

Mikrobielle Regulation der CH₄-Emission aus Reisfeldern

Dissertation

zur Erlangung
des Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Biologie
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Martin Krüger
aus Hamburg

Marburg/Lahn 2000

Die Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden vom 01.02.1998 bis zum 31.07.2000 am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie in Marburg/Lahn unter der Leitung von Prof. Dr. Ralf Conrad durchgeführt.

Vom Fachbereich Biologie der Philipps-Universität Marburg als Dissertation angenommen am: 01.11.2000

Erstgutachter: Prof. Dr. R. Conrad
Zweitgutachter: Prof. Dr. R. Thauer

Ein Großteil der während der Dissertation erzielten Ergebnisse ist bzw. wird in folgenden Publikationen veröffentlicht:

Krüger M., Frenzel P. und Conrad R. (2000): Microbial processes influencing methane emission from rice fields. *Global Change Biology*, in press

Dan J., Krüger M., Conrad R. und Frenzel P. (2000): Effect of a late season urea fertilisation on methane emission from an italian rice field. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, in press

INHALTSVERZEICHNIS.....	1
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	6
1. ZUSAMMENFASSUNG	8
2. EINLEITUNG	10
2.1. EINFÜHRUNG	10
2.2. ZIELSETZUNG.....	16
3. MATERIAL & METHODEN.....	17
3.1. MATERIALIEN	17
3.1.1. <i>Boden und Pflanzen</i>	17
3.1.2. <i>Gase und Chemikalien</i>	17
3.2. ANALYTISCHE METHODEN.....	18
3.2.1. <i>Analyse von Gasen</i>	18
3.2.2. <i>Analyse von organischen Verbindungen</i>	19
3.2.3. <i>Bestimmung von anorganischen Verbindungen</i>	20
3.2.4. <i>Bestimmung von Eisen(II) und Eisen(III)</i>	20
3.2.5. <i>Messung radioaktiver Verbindungen</i>	22
3.2.5.1. <i>Szintillationszählungen & Kalibrierungen</i>	22
3.2.5.2. <i>Bilanzierung von Experimenten mit ¹⁴C-Substraten</i>	22
3.2.5.3. <i>Gaschromatographische Analyse von ¹⁴C-Methan und ¹⁴C-Kohlendioxid</i>	22
3.2.6. <i>Analyse der Isotopensignatur ($\delta^{13}C$) von CH₄, CO₂ und Acetat</i>	23
3.2.7. <i>Untersuchung der NH₃-Konzentration in Bodenporenwasserproben</i>	24
3.3. BESTIMMUNG VON BODENPARAMETERN	24
3.3.1. <i>Messung des pH-Wertes und des Redoxpotentials</i>	24
3.3.2. <i>Trockengewichtsbestimmung</i>	24
3.4. MESSUNG VON PROZESSEN	25
3.4.1. <i>CH₄-Produktions- und Oxidationsraten</i>	25
3.4.1.1. <i>Bestimmung von Produktions- und Oxidationsraten von Methan im Boden</i>	25
3.4.1.2. <i>Produktions- und Oxidationsraten von Methan an Reiswurzeln</i>	26
3.4.2. <i>Versuche mit radioaktiv markierten Substraten</i>	26
3.4.2.1. <i>¹⁴C-Bicarbonat als Substrat der H₂/CO₂-abhängigen Methanogenese</i>	26
3.4.2.2. <i>Umsatz von [2-¹⁴C]-Acetat in Bodenproben (RI-Wert Bestimmung)</i>	27
3.4.2.3. <i>Produktion von Wasserstoff und Kohlendioxid</i>	27
3.4.3. <i>Versuche zur selektiven Hemmung einzelner mikrobieller Prozesse</i>	27
3.4.3.1. <i>Hemmung der Methanproduktion durch BES</i>	27
3.4.3.2. <i>CH₃F als spezifischer Hemmstoff der acetoclastischen Methanproduktion</i>	27
3.4.3.3. <i>Hemmung der Methanoxidation durch CH₂F₂</i>	28
3.5. FREILANDEXPERIMENTE	28
3.5.1. <i>Beschreibung des Versuchsfeldes</i>	29
3.5.2. <i>Meßkammern und ihre Anordnung</i>	31

3.5.3.	<i>CH₄-Emission und in-situ CH₄-Oxidation</i>	31
3.5.4.	<i>Weitere Probenahmen</i>	32
3.5.4.1.	Entnahme von Bodenproben aus dem Reisfeld	32
3.5.4.2.	Entnahme von frischen Reiszurzeln	33
3.5.4.3.	Sammlung von Bodenporenwasserproben	33
3.5.4.4.	Entnahme von Gasproben aus dem Aerenchymgewebe der Reispflanzen	35
3.5.4.5.	Sammlung von Gasblasen aus dem Reisfeldboden	36
3.5.5.	<i>Einfluss von verschiedenen Düngerapplikationen auf die CH₄-Emission und damit verbundene Prozesse</i>	36
3.5.5.1.	Änderung von CH ₄ -Produktion und –Oxidation nach Harnstoffdüngung	37
3.5.5.2.	Einfluss des „Top dressing“ auf CH ₄ -Produktion und –Oxidation und das Bodenporenwasser	37
3.5.5.3.	Einfluss von Harnstoffdüngung auf die Emission, Produktion und Oxidation von CH ₄	37
3.5.6.	<i>Biomassebestimmung</i>	37
3.5.7.	<i>Pflanzen- und Bodenmaterial zur Bestimmung der Isotopensignatur</i>	37
3.5.8.	<i>Aufnahme von horizontalen Durchwurzelungsprofilen im Reisfeldboden</i>	38
3.5.9.	<i>Temperaturmessung und Klimadaten</i>	38
3.6.	BERECHNUNGEN	39
3.7.	GEWÄCHSHAUSEXPERIMENTE („ ¹³ C-VERSUCH“).....	41
3.7.1.	<i>Experimenteller Ansatz und Versuchsaufbau</i>	41
3.7.1.1.	Versuchsaufbau	41
3.7.2.	<i>CH₄-Emission und in-situ CH₄-Oxidation</i>	42
3.7.3.	<i>Probenahmen aus den verschiedenen Kompartimenten</i>	43
3.7.3.1.	Entnahme von Bodenproben aus den Mikrokosmen	43
3.7.3.2.	Wurzelmaterial der Reispflanzen	43
3.7.3.3.	Bodenporenwasserproben aus den Mikrokosmen	43
3.7.4.	<i>Messung von mikrobiellen Prozessen und wichtigen Umweltparametern</i>	44
3.7.4.1.	Methanproduktion und –Oxidation	44
3.7.4.2.	Verwendung radioaktiv markierter Substrate der Methanogenese	44
3.7.4.3.	Methylfluorid als Inhibitor der acetoclastischen Methanogenese.....	44
3.7.4.4.	CO ₂ - und H ₂ -Produktion	44
3.7.4.5.	N ₂ O-Emission nach Düngung der Mikrokosmen	44
3.7.4.6.	Entnahme von Gasproben aus dem Reispflanzenaerenchym	45
3.7.4.7.	Bestimmung von Eisen in Bodenproben	45
3.7.4.8.	Biomassebestimmung.....	45
3.7.4.9.	Pflanzen- und Bodenmaterial zur Bestimmung der Isotopensignatur.....	45
4.	ERGEBNISSE	46
4.1.	VORVERSUCHE MIT DIFLUORMETHAN ALS SELEKTIVEM HEMMSTOFF DER CH ₄ -OXIDATION	46
4.1.1.	<i>Ermittlung der optimalen Hemmstoffkonzentration</i>	46
4.1.2.	<i>Reversibilität der Hemmung der Methanoxidation durch Difluormethan</i>	47
4.1.3.	<i>Wirkung von Difluormethan in Reismikrokosmen</i>	49
4.2.	FREILANDEXPERIMENTE	50
4.2.1.	<i>Methanemissionsraten und in-situ Methanoxidation</i>	50
4.2.1.1.	Saisonale Änderungen der Methanemission.....	50

4.2.1.2.	Diurnale Änderung der Methanemissionsraten und der Einfluss der Bodentemperatur	52
4.2.1.3.	Saisonale Änderung der Isotopensignatur des emittierten Methans	54
4.2.1.4.	Einfluss der Methanoxidation auf die Methanemission im Reisfeld	55
4.2.2.	<i>Mikrobielle Prozesse im Reisfeldboden</i>	56
4.2.2.1.	Methanogene Prozesse im Reisfeld	56
4.2.2.1.1.	Methanproduktionsraten in Bodensuspensionen	56
4.2.2.1.2.	H ₂ /CO ₂ als Substrat der Methanogenese	57
4.2.2.1.3.	Umsatz von [2- ¹⁴ C]-Acetat in Bodensuspensionen – Bestimmung von RI-Werten	59
4.2.2.1.4.	Isotopensignaturen (δ ¹³ C) von in Bodensuspensionen produziertem Methan und Kohlendioxid ...	60
4.2.2.1.5.	Methanproduktionsraten an Reisswurzeln	62
4.2.2.1.6.	Isotopensignaturen (δ ¹³ C) des an Reisswurzeln produzierten Methans und	63
4.2.2.1.6.	Kohlendioxids	63
4.2.2.2.	Saisonale Änderung der CH ₄ -Oxidation im Boden und an Reisswurzeln	64
4.2.2.2.1.	Änderung der Methanoxidationsraten in Suspensionen aus Reisfeldboden	64
4.2.2.2.2.	„Lag-phasen“ der Methanoxidation in Bodensuspensionen	66
4.2.2.2.3.	Saisonale Änderung der CH ₄ -Oxidation an frischen Reisswurzeln	67
4.2.2.2.4.	„Lag-phasen“ der Methanoxidation an Reisswurzeln	68
4.2.2.3.	Produktion von Kohlendioxid in Bodensuspensionen	68
4.2.2.4.	Produktion von Wasserstoff in Bodensuspensionen	69
4.2.3.	<i>Untersuchung wichtiger Umweltfaktoren</i>	71
4.2.3.1.	Ergebnisse der Porenwasseruntersuchungen	71
4.2.3.1.1.	Änderung der Methankonzentration im Bodenporenwasser	71
4.2.3.1.2.	Änderung der Isotopensignaturen (δ ¹³ C) von im Porenwasser gelöstem CH ₄ und CO ₂	73
4.2.3.1.3.	Vorkommen von Acetat und anderen Fettsäuren	74
4.2.3.1.4.	Isotopensignatur (δ ¹³ C) des im Porenwasser gelösten Acetats	75
4.2.3.1.5.	Verfügbarkeit von Ionen (Sulfat, Nitrat) im Porenwasser	76
4.2.3.1.6.	Änderung der Ammoniumkonzentration im Porenwasser	78
4.2.3.1.7.	Saisonale Änderung des pH-Wertes im Porenwasser	79
4.2.3.2.	Analyse von Gasblasen aus dem Reisfeld	80
4.2.3.2.1.	Änderung des Methangehaltes in Gasblasen über die Saison	80
4.2.3.2.2.	Änderung der Isotopensignaturen (δ ¹³ C) von CH ₄ und CO ₂ in Gasblasen	81
4.2.3.3.	Untersuchung von Gasproben aus dem Reispflanzenaerenchym	82
4.2.3.3.1.	Änderung des CH ₄ -Mischungsverhältnisses und der Isotopensignaturen (δ ¹³ C) von CH ₄ und CO ₂ im Aerenchym über die Saison	82
4.2.3.4.	Charakterisierung der Reispflanzen im Versuchsfeld	83
4.2.3.4.1.	Entwicklung der Reispflanzen während der Feldkampagnen	84
4.2.3.4.2.	Wurzelverteilung im Reisfeldboden	85
4.2.3.4.3.	Bestimmung der Isotopensignatur (δ ¹³ C) des organischen Kohlenstoffes in Pflanzenmaterial	86
4.2.3.5.	Untersuchung von Bodenproben aus dem Versuchsfeld	86
4.2.3.5.1.	Änderung der Verfügbarkeit von Fe(II) und Fe(III)	87
4.2.3.5.2.	Bestimmung der Isotopensignatur (δ ¹³ C) des organischen Kohlenstoffes in Bodenproben	88
4.2.3.6.	Änderung des Redoxpotentials (Eh) im Reisfeldboden	89
4.2.3.7.	Verlauf von Boden- und Flutwassertemperaturen während der Messkampagnen	90
4.2.3.7.1.	Saisonaler Temperaturverlauf	90
4.2.3.7.2.	Diurnaler Temperaturverlauf	90

4.2.4.	<i>Einfluss verschiedener Düngerapplikationen auf mikrobielle Prozesse im Reisfeld</i>	93
4.2.4.1.	Änderung von CH ₄ -Produktion und -Oxidation nach starker Düngung.....	93
4.2.4.2.	Einfluss einer geringen Harnstoffdüngung auf CH ₄ -Produktion und -Oxidation und das Bodenporenwasser	95
4.2.4.2.1.	Änderung der CH ₄ -Produktions- und Oxidationsraten in Bodensuspensionen und an Wurzeln.....	95
4.2.4.2.2.	Änderung der CH ₄ -Konzentration und der Isotopensignaturen von CH ₄ und CO ₂ im Porenwasser.....	96
4.2.4.2.3.	Einfluss der Düngung auf die Acetatkonzentration im Porenwasser	98
4.2.4.2.4.	NH ₄ ⁺ -Konzentrationen im Porenwasser vor und nach dem „Top dressing“	99
4.2.4.2.5.	Analyse von Gasblasen vor und nach der Düngung.....	99
4.2.4.3.	Einfluss einer Harnstoffdüngung auf die Emission, Produktion und Oxidation von CH ₄ in Reisfeldern	101
4.3.	GEWÄCHSHAUSEXPERIMENTE.....	102
4.3.1.	<i>Untersuchung der CH₄-Emission in Reismikrokosmen</i>	102
4.3.1.1.	Saisonale Änderung der CH ₄ -Emission sowie der in-situ CH ₄ -Oxidation	102
4.3.1.2.	Änderung der Isotopensignatur (δ ¹³ C) des emittierten Methans.....	104
4.3.1.3.	Emission von N ₂ O aus den Mikrokosmen nach Stickstoffdüngung	105
4.3.2.	<i>Untersuchung wichtiger mikrobieller Prozesse</i>	106
4.3.2.1.	Methanogene Prozesse in den Reismikrokosmen.....	106
4.3.2.1.1.	Änderung der Produktionsraten von CH ₄ in Bodensuspensionen	106
4.3.2.1.2.	Isotopensignatur (δ ¹³ C) des in Bodensuspensionen produzierten Methans.....	107
4.3.2.1.3.	Umsatz von ¹⁴ C-Bicarbonat durch hydrogenotrophe Methanogene.....	108
4.3.2.1.4.	Methylfluorid als Hemmstoff der acetoclastischen Methanogenese.....	109
4.3.2.1.5.	CH ₄ -Produktion an Reiswurzeln.....	110
4.3.2.2.	Umsatz von [2- ¹⁴ C]-Acetat in Bodensuspensionen – Bestimmung des RI-Wertes	110
4.3.2.3.	Produktionsraten und Isotopensignaturen (δ ¹³ C) von CO ₂ in Bodenproben.....	111
4.3.2.4.	Produktion von Wasserstoff	113
4.3.2.5.	Änderung der Methanoxidationsraten in Bodensuspensionen.....	113
4.3.3.	<i>Bestimmung wichtiger Umweltparameter</i>	115
4.3.3.1.	Analyse von Porenwasserproben aus den Mikrokosmen.....	115
4.3.3.1.1.	Änderung der Konzentration sowie der Isotopensignatur (δ ¹³ C) von im Porenwasser gelösten Methan.....	115
4.3.3.1.2.	Änderung der Konzentration sowie der Isotopensignatur (δ ¹³ C) von im Porenwasser gelösten Kohlendioxid	117
4.3.3.1.3.	Untersuchung des pH-Wertes von Porenwasserproben	119
4.3.3.1.4.	Änderung der Konzentration sowie der Isotopensignatur (δ ¹³ C) von im Porenwasser gelösten Acetat	119
4.3.3.2.	Charakterisierung der Reispflanzen.....	120
4.3.3.3.	Isotopensignatur (δ ¹³ C) des Kohlenstoffs in Boden- und Pflanzenproben	121
4.3.3.4.	Änderung der Verfügbarkeit von Fe(III) und Fe(II) in Bodenproben.....	121
4.3.3.5.	Untersuchung von Gasproben aus dem Reispflanzenaerenchym	122
5.	DISKUSSION	123
5.1.	METHANPRODUKTION.....	123
5.1.1.	<i>Einfluss verschiedener Umweltparameter auf die CH₄-Produktion</i>	123
5.1.2.	<i>Unterschiede in den CH₄-Produktionswegen</i>	128
5.1.2.1.	Berechnung des Anteils aus Acetat gebildeten CH ₄ (F _{ac}) in Bodeninkubationen mit Feldproben.....	131

5.1.2.2.	Berechnung des Anteils aus Acetat gebildeten CH_4 (F_{ac}) in Bodeninkubationen mit Proben aus den Mikrokosmen	136
5.1.3.	<i>Einfluss der CH_4-Produktion an Reiswurzeln</i>	137
5.1.3.1.	Berechnung des Anteils aus Acetat gebildeten CH_4 (F_{ac}) für Wurzelinkubationen	139
5.2.	CH_4 -OXIDATION	140
5.2.1.	<i>Einfluss der CH_4-Oxidation auf die –Emission</i>	140
5.2.2.	<i>Berechnung des Anteils des oxidierten CH_4 (F_{ox}) über $\delta^{13}\text{C}$-Werte aus verschiedenen Umweltkompartimenten</i>	142
5.2.3.	<i>Effekt von Stickstoffdüngungen auf die CH_4-Oxidation und andere Prozesse in Feld und Mikrokosmos</i>	146
5.3.	CH_4 -EMISSION	147
5.3.1.	<i>Unterschiede in der CH_4-Emission zwischen den beiden Jahren</i>	147
5.3.2.	<i>Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des emittierten Methans</i>	149
5.3.3.	<i>Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$-Werte von CH_4 aus verschiedenen Kompartimenten</i>	151
5.4.	ABSCHLIESSENDE BETRACHTUNGEN UND AUSBLICK	154
5.4.1.	<i>Verknüpfung von Mikrobiologie und Biogeochemie</i>	154
5.4.2.	<i>Möglichkeiten zur Reduzierung der CH_4-Emissionen aus Reisfeldern</i>	155
6.	LITERATURVERZEICHNIS	157
7.	ANHANG 1	173

Abkürzungsverzeichnis

BES	Bromethansulfonsäure
CH ₂ F ₂	Difluormethan
CH ₃ F	Methylfluorid
CO ₂	Kohlendioxid
D	Deuterium
dpm	decays per minute, Zerfälle pro Minute
E	Einstein
Eh	Redoxpotential
FG	Feuchtgewicht
F _(H₂)	Fraktion von CH ₄ produziert aus H ₂ /CO ₂
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatograph
GC-IRMS	Massenspektrometer
ha	Hektar
HPLC	H igh p erformance l iquid c hromatography
IC	Ionenchromatograph
ISC	Istituto Sperimentale della Cerealicoltura, Vercelli
ITE	Institute for terrestrial ecology, Edinburgh
MOB	Methan oxidierende Bakterien
MOR	(potentielle) Methanoxidationsrate
MPI	Max-Planck-Institut
MPR	(potentielle) Methanproduktionsrate
n	Anzahl
n. b.	nicht bestimmt
n. d.	nicht detektierbar
ppm _v	p arts p er m illion and v olume
PTFE	P oly t etra f luoro e thylen
RAGA	Radioactive gas analyser
RI	Respiratorischer Index
SF	Standardfehler
SL	Synthetische Luft
T	Temperatur

Tab.	Tabelle
TDL	Tunable Diode Laser
Tg	Teragramm (10^{12} g)
TG	Trockengewicht
Upm	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolettes Licht

4. Zusammenfassung

Geflutete Reisfelder sind eine der wichtigsten Quellen für atmosphärisches CH₄. In den Jahren 1998 und 1999 wurden deshalb Feldexperimente in einem italienischen Reisfeld und ergänzende Gewächshaus- und Laborversuche durchgeführt, um die mikrobielle Regulation der CH₄-Emission in diesem komplexen Ökosystem zu untersuchen.

Infolge einer zusätzlichen Trockenlegung des Feldes in 1999 gingen die CH₄-Emissionen verglichen mit 1998 um mehr als die Hälfte zurück. Es konnte gezeigt werden, dass diese zu höheren SO₄²⁻- und Fe³⁺-Konzentrationen, einem höheren Redoxpotential und weniger Acetat im Boden führte. So wurden die acetoclastischen Methanogenen durch Fe-/Sulfat-reduzierende Bakterien unterdrückt, so dass ein grösserer Teil von [2-¹⁴C]-Acetat zu ¹⁴CO₂ statt zu ¹⁴CH₄ umgesetzt wurde. Die verbleibende CH₄-Produktion war verglichen mit 1998 gering und überwiegend auf die Aktivität hydrogenotropher Methanogener zurückzuführen. Experimente mit ¹⁴C-Bicarbonat und CH₃F zeigten, dass das theoretische Verhältnis von 7:3 für Acetat- bzw. H₂/CO₂-abhängige Methanogenese in der Saison 1999 nur gegen Ende, in 1998 hingegen während der gesamten Zeit eingehalten wurde. Diese Variationen wurden durch Berechnungen mit den in verschiedenen Kompartimenten des Reisfeldes gemessenen δ¹³CH₄-Werten bestätigt. Die CH₄-Produktion an Reiszurzeln zeigte keine saisonalen Unterschiede, die höchsten Raten wurden hier, wie auch für den Boden, am Ende der Wachstumsphase der Reispflanzen gemessen.

Der Einfluss der CH₄-Oxidation auf die Emission – bestimmt in-situ durch spezifische Hemmung mit CH₂F₂ – ging von 40 % zu Beginn auf ca. 10 % am Ende der Saison zurück. Das emittierte CH₄ war zunehmend mit ¹³C abgereichert und reflektierte so den Rückgang der CH₄-Oxidation. Das geringe Ausmass der CH₄-Oxidation wurde durch Bestimmung von Oxidationsraten in Feldproben sowie durch Untersuchungen der δ¹³CH₄-Werte in Porenwasser und Gasblasen bestätigt. Entsprechende Berechnungen mit den in verschiedenen Kompartimenten des Reisfeldes gemessenen δ¹³CH₄-Werten unterstützen ebenfalls diesen saisonalen Verlauf der CH₄-Oxidation. Durch Düngeversuche in Feld und Mikrokosmen konnte gezeigt werden, dass die CH₄-oxidierenden Bakterien unter in-situ Bedingungen stickstofflimitiert waren. Dies wurde auch durch die während des größten Teils der Saison geringen NH₄⁺-Konzentrationen im Porenwasser bestätigt.

Insgesamt kann die Regulation der CH₄-Emission nun folgendermassen dargestellt werden: Zu Beginn der Saison wird ein grosser Teil des produzierten CH₄ oxidiert, bevor es in die

Atmosphäre abgegeben werden kann. Im weiteren Verlauf geht die CH_4 -Oxidation aber zurück und die CH_4 -Produktion ist der die Emission kontrollierende Prozess. Die CH_4 -Produktion selbst wird durch die Verfügbarkeit von alternativen Elektronenakzeptoren und somit durch das Redoxpotential des Bodens kontrolliert. Dieses wiederum wird stark von der Feldbearbeitung, z.B. der Bewässerung oder der Düngung mit Stroh, beeinflusst.

2. Einleitung

2.2. Einführung

Methan als klimarelevantes Spurengas

Methan (CH_4) ist nach Kohlendioxid (CO_2) die am häufigsten in der Erdatmosphäre vorkommende Kohlenstoffverbindung. Über die letzten 300 Jahre stieg der CH_4 -Gehalt in der Atmosphäre von 0,5 bis 0,6 ppm_v in präindustriellen Zeiten auf heute 1,8 ppm_v. In den letzten 10 Jahren hat sich der jährliche Zuwachs des atmosphärischen CH_4 -Mischungsverhältnisses allerdings von durchschnittlich 1 % auf 0,5 % verringert und sogar eine Gleichgewichtseinstellung wird für möglich gehalten (Dlugokencky et al. 1998, Mosier 1998, Steele et al. 1992). Da aber die Zunahme der atmosphärischen CH_4 -Konzentration überwiegend durch anthropogene Quellen verursacht wird (siehe unten), ist ebenso ein weiterer, verstärkter Anstieg infolge der wachsenden Bedürfnisse der ständig zunehmenden Weltbevölkerung möglich (Milich 1999, Sass et al. 1992b, Law & Nisbet 1996).

Trotz der relativ geringen Konzentration in der Atmosphäre ist CH_4 mit einem Anteil von 15–20 % am Treibhauseffekt das zweitwichtigste klimaaktive Spurengas (Bouwman 1991). Das Treibhauspotential (GWP: greenhouse warming potential) beschreibt die Strahlungswirkung eines Gases, d.h. wie stark es die von der Erdoberfläche ausgehende Wärmestrahlung absorbiert und so zur Erwärmung der Atmosphäre beiträgt. So hat CH_4 ein GWP von 32, was an der im Vergleich zum CO_2 32-fach höheren spezifischen Absorption infraroter Strahlung liegt (Enquete-Kommission 1990). Mindestens ebenso wichtig wie dieser direkte Einfluss auf den Treibhauseffekt sind die indirekten Effekte des CH_4 . Dieses nimmt auch entscheidenden Einfluß auf chemische Reaktionen sowohl in der Tropo- als auch in der Stratosphäre. Die photochemischen Abbaureaktionen von CH_4 mit Hydroxylradikalen beeinflussen hier den Haushalt weiterer wichtiger Treibhausgase wie Ozon, Stickoxide und Wasserdampf (Crutzen 1994, Enquete-Kommission 1990).

Die jährliche Gesamtemission von CH_4 weltweit wird auf 270-970 Tg geschätzt (Conrad 1997, Enquete-Kommission 1990), wobei der wahrscheinlichste Wert um 500 Tg liegt (Tab. 2-1). Durch Isotopenmessungen wurde herausgefunden, daß 70-80 % des in der Atmosphäre enthaltenen CH_4 biogenen Ursprungs sind (Manning et al. 1990, Wahlen et al. 1989). Strikt an anoxische Standorte gebunden, findet die CH_4 -Bildung vor allem in den Verdauungstrakten

von Tieren (z.B. Wiederkäuern, Termiten) und in Feuchtgebieten (z.B. Sümpfe, Moore, Tundren) statt. Als anthropogene Quellen sind in diesem Zusammenhang vor allem der Reisanbau sowie die Viehhaltung (Wiederkäuer) zu nennen. Weitere wichtige anthropogene Quellen für atmosphärisches CH₄ sind die Nutzung fossiler Brennstoffe, Mülldeponien und die Biomasseverbrennung, wie z. B. das Abbrennen tropischer Regenwälder (Conrad 1997, Crutzen 1991, Schütz et al. 1990a, Enquete-Kommission 1990, Cicerone & Oremland 1988). In Tab. 2-1 sind die wichtigsten Quellen und Senken von CH₄ einander gegenübergestellt.

Tab. 2-1: Wichtige Quellen und Senken für atmosphärisches CH₄ in Tg pro Jahr (nach IPCC 1994)

	Geschätzt [Tg pro Jahr]	Wertebereich [Tg pro Jahr]
<u>Biogene Quellen</u>		
Feuchtgebiete (Moore, Sümpfe, Tundren)	115	(50-150)
Ozeane	15	(5-50)
Termiten und andere Insekten	20	(10-50)
Andere	15	(10-40)
<i>Gesamt:</i>	<i>165</i>	<i>(75-290)</i>
<u>Anthropogene Quellen</u>		
Reisfelder	60	(20-100)
Viehhaltung	85	(65-100)
Verbrennung von Biomasse	40	(20-80)
Mülldeponien	40	(20-70)
Abbau fossiler Rohstoffe	100	(70-120)
<i>Gesamt:</i>	<i>325</i>	<i>(195-490)</i>
Alle Quellen:	490	(270-780)
<u>Senken:</u>		
Chemische Reaktionen in der Atmosphäre	440	(400-600)
Mikrobieller Abbau in Böden	6	(2-12)
<i>Alle Senken:</i>	<i>446</i>	<i>(400-600)</i>
Atmosphärische Zunahme:	30-50	

Als wichtige Senke für in die Atmosphäre abgegebenes CH₄ spielt neben dem oben angesprochenen photochemischen Abbau auch der mikrobielle Abbau durch methanotrophe

Bakterien in Böden und Gewässern eine wichtige Rolle (Gilbert & Frenzel 1998, Conrad 1997 & 1996, King 1992).

Der zu Beginn angesprochene Anstieg des atmosphärischen CH₄-Gehalts wird vor allem durch die Zunahme der globalen CH₄-Emissionen aus Quellen wie Kohle- und Erdgasförderung, Viehhaltung, Nassreisanbau, Mülldeponien und Biomasseverbrennung, erklärt. Da diese alle anthropogenen Ursprungs sind, bieten sich hier Ansatzpunkte und Optionen für eine mögliche Reduzierung der CH₄-Emissionen und somit auch des Treibhauseffektes. So könnte z. B. die Quellenstärke des Nassreisanbaus durch anderes Saatgut oder Modifikationen des Wassermanagements verringert werden.

Reisanbau als wichtige Quelle für atmosphärisches Methan

Durch die Ausdehnung der mit Nassreisanbau bewirtschafteten Flächen und der Verwendung neuer Kulturmethode sind Reisfelder zu einer der wichtigsten anthropogenen Quellen für atmosphärisches CH₄ geworden (Minami & Neue 1994, Bachelet & Neue 1993). Der Grund hierfür ist, dass für rund die Hälfte der Weltbevölkerung Reis das wichtigste Grundnahrungsmittel ist und weltweit auf einer Fläche von über 145 Millionen Hektar angebaut wird (Minami & Neue 1994, IRRI 1991). Um den steigenden Bedarf der wachsenden Bevölkerung decken zu können, müsste der Ertrag in den Jahren bis 2020 um über 60 % gesteigert werden (Cassman et al. 1998). Diese Produktionssteigerung kann nur durch eine Intensivierung des Anbaus - aufgrund der höheren Erträge besonders des Nassreisanbaus - und somit einer Ausdehnung der überfluteten Flächen erreicht werden.

Bisher werden zwar nur ca. 50 % der gesamten Flächen im Nassreisanbau bewirtschaftet, diese liefern aber mehr als zwei Drittel der globalen Reisproduktion. Die gefluteten Reisfelder tragen bisher mit 20-100 Tg CH₄ pro Jahr bis zu 25 % zur globalen Methanemission bei (Tab. 2-1). Dieser Wert könnte sich allerdings infolge einer Intensivierung und Ausweitung des Nassreisanbaus drastisch erhöhen.

Aufgrund der in den unterschiedlichen Anbauregionen verwendeten verschiedenen Böden, Reissorten und landwirtschaftlichen Praktiken zeigen lokale Messungen von CH₄-Emissionen jedoch eine grosse Bandbreite von Werten. Dies macht globale Schätzungen der Quellenstärke von Reisfeldern sehr schwierig und somit relativ ungenau. Weitere, weniger ertragreiche Arten des Reisanbaus sind Tiefwasserreisanbau in Überflutungsgebieten und Regenwasser-abhängiger Trockenfeldanbau, welche aber aufgrund ihrer oft nur lokalen

Verbreitung und ihrer Bodenökologie eine relativ geringe Rolle als Quellen atmosphärischen CH₄ spielen.

Beim ertragreicheren Nassreisanbau kommt es aufgrund der Überflutung der Felder rasch zu einer Limitierung der Sauerstoffdiffusion in den Boden und somit zur Entstehung anoxischer Bedingungen. Nach dem Verbrauch des restlichen Sauerstoffs durch aerobe Mikroorganismen werden sogenannte alternative terminale Elektronenakzeptoren in einer spezifischen Reihenfolge durch bestimmte Bakteriengruppen reduziert (Nitrat>Mangan>Eisen(III)>Sulfat). Hierdurch kommt es zu einer Absenkung des Redoxpotentials im gefluteten Boden, bis schließlich nach dem überwiegenden Verbrauch dieser Verbindungen CH₄-Bildung stattfinden kann (Frenzel et al. 1999, Peters & Conrad 1996, Ponnampereuma 1972).

In einer Vielzahl von Interaktionen beeinflusst die Reispflanze maßgeblich die CH₄-Produktions-, Emissions- und Oxidationsprozesse im Boden. Reispflanzen haben zur Anpassung an den überfluteten Standort ein von den oberirdischen Sproßteilen bis tief in die Wurzeln reichendes Aerenchymssystem ausgebildet. Über dieses werden die Wurzeln und unteren Sproßabschnitte mit Sauerstoff versorgt und zudem durch die radialen Sauerstoffverluste des Wurzelsystems ein oxisches Milieu um diese herum, in der sogenannten Rhizosphäre, erzeugt (Allen 1997, Kludze et al. 1993, Armstrong 1971). Im Gegenzug werden Spurengase aus dem Boden ebenfalls über das Aerenchym in die Atmosphäre transportiert (Butterbach-Bahl 1997, Wang et al. 1997, Holzapfel-Pschorn et al. 1986). Schütz et al. (1989b) zeigten, dass in der späten Vegetationsperiode über 90 % der CH₄-Emission aus Reisfeldern durch das Aerenchym der Reispflanzen erfolgte.

Desweiteren wurde gezeigt, dass durch die Exsudation von organischen Verbindungen und die Zersetzung absterbender Pflanzenteile der den Bodenmikroorganismen zur Verfügung stehende Substratpool wesentlich beeinflusst wird (Watanabe 1999, Kimura 1997, Minoda et al. 1996). Auch wird in vielen Anbaugebieten das Reisstroh nach der Ernte zur Düngung wieder in die Felder eingebracht. Dieses stellt in so behandelten Böden eine sehr wichtige Quelle organischer Substrate für die Bodenmikroorganismen und somit auch die Methanogenen dar.

Ebenfalls wichtig für die CH₄-Emission und die involvierten mikrobiellen Prozesse sind weitere landwirtschaftliche Parameter, wie Düngepraxis, Bewässerung und Auswahl des Saatguts, sowie die allgemeine Beschaffenheit des Bodens und des vorherrschenden Klimas

(z.B. Gaunt et al. 1997, Conrad 1996 & 1989, Minami & Neue 1994, Sass et al. 1994, 1992 & 1991).

Das mikrobielle Ökosystem „Reisfeldboden“

Unter strikt anaeroben Bedingungen wird CH_4 biogen als das Endprodukt einer anaeroben Abbaukette organischen Materials durch methanogene Archea gebildet. Der Abbau organischer Substanz in anoxischen Systemen ist ein komplexer, mehrstufiger Prozess, an dem viele verschiedene Gruppen von Mikroorganismen beteiligt sind. Zuerst findet die Depolymerisation von komplexen Verbindungen, wie z.B. Cellulose, Chitin, Fetten, Hemicellulosen oder Stärke, durch extrazelluläre Enzyme statt, welche von verschiedenen fakultativ und obligat anaeroben Bakterien produziert werden. Die hieraus entstandenen Monomere (Monosaccharide, Aminosäuren, Fettsäuren, u. a.) werden von taxonomisch sehr heterogenen Bakterien über verschiedene Gärungen zu Wasserstoff, Acetat, Kohlendioxid, Propionat etc. umgesetzt.

Ein Teil dieser Gärungsprodukte wird anschliessend durch andere, acetogene Bakterien in Acetat umgewandelt. Dieser Abbau von z. B. Lactat oder Propionat zu Acetat und Wasserstoff ist energetisch nur bei sehr geringen Wasserstoffkonzentrationen möglich, weshalb diese Organismen eine syntrophe Assoziation mit wasserstoffverbrauchenden Organismen (methanogenen Archea, Desulfurikanten) eingehen. Hierbei wird Wasserstoff von einem Organismus direkt auf den anderen übertragen, ein Vorgang, welcher als „interspecies hydrogen transfer“ bezeichnet wird. Die aus den bisher beschriebenen mikrobiellen Abbauprozessen hervorgegangenen niedermolekularen Substanzen wie Acetat, Formiat, Methanol, CO_2 oder Wasserstoff werden abschliessend von den methanogenen Archea als Substrat umgesetzt.

Aufgrund ihrer Substratspezifität werden die Methanogenen in mehrere Hauptgruppen unterteilt: die Acetat-verwertenden, sog. „acetoclastischen“ Methanogenen und die hydrogenotrophen, H_2/CO_2 -abhängigen Organismen (Conrad 1997 & 1989, Jones et al. 1987, King 1984, Balch et al. 1979). Theoretische Überlegungen ergeben ein Verhältnis von ca. 70:30 % für Acetat- und H_2/CO_2 -abhängige Methanogenese (Conrad 1999). In Sedimenten ist auch eine dritte Gruppe mit „methylotrophen“ (Methanol, Dimethylsulfid oder Methylamine verwertenden) Methanogenen beobachtet worden, welche aber bisher im Reisfeldboden nicht nachgewiesen werden konnte.

Weitere grundlegende Voraussetzungen für die Methanbildung sind neben diesen Substraten ein relativ niedriges Redoxpotential sowie das Fehlen anderer Elektronenakzeptoren wie z.B. Nitrat, Eisen oder Sulfat. Diese werden in einer charakteristischen Sequenz von speziellen Mikroorganismengruppen reduziert (Tab. 2-2), wobei die Energieausbeute bei der Methanogenese am geringsten ist. Da die Methanogenen mit den anderen Bakteriengruppen um die gleichen Substrate (Acetat und H_2) konkurrieren, die Bildung von CH_4 aber thermodynamisch ungünstiger ist und weniger Energie liefert, findet Methanogenese überwiegend erst nach dem Verbrauch von Sulfat, Eisen und Nitrat statt (Frenzel et al. 1999, Peters & Conrad 1996, Conrad 1989, Ponnampuruma 1972).

Im Gegensatz zu den Methanogenen benötigen die CH_4 -verwertenden methanotrophen Bakterien Sauerstoff für ihren Stoffwechsel (Hanson & Hanson 1996). Neben den photochemischen Abbaureaktionen in der Atmosphäre sind diese ubiquitär verbreiteten Methanoxidierer die wichtigste Senke für atmosphärisches CH_4 . Außerdem haben sie durch ihr Vorkommen an oxisch-anoxischen Grenzschichten erheblichen Einfluß auf die Freisetzung von in Böden oder in Sedimenten produziertem CH_4 . In Reisfeldern geschieht dies durch die sowohl im oxischen Bereich um die Reiszurzel als auch in der ebenfalls oxischen Boden- und Flutwassergrenzschicht vorkommenden methanotrophen Bakterien.

Diese oxidieren einen großen Teil des in den anaeroben Bereichen produzierten CH_4 , bevor es in die Atmosphäre entweichen kann (Gilbert & Frenzel 1998 & 1995, Khalil et al 1998 a & b, Denier van der Gon & Neue 1996).

Tab. 2-2: Wichtige mikrobielle Stoffwechselprozesse in gefluteten Böden und hierfür charakteristische Redoxpotentiale (nach Patrick & Delaune 1977)

Redoxreaktion	Redoxpotential [mV]	Mikrobieller Metabolismus
$O_2 \rightarrow H_2O$	+ 350	O_2 -Respiration
$NO_3^- \rightarrow N_2$	+ 250	Denitrifikation
$Mn^{4+} \rightarrow Mn^{2+}$	+ 250	Reduktion von Mn^{4+}
$Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$	+ 125	Reduktion von Fe^{3+}
$SO_4^{2-} \rightarrow S^{2-}$	- 150	Desulfurikation
$CO_2 \rightarrow CH_4$	- 200	Methanogenese

Frühere Studien haben gezeigt, daß 10-90 % des produzierten CH₄ in der Rhizosphäre der Reispflanzen, in welche Sauerstoff durch das Pflanzenaerenchym abgegeben wird, oxidiert werden bevor sie in die Atmosphäre gelangen konnten (z. B. Denier van der Gon & Neue 1996; Gilbert & Frenzel 1995; Sass et al. 1992a; Schütz et al. 1989b; Holzapfel-Pschorn et al. 1986).

2.3. Zielsetzung

Methanemissionen aus gefluteten Reisfeldern werden durch die mikrobiellen Prozesse CH₄-Produktion und -Oxidation sowie durch überwiegend pflanzenassoziierte Transportprozesse kontrolliert. Diese Prozesse werden wiederum von Umweltfaktoren wie Klima, Bodentyp und Feldbearbeitung beeinflusst. In dieser Arbeit sollten vor allem die mikrobiellen Einflüsse auf die CH₄-Emissionen von Reisfeldern untersucht werden.

Ein wichtiger Aspekt war die gründliche Untersuchung der methanogenen Prozesse im Reisfeldboden, besonders der Beteiligung der verschiedenen CH₄-Produktionswege an der Gesamtproduktion. Zusätzlich wurden Untersuchungen zur CH₄-Emission und ihrer Isotopensignatur, sowie die Bestimmung des Einflusses der CH₄-Oxidation auf die Emission in Reisfeldern durchgeführt. Weitere Umweltanalysen und die Untersuchung der Auswirkungen von landwirtschaftlichen und klimatischen Parametern sollten die Charakterisierung des methanogenen wie auch des methanotrophen Lebensraumes vervollständigen.

Diese kombinierte Untersuchung sowohl des methanogenen als auch des methanotrophen Lebensraumes sollte helfen, das komplexe „Ökosystem Reisfeldboden“ zu verstehen, und somit die Interpretation von Variationen der CH₄-Emission und ihrer Isotopensignatur ermöglichen.

Um diese vielfältigen Fragestellungen zu bearbeiten, wurden in zwei aufeinander folgenden Jahren (1998 & 1999) Feldexperimente in gefluteten Reisfeldern am italienischen Reisforschungsinstitut (ISC) in Vercelli durchgeführt, welche durch entsprechende Gewächshaus- und Laborversuche ergänzt wurden.

3. Material & Methoden

3.1. Materialien

3.1.1. Boden und Pflanzen

Boden

Der in den Laborversuchen und zur Anzucht von Reispflanzen verwendete Boden stammte aus Vercelli, Norditalien, wo er im März 1998 von einem Feld des Istituto Sperimentale della Cerealicoltura (ISC) entnommen wurde. Anschliessend wurde der Boden bei Raumtemperatur getrocknet und bis zur weiteren Verwendung in Plastikwannen gelagert. Vor dem Einsatz im Experiment wurde der Boden mit einem Backenbrecher (Typ BB1, Fa. Retsch, Haan) zerkleinert und auf eine Partikelgröße < 2 mm gesiebt. Eine detaillierte Charakterisierung des Bodens und des Standortes wurde von Holzapfel-Pschorn et al. (1986) gegeben.

Reispflanzen

Es wurde Reis (*Oryza sativa* Typ *japonica*) der Varietät "KORAL" verwendet. Das mit einem Fungizid behandelte Saatgut wurde wie der Boden vom ISC Vercelli zur Verfügung gestellt.

3.1.2. Gase und Chemikalien

Gase

Methylfluorid (99% CH_3F) stammte von ABCR (Karlsruhe), Difluormethan (CH_2F_2 , 99%) von ICI Chemicals (England). Alle übrigen verwendeten Gase wurden von der Messer-Grießheim AG (Frankfurt) bezogen.

Chemikalien

Radioaktives $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ und $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ -Acetat waren von Amersham (Braunschweig). Alle weiteren verwendeten Chemikalien waren p.a. Qualität von Merck (Darmstadt) und Fluka (München).

3.2. Analytische Methoden

3.2.1. Analyse von Gasen

Methan, Kohlendioxid, Methylfluorid und Difluormethan

Methan, Kohlendioxid, sowie die gasförmigen Inhibitoren Methylfluorid (CH_3F) und Difluormethan (CH_2F_2) wurden zum einen mit Gaschromatographen vom Typ 9300 A der Firma SRI Instruments (Torrence, USA) bestimmt, von denen einer mit einem TCD-Detektor ausgestattet war:

Injektor: T [°C]	[80/120]
Säule: T [°C]	Hayesep D [80/120]
Detektor (T [°C]):	FID [80], oder FID [120] und TCD[120]
Trärgas:	N_2 oder He
Brenngase:	H_2 , SL (=synthetische Luft: 21 % O_2 in N_2)
Auswertung:	Programm Peak Simple (SRI Instruments)

Weiterhin wurde für die Analyse dieser Gasproben ein Gaschromatograph GC-8A der Firma Shimadzu verwendet:

Injektor: T [°C]	[120]
Säule: T [°C]	Hayesep D [80]
Detektor (T [°C]):	FID [120]
Trärgas:	N_2
Brenngase:	H_2 , SL
Auswertung:	Programm Peak Simple (SRI Instruments)

Wasserstoff

Die Bestimmung von Wasserstoff erfolgte über einen Gaschromatographen mit RGD (Trace-Analytical, Techmation Vertriebsgesellschaft für Umweltanalytik mbH, Düsseldorf).

Säule (T [°C]):	Edelstahlsäule, 1,4 m, Ø 0,5 Zoll, Trägermaterial: Molsieb 5A, 80-100 mesh, [60]
Detektor (T [°C]):	HgO-Detektor [280]
Trägergas:	SL
Brenngas:	H ₂
Nachweisgrenze:	1 ppmv
Auswertung:	Chromatopac Integrator C-R A6 (Shimadzu)

Messung von Distickstoffoxid (N₂O)

Zur Bestimmung von N₂O wurde ein Carlo Erba Gaschromatograph 8000 (Fisons Instruments, Mainz-Kastel, Deutschland) verwendet. Dieser war mit zusätzlichen Edelstahlvorsäulen (Länge 4 m, φ 1/8 Zoll, gefüllt mit NaOH auf festem Träger) ausgestattet, welche das die N₂O-Messung störende CO₂ absorbieren sollten.

Injektor: T [°C]	[60]
Säule: T [°C]	Edelstahlsäule, Länge 3 m, Ø 1/4 Zoll, HayeSep N (80/100 mesh) [50]
Detektor (T [°C]):	ECD [360]
Trägergas:	N ₂
Quenchgas:	N ₂ mit 5 % Methan
Auswertung:	Chromatopac Integrator C-R A6 (Shimadzu)

Das Detektionslimit betrug 20 ppbv N₂O in einem Probenvolumen von 1 ml. Die Eichung erfolgte mit kalibrierter Pressluft (305 ppbv N₂O) als 1-Punkt-Eichung.

3.2.2. Analyse von organischen Verbindungen

Für die Bestimmung von organischen Verbindungen wie Zuckern, Fettsäuren und Alkoholen wurden HPLC-Analysen durchgeführt. Zur HPLC-Anlage gehörten eine Pumpe (SP1000) und ein Säulenofen (S4110), beides von Sykam (Gilching). Die Probenaufgabe erfolgte mit einem Autosampler (Jasco 851-AS, Jasco, Japan). Die Analysenparameter sind in der Tabelle unten dargestellt.

Säule:	Edelstahlsäule, 30 cm, Ø 7,8 mm
Trägermaterial:	ORH-801 Ion-exclusion form, H ⁺ (Interaction, Vertrieb)

	Schambeck SFD GmbH, Bad Honnef)
Flußmittel:	1 mM Schwefelsäure
Flußrate:	0,8 ml/min
Ofentemperatur:	60°C
Detektoren:	RI-Detektor (Brechungsindex) Erc-7512 (Erma, Japan), Betriebstemperatur 40°C UV-Detektor Linear UVIS 200, Wellenlänge 205 nm
Auswertung:	Peak Simple (SRI-Instruments, Torrence USA)

3.2.3. Bestimmung von anorganischen Verbindungen

Zur Messung von Sulfat, Nitrat, Nitrit und anderen anorganischen Ionen wurde ein Ionenchromatograph der Firma Sykam (Gilching) verwendet. Diese Anlage bestand aus einer Pumpe S1000, einem Säulenofen S4110 mit einer Anionentrennsäule (LCA09, Sykam), einem Leitfähigkeitsdetektor S3110 zur Bestimmung aller Ionen, einem Supressorsystem S2210/S6330. Es wurde zusätzlich ein UV/VIS-Detektor (UVIS 204, Linear, USA) angeschlossen, welcher eine wesentlich genauere Bestimmung von Nitrit und Nitrat erlaubte. Die Probenaufgabe erfolgte durch einen automatischen Probenaufgeber Jasco 851-AS (Jasco, Japan).

Säule:	Edelstahlsäule, 6 cm lang, Ø 4,6 mm
Trägermaterial:	Styrol/Divinobenzol, 10 µm Korngrösse
Fliessmittel:	3 mM Natriumhydrogencarbonat 6 mM Natriumcarbonat
Flussrate:	2 ml/min
Ofentemperatur:	65°C
Detektor:	UV-Detektor Linear UVIS 200, Wellenlänge 218 nm
Auswertung:	Peak Simple (SRI-Instruments, Torrence USA)

3.2.4. Bestimmung von Eisen(II) und Eisen(III)

Die Analyse erfolgte nach der von Schnell et al. 1998 entwickelten Methode. Hierbei werden die Metallionen als Weinsäurekomplex auf einer Kationensäule getrennt und anschliessend in einer Derivatisierungsreaktion mittels PAR (4-(2-Pyridazo)resorcinol) nachgewiesen. Dieser

Metall-Farbstoffkomplex wurde online photometrisch detektiert. Der Ionenchromatograph (Sykam, Gilching) zur Metallbestimmung setzte sich aus den folgenden Geräten zusammen, wobei alle Teile, die mit der Probe in Berührung kamen, metallfrei sein mussten, um Kontaminationen zu vermeiden:

Pumpen:	PEEK-(Polyetheretherketon)-Pumpen S1100 und S1121
Degaser:	S7510
Säulenofen:	S4110
Säule:	Kationentrennsäule aus PEEK (IBJ K3 5 µm mit Polymer beschichtet, Sykam), Länge 12,5 cm, Ø 4 mm
Teflonreaktor:	Teflonschlauch, Länge 5 m, Ø 0,5 mm
Detektor:	UV/VIS-Detektor (UVIS 205, Linear, USA)
Probenaufgeber:	S5000 (Sykam)

Messbedingungen:

Flussmittel:	0,1 M Weinsäure pH 2,8-3,2 (eingestellt mit ges. LiOH-Lösung.)
Nachweisreagenz:	0,215 g (2-Pyridazo)-Resorcinol (PAR)/l in 4 % Ammoniak-Lösung
Mischungsverhältnis:	80 % Fliessmittel / 20 % PAR
Flussrate:	1,2 ml/min
Wellenlänge:	520 nm
Temperatur:	45°C
Detektionslimit:	5 µM in 10 µl Probenvolumen
Auswertung:	Programm Pyramid (Axiom Chromatography Inc., Kalifornien)

Die Proben (0,35 ml, ca. 0,5 g) wurden in 4,5 ml 0,5 M HCl (in Plastikröhrchen) überführt und bis zur weiteren Bearbeitung bei -20°C eingelagert. Zur Messung wurden die Proben aufgetaut und 24 h bei Raumtemperatur extrahiert. Vor der Messung wurde noch einmal 1:10 mit 0,5 M HCl verdünnt, um im Messbereich zu bleiben. Die verdünnten Proben wurden direkt vor der Messung 5 min mit 13000 Upm abzentrifugiert und der Überstand in neue Eppendorf-Reaktionsgefäße überführt.

Zur Kalibrierung wurden Standards mit Ammoniumeisen(II)-sulfat und Ammoniumeisen(III)-sulfat in 50 mM HCl in den Konzentrationen 50-500 µM angesetzt.

3.2.5. Messung radioaktiver Verbindungen

3.2.5.1. Szintillationszählungen & Kalibrierungen

Zur Kalibrierung der Substrat-Stammlösungen sowie zur Bestimmung der in den einzelnen Versuchen eingesetzten Radioaktivität wurden jeweils 100 µl dieser Lösungen mit 15 ml Szintillationsflüssigkeit (Quickzint 501, Zinsser, Frankfurt) in einem Szintillationszähler (Beckmann LS 6500, München) gemessen.

3.2.5.2. Bilanzierung von Experimenten mit ^{14}C -Substraten

Für eine abschliessende Bilanzierung von Experimenten mit radioaktiv markierten Substraten wurde nach deren Abbruch aus den Ansätzen 1 ml Bodensuspension entnommen, in 2 ml Reaktionsgefässe (Eppendorf, Hamburg) gegeben und 10 min bei 13000 Upm abzentrifugiert. Aus dem Überstand wurden 100 µl entnommen und wie unter Kap. 3.2.5.1 beschrieben in einem Szintillationszähler gemessen. Von dem Bodenpellet wurde ebenfalls ca. 0,1 g in ein Szintillationsgefäss eingewogen und analog analysiert.

Zusammen mit den für die Gasphase der Ansätze ermittelten Werten (siehe unten) konnte so eine Bilanz für die im Versuch eingesetzte Menge Radioaktivität erstellt werden. Diese Wiederfindungsrate betrug bei den ersten Experimenten 75-90 % (mit 6 Ansätzen, jeweils 3-fach gemessen), so daß für die folgenden Versuchsansätze keine weitere Bilanzierung mehr durchgeführt wurde.

3.2.5.3. Gaschromatographische Analyse von ^{14}C -Methan und ^{14}C -Kohlendioxid

Die Bestimmung der aus den radioaktiv markierten Substraten entstandenen Gase erfolgte mit einem GC (Shimadzu GC-8A), an dem ein Methanisator (Eigenbau, NiCr-Ni-Katalysator, Temperatur 350°C) sowie ein „radioactive-gas-analyser“, RAGA (Typ IM 2026/2028, Raytest, Straubenhardt), parallel angeschlossen waren.

Zählrohr:	Durchflußzählrohr, Volumen 10 ml
Quenchgas:	Methan
Nachweisgrenze:	ca. 1500 dpm/ml
Auswertung:	Programm „raytest Gina“, Nuclear Interface, Münster

Die Kalibrierung erfolgte mit einem ^{14}C -Bicarbonat-Standard. Hierzu wurden aus der ^{14}C -Bicarbonat-Stammlösung 100 µl in eine ausgeliterte, mit 10 ml H_2O befüllte 120 ml Serumflasche gefüllt, welche zuvor verschlossen und mit N_2 gespült worden war. Durch

Zugabe von 1 ml 1 M H₂SO₄ wurde alles gelöste Bicarbonat in gasförmiges CO₂ umgewandelt und dieses in der RAGA gemessen. Anschliessend wurde der Standard im Szintillationszähler gegengeeicht.

3.2.6. Analyse der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) von CH₄, CO₂ und Acetat

Zur Bestimmung der Isotopensignatur von CH₄ und CO₂ in Gasproben sowie von Acetat aus Porenwasserproben wurde ein GC-IRMS der Firma Finnigan (Thermoquest, Bremen) verwendet. Die theoretischen Grundlagen dieser Technik wurden z. B. von Brandt (1996 & 1995) und Sugimoto et al. 1991 beschrieben. Das Gerät setzt sich aus den folgenden Komponenten zusammen:

IRMS:	Finnigan MAT delta plus (Bremen)
GC:	Hewlett Packard 6890 (Waldbronn)
Injektor:	Split/Splitless
Säule:	Pora PLOT Q, Länge 27,5 m, Ø 0,32 mm, Schichtdicke 10 µm (Chrompack, Frankfurt)
Messbedingungen:	Probenvolumen: 100-400 µl Split: Fluss = 10:1 Fluss: 2,6 ml/min Injektor-Temperatur: 150°C Säulentemperatur: 25°C Trägergas: Helium 4.6 Fluss: 2,6 ml/min
GC/C interf.:	Standard GC Combustion Interface III, Oxidationsreaktor bei 940°C, Reduktionsreaktor bei 650°C
Data System:	ISODAT™ (Finnigan, Bremen)

Der Arbeitsstandard war CO₂ 4.8, kalibriert gegen Pee Dee Belemnit Karbonat. Das Isotopen-Verhältnis wurde in der folgenden Schreibweise dargestellt:

$$\delta^{13}\text{C} = 10^3(R_a/R_{st}-1)$$

Hierbei ist: R = ¹³C/¹²C von Probe (a) bzw. Standard (st). Die Präzision war bei wiederholter Einspritzung von 1,3 nmol CH₄ ± 0,2 ‰. Gasproben mit geringen Methankonzentrationen wurden vor der Bestimmung der Isotopensignatur mit Hilfe eines PreCon-Systems (Finnigan, Bremen) aufkonzentriert.

Zur Bestimmung der Isotopensignatur des Kohlenstoffs im Acetat musste dieses aufkonzentriert werden. Hierzu wurde eine definierte Menge der Porenwasserproben über Nacht lyophilisiert (Alpha 1-4, Christ AG, Osterode) und anschliessend in einem kleinerem Volumen (5-10 μl) 0,1 M Ameisensäure (in Propanol) aufgenommen und direkt analysiert.

3.2.7. Untersuchung der NH_3 -Konzentration in Bodenporenwasserproben

Die bei -20°C gelagerten Porenwasserproben wurden nach dem Auftauen 10 min bei 13000 Upm abzentrifugiert. Unter ständigem Rühren wurden anschliessend 400 μl Probe mit 4 μl 10 M NaOH versetzt und sofort mit einer NH_3 -sensitiven Elektrode (NH500/2, WTW, Weilheim, Deutschland) und einem Orion pH/mV-Ionenmeter (EA 940, Colora Messtechnik, Lorch, Deutschland) die NH_3 -Konzentration bestimmt.

3.3. Bestimmung von Bodenparametern

3.3.1. Messung des pH-Wertes und des Redoxpotentials

Der pH-Wert wurde in regelmäßigen Abständen in Bodensuspensionen und in Porenwasserproben aus Feld und Gewächshaus bestimmt (pH-Meter 330/Set 2, WTW, Weilheim). Weiterhin wurde das Redoxpotential (E_h) im Boden in einer Tiefe von 10 cm zu verschiedenen Zeiten in beiden Jahren gemessen. Hierzu wurde eine Platin-Elektrode mit einer Ag/AgCl-Elektrode als Referenz (Redoxelektrode SenTix ORP & pH-Meter 330/Set 2, beides WTW, Weilheim) verwendet und nach 1-2 h Gleichgewichtseinstellung das Redoxpotential gemessen und gegen das Redoxpotential von H_2/H^+ korrigiert.

3.3.2. Trockengewichtsbestimmung

Zur Ermittlung des Bodentrockengewichtes wurden Proben aus den einzelnen Experimenten bzw. aus dem Feld in Glasgefäßen 24 h bei 60°C getrocknet; Pflanzenteile und Wurzeln wurden ebenfalls bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

3.4. Messung von Prozessen

3.4.1. CH₄-Produktions- und Oxidationsraten

Die für die CH₄-Emission aus Reisfeldern wichtigen Prozesse CH₄-Produktion und -Oxidation wurden in den Bodenkompartmenten „Oberboden“ (0-3 cm) und „Unterboden“ (3-10 cm) sowie an Reiswurzeln untersucht (s. a. Kap. 3.5.5 zur Probenahme).

3.4.1.1. Bestimmung von Produktions- und Oxidationsraten von Methan im Boden

CH₄-Produktion

Bodenproben wurden mit Wasser im Verhältnis 1:1 (1 Teil Boden Feuchtgewicht auf 1 Teil Wasser, [g/g]) zu Suspensionen vermischt. Je 10 ml dieser Bodensuspensionen wurden in Reaktionsgefäße (Druckglasröhrchen, 25 ml) verteilt, diese mit Butylgummistopfen verschlossen und noch im Boden enthaltenes Methan und Sauerstoff mit N₂ ausgegast. Abschließend wurde eine N₂-Atmosphäre mit leichtem Überdruck (0,5 bar) eingestellt und die Gefäße stehend im Dunkeln bei 25°C inkubiert, wobei 25 °C als der durchschnittlichen Bodentemperatur unter Feldbedingungen entsprechend gewählt worden war. Die Bestimmung des gebildeten Methans in der Gasphase erfolgte regelmässig gaschromatographisch wie unter Kap. 3.2.1 beschrieben. Die CH₄-Produktionsrate wurde aus dem linearen Anstieg des CH₄-Mischungsverhältnisses in der Gasphase über die Zeit berechnet und in [nmol g_{TG}⁻¹ h⁻¹] angegeben (g_{TG}: Gramm Trockengewicht Boden bzw. Wurzel).

In 1999 wurde zusätzlich die Isotopensignatur des produzierten Methans bestimmt. Hierzu wurden in regelmässigen Abständen Gasproben (1 ml) mit Plastikspritzen entnommen. Diese wurden zur Konservierung – für Lagerung und Transport – in mit gesättigter NaCl-Lösung blasenfrei gefüllte Glasgefäße (Venoject-Röhrchen, 3 ml) injiziert, wobei eine zweite gleichzeitig eingestochene Kanüle als Druckausgleich diente. Nach dem Einfüllen der Gasproben wurden die Gefäße „auf dem Kopf stehend“ bei Raumtemperatur gelagert, und die Gasproben abschliessend mittels GC-IRMS analysiert (Kap. 3.2.6).

CH₄-Oxidation

Die Herstellung und Aufteilung der Bodensuspensionen erfolgte analog zu den Methanproduktionsansätzen, allerdings wurde die ursprüngliche Luftatmosphäre in den Gefäßen (Serumflaschen, 150 ml) belassen. Anschließend wurden 10000 ppm_v Methan in der Gasphase eingestellt und die Flaschen auf einem Horizontalschüttler bei 120 Upm im

Dunkeln bei 25°C inkubiert. Das CH₄-Mischungsverhältnis [ppm_v] wurde in regelmässigen Zeitabständen gemessen und die CH₄-Oxidationsraten [$\mu\text{mol g}_{\text{TG}}^{-1} \text{h}^{-1}$] aus der linearen Abnahme berechnet. Das Trockengewicht (TG) des Bodens wurde nach Versuchsende bestimmt.

Bei diesen Experimenten wurde zwischen zwei Phasen der CH₄-Oxidation unterschieden. Erstere umfasste den Zeitraum vom Beginn des Versuches bis zum Einsetzen der zweiten, höheren, „induzierten“ CH₄-Oxidationsrate. Die in der ersten Phase, der sogenannten „Lag-Phase“, gemessene CH₄-Oxidationsaktivität wurde als „initiale“ Aktivität separat berechnet. Diese wurde als Annäherung an die tatsächlich im entsprechenden Kompartiment zu findende Oxidationsaktivität betrachtet, während die induzierte Rate eher der nach einer Anpassungs-/Lag-Phase potentiell möglichen Aktivität entsprach. Die Dauer der Lag-Phase wurde durch den Schnittpunkt der Regressionsgeraden der initialen und induzierten Aktivität bestimmt.

3.4.1.2. Produktions- und Oxidationsraten von Methan an Reisswurzeln

Frische Reisswurzeln wurden mit Leitungswasser vorsichtig gewaschen, um den anhaftenden Boden zu entfernen. Nach dem Trocknen mit Fliesspapier und der Frischgewichtsbestimmung wurden die Wurzeln entweder ganz oder in 2-3 cm langen Stücken auf die Gefässe (Serumflaschen, 25 oder 150 ml) verteilt und diese verschlossen. Die Bestimmung der CH₄-Produktions- bzw. Oxidationsraten erfolgte ansonsten wie zuvor für Boden beschrieben.

3.4.2. Versuche mit radioaktiv markierten Substraten

In Ansätzen mit Reisfeldboden wurden Versuche zur Bestimmung der an der Methanproduktion beteiligten Substrate durchgeführt. Hierzu wurden ¹⁴C-markiertes Bicarbonat und [2-¹⁴C]-Acetat eingesetzt.

3.4.2.1. ¹⁴C-Bicarbonat als Substrat der H₂/CO₂-abhängigen Methanogenese

Die Experimente mit ¹⁴C-Bicarbonat wurden in Druckglasröhrchen (25 ml) mit jeweils 10 ml Bodensuspension (Kap. 3.4.1.1) durchgeführt. Die Röhrchen wurden mit Butylgummi-Septen und Aluminiumklemmkappen verschlossen, mehrmals mit N₂ gespült und abschliessend ebenfalls mit N₂ 0,5 bar Überdruck eingestellt. Nun wurde 1 ml einer Lösung mit 50-100 μCi von NaH¹⁴CO₃ zugegeben. Die Inkubation und Beprobung erfolgte wie in Kap. 3.4.1.1 beschrieben. Die Proben wurden auf ihren Gesamtgehalt sowie den Anteil radioaktiven CH₄ und CO₂ analysiert (Kap. 3.2.5). Die Berechnung der spezifischen Radioaktivität (SR) sowie des Anteils des aus H₂/CO₂ produzierten Methans ($f_{(\text{H}_2)}$) an der Gesamtmenge ist in Kap. 3.6 beschrieben.

3.4.2.2. Umsatz von [2-¹⁴C]-Acetat in Bodenproben (RI-Wert Bestimmung)

Die Ansätze mit radioaktiv markiertem Acetat wurden genauso wie für das Bicarbonat beschrieben hergestellt, nur wurde 1 ml einer Lösung mit 50-100 µCi Na-[2-¹⁴C]-Acetat zugegeben. Inkubation, Beprobung und Analyse der Gasproben wurden wie für Bicarbonat dargestellt durchgeführt. Nach 3-5 Tagen wurden die Ansätze durch Zugabe von 1 ml 1 M H₂SO₄ abgestoppt, und so gleichzeitig das gelöste CO₂ ausgetrieben und bestimmt.

Mit diesen Endwerten wurde nun der Respiratorische Index (RI) für den Umsatz von [2-¹⁴C]-Acetat berechnet (Kap. 3.6). Dieser beschreibt den Prozentsatz der ¹⁴C-markierten Methylgruppen des Acetats, der zu CO₂ oxidiert und nicht durch Acetat-abhängige Methanogenese zu CH₄ reduziert worden ist. Hohe RI-Werte sind somit charakteristisch für einen hauptsächlich oxidativen Acetat-Stoffwechsel, während niedrige RI-Werte auf einen überwiegend methanogenen Umsatz hinweisen.

3.4.2.3. Produktion von Wasserstoff und Kohlendioxid

In den Ansätzen zur Bestimmung der CH₄-Produktionsraten wurde parallel die Produktion von CO₂ und H₂ verfolgt, indem in regelmässigen Abständen Gasproben entnommen und entsprechend gaschromatographisch analysiert wurden (Kap. 3.2.1).

3.4.3. Versuche zur selektiven Hemmung einzelner mikrobieller Prozesse

3.4.3.1. Hemmung der Methanproduktion durch BES

Zur selektiven Hemmung der methanogenen Bakterien wurde den entsprechenden Ansätzen 10 mM Bromethansulfonsäure (BES) zugegeben. Die gaschromatographische Analyse der Gasphase auf CH₄ und CO₂ erfolgte analog zu den unbehandelten Methanproduktionsansätzen.

3.4.3.2. CH₃F als spezifischer Hemmstoff der acetoclastischen Methanproduktion

Ergänzend zu den ¹⁴C-Methanproduktionsexperimenten (Kap. 3.4.2) wurde gasförmiges Methylfluorid (CH₃F) in einer Konzentration von 0,5 % des Gesamtansatzvolumens als spezifischer Inhibitor der Acetat-abhängigen Methanogenese verwendet (Conrad & Klose 1999a, Janssen & Frenzel 1997, Frenzel & Bosse 1996). Diese Methode ist wesentlich empfindlicher als z. B. die Verwendung von radioaktiv markiertem Bicarbonat. Sie erlaubt so auch die Bestimmung des Anteils der H₂/CO₂-abhängigen Methanogenese an der Gesamtproduktion bei sehr niedrigen CH₄-Produktionsraten. Die gaschromatographische Analyse der Gasphase auf CH₄ erfolgte analog zu den unbehandelten Methanproduktionsansätzen, wobei

das CH_3F mitgemessen wurde, um eine ausreichende Hemmstoffkonzentration während des Experimentes zu gewährleisten.

3.4.3.3. Hemmung der Methanoxidation durch CH_2F_2

Zur selektiven Hemmung der Methanoxidation wurde Difluormethan (CH_2F_2), ein neuer gasförmiger Inhibitor (Matheson et al. 1997, Miller et al. 1998) verwendet. Dieser hatte sich in den ersten Experimenten mit methanotrophen Kulturen sowie in Bodensuspensionen als vielversprechend und selektiv erwiesen.

In mehreren Vorversuchen wurde nun die Wirkung von Difluormethan auf die Methanoxidation zum einen in Bodensuspensionen mit Reisfeldboden sowie an frischen Reiszurzel getestet (Vorbereitung, Inkubation und Beprobung der Ansätze wie in Kap. 3.4.1 beschrieben). Desweiteren wurden aus Ansätzen mit unterschiedlichen CH_2F_2 -Konzentrationen in der Gasphase Dosis-Wirkungskurven erstellt, um die optimale Wirkstoffkonzentration zu ermitteln. In diesen Ansätzen wurde im Anschluss ausserdem die Reversibilität der Hemmung durch CH_2F_2 getestet. Hierzu wurde nach dem Ende der ersten Messperiode die Gasphase ausgetauscht, erneut CH_4 , aber kein CH_2F_2 , zugegeben und die Änderung des CH_4 -Mischungs-erhältnisses in der Gasphase weiter verfolgt (Kap. 3.2.1).

Abschliessend wurden Versuche mit Reismikrokosmen (Versuchsaufbau und –ansatz wie in Kap. 3.7.1.1) durchgeführt, um die Verwendbarkeit von CH_2F_2 unter in-situ Bedingungen – hinsichtlich der beabsichtigten Freilandexperimente – zu prüfen. Hierzu wurde zuerst die CH_4 -Emission in den Mikrokosmen verfolgt, und dann nach 30 min in einen Teil der Ansätze CH_2F_2 (0,1 oder 1 % der Gasphase) gegeben. Nun wurde weiter die Änderung des CH_4 -Mischungsverhältnisses in der Gasphase verfolgt. Die Ergebnisse aller dieser Vorversuche sind im Detail in Kap. 4.1 dargestellt. Als optimal stellte sich in diesen Experimenten in den verschiedenen Kompartimenten (Boden, Wurzeln, Mikrokosmen) eine Konzentration von 1 % des Gasphasenvolumens heraus, welche in nachfolgenden Versuchen eingesetzt wurde. Die gaschromatographische Analyse der Gasphase auf CH_4 erfolgte analog zu den unbehandelten Methanoxidationsansätzen, wobei der Gehalt an CH_2F_2 mitgemessen wurde, um eine ausreichende Hemmstoffkonzentration während des Experimentes zu gewährleisten.

