

# **Einfluß von Temperatur, Sauerstoff und organischer Substanz auf die Methanogenese in hydromorphen Böden**

## **Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften  
im Fachbereich Geowissenschaften der Universität Hamburg



vorgelegt von

**Dirk Wagner**  
aus Berlin

Hamburg  
1998

Als Dissertation angenommen vom Fachbereich Geowissenschaften  
der Universität Hamburg

aufgrund der Gutachten von Prof. Dr. H.-W. Scharpenseel  
und Prof. Dr. E. Bock

Hamburg, den 15.06.98

Prof. Dr. G. Miehl  
Dekan  
des Fachbereichs Geowissenschaften

*Das Titelbild zeigt das von Alessandro Volta 1776 durchgeführte Experiment, mit dem er zeigen konnte, daß es sich bei dem aus einem Sediment aufsteigenden Gas um wie er es nannte ‚brennbare Luft‘ handelte.*

*(aus: „1776 - 1996: Alessandro Volta's Combustible Air - 220 Years after Volta's Experiment, the Microbial Formation of Methane Approaches an Understanding“, von R.S. Wolfe, 1996)*

## Inhaltsverzeichnis

I	Zusammenfassung .....	IV
II	Summary.....	VI
III	Abbildungsverzeichnis .....	VIII
IV	Tabellenverzeichnis.....	XI
V	Abkürzungsverzeichnis .....	XIII
VI	Glossar.....	XV
<b>1</b>	<b>Einleitung und Fragestellung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Grundlagen .....</b>	<b>4</b>
2.1	Methan in der Natur .....	4
2.2	Methan als klimarelevantes Spurengas .....	5
2.3	Der Methankreislauf.....	7
2.4	Methanogene Bakterien.....	9
2.5	Anaerober Abbau organischer Substanz .....	11
2.6	Isotopieeffekte beim mikrobiellen anaeroben Abbau organischer Substanz.....	13
2.7	Bedeutung terrestrischer Ökosysteme für die Methanfreisetzung.....	15
<b>3</b>	<b>Charakterisierung der Untersuchungsgebiete .....</b>	<b>18</b>
3.1	Asseler Sand (Assel, Norddeutschland).....	18
3.1.1	Lage und naturräumliche Gliederung.....	18
3.1.2	Landschaftsgenese .....	21
3.1.3	Klima .....	22
3.1.4	Hydrologie .....	23
3.1.5	Vegetation und Nutzung .....	24
3.1.6	Böden des Untersuchungsgebietes.....	24
3.2	Tai-Hu-Tiefland (Suzhou, Ostchina).....	27
3.2.1	Lage.....	27
3.2.2	Landschaftsgenese .....	28
3.2.3	Klima .....	28
3.2.4	Vegetation und Nutzung .....	29
3.2.5	Böden des Untersuchungsgebietes.....	30
<b>4</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>37</b>
4.1	Bodenprofilaufnahme und Probenentnahme .....	37
4.2	Behandlung und Aufarbeitung des Probenmaterials .....	37
4.3	Bodenphysikalische Analysen.....	39
4.3.1	Bestimmung der Porengrößenverteilung .....	39
4.3.2	Bestimmung der Korngrößenverteilung.....	41
4.4	Bodenchemische Analysen.....	41
4.4.1	Kohlenstoff- und Stickstoff-Analytik .....	41
4.4.2	$\delta^{13}\text{C}$ -Bestimmung .....	43
4.4.3	pH-Wert- und Redoxpotential-Messung.....	45
4.5	Bestimmung von Methanbildungsraten.....	45

4.5.1 Aktuelle Methanbildungsaktivität .....	45
4.5.2 Potentielle Methanbildungsaktivität.....	47
4.5.3 Temperaturoptimum der Methanbildung .....	47
4.5.4 Methanbildungsaktivität in Gegenwart von Sauerstoff.....	48
4.5.5 Methanbildungsaktivität in Abhängigkeit vom Wassergehalt .....	51
4.5.6 Gasanalytik (CH <sub>4</sub> , O <sub>2</sub> ) .....	51
4.6 Mikrobiologische Untersuchungen.....	53
4.6.1 Nährmedien .....	53
4.6.2 Zellzahlbestimmung .....	56
4.6.2.1 MPN-Methode .....	56
4.6.2.2 Koch'sches Plattengußverfahren .....	57
4.6.3 Isolierung von methanogenen Bakterien.....	57
4.6.3.1 Anreicherungskultur.....	57
4.6.3.2 Agar-Verdünnungsreihe .....	57
4.6.3.3 Reinheitstest .....	58
4.6.3.4 Kulturführung.....	59
4.6.4 Charakterisierung der Isolate.....	59
4.6.4.1 Transmissionselektronenmikroskopie.....	59
4.6.4.2 Substratspektrum.....	60
4.6.4.3 Temperaturoptimum.....	60
4.6.4.4 Salz- und pH-Optimum.....	60
4.6.4.5 16S-rRNA-Sequenzierung .....	61
4.7 Fraktionierung der organischen Bodensubstanz .....	63
4.7.1 DOC-Extraktion .....	63
4.7.2 Dichtefraktionierung .....	63
4.8 Statistische Analysen .....	65
<b>5 Ergebnisse .....</b>	<b>66</b>
5.1 Bodenmikrobiologische Standortcharakterisierung.....	66
5.1.1 Marschboden (Asseler Sand).....	66
5.1.2 Reisboden (Suzhou) .....	69
5.2 Temperaturcharakteristika der methanogenen Flora .....	72
5.2.1 Temperaturoptimum.....	72
5.2.2 Zellzahlen methanogener Bakterien in Abhängigkeit von Temperatur und Substrat.....	75
5.2.3 Einfluß verschiedener Substrate auf die Methanbildung.....	76
5.3 Isolierung und Charakterisierung von methanogenen Bakterien.....	77
5.3.1 Grundlagen .....	77
5.3.2 Morphologische Merkmale .....	78
5.3.3 Physiologische Merkmale .....	80
5.3.4 Phylogenetische Auswertung der 16S-rRNA-Sequenzen methanogener Bakterien .....	81
5.4 Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff.....	84
5.4.1 Hemmung der Methanoxidation durch Acetylen .....	84
5.4.2 Einfluß der Begleitflora.....	85
5.4.3 Einfluß der Bodenart .....	87
5.4.4 Methanbildung bei definierten Wassergehalten .....	89
5.5 Charakterisierung der organischen Bodensubstanz in Hinblick auf die CH <sub>4</sub> -Bildung .....	94
5.5.1 Marschboden (Asseler Sand).....	94
5.5.1.1 Kohlenstoff- und Stickstoff-Parameter .....	94
5.5.1.2 Isotopenanalytische Untersuchung der organischen Bodensubstanz .....	95

---

5.5.1.3 Charakterisierung der organischen Substanz mittels Dichtefraktionierung .....	96
5.5.2 Reisboden (Suzhou) .....	99
5.5.2.1 Kohlenstoff- und Stickstoff-Parameter .....	99
5.5.2.2 Isotopenanalytische Untersuchungen der organischen Bodensubstanz .....	100
5.5.2.3 Charakterisierung der organischen Substanz mittels Dichtefraktionierung .....	102
5.5.2.4 Methanbildungspotentiale der Dichtefraktionen .....	107
<b>6 Diskussion</b> .....	<b>109</b>
6.1 Einfluß der Temperatur auf die Methanbildung .....	109
6.2 Einfluß von Sauerstoff auf die Aktivität methanogener Bakterien .....	98
6.3 Bedeutung der organischen Bodensubstanz für die Methanogenese .....	104
6.4 Wechselwirkungen der untersuchten Faktoren in hydromorphen Böden und ihre Bedeutung in Hinblick auf globale Klimaveränderungen .....	109
<b>7 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>114</b>
<b>8 Anhang</b> .....	<b>137</b>
<b>Danksagung</b> .....	

## I Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden Untersuchungen zum Einfluß der Temperatur, des Sauerstoffs und der organischen Substanz auf die Methanogenese zweier hydromorpher Böden (Marsch- und Reisboden) unterschiedlicher Klimaregionen durchgeführt.

An natürlichem Bodenmaterial und an Reinkulturen methanogener Bakterien, die im Rahmen dieser Arbeit isoliert wurden, wurde die Anpassung der methanogenen Flora an die vorherrschenden in-situ-Temperaturen untersucht:

- Der Reisboden hatte in Bezug auf die Methanogenese mit einer Rate von  $14,12 \text{ nmol CH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  sein Temperaturoptimum bei  $47 \text{ }^\circ\text{C}$  und zeigte im niedrigen Temperaturbereich ( $\ominus 37 \text{ }^\circ\text{C}$ ) nur eine geringe  $\text{CH}_4$ -Bildungsaktivität.
- Der Marschboden hatte mit  $42,71 \text{ nmol CH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  ein Temperaturoptimum bei  $32 \text{ }^\circ\text{C}$  und wies bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  ein zweites Optimum ( $10,51 \text{ nmol CH}_4 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$ ) auf. Insgesamt waren die  $\text{CH}_4$ -Bildungsraten deutlich höher als für vergleichbare Temperaturen des Reisbodens.
- Die bei  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  bestimmten Zellzahlen methanogener Bakterien des Marschbodens waren mit  $\text{H}_2$ , Acetat oder Formiat als Substrat gleich, während bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  die Zellzahlen mit  $\text{H}_2$  im Vergleich zu Acetat oder Formiat signifikant niedriger waren.
- Es wurden bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $17 \text{ }^\circ\text{C}$  und  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  methanogene Bakterien aus Marschbodenproben angereichert und isoliert. Bei  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  wurden die meisten Anreicherungs- und Reinkulturen mit  $\text{H}_2$  als Substrat erhalten, während bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  und  $17 \text{ }^\circ\text{C}$  die meisten Anreicherungen mit Substraten wie Acetat, Formiat, Methanol, Ethanol oder Trimethylamin gelangen. Die gewonnenen Reinkulturen wuchsen in einem weiten Temperaturbereich ( $5 \text{ }^\circ\text{C} - 47 \text{ }^\circ\text{C}$ ) mit Temperaturoptima zwischen  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  und  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Die Ergebnisse zeigen, daß es verschiedene methanogene Populationen gibt, die an niedrige ( $< 20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) bzw. hohe ( $\ominus 20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) in-situ-Temperaturen angepaßt sind. Wesentlicher Auslöser für die Anpassung ist die unterschiedliche Verfügbarkeit methanogener Substrate bei verschiedenen Temperaturen. Die Unterschiede in der Substratverfügbarkeit beruhen auf einer Änderung der Abbauewege der organischen Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur. Während bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  lösliche organische Säuren wie Acetat und Formiat als Substrate für die Methanogenese dienen, basiert die  $\text{CH}_4$ -Bildung bei höheren Temperaturen vermehrt auf  $\text{H}_2$  als Substrat.

An Mischproben (Slurries), Modellböden und Bodenproben mit natürlicher Lagerung wurde der Einfluß des Sauerstoffs auf das Überleben und die  $\text{CH}_4$ -Bildungsaktivität methanogener Bakterien im natürlichen Habitat ‚Boden‘ untersucht:

- In den aeroben Bereichen der untersuchten Böden (Go-Horizonte) konnten regelmäßig methanogene Bakterien in der Größenordnung von  $10^4$  Zellen  $\text{g}^{-1}$  Boden nachgewiesen werden.
- $\text{CH}_4$ -Bildung wird in Gegenwart von Sauerstoff im natürlichen Boden zum einen durch die aerobe und fakultativ anaerobe Begleitflora ermöglicht, die den  $\text{O}_2$ -Partialdruck senkt. Zum anderen tragen geladene Bodenpartikel, die durch ihre sorptiven Eigenschaften Aggregation und Biofilmbildung ermöglichen, durch eine damit einhergehende Reduktion der  $\text{O}_2$ -Diffusion dazu bei, daß die Methanogenese in situ auch in aeroben Bodenzonen möglich ist.
- In geschüttelten Ansätzen betragen die  $\text{CH}_4$ -Bildungsraten unter aeroben Bedingungen etwa 1 - 5 % der Raten unter streng anaeroben Bedingungen. Im natürlich gelagerten

Boden wurden dagegen unter aeroben Bedingungen etwa 50 % der CH<sub>4</sub>-Bildungsrate anaerober Ansätze gemessen.

Die Ergebnisse zeigen, daß CH<sub>4</sub>-Bildung in natürlichen Ökosystemen mit wechselnden Sauerstoffverhältnissen durch eine enge Kopplung an mikrobielle Atmungsprozesse vor einer Hemmung durch O<sub>2</sub> weitgehend geschützt ist. Dabei ist die aerobe und fakultativ anaerobe Begleitflora nur in Kombination mit den sorptiven Eigenschaften natürlicher Bodenpartikel (Ton, Schluff, organische Substanz) in der Lage, eine Schutzfunktion für die methanogenen Bakterien in Gegenwart von Sauerstoff zu ermöglichen.

Durch physikalische und chemische Fraktionierung der organischen Bodensubstanz wurde der Einfluß der einzelnen Kohlenstoff-Fraktionen auf die Methanogenese untersucht. Zusätzlich wurden isotopenanalytische Untersuchungen (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C-Verhältnis) durchgeführt:

- Die höchsten CH<sub>4</sub>-Bildungsraten wurden in den Profilmitteln gemessen, die hohe Gehalte an Acetat bzw. DOC aufwiesen. Eine Anreicherung des schweren <sup>13</sup>C-Isotopes in diesen Bereichen zeigte an, daß es sich bei diesen Lagen um die Hauptbildungszonen für CH<sub>4</sub> handelte. Hohe CH<sub>4</sub>-Bildungsraten korrelierten nicht mit hohen Gesamtgehalten organischer Substanz.
- Die Auftrennung der organischen Bodensubstanz nach ihrer Dichte zeigte am Beispiel des Reisbodens, daß vor allem eine Änderung von aeroben zu anaeroben Verhältnissen aufgrund des Fruchtfolgewechsels (Weizen-Reis) starken Einfluß auf die Kohlenstoff-Gehalte der einzelnen Fraktionen und damit auf die Dynamik der organischen Substanz insgesamt hatte. Diese Änderungen wurden besonders ersichtlich in den CH<sub>4</sub>-Bildungspotentialen der verschiedenen Fraktionen der organischen Substanz.
- Die Fraktion mit der Dichte 1,6 - 2,0 g cm<sup>-3</sup> (organische Feinsubstanz) wies die höchste CH<sub>4</sub>-Bildungsrate (0,11 - 0,15 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> FG) auf, während die Fraktion mit der Dichte 2,0 - 2,4 g cm<sup>-3</sup> (organo-mineralische Komplexe) die geringste Rate (0,03 - 0,09 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> FG) zeigte.
- Neben einer Verschiebung der Kohlenstoff-Gehalte innerhalb der einzelnen Fraktionen im Zuge des Fruchtfolgewechsels, zeigte die δ<sup>13</sup>C-Bestimmung einzelner Fraktionen deutlich an, daß während der anaeroben Phase (Reissaison) ein Teil des Kohlenstoffs im Zuge des anaeroben Abbaus der Methanogenese zugeführt wurde.

Die Ergebnisse zeigen, daß die CH<sub>4</sub>-Bildung weitgehend unabhängig vom absoluten Gehalt an organischem Kohlenstoff ist. Dagegen sind Herkunft, Qualität und Verweilzeit der verschiedenen C-Pools im Hinblick auf die CH<sub>4</sub>-Bildung von entscheidender Bedeutung. Die Untersuchungen verdeutlichen, daß eine Charakterisierung der Poolgrößen durch eine Differenzierung des organischen Substrates in verschiedene Fraktionen wichtige Zusatzinformationen in Hinblick auf die CH<sub>4</sub>-Emission von Böden liefert.

Aufgrund der vorliegenden Untersuchungen wird deutlich, daß die CH<sub>4</sub>-Emission aus Böden das Resultat eines komplexen Zusammenspiels zwischen abiotischen Faktoren wie Temperatur, Bodenart und Bodenfeuchte sowie einer standortangepaßten methanogenen Flora ist. Die qualitativ und quantitativ aufgezeigten Beziehungen zwischen abiotischen und biotischen Faktoren der CH<sub>4</sub>-Bildung können einen entscheidenden Beitrag zur Validierung und Entwicklung von Modellen zur Berechnung der CH<sub>4</sub>-Freisetzung leisten.

## II Summary

### Influence of temperature, oxygen and organic matter on methanogenesis in hydromorphic soils

The aim of this study was to investigate the influence of temperature, oxygen and soil organic matter on the methanogenesis of two different hydromorphic soils (marshland, riceland paddy) situated in different climatic regions.

Natural soil material as well as pure cultures of methanogenic bacteria isolated during this study, were used to investigate the adaptation of methanogenic microflora to the dominant in-situ-temperature:

- In the paddy soil methanogenesis had a temperature optimum at 47 °C with a rate of 14.1 nmol CH<sub>4</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> f.w. (fresh weight). In the temperature range 37 °C the CH<sub>4</sub> production was very low.
- In the marshland soil methanogenesis had a temperature optimum of 32 °C with a rate of 42.7 nmol CH<sub>4</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> f.w. and showed a second optimum (10.5 nmol CH<sub>4</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> f.w.) at 10 °C. CH<sub>4</sub> production rates of this soil were much higher than the corresponding rates of the paddy soil.
- Cell numbers of methanogenic bacteria from marshland soil using H<sub>2</sub>, acetate or formate as substrate were nearly the same when determined at 28 °C. In contrast, at 10 °C cell numbers determined in the presence of H<sub>2</sub> were significantly lower than in the presence of acetate or formate.
- Methanogenic bacteria were enriched and isolated from marshland soils at 10 °C, 17 °C and 28 °C. At 28 °C most of the enriched and pure cultures were obtained using H<sub>2</sub> as the substrate. At 10 °C and 17 °C most of the enrichment cultures used acetate, formate, methanol, ethanol or trimethylamine as substrate. Pure cultures of methanogenic bacteria grew between 5 °C and 47 °C. Temperature optima were situated in the range of 30 °C to 37 °C.

These results show the existence of different methanogenic populations adapted at low (< 20 °C) or high (○ 20 °C) in-situ-temperatures. The main reason for the adaptation could be the temperature dependent different availability of methanogenic substrates. The substrate availability depends on changing pathways of organic matter decomposition at different temperatures. At 10 °C low molecular organic acids like acetate or formate serve as substrates for methanogenesis while at higher temperatures H<sub>2</sub> is the main energy source for methanogens.

The influence of oxygen on survival and CH<sub>4</sub> production of methanogenic bacteria in their natural environment was investigated using soil slurries, different textured model soils and soil samples with the natural structure:

- In the oxic layers (Go horizons) of the investigated soils cell numbers of methanogenic bacteria were in the range of 10<sup>4</sup> cells g<sup>-1</sup> soil.
- CH<sub>4</sub> production under oxic conditions is enabled on one hand by the presence of aerobic and facultative anaerobic microflora which lower the O<sub>2</sub> partial pressure. On the other hand sorptive properties of soil particles like clay enable the aggregation of soil particles and biofilm formation which reduce the diffusion of O<sub>2</sub> to the anaerobic microorganisms.

- CH<sub>4</sub> production rates in the presence of oxygen determined in soil slurries showed 1 - 5 % of the rates under anoxic conditions. In contrast, CH<sub>4</sub> production measured under oxic conditions with natural structured soil samples showed 50 % of the rates under anoxic conditions.

The results show that a close relationship of aerobic respiration and anaerobic CH<sub>4</sub> formation represent a well established part of the CH<sub>4</sub> production process in natural ecosystems with changing oxygen conditions. The associated microflora develops in combination with the sorptive quality of soil particles (clay, silt, organic matter) a defence mechanism of the methanogenic bacteria against oxygen.

The influence of soil organic matter on methanogenesis was investigated using different pools of organic substrate obtained by physical and chemical fractionation. Additionally,  $\delta^{13}\text{C}$  values ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios) of the different fractions were analysed:

- The highest CH<sub>4</sub> production rates were determined in soil layers which also showed the highest values of acetate or dissolved organic carbon, respectively. An enrichment of  $^{13}\text{C}$  isotopes indicated that these layers were the main production zone of CH<sub>4</sub>. High CH<sub>4</sub> production rates did not correlate with high values of total organic carbon.
- Density fractionation of soil organic matter of the paddy soil showed that the alternation of oxic and anoxic conditions (wheat-rice-cropping-system) strongly influences the carbon content of the fractions and thus the dynamics of the organic substances. These changes became particularly evident in the CH<sub>4</sub> production potential of different organic matter fractions.
- The fraction with a density of 1.6 - 2.0 g cm<sup>-3</sup> showed the highest CH<sub>4</sub> production rate (0.11 - 0.15 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> f.w.), whereas the lowest rate (0.03 - 0.09 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> f.w.) was measured in the fraction with a density of 2.0 - 2.4 g cm<sup>-3</sup>.
- The change from oxic to anoxic conditions in the wheat-rice-cropping-system caused a shift in distribution of soil organic carbon between the various density fractions. The  $\delta^{13}\text{C}$  analysis of all fractions indicated that during the anaerobic rice cultivating season a part of organic carbon was decomposed by methanogenesis.

These results show that CH<sub>4</sub> production is independent of the total amount of organic carbon. However, origin, quality and turnover time of the different carbon pools have a strong influence on CH<sub>4</sub> production. The investigation indicates that the fractionation of soil organic matter in different carbon pools is a useful instrument for the characterisation of organic substrate with regard to CH<sub>4</sub> emission of soils.

The results presented show that CH<sub>4</sub> release is based on complex relations between abiotic factors like temperature, soil texture and soil moisture and the methanogenic microflora which is adapted to the natural soil ecosystem. The qualitative and quantitative relationships between abiotic and biotic factors of CH<sub>4</sub> production presented here are useful for the validation and development of calculation models for CH<sub>4</sub> emission from soils.

