieser Vorgang wird für die Veränderung der Bodenstruktur während Frost-Tau-Ereignissen verantwortlich gemacht (Henry, 2007).

Wenn ein Teil des Porenwassers gefriert, wirkt das zum einen hydraulisch ähnlich wie der Entzug der gleichen Menge Wasser und zum anderen konzentrieren sich die gelösten Stoffe im Restwasser auf. Beides führt zur Erniedrigung des Matrixpotentials. So ist es möglich, dass es zum kapillaren Aufstieg von flüssigem Wasser aus dem Unterboden kommt (Abb. 2.2 und 2.3). Bei Temperaturen unterhalb von 0°C liegt Bodenwasser in flüssigem Zustand als dünner Wasserfilm auf Bodenpartikeln und Eiskristalloberflächen vor. Der Anteil an nicht gefrorenem Wasser kann sehr klein werden, geht aber bei uns üblichen Temperaturen nicht auf Null (Bachmann (b), 2006).



Abbildung 2.2 Durch Gefrieren induzierte Umverteilung des Wassers in einem Schluff-Boden. Wassergehalt beinhaltet Eis. (aus Edwards, 1992) (A=Beginn des Vorgangs, D=Ende der Umverteilung)

Zwei wichtige Punkte, in denen die chemischen die physikalischen Bodeneigenschaften in einer Frost-Tau-Umgebung beeinflussen, sind die Gefrierpunkterniedrigung und der Gehalt an nicht gefrorenem Wasser. Sie bestimmen den Wasser- und Stofftransport im gefrorenen Boden. Dieser wirkt auf Gefügestabilität, Frosthebungsvorgänge und Schwermetalltransport ein (Marion, 1995).

2.3.2 Einfluss auf die Bodenchemie

Die Gefrierpunktstemperatur der Bodenlösung wird vor allem durch die Bindung von Wasser auf Partikeloberflächen, die spezifischen Druckverhältnisse im Kapillarwasser und den Elektrolytgehalt der Bodenlösung herabgesetzt. Deshalb ist der Gefrierpunkt von Bodenlösungen in porösen Medien in der Regel niedriger als von reinem und ungebundenem Wasser (Bachmann (a), 2006).

In verdünnten Lösungen wird die Gefrierpunktserniedrigung durch die Van't Hoff'sche Gleichung beschrieben:

dT / dm_{i}	$\sigma \approx -RT^2 /\Delta H$	(4)		
m _b	Molarität des gelösten Stoffes	$[mol kg^{-1}]$		
Т	absolute Temperatur	[K]		
R	universelle Gaskonstante	$[J K^{-1} mol^{-1}]$		
ΔH	Bildungsenthalpie für Eis	[55,5 J mol ⁻¹]		

Je kleiner der Anteil an nicht gefrorenen Bodenwassers wird, desto höher wird die Konzentration der in ihm gelösten Stoffe im Restwasser. Das führt zu einem sukzessiven Herabsetzen der Gefrierpunktstemperatur (Bachmann (a), 2006). (Abb. 2.2) An der Gefrierfront, der Übergangszone von nicht gefrorenem Boden zu gefrorenem Boden kommt es ebenfalls zu einer Erhöhung der Konzentration an Ionen und damit zu einer Erniedrigung des Gefrierpunktes. Auf der einen Seite dadurch, dass das Wasser in den gefrorenen Bereich abwandert und auf der anderen Seite durch den Ausschluss der Ionen aus dem sich grade bildendem Eis (Edwards & Cresser, 1992).

Zu dem Ansatz, ob sich der pH-Wert durch diese Konzentrationserhöhung und die Temperatursenkung ändert, ist bisher wenig bekannt. Der pH-Wert ist an den Dissoziationsgrad des Wassers gebunden und somit Temperaturabhängig. Je höher die Temperatur, desto größer der Grad der Dissoziation, was bedeutet, dass der pH-Wert sinkt. Bekannt ist, dass Die Denitrifikation ein Optimum bei einem pH-Wert von 7-8 hat. Das N₂O/N₂-Verhältnis wird stark von niedrigeren pH-Werten, wie sie in Waldböden zu finden sind, beeinflusst, weil der letzte Reduktionsschritt sensitiver gegenüber sauren Bedingungen ist, als die vorherigen Schritte (Granli & Bockmann, 1994).

Die Konzentration von N_2O in der Bodenluft variiert von 1-1000 ppmv. Bei einer Konzentration von 10ppmv (10⁻⁵ bar) im Oberboden und einer Temperatur von 25°C liegt die Löslichkeit von N_2O im Bodenwasser bei 0,7µg N_2O -N l⁻¹. Die Dissoziation von Gasen verläuft exotherm. Das heißt die Löslichkeit von Gasen nimmt mit sinkender Temperatur zu. So ist die Löslichkeit von N_2O bei 5°C dreimal höher als bei 40°C (Granli & Bockmann, 1994).

Wie im vorherigen Abschnitt (2.1.1) dargestellt, kann es durch Frostereignisse zu einer Strukturzerstörung der organischen Bodensubstanz kommen. Dadurch werden nicht nur Ionen freigesetzt sondern auch neue Ionenaustauschplätze geschaffen an denen sich z.B. die Substrate der Denitrifikation adsorptiv binden können (Edwards & Cresser, 1992).



Abbildung 2.3 Schematische Darstellung von Salzkonzentration und Matrixpotential in einem gefrierenden Boden (nach Bachmann)

2.3.3 Einfluss auf die Bodenbiologie

Um bei niedrigen Temperaturen zu überleben, können Mikroorganismen ihre Zellgröße und die äußere Polysaccharidschicht (Kapsel) verringern, und ihre Phospholipidzusammensetzung in der Zellmembran verändern. Für ihre Stoffwechselaktivität benötigen sie jedoch weiterhin flüssiges Wasser. Durch welche Parameter der Gehalt an ungefrorenem Wasser im Boden beeinflusst wird, wurde in den vorhergehenden Abschnitten erklärt.

Auch in gefrorenen Böden sind Bakterien von einem dünnen Wasserfilm umhüllt, der sich mit zunehmender Frosttiefe verringert. Bei -10°C beträgt er ca. 5nm (Stres, 2007) bis 0,5nm (Rivkina et al., 2000). Bei solch kleinen Reaktionsräumen, spricht man von Mikrosites. In diesen Mikrosites konzentrieren sich Nährstoffe und Stoffwechselprodukte auf. Durch die Eishülle um die Mikrosites ist der Gasaustausch limitiert, was schnell zu einem Absenken des Sauerstoffgehalts führen kann. All diese Faktoren begünstigen die Denitrifikation (Stres, 2007).

Die NO_3 -Reduktase besitz eine höhere Affinität zu Elektronen aus der oxidativen Phosphorylierung als die N_2O -Reduktase. Die NO_3 -Reduktion ist energetisch

vorteilhafter als die N₂O-Reduktion. NO₃⁻ wird deshalb bevorzugter reduziert als N₂O (Stres, 2007). Weiterhin wird die N₂O-Reduktase bei niedrigen Temperaturen gehemmt (Öquist, 2004). Das führt in den Mikrosites zu einer Erhöhung des N₂O/N₂ – Verhältnisses.

Bei Frost werden zum Teil Mikroorganismen- und Pflanzenzellen zerstört. Aus den zerstörten Zellen werden Kohlenstoff, Stickstoff und andere Nährstoffe freigesetzt, die dann den überlebenden Mikroorganismen als Substrat dienen (Sehy, 2004).

Je nach Mikroorganismenart liegt das Optimum für denitrifikatorische Aktivitäten bei 20 bis 40°C, das Maximum bei 65 bis 75°C und das Minimum bei 0 bis -15°C (Aulakh, 1992) (Müller, 2000).

2.4 Denitrifikation

2.4.1 Biologische Denitrifikation

Als Denitrifikation bezeichnet man die Gruppe von Reaktionen, die Nitrat oder Nitrit zu den gasförmigen Stickstoffverbindungen NO, N_2O und N_2 reduziert (Firestone & Davidson, 1989). Meist geschieht dies durch fakultativ anaerobe, heterotrophe und einige autotrophe Mikroorganismen (Zumft, 1997). Der größte Anteil der denitrifizierenden Mikroorganismen sind Prokaryoten, die phylogenetisch zu den Probacteria (gram-negative Bakterien) gehören (Madigan et al., 2000).

Die grundsätzlichen Vorrausetzungen für das Stattfinden von denitrifikatorischen Prozessen sind: a) das Vorhandensein von Mikroorganismen, die die metabolischen Fähigkeiten besitzen, b) die Verfügbarkeit von passenden Reduktanten, z.B. organischen Kohlenstoff, c) eine verringerte Sauerstoffverfügbarkeit und d) das Vorhandensein von Stickstoffoxiden, NO₃, NO₂, NO oder N₂O (Firestone and Davidson, 1989). Die vollständige Denitrifikation beinhaltet vier Teilreaktionen, die durch die metallhaltigen Enzyme Nitratreduktase, Nitritreduktase, Stickstoffmonoxid-Reduktase und die Distickstoffmonoxid-Reduktase katalysiert werden (Bothe et al., 2007).

Im Einzelnen laufen die Reaktionen wie folgt ab:

- 1. $2 \text{ NO}_3^- + 4 \text{ H}^+ + 2 \text{ e}^- \rightarrow 2 \text{ NO}_2^- + 2 \text{ H}_2\text{O}$ (Nitratreduktase)
- 2. $2 \text{ NO}_2 + 2 \text{ H}^+ + 2 \text{ e}^- \rightarrow \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$ (Nitritreduktase)
- 3. $2 \text{ NO} + 2 \text{ H}^+ + 2 \text{ e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ (Stickstoffmonooxidreduktase)
- 4. $N_2O + 2 H^+ + 2 e^- \rightarrow N_2 + H_2O$ (Distickstoffoxidreduktase)

Die Denitrifikation ist der einzige Prozess im Stickstoffkreislauf, bei dem N₂O und NO sowohl produziert als auch konsumiert werden (Firestone & Davidson, 1989).

Bei begrenztem Angebot an O₂ können die Mikroorganismen Stickstoffoxide als Elektronenakzeptor (Oxidationsmittel) für die oxidative Phosphorylierung (Energiestoffwechsel) nutzen, da die Redox-Potentiale aller Einzelschritte der Denitrifikation positiv sind. Die aus der Oxidation von organischen und anorganischen Stoffen stammenden Reduktionsäquivalente (e⁻) sind je nach Enzym und Mikroorganismen unterschiedlich. Weil der Elektronentransport mit der ATP-Synthese gekoppelt ist, findet hierbei eine Energiekonservierung statt (Abb.2.4).

Da Sauerstoff ein effizienterer Elektronenakzeptor ist, werden Stickstoffoxide nur als "Notlösung" bei O₂-Mangel genutzt. Das ist z.B. der Fall, wenn sich die Poren im Boden mit Wasser füllen. Dann wird die O₂-Diffusion im Boden stark beeinträchtigt und ab einem WFPS von ca. 60% steigt die Denitrifikation deutlich an (Robertson & Groffman, 2007).

Bei unvollständiger Denitrifikation wird Stickstoff meist in Form von N_2O freigesetzt. Ursächlich hierfür ist im Wesentlichen ein Überangebot an Nitrat und geeigneter Reduktanten, welche den letzten Reaktionsschritt der Denitrifikation hemmen. Solche Bedingungen findet man z.B. in Böden, Sümpfen und Gewässersedimenten.

Häufig limitiert in den anaeroben Zonen die NO₃⁻-Verfügbarkeit die Denitrifikation im Boden. Auf Stickstoff gedüngten Flächen wirkt allerdings meist die Verfügbarkeit an Kohlenstoff limitierend (Firestone und Davidson, 1989).

2.4.1.1 Bakterielle Enzyme der Denitrifikation

Einige Spezies besitzen mehr als 40 Gene, welche die Proteine der Enzyme einer vollständigen Denitrifikation kodieren. Die Anwesenheit von NO_3^- und die Abwesenheit von O_2 induzieren die Expression der Gene für die Enzyme der Denitrifikation. Die Enzyme werden alle, jedoch unterschiedlich stark durch O_2 gehemmt (Madigan et al., 2000) (Spanning, 2007).

Die Nitrat- und Stickstoffoxid-Reduktase sind in der Cytoplasmamembran lokalisiert, während sich die Nitrit- und die Distickstoffoxid-Reduktase im periplasmatischen Raum befinden. (Abb. 6) Der periplasmatische Raum ist ein Zellkompartiment zwischen der Cytoplasmamembran und äußerer Membran gram-negativer Bakterien. Er ist von gelartiger Konsistenz und enthält eine hohe Konzentration an Enzymen sowie Bindeund Transportproteinen, die in verschiedene biochemische Prozesse eingebunden sind (Madigan et al., 2000). Bei gram-positiven Bakterien befinden sich alle Enzyme in der Membran, da diese keinen periplasmatischen Raum, sondern "nur" einen periplasmatischen Spalt besitzen. Untersuchungen haben gezeigt, dass sich denitrifizierende gram-positive Bakterien im Enzymprofil und im Elektronentransportsystem von den gram-negativen unterscheiden (Suharti, 2005). Bisher wird angenommen, dass gram-positive Bakterien nur eine untergeordnete Rolle in der Denitrifikation spielen und es gibt nur wenige Untersuchungen hierzu, auf die auch nicht näher eingegangen werden soll.

Wie in Abb. 2.5. zu sehen ist, sind die Enzyme der Denitrifikation in der Zellmembran eines Bakteriums so angeordnet, dass Zwischenprodukte an jedem einzelnen Reaktionsschritt mit der Umgebung (Boden) ausgetauscht werden können (Robertson & Groffman, 2007).



Nitratreduktase (NAR)

Die meisten Bakterien besitzen mehr als einen der drei Typen der NAR. Es existieren eine cytoplasmatische assimilatorische (Stoffaufbau) Reduktase und 2 dissimilatorische (zur Energiegewinnung) Reduktasen. Bei den dissimilatorischen Reduktasen unterscheidet man eine membrangebundene und eine periplasmatische NAR. Es existiert auch eine eukaryotische assimilatorische NAR, z.B. bei Pilzen und Pflanzen. Alle NAR sind molybdänhaltige Enzyme, die durch O_2 gehemmt werden und alle NAR katalysieren die gleiche Reaktion: die Reduktion von NO_3^- zu NO_2^- . (Zumft, 1997) (Einsle, 2004) (Abb: 2.6)

Der K_m-Wert für die Nitratreduktion liegt bei 15µM (Betlach, 1981).

Nitritreduktase (NIR)

NO₂-Reduktase (NIR) ist das Schlüsselenzym in der Denitrifikation. Es katalysiert den ersten Schritt, der zu einem gasförmigen Zwischenprodukt führt. Die Reaktion hat eine Änderung der freien Enthalpie von $\Delta G = -76,2$ kJ mol⁻¹ (Zumft, 1997).

Es existieren 2 Klassen von NIRs. Die eine hat Kupfer und die andere Eisen (Häm) als Cofaktor. (Abb: 2.6) Beide existieren niemals zusammen in der gleichen Bakterienspezies (Bothe, 2007).

Der K_m-Wert für die Nitritreduktion liegt bei 15µM (Betlach, 1981).

NO-Reduktase (NOR)

Das Enzym ist in der Membran eingelagert und besitzt zwei nicht identische Untereinheiten. Hier ist Eisen in Häm und nicht-Häm Form das Zentralatom (Abb: 2.6) (Einsle, 2004).