3.5. Freilandexperimente

In den Jahren 1998 und 1999 wurden im Zeitraum März bis Oktober Feldversuche in Italien durchgeführt. Die Feldstudien wurden in einem Reisfeld des Istituto Sperimentale della Cerealicoltura (ISC), des italienischen Reisforschungsinstitutes in Vercelli ($45^\circ 20' \text{N}$,

08°25'W) durchgeführt. Eine detaillierte Charakterisierung des Bodens und des Standortes wurde von Holzapfel-Pschorn et al. (1986) gegeben.

3.5.1. Beschreibung des Versuchsfeldes

Das Versuchsfeld wurde im Rahmen eines grösseren EU-Projektes (RICEOTOPES) möglichst vergleichbar zu den umliegenden rein landwirtschaftlich genutzten Reisfeldern bewirtschaftet. Das Feld war ca. 100x100 m groß und mit Erddämmen eingefasst. Die Wasserstandshöhe betrug im Mittel 5-10 cm, mit Ausnahme kurzer Zeiträume, in denen die Wasserversorgung des Feldes für den optimalen Einsatz von Herbiziden und zur Abtötung von Algen unterbrochen war (Tab. 3-1). Die Aussaat des Reises der Varietät Koral (*Oryza sativa* Typ *japonica*) erfolgte auf die zuvor gefluteten Felder. Die Sorte Koral wurde in den letzten Jahren im Istituto Sperimentale entwickelt und ist mit durchschnittlich 105 cm eine relativ hochwüchsige Sorte. Der Boden im Bereich des Institutes ist ein sandiger Lehm Boden (Fluvisol), mit 62 % Sand, 26 % Ton, 12 % Lehm, 2,5 % organischem Material, 0,15 % Gesamtstickstoff und einem pH von 6. Reisstroh und Stoppeln wurden nicht wie sonst in der Region üblich nach der Ernte verbrannt, sondern im April zu Beginn der Feldbearbeitung untergepflügt. Die weitere Bearbeitung des Versuchsfeldes ist in Tab. 3-1 für die beiden Jahre vergleichend zusammengefaßt. Für die Durchführung der Experimente und Probennahmen wurden mehrere ca. 4 m lange bewegliche Holzstege in Abständen von 5 m direkt vor der Aussaat im Feld montiert.

Tab. 3-1: Übersicht über die Bearbeitung des Versuchsfeldes in Vercelli in den Jahren 1998 und 1999, sowie über die wichtigen Pflanzenwuchsstadien

Zeitpunkt 1998	Feldbearbeitung/Pflanzenstadium	Zeitpunkt 1999
01.04.	Düngung zur Beschleunigung des Reisstroh- abbaus im Boden (26 kg N als Kalziumcyanamid)	01.04.
18.04.	Pflügen & Eggen des Feldes	19.-23.04.
12.05.	Hauptdüngung und Einarbeitung in den Boden (100 kg N ha ⁻¹ in Form von Harnstoff, 150 kg K ₂ O ₅ ha ⁻¹ als KCl und 33,8 kg bzw. 80 kg (1999) P ₂ O ₅ ha ⁻¹ als Thomasphosphat)	23.04.
15.05.	Fluten des Feldes (d = 0)	05.05.
19.05.	Aussaat (Kreiselstreuer) der Varietät KORAL	06.05.
	Trockenfallen des Feldes infolge von Problemen mit der Wasserversorgung	21.-31.05.
30.05.-12.06.	Trockenlegung des Feldes zur Abtötung des Al- genbewuchses und zur Vorbereitung der Pestizid- ausbringung	16.-20.06.
04.-20.06.	„Tillering phase“ (Seitentriebbildung) der Reis- pflanzen	08.-24.06.
09.06.	Pestizidausbringung: Propanil "STAM-F34" Rohm & Haas; Azimsulfuron "GULLIVER", DuPont	19.06.
22.07.	„Top dressing“, letzte Düngung (40 kg N als Harnstoff, 78 kg (1999: 104 kg) P ₂ O ₅ als Thomas- phosphat je ha)	14.07.
10.-20.8.	Blüte der Reispflanzen	01.-10.08.
25.08.	Offizielles Ende der Wasserversorgung	25.08.
30.08.	Trockenfallen des Feldes (Wasserstand überwiegend 0 cm)	07.09.
10.10.	Ernte des Reises, Felder bleiben unbehandelt bis zum Frühling	30.09.

3.5.2. Meßkammern und ihre Anordnung

Für die Bestimmung der Methanemissionsraten sowie Untersuchung der in-situ CH_4 -Oxidationsraten wurden transportable Meßkammern aus Plexiglas eingesetzt (entwickelt von P. Frenzel & M. Drescher, beide MPI Marburg, gebaut von der institutseigenen Werkstatt). Die Grundfläche dieser Flusskammern betrug $0,25 \text{ m}^2$ ($0,5 \times 0,5 \text{ m}$), zudem waren sie durch das Aufsetzen zusätzlicher Segmente in der Höhe verstellbar ($0,25\text{-}1 \text{ m}$), um den wachsenden Reispflanzen angepasst werden zu können. Die Kammern waren mit batteriegetriebenen Fernbedienungen zum Öffnen und Schliessen sowie einem Pumpe-/ Schlauch-System (\varnothing 1 mm, Länge 4 m) ausgerüstet, um so eine störungsfreie Bedienung und Beprobung zu gewährleisten. Zusätzlich waren mehrere Septen für manuelle Probenahmen und die Zugabe von z.B. Inhibitoren (Kap. 3.4.3.3) vorhanden. Ein eingebauter Ventilator (\varnothing 8,5 cm) sorgte für eine gleichmässige Durchmischung der Gasphase in der Kammer und ein kurzes dünnes Schlauchstück (\varnothing 1 mm, Länge 20 cm) für den Druckausgleich mit der Atmosphäre. Weiterhin war ein Temperaturfühler in die Kammern eingebaut, so dass Änderungen im Verlauf der Flussmessungen verfolgt werden konnten.

Die Ausbringung der aus rostfreiem Stahl gefertigten Bodenteile der Flußkammern erfolgte jeweils am Vortag der Messungen entlang der installierten Stege. Auf diesen konnten die Flusskammern einige Stunden vor der Messung ohne Störung des Bodens montiert werden. Sofort nach Beendigung der Messung wurden die Kammern wieder entfernt. Insgesamt wurden zwei Sets mit jeweils vier Kammern eingesetzt und beprobt, um zweimal am Tag Experimente durchführen zu können.

3.5.3. CH_4 -Emission und in-situ CH_4 -Oxidation

Zur Bestimmung der Methanemission wurden die Kammern für 2 h geschlossen und alle 30 min Gasproben (1 oder 10 ml) mit Plastikspritzen entnommen. Diese wurden in einen Gummistopfen gesteckt und somit gasdicht verschlossen, und sofort im Anschluss auf CH_4 analysiert (Kap. 3.2.1). Die Methanemissionsraten wurden wie in Kap. 3.6 beschrieben berechnet und in $\text{mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ angegeben.

Die Bestimmung der in-situ Methanoxidation wurde mithilfe eines spezifischen Inhibitors, Difluormethan (Kap. 3.4.3.3) durchgeführt. Direkt nach dem Schliessen der Flusskammern wurde das CH_2F_2 mittels gasdichter Beutel (Tedlar-bags, Advanced Laboratory Resarch Inc., Massachusetts, USA) bis zu einer Endkonzentration von 1 % der Gasphase injiziert. Gasproben wurden wie oben beschrieben alle 30 min entnommen und sofort auf CH_4 und CH_2F_2 analysiert. Der Inhibitor wurde mitgemessen, um eine ausreichend hohe Konzentration

während des gesamten Experimentes zu gewährleisten. Die Methanoxidation wurde aus dem Unterschied in der Emission zwischen den Ansätzen mit und ohne Inhibitor bestimmt. Nach jedem Experiment wurden die Flusskammern versetzt, um eventuellen länger anhaltenden schädlichen Einflüssen des Inhibitors auf den Reisfeldboden zu entgehen.

Proben für die Bestimmung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{CH}_4$) des emittierten Methans wurden in speziellen Glasgefäßen (100 ml, 2 Ventile) mit einer kleinen batteriegetriebenen Pumpe und Plastikschläuchen gesammelt. Hierzu wurde ein Ventil des mit N_2 gespülten Probengefäßes über ein Schlauchstück mit der Flusskammer verbunden. Das zweite Ventil wurde sodann an die Pumpe angeschlossen. Die Analyse der Gasproben wurde direkt nach der Rückkehr im Institut in Marburg am GC-IRMS vorgenommen (Kap. 3.2.6). Die erste Probe wurde direkt nach dem Schliessen der Kammer genommen, die zweite am Ende der zweistündigen Messung. Die Isotopensignatur (s) des emittierten Methans wurde wie folgt berechnet:

$$s = ((B \times b) - (A \times a)) / (B - A)$$

mit: A und B als CH_4 -Mischungsverhältnis [ppm_v] in den Proben zu Beginn und am Ende, und a und b als die korrespondierenden $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte [%o].

3.5.4. Weitere Probenahmen

Über die Saison wurden regelmäßig Boden-, Pflanzen- und Bodenporenwasserproben aus dem Feld entnommen. Diese dienen zur in-vitro Bestimmung von CH_4 -Produktions- und Oxidationsraten, zur Substratanalyse und zur Untersuchung wichtiger physikalisch-chemischer Bodenparameter. Weiterhin wurden Gasproben aus dem Aerenchym der Reispflanzen sowie aus dem Feld entweichende Gasblasen gesammelt.

3.5.4.1. Entnahme von Bodenproben aus dem Reisfeld

Die Entnahme von Bodenproben erfolgte in demselben Feldabschnitt, in welchem die Flussmessungen durchgeführt worden waren, mit Stechrohren aus rostfreiem Stahl (Werkstatt, MPI Marburg) mit einem Durchmesser von 7 cm und einer Länge von 26 cm. Die erhaltenen Bodenkerne wurden in zwei Schichten unterteilt (0-3 cm und 3-10 cm), welche im Folgenden zur Vereinfachung als Oberboden (in der Literatur auch „Top oder rhizospheric soil“ genannt) und Unterboden („Bulk soil“) bezeichnet werden. Diese Auftrennung wurde durchgeführt, um unterschiedliches Wurzelwachstum im Boden zu berücksichtigen, welches im Reisfeld in den oberen Zentimetern konzentriert ist (Kap. 3.5.9).

Es wurden jeweils drei Bodenkerne zu einer Mischprobe vereint. Diese Bodenproben wurden mit Wasser im Verhältnis 1 zu 1 (1 Teil Boden „Feuchtgewicht“ auf 1 Teil Wasser [g/g]) zu

Suspensionen vermischt. Entnommenes Probenmaterial wurde entweder sofort vor Ort in Vercelli verwendet oder auf 4°C gekühlt, für die Untersuchung methanogener Prozesse zusätzlich mit N₂ begast, zur weiteren Bearbeitung nach Marburg transportiert (in weniger als 24 h). Die weitere Verwendung zur Bestimmung von CH₄-Produktions- und Oxidationsraten und anderen Experimenten erfolgte wie zuvor beschrieben (Kap. 3.4). Ein Teil der Suspensionen wurde in Plastikröhrchen (Falcon tubes) eingefroren und bei -20°C für weitere Analysen gelagert. Die detaillierte Bestimmung der CH₄-Oxidationsraten in der Saison 1999 erfolgte in Zusammenarbeit mit G. Eller, ebenfalls vom MPI Marburg.

3.5.4.2. Entnahme von frischen Reiswurzeln

Zur Gewinnung von frischem Wurzelmaterial wurden ganze Reispflanzen entnommen und die Wurzeln vorsichtig abgetrennt und gereinigt. Es wurden jeweils die Wurzeln mehrerer Pflanzen für nachfolgende Versuche zu einer Mischprobe vereinigt. Der weitere Versuchsablauf zur Bestimmung mikrobieller Aktivitäten wurde zuvor beschrieben (Kap. 3.4), wobei die CH₄-Oxidation in der Saison 1999 ebenfalls zusammen mit G. Eller (siehe oben) durchgeführt wurde.

3.5.4.3. Sammlung von Bodenporenwasserproben

Zur Gewinnung von Porenwasserproben aus dem Reisfeldboden wurden 1998 zwei verschiedene selbstentwickelte Sammler getestet.

Typ I bestand aus einer PVC-Platte, auf welcher in bestimmten Abständen (20-50 mm) kurze Membranröhrchen (Porengröße: 0,2 µm, X-Flow, Holland) befestigt waren, so dass Porenwasser in verschiedenen Tiefen gesammelt werden konnte (Abb. 3-1). Die Membranröhrchen wiederum waren jeweils über eine Stahlkapillare und einen Silkschlauch mit einer Kanüle über der Wasseroberfläche verbunden, um so eine kontaminationsfreie Probenahme des Porenwassers zu ermöglichen. Der „Sammler“ wurde vor der Aussaat des Reises dauerhaft im Feld eingesetzt, womit die Beprobung ohne Störung des Bodensystems erfolgen konnte. Für die Entnahme der Porenwasserproben wurden mit N₂ gespülte und anschliessend evakuierte Vakuurröhrchen (Venoject-tubes) verwendet. Zuerst wurde mit einem Röhrchen das noch im Sammler verbliebene alte Porenwasser entfernt und erst das in den nächsten Röhrchen gesammelte Porenwasser für Analysen und Probenahmen verwendet.

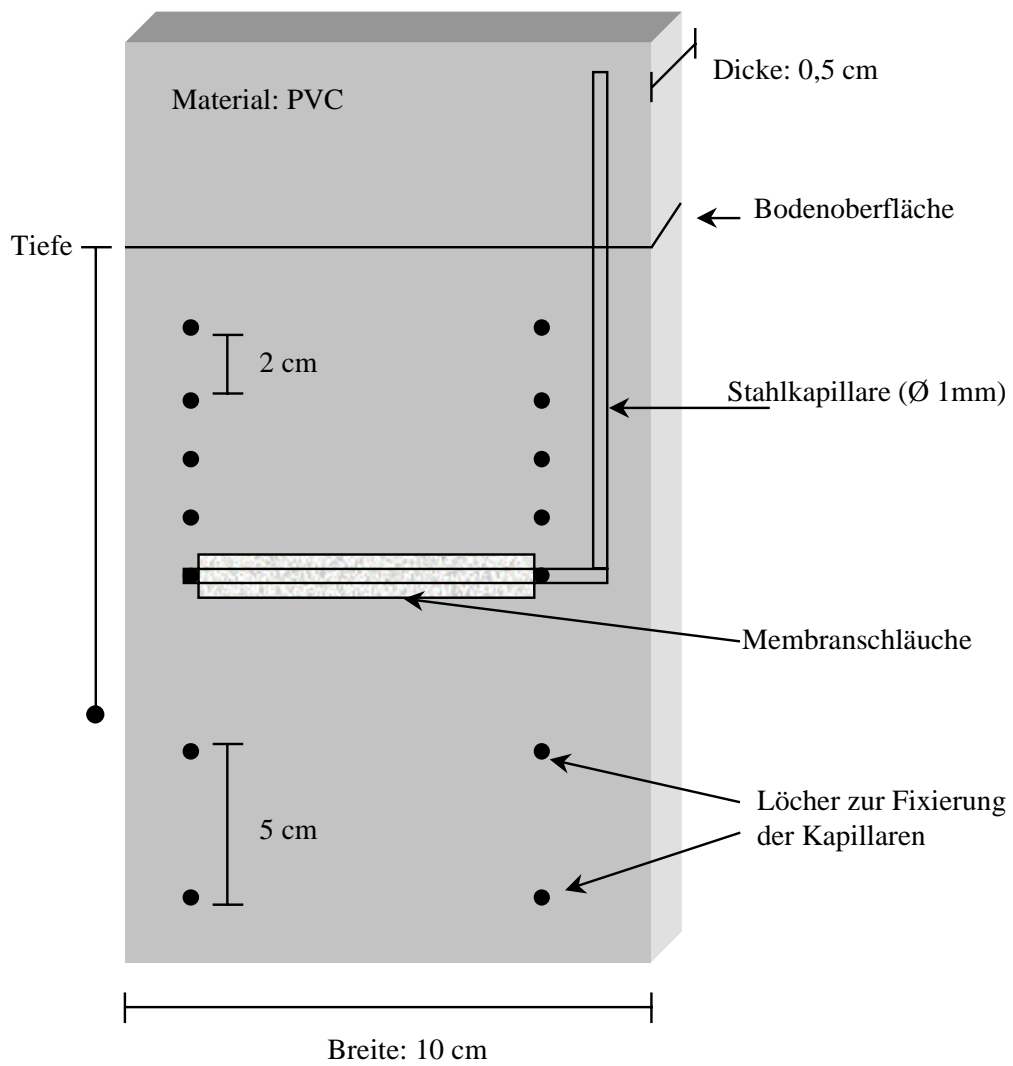


Abb. 3-1: Sammler mit in verschiedenen Abständen fixierten Membranschläuchen (Typ I) zur Entnahme von Porenwasserproben aus dem Reisfeldboden

Typ II war ein sogenannter „peeper“ (Azcue et al. 1996, Magnusson 1989, Brandl 1987, Hesslein 1976), bestehend aus einer Plastikplatte (aus Macralon®), in welche in 2 cm Abständen Kammern mit einem Volumen von 5 ml gefräst worden waren. Abgedeckt wurden diese Kammern mit einer PTFE-Membran (Porengröße 0,2 µm, HT-Tuffryn, Pall Gelman Sciences, Roßdorf, Deutschland). Sie wurden auf den Aussenseiten mit dünnen, dem Mittelteil in der Form entsprechenden Macralonplatten wasserdicht verschraubt, um eine Durchmischung der benachbarten Kammern zu verhindern. Vor dem Verschließen wurden die Kammern mit dest. Wasser gefüllt und der Sammler autoklaviert. In 14-tägigen Abständen wurden diese peeper im Feld ausgewechselt und sofort im Labor mit Plastikspritzen beprobt.

In der Saison 1999 wurden nur noch Porenwassersammler vom Typ I verwendet, da dieses System einfacher zu handhaben war und zudem durch die ununterbrochene Installation im Feld zu sehr naturnahen Bedingungen für die Probenahme führte. Es wurden drei Sammler in Abständen von ca. 0,5 m vor der Aussaat des Reises im Feld eingesetzt, so daß die Pflanzen ungestört um diese herum wachsen konnten. Porenwasserproben (2 je Tiefe mit jeweils ca. 2-3 ml) wurden wie oben beschrieben in regelmässigen Abständen mit N₂-gespülten Vakuumröhrchen (3 oder 10 ml) entnommen.

Anschliessend wurde in einem Satz Röhrchen sofort (nach kräftigen Schütteln per Hand) CH₄ in der Gasphase gemessen, der pH-Wert bestimmt und die Proben eingefroren gelagert (-20°C) und nach Marburg transportiert, wo sie für weitere Analysen, z.B. HPLC/IC/GC-IRMS und NH₃-Bestimmung verwendet wurden (Kap. 3.2). Da die Menge des gesammelten Porenwassers durch Wiegen des leeren und gefüllten Röhrchens bestimmt worden war, konnte über das in der Gasphase enthaltene CH₄ das tatsächlich im Porenwasser gelöste CH₄ berechnet werden (Kap. 3.6). Der andere Probensatz wurde mit 0,2 ml 1,9 M H₂SO₄ je ml Probe versetzt, was den pH auf ≤ 2 absenkte, und so konserviert bis zur Messung der Isotopensignaturen von CH₄ und CO₂ mittels GC-IRMS (Kap. 3.2.6) bei Raumtemperatur aufbewahrt.

3.5.4.4. Entnahme von Gasproben aus dem Aerenchymgewebe der Reispflanzen

Sobald die Reispflanzen einige Zentimeter aus dem Flutwasser ragten, wurden in regelmässigen Abständen Gasproben aus dem Aerenchym genommen. Hierzu wurden die Pflanzen direkt unter der Wasseroberfläche gekappt. Nun wurde ein umgedrehter, mit einem Silikonstopfen verschlossener und mit Flutwasser vollständig gefüllter Glastrichter (φ 5 cm) über den Pflanzenstumpf gestülpt und das Gas aus diesem herausgedrückt. Das im Trichter gesammelte Gas mehrerer Pflanzen wurde sodann mit einer Plastikspritze durch den Stopfen

entnommen. Sobald die Reispflanzen groß genug waren (nach ca. 40 daf), wurden Gasproben direkt mit 1 ml Plastikspritzen von oben aus dem Spross- bzw. Blattstumpf unterhalb des nächsten Internodiums vorsichtig entnommen. Sofort nach der Entnahme wurden die Spritzen in einen Butylgummistopfen gesteckt und so gasdicht verschlossen. Für Lagerung und Transport wurden die Proben dann in mit gesättigter NaCl-Lösung gefüllte Glasgefäße injiziert, wobei eine zweite gleichzeitig eingestochene Kanüle einen Druckausgleich ermöglichte. Hierbei wurden immer Proben aus mehreren Pflanzen vereinigt, um eine genügend grosse Gasmenge zu erhalten. Abschliessend wurden die Proben auf ihren CH₄-Gehalt und die Isotopensignatur analysiert (Kap. 3.2.1 & 1.2.6).

3.5.4.5. Sammlung von Gasblasen aus dem Reisfeldboden

Die Entnahme von Gasblasenproben aus dem Feld erfolgte auf unterschiedliche Weise: Zum einen wurden Gasblasen mit einem kleinen Stock aus dem tieferen Boden herausgestochert, um so den Einfluss der in der oberen, durchwurzeltten Bodenschicht konzentrierten Methanoxidation zu umgehen. Andere Gasblasen wurden nach ihrem „freiwilligen“ Entweichen aus dem Boden gesammelt. Zusätzlich wurde bei beiden Methoden noch zwischen bepflanzttem und unbepflanzttem Boden unterschieden, wiederum um die überwiegend pflanzenassoziierte Methanoxidation zu berücksichtigen.

Das Sammeln der Gasblasen erfolgte mit umgedrehten Plastiktrichtern (Ø 15 cm), auf welche die obere Hälfte einer Plastikspritze geklebt worden war. Die Spritze wiederum wurde mit einem Dreiwegehahn (Luer-Lock) verschlossen, über welchen auch die Probenahme mit einer weiteren Plastikspritze erfolgte. Die Gasproben wurden ebenfalls in mit gesättigter NaCl-Lösung gefüllten Glasgefässen aufbewahrt und transportiert und schliesslich analog zu den Aeren-chymproben analysiert (Kap. 3.5.5.4).

3.5.5. Einfluss von verschiedenen Düngerapplikationen auf die CH₄-Emission und damit verbundene Prozesse

Da in Laborexperimenten ein stimulierender Einfluss von stickstoffhaltigen Düngern auf die CH₄-Oxidation in Bodensuspensionen beobachtet worden war (Bodelier et al. 2000a & b), wurden 1998 und 1999 verschiedene Feldexperimente hierzu durchgeführt. Es sollte der Effekt auf die Methanemission sowie auf die zugrunde liegenden Prozesse CH₄-Produktion und -Oxidation untersucht werden.

3.5.5.1. Änderung von CH₄-Produktion und –Oxidation nach Harnstoffdüngung

Am Ende der Vegetationsperiode (ca. 100 daf) in 1998 wurde ein abgesteckter Bereich des Versuchsfeldes per Hand mit 150 kg N ha⁻¹ in Form von Harnstoff gedüngt. Eine Woche später wurden gleichzeitig Bodenproben und frisches Wurzelmaterial aus dem gedüngten sowie aus einem ungedüngten Kontrollbereich entnommen. In diesen beiden Probensätzen wurden nun sowohl die CH₄-Produktionsraten als auch die Oxidationsraten (Kap. 3.4) bestimmt und so ein direkter Vergleich ermöglicht. Messungen der CH₄-Emission sowie der in-situ Oxidation waren hingegen nicht mehr möglich, da das Feld frühzeitig trockenfiel.

3.5.5.2. Einfluss des „Top dressing“ auf CH₄-Produktion und –Oxidation und das Bodenporenwasser

In der Saison 1999 wurden vergleichend vor und nach der letzten normalen landwirtschaftlichen Düngung des Feldes, des sogenannten „Top dressings“ (Kap. 3.5.2), Proben aus den verschiedenen Kompartimenten (Porenwasser, Gasblasen, Aerenchym, Boden, Wurzeln) genommen und analysiert (Kap. 3.5.5). Ferner wurden sowohl die CH₄-Produktionsraten als auch die Oxidationsraten in Bodenproben und an Reisswurzeln bestimmt.

3.5.5.3. Einfluss von Harnstoffdüngung auf die Emission, Produktion und Oxidation von CH₄

In Zusammenarbeit mit Dr. Jianguo Dan wurde in separaten kleinen Reisfeldern ein weiteres Experiment durchgeführt. Hierbei ging es darum, den Einfluss von gezielten Harnstoffapplikationen auf die Methanemission zu untersuchen. Es wurden identisch vorbereitete Reisfelder entweder zu bestimmten Zeitpunkten mit Harnstoff gedüngt oder aber als Kontrollfelder ungedüngt belassen. Dieser Versuch sowie die erhaltenen Ergebnisse sind im Detail im Anhang 1 beschrieben.

3.5.6. Biomassebestimmung

Für die Biomassebestimmung wurden in regelmäßigen Abständen Pflanzenproben entnommen und Länge, Anzahl sowie Frisch- und Trockengewicht von Blättern und Sprossen bestimmt (s.a. Kap. 3.3.2).

3.5.7. Pflanzen- und Bodenmaterial zur Bestimmung der Isotopensignatur

Das nach der Biomassebestimmung erhaltene getrocknete Pflanzenmaterial wurde in Plastikröhrchen verpackt und zur Bestimmung der Isotopensignatur des darin enthaltenen organischen Kohlenstoffs aufbewahrt. Ebenso wurden getrocknete Bodenproben über die Saison

1999 aufbewahrt. Die Analyse wurde durchgeführt durch das Institut für Bodenkunde und Waldernährung (IBW) der Universität Göttingen.

3.5.8. Aufnahme von horizontalen Durchwurzelungsprofilen im Reisfeldboden

In regelmässigen Zeitabständen wurde der Durchwurzelungsgrad in verschiedenen Bodentiefen bestimmt, um Aufschluss über die Wurzelbiomasseverteilung und eine mögliche Beeinflussung des Bodens zu erhalten. Hierzu wurden direkt unterhalb sowie in bestimmten Abständen von einzelnen Reispflanzen Bodenkerne gestochen (s. a. Kap. 3.5.5.1). Diese wurden in 1-3 cm dicke Scheiben zerschnitten und anschliessend in einem Sieb die Wurzeln vom Boden getrennt. Zum Schluss wurden sowohl Feuchtgewicht als auch Trockengewicht der Wurzelportionen bestimmt und gegen die Bodentiefe aufgetragen.

3.5.9. Temperaturmessung und Klimadaten

Zur Erfassung der Temperatur wurden im Feld Temperaturfühler jeweils paarweise nach dem Fluten des Feldes installiert. Diese waren über Kabel mit einem Datalogger (DL2E, Delta-T Devices, UP GmbH, Osnabrück) verbunden, welcher die Temperatur alle 10 min maß und auf die volle Stunde gemittelt speicherte. Die Ausbringung der Meßfühler erfolgte im Flutwasser sowie in 5, 10 und 15 cm Tiefe im Boden, wobei diese mittels einer Plastischablone in den jeweiligen Tiefen fixiert wurden, um etwaige Verschiebungen, z. B. durch das Aufquellen oder Einsinken des Bodens bei Änderungen des Flutwasserspiegels, zu vermeiden. Weitere Klimadaten wurden durch die Wetterstation des Instituts in regelmäßigen Abständen erfaßt. Diese umfaßten Lufttemperatur und -feuchte, Windrichtung und -stärke, Niederschlagsmenge sowie den vorherrschenden Luftdruck.

3.6. Berechnungen

1. Spezifische Radioaktivität **SR**: $\frac{dpm}{\mu mol}$, zB.: $\frac{{}^{14}CO_2(dpm)}{{}^{14}CO_2(\mu mol)}$

2. Fraktionierungsrate **f_(H2)**: $SRCH_4 / SRCO_2$, $\left(\frac{dpm/\mu mol}{dpm/\mu mol} \right)$

3. Respiratorischer Index **RI**: $\frac{{}^{14}CO_2(dpm)}{{}^{14}CO_2(dpm) + {}^{14}CH_4(dpm)}$

4. Eichgaskalibration: $CH_4\text{-Probe (ppm}_v) = \frac{PF}{EG} EG(ppmv)$

mit:

PF: Peakflächenwert Probe

EG: Peakfläche Eichgas

5. Berechnung von Gaskonzentrationen: $Gas_{(ges.)} = Gas_{(gelöst)} + Gas_{(gasf.)}$

$$= \left(\frac{\alpha * m * Pv}{Mv} \right) + \left(\frac{m * Gv}{Mv} \right) \quad [\mu mol]$$

mit:

Gasmenge [μmol]

m: Mischungsverhältnis Gasphase (ppmv)

Mv: Molvolumen ideales Gas (24,78 l/mol, bei 25°C)

Gv: Gesamtgasvol. Ansatz (l)

Pv: Proben-/Flüssigkeitsvol. (l)

α : Löslichkeitskoeff.

Wobei $Gas_{(gelöst)}$ für CH_4 wegen des sehr kleinen Bunsenkoeff. α vernachlässigt werden kann.

6. Berechnung der CH_4 -Flußrate **E** :

$$E [mg CH_4 qm^{-2}h^{-1}] = \frac{\Delta m(ppmv) * MG(mg) * H(m)}{\Delta t(h) * M(m^3) * 1000}$$

Mit:

Flußrate E: $[\text{mg CH}_4 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}]$

Δm : Änderung des Mischungsverh. in Gasphase (ppmv)

MG: Molekulargewicht CH_4 (16 g)

H: Boxenhöhe, (Volumen/Fläche = Höhe)

M: Molvolumen ideales Gas, bei 25°C: $0,0224 \text{ m}^3$

3.7. Gewächshausexperimente („¹³C-Versuch“)

3.7.1. Experimenteller Ansatz und Versuchsaufbau

Zur Weiterführung und Ergänzung der vorangegangenen Freilandexperimente wurde im Frühjahr 1999 ein mehrmonatiger Gewächshausversuch durchgeführt. Die Schwerpunkte lagen wiederum zum einen in der Bestimmung des Einflusses der Methanoxidation auf die Methanemission während der gesamten Vegetationsperiode des Reises. Hierbei sollten auch vorausgegangene in-vitro Experimente überprüft werden, in denen ein positiver Einfluss von stickstoffhaltigen Düngern auf die Methanoxidation beobachtet worden war (Bodelier et al. 2000a & b). Desweiteren wurde der Beitrag der verschiedenen Methanproduktionswege (Kap. 3.4) zur Gesamtproduktion untersucht. Als ergänzende Methode wurde in diesem Versuch ein GC-IRMS eingesetzt. Über die Bestimmung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{CH}_4$) von CH_4 und CO_2 aus den verschiedenen Kompartimenten konnten so zusätzliche Informationen über CH_4 -Produktion und -Oxidation erhalten werden.

3.7.1.1. Versuchsaufbau

Der benötigte Boden stammte aus einem Reisfeld des ISC in Vercelli und wurde wie in Kap. 3.1.1 beschrieben getrocknet, gemahlen und gesiebt (<2 mm). Zum Vorkeimen wurden Reiskörner der Varietät Koral (*Oryza sativa* var. Koral Typ japonica) auf feuchtes Fliesspapier gelegt und für 8-10 Tage bei 25°C inkubiert. Die weitere Anzucht der Reispflanzen erfolgte in Plastiktöpfen mit einem Volumen von ca. 2,5 l (Höhe 16 cm, ϕ 17 cm). In diese wurden 1,5 l trockener Boden vorgelegt und die Töpfe anschliessend für 7 d mit VE-Wasser geflutet, bevor die Reiskeimlinge (einer je Topf) eingesetzt wurden. Für die Dauer des Experimentes wurde ein Wasserstand von 2-4 cm über der Bodenoberfläche eingehalten und bei Bedarf entsprechend mit VE-Wasser ergänzt. Insgesamt wurden 26 solcher Mikrokosmen angesetzt. Für die Angabe des Pflanzenalters wurden die Tage ab der Auspflanzung der Keimlinge (d=0) in die Töpfe gezählt.

Die Anzucht der Reispflanzen erfolgte im Gewächshaus bei einer konstanten Temperatur von 25°C und einer Beleuchtung mit 400-500 $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Lichtperiode 6-22 Uhr). Die Entfernung von "Unkraut" wurde regelmässig durchgeführt. Gleich nach dem Aussetzen der Keimlinge erhielt jeder Topf 5 ml einer Düngelösung (28,5 g $\text{CO}(\text{NH}_3)_2$, 11,5 g KH_2PO_4 und 28,5 g KCl in einem Liter A. dest.). Weitere Düngergaben wurden den Experimenten entsprechend mit

derselben Lösung durchgeführt. Die erste zusätzliche Düngung erfolgte bei 42 Tage alten (Phase der Seitentriebbildung), die zweite bei 92 Tage alten Pflanzen (Blüte), wobei beide Male wiederum 5 ml obiger Düngelösung pro Topf eingesetzt wurden.

3.7.2. CH₄-Emission und in-situ CH₄-Oxidation

In gewissen Zeitabständen wurden CH₄-Emission und in-situ CH₄-Oxidation in den Reismikrokosmen gemessen, um eventuelle Änderungen im Verlauf der Vegetationsperiode zu erfassen. Zur Messung der Methanemission wurden Flusskammern aus Plexiglas (Werkstatt des MPI, Höhe 40 oder 85 cm, ϕ 10 cm) verwendet, welche an Stativhaltern befestigt waren. Ausserdem war im Kopfteil ein Ventilator eingebaut, der die gleichmässige Durchmischung der Gasphase gewährleisten sollte. Zu Beginn der Messung wurden die Kappen in das Flutwasser abgesenkt. Da in gefluteten Reisfeldern mehr als 90 % der CH₄-Emission über die Reispflanzen erfolgt (Schütz et al. 1989a), wurde dieses System als für unsere Zwecke ausreichend gasdicht definiert. Durch ein Silikonseptum wurden nun in regelmässigen Abständen (5 oder 20 min bei 30 bzw. 120 min Dauer der Emissionsmessung) Gasproben mit Plastikspritzen (1 ml) entnommen und sofort auf CH₄ analysiert (Kap. 3.2.1). Zur in-situ Bestimmung der Methanoxidation wurde sofort nach dem Absenken der Flusskappen Difluormethan als selektiver Inhibitor (Kap. 3.4.3.3) bis zu einer Endkonzentration von 1 % in der Gasphase mit Plastikspritzen (60 ml) injiziert. Nun wurden wieder alle 30 min Gasproben (1 ml) entnommen und auf CH₄ und CH₂F₂ analysiert. Die Gesamtmessdauer auch für die Kontrollansätze ohne Inhibitor betrug 2 h.

In einigen Experimenten in bestimmten Abschnitten der Vegetationsperiode wurde auch der Einfluss von stickstoffhaltigem Dünger auf die Methanoxidation untersucht. Hierzu wurde einigen Töpfen wiederum 5 ml der oben beschriebenen Düngelösung (entsprechend 100 kg N je ha) zugegeben, während Kontrollansätze ungedüngt blieben. Nun wurde allen Mikrokosmen in kurzen Abständen mehrmals der Einfluss der Methanoxidation auf die Emission mittels selektiver Hemmung durch CH₂F₂ bestimmt.

Proben für die Bestimmung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$) des emittierten Methans wurden in speziellen Glasgefässen (100 ml) mit einer kleinen batteriegetriebenen Pumpe und Plastikschläuchen gesammelt. Die Proben wurden jeweils am Ende der zweistündigen Messung genommen. Vor dem Absenken der Flusskappen zu Beginn der Messung wurde jeder Mikrokosmos 2 min mit Pressluft gespült, um eine einheitliche Gasphase in allen Ansätzen herzustellen. Diese Pressluft diente auch als Anfangswert für die Ermittlung der Isotopensignatur. Die Analyse der Gasproben wurde direkt nach der Messung am GC-IRMS

vorgenommen (Kap. 3.2.6). Die Berechnung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{CH}_4$) des emittierten Methans erfolgte wie für die Feldexperimente beschrieben (Kap. 3.6).

Alle Oxidations- und Emissionsmessungen wurden mit mindestens 5 parallelen Ansätzen durchgeführt, die Berechnung der Methanemission und –Oxidation erfolgte wie in Kap. 3.6 für die Feldexperimente beschrieben.

3.7.3. Probenahmen aus den verschiedenen Kompartimenten

3.7.3.1. Entnahme von Bodenproben aus den Mikrokosmen

In regelmässigen Zeitabständen wurde ein Mikrokosmos zur Beprobung der verschiedenen Kompartimente entnommen. Zur Sammlung von Bodenproben wurde nach dem Dekantieren des Flutwassers der im Plastiktopf enthaltene, durchwuzelte „Bodenblock“ im Ganzen herausgezogen. Von diesem Block wurden jetzt die oberen 3 cm als Oberboden abgetrennt. Der untere Teil wurde wieder als Unterboden bezeichnet (s. a. Kap. 3.5.5.1). Die Bodenfraktionen wurden nun vorsichtig durchmischt und unter kontinuierlicher Stickstoffeingasung mit 2 Teilen A.dest. auf ein Teil Boden zu einer Suspension verrührt. Hierbei wurden Wurzel- und Pflanzenfragmente mit einer Pinzette herausgesammelt. Mit den so erhaltenen Bodensuspensionen wurden sodann Experimente zur Untersuchung von CH_4 -Produktion und –Oxidation durchgeführt (Kap. 3.4.1). Ein Teil der Suspensionen wurde in Plastikröhrchen (Falcon tubes) bei -20°C für weitere Analysen gelagert.

3.7.3.2. Wurzelmaterial der Reispflanzen

Die bei der Aufteilung der Bodenfraktionen vorsichtig entfernten Reisswurzeln wurden mit Leitungswasser von anhaftenden Bodenpartikeln befreit und mit Küchenpapier trocken getupft. Anschliessend wurden sie in 2-3 cm langen Stücken sofort in Experimenten zur Untersuchung der Methanproduktion verwendet (Kap. 3.4.1.2).

3.7.3.3. Bodenporenwasserproben aus den Mikrokosmen

Zur möglichst schonenden Gewinnung von Porenwasserproben aus den Mikrokosmen wurden wie in Kap. 3.5.5.3 beschrieben einzelne Sammlerelemente aus Filtermembranen, Stahlkapillaren, Plastikschläuchen und Kanülen hergestellt. Einige Tage nach dem Aussetzen der Reiskeimlinge wurden zwei Sammler je Mikrokosmos vorsichtig eingesetzt. Der eine mit einer Länge von ca. 3 cm diente zur Beprobung des durchwuzelten Bereichs, des Oberbodens oder „Rhizosphäre“, während der längere (ca. 10 cm) den tieferen Bodenbereich (Unterboden) erfasste. Zur Stabilisierung wurden die Sammler an dünnen Pflanzstäben fixiert. In regelmäs-

sigen Zeitabständen wurden nun mit N₂-gespülten Vakuumröhrchen (Venoject tubes, 3 oder 10 ml) Porenwasserproben (2-3 ml) über die Schläuche und Kanülen entnommen. Die weitere Bearbeitung und Analyse erfolgte wie zuvor in Kap. 3.5.5.3 für die Feldproben beschrieben.

3.7.4. Messung von mikrobiellen Prozessen und wichtigen Umweltparametern

3.7.4.1. Methanproduktion und -Oxidation

In Bodensuspensionen sowie an frischen Reisswurzeln wurden wie in Kap. 3.4.1 beschrieben in vitro Produktions- und Oxidationsraten von Methan gemessen. Zusätzlich wurde die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{CH}_4$) des in den Bodensuspensionen und an den Reisswurzeln produzierten Methans mittels GCC-IRMS bestimmt (Kap. 3.2.6).

3.7.4.2. Verwendung radioaktiv markierter Substrate der Methanogenese

In Ansätzen mit Bodensuspensionen aus den Mikrokosmen wurden Versuche zur Bestimmung der an der Methanproduktion beteiligten Substrate durchgeführt. Hierzu wurden ¹⁴C-markiertes Bicarbonat und [2-¹⁴C]-Acetat eingesetzt. Diese Experimente und Analysen wurden genauso wie zuvor für die Proben aus den Feldversuchen erläutert durchgeführt (Kap. 3.4.2).

3.7.4.3. Methylfluorid als Inhibitor der acetoclastischen Methanogenese

Ergänzend zu den ¹⁴C-Methanproduktionsexperimenten wurde gasförmiges Methylfluorid (CH₃F) in einer Konzentration von 0,5 % des Gesamtansatzvolumens als spezifischer Inhibitor der Acetat-abhängigen Methanogenese verwendet (siehe auch Kap. 3.4.3.2).

3.7.4.4. CO₂- und H₂-Produktion

In den Ansätzen zur Bestimmung der CH₄-Produktionsraten wurde parallel die Produktion von CO₂ und H₂ verfolgt, indem in regelmässigen Abständen Gasproben entnommen und entsprechend gaschromatographisch analysiert wurden (Kap. 3.4.2.3).

3.7.4.5. N₂O-Emission nach Düngung der Mikrokosmen

Bei der Untersuchung des Einflusses von stickstoffhaltiger Düngung auf die Methanoxidation (Kap. 3.5.6) wurden während der Flussmessungen zusätzliche Proben genommen, um eventuelle, durch die starke Düngung verursachte, erhöhte N₂O-Emissionen zu messen. Hierzu wurden Serumflaschen (25 ml) mit Butylgummisepten und Aluminiumklemmkappen gasdicht verschlossen, mit N₂ gespült und anschliessend ein Vakuum angelegt. Über zwei mit einem kurzen Schlauchstück verbundene Kanülen („Doppelkanüle“) wurden nun in regelmässigen

Abständen durch ein Silikonseptum in der Flusskappe Gasproben entnommen. Bis zur gaschromatographischen Analyse auf N₂O (Kap. 3.2.1) wurden diese bei 4°C gelagert. Es wurden jeweils 5 Mikrokosmen parallel beprobt. Die N₂O-Emissionsrate wurde aus dem linearen Anstieg des Mischungsverhältnisses in der Gasphase über die Zeit berechnet und in [mg N₂O m⁻² h⁻¹] angegeben.

3.7.4.6. Entnahme von Gasproben aus dem Reispflanzenaerenchym

Am Ende des Experimentes wurden auch Gasproben aus dem Aerenchym der Reispflanzen genommen (nach 105 Tagen), wie zuvor in Kap. 3.5.5.4 für die Freilandexperimente beschrieben. Die Aerenchymproben wurden auf ihren CH₄-Gehalt und die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{CH}_4$) analysiert (Kap. 3.2.1 & 1.2.6).

3.7.4.7. Bestimmung von Eisen in Bodenproben

In den über die ganze Vegetationsperiode verteilt genommenen und bei -20°C gelagerten Bodenproben wurden die Konzentrationen von Fe(II) und Fe(III) ionenchromatographisch nach Extraktion mit 0,5 M HCl bestimmt (Kap. 3.2.4).

3.7.4.8. Biomassebestimmung

Für die Biomassebestimmung wurden in regelmäßigen Abständen Anzahl, Länge sowie Frisch- und Trockengewichte von Sprossen und Blättern der Reispflanzen bestimmt (s.a. Kap. 3.3.2).

3.7.4.9. Pflanzen- und Bodenmaterial zur Bestimmung der Isotopensignatur

Das nach der Biomassebestimmung erhaltene getrocknete Pflanzenmaterial wurde zur Bestimmung der Isotopensignatur des darin enthaltenen Kohlenstoffs fein zermahlen und in Plastikröhrchen aufbewahrt. Ebenso wurden Bodenproben aufbewahrt und entsprechend vorbereitet. Die Analyse wurde durch das Institut für Bodenkunde und Waldernährung (IBW) der Universität Göttingen durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1. Vorversuche mit Difluormethan als selektivem Hemmstoff der CH₄-Oxidation

Zur Bestimmung der CH₄-Oxidation in verschiedenen Ökosystemen wurden in früheren Untersuchungen unterschiedliche Methoden angewandt. So wurden durch die Entfernung des Sauerstoffs anoxische Bedingungen hergestellt, um die obligat aeroben Methanotrophen zu hemmen. Weiterhin kamen verschiedene Hemmstoffe zum Einsatz, z. B. Acetylen (C₂H₂) und Methylfluorid (CH₃F). Allerdings hatten diese Methoden oft auch Einfluss auf methanogene Prozesse im untersuchten System. So könnte es durch die Schaffung anoxischer Verhältnisse zu einer Stimulierung der Methanogenen und somit zu einer zu hohen CH₄-Emission gekommen sein. Die bisher verwendeten Hemmstoffe führten gleichzeitig zu einer Beeinträchtigung auch der methanogenen Mikroorganismen und somit zu einer Reduktion der CH₄-Emission (Janssen & Frenzel 1997, Frenzel & Bosse 1996, Oremland & Culbertson 1992).

Um derartige potentielle Beeinflussungen der Experimente auszuschliessen, wurde der neue gasförmige Hemmstoff Difluormethan (CH₂F₂), welcher sich in ersten Experimenten als selektiv für die CH₄-Oxidation erwiesen hatte (Miller et al. 1998, Matheson et al. 1997), in verschiedenen Versuchsansätzen getestet.

4.1.1. Ermittlung der optimalen Hemmstoffkonzentration

Zur Bestimmung der für die beabsichtigten Experimente optimalen Hemmstoffkonzentration wurde in Ansätzen mit Suspensionen aus Reisfeldboden der Einfluss verschiedener CH₂F₂-Mischungsverhältnisse in der Gasphase auf die CH₄-Oxidation untersucht (Kap. 3.4.3.3). Über die Änderung der Oxidationsraten konnte so eine Dosis-Wirkungskurve für CH₂F₂ erstellt werden (Abb. 4-1).

Es zeigte sich, dass schon mit 100 ppm_v CH₂F₂ eine 90-prozentige Hemmung der CH₄-Oxidation in den Bodensuspensionen erreicht wurde. Spätestens ab 1000 ppm_v trat eine vollständige Hemmung ein. Ein entsprechendes Experiment mit frischen Reisswurzeln zeigte schon bei weniger als 100 ppm_v CH₂F₂ eine vollständige Hemmung der CH₄-Oxidation. Diese höhere Sensitivität könnte auf der stärkeren Hemmstoff-Exposition der Methanotrophen an den Wurzeln im Vergleich zu den „geschützteren“ Mikroorganismen in den Bodensuspensionen beruhen.

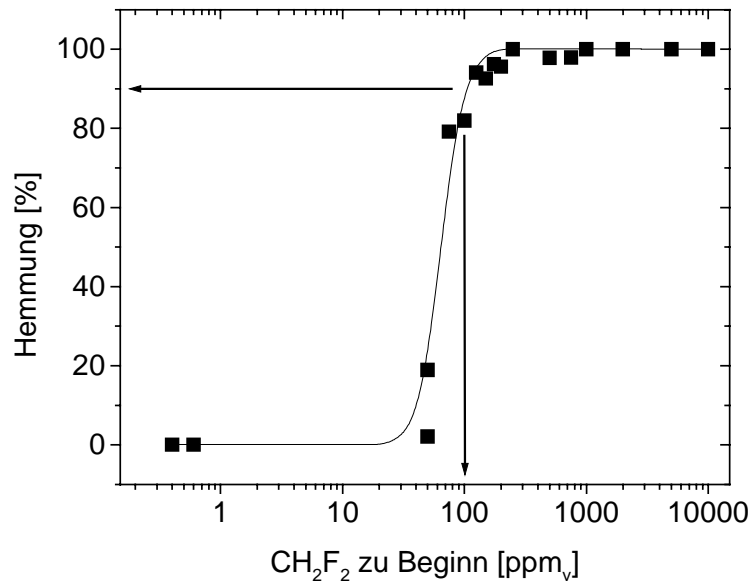


Abb. 4-1: Dosis-Wirkungskurve für den Einfluss verschiedener CH₂F₂-Mischungsverhältnisse der Gasphase auf die CH₄-Oxidation in Ansätzen mit Suspensionen aus Reisfeldboden (n = 1)

In einem parallel durchgeführten Experiment wurde der Einfluss von CH₂F₂ auf die CH₄-Produktion untersucht. Für einen Konzentrationsbereich bis zu 1 % CH₂F₂ in der Gasphase wurde keine Hemmung der Methanogenen beobachtet (P. Frenzel, persönliche Mitteilung). Aufgrund dieser Ergebnisse wurden zur Untersuchung der CH₄-Oxidation in-situ, im intakten System Reispflanze-Boden, Mischungsverhältnisse von 1000 ppm_v oder 10000 ppm_v (entsprechend 0,1 oder 1 %) CH₂F₂ in der Gasphase ausgewählt und weiter getestet.

4.1.2. Reversibilität der Hemmung der Methanoxidation durch Difluormethan

Hemmstoffe können auf unterschiedliche Weise wirken: irreversibel, d. h. die entsprechende Aktivität kann nicht wiederhergestellt werden, oder reversibel, d. h. die Organismen/Enzyme nehmen nach Entfernung des Hemmstoffes ihre Aktivität wieder auf. Es sollte deshalb auch für CH₂F₂ geprüft werden, ob die Wirkung auf die methanoxidierenden Mikroorganismen durch Entfernung wieder aufgehoben werden könnte (Kap. 3.4.3.3). Dies wäre wegen des hohen Arbeitsaufwandes besonders in Mikrokosmos-Experimenten sehr nützlich. Ausserdem liessen sich hierdurch eventuell erste Rückschlüsse auf den Wirkmechanismus von CH₂F₂ ziehen.

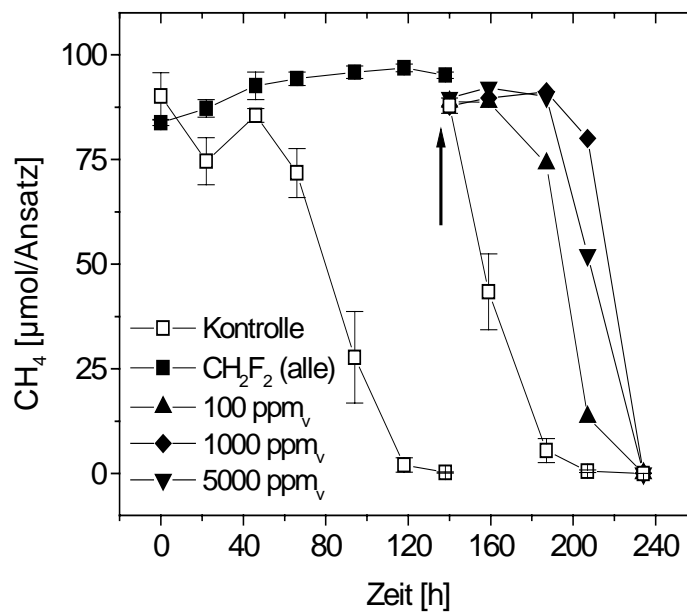


Abb. 4-2: Reversible Hemmung methanotropher Aktivität durch CH₂F₂ in Suspensionen mit Reisfeldboden (Mittelwert \pm SF, n = 3; ab 140 h: n = 1 für Ansätze mit CH₂F₂)
 Nach 140 h (Pfeil) wurde die Gasphase in allen Ansätzen und der Kontrolle erneuert, diesmal aber nur CH₄ und kein CH₂F₂ mehr zugesetzt. Wegen der unterschiedlichen Wiederaufnahme der CH₄-Oxidation wurden nun die zuvor gehemmten Ansätze einzeln dargestellt, welche zuvor aufgrund der durchgehend vollständigen Hemmung zusammen-gefasst worden waren. Die Bezeichnung in der Legende gibt hierbei das zu Beginn des gesamten Experimentes eingestellte CH₂F₂-Mischungsverhältnis der Gasphase wieder.

In Ansätzen mit Bodensuspensionen konnte gezeigt werden, daß die Wirkung von CH₂F₂ auf die CH₄-oxidierenden Bakterien in der Tat reversibel war (Abb. 4-2). Während in den Ansätzen mit vormals 100 ppm_v CH₂F₂ schon ca. 24 h nach Entfernen des Hemmstoffes ein Einsetzen methanotropher Aktivität beobachtet werden konnte, dauerte es bei zuvor 1000 bzw. 5000 ppm_v CH₂F₂ rund 48 h. Noch höhere Anteile an CH₂F₂ (1-2 %) führten zu einer entsprechend langsameren Reaktivierung, aber auch in diesen Ansätzen war die hemmende Wirkung reversibel. Dieses Ergebnis war besonders wichtig hinsichtlich der geplanten Experimente mit Mikrokosmen, da so eine Mehrfachnutzung möglich war. Aufgrund dieser scheinbar von der Hemmstoffmenge abhängenden Reversibilität der Wirkung von CH₂F₂ könnte man vermuten, daß es zu einer Bindung an die Methanmonooxygenase und somit zu einer (reversiblen) Inaktivierung kommt. Für die Aufklärung des Wirkmechanismus müssten aber weiterführende Experimente, z. B. mit Reinkulturen, durchgeführt werden.

4.1.3. Wirkung von Difluormethan in Reismikrokosmen

Nachdem die Wirksamkeit von CH_2F_2 in Bodensuspensionen und an Reiswurzeln gezeigt worden war, sollte nun die Wirkung unter in-situ Bedingungen getestet werden. Hierzu wurde in Reismikrokosmen (Kap. 3.4.3.3) die CH_4 -Emission ohne und anschliessend mit 1 % CH_2F_2 in der Gasphase verfolgt. Die Hemmung der CH_4 -Oxidation durch CH_2F_2 sollte zu einer höheren CH_4 -Emission führen.

Die Zugabe von 1 % CH_2F_2 zur Gasphase eines Mikrokosmos führte zu einem beschleunigten Anstieg des CH_4 -Mischungsverhältnisses im Vergleich zum Kontrollansatz (Abb. 4-3). Diese Änderung beruhte auf der Hemmung der CH_4 -Oxidation durch CH_2F_2 , so daß mehr produziertes CH_4 aus dem Boden in die Gasphase gelangen konnte. Durch dieses Experiment konnte ausserdem gezeigt werden, daß eine Hemmstoffmenge von 1 % der Gasphase des Versuchsansatzes auch unter in-situ Bedingungen ausreichend für eine deutliche Wirkung auf die CH_4 -Oxidation war. In allen späteren Freiland- und Mikrokosmosexperimenten zur in-situ Bestimmung der CH_4 -Oxidation wurde deshalb diese Hemmstoffmenge eingesetzt.

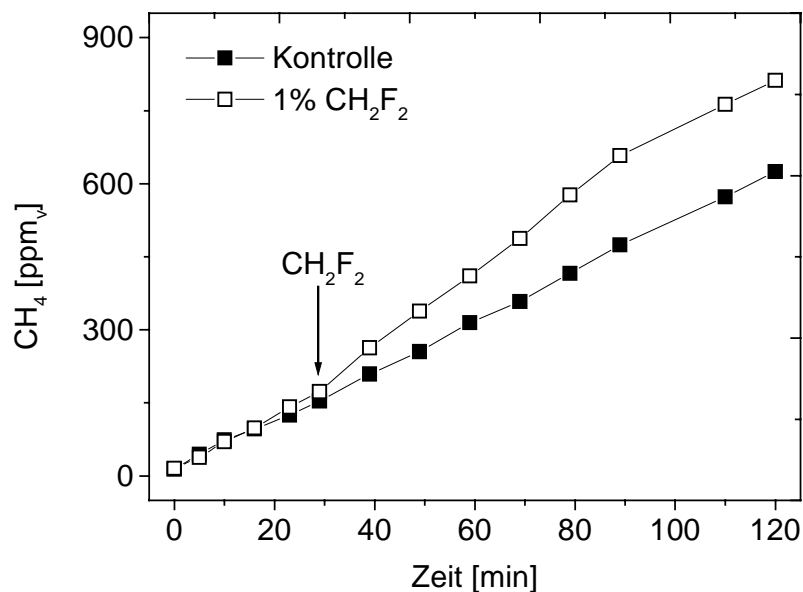


Abb. 4-3: Änderung des CH_4 -Mischungsverhältnisses in der Gasphase von Reismikrokosmen und der Einfluss von Difluormethan (1%) ($n = 1$)

4.2. Freilandexperimente

In dieser Arbeit wurde eine Kombination von Feld-, und Laborexperimenten durchgeführt, um so die Ergebnisse der in-situ Messungen in den Reisfeldern mit entsprechenden Laborversuchen ergänzen und erklären zu können. Die Emission von CH₄ aus Reisfeldern wird durch die mikrobiellen Prozesse CH₄-Produktion und CH₄-Oxidation, sowie durch Transportprozesse kontrolliert. Diese Prozesse wiederum werden von einer Vielzahl von "Umweltfaktoren", wie z. B. Temperatur, pH, Nährstoffverfügbarkeit und Pflanzenbewuchs beeinflusst. Es wurden deshalb zusätzlich zur CH₄-Emission auch methanogene und methanotrophe Aktivitäten im Reisfeldeboden bestimmt. Ferner wurden wichtige Umweltparameter, wie Klimadaten, Feldbearbeitung, Bodenporenwasser und Pflanzenbiomasse untersucht, um diese Messungen zu ergänzen.

4.2.1. Methanemissionsraten und in-situ Methanoxidation

Die weltweite Zunahme des Nassreisbaus hat Reisfelder zu einer der wichtigsten anthropogenen Quellen für atmosphärisches CH₄ gemacht (Minami & Neue 1994, Bachelet & Neue 1993). Aufgrund der Unterschiede in Bodentypen, verwendeten Reissorten, klimatischen Bedingungen und landwirtschaftlichen Methoden in den verschiedenen Reisangebieten kamen bisherige Untersuchungen der CH₄-Emission und der Beeinflussung durch die CH₄-Oxidation zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen. Dies erschwerte die Einschätzung der globalen Bedeutung von Reisfeldern für die CH₄-Konzentration in der Atmosphäre.

4.2.1.1. Saisonale Änderungen der Methanemission

So zeigten die in früheren Feldstudien gemessenen CH₄-Emissionen nicht nur Unterschiede zwischen den verschiedenen Anbaugebieten, sondern auch zwischen und in den einzelnen Messperioden (z.B. Khalil et al. 1998a & b, Chanton et al. 1997, Minami & Neue 1994, Nouchi et al. 1994, Sass et al. 1991, Schütz et al. 1989a). Die im Rahmen dieser Arbeit in zwei aufeinander folgenden Jahren durchgeführten Messungen der CH₄-Emissionsraten zeigten ebenfalls saisonale Unterschiede. So war die Emission 1999 wesentlich niedriger als 1998 (Abb. 4-4), mit durchschnittlich $9,45 \pm 2,1$ bzw. $21,44 \pm 3,1$ mg CH₄ m⁻² h⁻¹. Die Gesamtmengen an emittiertem CH₄ sind in Tabelle 4-1 dargestellt. Die geringen Unterschiede zwischen Gesamtemission und -produktion könnten durch die in der Tabelle nicht berücksichtigte CH₄-Produktion an Wurzeln erklärt werden. (Kap. 4.2.2.1.5).

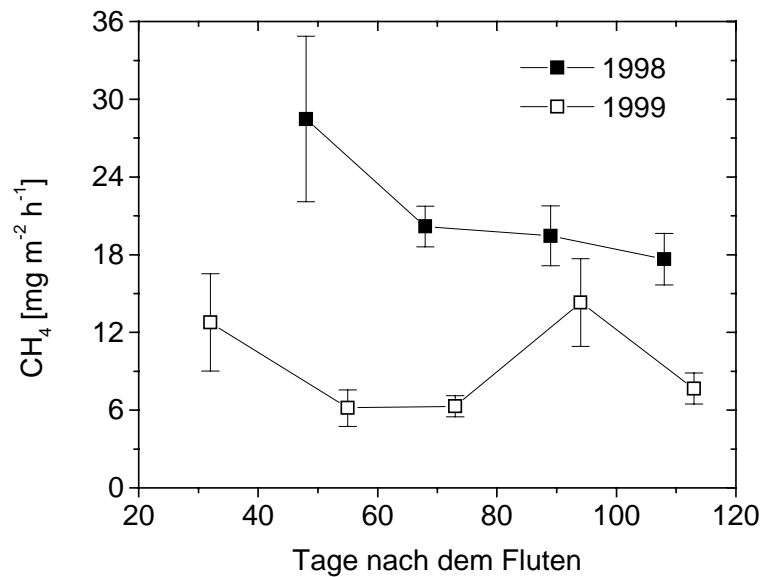


Abb. 4-4: Saisonale Unterschiede der CH₄-Emissionsraten des Versuchsreisfeldes in Vercelli, Italien, in den Jahren 1998 und 1999 (Mittelwert ± SF, n = 3-6)

Obwohl über die Saison verteilt nur relativ wenige Zeitpunkte untersucht worden waren, scheint es 1999 zwei Emissionsmaxima im Gegensatz zu nur einem in 1998 gegeben zu haben. Wesentlich detailliertere CH₄-Emissionsmessungen in demselben Versuchsfeld durch eine andere Arbeitsgruppe bestätigten die von uns beobachteten unterschiedlichen saisonalen Emissionsverläufe (Conen et al. 2000).

Tab. 4-1: Vergleich der Gesamtemission von CH₄ und der Gesamtmengen an im Boden produziertem CH₄ und CO₂ während der gefluteten Saison 1998 und 1999

Experiment:	[mol m ⁻²]
Gesamtproduktion an CO₂:	
1998	1,32
1999	5,77
Gesamtproduktion an CH₄:	
1998	2,4
1999	1,29
Gesamtemission von CH₄:	
1998	2,61
1999	1,37

4.2.1.2. Diurnale Änderung der Methanemissionsraten und der Einfluss der Bodentemperatur

In einigen Messreihen in Reisfeldern in verschiedenen Anbaugebieten wurden zusätzlich zu den saisonalen Änderungen der CH_4 -Emission auch diurnale Unterschiede beobachtet. Dies konnte auch in unserem Versuchsfeld gezeigt werden. Zu Beginn der Vegetationsperiode in 1998 wurden starke tageszeitliche Schwankungen der CH_4 -Emissionsraten beobachtet (Abb. 4-5). Die niedrigsten Raten wurden am frühen Morgen, die höchsten spätabends gemessen.

Im Laufe der Saison nahmen diese tageszeitlichen Unterschiede ab und die Emissionsraten stabilisierten sich auf einem höheren Niveau zwischen $20\text{--}40 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Ein Vergleich mit den ebenfalls gemessenen Temperaturen in den oberen Bodenschichten (0-10 cm) zeigte, daß die starken Schwankungen der Emissionsraten zu Beginn der Saison parallel zu Änderungen der Bodentemperatur verliefen (Abb. 4-6). Im weiteren Verlauf der Vegetationsperiode wurden die Schwankungen der Bodentemperaturen ebenso wie die der CH_4 -Emissionsraten geringer, eine Korrelation war nicht mehr zu erkennen. Dies lag vermutlich an der Bildung eines dichten Vegetationsdaches über dem Boden durch die wachsenden Reispflanzen. Durch diese Beschattung kam es zu einer Stabilisierung der Flutwasser- und Bodentemperaturen.

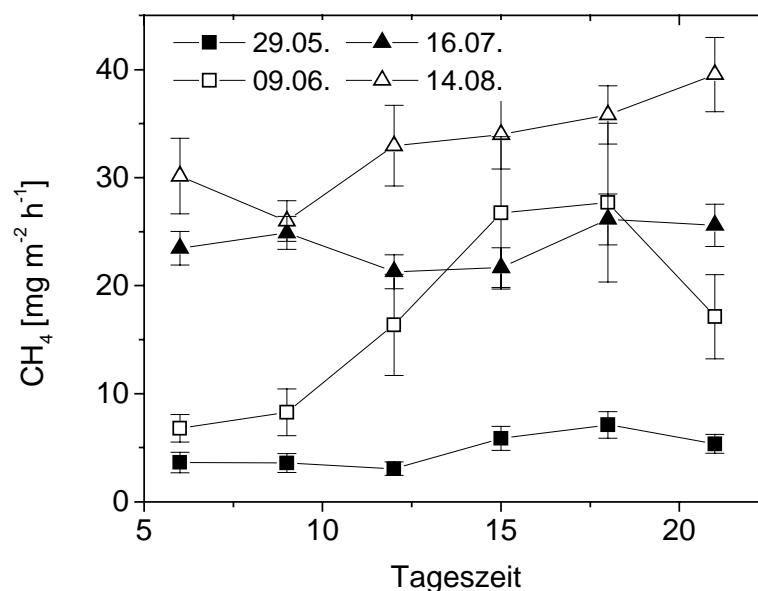


Abb. 4-5: Diurnale Änderungen der CH_4 -Emissionsrate im Versuchsfeld zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Fluten des Feldes (am 15.05.) in der Saison 1998 (Mittelwert \pm SF, n = 4)

Eine ähnlich deutliche tageszeitliche Korrelation zwischen der Bodentemperatur und der CH_4 -Emissionsrate in Reisfeldern wurde auch in anderen Untersuchungen gefunden (Chanton et al. 1997, Sass et al. 1991, Schütz et al. 1990a).

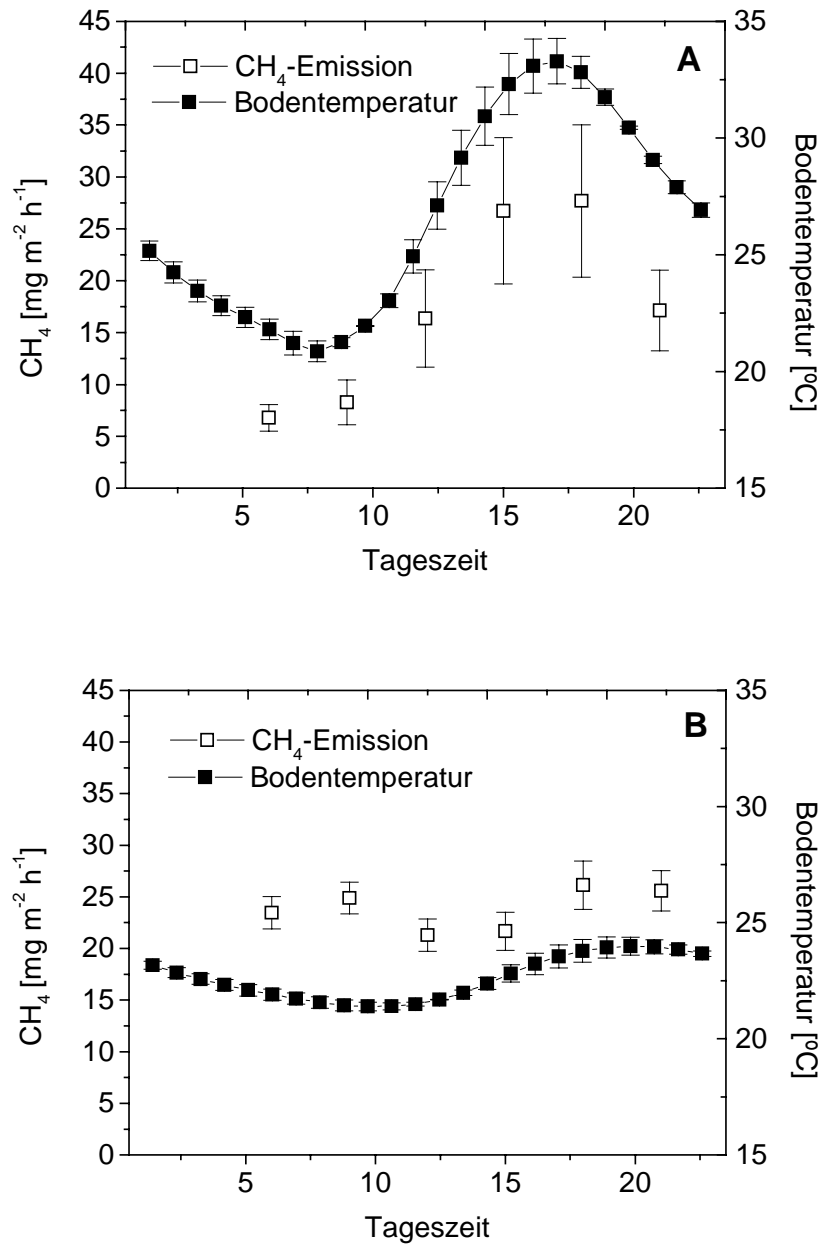


Abb. 4-6: Tageszeitliche Änderungen der Bodentemperatur (0-10 cm Tiefe) und der CH_4 -Emissionsraten 31 (A) und 93 (B) Tage nach dem Fluten des Feldes 1998 (Mittelwert \pm SF, n = 4)

4.2.1.3. Saisonale Änderung der Isotopensignatur des emittierten Methans

Die CH_4 -Emission in 1999 zeigte nicht nur saisonale Änderungen der Raten sondern auch in der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des Kohlenstoffs des emittierten CH_4 (Abb. 4-7). Diese Isotopensignatur wird von vielen verschiedenen Prozessen beeinflusst, so z.B. von der CH_4 -Oxidation, durch Transportprozesse und durch den relativen Anteil der verschiedenen CH_4 -Produktionswege (Bilek et al. 1999; Whiticar 1999; Bergamaschi 1997; Chanton et al. 1997, Tyler et al. 1997 & 1994).