### III Abbildungsverzeichnis

<b>Abb. 2-1.</b>	Natürliche und anthropogene Quellen des atmosphärischen Methans von 1980 - 1990 nach IPCC 1994.....	4
<b>Abb. 2-2.</b>	Kreislauf des Methans und Prozesse in der Biogeosphäre.....	8
<b>Abb. 3-1.</b>	Übersichtskarte des Elbtales zwischen Hamburg und Cuxhaven mit der Lage des Untersuchungsgebietes Asseler Sand.....	18
<b>Abb. 3-2.</b>	Lage des Untersuchungsstandortes auf dem Asseler Sand. ....	20
<b>Abb. 3-3.</b>	Mittlere monatliche Niederschlagsmenge für die Jahre 1995 und 1996 an der Meßstation Glückstadt (Kreis Steinburg) sowie langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1931 bis 1960.....	22
<b>Abb. 3-4.</b>	Lufttemperaturen für die Jahre 1995 und 1996 an der Meßstation Glückstadt (Kreis Steinburg) sowie langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1949 bis 1969. ....	22
<b>Abb. 3-5.</b>	Bodenprofil einer <i>Flußrohmarsch</i> des Untersuchungsstandortes Asseler Sand (Schilfgürtel, Profil 1). ....	25
<b>Abb. 3-6.</b>	Übersichtskarte des Tai-Hu-Tieflandes der ostchinesischen Provinz Jiangsu mit der Lage des Untersuchungsgebietes im südlichen Stadtgebiet von Suzhou.....	27
<b>Abb. 3-7.</b>	Niederschlagsmengen 1994 an der Meßstation Suzhou und langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1951 bis 1980 (Meßstation Nanjing).....	29
<b>Abb. 3-8.</b>	Lufttemperaturen 1994 an der Meßstation Suzhou und langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1951 bis 1980 (Meßstation Nanjing).....	29
<b>Abb. 3-9.</b>	Untersuchungsflächen des Agriculture Institute of Wu County, Suzhou, mit der Lage der Bodenprofile .....	31
<b>Abb. 3-10.</b>	Bodenprofil eines <i>Aeric Epiaquent</i> unter später Weizenkultur (April 1995, Profil III) des Untersuchungsstandortes Suzhou (Tai-Hu-Tiefland). ....	32
<b>Abb. 3-11.</b>	Bodenprofil eines <i>Anthric Epiaquent</i> unter später Reiskultur (Oktober 1995, Profil V) des Untersuchungsstandortes Suzhou (Tai-Hu-Tiefland). ....	34
<b>Abb. 5-1.</b>	Saisonale Entwicklung der Zellzahlen methanogener Bakterien des Marschbodens mit Acetat oder H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> als Substrat.....	66
<b>Abb. 5-2.</b>	Mittelwerte der Zellzahlen methanogener Bakterien für das Untersuchungsprofil Asseler Sand in Abhängigkeit von der Jahreszeit .....	67
<b>Abb. 5-3.</b>	Saisonalen Verlauf der aktuellen Methanbildungsaktivität des Marschbodens in Abhängigkeit von der Tiefe. ....	68
<b>Abb. 5-4.</b>	Tiefenverteilung der Acetat-Gehalte im Winter- und Sommerhalbjahr für das Untersuchungsprofil des Asseler Sandes. ....	69
<b>Abb. 5-5.</b>	Tiefenverteilung der Zellzahlen methanogener Bakterien des Untersuchungsgebietes Suzhou am Ende der Reissaison .....	70
<b>Abb. 5-6.</b>	Aktuelle Methanbildungsraten des Untersuchungsgebietes Suzhou am Ende der Reissaison in Abhängigkeit von der Tiefe. ....	70
<b>Abb. 5-7.</b>	Tiefenverteilung des löslichen organischen Kohlenstoffs (DOC) am Ende der Weizen- und Reissaison des Untersuchungsgebietes Suzhou.....	72
<b>Abb. 5-8.</b>	Methanbildungspotentiale nach Zugabe von standortspezifischer organischer Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur .....	74
<b>Abb. 5-9.</b>	Zellzahlen methanogener Bakterien mit H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> , Acetat oder Formiat als Substrat für 10 °C und 28 °C .....	75

<b>Abb. 5-10.</b> Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von Ultradünnschnitten ausgewählter Bakterien.....	79
<b>Abb. 5-11.</b> Phylogenetischer Stammbaum der im Rahmen dieser Arbeit isolierten methanogenen Bakterien auf Basis von 16S-rRNA-Sequenz-Analysen. ....	83
<b>Abb. 5-12.</b> Einfluß von Acetylen auf die aerobe Methanoxidation in Marschbodenproben. ....	85
<b>Abb. 5-13.</b> Methanbildung von Marschbodenproben nach Überführung von anaeroben zu aeroben Bedingungen .....	86
<b>Abb. 5-14.</b> Methanbildung von <i>Methanosarcina mazei</i> (DSM 2053) mit Acetat in sterilisierten Marschproben .....	87
<b>Abb. 5-15.</b> Methanbildungsraten verschieden texturierter Modellböden im Vergleich zu einer Naturprobe (Marschboden).....	88
<b>Abb. 5-16.</b> Sauerstoffverbrauch der angeimpften Begleitflora und Methanbildung ebenfalls angeimpfter methanogener Bakterien im Modellboden <i>Sand</i> .....	89
<b>Abb. 5-17.</b> Tiefenprofil der Porengrößenverteilung des Marschbodens.....	90
<b>Abb. 5-18.</b> Wasserspannungskurve der ungestörten Marschbodenproben für die im Versuch eingesetzten Druckstufen.....	90
<b>Abb. 5-19.</b> Verlauf der Methanbildung unterschiedlich entwässerter, ungestörter Bodenproben .....	91
<b>Abb. 5-20.</b> Methanbildungsraten unterschiedlich entwässerter, ungestörter Bodenproben .....	92
<b>Abb. 5-21.</b> Tiefenverteilung des organischen Kohlenstoffs und des Gesamtstickstoffs des Untersuchungsprofils Asseler Sand.....	94
<b>Abb. 5-22.</b> Tiefenverteilung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der organischen Bodensubstanz des Untersuchungsprofils Asseler Sand .....	96
<b>Abb. 5-23.</b> Gewichtsbezogener Kohlenstoff-Anteil der einzelnen Dichtefractionen am organischen Kohlenstoff in Abhängigkeit von der Tiefe des Untersuchungsprofils Asseler Sand. ....	97
<b>Abb. 5-24.</b> $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der einzelnen Dichtefractionen der organischen Bodensubstanz sowie des pflanzlichen Ausgangsmaterials und der organischen Bodensubstanz in Abhängigkeit von der Tiefe des Untersuchungsprofils Asseler Sand. ....	99
<b>Abb. 5-25.</b> Tiefenverteilung des organischen Kohlenstoffs und des Gesamtstickstoffs am Ende der Weizen- und Reissaison des Untersuchungsgebietes Suzhou .....	99
<b>Abb. 5-26.</b> Tiefenverteilung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der organischen Bodensubstanz zweier ausgewählter Reisbodenprofile des Untersuchungsgebietes Suzhou. ....	101
<b>Abb. 5-27.</b> Tiefenprofil der $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der organischen Bodensubstanz aller untersuchten Profile und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des löslichen organischen Kohlenstoffs des Untersuchungsgebietes Suzhou .....	102
<b>Abb. 5-28.</b> Gewichtsbezogener Kohlenstoff-Anteil der einzelnen Dichtefractionen am organischen Kohlenstoff in Abhängigkeit von der Tiefe am Ende der Weizen- und Reissaison des Untersuchungsgebietes Suzhou .....	103
<b>Abb. 5-29.</b> $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Dichtefractionen sowie des pflanzlichen Ausgangsmaterials und der organischen Bodensubstanz in Abhängigkeit von der Tiefe am Ende der Weizen- und Reissaison.....	106
<b>Abb. 5-30.</b> Methanbildungspotentiale mit und ohne Reisstroh sowie mit verschiedenen Fraktionen der organischen Bodensubstanz.....	108
<b>Abb. 6-1.</b> Schema der vorherrschenden Abbauewege organischer Substanz im Zuge der Methanogenese bei niedrigen und hohen Temperaturen. ....	97

- Abb. 6-2.** Schema der Bodenfeuchte- und Bodenluftverhältnisse des untersuchten Marschbodens bei verschiedenen Wassergehalten. ....103
- Abb. 6-3.** Schema der möglichen Wechselwirkungen im Zuge der Methanogenese hydromorpher Böden bei einer prognostizierten Temperaturerhöhung. ....110

## IV Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 3-1.</b>	Standortdaten und Bodenmerkmale des Untersuchungsprofiles Asseler Sand (Schilfgürtel, Profil 1).....	26
<b>Tab. 3-2.</b>	Standortdaten und Bodenmerkmale des Untersuchungsprofiles unter später Weizenkultur, Suzhou (April 1995, Profil III).....	33
<b>Tab. 3-3.</b>	Standortdaten und Bodenmerkmale des Untersuchungsprofiles unter später Reiskultur, Suzhou (Oktober 1995, Profil V).....	35
<b>Tab. 5-1.</b>	Methanbildung des Marschbodens bei 10 °C und 20 °C mit verschiedenen Substraten im Vergleich zu einer Kontrolle ohne Substrat.....	76
<b>Tab. 5-2.</b>	Anreicherungskulturen methanogener Bakterien, die bei 10 °C und 17 °C mit verschiedenen Substraten gewonnen wurden.....	77
<b>Tab. 5-3.</b>	Ausgewählte morphologische Merkmale der aus Bodenproben des Asseler Sandes isolierten methanogenen Bakterien. ....	78
<b>Tab. 5-4.</b>	Ausgewählte physiologische Merkmale der aus Bodenproben des Asseler Sandes isolierten methanogenen Bakterien. ....	80
<b>Tab. 5-5.</b>	Ähnlichkeit der 16S-rRNA-Sequenzen ausgewählter Isolate methanogener Bakterien mit bekannten Arten. ....	68
<b>Tab. 5-6.</b>	Methanbildungsraten für Acetat und H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> als Substrat unter anaeroben, aeroben und mikroaerophilen Bedingungen.....	86
<b>Tab. 5-7.</b>	Prozentuale Aktivitätsanteile unter aeroben und anaeroben Bedingungen der unterschiedlich entwässerten, ungestörten Bodenproben bezogen auf 100 % Wassersättigung.....	92
<b>Tab. 5-8.</b>	δ <sup>13</sup> C-Werte wichtiger Pflanzen/Pflanzenorgane des Untersuchungsstandortes Asseler Sand.....	95
<b>Tab. 5-9.</b>	Organische Kohlenstoff-Gehalte der unfraktionierten organischen Bodensubstanz und der einzelnen Dichtefractionen.....	96
<b>Tab. 5-10.</b>	C/N-Verhältnisse des unfraktionierten Bodenmaterials und der Dichtefractionen.....	98
<b>Tab. 5-11.</b>	δ <sup>13</sup> C-Werte wichtiger Pflanzen/Pflanzenorgane des Untersuchungsstandortes Suzhou. ....	100
<b>Tab. 5-12.</b>	Organische Kohlenstoff-Gehalte der unfraktionierten organischen Bodensubstanz und der einzelnen Dichtefractionen am Ende der Weizen- und Reissaison. ....	102
<b>Tab. 5-13.</b>	C/N-Verhältnisse des unfraktionierten Bodenmaterials und der Dichtefractionen am Ende der Weizen- und Reissaison.....	104

### Tabellen im Anhang

<b>Tab. A-1.</b>	Korngrößenverteilung der Flußrohmarsch des Untersuchungsstandortes Asseler Sand (Schilfgürtel, Profil 1).....	147
<b>Tab. A-2.</b>	Korngrößenverteilung eines Anthric Epiaquent des Untersuchungsstandortes Suzhou unter Reiskultur.....	147
<b>Tab. A-3.</b>	Zellzahlen methanogener Bakterien für das Untersuchungsprofil Asseler Sand in Abhängigkeit von der Jahreszeit mit Acetat oder H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> als Substrat.....	147
<b>Tab. A-4.</b>	Methanbildungspotentiale nach Zugabe von standortspezifischer organischer Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur.....	148

---

<b>Tab. A-5.</b> Zellzahlen methanogener Bakterien des Untersuchungsprofils Asseler Sand mit Acetat, Formiat oder H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub> als Substrat für 10 °C und 28 °C.....	149
<b>Tab. A-6.</b> Methanbildungsraten verschieden texturierter Modellböden im Vergleich zu einer Naturprobe (Marschboden) unter aeroben und anaeroben Bedingungen.....	149
<b>Tab. A-7.</b> Methanbildungsraten unterschiedlich entwässerter, ungestörter Bodenproben des Untersuchungsprofils Asseler Sand unter aeroben und anaeroben Bedingungen.....	150
<b>Tab. A-8.</b> δ <sup>13</sup> C-Werte der organischen Bodensubstanz verschiedener Profile des Untersuchungsgebietes Suzhou.....	150
<b>Tab. A-9.</b> Methanbildungspotentiale mit und ohne Reisstroh sowie verschiedenen Fraktionen der organischen Bodensubstanz des Untersuchungsgebietes Suzhou.....	151

## V Abkürzungsverzeichnis

a	- Jahr
Abb.	- Abbildung
ad	- auffüllen auf
Aqua dest.	- destilliertes Wasser
AS	- Stammbezeichnung der isolierten methanogenen Stämme vom Untersuchungsstandort <i>Asseler Sand</i>
bzw.	- beziehungsweise
ca.	- circa
CH <sub>4</sub>	- Methan
cm	- Zentimeter
cm <sup>3</sup>	- Kubikzentimeter
C <sub>org</sub>	- organischer Kohlenstoff
CO <sub>2</sub>	- Kohlendioxid
d	- Tag
d.h.	- daß heißt
DNA	- Desoxyribonukleinsäure
DOC	- löslicher organischer Kohlenstoff (dissolved organic carbon)
DSM	- Deutsche Sammlung von Mikroorganismen
Eh	- Redoxpotential in Millivolt bezogen auf Standard-Wasserstoffelektrode
Fa.	- Firma
FG	- Frischgewicht
f.w.	- fresh weight
g	- Gramm
GC	- Gaschromatograph
Gew.%	- Gewichtsprozente
GOF	- Geländeoberfläche
Jh.	- Jahrhundert
h	- Stunde
H <sub>2</sub>	- Wasserstoff
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	- Wasserstoffperoxid
ha	- Hektar
Kap.	- Kapitel
kg	- Kilogramm
kHz	- Kiloherz
km	- Kilometer
km <sup>2</sup>	- Quadratkilometer
konz.	- konzentriert
kPa	- Kilopascal
l	- Liter
m	- Meter
m <sup>2</sup>	- Quadratmeter
M	- Molar
mesh	- Maschenweite (Stege pro 25,4 mm)
mg	- Milligramm
µg	- Mikrogramm
min	- Minute

ml	-	Milliliter
µl	-	Mikroliter
mm	-	Millimeter
mM	-	Millimolar
µm	-	Mikrometer
µmol	-	Mikromol
mmol <sub>c</sub>	-	Millimol pro Ionenladung
MPN	-	most probable number
MThw	-	mittleres Tidehochwasser
mV	-	Millivolt
n	-	Probenanzahl
N <sub>2</sub>	-	Stickstoff
n.b.	-	nicht bestimmt
nm	-	Nanometer
nmol	-	Nanomol
NN	-	Normal Null
NO <sub>x</sub>	-	Stickoxide
N <sub>2</sub> O	-	Distickstoffoxid
N <sub>t</sub>	-	Gesamtstickstoff
O <sub>2</sub>	-	Sauerstoff
P	-	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	-	Polymerasekettenreaktion (polymerase chain reaction)
PDB	-	Standardkalk aus der <b>Pee-Dee</b> -Formation in South Carolina eines <i>Belemnitella americana</i>
ppm(v)	-	parts per million (volumenbezogen)
r	-	Korrelationskoeffizient
rRNA	-	ribosomale Ribonukleinsäure
SDS	-	Natriumdodecylsulfat
s	-	Sekunde
SOM	-	organische Bodensubstanz (soil organic matter)
Tab.	-	Tabelle
TEM	-	Transmissionselektronenmikroskop
Tg	-	Terragramm
TG	-	Trockengewicht
TS	-	Trockensubstanz
u.a.	-	und andere
v.h.	-	vor heute
Vol.%	-	Volumenprozente
v/v	-	Volumen pro Volumen
W	-	Watt
WG	-	Wassergehalt
w/v	-	Masse pro Volumen
z.B.	-	zum Beispiel
ΔG <sup>0</sup>	-	freie Standardbildungsenthalpie
δ <sup>13</sup> C	-	<sup>13</sup> C/ <sup>12</sup> C-Verhältnis
Ø	-	Durchschnitt
°C	-	Grad Celsius
x g	-	Vielfaches der Erdbeschleunigung
%	-	Prozent
‰	-	Promille

## VI Glossar

- Acetogenese \* Acetatbildung: Teilprozeß des anaeroben mikrobiellen Abbaus organischer Substanz, bei dem Acetat durch die Reduktion von CO<sub>2</sub> mit Wasserstoff gebildet wird. Katalysiert wird diese Reaktion durch die Gruppe der sogenannten  $\hat{=}$  *homoacetogenen Bakterien*.
- acetotroph \* siehe  $\hat{=}$  *methanogene Bakterien*
- Aktivität \* Als Aktivität wird die mikrobielle Umsetzung eines  $\hat{=}$  *Substrates* pro Zeiteinheit durch eine Naturprobe oder eine Bakterienkultur bezeichnet. Die Aktivität wird in der Regel bei optimaler Substratversorgung bestimmt. Die angegebene Rate wird aus der linearen Abnahme des Substrates oder der linearen Bildung des Endproduktes berechnet.
- Bodenart \* Die Bodenart bezeichnet die Korngrößenzusammensetzung des mineralischen Bodenmaterials < 2 mm. Sie wird bestimmt durch die Anteile der Kornfraktionen Sand, Schluff und Ton.
- Sand ① Kornfraktion mit einem Äquivalentdurchmesser von 2000 - 63  $\mu$ m.
  - Schluff ① Kornfraktion mit einem Äquivalentdurchmesser von 63 - 2  $\mu$ m.
  - Ton ① Kornfraktion mit einem Äquivalentdurchmesser von < 2  $\mu$ m.
- Bodenhorizonte \* Bodenhorizonte sind annähernd parallel zur Bodenoberfläche verlaufende, durch Prozesse der Bodenbildung entstandene und annähernd einheitlich ausgebildete Bereiche des Bodens.
- Ah ① Mineralischer Oberbodenhorizont, der durch Akkumulation organischer Substanz gekennzeichnet ist.
  - Ap ① Humoser mineralischer Oberbodenhorizont, der durch regelmäßige Bodenbearbeitung geprägt ist (Pflughorizont).
  - fAh $\boxtimes$ Gr ① Fossiler (begrabener) Ah-Horizont, der durch Reduktionsmerkmale gekennzeichnet ist.
  - Go ① Mineralbodenhorizont, der durch Grundwassereinfluß gekennzeichnet ist und charakteristische Oxidationsmerkmale aufweist.
  - Gor ① Go-Horizont, der teilweise Reduktionsmerkmale aufweist (Übergangshorizont).
  - Gr ① Mineralbodenhorizont, der durch anhaltenden Grundwassereinfluß deutliche Reduktionsmerkmale aufweist.
  - Hardpan ① Für den Reisanbau charakteristischer Verdichtungshorizont, der durch regelmäßige Bodenbearbeitung entsteht und als Wasserstauer während der Reissaison dient.
- chemoorganotroph \* Als chemoorganotroph werden Mikroorganismen bezeichnet, die organische  $\hat{=}$  *Substrate* (Zucker u.a.) zur Energiegewinnung durch Reduktions-Oxidations-Reaktionen (Chemosynthese) nutzen.

fakultativ anaerob	* Als fakultativ anaerob werden Bakterien bezeichnet, die sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen Energie gewinnen können.
fermentative Bakterien	* Bezeichnung für Bakterien, die zur Energiegewinnung im Zuge von $\Omega$ Gärungsprozessen befähigt sind.
fluviatil	* Bezeichnung für Vorgänge, Produkte und Ablagerungen von Flüssen.
Gärung	* Sammelbezeichnung für Formen des anaeroben energieliefernden Stoffwechsels, bei denen Umwandlungsprodukte der organischen Substanz als Wasserstoffdonatoren und -akzeptoren dienen. Im Gegensatz zur Atmung handelt es sich um einen unvollständigen Abbau, an dessen Ende nicht CO <sub>2</sub> und Wasser, sondern relativ energiereiche Endprodukte wie beispielsweise Alkohole und Fettsäuren stehen.
Holozän	* Das Holozän stellt die geologische Gegenwart dar, es ist die jüngere Epoche des $\Omega$ Quartärs, die etwa vor 10.000 Jahren begann und bis heute andauert. Der Beginn des Holozäns wird in Mitteleuropa durch den Rückzug des Inlandeises markiert.
homoacetogene Bakterien	* Bakteriengruppe, deren hauptsächliches Stoffwechselendprodukt Acetat darstellt.
Horizonte	* siehe $\Omega$ Bodenhorizonte
hydrogenotroph	* siehe $\Omega$ methanogene Bakterien
in situ	* In natürlicher Lage oder Stellung, an Ort und Stelle, hier bezogen auf das natürliche Habitat.
Interglazial	* Zwischeneiszeit: Zeitraum zwischen zwei Vereisungsperioden, der durch wärmeres Klima und dadurch bedingtes starkes Abschmelzen des Eises charakterisiert ist.
lakustrisch	* Bezeichnung für Vorgänge, Produkte und Ablagerungen in Süßwasserseen.
lithoautotroph	* Als lithoautotroph werden Mikroorganismen bezeichnet, die anorganische $\Omega$ Substrate wie z.B. H <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub> und H <sub>2</sub> S (litho-) nutzten und die überwiegende Menge des Zellkohlenstoffs durch Fixierung von Kohlendioxid (autotroph) gewinnen.
Löß	* Eiszeitliches, im $\Omega$ periglazialen Trockenklima vom Wind transportiertes stark schluffiges Sediment, das beispielsweise im Windschatten von Gebirgen abgelagert wurde.
Marschböden	* Böden aus Sedimenten des Gezeiteneinflußbereiches, die durch hoch anstehendes Grundwasser charakterisiert sind.
mesophil	* siehe $\Omega$ Temperaturbereiche des mikrobiellen Wachstums
methanogene Bakterien	* Bakteriengruppe deren Stoffwechselendprodukt Methan ist. Methanogene Bakterien nutzen als Energie- und Kohlenstoff-

	Quelle Gärungsprodukte wie beispielsweise CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> , Acetat, Formiat und Methanol und bilden dabei Methan oder Methan und Kohlendioxid.
- acetotroph	① Methanogene Bakterien, die hauptsächlich Acetat als Energie- und Kohlenstoff-Quelle nutzen.
- hydrogenotroph	① Methanogene Bakterien, die hauptsächlich Wasserstoff als Energiequelle und CO <sub>2</sub> oder Acetat als Kohlenstoff-Quelle nutzen.
- methylotroph	① Methanogene Bakterien, die Methanol oder andere methylierte C-1-Verbindungen als Energie- und Kohlenstoff-Quelle nutzen.
Methanogenese	* Methanbildung: Terminaler, mikrobieller Abbau organischer Kohlenstoff-Verbindungen bei dem Methan und CO <sub>2</sub> als Endprodukte entstehen. Katalysiert wird die Methanbildung durch die $\Omega$ <i>methanogenen Bakterien</i> .
methylotrophe Bakterien	* Bakteriengruppe, die Methan oder C-1-Verbindungen wie Methanol oder Methylamine als Energie- und Kohlenstoff-Quelle nutzen. Als Endprodukt entsteht Kohlendioxid.
Periglazial	* Jene eiszeitlichen Gebiete, die die ständig von Schnee oder Eis bedeckten Flächen umrandeten.
perimarine Ablagerungen	* Süßwassersedimente im Gezeitenrückstauereich von Flüssen.
Permafrostböden	* Sammelbezeichnung für Böden, die unter den Klimabedingungen der Arktis oder des Hochgebirges entstanden und im Unterboden ständig gefroren sind. Während der kurzen Vegetationsperiode von etwa 60 Tagen tauen diese Böden oberflächlich bis maximal einen Meter unter der Geländeoberfläche auf.
Pleistozän	* Das Pleistozän („Eiszeitalter“) stellt die ältere erdgeschichtliche Epoche des $\Omega$ <i>Quartärs</i> dar, die vor etwa 2 Mio. Jahren begann und sich bis etwa 10.000 Jahre vor heute erstreckte.
(Pseudo-)Sarcinen	* Morphologischer Zelltyp methanogener Bakterien bei dem die Zellen als sogenannte Tetraden (4 Zellen in einem Verband) wachsen, aber im Gegensatz zu den echten Sarcinen einen lockeren Zellverband bilden, so daß in der Kultur auch coccoide Einzelzellen auftreten können.
psychrophil	* siehe $\Omega$ <i>Temperaturbereiche des mikrobiellen Wachstums</i>
psychrotroph	* siehe $\Omega$ <i>Temperaturbereiche des mikrobiellen Wachstums</i>
Quartär	* Das Quartär stellt die jüngste Periode der Erdgeschichte mit den beiden Epochen $\Omega$ <i>Pleistozän</i> und $\Omega$ <i>Holozän</i> dar, die vor etwa 2 Mio. Jahren begann.
Substrat	* allgemein soviel wie Unterlage, Grundlage
- bodenkundlich	① In der Bodenkunde stellen Gesteine (z.B. $\Omega$ <i>perimarine Ablagerungen</i> , $\Omega$ <i>Löß</i> ) die Substrate der Bodenbildung dar, die die mineralischen Bodenbestandteile liefern.