Die Reduktion von NO zu N₂O bewirkt eine Änderung der freien Enthalpie von $\Delta G = -306,3 \text{ kJ mol}^{-1}$ (Zumft, 1997).

Weil NO ab einer gewissen Konzentration giftig für die Zelle ist, muss die Aktivität der NOR mit der der NIR synchronisiert werden, um die NO-Konzentration gering zu halten.

N₂O-Reduktase (N₂OR)

Die N₂OR ist im Periplasma gram-negativer Bakterien oder in der Membran grampositiver Bakterien lokalisiert. Damit sind nur diese zur N₂O-Reduktion und somit zu einer vollständigen Denitrifikation befähigt (Einsle & Kroneck, 2004) (Bothe, 2007) (Suharti, 2005). Die Reaktion hat eine Änderung in der freien Enthalpie von $\Delta G = -339.5$ kJ mol⁻¹ (Bothe, 2007).

Das Enzym besitzt zwei identische Untereinheiten. In Jeder Untereinheit befinden sich zwei multinukleare Cu-Zentren, das Cu_Z- und das Cu_A-Zentrum (Abb: 2.6).

Am Cu_A -Zentrum findet der e⁻-Transport statt. Das Cu_Z - Zentrum ist das aktive Zentrum des Enzyms, an dem die Reduktion des N₂O katalysiert wird.

Die N₂OR wird durch NO₂⁻ (Zumft, 1997) oder NO₃⁻ (Blackmer, 1978) oder NO₂⁻ und NO₃⁻ (Dendooven, 1993) (Colbourne, 1984) nicht kompetetiv gehemmt und ist pH-Wert (Zumft, 1997) und Temperatur (Öquist, 2007) sensitiv. Wenn die Bakterien ihren Stoffwechsel auf N-Oxide umstellen, wird die N₂OR als letztes ausgebildet (Bakken, 2007). Über das N₂O/N₂ – Verhältnis kann man die Aktivität des Enzyms bestimmen.

Der K_m-Wert für die N₂O-Reduktion liegt bei 0,5µM (Betlach, 1981).

A140 A10 A10 A10 A10 A10 A10 A10 A1	A145 B306 CU2 A135 A100 A145 A150 A150 A150 A160
Nitratreduktase periplasmatische Nitratreduktase NapA von <i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	Nitritreduktase Cu-haltige Nitritreduktase von <i>Alcaligenes faecalis</i>
Feg Heme b Heme b	B520 B572 B563 B561 B569 A437 A129 A80 C
Stickstoffmonooxidreduktase schematische Darstellung der NO-Reduktase in einem gram-negativen Bakterium	Distickstoffoxidreduktase von <i>Paracoccus</i> <i>denitrificans</i> elektronentransferierende Cu _A -Seite Tetranucleare aktive Cu _Z -Seite

Abbildung 2.6 Struktur der Enzyme der Denitrifikation. (nach Einsle, 2004)

2.4.1.2 Pilzliche Denitrifikation und Codenitrifikation

In Böden der gemäßigten Klimazone dominieren die Pilze oft die mikrobielle Biomasse (Laughlin, 2002).

Denitrifikatorische Prozesse konnten unter anderem bei Pilzen der Gattungen *Fusarium*, *Giberella, Trichoderma, Penicillium, Aspergillus* und bei vielen Vertretern der Fungi imperfecti und Hefen beobachtet werden. N₂O-Emissionen im Bereich zwischen 0,12 bis 0,44 nmol N₂O je ml Pilzkultur und Tag sind dabei gemessen worden (Zumft, 1997). Im Gegensatz zu den Bakterien ist bei der fungalen Denitrifikation keine N₂O-Reduktase vorhanden bzw. bis jetzt noch nirgends beschrieben worden (Bothe, 2007). Dadurch ist N₂O in diesem Fall das Endprodukt. Einige Spezies der Pilze sind aber auch in der Lage N₂ durch Codenitrifikation zu bilden. Ein N-Atom stammt aus dem NO₂ und das zweite aus einer anderen N-Quelle, z.B. einer Aminosäure (Laughlin, 2002). Dieser Prozess ist erst seit wenigen Jahren bekannt und bisher wenig erforscht worden.

2.4.2 Chemodenitrifikation

Es gibt zahlreiche chemische Reaktionen, die als Chemodenitrifikation bekannt sind. In terrestrischen Systemen ist eine der bedeutendsten Reaktionen die spontane Reaktion von HNO₂ zu NO. Niedrige pH-Werte und ein hoher Gehalt an organischem Material beschleunigen die Reaktion. Bodenphysikalische Prozesse wie Trockenheit oder Frost führen dazu, dass NO₂⁻ im Restbodenwasser aufkonzentriert und die Reaktion ebenfalls beschleunigt wird.

Weiterhin sind biologische und abiotische Prozesse in kleinen Reaktionsbereichen (Mikrosite), die HNO₂ zur Verfügung stellen und NO verbrauchen mit der chemischen Denitrifikation gekoppelt (Firestone and Davidson, 1989).

2.4.3 Regulation der Denitrifikation

Wie schon in Abschnitt 2.4.1 erwähnt, sind die Vorraussetzungen für die Denitrifikation das Vorhandensein von denitrifizierenden Mikroorganismen, die Verfügbarkeit von Reduktionsmitteln, eine verringerte Sauerstoffverfügbarkeit und das Vorhandensein von Stickstoffoxiden, NO₃, NO₂, NO und N₂O.

Tabelle 2.3 stellt einen Überblick über den Einfluss der Parameter auf die Denitrifikation und die Interaktion der Parameter untereinander dar. Im nachfolgenden Abschnitt wird dies ausführlicher erläutert.

Sauerstoff ist neben C_{org} und NO₃ einer der wichtigsten Einflussfaktoren auf die Denitrifikation (Abb.2.7). Der Sauerstoffgehalt eines Bodens ist stark gesteuert durch den Bodenwassergehalt, die O₂-Diffusion in den Boden und die Atmung von Pflanzenwurzeln und Mikroorganismen. Die O₂-Diffusion in den Boden ist hauptsächlich durch die Bodenart, die Bewirtschaftungsweise und den **Wassergehalt** bestimmt (Granli & Bockman, 1994). Sauerstoff diffundiert durch Wasser 10⁴-mal langsamer als durch Luft. Neben der Bedeutung als O₂- Diffusionsbarriere beeinflusst das Bodenwasser auch über die Funktion als Transportmedium für Substrate und als essentielles Medium für mirkrobielles Wachstum die Denitrifikation (Aulakh, 1992). Die Konzentrationen der Substrate hängen ebenfalls vom Wassergehalt des Bodens ab.

Aus schweren **Böden** mit sehr feiner Textur emittiert im Allgemeinen mehr N₂O als aus leichten Böden. Schwere Böden mit vielen Fein- und Mittelporen haben ein größeres Gesamtporenvolumen und Wasserhaltevermögen. Aus leichten Böden kann das N₂O allerdings leichter entweichen. N₂O, das in tiefen Bodenschichten gebildet wird, kann bei langsamer Diffusion in schweren Böden auf dem Weg an die Oberfläche zu N₂ reduziert werden. Die Diffusion wird auch durch hohe Bodenwassergehalte gebremst. Das N₂O aus der Nitrifikation kann meist schneller und besser entweichen, da sie unter aeroben Bedingungen stattfindet. Bodenverdichtungen, bei denen die Textur und insbesondere die Grobporen zerstört wurden, erhöhen die Emissionen (Aulakh, 1992).

Die **Zusammensetzung und die Anzahl an denitrifizierenden Bakterien** wird durch den pH-Wert, den Gehalt und die Art der organischer Substanz, die Temperatur, den H₂O-, den NO₃- und den Schwermetallgehalt, das Vorhandensein von Makro- und Mikronährelementen und dem O₂-Gehalt bestimmt (Aulakh, 1992) (Granli & Bockman, 1994).

Auch die **Vegetation** des Standortes spielt eine Rolle, da sie einerseits auf Wasser-, Wärme- und O₂-Haushalt einwirkt, organisches Material nachliefert und Wurzelexudate den pH-Wert und die Nährstoffverfügbarkeit in der Rhizosphäre beeinflussen. Auf der anderen Seite entziehen die Pflanzen dem Boden H₂O, NO₃⁻ und NH₄⁺. Die Wurzeln erhöhen ferner noch die Porosität eines Bodens. Eine Pflanzendecke puffert zudem starke Temperaturschwankungen ab.

Wie bei allen biologischen Prozessen steigt auch die Denitrifikationsrate mit steigender **Temperatur** bis zu einem Optimum. Das Optimum und das Maximum hängen von der jeweiligen Mikroorganismenkultur ab. Die minimal messbare Denitrifikationsrate liegt

im Allgemeinen bei 0 bis 5 °C, jedoch wurden auch bei Temperaturen unter 0°C geringe Raten nachgewiesen (Granli & Bockman, 1994). Erst bei einer Temperatur von -15°C ist eine Aktivität der denitrifizierenden Mikroorganismen nicht mehr nachweisbar (Müller, 2000). Indirekt steuert die Temperatur über die Beeinflussung der anderen Prozesse, wie Mineralisation und Nitrifikation die Denitrifikation. Bei optimalen Temperaturbereichen für diese Prozesse, kommt es zu einem erhöhten O₂-Verbrauch durch die Mikroorganismen. Das wiederum begünstigt die Denitrifikation. Die Temperatur hat aber auch einen Einfluss auf die Dissoziations- und Diffusionsvorgänge von Wasser und Gasen im Boden.

Nitrat ist das erste Substrat in der Reduktionskette der Denitrifikation. In einigen Versuchen gibt es Hinweise darauf, dass eine hohe Nitrat- bzw. Nitritkonzentration im Boden die N₂O-Reduktase hemmt und es so zu einer erhöhten N₂O-Emission kommt (Colbourne, 1984) (Zumpft, 1997). Es könnte aber auch daran liegen, dass die NO₃⁻ - Reduktion energetisch vorteilhafter ist als die N₂O-Reduktion. NO₃⁻ wird bei einem Überangebot deshalb bevorzugt gegenüber N₂O reduziert (Stres, 2007).

Die Nitrifikationsrate und die Vegetation haben Einfluss auf die NO_3^- Konzentration im Boden und werden durch H₂O/O₂-Gehalt, Temperatur und Mineralisationsrate stark beeinflusst. Die künstliche Zugabe von ammonium- und nitrathaltigen Düngern hat den größten Effekt auf den NO_3^- -Gehalt des Bodens.

Organischer Kohlenstoff wird von den denitrifizierenden Organismen als Elektronendonor, also Energiespender und zur Synthese von Zellkomponenten benötigt. Somit ist die Denitrifikation sehr stark abhängig von der C_{org} – Verfügbarkeit.

Das Vorhandensein von organischem Kohlenstoff bringt mit sich, dass auch organische Stickstoffverbindungen vorliegen. Diese sind Substrat für die Mineralisation, die dann NH₄⁺ produziert und somit die Nitrifikation lenkt. Des Weiteren dient die organische Substanz als Nährstofflieferant für die Vegetation und als pH-Wert-Puffer.

Der Optimale **pH-Wert** für die Denitrifikation variiert je nach Art der Organismen und nach NO₃⁻-Konzentration zwischen pH 6 und pH 8. In sauren Böden bei pH-Werten von 5 bis 3 findet aber durchaus auch Denitrifikation statt. Die Mikroorganismen werden bei niedrigen pH-Werten eher indirekt durch eingeschränkte Nährstoffverfügbarkeiten und mobil gewordene Schwermetalle, als direkt durch die H⁺ Ionen limitiert. Bei niedrigen pH-Werten sinkt zwar die Denitrifikationsrate, aber das N₂O/N₂-Verhältnis steigt an. Eine Düngung hat ebenfalls Einfluss auf den pH-Wert (Aulakh, 1992).



Abbildung 2.7 Regelgrößen der Denitrifikation (verändert nach Robertson 1989)

Tabelle 2.3 Interaktion der Parameter der Denitrifikation

	DOM	H ₂ O	O ₂	NO ₃	Temperatur	рН	Vegetation	MO*
DOM	Energiequelle für MO* der Denitrifikation		Atmung der MO	beeinflusst Mineralisation und Nitrifikation		pH-Puffer	liefert Nährstoffe	Energiequelle für MO
H ₂ O	DOM- Konzentration	allumfassender Parameter	verdrängt Gasphase (O2)	beeinflusst NO ₃ - Konzentration		H ⁺ - Konzentration	essentiell	essentiell
O ₂			hemmt die Enzyme der Denitrifikation	hemmt NO ₃ - Reduktion (Denitrifikation)			Wurzelatmung	MO-Aktivität MO-Zusammen- setzung
NO ₃				Substrat für Denitrifikation, hemmt die N_2OR			fördert das Wachstum	alternative O ₂ - Quelle
Т	Mineralisation	Aggregat- zustand	Diffusion	Nitrifikation und Denitrifikation	Mineralisation, Nitrifikation und Denitrifikation	Dissoziation des H ₂ O und der Säuren	Aktivität des Stoffwechsels	Aktivität des Stoff-wechsels
рН				NH ₄ /NO ₃ - Gleichgewicht		beeinflusst die Enzyme der Denitrifikation	Wachstumsbedin gungen, Nährstoff- verfügbarkeit	determiniert MO- Zusammensetzun g
Vegetation	produziert neue DOM	-verbraucht H ₂ O -Wurzeln erhöhen die Porosität	-Atmung verbraucht O ₂ -Wurzeln erhöhen die Porosität	verbrauchen NO ₃	puffert Temperatur- veränderungen, beeinflusst die Frosttiefe des Bodens	Wurzelexudate		-Kohlenstoff- quelle -Mikrohabitat
MO*	mineralisieren DOM	verbraucht H ₂ O	Atmung verbraucht O ₂	Nitrifikation $NH_4 \rightarrow NO_3$ Denitrifikation $NO_3 \rightarrow N_2$	können Temperatur erhöhen		freilebende und symbiotische N- fixierende MO	unter anaeroben Bedingungen fakultative Denitrifizierer

*Mikroorganismen

2.5 Denitrifikationsmodelle – kurzer Überblick

Bei Messungen der N₂O-Emissionen aus Böden in die Atmosphäre kommt es zu starken räumlichen und zeitlichen Schwankungen sowohl in der Denitrifikationsrate an sich als auch bei der N₂O-Emission. Dies beruht auf Schwankungen der Bodenfeuchte, der Temperatur, der Bodenatmung, der NO₃-Konzentration und auch auf den Besonderheiten der Gasdiffusion innerhalb der Bodenmatrix. So erklärt es sich auch, das Gas-Fluss Abbildungen ein eher unscharfes Bild der biologischen Wirklichkeit in der Bodenmatrix wiedergeben. Das bedingt potentielle Verständnisprobleme zwischen der Mikrobiologie/Biochemie und der Ökologie. Die detaillierten Beobachtungen der Biochemiker und Mikrobiologen dienen selten der Interpretation von Beobachtungen auf Feldebene. Die mathematische Modellierung kann diese Kluft zwischen den Disziplinen überbrücken (Bakken, 2007).

Eine Vielzahl verschiedener Ansätze wurde entwickelt um die Denitrifikation in Stickstoffkreislaufmodelle einzuarbeiten. Man kann diese grob in drei Gruppen gliedern: (a) Mikrobielles-Wachstum-Modelle, (b) Bodenstruktur-Modelle und (c) vereinfachte Prozessmodelle.