Das zu Beginn der Messungen in 1999 emittierte CH_4 war relativ schwer, wurde aber im Verlauf der Saison stetig leichter. Bergamaschi (1997) beobachtete einen ähnlichen saisonalen Verlauf der Isotopensignatur des emittierten Methans bei Messungen in chinesischen Reisfeldern. Andere Untersuchungen hingegen zeigten keinen vergleichbaren Trend (Bilek et al. 1999; Tyler et al. 1997 & 1994). Aufgrund der vielen unterschiedlichen, die Isotopensignatur beeinflussenden Faktoren sind Vergleiche schwierig, sofern die kontrollierenden Prozesse nicht bekannt sind (siehe auch Diskussion).

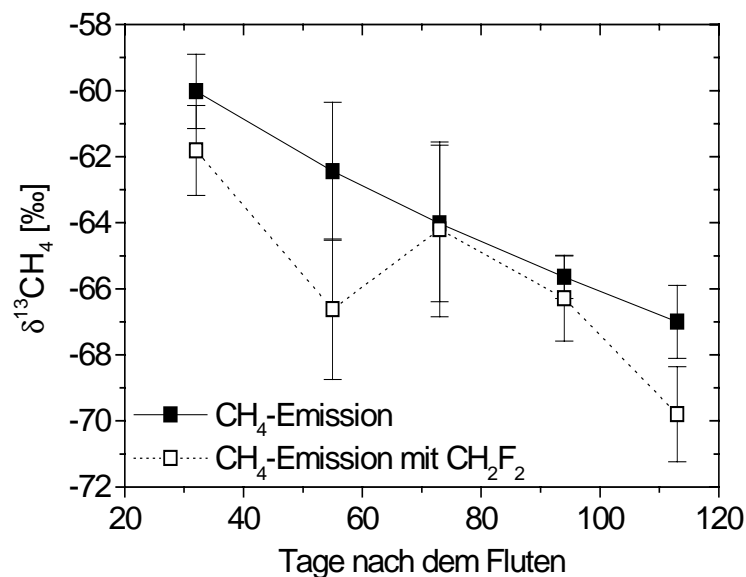


Abb. 4-7: Saisonale Änderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des emittierten Methans 1999, und der Einfluss von CH_2F_2 auf die Isotopensignatur (Mittelwert \pm SF, n = 3-6)

4.2.1.4. Einfluss der Methanoxidation auf die Methanemission im Reisfeld

In früheren Studien wurden infolge der Anwendung verschiedener Methoden sehr unterschiedliche Werte für den prozentualen Anteil der CH₄-Oxidation an der Gesamtemission gefunden. In dieser Arbeit wurde deshalb der Einfluss der CH₄-Oxidation auf die CH₄-Emission unter in-situ Bedingungen im Versuchsfeld mit einem neuen Hemmstoff der CH₄-Oxidation, CH₂F₂ (Kap. 4.1), untersucht. Im Reisfeld war die CH₄-Oxidation nur in einem kurzen Zeitraum zu Beginn der Vegetationsperiode 1999 von Bedeutung, ca. 40 % des produzierten CH₄ wurden oxidiert, bevor es in die Atmosphäre abgegeben werden konnte (Abb. 4-8). Im weiteren Verlauf nahm der Einfluss der CH₄-Oxidation jedoch rasch ab und war für den überwiegenden Teil der Saison nur noch von geringer Bedeutung. In der ersten Saison (1998) wurde ein ähnlich geringer Einfluss der CH₄-Oxidation auf die CH₄-Emission beobachtet, aufgrund der spät begonnenen Messungen könnte aber eine höhere Oxidationsaktivität zu Beginn der Saison nicht erfasst worden sein.

Zu Beginn der Saison wurden die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des emittierten CH₄ durch die Hemmung der CH₄-Oxidation mit CH₂F₂ wie zu erwarten war deutlich kleiner (Abb. 4-7). Mit der im Laufe der Saison abnehmenden Oxidationsaktivität verschwand auch dieser Unterschied. Nur zum letzten Messzeitpunkt war noch einmal ein Hinweis auf CH₄-Oxidation zu erkennen.

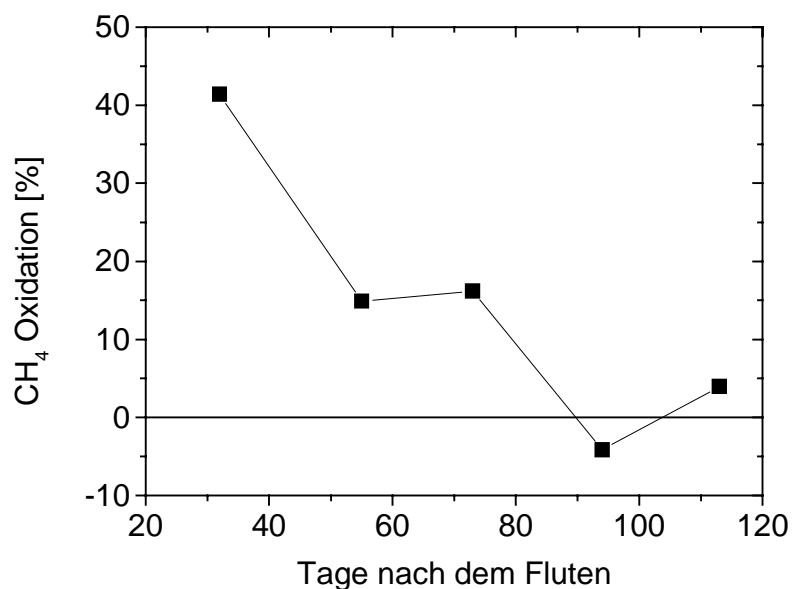


Abb. 4-8: Saisonale Änderung des prozentualen Anteils der CH₄-Oxidation* an der CH₄-Emission im Versuchsfeld 1999 (Mittelwert von 3-6 Messungen) *Gemessen mit CH₂F₂ als spezifischem Hemmstoff der CH₄-Oxidation (Kap. 3.4.3.3) und berechnet aus der Differenz zwischen der Emission mit und ohne Hemmstoff.

4.2.2. Mikrobielle Prozesse im Reisfeldboden

Neben den in-situ Messungen zur CH_4 -Emission und $-\text{Oxidation}$ bestand ein weiterer wesentlicher Teil dieser Arbeit in den in-vitro Untersuchungen wichtiger mikrobieller Prozesse in frischen Proben aus dem Versuchsreisfeld. Zu diesen gehörten sowohl die direkt die Emission beeinflussenden Prozesse CH_4 -Produktion und $-\text{Oxidation}$, als auch ergänzende wie die CO_2 - und H_2 -Produktion. Wie in Kap. 3.5.1.1 beschrieben, wurde der Reisfeldboden für diese Experimente in zwei Schichten unterteilt, um Unterschiede in der Durchwurzelung zu berücksichtigen. Oberboden bezeichnet hier die stark durchwurzelte obere, Unterboden die geringer durchwurzelte untere Bodenschicht.

4.2.2.1. Methanogene Prozesse im Reisfeld

4.2.2.1.1. Methanproduktionsraten in Bodensuspensionen

Mit der wichtigste Prozess in Bezug auf die CH_4 -Emission ist die CH_4 -Produktion. Diese setzt im Reisfeldboden kurz nach dem Fluten des Feldes ein, sobald der restliche Sauerstoff verbraucht und das Redoxpotential im Boden ausreichend niedrig ist. In den beiden Feldkampagnen 1998 und 1999 wurden deshalb die CH_4 -Produktionsraten (MPR) in Suspensionen mit frischem Reisfeldboden gemessen und die Änderungen über die Saison verfolgt (Abb. 4-9).

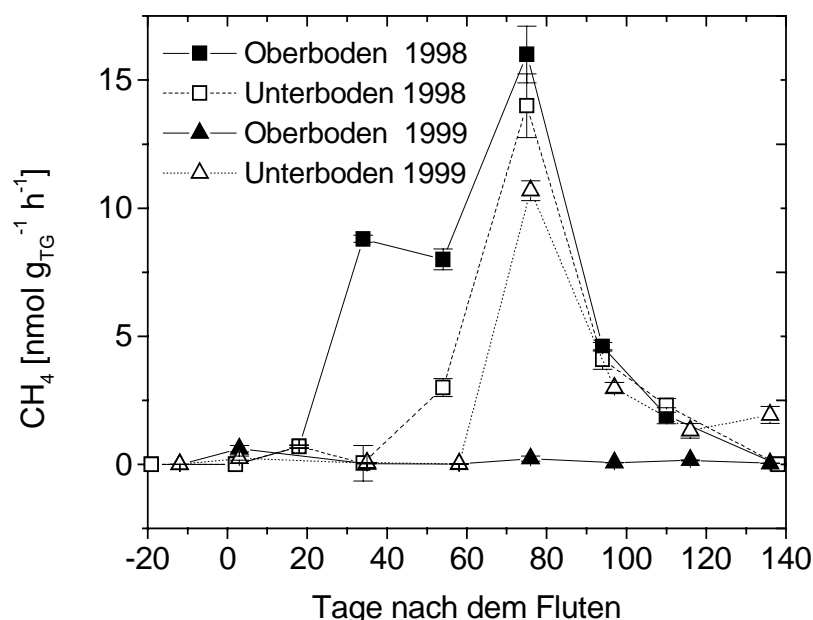


Abb. 4-9: Saisonale Änderung der CH_4 -Produktionsraten in Suspensionen mit Reisfeldboden* in den Jahren 1998 & 1999 (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Der Oberboden umfasst die Bodenschicht von 0-3 cm Tiefe, der Unterboden die von 3-10 cm (Kap. 3.5.1.1).

Zu Beginn der Saison stiegen die MPR in beiden Jahren langsam an. Die höchsten Raten wurden ca. 80 Tage nach dem Fluten des Feldes am Ende der Wachstumsphase der Reispflanzen erreicht (siehe Tab. 4-4 für wichtige Biomasseparameter). In der Saison 1998 waren die MPR mit $15 \text{ nmol CH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}_{\text{TG}}^{-1}$ in Ober- und Unterboden wesentlich höher als 1999, wo nur 0,5 bzw. $11 \text{ nmol CH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}_{\text{TG}}^{-1}$ für Ober- und Unterboden gemessen wurden. Auch war der Anstieg der MPR in 1999 verglichen mit 1998 deutlich verzögert.

Nach Erreichen dieser maximalen Werte nahmen die MPR zum Ende der Saison hin wieder ab. Die gemessenen MPR passten sehr gut zu den ebenfalls sehr unterschiedlichen CH_4 -Emissionsraten in den beiden Jahren (Abb. 4-4). In Tab. 4-1 sind die Gesamtmengen an produziertem CH_4 der Gesamtemission gegenübergestellt.

4.2.2.1.2. H_2/CO_2 als Substrat der Methanogenese

Bei der Methanogenese in Reisfeldboden unterscheidet man zwei wichtige Produktionswege: die H_2/CO_2 -abhängige und die Acetat-abhängige CH_4 -Produktion. In beiden Feldkampagnen wurde deshalb der Beitrag der H_2/CO_2 -abhängigen Methanogenese in Bodensuspensionen untersucht, wobei verschiedene Methoden angewandt wurden. In der Saison 1998 wurde radioaktiv markiertes Bicarbonat als Substrat eingesetzt (Kap. 3.4.2.1), während 1999 CH_3F als selektiver Hemmstoff der acetoclastischen CH_4 -Produktion verwendet wurde (Kap. 3.4.3.2). Letztere Methode erlaubt Untersuchungen auch noch bei geringen Produktionsraten. Die Verwendung von radioaktiv markiertem Bicarbonat war 1999 nur zu einigen Zeitpunkten möglich, als die Produktionsraten ausreichend hoch waren.

Die Experimente ergaben für die beiden Jahre einen unterschiedlichen saisonalen Verlauf für den Beitrag der methanogenen Produktionswege. In beiden Jahren war der Anteil der H_2/CO_2 -abhängigen Methanogenese im Anschluss an das Fluten des Feldes relativ hoch (>20 %). In der Saison 1998 nahm dieser dann auf ca. 10 % ab, Acetat-abhängige Methanogenese war der dominierende Prozess (Abb. 4-10). Dies wurde durch die zur selben Zeit stark absinkenden RI-Werte bestätigt (siehe unten). Zur Mitte der Vegetationsperiode (50-70 Tage) bekam die H_2/CO_2 -abhängige Methanogenese wieder mehr Bedeutung und war bis zum Trockenfallen des Feldes mit ca. 30 % an der gesamten CH_4 -Produktion beteiligt. Die acetoclastische Methanogenese war mit durchschnittlich >70 % über die ganze Saison 1998 gesehen der dominierende Prozess.

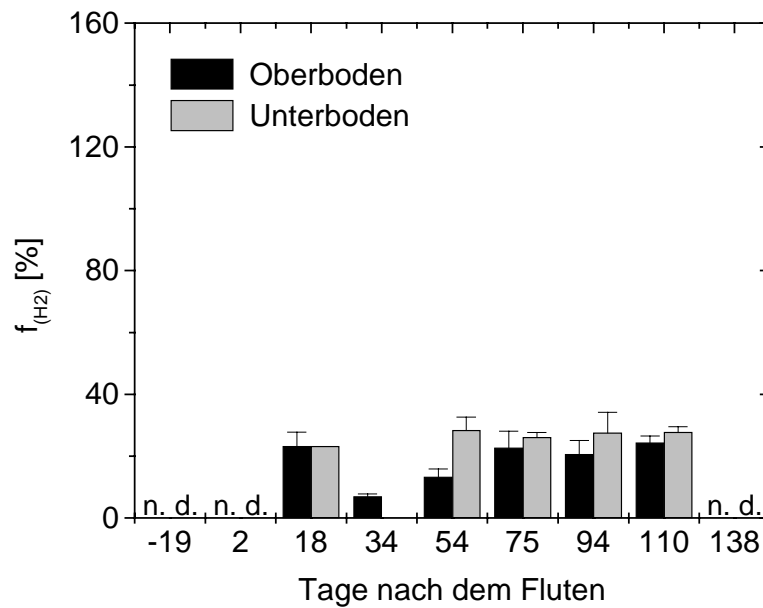


Abb. 4-10: Saisonale Änderung des CH_4 -Anteils (f_{H_2}) produziert aus H_2/CO_2 in Suspensionen mit Reisfeldboden 1998, bestimmt über die Umwandlung von ^{14}C -Bicarbonat zu $^{14}CH_4$ (Mittelwert \pm SF, $n = 3$) n. d. : nicht detektierbar. "-" bezeichnet Tage vor dem Fluten

In der Saison 1999 war im Gegensatz zu 1998 die H_2/CO_2 -abhängige Methanogenese für den Großteil der Vegetationsperiode der dominierende methanogene Prozess (Abb. 4-11), trotz der wesentlich niedrigeren MPR. Dies war besonders deutlich im stärker durchwurzelten Oberboden und wurde wiederum durch die diesmal durchgängig hohen RI-Werte bestätigt (siehe unten). Erst ca. 75 Tage nach dem Fluten wurde der Anteil der acetoclastischen Methanogenese größer und erreichte Werte von $>70\%$ der Gesamtmethanproduktion.

Dieser Anstieg der Acetat-abhängigen CH_4 -Produktion gegen Ende der Saison wurde sowohl in den Experimenten mit CH_3F als Hemmstoff, als auch in denen mit radioaktiv markiertem Bicarbonat als Substrat beobachtet. Die letzteren Versuche ergaben für den Unterboden nach 76 und 116 Tagen nach dem Fluten und im Oberboden ebenfalls nach 116 jeweils $19 \pm 2\%$ für die hydrogenotrophe Methanogenese.

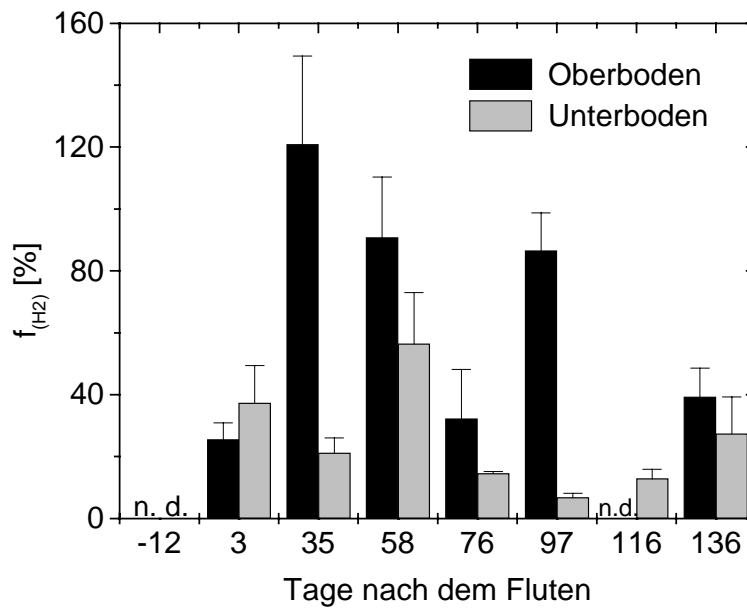


Abb. 4-11: Saisonale Änderung des Anteils von CH_4 (f_{H_2}) produziert aus H_2/CO_2 in Suspensionen mit Reisfeldboden 1999, bestimmt mit CH_3F (0,5 %) als selektivem Hemmstoff der acetoclastischen Methanogenese (Mittelwert \pm SF, $n = 3$)
n. d. : nicht detektierbar. "-" bezeichnet Tage vor dem Fluten

4.2.2.1.3. Umsatz von $[2-^{14}C]$ -Acetat in Bodensuspensionen – Bestimmung von RI-Werten

Ein weiteres wichtiges Experiment zur Untersuchung von mikrobiellen Prozessen ist die Bestimmung des Respiratorischen Indexes (RI-Wert, Kap. 3.4.2.2), für den Umsatz von $[2-^{14}C]$ -Acetat. Hohe RI-Werte sind charakteristisch für einen hauptsächlich oxidativen Acetatstoffwechsel, während niedrige RI-Werte auf einen überwiegend methanogenen Umsatz hinweisen.

Die niedrigsten RI-Werte und somit der höchste methanogene Acetatumsatz wurden in beiden Jahren nach 80 Tagen, am Ende der Pflanzenwachstumsphase gefunden (Abb. 4-12), zur gleichen Zeit wie die höchsten CH_4 -Produktionsraten (Abb. 4-9). In der Saison 1998 lagen die niedrigsten RI-Werte sowohl im Ober- als auch im Unterboden bei 20 %. Ähnlich niedrige Werte wurden auch in einigen früheren Arbeiten während der Phasen mit hoher methanogener Aktivität gefunden (Rothfuss & Conrad 1993; Schütz et al. 1989b).

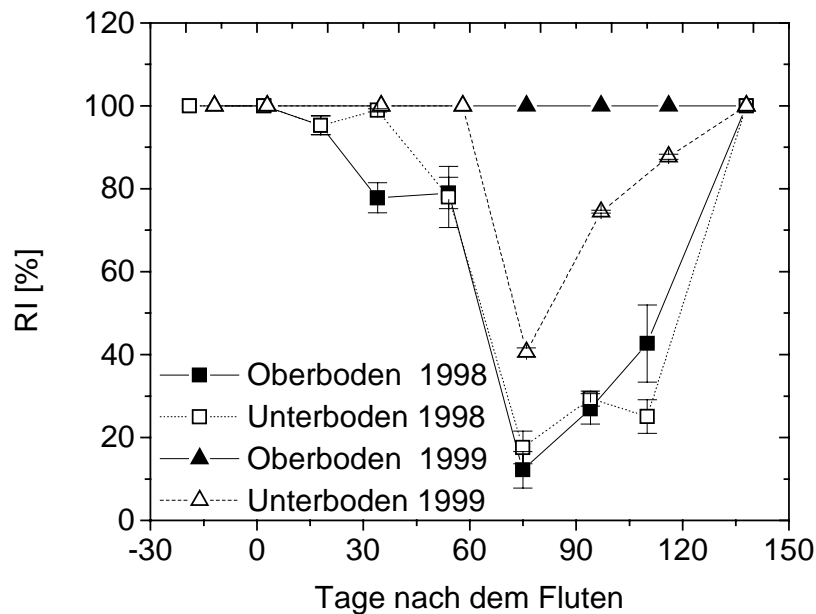


Abb. 4-12: Saisonale Änderung der RI-Werte* für den Umsatz von [2-¹⁴C]-Acetat in Bodensuspensionen in den Jahren 1998 & 1999 (Mittelwert ± SF, n = 3). *Der Respiratorische Index (RI) beschreibt den Prozentsatz der ¹⁴C-markierten Methylgruppen des zugegebenen [2-¹⁴C]-Acetats, welcher oxidativ zu ¹⁴CO₂ umgesetzt und nicht zu ¹⁴CH₄ reduziert worden ist. Hohe RI-Werte sind charakteristisch für einen hauptsächlich oxidativen Acetatstoffwechsel, während niedrige RI-Werte auf einen überwiegend methanogenen Umsatz hinweisen.

In der Saison 1999 waren die RI-Werte deutlich höher, die niedrigsten Werte für den Unterboden betragen ca. 40 %. Der stark durchwurzelte Oberboden zeigte nahezu keinen methanogenen Acetatumsatz, die RI-Werte lagen durchgehend bei 100 %. Der Abbau von Acetat erfolgte ausschliesslich über oxidative Stoffwechselwege. Parallel zu dem späteren Anstieg der MPR (Abb. 4-9) war auch das Absinken der RI-Werte 1999 gegenüber 1998 deutlich verzögert.

4.2.2.1.4. Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von in Bodensuspensionen produziertem Methan und Kohlendioxid

Die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des produzierten CH₄ wird wesentlich von dem relativen Beitrag der verschiedenen CH₄-Produktionswege zur Gesamtproduktion beeinflusst (Whiticar 1999). So führt ein grosser Anteil Acetat-abhängiger Methanogenese zu der Produktion von schwererem, mehr ¹³CH₄ enthaltenden CH₄, während es bei überwiegend hydrogenotropher Methanogenese leichter würde.

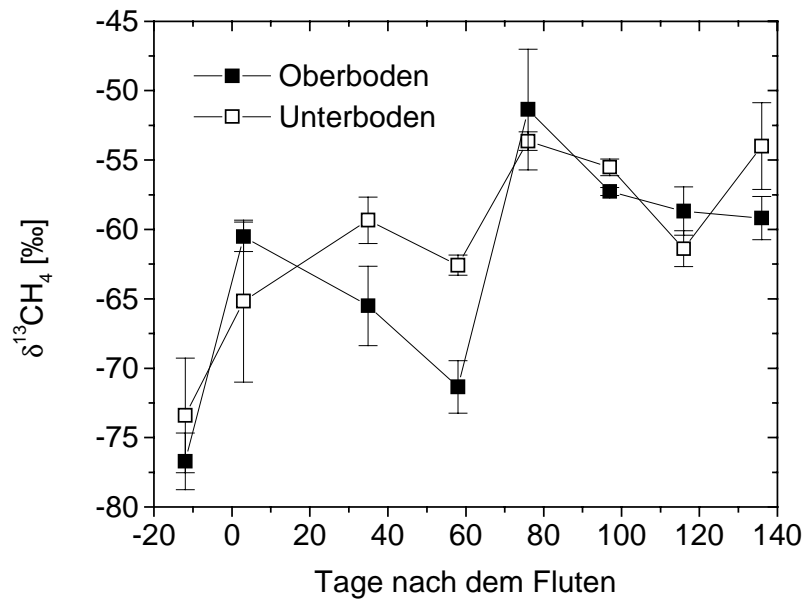


Abb. 4-13: Saisonale Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des in Bodensuspensionen produzierten Methans (1999) (Mittelwert \pm SF, $n = 3$)

Es wurden deshalb über die gesamte Vegetationsperiode 1999 die Isotopensignaturen des in den Bodensuspensionen produzierten CH_4 und CO_2 bestimmt (Kap. 3.4.1.1). Zu Beginn der Saison war das produzierte CH_4 in beiden Bodenschichten mit -70 ‰ relativ leicht (Abb. 4-13). Zunächst nur im Unterboden, nach 70 Tagen dann auch im Oberboden, wurde das produzierte CH_4 deutlich schwerer, die Werte stiegen auf -55 bis -60 ‰ an.

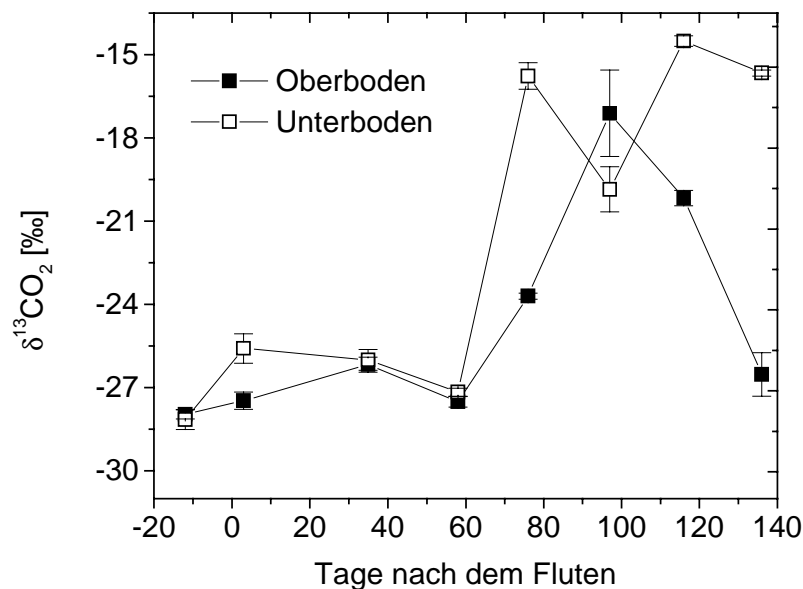


Abb. 4-14: Saisonale Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des in Bodensuspensionen produzierten Kohlendioxids (1999) (Mittelwert \pm SF, $n = 3$)

Dieser Anstieg verlief parallel zur Zunahme der CH₄-Produktionsraten (Abb 4-9) sowie des Rückganges der H₂/CO₂-abhängigen Methanogenese (Abb. 4-11) und der RI-Werte (Abb. 4-12). Das in den Bodensuspensionen produzierte CO₂ war zu Beginn der Saison 1999 mit ca. -27 ‰ ebenfalls relativ leicht (Abb. 4-14). In der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode wurde es dann besonders im Unterboden deutlich schwerer, da die Methanogenen bevorzugt ¹²CO₂ umsetzten. Zudem wurden auch die δ¹³C-Werte des Acetats schwerer. Dies führte dann vermutlich zu dem zeitgleichen Anstieg der Werte für das produzierte CH₄ (Abb. 4-13). Nach dem Trockenfallen des Feldes wurde das CO₂ im Oberboden rasch wieder ähnlich leicht wie vor dem Fluten.

4.2.2.1.5. Methanproduktionsraten an Reiswurzeln

Vor einigen Jahren wurde auch an Reiswurzeln CH₄-Produktion entdeckt (Conrad & Klose 1999b, Lehmann-Richter et al. 1999, Frenzel & Bosse 1996). Deshalb wurden in dieser Arbeit in beiden Jahren die CH₄-Produktionsraten an frischen Reiswurzeln aus dem Versuchsfeld und ihre Änderung während der Vegetationsperiode untersucht (Kap. 3.4.1.2).

Der saisonale Verlauf der Raten war in beiden Jahren relativ ähnlich, diese blieben über die Saison weitgehend stabil bei 100-150 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ (Abb. 4-15). Die höchsten Werte mit 450 und 650 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ für 1998 und 1999 wurden ca. 80 Tage nach dem Fluten erreicht, zur selben Zeit wie die höchsten Produktionsraten in den Bodenproben (Abb. 4-9).

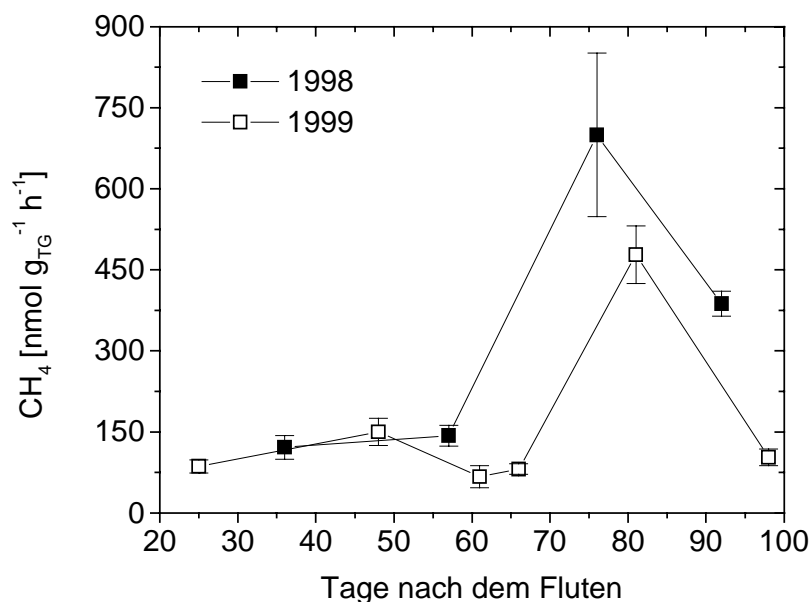


Abb. 4-15: Saisonale Änderung der CH₄-Produktionsraten an frischen Reiswurzeln in den Jahren 1998 & 1999 (Mittelwert ± SF, n = 3)

4.2.2.1.6. Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) des an Reiswurzeln produzierten Methans und Kohlendioxids

Wie oben bereits für die Bodenproben beschrieben, wurde auch die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des an Reiswurzeln produzierten Methans über die Saison 1999 bestimmt, um so eventuell Informationen über den Anteil der verschiedenen Produktionswege sowie zur Interpretation der Ergebnisse für das emittierte CH_4 zu bekommen (Kap. 3.4.1.2).

Die Isotopensignatur zeigte einen anderen Verlauf als das in den Bodensuspensionen produzierte CH_4 . Zu Beginn der Saison war das gebildete CH_4 mit ca. -59‰ relativ leicht, zur Mitte der Vegetationsperiode hin wurde es aber schwerer (Tab. 4-2). Anschliessend wurde es dann, im Gegensatz zu den Bodenproben, deutlich leichter, die Werte gingen auf -64 bis -66‰ zurück.

Ebenfalls untersucht wurde die Isotopensignatur des an den Reiswurzeln produzierten CO_2 (Tab. 4-2). Dieses war in der ersten Hälfte der Saison 1999 mit -3 bis -8‰ relativ schwer, wurde im weiteren Verlauf der Vegetationsperiode aber deutlich leichter. Die in der zweiten Hälfte der Saison gemessenen Werte lagen um -18 bis -20‰ . Der Verlauf der Kurve und auch der Bereich der gefundenen Werte waren - wie auch für das CH_4 - entgegengesetzt zu denen der Bodenproben (Abb. 4-14).

Tab. 4-2: Saisonale Änderung der Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) des an frischen Reiswurzeln produzierten CH_4 und CO_2 (1999) (Mittelwert \pm SF, n = 4)

Tage nach dem Fluten	$\delta^{13}\text{CH}_4$ [‰]	$\delta^{13}\text{CO}_2$ [‰]
25	$-58,97 \pm 1,89$	$-7,9 \pm 0,03$
48	$-52,99 \pm 1,39$	$-3,36 \pm 0,33$
65	$-57,20 \pm 0,32$	$-6,96 \pm 1,11$
81	$-66,04 \pm 1,78$	$-17,24 \pm 0,10$
98	$-64,47 \pm 1,99$	$-22,71 \pm 0,34$

4.2.2.2. Saisonale Änderung der CH₄-Oxidation im Boden und an Reiswurzeln

Ein weiterer wichtiger mikrobieller Prozess, welcher direkt die CH₄-Emission beeinflusst, ist die CH₄-Oxidation. Wie zuvor in Kap. 4.2.1.4 beschrieben, wurde in einer Reihe von Experimenten der Einfluss der CH₄-Oxidation auf die Emission in-situ, im Reisfeld, durch den Einsatz eines selektiven Hemmstoffes untersucht. Zusätzlich wurden in beiden Jahren die potentiellen methanoxidierenden Aktivitäten in Reisfeldboden und an Reiswurzeln in-vitro bestimmt.

4.2.2.2.1. Änderung der Methanoxidationsraten in Suspensionen aus Reisfeldboden

In regelmäßigen Abständen wurde in den Jahren 1998 und 1999 die potentielle methanotrophe Aktivität in Bodensuspensionen aus Feldproben untersucht. Bei diesen Messungen wurde 1999 zusätzlich zwischen initialen und induzierten Oxidationsraten unterschieden (Kap. 3.4.1.1), was in der Saison 1998 wegen der geringen Zahl an Messpunkten nicht möglich gewesen war.

Die potentiellen Methanoxidationsraten (MOR) zeigten in beiden Jahren einen ähnlichen saisonalen Verlauf, mit den höchsten Raten zu Beginn der Saison gefolgt von einem Absinken zum Ende hin. Während der Feldkampagne 1998 betrug die höchsten Werte 220 und 160 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ für Ober- und Unterboden (Abb. 4-16).

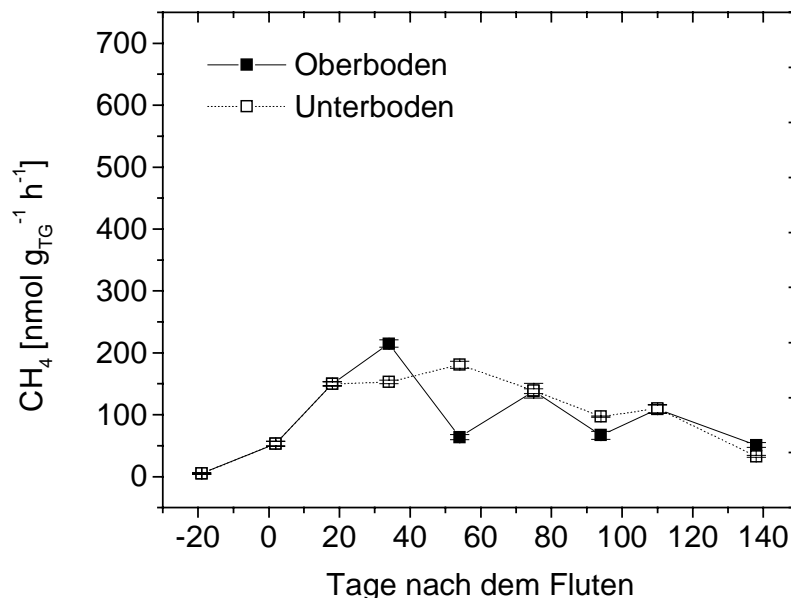


Abb. 4-16: Saisonale Änderung der potentiellen CH₄-Oxidationsraten (MOR) in Bodensuspensionen 1998 (Mittelwert ± SF, n = 3)

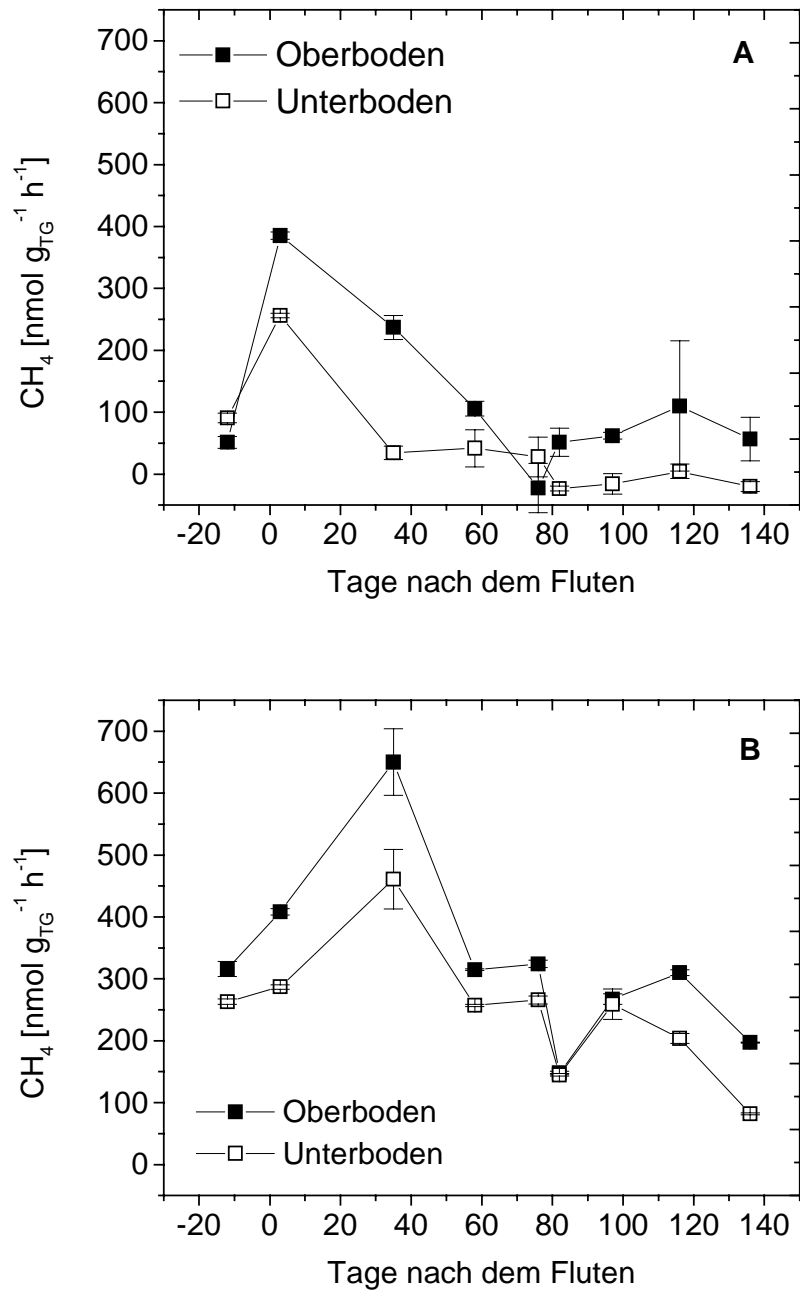


Abb. 4-17: Saisonale Änderung der initialen* (A) und induzierten (B) potentiellen CH₄-Oxidationsraten in Bodensuspensionen 1999** (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Die initiale Oxidationsrate beschreibt die Oxidationsaktivität während der „Lag-Phase“, in der Zeit vom Beginn des Experimentes bis zum Einsetzen der induzierten Oxidationsraten. **Die induzierte Oxidationsrate beschreibt die hohe Oxidationsaktivität im Anschluß an die „Lag-Phase“ mit der sogenannten initialen Rate (Kap. 3.4.1.1).

Sowohl die initialen als auch die induzierten MOR zeigten einen ähnlichen saisonalen Verlauf wie in der vorangegangenen Saison, mit den höchsten Werten 10-30 Tage nach dem Fluten und einem anschließenden Absinken der Werte zum Ende der Vegetationsperiode. Die

höchsten initialen Raten betragen 400 und 250 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ für Ober- und Unterboden (Abb. 4-17 A). Die induzierten MOR waren durchweg höher, mit Höchstwerten von 650 und 450 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ für Ober- und Unterboden (Abb.4-17 B). Generell waren die MOR in der Saison 1999 höher als in 1998, was durch eine bessere Sauerstoff- oder Nährstoffversorgung verursacht worden sein könnte.

4.2.2.2. „Lag-phasen“ der Methanoxidation in Bodensuspensionen

Die sogenannte Lag-Phase beschreibt die Zeit der initialen CH₄-Oxidationsraten, vom Beginn des Experiments bis zum Einsetzen der hohen, induzierten Raten (Kap. 3.4.1.1). Im noch ungefluteten Feldeboden waren die Lag-Phasen in beiden Bodenschichten mit bis zu 23 h relativ lang (Abb. 4-18). Nach dem Fluten sanken diese rasch auf Werte zwischen 2-5 h ab, um dann in der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode (ab ca. 80 Tagen) wieder leicht anzusteigen. Es wurden keine nennenswerten Unterschiede zwischen dem stark durchwurzelten Oberboden und dem weniger durch Pflanzen beeinflussten Unterboden gefunden.

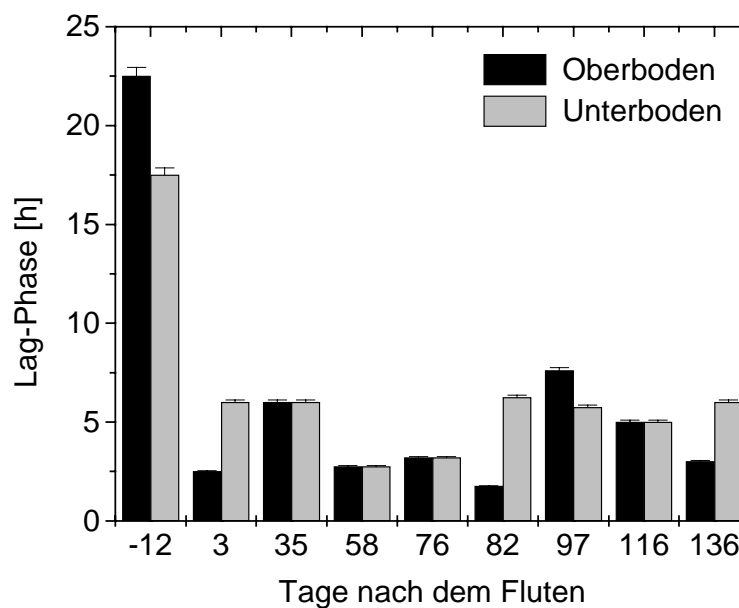


Abb. 4-18: Saisonale Änderung der Zeitspanne* bis zum Einsetzen der hohen CH₄-Oxidationsaktivität in Bodensuspensionen 1999 (Mittelwert ± SF, n = 3) *Diese sogenannte Lag-Phase beschreibt die Zeit der initialen CH₄-Oxidationsraten, vom Beginn des Experiments bis zum Einsetzen der hohen, induzierten Raten (Kap. 3.4.1.1).

4.2.2.3. Saisonale Änderung der CH₄-Oxidation an frischen Reiszurzel

Ein weiteres, für die CH₄-Oxidation wichtiges Bodenkompartment im Reisfeld sind die Wurzeln der Reispflanzen, an denen der nötige Sauerstoff über das Aerenchym der Pflanzen bereitgestellt wird (Gilbert & Frenzel 1995, Armstrong 1971). Deshalb wurden in beiden Jahren auch die saisonalen Änderungen der potentiellen CH₄-Oxidationsraten (MOR) an Reiszurzel gemessen, wobei wieder zwischen initialen und induzierten Raten unterschieden wurde (Kap. 3.4.1.1).

Die gemessenen MOR in beiden Jahren waren vom saisonalen Verlauf und der Höhe der Werte her relativ ähnlich (Abb. 4-19). Die induzierten MOR lagen sowohl 1998 als auch 1999 um 1500 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹, während die initialen Raten mit 100-200 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ deutlich niedriger waren. Einzige Ausnahme waren die Werte der ersten Messungen 1999, wo sowohl die Initial- als auch die induzierte Rate mit 1500 bzw. 5600 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ ausserordentlich hoch waren. Da aber 1998 mit den Messungen erst relativ spät begonnen worden war, könnten entsprechend hohe Raten zu Beginn der Vegetationsperiode nicht erfasst worden sein. In der zweiten Hälfte der Saison in beiden Jahren fielen dann besonders die induzierten MOR zum Ende hin deutlich ab.

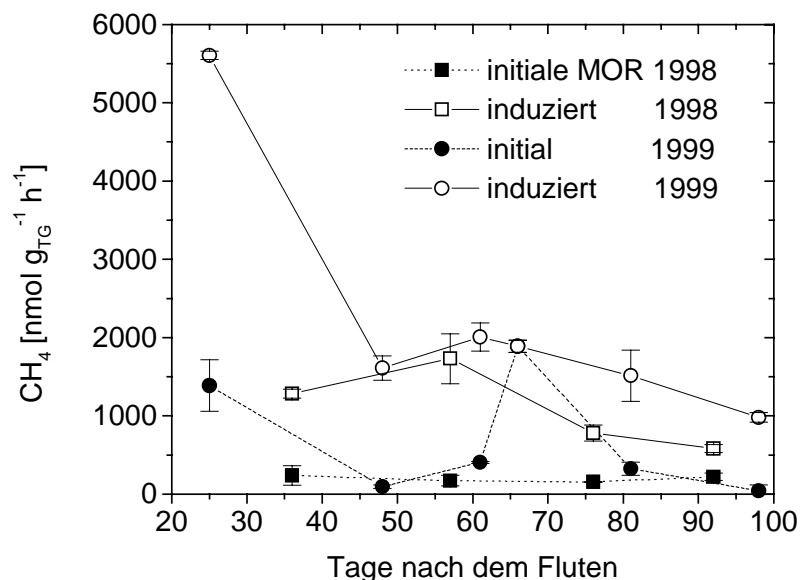


Abb. 4-19: Saisonale Änderung der initialen* und induzierten potentiellen CH₄-Oxidationsraten (MOR) an Reiszurzel 1998 & 1999** (Mittelwert ± SF, n = 3) *Die initiale Oxidationsrate beschreibt die Oxidationsaktivität während der „Lag-Phase“, in der Zeit vom Beginn des Experimentes bis zum Einsetzen der induzierten Oxidationsraten. **Die induzierte Oxidationsrate beschreibt die hohe Oxidationsaktivität im Anschluß an die „Lag-Phase“ mit der sogenannten initialen Rate (Kap. 3.4.1.1).

4.2.2.2.4. „Lag-phasen“ der Methanoxidation an Reiswurzeln

In den ersten Wochen nach dem Fluten waren die Lag-Phasen in der Saison 1999 am kürzesten (Abb. 4-20), d. h. das Einsetzen der induzierten CH_4 -Oxidationsaktivität erfolgte sehr bald nach Beginn der Messungen (Kap. 3.4.1.1). Im Laufe der Vegetationsperiode stiegen die Werte kontinuierlich an, von ca. 2,5 h nach 25 auf über 20 h 81 Tagen nach dem Fluten des Feldes. Der leichte Rückgang der Lag-Phasen am Saisonende könnte durch eine erhöhte Nährstoffversorgung aufgrund des zunehmenden Abbaus der alternden Reiswurzeln verursacht worden sein.

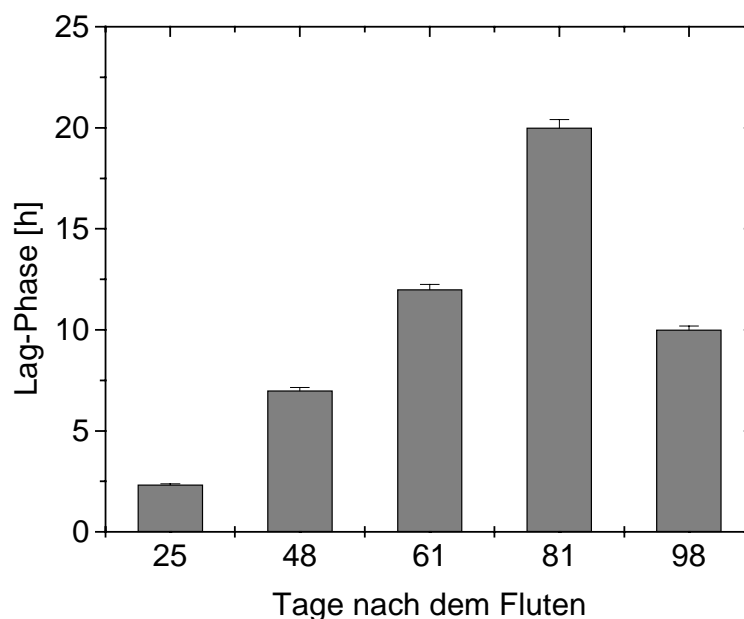


Abb. 4-20: Saisonale Änderung der Zeitspanne* bis zum Einsetzen der hohen CH_4 -Oxidationsaktivität an Reiswurzeln 1999 (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Diese sogenannte Lag-Phase beschreibt die Zeit der initialen CH_4 -Oxidationsraten, vom Beginn des Experiments bis zum Einsetzen der hohen, induzierten Raten (Kap. 3.4.1.1).

4.2.2.3. Produktion von Kohlendioxid in Bodensuspensionen

Einen ersten Eindruck von der Verfügbarkeit und dem Umsatz von organischen Substraten im Boden kann die Bestimmung der CO_2 -Produktionsraten geben. Diese ermöglicht auch einen gewissen Vergleich verschiedener Probenahmestellen oder -zeitpunkte in dieser Hinsicht. Es wurde deshalb die Änderung der CO_2 -Produktionsraten in Suspensionen aus frischem Reisfeldboden in den beiden Jahren 1998 und 1999 verfolgt.

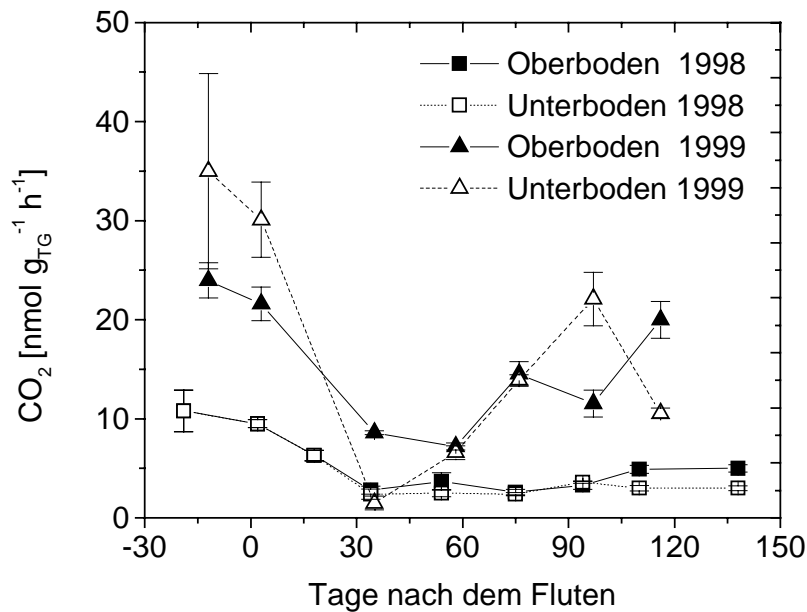


Abb. 4-21: Saisonale Änderung der CO₂-Produktionsraten in Suspensionen mit Reisfeldboden in den Jahren 1998 & 1999 (Mittelwert ± SF, n = 3)

Zu Beginn der Saison 1998 betrug die CO₂-Produktion in beiden Bodenschichten ca. 10 nmol CO₂ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ (Abb. 4-21), sank dann nach dem Fluten des Feldes langsam ab und stabilisierte sich für den Rest der Saison um ca. 5 nmol CO₂ g_{TG}⁻¹ h⁻¹. Es wurde kein wesentlicher Unterschied zwischen den Bodenkompartmenten beobachtet.

In der zweiten Saison war die CO₂-Produktion zu Beginn mit 25-35 nmol CO₂ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ zwei- bis dreimal höher als 1998. Wiederum sanken die Raten nach dem Fluten des Feldes deutlich ab, stiegen aber anschliessend, im Gegensatz zu 1998, in der zweiten Saisonhälfte noch einmal stark auf 15-20 nmol CO₂ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ an. Die insgesamt höhere CO₂-Produktion in 1999 legt den Schluss nahe, daß der oxidative Abbau von organischem Material wesentlich bedeutender war als in 1998. Dies wird auch beim Vergleich der Gesamtmengen an produzierten CH₄ und CO₂ in Tab. 4-1 deutlich (siehe auch Diskussion).

4.2.2.4. Produktion von Wasserstoff in Bodensuspensionen

Ein wichtiges Substrat für eine Vielzahl von Bodenmikroorganismen ist H₂, weshalb die Partialdrücke von H₂ in den Inkubationen mit Bodenproben der Saison 1998 ebenfalls verfolgt wurden. Es stellte sich heraus, daß die Höhe der Partialdrücke in den mit Ober- und Unterboden durchgeführten Messungen sehr ähnlich war, weshalb diese zusammengefasst wurden.

In der Saison 1998 konnten bezüglich der H₂-Produktion drei Abschnitte unterschieden werden. Zu Beginn der Saison (Probenahmen: 19 Tage vor und 2, 18, 34 Tage nach dem Fluten) waren die H₂-Partialdrücke am Anfang der Inkubationen mit 3-12 Pa relativ hoch, gingen dann nach zwei Tagen aber auf 0,5-1 Pa zurück. Die H₂-Produktion war sehr gering, so daß nur wenig H₂ für mikrobielle Prozesse zur Verfügung stand. Eine Ausnahme hiervon bildete die 18 Tage nach dem Fluten genommene Bodenprobe, wo der H₂-Partialdruck nach 3-4 Tagen wieder auf bis zu 6 Pa anstieg. Dies stimmte sehr gut mit der zu diesem Zeitpunkt ebenfalls höheren H₂/CO₂-abhängigen CH₄-Produktion überein (Abb. 4-10).

Bei den im zweiten Teil der Saison genommenen Bodenproben (Probenahmen: 54, 75, 94, 110 Tage nach dem Fluten) zeigte sich eine genau entgegengesetzte Entwicklung der H₂-Partialdrücke mit zunehmender Inkubationszeit. Diese waren zu Beginn sehr niedrig (0,5-1 Pa), stiegen aber rasch auf 5-6 Pa an, was auf eine hohe H₂-Produktion hinwies. In den 28 Tage nach Trockenfallen des Reisfeldes genommenen Proben war wiederum keine H₂-Produktion mehr nachweisbar.

4.2.3. Untersuchung wichtiger Umweltfaktoren

Als Ergänzung zu der Untersuchung der mikrobiellen Prozesse im Reisfeldboden sowie der in-situ Experimente wurden wichtige Umweltparameter über beide Vegetationsperioden verfolgt. Dies sollte Aufschluss darüber geben, ob eventuelle saisonale Änderungen der CH₄-Emission bzw. der involvierten mikrobiellen Prozesse mit Variationen von Umwelt-faktoren erklärt werden könnten. Zu den untersuchten „Faktoren“ gehörten z. B. das Bodenporenwasser, Gasblasen im Reisfeld, das Reispflanzenaerenchym, die Pflanzenbiomasse sowie die Bodentemperatur.

4.2.3.1. Ergebnisse der Porenwasseruntersuchungen

In einem komplexen, sich änderndem System wie dem Reisfeld gibt es viele Faktoren, welche von grossem Einfluss auf im Boden ablaufende biologische Prozesse sind. Einer der wichtigsten Indikatoren bei der Untersuchung dieser verschiedenen Parameter ist das Bodenporenwasser, welches deshalb in den beiden Jahren 1998 und 1999 regelmässig beprobt und analysiert wurde (Kap. 3.5.5.3).

4.2.3.1.1. Änderung der Methankonzentration im Bodenporenwasser

Die Untersuchung des im Bodenporenwasser gelösten CH₄ ermöglicht einerseits Rückschlüsse auf CH₄-Produktionsvorgänge, andererseits auch auf Abbau- und Transportprozesse, und vermittelt so einen ersten Überblick über das gesamte System.

Die saisonale Änderung der CH₄-Konzentration im Porenwasser verlief in den beiden aufeinander folgenden Jahren sehr ähnlich. Die zu Beginn sehr niedrigen Konzentrationen nahmen im Verlauf der Vegetationsperiode langsam zu, die stärkste Akkumulation von CH₄ fand sich in beiden Jahren am Saisonende (Abb. 4-22). Dieser Anstieg der CH₄-Konzentration verlief parallel mit dem Anstieg der CH₄-Produktionsraten sowie der Abnahme der Oxidationsraten (Abb. 4-9, 4-16 & 4-17). Ebenfalls in beiden Jahren wurde beobachtet, daß sich in den Tiefen unterhalb von 5 cm mehr CH₄ ansammelte als in den höheren Bodenschichten. Dies könnte durch die stärkere Durchwurzelung der oberen Schichten und dem infolgedessen stärkeren Abtransport durch die Reispflanzen, oder aber durch einen grösseren Einfluss der überwiegend pflanzenassoziierten CH₄-Oxidation erklärt werden.

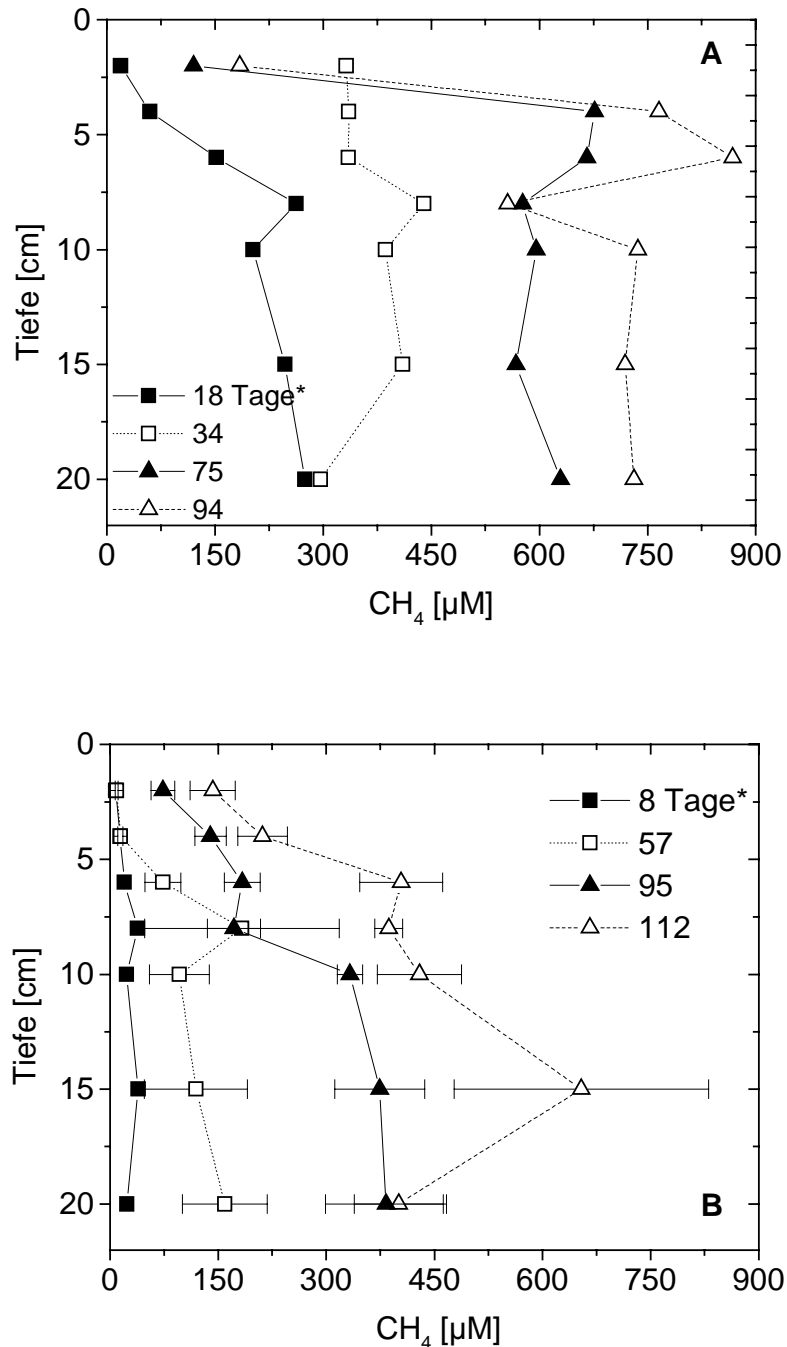


Abb. 4-22: Saisonale Änderung der CH_4 -Konzentration in Porenwasserproben 1998 (A) und 1999 (B) im Tiefenprofil (Mittelwert \pm SF, $n = 3$) *Tage nach Flutung des Feldes

Die höchsten im Porenwasser gemessenen CH_4 -Konzentrationen lagen 1998 bei ca. 800 μM , in der folgenden Saison zwischen 400–600 μM und somit in einem mit früheren Arbeiten vergleichbaren Bereich (Rothfuss & Conrad 1993). Der saisonale Unterschied stimmte mit den 1999 ebenfalls deutlich niedrigeren CH_4 -Produktionsraten überein (Abb. 4-9), welche wahrscheinlich für die geringere CH_4 -Akkumulation verantwortlich waren.

4.2.3.1.2. Änderung der Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von im Porenwasser gelöstem Methan und Kohlendioxid

In der Saison 1999 wurden ebenfalls die Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten CH_4 und CO_2 bestimmt (Kap. 3.5.5.3), um so Informationen über die Beteiligung der verschiedenen CH_4 -Produktionswege sowie den Einfluss der CH_4 -Oxidation zu erhalten. Zu Beginn der Saison war das im Porenwasser gelöste CH_4 mit -45 bis -50 ‰ relativ schwer und zeigte leichte Unterschiede in den verschiedenen Bodenschichten (Abb. 4-23). Mit fortschreitender Vegetationsperiode wurde es dann deutlich leichter. Im letzten Teil der Saison, zwischen 90 und 112 Tage nach dem Fluten, war die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des gelösten CH_4 in allen Bodentiefen relativ stabil bei Werten um -60 ‰.

Die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten CO_2 zeigte einen eher heterogenen saisonalen Verlauf (Abb. 4-24). In der oberen Bodenschicht (0-10 cm) wurde das CO_2 zunächst bis ca. 75 Tage leichter, die Werte sanken von etwa -12 auf -20 ‰ ab. Im weiteren Verlauf stiegen die Werte dann wieder auf -12 bis -14 ‰ an. Für das CO_2 in der Bodenschicht unterhalb 10 cm wurde ein erst langsamer, in der zweiten Saisonhälfte dann aber verstärkter Anstieg in der Isotopensignatur beobachtet.

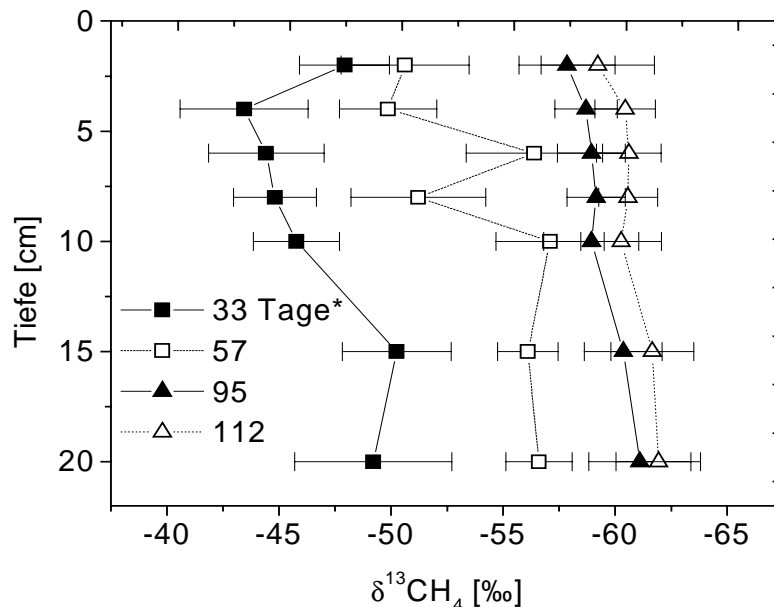


Abb. 4-23: Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten CH_4 in der Saison 1999 im Tiefenprofil (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Tage nach Flutung des Feldes

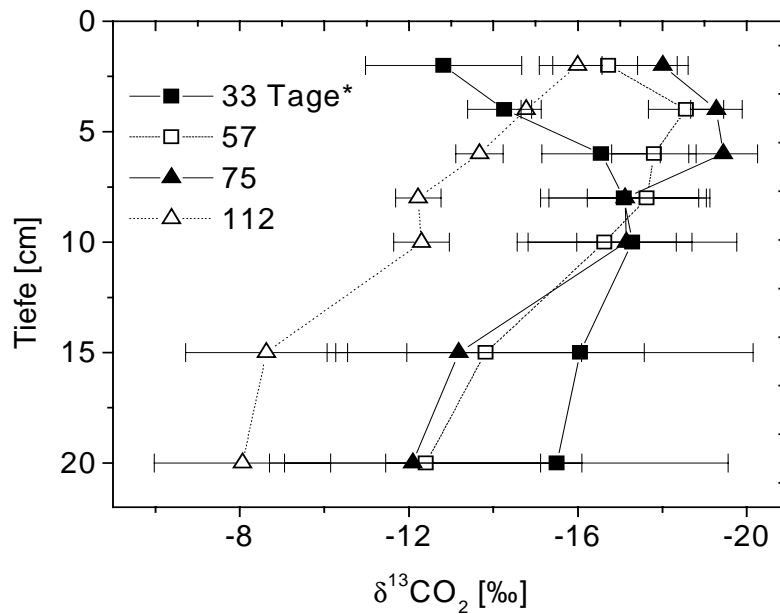


Abb. 4-24: Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten CO_2 in der Saison 1999 im Tiefenprofil (Mittelwert \pm SF, $n = 3$) *Tage nach Flutung des Feldes

Die Werte stiegen von -16 bis -17 ‰ auf ca. -8 ‰ nach 112 Tagen an. Die Unterschiede zwischen den Bodenschichten könnten auf den mit der Saison noch zunehmenden Einfluss der Pflanzen, z. B. durch Exsudate und wurzelassoziierte mikrobielle Prozesse besonders in der oberen Schicht zurückzuführen sein.

4.2.3.1.3. Vorkommen von Acetat und anderen Fettsäuren

Die Untersuchung der Porenwasserproben auf Acetat und andere gelöste organische Substanzen ergab in der Saison 1998 nur zu einigen Messzeitpunkten verwertbare Ergebnisse. Grund hierfür waren Probleme beim Entwickeln und Testen der verschiedenen Sammlertypen und Beprobungsarten (Kap. 3.5.5.3). Es wurden über die Saison im Mittel 20-50 μM für Acetat sowie an einigen Punkten auch Formiat und Lactat ($<10 \mu\text{M}$) gefunden. Besonders zu Beginn der Saison schien relativ viel Acetat (bis 100 μM) im Porenwasser vorhanden zu sein. Im folgenden Jahr wurden mehrere identische Sammler eingesetzt und parallel beprobt, so dass eine ausreichende Zahl von Messwerten erhalten wurde. Die in der Saison 1999 gemessenen Acetatkonzentrationen im Porenwasser waren durchgehend sehr niedrig (Abb. 4-25) und lagen mit ca. 5 μM an der Nachweisgrenze. Nur in der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode stiegen die Werte in den oberen Bodenschichten (bis 5 cm) kurzfristig auf 40 μM an, um dann zum Ende der Saison hin aber wieder auf 10-20 μM abzusinken.

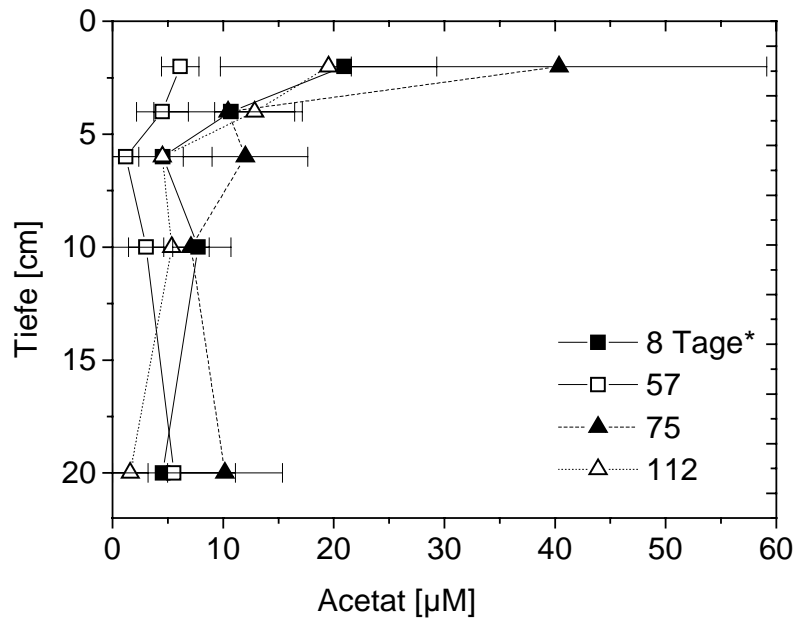


Abb. 4-25: Saisonale Änderung der Acetatkonzentrationen in Porenwasserproben im Tiefenprofil des Reisfeldbodens (1999) (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Tage nach Flutung des Feldes

Dieser kurze Anstieg der Acetatkonzentration könnte durch ein verändertes Exsudationsverhalten der Reispflanzen während des Überganges von der vegetativen zur reproduktiven Wachstumsphase verursacht worden sein (Tab. 3-1).

4.2.3.1.4. Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten Acetats

In der Feldkampagne 1999 wurde auch die Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten Acetats mittels GC-IRMS bestimmt (Kap. 3.2.6). Diese Ergebnisse sollten zur Untersuchung der CH_4 -Produktionswege und der Isotopensignatur des produzierten CH_4 beitragen.

Das Acetat aus Porenwasserproben der oberen Bodenschicht (0-7 cm) zeigte über die Saison keine auffällige Tendenz, die Werte variierten um -15 bis -20 ‰ (Abb. 4-26). In der unteren Bodenschicht (<7 cm) wurde das Acetat während der ersten ca. 75 Tage etwas schwerer, die Werte stiegen von -20 auf -15 ‰. Zum Ende der Saison hin sank die Isotopensignatur dann wieder deutlich auf -25 ‰ ab, was möglicherweise auf eine Änderung der den Acetatpool beeinflussenden Prozesse, wie z. B. die Pflanzenexsudation und den mikrobiellen Acetatabbau hindeutet.