- mikrobiologisch      ① In der Mikrobiologie werden die für den Energiestoffwechsel nötigen Nährstoffe (Energie- und/oder Kohlenstoff-Quelle) als Substrate bezeichnet.
- syntrophe Bakterien      \* Heterogene Bakteriengruppe, die unter anderem höhere Alkohole und Fettsäuren zu Acetat und Wasserstoff umsetzt. Da aus thermodynamischen Gründen dieser Stoffwechselweg nur bei gleichzeitigem Verbrauch des entstehenden Wasserstoffs möglich ist, geschieht der Abbau der Gärungsprodukte in syntropher Assoziation mit H<sub>2</sub>-verbrauchenden Bakterien (z.B. hydrogeotrophe  $\hat{=}$  *methanogene Bakterien*).
- Temperaturbereiche des mikrobiellen Wachstums      \* Bakterien zeigen unterschiedliche Ansprüche an die bevorzugte Wachstumstemperatur. Folgende Temperaturbereiche werden unterschieden:
- psychrophil      ① Der Begriff ‚psychrophil‘ charakterisiert Bakterien, die Wachstum zwischen < 0 °C und 20 °C zeigen und ein Temperaturoptimum 15 °C besitzen.
- psychrotroph      ① Der Begriff ‚psychrotroph‘ charakterisiert Bakterien, die einen Wachstumsbereich von 0 °C bis 35 °C aufweisen und ein Temperaturoptimum 15 °C besitzen.
- mesophil      ① Der Begriff ‚mesophil‘ charakterisiert Bakterien mit gemäßigten Temperaturansprüchen. Das Temperaturoptimum von mesophilen Bakterien liegt bei 25 - 40 °C, während das Temperaturmaximum bei 35 - 45 °C erreicht wird.
- thermophil      ① Der Begriff ‚thermophil‘ charakterisiert Bakterien, die optimal im Temperaturbereich zwischen etwa 45 °C und 70 °C wachsen.
- thermophil      \* siehe  $\hat{=}$  *Temperaturbereiche des mikrobiellen Wachstums*
- Thermokline      \* Als Thermokline (auch Metalimnion) bezeichnet man bezogen auf die Wassertemperatur die sogenannte Sprungschicht des Wasserkörpers von Seen. Diese Zone ist durch einen steilen Temperaturgradienten gekennzeichnet. Über die Thermokline hinaus erfolgt keinerlei Wärmetransport in die Tiefe, so daß unterhalb der Sprungschicht, im Hypolimnion, die Temperatur annähernd konstant bei 4 °C liegt, was dem Dichtemaximum des Wassers entspricht.
- Tertiär      \* Das Tertiär stellt die ältere der beiden Formationen des Neozoi-kums dar, das vor etwa 65 Mio. Jahren begann und sich bis etwa 2 Mio. Jahre vor heute erstreckte.

## 1 Einleitung und Fragestellung

Die Methanogenese ist ein wichtiger mikrobiologischer Prozeß beim anaeroben Abbau organischer Substanz in hydromorph beeinflussten Böden. Natürliche Feuchtgebiete (Marschen, Moore, Sümpfe, Tundren) sowie Naßreiskulturen sind daher bedeutende Quellen für atmosphärisches Methan (ASELMANN & CRUTZEN, 1989; CRILL et al., 1991; BACHELET & NEUE, 1993; PFEIFFER, 1994a). Für die Methanemission aus Böden ist neben der Methanbildung die mikrobielle Methanoxidation in den aeroben Bodenkompartmenten ein bestimmender Faktor. Am Gesamtmethanbudget hat die bodenbürtige Methanemission einen Anteil von etwa 34 % (IPCC, 1994).

Wenig ist bisher darüber bekannt wie Bodeneigenschaften (Bodenart, Porosität, Redoxpotential, organische Substanz u.a.) und die Temperatur die Aktivität der methanogenen Flora und damit die Methanemission in terrestrischen Ökosystemen beeinflussen (MAYER & CONRAD, 1990; WANG et al., 1993a; WESTERMANN, 1993). Diese Faktoren sind maßgeblich für die großen Unterschiede in der Methanemission, wie sie beispielsweise für Marschen ( $0,001 - 440 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) und Reisböden ( $10 - 1440 \text{ mg CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ) angegeben werden (BARTLETT et al., 1985; DELAUNE et al., 1990; YAGI & MINAMI, 1990; CHEN et al., 1993; NUGROHO et al., 1994; PFEIFFER, 1993).

Alle mikrobiellen Umsetzungsprozesse, somit auch die Methanbildung, werden entscheidend von der Temperatur beeinflusst. Natürliche Feuchtgebiete wie Marschen und Moore sowie Reisböden unterliegen saisonalen Temperaturschwankungen, während beispielsweise Profundensedimente ein relativ konstantes Temperaturmilieu haben.

Die meisten methanogenen Bakterien zeigen ein Temperaturoptimum zwischen  $34 \text{ }^\circ\text{C}$  und  $42 \text{ }^\circ\text{C}$ , obwohl die in-situ-Temperatur natürlicher Habitats gewöhnlich sehr viel niedriger liegt (ZEIKUS & WINFREY, 1976; DUNFIELD et al., 1993; SCHULZ et al., 1997). Auf der anderen Seite ist seit langem bekannt, daß Bakterien bei niedrigen Temperaturen zu wachsen vermögen, so daß Anfang des Jahrhunderts der Begriff der Psychrophilie (kälteliebend) eingeführt wurde (SCHMIDT-NIELSEN, 1902). Aus verschiedenen Bakteriengruppen, wie beispielsweise den acetogenen und sulfatreduzierenden Bakterien sind psychrophile Arten bereits isoliert worden (KOTSYURBENKO et al., 1995; ISAKSEN & JØRGENSEN, 1996). Über Hinweise einer Anpassung der natürlichen methanogenen Population an niedrige in-situ-Temperaturen berichtete SVENSSON (1984).

Methanogene Bakterien weisen ein eingeschränktes Substratspektrum auf (JARRELL & KALMOKOFF, 1988), daher wird die Methanbildung außer von der Temperatur wesentlich von der Verfügbarkeit methanogener Substrate beeinflusst (KOTSYURBENKO et al., 1993). Im Zuge des anaeroben Abbaus der organischen Substanz durch die Mikroorganismengemeinschaft der anaeroben Nahrungskette werden verschiedene Verbindungen als Vorstufen für die Methanogenese zur Verfügung gestellt. Dabei stellen Wasserstoff und Acetat die wichtigsten methanogenen Substrate in terrestrischen Ökosystemen dar (WARD & WINFREY, 1986; THEBRATH et

al., 1992). Ihre Verfügbarkeit im Zuge der Methanogenese hängt entscheidend vom Gehalt an organischer Substanz und der Aktivität gärender Bakterien ab. Über die Anpassung gärender Bakterien an niedrige Temperaturen und die Verfügbarkeit methanogener Substrate bei verschiedenen Temperaturen ist bisher wenig bekannt (AMARAL & KNOWLES, 1994; NOZHEVNIKOVA et al., 1994; WESTERMANN, 1994).

Neben der Temperatur und der Verfügbarkeit methanogener Substrate wird die Methanbildung in natürlichen Habitaten durch den Sauerstoffgehalt beeinflusst. Methanogene Bakterien sind streng anaerobe Organismen, die nicht in der Lage sind Sporen oder andere Dauerstadien zu bilden. Wachstum und Methanbildung finden nur unter streng anaeroben Bedingungen statt (WHITMAN et al, 1992; FETZER et al., 1993). Reinkulturen methanogener Bakterien überleben in Gegenwart von Sauerstoff nur für wenige Stunden (KIENER & LEISINGER, 1983). Im Gegensatz dazu überlebt die natürliche Population methanogener Bakterien aerobe Bedingungen in Böden sehr gut (MAYER & CONRAD, 1990). Sogar in Wüstenböden, die normalerweise nicht als Habitate anaerober Bakterien angesehen werden, wurden methanogene Bakterien nachgewiesen (PETERS & CONRAD, 1995). Die habitatbedingte Sauerstofftoleranz der natürlichen methanogenen Population in Böden ist von großer ökologischer Bedeutung, da die meisten anaeroben Ökosysteme zumindest zeitweise in Kontakt mit Sauerstoff treten (JØRGENSEN, 1977; REVSBECH & WARD, 1984). Marschen sind beispielsweise durch schwankende Grundwasserstände und infolgedessen durch wechselnde Sauerstoffgehalte charakterisiert.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind Untersuchungen zum Einfluß der Temperatur, des Sauerstoffs und der organischen Bodensubstanz auf die Methanogenese in hydromorphen Böden. Besonders in Hinblick auf die Entwicklung von Modellen zur Berechnung der Methanfreisetzung ist es von großer Bedeutung, den Einfluß dieser Größen auf die Methanogenese zu kennen. Dabei standen folgende Fragen und Arbeitsschwerpunkte im Vordergrund:

1. Gibt es eine Anpassung der natürlichen methanogenen Flora an die vorherrschenden in-situ-Temperaturen?
  - Bestimmung der Zellzahlen methanogener Bakterien und ihrer in-situ-Aktivität in Abhängigkeit von der Temperatur in Böden unterschiedlicher Klimaregionen (subarktisch, gemäßigt, subtropisch).
  - Isolierung und Charakterisierung methanogener Bakterien eines Marschenbodens bei unterschiedlichen Temperaturen (10 °C, 17 °C, 28 °C).
2. Welche Faktoren des natürlichen Habitates Boden beeinflussen das Überleben der anaeroben methanogenen Bakterien in Gegenwart von Sauerstoff?
  - Untersuchungen zum Einfluß der aeroben und fakultativ anaeroben Begleitflora auf die Sauerstoffempfindlichkeit der methanogenen Bakterien.

- 
- Untersuchungen zum Einfluß der Bodenart auf das Methanbildungspotential in Gegenwart von Sauerstoff.
  - Bestimmung von Methanbildungspotentialen in Abhängigkeit vom Wassergehalt an ungestörten Bodenproben.
3. Welchen Einfluß hat die Qualität der organischen Bodensubstanz auf die Methanbildung?
- Fraktionierung der organischen Substanz nach physikalischen und chemischen Eigenschaften.
  - Isotopenanalytische Untersuchung des  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisses der gewonnenen Fraktionen.
  - Bestimmung von Methanbildungspotentialen ausgewählter Fraktionen der organischen Substanz.

## 2 Grundlagen

### 2.1 Methan in der Natur

Methan ( $\text{CH}_4$ ) ist eine einfache, bei Raumtemperatur gasförmige, farb- und geruchlose Verbindung aus Kohlenstoff und Wasserstoff. Es stellt das Anfangsglied der homologen Reihe der Alkane dar.

Die Entdeckung des auch als Sumpfgas bezeichneten Methans erfolgte 1667 durch SHIRLEY. 1776 führte der italienische Physiker Alessandro Volta (1745-1827) die erste Molekulargewichtsbestimmung von Methan durch (WOLFE, 1996).

Methan wird in der Natur sowohl durch abiogene als auch durch biogene Bildungsprozesse freigesetzt (KHALIL & SHEARER, 1993). Abiogenes Methan entsteht in geringen Mengen durch geothermische Prozesse, wie beispielsweise durch Vulkanismus oder in Hydrothermalquellen und bei unvollständiger Biomasseverbrennung, die etwa 7 % der Gesamtmethanemission ausmacht. CRUTZEN & ANDREAE (1990) geben den Anteil des Methans, das bei Waldbränden und Brandrodungen entsteht, mit 0,1 - 1,6 % des organischen Kohlenstoffs an. Zu den Quellen

**Abb. 2-1.** Natürliche und anthropogene Quellen des atmosphärischen Methans von 1980 - 1990 nach IPCC 1994 (geschätzt). Angegeben sind der prozentuale Anteil an der Gesamtproduktion sowie die produzierten Methanmengen [ $\text{Tg CH}_4 \text{ a}^{-1}$ ].

biogenen Methans zählt sowohl das fossile Methan der Erdgas-, Erdöl- und Kohlelagerstätten als auch das rezente Methan, welches beim mikrobiellen Abbau organischer Substanz unter anaeroben Bedingungen entsteht. Rezente Methanbildung findet vor allem in naturnahen Feuchtgebieten wie Marschen, Moore, Sümpfe, Tundren und in Sedimenten aquatischer Ökosysteme sowie in Reisfeldern statt (MITSCH & WU, 1995). Zu den anthropogen beeinflussten Quellen rezenten Methans gehören unter anderem das Darmsystem der Wiederkäuer (CRUTZEN et al., 1986) sowie Kläranlagen, Müll- und Schlickdeponien (BINGEMER & CRUTZEN, 1987; BOGENER et al., 1995; KUBMAUL et al., 1997). Biogene Prozesse stellen, mit einem Anteil von etwa 70 bis 80 % (WAHLEN et al., 1989), die wichtigste Quelle atmosphärischen Methans dar (DICKINSON & CICERONE, 1986). Eine Übersicht über die natürlichen und anthropogenen Quellen des atmosphärischen Methans mit ihren jeweiligen durchschnittlichen Anteilen an der Gesamtproduktion ist in Abbildung 2-1 dargestellt.

## 2.2 Methan als klimarelevantes Spurengas

Die Existenz von Methan in der Erdatmosphäre wurde 1948 von MIGEOTTE entdeckt. Methan gehört neben Kohlendioxid ( $\text{CO}_2$ ), Distickstoffoxid ( $\text{N}_2\text{O}$ ), Ozon ( $\text{O}_3$ ), Wasserdampf ( $\text{H}_2\text{O}$ ) und den Fluorchlorkohlenwasserstoffen (FCKWs) zu den wichtigsten Spurengasen, die zum sogenannten Treibhauseffekt beitragen (IPCC, 1994).

Die genannten Gase wirken wie Glasscheiben eines Treibhauses, indem sie den von der Erdoberfläche zurückgestrahlten, langwelligen Anteil des Sonnenlichts absorbieren. Die dadurch entstehende Wärmeenergie bleibt innerhalb des Treibhauses 'Erde' gefangen und führt zur Erwärmung der Atmosphäre.

In der Vergangenheit wurde vor allem der durch den Anstieg der atmosphärischen  $\text{CO}_2$ -Konzentration verursachte Treibhauseffekt untersucht und diskutiert. Obwohl die Konzentration des Methans in der Atmosphäre um etwa das 200fache niedriger ist als die  $\text{CO}_2$ -Konzentration (353 ppmv), hat Methan aufgrund seiner Molekülstruktur ein sehr viel höheres Wärmeabsorptionsvermögen. Bezogen auf Äquivalente des  $\text{CO}_2$  ergibt sich eine 26mal höhere Klimawirksamkeit des Methans als für Kohlendioxid (RODHE, 1990). Der Anteil des Methans am Treibhauseffekt wird auf 19 % geschätzt, während dem in vielfach höherer Konzentration vorhandenem Kohlendioxid ein 50%iger Anteil zugeschrieben wird (LELIEVELD et al., 1993). Darüber hinaus ist Methan an einigen wichtigen chemischen Prozessen in der Atmosphäre beteiligt und beeinflusst damit ihre chemische Zusammensetzung (CICERONE & OREMLAND, 1988; CRUTZEN, 1991). Beispielsweise wird in Gegenwart einer entsprechenden  $\text{NO}_x$ -Konzentration in der Troposphäre (bis 12 km Höhe) durch chemische Reaktionen des Methans Ozon ( $\text{O}_3$ ) gebildet. Modellkalkulationen zeigen, daß eine Verdoppelung der Methankonzentration zu einer 20%igen Steigerung des Ozons in der Atmosphäre führen könnte. Eine Verdoppelung des Ozons wiederum würde zu einem Temperaturanstieg um

0,9 °C führen (LACIS et al., 1981). In der Stratosphäre (bis 50 km Höhe) stellt die photochemische Oxidation von

Methan zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O die vorherrschende Quelle für Wasserdampf dar, welcher ebenfalls als klimarelevantes Treibhausgas gilt.

Die Entwicklung der atmosphärischen Methankonzentration konnte anhand von Eisbohrkernen der Arktis und Antarktis rekonstruiert werden (CRAIG & CHOU, 1982; CHAPPELLAZ et al., 1990). Die nacheiszeitliche Methankonzentration (ca. 18.000 Jahre vor heute) betrug demnach etwa 0,35 ppmv und stieg im Laufe der Jahrtausende aufgrund natürlicher Emissionen auf den vorindustriellen (ca. 18. Jh.) atmosphärischen Methangehalt von 0,79 ppmv an. Der Methangehalt der Atmosphäre hat sich seither mehr als verdoppelt und erreicht heute in der nördlichen Hemisphäre eine Konzentration von 1,72 ppmv während in der südlichen Hemisphäre die Gehalte mit 1,64 ppmv angegeben werden. Die Rate des jährlichen Methankonzentrationsanstieges in der Atmosphäre ist deutlichen Schwankungen unterlegen. So stieg die Methankonzentration in der Zeit von 1983 bis 1993 kontinuierlich um etwa 7 % an während in den Folgejahren ein geringerer Anstieg gemessen wurde (STEELE et al., 1992; KHALIL & RASMUSSEN, 1993). Als Gründe hierfür werden unter anderem die Klimabeeinflussung durch die Pinatubo-Eruption sowie eine erhöhte OH-Radikal-Konzentration in der Troposphäre als Folge von stratosphärischen Ozonverlusten genannt (CRUTZEN, 1994; KERR, 1994). Die durchschnittliche Anstiegsrate der atmosphärischen Methankonzentration wird für die Zeit seit 1980 mit etwa 0,013 ppmv bzw. etwa 1 % pro Jahr angegeben (WAHLEN, 1993). Verschiedene Autoren haben mit Modellrechnungen belegt, daß sich bei gleichbleibender Tendenz die Methankonzentration in den nächsten 40 bis 50 Jahren nochmals knapp verdoppeln wird (BADR et al., 1991; ANASTASI et al., 1992). Als Folge wären weitreichende Veränderungen des Klimas auf der Erde zu erwarten.

### 2.3 Der Methankreislauf

Methanbildung und Methanoxidation bilden den Methankreislauf, der über den anaeroben Mineralisationsprozeß einen wesentlichen Bestandteil des Kohlenstoff-Kreislaufes darstellt (WAHLEN, 1993). Der Umsatz des Kohlenstoffs aquatischer und terrestrischer Ökosysteme ist über die Atmosphäre dynamisch miteinander verbunden. Der Boden spielt im globalen Kohlenstoff-Kreislauf sowohl als Quelle als auch als Senke für Kohlendioxid und Methan eine herausragende Rolle (SCHARPENSEEL & PFEIFFER, 1995; SCHARPENSEEL, 1997). Weltweit sind etwa  $1.400 \times 10^{15}$  g Kohlenstoff im Boden gespeichert (POST et al., 1982), wobei die naturnahen Feuchtgebiete einen Anteil von etwa  $455 - 700 \times 10^{15}$  g haben. Damit weist der Boden, neben dem im Meer ( $38.600 \times 10^{15}$  g) und in fossilen Brennstoffen ( $10.000 \times 10^{15}$  g) gespeicherten Kohlenstoff, die größten Reserven der Erdkruste auf. Die Menge des Bodenkohlenstoffs ist etwa doppelt so hoch wie die Menge des atmosphärischen Kohlenstoffs ( $740 \times 10^{15}$  g). Ohne die Rückführung des Kohlenstoffs in die Atmosphäre wäre der als Kohlendioxid vorliegende atmosphärische Kohlenstoff in 20 Jahren verbraucht.

In Gegenwart von Sauerstoff wird der in Pflanzen und Tieren als organische Substanz festgelegte Kohlenstoff durch Mikroorganismen mineralisiert und der Atmosphäre in Form von CO<sub>2</sub> zurückgeführt. Unter anaeroben Bedingungen, wie sie in verschiedenen hydromorphen Böden (Marschen, Moore, Sümpfe, Reisfelder) durch Grund- und Stauwassereinfluß sowie Überflutungen vorliegen, erfolgt die Mineralisation der organischen Substanz über die Bildung von Methan, die einen Anteil von etwa 1 % an der Gesamtkohlenstoffmineralisation hat. Als wichtige Zwischenprodukte treten Acetat sowie Kohlendioxid und Wasserstoff auf, die im Zuge der Methanogenese weiter zu Methan reduziert werden (Abb. 2-2).