Bei (a) wird angenommen, dass die Dynamik der Mikroorganismen für den Stickstoffkreislauf verantwortlich ist. Beispiele hierfür sind DNDC (Li et al., 2000), ECOSYS (Grant, 1999), DENLEFWAT, NLOSS, und RZWQM (Heinen, 2006). Die Komplexität der Interaktionen der regulierenden Parameter stellt einen Konflikt mit gewollten Vereinfachungen in Modellen dar (Bakken, 2007).

Bei den Bodenstruktur-Modellen (b) wird die Gasdiffusion in und aus Aggregaten angenommen. Die Verteilung wird geschätzt und die Denitrifikation findet nur in den anaeroben Bereichen der Aggregate statt. Einige Beispiele für Modelle, die diesen Ansatz verfolgen findet man bei Arah & Smith (1989), Grant (1991) oder Vinten et al. (1996).

Die einfachen Prozess-Modelle (c) sind einfacher zu handhaben und betrachten weder mikrobielle Prozesse noch Gasdiffusion. Solche Modelle sind oft praktischer, wenn man die Denitrifikation auf Feldebene betrachtet. Die Denitrifikation wird mit wenigen und einfach messbaren Parametern beschrieben, z.B. mit Sättigungsgrad, Temperatur und Nitratgehalt (Heinen, 2006). Eine Übersicht über 49 solcher Modelle findet man bei Heinen (2006). Für Kurzzeitschätzungen, wie die N₂O-Emission nach Frost-Tau-Ereignissen sind die Variationen zu groß, um mit den einfachen Prozessmodellen und ihren einfachen Funktionen erklärt zu werden. Das gleiche trifft auf Bodenstrukturmodelle zu. Für so eine Fragestellung muss die mikrobielle Kinetik der NH4⁺ Oxidation und der NO3⁻ Reduktion mit der Simulation von Wasser-, O₂- und Wärmefluss gekoppelt werden. Dies ist von Grant und Pattey (1999) mit ECOSYS getan worden. Die N₂O-Emissionen nach Frost-Tau-Ereignissen konnten zumindest zeitlich richtig aber nicht quantitativ genau modelliert werden.

Z.B. in ECOSYS, DAISY und SOIL ist ein mögliche Schneedecke in Form einer wärmeisolierenden und wasserspeichernden Funtion abgebildet worden (Grant, 1999) (Engel, 1993).

Ein Modell, das den ¹⁵N-Stickstofffluss berücksichtigt ist das Modell FLUAZ von Mary et al. (1998).

3 Materialien und Methoden

3.1 Materialien

Im Rahmen dieser Diplomarbeit ist anhand von Literaturdaten mithilfe der Software ModelMaker© ein Modell erstellt worden.

3.1.1 Daten aus Literatur

Zur Modellentwicklung wurden Daten aus Versuchen von Leffelaar et al. (1988) und von Sehy (2004) genommen. Die Daten aus dem Versuch von Ludwig et al. (2004) dienten der Modellvalidierung. In allen Versuchen wurde Boden aus der oberen Bodenschicht genommen. Grant und Pattey (1999) haben in ihrem Versuch dargestellt, dass die NO_2^- und die N₂O-Bildung in den oberen 15cm stattfindet.

Im Folgenden sollen die Versuche, aus denen die Daten stammen stichpunktartig vorgestellt werden.

a) Leffelaar et al.

Leffelaar und Wessel wollten mit diesem Versuch die Denitrifikation in einem homogenen Boden darstellen, um aus diesen Daten und Daten anderer Autoren ein Denitrifikationsmodell zu erstellen, das das mikrobielle Wachstum beinhaltet.

Standort und Boden

- Lehmboden aus Herveld, 0-25cm
- pH-Wert (H₂O): 6,9
- C_{org}: 2,5%, N_t: 1,3 %

Versuch

- geschlossene Petrischalen, mit 2 Nadeln zum Ein- und Ableiten der Gase
- System mit Neon (Ne) gespült
- 2ml KNO₃-Glucose-Lösung (520mg/kg C, 175mg/kg N) wurde dazu gegeben
- \rightarrow nach Zugabe war N_t-Gehalt bei 315mg/kg
- Gasmessungen: N₂O, N₂
- Bodenuntersuchungen: NO₃, NO₂, NH₄⁺
- Temperatur: $22,7 \pm 1,5 \text{ °C}$
- Versuchsdauer: 240h (10d)

b) Sehy

Sehy hat in diesem Versuch die Hypothese untersucht, ob die erhöhten N₂O-Emissionen nach Frost-Tau-Zyklen auf freiwerdende Kohlenstoffverbindungen zurückzuführen sind.

Standort und Boden

- Schlag A17 aus integriertem Pflanzenbau, Versuchsgut Scheyern
- Braunerde aus Lößlehm LS2 (29% Sand, 51% Schluff, 20% Ton), 0-10cm
- TRD: $1,2g/cm^3$
- C_{org} :1,4%, N_t 0,15%
- pH-Wert: 6,1

Versuch

- Laborversuch, gesiebter Boden 377g TS in Blechdosen (r = 5cm, h= 4cm), 44
 Dosen je Variante
- 4 Varianten, mit/ohne Frost, mit/ohne DOC-Zugabe
- Für die Modellierung: Frost + DOC-Variante
- 21 d bei 4°C inkubiert, dann 46 d bei -12°C
- WFPS vor dem Einfrieren: 76%
- Tag 0 = Taubeginn
- An Tag 0: Zugabe von 3ml DOC (3,2μg C/ g TS), 32ml H₂O (WFPS: 95%), 0,075mg N (KNO₃, 98at% ¹⁵N)
- Nach Taubeginn, 17 Tage Versuchsdauer
- 4 Proben einer Variante zur Gasmessung in ein Inkubationsgefäß, das für Probenahme verschließbar war
- Bodenuntersuchungen: gravimetrischer Wassergehalt, gelöster mineralischer Stickstoff, DOC (an 10 Terminen mit 4 Proben je Variante)
- Gasmessungen: N₂O, ¹⁵N₂O, CO₂

c) Ludwig, Wolf und Teepe

Im Versuch von Ludwig, Wolf und Teepe wurde der Beitrag der Nitrifikation und der Denitrifikation an der N₂O-Emission in einem Gefrier-Auftau-Experiment untersucht.

Standort und Boden

- Hofmeister Schlag, bei Göttingen
- schluffiger Luvisol (6% Sand, 78% Schluff, 16% Ton), 0-10 cm (Ap-Horizont)
- C: 1,2%, N: 0,11%
- pH (H₂O): 7,1

Versuch

- Laborversuch mit ungestörten Bodenkernen (r= 7,25cm, h= 10cm)
- Mikrokosmen-System, Frischluftspülung
- Gefrierschrank mit Ventilator zur Luftverteilung
- Zugabe von 30ml 0,09M K¹⁵NO₃-Lösung (¹⁵N-Häufigkeit: 50at%)
- WFPS: 81%
- Proben für 7d bei -7°C
- N₂O-Emissionen alle 3h gemessen
- bei 8°C aufgetaut,
- Versuchsdauer: 13d (312 h)

3.1.2 ModelMaker©

ModelMaker[©] bietet eine einfach zu bedienende Modellierungsoberfläche und kann auch zum Einstieg in die Modellierung genutzt werden, wenn keine Programmiererfahrungen vorhanden sind. Neben der einfachen Implementierung von mathematischen Zusammenhängen und Gleichungen bietet das Programm eine Vielzahl von Funktionen und Analysemethoden, wie z.B. verschiedene numerische Methoden zum Lösen von Differentialgleichungen, Optimierung-, Minimierung-, Monte Carlooder Sensitivitätsanalyse. Allerdings kann man die mit ModelMaker[©] erstellten Modelle nicht problemlos in ein Modell, das in einer Programmiersprache entwickelt wurde, einbauen.

3.2 Methoden

3.2.1 Integrationsverfahren

Für die Rand- und Anfangswertprobleme, die bei der Modellierung gelöst werden sollen, gibt es oft keine analytische Lösungsmethode. Die Abschätzungen mit Hilfe von Differentialgleichungen sind in der Regel. zu grob. Numerische Näherungsverfahren können dann weiter helfen. In diesem Kapitel soll nur kurz auf diese Thematik eingegangen werden, da die Integrationsverfahren in ModelMaker© als Funktion implementiert sind und einfach angewendet werden können.

Eulersche Polygonzugverfahren

Die einfachste Methode eine Differentialgleichung numerisch zu lösen ist die Methode nach Euler.

Die Ableitung $y'_k = g(x_k, y_k)$ gibt die Steigung der Tangente an den (gesuchten) Graphen G_f im Punkt (x_k / y_k) an. (Abb.3.1)

Daher gilt mit $y_{k+1} \approx \frac{y_{k+1} - y_k}{x_{k+1} - x_k} = g(x_k, y_k)$

 $y_{k+1} \approx \ \boldsymbol{y}_k + \left(\boldsymbol{x}_{k+1} - \boldsymbol{x}_k\right) \, \boldsymbol{g}_k$

Berechnet man auf diese Weise y_{k+2} für $x_{k+2} = x_{k+1} + (x_{k+1} - x_k)$, dann y_{k+3} usw., so wird der Fehler im Allgemeinen viel zu groß, d.h. das Euler-Verfahren ist in der Praxis eher unbrauchbar.



Abbildung 3.1 Methode von Euler (Linearisierung) (nach B.Berchtold, 2008)

Methode von Heun

Beim Verfahren von Heun nimmt man das arithmetische Mittel der Werte im linken und rechten Endpunkt. Da man den rechten Endpunkt noch nicht kennt, wird er nach der Euler-Methode approximiert. (Abb.3.2)

$$y_{k+1} = y_k + (x_{k+1} - x_k) \frac{K_1 + K_2}{2}$$

K_1 = f(x_k, y_k) K_2 = f(x_{k+1}, y + (x_{k+1} - x_k) K_1)

Man integriert die Differentialgleichung $y' = \frac{dy}{dx} = g(x,y)$ auf beiden Seiten über das Intervall $[x_0, x_1]$ nach x.

Das bestimmte Integral $\int_{x_0}^{x_1} g(x, y) dx$ wird nun mit Hilfe der Trapezregel für n = 1 berechnet.



Abbildung 3.2 Verfahren von Heun (Timmann, 1998)
Runge-Kutta-Verfahren

Das Verfahren von Runge und Kutta verwendet zusätzlich die Stützstelle $\frac{1}{2}(x_k + x_{k+1})$ und das gewichtete Mittel von 4 Funktionswerten (Abb.3.3).

Man setzt
$$h = x_{k+1} - x_k$$

 $y_{k+1} = y_k + (x_{k+1} - x_k) \frac{K_1 + 2K_2 + 2K_3 + K_4}{6}$
 $K_1 = f(x_k, y_k)$
 $K_2 = f(x_k + \frac{h}{2}, y_k + \frac{h}{2}K_1)$
 $K_3 = f(x_k + \frac{h}{2}, y_k + \frac{h}{2}K_2)$
 $K_4 = f(x_k + h, y_k + hK_3)$

Wendet man das Runge-Kutta Verfahren auf Differentialgleichungen y' = f(x) an, so kann man das Intergral $\int f(x)dx$ nach der Simpsonregel näherungsweise numerisch berechnen.

Diese Methode gilt als sehr robust und kann auf fast alle Probleme angewandt werden. Selbst komplizierte Differentialgleichungssysteme lasen sich nach dieser Methode lösen. Deshalb wird sie sehr häufig angewandt (Timmann, 1998).



Abbildung 3.3 Runge-Kutta-Verfahren (Timmann, 1998)

3.2.2 Enzymkinetik

Mithilfe der Enzymkinetik kann man beschreiben, wie schnell enzymkatalysierte chemische Reaktionen, wie z.B. die Denitrifikation verlaufen.

Kinetik 0-ter Ordnung

Beschreibt eine einfache Transformation, die von der Anfangs-Substratkonzentration unabhängig ist.

$$A \xrightarrow{k} B$$

Die Konzentrationsrate k bleibt konstant. Egal, ob A oder B sich ändern.

$$\frac{dB}{dt} = k$$
 und $-\frac{dA}{dt} = k$

Kinetik 1-ter Ordnung

Die Transformation von $A \xrightarrow{k} B$ ist proportional zu der Konzentration des Substrates A.

$$\frac{dA}{dt} = -k * A \text{ und } \frac{dB}{dt} = k * A \text{ ; } k = konst.$$

Mit dieser Gleichung lassen sich einfache Stoffflüsse mathematisch beschreiben.

Kettenreaktion

Oft laufen Reaktionen parallel oder gekoppelt zueinander in Kettenreaktionen ab. Meist treten ein bis mehrere Zwischenprodukte, wie z.B. bei der Nitrifikation oder der Denitrifikation auf.

Ein System aus Reaktionen erster Ordnung von der Form $A \xrightarrow{k_1} B \xrightarrow{k_2} C$ kann mathematisch wie folgt beschrieben werden:

$$\frac{dA}{dt} = -k1*A \qquad \qquad \frac{dB}{dt} = k1*A - k2*B \qquad \qquad \frac{dC}{dt} = k2*B$$

Michaelis-Menten-Kinetik

Die Beziehung zwischen enzymatischer Reaktionsrate und der Substratkonzentration wird mit der Michaelis-Menten-Gleichung beschrieben.

Die Michaelis-Menten-Konstante K_m gibt die Substratkonzentration an, bei der die Reaktionsgeschwindigkeit die Hälfte ihres Maximums erreicht hat. Die Dimension von K_m ist Mol. Je niedriger der K_m -Wert liegt, desto höher ist die Affinität eines Enzyms zu seinem Substrat.

Die Geschwindigkeit mit der das Produkt B produziert wird, ist über die Reaktionsrate V_{max} definiert.

$$\frac{dB}{dt} = \frac{V_{\max} * A}{A + K_m}$$

Im Fall der Denitrifikation können hohe Nitrat- oder Nitrit- und Sauerstoffkonzentrationen die Umsetzung nicht-kompetitiv hemmen (Wild, 1995) (Blackmer, 1978).

Wenn solch eine Enzymhemmung vorliegt, kann die Michaelis-Menten-Gleichung folgendermaßen erweitert werden:

$$\frac{dB}{dt} = \frac{V_{\max} * A}{(A + K_m) * (1 + \frac{S_i}{I_s})} = \frac{V_{\max} * A * I_s}{(A + K_m) * (I_s + S_i)}$$

 S_i = Substart, welches die Umsetzung inhibiert (es kann S_i = A sein) I_S = Inhibitionskonstante (Müller, 2000)

Abbildung 3.4 veranschaulicht die Umsetzungsraten der verschiedenen Kinetiken.



Abbildung 3.4 Umsetzungsraten verschiedener Kinetiken in Abhängigkeit von der Substratkonzentration (Müller, 2000)

3.2.3 ¹⁵N-Tracer-Technik

Isotope sind Atome eines Elements, die zwar die gleiche Anzahl Protonen, aber eine unterschiedliche Anzahl an Neutronen besitzen. Stickstoff in seiner natürlich vorkommenden Form setzt sich aus zwei stabilen Isotopen zusammen, ¹⁴N (99,634 at%) und ¹⁵N (0,366 at%).