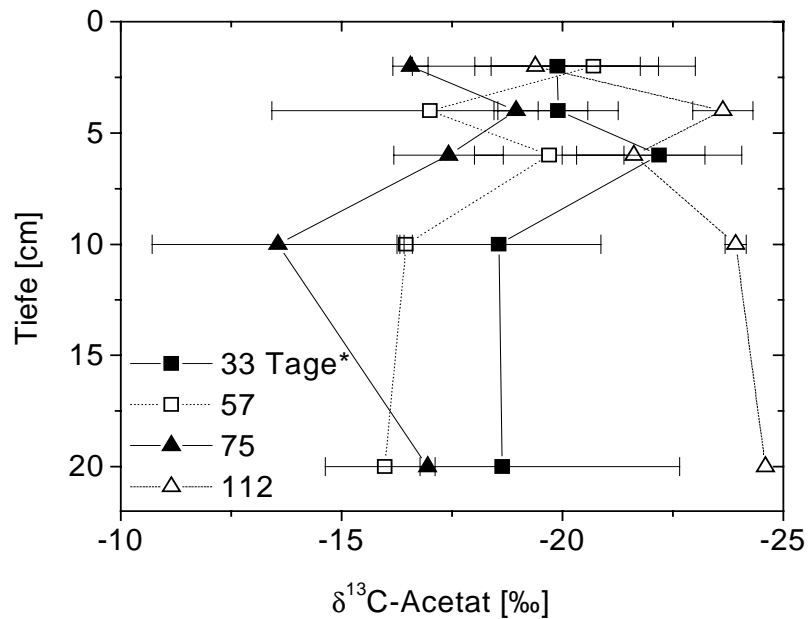


Abb. 4-26: Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des Acetats aus Porenwasserproben im Tiefenprofil des Reisfeldbodens (1999) (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Tage nach Flutung des Feldes

4.2.3.1.5. Verfügbarkeit von Ionen (Sulfat, Nitrat) im Porenwasser

Nach dem Fluten wird der restliche Sauerstoff im Reisfeldboden rasch aufgebraucht. Nun wird von bestimmten Bodenmikroorganismen eine charakteristische Sequenz von sogenannten alternativen terminalen Elektronenakzeptoren genutzt und der Boden reduziert. Es wurden deshalb die Konzentrationen der im Reisfeldboden neben Eisen(III) wichtigen alternativen Elektronenakzeptoren Nitrat und Sulfat im Porenwasser über beide Jahre verfolgt (siehe auch Kap. 4.2.3.5.1 zur Bestimmung von Fe(III) im Boden).

Die Konzentrationen von Nitrat waren in beiden Jahren an oder unter der Nachweisgrenze, da dieses vermutlich sofort während oder aber gleich nach dem Fluten des Feldes reduziert worden war, noch vor der Entnahme der ersten Porenwasserproben.

Für Sulfat wurde im Porenwasser in beiden Feldkampagnen ein ähnlicher saisonaler Verlauf der Konzentrationen gefunden. Zu Beginn der Saison 1998 waren die Werte noch relativ hoch, sanken dann aber schnell auf 10-20 μM ab und veränderten sich bis zur Trockenlegung des Feldes nicht mehr (Abb. 4-27 A). Nach der Trockenlegung stiegen die Sulfatkonzentrationen dann infolge des Sauerstoffeintrages besonders in den oberen Bodenschichten wieder rasch an. Im folgenden Jahr waren die Werte zu Beginn mit 800-1600 μM noch einmal deutlich höher als 1998.

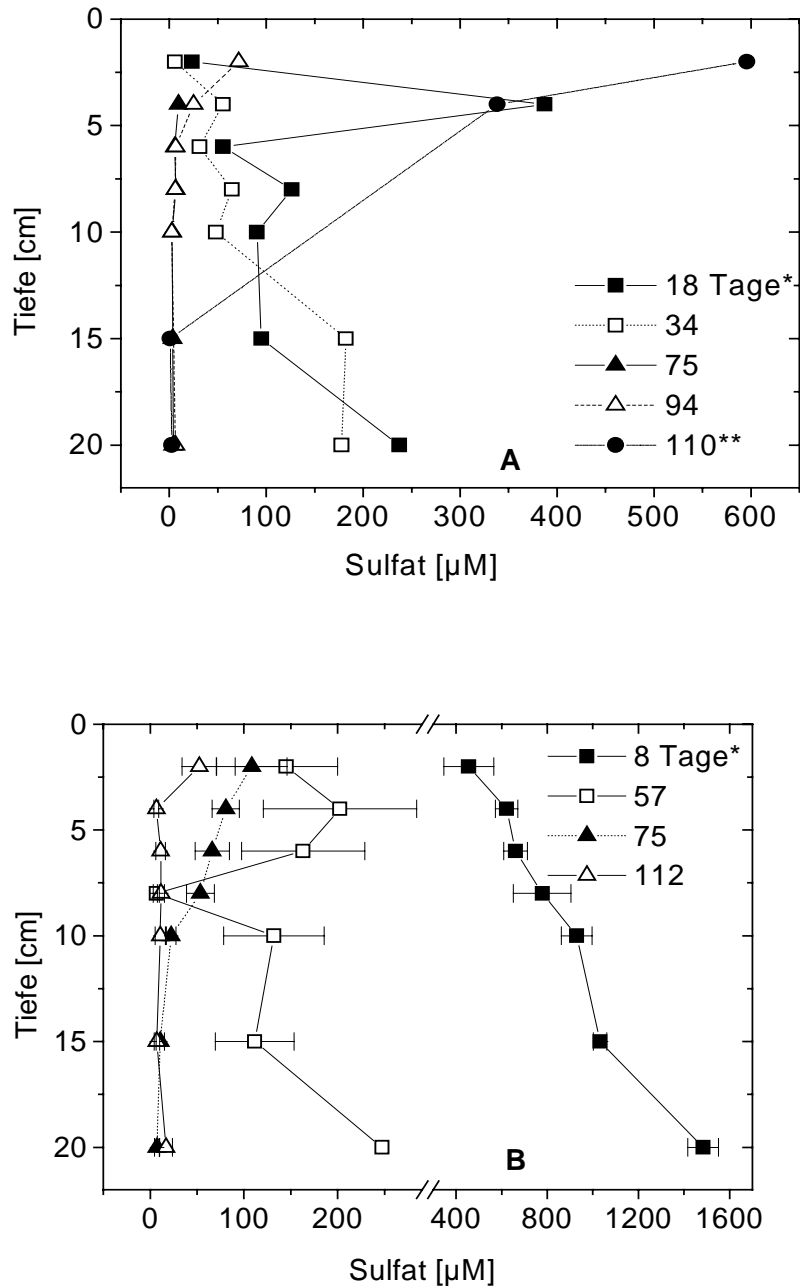


Abb. 4-27: Saisonale Änderung der Sulfatkonzentrationen im Porenwasser 1998 (A) und 1999 (B) im Bodentiefenprofil (n = 1 in (A); Mittelwert \pm SF, n = 2 in (B)) *Tage nach Flutung des Feldes. **ca. 5 Tage nach Trockenfallen des Feldes

Dies könnte durch den früheren Probenahmezeitpunkt und eine somit bis dahin noch geringere Reduktion erklärt werden (Abb. 4-27 B). Auch sanken die Sulfatkonzentrationen verglichen mit 1998 nur langsam ab und blieben besonders in der oberen, stark wurzelbeeinflussten Bodenschicht mit 50-100 μM über die ganze Vegetationsperiode relativ hoch. Dies weist auf eine nur unvollständige Reduktion des Bodens hin, was auch durch die durchweg hohen RI-Werte und Fe(III)-Konzentrationen bestätigt wurde.

4.2.3.1.6. Änderung der Ammoniumkonzentration im Porenwasser

Ein weiterer wichtiger im Porenwasser gelöster Nährstoff nicht nur für die Reispflanzen sondern auch für viele Bodenmikroorganismen ist Ammonium (NH_4^+), dessen Konzentration im Porenwasser in beiden Feldkampagnen regelmässig bestimmt wurde.

Kurz nach dem Fluten des Feldes in der Saison 1998 wurden mit 0,06-0,1 mM die höchsten NH_4^+ -Konzentrationen gemessen (Abb. 4-28 A). In den folgenden Wochen sanken die Werte besonders in der oberen, stark pflanzenbeeinflussten Bodenschicht rasch ab.

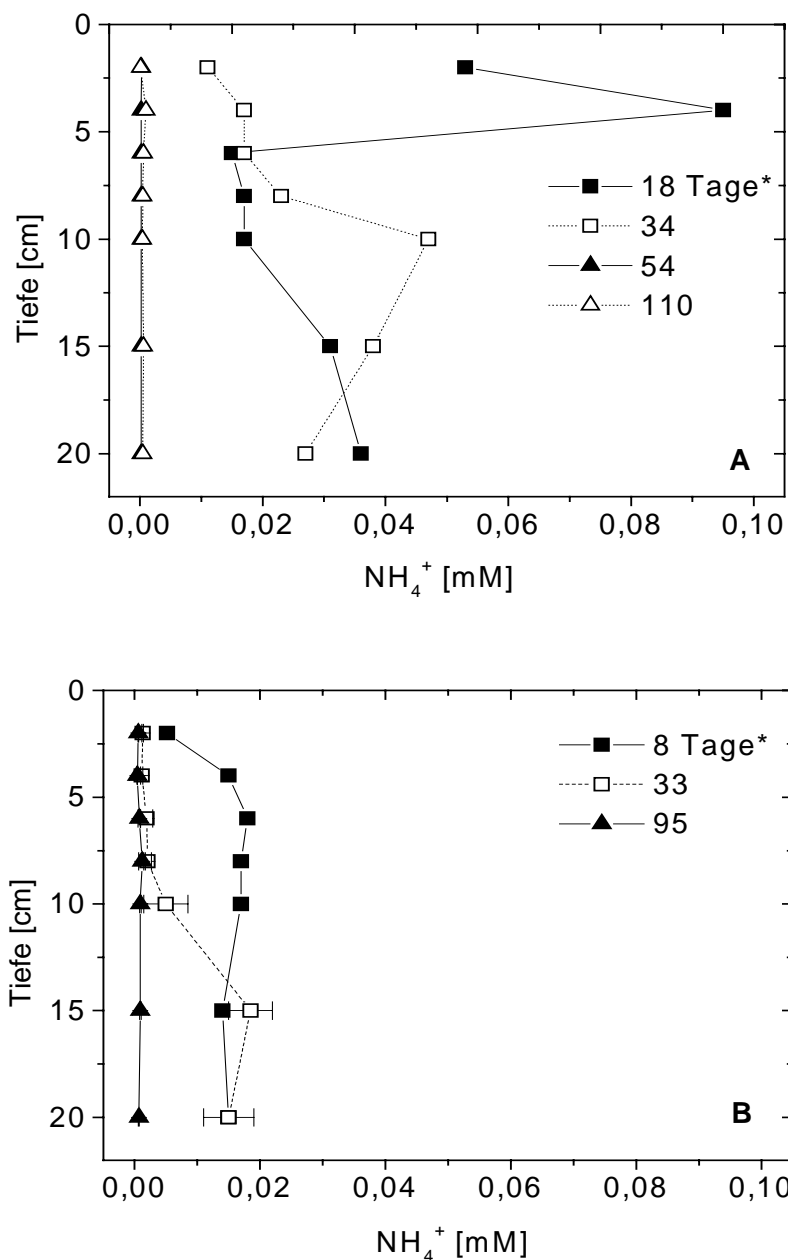


Abb. 4-28: Saisonale Änderung der NH_4^+ -Konzentrationen im Porenwasser 1998 (A) und 1999 (B) im Bodentiefenprofil (n = 1 in 1998; Mittelwert \pm SF, n = 3 in 1999)

*Tage: Tage nach Flutung des Feldes

Bis zum Ende der Vegetationsperiode in 1998 wurden anschliessend nur noch geringe NH_4^+ -Konzentrationen gefunden.

In der zweiten Feldkampagne wurden die höchsten NH_4^+ -Konzentrationen ebenfalls kurz nach dem Fluten gemessen (Abb. 4-28 B). Diese waren im Vergleich zu 1998 mit nur 0,015 bis 0,02 mM jedoch wesentlich niedriger. Auch hier sanken die Werte dann rasch ab, wobei wieder der starke Einfluss der Pflanzen in der oberen Bodenschicht deutlich wurde. Bis zum Ende der Vegetationsperiode blieben die NH_4^+ -Konzentrationen im Porenwasser sehr niedrig (10-50 μM). Die einzige Ausnahme bildeten die Werte in einer kurzen Zeitspanne nach der letzten Felddüngung, dem sogenannten „Top dressing“, wo ein kurzzeitiger Anstieg der NH_4^+ -Konzentrationen beobachtet wurde (siehe auch Kap. 4.2.4.2).

4.2.3.1.7. Saisonale Änderung des pH-Wertes im Porenwasser

Bei den Ergebnissen der pH-Wert-Bestimmungen in der Saison 1999 war eine Zweiteilung des Bodens zu erkennen (Abb. 4-29). In den oberen 5 cm blieb der pH-Wert während der ganzen Vegetationsperiode mit 7,2-7,5 relativ konstant. In den tieferen Bodenschichten lag der pH-Wert zu Saisonbeginn bei 6,9 und stieg dann kontinuierlich im Laufe der Feldkampagne auf 7,3 in 10 cm Tiefe und auf 7,5 bis 7,8 in 15-20 cm Tiefe an. Während der ganzen Vegetationsperiode lagen die pH-Werte aber durchgehend im neutralen Bereich.

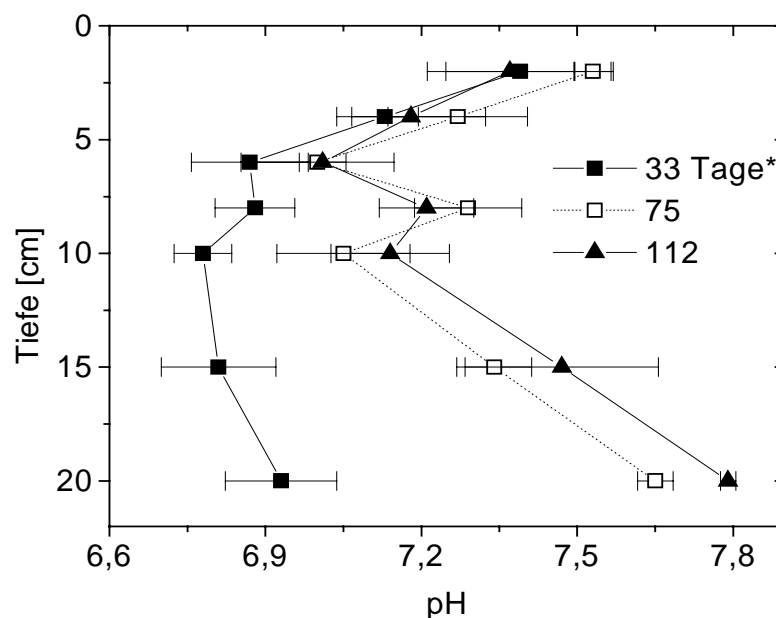


Abb. 4-29: Saisonale Änderung des pH-Wertes in Porenwasserproben aus 1999, dargestellt im Bodentiefenprofil (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Tage nach Flutung des Feldes

4.2.3.2. Analyse von Gasblasen aus dem Reisfeld

Ähnlich wie bei der Untersuchung des Bodenporenwassers (siehe oben) kann auch durch die Analyse von Gasblasen aus dem Reisfeldboden Aufschluss über gerade ablaufende mikrobielle Prozesse erhalten werden. Hierfür wurden aufsteigende Gasblasen aus mit Reis bewachsenem sowie unbewachsenem Boden gesammelt, um den Einfluss der Reispflanzen zu untersuchen (Kap. 3.5.5.5). Zusätzlich wurden Blasen aus dem tieferen Boden herausgerührt, um den Einfluss der in den oberen Schichten und an den Pflanzenwurzeln lokalisierten CH_4 -Oxidation zu bestimmen.

4.2.3.2.1. Änderung des Methangehaltes in Gasblasen über die Saison

Über die Saison 1999 wurden regelmässig die verschiedenen „Arten“ von Gasblasen gesammelt und auf ihren CH_4 -Gehalt untersucht. In den Proben aus unbepflanztem Boden lag das CH_4 -Mischungsverhältnis die ganze Saison über zwischen 1×10^5 und 4×10^5 ppm_v (Abb. 4-30), sowohl in den aktiv herausgeholt als auch in den von alleine ausgetretenen Gasblasen. Die Gasblasen aus mit Reis bepflanztem Boden hingegen zeigten zu Saisonbeginn sehr niedrige CH_4 -Mischungsverhältnisse, um 10000 ppm_v. In den folgenden Wochen stieg das CH_4 -Mischungsverhältnis dann auf Werte von 1×10^5 bis 2×10^5 ppm_v an, die vergleichbar zu den in unbepflanztem Boden gefundenen Werten waren.

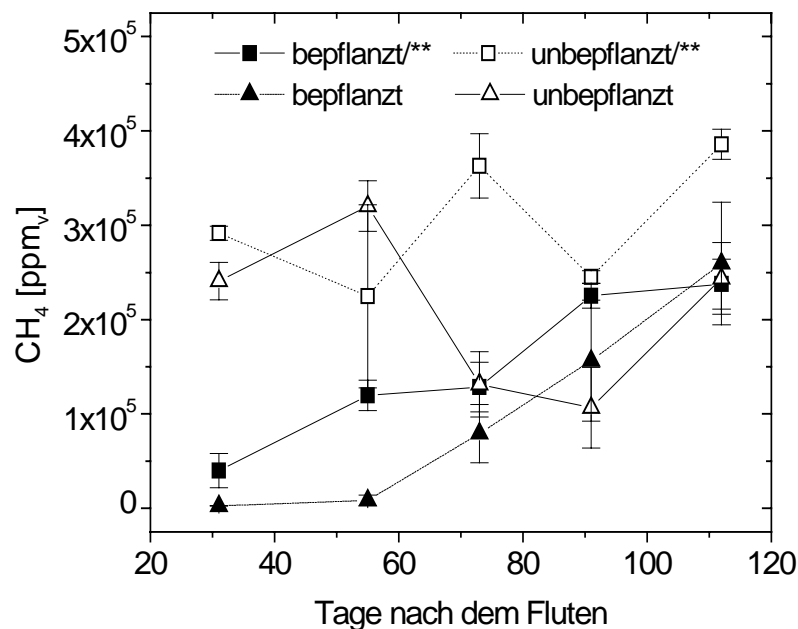


Abb. 4-30: Saisonale Änderung des CH_4 -Mischungsverhältnisses in Gasblasen aus mit

Reis bepflanztem und unbepflanztem Boden (1999) (Mittelwert \pm SF, n = 3)

/** kennzeichnet Gasblasen, die aus dem tieferen Boden herausgestochert wurden, um dem Einfluss der CH_4 -Oxidation an der Bodenoberfläche zu entgehen (Kap. 3.5.5.5)

Dieser Unterschied zu Beginn zeigt deutlich den Einfluss der nur in den ersten Wochen hohen oft pflanzenassoziierten CH_4 -Oxidation, welcher zu einer Verringerung des CH_4 -Mischungsverhältnisses in den Gasblasen führte.

4.2.3.2.2. Änderung der Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von CH_4 und CO_2 in Gasblasen

Zusätzlich zu dem CH_4 -Mischungsverhältnis wurden auch die Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von CH_4 und CO_2 in Gasblasen über die Saison 1999 bestimmt, um so Informationen über CH_4 -Oxidation sowie Produktion zu erhalten.

Zu Beginn der Saison war das CH_4 in den Gasproben mit -54 ‰ relativ schwer (Abb. 4-31). Im Laufe der Vegetationsperiode sanken die Werte dann allmählich auf -58 bis -60 ‰ ab. Eine Ausnahme hiervon bildete das CH_4 aus den aus bepflanzttem Boden aufgestiegenen Gasblasen. Es war in den ersten Wochen mit -48 ‰ noch einmal deutlich schwerer als die anderen Proben, was auf einen zu Beginn der Saison starken Einfluss der oft pflanzenassoziierten CH_4 -Oxidation hinweist. Anschliessend sank die Isotopensignatur nach 50 Tagen auf den anderen Proben vergleichbare, niedrigere Werte ab und zeigte bis zum Saisonende keine weiteren Abweichungen.

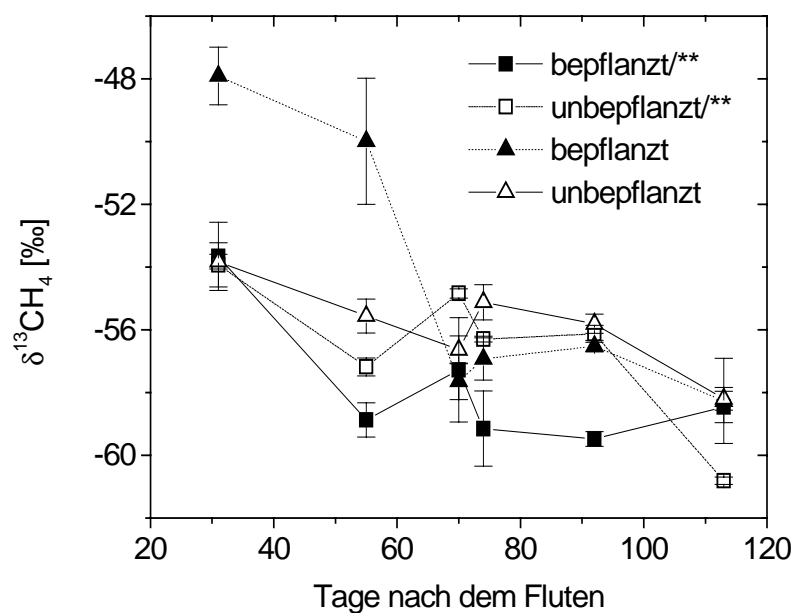


Abb. 4-31: Saisonale Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des CH_4 in Gasblasen aus mit Reis bepflanzttem und unbepflanzttem Boden (1999) (Mittelwert \pm SF, $n = 3$)
 /** kennzeichnet Gasblasen, die aus dem tieferen Boden herausgestochert wurden, um dem Einfluss der CH_4 -Oxidation an der Bodenoberfläche zu entgehen (Kap. 3.5.5.5)

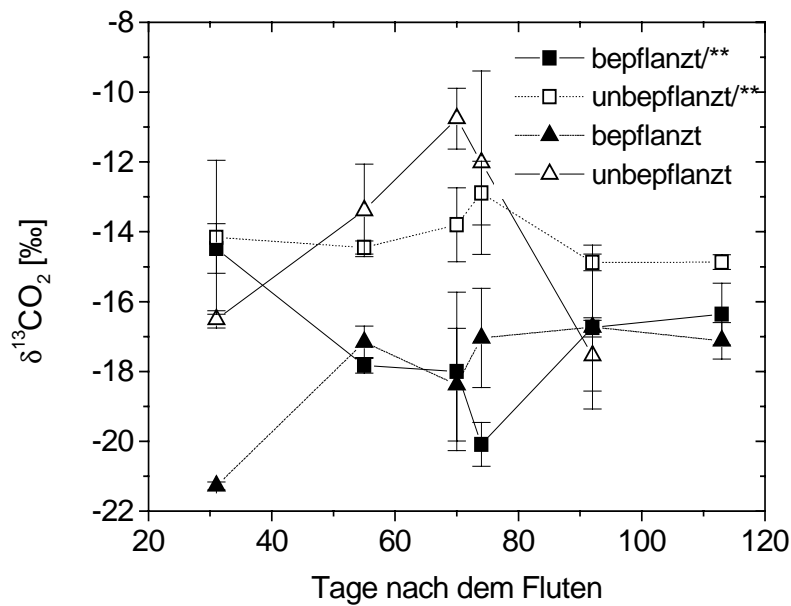


Abb. 4-32: Saisonale Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des CO_2 in Gasblasen aus mit Reis bepflanztem und unbepflanztem Boden (1999) (Mittelwert \pm SF, $n = 3$)
 /** kennzeichnet Gasblasen, die aus dem tieferen Boden herausgestochert wurden, um dem Einfluss der CH_4 -Oxidation an der Bodenoberfläche zu entgehen (Kap. 3.5.5.5)

Die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des CO_2 in den Gasblasen zeigte über die Vegetationsperiode in 1999 keine deutlichen saisonalen Trends (Abb. 4-32). Die Werte variierten zwischen -10 und -20 ‰. Auffallend war nur der erste Messwert für aus bepflanztem Boden aufgestiegene Blasen, welcher verglichen mit den anderen Werten sehr niedrig war.

4.2.3.3. Untersuchung von Gasproben aus dem Reispflanzenaerenchym

Das Aerenchym der Reispflanzen ist wichtig für den Gastransport zwischen dem Boden und der Atmosphäre, so wird z. B. Sauerstoff in den Boden eingebracht und im Gegenzug im Boden produziertes CH_4 in die Atmosphäre abgegeben.

4.2.3.3.1. Änderung des CH_4 -Mischungsverhältnisses und der Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von CH_4 und CO_2 im Aerenchym über die Saison

Zu Beginn der Saison war das CH_4 -Mischungsverhältnis im Aerenchym relativ niedrig, die Werte lagen um 15000 ppm_v (Tab. 4-3). Im Laufe der Vegetationsperiode stiegen die Werte dann kontinuierlich an, bis auf ca. 40000 ppm_v am Saisonende. Die einzige Ausnahme bildete das CH_4 -Mischungsverhältnis ca. 70 Tage nach dem Fluten, welches mit 10000 ppm_v kurzfristig wieder sehr niedrig war. Mögliche Erklärungen hierfür sind eventuell Abweichungen bei der Probenahme oder aber vorausgegangene ungünstige klimatische Bedingungen,

z. B. ein Gewitter mit starkem Wind und Niederschlägen. Ein vergleichbarer Anstieg der CH₄-Konzentration am Saisonende wurde auch in anderen Arbeiten beobachtet und war zum einen mit der Zunahme der CH₄-Produktion im Boden zu erklären. Weiterhin wurde eine Abhängigkeit von der Pflanzenbiomasse gefunden (Byrd et al. 2000, Aulakh et al. 2000).

Der Transport durch die Reispflanze kann auch zu Änderungen der Isotopensignatur der transportierten Gase führen. So ist es oft schwierig, von der Signatur des emittierten CH₄ auf die diese beeinflussenden Prozesse zurückzuschliessen. Es wurde deshalb zusätzlich zu dem im Porenwasser gelösten und dem emittiertem Gas auch noch das im Aerenchym befindliche Gas untersucht, um so einen eventuellen Transporteffekt zu erkennen. Die Isotopensignatur des CH₄ aus dem Aerenchym zeigte nur geringe Änderungen über die Saison, die Werte lagen um die -50 ‰ (Tab. 4-3). Dies steht im deutlichen Kontrast zu den ausgeprägten Änderungen des emittierten und des im Porenwasser gelösten CH₄ (Abb. 4-7 & 4-23).

Das CO₂ im Aerenchym hingegen wurde in den ersten Wochen deutlich leichter, die Werte sanken von -16 ‰ auf ca. -21 ‰ nach 70 Tagen ab (Tab. 4-3). In der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode stiegen die Werte dann wieder auf -17 ‰ an.

Tab. 4-3: Saisonale Änderung des CH₄-Mischungsverhältnisses und der Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von CH₄ und CO₂ im Aerenchym (1999) (Mittelwert \pm SF, n = 3)

Tage nach dem Fluten	CH ₄ [ppm _v]	$\delta^{13}\text{CH}_4$ [‰]	$\delta^{13}\text{CO}_2$ [‰]
31	14306 \pm 7278	-48,77 \pm 0,75	-16,47 \pm 1,04
55	24666 \pm 8990	-52,66 \pm 0,16	-20,18 \pm 0,52
73	8308 \pm 6835	-52,35 \pm 4,24	-20,97 \pm 0,75
91	30072 \pm 3635	-49,63 \pm 1,99	-19,73 \pm 1,62
112	39676 \pm 11842	- 51,56 \pm 1,07	-17,32 \pm 0,77

4.2.3.4. Charakterisierung der Reispflanzen im Versuchsfeld

Von grosser Bedeutung für die im Boden ablaufenden mikrobiellen Prozesse ist auch der Bewuchs durch Reispflanzen. Diese nehmen auf vielfältige Weise Einfluss auf das Boden-ökosystem. Allerdings variieren alle diese Prozesse mit dem Alter und der Grösse der Pflanzen, so daß die Bestimmung einiger grundsätzlicher Pflanzenparameter als Anhaltspunkte wichtig ist.

4.2.3.4.1. Entwicklung der Reispflanzen während der Feldkampagnen

Das Pflanzenwachstum war in beiden Jahren vom zeitlichen Ablauf her sehr ähnlich. Während der ersten 4-5 Wochen wuchsen die Reispflanzen relativ rasch heran (Tab. 4-4). Nachdem die Bildung von Seitentrieben („tillering phase“, Abb. 4-33) und Blättern nahezu abgeschlossen war, verlangsamte sich das Wachstum, da der Reis von der vegetativen in die reproduktive Wachstumsphase überging. Nach ca. 60-70 Tagen kam es zur Ausbildung der Reproduktionsorgane und schließlich (≥ 80 d) nach der Blüte zur Bildung der Samen (siehe auch Tab. 3-1). Die Zahl der Sprosse und Blätter ging langsam zurück. Im Gegensatz hierzu nahm aber die Biomasse (Trockengewicht) sowohl der oberirdischen Pflanze als auch der Wurzeln weiter zu. In der Saison 1998 war das Pflanzenwachstum zu Beginn stärker als 1999, zum Ende der Vegetationsperiode hin glichen sich die Werte dann aber wieder an. Ein Grund hierfür könnten die zu dieser Zeit höheren NH_4^+ -/Nährstoffkonzentrationen gewesen sein (Abb. 4-28).

Nach Ausbildung der Rispen wurde die Wasserzufuhr des Feldes unterbrochen und die Reispflanzen zur Reifung bis zur Ernte im abgetrockneten Feld stehengelassen.

Tab. 4-4: Zusammenfassung wichtiger Wachstumsparameter von Reispflanzen des Versuchsfeldes in den Jahren 1998 und 1999 (Mittelwert \pm SE, n = 8-10)

Tage*	Spross-TG**		Wurzeln-TG**		Höhe	
	[g]		[g]		[cm]	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999
33	0,33 \pm 0,02	0,17 \pm 0,01	0,11 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	34,0 \pm 0,54	30,5 \pm 0,70
56	3,18 \pm 0,68	1,39 \pm 0,15	0,97 \pm 0,19	0,43 \pm 0,05	76,63 \pm 1,47	46,0 \pm 1,80
76	4,49 \pm 0,46	1,97 \pm 0,2	0,91 \pm 0,14	0,37 \pm 0,13	94,38 \pm 2,29	65,3 \pm 1,30
97	4,33 \pm 0,98	4,09 \pm 0,56	0,92 \pm 0,46	0,53 \pm 0,09	108,6 \pm 2,59	104,3 \pm 1,26
113	9,55 \pm 1,91	8,44 \pm 1,61	1,35 \pm 0,35	1,25 \pm 0,5	108,9 \pm 3,55	106,3 \pm 0,86

*Tage: Tage nach Fluten des Feldes. **TG: Trockengewicht (pro Pflanze).

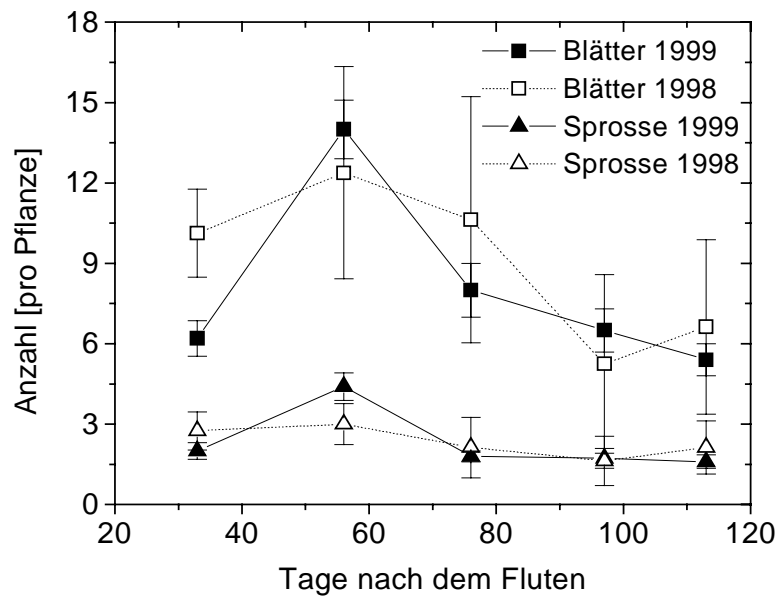


Abb. 4-33: Saisonale Änderung der Anzahl an Blättern und Sprossen je Reis-pflanze in den Jahren 1998 & 1999 (Mittelwert \pm SF, n = 8-10)

Das Feld lieferte einen durchschnittlichen Ertrag von 6,25 und 7,5 t pro Hektar in den Jahren 1998 und 1999, somit war der Ertrag in der zweiten Saison um ca. 15 % höher. Die Zahl der fruchtbaren Triebe pro m² lag in beiden Jahren bei ca. 420.

4.2.3.4.2. Wurzelverteilung im Reisfeldboden

Wie bereits oben angesprochen beeinflussen die Wurzeln der Reis-pflanzen den umgebenden Boden – man spricht hier auch von der Rhizosphäre – auf vielfältige Weise. Es wurde deshalb in der Saison 1998 zu verschiedenen Zeiten die vertikale Verteilung der Wurzelbiomasse im Reisfeldboden bestimmt (Kap. 3.5.9). Dies sollte zur Abschätzung des Einflussbereiches der Wurzeln beitragen.

Im Reisfeld war der überwiegende Teil der Wurzelbiomasse in den oberen 2 cm des Bodens konzentriert, während tiefere Bodenschichten nur relativ gering durchwurzelt waren (Abb. 4-34). Ab ca. 70 Tagen nahm dann auch in den tieferen Schichten der Durchwurzelnungsgrad leicht zu, es waren aber immer noch mehr als 60 % der Wurzelmasse in der oberen Bodenschicht lokalisiert. Beim Vergleich mit Tabelle 4-4 fällt auf, daß zum Ende der Saison das Wurzelwachstum noch einmal zunimmt. Wahrscheinlich wurden diese Wurzeln überwiegend in den tieferen Bereichen gebildet.

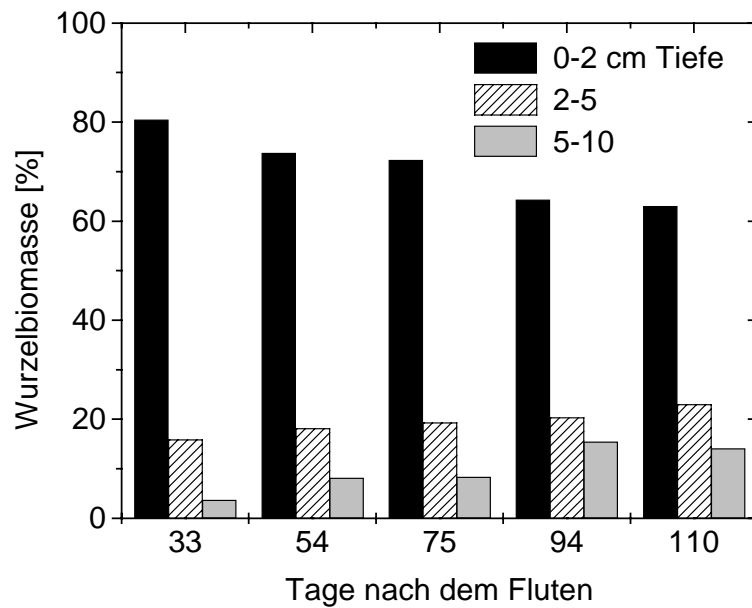


Abb. 4-34: Saisonale Änderung der prozentualen Verteilung der Wurzelbiomasse im Reisfeldboden im Tiefenprofil 1998 (Gesamtwurzelmasse von 0-10 cm = 100 %)

Die gefundene Verteilung der Wurzelbiomasse im vertikalen Tiefenprofil bestätigt die von uns vorgenommene Aufteilung der Bodenproben für die Untersuchung von mikrobiellen Prozessen in Ober- und Unterboden (0-3 und 3-10 cm Tiefe, Kap. 3.5.5.1).

4.2.3.4.3. Bestimmung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des organischen Kohlenstoffes in Pflanzenmaterial

Über die Saison 1999 wurden auch getrocknete Pflanzenproben gesammelt, um die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des darin gebundenen organischen Kohlenstoffes zu bestimmen (Kap. 3.5.8). Die Analyse durch das IBW (Göttingen) ergab für die Proben vom 19.6. und 2.9.1999 (33 bzw. 110 Tage nach dem Fluten) Werte von $-27,79 \pm 0,045$ und $-27,33 \pm 0,23$ ‰. Der im Pflanzenmaterial gebundene Kohlenstoff wurde demnach über die Vegetationsperiode geringfügig schwerer. Für Pflanzen in texanischen Reisfeldern wurde eine vergleichbare Signatur von $-28,1 \pm 0,5$ ‰ gemessen (Tyler et al. 1997).

4.2.3.5. Untersuchung von Bodenproben aus dem Versuchsfeld

Zusätzlich zu der Bestimmung von Biomassedaten wurden auch wichtige Bodenparameter und deren saisonale Änderungen verfolgt.

4.2.3.5.1. Änderung der Verfügbarkeit von Fe(II) und Fe(III)

Die in Bodenproben gefundenen RI-Werte für das zugegebene [2-¹⁴C]-Acetat zeigten, daß oxidative Prozesse in beiden Jahren die ganze Saison über wichtig waren, obwohl wenige Wochen nach dem Fluten bereits die CH₄-Produktion einsetzte (Abb. 4-12 & 4-9). Dies kann nur durch eine ausreichende Verfügbarkeit von alternativen terminalen Elektronenakzeptoren erklärt werden. Da Eisen im Reisfeldboden wohl der wichtigste alternative Elektronenakzeptor ist (Jäckel & Schnell 2000, Frenzel et al. 1999), wurden die Konzentrationen von Fe(III) und dem Reduktionsprodukt Fe(II) in Bodenproben über beide Jahre bestimmt. So sollten die Bedeutung und die ausreichende Verfügbarkeit untersucht werden (siehe auch Kap. 4.2.3.1.5 zur Bestimmung der weiteren alternativen Elektronenakzeptoren Sulfat und Nitrat im Porenwasser).

In der Saison 1998 nahm die Konzentration von Fe(III) nach dem Fluten rasch ab, während gleichzeitig der Anteil von Fe(II) anstieg (Abb. 4-35 A). Bis zum Ende der gefluteten Feldperiode lag das meiste verfügbare Eisen reduziert als Fe(II) vor. Nach dem Trockenfallen des Feldes fand dann der umgekehrte Prozess statt, durch den Sauerstoff wurden die alternativen terminalen Elektronenakzeptoren wieder reoxidiert.

In der zweiten Saison setzte die Bildung von Fe(II) wesentlich langsamer ein (Abb. 4-35 B), was sehr gut zu den niedrigeren CH₄-Produktions- und Emissionsraten sowie den höheren RI-Werten passte. Über die ganze Vegetationsperiode war Fe(III) in hohen Konzentrationen verfügbar, was die hohen RI-Werte und somit das Überwiegen von oxidativen Abbauprozessen erklären könnte. Ähnliche saisonale Unterschiede in der Verfügbarkeit wurden auch bei der Bestimmung von Sulfat im Porenwasser beobachtet (Kap. 4.2.3.1.5).

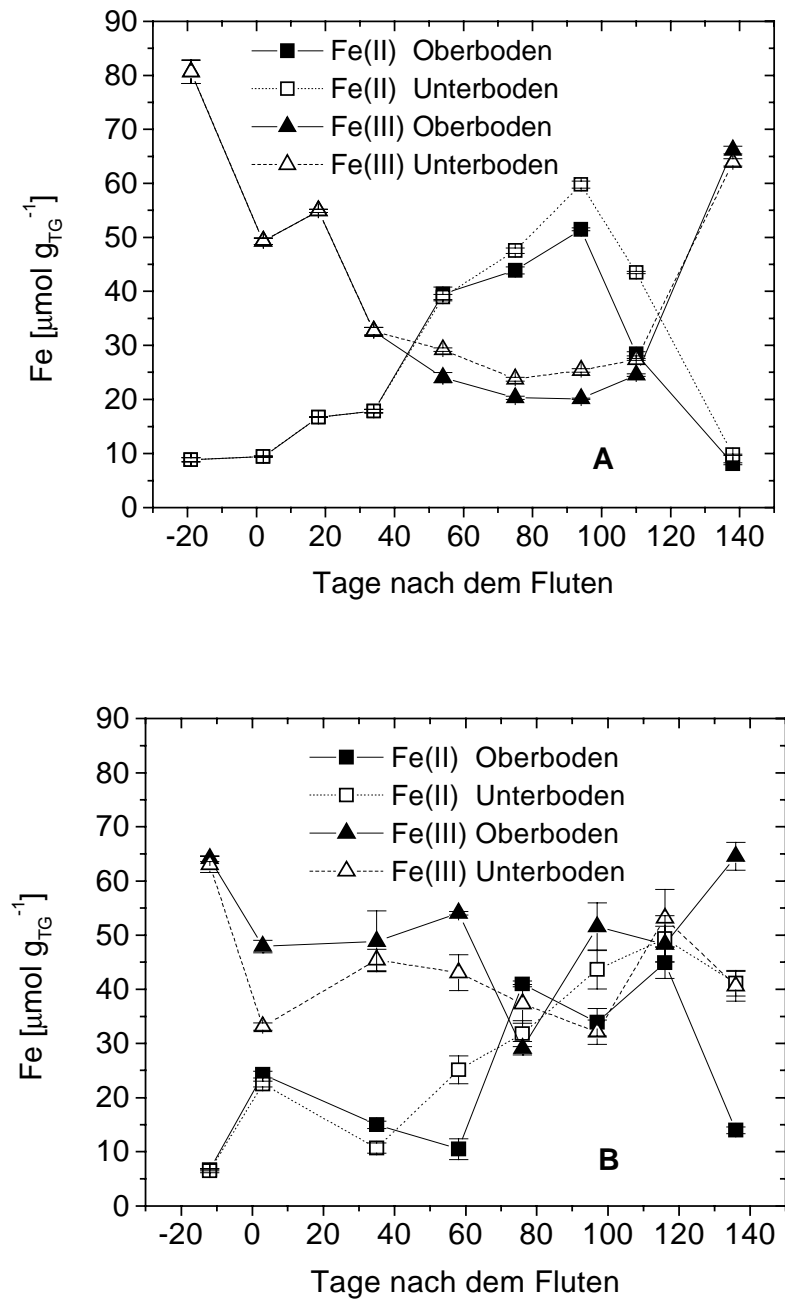


Abb. 4-35: Saisonale Änderung der Konzentrationen* von Fe(II) und Fe(III) in Bodenproben aus dem Reisfeld in den Jahren 1998 (A) & 1999 (B) (Mittelwert \pm SF, $n = 3$). *Extrahiert mit 0,5 M HCl

4.2.3.5.2. Bestimmung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des organischen Kohlenstoffes in Bodenproben

Über die Vegetationsperiode 1999 wurden getrocknete Bodenproben gesammelt, um die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des darin enthaltenen organischen Kohlenstoffes zu bestimmen (Kap. 3.5.8). Die Analyse durch das IBW in Göttingen ergab für die Proben vom 19.6. und

2.9.1999 (33 bzw. 110 Tage nach dem Fluten) Werte von $-26,51 \pm 0,04$ und $-26,87 \pm 0,09$ ‰. Der im Boden enthaltene Kohlenstoff wurde über die Saison geringfügig um ca. 0,4 ‰ schwerer und war im Vergleich zum Pflanzenmaterial ca. 1 ‰ schwerer. Mit $-26,5$ ‰ wies der von Sugimoto & Wada (1993) verwendete Boden aus japanischen Reisfeldern eine nahezu identische Isotopensignatur auf, was auf eine gute Vergleichbarkeit der geographisch doch deutlich verschiedenen Anbauggebiete hindeutet.

4.2.3.6. Änderung des Redoxpotentials (Eh) im Reisfeldboden

Durch die sukzessive Reduktion der sogenannten alternativen terminalen Elektronenakzeptoren im gefluteten Reisfeldboden kommt es zu einer Absenkung des Redoxpotentials. Erst nach dem überwiegendem Verbrauch dieser Verbindungen und einem ausreichend negativen Redoxpotential ist CH_4 -Bildung möglich. Um diese Prozesse zu verfolgen, wurde die saisonale Änderung des Redoxpotentials (Eh) im Boden in-situ beobachtet.

In der Saison 1998 sank das Redoxpotential nach dem Fluten des Feldes rasch auf Werte um -200 mV ab (Abb. 4-36). Bis zum Ende der gefluteten Feldperiode blieb der Boden in diesem reduzierten Zustand und zeigte eine hohe methanogene Aktivität (Abb. 4-9). Im Gegensatz hierzu blieb das Redoxpotential in der folgenden Saison bis ca. 70 Tage nach dem Fluten im positiven Bereich. Erst dann sanken die Werte ebenfalls auf -200 mV ab und die CH_4 -Produktionsraten nahmen langsam zu.

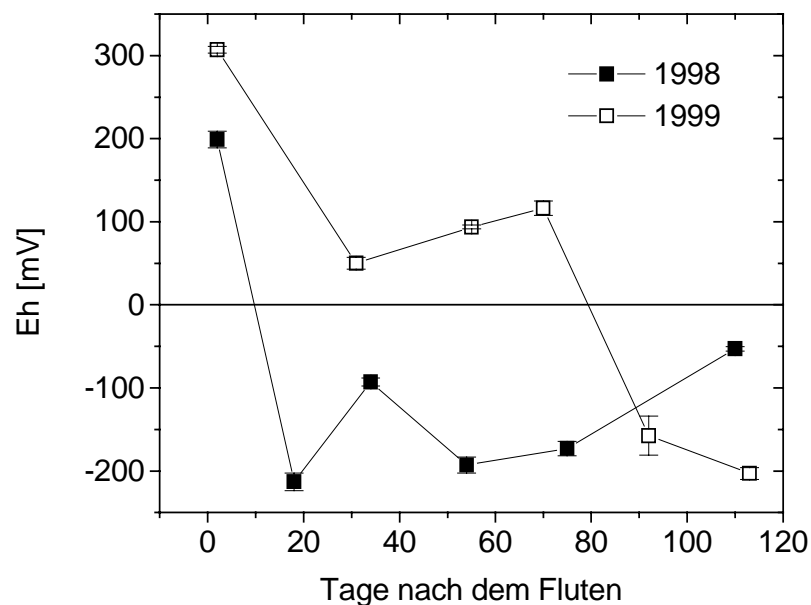


Abb. 4-36: Saisonale Änderung des Redoxpotentials (Eh) im Reisfeldboden in-situ (in 10 cm Tiefe) in den Jahren 1998 & 1999 (Mittelwert \pm SF, n = 2-4)

4.2.3.6.1. Verlauf von Boden- und Flutwassertemperaturen während der Messkampagnen

Von großer Bedeutung für Mikroorganismen ist die vorherrschende Temperatur. Frühere Arbeiten hatten wiederholt eine Abhängigkeit der wichtigen mikrobiellen Prozesse im Reisfeldboden, CH₄-Produktion und -Oxidation, von der Umgebungstemperatur gezeigt (Khalil et al. 1998 a & b, Schulz & Conrad 1996, Nouchi et al. 1994, Sass et al. 1991, Schütz et al. 1990a). Aus diesem Grunde wurden in beiden Jahren sowohl die Flutwasser- als auch die Bodentemperatur in verschiedenen Tiefen gemessen (Kap. 3.5.10).

4.2.3.6.2. Saisonaler Temperaturverlauf

Der generelle saisonale Verlauf der Temperatur im Flutwasser sowie in den verschiedenen Bodentiefen war in beiden Jahren relativ ähnlich. Zu Beginn der Vegetationsperiode wiesen die Temperaturen starke Schwankungen auf, die aber zur Mitte der Saison hin geringer wurden (Abb. 4-37).

Zum Ende der Vegetationsperiode im August sanken die Temperaturen langsam ab. Besonders auffallend war hier, daß es keine größeren Temperaturdifferenzen zwischen dem Flutwasser und der oberen Bodenschicht (0-15 cm) gab. Die Ursache für diesen saisonalen Temperaturverlauf ist wahrscheinlich die allmähliche Entwicklung der Reispflanzen, welche ein den Boden immer stärker überschattendes und abschirmendes Blätterdach bildeten. Hierdurch wurde sowohl der Einfluß der Sonneneinstrahlung als auch der Abkühlungseffekt während der Nacht gedämpft.

Die durchschnittliche Temperatur in den oberen 10 cm des Bodens war mit $23,45 \pm 0,10^{\circ}\text{C}$ in der Saison 1998 nur geringfügig höher als mit $21,87 \pm 0,08^{\circ}\text{C}$ in 1999.

4.2.3.6.3. Diurnaler Temperaturverlauf

Die im Boden ablaufenden mikrobiellen Prozesse zeigen häufig eine deutliche Abhängigkeit von diurnalen Temperaturänderungen (Chanton et al. 1997, Schütz et al. 1989). Auch für die CH₄-Emission konnte in dieser Arbeit eine deutliche Korrelation mit der Bodentemperatur gezeigt werden (Kap. 4.2.1.2). Die täglichen Temperaturschwankungen im Feld zeigten einen ähnlichen Verlauf wie die saisonalen Änderungen. In Abb. 4-38 (A-C) sind zu Beginn der Feldkampagne relativ starke Unterschiede zwischen hohen Tag- und niedrigen Nachttemperaturen zu erkennen.

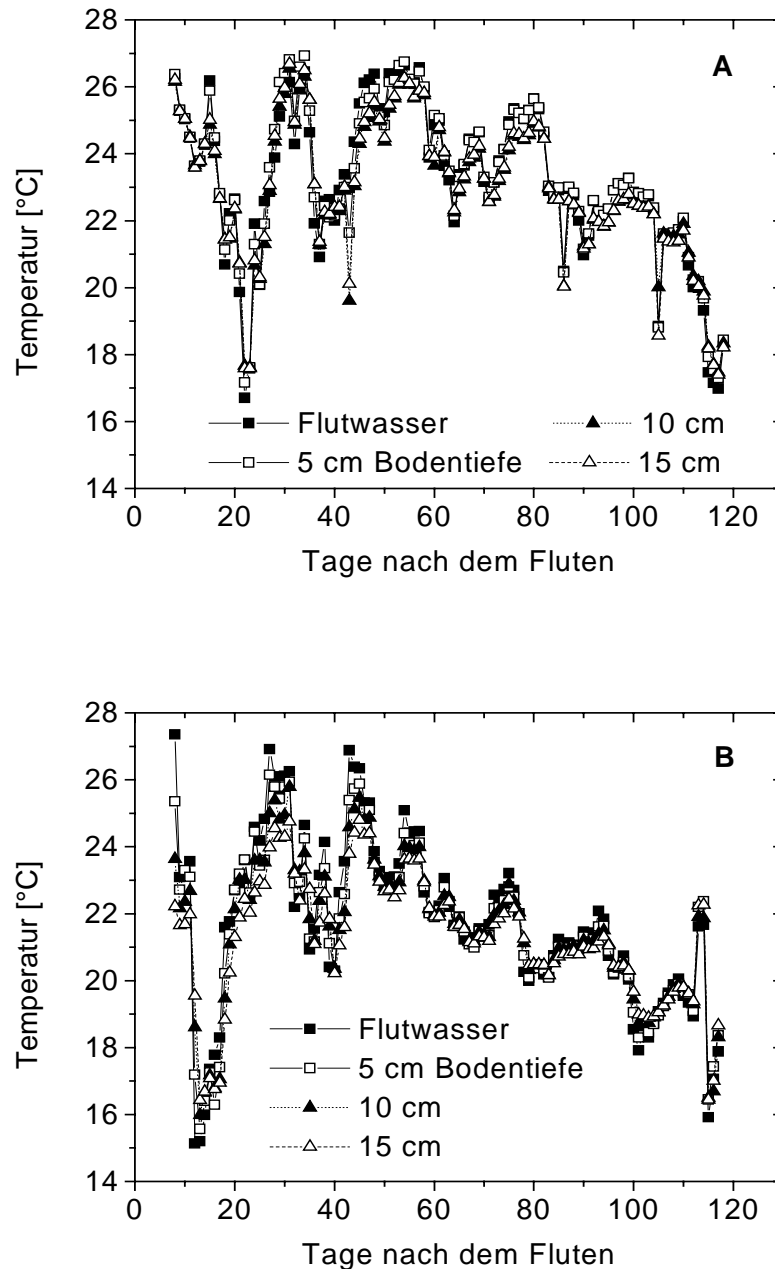


Abb. 4-37: Saisonaler Verlauf der Flutwasser- und Bodentemperatur in verschiedenen Tiefen im Reisfeld in den Jahren 1998 (A) und 1999 (B)

Im Laufe der Saison und mit sich entwickelndem Pflanzendach glichen sich diese einander an. Auch hier ist zu erkennen, daß Boden und Flutwasser einen überwiegend homogenen Temperaturbereich bildeten, nur zu Beginn der Saison waren die Schwankungen im Flutwasser und in der obersten Bodenschicht deutlich ausgeprägt (Abb. 4-38 A). In der folgenden Saison (1999) wurde eine ähnliche Entwicklung der diurnalen Temperaturschwankungen über die Vegetationsperiode gefunden.

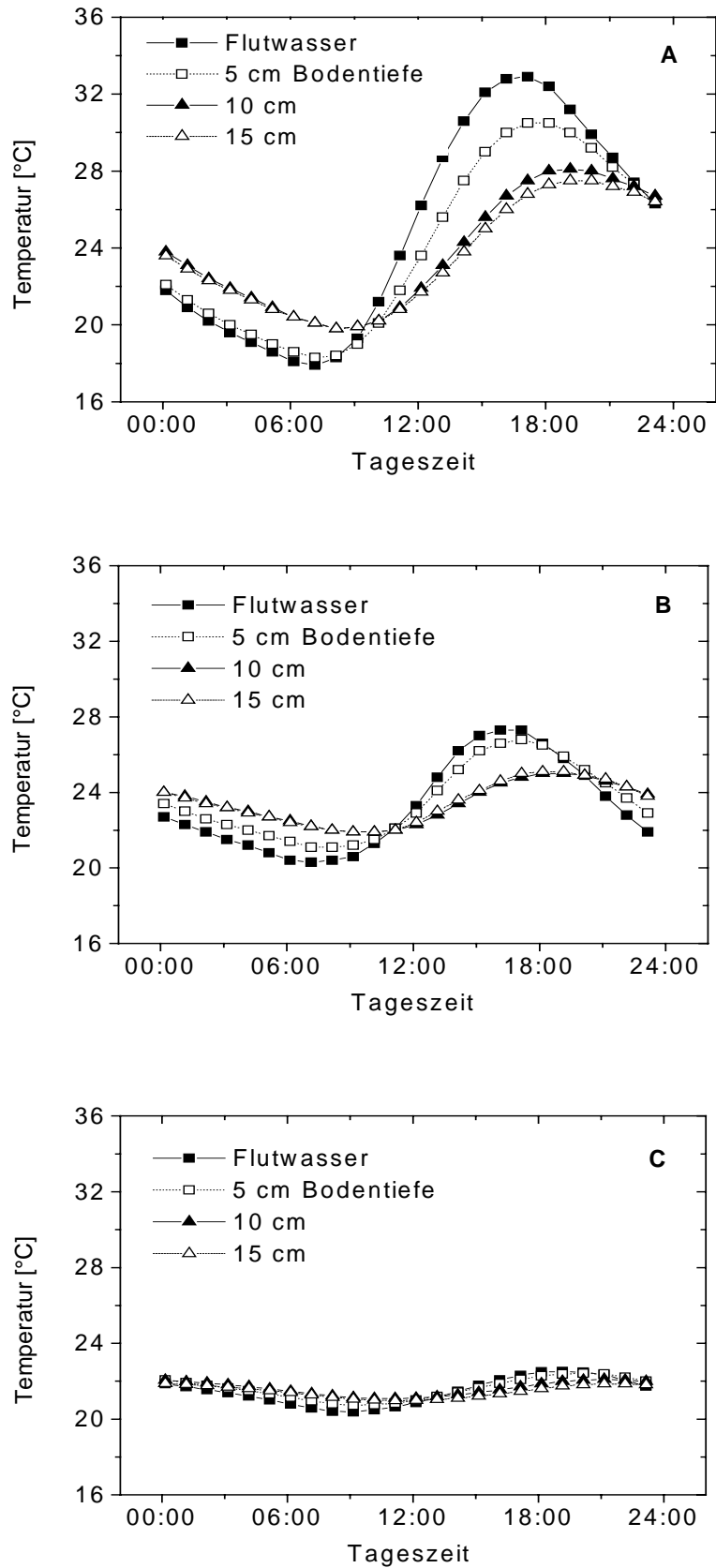


Abb. 4-38: Diurnale Änderungen der Boden- und Flutwassertemperaturen im Reisfeld in der Saison 1998, 25 (A), 63 (B) und 95 (C) Tage nach dem Fluten

4.2.4. Einfluss verschiedener Düngerapplikationen auf mikrobielle Prozesse im Reisfeld

In Laborexperimenten wurde ein stimulierender Einfluss von stickstoffhaltigen Düngern auf die CH_4 -Oxidation in Bodensuspensionen beobachtet (Bodelier et al. 2000 a & b). Deshalb wurden 1998 und 1999 verschiedene Feldexperimente durchgeführt, um den Effekt auf die CH_4 -Emission sowie auf die zugrunde liegenden Prozesse CH_4 -Produktion und –Oxidation zu untersuchen (Kap. 3.5.6).

4.2.4.1. Änderung von CH_4 -Produktion und –Oxidation nach starker Düngung

Am Ende der Vegetationsperiode in 1998 wurde ein Teil des Versuchsfeldes mit 150 kg N pro Hektar gedüngt. Eine Woche später wurden gleichzeitig Proben aus dem gedüngten sowie aus einem ungedüngten Kontrollbereich entnommen und in diesen Probensätzen sowohl die CH_4 -Produktions- als auch die Oxidationsraten bestimmt und verglichen (Kap. 3.5.6.1). An den eine Woche nach der zusätzlichen Düngung genommenen Wurzelproben wurde mit $110 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}_{\text{TG}}^{-1}$ eine deutlich geringere CH_4 -Produktion gemessen als in den Kontrollen ohne weitere Düngerapplikation mit $390 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}_{\text{TG}}^{-1}$ (Abb. 4-39).

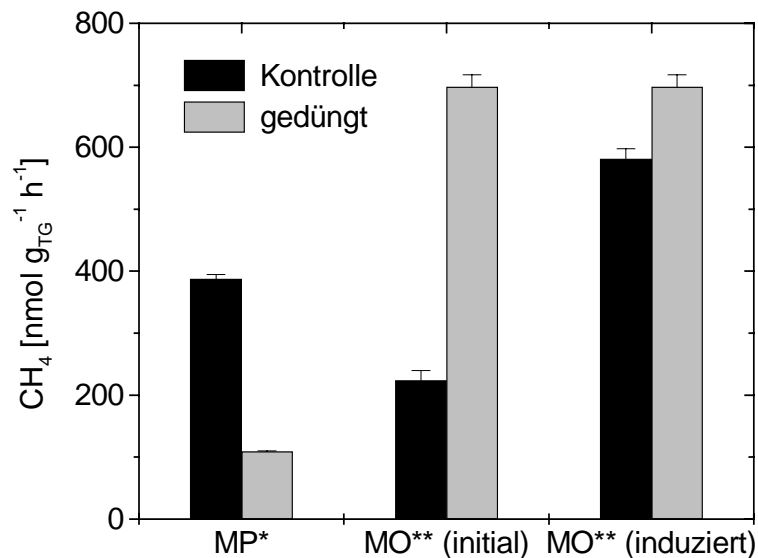


Abb. 4-39: Vergleich von CH_4 -Produktions- und Oxidationsraten an Reiswurzeln aus einem gedüngten (Probenahme 7 d nach Düngung) und einem Kontrollabschnitt des Versuchsfeldes 1998 (Mittelwert \pm SF, n = 3) *MP: CH_4 -Produktion **MO: CH_4 -Oxidation: Die initiale Oxidationsrate beschreibt die Oxidationsaktivität in der Zeit vom Beginn des Experimentes bis zum Einsetzen der induzierten, hohen Oxidationsraten (Kap. 3.4.1.1).

Andererseits war die initiale Oxidationsrate an den gedüngten Wurzeln um ein Vielfaches höher, mit 700 gegenüber von 225 $\text{nmol h}^{-1} \text{g}_{\text{TG}}^{-1}$ an den ungedüngten Wurzeln. Auch die induzierten Oxidationsraten waren stark erhöht. Die Lag-Phase (Kap. 3.4.1.1) ging von 45 h an den ungedüngten Wurzeln auf nahezu null Stunden nach der Düngung zurück. Dies deutet auf eine Stimulierung der an der Reiswurzel aktiven methanotrophen Bakterien durch die zusätzlichen Nährstoffe hin, da diese Bakterien unter den „normalen“ Feldbedingungen deutlich weniger aktiv gewesen zu sein schienen.

In der tieferen Bodenschicht war nach der Düngung die CH_4 -Produktionsrate gegenüber den unbehandelten Kontrollen deutlich angestiegen, von 2,5 auf 12 $\text{nmol h}^{-1} \text{g}_{\text{TG}}^{-1}$, während sie in der oberen Schicht nahezu unverändert blieb (Abb. 4-40). Die Höhe der CH_4 -Oxidationsraten im Boden wurde durch die Düngung in beiden Tiefen etwa verdoppelt, von 100 auf ca. 200 $\text{nmol h}^{-1} \text{g}_{\text{TG}}^{-1}$. Ein ähnlich starker Effekt wurde zuvor auch an den Wurzeln beobachtet. Die Lag-Phasen in den Bodensuspensionen gingen ebenfalls zurück, aufgrund der zu geringen Zahl an Messpunkten konnten aber keine genauen Zeiten angegeben werden.

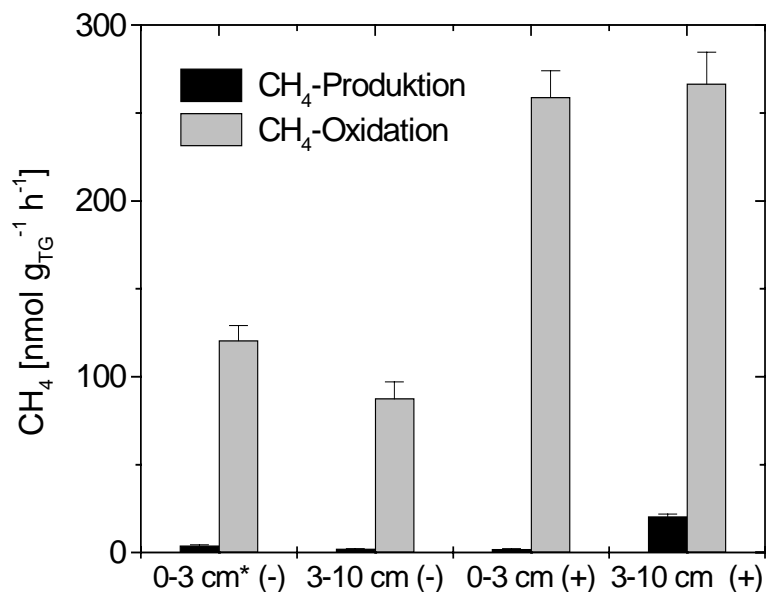


Abb. 4-40: Vergleich von CH_4 -Produktions- und Oxidationsraten in Suspensionen mit Boden aus einem gedüngten und einem Kontrollabschnitt des Versuchsfeldes 1998 (Probenahme 7 d nach Düngung) (Mittelwert \pm SF, n = 3)
 *Bodenkompartiment: 0-3 cm Tiefe: Oberboden; 3-10 cm Unterboden. (-) Aktivität in nicht gedüngtem Feldabschnitt; (+)Aktivität in gedüngtem Feldabschnitt

4.2.4.2. Einfluss einer geringen Harnstoffdüngung auf CH₄-Produktion und -Oxidation und das Bodenporenwasser

In der Saison 1999 wurden vor und nach der letzten landwirtschaftlichen Düngung des Feldes (40 kg N ha⁻¹), des sogenannten „Top dressings“ (Kap. 3.5.2), Proben aus den verschiedenen Kompartimenten genommen und analysiert und sowohl die CH₄-Produktionsraten als auch die -Oxidationsraten in Bodenproben und an Reisswurzeln bestimmt. Diese Düngung fand 70 Tage nach Fluten des Feldes statt.

4.2.4.2.1. Änderung der CH₄-Produktions- und Oxidationsraten in Bodensuspensionen und an Wurzeln

Wie schon nach der im vorigen Kapitel beschriebenen stärkeren Düngung zeigten sich auch nach der geringeren Harnstoffapplikation Unterschiede in den CH₄-Produktions- und -Oxidationsraten. So betragen die CH₄-Produktionsraten in den Bodensuspensionen vor der Düngung $0,119 \pm 0,02$ und $0,1165 \pm 0,028$ nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ für Ober- und Unterboden. Fünf Tage nach der Düngung waren die Raten auf $0,2291 \pm 0,172$ bzw. $11,624 \pm 0,725$ nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ angestiegen (n = 3). Diese besonders im tieferen Boden starke Zunahme der Raten korrelierte zeitlich mit dem Anstieg der CH₄- und der Acetatkonzentrationen im Porenwasser (Abb. 4-42 & 4-45).

Die CH₄-Oxidationsraten in den Bodensuspensionen zeigten hingegen keine auffälligen Unterschiede nach der Düngung. Der Grund hierfür war vermutlich, daß den Ansätzen anstelle von 10000 versehentlich nur 5-6000 ppm_v CH₄ zugegeben worden waren. So war ein direkter Vergleich der Oxidationsraten nicht mehr möglich. Erwartet worden wäre aber ebenfalls ein starker Anstieg sowohl der initialen als auch der induzierten Raten, wie er schon im zuvor beschriebenen Versuch beobachtet worden war.

An den Reisswurzeln stieg die CH₄-Produktion von $66,9 \pm 14,7$ auf $80,6 \pm 17,4$ nmol g_{TG}⁻¹ h⁻¹ fünf Tage nach der Düngung leicht an. Die δ¹³C-Werte des produzierten CH₄ und CO₂ waren mit $-65,55 \pm 1,23$ bzw. $-10,36 \pm 0,58$ ‰ deutlich leichter (vergleiche Tab. 4-2 nach 65 Tagen), was auf eine Änderung des Substrats im Boden hindeutete. Auch die initialen CH₄-Oxidationsraten stiegen deutlich um ca. das Vierfache an (Abb. 4-41), während die induzierten Raten nahezu unverändert blieben. Die Lag-Phase, d.h. die Zeitspanne bis zum Einsetzen der induzierten Oxidationsaktivität (Kap. 3.4.1.1) betrug vor der Düngung 12 h, nach der Düngung konnte kein Unterschied mehr zwischen initialer und induzierter Rate festgestellt werden (Lag-Phase = 0 h). Die CH₄-Oxidation wurde also deutlich stimuliert.

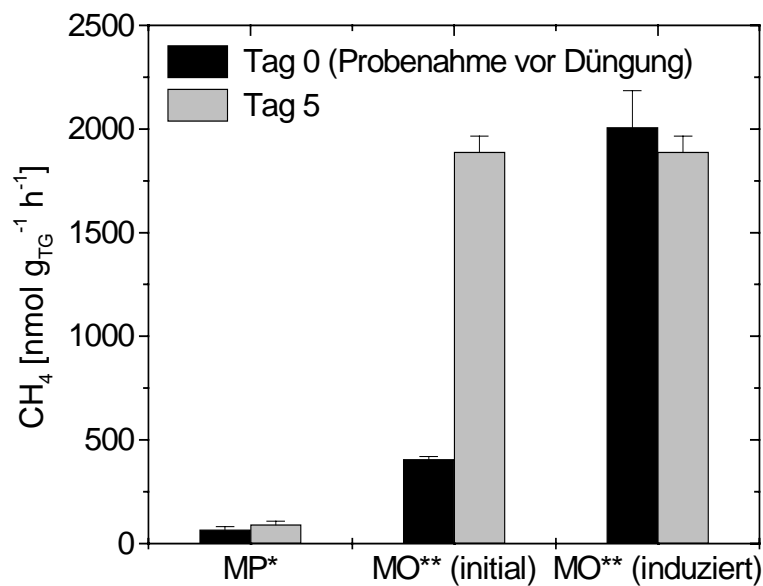


Abb. 4-41: Vergleich von CH₄-Produktions- und Oxidationsraten an Reiswurzeln vor und 5 Tage nach einer Düngung mit 40 kg N ha⁻¹ (als Harnstoff). (Mittelwert ± SF, n = 3) *MP: Methanproduktion **MO: Methanoxidation. Die initiale Oxidationsrate beschreibt die Oxidationsaktivität in der Zeit vom Beginn des Experimentes bis zum Einsetzen der induzierten, hohen Oxidationsraten (Kap. 3.4.1.1).

4.2.4.2.2. Änderung der CH₄-Konzentration und der Isotopensignaturen von CH₄ und CO₂ im Porenwasser

Im Tiefenprofil der CH₄-Konzentrationen im Porenwasser ist am Tag der Düngung eine deutliche Zonierung des Bodens zu erkennen (Abb. 4-42). In der oberen stärker durchwurzelten Schicht (0-8 cm) lagen die Werte um 10 µM, während in der tieferen (8-20 cm) zwischen 100-250 µM gefunden wurden. In den Tagen nach der Düngung stiegen die Werte in allen Tiefen langsam an, wobei aber die Zonierung erhalten blieb. In der oberen Schicht wurden nun bis zu 70, in der tieferen bis zu 350 µM CH₄ gemessen. Dieser Anstieg der CH₄-Konzentrationen könnte durch die ebenfalls erhöhte Exsudation organischer Verbindungen der Reispflanzen und die infolgedessen im tieferen Boden ansteigenden CH₄-Produktionsraten hervorgerufen worden sein.