**Abb. 2-2.** Kreislauf des Methans und Prozesse in der Biogeosphäre (SOM = organische Bodensubstanz).

Der Bildung des Methans stehen verschiedene Abbauprozesse gegenüber. Böden und Sedimente stellen auch Senken für Methan dar (OREMLAND & CULBERTSON, 1992). Überall dort, wo in diesen Habitaten Sauerstoff zugegen ist, wird Methan durch mikrobielle Oxidation zu Kohlendioxid umgesetzt. PFEIFFER (1993) beispielsweise ermittelte für den aeroben Bodenbereich eines Hochmoores Methanoxidationsraten von etwa 4 % und für eine Flußmarsch Raten von etwa 70 %. FRENZEL et al. (1990) geben für den oxischen Sedimentbereich des Bodensees eine Methanoxidationsrate von etwa 93 % an. Neben der aeroben Methanoxidation wurde auch eine anaerobe Methanoxidation beobachtet, deren Ausmaß und Bedeutung jedoch noch unklar ist (PANGANIBAN et al., 1979; ZEHNDER & BROCK, 1980). Unter hohem Druck und bei niedrigen Temperaturen, wie sie beispielsweise in der Tiefsee herrschen, kann Methan auch in festem Zustand als Methanhydrat festgelegt und so dem Kohlenstoff-Kreislauf entzogen werden (KVENVOLDEN, 1988; MAKOGON, 1997).

Die Methanemission aller Quellen wird auf etwa  $0,4 \times 10^{15}$  g pro Jahr geschätzt, wobei die natürlichen Feuchtgebiete und Reisfelder je einen Anteil von etwa  $0,09 \times 10^{15}$  g haben (CICERONE & OREMLAND, 1988). Das in die Atmosphäre emittierte Methan unterliegt der photochemischen Oxidation, die eine ähnliche Größenordnung aufweist wie die mikrobielle Methanoxidation. Darüber hinaus entweichen ca. 10 % des atmosphärischen Methans in die Stratosphäre und werden damit dem Kohlenstoff-Kreislauf auf der Erde entzogen. Die Verweilzeit des Methans in der Atmosphäre beträgt etwa 8 bis 12 Jahre.

## 2.4 Methanogene Bakterien

Verantwortlich für die biogene Bildung von Methan ist eine Gruppe streng anaerober Mikroorganismen - die sogenannten methanogenen Bakterien (ZEIKUS, 1977; JONES et al., 1987; WHITMAN et al., 1992). Seit 1956 (BARKER) werden sie als eine taxonomisch einheitliche Gruppe aufgefaßt. Aufgrund charakteristischer Merkmale (Zellwandaufbau, Coenzyme u.a.) wurden die methanogenen Bakterien, gemeinsam mit den Halobakterien und den thermoacidophilen Bakterien, einem eigenständigen Reich zugeordnet - den Archaea (Archaeobakterien; WOESE et al., 1978).

Gegenwärtig sind 25 Gattungen mit 68 Arten bekannt (GARCIA, 1990; BOONE et al., 1993). Sie werden 10 Familien in 5 Ordnungen zugewiesen, von denen die Ordnungen *Methanobacteriales*, *Methanococcales* und *Methanomicrobiales* schon seit längerer Zeit beschrieben sind (BOONE & MAH, 1989). Die Familie *Methanosarcinaceae* wurde aufgrund physiologischer und phylogenetischer Unterschiede vor kurzem als eigene Ordnung *Methanosarcinales* vorgeschlagen (ROUVIÈRE et al., 1991). Ferner wurde der neu isolierte Organismus *Methanopyrus kandleri* (KURR et al., 1991) der ebenfalls neuen Ordnung *Methanopyrales* zugewiesen.

Unter den methanogenen Bakterien findet man nahezu alle morphologischen Typen: Coccen mit irregulärem Habitus (*Methanococcus vanniellii*), Paketcoccen/Pseudosarcinen (*Methanosarcina barkeri*, *Ms. mazei*), Stäbchen (*Methanobacterium bryantii*, *Mb. uliginosum*), Kurzstäbchen (*Methanobrevibacter ruminantium*), Spirillen (*Methanospirillum hungatei*) und Filamente (*Methanosaeta concilii*) sowie scheiben- und plattenförmige Vertreter (*Methanoplanus endosymbiosus*, *Mp. limicola*; ZEIKUS & BOWEN, 1975; SPROTT & BEVERIDGE, 1993). Neben den mesophilen Vertretern gibt es auch thermophile Arten (*Methanobacterium thermoautotrophicum*; ZEIKUS & WOLFE, 1972). In neuerer Zeit wird der Suche nach psychrophilen Stämmen mehr Aufmerksamkeit zuteil, da viele der methanogenen Habitate zu den kalten Klimaten gehören. Bisher gibt es erst ein Isolat der Gattung *Methanogenium*, das vermutlich psychrophile Eigenschaften aufweist (FRANZMANN et al., 1997).

Methanogene Bakterien sind in der Natur weit verbreitet. Da sie komplexe organische Verbindungen nicht direkt verwerten können, ist ihr Vorkommen stets eng an die Mikroorganismen

gemeinschaft der anaeroben Nahrungskette gebunden. Unter anaeroben Bedingungen wird organische Substanz zunächst durch fakultativ und obligat anaerobe Mikroorganismen, meist durch Gärungsprozesse, umgesetzt. Dabei entstehen unter anderem H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, Acetat, Formiat, Ethanol, Methanol und Methylamine. Diese Verbindungen werden von den methanogenen Bakterien als Energie- und Kohlenstoff-Quelle genutzt (BLAUT, 1994; DEPPENMEIER et al., 1996). Die Methanbildung (Methanogenese) stellt dabei den energieliefernden Schritt dar, entsprechend folgender Gleichungen:

(1) H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	$\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	( $\Delta G^0 = - 130\text{kJ/mol CH}_4$ )
(2) Acetat	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	( $\Delta G^0 = - 32\text{kJ/mol CH}_4$ )
(3) Formiat	$4\text{HCOO}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 3\text{CO}_2 + \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	( $\Delta G^0 = - 134\text{kJ/mol CH}_4$ )
(4) Ethanol	$2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{CH}_3\text{COOH}$	( $\Delta G^0 = - 116\text{kJ/mol CH}_4$ )
(5) Methanol	$\text{CH}_3\text{OH} \rightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	( $\Delta G^0 = - 106\text{kJ/mol CH}_4$ )
(6) TMA	$4(\text{CH}_3)_3\text{NH}^+ + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 9\text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + 4\text{NH}_4^+$	( $\Delta G^0 = - 76\text{kJ/mol CH}_4$ )

TMA = Trimethylamin

Aufgrund der hauptsächlich genutzten Substrate werden die methanogenen Bakterien in drei Gruppen eingeteilt (GARCIA, 1990; WHITMAN et al., 1992):

Die sogenannten hydrogenotrophen methanogenen Bakterien nutzen Wasserstoff als Energiequelle (Elektronen-Donator) und CO<sub>2</sub> als Elektronen-Akzeptor, das dabei zu Methan reduziert wird. Als Kohlenstoff-Quelle dient entweder CO<sub>2</sub> (chemolithoautotroph) oder Acetat (chemolithoheterotroph). Zu den chemolithoautotrophen methanogenen Bakterien zählen unter anderem die Gattungen *Methanobacterium* und *Methanococcus* und zu den chemolithoheterotrophen methanogenen Bakterien die Gattungen *Methanobrevibacter* und *Methanospirillum*. Die meisten der hydrogenotrophen methanogenen Bakterien können außerdem Formiat und einige wenige Arten auch kurzkettige Alkohole (WIDDEL, 1986; ZELLNER & WINTER, 1987) zur Energiegewinnung nutzen.

Die zweite Gruppe wird als methylotrophe methanogene Bakterien bezeichnet, da sie Methanol und andere methylierte C-1-Verbindungen als Energiequelle nutzt. Als Elektronen-Akzeptor dient die bei der Disproportionierung zurückbleibende Methyl-Gruppe, die zu Methan reduziert wird. Die meisten Arten der zu dieser Gruppe gehörenden Gattung *Methanosarcina* haben ein breites Substratspektrum und können außer Formiat alle anderen Substrate inklusive Methanol als Energiequelle nutzen. Im Gegensatz dazu sind die Vertreter der Gattungen *Methanlobus*, *Methanococcoides* und *Methanohalophilus* ausschließlich in der Lage mit methylierten Verbindungen zu wachsen. Als Besonderheit ist noch die Gattung *Methanosphaera* zu nennen, die Energie durch die Reduktion von Methanol zu Methan mit Wasserstoff als Elektronen-Donator gewinnt (MILLER & WOLIN, 1985)

Die dritte Gruppe wird als acetotrophe methanogene Bakterien bezeichnet. Sie nutzen hauptsächlich Acetat sowohl als Elektronen-Donator als auch als -Akzeptor (chemoorganoheterotroph). Obwohl Acetat als das hauptsächlichste Substrat für die Methano

genese in der Natur gilt (FERRY, 1993), sind nur Arten der weitverbreiteten Gattung *Methanosarcina* und Vertreter der Gattung *Methanosaeta* in der Lage, Acetat als Energiequelle zu nutzen, wobei die letzteren ausschließlich mit Acetat zu wachsen vermögen.

Die Mehrzahl der beschriebenen methanogenen Bakterien gehört im Gegensatz zu den in der Natur aufgrund der Acetat-Umsatzraten vermuteten Populationen zu den hydrogenotrophen Organismen (77 %), während knapp ein Viertel der Arten zu den methylotrophen und acetotrophen methanogenen Bakterien gerechnet werden. Der wesentliche biochemische Unterschied der verschiedenen Gruppen besteht darin, daß bei der Reduktion von Kohlendioxid mit Wasserstoff ausschließlich Methan gebildet wird, während bei der Energiegewinnung aus Acetat und Methanol neben Methan auch Kohlendioxid entsteht. Zehn Arten werden als obligat methylotroph angesehen und etwa 3 % nutzen Wasserstoff, um Methanol zu Methan zu reduzieren

Als Besonderheit der methanogenen Bakterien sind die sechs an der Methanbildung beteiligten Coenzyme (z.B. Coenzym M, Nickel-Tetrapyrrol-Faktor F<sub>430</sub>) zu nennen, die mit Ausnahme vom Coenzym F<sub>420</sub> bisher einzig in dieser Mikroorganismengruppe gefunden wurden (JONES et al., 1987; DiMARCO et al., 1990). Über die an den einzelnen Reaktionen beteiligten Enzyme und deren Regulation ist bisher vergleichsweise wenig bekannt (WHITE & ZHOU, 1993; EGGEN, 1994). Demgegenüber verläuft die autotrophe CO<sub>2</sub>-Fixierung über den Acetyl-CoA-Weg (FUCHS & STUPPERICH, 1986), dessen sich auch andere Bakterien bedienen.

## 2.5 Anaerober Abbau organischer Substanz

Unter anaeroben Bedingungen vollzieht sich der Abbau der organischen Bodensubstanz unter Bildung von Methan. Für den anaeroben Abbau ist im Gegensatz zum aeroben Abbau eine stufenweise Oxydation der komplexen organischen Verbindungen durch verschiedene Gruppen von Mikroorganismen der anaeroben Nahrungskette charakteristisch (ZEIKUS, 1983; NEDWELL, 1984). Am Ende dieser Kette steht die Methanogenese, die den wichtigsten terminalen Abbauschritt darstellt. Die methanogenen Bakterien stehen dabei mit den anderen Bakteriengruppen der anaeroben Nahrungskette in vielfältigen Wechselbeziehungen (WOLIN, 1976; LOVLEY & KLUG, 1982; JONES & SIMON, 1985; ZEHNDER & STUMM, 1988; STAMS, 1994).

Die Mikroorganismen der anaeroben Nahrungskette lassen sich in verschiedene Gruppen einteilen, die ihrer Funktion nach für unterschiedliche Stufen der anaeroben Kohlenstoff-Mineralisation stehen (WOLFE & HIGGINS, 1979; CAPONE & KIENE, 1988; SCHINK, 1992).

Am Anfang stehen fakultativ oder obligat anaerobe Bakterien, die durch extrazelluläre Enzyme polymere Verbindungen wie Cellulose, Hemicellulose, Pectin, Chitin, Stärke, Proteine und Fette in lösliche monomere Substanzen (Monosaccharide, Aminosäuren, Fettsäuren) hydrolysieren. Zu dieser ersten Abbaustufe gehören Bakterien unterschiedlicher

Gattungen wie zum Beispiel *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Clostridium* und *Ruminococcus*. (MAH, 1982, SCHINK & ZEIKUS, 1982).

In der sogenannten fermentativen Stufe werden anschließend die monomeren Verbindungen im Zuge verschiedener Gärungen unter anderem zu Acetat, Formiat, Butyrat, Propionat, Lactat, Methanol, Ethanol, Propanol sowie H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> umgewandelt. Zu dieser ebenfalls heterogenen Gruppe gehören Bakterien der Gattungen *Acetobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* und *Succinivibrio*.

Der weitere Umsatz der Gärungsprodukte, die nicht bereits von den methanogenen Bakterien genutzt werden können, findet durch H<sub>2</sub>-bildende acetogene Bakterien („protonen-reduzierende“ Bakterien) statt (FERRY & WOLFE, 1976). Zu dieser Gruppe gehören unter anderem die Arten *Clostridium bryantii*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Syntrophobacter wolinii* und *Syntrophomonas wolfei* (BRYANT et al., 1977; BOONE & BRYANT, 1980; MCINERNEY et al., 1981; STIEB & SCHINK, 1985). Aus thermodynamischen Gründen ist der Abbau höherer Alkohole und Fettsäuren sowie Lactat zu Acetat und H<sub>2</sub> nur bei gleichzeitigem Verbrauch des gebildeten Wasserstoffs möglich. Dies geschieht in syntropher Assoziation (interspecies hydrogen transfer) mit H<sub>2</sub>-verbrauchenden Bakterien. Als Partner stehen dabei die methanogenen Bakterien im Vordergrund (MCINERNEY et al., 1979; MOUNTFORT & BRYANT, 1982). Als H<sub>2</sub>-verbrauchende Organismen können außerdem die sulfatreduzierenden und acetogenen Bakterien fungieren.

Zu den acetogenen Bakterien im engeren Sinne (z.B. *Acetobacterium woodii*, *A. carbinolicum*, *Clostridium aceticum*, *Desulfotomaculum orientis*) gehören Mikroorganismen, die C<sub>1</sub>-Verbindungen (CO<sub>2</sub>, Methanol, Formiat) aber auch Hexosen und Pentosen zu Acetat (Acetogenese) umsetzen (BALCH et al., 1977; BRAUN et al., 1981; EICHLER & SCHINK, 1984; KLEMPs et al., 1985). Neben ihrer Bedeutung als syntrophe Partner fällt ihnen vor allem beim Abbau organischer Substanz bei niedrigen Temperaturen eine besondere Rolle zu (NOZHEVNIKOVA et al., 1994; SCHULZ & CONRAD, 1995).

Am Ende der anaeroben Abbaukette können die niedermolekularen organischen Substanzen sowie CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> durch die terminalen Prozesse endgültig mineralisiert werden. Neben der Methanogenese haben die Sulfat- und Nitratreduktion große ökologische Bedeutung. Welcher dieser Prozesse in einem Ökosystem dominiert, hängt vor allem von der Sulfat- und Nitratkonzentration sowie vom Redoxpotential ab. Beispielsweise werden die wichtigsten anaeroben Abbauprodukte Acetat, CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> sowohl von den methanogenen als auch von den sulfatreduzierenden Bakterien genutzt. In Gegenwart hoher Sulfatkonzentrationen, wie sie für marine Habitate typisch sind, dominiert der Prozeß der Sulfatreduktion aufgrund thermodynamisch und kinetisch günstigerer Bedingungen (WARD & WINFREY, 1986). In limnischen und terrestrischen Ökosystemen mit niedriger Sulfatkonzentration dominiert die Methanogenese.

## 2.6 Isotopieeffekte beim mikrobiellen anaeroben Abbau organischer Substanz

Der in der Natur vorkommende Kohlenstoff besteht zu 98,89 % aus dem leichten Isotop  $^{12}\text{C}$  und zu 1,11 % aus dem schwerem Isotop  $^{13}\text{C}$  (CRAIG, 1953). Die Isotopenzusammensetzung

der organischen Substanz in hydromorphen Böden ist zum einen abhängig von der Isotopensignatur der pflanzlichen Biomasse und zum anderen von den mikrobiellen Prozessen der anaeroben Nahrungskette (STEVENS, 1993; WHITICAR, 1993).

Bei enzymatischen Umsetzungen von Kohlenstoff-Verbindungen (z.B. bei der CO<sub>2</sub>-Fixierung im Zuge der Photosynthese) kommt es zu einer Fraktionierung der Kohlenstoff-Isotope. Daher weisen aufgrund des unterschiedlichen Photosynthesemechanismus C<sub>3</sub>-Pflanzen wie beispielsweise Weizen, Reis und Gräser der gemäßigten Breiten  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von etwa -27 ‰ auf. Im Gegensatz dazu findet bei der Photosynthese der C<sub>4</sub>-Pflanzen (z.B. Mais, Zuckerrohr und Gräser semiarider Gebiete) nur eine geringe Fraktionierung gegenüber dem atmosphärischen CO<sub>2</sub> ( $\delta^{13}\text{C} \approx -8 \text{ ‰}$ ) statt. Aus diesem Grund weisen C<sub>4</sub>-Pflanzen einen  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von etwa -13 ‰ auf (BOUTTON, 1996).

Eine Isotopenfraktionierung als Resultat der mikrobiellen Methanbildung ist schon seit längerem bekannt (ROSENFELD & SILVERMAN, 1959). Dabei handelt es sich um den größten in der Natur vorkommenden Isotopieffekt (WHITICAR et al., 1986). Aufgrund einer niedrigeren Aktivierungsenergie (KRUMBIEGEL, 1970) werden im Zuge des anaeroben Abbaus der organischen Substanz die aus leichteren Kohlenstoff-Isotopen bestehenden Anteile schneller umgesetzt. Das resultierende Methan ist daher mit  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten zwischen -110 und -50 ‰ deutlich an <sup>13</sup>C angereichert (TYLER, 1991). Es zeigen sich klare Unterschiede hinsichtlich der beiden Hauptbildungspfade der Methanogenese. Das während der Acetat-Fermentation gebildete Methan ist deutlich schwerer (-70 bis -50 ‰) als das aus der CO<sub>2</sub>-Reduktion stammende Methan (-110 bis -60 ‰; WHITICAR et al., 1986). Die Isotopensignatur des gebildeten Methans kann jedoch durch Oxidationsprozesse überprägt werden. Das leichtere Methan oxidiert schneller, so daß das verbleibende Methan an schwerem Kohlenstoff angereichert wird (COLEMAN et al., 1981). Ein ähnlicher Effekt kann auch bei der molekularen Diffusion beobachtet werden. Das leichte Methan diffundiert schneller bzw. hat eine kürzere Verweilzeit in den oxidischen Bodenzonen, so daß es auch hier zu einer Isotopenfraktionierung kommt (BERGAMASCHI & HARRIS, 1995).

Die unter anaeroben Bedingungen im Boden angereicherte organische Substanz (C<sub>3</sub>-Pflanzen) zeigt mit  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten zwischen -22 und -20 ‰ eine deutliche Anreicherung an schwerem <sup>13</sup>C-Kohlenstoff (SCHARPENSEEL & NEUE, 1984; NAKAMURA et al., 1990; PFEIFFER, 1994b).

Isotopenanalytische Untersuchungen der organischen Bodensubstanz sowie des gebildeten Methans können wertvolle Informationen über den globalen Kohlenstoff-Kreislauf und die an der Methanbildung beteiligten Prozesse liefern (STEVENS & ENGELKEMEIR, 1988; LOWE et al., 1994; TYLER, 1994; BOUTTON, 1996).

## 2.7 Bedeutung terrestrischer Ökosysteme für die Methanfreisetzung

Wie bereits erwähnt stellen hydromorphe Böden eine wichtige Quelle atmosphärischen Methans dar. Abbildung 2-1 verdeutlicht, daß natürliche Feuchtgebiete und Reisfelder einen bedeutenden Anteil (etwa 34 %) an der Gesamtmethanemission haben.

Der globale Flächenanteil der Feuchtgebiete beträgt etwa  $5,7 \times 10^6 \text{ km}^2$ . Ihr Anteil an der globalen Methanemission wird auf 40 - 160 Tg  $\text{CH}_4 \text{ a}^{-1}$  oder 22 % geschätzt (ASELMANN & CRUTZEN, 1990).

Obwohl die Marschen nur einen Flächenanteil von etwa 5 % ( $0,3 \times 10^6 \text{ km}^2$ ) haben, tragen sie zu etwa 20 % (12 - 30 Tg  $\text{CH}_4 \text{ a}^{-1}$ ) an der Methanemission aus natürlichen Feuchtgebieten bei. Für die Methanemission der Marschen in Deutschland gibt es bisher nur eine grobe Schätzung des Umweltbundesamtes, das eine Rate zwischen 20 und 950 mg  $\text{CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  angibt. Ergebnisse einer mehrjährigen Meßkampagne an einem Flußmarschenstandort der Unterelbe zeigen Emissionsraten zwischen 0 - 48 mg  $\text{CH}_4 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  (PFEIFFER, 1997).

Moore machen knapp 50 % ( $3,2 \times 10^6 \text{ km}^2$ ) der Fläche der Feuchtgebiete aus. Die größten Moorflächen sind in Nordamerika und Kanada sowie in Nordeuropa und Westsibirien zu finden. An der globalen Methanemission aus natürlichen Feuchtgebieten sind Moore zu etwa 13 % (5 - 20 Tg  $\text{CH}_4 \text{ a}^{-1}$ ) beteiligt (ASELMANN & CRUTZEN, 1989). Deutschland weist mit einer Fläche von  $1,4 \times 10^4 \text{ km}^2$  den höchsten Mooranteil in Mitteleuropa auf. Für Hoch- und Niedermoore in Norddeutschland wird eine Methanemission von 11 - 155 mg  $\text{m}^{-2} \text{ d}^{-1}$  angegeben (AUGUSTIN et al., 1996; PFEIFFER, 1997).