Chemisch verhalten sich die Isotope aufgrund der gleichen Elektronenhülle in ihrer Reaktionsweise gleich. In Ihren physikalischen Eigenschaften unterscheiden sie sich unterschiedliche jedoch durch die Kernmassen bzw. Kernvolumina und Kernmagnetismus. Diese Unterschiede werden der Analyse durch in Massenspektrometer genutzt.

Über eine Anreicherung mit ¹⁵N wird die zu untersuchende N-Verbindung markiert und stattfindende Reaktionen und Transportvorgänge können anhand der Veränderungen der Häufigkeit von ¹⁵N betrachtet werden (Faust et al.1981).

4 Modellentwicklung

4.1 Modellbeschreibung

Ziel war es ein Modell zu entwickeln, das die Prozesse und Stoffflüsse des Stickstoffkreislaufes während und nach dem Auftauen eines Bodens beschreibt. Hohe N₂O-Winteremissionen nach Frost-Tau-Ereignissen werden auf Acker- und Waldböden beobachtet. Zur Modellentwicklung und –validierung dienten Daten von Versuchen mit Ackerböden.

Untersuchungen von Müller (2002), Morkved (2006), Öquist (2007) zu dem Thema N₂O-Emissionen nach Frost-Tau-Prozessen identifizieren die Denitrifikation als Prozess dahinter. Aus diesem Grund wird im Modell die Nitrifikation nur als Substratlieferant betrachtet und die Nitrifikationsrate mittels Funktion erster Ordnung berechnet.

Neben Nitrat ist für die Denitrifikation das Vorhandensein von leicht verfügbarem Kohlenstoff notwendig. Ackerböden werden durch Pflanzenreste und Gülle und Waldböden durch Streu ausreichend mit Kohlenstoffquellen beliefert (Bothe et al., 2007). Weiterhin wird angenommen, dass während des Frosts Kohlenstoff aus abgestorbenen Zellen austritt. So stellt im Modell die Versorgung mit C_{org} keine Limitierung der Denitrifikation dar. Die im Modell verwendeten Reaktionskonstanten k1, k2 und k3 symbolisieren die NO₃-Umsetzung bei aktueller Kohlenstoffversorgung. Da der Simulationszeitraum nur wenige Tage beträgt, bei Temperaturen um 0°C oder darunter beginnt und kein separater DOC-Pool beobachtet wurde, wird die mikrobielle Wachstumsrate vernachlässigt und mit der temperaturabhängigen mikrobiellen Aktivität (XH_II, XH_III) dargestellt.

Es wird weiterhin angenommen, dass es wären der Frostphase zu einem kapillaren Aufstieg von Wasser aus dem Unterboden kommt (s. Abschnitt 2.3.1), welches beim Tauen des Bodens zusammen mit dem aufgetauten Eis zur Aufsättigung der Poren führt. In den Versuchen wurde den Böden im Labor Wasser zugeführt.

Um die Stoffumsätze besser und korrekter zu modellieren und zu verstehen, wurden zusätzlich die ¹⁵N-Flüsse einbezogen (Abb. 4.1).



Abbildung 4.1 Modelldarstellung

Der Grundaufbau des Modells basiert auf einem Denitrifikationsmodell von *Wild*, *Schulthess und Gujer (1995)*, in dem die Michaelis-Menten-Kinetik und die Substrathemmungen der Enzyme berücksichtigt worden sind. Dieses Modell beschreibt jedoch Denitrifikation in Abwässern und musste in vielen Parametern verändert und ergänzt werden.

Das Modell für die Denitrifikation im Boden wurde mit einem Datensatz aus einem Versuch von *Leffelaar und Wessel (1988)* angepasst und mit der Mineralisation, der Nitrifikation und der bodenwassergehaltsabhängigen Konzentration der Substrate erweitert. Dieser Versuch fand in einem geschlossenen System statt aus dem kein NO, N₂O und N₂ entweichen konnte und die Denitrifikation nicht durch Sauerstoffanwesendheit gestört wurde.

Die temperaturabhängige mikrobielle Aktivität und der Sauerstoffgehalt im Boden sowie die zwei parallel ablaufenden Stoffflüsse für ¹⁴N und ¹⁵N wurden anhand von Daten von *Sehy (2004)* implementiert. (Abb. 4.1)

Das Kompartiment H₂O



[kg H₂O/ kg Boden]

Anhand der Bodenart kann man das Porenvolumen bestimmen und somit die Wassermenge und die Konzentration von NO_3^- und NO_2^- berechen. Die Bodenart bzw. das Porenvolumen wurden nicht modelliert sondern extern bestimmt und die Wassermenge im Kompartiment H₂O von Hand eingegeben und an die verschiedenen Bodenarten den einzelnen Versuchen angepasst. Das Kompartiment H₂O gibt an wie viel kg Wasser je kg Boden vorhanden ist.

Konzentration von NO3 und NO2 im Bodenwasser

Die Angabe der Nitrat- und Nitritwerte als Konzentration dient der Berechnung der Michaelis-Menten-Kinetik. Ursprünglich sollte es auch dazu dienen, die sich erhöhenden Konzentrationen im Restwasser bei Frost darzustellen.

Bei der Berechnung der Stoffkonzentration wird die Stoffmenge durch die Wassermenge dividiert.

$$NO3_konz = \frac{NO3_gesamt}{H2O} = \frac{NO3_14 + NO3_15}{H2O} \qquad [mg kg^{-1} H_2O]$$
(5)

$$NO2_konz = \frac{NO2_14 + NO2_15}{H2O}$$
 [mg kg⁻¹ H₂O] (6)

Beim Nitrat wurden die Pools ¹⁴N-NO₃ und ¹⁵N-NO₃ aus Darstellungszwecken zusätzlich in *NO3_gesamt* zusammengefasst.

Temperatureinfluss auf die mikrobielle Aktivität



T1	Datentabelle für Temperatur	
Temp	Temperatur	[°C]
XH_II	mikrobielle Aktivität	
XH_III	mikrobielle Aktivität	
fT_DEN	Temperaturfunktion	

Es wurden zwei unterschiedliche mikrobielle Aktivitäten implementiert, die sich in ihren Startwerten unterscheiden. Nach Untersuchungen von Firestone & Tiedje (1979) und Dendooven (1993) findet nach Eintreten von denitrifizierender Bedingungen die Reduktion von NO₃⁻ zu N₂O schneller statt, als die vom N₂O zum N₂. Das wird darauf zurückgeführt, dass die entsprechenden Enzyme schneller bereitgestellt werden, als die N₂O-Reduktase (Spanning, 2007). Die Startwerte sind geschätzt worden.

Die Änderung der mikrobiellen Aktivität mit der Zeit in Abhängigkeit der Temperatur wird beschrieben mit den Formeln:

$$\frac{XH_II}{dt} = k \max * XH_II * fT_DEN * (1 - XH_II)$$
(7)

$$\frac{XH_III}{dt} = k \max * XH_III * fT_DEN * (1 - XH_III)$$
(8)

Für die Temperaturfunktion wird eine vereinfachte Version der stetigen Temperaturfunktion von Thornley (nach Müller (2000, S.82)) verwendet. Diese Funktion nimmt Werte zwischen 1 bei optimaler Aktivität und 0 bei minimaler Aktivität an.

$$fT _Den = \frac{(T - T\min)^{qfT} * (T\max - T)}{(Topt - T\min)^{qfT} * (T\max - Topt)}$$
(9)

mit

$$qfT = \frac{Topt - T\min}{T\max - Topt}$$
(10)

Topt	Temperatur, bei der die Aktivität optimal ist;		
	$fT_DEN = 1$	[°C] {30}	
Tmin	niedrigste Temperatur, bei der die Aktivität grade 0		
	ist; fT_DEN =0	[°C] {-15}	
Tmax	höchste Temperatur, bei der die Aktivität grade 0		
	ist; fT_DEN =0	[°C] {75}	

Das Kompartiment Sauerstoff



Der Sauerstoffgehalt im Boden wird stark durch den Wassergehalt determiniert. Des Weiteren wird der Sauerstoffgehalt auch durch mikrobielle Respiration gesenkt.

Der Grund den Sauerstoffgehalt unabhängig vom Wassergehalt einzustellen war, dass im Versuch von Leffelaar und Wessel der Boden in einem geschlossenen System mit Neon bespült wurde, so dass ein hoher Wassergehalt nicht nötig war um den Sauerstoffgehalt zu senken. Der Sauerstoffgehalt wurde für die Modellierung aus Angaben der Autoren zu den Versuchsbedingungen abgeleitet (s. Tabelle 4.1) und kann sich zwischen 0 und 1 bewegen. Beim Wert 1 sind alle Poren mit Luft d.h. mit 21% O₂ (= 100% des möglichen O₂-Gehalts) gefüllt und 0 bedeutet, dass keine Luft und 0% O₂ vorhanden ist. **Mineralisation**



Die Mineralisation wird stark durch Bodenfeuchte und –temperatur gesteuert (Goncalves, 1994). Die Mineralisation hat ihr Optimum bei einem WFPS von 60%. Darüber geht die Aktivität der mineralisierenden Mikroorganismen aufgrund der Sauerstofflimitierung stark zurück (Robertson & Groffmann, 2007). In den Versuchen wurde mit einem WFPS von mindestens 81% gearbeitet. Aus diesem Grund wurde der einfachste Ansatz einer Reaktion erster Ordnung zur Beschreibung der Mineralisation gewählt.

Die mathematische Darstellung der Mineralisation im Modell lautet wie folgt:

$$\frac{dNorg_14}{dt} = -F6\tag{11}$$

$$\frac{dNorg_15}{dt} = -F11\tag{12}$$

 $F6 = (miner * Norg_14)$ (13)

 $F11 = (miner * Norg_15)$ (14)

dNorg_14	Pool für organischen ¹⁴ N-Stickstoff	[mg N _{org} -N kg ⁻¹ Boden]
dNorg_15	Pool für organischen ¹⁵ N-Stickstoff	[mg N _{org} -N kg ⁻¹ Boden]
t	Zeit	[h]
miner	Mineralisationsrate	$[h^{-1}] \{0,00137\}$

Nitrifikation



Die Nitrifikation wird genau wie die Mineralisation über eine Reaktion erster Ordnung beschrieben. Auch hier ist keine mikrobielle Aktivität berücksichtigt worden, da die Nitrifikation an eine Sauerstoffversorgung gebunden ist und bei hohen Wassergehalten kaum stattfindet (Robertson & Groffmann, 2007). Durch die geringe Mineralisation kann die Nitrifikation zusätzlich Substrat limitiert werden. Mehrere Varianten des Modells, in denen die Nitrifikation an die mikrobielle Aktivität gekoppelt wurde und auch auf die Nitrifikationsspezifischen Optimum-Maximum-Minimum-Temperaturen eingegangen wurde, zeigten keine merkliche Verbesserung des Modells. Deshalb wird auf eine parameterintensive Beschreibung der Nitrifikation verzichtet worden.

$$\frac{dNH4_{14}}{dt} = F6 - F4 \tag{15}$$

$$\frac{dNH \ 4_15}{dt} = F11 - F10 \tag{16}$$

$$F4 = (nit * NH4_14) \tag{17}$$

$$F10 = (nit * NH4_{15})$$
 (18)

nit	Nitrifikationsrate/Reaktionskonstante	$[h^{-1}]{0,72}$
NH_14	Pool für ¹⁴ N-Ammonium	[mg NH ₄ -N kg ⁻¹ Boden]
NH_15	Pool für ¹⁵ N-Ammonium	[mg NH ₄ -N kg ⁻¹ Boden]

Denitrifikation

a) Nitratreduktion



Die Nitratreduktion ist mit einer Michaelis-Menten-Reaktion beschrieben. Die beiden Stickstoffpools werden in *NO3_ges* zusammengefasst und dann in die bodenwassergehaltsabhängige Konzentration umgerechnet. Diese Umrechnung war notwendig, um die Michaelis-Menten-Konstante (K_m), die über die Konzentration definiert ist, in der Reaktion verwenden zu können. Die Werte stammen aus der Literatur (Betlach, 1981) und sind von μ M in mg kg⁻¹ H₂O umgerechnet worden. Diese Werte wurden aus Untersuchungen mit Reinkulturen ermittelt. Im Modell wurden sie leicht verändert und angepasst.

Die Variablen *alpha_NO3*, die den ¹⁵N-Anteil in Prozent darstellt und *NO3_ges* dienen der Datenausgabe in ModelMaker©.

Die Nitratreduktion wird durch Sauerstoff gehemmt (Spanning, 2007). Diese Hemmung geht über die Inhibierungskonstante *KIO2* in die Formel ein. Die Werte für die Inhibierungskonstanten sind aus Werten von Wild et al. (1995) abgeleitet und angeglichen worden.

$$\frac{dNO3_14}{dt} = F4 - F1$$
(19)

$$\frac{dNO_{2}15}{dt} = F10 - F7$$
(20)

$$F1 = k1 * NO3 _ 14 * MM _ NO3 * MM _ O2I * XH _ II$$

$$(21)$$

$$F7 = k1*NO3_15*MM_NO3*MM_O2I*XH_II$$
(22)

$$MM _NO3 = \frac{1}{NO3 _konz + KNO3}$$
(23)

(Michaelis-Menten-Kinetik der Nitrat-Reduktion)

$$MM_O2I = \frac{KIO2}{KIO2 + O2}$$
(24)

(O₂-Inhibierung)

$$alpha NO3 = \frac{NO3 15}{NO3 15 + NO3 14} *100$$
(25)

k1Reaktionskonstante
$$NO_3 \rightarrow NO_2$$
 $[h^{-1}]$ {25,0839}NO3_14Pool für ¹⁴N-Nitrat $[mg NO_3-N kg^{-1} Boden]$ NO3_15Pool für ¹⁵N-Nitrat $[mg NO_3-N kg^{-1} Boden]$ XH_IImikrobielle Aktivität $[mg / kg H_2O]$ NO3_konzNitratkonzentration $[mg / kg H_2O]$ {923,396}KIO2Inhibierungskonstante für NO_3-Reduktase $[\%]$ {0,0051347}O2Sauerstoffgehalt $[\%]$ {0 bis 0,1}

b) Nitritreduktion



Die Nitritreduktion wird ebenfalls über eine Michaelis-Menten-Gleichung beschrieben. Auch hier ist eine mögliche Inhibierung durch Sauerstoff vorhanden. Sie geht mit dem Parameter *KIIO2* ein.

$$\frac{dNO2_14}{dt} = F1 - F2 \tag{26}$$

$$\frac{dNO2_15}{dt} = F7 - F8$$
(27)

$$F2 = k2 * NO2 _ 14 * MM _ NO2 * MM _ O2II * XH _ II$$

$$(28)$$

$$F8 = k2 * NO2_15 * MM_NO2 * MM_O2II * XH_II$$
⁽²⁹⁾

$$MM _NO2 = \frac{1}{NO2 _konz + KNO2}$$
(30)

(Michaelis-Menten-Kinetik der Nitrit-Reduktion)

$$MM_O2II = \frac{KIIO2}{KIIO2 + O2}$$
(31)