Die Isotopensignaturen (δ¹³C) des im Porenwasser gelösten CH₄ und CO₂ zeigten vor und nach der Düngung nur geringfügig veränderte Werte (Abb. 4-43 & 4-44). Die Werte für das CH₄ wurden zunächst negativer, stiegen aber in den folgenden Wochen wieder an.

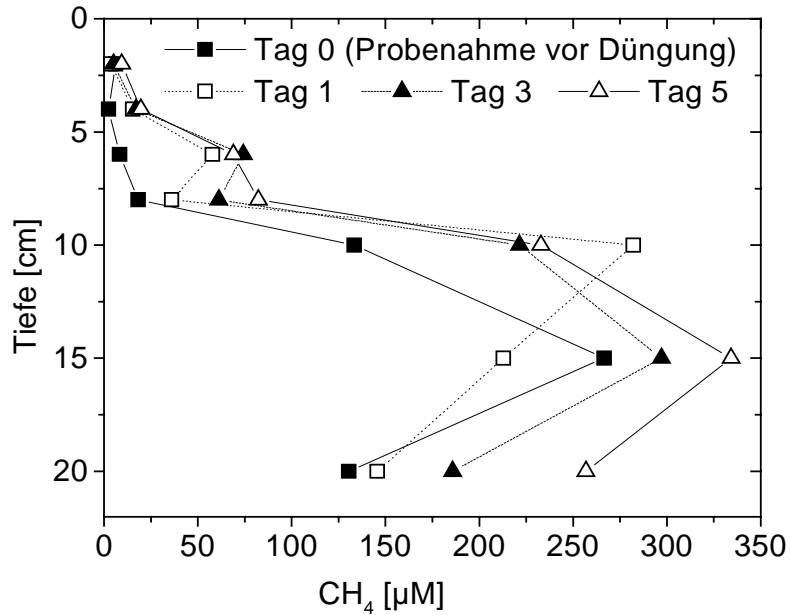


Abb. 4-42: Einfluss der Düngung mit 40 kg N ha^{-1} auf die CH_4 -Konzentration im Porenwasser im Bodentiefenprofil („Top dressing“ 1999, $n = 1$)

Einzigste Ausnahme bildete das CH_4 aus 2 cm Tiefe, welches den genau entgegengesetzten Trend zeigte. Das CO_2 wurde nach der Düngung schwerer, was in den oberen 2 cm des Bodens besonders deutlich zu erkennen war. In den folgenden Wochen setzte sich dieser Trend dann weiter fort.

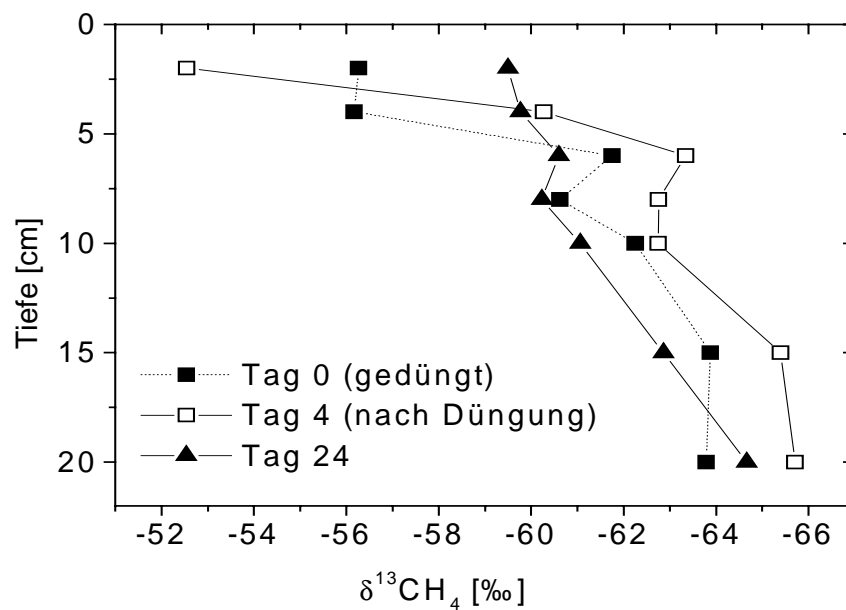


Abb. 4-43: Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten Methans nach der Düngung mit 40 kg N ha^{-1} („Top dressing“ 1999, $n = 1$)

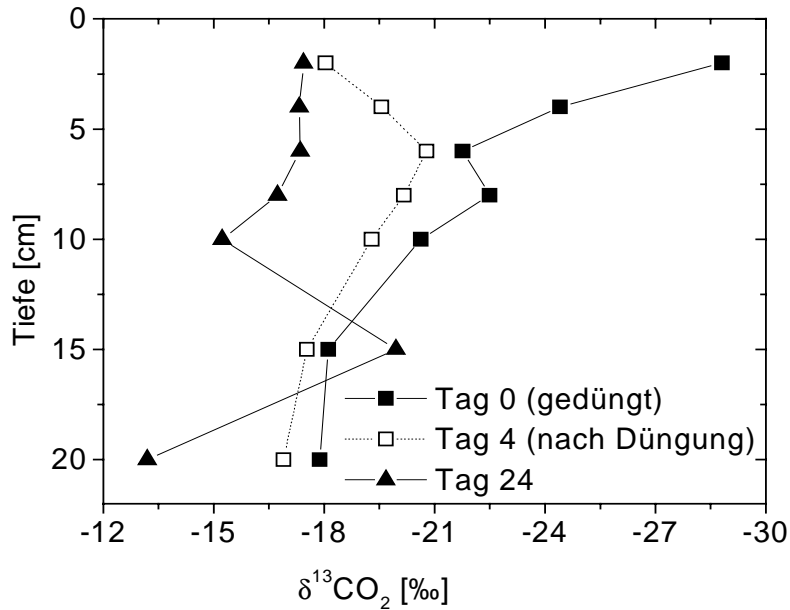


Abb. 4-44: Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser gelösten Kohlendioxids infolge der Düngung mit 40 kg N ha^{-1} ($n = 1$)

4.2.4.2.3. Einfluss der Düngung auf die Acetatkonzentration im Porenwasser

Bereits einen Tag nach Einbringen des Düngers in das Reisfeld wurde ein starker Anstieg der Acetatkonzentrationen im Porenwasser beobachtet (Abb. 4-45), welcher in der Bodenschicht von 5 bis 15 cm Tiefe am stärksten ausgeprägt war.

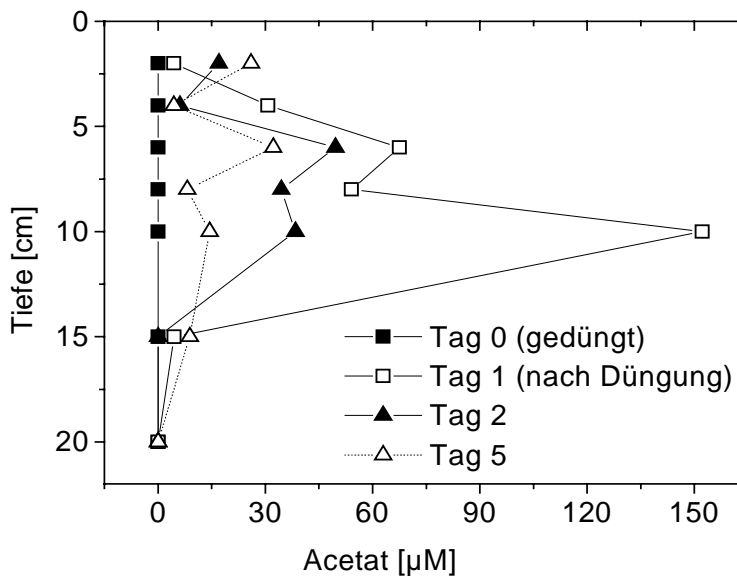


Abb. 4-45: Einfluss der Düngung mit 40 kg N ha^{-1} auf die Acetatkonzentrationen im Bodenporenwasser ($n = 1$)

Hier wurden bis zu 150 μM Acetat gemessen. In den folgenden Tagen gingen die Werte allmählich zurück. Diese plötzlichen Konzentrationsschwankungen könnten durch ein verändertes Exsudationsverhalten der Reispflanzen, verursacht durch die Düngerapplikation, hervorgerufen worden sein. In die Zeit nach dieser Düngung fielen auch die höchsten in der gesamten Saison gemessenen CH_4 -Produktionsraten (Abb. 4-9).

4.2.4.2.4. NH_4^+ -Konzentrationen im Porenwasser vor und nach dem „Top dressing“

Am Tag nach der Düngung stiegen die NH_4^+ -Konzentrationen im Bodenporenwasser bis in eine Tiefe von ca. 10 cm stark an, in 5 cm Tiefe wurde mit fast 0,5 mM der höchste Wert gemessen (Abb. 4-46). In den folgenden zwei Tagen gingen die Werte dann in dieser stark durchwurzelten Schicht wieder zurück, da die Reispflanzen das NH_4^+ vermutlich rasch aufnahmen. Aus diesem Grund konnte auch keine grössere Änderung der NH_4^+ -Konzentrationen in einer Tiefe von mehr als 10 cm beobachtet werden.

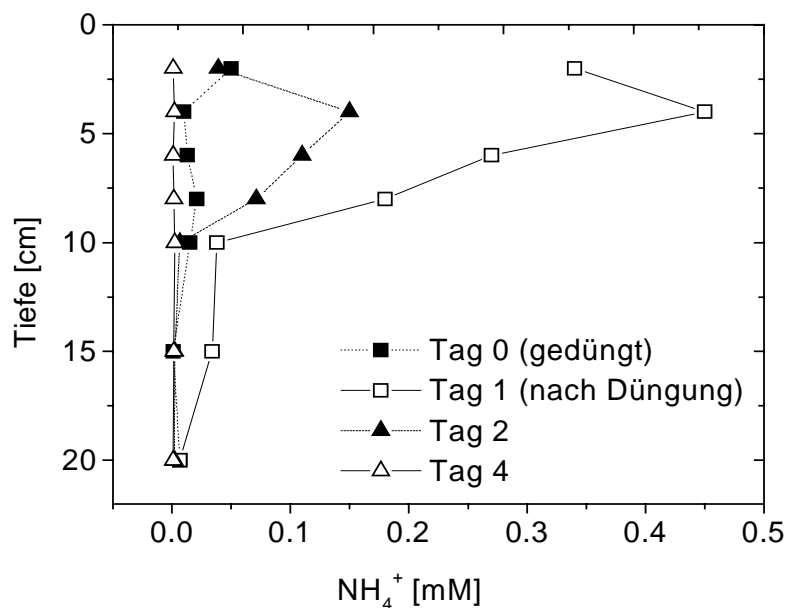


Abb. 4-46: Einfluss der Düngung mit 40 kg N ha⁻¹ (als Harnstoff) auf die NH_4^+ -Konzentration im Bodenporenwasser (n = 1)

4.2.4.2.5. Analyse von Gasblasen vor und nach der Düngung

In den Tagen nach der Düngung stieg das CH_4 -Mischungsverhältnis in fast allen Proben an (Abb. 4-47), so z. B. in den Gasblasen herausgestochart aus unbepflanztem Boden von 25000 auf nahezu 70000 ppm_v. Diese Zunahme passte zu dem Anstieg der CH_4 -Produktionsraten sowie der CH_4 -Konzentrationen im Bodenporenwasser. Einzig die aus bepflanztem Boden

herausgestocherten Blasenproben zeigten einen deutlichen Rückgang des CH_4 -Mischungsverhältnisses. Die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des CH_4 aus den herausgestocherten Gasblasen wurde negativer, während das in den ungestört aufgestiegenen Blasen positiver wurde (Tab. 4-5). Letzteres könnte durch den infolge der Düngung gesteigerten Einfluss der CH_4 -Oxidation hervorgerufen worden sein. Dieser unterschiedliche Trend im CH_4 aus den verschiedenen Arten von Gasblasen wurde durch die Analyse des im Porenwasser gelösten CH_4 bestätigt, welches einen ähnlich geteilten Verlauf der Isotopensignaturen zeigte (Abb. 4-43). Die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des Kohlendioxids aus den Gasblasen zeigte keine auffälligen Änderungen infolge der Düngung (Tab. 4-5). Die Werte blieben nahezu konstant bei -12 bis -13 ‰ im unbepflanzten und -18 bis -20 ‰ im bepflanztem Boden, unabhängig von der Art der Probenahme.

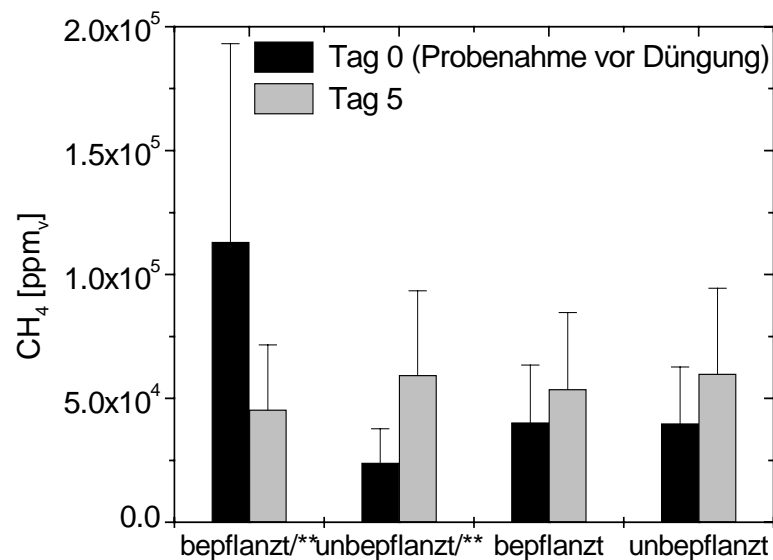


Abb. 4-47: Änderung des CH_4 -Mischungsverhältnisses in Gasblasen aus mit Reis bepflanztem und unbepflanztem Boden vor und 5 Tage nach der Düngung mit 40 kg N ha^{-1} (als Harnstoff) (Mittelwert \pm SF, $n = 3$) / kennzeichnet Gasblasen, die aus dem tieferen Boden herausgestochert wurden, um den Einfluss der CH_4 -Oxidation an der Bodenoberfläche zu umgehen (Kap. 3.5.5.5)**

Tab. 4-5: Änderung der Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von CH_4 und CO_2 in Gasblasen aus mit Reis bepflanztem und unbepflanzten Boden vor und 5 Tage nach der Harnstoffdüngung (Mittelwert \pm SF, n = 3)

Probentyp	Tag 0 (Düngung)		Tag 5 (nach Düngung)	
	$\delta^{13}\text{CH}_4$ [‰]	$\delta^{13}\text{CO}_2$ [‰]	$\delta^{13}\text{CH}_4$ [‰]	$\delta^{13}\text{CO}_2$ [‰]
Bepflanzt/**	$-57,28 \pm 1,67$	$-18,00 \pm 2,27$	$-59,15 \pm 1,20$	$-20,09 \pm 0,62$
Unbepflanzt/**	$-54,84 \pm 0,15$	$-13,80 \pm 1,05$	$-56,30 \pm 0,03$	$-12,89 \pm 1,58$
Bepflanzt	$-57,64 \pm 0,85$	$-18,38 \pm 1,61$	$-56,93 \pm 0,67$	$-17,04 \pm 1,42$
Unbepflanzt	$-56,61 \pm 0,77$	$-10,76 \pm 1,50$	$-55,12 \pm 0,56$	$-12,02 \pm 2,63$

/** kennzeichnet Gasblasen, die aus dem tieferen Boden herausgestochert wurden, um den Einfluss der CH_4 -Oxidation an der Bodenoberfläche zu umgehen (Kap. 3.5.5.5)

4.2.4.2.6. Einfluss einer Harnstoffdüngung auf die Emission, Produktion und Oxidation von CH_4 in Reisfeldern

In Zusammenarbeit mit Dr. Jianguo Dan wurde in separaten kleinen Reisfeldern ein weiteres Experiment durchgeführt. Hierbei ging es darum, den Einfluss von gezielten Harnstoffapplikationen auf die CH_4 -Emission zu untersuchen. Dieser Versuch sowie die erhaltenen Ergebnisse sind im Detail in Anhang 1 beschrieben und diskutiert.

Es wurde festgestellt, daß eine mittlere Düngergabe von 50 kg N ha^{-1} in Form von Harnstoff 75 Tage nach dem Fluten des Feldes keinen unmittelbaren Effekt auf die CH_4 -Emission des Reisfeldes hatte. Auch der Einfluss der CH_4 -Oxidation auf die Emission wurde durch die Düngung nicht verändert, wie durch in-situ Hemmversuche gezeigt werden konnte. Trotzdem wurde eine Stimulierung sowohl der potentiellen CH_4 -Produktions- als auch der Oxidationsraten im Boden beobachtet. Auch die CH_4 -Oxidation an Reiswurzeln wurde positiv beeinflusst, was an den verkürzten Lag-Phasen zu erkennen war. Die CH_4 -Konzentrationen im Porenwasser wiederum stiegen zwar mit der Zeit leicht an, es wurde aber keine Korrelation zur Düngung gefunden.

Die Aufnahme des NH_4^+ durch die Reispflanzen erfolgte sehr schnell, nach ca. 3 Tagen war das aus der Hydrolyse des Harnstoffs stammende NH_4^+ im Porenwasser aufgebraucht. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es wohl infolge der gleichzeitigen Zunahme sowohl der CH_4 -Produktions- als auch der Oxidationsraten zu keiner Änderung der CH_4 -Gesamtemission kam. Im Verbund mit der durchweg relativ starken Methanogenese in den tieferen Bodenschichten hoben sich die einzelnen Effekte wahrscheinlich gegenseitig auf.

4.3. Gewächshausexperimente

Zur Weiterführung und Ergänzung der vorangegangenen Freilandexperimente wurde im Frühjahr 1999 ein mehrmonatiger Gewächshausversuch durchgeführt. Die Schwerpunkte lagen in der Bestimmung des Einflusses der CH_4 -Oxidation auf die Emission sowie der Beiträge der verschiedenen CH_4 -Produktionswege zur Gesamtproduktion während der gesamten Vegetationsperiode der Reispflanzen. Hierbei wurde auch der Einfluss von stickstoffhaltigen Düngern auf die CH_4 -Oxidation in-situ untersucht, da in in-vitro Experimenten ein positiver Einfluss beobachtet worden war (Bodelier et al. 2000 a & b).

4.3.1. Untersuchung der CH_4 -Emission in Reismikrokosmen

Wie bei den Freilandexperimenten wurden auch im Verlauf dieses Mikrokosmosversuches wichtige Aspekte der CH_4 -Emission über die Vegetationsperiode untersucht.

4.3.1.1. Saisonale Änderung der CH_4 -Emission sowie der in-situ CH_4 -Oxidation

Zu Beginn der Vegetationsperiode, ca. 30 Tage nach dem Aussetzen der Reiskeimlinge, waren die CH_4 -Emissionen noch sehr niedrig, stiegen aber bis zur ersten Düngung der Mikrokosmen nach 42 Tagen stark an (Abb. 4-48, Set 1). Nach dieser Düngung sanken die Emissionsraten dann steil ab, wahrscheinlich infolge der zunehmenden CH_4 -Oxidation. In der darauffolgenden Zeit ging der Einfluss der Oxidation wieder zurück und die CH_4 -Emissionen stiegen bis zum Ende der Vegetationsperiode kontinuierlich an. Die zweite Düngung am Ende der Saison hatte im Gegensatz zur ersten eine leichte Zunahme der CH_4 -Emission zur Folge. Dies weist auf eine im Vergleich zur CH_4 -Oxidation stärkere Förderung der CH_4 -Produktion – z. B. durch erhöhte Substratexsudation – hin, so daß eine eventuelle Zunahme der Oxidation hierdurch überdeckt wurde.

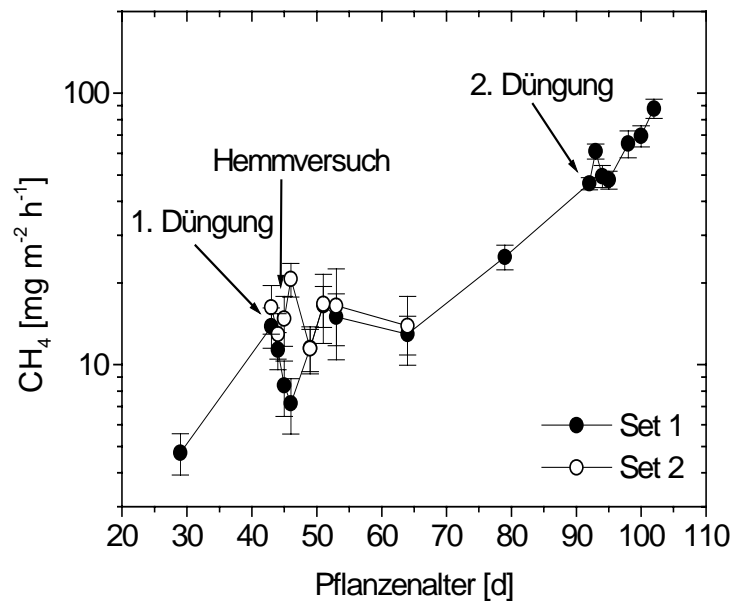


Abb. 4-48: Saisonale Entwicklung der CH₄-Emissionsraten sowie der Effekt von Düngungen auf die CH₄-Emission (Set 1) und -Oxidation* (Set 2) zu verschiedenen Zeitpunkten in den Reismikrokosmen (Mittelwert \pm SF, n = 5). *Bestimmt durch Hemmung der CH₄-Oxidation mit CH₂F₂ (Kap. 3.4.3.3)

Auch die Pflanzen der zweiten Versuchsreihe (Set 2) zeigten nach der Düngung einen Rückgang der CH₄-Emissionen infolge des zunehmenden Einflusses der CH₄-Oxidation (Abb. 4-49). Durch die Hemmung der Oxidation mit CH₂F₂ (Kap. 3.4.3.3) wurde dieser aber aufgehoben und die Emissionsraten stiegen stark um ca. 45 % an. Der Hemmeffekt des CH₂F₂ setzte sich auch noch am Tag nach dem Oxidationsversuch fort, was auf eine nur langsam abklingende Wirkung des Hemmstoffes hinwies (s. auch Kap. 4.1.2). Im folgenden zeigte der Rückgang der Emission die wieder ansteigende CH₄-Oxidationsaktivität.

Nach 6 Tagen stiegen die CH₄-Emissionen aus allen Mikrokosmen wieder an, was auf eine Abnahme des Einflusses der CH₄-Oxidation hindeutet. Dies wurde durch ein zweites Hemmexperiment 6 Tage nach der Düngung bestätigt, welches im Gegensatz zum ersten keine weitere Erhöhung der CH₄-Emissionen mehr zur Folge hatte. Zu dem generellen Anstieg der CH₄-Emission könnte es auch infolge einer erhöhten Exsudation von organischen Verbindungen durch die gedüngten Reispflanzen und einer Stimulation der CH₄-Produktion gekommen sein. Der weitere saisonale Verlauf der Emissionsraten aller Mikrokosmen verlief dann ähnlich wie zuvor in Abb. 4-48 für Set 1 beschrieben.

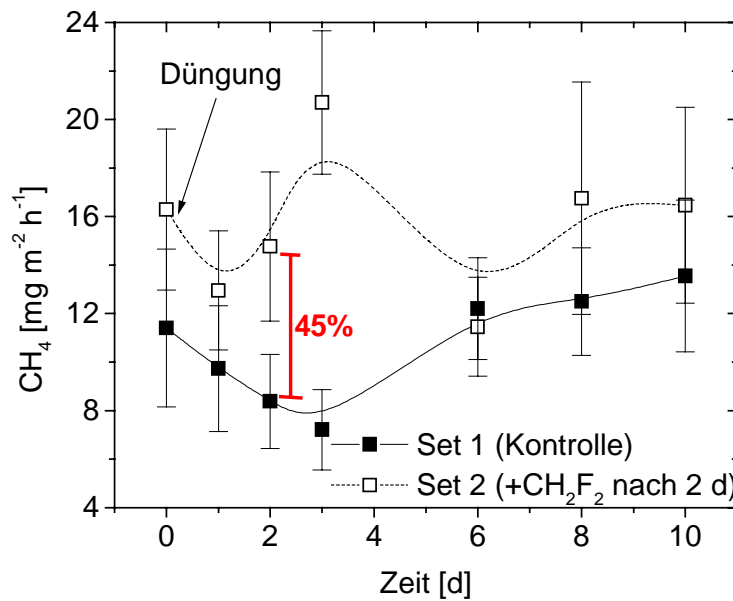


Abb. 4-49: Änderung der CH₄-Emission aus den Mikrokosmen (Set 1) und des Einflusses der CH₄-Oxidation* (Set 2: d = 2) nach der Düngung (d = 0) in 42 Tage alten Mikrokosmen (Mittelwert ± SF, n = 5). * Bestimmt durch Hemmung der CH₄-Oxidation mit CH₂F₂ (Kap. 3.4.3.3)

4.3.1.2. Änderung der Isotopensignatur (δ¹³C) des emittierten Methans

Zu Beginn der Vegetationsperiode war das emittierte CH₄ mit -58 ‰ relativ schwer, wurde aber bis zur ersten Düngung deutlich leichter (Abb. 4-50). Direkt nach der Düngerapplikation stiegen die Werte dann kurzzeitig stark an (Set 1), wahrscheinlich infolge der zunehmenden CH₄-Oxidation. Anschliessend sanken die Werte im Laufe der Saison kontinuierlich ab, bis auf ca. -74 ‰ vor der zweiten Düngung, 100 Tage nach dem Auspflanzen. Auch hier zeigte sich dann ein Anstieg der Isotopensignatur im Anschluss an die Düngung auf -70 ‰ und wies so auf eine Zunahme der CH₄-Oxidation hin.

Die zweite parallele Versuchsreihe (Set 2) zeigte ebenfalls am Tag nach der Düngung einen starken Anstieg der Isotopensignatur (Abb. 4-50). Infolge der Hemmung der CH₄-Oxidation durch CH₂F₂ wurde das emittierte CH₄ aber wie erwartet deutlich leichter. Nach Abklingen der Hemmwirkung stiegen die Werte dann wieder auf dem ersten Set vergleichbare Signaturen an.

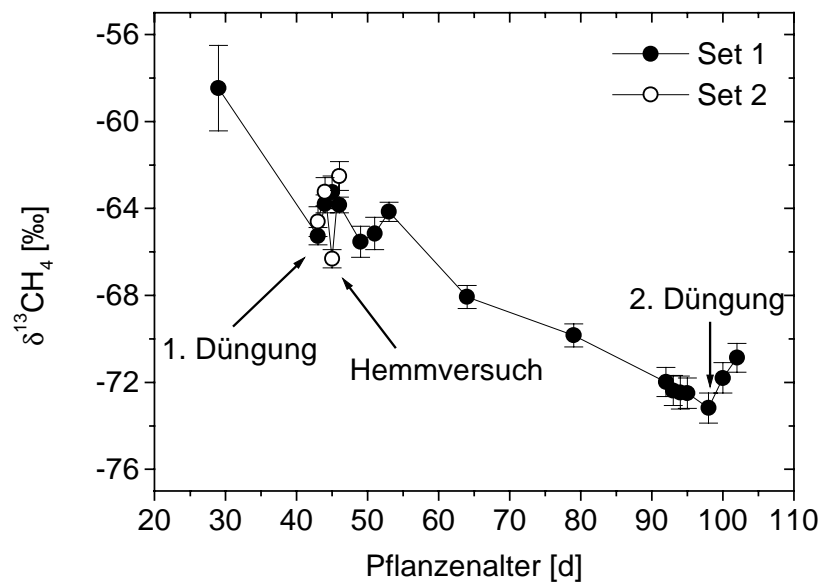


Abb. 4-50: Saisonale Änderung der Isotopensignatur (Set 1) des aus den Mikrokosmen emittierten Methans sowie der Einfluss von Düngungen und der CH₄-Oxidation* (Set 2) auf die Isotopensignatur zu verschiedenen Zeitpunkten während der Vegetationsperiode (Mittelwert ± SF, n = 5). *Bestimmt durch Hemmung der CH₄-Oxidation mit CH₂F₂ (Kap. 3.4.3.3)

4.3.1.3. Emission von N₂O aus den Mikrokosmen nach Stickstoffdüngung

Die Ausbringung von stickstoffhaltigen Düngern führt oft zur verstärkten Emission von Distickstoffoxid (N₂O). Dies ist deshalb wichtig, da N₂O ebenfalls ein sehr potentes Treibhausgas ist. Aus diesem Grund wurde parallel zur CH₄- auch die N₂O-Emission aus den Reismikrokosmen vor und nach der ersten Düngung (nach 42 Tagen) verfolgt.

Vor der Düngung waren die N₂O-Emissionsraten sehr niedrig (0,01-0,05 mg N₂O m⁻² h⁻¹) und stiegen anschliessend zunächst nur langsam an (Abb. 4-51). Zwischen 3-7 Tagen nach der Düngung wurden die höchsten Raten beobachtet, mit bis zu 1 mg N₂O m⁻² h⁻¹. Im folgenden ging die Emission dann wieder auf sehr niedrige Werte zurück, die denen vor der Düngung vergleichbar waren. Die starke Harnstoffdüngung (100 kg N ha⁻¹) der Mikrokosmen hatte also nur einen kurzzeitigen Effekt auf die N₂O-Emissionen.

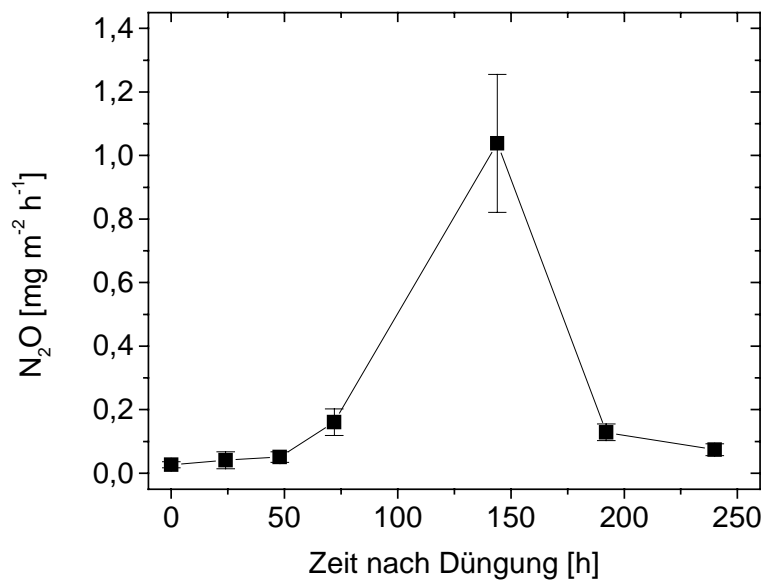


Abb. 4-51: N₂O-Emission aus den Reismikrokosmen in der Zeit nach der Düngung (t = 0, 42 Tage alte Mikrokosmen) mit 100 kg N in Form von Harnstoff (Mittelwert ± SF, n = 5)

4.3.2. Untersuchung wichtiger mikrobieller Prozesse

Als Ergänzung und Fortsetzung der in-situ Messungen an den Mikrokosmen wurden ebenfalls wichtige, in die CH₄-Emission involvierte mikrobielle Prozesse über die gesamte Vegetationsperiode untersucht. Hierzu wurde der Boden wiederum in Oberboden (0-3 cm) und Unterboden (3-10 cm) unterteilt (Kap. 3.5.5.1).

4.3.2.1. Methanogene Prozesse in den Reismikrokosmen

4.3.2.1.1. Änderung der Produktionsraten von CH₄ in Bodensuspensionen

Einer der grundlegenden mikrobiellen Prozesse im Reisfeldboden ist die CH₄-Produktion, welche deshalb in Suspensionen aus Mikrokosmos-Bodenproben über die Saison untersucht wurde. Hierbei zeigte sich eine deutliche Zweiteilung des Bodens. In der tieferen Schicht, dem Unterboden, waren die potentiellen Methanproduktionsraten (MPR) über die gesamte Vegetationsperiode relativ konstant. Die Werte lagen bei 15-25 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ (Abb. 4-52). Die Proben aus dem Oberboden zeigten hingegen zu Beginn nur sehr niedrige MPR von 0,5 bis 2 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹. Im Laufe der Saison stiegen diese dann langsam auf ca. 8 nmol CH₄ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ bei den 99 Tage alten Pflanzen an, erreichten aber nie dem Unterboden vergleichbare Werte.

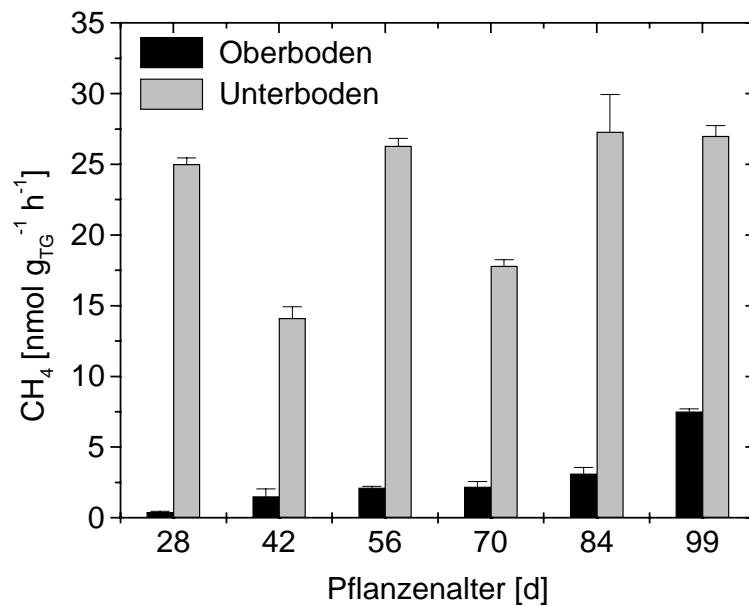


Abb. 4-52: Saisonale Änderung der potentiellen CH₄-Produktionsraten in Suspensionen mit Bodenproben aus den Reismikrokosmen (Mittelwert ± SF, n = 3)

Eine mögliche Erklärung für diese Unterschiede zwischen den Bodenschichten könnte der Eintrag von Sauerstoff durch das regelmässige Bewässern der Töpfe gewesen sein. Auch möglich ist eine erhöhte Sauerstoffzufuhr über die Pflanze oder den starken Algenbewuchs des Flutwassers.

4.3.2.1.2. Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des in Bodensuspensionen produzierten Methans

Wie schon die Bestimmung der CH₄-Produktionsraten zeigte auch die Untersuchung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des produzierten Methans eine deutliche Zweiteilung des Bodens (Abb. 4-53). In der oberen Bodenschicht war das produzierte CH₄ zu Beginn mit -70‰ sehr leicht, wurde aber im Laufe der Saison allmählich schwerer. Bei 99 Tage alten Reispflanzen lag die Signatur bei -62‰ . In der tieferen Schicht war das produzierte CH₄ von vorn herein deutlich schwerer, die Anfangswerte lagen bei -57‰ . Mit fortschreitender Vegetationsperiode wurde es dann noch einmal geringfügig schwerer, bei 99 Tage alten Reispflanzen lag der Wert bei -53‰ .

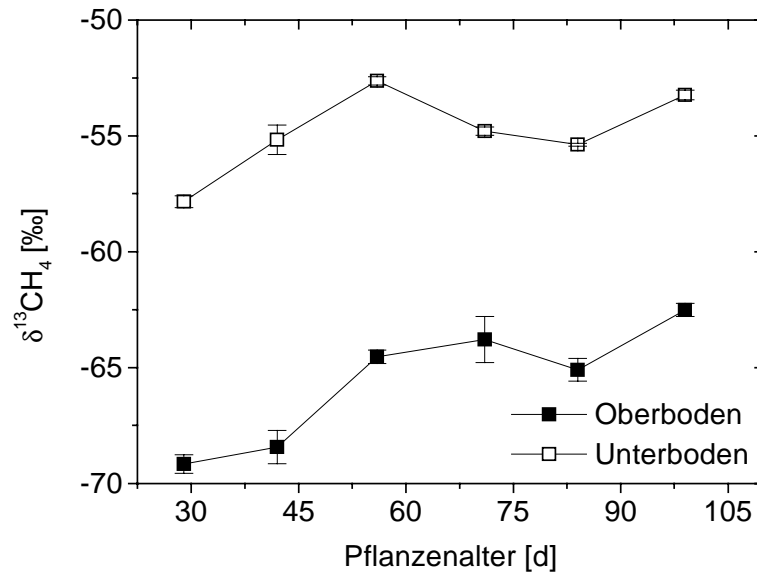


Abb. 4-53: Saisonale Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des in Suspensionen aus Mikrokosmosboden produzierten Methans (Mittelwert \pm SF, $n = 3$)

4.3.2.1.3. Umsatz von ^{14}C -Bicarbonat durch hydrogenotrophe Methanogene

Die Untersuchung der an der Methanogenese beteiligten Produktionswege wurde auf zwei unterschiedliche Arten durchgeführt: Zum einen unter Einsatz von ^{14}C -markiertem Bicarbonat

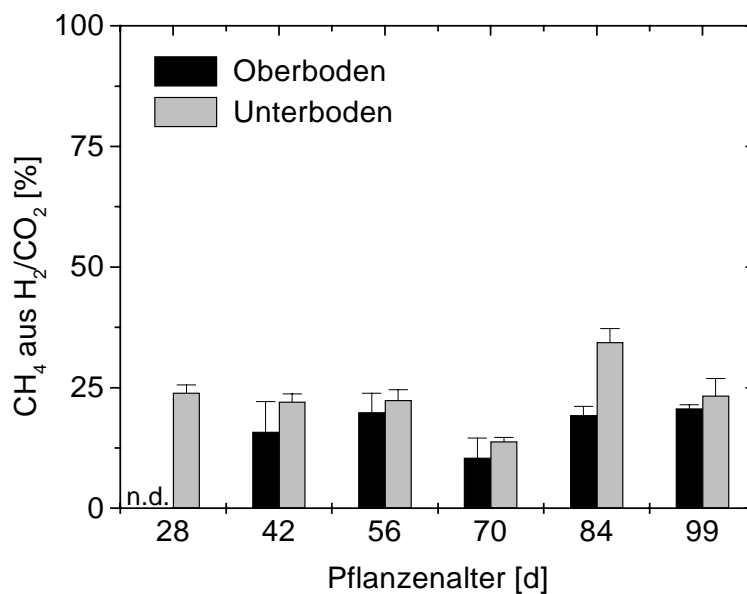


Abb. 4-54: Saisonale Änderung der Fraktion (f_{Hydr}) von CH_4 produziert aus H_2/CO_2 in Bodensuspensionen, bestimmt über die Umwandlung von ^{14}C -Bicarbonat zu $^{14}\text{CH}_4$ (Mittelwert \pm SF, $n = 3$). n. d. : nicht detektierbar

als Substrat der hydrogenotrophen Methanogenen (Kap. 3.4.2.1), weiterhin durch die im nächsten Kapitel beschriebene selektive Hemmung der acetoclastischen Methanogenese mit Methylfluorid (Kap. 3.4.3.2). Über die gesamte Vegetationsperiode war der Anteil der H_2/CO_2 -abhängigen Methanogenese an der Gesamtproduktion relativ konstant (Abb. 4-54). Die Werte lagen zwischen 15 und 30 %. Auch war kein auffälliger Unterschied zwischen den beiden Bodenschichten zu erkennen.

4.3.2.1.4. Methylfluorid als Hemmstoff der acetoclastischen Methanogenese

Die selektive Hemmung der acetoclastischen Methanogenese ergab ähnliche Ergebnisse wie der Einsatz von ^{14}C -Bicarbonat (s. o.). Der Anteil der hydrogenotrophen CH_4 -Produktion lag in beiden Bodenschichten bis zu einem Pflanzenalter von 70 Tagen bei 15-20 % und stieg dann leicht auf 25-30 % an (Abb. 4-55). Im Oberboden waren die Werte meistens etwas höher, was zu der niedrigeren Isotopensignatur des produzierten CH_4 passen könnte (Abb. 4-53).

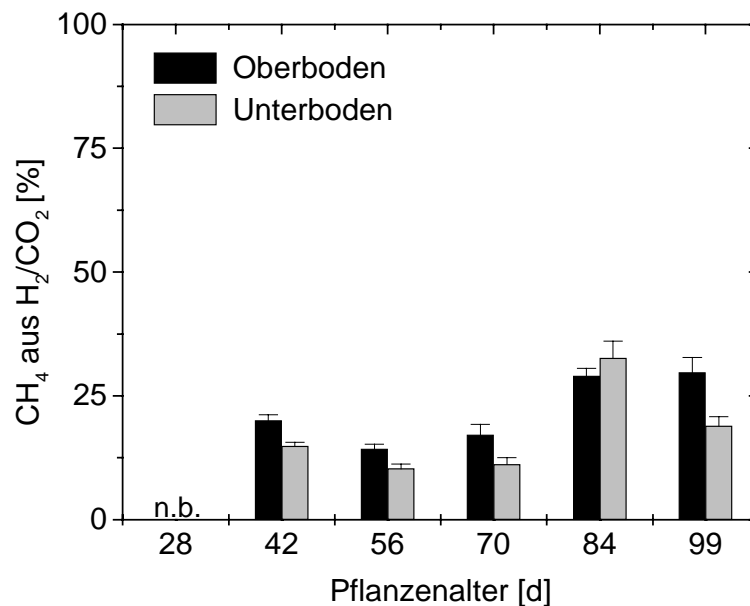


Abb. 4-55: Saisonale Änderung des Anteils von CH_4 produziert aus H_2/CO_2 in Suspensionen mit Mikrokosmosboden, bestimmt mit CH_3F (0,5 %) als selektivem Hemmstoff der acetoclastischen Methanogenese (Mittelwert \pm SF, n = 3). n. b.: nicht bestimmt

4.3.2.1.5. CH₄-Produktion an Reiswurzeln

Die erst vor einigen Jahren entdeckte CH₄-Produktion an Reiswurzeln wurde in diesem Experiment nur exemplarisch zu einem Zeitpunkt untersucht. Hierbei wurde sowohl die CH₄-Produktionsrate als auch die zeitliche Änderung der Isotopensignatur des produzierten CH₄ bestimmt.

Die CH₄-Produktionsrate war mit $189,21 \pm 12,45 \text{ nmol CH}_4 \text{ g}_{\text{TG}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ($n = 4$) durchaus den im Feld gefundenen Raten vergleichbar (Abb. 4-15). Die Isotopensignaturen des produzierten CH₄ und CO₂ änderten sich mit zunehmender Inkubationszeit (Tab. 4-6). Beide wurden zunächst deutlich schwerer, um dann nach 3-4 Tagen wieder allmählich leichter zu werden.

Tab. 4-6: Änderung der Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) des produzierten CH₄ und CO₂ an nach 56 Tagen entnommenen Reiswurzeln mit zunehmender Inkubationsdauer (Mittelwert \pm SF, $n = 4$)

Inkubationszeit [d]	$\delta^{13}\text{CH}_4$ [‰]	$\delta^{13}\text{CO}_2$ [‰]
1	$-65,29 \pm 0,82$	$-14,96 \pm 1,7$
2	$-57,07 \pm 0,78$	$-6,43 \pm 0,72$
3	$-57,76 \pm 0,65$	$-9,32 \pm 0,33$
4	$-59,96 \pm 1,49$	$-11,77 \pm 0,28$
7	$-61,75 \pm 0,65$	$-16,76 \pm 1,11$
11	$-59,09 \pm 2,35$	$-20,99 \pm 0,23$

4.3.2.2. Umsatz von [2-¹⁴C]-Acetat in Bodensuspensionen – Bestimmung des RI-Wertes

Ein anderes wichtiges Experiment zur Untersuchung von mikrobiellen Prozessen ist die Bestimmung des Respiratorischen Indexes (RI-Wert, Kap. 3.4.2.2) für den Umsatz von [2-¹⁴C]-Acetat. Hierbei war wieder eine deutliche Zweiteilung des Bodens zu erkennen. Im Oberboden lagen die RI-Werte bis zu einem Pflanzenalter von ca. 70 d um 90 %, es dominierten also oxidative Acetatabbauprozesse (Abb. 4-56). Erst bei noch älteren Pflanzen sanken die RI-Werte auf 50 % ab, der methanogene Acetatumsatz nahm zu.

Im Gegensatz hierzu betragen die RI-Werte für den Unterboden nur 20-40 %, das Acetat wurde demnach überwiegend von acetoclastischen Methanogenen reduziert. Diese Unterschiede passten sehr gut zu den ebenfalls stark verschiedenen CH₄-Produktionsraten in den beiden Bodenschichten (Abb. 4-53).

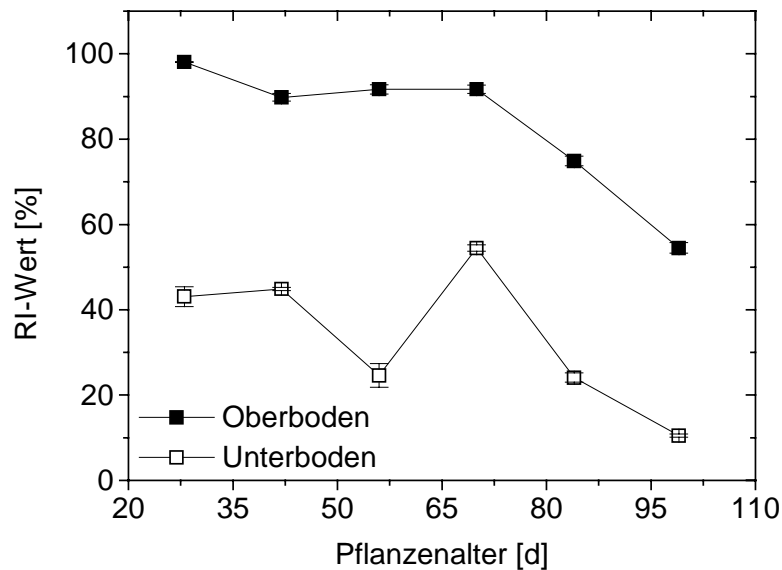


Abb. 4-56: Saisonale Änderung der RI-Werte* für den Umsatz von [2-¹⁴C]-Acetat in Bodensuspensionen (Mittelwert \pm SF, n = 3). *Der Respiratorische Index (RI) beschreibt den Prozentsatz der ¹⁴C-markierten Methylgruppen des zugegebenen [2-¹⁴C]-Acetats, welcher oxidativ zu ¹⁴CO₂ umgesetzt und nicht zu ¹⁴CH₄ reduziert worden ist. Hohe RI-Werte sind charakteristisch für einen hauptsächlich oxidativen Acetatstoffwechsel, während niedrige RI-Werte auf einen überwiegend methanogenen Umsatz hinweisen.

4.3.2.3. Produktionsraten und Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von CO₂ in Bodenproben

Einen ersten Eindruck von der Verfügbarkeit und dem Umsatz von organischen Substraten im Boden kann die in diesem Experiment ebenfalls regelmässig durchgeführte Bestimmung der CO₂-Produktionsraten geben. Zu Beginn der Saison war die CO₂-Produktion in den Ansätzen mit Unterboden nahezu doppelt so hoch wie mit Oberboden (Abb. 4-57). Im folgenden glichen sich die Raten jedoch rasch an. Bis zum Ende der Vegetationsperiode stiegen die Werte beider Bodenschichten von 40 auf ca. 70 nmol CO₂ g_{TG}⁻¹ h⁻¹ an.

Bei der Bestimmung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des produzierten CO₂ zeigte sich wieder die auffällige Zonierung des Bodens der Mikrokosmen (Abb. 4-58). Die Signatur des im Oberboden produzierten CO₂ war über die gesamte Saison relativ stabil und lag bei -27 ‰. Das im Unterboden produzierte CO₂ hingegen war schon zu Beginn mit -26 ‰ etwas schwerer.

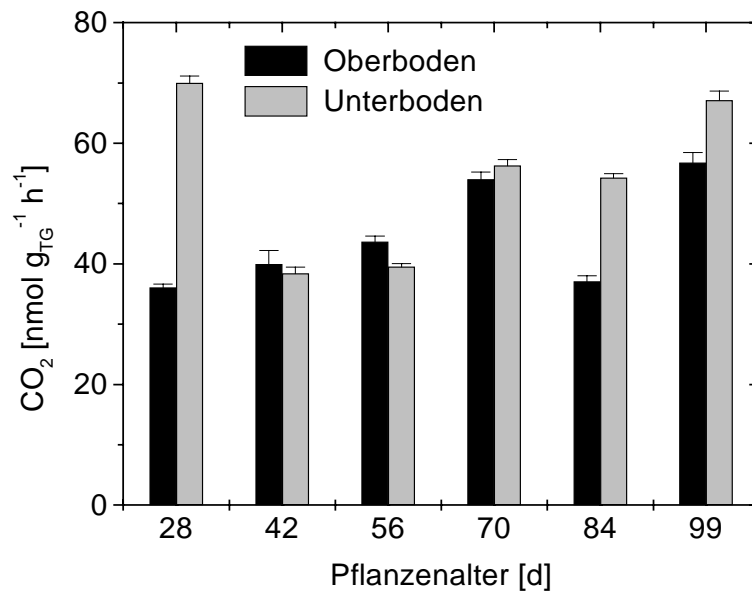


Abb. 4-57: Saisonale Änderung der CO₂-Produktionsraten in Suspensionen mit Mikrokosmosboden (Mittelwert ± SF, n = 3)

Mit zunehmenden Pflanzenalter stiegen die Werte - wie auch bei den Feldproben beobachtet - deutlich bis auf ca. -16 ‰ bei 99 Tage alten Pflanzen an.

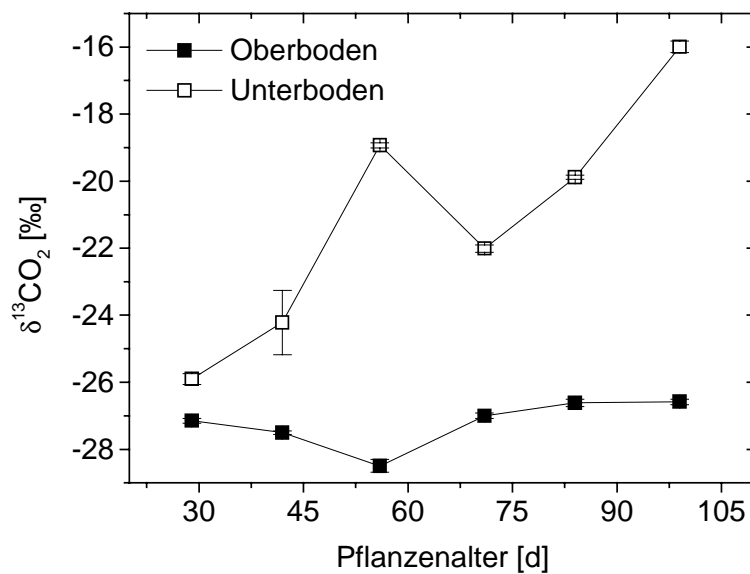


Abb. 4-58: Saisonale Änderung der Isotopensignatur (δ¹³C) des in Bodensuspensionen produzierten Kohlendioxids (Mittelwert ± SF, n = 3)

4.3.2.4. Produktion von Wasserstoff

Ein wichtiges Substrat für eine Vielzahl von Bodenmikroorganismen ist H_2 , weshalb die Partialdrücke von H_2 in den Bodeninkubationen ebenfalls verfolgt wurden. Es stellte sich heraus, daß sowohl die Änderung als auch die Höhe der Partialdrücke in den bei verschiedenen alten Reismikrokosmen durchgeführten Bodeninkubationen sehr ähnlich waren. So war weder im Ober- noch im Unterboden ein saisonaler Trend zu erkennen. Einzig die Höhe der erreichten Partialdrücke war in den Bodenschichten unterschiedlich.

Zu Beginn war der H_2 -Partialdruck in den Inkubationen mit Oberboden mit bis zu 12 Pa hoch, sank aber nach 2 Tagen wieder auf 2 Pa ab, um dann mit zunehmender Inkubationsdauer nur allmählich wieder anzusteigen. Bei den Ansätzen mit Unterboden hingegen wurde ein eher kontinuierlicher Anstieg der Werte beobachtet. Der Partialdruck stieg von 2 Pa zu Beginn auf ca. 12 Pa nach 5-6 Tagen Inkubation an und war generell höher als die im Oberboden gemessenen Werte.

4.3.2.5. Änderung der Methanoxidationsraten in Bodensuspensionen

Ein weiterer wichtiger mikrobieller Prozess im Reisfeldboden ist die CH_4 -Oxidation, weshalb zusätzlich zur in-situ Oxidation (Kap. 4.3.1.1) auch die potentiellen Methanoxidationsraten (MOR) in Bodensuspensionen über die Saison bestimmt wurden. Hierbei wurde wieder zwischen initialen und induzierten MOR unterschieden (Kap. 3.4.1.1). Zu Beginn der Saison waren die initialen MOR mit ca. $100-150 \text{ nmol } CH_4 \text{ g}_{TG}^{-1} \text{ h}^{-1}$ relativ niedrig (Abb. 4-59). In den auf die Düngung (100 kg N als Harnstoff) nach 42 Tagen folgenden Wochen waren die initialen Raten mit bis zu $450 \text{ nmol } CH_4 \text{ g}_{TG}^{-1} \text{ h}^{-1}$ stark erhöht, was auf eine Stimulierung der methanotrophen Bakterien hinwies. Zum Ende der Vegetationsperiode hin sanken die Werte dann wieder deutlich ab. Mit Ausnahme der Werte von 42 Tage alten Mikrokosmen waren die initialen MOR im stärker durchwurzelten Oberboden höher als im weniger wurzelbeeinflussten Unterboden.

Die induzierten MOR waren zu Beginn mit $300-450 \text{ nmol } CH_4 \text{ g}_{TG}^{-1} \text{ h}^{-1}$ deutlich höher als die initialen MOR (Abb. 4-60). Nach der Düngung gab es hingegen bei 56 und 70 Tagen keinen Unterschied der verschiedenen Raten. Mit zunehmendem Pflanzenalter sanken die induzierten MOR dann ebenfalls stark ab. Auch die induzierten MOR waren im Oberboden etwas höher als in der tieferen Schicht.

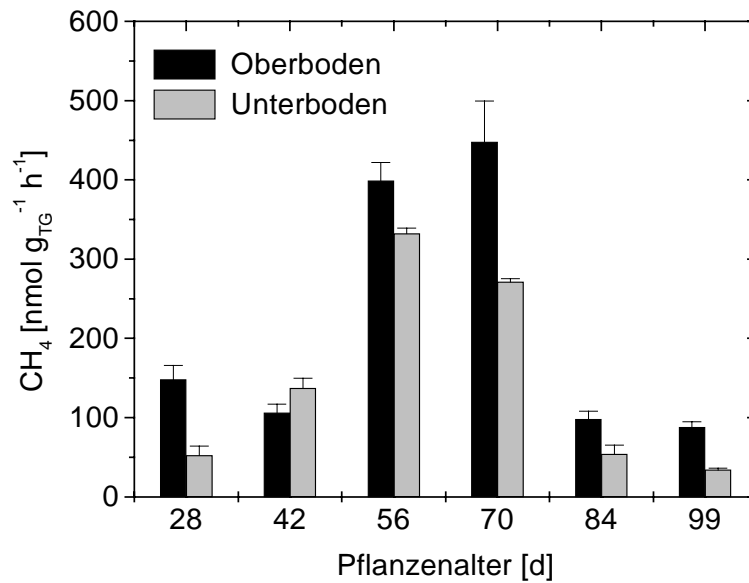


Abb. 4-59: Saisonale Änderung der initialen* potentiellen CH₄-Oxidationsraten (MOR) in Suspensionen aus Bodenproben (Mittelwert ± SF, n = 4) *Die initiale Oxidationsrate beschreibt die Oxidationsaktivität während der „Lag-Phase“, in der Zeit vom Beginn des Experimentes bis zum Einsetzen der induzierten Oxidationsraten.

Die sogenannte Lag-Phase beschreibt die Zeit der initialen CH₄-Oxidationsraten, vom Beginn des Experiments bis zum Einsetzen der hohen, induzierten Raten (Kap. 3.4.1.1). In 28 Tage

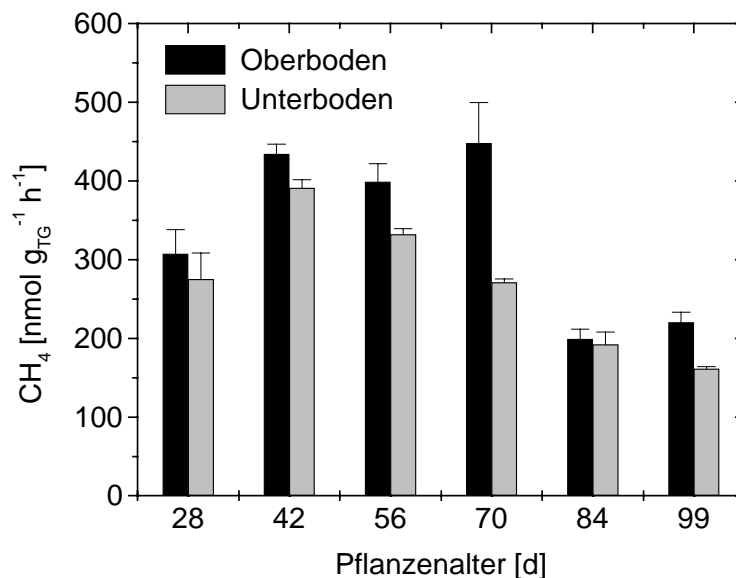


Abb. 4-60: Saisonale Änderung der induzierten* potentiellen CH₄-Oxidationsraten (MOR) in Suspensionen aus Bodenproben (Mittelwert ± SF, n = 4) *Die induzierte Oxidationsrate beschreibt die hohe Oxidationsaktivität im Anschluß an die „Lag-Phase“ mit der sogenannten initialen Rate (Kap. 3.4.1.1).

alten Mikrokosmen war die Lag-Phase mit 7-8 h relativ kurz, verdoppelte sich aber in den nächsten beiden Wochen und blieb dann bis zum Ende der Vegetationsperiode im Bereich von 12-14 h. In den ca. zwei Wochen (56 Tage alte Mikrokosmen) nach der Düngung mit Harnstoff genommenen Proben konnte kein verkürzender Einfluss der Düngerapplikation auf die Lag-Phase der CH₄-Oxidation mehr festgestellt werden.

4.3.3. Bestimmung wichtiger Umweltparameter

Wie schon bei den Freilandexperimenten wurden auch hier zusätzlich zu den Prozessuntersuchungen wichtige Umweltparameter über die Vegetationsperiode verfolgt.

4.3.3.1. Analyse von Porenwasserproben aus den Mikrokosmen

Als einer der wichtigsten Indikatoren für ablaufende mikrobielle Prozesse wurde das Bodenporenwasser aus unterschiedlichen Tiefen auf verschiedene Weise analysiert (Kap. 3.5.5.3).

4.3.3.1.1. Änderung der Konzentration sowie der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) von im Porenwasser gelösten Methan

Die Untersuchung des im Porenwasser gelösten CH₄ ermöglicht erste Rückschlüsse auf die im Boden stattfindenden Produktions-, Oxidations- und Transportprozesse und wurde deshalb über die Saison regelmässig durchgeführt.

Zu Beginn der Saison waren die CH₄-Konzentrationen in den Bodenschichten verschieden hoch (Abb. 4-61). Im Oberboden lagen die Werte bei ca. 150 μM während im Unterboden bis zu 300 μM gefunden wurden. Diese Unterschiede passten sehr gut zu den ebenfalls unterschiedlichen CH₄-Produktionsraten (Abb. 4-53). Im Anschluss an die Düngung gingen die Konzentrationen im Oberboden deutlich zurück, was durch die Stimulierung der CH₄-Oxidation verursacht worden sein könnte. Auch im Unterboden sanken die CH₄-Konzentrationen allmählich ab, die Werte glichen sich denen des Oberbodens an und blieben wie diese mit 50 bis 100 μM bis zum Ende der Vegetationsperiode relativ niedrig.

Eine weitere Ursache für den Rückgang der CH₄-Konzentrationen besonders im Unterboden könnte die zunehmende Durchwurzelung und somit der verstärkte Abtransport des CH₄ über das Aerenchym der Reispflanzen gewesen sein.

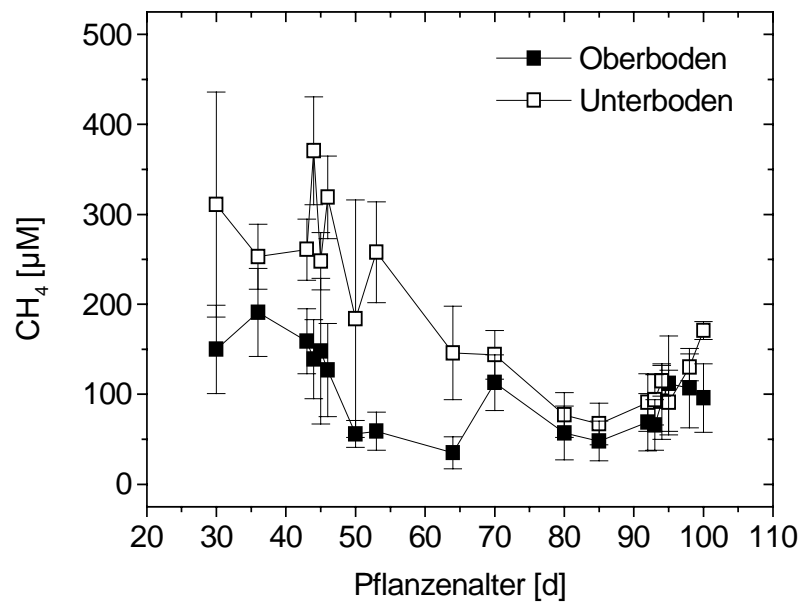


Abb. 4-61: Saisonale Änderung der CH₄-Konzentrationen in Porenwasserproben aus verschiedenen Bodenkompartmenten (Mittelwert ± SF, n = 4)

Die Isotopensignatur des im Porenwasser gelösten CH₄ zeigte sowohl saisonale Änderungen als auch Unterschiede zwischen den Bodenschichten (Abb. 4-62).

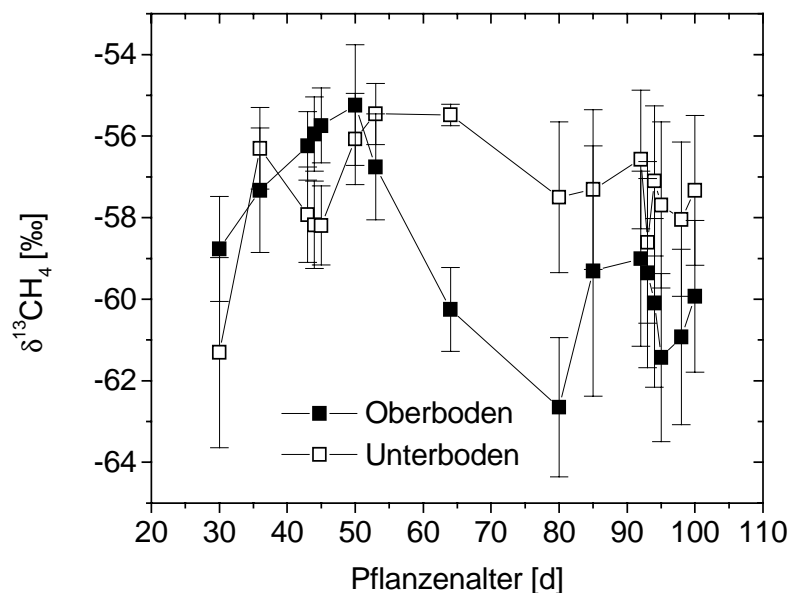


Abb. 4-62: Änderung der Isotopensignatur (δ¹³C) des im Porenwasser der Mikrokosmen gelösten CH₄ mit zunehmendem Pflanzenalter (Mittelwert ± SF, n = 4)

Im Oberboden stiegen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zu Beginn an, die höchsten Werte wurden nach der ersten Düngung (42 Tage) mit ca. -55 ‰ gemessen. Anschliessend sanken die Werte dann deutlich auf bis zu -63 ‰ nach 80 Tagen ab und blieben bis zum Ende der Vegetationsperiode in diesem niedrigen Bereich. Das im Porenwasser aus dem Unterboden gelöste CH_4 war zu Beginn der Messungen mit -61 ‰ relativ leicht. Nach der Düngung stiegen auch hier die Signaturen stark an, wahrscheinlich durch den zunehmenden Einfluss der CH_4 -Oxidation. Bis zum Ende der Saison blieb das CH_4 dann aber im Vergleich zum Oberboden mit ca. -57 ‰ relativ schwer.

4.3.3.1.2. Änderung der Konzentration sowie der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) von im Porenwasser gelösten Kohlendioxid

Auch die Konzentration und Isotopensignatur des im Porenwasser gelösten CO_2 kann Informationen über Art und Intensität im Boden ablaufender mikrobieller Prozesse geben, weshalb beide Parameter regelmässig analysiert wurden.

Die Bestimmung der CO_2 -Konzentrationen zeigte eine deutliche Zonierung des Bodens, welche auch schon in anderen, zuvor beschriebenen Experimenten beobachtet worden war (Kap. 4.3.2). Im Oberboden war die CO_2 -Konzentration über den grössten Teil der Saison relativ konstant um 10-15 mM (Abb. 4-63). Nur nach der zweiten Düngung (nach 92 Tagen) stiegen die Werte kurzfristig an, was auf eine erhöhte Exsudation organischer Substrate durch die Reispflanzen hinwies. Die CO_2 -Konzentration im Unterboden war zu Beginn mit 25 bis 30 mM deutlich höher als im Oberboden, was gut zu den ebenfalls höheren CO_2 -Produktionsraten passte (Abb. 4-57). In der zweiten Hälfte der Saison gingen die Werte allmählich auf ca. 15 mM zurück. Auch hier wurde nach der späten Düngung am Ende der Vegetationsperiode ein deutlicher Anstieg der CO_2 -Werte beobachtet.

Die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des CO_2 war in beiden Bodenschichten ähnlich und zeigte auch einen vergleichbaren, ausgeprägten saisonalen Verlauf (Abb. 4-64). Zu Beginn war das gelöste CO_2 mit -26 ‰ relativ leicht. Mit zunehmendem Pflanzenalter stiegen die Signaturen dann aber auf Werte von bis zu -18 ‰ nach 100 Tagen an.

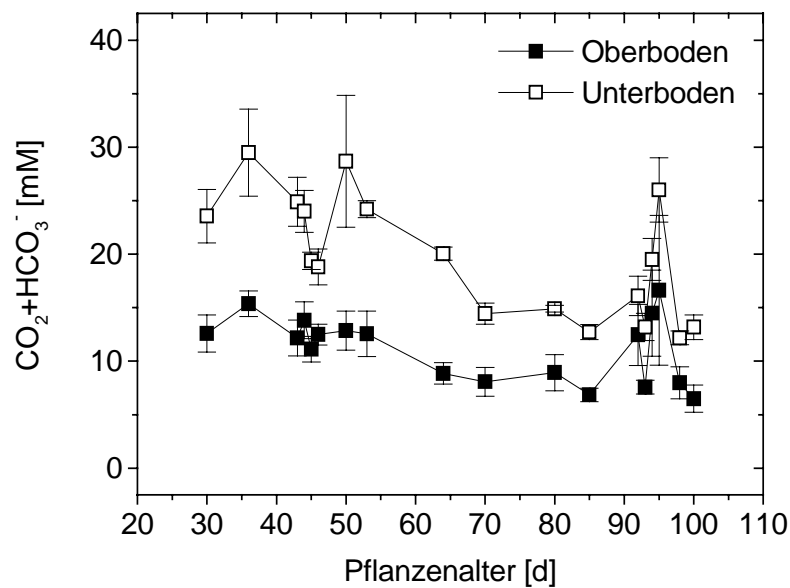


Abb. 4-63: Saisonale Änderung der CO_2 -Konzentrationen in Porenwasserproben aus verschiedenen Bodenkompartmenten (Mittelwert \pm SF, $n = 4$)

Das in den Suspensionen mit Proben aus dem Unterboden produzierte CO_2 zeigte einen sehr ähnlichen saisonalen Verlauf, während das in Proben des Oberbodens produzierte CO_2 keine derartige Änderung aufwies (Abb. 4-58).

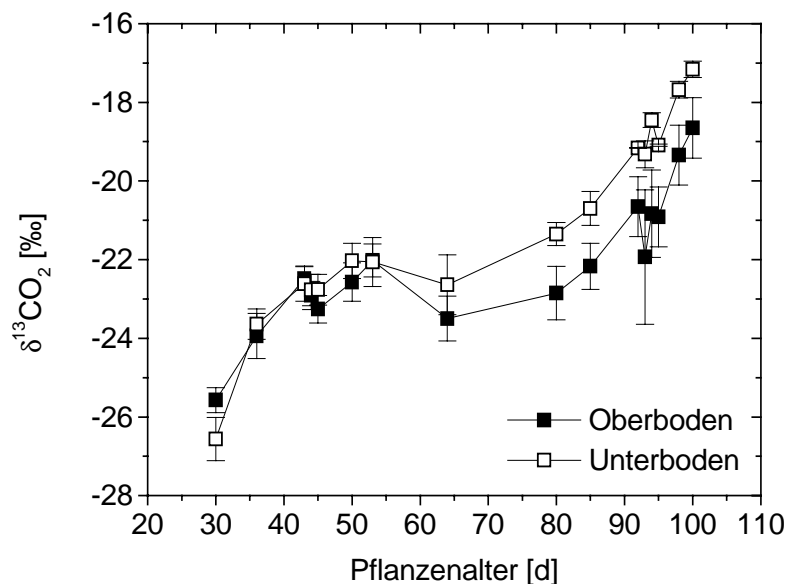


Abb. 4-64: Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser der Mikrokosmen gelösten CO_2 mit zunehmendem Pflanzenalter (Mittelwert \pm SF, $n = 4$)

4.3.3.1.3. Untersuchung des pH-Wertes von Porenwasserproben

Die Bestimmung des pH-Wertes der Porenwasserproben zeigte keine auffälligen Unterschiede zwischen den Bodenschichten und im Laufe der Saison. Die Werte lagen mit 6,8 bis 7,1 durchweg im neutralen Bereich. Einzig die direkt im Anschluss an die Düngung (nach 92 Tagen) gemessenen Werte waren mit 7,2-7,3 leicht erhöht.