Die subarktischen und arktischen Tundren oberhalb des 60sten nördlichen Breitengrades nehmen weltweit eine Fläche von  $1,5 \times 10^6 \text{ km}^2$  ein (HARRIS et al., 1993). Sie stellen mit 26 % flächenmäßig die größte Gruppe der natürlichen Feuchtgebiete dar (MATTHEWS & FUNG, 1987). Die Angaben über die Methanemissionen aus diesen Gebieten schwanken stark und werden mit etwa 1 - 42 Tg  $\text{CH}_4 \text{ a}^{-1}$  angegeben (SVENSSON & ROSSWALL, 1984; WHALEN & REEBURGH, 1992; NAKAYAMA, 1995). Darüber hinaus fällt den Tundren als globalem Kohlenstoff-Speicher eine besondere Rolle zu. In diesen Gebieten sind etwa 14 % des weltweiten Bodenkohlenstoffs gespeichert (Post et al., 1982). Ihre Bedeutung wird vor allem in Hinblick auf eine zu erwartende Klimaerwärmung diskutiert (BILLINGS, 1987).

Die restliche Fläche der natürlichen Feuchtgebiete von etwa  $0,7 \times 10^6 \text{ km}^2$  verteilt sich auf Schwemmländer und Seen. Dabei wird der Anteil der Schwemmländer an der globalen Methanemission mit 14 - 84 Tg  $\text{CH}_4 \text{ a}^{-1}$  (etwa 35 %) und der Anteil der Seen mit 1 - 5 Tg  $\text{CH}_4 \text{ a}^{-1}$  (etwa 2 %) angegeben (ASELMANN & CRUTZEN, 1990).

Neben diesen natürlichen Methanquellen spielt der anthropogen bewirkte Naßreisanbau eine große Rolle. Nach der Rinderhaltung ist der Reisanbau mit einer Methanemission von etwa 25 - 170 Tg  $\text{a}^{-1}$  (WATSON et al., 1992) die zweitgrößte biogene Quelle atmosphärischen Methans. Dies entspricht etwa 5 - 30 % der globalen Methanemission aller Quellen. Der Flächenanteil des weltweiten Reisanbaus beträgt etwa  $1,4 \times 10^6 \text{ km}^2$  (NEUE, 1993), wovon auf China als ertragreichstes Reisanbauland der Welt  $3,2 \times 10^5 \text{ km}^2$  (22 %) entfallen (WANG et al., 1994). Aufgrund der Bedeutung von Reis für die Welternährung wächst die Reisanbaufläche weiter und führt so zu einer verstärkten Methanfreisetzung aus Reisböden (PENG et al., 1995).

Die jährliche Anstiegsrate der Reisanbauflächen wird für den Zeitraum 1959 bis 1985 mit 1,2 % angegeben (MINAMI & NEUE, 1994). Demgegenüber stehen Bemühungen zur Reduktion der Methanfreisetzung aus dem Naßreisanbau (NEUE et al., 1995).

### 3 Charakterisierung der Untersuchungsgebiete

#### 3.1 Asseler Sand (Assel, Norddeutschland)

##### 3.1.1 Lage und naturräumliche Gliederung

Die untersuchte Marsch gehört zum nordwestlich von Hamburg gelegenen Kehdinger Land. Das Gebiet schließt den Teil der Stader Elbmarsch ein, der zwischen den Flüssen Schwinge und Oste liegt (MEYNEN & SCHMITHÜSEN, 1965), im Süden an das Alte Land grenzt und sich im Norden bis zur Ostemündung erstreckt (Abb. 3-1).

**Abb. 3-1.** Übersichtskarte des Elbtales zwischen Hamburg und Cuxhaven mit der Lage des Untersuchungsgebietes Asseler Sand (schwarze kreisrunde Markierung).

Der eigentliche Untersuchungsstandort liegt im ‚Asseler Sand‘. Der Asseler Sand war noch im 18. Jahrhundert eine Insel und wurde im 19. Jahrhundert durch Absperrung der Nebenelbe mit dem Hinterland verbunden. Seit der Eindeichung Mitte des 18. Jahrhunderts wurden die Vordeichsflächen im Gegensatz zum Hinterland um bis zu 3 m über NN aufgeschlickt. Die heutige Sedimentation ist gering und beträgt maximal 9 mm im Jahr. Der Asseler Sand wird im Osten und Norden von der Elbe (Stromkilometer 667) im Westen durch den Ruthenstrom

und im Süden durch die Barnkruger Süderelbe begrenzt (Abb. 3-2). Das untersuchte Bodenprofil

(Profil 1) befindet sich im Schilfgürtel des Deichvorlandes (R: <sup>35</sup>29,86/H: <sup>59</sup>52,76), das die typische Abfolge von Grünlandflächen, Schilfgürtel und Wattzone zeigt.

Gemäß der hydrographischen Einteilung des Elbe-Ästuars nach CASPERS (1959) erstreckt sich die Brackwasserzone (0,5 - 30 ‰ Salinität) der Unterelbe von Cuxhaven bis nach Glückstadt. Daran schließt sich der limnische Bereich (< 0,5 ‰ Salinität), in dem sich der Untersuchungsstandort befindet, an. Aufgrund des Gezeiteneinflusses kann sich diese Grenze zeitweise elbaufwärts bis nach Stade/Bützfleht und zum Teil noch weiter elbaufwärts verschieben.

**Abb. 3-2.** Lage des Untersuchungsstandortes auf dem Asseler Sand. Kartengrundlage: Topographische Karte 1:25000, Blätter 2222 Glückstadt und 2322 Stade Nord (1993), verändert.

Der Untersuchungsstandort wurde bereits im Rahmen des *Sonderforschungsprogrammes 327 - Tide-Elbe* bodenhydrologisch charakterisiert. Seit 1991 fanden auf dieser Fläche

verschiedene Untersuchungen zur Methanfreisetzung (WAGNER, 1993; KNOBLAUCH, 1994; GERUNDT, 1997; MAUCH, 1997; PFEIFFER, 1997) statt.

### 3.1.2 Landschaftsgenese

Die Bildung der ausgedehnten Marschlandschaft seit dem Quartär (2 Mill. Jahre bis heute) nördlich und südlich der Elbe geht auf die Entstehung des Elbe-Urstromtales und seiner nach-eiszeitlichen Entwicklung zurück.

Als Urstromtäler werden nach KEILHACK (1898) die eisrandparallelen Entwässerungsbahnen der pleistozänen Gletscher (Elster-, Saale- und Weichsel-Vereisung) bezeichnet.

Die Gletscher der Elster- (500.000 - 215.000 v.h.) und frühen bzw. mittleren Saale-Kaltzeit (220.000 - 130.000 v.h.) lagen im Bereich des heutigen Elbtales und entwässerten weiter südlich in Richtung des Weser-Aller-Urstromtales. Im Gegensatz dazu stieß das Eis während der jüngeren Saale-Kaltzeit (130.000 - 120.000 v.h.) aus östlicher Richtung vor, so daß erstmalig der Abfluß des Schmelzwassers im nach Westen verlaufenden Elbtal möglich wurde. Die Gestalt und Ausprägung des Elbtales in seiner heutigen Form ist jedoch weitgehend das Ergebnis der letzten Vereisung (Weichsel-Kaltzeit, 90.000 - 10.000 v.h.), während der die Eismassen ca. 20 km vor der Elbe zum Stillstand kamen. Das Untersuchungsgebiet befindet sich daher in der Randzone der Weichsel-Vereisung und unterlag periglazialen Formungsprozessen.

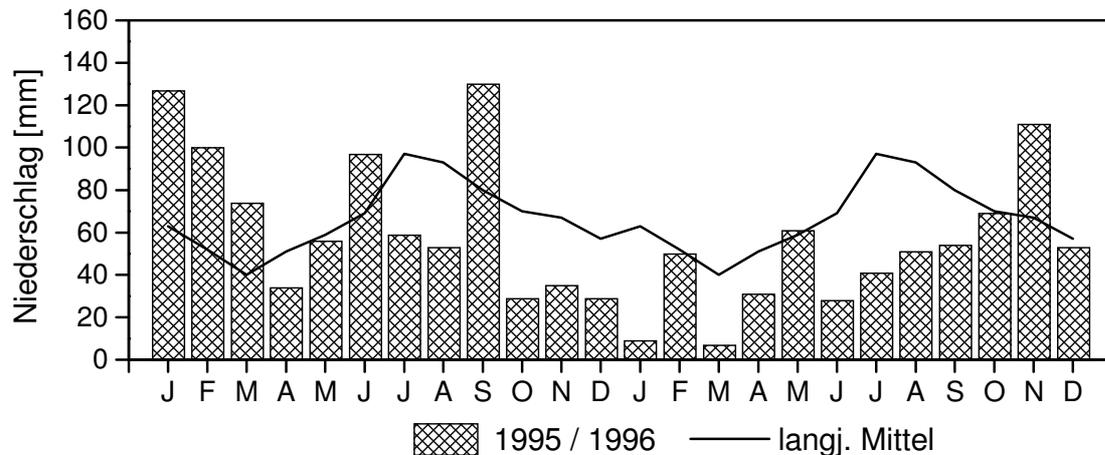
EHLERS (1990) beschreibt aufgrund der Sedimentabfolge drei große Formungsphasen des Urstromtales: In der ersten Phase (Erosionsphase) wurde gegen Ende der Saale-Vereisung das Tal durch Erosionsprozesse bis zu einer Tiefe von -30 m ü. NN eingeschnitten. Es schließt sich die zweite Phase (Verfüllungsphase) an, in der die tiefen Rinnen durch Schmelzwassersande und Kiese zum Teil wieder verfüllt wurden. Im Holozän (etwa 10.000 v.h.) kam es in Folge des Rückzuges der Gletscher zum Meeresspiegelanstieg, wodurch es zur Ablagerung vorwiegend marinogener Sedimente im Gezeiteneinflußbereich des Elbestroms (Phase der tidebeeinflußten Sedimentation) kam. Diese Sedimente bildeten das Substrat für die Genese der Marschböden. Der häufige Wechsel von Erosion und Sedimentation während der letzten Vereisung hat zur Ausbildung zahlreicher Rinnen und Uferwälle geführt, welche heute teilweise zu Nebenarmen der Elbe ausgebildet sind.

Die Entwicklung der Elbmarsch ist seit dem Spätholozän stark durch anthropogene Einflüsse überprägt worden. Beispielsweise verstärkte sich im Zuge der Abholzung am Ober- und Mittellauf der Elbe die Erosion, wodurch am Unterlauf eine verstärkte Sedimentation einsetzte. Im Zusammenhang mit der Besiedelung der Elbmarschen wurden die Gebiete seit dem 12. Jahrhundert eingedeicht und entwässert. Heute wird die Marschlandschaft vor allem durch den Ausbau der Elbe zum Großschiffahrtsweg beeinflusst, womit eine Erhöhung des Tidehubs und der Strömungsgeschwindigkeit einhergeht.

Die heutige Landschaft südlich der Elbe gliedert sich in zwei langgestreckte Landschaftszonen: Erstens die mehrere Kilometer breite Marsch und zweitens das Gebiet der Randmoore, das in das Geestvorland übergeht.

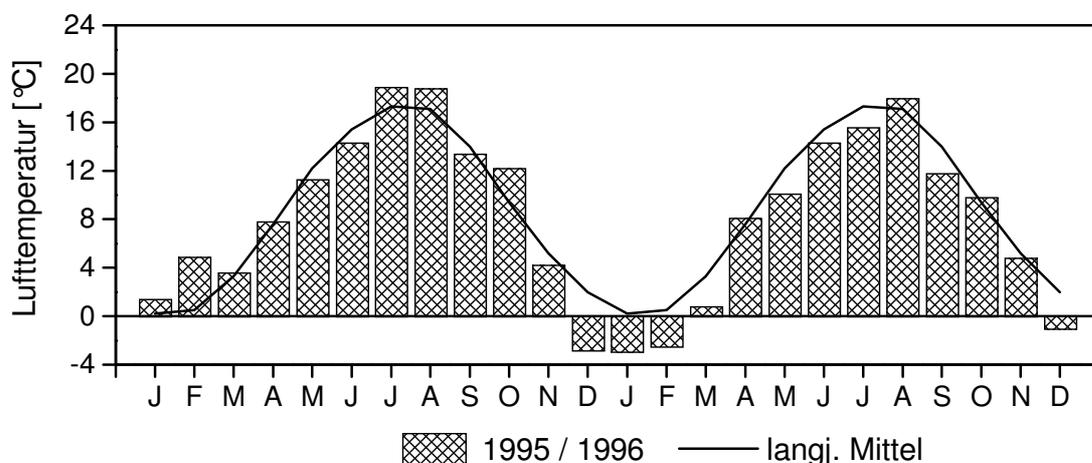
### 3.1.3 Klima

Das Klima im Unterelberaum ist sowohl von atlantischen als auch von kontinentalen Einflüssen geprägt, die niederschlagsreiche warme Sommer und feuchtkühle Winter bedingen.



**Abb. 3-3.** Mittlere monatliche Niederschlagsmenge für die Jahre 1995 und 1996 an der Meßstation Glückstadt (Kreis Steinburg) sowie langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1931 bis 1960.

Die langjährige durchschnittliche Niederschlagsmenge beträgt 798 mm (Meßstation Drochtersen), wobei die Jahresmittelwerte zwischen 423 mm in trockenen und 896 mm in regenreichen Jahren schwanken (DEUTSCHER WETTERDIENST, 1979).



**Abb. 3-4.** Lufttemperaturen für die Jahre 1995 und 1996 an der Meßstation Glückstadt (Kreis Steinburg) sowie langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1949 bis 1969.

Die mittlere Niederschlagsmenge im Untersuchungsgebiet betrug 823 mm für 1995 und 565 mm für 1996. In Abbildung 3-3 sind die monatlichen Mittelwerte im Vergleich zu den langjährigen monatlichen Mittelwerten dargestellt (DEUTSCHER WETTERDIENST, 1995/1996). Die Jahresmittelwerte machen deutlich, daß 1995 ein feuchtes Jahr war, wohingegen 1996 zu den eher trockenen Jahren zählte. Vor allem der Herbst und Winter 1995/96 wiesen mit 159 mm (Oktober 95 bis März 96) verglichen mit den langjährigen Mittelwerten (349 mm) besonders geringe Niederschlagsmengen auf.

Die Jahresdurchschnittstemperatur an der Meßstation Glückstadt betrug +9 °C für 1995 und +7,2 °C für 1996. Die langjährige durchschnittliche Temperatur von +8,7 °C zeigt, daß 1996 ein verhältnismäßig kühles Jahr war. Die in Abbildung 3-4 dargestellten monatlichen Durchschnittstemperaturen für 1995/1996 (DEUTSCHER WETTERDIENST, 1995/1996) verdeutlichen, daß vor allem der trockene, kalte Winter mit durchschnittlich -1,5 °C (Januar bis März) und der vergleichsweise kühle Sommer für die relativ geringe Jahresdurchschnittstemperatur verantwortlich waren.

Lufttemperatur und Niederschläge sind wichtige Klimaparameter, die die Bodentemperatur und -hydrologie des Untersuchungsstandortes bestimmen.

### 3.1.4 Hydrologie

Der Wasserhaushalt des Untersuchungsgebietes wird neben den meteorologischen Einflüssen hauptsächlich vom Tidegeschehen und von den künstlich angelegten Priel und Gräben (Grübben) geprägt.

Die Hydrologie des Deichvorlandes des Untersuchungsgebietes wird langfristig hauptsächlich von meteorologischen Einflußgrößen, wie der Niederschlagsmenge und der Lufttemperatur, bestimmt. FISCHER (1994) zeigte, daß sich der Grundwasserspiegel im Bereich der untersuchten Fläche weitgehend unabhängig vom Tidegeschehen einstellt. Der Grundwasserstand der Wiesenflächen wird durch das offene Grabensystem auf 80 bis 100 cm Tiefe künstlich eingeregelt. Dies wirkt sich auch auf den Grundwasserstand des Untersuchungsstandortes (Schilfgürtel) aus. Im Bereich des untersuchten Bodenprofils schwankt der Grundwasserspiegel daher normalerweise zwischen 30 bis 50 cm Tiefe. In trockenen Jahren, wie beispielsweise im Sommer 1996, kann der Grundwasserspiegel bis einige Dezimeter unter diese Marke absinken.

Kurzfristig können hohe Tiden und Starkregenereignisse die hydrologischen Verhältnisse beeinflussen. Dabei sorgen hauptsächlich Tiden, die über dem MThw (bei Assel 1,60 m über NN) liegen, für eine Infiltration von Wasser in den Bodenkörper. Vorlandüberflutungen, die 10 bis 30mal im Jahr auftreten (ANDRESEN, 1996), können ebenfalls kurzfristig zu hydrologischen Veränderungen führen.

Langfristig gesehen entsprechen die hydrologischen Prozesse also dem Wasserhaushalt von terrestrischen Böden. Kurzfristig bzw. mittelfristig werden sie von Tideeinflüssen überlagert.

### 3.1.5 Vegetation und Nutzung

Die natürliche, an regelmäßige Überflutungen angepasste, Vegetation des Unterelberaumes ist durch die Pflanzengesellschaft der Tideröhrichte gekennzeichnet (KÖTTER, 1961). Hauptbestandsbildner sind mehrjährige, rhizombildende Pflanzen, die eine wesentliche Rolle für die Methanfreisetzung des Untersuchungsstandortes spielen (GERUNDT, 1997).

Das Tideröhricht des Asseler Sandes läßt sich in drei aufeinanderfolgende Pflanzengesellschaften gliedern: Elbseitig dominiert ein 20 m breiter Strandsimsen-Röhricht der durch einen fast reinen Bestand des schmalblättrigen Rohrkolbens (*Typha angustifolia*) gekennzeichnet ist. Als Begleitarten kommen die gemeine Strandsimse (*Bolboschoenus maritimus*) und die Salzteichsimse (*Schoenoplectus tabernaemontani*) vor. Daran schließt sich ein etwa 90 m breiter Schilfgürtel aus *Phragmites australis* an, mit vereinzelt Sumpfdotterblumen (*Caltha palustris*) und Wasserknöterich-Beständen (*Polygonum hydropiper*). Weiter landeinwärts wird das Schilfröhricht von der Pflanzengesellschaft des Hochstaudenrieds abgelöst. Die zuvor fast reinen Schilfbestände werden nun vom Rohrglanzgras (*Phalaris arundinacea*), der Winde (*Calistegia sepium*) und dem echten Engelwurz (*Angelica archangelica*) sowie der Brennessel (*Urtica dioica*) und der Ackerwinde (*Convolvulus arvensis*) durchsetzt.

An das Tideröhricht schließt sich direkt das Grünland an, das für intensive Mahd- und Weidewirtschaft genutzt wird. Es dominieren Arten wie das Flechtstraußgras (*Agrostis stolonifera*), die Rasenschmiele (*Deschampsia caespitosa*) und der kriechende Hahnenfuß (*Ranunculus repens*).

### 3.1.6 Böden des Untersuchungsgebietes

Das Ausgangssubstrat der Bodenbildung des Asseler Sandes bilden kalkhaltige, perimarine Sedimente. Der Boden des Untersuchungsstandortes wurde aufgrund seiner Morphologie als *Flußrohmarsh* mit der typischen Ah-Go/Go/Gr-Horizontierung angesprochen (Tab. 3-1). Er ist charakterisiert durch einen etwa 30 - 40 cm mächtigen aeroben Oberboden und einen etwa 20 cm mächtigen Übergangsbereich, der durch wechselnde Sauerstoffverhältnisse gekennzeichnet ist. Der vollständig anaerobe Unterboden beginnt bei etwa 60 cm Bodentiefe (Abb. 3-5), wobei der durchschnittliche Grundwasserspiegel in einer Tiefe von etwa 40 cm liegt.

Im Untersuchungsprofil dominierte die Bodenart Schluff mit einem Anteil zwischen 43 % und 62 %. Die Ton- und Sandgehalte variierten zwischen 10 % und 35 % (bis zu 47 % in Sandbändern), wobei hohe Tonanteile meist geringe Sandanteile bedingten und umgekehrt (Tab. A-1). Die wechselnden Korngrößenfraktionen und die intensive Schichtung deuten auf wechselnde Sedimentationsbedingungen hin. Ein eingeschobener fossiler Ah-Horizont (fAh•Gr) weist außerdem darauf hin, daß es längere Stillstandsphasen in der Sedimentation gegeben hat.



**Abb. 3-5.** Bodenprofil einer *Flußrohmarsch* des Untersuchungsstandortes Asseler Sand (Schilfgürtel, Profil 1).

**Tab. 3-1.** Standortdaten und Bodenmerkmale des Untersuchungsprofils Asseler Sand (Schilfgürtel, Profil 1).

Lage:	Asseler Sand, Schilfgürtel, R: <sup>35</sup> 29,86/H: <sup>59</sup> 52,76	
Geländehöhe:	1,85 m über NN	
Ausgangsgestein:	kalkhaltige, schluffig-tonige perimarine Sedimente	
Hydrologie:	tidebeeinflusst, 10 - 30 Überflutungen pro Jahr	
Vegetation/Nutzung:	Schilfröhricht, <i>Phragmites australis</i>	
Deutsche Klassifikation:	Flußrohmarsch	
Amerik. Klassifikation:	Typic Fluvaquent	
Horizont	Tiefe [cm]	Merkmale und Eigenschaften
Ah-Go1	0 - 5	mittel toniger Schluff (Ut3); dunkel rötliches Braun (5YR3/2), Fleckung: dunkel gelbliches Braun, 2 - 5 % (10YR4/4); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Kohärentgefüge, schwach durchwurzelt (W2)
Ah-Go2	5 - 16	schluffig Lehm (Lu); sehr dunkles gräuliches Braun (2,5Y3/2), Fleckung: dunkel gelbliches Braun, 15 % (10YR4/4); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Subpolyedergefüge; stark durchwurzelt
Go	16 - 24	sandig-lehmiger Schluff (Uls); dunkelgrau (5Y4/1), Fleckung: dunkelbraun, 20 - 30 % (7,5YR4/4); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Subpolyedergefüge; stark durchwurzelt (W4)
Gor	24 - 60	schluffiger Lehm (Lu); sehr dunkles Grau (5Y3/1), Fleckung: dunkelbraun, 20 - 40 % (7,5YR4/4); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: schwach; Subpolyeder- bis Kohärentgefüge; schwach durchwurzelt (W2)
Gr1	60 - 74	schwach toniger Schluff (Ut2); sehr dunkles Grau (5Y3/1); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: stark; Subpolyeder- bis Kohärentgefüge; sehr schwach durchwurzelt (W1)
fAh*Gr	74 - 90	stark schluffiger Ton (Tu4); schwarz (7,5YR2/0); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: stark; Subpolyedergefüge; sehr schwach durchwurzelt (W1)
Gr2	90 - 100	mittel toniger Schluff (Ut3); sehr dunkles Grau (5Y3/1); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: stark; Kohärentgefüge; keine Wurzeln

Das untersuchte Profil wies einen hohen Gehalt an organischem Kohlenstoff ( $\bar{X}$  2,5 %) und einen über das gesamte Profil gleichbleibend hohen Carbonat-Gehalt ( $\bar{X}$  6,2 %) auf. Eine Entkalkung des Oberbodens war nicht vorhanden. Die pH-Werte lagen dementsprechend im neutralen Bereich zwischen 6,6 und 7,6. Das Redoxpotential der anaeroben Horizonte lag im Durchschnitt niedriger als -180 mV mit geringer Schwankungsbreite, während der Oberboden und die Übergangshorizonte mit -350 bis +400 mV sehr starke Schwankungen aufwiesen.