(O₂-Inhibierung)

k2	Reaktionskonstante NO ₂ \rightarrow N ₂ O	$[h^{-1}]$ {20,0819}
NO2_14	Pool für ¹⁴ N-Nitrit	[mg NO ₂ -N kg ⁻¹ Boden]
NO2_15	Pool für ¹⁵ N-Nitrit	[mg NO ₂ -N kg ⁻¹ Boden]
XH_II	mikrobielle Aktivität	
NO2_konz	Nitratkonzentration	$[mg / kg H_2O]$
KNO2	K _m -Wert für Nitratreduktion	$[mg / kg H_2O] \{684,961\}$
KIIO2	Inhibierungskonstante für NO2-Reduktase	[%] {0,48095}
O2	Sauerstoffgehalt	[%] {0 bis 0,1}

c) N₂O-Reduktion



Die N₂O-Reduktion läuft ebenfalls über eine Michaelis-Menten-Reaktion. Sie wird durch Sauerstoff und hohe Nitratgehalte inhibiert (Blackmer, 1978) (Spanning, 2007). Wie oben schon erwähnt, läuft die Reaktion langsamer ab (Dendooven 1993) bzw. dieses Enzym wird langsamer gebildet als die anderen (Spanning, 2007). Um diesen Sachverhalt abbilden zu können, wurde eine zweite, niedrigere mikrobielle Aktivität

XH_III implementiert. Der prozentuale Gehalt an 15 N im N₂O wird in der Variablen *alpha_N2O* ausgegeben.

$$\frac{dN2O_{14}}{dt} = F2 - F3 - F5 \tag{32}$$

$$\frac{dN2O_{15}}{dt} = F8 - F12 - F9 \tag{33}$$

$$F3 = k3*N2O \quad 14*MM \quad N2O*MM \quad NO3 \quad III*MM \quad O2III*XH \quad III$$
(34)

$$F12 = k3*N2O_{15}*MM_{N2O}*MM_{NO3}_{III}*MM_{O2III}*XH_{III}$$
(35)
(Reduziertes N₂O)

$$F5 = k4 * N2O_{14}$$
 (36)

$$F9 = k4 * N2O_{15}$$
 (37)

(In die Atmosphäre entweichendes N2O)

$$MM_{N2O} = \frac{1}{(N2O_{14} + N2O_{15}) + KN2O}$$
(38)

(Michaelis-Menten-Kinetik der N2O-Reduktion)

$$MM _O2III = \frac{KIIIO2}{KIIIO2 + O2}$$
(39)

(O₂-Inhibierung)

$$MM _NO3_III = \frac{KIIINO3}{KIIINO3 + NO3_konz}$$
(40)

(NO₃-Inhibierung)

$$alpha N2O = \frac{N2O_{15}}{N2O_{15} + N2O_{14}} *100$$
(41)

Der N₂O-Fluss des N₂O, das nicht zu N₂ umgewandelt wurde und in die Atmosphäre entweicht, wird mit der Variable $N2O_{fluss}$ dargestellt. Das gesamte nicht reduzierte N₂O kumuliert sich in dem Kompartiment *exit*.

Die Diffusion des N_2O aus dem Boden wird analog zu dem vereinfachten Modell von Müller (2000) über eine Reaktion erster Ordnung mit Hilfe der Diffusionskonstante k4 beschrieben.

$$N2O \quad fluss = F5 + F9 \tag{42}$$

$$\frac{dexit}{dt} = F5 + F9 \tag{43}$$

Der gebildete N₂-Fluss, wird in der Variablen $N2_Fluss$ dargestellt und der kumulative N₂-Pool ist $N2_14 + N2_15$ (nicht abgebildet).

$$\frac{dN2_14}{dt} = F3\tag{44}$$

$$\frac{dN2_15}{dt} = F12\tag{45}$$

$$N2_fluss = F3 + F12 \tag{46}$$

k3	Reaktionskonstante $N_2O \rightarrow N_2$	$[h^{-1}]$ {45,0125}
k4	Diffusionskonstante	$[h^{-1}] \{0, 15\}$
N2O_14	Pool für ¹⁴ N-N ₂ O	[mg N ₂ O-N kg ⁻¹ Boden]
N2O_15	Pool für ¹⁵ N-N ₂ O	[mg N ₂ O-N kg ⁻¹ Boden]
N2_14	Pool für ¹⁴ N-N ₂	[mg N ₂ -N kg ⁻¹ Boden]
N2_15	Pool für ¹⁵ N-N ₂	[mg N ₂ -N kg ⁻¹ Boden]
XH_III	mikrobielle Aktivität III	
KN2O	K _m -Wert für N ₂ O-Reduktion	$[mg / kg H_2O]{5,5235}$
KIIIO2	Inhibierungskonstante N2O-Reduktase, O2	[%]{0,015857}
KIII NO3	Inhibierungskonstante N2O-Reduktase, NO3	$[mg / kg H_2O] \{15,549\}$

Tabelle 4.1 zeigt zusammengefasst die Parameter mit ihren zugehörigen Einheiten. Die 2 grau hinterlegten Parameter wurden für die einzelnen Versuche angepasst. Dies sind die Sauerstoffversorgung (O2p) und die Diffusionsrate k4. Da bei Leffelaar und Wessel über den ganzen Versuchszeitraum hinweg das System geschlossen war, ist k4 = 0 und da es mit Neon gespült wurde, ist O2p = 0.

Parameter	Einheiten	Leffelaar et al.	Sehy	Ludwig et al.
k1	h⁻¹	25,084	25,084	25,084
k2	h⁻¹	20,082	20,082	20,082
k3	h⁻¹	45,013	45,013	45,013
k4	h⁻¹	0,000	0,100	0,100
KIIINO3	mg/kg H ₂ 0	15,549	15,549	15,549
KIIIO2	%	0,0159	0,0159	0,0159
KIIO2	%	0,4810	0,4810	0,4810
KIO2	%	0,0051	0,0051	0,0051
kmax		0,034	0,034	0,034
KN2O	mg/kg H ₂ 0	5,524	5,524	5,524
KNO2	mg/kg H ₂ 0	684,961	684,961	684,961
KNO3	mg/kg H ₂ 0	923,396	923,396	923,396
miner	h ⁻¹	0,0014	0,0014	0,0014
nit	h ⁻¹	0,720	0,720	0,720
O2p	%	0,000	0,050	0,120
Tmax_DEN	°C	75,000	75,000	75,000
Tmin_DEN	°C	-15,000	-15,000	-15,000
Topt_DEN	°C	30,000	30,000	30,000
XHIIstart		0,07167	0,07167	0,07167
XHIIIstart		0,00178	0,00178	0,00178

Tabelle 4.1 Parameterübersicht

4.2 Graphische Darstellung des Modells

Zuerst wurde anhand des Datensatzes von Leffelaar und Wessel die Denitrifikation modelliert. Bei diesem Versuch herrschten eine konstante Temperatur von 22,7°C und vollkommene anaerobe Bedingungen. Die Temperaturabhängigkeit der mikrobiellen Aktivität und die Sauerstoffinhibierung der Enzyme wurden anhand des Datensatz von Sehy (2000) erweitert. Abbildung 4.2 zeigt die Modellläufe mit den beiden Datensätzen.



Abbildung 4.2 Modellierte Verläufe (Linien) und Messdaten (Punkte) der NO₃, NO₂, N₂O, N₂ Konzentrationen und der ¹⁵N at%-Gehalte mit den Datensätzen nach Leffelaar/Wessel und Sehy

5 Sensitivitätsanalyse

Um zu erfahren, wie die simulierte N₂O-Emission des Modells auf sich verändernde Eingangsparameter (Umweltbedingungen) reagieren, wurde das Modell einer Sensitivitätsanalyse unterzogen. Die Modellläufe wurden mit Literaturdaten verglichen. Zur Darstellung diente der Lauf des Modells mit dem Datensatz von Sehy (2000), da dieser Versuch dem zu untersuchenden Sachverhalt und den Bedingungen auf einem Agrarstandort am nächsten kommt.

5.1 Temperatur

Im Abschnitt 2.4.3 wurde bereits darauf eingegangen in wie weit die Temperatur auf die Prozesse der Denitrifikation im Boden einwirkt und die N₂O-Emission beeinflusst. Die Tatsache, dass eine erhöhte Aktivität der Mikroorganismen den Sauerstoffgehalt im Boden senkt, und temperaturabhängige Diffusions- und Dissoziationsvorgänge sind im Modell nicht berücksichtig.

In Abbildung 5.1 wird gezeigt wie sich der Verlauf des Nitratpools und des N₂O-Flusses bei unterschiedlichen Temperaturen verändert. Bei -20° C finden kaum mikrobielle Umsetzungsprozesse statt. Die leichte Erhöhung des Nitratpools ist darauf zurück zu führen, dass die Mineralisation und die Nitrifikation im Modell nicht mit der Temperatur gekoppelt sind (s.Abschnitt 4.1) und deswegen Nitrat nachgeliefert wird.

Versuche von Ernst (1998) zeigen die höchsten N₂O-Emissionen bei Temperaturen zwischen -5°C und 0°C sowohl aus gedüngten als auch aus ungedüngten Flächen. Koponen et al. (2004) konnten auf vier verschiedenen Bodenarten im Labor die gleichen Beobachtungen machen. Auch Öquist et al. (2004) präsentiert für Waldböden hohe N₂O-Emissionen während der Frost-Tau-Phase bei 0 bis -5°C.

Beim Modelllauf mit -5°C findet die höchste N₂O-Emission statt. Sie ist jedoch nur geringfügig höher als die N₂O-Emission im Basislauf (Abbildung 4.2). Die Erhöhung begründet sich dadurch, dass die niedrige Temperatur die mikrobielle Aktivität der N₂O-Reduktase stärker beeinflusst als die mikrobielle Aktivität der anderen Enzyme. Die nur geringe Veränderung zum +5°C-Lauf, zum Basislauf (+20°C) und zum +40°C-Lauf könnte damit erklärt werden, dass die Temperatur im Modell nur auf die mikrobielle Aktivität Einfluss hat und nicht auf andere Parameter.



Abbildung 5.1 Veränderung des NO₃-Pool und des N₂O-Fluss bei Temperaturen von -20°C, -5°C, +5°C, +40°C

Am Nitrat- und N₂O-Abbau ist zu erkennen, dass die mikrobielle Aktivität mit steigenden Temperaturen zunimmt. Da jedoch der Wassergehalt nicht verändert wurde und lang anhaltende hohe Wassergehalte bei hohen Temperaturen auf Agrarstandorten nicht üblich sind, kann kein Vergleich mit Messdaten durchgeführt werden. In Laborversuchen, die die Denitrifikation bei hohen Temperaturen und hohen Wassergehalten untersuchen, wird zwar eine hohe Denitrifikationsrate beobachtet, jedoch keine sehr hohen N₂O-Peaks, da der letzte Reduktionsschritt zum N₂ bevorzugt abläuft.

5.2 Kohlenstoffversorgung

Die Reaktionskonstanten k1, k2 und k3 symbolisieren die NO₃-Umsetzung bei aktueller Kohlenstoffversorgung. Es wurde davon ausgegangen, dass Kohlenstoff nicht limitierend ist. Wenn keine optimale Kohlenstoffversorgung vorhanden wäre, würden die Reaktionen langsamer ablaufen.

Abbildung 5.2 zeigt wie sehr die Denitrifikation von der Versorgung mit leicht verfügbarem organischen Kohlenstoff abhängt. Hohe DOC-Gehalte fördern die mikrobielle Aktivität. NO₃⁻ kann optimal abgebaut und N₂O gebildet werden.

Nicht dargestellt wird der Sachverhalt, dass durch hohe organische Substanz viel Nitrat durch vorher stattgefundene Nitrifikation zur Verfügung steht, was bei hohen Konzentrationen die N₂O-Reduktase hemmen kann (Colbourne, 1984) und somit zu einer Erhöhung des N₂O/N₂-Verhältnisses führt. Ebenso fördern hohe DOC-Gehalte die Bodenatmung, das wiederum kann zu einer O₂-Limitierung führen (Granli & Bockmann, 1994).

Durch Frost können Zellen zerstört und so C- und N-Verbindungen an die Umgebung abgegeben werden. Untersuchungen von Grogan (2004) zeigten, dass ein Frostprozess bei -5°C nicht zu einer Erhöhung des DOC-Gehaltes führt. Dieses Ergebnis stimmt mit Aussagen in Abschnitt 5.1 überein. Es zeigt aber auch, dass Frostereignisse hinsichtlich der Temperatur zu differenzieren sind.



Abbildung 5.2 NO₃-Pool und N₂O-Fluss bei langsamerer Umsetzung durch geringere DOC-Gehalte (k1 = 25,084 - Ausgangswert)

5.3 Sauerstoffgehalt

anaerobe Mikroorganismen Erst bei Sauerstoffmangel reduzieren fakultativ Stickstoffoxide. Zum einen, weil Sauerstoff der effektivere Energielieferant ist, zum anderen, weil Sauerstoff die Enzyme der Denitrifikation hemmt. Der Versuch von Khalil et al. (2004), die bei unterschiedlich hohen Sauerstoffpartialdrücken, die Stickstoff-Umsetzungsprozesse im Boden untersuchten, zeigen ein ganz ähnliches Verhalten des NO₃⁻ und N₂O-Verlaufes wie der Modellauf (Abb. 5.3). In diesem Versuch werden die Substrate bei niedriger (35 kPa O₂) bis keiner Sauerstoffanwesenheit sehr schnell abgebaut und die Produkte schnell gebildet. Es wird auch kein Nitrat durch Mineralisation und Nitrifikation nachgeliefert (Khalil, 2004). Je höher der Sauerstoffpartialdruck im Boden ansteigt, desto geringer wird die Nitratreduktion und damit auch die N₂O-Produktion. Morkved (2006) zeigt in seinem Versuch, dass bei steigenden Sauerstoffgehalten der Ammonium- und Nitratpool durch Mineralisation und Nitrifikation wächst.





Abbildung 5.3 NO₃-Pool und N₂O-Fluss bei unterschiedlichen Sauerstoffgehalten

Durch seine Wirkung als Diffusionssperre für Sauerstoff ist Wasser der Faktor, der den Sauerstoffgehalt im Boden am stärksten reguliert. In Süddeutschland, wo es hohe Niederschläge und Frostperioden gibt, ist die N₂O-Emission je kg gedüngtem Stickstoff signifikant höher als in Nordwestdeutschland, wo es warm und feucht ist. In trockenen und warmen Gebieten ist die N₂O-Emission je kg gedüngten Stickstoff noch geringer (Jungkunst, 2006).

5.4 Wassergehalt

Über den indirekten Einfluss über die O₂-Versorgung hinaus, ist Bodenwasser auch als Lösungsmittel ein wichtiger Faktor.

Die Konzentration der Substrate ändert sich mit dem Wassergehalt. Nicht nur bei Frost, bei dem das Wasser in Form von Eis gebunden ist, sondern auch bei starkem Regen nach langer Trockenheit werden erhöhte N₂O-Emissionen beobachtet (Weier, 1991). Wenn Wasser an der Oberfläche verdunstet und Wasser aus den unteren Bodenschichten aufsteigt und Substrate mit sich führt, erhöht sich die Konzentration von Substraten in der oberen Schicht an der Verdunstungszone. Ähnlich ist dies bei Frost an der Gefrierfront, wenn das darüber liegende Wasser gefriert (s Abschnitt 2.1).

Der Wassergehalt im Modell beträgt für den Lauf von Sehy (2004) 0,54 kg H_2O / kg Boden. Ein Anfangsnitratgehalt von 18 mg NO_3-N / kg Boden liegt demnach in einer

Konzentration von 33,33 mg NO₃-N / kg Wasser vor. Tabelle 5.1 zeigt die Änderung der Konzentration mit verändertem Wassergehalt. Abbildung 5.4 stellt die N₂O-Flüsse im Modell bei verschiedenen Wassergehalten dar.