4.3.3.1.4. Änderung der Konzentration sowie der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) von im Porenwasser gelösten Acetat

Die Untersuchung der Porenwasserproben auf das wichtige mikrobielle Substrat Acetat zeigte einen relativ ähnlichen Verlauf für beide Bodenkompimente (Abb. 4-65). Die höchsten Werte wurden mit 150 μM für den Unter- und 60 μM Acetat für den Oberboden jeweils zu Beginn der Vegetationsperiode gemessen. Für den grössten Teil der Saison lagen die Konzentrationen in beiden Schichten um oder unter 20 μM . Nur zum Ende der Vegetationsperiode hin stiegen die Werte besonders im Unterboden noch einmal deutlich auf über 100 μM an. Wahrscheinlich wurde dies durch die infolge der zweiten Düngung (nach 92 Tagen) induzierten Exsudation organischer Verbindungen aus den Reispflanzen verursacht. Generell waren die für den Unterboden gemessenen Werte höher als die für die obere Bodenschicht. Die Bestimmung der Isotopensignatur des Acetats mittels GC-IRMS zeigte keine auffälligen Unterschiede zwischen den Bodenkompimenten (Abb. 4-66). Zu Beginn der Saison lagen

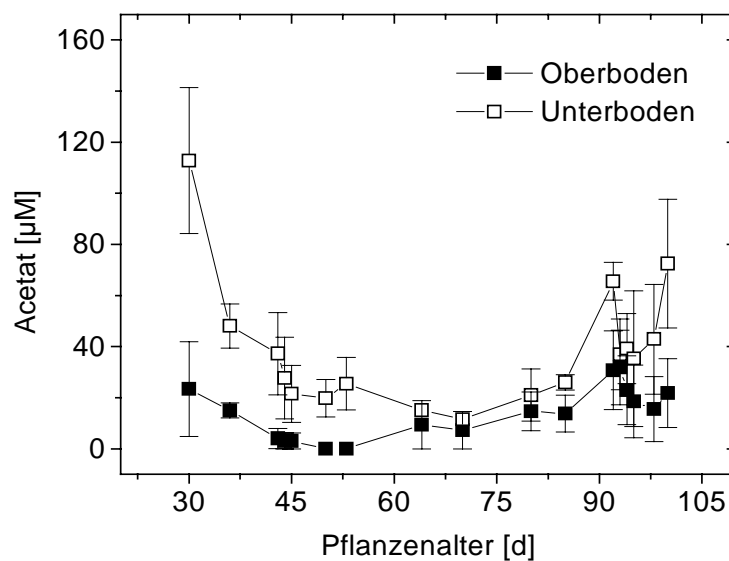


Abb. 4-65: Saisonale Änderung der Acetatkonzentration in Porenwasserproben aus den Bodenkompimenten (Daten von P. Frenzel; Mittelwert \pm SF, n = 2-3)

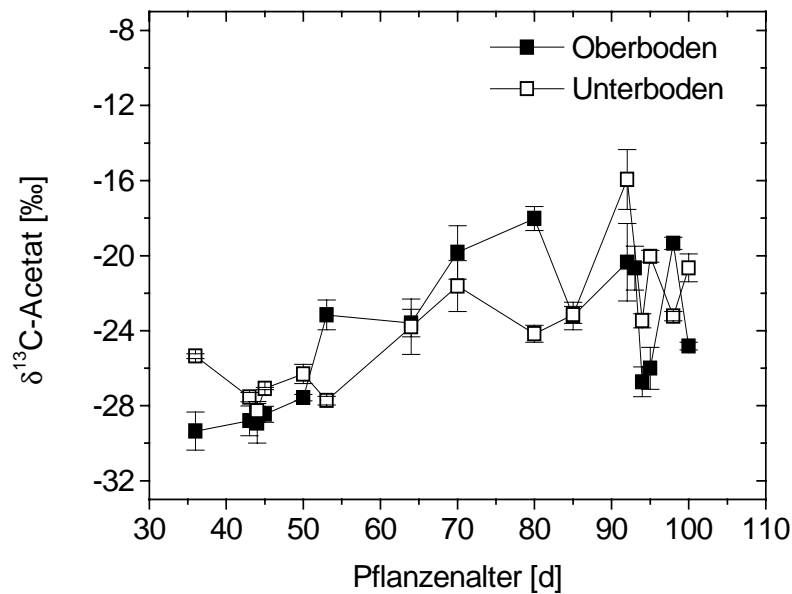


Abb. 4-66: Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des im Porenwasser der Mikrokosmen gelösten Acetats mit zunehmendem Pflanzenalter (Daten von P. Frenzel; Mittelwert mehrerer Messungen einer Probe \pm SF, $n = 2-4$)

die Werte zwischen -26 und -22 ‰. Im Laufe der Vegetationsperiode stiegen die Signaturwerte leicht auf -16 bis -22 ‰ an, wobei das in der oberen Bodenschicht gefundene Acetat tendenziell etwas schwerer war.

4.3.3.2. Charakterisierung der Reispflanzen

Da viele mikrobielle wie pflanzenassoziierte Prozesse mit Alter und Wachstumsphase der Reispflanzen variieren, wurden einige grundsätzliche Pflanzenparameter als Anhaltspunkte während der Vegetationsperiode bestimmt.

Die Zunahme der Blätter und Sprosse je Reispflanze zeigte einen nahezu sigmoidalen Verlauf (Abb. 4-67). Nach einem nur langsamen Wachstum in den ersten 3-4 Wochen stiegen die Werte dann im Laufe der sogenannten „tillering-phase“ (Seitentriebbildung) zwischen 40 und 80 Tagen nach dem Auspflanzen deutlich an. Dieses vegetative Wachstum wurde wahrscheinlich noch durch die Düngung nach 42 Tagen verstärkt. Ab einem Alter von mehr als 80 Tagen verlangsamte sich die Zunahme der Biomasse, wahrscheinlich infolge des Übergangs der Pflanzen in die reproduktive Wachstumsphase. Die Länge der Blätter nahm während der gesamten Vegetationsperiode kontinuierlich zu. Im Vergleich zum Feldversuch waren die Pflanzen hier deutlich grösser, was an der viel höheren Düngung und an der fehlenden „Konkurrenz“ um Substrate und Licht mit anderen Pflanzen lag.

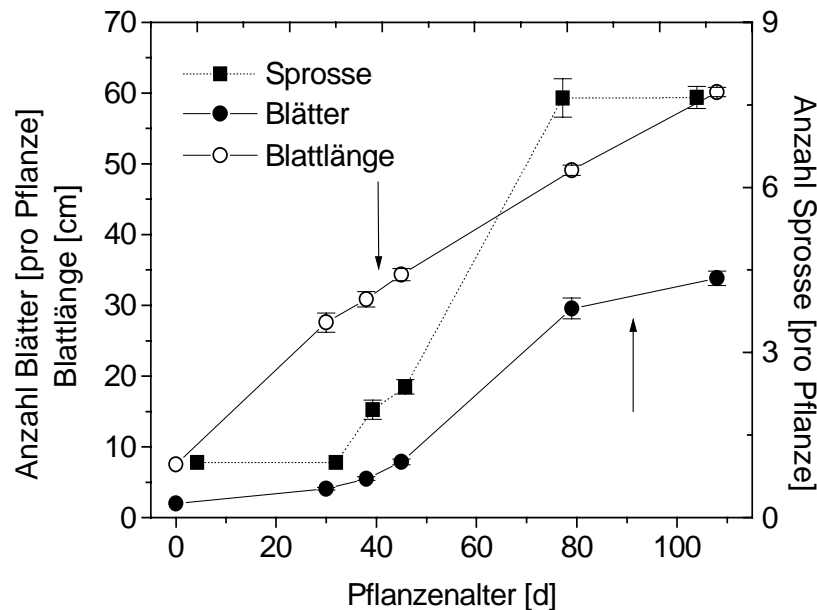


Abb. 4-67: Änderung verschiedener Biomasseparameter (pro Pflanze) der Reispflanzen mit zunehmendem Pflanzenalter, zusammen mit den Düngzeitpunkten (Pfeile) (Mittelwert \pm SF, n = 11-25 Pflanzen)

4.3.3.3. Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des Kohlenstoffs in Boden- und Pflanzenproben

Zu verschiedenen Zeitpunkten der Saison wurden auch getrocknete Pflanzen- und Bodenproben zur Bestimmung der Isotopensignatur des darin enthaltenen organischen Materials gesammelt. Diese Analysen ergaben eine den Felddaten ähnliche Signatur von $-28,14 \pm 0,14 \text{ ‰}$ (n = 6) und $26,02 \pm 0,14 \text{ ‰}$ (n = 12) für Pflanzen- bzw. Bodenmaterial. Es wurde in beiden Kompartimenten keine saisonale Änderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte beobachtet.

4.3.3.4. Änderung der Verfügbarkeit von Fe(III) und Fe(II) in Bodenproben

Die besonders im Oberboden hohen RI-Werte für das zugegebene $[2-^{14}\text{C}]$ -Acetat zeigten, daß oxidative Prozesse auch längere Zeit nach dem Fluten noch wichtig waren (Abb. 4-56). Dies deutete auf eine ausreichende Verfügbarkeit von alternativen terminalen Elektronenakzeptoren hin. Deshalb wurden die Fe(III)-Konzentrationen als wahrscheinlich wichtigste derartige Verbindung im Reisfeldboden über die Saison in Bodenproben bestimmt.

Im Unterboden lag das extrahierbare Fe über den gesamten Messzeitraum von 30-100 Tagen nach dem Auspflanzen überwiegend in der reduzierten Form als Fe(II) vor (Abb. 4-68). Im Oberboden jedoch waren besonders zu Beginn noch relativ hohe Konzentrationen an Fe(III) vorhanden, welche nur langsam zurückgingen.

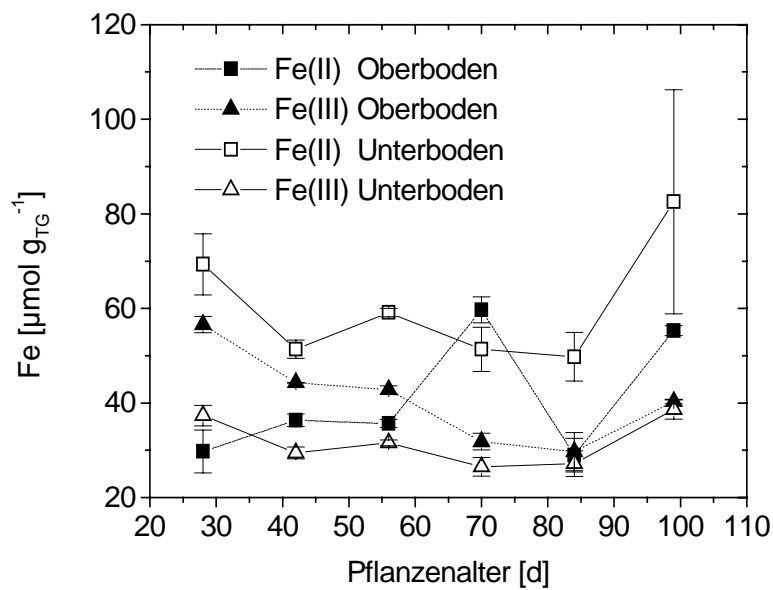


Abb. 4-68: Saisonale Änderung der Konzentrationen* von Fe(II) und Fe(III) in Boden aus den Reismikrokosmen (Mittelwert \pm SF, n = 3) *Extrahiert mit 0,5 M HCl

Diese höhere und verlängerte Verfügbarkeit von Fe(III) im Oberboden stimmte gut mit den ebenfalls höheren RI-Werten und den sehr niedrigen CH_4 -Produktionsraten überein (Abb. 4-56 & 4-53).

4.3.3.5. Untersuchung von Gasproben aus dem Reispflanzenaerenchym

Gasproben aus dem Aerenchym der Reispflanzen wurden nur am Ende der Vegetationsperiode nach 105 Tagen untersucht. Hierbei wurden sowohl Proben nahe der Sprossbasis (4-5 cm unter der Wasseroberfläche) genommen, als auch aus den darauffolgenden Internodien der Sprosse (5-10 cm oberhalb der Wasseroberfläche). Nahe der Sprossbasis lag das CH_4 -Mischungsverhältnis mit $2671 \pm 622 \text{ ppm}_v$ deutlich über dem in den Internodien gemessenen mit $986 \pm 224 \text{ ppm}_v$ (Mittelwert \pm SE, n = 11 bzw. 13). Die Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des CH_4 war jedoch mit $-49,74 \pm 0,74$ bzw. $-49,74 \pm 0,85 \text{ ‰}$ für Sprossbasis und Internodien nahezu identisch, ebenso wie die Signatur des CO_2 mit $-16,73 \pm 0,29$ und $-17,91 \pm 0,33 \text{ ‰}$. Mit zunehmender Entfernung zu Sprossbasis bzw. Bodenoberfläche änderte sich also nur das CH_4 -Mischungsverhältnis im Aerenchym, während die Isotopensignaturen von CH_4 und CO_2 konstant blieben.

5. Diskussion

In dieser Arbeit wurden ausgeprägte Unterschiede in der CH₄-Emission aus einem italienischen Reisfeld beobachtet, sowohl innerhalb einer Saison als auch zwischen verschiedenen Jahren. Mit einer Kombination aus Feld-, Gewächshaus- und Laborexperimenten konnte folgende Regulation der CH₄-Emission identifiziert werden: Zu Beginn der Saison wurde ein grosser Teil des produzierten CH₄ oxidiert, bevor es in die Atmosphäre abgegeben werden konnte. Im weiteren Verlauf ging der Einfluss der CH₄-Oxidation aber zurück und die CH₄-Produktion war der die Emission kontrollierende Prozess. Die CH₄-Produktion selbst wurde durch die Verfügbarkeit von alternativen Elektronenakzeptoren und somit durch das Redoxpotential des Bodens kontrolliert. Dieses wiederum wurde stark von der Feldbearbeitung, z.B. der Bewässerung oder der Düngung mit Stroh, beeinflusst.

4.4. Methanproduktion

4.4.1. Einfluss verschiedener Umweltparameter auf die CH₄-Produktion

Die CH₄-Produktionsraten in Bodenproben zeigten grosse Unterschiede zwischen den beiden Jahren. Der Beginn der CH₄-Produktion in 1999 war gegenüber 1998 zeitlich verzögert und die Raten besonders im Oberboden waren deutlich niedriger, was zu den 1999 ebenfalls wesentlich geringeren CH₄-Emissionen passte (Abb. 4-4 & 4-9). Die höchsten Werte wurden in beiden Jahren ca. 80 Tage nach dem Fluten erreicht. In-situ konnte diese Zunahme der CH₄-Produktion anhand der Akkumulation von CH₄ im Porenwasser gezeigt werden, welche zum Saisonende am höchsten war. Die ausgeprägten Unterschiede in CH₄-Produktion und -Emission zwischen den beiden Jahren wiesen auf einen oder mehrere fundamentale Änderungen des Ökosystems Reisfeldboden hin.

Es zeigte sich, dass die Acetatkonzentrationen im Bodenporenwasser 1999 für den grössten Teil der Saison niedriger waren als im vorigen Jahr. Die Werte in 1999 waren nahe am oder unter dem Schwellenwert für acetoclastische Methanogene (Jetten et al. 1990), welche so an der CH₄-Produktion gehindert wurden. Erst nach dem Anstieg der Acetatmenge im Porenwasser, ca. 70 Tage nach dem Fluten, nahm auch die CH₄-Produktion zu. Die Ursache für die geringen Acetatkonzentrationen war vermutlich die hohe Aktivität anderer Mikroorganismen, z.B. Fe- oder SO₄²⁻-reduzierender Bakterien. Diese besitzen einen geringeren Schwellenwert für Acetat als die Methanogenen und können sie so erfolgreich verdrängen (Chidthaisong & Conrad 2000, Winfrey & Ward 1983). In der Saison 1998 war

Acetat über die gesamte Vegetationsperiode in grösseren Mengen verfügbar, da Fe(III) und andere alternative Elektronenakzeptoren schneller reduziert worden waren, und ermöglichte so ein früheres Einsetzen der CH₄-Produktion.

Die intensive, langandauernde Konkurrenz zwischen methanogenen und anderen Mikroorganismen im Boden um Acetat wurde bei der Bestimmung des respiratorischen Index (RI) von [2-¹⁴C]-Acetat deutlich. Die RI-Werte zeigten, dass in beiden Jahren ein relativ hoher Prozentsatz des Acetats zu CO₂ statt zu CH₄ umgesetzt wurde. In der Saison 1999 waren die RI-Werte zudem deutlich höher als 1998 und methanogener Acetatumsatz konnte im Unterboden erst nach ca. 80 Tagen, im Oberboden jedoch zu keiner Zeit beobachtet werden (Abb. 4-12). Acetat wurde also überwiegend oxidativ umgesetzt, was die geringen CH₄-Produktions- und Emissionsraten erklärte.

In der Saison 1998 wurden die niedrigsten RI-Werte und somit der höchste methanogene Acetatumsatz ca. 80 Tage nach dem Fluten am Ende der Wachstumsphase der Reispflanzen gefunden, zur gleichen Zeit wie die höchsten CH₄-Produktionsraten. Frühere Arbeiten, welche allerdings nur an wenigen Zeitpunkten durchgeführt worden waren, zeigten ähnlich niedrige RI-Werte während der Perioden mit hoher methanogener Aktivität (Rothfuss & Conrad 1993, Schütz et al. 1989b). Der hier beobachtete länger andauernde oxidative Acetatumsatz in 1999 stimmte auch mit dem Redoxpotential des Bodens überein. Dieses war für den grösseren Teil der Vegetationsperiode deutlich höher als in 1998 (Abb. 4-36) und bestätigte den „oxidativen“ Zustand des Bodens.

Der Vergleich der Gesamtmengen an während der gefluteten Zeit produzierten CO₂ zeigte ebenfalls eine wesentlich höhere CO₂-Produktion in 1999 verglichen mit 1998 (Tab. 4-1), was die beobachteten höheren RI-Werte bestätigte. Im Gegensatz hierzu war die Gesamtmethanproduktion 1999 nur ca. halb so gross wie 1998.

Der oxidative Umsatz von Acetat kann nur stattfinden, wenn genügend oxidierende Verbindungen wie Fe(III) oder SO₄²⁻ im Boden vorhanden sind. Und tatsächlich war dies besonders zu Beginn der Saison in beiden Jahren sowie für den Großteil der Vegetationsperiode 1999 der Fall (Abb. 4-36). In der Saison 1998 war Fe(III) nur in einem kurzen Zeitraum nach dem Fluten des Feldes vorhanden, während später der überwiegende Teil des extrahierbaren Fe reduziert als Fe(II) vorlag. Im Gegensatz hierzu war der Beginn der Bildung von Fe(II) in 1999 verzögert, was gut mit den niedrigeren CH₄-Produktions- und Emissionsraten übereinstimmte. Während der ganzen Saison 1999 war Fe(III) in hohen Konzentrationen verfügbar und so für die hohen RI-Werte des Acetatumsatzes verantwortlich. Nahezu

identische saisonale und jahresbedingte Unterschiede in der Verfügbarkeit wurden auch für einen weiteren im Reisfeldboden wichtigen alternativen terminalen Elektronenakzeptor, für Sulfat (Abb. 4-27), gefunden, was die obige Theorie ebenfalls bestätigte.

Diese Beobachtungen waren insofern überraschend, da derartige Verbindungen in gefluteten Böden erwartungsgemäß in ihrer reduzierten Form vorliegen sollten. Es ist aber bekannt, dass es an oxisch/anoxischen Grenzflächen zu einer kontinuierlichen Reoxidation reduzierter Verbindungen wie Fe(II) kommen kann. Im Ökosystem Reisfeldboden wurde die Reoxidation von Fe(II) an der Boden- und Flutwassergrenzschicht sowie in der Rhizosphäre der Reispflanzen beobachtet (Ratering & Schnell 2000, Frenzel et al. 1999). Eine mögliche Quelle für Fe(III) ist hier die Einbringung von Sauerstoff über das Aerenchymssystem der Reispflanzen und -wurzeln in den Boden. Der Austritt von O₂ aus den Wurzeln führt dann in der Rhizosphäre zur Oxidation von Sulfid zu Sulfat, Fe(II) zu Fe(III) und Ammonium zu Nitrat (Arth & Frenzel 2000, Wind & Conrad 1997, Begg et al. 1994, Reddy et al. 1989). Dies könnte auch für die hier besonders im Oberboden beobachteten relativ hohen Fe(III) und Sulfatkonzentrationen verantwortlich gewesen sein.

Eine weitere mögliche Quelle für alternative Elektronenakzeptoren ist eine kurzzeitige Trockenlegung des Feldes, welche ebenfalls zum Eindringen von O₂ in den Boden und so nachfolgend zur Produktion von Fe(III) und Sulfat führt (Ratering & Conrad 1998, Sigren et al. 1997b). So könnte die zusätzliche Trockenlegung der Felder in der Saison 1999 ebenfalls die geringeren CH₄-Produktions- und Emissionsraten in diesem Jahr erklären.

Über viele Jahre wurde angenommen, dass die Verwendung alternativer terminaler Elektronenakzeptoren exklusiv ist, d.h. dass sie nur einer nach dem anderen entsprechend ihrem Redoxpotential genutzt werden (Achnich et al. 1995, Ponnamperna 1972). Diese charakteristische Sequenz (NO₃⁻, Mn²⁺, Fe³⁺, SO₄²⁻ und CO₂) wird mit einer Kombination von hemmenden Einflüssen toxischer Intermediate und der Konkurrenz um Substrate wie H₂ und Acetat erklärt (Chidthaisong & Conrad 2000, Bodegom & Stams 1999, Peters & Conrad 1996, Lovley 1991). Unter natürlichen Bedingungen könnte die Situation hingegen komplizierter sein. Eine gleichzeitige Reduktion von Fe(III) oder Sulfat und Produktion von CH₄ wäre denkbar, wenn entsprechende aktive Bakterienpopulationen und ausreichend Elektronendonatoren vorhanden sind (Roy et al. 1997, Achnich et al. 1995, Holmer & Kristensen 1994).

Die in dieser Arbeit trotz des Einsetzens der CH₄-Produktion gefundenen hohen RI-Werte wiesen ebenfalls auf das parallele Vorkommen von oxidativen und methanogenen Acetat-

Abbauprozessen im Reisfeldboden hin (Abb. 4-9 & 4-12). Eine mögliche Erklärung hierfür könnte die Entwicklung von sowohl oxidativen als auch methanogenen Mikrostrukturen im Boden sein, welche ein enges Nebeneinander dieser Prozesse erlauben würden. Ein entsprechendes Beispiel hierfür ist der stark heterogene Lebensraum auf den Reiswurzeln, wo an einigen Stellen O_2 austritt (siehe oben) und zur Reoxidation alternativer Elektronenakzeptoren führt (Frenzel et al. 1999, Allen 1997, Conrad 1996, Armstrong 1971). So kommt es zu einer engen Nachbarschaft von oxidativen Prozessen und CH_4 -Produktion.

Die Vorstellung derartiger Mikrostrukturen im Boden wird durch die geringe Löslichkeit von Fe(III) und lokal vorliegende grosse Mengen organischen Materials – z.B. Strohstücke oder absterbende Wurzeln – erleichtert. Wachinger et al. (2000) untersuchten die CH_4 -Produktion in verschiedenen Bodenkernen und kombinierten hierbei die Bestimmung der methanogenen Aktivitäten mit mikroskopischen und computertomographischen Analysen. Der wichtigste Faktor für die räumliche Variation der CH_4 -Produktion auf kleinstem Raum war die Verteilung organischen Materials. So entstanden methanogen hochaktive Mikrostrukturen um Pflanzenteile oder ähnliches im ansonsten wenig CH_4 produzierenden Boden. Diese Strukturen müssten allerdings relativ stabil sein, da die Messungen dieser Arbeit in-vitro, nach der Umwandlung der Reisfeldbodenproben in Suspensionen, durchgeführt worden waren.

Frenzel et al. (1999) machten entsprechende Beobachtungen während eines Gewächshausexperimentes, als sie die in-vitro CH_4 -Produktion in Bodenmischungen mit unterschiedlichen Mengen von Ober- und Unterboden bestimmten. Die Erhöhung des Anteils an Oberboden führte zu einer verlängerten Unterdrückung der CH_4 -Produktion in dem vorher stark methanogenen Unterboden. Dies könnte durch die Einbringung von oxidierenden Verbindungen oder Mikrostrukturen aus dem Ober- in den Unterboden und einer hieraus resultierenden Hemmung der Methanogenese erklärt werden. Weitere Hinweise auf die Existenz derartiger Mikrostrukturen im Reisfeldboden werden in Kapitel 5.1.2 diskutiert.

Bei dem in dieser Arbeit durchgeführten Gewächshausexperiment (Kap. 4-3) waren die CH_4 -Produktionsraten in beiden Bodenschichten ebenfalls sehr unterschiedlich. Während im Unterboden eine konstant hohe CH_4 -Produktion gemessen wurde, waren die Werte im Oberboden um ein Vielfaches niedriger und nahmen nur langsam zu (Abb. 4-52). Gleichzeitig waren hier die RI-Werte und die Fe(III)-Konzentrationen wesentlich höher als im Unterboden, während die Menge von im Porenwasser gelösten Acetat sehr niedrig war. Wahrscheinlich war so, wie oben bereits für die Feldsaison 1999 diskutiert, die Konkurrenz um Acetat zwischen Methanogenen und z.B. Fe-Reduzierern für die geringe CH_4 -Produktion

verantwortlich. Im Unterboden hingegen waren die Acetatkonzentrationen deutlich höher und zudem das Eisen überwiegend zu Fe(II) reduziert, so dass eine höhere CH₄-Produktion möglich war. Ein Grund für den „oxidativen“ Zustand des Oberboden war der Sauerstoffeintrag über das Reispflanzenaerenchym (siehe oben). Weiter ist hier denkbar, dass es durch die alle 1-2 Tage mithilfe einer Giesskanne erfolgte Ergänzung des Flutwasser zu einer regelmäßigen Aufwirbelung der obersten Bodenschicht kam. Diese Sauerstoffzufuhr führte so eventuell nicht nur zu einer Regeneration alternativer terminaler Elektronenakzeptoren, sondern auch zu einer direkten Hemmung der Methanogenen. So könnte auch der, verglichen mit der Feldsaison 1999, konstant niedrige Anteil hydrogenotropher Methanogenese an der Gesamtproduktion erklärt werden (siehe nächstes Kapitel). Da hiervon alle Methanogenen betroffen gewesen wären, genügten so die niedrigen Acetatkonzentrationen zur Aufrechterhaltung der geringen, überwiegend acetoclastischen CH₄-Produktion.

Auffällig war in den Mikrokosmen weiterhin der deutliche Unterschied der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des in Ober- und Unterboden produzierten CH₄ (Abb. 4-53). Letzteres war mit -57 bis -52 ‰ deutlich schwerer und somit dem Unterboden aus dem Feld vergleichbar. Das in den Inkubationen mit Oberboden produzierte CH₄ war hingegen durchgehend 10 - 15 ‰ leichter, was auf eine unterschiedliche Beteiligung der verschiedenen CH₄-Produktionswege hinwies. Die Bestimmung der Anteile der methanogenen Produktionswege an der Gesamtproduktion zeigte aber keine auffälligen Unterschiede zwischen den Bodenkompartmenten (Abb. 4-54 & 4-55), welche die verschiedenen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte hätten erklären können.

Auch die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des im Porenwasser gelösten Acetats – des wichtigsten methanogenen Substrates – waren ähnlich. Nur die Isotopensignaturen des in den Bodeninkubationen produzierten CO₂ zeigten einen dem CH₄ vergleichbaren saisonalen Unterschied (Abb. 4-58). Diese waren im Oberboden deutlich leichter, was zu der beobachteten starken Differenzierung der $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte beigetragen haben könnte.

Eine weitere mögliche Ursache hierfür könnten unterschiedliche methanogene Populationen in den beiden Bodenschichten sein. So wurden in Süßwassersedimenten auch sogenannte methylotrophe Methanogene gefunden (Garcia 1990, Naguib 1988), welche z.B. Methylamine oder Dimethylsulfid als Substrate verwerten. Dies führt zur Produktion von stark ¹²C-angereichertem CH₄ (Whiticar 1999, Summons et al. 1998, Krzycki et al. 1987) und könnte so eventuell zu den sehr leichten $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte im Oberboden beigetragen haben. Im Reisfeldboden wurde dieser methanogene Produktionsweg allerdings bisher noch nicht beobachtet, es wurden aber bei Untersuchungen methanogener Populationen in verschiedenen Reisfeldböden erfolgreich Anreicherungen auf Methanol durchgeführt (Joulian et al. 1998 &

1996). Weiterhin wäre es möglich, dass sich die in den Bodeninkubationen verwendeten Substrate von den im Porenwasser gemessenen unterscheiden, so dass in ersteren eventuell die Isotopensignatur des Acetats eine andere war.

Aufgrund der sehr niedrigen Produktionsraten war der CH₄-Pool im Oberboden sehr klein, was in-situ an den deutlich geringeren CH₄-Konzentrationen im Porenwasser zu erkennen war (Abb. 4-61). So hatten kleine Änderungen der - diesen beeinflussenden - mikrobiellen Prozesse und Faktoren, z.B. der Anteile der CH₄-Produktionswege oder der Isotopensignaturen der methanogenen Substrate, wahrscheinlich relativ grosse Auswirkungen zur Folge.

4.4.2. Unterschiede in den CH₄-Produktionswegen

Der Prozess der CH₄-Produktion zeigte ebenfalls saisonale und jahresbedingte Unterschiede im Beitrag der verschiedenen methanogenen Produktionswege. Theoretische Überlegungen ergeben ein Verhältnis von ca. 70:30 % für Acetat- und H₂/CO₂-abhängige Methanogenese (Conrad 1999). Diese wurden bestätigt durch Experimente mit Bodensuspensionen und einigen Feldproben, welche zeigten, dass mehr als 66 % des CH₄ aus Acetat produziert wurde (Rothfuss & Conrad 1993, Schütz et al. 1989b). In dieser Arbeit jedoch, in welcher Feldproben über die ganze Vegetationsperiode von Reis untersucht worden waren, waren die Ergebnisse teilweise anders als erwartet.

Die Versuche zeigten einen in beiden Jahren unterschiedlichen saisonalen Verlauf für die Beiträge der methanogenen Produktionswege (Abb. 4-10 & 4-11). In der Saison 1998 lag der Anteil der H₂/CO₂-abhängigen CH₄-Produktion im Saisonmittel tatsächlich bei ca. 30 % der Gesamtproduktion, d.h. 70 % des CH₄ wurden aus Acetat produziert. Das Vorherrschen von acetoclastischer Methanogenese wurde ebenfalls durch die zur gleichen Zeit gefundenen niedrigen RI-Werte gezeigt und bestätigte so die in früheren Arbeiten gefundenen ähnlichen Ergebnisse (Sigren et al. 1997a, Rothfuss & Conrad 1993, Schütz et al. 1989a). Von Conrad et al. (1989) und Conrad & Klose (1999a) durchgeführte Laborversuche zeigten, dass der prozentuale Anteil der hydrogenotrophen Methanogenese innerhalb eines Monats von 2-6 % zu Beginn auf 25-30 % nach 30 Tagen Inkubation anstieg. Eine derartige Umgewichtung der Produktionswege, wie sie auch zu Beginn der Saison 1998 beobachtet worden war, könnte durch eine Änderung der Konkurrenz der Methanogenen mit Fe- oder Sulfat-reduzierenden Bakterien um wichtige Substrate - H₂ und Acetat - verursacht worden sein (Yao et al. 1999, Roy et al. 1997, Achtnich et al. 1995). Eine andere mögliche Erklärung wäre eine Veränderung der methanogenen Populationen im Reisfeldboden. Zumindest Laborexperimente haben

aber gezeigt, daß die methanogene Lebensgemeinschaft im Reisfeldboden während und nach dem Fluten relativ stabil bleibt (Lüders & Friedrich 2000).

In der zweiten Saison (1999) war der Beitrag der H_2/CO_2 -abhängigen CH_4 -Produktion während der gesamten Vegetationsperiode deutlich höher als 1998. Das Überwiegen der hydrogenotrophen Methanogenese korrelierte mit den relativ niedrigen Acetatkonzentrationen im Porenwasser, welche auf die hohe Aktivität Fe- und Sulfat-reduzierender Bakterien zurückzuführen waren (siehe oben). Aus diesem Grunde war der Anteil des CH_4 produziert aus H_2/CO_2 relativ gross, wenn auch die Produktionsraten insgesamt niedrig waren. Aufgrund der geringen CH_4 -Produktionsraten war die Umwandlung radioaktiven Bicarbonats zu $^{14}CH_4$ kaum nachweisbar. Deshalb wurde Methylfluorid als selektiver Hemmstoff der acetoclastischen Methanogenese eingesetzt (Conrad & Klose 1999a, Janssen & Frenzel 1997, Oremland & Culbertson 1992), um zwischen den beiden methanogenen Produktionswegen zu unterscheiden.

Erst in der zweiten Hälfte der Saison, mit zunehmender Acetatkonzentration im Porenwasser, stieg die CH_4 -Produktion an, so dass die Bestimmung der prozentualen Anteile der Produktionswege mit radioaktiver wie Hemmstoff-Technik möglich war. Beide Techniken zeigten, dass zu dieser Zeit die Acetat-abhängige Methanogenese wichtiger wurde. Gleichzeitig ging der oxidative Acetatumsatz zurück, was an den kleiner werdenden RI-Werte in den Bodenproben zu erkennen war (Abb. 4-12).

In diesem Zusammenhang fällt besonders auf, dass die Konkurrenz zwischen Methanogenen und anderen Mikroorganismen um Acetat stärker zu sein schien als um H_2 . Ähnliches wurde zuvor schon in einem Gewächshausexperiment beobachtet (Frenzel et al. 1999), wo die Acetatkonzentrationen ebenfalls zur Zeit der Reduktion von Fe(III) sehr niedrig – unter dem Schwellenwert für acetoclastische Methanogene (Jetten et al. 1990) – waren, aber trotzdem CH_4 -Produktion gemessen wurde. Im Gegensatz hierzu zeigten frühere Studien mit anoxischem Reisfeldboden, dass H_2/CO_2 -abhängige Methanogenese in Gegenwart von oxidierenden Verbindungen, wie Fe(III), Nitrat oder Sulfat, rasch und nahezu vollständig gehemmt wurde (Chidthaisong & Conrad 2000, Bodegom & Stams 1999, Klüber & Conrad 1998, Acht nich et al. 1995).

Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass die hydrogenotrophe CH_4 -Produktion in den Experimenten dieser Arbeit ebenfalls durch entsprechende Substratkonkurrenz gehemmt wurde, wobei aber die Hemmung der acetoclastischen Methanogenese stärker ausgeprägt war. Aus diesem Grund stand ausreichend H_2 für den relativ grossen Anteil an hydrogenotropher

CH₄-Produktion in der Saison 1999 zur Verfügung. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre das Vorkommen syntropher mikrobieller Aggregate im Boden. Rothfuss und Conrad (1993) fanden in Feldproben einen überraschend konstanten Anteil hydrogenotropher Methanogenese, obwohl die CH₄-Produktionsraten insgesamt stark variierten. Sie schlugen deshalb als mögliche Erklärung das Vorkommen von stabilen mikrobiellen Gemeinschaften aus H₂-produzierenden und methanogenen Mikroorganismen vor. Dies würde den Austausch von H₂ innerhalb der Gemeinschaft („interspecies hydrogen transfer“) erleichtern und zugleich die Konkurrenz mit anderen H₂-verbrauchenden Mikroorganismen, z.B. Fe-reduzierenden Bakterien, vermeiden.

Unterstützt wurde die beobachtete Änderung der CH₄-Produktionswege von überwiegend H₂/CO₂-abhängiger zu Acetat-abhängiger Methanogenese in der zweiten Hälfte der Saison auch durch Messungen der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) von produziertem CH₄ (Abb. 4-13). Dieses war entsprechend zu Beginn relativ leicht und wurde mit fortschreitender Vegetationsperiode schwerer, da die Zunahme der acetoclastischen Methanogenese zur Produktion von schwererem, deutlich ¹³C-angereichertem CH₄ führte (Bilek et al. 1999, Whiticar 1999, Chanton et al. 1997, Sugimoto & Wada 1993, Whiticar et al. 1986). Derartige direkte Rückschlüsse von $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des produziertem CH₄ auf die Beteiligung der CH₄-Produktionswege sind allerdings schwierig, da hier auch mögliche Änderungen der Isotopensignaturen der methanogenen Substrate Acetat und CO₂ berücksichtigt werden müssen. Eine entsprechende Berechnung des Anteils der acetoclastischen Methanogenese auf der Grundlage von $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werten verschiedenener Bodenkompimente ist im folgenden Kapitel beschrieben.

Im Gewächshausexperiment (Kap. 4-3) wurden die Anteile Acetat- bzw. H₂/CO₂-abhängiger CH₄-Produktion in Bodeninkubationen mit beiden Techniken, Hemmstoff wie radioaktiver, bestimmt. Die jeweiligen Ergebnisse stimmten gut überein und zeigten über die Vegetationsperiode einen relativ konstanten Anteil hydrogenotropher Methanogenese von 20-25 % (Tab. 5-3). Da die CH₄-Produktionsraten im Oberboden sehr gering waren, genügten anscheinend die geringen Acetatkonzentrationen im Porenwasser für den beobachteten grossen Anteil acetoclastischer Methanogenese, während höhere Aktivitäten nicht mehr möglich waren. Die hohen RI-Werte deuteten wieder auf eine starke Substratkonkurrenz von anderen Mikroorganismen, z.B. Fe-reduzierenden Bakterien hin. Die möglichen Ursachen für diesen „oxidativen“ Zustand des Oberbodens wurden bereits im Zusammenhang mit den Feldversuchen ausführlich diskutiert (Kap. 5.1.1).

4.4.2.1. Berechnung des Anteils aus Acetat gebildeten CH₄ (F_{ac}) in Bodeninkubationen mit Feldproben

Zur Berechnung des Anteils aus Acetat gebildeten CH₄ (F_{ac}) über die in verschiedenen Umweltkompartimenten gemessenen Isotopensignaturen von CH₄ nach Tyler et al. (1997) war es zuerst nötig, δ¹³C-Werte für CH₄ nur aus H₂/CO₂ bzw. Acetat zu berechnen. Der δ¹³C-Wert für CH₄ nur aus Acetat (δ¹³CH_{4(ac)}) wurde nach Gelwicks et al. (1994) ausgewählt (siehe unten). Zur Berechnung des δ¹³C-Wertes für CH₄ nur aus H₂/CO₂ (δ¹³CH_{4(H2/CO2)}) wurde, wie bei Avery et al. (1999) beschrieben, Gleichung (1) verwendet.

$$(1) \quad \alpha = (\delta^{13}\text{CO}_2 + 1000)/(\delta^{13}\text{CH}_4 + 1000)$$

Entsprechend Tyler et al. (1997) wurde für den Fraktionierungsfaktor α sowohl ein Wert von 1,045 als auch 1,06 eingesetzt, für δ¹³CO₂ die δ¹³C-Werte des in den Bodeninkubationen produzierten CO₂ (Abb. 4-14). In (1) beschreibt α die Änderung des δ¹³CH₄ infolge des Einflusses der CH₄-Produktion und wurde z.B. von Sugimoto & Wada (1993) in Laborexperimenten mit Reisfeldboden bestimmt. Der so gemessene kinetische Isotopeneffekt (KIE) aus der mikrobiellen Umwandlung von CO₂ zu CH₄ war: k₁₂/k₁₃ = 1,045 (hierbei ist k₁₂/k₁₃ das Verhältnis der Reaktionskonstanten von ¹²CH₄ und ¹³CH₄). Für eine ausführliche Beschreibung und Diskussion der verwendeten Gleichungen sei auf die Artikel von Tyler et al. (1997) und Sugimoto & Wada (1995 & 1993) verwiesen.

Die so berechneten δ¹³C-Werte für aus H₂/CO₂ produziertes CH₄ zeigten für beide Bodenkompimente und Fraktionierungsfaktoren einen ähnlichen saisonalen Verlauf (Tab. 5-1). Zu Beginn waren die δ¹³CH_{4(H2/CO2)}-Werte relativ leicht, wurden dann aber infolge des Anstiegs der δ¹³C-Werte des in den Bodeninkubationen produzierten CO₂ ebenfalls schwerer. Eine entsprechende Berechnung mit den δ¹³CO₂-Werten aus den Porenwasser (Abb. 4-24) führte zu ähnlichen δ¹³CH_{4(H2/CO2)}-Werten, was auf die gute Übereinstimmung von produziertem und im Porenwasser gelösten CO₂ hinwies.

Durch die Benutzung der δ¹³C-Werte von CH₄ aus den verschiedenen Kompartimenten war nun auch die Berechnung des Anteils von nur aus Acetat bzw. H₂/CO₂ gebildetem CH₄ möglich. Hierzu wurde angenommen, dass dies die einzigen CH₄-Produktionswege im Reisfeldboden waren und ihre jeweilige Beteiligung nach folgender Gleichung (2) berechnet (Tyler et al. 1997):

$$(2) \quad F_{ac} = \text{CH}_{4(ac)} / (\text{CH}_{4(H2/CO2)} + \text{CH}_{4(ac)})$$

Tab. 5-1: Berechnung der Isotopensignaturen von CH₄ produziert nur aus H₂/CO₂ nach Avery et al. (1999) für Bodenproben aus der Feldmessperiode 1999

Tage nach dem Fluten	$\delta^{13}\text{C}$ -Wert von CH ₄ nur aus H ₂ /CO ₂ ¹ [‰] ($\delta^{13}\text{CO}_2$ aus Bodeninkubationen)			
	$\alpha = 1,045$		$\alpha = 1,06$	
	Oberboden	Unterboden	Oberboden	Unterboden
8	-69,15 ± 0,31	-67,54 ± 0,53	-82,52 ± 0,31	-80,74 ± 0,53
33	-68,11 ± 0,27	-67,94 ± 0,37	-80,93 ± 0,27	-81,13 ± 0,37
57	-69,39 ± 0,19	-69,05 ± 0,14	-82,56 ± 0,19	-82,23 ± 0,14
75	-65,74 ± 0,11	-58,15 ± 0,48	-78,96 ± 0,11	-71,48 ± 0,48
95	-59,44 ± 1,56	-62,06 ± 0,82	-84,57 ± 1,56	-75,33 ± 0,82
112	-62,36 ± 0,28	-56,95 ± 0,18	-75,63 ± 0,28	-70,29 ± 0,18

¹ Berechnet nach Gleichung (1) mit den $\delta^{13}\text{CO}_2$ -Werten aus Bodeninkubationen (Abb.4-14).

Hierbei ist F_{ac} die Fraktion von aus Acetat gebildetem CH₄. Diese Massenbilanz für die CH₄-Produktion wurde durch die entsprechenden Isotopensignaturen zu (3) erweitert, wobei $\delta^{13}\text{CH}_4$ der in der Produktion gemessene Wert ist, und $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$ und $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{H}_2/\text{CO}_2)}$ die Werte für CH₄ produziert ausschliesslich aus Acetat bzw. H₂/CO₂.

$$(3) \quad \delta^{13}\text{CH}_4 = (\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})} \times F_{\text{ac}}) + (\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{H}_2/\text{CO}_2)} \times (1 - F_{\text{ac}}))$$

Der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert für CH₄ nur aus Acetat ($\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$) wurde aus den im Porenwasser gemessenen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten für Acetat berechnet (Abb. 4-26), wobei eine Isotopenverschiebung von Acetat zu CH₄ von -21 ‰ angenommen wurde (nach Gelwicks et al. 1994). Hierzu wurden die Werte von 0-10 cm gemittelt, so dass die nach der Isotopenverschiebung erhaltenen $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{ac})}$ -Werte zwischen -37 und -43 ‰ lagen. Ähnliche Werte wurden auch in anderen Arbeiten gefunden bzw. verwendet (Bilek et al. 1999, Tyler et al. 1997, Sugimoto et al. 1993). Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für CH₄ nur aus H₂/CO₂ ($\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{H}_2/\text{CO}_2)}$) wurden - wie oben beschrieben - aus den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des in den Bodeninkubationen produzierten CO₂ (Abb. 4-14) nach Avery et al. (1999) mit Gleichung (1) berechnet (Tab. 5-1).

In Tabelle 5-2 sind die nach den Berechnungen erhaltenen Fraktionen der Acetat-abhängigen CH₄-Produktion (F_{ac}) den mit CH₃F gemessenen (Abb. 4-11) vergleichend gegenübergestellt. Bei letzteren Werten wurde beobachtet, dass der Anteil der Acetat-abhängigen CH₄-Produktion im Oberboden für den grössten Teil der Saison geringer war als im Unterboden. Dieser Unterschied war auch bei den mit den verschiedenen $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{H}_2/\text{CO}_2)}$ aus Boden-

inkubationen berechneten Werten deutlich zu erkennen. Wenn auch die absoluten Werte nicht exakt mit den gemessenen übereinstimmten, so zeigten diese Berechnungen doch den gleichen saisonalen Verlauf für Ober- und Unterboden. Es fällt aber auf, dass im Oberboden mit einem α von 1,045 die Übereinstimmung von berechneten und gemessenen F_{ac} besser war, während dies im Unterboden eher mit einem α von 1,06 der Fall war.

Ein unterschiedlicher Fraktionierungsfaktor könnte darauf beruhen, dass der Oberboden stark durch die hier konzentrierten Reiszurzel beeinflusst wird (Abb. 4-34). Hierdurch könnte es zur Entwicklung unterschiedlicher methanogener Populationen gekommen sein, was das Vorkommen von verschiedenen α erklären könnte (siehe auch Kap. 5.1.3).

Aufgrund der nur sehr geringen CH_4 -Produktion in der Saison 1999 war auch die Genauigkeit der Messungen mit CH_3F eingeschränkt. Dies führte zu relativ grossen Standardfehlern zwischen den einzelnen Messungen und war so ebenfalls mit für die Differenzen zu den berechneten Werten verantwortlich.

In Anlehnung an Tyler et al. (1997) und Bilek et al. (1999) wurden auch die in deren Arbeiten eingesetzten Werte für CH_4 nur aus Acetat oder H_2/CO_2 in (3) eingesetzt. Zusätzlich wurden wie in diesen Arbeiten für $\delta^{13}CH_4$ anstelle der Werte aus den Bodeninkubationen auch die im Porenwasser gemessenen Werte eingesetzt, obwohl diese zu Saisonbeginn stark durch CH_4 -Oxidation beeinflusst gewesen zu sein schienen (Kap. 5.2).

Tab. 5-2: Vergleich der Fraktionen Acetat-abhängiger Methanogenese (F_{ac}), entweder in Bodeninkubationen mit Feldproben gemessen¹ oder nach Tyler et al. (1997) berechnet²

Tage nach Fluten	F_{ac} gemessen ¹		F_{ac} berechnet mit $\delta^{13}CH_{4(H_2/CO_2)}$ aus Bodeninkubationen ²			
	Oberboden n	Unterboden	$\alpha = 1,045$		$\alpha = 1,06$	
			Oberboden	Unterboden	Oberboden	Unterboden
33	0 ± 0,28	0,79 ± 0,05	0,09 ± 0,07	0,30 ± 0,30	0,38 ± 0,07	0,52 ± 0,30
57	0,09 ± 0,2	0,44 ± 0,17	0,06 ± 0,04	0,21 ± 0,08	0,25 ± 0,04	0,44 ± 0,08
75	0,68 ± 0,16	0,86 ± 0,007	0,51 ± 0,11	0,22 ± 0,03	0,67 ± 0,11	0,52 ± 0,03
95	0,13 ± 0,12	0,93 ± 0,01	0,13 ± 0,06	0,35 ± 0,05	0,52 ± 0,06	0,62 ± 0,05

¹ Bestimmt mit CH_3F als selektivem Hemmstoff acetoclastischer Methanogenese (Abb. 4-11).

² Die $\delta^{13}CH_{4(H_2/CO_2)}$ -Werte wurden nach Avery et al. (1999) aus den $\delta^{13}C$ -Werten von CO_2 aus Bodeninkubationen berechnet (Tab. 5-1). Der $\delta^{13}C$ -Wert für CH_4 nur aus Acetat ($\delta^{13}CH_{4(ac)}$) wurde aus den im Porenwasser gemessenen $\delta^{13}C$ -Werten für Acetat berechnet (Abb. 4-26), wobei eine Isotopenverschiebung von Acetat zu CH_4 von -21 ‰ angenommen wurde (nach Gelwicks et al. 1994). Die Berechnung von F_{ac} erfolgte anschliessend nach Gleichung (3).

Die so für F_{ac} berechneten Werte wichen alle deutlich von den gemessenen ab. Auch wenn über die gesamte Saison gesehen von der Grösse her ähnliche F_{ac} gefunden wurden, spiegelten diese nicht den deutlichen Unterschied zwischen Ober- und Unterboden sowie den saisonalen Verlauf wieder, wie es bei den in Tab. 5-2 berechneten der Fall war. Hier wurde im Gegenteil ein den gemessenen wie oben berechneten Werten entgegengesetzter saisonaler Verlauf beobachtet, die F_{ac} sanken von 0,6-0,7 zu Beginn auf 0,3 am Ende ab.

Ebenfalls wichtig in diesem Zusammenhang ist die CH_4 -Produktion an den Reiswurzeln. Diese beeinflusst höchstwahrscheinlich auch die Signaturen von emittiertem und im Porenwasser gelöstem CH_4 und somit obige Berechnungen und wird deshalb in Kap. 5.1.3 ausführlich diskutiert.

Da methanogene Substrate, vielleicht mit Ausnahme von CO_2 , in natürlichen Systemen oft nur in geringen Konzentrationen vorliegen, ist die Bestimmung ihrer Isotopensignaturen sehr schwierig. Häufig wird deshalb für Berechnungen, z.B. der CH_4 -Fraktionen aus den verschiedenen Produktionswegen, angenommen, dass die $\delta^{13}C$ -Werte des organischen Kohlenstoffs der Substrate (hier Acetat) dem im Boden oder in den Pflanzen entspricht (Bilek et al. 1999, Whiticar 1999, Tyler et al. 1997). In dieser Arbeit wurden nun sowohl die $\delta^{13}C$ -Werte des bodengebundenen organischen Materials wie auch die der Pflanzen und des wichtigsten methanogenen Substrates Acetat bestimmt. Mit -27 und -26 ‰ waren die $\delta^{13}C$ -Werte des Kohlenstoffs in den Reispflanzen und im Boden ähnlich und blieben über die Vegetationsperiode weitgehend stabil. Für das im Porenwasser gelöste Acetat hingegen lagen die Werte zu Beginn der Saison bei -20 ‰, stiegen dann zunächst auf -16 ‰ an, um zum Ende hin wieder auf -22 ‰ abzufallen (Abb. 4-26). Diese Isotopensignaturen unterschieden sich deutlich von denen des organischen Kohlenstoffs im Boden und in den Pflanzen und wurden deshalb in obigen Berechnungen bevorzugt eingesetzt. Gleiches galt für das ebenfalls wichtige methanogene Substrat CO_2 . Ebenfalls von Bedeutung in diesem Zusammenhang sind die verschiedenen möglichen Fraktionierungsfaktoren von CO_2 zu CH_4 bzw. Acetat zu CH_4 .

So wäre eine mögliche Erklärung für Abweichungen der Berechnungen von den Messwerten eine Änderung des zur Bestimmung von $\delta^{13}CH_{4(H_2/CO_2)}$ benötigten Fraktionierungsfaktors α (für CO_2 zu CH_4) über die Saison, für welchen hier wie auch in den anderen Rechnungen vergleichend Werte von 1,045 und 1,06 eingesetzt worden waren (Avery et al. 1999, Bilek et al. 1999, Tyler et al. 1997, Sugimoto & Wada 1993). Nach Whiticar (1999) bleibt der Fraktionierungsfaktor für einen Prozess oder ein Ökosystem hingegen über die Zeit relativ stabil, trotz möglicherweise grosser Änderungen der $\delta^{13}CH_4$ -Werte.

Ebenso führt die Wahl des Fraktionierungsfaktors für Acetat zu CH_4 , in diesem Fall -21 ‰ , zu einer Beeinflussung der berechneten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte. Die experimentell bestimmten Fraktionierungswerte lagen in einem Bereich von -19 bis -35 ‰ (Whiticar 1999, Waldron et al. 1998, Gelwick et al. 1994, Sugimoto & Wada 1993, Krzycki et al. 1987). Diese könnten sich über die Saison eventuell ändern, bzw. in den verschiedenen methanogenen Kompartimenten (Ober- und Unterboden, Wurzeln) unterschiedlich sein, zumal hier verschiedene, komplexe mikrobielle Populationen vorliegen (Großkopf et al. 1999 a&b, Lehmann-Richter et al. 1999, Frenzel & Bosse 1996). Auch wäre es möglich, dass die den Methanogenen in den Bodeninkubationen zur Verfügung stehenden Substrate – besonders das Acetat – nicht immer mit den im Porenwasser gefundenen bzw. zur Berechnung herangezogenen übereinstimmen, sondern vielleicht eine etwas andere Isotopensignatur besaßen. So wurde in Versuchen mit Süßwassersedimenten bei verschiedenen methanogenen Substraten (Acetat, Formiat) ein Isotopenaustausch der Kohlenstoffatome mit der Umgebung beobachtet (De Graaf et al. 1996, De Graaf & Cappenburg 1996). Ein derartiger Prozess im Reisfeldboden könnte zu einer Änderung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des produzierten CH_4 führen, würde aber eventuell, da hier nur das Gesamtacetat im Porenwasser untersucht worden war, nicht erkannt werden.

In einigen Arbeiten (Avery et al. 1999, Bilek et al. 1999) wurde auch ein möglicher Einfluss von Homoacetogenese auf die Berechnung von F_{ac} diskutiert. Durch homoacetogene Bakterien wird Acetat über die Reduktion von CO_2 (mit H_2) gebildet, wobei ein Isotopenshift von ca. -60 ‰ auftreten kann (Gelwicks et al. 1989). Dies führt zur Produktion von stark ^{12}C -angereichertem CH_4 (Alperin et al. 1992) und somit – da dieses dem CH_4 aus H_2/CO_2 ähnelt – eventuell zu einer Verfälschung der Berechnungen zu Ungunsten von F_{ac} . In Experimenten mit italienischem Reisfeldboden wurde ein Anteil homoacetogen gebildeten Acetats von 6-10 % an der Gesamtacetatproduktion beobachtet (Rothfuss & Conrad 1993, Thebrath et al. 1992), was durchaus zu einer Beeinflussung der Isotopensignaturen führen könnte. In dieser Arbeit wurden jedoch die Isotopensignaturen des Acetats im Boden bestimmt und in die entsprechenden Berechnungen mit einbezogen, so dass eine eventuelle homoacetogene Acetatproduktion schon enthalten wäre. Anders ist dies aber bei den Untersuchungen der wurzellossoziierten Methanogenese, da hier der Substratpool ein anderer sein könnte und zudem wesentlich höhere homoacetogene Aktivitäten beobachtet wurden (Kap. 5.1.3).

Bei Verwendung geeigneter Ausgangswerte stellt die Berechnung nach (3) eine direkten Messungen durchaus vergleichbare Methode zur Untersuchung der Beteiligung der verschiedenen CH_4 -Produktionswege dar. Allerdings zeigten sich hier auch deutlich die Grenzen der Benutzung von Isotopenmessungen zur Untersuchung von methanogenen Prozessen. Da in

dem komplexen System Reisfeldboden Kombinationen von verschiedenen Prozessen mit zudem unterschiedlichem Ausmass vorkommen und die Wahl der (richtigen?) Fraktionierungsfaktoren grossen Einfluss auf die Berechnungen hat, werden Schlussfolgerungen sehr schwierig. Eine erste Abschätzung des Fraktionierungsfaktors (α) für CO_2 und CH_4 war nach Avery & Martens (1999) möglich; 57 Tage nach dem Fluten lagen die Werte für dieses sogenannte „apparente“ α bei 1,052 und 1,057 für Ober- bzw. Unterboden (Berechnungen nicht gezeigt) und unterstützten so die oben beschriebenen Berechnungen. Eine exakte, experimentelle Bestimmung des Fraktionierungsfaktors im Boden des Versuchsfeldes wurde aber nicht durchgeführt.

4.4.2.2. Berechnung des Anteils aus Acetat gebildeten CH_4 (F_{ac}) in Bodeninkubationen mit Proben aus den Mikrokosmen

Wie im vorigen Kapitel ausführlich für die Feldproben beschrieben, wurden auch mit den Ergebnissen der Mikrokosmosexperimente Berechnungen des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes von CH_4 nur aus H_2/CO_2 ($\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{H}_2/\text{CO}_2)}$) und des Anteils acetoclastischer Methanogenese (F_{ac}) durchgeführt. Allerdings wurde hier für den Fraktionierungsfaktor (α) von CO_2 und CH_4 nur der Wert von 1,06 eingesetzt, da - im Gegensatz zum Feld - mit einem α von 1,045 die Übereinstimmung von berechneten und gemessenen F_{ac} sehr schlecht war.

Im Oberboden blieben die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von CH_4 nur aus H_2/CO_2 ($\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{H}_2/\text{CO}_2)}$) über die Saison weitgehend konstant (Tab. 5-3), da die Isotopensignatur des in den Bodeninkubationen produzierten CO_2 ebenfalls stabil war (Abb. 4-58). Im Unterboden hingegen stiegen die berechneten $\delta^{13}\text{CH}_{4(\text{H}_2/\text{CO}_2)}$ entsprechend den gemessenen Werten an. Auch bei den Fraktionen von aus Acetat gebildeten CH_4 (F_{ac}) war die Übereinstimmung von gemessenen und berechneten Werten für den Unterboden sehr gut (Tab. 5-3). Für den Oberboden waren die Unterschiede hingegen deutlicher.

Als mögliche Ursachen für die Differenzen zwischen Messungen und Berechnungen kommen, wie oben bereits ausführlich diskutiert, besonders die Wahl der „richtigen“ Fraktionierungsfaktoren sowie der potentielle Einfluss anderer mikrobieller Prozesse in Frage. Dies ist besonders im stark wurzelbeeinflussten und somit sehr komplexen und vielschichtigen Oberboden von Bedeutung und erschwert so dessen Untersuchung.

Tab. 5-3: Berechnung der Fraktionen von CH₄ produziert aus Acetat (F_{ac})¹, sowie der Isotopensignaturen von CH₄ nur aus H₂/CO₂² (δ¹³CH_{4(H2/CO2)}) in Bodeninkubationen mit Mikrokosmenproben

Pflanzenalter [d]	δ ¹³ C-Wert von CH ₄ nur aus H ₂ /CO ₂ ¹ [‰]	F _{ac} gemessen mit CH ₃ F ²	F _{ac} gemessen mit ¹⁴ C-Bicarbonat ³	F _{ac} berechnet mit δ ¹³ CH _{4(H2/CO2)} aus Bodeninkubationen ⁴
<u>Oberboden:</u>				
42	-82,55 ± 0,05	0,80 ± 0,07	0,84 ± 0,06	0,43 ± 0,02
56	-83,49 ± 0,19	0,81 ± 0,02	0,8 ± 0,04	0,48 ± 0,01
70	-82,08 ± 0,09	0,83 ± 0,03	0,9 ± 0,04	0,44 ± 0,03
84	-81,71 ± 0,11	0,71 ± 0,07	0,81 ± 0,02	0,44 ± 0,02
99	-81,68 ± 0,09	0,70 ± 0,02	0,79 ± 0,01	0,46 ± 0,01
<u>Unterboden:</u>				
42	-79,45 ± 0,09	0,85 ± 0,07	0,78 ± 0,02	0,79 ± 0,06
56	-74,46 ± 0,08	0,90 ± 0,02	0,77 ± 0,02	0,85 ± 0,02
70	-77,37 ± 0,11	0,89 ± 0,03	0,86 ± 0,01	0,65 ± 0,03
84	-75,36 ± 0,08	0,67 ± 0,07	0,65 ± 0,03	0,64 ± 0,01
99	-71,69 ± 0,17	0,81 ± 0,02	0,77 ± 0,04	0,67 ± 0,02

¹ δ¹³CH_{4(H2/CO2)} berechnet nach Avery et al. (1999) mit Gleichung (1) aus den δ¹³C-Werten von CO₂ aus den Bodeninkubationen (Abb. 4-58) und α = 1,06.

² Bestimmt mit CH₃F als selektivem Hemmstoff acetoclastischer Methanogenese (Abb. 4-55).

³ Bestimmt über die Umwandlung von ¹⁴C-Bicarbonat zu ¹⁴CH₄ (Abb. 4-54).

⁴ Für die δ¹³CH_{4(H2/CO2)}-Werte siehe ¹. Der δ¹³C-Wert für CH₄ nur aus Acetat (δ¹³CH_{4(ac)}) wurde aus den im Porenwasser gemessenen δ¹³C-Werten für Acetat berechnet (Abb. 4-66), wobei eine Isotopenverschiebung von Acetat zu CH₄ von -21 ‰ angenommen wurde (nach Gelwicks et al. 1994). Die Berechnung von F_{ac} erfolgte anschliessend nach Gleichung (3).

4.4.3. Einfluss der CH₄-Produktion an Reisswurzeln

Vor einigen Jahren wurde CH₄-Produktion auch an Reisswurzeln entdeckt (Conrad & Klose 1999b, Lehmann-Richter et al. 1999, Frenzel & Bosse 1996). Die gemessenen potentiellen CH₄-Produktionsraten an der Wurzeloberfläche waren in beiden Jahren ähnlich und blieben über die Saison relativ stabil (Abb. 4-15). Die höchsten Raten wurden ca. 80 Tage nach dem Fluten gemessen, ebenso wie in den Bodenproben, und zeitlich zu dem Anstieg der Acetatkonzentrationen im Porenwasser passend. Bei der Betrachtung der Isotopensignaturen des an Reisswurzeln produzierten CH₄ (Tab. 4-2) fällt auf, dass dieses in der zweiten Hälfte der Saison einen ähnlichen Trend zu leichteren δ¹³CH₄-Werten zeigte wie das emittierte CH₄.

Jedoch war dieser entgegengesetzt zu dem in den Bodeninkubationen beobachteten Verlauf, was auf eine unterschiedliche Beteiligung der methanogenen Produktionswege zurückzuführen sein könnte (siehe unten). Auch ist die Zusammensetzung der methanogenen Lebensgemeinschaft auf den Reiswurzeln eine andere als im umliegenden Boden (Großkopf et al. 1999 a&b, Lehmann-Richter et al. 1999, Frenzel & Bosse 1996). Ebenfalls möglich wäre es, daß die Substrate und deren Isotopensignaturen direkt an der Wurzel anders sind als die im Porenwasser/Boden zur Verfügung stehenden, welche gemessen und in den Berechnungen verwendet worden waren.

So beobachteten Conrad & Klose (1999b) in Wurzelinkubationen, dass bis zu 50 % des Acetats aus der Homoacetogenese stammten; ferner konnten entsprechende Mikroorganismen der Gattung *Sporomusa* auf frischen Reiswurzeln nachgewiesen werden (Rosencrantz et al. 1999). Die Methanogenese aus homoacetogenem Acetat führt zu der Produktion von extrem ^{12}C -angereichertem CH_4 (Alperin et al. 1992), so dass eine Zunahme der homoacetogenen Aktivität über die Saison ebenfalls zu dem beobachtetem Absinken der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des produzierten CH_4 beigetragen haben könnte.

Ein Vergleich der Gesamtmethanproduktion und -Emission 1999 anhand von Tab. 4-1 ergibt eine Differenz von ca. 1 %. Die CH_4 -Produktion im Boden ist also etwas geringer als die Emission, was so für wurzellosoziierte Methanogenese „Raum“ lässt. Eine Abschätzung der Gesamtproduktion an Wurzeln über die Saison führte auch zu einer ähnlichen möglichen Menge, da der Anteil der Wurzelbiomasse in den oberen 3 cm des Bodens in der zweiten Hälfte der Saison immerhin ca. 3-5 % betrug (bezogen auf das Volumen). Die CH_4 -Produktion an der Wurzeloberfläche der Reispflanzen könnte für die Emission also von einiger Bedeutung sein, zumal die Orte von Substratexsudation, CH_4 -Produktion und -Aufnahme in das Pflanzengewebe hier dicht beieinander liegen. Es könnte aber auch sein, dass das an den Wurzeln produzierte CH_4 direkt durch ebenfalls wurzellosoziierte methanotrophe Bakterien oxidiert wird. Dies würde so eine Quelle relativ schweren, mit ^{12}C abgereicherten CH_4 darstellen. Sowohl die methanogenen wie auch methanotrophen wurzellosoziierten Aktivitäten waren verglichen mit denen im Boden relativ hoch.

Dass die pflanzenassoziierte CH_4 -Produktion wichtig ist, konnte auch auf anderem Wege gezeigt werden. So zeigten die Arbeiten von Watanabe et al. (1999) und Minoda et al. (1996), dass bis zu 50 % des emittierten CH_4 aus exudierten Photosyntheseprodukten stammten. Ferner wurden 3-6 % des photosynthetisch assimilierten CO_2 wieder als CH_4 in die Atmosphäre abgegeben (Dannenberg & Conrad 1999). Eine genauere Bestimmung des Einflusses der CH_4 -Produktion an der Wurzeloberfläche auf die Menge sowie die Isotopensignatur des

emittierten CH₄ ist aber nicht möglich. Weder ist die exakte Wurzelbiomasse in-situ bekannt, noch die tatsächlich in der zeitlich wie räumlich hoch heterogenen Rhizosphäre ablaufenden Prozesse.

4.4.3.1. Berechnung des Anteils aus Acetat gebildeten CH₄ (F_{ac}) für Wurzelinkubationen

Vergleicht man die δ¹³C-Werte des in den Wurzel- und Bodeninkubationen produzierten CH₄, so fällt hier der in ersteren genau entgegengesetzte saisonale Verlauf auf. Zu Beginn der Saison war das CH₄ relativ mit ¹³C angereichert und wurde dann in der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode leichter (Tab. 4-2), was auf eine Zunahme H₂/CO₂-abhängiger Methanogenese hindeutete (Bilek et al. 1999, Whiticar 1999, Chanton et al. 1997, Sugimoto & Wada 1993, Whiticar et al. 1986).

Die Berechnung des Anteils der acetoclastischen Methanogenese (mit α = 1,06, nach Gleichung (3) wie in Kap. 5.1.3.1 ausführlich beschrieben) wurde mit den δ¹³CH₄-Werten aus den Wurzelinkubationen (Tab. 4-2) als Ausgangswert und entsprechenden δ¹³CH₄(H₂/CO₂)-Werten für CH₄ nur aus H₂/CO₂ (berechnet nach Gleichung (1) mit den δ¹³CO₂-Werten der Wurzelinkubationen aus Tab. 4-2) durchgeführt. Zusammen mit den δ¹³CH₄-Werten nur aus Acetat, welche auch schon bei den Berechnungen mit Boden eingesetzt worden waren (Kap. 5.1.2.1), wurden so über die Saison geringere F_{ac} als im Boden erhalten. Der Anteil der acetoclastischen Methanogenese lag bei 20-30 %, nur gegen Ende der Vegetationsperiode nach 112 Tagen wurden ca. 40 % gefunden (Tab. 5-4).

Ein hoher Anteil hydrogenotropher Methanogenese an der Gesamtmethanproduktion an Reiswurzeln wurde auch von Conrad et al. (2000) beobachtet. Dieser lag in den ersten Tagen der Wurzelinkubationen zwischen 50 und 70 %, gleichzeitig wurden δ¹³CH₄-Werte von nur -80 ‰ gemessen. Die Berechnung des (apparenten) Fraktionierungsfaktors α für CO₂ und CH₄ für diese Phase ergab einen Wert von >1,07. Das Einsetzen dieses α in Gleichung (1) und (3) ergab für die Wurzelinkubationen um einen Faktor von ca. 0,2 höhere F_{ac} als ein α von 1,06 (Tab. 5-4), welche aber immer noch im Bereich der von Conrad et al. gemessenen Werte lagen. Der Unterschied zu den für den Boden berechneten F_{ac} verringerte sich, teilweise waren die Werte nun höher als die - besonders im Oberboden - gefundenen. Die theoretischen δ¹³C-Werte für CH₄ aus H₂/CO₂ sanken über die Saison ab und zeigten, wie auch die in den Produktionsansätzen gemessenen δ¹³CH₄-Werte, einen den Bodeninkubationen entgegengesetzten Trend, welcher schon im vorigen Kapitel diskutiert wurde.

Tab. 5-4: Berechnung der Fraktionen von CH₄ produziert aus Acetat (F_{ac})¹, sowie der Isotopensignaturen von CH₄ nur aus H₂/CO₂² in Wurzelinkubationen mit Feldproben

Tage nach dem Fluten	F _{ac} ¹		δ ¹³ CH ₄ (H ₂ /CO ₂) ² [‰]	
	α = 1,06 ³	α = 1,07 ⁴	α = 1,06 ³	α = 1,07 ⁴
25	0,22 ± 0,03	0,44 ± 0,03	-64,06 ± 0,03	-72,80 ± 0,03
48	0,33 ± 0,04	0,54 ± 0,04	-59,77 ± 0,33	-68,56 ± 0,33
65	0,23 ± 0,06	0,43 ± 0,06	-63,17 ± 1,11	-71,93 ± 1,11
81	0,19 ± 0,02	0,35 ± 0,02	-72,87 ± 0,10	-81,53 ± 0,10
98	0,39 ± 0,04	0,51 ± 0,04	-78,03 ± 0,34	-86,64 ± 0,34

¹ Berechnet nach Tyler et al. (1997) mit Gleichung (3), mit den δ¹³CH₄-Werten aus den Wurzelinkubationen (Tab. 4-2), δ¹³CH₄(H₂/CO₂) bestimmt nach ² (Tab. 5-3) und den δ¹³CH₄(AC)-Werten, welche auch für die Berechnungen mit Boden eingesetzt wurden (Kap. 5.1.2.1).