## 3.2 Tai-Hu-Tiefland (Suzhou, Ostchina)

### 3.2.1 Lage

Der zweite, subtropische Untersuchungsstandort ist ein Reisanbaugebiet im sogenannten Tai-Hu-Tiefland der ostchinesischen Provinz Jiangsu etwa 80 km westlich von Shanghai. Dieses Tiefland hat eine Fläche von ungefähr 30.000 km<sup>2</sup>, von denen 20 % niedrige Berge und 60 % Flachland sind. Die restlichen 20 % sind mit Wasser bedeckt. Das Flachland liegt weniger als 10 m über NN und die wenigen Berge mit Ausnahme des Maoshan, Tongquanshan und Moganshan übersteigen eine Höhe von 200 bis 300 m nicht. Das Tai-Hu-Tiefland erstreckt sich vom Maoshan und dem Yangtze-Kiang-Fluß (Chang Jiang) im Norden bis zum Qiantong-Fluß im Süden. Im Westen wird das Tiefland vom Tianmu-Gebirgsmassiv begrenzt und dehnt sich bis zum Ostchinesischen Meer aus (Abb. 3-6).

**Abb. 3-6.** Übersichtskarte des Tai-Hu-Tieflandes der ostchinesischen Provinz Jiangsu mit der Lage des Untersuchungsgebietes im südlichen Stadtgebiet von Suzhou (schwarze kreisrunde Markierung).

Die eigentlichen Untersuchungsflächen sind dem *Agriculture Institute of Wu County* angegliedert, das sich im südlichen Stadtgebiet von Suzhou (31°10`N; 120°33`O) befindet. Sie umfassen eine Fläche von etwa 3,6 ha, die im Osten durch einen Kanal begrenzt werden.

Ausgewählte Flächen wurden im Rahmen des BMBF-Verbundprojektes *Spurenstoffkreisläufe* (1994-1996) bodenmikrobiologisch untersucht. Die isopenanalytischen Untersuchungen zum Einfluß einer Reis-Weizen-Fruchtfolge auf den Umsatz der organischen Substanz und die Methanfreisetzung sind in der vorliegenden Arbeit dargestellt. Vom Fraunhofer Institut für

Atmosphärische Umweltforschung (HEYER et al., 1995) wurden kontinuierliche Methanemissionsmessungen und vom Max-Planck-Institut für Chemie (BERGAMASCHI & FISCHER, 1996) isotopenanalytische Untersuchungen des emittierten Methans durchgeführt.

### 3.2.2 Landschaftsgenese

Der Westteil Chinas bildet ein steiles Relief mit vielen Plateaus und hoch aufragenden Gebirgen (Qinghai-Tibet-Plateau), die langsam in die Löß-Hochebene und verschiedene Becken (Tarim, Szetschuan) übergehen. Der Osten hingegen ist flaches Land mit wenigen Hügeln und weiten Ebenen, zu denen auch das Untersuchungsgebiet gehört.

Basierend auf geologischen und geophysikalischen Daten wird heute davon ausgegangen, daß das Tai-Hu-Tiefland in Form eines Beckens im Tertiär (65 - 2 Mill. Jahre) während der sogenannten Yanshan-Tektonik angelegt wurde. Im Zuge der weiteren geologischen Entwicklung während des Quartärs (2 Mill. Jahre bis heute) wurde das Becken von mächtigen Sedimenten verfüllt. Während des letzten Glazials (21.500 - 12.300 Jahre) wurden beispielsweise mehrere Meter mächtige Lösssedimente abgelagert (SUN & WU, 1987). Die Mächtigkeit der quartären Sedimente insgesamt beträgt zwischen 150 - 180 m.

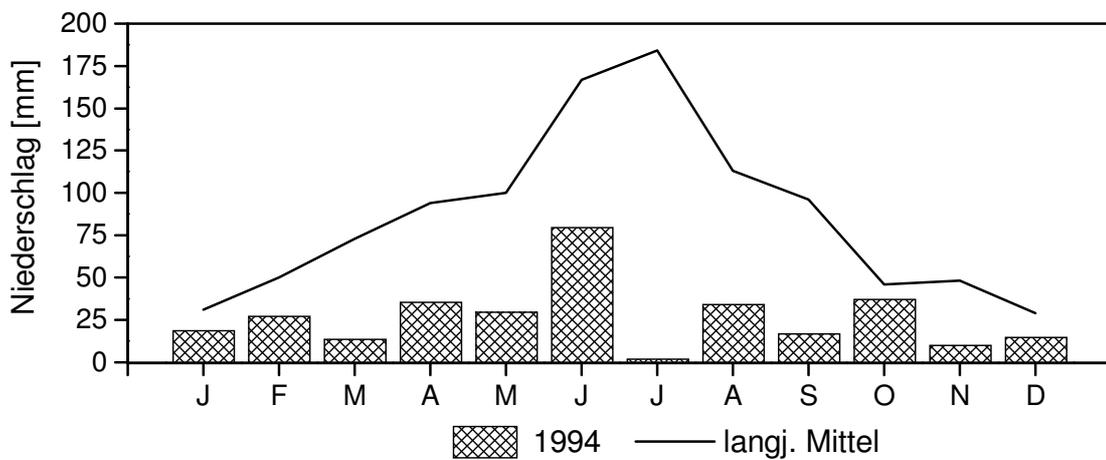
In den niedrigen Bergen, die das Tiefland einschließen, sind aufgrund der Erosion nur geringmächtige Böden entwickelt. Ausgangsmaterial für diese Böden ist vor allem der sogenannte *rote Ton*, der während des Interglazials im Pleistozän abgelagert wurde. Im Norden sind diese Sedimente häufig von Löß überdeckt (XU et al., 1980). Die Ablagerungen des Tieflandes hingegen sind geprägt von den fluviatilen Sedimenten des Yangtze und des Huai He, durch limnische Sedimente des Tai-Hu und anderer Seen sowie in Küstennähe durch marine Sedimente, die seit der letzten großen Überflutungsperiode im frühen Holozän (10.000 Jahre bis heute) abgelagert wurden (ZHAO, 1994). Sie sind in ihrer Morphologie und ihren Eigenschaften den Lösssedimenten sehr ähnlich.

### 3.2.3 Klima

Das Tai-Hu-Tiefland ist charakterisiert durch ein feuchtes, subtropisches Klima mit starken Regenfällen und hohen Temperaturen sowie einer langen Vegetationsperiode. Das Tiefland wird durch den Südost-Monsun beeinflusst.

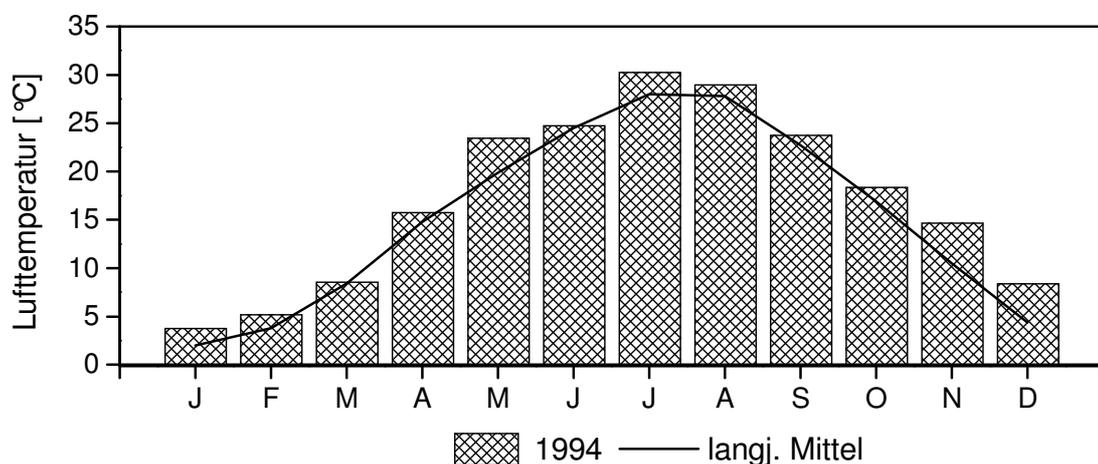
Die Niederschlagsmenge liegt zwischen 900 und 1400 mm im Jahr, wobei das langjährige Mittel 1031 mm (Meßstation Nanjing) beträgt (DOMRÖS & PENG, 1988). Die meisten Niederschläge ereignen sich in der Zeit von Mai bis Juli. Abbildung 3-7 zeigt die monatlichen Niederschläge für 1994 im Vergleich zu den langjährigen Mittelwerten. Das erste Untersuchungsjahr (1994) war ein besonders trockenes Jahr mit unterdurchschnittlichen Niederschlagsmengen in allen Monaten. Besonders auffällig sind die fast ausgebliebenen

Niederschläge im Juli, die weit unter den langjährigen Durchschnittswerten (184 mm) lagen. Für die Untersuchungsjahre 1995 und 1996 lagen keine Klimadaten vor.



**Abb. 3-7.** Niederschlagsmengen 1994 an der Meßstation Suzhou und langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1951 bis 1980 (Meßstation Nanjing).

Die mittlere Temperatur beträgt 15,3 °C an der Meßstation Nanjing, wobei das langjährige Monatsmittel zwischen 2 °C für Januar und 28 °C für Juli beträgt. Frost, mit Tiefsttemperaturen im Januar zwischen -5 °C und -10 °C, gibt es nur selten für wenige Wochen im Jahr. Der Sommer ist sehr warm mit Höchsttemperaturen über 40 °C. Abbildung 3-8 zeigt einen durchschnittlichen Temperaturverlauf für 1994.



**Abb. 3-8.** Lufttemperaturen 1994 an der Meßstation Suzhou und langjährige monatliche Mittelwerte aus den Jahren 1951 bis 1980 (Meßstation Nanjing).

### 3.2.4 Vegetation und Nutzung

Das Tai-Hu-Tiefland ist eine der ältesten Kulturlandschaften Chinas mit einer mehrere Jahrhunderte alten Reisanbautradition. Die ursprüngliche Vegetation aus verschiedenen Laub- und Nadelbäumen bedeckt nur noch die niedrigen Bergregionen. Neben dem Reis- und Weizenan-

bau, der etwa 90 % des Agrarlandes ausmacht, werden im Tiefland auch Tee, Orangen und Bambus angebaut.

Die Untersuchungsflächen werden seit 1965 für wissenschaftliche Zwecke genutzt (Resistenzforschung, N<sub>2</sub>O-Emissionsmessungen u.a.). Von 1960 bis 1968 wurde auf den Versuchsfeldern zweimal im Jahr Reis angebaut. Seither wird eine Reis-Weizen-Fruchtfolge betrieben. Von Mitte Juni bis Ende Oktober wird auf allen Teilflächen Reis (*Oryza sativa*) angebaut. In der Zeit von Anfang November bis Ende Mai werden etwa 15 % der Flächen brach liegen gelassen und etwa 30 % zur Gründüngung (*Astragalus spec.*) genutzt. Die verbleibenden Teilflächen werden zu 90 % für Weizen (*Triticum yangmai-5*) und zu 10 % für den Rapsanbau (*Brassica napus*) verwendet.

### 3.2.5 Böden des Untersuchungsgebietes

Das Ausgangssubstrat der Bodenbildung des Tai-Hu-Tieflandes sind lakustrische und fluviatile Sedimente. Die Böden des Untersuchungsstandortes wurden aufgrund ihrer Morphologie und Eigenschaften nach der amerikanischen Klassifikation (SOIL SURVEY STAFF, 1992) als *Aeric* bzw. *Anthric Epiaquents* angesprochen (Tab. 3-2 und 3-3). Nach der chinesischen Klassifikation werden sie als *Permeable Paddy Soils* (XU et al., 1980) bezeichnet. Die Böden zeigen eine ‚marschenähnliche‘ Horizontierung (Ap/Hardpan/Go/Gr), die durch einen für den Reisanbau typischen verdichteten Horizont, den sogenannten Hardpan, ergänzt ist. Die Böden sind in den tiefen Horizonten durch Grundwasser (Grundwasserspiegel durchschnittlich bei 75 cm Tiefe) geprägt. Im Oberboden zeigen sich aufgrund der höheren Lagerungsdichte des Hardpans deutliche Stauwassermerkmale (Abb. 3-10 und 3-11). Die Lage der einzelnen Bodenprofile ist in Abbildung 3-9 dargestellt.

In den untersuchten Profilen dominierten mittel bis schwach schluffige Tone, wobei der Tonanteil zwischen 33 und 53 % sowie der Schluffanteil zwischen 40 und 64 % variierte. Die Sandfraktion war mit sehr geringen Anteilen zwischen 1 und 6 % vertreten (Tab. A-2). Die Korngrößenverteilung aller untersuchten Böden war über die gesamte Profiltiefe recht einheitlich.

Der organische Kohlenstoff-Gehalt betrug im Durchschnitt 1,3 % und nahm in den Bodenprofilen von oben nach unten ab. Die untersuchten Böden waren vollständig entkalkt und wiesen pH-Werte zwischen 4,8 und 6,2 auf. Das Redoxpotential lag während der Reissaison im Durchschnitt unter -200 mV, wobei starke Regenfälle oder die wiederholte Flutung der Reisfelder zu einem kurzzeitigen Anstieg auf etwa -50 mV führte.

**Abb. 3-9.** Untersuchungsflächen des *Agriculture Institute of Wu County*, Suzhou, mit der Lage der Bodenprofile und den Emissionsmeßflächen sowie den Angaben zum Fruchtfolgewechsel.



**Abb. 3-10.** Bodenprofil eines *Aeric Epiaquent* unter später Weizenkultur (April 1995, Profil III) des Untersuchungsstandortes Suzhou (Tai-Hu-Tiefland).

**Tab. 3-2.** Standortdaten und Bodenmerkmale des Untersuchungsprofils unter später Weizenkultur, Suzhou (April 1995, Profil III).

Lage:	Tai-Hu-Tiefland, 31°10'N; 120°33'O	
Geländehöhe:	4 m über NN	
Ausgangsgestein:	schluffig-tonige lakustrische und fluviatile Sedimente	
Hydrologie:	Grundwassereinfluß, 82 cm unter GOF	
Vegetation/Nutzung:	späte Weizensaison (April 1995), <i>Triticum yangmai-5</i>	
Chinesische Klassifikation:	Permeable Paddy Soil	
Amerika. Klassifikation:	Aeric Epiaquent	
Horizont	Tiefe [cm]	Merkmale und Eigenschaften
Ap	0 - 12	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (10YR4/2), Fleckung: oxidierte Eisenverbindungen, 10 - 30 %, rot (2,5YR4/8); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Subpolyedergefüge; Lagerungsdichte: mittel (Ld3); sehr stark durchwurzelt (W5)
Hardpan	12 - 20	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (2,5Y4/2), Fleckung: oxidierte Eisenverbindungen, 10 - 30 %, gelbliches Rot (5YR4/6); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Subpolyedergefüge; Lagerungsdichte: sehr hoch (Ld5); stark durchwurzelt (W4)
Go	20 - 44	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (2,5Y4/2), Fleckung: oxidierte Eisen-Mangan-Konkretionen vorwiegend in Wurzelbahnen, 5 - 10 %, dunkelbraun (7,5YR5/6), schwarz (7,5YR2/0); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Subpolyedergefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); stark durchwurzelt (W4)
Gor1	44 - 63	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (2,5Y4/2), Fleckung: oxidierte Eisen-Mangan-Konkretionen, 5 - 10 %, rötliches Gelb (7,5YR6/8), sehr dunkles Grau (10YR3/1); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Polyedergefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); schwach durchwurzelt (W2)
Gor2	63 - 93	schluffiger Ton (Tu); gräuliches Braun (2,5Y5/2), Fleckung: oxidierte Eisen-Mangan-Konkretionen, 2 - 5 %, rötliches Gelb (7,5YR6/8), sehr dunkles Grau (10YR3/1); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Polyedergefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); sehr schwach durchwurzelt (W1)
Gr	93 - 100	schwach schluffiger Ton (Tu2); grau (5Y5/1), Fleckung: diffus verteilt, 0 - 1 %; $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Polyedergefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); keine Wurzeln



**Abb. 3-11.** Bodenprofil eines *Anthrisc Epiaquent* unter später Reiskultur (Oktober 1995, Profil V) des Untersuchungsstandortes Suzhou (Tai-Hu-Tiefland).

**Tab. 3-3.** Standortdaten und Bodenmerkmale des Untersuchungsprofils unter später Reiskultur, Suzhou (Oktober 1995, Profil V).

Lage:	Tai-Hu-Tiefland, 31°10'N; 120°33'O	
Geländehöhe:	4 m über NN	
Ausgangsgestein:	schluffig-tonige lakustrische und fluviatile Sedimente	
Hydrologie:	Grund- und Stauwassereinfluß, 69 cm unter GOF	
Vegetation/Nutzung:	späte Reissaison (Oktober 1995), <i>Oryza sativa</i>	
Chinesische Klassifikation:	Permeable Paddy Soil	
Amerik. Klassifikation:	Anthric Epiaquent	
Horizont	Tiefe [cm]	Merkmale und Eigenschaften
Ap	0 - 9	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (2,5Y4/2), Fleckung: schwach reduzierte Merkmale, rotbraune und grauschwarze Flecken diffus; $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Subpolyedergefüge; Lagerungsdichte: mittel (Ld3); sehr stark durchwurzelt (W5)
Hardpan1	9 - 15	schluffiger Ton (Tu); dunkelgrau (5Y4/1), Fleckung: oxidierte Eisenverbindungen, 0 - 1 %, dunkelbraun (7,5YR3/4); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: stark; Kohärentgefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); mittel durchwurzelt (W3)
Hardpan2	15 - 22	schluffiger Ton (Tu); sehr dunkles gräuliches Braun (2,5Y3/2), Fleckung: oxidierte Eisenverbindungen, 40 - 50 %, dunkelbraun (7,5YR3/4); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Kohärentgefüge; Lagerungsdichte: sehr hoch (Ld5); schwach durchwurzelt (W2)
Go	22 - 44	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (2,5Y4/2), Fleckung: oxidierte Eisen-Mangan-Konkretionen vorwiegend in Wurzelbahnen, 5 - 10 %, dunkelbraun (7,5YR3/4), schwarz (10YR2/1); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Subpolyedergefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); mittel durchwurzelt (W3)
Gor1	44 - 63	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (2,5Y4/2), Fleckung: oxidierte Eisen-Mangan-Konkretionen, 10 - 30 %, dunkel rötliches Braun (2,5YR3/4), schwarz (10YR2/1); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Polyedergefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); schwach durchwurzelt (W2)
Gor2	63 - 87	schluffiger Ton (Tu); dunkel gräuliches Braun (2,5Y4/2), Fleckung : oxidierte Eisenverbindungen vorwiegend in Rissen und Wurzelbahnen, 10 - 20 %, dunkel gelbliches Braun (10YR4/6); $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: keine; Polyedergefüge; Lagerungsdichte: hoch (Ld4); sehr schwach durchwurzelt (W1)
Gr	87 - 100	schwach schluffiger Ton (Tu2); dunkel olivgrau (5Y3/2), Fleckung: keine; $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion: stark; Kohärentgefüge; Lagerungsdichte: sehr hoch (Ld5); keine

## Wurzeln

---

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Bodenprofilaufnahme und Probenentnahme

Die Bodenprofilansprache zur Charakterisierung der wichtigsten Bodenmerkmale erfolgte nach der *Bodenkundlichen Kartieranleitung* (AG BODENKUNDE, 1994) und der *U.S. Soil Taxonomy* (SOIL SURVEY STAFF, 1992). Es wurden die folgenden Bodenparameter beschrieben: Bodenart (Fingerprobe), Farbe (MUNSELL, 1975), hydromorphe Merkmale,  $\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl-Reaktion, Gefüge, Lagerungsdichte und Durchwurzelungsintensität.

Das Profil am Standort Asseler Sand wurde für die Untersuchung der saisonalen Änderung der Zellzahlen und Methanbildungsaktivitäten im April, Juli und Oktober 1995 sowie im Januar 1996 lagenweise in 10-cm-Schritten bis zu einer Tiefe von 1 m beprobt. An den entsprechenden Proben vom Juli und Januar wurden ferner die Acetat-Gehalte ermittelt. Für die Untersuchungen zum Einfluß von Sauerstoff auf die Methanogenese wurden im August und Oktober 1996 Mischproben und ungestörte Bodenproben (Edelstahl Stechzylinder, 100 cm<sup>3</sup>) aus der Lage 60 - 70 cm Tiefe entnommen. Proben dieser Tiefenstufe dienten auch für die Untersuchung der in-situ-Temperaturcharakteristika (Temperaturoptima, Zellzahlen in Abhängigkeit von Temperatur und Substrat) und zur Isolierung von methanogenen Bakterien. Für die Charakterisierung der organischen Substanz (Kohlenstoff, Stickstoff,  $\delta^{13}\text{C}$ , Dichtefraktionierung) wurden im Oktober 1996 Mischproben horizontweise bis zu einer Profiltiefe von 1 m entnommen. Die Porengrößenverteilung wurde horizontweise an ungestörten Bodenproben (Edelstahl Stechzylinder, 100 cm<sup>3</sup>) durchgeführt.

Die Profile des ostchinesischen Standortes Suzhou wurde für die Untersuchung der Tiefenverteilung der Zellzahlen und Methanbildungsaktivitäten am Ende der Reissaison im Oktober 1995 lagenweise in 10-cm-Schritten bis zu einer Profiltiefe von 1 m beprobt. An den Proben vom Oktober 1995 sowie für eine entsprechende Probennahme am Ende der Weizensaison im April 1995 wurden ferner die Gehalte an löslichem organischem Kohlenstoff (DOC) bestimmt. Das Temperaturoptimum der in-situ-Methanbildung wurde für die Lage 0 - 10 cm am Ende der Reissaison (Oktober 1995) bestimmt. Für die Charakterisierung der organischen Substanz (Kohlenstoff, Stickstoff,  $\delta^{13}\text{C}$ , Dichtefraktionierung) in Hinblick auf die Methanogenese wurden Mischproben horizontweise bis zu einer Profiltiefe von 1 m am Ende der Weizen- und Reissaison (April und Oktober 1995) entnommen. Die Bestimmung des Methanbildungspotentials der verschiedenen Dichtefractionen der organischen Substanz wurde mit Bodenmaterial vom Ende der Reissaison aus den Lagen 0 - 10 cm und 10 - 20 cm durchgeführt.