Wassergehalt kg H ₂ O / kg Boden	Konzentration mg NO ₃ -N / kg H ₂ O
0,04	450
0,19	94,7
0,34	52,9
0,54	33,3
0,74	24,3

Tabelle 5.1 Konzentration von 18 mg NO₃-N / kg Boden bei unterschiedlichen Wassergehalten



Abbildung 5.4 N₂O-Fluss bei verändertem Wassergehalt (Ausgangswert 0,54 kg H₂O / kg Boden)

Die Sensitivitätsanalyse macht deutlich, dass der N₂O-Fluss bei höheren Konzentrationen zunimmt. Zwischen 94,7 mg NO₃-N / kg H₂O (B) und 450 mg NO₃-N / kg H₂O (A) steigt der N₂O-Fluss jedoch nicht mehr an. Man sieht, dass es bei den sehr hohen Konzentrationen zu einer Hemmung der N₂O-Reduktase kommt und das N₂O langsamer reduziert wird. Diese Beobachtung machten auch Lalisse-Grundmann et al. (1988) in ihren Versuchen. Bei unterschiedlich hohen Gehalten an DOC und unterschiedlich hohen Nitratkonzentrationen beobachteten sie, dass bei einer Konzentration um 95 mg NO₃-N / kg H₂O stets die höchsten N₂O-Flüsse erreicht wurden.

5.5 Nitratgehalte

Neben seiner Rolle als Substrat spielt das Nitrat eine Rolle als Inhibitor der N_2O -Reduktase. In der Literatur ist auch zu finden, dass Nitrit den letzten Schritt der Denitrifikation hemmt (Zumft, 1997). Da Nitrat meist schnell zu Nitrit reduziert wird und in vielen Untersuchungen kein Nitrit gemessen wird, wurde im Modell die Nitrathemmung implementiert.

Abbildung 5.5 zeigt die Modellläufe bei unterschiedlichen Nitrat-Anfangsgehalten.

Die NO_3^- -Reduktion ist energetisch vorteilhafter als die N₂O-Reduktion. NO_3^- wird bei einem Überangebot deshalb bevorzugt gegenüber N₂O reduziert (Stres, 2007). So kann es bei einem Überangebot von Nitrat zu einer erhöhten N₂O-Emission kommen. Ernst (1998) misst während der Vegetationsperiode (März-Oktober) eine doppelt bis dreifach erhöhte N₂O-Emissionsrate auf den gedüngten Varianten.

Jungkunst et al. (2006) haben gezeigt, dass es beim Vergleich von deutschlandweit 27 Versuchen von Agrarböden keinen korrelierenden Zusammenhang zwischen Stickstoffdüngung und N₂O-Emission auf der nationalen Skala gibt. Das zeigt, dass auch die anderen Faktoren, die die Denitrifikation beeinflussen eine große Rolle spielen. Wenn sonst alle Faktoren konstant sind, ist die Höhe des Nitratpools jedoch bis zu einem bestimmten Punkt entscheidend. Bei einem sehr großen Nitratvorrat verhindert ein limitierender DOC-Gehalt die Reduktion. Diese Situation kann man oft auf stark gedüngten Ackerflächen vorfinden (Munch, 2007). Eine organische Düngung allerdings, bei der neben Nitrat auch Kohlenstoff aufgebracht wird, führt zu signifikant höheren N₂O-Emissionen (Bouwman et al., 2002).



Abbildung 5.5 N₂O-Fluss bei erhöhten NO₃-Startwerten. (Ausgangswert 18mg NO3 / kg Boden)

6 Modellvalidierung

Zur Validierung des Modells stand als ein weiterer Datensatz mit ¹⁵N-Messungen und Frostereignis der von Ludwig et al. (2004) zur Verfügung.

Abbildung 6.1 zeigt die graphische Ausgabe des Modells mit dem Datensatz von Ludwig et al. (2004). Der Temperaturverlauf wurde hier zusätzlich abgebildet, da der Modelllauf die Frostphase durchläuft. Dies war im Modelllauf von Sehy (2004) nicht möglich, da dort erst in der Tauphase H₂O, NO₃ und DOC dazugegeben wurde und der Modelllauf deshalb erst während der Tauphase startete. Ein weiterer Unterschied ist, dass Ludwig et al. (2004) mit ungestörten Bodenkernen arbeiteten und kein DOC dazugaben. Weiterhin haben sie das ¹⁵NO₃⁻ und das H₂O vor dem Einfrieren und nicht während der Tauphase dazugegeben.

Der N₂O-Fluss konnte mit dem Modell nicht genau nachgebildet werden. Der Kurvenverlauf hat einen langsameren Anstieg und der modellierte N₂O-Peak bildet sich ca. 100h nach dem gemessenen Peak. Der Nitratgehalt ist zum Ende des Versuches hin gestiegen und die ¹⁵N-Makierung im Nitrat ist gesunken. Der ¹⁵N-Gehalt des N₂O sinkt ebenso. Am modellierten Verlauf des ¹⁵N-Gehalts im N₂O ist zu erkennen, dass die N₂O-Bildung nicht korrekt modelliert werden konnte.



Abbildung 6.1 Validierungslauf des Modells mit dem Datensatz von Ludwig et al. (2004)

7 Diskussion

Datenlage

Bis zum heutigen Zeitpunkt existieren nur wenige Versuche zu Frost-Tau-Zyklen, in denen auch mit ¹⁵N gearbeitet wurde. Das könnte damit zusammenhängen, dass erhöhte N₂O-Emissionen bei Frost-Tau-Zyklen nicht in allen Böden der gemäßigten Klimazone vorkommen. N₂O-Emissionen bei Frost-Tau-Zyklen treten besonders dort auf wo Frostperioden und hohe Niederschläge charakteristische Merkmale für das lokale Klima sind (Jungkunst et al., 2006). Einzelne Untersuchungen zeigen aber, dass bis zu 70% der Jahresemission während der Frost-Tau-Phase emittiert werden kann.

Für die Entwicklung des Modells wurden die Ergebnisse von Sehy (2004) und Ludwig et al. (2004) verwendet. Bei den Ergebnissen von Grogan (2004), Morkved et al. (2006) und Müller et al. (2002) fehlten essentielle Angaben für die Modellierung. So machte Morkved (2006) z.B. keine Angaben über Frostdauer oder –tiefe und arbeitete zusätzlich noch mit der Acethylen-Inhibierungsmethode, bei der die N₂O-Reduktase gehemmt wird. Des Weiteren unterschied sich der Boden mit seinem pH-Wert von 4,5 von den anderen Böden. Der pH-Wert hat Einfluss auf die mikrobielle Aktivität (s. Abschnitt 2.4.3). Da die pH-Wert-Abhängigkeit im Modell nicht berücksichtigt wurde und sich auch nur schlecht mit einem komplett neuen Datensatz implementieren lässt, war dies ein weiterer Punkt diesen Datensatz nicht zu berücksichtigen.

Grogan (2004) gab seine Werte in µg m⁻² h⁻¹ an, machte aber ungenaue Angaben über die Oberflächengröße seiner Versuchsgefäße: 21-24cm Durchmesser und 12-17cm Tiefe. So konnten die Werte nicht in µg g⁻¹ h⁻¹ umgerechnet werden. Der Versuch von Müller (2002) konnte ebenfalls nicht verwendet werden, da hier der Boden von einem Grassland stammte und die Düngung mit Ammoniumnitrat (¹⁵NH₄¹⁵NO₃) 10 Wochen vor Probenahme im Freiland stattfand. Über Temperaturverlauf und Niederschläge innerhalb dieser 10 Wochen wurden keine Angaben gemacht. So konnten nicht alle Eingangsparameter dieser oder dazugehörige Literatur entnommen werden. Grasslandböden unterscheiden sich zudem von Ackerböden. Um diese Unterschiede zu modellieren, hätte eine größere Anzahl an Datensätzen zur Verfügung stehen müssen.

Der Versuch von Leffelaar et al. (1988) diente schon vielen Denitrifikationsmodellen als Grundlage, z.B. Li (1992) und Grant et al. (1999), so dass er auch für dieses Modell genutzt wurde, obwohl weder mit Frost-Tau-Zyklen noch mit ¹⁵N-Makierungen gearbeitet wurde. So wurde eine ungestörte und vollständige Denitrifikation modelliert.

Anschließend wurde in dem Modell die Beeinflussungen durch Temperatur, Sauerstoffund Nitratgehalte implementiert (s Abschnitt 4.1).

Güte des Modells und Hypothesendiskussion

Die Entwicklung und die Validierung des Modells zeigen ganz deutlich, dass die Frost-Tau-induzierte N₂O-Emission ein sehr komplexer Vorgang ist, der nicht nur von den Parametern, die die Denitrifikation im Allgemeinen beeinflussen, gelenkt wird.

In dieser Arbeit ist es gelungen ein einfaches Modell zu erstellen, das sowohl eine vollständige Denitrifikation simulieren kann, aber auch auf die Einflüsse, die ein Frostereignis mit sich bringt, reagieren kann. Die Implementierung der verzögerten Aktivität der N₂O-Reduktase war in diesem Modell ein neuer Ansatz.

Auch wenn es nicht möglich war mit diesem Modell die exakte Höhe des N₂O-Peaks und den Zeitpunkt an dem er auftritt genau zu simulieren, kann das Modell einen N₂O-Peak nach Frost darstellen.

So kann durch die Modellläufe und die Sensitivitätsanalyse angenommen werden, das Hypothese 1 (s. Abschnitt 2.3), die die Aufkonzentrierung der Substrate im Restbodenwasser bei Frost für die erhöhten N₂O-Emissionen während Frost-Tau-Ereignissen verantwortlich macht, nicht der ausschlaggebende Faktor ist. Diese Hypothese wurde nur mit der Sensitivitätsanalyse geprüft, jedoch nicht in das Modell implemntiert.

Hypothese 2, besagt, dass es durch die erhöhte Freisetzung von Substraten aus abgestorbenen Zellen zu einem erhöhten N₂O-Peak kommt. Sie wird durch die Versuche von Sehy (2004) zwar bestätigt, geht aber nicht mit anderen Versuchen und Erkenntnissen konform. Henry (2007) und Grant et al. (1999) zeigten, dass auch bei länger andauernden Temperaturen von -10 bis -20°C Lufttemperatur die Temperaturen in 5cm Tiefe im Boden nicht unter 0°C gehen und die an der Bodenoberfläche nur schwach unter 0°C. Oft liegt dies an einer aufliegenden Schneedecke oder daran, dass die dunkle Bodenoberfläche die Sonnenstrahlen absorbiert. Sharma et al. (2006) zeigten ebenfalls wie Grogan (2004) auch, dass es nicht zu einer Verringerung der mikrobiellen Biomasse während des Frostes kommt. Sehy (2004) hat den Anstieg des DOC- und des DON-Gehalts im Labor für 40 Tage bei -20°C gemessen. Der Boden in den relativ kleinen Versuchsgefäßen fror komplett durch. Eventuell war so ein Absterben der Mikroorganismen und ein DOC/DON-Gehalt ermittelt worden, der so normalerweise im Freiland nicht auftritt. Aus diesem Grund ist im Modell kein Anstieg der

Umsetzungsrate bei Taubeginn implementiert worden. Der Einfluss durch zusätzliches DOC und DON erscheint auch deshalb so gering, da das Phänomen der hohen N₂O-Peaks während Frost-Tau-Ereignissen bisher nur auf Flächen beobachtet wurde, die gut mit Kohlenstoff und Stickstoff versorgt sind.

Hypothese 3 wurde in das Modell nicht implementiert. Sie geht davon aus, dass sich das N_2O unter der Eisschicht ansammelt und gleichzeitig kein Sauerstoff durch die Eisschicht in den Boden gelangen kann. Dieser Sachverhalt trifft sicherlich zum Teil zu und könnte mit Hypothese 4 zusammengefasst werden. Untersuchungen von Röver (1998), Kaiser (1998) und anderen zeigten, dass die N_2O -Emissionen aus einem gefrorenen Boden durchaus hoch sein können. Eventuell spielen hier die erhöhte Löslichkeit des N_2O bei niedrigeren Temperaturen (s. Abschnitt 2.3.2) und der Wassergehalt als Diffusionsbarriere eine Rolle.

Hypothese 4 sagt aus, dass es zu einem kapillaren Aufstieg von Unterbodenwasser bei Frost (s. Abschnitt 2.3.1) kommt und dadurch eine anaerobe Zone entsteht. Diese Gegebenheit und hohe Niederschläge erklären die sehr hohen Wassergehalte der Böden im Winter. Hinzu kommt, dass eine potentielle Schneedecke ebenfalls während der Frost-Tau-Ereignisse abtaut und dem Boden als Wasser zugeführt wird. Der Wassergehalt, der den Sauerstoffgehalt steuert, hat sehr großen Einfluss auf die Denitrifikation. Dies zeigt auch die Sensitivitätsanalyse des Modells sehr deutlich (s. Abschnitt 5.3). In vielen Experimenten wurde der Sauerstoffgehalt über den Wassergehalt eingestellt und alle zeigten ähnliche Ergebnisse. Noch vor dem Gehalt an leicht verfügbarem organischen Material und Nitrat, beeinflusst der Wassergehalt eins Bodens die Denitrifikation am stärksten (Aulakh et al., 1992).

Hypothese 5, dass die N₂O-Reduktase bei Einsetzen denitrifikatorischer Bedingungen nachweislich später von den Bakterien gebildet wird und/oder, dass die Denitrifikation während Frost-Tau-Phasen von den Pilzen dominiert wird, die keine N₂O-Reduktase besitzen (s. Abschnitt 2.4.1.2), ist in das Modell implementiert worden (s. Abschnitt 4) und führte zu guten Ergebnissen. Da in den Versuchen keinerlei Angaben zur Zusammensetzung und Quantität der mikrobiellen Biomasse gemacht wurden, konnte das Modell in dieser Hinsicht den Datensätzen nicht angepasst werden. Mit der Einführung dieser verzögerten N₂O-Reduktase-Aktivität mit Hilfe von geschätzten Werten war es dennoch überhaupt erst möglich die beobachteten N₂O-Peaks mit dem Modell nachzuvollziehen.

Modellentwicklung

Es war nicht einfach und auch nicht immer möglich alle Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchen im Modell zu berücksichtigen. Im nachfolgenden Absatz soll daher diskutiert werden, woran die Abweichungen zwischen Simulation und Messungen gelegen haben könnten.

Die Versuche waren in ihrem Aufbau grundverschieden. Die benötigten Informationen für die Eingangsparameter waren oft nur indirekt angegeben und mussten abgeleitet werden. So mussten Porenvolumen und Lagerungsdichte aus der angegebenen Korngrößenverteilung und Erfahrungswerten geschätzt werden. Diese Parameter waren aber wichtig für die Bestimmung des Wassergehalts und der Diffusionskonstanten.

Der Verlauf des Nitratpools im Modell mit dem Datensatz von Sehy (2004) konnte nicht genau nachgebildet werden. Der Nitrat-Gehalt bei Sehy (2004) erniedrigte sich zuerst (s. Anhang) und erhöhte sich dann ab dem achten Tag. Die ¹⁵N-Gehalt im Nitrat sanken minimal ab dem achten Tag. Der ¹⁵N-Gehalt im N₂O stieg bis kurz nach dem Peak-Maximum an und nahm dann ebenfalls ab den achten Tag langsam wieder ab. Sehy (2004) erklärt dies mit einer Nitratnachlieferung aus der Nitrifikation. Im Modell verdünnte sich der ¹⁵N-Gehalt wesentlich stärker, wenn Nitrat in diesem Umfang nachgeliefert werden würde. Wenn die Nitrifikation erst ab dem achten Tag eingesetzt hat, muss sie bis dahin gehemmt worden sein.