² δ¹³CH₄(H₂/CO₂) berechnet nach Avery et al. (1999) mit Gleichung (1) aus den δ¹³C-Werten von CO₂ aus den Wurzelinkubationen (Tab. 4-2).

³ α = 1,06 gewählt entsprechend Tyler et al. (1997) und Bilek et al. (1999).

⁴ α = 1,07 (apparent) gewählt entsprechend der Berechnungen in Conrad et al. (2000).

In den Mikrokosmen wurde die wurzelassoziierte CH₄-Produktion nur bei 56 Tage alten Pflanzen untersucht (Tab. 4-6). Die entsprechend der Felddaten berechneten δ¹³CH₄(H₂/CO₂)-Werte lagen mit -76,41 ‰ (α = 1,06) und -85,04 ‰ (α = 1,07) im Bereich der berechneten Feldwerte (Tab. 5-4). Der hieraus berechnete Anteil acetoclastischer Methanogenese war mit 0,54 ± 0,06 bzw. 0,63 ± 0,09 etwas höher als zur gleichen Zeit im Feld, wo der grössere Teil des CH₄ aus H₂/CO₂ stammte.

4.5. CH₄-Oxidation

4.5.1. Einfluss der CH₄-Oxidation auf die –Emission

Der zweite wichtige, die CH₄-Emission beeinflussende Prozess im Reisfeldboden ist die CH₄-Oxidation. Da hierfür Sauerstoff nötig ist, findet CH₄-Oxidation im Reisfeld hauptsächlich an zwei Orten statt. Der eine ist die sauerstoffhaltige Flutwasser- und Bodengrenzschicht (Conrad & Rothfuss 1991), wo O₂ durch Diffusion über die Wassersäule und durch die Photosynthese von Algen bereitgestellt wird. Weiterhin findet CH₄-Oxidation in einer dünnen Bodenschicht um die Reiszurzel – der sogenannten Rhizosphäre – statt, in welche der

Sauerstoff über das Aerenchym der Pflanzen transportiert wird (Gilbert & Frenzel 1995, Armstrong 1971).

Die CH₄-Oxidation in Reisfeldern wurde schon in vielen früheren Studien und mit unterschiedlichen Methoden untersucht. Die erhaltenen Ergebnisse zeigten eine grosse Bandbreite von Werten, mit 10-90 % Oxidation des produzierten CH₄ (z.B. Gilbert & Frenzel 1995, Sass et al. 1992b, Schütz et al. 1989a, Holzappel-Pschorn et al. 1986). In einer neueren Arbeit fanden Denier van der Gon & Neue (1996) Werte von ca. 30 % Oxidation in Versuchsfeldern auf den Philippinen. Die meisten der bisher angewendeten Methoden zur Untersuchung der CH₄-Oxidation führten aber wahrscheinlich auch zu einer gleichzeitigen Beeinflussung der CH₄-Produktionsprozesse (Frenzel & Bosse 1996, Janssen & Frenzel 1996,) und verfälschten so frühere Einschätzungen des Einflusses der CH₄-Oxidation (Kap. 4.1).

In dieser Arbeit wurde deshalb der neue gasförmige Hemmstoff Difluormethan (CH₂F₂) eingesetzt, welcher hochselektiv für die CH₄-Oxidation und somit genau sein sollte (Miller et al. 1998, Matheson et al. 1997). Der geringe Einfluss der CH₄-Oxidation auf die -Emission, welcher in dieser Arbeit bei den in-situ Messungen mit CH₂F₂ beobachtet wurde (Abb. 4-8), steht in scharfem Gegensatz zu den in vielen früheren Arbeiten gefundenen höheren Werten. Unterstützt wurden diese sowohl im Feld als auch in den Mikrokosmen beobachteten niedrigen Werte durch in-vitro Messungen von potentiellen CH₄-Oxidationsraten in Bodensuspensionen und an Reisswurzeln. Diese Laborversuche zeigten einen ähnlichen saisonalen Verlauf wie die in-situ Flussmessungen. Auch verlängerte sich besonders an den Reisswurzeln die sogenannte Lag-Phase, d.h. die Zeit bis zum Einsetzen der hohen, induzierten CH₄-Oxidationsraten (Kap. 3.4.1.1). Dies war zusammen mit dem Rückgang der initialen Oxidationsraten ebenfalls ein Anzeichen von schlechter werdenden Umweltbedingungen für die methanotrophen Bakterien. Der geringe Anteil der CH₄-Oxidation stimmte ferner mit der relativ kleinen Differenz der Gesamtmengen an während der Saison produziertem und emittiertem CH₄ überein (Tab. 4-1). Berechnungen des Anteils der Oxidation an der CH₄-Emission in Feld und Mikrokosmos über $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte aus verschiedenen Umweltkompartimenten stimmten ebenfalls sehr gut mit den in-situ, in Feld und Mikrokosmos, gemessenen Werten überein (Kap. 5.2.2).

Die niedrige CH₄-Oxidationsaktivität führte zu der Annahme, dass die methanotrophen Bakterien unter Feldbedingungen einem Nährstoffmangel unterliegen müssen, welcher zum Ende der Saison hin zunimmt. Erste Hinweise auf die Art dieser Nährstofflimitierung wurden von Bodelier et al. (2000 a & b) in Laborexperimenten entdeckt. Durch die Zugabe von N-haltigen Düngern zu Bodensuspensionen kam es zu einer deutlichen Erhöhung der

CH₄-Oxidationsraten. Anschliessend wurden auch in dieser Arbeit entsprechende Experimente in Feld und Gewächshaus durchgeführt, welche alle die Theorie der Stickstofflimitierung der methanotrophen Bakterien unterstützten (Kap. 5.2.3).

Diese Ergebnisse bildeten einen scharfen Gegensatz zu Arbeiten mit anderen überwiegend aeroben land- oder forstwirtschaftlich genutzten Böden, in denen eine Hemmung der methanotrophen Bakterien durch NH₄⁺-haltige Dünger beobachtet wurde (Gulledge et al. 1997, King & Schnell 1994, Steudler et al. 1989). Wahrscheinlich spielt hier das Verhältnis von NH₄⁺ und CH₄ eine Rolle, ab einem gewissen „Schwellenwert“ könnte sich die vormals stimulierende Wirkung des NH₄⁺ in eine hemmende umkehren (Cai & Mosier 2000). Van der Nat et al. (1997) beobachteten bei Untersuchungen der CH₄-Oxidation in Flusssedimenten, dass eine hemmende Wirkung von NH₄⁺ erst eintrat, wenn dessen Konzentration die des CH₄ mindestens 30-fach überschritt.

Eine entsprechende Analyse von Porenwasserproben zeigte, dass in der Tat während des grössten Teils der Saison in beiden Jahren (Abb. 4-28) nur sehr geringe NH₄⁺-Konzentrationen im Boden des Versuchsreisfeldes vorhanden waren. Dobermann et al. (1994) fanden in ihren Messungen in gefluteten Reisfeldern ebenfalls nur zu Beginn höhere NH₄⁺-Konzentrationen. Diese gingen dann nach dem Auspflanzen rasch zurück und verdeutlichten so die hohe NH₄⁺-Aufnahme durch die wachsenden Reispflanzen. Der in unserer Arbeit beobachtete ähnliche saisonale Verlauf bestätigte die Theorie, dass die CH₄-oxidierenden Bakterien unter Feldbedingungen durch die intensive Konkurrenz mit den Reispflanzen an Stickstoffmangel litten und infolgedessen nur wenig aktiv waren.

4.5.2. Berechnung des Anteils des oxidierten CH₄ (F_{ox}) über δ¹³CH₄-Werte aus verschiedenen Umweltkompartimenten

Die Bestimmung der δ¹³C-Werte von CH₄ aus verschiedenen Kompartimenten des Reisfeldes ermöglichte auch die Berechnung des Anteils des produzierten CH₄, welcher vor der Abgabe in die Atmosphäre oxidiert wurde (F_{ox}). Grundsätzlich werden hierbei Messungen von emittiertem sowie produziertem bzw. verschiedenen Bodenkompartmenten entnommenem CH₄ verglichen. Das Verhältnis zwischen dem Anteil des produzierten CH₄, welcher oxidiert wird, sowie den δ¹³C-Werten von CH₄ ausserhalb und innerhalb des Bodens kann durch die von Stevens & Engelkemeir (1988) entwickelte und von Tyler et al. (1997) angepasste Gleichung (5) berechnet werden. Diese Gleichung beschreibt eine Massenbilanz, welche die δ¹³C-Werte einer Quelle (δ_{initial}) mit der eines Produktes (δ_{final}) in Beziehung setzt.

Letzteres unterliegt infolge eines chemischen (Abbau-) Prozesses – hier der CH₄-Oxidation – einer Isotopenfraktionierung (α).

$$(4) \quad \delta_{\text{initial}} = \delta_{\text{final}} + [F_{\text{ox}}((1/\alpha)-1)(1 + \delta_{\text{final}}/1000)] \times 1000$$

In (4) ist α der Fraktionierungsfaktor (k_{12}/k_{13}) für die Änderung des $\delta^{13}\text{CH}_4$ infolge des Einflusses der CH₄-Oxidation und wurde z.B. von Coleman et al. (1981) in Laborexperimenten bestimmt. Der gemessene kinetische Isotopeneffekt (KIE) aus der mikrobiellen Oxidation von CH₄ war: $k_{12}/k_{13} = 1,025$ bei 26°C (hierbei ist k_{12}/k_{13} das Verhältnis der Reaktionskonstanten von ¹²CH₄ und ¹³CH₄). In dieser Arbeit wurde allerdings ein anderes α verwendet, welches in einem den Bedingungen im Feld vergleichbaren Mikrokosmosexperiment bestimmt worden war (T. Marik, MPI Mainz, persönliche Mitteilung). Dieser Faktor war mit $\alpha = 1,038$ etwas höher als der aus der Arbeit von Coleman et al. (1981).

F_{ox} beschreibt die Fraktion des durch die Oxidation abgebauten CH₄. Für δ_{initial} und δ_{final} wurden verschiedene Kombinationen von innerhalb bzw. ausserhalb des Bodens gemessenen $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werten eingesetzt. Als δ_{initial} wurden die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von in Bodeninkubationen produziertem CH₄, sowie aus Porenwasser (0-10 cm) und herausgestocherten Gasblasen eingesetzt (Abb. 4-13, 4-23 & 4-31). Für δ_{final} wurden entweder die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des emittierten oder des CH₄ aus aufgestiegenen Gasblasen verwendet (Abb. 4-7 & 4-31).

Bei der Verwendung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des über die Pflanzen emittierten CH₄ für die Berechnung von F_{ox} wurde zusätzlich die Fraktionierung des CH₄ während des Transports berücksichtigt (Tyler et al. 1997). Hierfür wurde in Gleichung (4) eine empirische Komponente eingefügt, so daß δ_{final} nun aus der Subtraktion des Transport-Fraktionierungseffekts vom $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des über die Pflanzen emittierten CH₄ berechnet wurde und wieder der direkte Vergleich von δ_{initial} und δ_{final} möglich war. Der Transport-Fraktionierungseffekt wiederum entsprach der Differenz zwischen dem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des emittierten CH₄ (Abb. 4-7) und dem des CH₄ im Aerenchym (Tab. 4-3). Für eine ausführliche Beschreibung und Diskussion der verwendeten Gleichungen sei auf die Artikel von Tyler et al. (1997) und Bilek et al. (1999) verwiesen.

In Tab. 5-5 sind die Ergebnisse der Berechnungen von F_{ox} über Gleichung (4) mit den unterschiedlichen δ_{initial} und δ_{final} Werten den in-situ gemessenen Fraktionen gegenübergestellt. Sowohl in der Grösse als auch im saisonalen Verlauf waren die verschiedenen F_{ox} den über selektive Hemmung mit Difluormethan gemessenen Werten vergleichbar. Die mit den $\delta^{13}\text{C}$ -

Werten des in Bodensuspensionen produziertem CH₄ als δ_{initial} und denen des emittierten CH₄ als δ_{final} berechneten F_{ox} zeigten im Gegensatz zu den anderen zum Ende der Saison hin einen leichten Wiederanstieg der CH₄-Oxidation. Dieser liegt aber noch im Schwankungsbereich der gemessenen Werte, welcher wahrscheinlich aus methodischen Gründen relativ groß war. Bei einem Vergleich der Isotopensignaturen des emittierten CH₄ mit und ohne Zugabe von CH₂F₂ zur Hemmung der CH₄-Oxidation (Abb. 4-7) fällt auf, daß neben den Oxidationsbedingten Differenzen zu Beginn auch am Ende der Saison das CH₄ infolge der Zugabe von CH₂F₂ deutlich leichter wurde. Dies war auf die Hemmung der ansonsten bevorzugt das leichtere Isotop (¹²CH₄) konsumierenden Methanotrophen zurückzuführen und wies auf eine wenn auch geringe Oxidationsaktivität am Saisonende hin, welche durch den Vergleich der CH₄-Emissionsraten nicht zu erkennen war. Bestätigt wurde diese auch durch Messungen von $\delta^{13}\text{C}$ - und δD -Werten des emittierten CH₄ im gleichen Versuchsfeld durch andere Arbeitsgruppen (Marik et al. 2000), welche einen vergleichbaren saisonalen Trend mit einem späten Wiederanstieg der Signaturen zeigten.

Tab. 5-5: Vergleich der Fraktionen von oxidiertem CH₄, entweder in-situ im Versuchsfeld bestimmt¹ oder berechnet nach Tyler et al. (1997) über die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von CH₄ aus verschiedenen Umweltkompartimenten.

Tage nach dem Fluten	F_{ox} gemessen ¹	F_{ox} prod.-emittiert ²	F_{ox} prod.-PW ³	F_{ox} prod.-Gasblasen ⁴	F_{ox} Gasblasen ⁵
33	0,41 ± 0,16	0,36 ± 0,004	0,58 ± 0,003	0,50 ± 0,002	0,16 ± 0,002
57	0,23 ± 0,27	0,36 ± 0,002	0,42 ± 0,003	0,61 ± 0,002	0,26 ± 0,002
75	0,16 ± 0,17	0,02 ± 0,003	-0,06 ± 0,005	-0,08 ± 0,002	0,01 ± 0,002
95	-0,04 ± 0,17	0,18 ± 0,003	-0,06 ± 0,001	0,02 ± 0,001	0,09 ± 0,001
112	0,04 ± 0,26	0,16 ± 0,002	-0,02 ± 0,002	0,01 ± 0,002	0,01 ± 0,002

¹Bestimmt mit selektiver Hemmung der CH₄-Oxidation durch CH₂F₂ (Abb. 4-8).

²Berechnet nach (4) mit den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des in Bodensuspensionen (gewichtet entsprechend der respektiven Bodenschichten (0-3 und 3-10 cm) 3:7 für Ober- und Unterboden) produzierten CH₄ als δ_{initial} (Abb. 4-13) und denen des emittierten CH₄ als δ_{final} (Abb. 4-7), letztere korrigiert um den Transportfraktionierungseffekt (siehe oben).

³Berechnet wie ² aber mit den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten aus Porenwasser (PW) als δ_{final} (0-10 cm Tiefe, Abb. 4-23).

⁴Berechnet wie ² aber mit den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten aus ungestört aus bepflanzt Boden aufgestiegenen Gasblasen als δ_{final} (Abb. 4-31).

⁵Berechnet nach (4) mit den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von aus bepflanzt Boden herausgestocherten Gasblasen als δ_{initial} und den ungestört aufgestiegenen als δ_{final} (Abb. 4-31).

Sehr überraschend waren hier die bei den Berechnungen mit den $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werten aus Porenwasser und Gasblasen aus bepflanztem Boden erhaltenen relativ hohen F_{ox} zu Beginn der Saison (Tab. 5-5). Dies wies auf eine trotz der noch jungen Reispflanzen ausreichende Sauerstoffversorgung der Methanotrophen im Boden hin. Eine analog zur Berechnung von F_{ox} mit Gasblasen aus bepflanztem Boden (Tab. 5-5, ⁽⁵⁾) durchgeführte Berechnung mit den entsprechenden Werten von Gasblasen aus einem unbepflanzten Feldabschnitt zeigte hingegen keinen Einfluss der CH_4 -Oxidation auf das in den Blasen enthaltene CH_4 . Die F_{ox} -Werte lagen zwischen 0,05 zu Beginn und 0,08 am Ende der Vegetationsperiode und bestätigten die grosse Bedeutung der Reispflanzen und -wurzeln für die CH_4 -Oxidationsaktivität im Reisfeldboden über die ganze Saison.

Die aufgrund der verschiedenen Messwerte berechneten Fraktionen des vor der Abgabe in die Atmosphäre oxidierten CH_4 unterstützten ebenfalls den schon aufgrund der experimentellen Ergebnisse postulierten geringen Einfluss der CH_4 -Oxidation auf die -Emission im überwiegenden Teil der Saison (siehe oben).

Tyler et al. (1997) und Bilek et al. (1999) fanden nach ihren Berechnungen einen zwar nicht unbedingt in der Höhe aber im saisonalen Verlauf anderen Einfluss der CH_4 -Oxidation auf die -Emissionen in texanischen Reisfeldern. Hier war der Anteil der Oxidation zu Beginn sehr gering und nahm dann in der zweiten Hälfte der Saison zu. In diesen Arbeiten wurden jedoch als δ_{initial} die im Porenwasser gemessenen $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte als denen des produzierten CH_4 entsprechend eingesetzt. Eine analoge Berechnung von F_{ox} mit den in unserer Arbeit gefundenen Signaturen des Porenwasser- CH_4 als δ_{initial} führte zu ähnlichen Ergebnissen wie von Tyler und Bilek et al. beschrieben, da der saisonale Verlauf der $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte im Porenwasser in beiden Fällen vergleichbar war. Die auf diese Weise berechneten F_{ox} betragen zu Beginn 0,01 und stiegen zum Ende der Saison hin auf 0,25-0,3 an.

Bei einer Gegenüberstellung der in unserer Arbeit in den verschiedenen Kompartimenten gemessenen $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte (Abb. 5-1 & 5-2) fällt jedoch der grosse Unterschied zwischen dem produzierten und dem im Porenwasser gelösten CH_4 zu Beginn der Saison auf. Letzteres war deutlich mit ^{13}C angereichert, was durch den zu dieser Zeit hohen Einfluss der CH_4 -Oxidation erklärt werden könnte. Mit fortschreitender Vegetationsperiode und abnehmender Oxidationsaktivität im Reisfeldboden glichen sich die Werte von produziertem und im Porenwasser gelösten CH_4 an. Die Verwendung der zu Saisonbeginn wohl ebenfalls durch die CH_4 -Oxidation beeinflussten Porenwasserwerte führte so wahrscheinlich zu einer Verfälschung der Ergebnisse und einer Fehleinschätzung des sich saisonal ändernden Einflusses von F_{ox} auf die CH_4 -Emission.

4.5.3. Effekt von Stickstoffdüngungen auf die CH₄-Oxidation und andere Prozesse in Feld und Mikrokosmos

Die zur Untersuchung der Auswirkungen von Stickstoffdüngungen auf die CH₄-Emission durchgeführten Versuche kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Eine relativ geringe Düngung eines Versuchsfeldes (ca. 50 kg N ha⁻¹) zum Ende der Pflanzenwachstumsphase bewirkte keine direkte Änderung der CH₄-Emission (Kap. 4.2.4.3 und Anhang 1). Bei diesem wie auch bei den anderen im Feld durchgeführten Experimenten zeigte sich aber ein deutlicher Einfluss unterschiedlich hoher Düngegaben auf die verschiedenen mikrobiellen Prozesse im Reisfeldboden (Kap. 4.2.4).

So wurden die potentiellen CH₄-Oxidationsraten an Reiszurzel und im Boden durchweg stark gefördert, was wieder auf die Stickstofflimitierung der methanotrophen Bakterien hinweist (siehe oben). Die Auswirkungen auf die CH₄-Produktion waren hingegen unterschiedlich. Im Oberboden und an den Reiszurzel wurde die CH₄-Produktion eher gehemmt, während im Unterboden eine deutliche Stimulierung zu beobachten war. Diese korrelierte zeitlich mit dem Anstieg der Acetatkonzentrationen im Porenwasser (Abb. 4-25), welcher auf die düngungsbedingte Stimulierung der Reispflanzen zurückzuführen war. Nachfolgend stiegen auch die CH₄-Konzentrationen im Porenwasser und in den Gasblasen an, die Isotopensignaturen von CH₄ und CO₂ hingegen blieben weitgehend unverändert.

Der eher geringe Effekt der Stickstoffdüngungen auf die CH₄-Oxidation ist wahrscheinlich auf die hohe NH₄⁺-Aufnahmekapazität der entsprechend gezüchteten Reispflanzen zurückzuführen (Arth & Frenzel 2000, Dobermann et al. 1994). Bereits zwei Tage nach der Düngung war das aus der Hydrolyse des Harnstoffs stammende NH₄⁺ nahezu vollständig aus dem Porenwasser verschwunden (Abb. 4-46), so dass für die Methanotrophen, welche zudem unter ungünstigen Umweltbedingungen oft Dauerstadien bilden, nur wenig Zeit blieb, den plötzlichen Nährstoffreichtum zu nutzen.

Im Mikrokosmosexperiment hingegen wurde infolge der relativ starken Düngung mit Harnstoff (100 kg N ha⁻¹) eine deutliche Wirkung auf die CH₄-Emissionen beobachtet (Abb. 4-49), welche allerdings vom Pflanzenalter abhängig zu sein schien. Bei 42 Tage alten Pflanzen führte die Düngung in den darauffolgenden Tagen zu einem deutlichen Absinken der CH₄-Emissionsraten, während gleichzeitig die δ¹³C-Werte des emittierten CH₄ anstiegen. Beides zusammen zeigte so eine starke Stimulierung der CH₄-Oxidation, deren Einfluss auf die -Emission infolge der Düngung zunahm. Bestätigt wurde dies durch einen Hemmversuch mit CH₂F₂ zwei Tage nach der Düngung, bei dem infolge des wegfallenden Einflusses der CH₄-Oxidation die Emissionsraten stark anstiegen und die δ¹³C-Werte des emittierten CH₄

deutlich abnahmen. In den auf die erste Düngung folgenden Wochen wurden auch die höchsten CH₄-Oxidationsraten der gesamten Vegetationsperiode in Bodenproben gemessen. Erklärt werden können diese Beobachtungen durch die bereits oben ausführlich diskutierte Stickstofflimitierung der methanotrophen Bakterien in-situ, im Mikrokosmos bzw. Reisfeld, welche durch die Düngung kurzfristig aufgehoben wurde.

Ein negativer Effekt der starken Harnstoffdüngung war der kurze aber ausgeprägte Anstieg der N₂O-Emissionen aus den Mikrokosmen im Anschluss an die Düngung (Abb. 4-51). Da N₂O ebenfalls ein sehr potentes Treibhausgas ist, könnten so die ansonsten durch die Reduktion der CH₄-Emissionen positiven Düngeeffekte gemindert werden (siehe auch Kap. 5.3.4).

Nach der zweiten gleich starken Düngung gegen Ende der Vegetationsperiode war hingegen keine Abnahme der CH₄-Emissionsraten zu erkennen. Wahrscheinlich hatten die methanotrophen Bakterien aufgrund der lange Zeit ungünstigen Umweltbedingungen Dauer-/Ruhestadien gebildet (Roslev & King 1995 & 1994, Whittenbury et al. 1970), so dass sie nicht so schnell wie zu Beginn der Vegetationsperiode auf die kurzzeitige Aufhebung der Stickstofflimitierung reagieren konnten. Lediglich der Vergleich der Isotopensignaturen des mit und ohne Zugabe von CH₂F₂ emittierten CH₄ zeigte einen geringen Anstieg der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte. Dies deutete auf eine wahrscheinlich geringe Stimulation der CH₄-Oxidation hin, welche aber nur anhand des Vergleichs der Emissionsraten nicht zu erkennen war.

Die für verschiedene Zeitpunkte durchgeführten Berechnungen der Fraktionen des oxidierten CH₄ (F_{ox}) nach Tyler et al. (1997, Kap. 5.2.2) zeigte einen dem Feld vergleichbaren saisonalen Verlauf. Zu Beginn lagen die Werte bei 0,30 und gingen dann auf 0,18 zurück. Aufgrund der wesentlich höheren Stickstoffdüngung der Mikrokosmen war der Rückgang der CH₄-Oxidation weniger stark ausgeprägt als im Feld, aber dennoch deutlich zu erkennen.

4.6. CH₄-Emission

4.6.1. Unterschiede in der CH₄-Emission zwischen den beiden Jahren

Die CH₄-Emissionsraten aus Reisfeldern werden von vielen verschiedenen Prozessen beeinflusst. Einerseits sind dies mikrobielle und pflanzenassoziierte Prozesse, wie CH₄-Produktion, -Oxidation und -Transport, andererseits aber auch anthropogene Aspekte der landwirtschaftlichen Feldbearbeitung, wie z.B. Düngung, Auswahl der Reissorten und die Art der Bewässerung, sowie klimatische und geographische Einflüsse. Dies führt dazu, dass CH₄-Emissionen aus Reisfeldern sowohl tägliche und saisonale als auch Unterschiede zwischen den einzelnen

Jahren zeigen. Derartige Emissionsverläufe wurden in vielen Feldstudien in unterschiedlichen Reisanbaugebieten beobachtet (Khalil et al. 1998a & b, Chanton et al. 1997, Sigren et al. 1997a & b, Tyler et al. 1997 & 1994, Minami & Neue 1994, Nouchi et al. 1994, Bachelet & Neue 1993, Sass et al. 1991, Schütz et al. 1989a).

Aus diesem Grund wurde von uns das schon ausführlich beschriebene Versuchsgebiet am Reisforschungsinstitut in Vercelli, Italien, ausgewählt (Butterbach-Bahl et al. 1997, Rothfuss & Conrad 1993, Schütz et al. 1990/1989a/1989b, Holzapfel-Pschorn et al. 1986, Holzapfel-Pschorn & Seiler 1986). Die CH₄-Emissionen des Versuchsfeldes zeigten neben saisonalen Schwankungen auch einen grossen Unterschied zwischen den beiden untersuchten Jahren 1998 und 1999 (Abb. 4-4). In der Saison 1999 war die CH₄-Emission die meiste Zeit wesentlich niedriger als 1998, was auf fundamentale Änderungen eines oder mehrerer grundlegender mikrobieller Prozesse hinwies. Obwohl nur relativ wenige Messungen durchgeführt worden waren, schien es 1999 zwei Emissionsmaxima im Gegensatz zu nur einem in 1998 gegeben zu haben.

Diese Ergebnisse sind in der Höhe sowie im Verlauf der CH₄-Emissionen mit den oben zitierten früheren Arbeiten vergleichbar und wurden auch durch die wesentlich umfangreicheren Flussmessungen anderer am gleichen Projekt beteiligter Gruppen bestätigt (Conen et al. 2000). Ein frühes Emissionsmaximum könnte durch den Abbau von ins Feld eingebrachtem organischen Material, wie in diesem Fall Reisstroh, verursacht worden sein. Das zweite Maximum in 1999 ist wahrscheinlich auf eine Änderung des Exsudationsverhaltens der Reispflanzen infolge des Eintrittes in die reproduktive Wachstumsphase zurückzuführen. Diese Annahme wird auch durch die Acetatkonzentrationen im Porenwasser unterstützt, welche nach 70 bis 80 Tagen anstiegen (Abb. 4-25). Hier ist deutlich eine Korrelation von Substratverfügbarkeit, CH₄-Produktion und -Emission zu erkennen und zeigt so die engen wechselseitigen Verknüpfungen innerhalb des „Boden-Pflanze-Systems“. Exsudierte Produkte der Pflanzenphotosynthese und absterbende Reiszurzeln wurden als wichtige C-Quellen für die CH₄-Produktion in der Rhizosphäre identifiziert und tragen wesentlich zur CH₄-Emission bei (Dannenberg & Conrad 1999, Watanabe et al. 1999, Minoda et al. 1996 & 1994).

Die Gründe für den deutlichen Unterschied in der Höhe der CH₄-Emission aus dem Versuchsfeld zwischen den beiden Jahren wurden bereits ausführlich in Kap. 5.1.1 diskutiert.

In den Mikrokosmen („¹³C-Gewächshausexperiment“, Kap. 4.3) stiegen die CH₄-Emissionsraten im Gegensatz zum Feld gleichmässig über die ganze Vegetationsperiode an (Abb. 4-48). Die einzige Ausnahme bildeten die auf die erste Düngung folgenden Tage, wo es, wie bereits

oben diskutiert, zu einer Stimulierung der CH₄-Oxidation und infolgedessen einem kurzzeitigen Absinken der Emissionsraten kam. Auch waren die Raten in den Mikrokosmen wesentlich höher als die in den beiden Feldmessperioden beobachteten.

Durch die beinahe doppelt so hohe Düngung waren die Pflanzen in den Mikrokosmen deutlich grösser als die Feldpflanzen. Auch die Wachstumsbedingungen an sich waren für die einzelnen Pflanzen günstiger als im Feld, da sie hier keiner direkten Konkurrenz um Nährstoffe oder Licht ausgesetzt waren und trugen so zur vermehrten Biomasseproduktion bei. So besaßen die Reispflanzen wahrscheinlich ein grösseres Aerenchymssystem und infolgedessen eine verbesserte Transportfähigkeit für CH₄ (Byrd et al. 2000, Ding et al. 1999, Huang et al. 1997). Indirekt bestätigt wurde dies durch die besonders in der zweiten Saisonhälfte niedrigen CH₄-Konzentrationen im Porenwasser der nun mehr oder weniger komplett durchwurzelteten Mikrokosmen (Abb. 4-61). Besonders die CH₄-Produktionsraten im Unterboden waren ebenfalls höher als im Feld und trugen so ebenfalls zu den stärkeren Emissionen bei. Der Grund hierfür waren die höheren Acetatkonzentrationen im Porenwasser, welche auf eine verstärkte Exsudation der besser entwickelten Reispflanzen hinwiesen.

4.6.2. Änderung der Isotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$) des emittierten Methans

Die CH₄-Emissionen in der Saison 1999 zeigten nicht nur saisonale Änderungen der Rate sondern auch der Isotopensignatur des emittierten CH₄ (Abb. 4-7). Die Isotopensignatur von aus Reisfeldern emittiertem CH₄ wird durch eine Vielzahl von Prozessen beeinflusst. Hierzu gehören unter anderem CH₄-Oxidation, der Transport durch das Boden-Pflanze-System und der relative Anteil der verschiedenen CH₄-Produktionswege (Bilek et al. 1999, Whiticar 1999, Bergamaschi 1997, Chanton et al. 1997, Tyler et al. 1997 & 1994).

Messungen der Isotopensignatur des aus dem Versuchsfeld emittierten CH₄ zeigten, dass dieses kurz nach dem Fluten mit ¹³C angereichert war, dann aber im Laufe der Vegetationsperiode kontinuierlich leichter wurde. Bestätigt wurde dies durch Messungen von $\delta^{13}\text{C}$ -Werten des emittierten CH₄ im gleichen Versuchsfeld durch Marik et al. (2000), welche einen vergleichbaren saisonalen Trend zeigten. Bergamaschi (1997) beobachtete ebenfalls einen ähnlichen saisonalen Verlauf der Isotopensignaturen von emittiertem CH₄ in chinesischen Reisfeldern. Andere Studien hingegen zeigten keine vergleichbaren saisonalen Muster (Bilek et al. 1999, Tyler et al. 1997 & 1994). Direkte Vergleiche von Isotopensignaturen sind aber schwierig, wenn die die CH₄-Emission kontrollierenden Prozesse nicht bekannt sind.

Eine mögliche Erklärung für die in dieser Arbeit beobachtete Änderung der Isotopensignatur könnte ein Wechsel der CH₄-Produktionswege von überwiegend Acetat- zu überwiegend

H₂/CO₂-abhängiger Methanogenese sein, da letztere zu der Produktion von leichterem, deutlich ¹²C-angereichertem CH₄ führen würde (Whiticar 1999, Chanton et al. 1997, Sugimoto & Wada 1993, Whiticar et al. 1986). Dies würde zu einem über die Saison abnehmenden $\delta^{13}\text{CH}_4$ führen, wie es auch gemessen worden war. In Bodenproben wurde aber genau der entgegengesetzte Trend in der CH₄-Produktion beobachtet. In der Saison 1999 nahm die acetoclastische Methanogenese in der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode besonders im methanogen aktiverem Unterboden zu (Abb. 4-11). Dies hätte eher zur Emission von zunehmend schwererem CH₄, nicht leichterem wie beobachtet, führen sollen. Im weniger methanogen aktiven Oberboden blieb die H₂/CO₂-abhängige Methanogenese aber weiterhin wichtig. Da hier auch der Grossteil der Pflanzenwurzeln lokalisiert war, könnte diese verstärkt zu den pflanzengebundenen Emissionen und somit zur Isotopensignatur des emittierten CH₄ beigetragen haben.

Bei der Betrachtung der Isotopensignaturen des produzierten CH₄ wird allerdings in beiden Bodenschichten ein Trend zur Produktion von schwererem CH₄ deutlich, wenn dieser auch im Oberboden zeitlich verzögert war (Abb. 4-13). Dies passte zwar zu der Änderung der verschiedenen CH₄-Produktionswege, hingegen weniger gut zu dem entgegengesetzten Trend des emittierten CH₄.

Ebenfalls von Bedeutung könnte in diesem Zusammenhang die wurzellosoziierte CH₄-Produktion sein, welche im Versuchsfeld beobachtet worden war (Kap. 5.1.4). Aufgrund ihrer Lokalisierung nahe bei den für den Übertritt des CH₄ ins Pflanzengewebe verantwortlichen Stellen und eines ähnlichen saisonalen Trends in der Isotopensignatur (Tab. 4-2), ist ein Einfluss auf die CH₄-Emission durchaus wahrscheinlich. Eine Quantifizierung ist hingegen nicht möglich, da weder die Wurzelmasse in-situ noch die tatsächlich an der Wurzeloberfläche ablaufenden Prozesse bekannt sind. Weiterhin ist es nicht möglich, aufgrund der bisherigen Ergebnisse Rückschlüsse auf die Anteile des CH₄ aus den verschiedenen Kompartimenten (Boden, Wurzeln, Porenwasser, Gasblasen) an der Emission zu ziehen.

Eine weitere Erklärung für die in dieser Arbeit beobachtete Änderung der Isotopensignatur des aus dem Feld emittierten CH₄ könnte die im Laufe der Saison abnehmende CH₄-Oxidation sein, welche oben bereits diskutiert wurde. CH₄-oxidierende Bakterien bevorzugen ¹²CH₄ als Substrat und führen so zu einer Anreicherung des verbliebenen CH₄ mit ¹³CH₄ (Whiticar 1999, Tyler et al. 1997, Coleman et al. 1981). So würde die über die Saison abnehmende CH₄-Oxidationsaktivität zu einem ebenfalls abnehmenden $\delta^{13}\text{CH}_4$ im emittierten CH₄ führen, wie es auch beobachtet worden war (Abb. 4-8 & 4-7).

Der saisonale Verlauf der Isotopensignaturen des emittierten CH₄ in den Mikrokosmen ähnelte dem im Feld beobachteten. Wenn auch der Wertebereich insgesamt etwas grösser war, sanken die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im emittierten CH₄ doch ebenso gleichmässig über die Vegetationsperiode ab (Abb. 4-50). Die einzige Ausnahme bildeten die Werte in den Tagen nach den Stickstoffdüngungen, wie bereits in Kap. 5.2.3 diskutiert.

Da die Anteile der verschiedenen methanogenen Produktionswege über die Saison nahezu konstant waren, kam der grösste Einfluss auf die Isotopensignaturen des emittierten CH₄ wohl wieder von der allmählich abnehmenden CH₄-Oxidation, wie auch im Feld beobachtet (siehe oben). Die CH₄-Produktion an Reisswurzeln wurde im Mikrokosmosexperiment nicht genauer untersucht, so dass keine Aussage über einen möglichen Einfluss auf die CH₄-Emission möglich ist.

4.6.3. Vergleich der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von CH₄ aus verschiedenen Kompartimenten

Bei dem direkten Vergleich der Isotopensignaturen von CH₄ aus verschiedenen Kompartimenten des Reisfeldes lässt sich die Saison 1999 in zwei verschiedene Abschnitte unterteilen. Im ersten dominierte der Einfluss der CH₄-Oxidation, während im zweiten die CH₄-Produktion eine grössere Rolle spielte.

Einen Monat nach dem Fluten des Feldes war das in Ober- und Unterboden produzierte CH₄ mit -65 bzw. -60 ‰ relativ leicht, das an den Wurzeln der Reispflanze produzierte CH₄ hingegen mit -58 ‰ deutlich schwerer (Abb. 5-1). Ersteres wurde wahrscheinlich durch das Überwiegen hydrogenotropher Methanogenese zum Saisonbeginn verursacht (Kap. 5.1.2), während an den Wurzeln vermutlich ein grösserer Teil des CH₄ aus Acetat produziert wurde. Das in Gasblasen aus bepflanztem Boden und im Porenwasser enthaltene CH₄ war gegenüber dem produzierten wesentlich schwerer, was auf den Einfluss der zu dieser Zeit im Boden hohen Aktivität methanotropher Bakterien zurückzuführen war. Diese bevorzugten das leichtere Isotop ^{12}C als Substrat und führen zu einem Anstieg der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte im verbliebenen CH₄ (Whiticar 1999, Tyler et al. 1997, Coleman et al. 1981). Der hierfür benötigte Sauerstoff wurde, wie der Vergleich mit den aus unbepflanztem Boden aufgestiegenen Gasblasen zeigte (Abb. 4-31), anscheinend über die Reisswurzeln bereitgestellt.

Im Vergleich zum emittierten CH₄ mit -60 ‰ war das im Aerenchym gefundene CH₄ mit -49 ‰ deutlich schwerer. Ähnlich ausgeprägte Differenzen wurden auch in früheren Arbeiten beobachtet, allerdings wurden als mögliche Ursachen unterschiedliche Faktoren diskutiert. So führten Chanton et al. (1997) die unterschiedlichen Isotopensignaturen von im Boden, im Aerenchym sowie oberhalb der Pflanzen entnommenen Methanproben auf eine Fraktionier-

ung während des Transportes durch das Aerenchym zurück. Leichteres $^{12}\text{CH}_4$ wird bevorzugt transportiert, so daß es zu einer Anreicherung von schwererem CH_4 in den Pflanzen kommt. Tyler et al. (1997) hingegen führten den Unterschied auf einen starken Einfluss wurzelassoziiertes CH_4 -Oxidation zurück, welche zu einer ^{12}C -Abreicherung des CH_4 unmittelbar vor dessen Übertritt in das Aerenchym führte. Aufgrund der saisonalen Stabilität des Unterschiedes zwischen emittierten und im Aerenchym oder im Boden gefundenen CH_4 ist auch eine Kombination beider Faktoren denkbar. Der Rückgang der CH_4 -Oxidation im Laufe der Vegetationsperiode würde so durch eine Zunahme des fraktionierenden Einflusses der wachsenden Reispflanzen kompensiert.

In der zweiten Hälfte der Vegetationsperiode ging der Einfluss der CH_4 -Oxidation im Reisfeldboden zurück und die Bedeutung der CH_4 -Produktion wurde grösser (Abb. 5-2). Das im Ober- und Unterboden produzierte CH_4 wurde schwerer, was zu der beobachteten

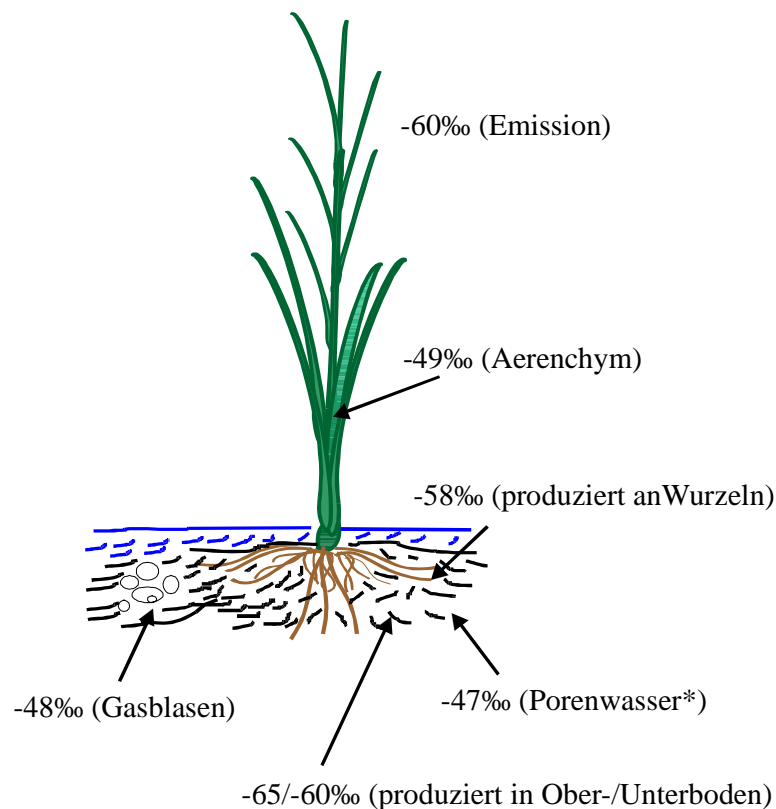


Abb. 5-1: Vergleich der Isotopensignaturen von CH_4 aus verschiedenen Umweltkompartimenten beprobt ca. 30 Tage nach dem Fluten (* 0-10 cm Tiefe)

Zunahme Acetat-abhängiger Methanogenese passte (Kap. 5.1.2). Das an den Reiswurzeln produzierte CH_4 hingegen wurde mit der Zeit leichter, da auch die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des CO_2 kleiner wurden (Tab. 4-2). Mit -56 bzw. -60 ‰ entsprachen die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von CH_4 in Gasblasen und im Porenwasser denen des produzierten CH_4 . Hierbei schienen die Gasblasen eher die Produktion im Boden, das Porenwasser hingegen eine Mischung von CH_4 -Produktion im Boden und an den Wurzeln zu reflektieren. Das emittierte CH_4 war mit -66 ‰ leichter als zu Saisonbeginn und zeigte so den abnehmenden Einfluss der CH_4 -Oxidation. Die Isotopensignatur im Aerenchym blieb nahezu unverändert. Die oben bereits diskutierte ausgeprägte Differenz der $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte verschiedener Umweltproben war also über die Saison konstant.

Während der ganzen Vegetationsperiode wurde ebenfalls eine relativ gute Übereinstimmung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte für das CO_2 produziert in den Boden- und Wurzelinkubationen mit dem im Porenwasser, Aerenchym oder den Gasblasen gemessenen beobachtet.

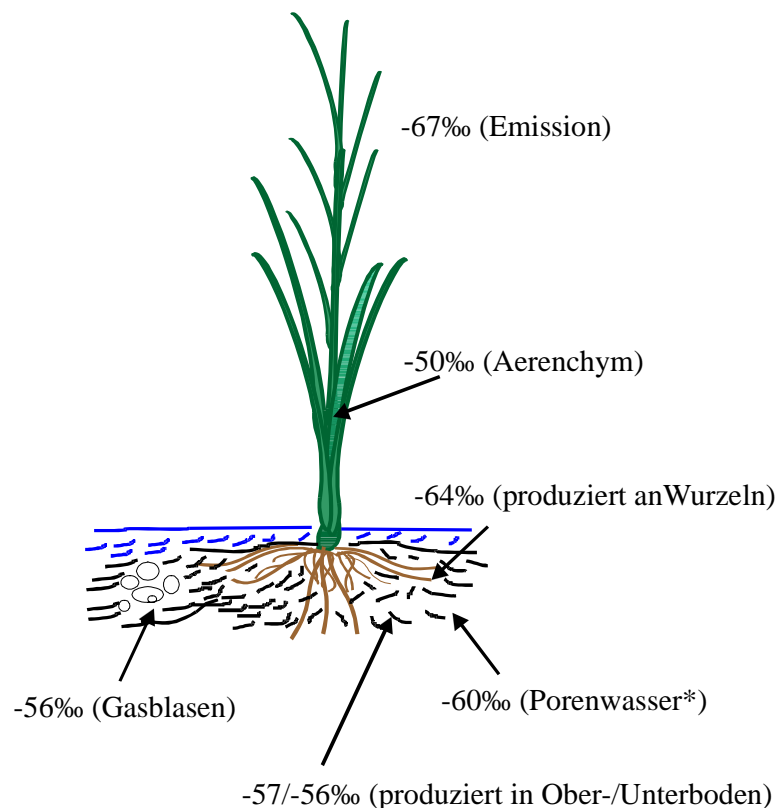


Abb. 5-2: Vergleich der Isotopensignaturen von CH_4 aus verschiedenen Umweltkompartimenten beprobt ca. 95 Tage nach dem Fluten (* 0-10 cm Tiefe)

4.7. Abschliessende Betrachtungen und Ausblick

4.7.1. Verknüpfung von Mikrobiologie und Biogeochemie

Das zentrale Thema dieser Arbeit war die ausführliche Untersuchung an der CH₄-Emission beteiligter Prozesse mit dem Ziel, die häufig beobachteten Variationen der Emissionsraten und Isotopensignaturen des emittierten CH₄ zwischen verschiedenen Jahren und Anbaugebieten verstehen zu können. Besonderes Interesse galt den mikrobiellen Prozessen im Reisfeldboden, sowohl dem Einfluss der CH₄-Oxidation als auch den jeweiligen Beiträgen der verschiedenen methanogenen Produktionswege. Eingesetzt wurden hierzu mikrobiologische Methoden wie Hemmstofftechniken, markierte Substrate und Aktivitätsbestimmungen für bestimmte Prozesse.

Gleichzeitig wurden die Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von CH₄ in den verschiedenen Kompartimenten des Reisfeldes, z.B. Aerenchym, Porenwasser, Gasblasen, emittiertes CH₄, etc., bestimmt. Diese $\delta^{13}\text{CH}_4$ -Werte sind ein wichtiger interner Marker bei der – biogeochemischen – Untersuchung der CH₄-Emission und wesentlicher beteiligter mikrobieller Prozesse wie CH₄-Oxidation und –Produktion (Kap. 5.1.2.1 & 5.2.2). Bei Verwendung geeigneter Ausgangswerte stellen derartige Berechnungen anhand von Isotopiewerten eine direkten Messungen durchaus vergleichbare Methode dar. Es zeigten sich hier aber auch deutlich die Grenzen der Benutzung von Isotopenmessungen zur Untersuchung von mikrobiellen Prozessen. In einem komplexen System wie dem Reisfeldboden sind Kombinationen verschiedener Prozesse und mikrobieller Populationen möglich, welche zudem oft saisonale Variationen zeigen. Auch hat die Wahl der Fraktionierungsfaktoren (α) für die jeweiligen Prozesse grossen Einfluss auf die Berechnungen, so dass verlässliche Aussagen und Schlussfolgerungen hierüber schwierig werden.

Der besondere Wert dieser Arbeit liegt so auch in der – einen direkten Vergleich ermöglichenden – Verbindung von mikrobiologischen und biogeochemischen Untersuchungen. Dies führte zu einer gegenseitigen Ergänzung und Bestätigung der verschiedenen Methoden und infolgedessen zu einer wesentlichen Verbesserung des Verständnisses der mikrobiellen Regulation der CH₄-Emission im Reisfeld. Andererseits ergaben sich aber auch neue, noch zu beantwortende Fragen, besonders hinsichtlich der tatsächlich – in-situ – ablaufenden Prozesse. Der nächste wichtige Schritt ist nun die Untersuchung der methanogenen Populationen in Bodenproben, um so die grossen Unterschiede in der CH₄-Produktion zwischen den beiden Feldkampagnen wie auch zwischen den Bodenkompartmenten der Mikrokosmen besser erklären zu können.

4.7.2. Möglichkeiten zur Reduzierung der CH₄-Emissionen aus Reisfeldern

Die in dieser Arbeit beobachtete starke Korrelation des Redoxpotentials, der Verfügbarkeit alternativer Elektronenakzeptoren (Fe³⁺ und SO₄²⁻) und der CH₄-Produktion und -Emission im Reisfeldboden zeigt, daß Änderungen des Bewässerungsablaufes eine gute Möglichkeit zur Reduktion der CH₄-Emissionen sein können. Schon in früheren Arbeiten wurde ein Rückgang der Emissionen nach kurzen Trockenlegungen der Versuchsfelder beschrieben (Mishra et al. 1997, Yagi et al. 1996, Sass et al. 1992 & 1990). Es wurde aber auch beobachtet, dass wiederholte Trockenlegungen negative Auswirkungen auf das Wachstum und den Ertrag der Reispflanzen haben können, da die Empfindlichkeit der Pflanzen gegenüber Wasserstress mit der Pflanzenentwicklung variiert. Eine andere Modifikation der Bewässerung wäre die um einige Wochen verzögerte Flutung der Felder, welche ebenfalls zu reduzierten CH₄-Emissionen führt (Conen et al. 2000).

Weitere wichtige Aspekte in diesem Zusammenhang sind die Freisetzung von im Boden enthaltenem CH₄ während des Trockenfallens (Denier van der Gon et al. 1996, Byrnes 1995) und eine möglicherweise erhöhte Emission von N₂O (Khalil et al. 1998a, Mosier et al. 1990), welche die positiven Effekte mindern könnten. Trotz dieser Unsicherheiten ist eine optimierte Bewässerung die zur Zeit vielversprechendste Methode zur Reduzierung von CH₄-Emissionen aus im Nassreisanbau bewirtschafteten Reisfeldern.

Eine Reduktion der CH₄-Emissionen könnte auch durch die Auswahl entsprechender Reissorten erreicht werden, da diese durchaus unterschiedliches Emissionsverhalten zeigen (Aulakh et al. 2000, Bilek et al. 1999, Ding et al. 1999, Khalil et al. 1998 a&b, Butterbach-Bahl et al. 2000 & 1997). Denier van der Gon und Neue (1996) schlugen z.B. die Entwicklung von Reissorten mit einem grösserem Aerenchym vor, was zu einem erhöhten Eintrag von Sauerstoff in die Rhizosphäre und infolgedessen zu einer Zunahme der CH₄-Oxidation führen könnte. Die in unserer Arbeit beobachtete N-Limitierung der methanotrophen Bakterien im Reisfeld relativiert allerdings diese Möglichkeit. Denkbar wäre hingegen, dass durch den vermehrten Eintrag von Sauerstoff die Reoxidation alternativer Elektronenakzeptoren gefördert würde. So könnte es über die Konkurrenz um Substrate wie Acetat oder H₂ zu einer Verminderung von CH₄-Produktion und -Emission kommen. Auf der anderen Seite hat ein grösseres Aerenchym aber auch eine höhere Transportkapazität für im Boden produziertes CH₄ und somit eventuell eher eine Erhöhung der CH₄-Emission zur Folge. Dies müsste durch entsprechende Experimente genauer untersucht werden.

Ein anderer Ansatzpunkt zur Verminderung von CH₄-Emissionen aus Reisfeldern ist die in dieser Arbeit beobachtete N-Limitierung der methanoxidierenden Bakterien. So könnte ein

diese berücksichtigender Düngezeitplan zu einer anhaltenden Stimulierung der CH_4 -Oxidation und demzufolge zu einer Reduktion der Emission führen und dies nicht nur in Reisfeldern, sondern auch bei anderen Quellen atmosphärischen CH_4 , z.B. Mülldeponien. Frühere Experimente zur Bestimmung des Einflusses anorganischer N-Dünger auf die CH_4 -Emission aus Reisfeldern zeigten unterschiedliche Ergebnisse (Cai et al. 2000 & 1997, Singh et al. 1999, Schütz et al. 1989b, Cicerone & Shetter 1981). Die Art, Dosis und auch der Zeitpunkt der Düngung scheinen sehr wichtig zu sein und bedürfen einer weitergehenden Untersuchung, besonders hinsichtlich der Verknüpfung von optimalem Ertrag, geringen Kosten und einer konstant hohen CH_4 -Oxidation.

Ein Nachteil könnte sein, dass die erhöhte – oder anders verteilte – Ausbringung von N-Düngern möglicherweise zu einer Zunahme der N_2O -Emissionen führen könnte, welches mit einem GWP von 150 (siehe Einleitung) ebenfalls ein hochaktives Treibhausgas ist (Khalil et al. 1998a, Cai et al. 1997, Yu et al. 1997, Mosier et al. 1990). Da aber im Bodenporenwasser gelöstes NH_4^+ nach der Düngung rasch durch Pflanzen oder Bakterien aufgenommen wird, könnten die N_2O -Emissionen möglicherweise effektiv über ein entsprechendes Dünge- und Bewässerungsschema kontrolliert werden.

Die durch die Ergebnisse dieser Arbeit empfohlenen, vielversprechenden Möglichkeiten zur Reduktion von CH_4 -Emissionen aus Reisfeldern erhalten eine noch grössere Bedeutung durch die Tatsache, dass der Nassreisbau in den nächsten drei Jahrzehnten um mindestens 60 % steigen wird, um den Bedarf der wachsenden Weltbevölkerung zu decken (Cassman et al. 1998). Da methanoxidierende Bakterien nur 10-30 % des produzierten CH_4 konsumieren, wie es in dieser Arbeit gezeigt worden ist, würde dies ohne die Entwicklung und konsequente Anwendung entsprechender Reduzierungsmassnahmen unausweichlich zu einer drastischen Zunahme der CH_4 -Emissionen führen. Das verbesserte Verständnis der die CH_4 -Emission regulierenden Prozesse sollte ebenfalls für die Entwicklung prozessorientierter Modelle der CH_4 -Emission aus Reisfeldern nützlich sein. Mithilfe solcher Modelle könnte der Einfluss der CH_4 -Emission auf die atmosphärische CH_4 -Konzentration und den Treibhauseffekt genauer untersucht werden.

6. Literaturverzeichnis

Achtnich C, Bak F, Conrad R (1995) Competition for electron donors among nitrate reducers, ferric iron reducers, sulfate reducers, and methanogens in anoxic paddy soil. *Biol. Fertil. Soils* **19** 65-72.

Allen LH (1997) Mechanisms and rates of O₂ transfer to and through submerged rhizomes and roots via aerenchyma. *Soil & Crop Science Society of Florida Proceedings* **56** 41-54.

Alperin MJ, Blair NE, Aibert DB, Hoehler TM, Martens CS (1992) Factors that control the stable carbon isotopic composition of methane produced in an anoxic marine sediment. *Global Biogeochem. Cycles* **6** 271-291

Armstrong W (1971) Radial oxygen losses from intact rice roots as affected by distance from the apex, respiration and waterlogging. *Physiol. Plant.* **25** 192-197.

Arth I, Frenzel P (2000) Nitrification and denitrification in the rhizosphere of rice: the detection of processes by a new multi-channel electrode. *Biol. Fertil. Soils* **31** 427-435

Aulakh MS, Wassmann R, Rennenberg H, Fink S (2000) Pattern and amount of aerenchyma relate to variable methane transport capacity of different rice cultivars. *Plant Biol* **2** 182-194.

Avery GB, Martens CS (1999) Controls on the stable carbon isotopic composition of biogenic methane produced in a tidal freshwater estuarine sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta* **63** 1075-1082.

Avery Jr. GB, Shannon RD, White JR, Martens CS, Alperin MJ (1999) Effect of seasonal changes in the pathways of methanogenesis on the ¹³C values of pore water methane in a Michigan peatland. *Global Biogeochem. Cycles* **13** 475-484.

Azcue JM, Rosa F, Lawson G (1996) An improved dialysis sampler for the in situ collection of larger volumes of sediment pore waters. *Environmental Technology* **17** 95-100

Bachelet D, Neue H-U (1993) Methane emissions from wetland rice areas of Asia. *Chemosphere* **26** 219-237.

Balch WE, Fox GE, Magrum LJ, Woese CR, Wolfe RS (1979) Methanogens: Reevaluation of a unique biological group. *Microbiol. Rev.* **43** 260-296

Begg CBM, Kirk GJD, Mackenzie AF, Neue HU (1994) Root-induced iron oxidation and pH changes in the lowland rice rhizosphere. *New Phytologist* **128** 469-477.

Bergamaschi P (1997) Seasonal variations of stable hydrogen and carbon isotope ratios in methane from a Chinese rice paddy. *Journal Geophysical Research* **102** 25383-25393

Bilek RS, Tyler SC, Sass RL, Fisher FM (1999) Differences in CH₄ oxidation and pathways of production between rice cultivars deduced from measurements of CH₄ flux and delta c-13 of CH₄ and CO₂. *Global Biogeochemical Cycles.* **13** 1029-1044.

Bodegom van PM, Stams AJM (1999) Effects of alternative electron acceptors and temperature on methanogenesis in rice paddy soil. *Chemosphere* **39** 167-182.

Bodelier PLE, Roslev P, Henckel T, Frenzel P (2000a) Stimulation by ammonium-based fertilizers of methane oxidation in soil around rice roots. *Nature* **403** 421-424.

Bodelier PLE, Hahn AP, Arth I, Frenzel P (2000b) Effects of ammonium-based fertilisation on microbial processes involved in methane emission from soils planted with rice. *Biogeochemistry* in press.

Bouwman AF (1991) Agronomic Aspects of Wetland Rice Cultivation and Associated Methane Emissions. *Biogeochemistry* **15** 65-88.

Brand WA (1996) High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry. *Journal Mass Spectroscopy* **31** 225-235

Brandl H (1987) Mikrobielle Prozesse unter Oxidationsmittel-limitierten Bedingungen an der Sediment-Wasser-Übergangszone in Seen. In : (Ed) (pp 1-201). Inaugural-Dissertation Universität Zürich

Butterbach-Bahl K, Papen H, Rennenberg H (2000) Scanning electron microscopy analysis of the aerenchyma in two rice cultivars. *Phyton-Ann. REI Bot* **40** 43-55.

Butterbach-Bahl K, Papen H, Rennenberg H (1997) Impact of gas transport through rice cultivars on methane emission from rice paddy fields. *Plant, Cell and Environment* **20** 1175-1183.

Byrd GT, Fisher FM, Sass RL (2000) Relationships between methane production and emission to lacunal methane concentrations in rice. *Glob. Biogeochem. Cycle* **14** 73-83.

Byrnes BH, Austin ER, Tays BK (1995) Methane emissions from flooded rice soils and plants under controlled conditions. *Soil Biology & Biochemistry* **27** 331-339.

Cai ZC, Xing GX, Yan XY, Xu H, Tsuruta H, Yagi K, Minami K (1997) Methane and nitrous oxide emissions from rice paddy fields as affected by nitrogen fertilisers and water management. *Plant Soil* **196** 7-14.

Cai ZC, Tsuruta H, Minami K (2000) Methane emission from rice fields in China: Measurements and influencing factors. *J. Geophys. Res.-Atmos* **105** 17231-17242.

Cai ZC, Mosier AR (2000) Effect of NH₄Cl addition on methane oxidation by paddy soils. *Soil Biology & Biochem.* **32** 1537-1545

Cassman KG, Peng S, Olk DC, Ladha JK, Reichardt W, Doberman A, Singh U (1998) Opportunities for increased nitrogen-use efficiency from improved resource management in irrigated rice systems. *Field Crops Res.* **56** 7-39.

Chanton JP, Whiting GJ, Blair NE, Lindau CW, Bollich PK (1997) Methane emission from rice - stable isotopes, diurnal variations, and CO₂ exchange. *Global Biogeochem. Cyc.* **11** 15-27.

Chidthaisong A, Conrad R (2000) Turnover of glucose and acetate coupled to reduction of nitrate, ferric iron and sulfate and to methanogenesis in anoxic rice field soil. *FEMS Microbiol. Ecol* **31** 73-86.

Cicerone RJ, Oremland RS (1988) Biogeochemical aspects of atmospheric methane. *Global Biogeochem. Cycles* **2** 299-327.

- Cicerone RJ, Shetter JD (1981) Sources of atmospheric methane: Measurements in rice paddies and a discussion. *J. Geophys. Research* **86** 7203-7209
- Coleman DD, Risatti JB, Schoell M (1981) Fractionation of carbon and hydrogen isotopes by methane-oxidizing bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta* **45** 1033-1037.
- Conen F, Russo S, Smith KA (2000) Variations in flux and pathways of CH₄ from Italian rice paddies. *Global Change Biol.* submitted
- Conrad R. (1989) Control of methane production in terrestrial ecosystems.. In: *Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere* (eds Andreae M.O. Schimel DS), pp. 39-58. John Wiley and sons Ltd, Dahlem .
- Conrad R (1996) Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H₂, CO, CH₄, OCS, N₂O, and NO). *Microbiol. Rev.* **60** 609-640.
- Conrad R (1997) Production and consumption of methane in the terrestrial biosphere. In: *Biogenic volatile organic carbon compounds in the atmosphere* (eds Helas G, Slanina J, Steinbrecher R), pp. 27-44. SBP Academic Publ., Amsterdam.
- Conrad R (1999) Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments [review]. *FEMS Microbiol. Ecol.* **28** 193-202.
- Conrad R, Mayer HP, Wüst M (1989) Temporal changes of gas metabolism by hydrogen-syntrophic methanogenic bacterial associations in anoxic paddy soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* **62** 265-273.
- Conrad R, Rothfuss F (1991) Methane oxidation in the soil surface layer of a flooded rice field and the effect of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* **12** 28-32.
- Conrad R, Klose M (1999a) How specific is the inhibition by methyl fluoride of acetoclastic methanogenesis in anoxic rice field soil?. *FEMS Microbiol. Ecol.* **30** 47-56.
- Conrad R, Klose M (1999b) Anaerobic conversion of carbon dioxide to methane, acetate and propionate on washed rice roots. *FEMS Microbiol. Ecol.* **30** 147-155.

Conrad R, Klose M, Claus P (2000) Phosphate inhibits acetotrophic methanogenesis on rice roots. *Appl. Environ. Microbiol* **66** 828-831.

Crutzen P.J. (1991) Methane's sinks and sources.. *Nature* **350** 380-381.

Crutzen, PJ (1994) Global budget for non-CO₂ greenhouse gases. *Environmental Monitoring & Assessment* **31** 1-15

Dannenberg S, Conrad R (1999) Effect of rice plants on methane production and rhizospheric metabolism in paddy soil. *Biogeochemistry* **45** 53-71.

Denier van der Gon HAC, van Breemen N, Neue HU, Lantin RS, Aduna JB, Alberto MCR, Wassmann R (1996) Release of entrapped methane from wetland rice fields upon soil drying. *Global Biogeochemical Cycles* **10** 1-7.

Denier van der Gon H.A.C. Neue H-U (1996) Oxidation of methane in the rhizosphere of rice plants.. *Biol. Fertil. Soils* **22** 359-366.

Ding A, Willis CR, Sass RL, Fisher FM (1999) Methane emissions from rice fields: effect of plant height among several rice cultivars. *Global Biogeochemical Cycles*. **13** 1045-1052.

Dobermann A, Gaunt JL, Neue H-U, Grant IF, Adviento MA, Pampolino MF (1994) Spatial and temporal variability of ammonium in flooded rice fields. *Soil Science Society America Journal* **58** 1708-1717

Dlugokencky EJ, Masarie KA, Lang PM, Tans PP (1998) Continuing decline in the growth rate of the atmospheric methane burden. *Nature* **393** 447-450.

Enquete Kommission „Vorsorge zum Schutz der Erdatmosphäre“ des deutschen Bundestages (Hrsg.) (1990): *Schutz der Erdatmosphäre*. 3. Bericht, Economica-Verlag, Karlsruhe

Frenzel P, Thebrath B, Conrad R (1990) Oxidation of methane in the oxic surface layer of a deep lake sediment (Lake Constance). *FEMS Microbiol. Ecol.* **73** 149-158.

Frenzel P, Rothfuss F, Conrad R (1992) Oxygen profiles and methane turnover in a flooded rice microcosm.. *Biol. Fertil. Soils* **14** 84-89.

Frenzel P, Bosse U (1996) Methyl fluoride, an inhibitor of methane oxidation and methane production.. *FEMS Microbiol. Ecol.* **21** 25-36.

Frenzel P, Bosse U, Janssen PH (1999) Rice roots and methanogenesis in a paddy soil: ferric iron as an alternative electron acceptor in the rooted soil. *Soil Biol. Biochem.* **31** 421-430.

Garcia JL (1990) Taxonomy and ecology of methanogens. *FEMS Microbiol. Reviews* **87** 297-308

Gaunt J.L. Neue HU, Bragais J, Grant IF, Giller KE (1997) Soil characteristics that regulate soil reduction and methane production in wetland rice soils.. *Soil Sc. Soc. Am. J.* **61** 1526-1531.

Gelwicks JT, Risatti JB, Hayes JM (1989) Carbon isotope effects associated with autotrophic acetogenesis. *Org. Geochem.* **14** 441-446

Gelwicks JT, Risatti JB, Hayes JM (1994) Carbon isotope effects associated with acetoclastic methanogenesis. *Applied and Environmental Microbiology* **60** 467-472.

Gilbert B, Frenzel P (1995) Methanotrophic bacteria in the rhizosphere of rice microcosms and their effect on porewater methane concentration and methane emission. *Biol. Fertil. Soils* **20** 93-100.

Gilbert B, Frenzel P (1998) Rice roots and CH₄ oxidation: the activity of bacteria, their distribution and the microenvironment. *Soil Biol. Biochem.* **30** 1903-1916.

- de Graaf W, Cappenberg TE (1996) Evidence for isotopic exchange during metabolism of stable-isotope-labeled formate in a methanogenic sediment. *Appl. & Environ. Microbiol.* **62** 3535-3537
- de Graaf W, Wellsbury P, Parkes RJ, Cappenberg TE (1996) Comparison of acetate turnover in methanogenic and sulfate-reducing sediments by radiolabeling and stable isotope labeling and by use of specific inhibitors: evidence for isotopic exchange. *Appl. & Environ. Microbiol.* **62** 772-777
- Großkopf R, Stubner S, Liesack W (1998a) Novel euryarchaeotal lineages detected on rice roots and in the anoxic bulk soil of flooded rice microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* **64** 4983-4989.
- Grosskopf R, Janssen PH, Liesack W (1998b) Diversity and structure of the methanogenic community in anoxic rice paddy soil microcosms as examined by cultivation and direct 16s rRNA gene sequence retrieval. *Appl. Environ. Microbiol.* **64** 960-969.
- Gulledge J, Doyle AP, Schimel JP (1997) Different NH_4^+ -inhibition patterns of soil CH_4 consumption - a result of distinct CH_4 -oxidizer populations across sites. *Soil Biology & Biochemistry* **29** 13-21.
- Hanson RS, Hanson TE (1996) Methanotrophic bacteria. *Microbiol. Rev.* **60** 439-471.
- Hesslein RH (1976) An *in situ* sampler for close porewater studies. *Limnol. Oceanogr.* **21** 912-914
- Holmer M, Kristensen E (1994) Coexistence of sulfate reduction and methane production in an organic-rich sediment. *Marine Ecology - Progress Series* **107** 177-184.
- Holzappel-Pschorn A, Seiler W (1986) Methane emission during a cultivation period from an Italian rice paddy. *J. Geophys. Res.* **91D** 11803-11814.
- Holzappel-Pschorn A, Conrad R, Seiler W (1986) Effects of vegetation on the emission of methane from submerged paddy soil. *Plant Soil* **92** 223-233.
- Huang Y, Sass RL, Fisher FM (1997) Methane emission from Texas rice paddy soils - 2 - seasonal contribution of rice biomass production to CH_4 emission. *Global Change Biol.* **3** 491-500.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) Climate Change 1994, *Radiative forcing of climate change and evaluation of the IPCC IS92 emission scenarios*, Cambridge University Press, New York

IRRI (1991): World rice statistics 1990. International Rice Research Institute, Phillippinen

Jäckel U, Schnell S (2000) The role of microbial iron reduction in anaerobic degradation of organic matter in rice soil. In: VanHam J, Baede APM, Meyer LA, Ybema R (Eds), *Non-CO₂ Greenhouse Gases: Scientific Understanding, Control and Implementation*, pp. 143-144. Kluwer, Dordrecht (NL).

Janssen PH, Frenzel P (1997) Inhibition of methanogenesis by methyl fluoride: studies on pure and defined mixed cultures of anaerobic bacteria and archaea. *Appl. Environ. Microbiol.* **63** 4552-4557.

Jetten MSM, Stams AJM, Zehnder AJB (1990) Acetate threshold values and acetate activating enzymes in methanogenic bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* **73** 339-344.

Jones W.J, Nagle DP, Whitman WB (1987) Methanogens and the diversity of Archaeobacteria.. *Microbiol. Rev.* **51** 135-177.

Joulian C, Ollivier B, Neue HU, Roger PA (1996) Microbiological aspects of methane emission by a ricefield soil from the Camargue (France): 1. Methanogenesis and related microflora. *Eur. J. Soil Biol.* **32** 61-70.

Joulian C, Ollivier B, Patel BKC, Roger PA (1998) Phenotypic and phylogenetic characterization of dominant culturable methanogens isolated from ricefield soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* **25** 135-145.

Khalil MAK, Rasmussen RA, Shearer MJ, Chen ZL, Yao H, Yang J (1998a) Emissions of methane, nitrous oxide, and other trace gases from rice fields in china. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* **103** 25241-25250.