### 4.2 Behandlung und Aufarbeitung des Probenmaterials

Für die Dichtefraktionierung der organischen Bodensubstanz wurde das Probenmaterial luftgetrocknet und anschließend gesiebt (Maschenweite 2 mm). Eine Teilprobe wurde zur Be

stimmung der Kohlenstoff- und Stickstoff-Gehalte sowie des  $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes der organischen Bodensubstanz in einer Scheibenschwingmühle (Siebtechnik GmbH) mit Wolfram-Carbid-Einsatz pulverisiert.

Die Untersuchung der Methanbildung bei definierten Wassergehalten (Kap. 4.5.5) sowie der Porengrößenverteilung (Kap. 4.3.1) erfolgte an frischem, ungestörten Bodenmaterial (Edelstahl Stechzylinder,  $100\text{ cm}^3$ ), das sofort nach der Probennahme weiterbehandelt wurde. Alle anderen Untersuchungen wurden an Mischproben durchgeführt, die in feldfrischem Zustand mit Hilfe eines Siebes (2 mm Maschenweite) homogenisiert wurden. Das so behandelte Material wurde unter  $\text{O}_2$ -freier Atmosphäre in einer Glove-Box (Whitley Anaerobic Cabinet) in Laborflaschen (500 ml, Schott) umgefüllt. Die Flaschen wurden mit einem Schraubring (Typ GL 45, Schott), in den ein Gummiseptum eingelegt war, gasdicht verschlossen. Die Lagerung erfolgte bei  $4\text{ }^\circ\text{C}$ .

### **4.3 Bodenphysikalische Analysen**

#### **4.3.1 Bestimmung der Porengrößenverteilung**

Die Ermittlung der Porengrößenverteilung erfolgte anhand der sogenannten Wasserspannungskurve. Diese wurde an gewässerten, ungestörten Stechringproben mit der Überdruckmethode unter Verwendung von keramischen Platten nach RICHARDS & FIREMAN (1943) bestimmt.

Die Methode beruht auf der schrittweisen Entwässerung einer wassergesättigten Probe durch einen von außen wirkenden Druck. Die Intensität mit der Wasser in einer Pore gebunden ist, wird als Wasserspannung bezeichnet und in Form eines Druckes angegeben. Wasser ist in mitteleuropäischen Böden hauptsächlich durch Kapillarkräfte gebunden. Die Kapillarkraft mit der Wasser in einer Pore gehalten wird, ist umgekehrt proportional zu ihrem Durchmesser. Nach Erzeugung eines definierten Überdruckes wird der Probe Wasser bis zur Gleichgewichtseinstellung entzogen. Da die Kapillarkraft, mit der das Wasser in einer Pore gebunden ist, vom Durchmesser der Pore abhängt, läßt sich aus dem Wasserverlust einer zunächst gesättigten Probe auf den Porenanteil mit dem entsprechenden Äquivalentdurchmesser schließen.

Die Wässerung der feldfrischen  $100\text{-cm}^3$ -Stechringproben erfolgte auf einem Sandbad mit einem Wasserspiegel von 5 mm unter der Sandoberfläche. Zwischen Stechring und Sand befanden sich Rundfilter (Schleicher & Schüll, Nr. 2294) Nach Wässerung bis zur Gewichtskonstanz wurden die Stechringproben auf ebenfalls gewässerte keramische Platten (Soil Moisture Pressure Plate, 100 kPa) in die Drucktöpfe (Soil Moisture Pressure Plate Extractor #1600) überführt. Die Drucktöpfe wurden verschlossen und der gewünschte Überdruck über einen externen Druckanschluß eingestellt. Folgende Drücke und Entwässerungszeiten wurden

verwandt: 0,3 kPa für 24 Stunden; 6 kPa für 3 Tage; 30 kPa für 7 Tage und 100 kPa für 10 Tage. Nach einer Gleichgewichtseinstellung wurde der Druck abgelassen, der Topf geöffnet

und die Stechringproben gewogen. Im Anschluß wurden sie erneut auf die Keramikplatten gesetzt und bei der nächst höheren Druckstufe entwässert. Je Horizont wurden 5 Parallelen untersucht.

Das Volumen der Poren mit einem Äquivalentdurchmesser unter 3 µm wurde über die Entwässerung (jeweils 14 Tage) von Mischproben bei 300 und 1500 kPa bestimmt. Dafür wurde feldfrischer Boden mit Leitungswasser zu einem zähen Brei verrührt und in Plastikringe (Ø 3,5 cm, Höhe 8 mm) gestrichen, die sich auf gewässerten Keramikplatten befanden. Die Platten wurden in die Drucktöpfe gesetzt, die Töpfe verschlossen und der entsprechende Druck angelegt. Nach der Entwässerung wurden die Proben aus den Drucktöpfen genommen, in Schraubdeckelgläser gegeben und gewogen. Anschließend erfolgte eine Trocknung bei 105 °C. Nach der Trocknung wurden die Proben erneut gewogen und aus der Gewichts Differenz der Wassergehalt bei den Wasserspannungen von 300 und 1500 kPa berechnet.

Das Gesamtporenvolumen wurde mit einem Vakuum-Luftpyknometer (Fa. Gerhardt) ermittelt. Vor der Messung wurde das Gerät mehrere Male mit einem Eichblock (Volumen 60 ml) geeicht. Die Bestimmung des Pyknometerwertes erfolgte nach der Entwässerung der Stechringproben bei 100 kPa. Nach der Analyse wurden die Proben bei 105 °C über Nacht getrocknet und erneut gewogen.

### **4.3.2 Bestimmung der Korngrößenverteilung**

Vor Bestimmung der Korngrößenverteilung erfolgte zunächst eine Zerstörung der organischen Substanz (bei Gehalten > 0,5 % C) durch Zugabe von Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6%ig). Nach der H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Behandlung wurden die Carbonate durch eine Behandlung mit Salzsäure zerstört. Eine Zerstörung der verkittenden Eisen- und Manganverbindungen war nicht nötig, da ihre Gehalte in allen Proben unter 1 % lagen. Nach Dispergierung mit Natriumpyrophosphat erfolgte die Bestimmung der Korngrößenverteilung durch ein kombiniertes Sieb- und Pipettverfahren (DEUTSCHER NORMENAUSSCHUß, 1977). Durch Pipettieren wurden die Fraktionen < 32 µm, < 20 µm, < 6,3 µm und < 2 µm gewonnen, während die gröberen Fraktionen mit einem Siebsatz mit 630 µm, 200 µm, 63 µm und 32 µm Maschenweite abgetrennt wurden.

## **4.4 Bodenchemische Analysen**

### **4.4.1 Kohlenstoff- und Stickstoff-Analytik**

Die Bestimmung des **Gesamtkohlenstoff-** und **Gesamtstickstoffgehaltes** erfolgte mit einem Heraeus Elementaranalysator CHN-O-Rapid. Dafür wurden 15 mg des gemahlenden und bei

105 °C getrockneten Probenmaterials in Zinnschiffchen eingewogen. Der quantitative Substanzauflösung erfolgte durch Verbrennung im reinen Sauerstoffstrom bei Temperaturen

zwischen 950 °C und 1050 °C. Das entstandene H<sub>2</sub>O-CO<sub>2</sub>-N<sub>2</sub>-Gasgemisch (Stickoxide wurden durch einen Kupferkatalysator bei 550 °C reduziert) wurde durch zwei Silicagel-Säulen getrennt. Als Trägergas diente hochreines Helium. Die verminderte Wärmeleitfähigkeit des Probengases gegenüber einem reinem Heliumgasstrom wurde mit Hilfe eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors bestimmt. Die Eichung erfolgte mit Acetanilid (10,36 % N, 71,09 % C, 6,71 % H).

Der **anorganische Kohlenstoff** wurde konduktometrisch mit einem Analysegerät der Firma Wösthoff bestimmt. Dafür wurden 200 mg der gemahlene und bei 105 °C getrocknete Probe mit 20 ml einer 10%igen Salzsäure aufgeschlossen, wodurch eine dem anorganischem Kohlenstoff-Gehalt äquivalente Menge Kohlendioxid entsteht. Das CO<sub>2</sub> wurde in Natronlauge eingeleitet, wobei ein Teil der OH-Ionen durch die gebildeten CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-Ionen verdrängt wird. Dies hat eine verminderte Leitfähigkeit der Lösung zur Folge, welche über einen Kompensationsschreiber aufgezeichnet wurde. Die Eichung erfolgte mit CaCO<sub>3</sub>. Das Ergebnis kann direkt in anorganischen Kohlenstoff oder Calciumcarbonat umgerechnet werden.

Der **organische Kohlenstoff-Gehalt** ergibt sich durch Abzug des anorganischen Kohlenstoffs vom Gesamtkohlenstoff-Gehalt.

Für die Bestimmung von **Acetat** sowie des **löslichen organischen Kohlenstoffs** (DOC) wurden 18 g feldfrisches Probenmaterial in 90 ml Aqua dest. suspendiert und 2 h im Dunkeln geschüttelt. Anschließend wurde die Suspension 20 min bei 5000 x g sedimentiert und der Überstand mittels Druckfiltration (N<sub>2</sub>, 100 kPa; 0,45 µm Polyethersulfan-Filter, Fa. Gelman Science) für die Messung vorbereitet.

Die Bestimmung des DOC-Gehaltes erfolgte an einem Gasanalysegerät (C-MAT 5500, Fa. Ströhlein). Dabei wurde die flüssige Probe im reinen Sauerstoffstrom bei etwa 1500 °C quantitativ verbrannt. Die Detektion des Reaktionsgases erfolgte mit einem Infrarot-Wärmeleitfähigkeitsdetektor. Aus der Leitfähigkeitsänderung konnte mit einem angeschlossenen Rechnersystem aus der gebildeten CO<sub>2</sub>-Menge die Konzentration an DOC in [mg l<sup>-1</sup>] ermittelt werden.

Die Bestimmung des Acetat-Gehaltes erfolgte mittels Ionenchromatograph (IC 4000i, Fa. Dionex). Das Laufmittel (Eluent) bestand aus 0,75 mM NaOH und 200 mM NaOH.

#### 4.4.2 δ<sup>13</sup>C-Bestimmung

Für die Bestimmung des δ<sup>13</sup>C-Wertes (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C-Verhältnis) von der organischen Bodensubstanz, vom organischen Ausgangsmaterial (Pflanzenproben) sowie den einzelnen Dichtefractionen mußte der in Form organischer Substanz gebundene Kohlenstoff in gasförmiges Kohlendioxid (Probengas) überführt werden. Dies geschah durch Aufschluß und Aufreinigung

einer vom organischen Kohlenstoff-Gehalt des Bodens abhängigen Probenmenge (5 mg C) an einer Hochvakuumlinie.

Im Gegensatz zu den Böden des Untersuchungsstandortes Suzhou war der untersuchte Marschboden durch hohe Carbonat-Gehalte gekennzeichnet. Da sich diese Carbonate störend auf die isopenanalytischen Untersuchungen des organischen Kohlenstoffs auswirken, wurden sie vor dem Aufschluß mittels Phosphorsäure zerstört. Dazu wurden die entsprechenden Proben mit 5 - 10 ml einer 1:50 verdünnten 85%igen Phosphorsäure versetzt. Der anorganische Kohlenstoff entwich dadurch als  $\text{CO}_2$  aus den Proben. Diese Behandlung wurde so lange wiederholt bis keine Gasbildung mehr zu beobachten war.

Zur Präparation des Probengases wurden die Proben im reinen Sauerstoffstrom bei  $1050\text{ }^\circ\text{C}$  verbrannt. Damit probenfremdes  $\text{CO}_2$  nicht in das Probengas gelangen konnte, wurde der Sauerstoff in einem Vorverbrennungsofen mit nachgeschalteter  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Falle von kohlenstoffhaltigen Verunreinigungen befreit. Das Probengas wurde in die evakuierte Hochvakuumlinie gepumpt. Auf diesem Weg wurde das Gas zunächst über Kupferoxid von Schwefeldioxid befreit, dann über Magnesiumperchlorat getrocknet und durch einen Nachverbrennungsofen geleitet, in dem eventuell über dem Kupferoxid entstandenes Kohlenmonoxid zu Kohlendioxid oxidiert und Halogenide durch Silberwolle gebunden wurden. Anschließend wurde eventuell noch vorhandene Feuchtigkeit bei  $-65\text{ }^\circ\text{C}$  mittels flüssigem Stickstoff in einem Dewar ausgefroren und abgepumpt. In einem zweiten Dewar wurde das Kohlendioxid (Probengas) bei etwa  $-160\text{ }^\circ\text{C}$  ausgefroren und der noch aus der Verbrennung vorhandene Sauerstoff (Gefrierpunkt  $-219\text{ }^\circ\text{C}$ ) abgepumpt. Das Probengas wurde nun in einen Kühlfinger überführt, in dem das Kohlendioxid erneut bei  $-196\text{ }^\circ\text{C}$  ausgefroren wurde. Bei der Überführung wurden vorhandene Stickoxide in einem Kupfer-Konverter bei  $650\text{ }^\circ\text{C}$  zu  $\text{N}_2$  reduziert und abgepumpt. Im letzten Schritt wurde das Probengas in einer Glasampulle ausgefroren und diese abgeschmolzen. Damit stand das gereinigte und getrocknete Kohlendioxid für die massenspektrometrische Messung zur Verfügung.

Das  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Isotopenverhältnis des Probengases wurde an einem Massenspektrometer der Firma Finnigan (MAT-250) bestimmt. Die zu analysierende Probe wird bei der Messung einer im Hochvakuum befindlichen Ionenquelle zugeführt wodurch die Moleküle ionisiert werden. Die derart erzeugten freien, positiv geladenen Ionen durchlaufen ein Magnetfeld und werden darin in Abhängigkeit von ihrer Masse aufgetrennt.

Ionen gleicher Masse treffen getrennt auf die Detektoreinheit, wodurch anhand des daraufhin fließenden Stromes die Anteile der einzelnen Isotope des Kohlenstoffs bestimmen werden. Die Meßwerte wurden als  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, das heißt als Abweichung vom auf Null gesetzten PDB-Standard (Internationaler Standard-Kalk aus der **Pee-Dee-Formation** in South Carolina eines *Belemnitella americana*) berechnet. Für die Kohlenstoff-Isotope ist der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert folgendermaßen definiert:

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{Probe}} - (^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB-Standard}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{PDB-Standard}}} \times 1000 \text{‰}$$

Als Referenzgas diente  $\text{CO}_2$ , welches gegen den PDB-Standard eingemessen wurde. Die Standardabweichung betrug 0,05 ‰.

#### 4.4.3 pH-Wert- und Redoxpotential-Messung

Die pH-Wert-Bestimmung wurde elektrometrisch nach VDLUFA (1991) durchgeführt. Die Eichung erfolgte mit Standardpuffer-Lösungen. Lufttrockene Feinerde wurde im Verhältnis 1:2,5 mit 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  versetzt und wiederholt umgerührt. Nach einer Stunde erfolgte die Messung.

Die Messung des Redoxpotentials an den Untersuchungsstandorten erfolgte mittels selbstgebauter Platin-Elektroden nach PFISTERER & GRIBBOHM (1989). Die Bezugsmessung erfolgte mit einer Argenthal-Elektrode (Silber/Silberchlorid,  $\text{KCl } 3 \text{ mol l}^{-1}$ , Fa. Ingold) über eine selbstgebaute Salzbrücke (KCl-Agar) nach VENEMANN & PICKERING (1983). Um Störungen des Bodenkörpers gering zu halten, erfolgte der Einbau der Elektroden nach Vorbohren mit einer Metallstange (6 mm) und der Einbau der Salzbrücke nach Vorbohren mit einer Peilstange (2 cm). 30 Tage nach Einbau der Komponenten in den Boden erfolgte die Messung der Redoxpotentialspannung mit einem Digital-pH-Meter (Schott-Geräte CG 819, eingestellt im mV-Bereich).

#### 4.5 Bestimmung von Methanbildungsraten

##### 4.5.1 Aktuelle Methanbildungsaktivität

Die Bestimmung der aktuellen Methanbildungsaktivität erfolgte für beide Untersuchungsstandorte an Lagenproben bei den jeweiligen in-situ-Temperaturen zum Zeitpunkt der Probennahme. Für den Asseler Sand wurde die Aktivitätsbestimmung im April (8 °C), Juli (17 °C) und Oktober 1995 (10 °C) sowie im Januar 1996 (3,5 °C) durchgeführt, während die Aktivitätsbestimmung des ostchinesischen Untersuchungsstandortes Suzhou einmalig am Ende der Reissaison im Oktober 1996 bei 22 °C erfolgte.

In einer Glove-Box wurde 15 g frisches, homogenisiertes Probenmaterial in sterile Serumflaschen (25 ml) abgefüllt und mit 2,5 ml sterilem und entgastem Leitungswasser befeuchtet.

Das Wasser wurde vom Probenmaterial vollständig absorbiert. Die Flaschen wurden mit einem

sterilen, gasdichten Stopfen (Butyl-Stopfen, Fa. Aldrich) verschlossen und einem zweimaligen Zyklus von Entgasen (2 min durch eine Kanüle an der Wasserstrahlpumpe) und Begasen (2 min mit Stickstoff) unterzogen. Eine Zugabe von methanogenen Substraten erfolgte nicht (aktuelle Methanbildungsaktivität).

Die Messung der Methankonzentration im Gasraum erfolgte über einen Zeitraum von 0 - 190 Stunden für 3 Parallelen je Probe. Dazu wurden Gasproben mit einer gasdichten Spritze (Hamilton 1750 LT, 500  $\mu$ l) durch die Butyl-Stopfen entnommen und im Gaschromatographen analysiert. Die Methanbildungsraten wurden aus dem linearen Anstieg der Methankonzentration berechnet.

#### 4.5.2 Potentielle Methanbildungsaktivität

Potentielle Methanbildungsaktivität wurde zum einen nach Zugabe der Substrate  $H_2/CO_2$  (80:20, v/v), Acetat (20 mM) und Glucose (20 mM) von Bodenproben des Asseler Sandes (Lage 40 - 50 cm Tiefe) bestimmt. Zum anderen wurde das Methanbildungspotential von Bodenproben des Untersuchungsstandortes Suzhou (Lage 0 - 10 cm und 10 - 20 cm Tiefe) ermittelt, wobei die mittels Dichtefraktionierung gewonnenen Fraktionen als Substrate eingesetzt wurden.

Frisches, homogenisiertes Probenmaterial (15 g) wurde unter anaeroben Bedingungen in sterile Serumflaschen (25 ml) abgefüllt und mit 6 ml einer entsprechenden sterilen und entgasten Substrat-Lösungen versetzt. Die Proben mit  $H_2/CO_2$  als Substrat sowie eine Kontrolle ohne Substratgabe wurden mit 6 ml sterilem und entgasten Leitungswasser versehen. Die Flaschen wurden mit einem sterilen, gasdichten Stopfen (Butyl-Stopfen, Fa. Aldrich) verschlossen und einem zweimaligen Zyklus von Entgasen (2 min durch eine Kanüle an der Wasserstrahlpumpe) und Begasen (2 min mit  $N_2/CO_2$ , 80:20, v/v) unterzogen. Die Proben des Asseler Sandes wurden bei 10 °C bzw. 20 °C inkubiert, während die Proben vom Untersuchungsstandort Suzhou bei 22 °C inkubiert wurden.

Die Messung der Methankonzentration im Gasraum erfolgte über einen Zeitraum von 0 - 170 Stunden für 3 Parallelen je Probe. Dazu wurden Gasproben mit einer gasdichten Spritze (Hamilton 1750 LT, 500  $\mu$ l) durch die Butyl-Stopfen entnommen und gaschromatographisch analysiert. Vor jeder Gasentnahme wurden die Proben 30 s stark geschüttelt (Whirl-Mix), um einen Ausgleich der Methankonzentration zwischen der Gas- und Flüssig-Phase zu erreichen. Die Methanbildungsraten wurden aus dem linearen Anstieg der Methankonzentration berechnet.

#### 4.5.3 Temperaturoptimum der Methanbildung

Das Temperaturoptimum der Methanbildung wurde für die beiden Untersuchungsstandorte Asseler Sand und Suzhou sowie an Vergleichsproben eines sibirischen Tundrengebietes (PFEIFFER et al., 1996) bestimmt. Die Proben stammten aus folgenden Bodenbereichen: Asseler Sand, Lage 60 - 70 cm; Suzhou, Lage 0 - 10 cm; Tundrenproben, Lage 6 - 16 cm.

In einer Glove-Box wurden 30 g frisches, homogenisiertes Probenmaterial in sterile Serumflaschen (120 ml) abgefüllt und mit 5 ml sterilem und entgastem Leitungswasser befeuchtet. Anschließend wurde jeder Probe 0,1 g standortspezifisches organisches Material zugesetzt (luftgetrocknetes, gemahlene Pflanzenmaterial: Asseler Sand, *Phragmites australis*; Suzhou, *Oryza sativa*; Tundrenproben, *Carex spec.*). Die Flaschen wurden mit einem sterilen, gasdichten Stopfen (Butyl-Stopfen, Fa. Aldrich) verschlossen und einem zweimaligen Zyklus von Entgasen (2 min, Wasserstrahlpumpe) und Begasen (2 min mit N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, 80:20 v/v) unterzogen.

Die Methanbildung wurde für alle drei Untersuchungsgebiete bei 5 °C, 10 °C, 15 °C, 22 °C, 28 °C, 32 °C, 37 °C und 42 °C sowie für den Standort Suzhou zusätzlich bei 47 °C, 53 °C und 60 °C bestimmt. Die Messung der Methankonzentration im Gasraum erfolgte über einen Zeitraum von 0 - 170 Stunden. Für den Asseler Sand wurden je Temperaturstufe 14 Parallelen bestimmt, während für die beiden anderen Untersuchungsgebiete jeweils 3 Parallelen untersucht wurden. Entnahme und Messung der Gasproben, sowie die Berechnung der Methanbildungsraten erfolgte wie in Kapitel 4.5.2 beschrieben.

#### **4.5.4 Methanbildungsaktivität in Gegenwart von Sauerstoff**

Die Methanbildungsaktivität in Gegenwart von Sauerstoff wurde mit natürlichem Bodenmaterial und an sogenannten Modellböden bestimmt. Dabei dienten die Untersuchungen am natürlichen Bodenmaterial zur Klärung des Einflusses der Begleitflora und die Untersuchungen an den Modellböden zur Klärung des Einflusses der Bodenart auf die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff.