Eine Möglichkeit wäre, dass erst organisch-gebundener Stickstoff zu NH₄ mineralisiert werden musste, was bei Sauerstofflimitierung nur sehr langsam vor sich geht. Zu den NH₄-Gehalten liegen bei Sehy (2004) keine Daten vor.

Um den Verlauf der einzelnen Stickstoffpools besser abbilden und nachvollziehen zu können, müsste man die Mineralisation und die Nitrifikation detaillierter in das Modell implementieren. Ein einfaches Modell, wie dieses hier kann diese Aspekte nicht hinreichend berücksichtigen.

Versuche von Khalil (2004) und Morkved (2006) zeigten, dass bei Sauerstoffabwesenheit kaum bzw. keine Nitrifikation oder Mineralisation stattfinden. Auf Grund dieser und andere Hinweise aus der Literatur und um das Modell so einfach wie möglich zu halten, wurden Nitrifikation und Mineralisation nur über ein Reaktion erster Ordnung und mit sehr niedrigen Raten abgebildet.

Die Angaben der N₂O-Flussraten waren bei Ludwig et al. in $\mu g m^{-2} h^{-1}$ angeben und wurden, nachdem die Lagerungsdichte geschätzt worden war, anhand der Bodenart und des Versuchsgefäßvolumens in $\mu g g^{-1} h^{-1}$ umgerechnet. Hier kann es zu Abweichungen

gekommen sein. Ludwig et al. (2004) stellten den Wassergehalt auf 81% WFPS ein. Dadurch erhöhte sich der Sauerstoffanteil, was im Modell eine stärkere Hemmung der Enzyme bewirkt. Die Messdaten (s. Anhang) deuten darauf hin, dass hier Mineralisation und Nitrifikation stattgefunden haben.

Im Gegensatz zu Sehy (2004) ist die Versuchsdauer bei Ludwig et al. (2004) nur 13 Tage davon 7 Tage bei Frosttemperaturen. Die Frostphase bei Sehy (2004) dauerte 40 Tage. Die viel kürzere Frostphase bei Ludwig et al. (2004) könnte zu Folge gehabt haben, dass die Mikroorganismen beim Tauen schneller aktiv wurden und der N₂O-Peak hier ca. 100h zu spät simuliert wurde, da das Modell an die Aktivität der Organismen aus dem Versuch von Sehy (2004) angepasst wurde.

In Laborversuchen werden die Bodenproben oft bei sehr niedrigen Temperaturen und auch sehr schnell eingefroren, was nicht unbedingt den Bedingungen im Freiland entspricht. Dies kann zur Folge haben, dass der Frost-Tau-Effekt in solchen Versuchen überschätzt wird und Frost-Tau-Experimente schlecht mit einander verglichen werden können (Henry, 2007). Nicht nur wegen der vielen miteinander verbundenen Prozesse, sondern auch wegen der großen Unsicherheiten in den experimentell ermittelten Daten, ist die Simulation von N₂O-Emissionen so schwierig. Dies behindert die Entwicklung von Modellen (Jungkunst, 2006).

Leffelaar et al. (1988) und Sehy (2004) arbeiten zudem mit gesiebtem Boden und Ludwig et al. (2004) mit ungestörten Bodenkernen. Das Sieben hat Einfluss auf die physikalischen Eigenschaften eines Bodens, wie Lagerungsdichte oder Porenvolumen. Auch das Porensystem wird dadurch verändert. All diese Aspekte spielen eine Rolle bei der Gasdiffusion. Sowohl Gasflüsse in den Boden, aus dem Boden und innerhalb des Bodens werden beeinflusst. Das Sieben hat zudem einen negativen Einfluss auf die Mikroorganismen. Das wäre ein weiterer Grund warum der N₂O-Peak bei Ludwig et al. (2004) ca. 100h vor dem N₂O-Peak von Sehy (2004) gemessen wurde und die Startwerte für die mikrobielle Aktivität im Modell unterschätz wurden.

Allgemeine Probleme und Ausblick

Viele Versuche werden gemacht, ohne, dass an eine spätere Verwendung für eine Modellierung gedacht wird. Es gibt sehr viele Aspekte, die in Zukunft stärker berücksichtigt werden sollten. Die Prozesse, die bei Frost im Boden vor sich gehen, sind experimentell schwer zu erfassen, beeinflussen jedoch den Boden in jeder Hinsicht (s. Abschnitt 2.3). Hier gibt es noch viele Unklarheiten zu beseitigen. Versuche zu Frost-Tau-Zyklen im Labor beachten oft nicht die komplexen Vorgänge. Z.B, dass niedrige Lufttemperaturen nicht unbedingt tief den Boden durchdringen, oder, dass es bei Eisbildung zum kapillaren Aufstieg von Wasser aus dem Unterboden kommen kann.

Bouwman (2002) stellte bei einem Vergleich von 846 N₂O-Emissions Messungen fest, dass es Unterschiede in den gefunden Raten gibt, je nachdem wie lange der Versuch ging und wie oft Messungen stattgefunden haben. Wenn mehr als einmal am Tag gemessen wurde, wurden niedrigere N₂O-Raten gefunden, als wenn nur 2-3mal pro Woche gemessen wurde.

Jungkunst (2006) zeigte bei seinem Vergleich von 27 Studien zur N₂O-Emissionen, dass es das komplexe Zusammenspiel verschiedener Bodenparameter ist, das die N₂O-Emissionen begründet. In seinem Review, in dem er jeweils einen Parameter mit der N₂O-Emission korrelierte, beschreibt er, dass man nicht über einen einzelnen Parameter eine Aussage zur potentiellen N₂O-Emission machen kann. Lediglich die feuchten und frostintensiven Gebiete neigten alle zu erhöhten N₂O-Emissionen.

Ein weiterer Aspekt, der intensiver zu beachten ist, ist die Mikrobiologie des Bodens. Es gibt einige Untersuchungen zu Bakterienarten in Permafrostböden, z.B. (Rivkina et al., 2000), aber nur eine Untersuchung die während eines Frost-Tau-Prozesses die mikrobielle Zusammensetzung auf einem Boden des gemäßigten Klimas betrachtet, der hohe N₂O-Emissionen während Frost-Tau-Phasen aufweist. Sharma et al. (2006) zeigen für einen Boden aus Süddeutschland, dass es zwar zu keiner Verringerung der mikrobiellen Biomasse während des Frostes kommt, jedoch zu einer Veränderung in der Zusammensetzung der mikrobiellen Biomasse. Die Pilze erwiesen sich in diesem Versuch bei Frost als die stabilste Gruppe. Weiterhin wurde beobachtet, dass nur die Transkription der Proteine zur Bildung der Nitrat- und die Nitritreduktase einen Tag nach dem Tauen 5 bis 10mal höher war, als während des Frostes. Nach ein paar Tagen sank der Transkriptionslevel wieder ab. Wie sehr sich die Zusammensetzung der mikrobiellen Biomasse zwischen zwei Standorten unterscheiden kann, zeigte Cavigelli (2001). Nur 12 von 93 denitrifizierenden Bakterienarten auf dem einen Standort und 63
des anderen Standorts waren gleich. Die N₂O-Reduktase Sauerstoff-Sensitivität der dominierenden taxonomischen Gruppen des jeweiligen Standortes unterschieden sich signifikant.

Abou Seada et al. (1985) untersuchten drei verschiedene Bakterienarten auf N2O-Bildung bei unterschiedlichen Sauerstoffgehalten. Die Ergebnisse zeigen wie verschieden sensibel die Bakterienarten auf die unterschiedlichen Sauerstoffkonzentrationen reagieren. Sowohl quantitativ (N₂O+N₂-Produktion) als auch qualitativ (N₂O/N₂-Verhältnis) gab es große Unterschiede. Holtan-Hartwig (2002) untersuchte Böden aus Schweden, Finnland und Deutschland in dem gleichen Experiment. Die drei Böden reagierten hinsichtlich der N₂O-Emission sehr verschieden auf Frost-Tau-Zyklen. Die Bakterien in dem Schwedischen Boden zeigen eine Anpassung wesentlich stärkere und Unempfindlichkeit gegenüber solchen Temperaturwechseln.

All diese Aspekte beeinflussen die N₂O-Emission in starkem Maße, werden aber bei fast allen Frost-Tau-Experimenten nicht untersucht. Besonders dem Gebiet der fungalen Denitrifikation sollte in Zukunft mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden. Dies erfordert Experimente, die sich in verschieden Größenskalen und zwischen den Fachgebieten bewegen. Molekularbiologische, Mikrobiologische, Ökologische, Bodenphysikalische und- chemische Aspekte müssen mit der gleichen Gewichtung betrachtet werden. Dies stellt auf großflächigen Versuchen eine große Herausforderung dar, würde aber zum Verständnis der Prozesse erheblich beitragen,. nicht nur bei Frost-Tau-Experimenten.

Ein Modell, was so viele Aspekte berücksichtig, wäre sehr komplex und widerspricht der Idee der Vereinfachung. Allerdings in Anbetracht der immer höher werdenden Leistung von Rechnern, der Zunahme von Modellen, die zur Verfügung stehen und eine sich stets weiter entwickelnde Messtechnik, ist die Möglichkeit der Umsetzung nicht unmöglich.

8 Literatur

- Abou Seada, M.N.I, J.C.G. Ottow, "Effect of increasing oxygen concentration on total denitrification and nitrous oxide release from soil by different bacteria", Biology and Fertility of soils (1985) 1: 31-38
- Aulakh, M.S., J.W. Doran, A.R. Mosier, "Soil Denitrification-Significance, Measurement, and Effects of Management", in: Advances in Soil Science, Hg. Stewart, B.A., Volume 18, Springer-Verlag, 1992, S.1-57
- Bachmann (a), J. "Thermisches Verhalten der Böden". Kapitel 2.6.4 in: Handbuch der Bodenkunde. Hg. Blume H.P., P. Felix-Henningsen, W.R. Fischer, H.G. Frede, R. Horn, K. Stahr, 27.Ergänzungslieferung, Landsberg: *Ecomed*- Verlagsgesellschaft, Dezember 2006
- Bachmann (b), J. "Wärmefluß und Wärmehaushalt" Kapitel 2.7.5 in: Handbuch der Bodenkunde. Hg. Blume H.P., P. Felix-Henningsen, W.R. Fischer, H.G. Frede, R. Horn, K. Stahr, 27.Ergänzungslieferung, Landsberg: *Ecomed*- Verlagsgesellschaft, Dezember 2006
- Bakken, L., P.Dörsch, "Nitrous Oxide Emission and Global Changes: Modelling Approaches" Kapitel 25 in: Biology of the Nitrogen Cycle, Hg. Bothe, H., S.J. Ferguson, W.E. Newton, Elsevier. 2007, 381-395

Berchtold, B.,

http://www.mathematik.ch/anwendungenmath/diffgl/Differentialgleichungen.pdf (Zugriff am 8.01.2008)

Betlach, M.R., J.M. Tiedje, "Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification", Applied and Environmental Microbiology (Dec. 19981) 1074-1084

- **Blackmer, A.M, J.M. Bremner,** "Inhibitory effect of nitrate on reduction of N₂O to N₂ by soil microorganisms", Soil Biology & Biochemistry 10 (3) 1978, 187-191
- Bothe, H., S.J. Ferguson, W.E. Newton, "Biology of the Nitrogen Cycle". Elsevier. 2007. 1-82, 331-397
- Bouwman, A.F., L.J.M. Boumans, N.H. Batjes, "Emissions oft N₂O and NO from fertilized fields: summary of available measurement data", Global Biogeochemical Cycles 16-4 (2002) Artikel Nummer: 1058
- Cavigelli, M.A., G.P. Robertson, "Role of denitrifier diversity in rates of nitrous oxide consumption in a terrestrial ecosystem", Soil Biology & Biochemistry 33 (2001) 297-310
- Colbourne, P., R.J. Dowdell, "Denitrification in field soils", Plant and Soil 76 (1984) 213-226
- den Camp, Huub J. M. Op [u.a.], "Global impact and application of the anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria", BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS 34 (2006) 174-178 Part 1,
- **Düngeverordnung**, Bundesgesetzblatt Jahrgang 2007 Teil I Nr.7, ausgegeben zu Bonn am 5.März 2007, www.bundesgesetzblatt.de (Zugriff am 8.01.2008)
- Edwards, A.C., M.S. Cresser, "Freezing and Its Effect on Chemical and Biological Properties of Soil", Advances in Soil Science, Hg. Stewart, B.A., 1992, Volume 18, Springer-Verlag, 59-79
- Einsle, O., Peter M.H. Kroneck., "Structural basis of denitrification", Biological Chemistry Vol. 385 (10) (2004). 875-883
- Engel, T., B. Klöcking, E. Priesack, 1993, "Simulationsmodelle zur Stickstoffdynamik", Band 25 Schriftenreihe Agrarinformatik Hg.: L. Reiner, H. Geidel, A. Mangstl, Stuttgart, Ulmer, S 3-37

- **Ernst, M. 1997,** "N₂O und CH₄ Fußraten einer Ackerbaufläche Quantifizierung, Parametrisierung und Frost/Tau-Zyklen im Winter", TU Braunschweig, Naturwissenschaftliche Fakultät, Dissertation
- Faust, H., H. Bornhak, K. Hirschberg, K. Jung, P. Junghans, P. Krumbiegel, 1981, ¹⁵N-Anwendungen in der Biochemie, Landwirtschaft und Medizin, Schriftenreihe Anwendung von Isotopen und Kernstrahlungen in der Wissenschaft und Technik 5, Isocommerz, 11-21
- Ferguson, S.J, D.J. Richardson, R.J.M. von Spanning, "Biochemistry and Molecular Biology of Nitrification" Kapitel 14 in: Biology of the Nitrogen Cycle, Hg. Bothe, H., S.J. Ferguson, W.E. Newton, Elsevier. 2007, 381-395
- Firestone, M.K., E.A. Davidson, "Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil". In *Exchance of Trace Gases between Terrestrial Ecosystems and the Atmosphere*. Hg.: M.O.Andreae and D.S.Schimel, Wiley, Chichester. (1989), S. 7-21
- Flessa, H., P.Dörsch, F.Beese, "Seasonal variation of N₂O and CH₄ fluxes in differently managed arable soils in southern Germany", Journal of Geophysical Research 100 NO.11 (1995) 23.115-23.124
- Friedel, J.K., E. Leitgeb, "Nährstoffgehalte und –nachlieferung", Kapitel 2.2.6.2 / 7 in: Handbuch der Bodenkunde. Hg. Blume H.P., P. Felix-Henningsen, W.R. Fischer, H.G. Frede, R. Horn, K. Stahr, 27.Ergänzungslieferung, Landsberg: *Ecomed*-Verlagsgesellschaft, Dezember 2006
- Gonzalves, J.L.M., J.C. Carlyle, "Modelling the influence of moisture and temperature on net nitrogen mineralization in a forest sandy soil", Soil Biology & Biochemistry 26 (1994) 1557-1564
- **Granli, T., O.C. Bockman**, 1994, "Nitrous oxide from agriculture", Norwegian Journal of Agricultural Sciences. Band 12. 1-125