- Khalil MAK, Rasmussen RA, Shearer MJ, Dalluge RW, Ren LX, Duan CL (1998b) Measurements of methane emissions from rice fields in china. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* **103** 25181-25210.
- Kimura M (1997) Sources of methane emitted from paddy fields. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **49** 153-161.
- King GM (1992) Ecological aspects of methane oxidation, a key determinant of global methane dynamics. In: *Advances in microbial ecology* (eds Marshall KC), pp. 431-468. Plenum Press, New York.
- King GM, Schnell S (1994) Ammonium and nitrite inhibition of methane oxidation by *Methylobacter albus* BG8 and *Methylosinus trichosporium* OB3b at low methane concentrations. *App. Environ. Microbiol.* **60** 3508-3513.
- King GM (1984) Utilization of hydrogen, acetate, and "noncompetitive" substrates by methanogenic bacteria in marine sediments. *Geomicrobiol. J.* **4** 275-306.
- Klüber HD, Conrad R (1998) Effects of nitrate, nitrite, no and n₂o on methanogenesis and other redox processes in anoxic rice field soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* **25** 301-318.
- Kludze HK, DeLaune RD, Patrick WH (1993) Aerenchyma formation and methane and oxygen exchange in rice. *Soil. Sci. Soc. Amer. J.* **57** 386-391.
- Krzycki JA, Kenealky WR, Deniro MJ, Zeikus JG (1987) Stable carbon isotope fractionation by *Methanosarcina barkeri* during methanogenesis from acetate, methanol and carbon dioxide-hydrogen. *Appl. Environ. Microbiol.* **53** 2597-2599.
- Law KS, Nisbet EG (1996) Sensitivity of the CH₄ growth rate to changes in CH₄ missions from natural gas and coal. *J. Geophys. Res. - Atmospheres* **101** 14387-14397.
- Lehmann-Richter S, Großkopf R, Liesack W, Frenzel P, Conrad R (1999) Methanogenic archaea and CO₂-dependent methanogenesis on washed rice roots. *Environ. Microbiol.* **1** 159-166.
- Lovley DR (1991) Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Microbiol. Rev.* **55** 259-287.

- Lueders T, Friedrich M (2000) Archaeal population dynamics during sequential reduction processes in rice field soil. *Appl. Environ. Microbiol* **66** 2732-2742.
- Magnusson T (1989) A method for equilibration chamber sampling and gas chromatographic analysis of the soil atmosphere. *Plant & Soil* **120** 39-48
- Manning MRDC., Lowe R, Melhuish R, Spaarks G, Wallace CAM., Brenninkmeijer, McGill, RC (1990) The use of radiocarbon measurements in atmospheric studies. *Radiocarbons* **32** 37-58
- Marik T, Bergamaschi P, Fischer H (2000) Seasonal variations in the stable isotopic composition of methane emitted from rice fields. In preparation
- Matheson L.J. Jahnke LL, Oremland RS (1997) Inhibition of methane oxidation by *Methylococcus capsulatus* with hydrofluorocarbons and fluorinated methanes.. *Appl- Environ. Microbiol.* **63** 2952-2956.
- Milich L (1999) The role of methane in global warming: where might mitigation strategies be focused?. *Global Environmental Change - Human & Policy Dimensions* **9** 179-201.
- Miller LG, Sasson C, Oremland RS (1998) Difluoromethane, a new and improved inhibitor of methanotrophy . *Appl. Environ. Microbiol.* **64** 4357-4362.
- Minami K. Neue H-U (1994) Rice paddies as a methane source.. *Climatic Change* **27** 13-26.
- Minoda T, Kimura M (1994) Contribution of photosynthesized carbon to the methane emitted from paddy fields. *Geophys. Res. Lett.* **21** 2007-2010.
- Minoda T, Kimura M, Wada E (1996) Photosynthates as dominant source of CH₄ and CO₂ in soil water and ch₄ emitted to the atmosphere from paddy fields. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* **101** 21091-21097.
- Mishra S, Rath AK, Adhya TK, Rao VR, Sethunathan N (1997) Effect of continuous and alternate water regimes on methane efflux from rice under greenhouse conditions. *Biol. Fertil. Soils* **24** 399-405.

- Mosier AR (1998) Soil processes and global change. *Biol. Fertil. Soils* **27** 221-229.
- Mosier AR, Mohanty SK, Bhadrachalam A, Chakravorti SP (1990) Evolution of dinitrogen and nitrous oxide from the soil to the atmosphere through rice plants. *Biol. Fertil. Soils* **9** 61-67.
- Naguib M (1988) Kinetics of acetate and methanol conversion into methane in eutrophic sediments and its application in anaerobic systems. *Wat. Sci. Technol.* **20** 61-67
- Nouchi I, Hosono T, Aoki K, Minami K (1994) Seasonal variation in methane flux from rice paddies associated with methane concentration in soil water, rice biomass and temperature, and its modelling. *Plant Soil* **161** 195-208.
- Oremland RS, Culbertson CW (1992) Evaluation of methyl fluoride and dimethyl ether as inhibitors for aerobic methane oxidation. *Appl. Environ. Microbiol.* **58** 2983-2992.
- Patrick WH, Delaune RD (1977) Chemical and biological redox systems affecting nutrient availability in the coastal wetlands. *Geosci. Man.* **18** 131-137
- Peters V, Conrad R (1996) Sequential reduction processes and initiation of methane production upon flooding of oxic upland soils.. *Soil Biol. Biochem.* **28** 371-382.
- Ponnamperuma FN (1972) The chemistry of submerged soils. *Adv. Agronomy* **24** 29-96.
- Ratering S, Conrad R (1998) Effects of short-term drainage and aeration on the production of methane in submerged rice soil. *Global Change Biol.* **4** 397-407.
- Ratering S, Schnell S (2000) Localization of iron-reducing activity in paddy soil by profile studies. *Biogeochemistry* **48** 341-365.
- Reddy KR, Patrick WH, Lindau CW (1989) Nitrification-denitrification at the plant root-sediment interface in wetlands. *Limnol. Oceanogr.* **34** 1004-1013.

Rosencrantz D, Rainey FA, Janssen PH (1999) Culturable populations of *Sporomusa* spp. and *Desulfovibrio* spp. in the anoxic bulk soil of flooded rice microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* **65** 3526-3533.

Roslev P, King GM (1994) Survival and recovery of methanotrophic bacteria starved under oxic and anoxic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* **60** 2602-2608.

Roslev P, King GM (1995) Aerobic and anaerobic starvation metabolism in methanotrophic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **61** 1563-1570.

Rothfuss F, Conrad R (1993) Vertical profiles of CH₄ concentrations, dissolved substrates and processes involved in CH₄ production in a flooded Italian rice field. *Biogeochemistry* **18** 137-152.

Roy R, Klüber HD, Conrad R (1997) Early initiation of methane production in anoxic rice soil despite the presence of oxidants. *FEMS Microbiol. Ecol.* **24** 311-320.

Sass R, L. Fisher FM, Turner FT, Jund MF (1991) Methane emission from rice fields as influenced by solar radiation, temperature, and straw incorporation. *Global Biogeochemical Cycles* **5** 335-350.

Sass RL, Fisher FM, Wang YB, Turner FT, Jund MF (1992a) Methane emission from rice fields: the effect of floodwater management. *Global Biogeochem. Cycles* **6** 249-262.

Sass R, Conrad R, Minami K, Neue HU, Rennenberg H, et al (1992b) Exchange of methane and other trace gases in rice cultivation. *Ecological Bulletins* **42** 199-206.

Sass R, S. Fisher FM, Lewis ST, Jund MF, Turner FT (1994) Methane emission from rice fields: effect of soil properties. *Global Biogeochemical Cycles* **8** 135-140.

Schnell S, Ratering S, Janssen KH (1998) Simultaneous determination of iron(III), iron(II), and manganese(II) in environmental samples by ion chromatography. *Environmental Science & Technology* **32** 1530-1537

- Schulz S, Conrad R (1996) Influence of temperature on pathways to methane production in the permanently cold profundal sediment of Lake Constance. *FEMS Microbiology Ecology* **20** 1-14
- Schütz H, Holzapfel-Pschorn A, Conrad R, Rennenberg H, Seiler W (1989a) A 3-years continuous record on the influence of daytime, season, and fertiliser treatment on methane emission rates from an Italian rice paddy. *J. Geophys. Res.* **94** 16405-16416.
- Schütz H, Seiler W, Conrad R (1989b) Processes involved in formation and emission of methane in rice paddies. *Biogeochemistry* **7** 33-53.
- Schütz H, Seiler W, Conrad R (1990a) Influence of soil temperature on methane emission from rice paddy fields. *Biogeochemistry* **11** 77-95.
- Schütz H, Seiler W, Rennenberg H. (1990b) Soil and land use related sources and sinks of methane (CH₄) in the context of the global methane budget. p. 269-285. In Bouwman, A. F. (ed.) *Soils and the greenhouse effect*. John Wiley and Sons, Chichester
- Sigren LK, Byrd GT, Fisher FM, Sass RL (1997a) Comparison of soil acetate concentrations and methane production, transport, and emission in two rice cultivars. *Global Biogeochem. Cyc.* **11** 1-14.
- Sigren LK, Lewis ST, Fisher FM, Sass RL (1997b) Effects of field drainage on soil parameters related to methane production and emission from rice paddies. *Global Biogeochem. Cycles* **11** 151-162.
- Singh S, Singh JS, Kashyap AK (1999) Methane flux from irrigated rice fields in relation to crop growth and N-fertilization. *Soil Biol. Biochem* **31** 1219-1228.
- Steele LP, Dlugokencky EJ, Lang PM, Tans PP, Martin RC, Masarie KA (1992) Slowing down of the global accumulation of atmospheric methane during the 1980s. *Nature* **358** 313-316.
- Stuedler PA, Bowden RD, Melillo JM, Aber JD (1989) Influence of nitrogen fertilization on methane uptake in temperate forest soils. *Nature* **341** 314-316.

- Stevens CM, Engelkemeir A (1988) Stable carbon isotopic composition of methane from some natural and anthropogenic sources. *J. Geophys. Res.* **93** 725-733.
- Sugimoto A, Hong X, Wada E (1991) Rapid and simple measurement of carbon isotope ratio of bubble methane using GC/C/IRMS. *Mass Spectroscopy* **39** 261-266
- Sugimoto A, Wada E (1993) Carbon isotopic composition of bacterial methane in a soil incubation experiment: contributions of acetate and CO₂/H₂. *Geochim. Cosmochim. Acta* **57** 4015-4027.
- Sugimoto A, Wada E (1995) Hydrogen isotopic composition of bacterial methane - co₂/h-2 reduction and acetate fermentation. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **59** 1329-1337.
- Summons RE, Franzmann PD, Nichols PD (1998) Carbon isotopic fractionation associated with methylotrophic methanogenesis. *Organic Geochem.* **28** 465-475
- Thebrath B, Mayer H-P, Conrad R (1992) Bicarbonate-dependent production and methanogenic consumption of acetate in anoxic paddy soil. *FEMS Microb. Ecol.* **86** 295-302.
- Tyler SC, Bilek RS, Sass RL, Fisher FM (1997) Methane oxidation and pathways of production in a Texas paddy field deduced from measurements of flux, delta C-13, and delta D of CH₄. *Global Biogeochem. Cycles* **11** 323-348.
- Tyler SC, Brailsford GW, Yagi K, Minami K, Cicerone RJ (1994) Seasonal variations in methane flux and d¹³CH₄ values for rice paddies in Japan and their implications. *Global Biogeochem. Cycles* **8** 1-12
- van der Nat FJWA, de Brouwer JFC, Middelburg JJ, Laanbroek HJ (1997) Spatial distribution and inhibition by ammonium of methane oxidation in intertidal freshwater marshes. *Appl. Environ. Microbiol.* **63** 4734-4740.

Wachinger G, Fiedler S, Zepp K, Gattinger A, Sommer M, Roth K (2000) Variability of soil methane production on the micro-scale: spatial association with hot spots of organic material and archeal populations. *Soil Biology & Biochem.* **32** 1121-1130

Wahlen M, Tanaka N, Henry R, Deck B, Zeglen J, Vogel JS, Southon J, Shemesh A, Fairbanks R, Broeker W (1989) Carbon-14 in methane sources and in atmospheric methane: the contribution from fossile carbon. *Science* **245** 286-290.

Waldron S, Fallick A, Hall A (1998) Comment on spatial distribution of microbial methane production pathways in temperate zone wetland soils - stable carbon and hydrogen evidence. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **62** 369-372.

Wang B, Xu Y, Wang Z, Li Z, Guo Y, Shao K, Chen Z (2000) Methane emissions from ricefields as affected by organic amendment, water regime, crop establishment, and rice cultivar. (vol 57, pg 213, 1999). *Environ. Monit. Assess* **61** 315.

Wang B, Neue HU, Samonte HP (1997) Role of rice in mediating methane emission.. *Plant and Soil* **189** 107-115.

Wassmann R, Aulakh MS (2000) The role of rice plants in regulating mechanisms of methane emissions [Review]. *Biol. Fertil. Soils* **31** 20-29.

Watanabe A, Takeda T, Kimura M (1999) Evaluation of origins of CH₄ carbon emitted from rice paddies. *J. Geophys. Res.* **104** 23623-23629.

Whiticar MJ (1999) Carbon and hydrogen isotope systematics of bacterial formation and oxidation of methane. *Chem. Geol.* **161** 291-314.

Whiticar MJ, Faber E, Schoell M (1986) Biogenic methane formation in marine and freshwater environments: CO₂ reduction vs. acetate fermentation - isotopic evidence. *Geochim. Cosmochim. Acta* **50** 693-709.

Whittenbury R, Davies SL, Davey JF (1970) Exospores and cysts formed by methane-utilizing bacteria. *J. Gen. Microbiol.* **61** 219-226.

Wind T, Conrad R (1997) Localization of sulfate reduction in planted and unplanted rice field soil. *Biogeochemistry* **37** 253-278.

Winfrey MR, Ward DM (1983) Substrates for sulfate reduction and methane production in intertidal sediments. *Appl. Env. Microbiol.* **45** 193-199.

Yagi K, Tsuruta H, Kanda K, Minami K (1996) Effect of water management on methane emission from a Japanese rice paddy field: automated methane monitoring. *Global Biogeochem. Cycles* **10** 255-267.

Yao H, Conrad R, Wassmann R, Neue HU (1999) Effect of soil characteristics on sequential reduction and methane production in sixteen rice paddy soils from China, the Philippines, and Italy. *Biogeochemistry* **47** 269-295.

Yao H, Yagi K, Nouchi I (2000) Importance of physical plant properties on methane transport through several rice cultivars. *Plant Soil* **222** 83-93.

Yu KW, Wang ZP, Chen GX (1997) Nitrous oxide and methane transport through rice plants. *Biol. Fert. Soils* **24** 341-343.

Effect of a late season urea fertilization on methane emission from a rice field in Italy

Jianguo Dan, Martin Krüger, Peter Frenzel, Ralf Conrad¹

Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie, Karl-von-Frisch-Str., 35043 Marburg, Germany

Agriculture, Ecosystem & Environment, in press

Abstract

The application of NH_4^+ -based fertilizers is a common practice in rice production. We investigated the immediate effect of a late season urea application on the processes involved in CH_4 emission from a rice field on sandy loam located in the valley of River Po at Vercelli, northern Italy, and planted with rice (*Oryza sativa*, type japonica, variety Koral). Urea, applied at a rate of 50 kg N ha^{-1} on the 75th day after flooding, significantly stimulated both CH_4 production and CH_4 oxidation. During the following 9 days, the rates of CH_4 production and CH_4 oxidation in the 0-3 cm soil layer increased by 24-52% and 18-41%, respectively, of the fertilized plot compared to the unfertilized control plot. CH_4 oxidation on roots was also stimulated by urea, indicated by shorter lag times. Porewater concentrations of CH_4 in the 0-6 cm soil layer increased with time and soil depth, but were not affected by fertilization with urea. Urea application also exhibited little impact on CH_4 emission. During the 7 days following fertilization, urea only slightly reduced the CH_4 flux. Ammonium originating from urea hydrolysis was completely depleted from the porewater within 3 days, mainly due to plant uptake. Fertilizer application did also not affect the contribution of CH_4 oxidation to the net flux of CH_4 , determined by measuring $\delta^{13}\text{CH}_4$ and by inhibition of CH_4 oxidation. The absence of any effect of urea on net CH_4 emission in this study was presumably caused by the rapid depletion of urea, the counterbalance between the increase of CH_4 production and the increase of CH_4 oxidation after fertilization, and methanogenesis in deeper soil layers.

Key words: CH_4 production; CH_4 oxidation; Paddy field; Ammonium; Methane; Rice; Northern Italy

1. Introduction

Flooded rice fields are one of the major sources of CH_4 to the atmosphere (Conrad, 1997; Minami and Neue, 1994; Neue, 1997; Wassmann et al., 1993). Application of nitrogen fertilizers, among which NH_4^+ -based fertilizers are most common, is necessary for rice production. Consequently, effects of NH_4^+ -based fertilizers on CH_4 emission greatly attract the attention of scientists. However, the results from numerous studies have so far been inconsistent, ranging from stimulation (Banic et al., 1996; Cicerone and Shetter, 1981; Lindau, 1994; Lindau and Bollich, 1993; Lindau et al., 1991; Singh et al., 1999) to inhibition (Bronson et al., 1997; Bodelier et al., 2000a, b; Schütz et al., 1989). The effects of NH_4^+ -based fertilizers depend on type and amount of the fertilizer, as well as on mode and time of application (Cai et al., 1995; Neue and Sass, 1994; Schütz et al., 1989). These studies have also suggested that the effects of NH_4^+ fertilizers on CH_4 emission can largely be attributed to effects on CH_4 production and CH_4 oxidation. Whereas urea at normal application rates had little direct influence on CH_4 production (Yang and Chang, 1998), CH_4 production may indirectly be increased through improving the growth of rice plants, since CH_4 produced during the late stage of rice mainly came from root exudates and root slay (Watanabe et al., 1999; Dannenberg and Conrad, 1999; Schütz et al., 1989). Indeed, a higher CH_4 production potential was shown in rooted than in bulk soil (Bodelier et al., 2000b).

Besides CH_4 production nitrogen fertilization may also affect CH_4 oxidation. CH_4 oxidation requires O_2 and therefore occurs only in the oxic surface layer of the submerged rice soil (Conrad and Rothfuss 1991) and in the vicinity of the rice roots which leak O_2 into the surrounding soil (Frenzel et al. 1992; Gilbert and Frenzel 1998). The effects of NH_4^+ on CH_4 oxidation are variable, from negative to positive. Generally, NH_4^+ has been reported as an inhibitor of CH_4 oxidation (Conrad and Rothfuss, 1991; Dunfield and Knowles, 1995; van der Nat et al., 1997), due to two major mechanisms, i.e. competitive inhibition and noncompetitive inhibition (Bedard and Knowles, 1989; Gullledge and Schimel, 1998; King and Schnell, 1994; Kravchenko, 1999; Schnell and King, 1994). In some cases,

NH_4^+ reportedly acted as a stimulator of CH_4 oxidation in rice soil (Bender and Conrad, 1995; Bodelier et al., 2000a, b), as well in upland soils (Kruse and Iverson, 1995; Goldman et al., 1995; Prieme et al., 1997). When soil suffered from N limitation, addition of NH_4^+ stimulated the activities of CH_4 -oxidizing bacteria (Bodelier et al., 2000a).

Urea, a widely-used NH_4^+ -based fertilizer, suppressed CH_4 emission over the rice growing season when it was deep-applied (Schütz et al., 1989), while it increased the CH_4 emission when it was broadcasted (Lindau et al., 1993; Schütz et al., 1989). Recently however, an interesting phenomenon was observed: if planted pots were fertilized with urea, CH_4 emission decreased immediately due to a stimulation of CH_4 oxidation, and this effect was maintained for one week (Krüger and Frenzel, unpublished). The present study aimed to confirm, whether application of urea in the field had a similar effect on CH_4 emission. In particular, we were interested to see whether or not the fertilizer stimulated the CH_4 oxidation process in the rice rhizosphere. Therefore, we investigated the effect of fertilization during the late season when rice plants were fully grown.

2. Materials and methods

4.8. 2.1. Field site

The studies were conducted in 1999 in a rice paddy of the Italian Rice Research Institute in Vercelli, located in the valley of River Po (45°20'N; 8°25'W). Methane emission from these fields has been studied since 1983 (Holzapfel-Pschorn and Seiler, 1986). The soil of the paddy fields is a fluvisol consisting of a sandy loam with 60% sand, 25% silt, 12% clay, 2.5% organic matter, 0.15% total N with a pH around 6. The field was dry fallow during the winter, ploughed on the 18th April, flooded on the 12th May, seeded on the 14th May (variety Koral, type japonica), and drained for application of herbicide from the 9th to 16th June. The field was divided into two parts: control plot (6×10 m) and fertilization plot (6×25 m). The two plots were separated with polyester frames pushed approximately 30 cm deep into the soil. Before flooding, the field was fertilized per hectare with 100 kg N as urea, 80 kg P_2O_5 as Thomasphosphate and 150 kg K_2O as KCl. On the 26th July, urea was broadcasted by hand in the fertilization plot at a rate of 50 kg N ha⁻¹. The field was drained on the 7th and harvested on the 30th September. The grain yield was with 9.56 t ha⁻¹ for the fertilized plots slightly higher than for the control plots with 9.19 t (S. Russo, pers. Comm.). The weather and climate conditions during 1999 were not significantly different from the previous years.

4.9. 2.2. CH_4 flux and N_2O flux measurements

The flux chambers were made of 3 mm-thick Plexiglas. The chambers covered a surface area of 0.25 m² (0.5 m×0.5 m) and were 0.75-1.00 m high, depending on the height of the rice plants. A built-in fan (85 mm diameter) ensured homogeneous mixing of the atmosphere inside the chambers. Two chambers were set up in each plot, chamber #1 and #2 in the control plot, and chamber #3 and #4 in the fertilization plot. Chamber #2 and #4 were at fixed sites during the experiments, while the sites of the chamber #1 and #3 were changed every day. The fixed chambers were used for methane flux measurements, while the movable ones were used to determine methane oxidation. Fluxes of CH_4 and N_2O were measured by closing the chambers and following the temporal increase of the CH_4 and N_2O mixing ratios inside the chambers by taking gas samples. Flux measurements were done twice each day. In the morning, gas samples were taken for measuring CH_4 , $\delta^{13}\text{CH}_4$ and N_2O . In the afternoon,

difluoromethane (CH_2F_2) was added to the movable chambers #1 and #3 to inhibit CH_4 oxidation, while chambers #2 and #4 were used for normal flux measurements. Production of CH_4 is not affected by CH_2F_2 (Miller et al. 1998), which has been verified for the Italian rice soil in a pilot experiment (data not shown). The appropriate volume of CH_2F_2 was filled into Tedlar-bags. The bags were connected to the sampling ports of the chambers and then injected to give a final mixing ratio of about 1%. Subsequently, gas samples were taken for measuring CH_4 emission.

The gas samples for CH_4 measurements were taken with syringes (1 ml) at 5-30 min intervals for 30-120 min. The gas samples for N_2O were taken with evacuated serum bottles (25 ml) at the same time intervals. The gas samples for $\delta^{13}\text{C}\text{H}_4$ measurements were taken with evacuated 100-ml bottles at the beginning and end of the sampling period.

The CH_4 flux was determined from the linear increase of CH_4 mixing ratio with time. The fraction of methane that was oxidized *in situ* (F_{ox}) was calculated from the difference between the fluxes measured with (afternoon) and without inhibitor (morning), corrected for diurnal effects:

$$F_{\text{ox}} = [1 - (f_{\text{IM}} \cdot f_{\text{cA}}) / (f_{\text{cM}} \cdot f_{\text{IA}})] \cdot 100$$

where f were the CH_4 fluxes in the chambers. The subscript i denotes the chamber that got an inhibitor treatment during the afternoon flux measurement while the subscript c stands for the control chamber. The subscript M denotes morning measurements while A stands for afternoon measurements.

4.10. 2.3. Porewater profiles

Porewater samplers consisted of 7 filtration tubes (diameter 2mm, length 50mm; pore size $0.2\mu\text{m}$; X-Flow, The Netherlands) fixed in parallel on a PVC board (150×300 mm) at 20-50 mm intervals. The porewater samplers were installed in the field before sowing. The samplers were placed into the flooded soil such that porewater could be sampled at 0, 20, 40, 60, 80, 130, 180 mm depth. Two samplers each were placed into the control and the fertilization plot, respectively. The porewater samples at each soil depth were taken in the morning with two 10-ml venoject tubes (Terumo, Belgium), which had been flushed with N_2 and then evacuated. The first tube was used to flush the samplers (sample volume 2-4 ml) and was discarded. The second tube (sample volume >2 ml) was used for analysis of CH_4 , NH_4^+ and pH. After the tubes were heavily shaken by hand, a 0.2-ml gas sample was taken from the headspace of each tube with a 1-ml gas-tight syringe for CH_4 analysis. Afterwards, the pH of the porewater samples were measured. The steps for measuring NH_4^+ were as follows: 1 ml porewater or standard NH_4^+ solution was transferred into a 10-ml serum tube (inner diameter 12mm), and 0.02 ml of a solution containing 0.5 M NaOH, 0.05 M disodium EDTA, and 10% methanol was added. The NH_3 electrode (outer diameter 10mm; WTW, Germany) was inserted immediately avoiding air bubbles. A magnetic bar (2 x 5 mm) was used to stir the sample during the measurement. The NH_3 electrode was calibrated between 10^{-1} and 5×10^{-6} M.

4.11. 2.4. Potential CH_4 production

Soil cores were taken with steel corers (inner diameter 65 mm) and cut into an upper (0-30 mm) and a lower (30-100 mm) section, representing rooted and unrooted soil, respectively. Two cores were taken from the control plot and combined after sectioning, while only one core was taken for the fertilized plot. The soil sections were transferred into glass beakers and mixed with demineralized water (2:1; w/w). While the slurries were continuously stirred and sparged with N_2 , all floating roots

were picked off the surface. Then, 30 ml slurry soil slurry was transferred into 150-ml flasks. Each treatment had 4 replicates. The flasks were stoppered with rubber septa and flushed through needles for 10 min with N₂. The slurries were incubated in the dark at 25°C without agitation. Rates of CH₄ production were determined from the increase of CH₄ in the gas headspace and expressed in $\mu\text{mol CH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}_{\text{dw}}^{-1}$ (dw: dry weight).

4.12. 2.5. Potential CH₄ oxidation

The steps for preparing and transferring the soil slurries were the same as described above, but each flask contained only 10 ml slurry. For measurements of rice roots, the plants were taken from the field and the roots were separated from the plants and rinsed repeatedly in tap water until the runoff was clear. The roots were blotted with paper towels and put into 150-ml flasks. The flasks containing soil slurry or roots were stoppered with rubber septa. Pure CH₄ (1.5 ml) was injected into each flask. Slurries were incubated in the dark at 25°C on a shaker (120 rpm). Roots were incubated under the same conditions but without agitation. Before samples for CH₄ analysis were taken, the flasks were shaken by hand to equilibrate aqueous and gas phase.

4.13. 2.6. Root biomass

Soil cores were taken as described above and cut into 10-mm slices. The slices were washed with tap water in a sieve (mesh 0.5 mm) to remove the soil. The roots were weighted after drying at 65°C overnight.

4.14. 2.7. Gas analyses

CH₄ was analyzed on a SRI gas chromatograph equipped with a flame ionization detector (Bodelier et al. 2000b). The volumes of injected samples were 1 ml for measuring CH₄ fluxes, and 0.2 ml for other measurements. N₂O was analyzed in a GC 8000 gas chromatograph (Fisons Instruments, Germany) equipped with a ⁶³Ni electron capture detector and a HayeSep N column (Bollmann and Conrad, 1997). The volume of injected gas was 1 ml.

Stable isotopic analysis of gas samples was performed using a gas chromatograph combustion isotope ratio mass spectrometry (GCC-IRMS; Finnegan, Bremen, Germany) system. The atmospheric samples were measured with a PreCon, while all other samples were directly injected. The principle operation has been described before (Brand 1996, Sugimoto et al. 1991). The isotopes were detected in a Finnigan MAT delta plus IRMS. Separation of CH₄/CO₂ of the samples (10-400 μl) was performed in a Hewlett Packard 6890 gas chromatograph operating with a Pora PLOT Q column (27.5 m length; 0.32 mm i. d.; 10 μm film thickness; Chrompack, Frankfurt, Germany) at 25°C and He (99,996 % purity, 2.6 ml min⁻¹) as carrier gas. The separated gases were then converted to CO₂ in the Finnigan Standard GC Combustion Interface III and transferred into the IRMS. The working standard gas was CO₂ (99.998 % purity; Messer-Griessheim, Düsseldorf, Germany) calibrated against Pee Dee Belemnite carbonate. The isotopic ratios were expressed in the delta notation: $\delta^{13}\text{C} = 10^3(R_{\text{sa}}/R_{\text{st}} - 1)$ with R = ¹³C/¹²C of sample (sa) and standard (st), respectively. The precision of repeated analysis was $\pm 0,2 \text{ ‰}$ when 1.3 nmol CH₄ were injected.

4.15. 2.8. Statistics

Means and regression coefficients (rates) are given with 95% confidence limits. Confidence limits of mean rates were calculated from the standard error of the mean, while confidence limits of individual rates were calculated from the standard error of the regression coefficient.

3. Results

4.16. 3.1. CH₄ emission

CH₄ emission rates from the N-fertilized and the control plots were determined in the morning and in the afternoon. For both plots, no significant differences between the CH₄ morning and afternoon fluxes were detected ($p > 0.05$). Thus, we could use the daily averages to compare the results in the two plots. After fertilization, CH₄ emission from the fertilized plot seemed to decrease gradually with time, whereas CH₄ emission from the control plot showed a relatively large variation but no systematic trend (Fig. 1). At the 7th day after fertilization, the average CH₄ fluxes were rather similar, i.e. 15.3 and 15.6 mg m⁻² h⁻¹ for the fertilized and the control plot, respectively. During the 7 days after fertilization, the CH₄ flux from the fertilized plot had decreased by 14.9%, while that from the control plot had only decreased by 8.8% relative to the flux observed during the time (6 days) before fertilization. This observation suggests that CH₄ emission was only slightly, if at all, influenced by urea fertilization.

The isotopic signatures of the emitted CH₄ were measured only in the morning. From the 4th day before fertilization to the 6th day after fertilization, the $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ were $-69.3 \pm 1.2\text{‰}$ and $-64.2 \pm 1.3\text{‰}$ for the fertilized and the control plot, respectively. This difference between the two fields may be explained by the general spatial inhomogeneity of the area unspecific for the fertilization treatment. The relatively stable $\delta^{13}\text{C}_{\text{CH}_4}$ values in the single fields during the measured period indicated that the application of urea had no apparent effect on the isotopic composition of the emitted CH₄. The inhibition experiments with CH₂F₂ showed that the percentage fraction of the produced CH₄ that was oxidized was similar for the fertilized plot ($11.3 \pm 16.8\%$) and the control plot ($9.0 \pm 23.7\%$), indicating that urea did not affect CH₄ oxidation.

N₂O fluxes were also measured during our experimental period, but not detected (i.e. $< 20 \mu\text{g N}_2\text{O-N m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) in either the fertilized or the control plots. Apparently, the late-season application of urea did not cause N₂O emission.

4.17. 3.2. Porewater profiles of CH₄ and ammonium

The CH₄ concentrations in the soil porewater at 8-18 cm depth were extremely high, sometimes even supersaturated with CH₄. Minute gas bubbles may have been withdrawn with the porewater causing an apparent supersaturation. The CH₄ concentrations at 0-6 cm depth are shown in Fig. 2. Only a brief decrease of CH₄ concentration was noted at the 2nd day after fertilization at 0-6 cm depth. Otherwise, however, urea fertilization had no apparent effect on porewater CH₄.

In both plots (fertilized and control), porewater NH₄⁺ at 4-18 cm soil depth was $< 9 \mu\text{M}$ (data not shown). The same was observed at 0-2 cm soil depth before fertilization (Fig. 3). After the application

of urea, however, NH_4^+ concentration in this layer immediately increased. This increase was only transient, followed by a rapid decrease.

In both, fertilized and control plots, porewater pH did not exhibit a trend with time or soil depth, and ranged between pH 6.5 and 7.3.

4.18. 3.3. Potential CH_4 production

Methane was produced in soil from both, fertilized and control plots without lag, indicating that methanogenesis was highly active. Two days after fertilization with urea, CH_4 production was significantly ($P < 0.01$) stimulated (41% higher) in the 0-3 cm soil layers (Fig. 4A). The CH_4 production rates were 22.0 and 17.7 $\text{nmol h}^{-1}\text{gdw}^{-1}$ for the fertilized and control plot, respectively. Nine day after fertilization, CH_4 production still was higher in the fertilized plot, both in the 0-3 cm (53%) and the 3-10 cm (91%) soil layers (Fig. 4A).

4.19. 3.4. Potential CH_4 oxidation in soil

CH_4 oxidation in both plots started quickly (lag time ≤ 20 h), suggesting that CH_4 -oxidizing bacteria were active *in situ*. The CH_4 oxidation rates decreased with time. Two days after urea fertilization CH_4 oxidation was significantly stimulated (41%) in the 0-3 cm soil layer ($p < 0.01$), but not in the 3-10 cm soil layer (Fig. 4B). The stimulation decreased with time and by the 24th day after fertilization the CH_4 oxidation rates in both plots were nearly the same.

4.20. 3.5. CH_4 oxidation on roots

Urea had little influence on the CH_4 oxidation rate on rice roots (Fig. 5A). During a period of 9 days after fertilization the CH_4 oxidation rates ranged at 4.9-5.9 and 3.8-5.2 $\mu\text{mol h}^{-1}\text{gdw}^{-1}$ for the fertilized and the control plot, respectively, being not significantly different ($p > 0.05$). Only on the 22nd day after fertilization, the rate in the fertilized plot (5.3 $\mu\text{mol h}^{-1}\text{gdw}^{-1}$) was significantly ($p < 0.05$) higher than in the control plot.

However, the lag time of CH_4 oxidation was drastically shortened upon fertilization (Fig. 5B). After fertilization with urea the lag time decreased to < 20 h. In the control plot, however, the lag time increased with time from about 25 h to > 60 h ($r = 0.97$).

The distribution of root biomass was determined on the 5th day after fertilization. The roots were mainly concentrated in the top soil. The roots at 0-4 cm soil depth accounted for 55-88% and 75-86% of the total root biomass for the fertilized and the control plot, respectively.

4. Discussion

4.21. 4.1. Fertilizer effect on CH_4 emission

In this study, the application of urea showed little immediate effect on CH_4 emission from a rice field, although increases of both, CH_4 production and CH_4 oxidation were observed after fertilization.

On the one hand, urea stimulated CH_4 production in the top soil layers. On the other hand, urea also stimulated CH_4 consumption in the top soil as indicated by the increase of CH_4 oxidation rate, and stimulated CH_4 consumption on the roots as indicated by the shortening of the lag time. Since the NH_4^+ produced from urea was rapidly depleted, we attribute the stimulation at least in part to indirect effects of NH_4^+ , such as changes in root exudation and O_2 loss from the roots.

However, the stimulation of CH_4 production and CH_4 oxidation by urea did not result in a change of the CH_4 concentration in soil porewater. Bodelier et al. (2000b) reported similar results. Therefore, it is likely that the increase of CH_4 production was counterbalanced by the increase of CH_4 oxidation. Another possible interpretation is that the porewater CH_4 concentration in the top soil layer was stabilized by CH_4 diffusing upwards from deeper soil. Roots were mainly concentrated in the top soil. Considering that CH_4 emission depends to a great degree on the CH_4 concentration around the roots (Conrad 1993; Nouchi and Mariko 1993), it is plausible that CH_4 emission after fertilization changed little due to the negligible changes of porewater CH_4 .

4.22. 4.2. Fate of fertilizer nitrogen

The observation that CH_4 emission was not affected by urea application was in contrast to other results obtained in microcosm experiments (Bodelier et al., 2000a, b). The main difference was that in our field study the amount of urea applied was quite small (50 kg N ha^{-1} compared to 200 to 400 kg N ha^{-1} as used by Bodelier et al. (2000a, b). Hence, NH_4^+ produced from urea was depleted very fast. After fertilization, the temporal increase of NH_4^+ lasted for only 3 days. Thus, it is plausible that the direct stimulation of CH_4 oxidation by NH_4^+ , as described by Bodelier et al. (2000a, b), could not be observed. The $\delta^{13}\text{CH}_4$ data and the results from the inhibition experiments with CH_2F_2 further confirmed that in our study urea, and NH_4^+ produced from it, had little effect on CH_4 oxidation.

After application, urea quickly hydrolyses to NH_4^+ . The depletion of exogenous NH_4^+ follows three pathways: plant uptake, consumption by CH_4 -oxidizing and NH_4^+ -oxidizing bacteria, and volatilization of NH_3 . We believe for the following reasons that in our study NH_4^+ was mainly depleted by plant uptake. First, urea was broadcasted soon after panicle initiation stage. It is after panicle initiation that the capacity of rice plants to take up NH_4^+ reaches the maximum (Takenaga, 1995). Second, nitrification of urea-N to nitrate or nitrite is the precondition of denitrification and of production of N_2O (Arth et al., 1998; Henckel and Conrad, 1998). In our study, however, N_2O emission was not detectable after the fertilization at 75 daf, indicating that nitrification of NH_4 was relatively unimportant in the late season. Third, considering that conversion of NH_4^+ to NH_3 depends on high pH and that the pH value in soil was close to pH 7, the contribution of NH_3 volatilization to the depletion of NH_4^+ should be rather small.

5. Conclusions

After a modest fertilizer application of 50 kg N ha^{-1} no immediate effect of urea on CH_4 emission from the rice field was observed. Rice plants took up NH_4^+ so fast that a direct impact of NH_4^+ on CH_4 oxidation was hardly possible. Even although urea apparently stimulated both CH_4 production and CH_4 oxidation in the top soil during the 9 days following fertilization, porewater CH_4 concentrations at 0-6 cm depths were not affected. Most probably, the counterbalance between stimulation of CH_4 production and stimulation of CH_4 oxidation and the strong methanogenesis in lower soil layers were responsible for the lack of major changes in CH_4 emission after urea application in the late season (75

daf). However, fertilization effects cannot be excluded in general, in particular when higher amounts of nitrogen are added.

Acknowledgements

We thank Dr. S. Russo for providing and managing the the field plots. We also thank P. Claus and U. Jäckel for help and discussion during the experiments. This work was financially supported by the European Commission, project BIO4CT960419, and the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), project Fr1054/1. J. Dan was supported by a scholarship from the German Academic Exchange Service (DAAD).

References

- Arth, I., Frenzel, P., Conrad, R., 1998. Denitrification coupled to nitrification in the rhizosphere of rice. *Soil Biol. Biochem.* 30, 509-515.
- Banik, A., Sen, M., Sen, S. P., 1996. Effects of inorganic fertilizers and micronutrients on methane production from wetland rice (*Oryza sativa* L). *Biol. Fertil. Soils* 21, 319-322.
- Bedard, C., Knowles, R., 1989. Physiology, biochemistry, and specific inhibitors of CH₄, NH₄⁺, and CO oxidation by methanotrophs and nitrifiers. *Microbiol. Rev.* 53, 68-84.
- Bender, M., Conrad, R., 1995. Effect of CH₄ concentrations and soil conditions on the induction of CH₄ oxidation activity. *Soil Biol. Biochem.* 27, 1517-1527.
- Bodelier, P.L.E., Roslev, P., Henckel, T., Frenzel, P., 2000a. Ammonium stimulates methane oxidation in rice soil. *Nature (London)*, 403: 421-424.
- Bodelier, P.L.E., Hahn, A.P., Arth, I.R., Frenzel, P., 2000b. Effects of ammonium-based fertilisation on microbial processes involved in methane emission from soils planted with rice. *Biogeochemistry*, in press.
- Bollmann, A., Conrad, R., 1997. Acetylene blockage technique leads to underestimation of denitrification rates in oxic soils due to scavenging of intermediate nitric oxide. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1067-1077.
- Brand, W.A., 1996. High precision isotope ratio monitoring techniques in mass spectrometry. *J. Mass Spectrometry* 31, 225-235.
- Bronson, K. F., Neue, H. U., Singh, U., Abao, E. B., 1997. Automated chamber measurements of methane and nitrous oxide flux in a flooded rice soil .1. Residue, nitrogen, and water management. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61, 981-987.
- Cai, Z., Yan, X., Xu, H., Tsuruta, H., Yagi, K., Minami, K., 1995. Effect of nitrogen form on CH₄ emission from rice paddy field. *Acta Pedologica Sinica* 32 (Suppl.):136-143
- Cicerone, R. J., Shetter, J. D., 1981. Sources of atmospheric methane: measurements in rice paddies and a discussion. *J. Geophys. Res.* 86, 7203-7209.
- Conrad, R., 1993. Mechanisms controlling methane emission from wetland rice fields. In: Oremland, R. S. (Ed.), *The Biogeochemistry of Global Change: Radiative Trace Gases*. Chapman & Hall, New York, pp. 317-335.
- Conrad, R., 1997. Production and consumption of methane in the terrestrial biosphere. In: Helas, G., Slanina, J., Steinbrecher, R. (Eds.), *Biogenic volatile organic carbon compounds in the atmosphere*. SBP Academic Publ., Amsterdam, pp. 27-44.
- Conrad, R., Rothfuss, F., 1991. Methane oxidation in the soil surface layer of a flooded rice field and the effect of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 12, 28-32.
- Dannenberg, S., Conrad, R., 1999. Effect of rice plants on methane production and rhizospheric metabolism in paddy soil. *Biogeochem.* 45, 53-71.

- Dunfield, P., Knowles, R., 1995. Kinetics of inhibition of methane oxidation by nitrate, nitrite, and ammonium in a humisol. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3129-3135.
- Frenzel, P., Rothfuss, F., Conrad, R., 1992. Oxygen profiles and methane turnover in a flooded rice microcosm. *Biol. Fertil. Soils* 14, 84-89.
- Gilbert, B., Frenzel, P., 1998. Rice roots and CH₄ oxidation - the activity of bacteria, their distribution and the microenvironment. *Soil Biol. Biochem.* 30, 1903-1916.
- Goldman, M. B., Groffman, P. M., Pouyat, R. V., McDonnell, M. J., Pickett, S. T. A., 1995. CH₄ uptake and N availability in forest soils along an urban to rural gradient. *Soil Biol. Biochem.* 27, 281-286.
- Gulledge, J., Schimel, J. P., 1998. Low-concentration kinetics of atmospheric CH₄ oxidation in soil and mechanism of NH₄⁺ inhibition. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4291-4298.
- Henckel, T., Conrad, R., 1998. Characterization of microbial NO production, N₂O production and CH₄ oxidation initiated by aeration of anoxic rice field soil. *Biogeochem.* 40, 17-36.
- Holzappel-Pschorn, A., Seiler, W., 1986. Methane emission during a cultivation period from an Italian rice paddy. *J. Geophys. Res.* 91, 11803-11814.
- King, G. M., Schnell, S., 1994. Effect of increasing atmospheric methane concentration on ammonium inhibition of soil methane consumption. *Nature* 370, 282-284.
- Kravchenko, I. K., 1999. The inhibiting effect of ammonium on the activity of the methanotrophic microbial community of a raised sphagnum bog in West Siberia. *Mikrobiologiya* 68, 241-246.
- Kruse, C. W., Iversen, N., 1995. Effect of plant succession, ploughing, and fertilization on the microbiological oxidation of atmospheric methane in a heathland soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 18, 121-128.
- Lindau, C. W., 1994. Methane emissions from Louisiana rice fields amended with nitrogen fertilizers. *Soil Biol. Biochem.* 26, 353-359.
- Lindau, C. W., Bollich, P. K., 1993. Methane emissions from Louisiana first and ratoon crop rice. *Soil Sci.* 156, 42-48.
- Lindau, C. W., Bollich, P. K., DeLaune, R. D., Patrick, W. H., Law, V. J., 1991. Effect of urea fertilizer and environmental factors on CH₄ emissions from a Louisiana, USA rice field. *Plant and Soil* 136, 195-203.
- Lindau, C. W., Patrick, W. H., DeLaune, R. D., Reddy, K. R., 1990. Rate of accumulation and emission of N₂, N₂O and CH₄ from a flooded rice soil. *Plant and Soil* 129, 269-276.
- Miller, L. G., Sasson, C., Oremland, R. S., 1998. Difluoromethane, a new and improved inhibitor of methanotrophy. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4357-4362.
- Minami, K., Neue, H. U., 1994. Rice paddies as a methane source. *Climatic Change* 27, 13-26.
- Neue, H. U., 1997. Fluxes of methane from rice fields and potential for mitigation. *Soil Use and Management* 13, 258-267.
- Neue, H.-U., Sass, R. L., 1994. Trace gas emissions from rice fields. In: Prinn, R. G. (Ed.), *Global Atmospheric-Biospheric Chemistry*. Plenum, New York, pp. 119-147.
- Nouchi, I., Mariko, S., 1993. Mechanism of methane transport by rice plants. In: Oremland, R. S. (Ed.), *Biogeochemistry of Global Change*. Chapman & Hall, New York, pp. 336-352.
- Prieme, A., Christensen, S., Dobbie, K. E., Smith, K. A., 1997. Slow increase in rate of methane oxidation in soils with time following land use change from arable agriculture to woodland. *Soil Biol. Biochem.* 29, 1269-1273.
- Schnell, S., King, G. M., 1994. Mechanistic analysis of ammonium inhibition of atmospheric methane consumption in forest soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 3514-3521.

- Schütz, H., Holzapfel-Pschorn, A., Conrad, R., Rennenberg, H., Seiler, W., 1989. A 3-year continuous record on the influence of daytime, season, and fertilizer treatment on methane emission rates from an Italian rice paddy. *J. Geophys. Res.* 94, 16405-16416.
- Singh, S., Singh, J. S., Kashyap, A. K., 1999. Methane flux from irrigated rice fields in relation to crop growth and N-fertilization. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1219-1228.
- Sugimoto, A., Hong, X., Wada, E., 1991. Rapid and simple measurement of carbon isotope ratio of bubble methane using GC/C/IRMS. *Mass Spectros.* 39, 261-266.
- Takenaga, H. (1995) Internal factors in relation to nutrient absorption. In: Matsue T, Kumazawa K, Ishii R, Ishihara K, Hirata H (eds) *Science of the Rice Plant. vol. II Physiology.* Food and Agriculture Policy Research Center, Tokyo. pp 139.
- van der Nat, F. J. W. A., De Brouwer, J. F. C., Middelburg, J. J., Laanbroek, H. J., 1997. Spatial distribution and inhibition by ammonium of methane oxidation in intertidal freshwater marshes. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 4734-4740.
- Wassmann, R., Papen, H., Rennenberg, H., 1993. Methane emission from rice paddies and possible mitigation strategies. *Chemosphere* 26, 201-217.
- Watanabe, A., Takeda, T., Kimura, M., 1999. Evaluation of origins of CH₄ carbon emitted from rice paddies. *J. Geophys. Res.* 104, 23623-23629.
- Yang, S. S., Chang, H. L., 1998. Effect of environmental conditions on methane production and emission from paddy soil. *Agric. Ecosyst. Environ.* 69, 69-80.

Figure captions

Fig. 1. Variation of the average CH_4 fluxes in the chambers located at the fixed field plots of two measurements each day; arrow indicates fertilization (mean \pm SE, $n = 2$).

Fig. 2. Temporal change of CH_4 concentrations in the soil porewater taken from different depths of (A) control and (B) fertilized plot, respectively. Arrow indicates fertilization.

Fig. 3. Temporal change of the NH_4^+ concentration in the porewater of the control and fertilized plots at (A) 0 cm and (B) 2 cm depth. Arrow indicates fertilization.

Fig. 4. Temporal change of (A) CH_4 production rates and (B) CH_4 oxidation rates in two different soil layers. Arrow indicates fertilization (mean \pm SE, $n = 4$).

Fig. 5. Temporal change of (A) CH_4 oxidation rates and (B) lag times of CH_4 oxidation on the roots of rice plants. Arrow indicates fertilization (mean \pm SE, $n = 4$).

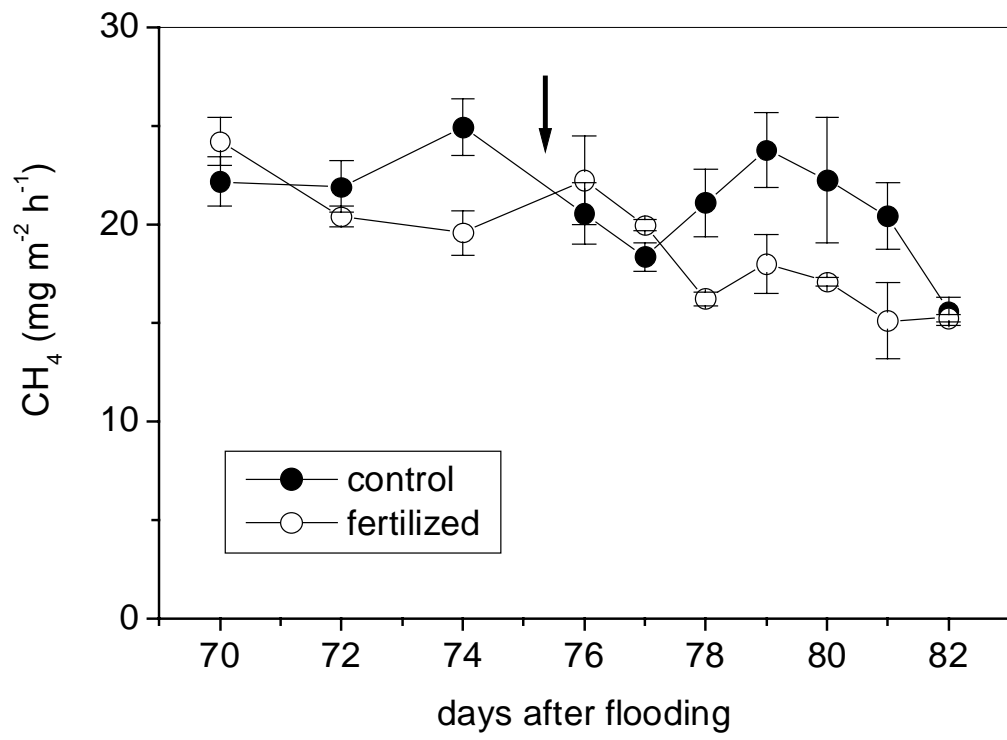


Fig. 1

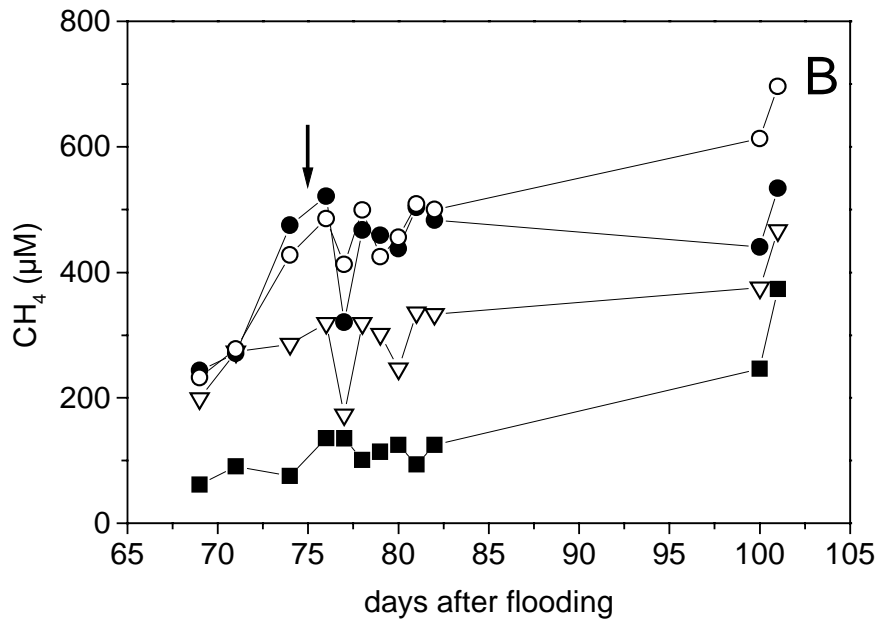
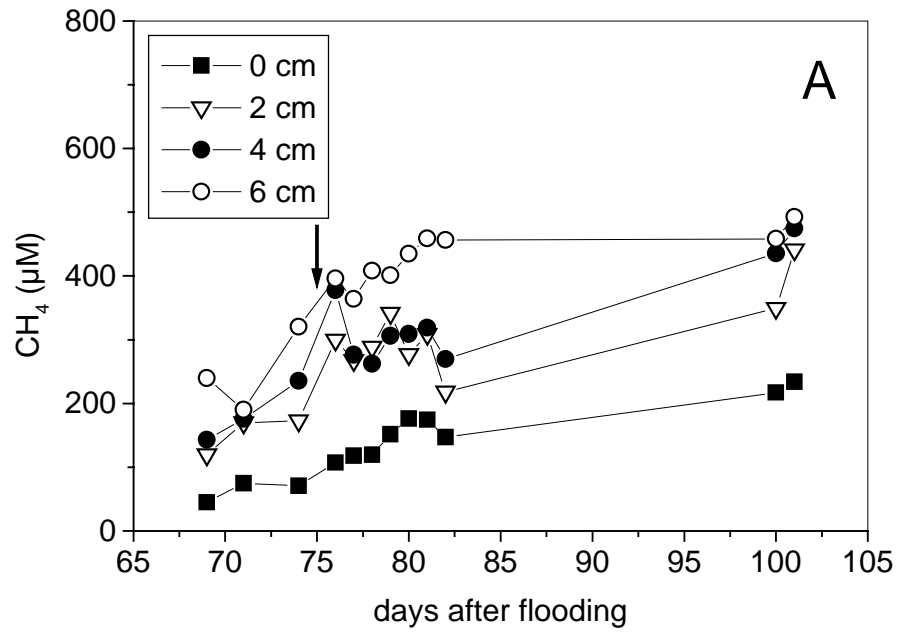


Fig. 2

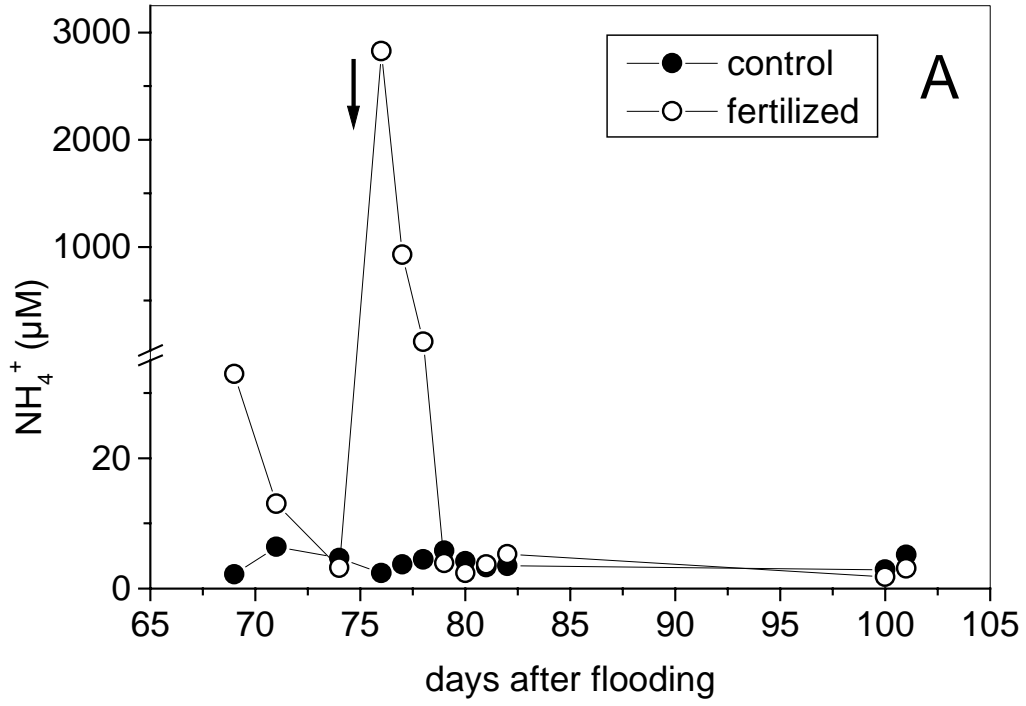
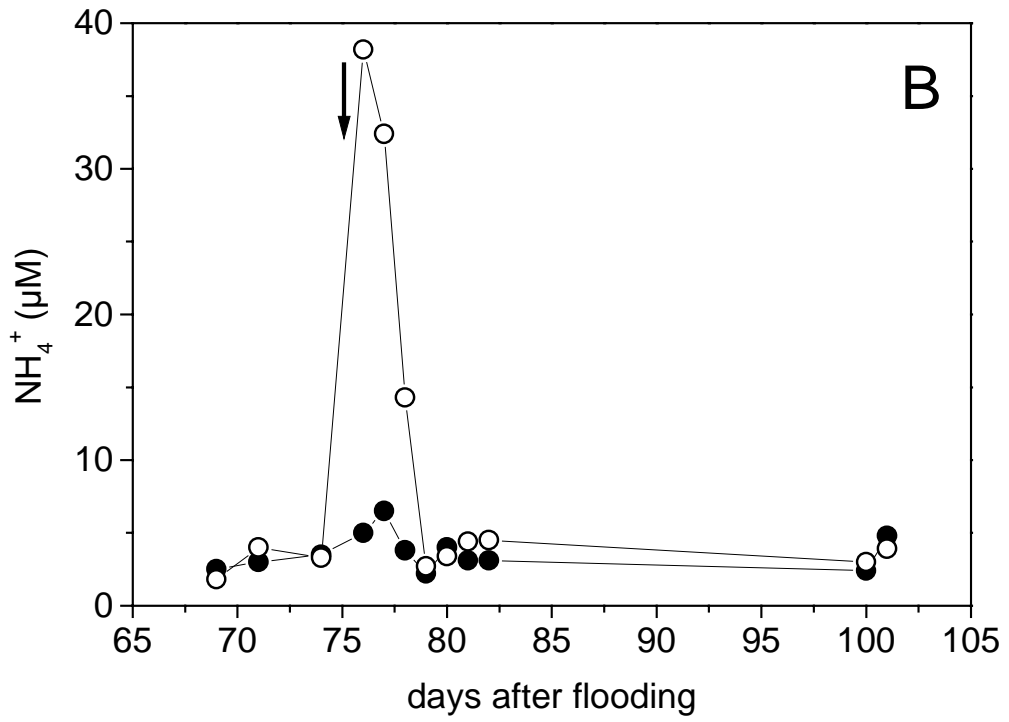


Fig. 3



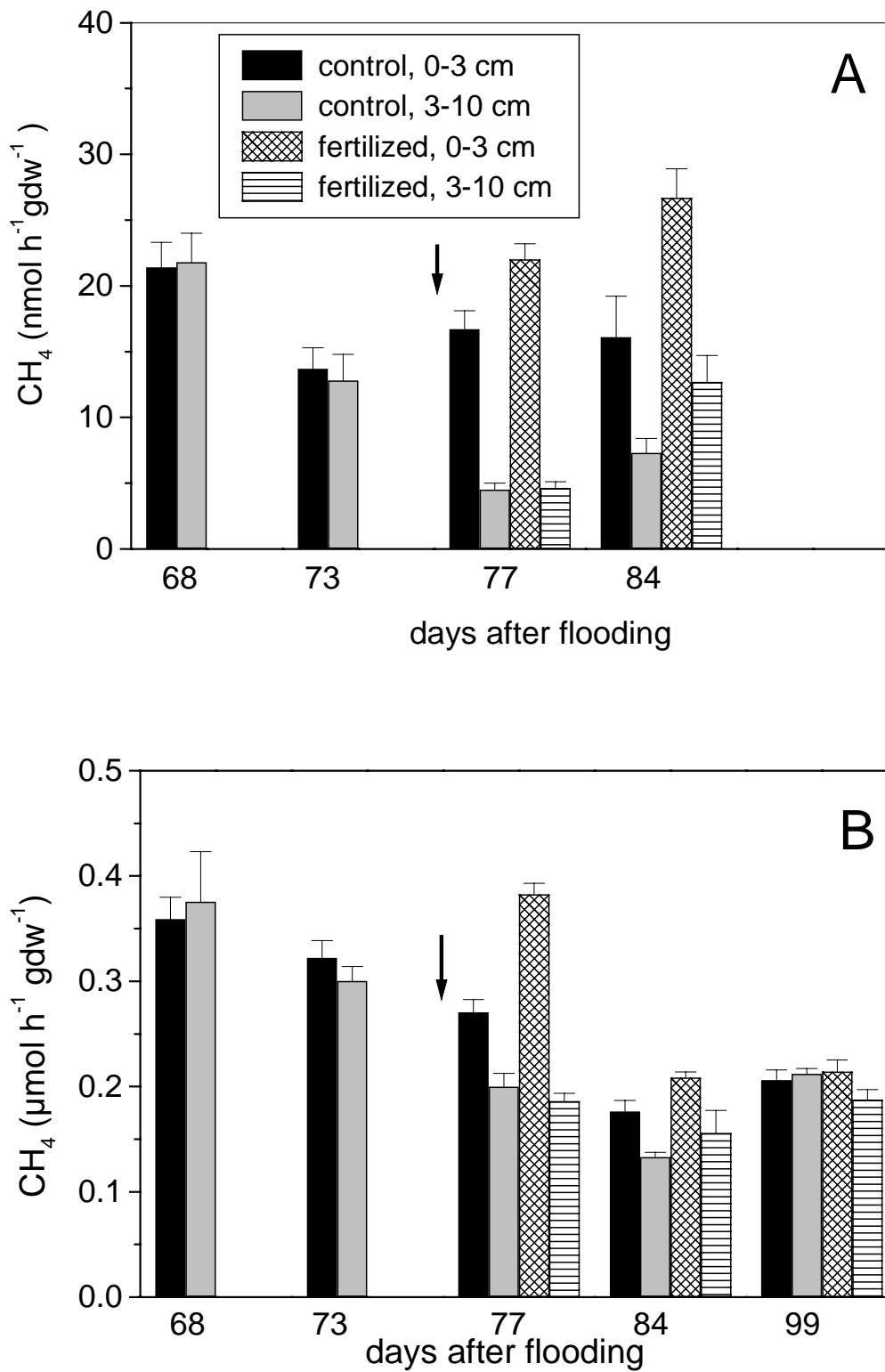


Fig. 4

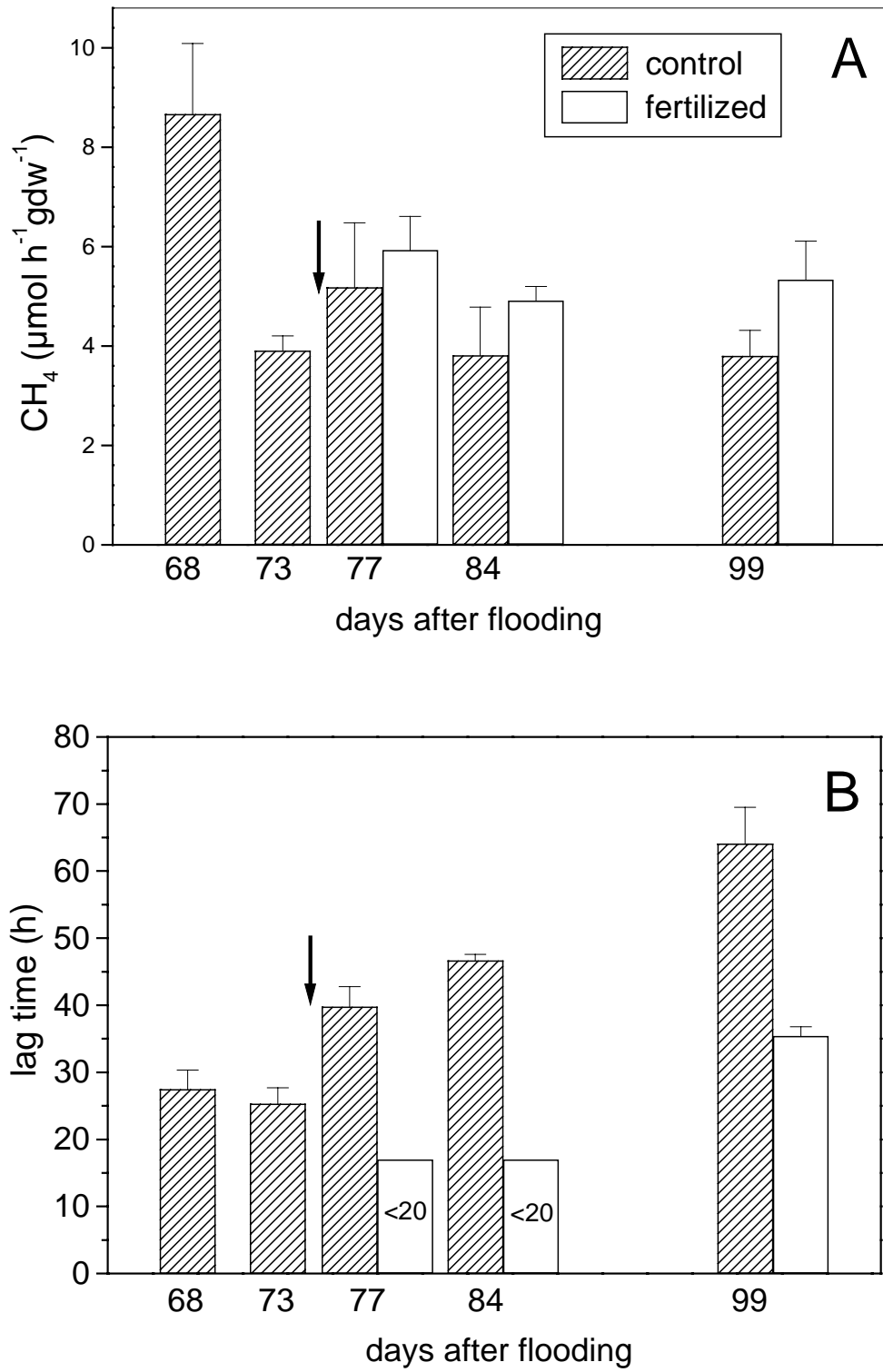


Fig. 5

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig verfasst, keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet und sämtliche Stellen, die im Wortlaut oder dem Sinn nach anderen Werken entnommen sind, mit Quellenangaben kenntlich gemacht habe. Diese Versicherung schliesst Zeichnungen und Skizzen mit ein.

Diese Dissertation wurde in der jetztigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den

Martin Krüger

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Ralf Conrad möchte ich für die Überlassung der Doktorarbeit, seine Begleitung, die Anregungen und stete Diskussionsbereitschaft besonders danken. Er hat mir grossen Forschungsfreiraum gewährt und meinen Arbeiten Vertrauen entgegen gebracht, so dass ich meine Promotion nach meinen Vorstellungen und mit viel Freude verwirklichen konnte.

Herrn Prof. Dr. R. Thauer möchte ich für die Begutachtung der Arbeit danken.

Ganz besonders möchte ich Herrn PD. Dr. Peter Frenzel für die gute und produktive Zusammenarbeit, für die vielen Anregungen und Diskussionen und die Hilfe bei der Organisation und Durchführung meiner Freilandversuche in Italien danken.

Ebenso danke ich Dr. Salvatore Russo, Dr. Franz Conen und Dr. Thomas Marik für die gute und erfolgreiche Zusammenarbeit in Italien wie auch in der folgenden Zeit.

Herzlichen Dank an Alexandra Hahn, Melanie Klose, Peter Claus, Jochen Scheld und Dr. Stefan Ratering für so manche Analyse und gut gepflegte Reispflanzen.

Der gesamten Abteilung Conrad gilt mein Dankeschön für das gute und freundliche Klima, besonders auch Horst Henseling und Markus Drescher für den vielfältigen technischen Beistand.

Meiner Familie sei gedankt für die unermüdliche Unterstützung während meiner Studien- und Promotionszeit.

Vor allem aber gilt mein Dank Gundula Eller für ihren Beistand, die immer gerne gewährte Unterstützung und mein Ertragen auch in stressigeren Zeiten.

Lebenslauf

Martin Krüger geboren am 30.01.1969 in Hamburg

Schulbildung: 1975-1979: Grundschule Eenstock, Hamburg
1979-1981: Gymnasium Osterbek, Hamburg
1981-1989: Herderschule, Rendsburg, Abschluß: Abitur

Zivildienst: 1989-1990

Hochschulausbildung: Studium der Biologie mit dem Schwerpunkt Mikrobiologie an der Universität Bayreuth: 1991-1997

Okt. 1993: Diplomvorprüfung

Okt. 1994-Jul. 1995: Studium an der University of York, England

Juli 1996-April 1997: Diplomarbeit im Rahmen des Modellstandortvorhabens "Altablagerung Meißenheim-Kürzell" des Landesamtes für Umweltschutz Baden-Württemberg mit dem Thema: "Die biologische und chemische Charakterisierung der Schicht der "Schwarzen Kiese".

April 1997: Diplom

Seit Febr. 1998: Dissertation am Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie, Marburg, unter der Leitung von Prof. Dr. Ralf Conrad.

Wissenschaftliche Publikationen:

Krüger M., Harrison A.B., Betts W.B. (1995): Treatment of hydrocarbon contaminated soil using a rotating drum bioreactor. *Microbios* 83, 243-247

Krüger M., Frenzel P. und Conrad R. (2000): Microbial processes influencing methane emission from rice fields. *Global Change Biology*, in press

Dan J., Krüger M., Conrad R. und Frenzel P. (2000): Effect of a late season urea fertilisation on methane emission from an italian rice field. *Agriculture, Ecosystem & Environment*, in press