- **Grant, R.F., E. Pattey**, "Mathematical modelling of nitrous oxide emissions from an agricultural field during spring thaw", Global Biogeochemical Cycles, Vol. 13 Nr.2 (1999) 679-694
- Grogan, P., A.Michelsen, P. Ambus, S. Jonasson, "Freeze-thaw regime effects on carbon and nitrogen dynamics in sub-arctic heath tundra mesocosms", Soil Biology & Biochemistry 36 (2004) 641-654
- Heinen, M., "Siplified denitrification models: Overview and properties", Geoderma 133 (2006) 444-463
- Henry, Hugh A.L., "Soil freeze-thaw cycle experiments: Trends, methodological weaknesses and suggested improvements". Soil Biology & Biochemistry 39 (2007) 977-986
- Holtan-Hartwig, L., P Dörsch, L.R. Bakken, "Low temperature of soil denitrifying communities: kinetics of N2O production and reduction", Soil Biology & Biochemistry 34 (2002) 1797-1806
- **IPPC 2007**, Climate Change, 2007, The scientific Basis, Cambridge University Press, Cambridge
- Jungkunst, H.F., [u.a], "Nitrous oxide emissions from agricultural land use in Germany- a synthesis of available annual field data", J. Plant Nutr. Soil Sci. 169 (2006) 341-351
- Khalil, K., B. Mary, P. Renault, "Nitrous oxide production by nitrification and denitrification in soil aggregates as affected by O₂ concentration", Soil Biology & Biochemistry 36 (2004) 687-699
- Koponen, H. T., L. Flöjt, P.J. Martikainen, "Nitrous oxide emissions from agricultural soils at low temperatures: a laboratory microsom study", Soil Biology & Biochemistry 36 (2004) 757-766

- Lalisse-Grundmann, G., B. Brunel, A. Chalamet, "Denitrification in a cultivated soil: optimal glucose and nitrate concentrations", Soil Biology & Biochemistry 20 (1988) 839-844
- Laughlin R.J., R.J. Stevens, "Evidence for fungal dominance of denitrification and codenitrification in a grassland soil", SOIL SCIENCE SOCIETY OF AMERICA JOURNAL 66 (5) (2002) 1540-1548
- Leffelaar, P.A., W.W.Wessel, "Denitrification in a homogeneous, closed system: experiment and simulation", Soil Science 146 Nr.5 (1988) 335-349
- Li, C.S., S. Frolking, T.A. Frolking, "A model of nitrous oxide evolution from soil driven by rainfall events. 1. model structure and sensitivity", J. Geophysical Research-Atmospheres 97-D9 (1992) 9759-9776
- Li, C., J.Aber, F.Stange, K.Butterbach-Bahl, H.Papen, "A process-oriented model of N2O and NO emission from forest soils: 1. model development", Journal of Geophysical research 105 Nr.4 (2000) 4369-4384
- **Ludwig B., I. Wolf, R.Teepe**, "Variability of CO₂ and N₂O emissions during freezethaw cycles: results of model experiments on undisturbed forest-soil cores". Journal of Plant Nutrition and Soil Science 167 (2004.), 678-684
- Madigan, M., J. M. Martinko, J. Parker, T. D. Brock. Brock-Mikrobiologie, Spektrum Akademischer Verlag. 10 Auflage (November 2000). S. 675-677
- Marion, G.M., 1995. "Freeze-thaw processes and soil chemistry". CRREL Techn. Publ. 95-12., Cold Regions Research and Engineering Laboratory, Hanover, NH, USA (http://www.crrel.usace.army.mil) (Zugriff am 2.07.2007)
- Mary, B., S. Recous, D.Robin, "A model for calculating nitrogen fluxes in soil using ¹⁵N tracing", Soil Biology & Biochemistry 30 /14 (1998), 1963-1979

- Morkved, P. T., P. Dörsch, T. M. Henriksen, L. R. Bakken, "N₂O emissions and product ratios of nitrification and denitrification as affected by freezing and thawing", Soil Biology & Biochemistry 38 (2006), 3411-3420
- Mortimer, C.E., 1976, Chemie das Basiswissen der Chemie in Schwerpunkten, 2. Auflage, Stuttgart: Thieme, S. 436
- Müller, Christoph, 2000, Modelling Soil-Biosphere Interactions, CABI Publishing, London
- Müller, C., C. Kammann, J.C.G. Ottow, H.-J. Jäger, "Nitrous oxide emission from frozen grassland soil and during thawing periods", J. Plant Nutr. Soil Sci. 166 (2003) 46-53
- Munch, J.C., G.L. Velthof, 2007 "Denitrification and Agriculture" Kapitel 21 in: Biology of the Nitrogen Cycle, Hg. Bothe, H., S.J. Ferguson, W.E. Newton, Elsevier. 381-395
- **Onigkeit, J.**, 2006, "Ein Modell für Stickstoff- und Kohlenstoffumsätze im Boden von Agrarökosystemen unter besonderer Berücksichtigung der Variabilität der mikrobiellen Aktivität", TU Braunschweig, Fakultät für Physik und Geowissenschaften, Dissertation
- Öquist, M.G., M. Nilsson [u.a.], "Nitrous oxide production in a forest soil at low temperatures- processes and environmental controls", FEMS Microbiology ecology 49 (2004) 371-378
- **Öquist, M.G., K. Petrone, M. Nilsson, L. Klemedtsson**, "Nitrification controls N₂O production rates in a frozen boreal forest soil", Soil Biology & Biochemistry 39 (2007) 1809-1811

- **Rivkina, E.M., E.I. Friedmann, C.P.McKay, D.A. Gilichinsky**, "Metabolic activity of permafrost bacteria below the freezing point", Environmental Microbiology 66 (2000) 8: 3230-3233
- Robertson, G.P. und P.M.Groffman. 2007. "Nitrogen Transformations". E.A.Paul, ed.Soil, Microbiology, Biochemistry, and Ecology. Springer, New York. USA, S. 341-364
- Röver, M., O. Heinemeyer, E. A. Kaiser, "Microbial induced nitrous oxide emissions from arable soil during winter". Soil Biology & Biochemistry 30 (1998), 1859-1865.
- Ruser, R., [u.a.], "Effect of crop-specific field management and N fertilisation on N2O emission from a fine-loamy soil" Nutrient Cycling in Agroecosystems 59 (2001) 177-191
- Scheffer, F., P. Schachtschabel. 2002, Lehrbuch der Bodenkunde. 15. Auflage, Spektrum Verlag.. S. 204f
- Sehy, U., 2004, N₂O-Freisetzung aus Ackerböden. ökom verlag, München
- Sich, I. (1997). "¹⁵N-Traceruntersuchungen zur Nitrifikation/Denitrifikation, insbesondere zur Bildung von Stickstoffoxiden in Böden und wässrigen Medien", UFZ-Bericht Nr. 17. Dissertation.
- Sharma, S., [u.a.], "Influence of freeze-thaw stress on the structure and function of microbial communities and denitrifying populations in soil", Applied and Environmental Microbiology 72-3 (2006) 2148-2154
- Spanning, R. J.M. van, D.J. Richardson, S.J. Ferguson, 2007, "Introducing to the Biochemistry and Molecular Biology of Denitrification" Kapitel 1 in: Biology of the Nitrogen Cycle, Hrsg. Bothe, H., S.J. Ferguson, W.E. Newton, Elsevier, 3-20

- Stange CF (2001). "Entwicklung und Anwendung eines prozessorientierten Modells zur Beschreibung der N₂O und NO-Emissionen aus Böden temperater Wälder". Schriftenreihe Fraunhofer Institut Atmosphärische Umweltforschung Band 69. Dissertation.
- Stres, B., [u.a.], 2007, "Organisms of the Nitrogen cycle under extreme conditions: low temperature, salinity, pH value and water stress" Kapitel 24 in: Biology of the Nitrogen Cycle, Hrsg. Bothe, H., S.J. Ferguson, W.E. Newton, Elsevier, 369-377
- Suharti und S. de Vries. "Membran-bound denitrification in the Gram-positive bacterium Bacillus azotoformans". Biochemical Society Transactions Volume 33, part 1, 2005
- Teepe, R., R. Brumme, F. Beese, "Nitrous oxide emissions from frozen soils under agricultural, fallow and forest land" Soil Biology & Biochemistry 32 (2000), 1807-1810
- **Teepe, R. B. Ludwig**, "Variability of CO₂ and N₂O emissions during freeze-thaw cycles: results of model experiments on undisturbed forest-soil cores". Journal of Plant Nutrition and Soil Science 167 (2004.), 153-159
- **Timmann, S.,** 1998, Repetetorium der gewöhnlichen Differentialgleichungen, Binomi, Hannover, 122-123
- Weier, K.L., I.C. Macrae, R.J.K. Myers, "Seasonal variation in denitrification in a clay soil under cultivated crop and permanent pasture", Soil Biology & Biochemistry 23-7 (1991) 629-635
- Wild, D., R. von Schulthess, W. Gujer, "Structured modelling of denitrification intermediates", Water Science and Technology 31-2 (1995) 45-54
- Zumft, W.G., "Cell biology and molecular basis of denitrification", Microbiology and Molecular Biology Review 61 (1997) 533-616

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1 Schema der Nitrifikation und Denitrifikation als wichtige Prozesse der
Abbildung 2.2 Durch Gefrieren induzierte Umverteilung des Wassers in einem Schluff-
Boden. Wassergehalt beinhaltet Eis. (aus Edwards, 1992) (A=Beginn des
Vorgangs, D=Ende der Umverteilung)16
Abbildung 2.3 Schematische Darstellung von Salzkonzentration und Matrixpotential in
einem gefrierenden Boden (nach Bachmann)
Abbildung 2.4 Grundprinzip der chemiosmotischen Kopplung
Abbildung 2.5 Mögliches Schema für den Elektronentransport bei der Denitrifikation
in Pseudomonas stutzeri (Madigan, 2001)
Abbildung 2.6 Struktur der Enzyme der Denitrifikation. (nach Einsle, 2004)24
Abbildung 2.7 Regelgrößen der Denitrifikation (verändert nach Robertson 1989) 28
Abbildung 3.1 Methode von Euler (Linearisierung) (nach B.Berchtold, 200834
Abbildung 3.2 Verfahren von Heun (Timmann, 1998)35
Abbildung 3.3 Runge-Kutta-Verfahren (Timmann, 1998)
Abbildung 3.4 Umsetzungsraten verschiedener Kinetiken in Abhängigkeit von der
Substratkonzentration (Müller, 2000)
Abbildung 4.1 Modelldarstellung
Abbildung 4.2 Modellierte Verläufe (Linien) und Messdaten (Punkte) der NO ₃ , NO ₂ ,
N ₂ O, N ₂ Konzentrationen und der ¹⁵ N at%-Gehalte mit den Datensätzen
nach Leffelaar/Wessel und Sehy55
Abbildung 5.1 Veränderung des NO ₃ -Pool und des N ₂ O-Fluss bei Temperaturen von -
20°C, -5°C, +5°C, +40°C
Abbildung 5.2 NO ₃ -Pool und N ₂ O-Fluss bei langsamerer Umsetzung durch geringere
DOC-Gehalte (k1 = 25,084 - Ausgangswert)59
Abbildung 5.3 NO ₃ -Pool und N ₂ O-Fluss bei unterschiedlichen
Sauerstoffgehalten61
Abbildung 5.4 N ₂ O-Fluss bei verändertem Wassergehalt (Ausgangswert 0,54 kg
H ₂ O/kgBoden)62

Abbildung 5.5 N_2O -Fluss bei erhöhten NO_3 -Startwerten (Ausgangswert 18mg $NO3$ /	
kg Boden)	64
Abbildung 6.1 Validierungslauf des Modells mit dem Datensatz von Ludwig et al.	
(2004)	.65

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1 Eigenschaften der Treibhausgase N2O, CO2 und CH4 (IPCC 2001)	. 10
Tabelle 2.2 Effekt von Umweltparametern auf die Denitrifikation und das N_2O/N_2 -	
Verhältnis der Denitrifikation (nach Munch, 2007)	. 11
Tabelle 2.3 Interaktion der Parameter der Denitrifikation	. 29
Tabelle 4.1 Parameterübersicht	54
Tabelle 5.1 Konzentration von 18 mg NO3-N / kg Boden bei unterschiedlichen	
Wassergehalten	.62

11 Anhang

Zeit (h)	Temperatur °C	NO ₃ ⁻ [mg N kg ⁻¹	NO ₂ -N [mg N kg ⁻¹	N ₂ O-N [mg N kg ⁻¹	N ₂ -N [mg N kg ⁻¹
	C	BodenTS	BodenTS	BodenTS	BodenTS
72	22,7	90	58	25	1
95	22,7			35	12
120	22,7	170	78	58	25
145	22,7	118	90	90	38
168	22,7	58		125	50
192	22,7	20	112	150	87
115	22,7	5		135	160
260	22,7	0			335

Datensatz Leffelaar et al. (1988)

Datensatz von Sehy (2004)

Zeit [h]	Temperatur °C	$\begin{array}{c} N_2 O \left[\mu g \ N \\ g^{-1} \ h^{-1} \right] \end{array}$	¹⁵ N-Gehalt im N ₂ O [at%]	NO ₃ ⁻ [mg N kg ⁻¹ BodenTS]	¹⁵ N-Gehalt im NO ₃ [at%]
-720	-12	0,00001			
-360	-12	0,00006			
-24	-12	0,00002			
0	-12		0,75		
7,2	10				
24	20	0,00005	1	18	1,3
31,2	20	0,001			
48	20	0,002	1,2	16	1,3
55,2	20	0,006			
72	20	0,026			
91,2	20	0,013			
96	20	0,017	1,18	13,5	1,3
120	20				
144	20	0,026			
168	20	0,018			
192	20	0,018	1,25	13	1,25
216	20	0,012			
240	20	0,012	1,26	15	1,2
264	20				
288	20				
312	20	0,012			
336	20	0,005	1,25	14,5	1,22
360	20	0,005			
384	20	0,002			
408	20	0,002	1,25	17	1,18
432	20				
456	20				
480	20		1,15	15	1,1

Datensatz Ludwig et al. (2004)

	Anfangswert (vor Frost)	Endwert
NO ₃ (mg/kg)	21,7 (37,8 at% 15 N-NO ₃ ⁻)	24,7 (29,6 at% 15 N-NO ₃)
$\mathrm{NH_4^+}(\mathrm{mg/kg})$	$0,5 (0,56 \text{ at}\%^{15} \text{N-NH}_4^+)$	$1,3 (0,54 \text{ at}\%^{15}\text{N-NH}_4^+)$

		N ₂ O-N	¹⁵ N-Gehalt im
t in h	Temperatur	$(\mu g g^{-1} h^{-1})$	N ₂ O [at%]
0	7	0	
24	0	0	
48	-8	0	
72	-7,5	0	
96	-7,5	0	
120	-7,5	0	
144	-7,5	0	
168	-7,5	0	
180	-2	0	
192	0	0,0114	31,5
204	8	0,0171	29,8
210	8	0,0189	
216	8	0,0185	26,5
228	8	0,0164	25,3
240	8	0,0118	24,4
252	8	0,0078	
264	8	0,0064	21,4
276	8	0,0050	
288	8	0,0042	
300	8	0,0028	
312	8	0,0017	

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe. Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner Prüfungsbehörde vorgelegt.

Halle/ Saale,

Unterschrift