#### **Acetylen als Hemmstoff der Methanoxidation**

Das natürliche Bodenmaterial enthält neben den methanbildenden Bakterien auch die sogenannten methyloptrophen Bakterien, die Methan mittels Sauerstoff zu Kohlendioxid oxidieren. Sie sind Bestandteil der natürlichen Mikroflora des untersuchten Bodens. Da in Gegenwart von Sauerstoff die Oxidation des gebildeten Methans zu einer Verfälschung der Methanbildungsaktivität führen würde, mußten die methyloptrophen Bakterien für diese Versuche spezifisch gehemmt werden (WATANABE et al., 1995). In einem Vorversuch sollte ermittelt werden, inwieweit der eingesetzte Hemmstoff (Acetylen) die Methanoxidation verhindert und ob die Methanbildung davon ebenfalls beeinflusst wird. Dazu wurden in 250-ml-Erlenmeyer-Kolben 100 g feldfrisches, homogenisiertes Bodenmaterial eingewogen

und mit 20 ml sterilem und entgastem Leitungswasser versetzt. Von den so präparierten Kolben wurden vier verschiedene Versuchsansätze mit je 3 Parallelen durchgeführt: Zwei der Ansätze wurden unter aeroben Bedingungen mit 3 % Methan in der Gasphase inkubiert. Dabei wurde der erste Ansatz mit und der zweite ohne Acetylen ( $0,06 \mu\text{l}$  Acetylen  $\text{ml}^{-1}$  Gasraum) inkubiert, um den Einfluß des Acetylens auf die Methanoxidation zu untersuchen. Zwei weitere Ansätze wurden unter anaeroben Bedingungen mit und ohne Acetylen inkubiert, um den Einfluß des Hemmstoffes auf die Methanbildung zu untersuchen. Alle Proben wurden bei  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  geschüttelt und die Methanabnahme bzw. -zunahme der verschiedenen Versuchsansätze über 170 h verfolgt.

### Einfluß der Begleitflora

Die Versuche zur Bedeutung der Begleitflora für die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff wurde an Bodenmaterial aus dem anaeroben Bodenbereich (Lage 60 - 70 cm Tiefe) des Untersuchungsprofils vom Asseler Sand durchgeführt. 50 g des frischen, homogenisierten Bodens wurden in Erlenmeyer-Kolben (250 ml, mit DIN-Gewinde) eingewogen und mit 30 ml steriler, anaerober Mineralsalz-Lösung (Kap. 4.6.1) versetzt. Anschließend wurden die Kolben mit einem Schraubring, in den ein Gummiseptum eingelegt war, gasdicht verschlossen.

An diesen Proben wurde zunächst die Methanbildungsrate der endogenen Flora unter aeroben und anaeroben Bedingungen bestimmt. Die anaeroben Proben wurden mit  $\text{N}_2/\text{CO}_2$  (80:20, v/v) anaerobisiert. Die aeroben Proben wurden mit synthetischer Luft, die 20 % Sauerstoff enthielt, gespült. Um den Einfluß der Begleitflora auf die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff zu bestimmen, wurden die Ergebnisse dieser Untersuchungen, bei denen die gesamte mikrobielle Flora aktiv war, mit der Methanbildung von Probenmaterial verglichen, das zunächst sterilisiert und anschließend mit einer Reinkultur methanogener Bakterien beimpft wurde. Dafür wurden die Proben bei  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  für 2 h sterilisiert und anschließend jede Probe mit je  $5 \times 10^6$  Zellen  $\text{ml}^{-1}$  einer Reinkultur von *Methanosarcina mazei* (DSM 2053; MAH, 1980) beimpft. Die so behandelten Proben wurden 14 Tage bei  $24 \text{ }^\circ\text{C}$  unter anaeroben Bedingungen vorinkubiert. Als Substrat wurde Acetat (20 mM) eingesetzt. Nach der Vorinkubation wurde der Versuch gestartet, indem die Proben mit synthetischer Luft bzw.  $\text{N}_2/\text{CO}_2$  gespült wurden.

Für die Untersuchungen unter anaeroben Bedingungen wurden jeweils 3 Parallelen und für die Experimente unter aeroben Bedingungen jeweils 4 Parallelen eingesetzt. Zur Hemmung der Methanoxidation wurden alle Proben (aerobe und anaerobe Ansätze) mit  $0,06 \mu\text{l}$  Acetylen  $\text{ml}^{-1}$  Gasraum versetzt. Alle Versuchsansätze wurden bei  $24 \text{ }^\circ\text{C}$  geschüttelt. Gasproben wurden mit einer gasdichten Spritze (Hamilton 1750 LT,  $500 \mu\text{l}$ ) durch das Gummiseptum entnommen und im Gaschromatographen analysiert. Die Methanbildungsraten wurden aus dem linearen Anstieg der Methankonzentration berechnet.

## Einfluß der Bodenart

Die Modellböden zur Untersuchung des Einflusses der Bodenart auf die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff wurden aus ‚Ton‘ (Bentonit, Korngröße  $< 2 \mu\text{m}$ , Fa. Serva), ‚Sand‘ (Seesand, Korngröße 0,3 - 0,5 mm, Fa. Merck) und ‚Kies‘ (Filterkies, Korngröße 2,0 - 6,0 mm) hergestellt. Als Kontrolle wurde eine natürliche Marschbodenprobe (Lage 60 - 70 cm Tiefe) des Untersuchungsstandortes Asseler Sand mit tonig-schluffiger Körnung eingesetzt. Die Kontrolle wurde in der gleichen Weise behandelt, wie die übrigen Materialien. Zur Herstellung der Modellböden wurden der Ton, Sand und Kies mit Leitungswasser gesättigt, während die Marschbodenprobe mit der natürlichen Feuchte eingesetzt wurde. Je 160 ml Material wurden in Laborflaschen (500 ml) gefüllt, durch einen Schraubring mit Gummiseptum gasdicht verschlossen und für 2 h bei  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  sterilisiert. Alle sterilen Proben wurden mit 4 g Marschboden definiert reinfiziert und mit 20 ml Modellboden-Nährmedium (Kap. 4.6.1) versetzt. Die so präparierten Modellböden wurden bei  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  für 12 Monate im Dunkeln inkubiert, damit eine chemoorganotrophe Mikroflora aufwachsen konnte. Am Ende der Inkubationszeit wurden die Zellzahlen chemoorganotropher Bakterien (Kap. 4.6.2.2) und die pH-Werte (Kap. 4.4.3) jeden Materials bestimmt.

Die eingesetzten Materialien hatten folgende Charakteristika: Die tonig-schluffige Marschbodenprobe bestand aus 17,8 % Ton, 47,5 % Schluff und 34,8 % Sand. Die Kationenaustauschkapazität stieg in nachstehender Reihe an: Sand ( $9,3 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), Kies ( $36,7 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ), tonig-schluffiger Marschboden ( $238,4 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ) und Ton ( $593,4 \text{ mmol}_c \text{ kg}^{-1}$ ). Der pH-Wert des unbehandelten Tons war leicht alkalisch (pH 8,8), während alle anderen Materialien einen leicht sauren pH-Wert (pH 6,6) aufwiesen. Nach der Präparation der Modellböden war der pH-Wert aller eingesetzten Materialien annähernd neutral (pH 6,8 - 6,9). Die höchsten Zellzahlen chemoorganotropher Bakterien wurden in den tonig-schluffigen Marschboden-proben ( $5,0 \times 10^6 \text{ Zellen g}^{-1}$ ) nachgewiesen, während alle anderen präparierten Modellböden eine Zellzahl in der Größenordnung  $10^5 \text{ Zellen g}^{-1}$  aufwiesen.

Für die eigentliche Untersuchung wurden von jedem Material 50 g (Bentonit 30 g) in Erlenmeyer-Kolben (250 ml mit DIN-Gewinde) transferiert und mit 30 ml carbonat-gepufferter Mineralsalz-Lösung (Kap. 4.6.1) versetzt. Jede Probe wurde anschließend mit je 1 ml ( $8 \times 10^7$  Zellen) einer Reinkultur der aus der Marsch isolierten Stämme *Methanobacterium* Stamm AS-3 und *Methanosarcina* Stamm AS-80 beimpft. Anschließend wurden die Proben für 17 Tage anaerob bei  $28 \text{ }^\circ\text{C}$  auf einem Schüttler vorinkubiert. Als Substrat wurde Acetat (20 mM) und  $\text{H}_2/\text{CO}_2$  (80:20, v/v, 100 kPa Überdruck) eingesetzt. Nach der Vorinkubation wurde der Versuch gestartet, indem die Proben mit synthetischer Luft bzw.  $\text{N}_2/\text{CO}_2$  (aerobe bzw. anaerobe Versuchsdurchführung) gespült wurden. Es wurden 3 Parallelen eingesetzt, die bei

24 °C geschüttelt wurden. Zur Hemmung der Methanoxidation wurden alle Proben (aerob und anaerobe Ansätze) mit 0,06 µl Acetylen ml<sup>-1</sup> Gasraum versetzt. Alle Versuchsansätze wurden bei 24 °C geschüttelt. Gasproben wurden mit einer gasdichten Spritze (Hamilton 1750 LT, 500 µl) durch das Gummiseptum entnommen und die Methan- und Sauerstoffkonzentration im Gaschromatographen analysiert. Die Methanbildungsraten wurden aus dem linearen Anstieg der Methankonzentration berechnet.

#### 4.5.5 Methanbildungsaktivität in Abhängigkeit vom Wassergehalt

Die Untersuchungen zum Einfluß des Sauerstoffs auf die Methanbildung wurden an ungestörten Stechringproben (Edelstahl Stechzylinder, 100 cm<sup>3</sup>) des Untersuchungsprofils Asseler Sand (Lage 60 - 70 cm Tiefe) durchgeführt. Es wurden Proben mit 100 % Wassersättigung eingesetzt, sowie Proben, bei denen die weiten Grobporen (> 50 µm), die engen Grobporen (50 - 10 µm) und ein Teil der Mittelporen (10 - 3 µm) entwässert wurden. Die Entwässerung wurde, wie in Kapitel 4.3.1 beschrieben, durchgeführt.

Die entwässerten Proben wurden in selbstkonstruierte Metallsäulen (Ø 10 cm, Höhe 35 cm; WAGNER, 1993) überführt, in denen auf einem Kunststoffständer je 3 Stechringproben Platz hatten. Anschließend wurden die Säulen mit zwei Flanschen, in die Dichtringe (O-Ringe, NBR) eingelegt waren, gasdicht verschlossen. Der obere Flansch war mit zwei gasdichten Septen (Dreischicht-Septen, teflonbeschichtet) und Kugelhähnen ausgestattet. Durch die Septen wurde die entsprechende Gasatmosphäre eingestellt bzw. Gasproben zur Analyse entnommen.

Die Untersuchungen wurden unter aeroben und anaeroben Bedingungen durchgeführt. Im Falle von anaeroben Bedingungen wurden die Säulen mit N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20, v/v) anaerobisiert, während die Proben im Falle von aeroben Bedingungen mit synthetischer Luft (20 % O<sub>2</sub>) gespült wurden. Alle Ansätze wurden mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (Anfangsgehalt etwa 20 % H<sub>2</sub> in der Gasatmosphäre, 100 kPa Überdruck) als Substrat und 90 µl Acetylen als Hemmstoff der Methanoxidation (Kap. 4.5.4) versetzt. Von den aeroben Ansätzen wurden je Entwässerungsstufe 4 Parallelen und von den anaeroben Ansätzen je 3 Parallelen bei 25 °C inkubiert. Gasproben zur Bestimmung der CH<sub>4</sub>- und O<sub>2</sub>-Konzentration wurden mit einer gasdichten Spritze (Hamilton 1750 LT, 500 µl) durch das Septum entnommen und im Gaschromatographen analysiert. Die Methanbildungsraten wurden aus dem linearen Anstieg der Methankonzentration berechnet.

#### 4.5.6 Gasanalytik (CH<sub>4</sub>, O<sub>2</sub>)

Zur Messung der Methankonzentration in den Ansätzen zur Bestimmung der aktuellen und potentiellen Methanbildungsaktivität sowie der Zellzahlen methanogener Bakterien (MPN) diente ein Gaschromatograph (GC) der Firma United Technologies Packard (Modell 437A)

mit einem Flammenionisationsdetektor (FID). Die Auftrennung erfolgte mit einer Porapack-Q-Säule (80/100 mesh, Fa. Chrompack). Als Trägergas ( $30 \text{ ml min}^{-1}$ ) diente Stickstoff. Die Flamme wurde mit Wasserstoff ( $30 \text{ ml min}^{-1}$ ) und synthetischer Luft ( $300 \text{ ml min}^{-1}$ ) gespeist. Alle Gase stammten von der Fa. Messer Griesheim. Die Temperaturen betragen: Injektor  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ , Ofen  $45 \text{ }^\circ\text{C}$ , Detektor  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ . Es wurde jeweils  $100 \text{ } \mu\text{l}$  Probe auf die Säule gegeben. Der GC war mit einem Rechner (Epson PSE 30) und einem Drucker (Epson LQ 400) gekoppelt. Die Auswertung erfolgte mit einem Programm der Fa. Chrompack (PCI). Die Eichung erfolgte für den Meßbereich 0 - 3 %  $\text{CH}_4$  mit einem externen Standard.

Bei allen anderen Versuchen wurde die Konzentration von Methan und Sauerstoff mit einem Gaschromatographen der Firma Carlo Erba Instruments (GC 6000 Vega Series 2) mit Flammenionisationsdetektor (FID) und Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD) sowie Säulenventilschaltung benutzt. Die Trennung erfolgte über zwei hintereinandergeschaltete Säulen (Hayesep D, 100/120 mesh; Molesieve 5A, 60/80 mesh). Als Trägergas diente Helium. Die Temperaturen betragen: Injektor 100 °C, Ofen 70 °C und FID 200 °C. Die Detektortemperatur des WLD betrug 100 °C und die Temperatur der Filamente 180 °C. Für die Untersuchungen wurden jeweils 500 µl Probe auf die Säulen gegeben. Die Auswertung erfolgte mit einem Integrator der Firma Shimadzu (C-R4 A Chromatopac). Die Eichung erfolgte durch einen externen Standard (50 % CH<sub>4</sub>, 5 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub>, 40 % N<sub>2</sub>).

## 4.6 Mikrobiologische Untersuchungen

### 4.6.1 Nährmedien

#### Mineralsalz-Lösung (10-fach)

NH <sub>4</sub> Cl	10 g
MgCl <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	10 g
CaCl <sub>2</sub> x 2H <sub>2</sub> O	4 g

Aqua dest. ad 1000 ml

#### Spurenelemente-Lösung (100-fach)

(WOLIN et al., 1963)

Nitritotriessigsäure (Idranal I)	1,5 g
Fe(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0,2 g
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0,2 g
CoCl <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0,1 g
MnSO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0,1 g
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0,1 g
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0,1 g
ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,1 g
AlCl <sub>3</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0,04 g
NiCl <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0,025 g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,01 g
CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O	0,01 g

Aqua dest. ad 1000 ml

Zur Herstellung der Spurenelemente-Lösung wurde die Nitrilotriessigsäure in 800 ml Aqua dest. gelöst, der pH-Wert mit KOH auf 6,5 eingestellt und die Salze in der angegebenen Reihenfolge hinzugefügt. Abschließend wurde die Lösung auf einen Liter aufgefüllt, der pH-Wert nochmals kontrolliert und gegebenenfalls auf pH 7 eingestellt.

### **Vitamin-Lösung (100-fach)**

(BRYANT et al., 1971)

4-Aminobenzoesäure	10 mg
Nicotinsäure	10 mg
Calcium-Pantothenat	10 mg
Pyridoxin-Hydrochlorid	10 mg
Riboflavin	10 mg
Thiamin-Hydrochlorid	10 mg
Biotin	5 mg
Folsäure	5 mg
Liponsäure	5 mg
Vitamin B <sub>12</sub>	5 mg

Aqua dest. ad 1000 ml

### **NaHCO<sub>3</sub>-Lösung**

50 ml Aqua dest. wurden in eine 100 ml Serumflasche gefüllt und mit einem Gummistopfen verschlossen. Die Flasche wurde durch Entgasen (Wasserstrahlpumpe) und Begasen mit Stickstoff anaerobisiert. Anschließend wurden 4,2 g NaHCO<sub>3</sub> zugeben und vorsichtig bis zur vollständigen Lösung gerührt. Der Luftraum oberhalb der Flüssigkeit wurde nochmals durch N<sub>2</sub>-Begasung anaerobisiert. Die mit einer Bördekkappe gesicherte Flasche wurde autoklaviert und abschließend mit CO<sub>2</sub> begast, damit das NaHCO<sub>3</sub> in Lösung blieb.

### **Cystein-Hydrochlorid-Lösung**

50 ml Aqua dest. wurden in eine 100 ml Serumflasche gefüllt und mit einem Gummistopfen verschlossen. Das Aqua dest. wurde durch Entgasen (Wasserstrahlpumpe) und Begasen mit Stickstoff anaerobisiert und 0,9 g Cystein-Hydrochlorid zugegeben. Der Luftraum oberhalb der Flüssigkeit wurde nochmals durch N<sub>2</sub>-Begasung anaerobisiert und die mit einer Bördekkappe gesicherte Flasche autoklaviert.

## **Na<sub>2</sub>S-Lösung**

110 ml einer 10 mM NaOH-Lösung wurden unter N<sub>2</sub>-Begasung auf 100 ml eingeeengt und bei weiterer Begasung abgekühlt. Anschließend wurden 2,5 g Na<sub>2</sub>S x 9H<sub>2</sub>O gelöst. Die Lösung wurde in einer fest verschlossenen (Bördelkappe) Flasche mit Stickstoff begast (100 kPa Überdruck) und im Autoklaven sterilisiert.

## **Herstellung des Mediums für methanogene Bakterien (BALCH et al., 1979)**

Mineralsalz-Lösung	100 ml
Spurenelemente-Lösung	10 ml
Vitamin-Lösung	10 ml
Resazurin-Lösung (0,5g/l)	2 ml
Phosphat-Lösung (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 3H <sub>2</sub> O 200 g/l)	2 ml
NaHCO <sub>3</sub> -Lösung	30 ml
Cystein-Hydrochlorid-Lösung	10 ml
Na <sub>2</sub> S-Lösung	10 ml

Aqua dest. ad 1000ml

Zu 800 ml Aqua dest. wurden die angegebenen Mengen Mineralsalz-Lösung, Spurenelemente-Lösung und Resazurin-Lösung hinzugegeben (Grundlösung) und 30 min bei 112 °C im Autoklaven sterilisiert. Alle übrigen Lösungen mit Ausnahme der Vitamin-Lösung wurden getrennt im Autoklaven sterilisiert. Nach dem Abkühlen der Lösungen wurden die Phosphat-Lösung und die Vitamin-Lösung (Sterilfiltration: Maschenweite 0,2 µm) steril zu der Grundlösung hinzugegeben.

Die Anaerobisierung des Mediums erfolgte durch zweimaliges Entgasen (je 5 min an der Wasserstrahlpumpe) und Begasen (je 5 min mit N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, 80:20 v/v). Nach Verfärbung des Indikators (Resazurin) von blau nach rosa wurde die Cystein-Hydrochlorid-Lösung hinzugegeben und die Begasung bis zum Entfärben des Indikators fortgeführt. Abschließend wurde die NaHCO<sub>3</sub>-Lösung steril hinzugefügt. Die Zugabe der Sulfid-Lösung erfolgte erst kurz vor Gebrauch.

## **Substrate (Elektronendonatoren)**

Es wurden 1-M-Stammlösungen folgender organischer Substrate angesetzt: Acetat, Formiat, Methanol, Ethanol, Isopropanol und Trimethylamin. Alle Lösungen wurden durch Autoklavieren (30 min bei 112 °C) sterilisiert. Kurz vor Gebrauch der Nährlösungen wurde

den Kulturflaschen eine entsprechende Menge der vorbereiteten Stammlösung zugesetzt, um die gewünschte Endkonzentration der Substrate zu erhalten. Als gasförmiges Substrat wurde H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20, v/v) im Gasraum über dem Medium angeboten, wobei die Flaschen mit etwa 150 kPa Überdruck begast wurden.

### Modellboden-Nährmedium

Mineralbodenextrakt	250 ml
(Extrahiert aus 200 g Marschboden nach KRUMBEIN, 1966)	
Organische Kohlenstoff-Lösung	250 ml
(Extrahiert aus 1000 g Marschboden, Kap. 4.7.1)	
Spurenelemente-Lösung (siehe oben)	5 ml
Vitamin-Lösung (siehe oben)	10 ml
Aqua dest. ad 1000 ml	

## 4.6.2 Zellzahlbestimmung

### 4.6.2.1 MPN-Methode

Die Zellzahlbestimmung (Lebendkeimzahl) nach der MPN-Methode (**most probable number**) beruht darauf, daß man von einer Verdünnungsreihe (in 1:10-Schritten) der Probe je 3 - 10 parallele Kulturgefäße mit spezifischem Medium beimpft und nach einer entsprechenden Inkubationszeit qualitativ auf Wachstum prüft. Die Auswertung erfolgt nach einem statistischen Verfahren (ALEF, 1991), weshalb man von ‚most probable number‘ (höchstwahrscheinliche Zellzahl) spricht, mit einer Auswertetabelle nach SIEBERT & HATTINGH (1967).

Es wurden 1 - 3 g feldfrische Bodenprobe in sterilen Serumflaschen (25 ml) mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung vermischt, gasdicht verschlossen und 15 min durchmischt (Whirl-Mix). Anschließend wurde eine Verdünnungsreihe bis zur Verdünnungsstufe 10<sup>-6</sup> in steriler Natriumchlorid-Lösung (0,9%iger) hergestellt. Von den einzelnen Verdünnungsstufen wurden je drei Serumflaschen (25 ml), in denen 4,5 ml Medium vorgelegt war, mit 0,5 ml Suspension beimpft und mit sterilen, gasdichten Gummistopfen verschlossen. Alle Arbeiten fanden unter anaeroben Bedingungen in der Glove-Box (Whitley Anaerobic Cabinet) statt.

Die Bestimmung der saisonalen Entwicklung der Zellzahlen methanogener Bakterien erfolgte mit Acetat (20 mM) oder H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Gas (80:20, v/v) als Substrate. Die Inkubation wurde bei den jeweiligen in-situ-Temperaturen für einen Zeitraum von 12 Wochen durchgeführt.

Für die Untersuchung der Zellzahlen methanogener Bakterien in Abhängigkeit vom Substrat und der Temperatur wurden Acetat (20 mM), Formiat (20 mM) oder H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Gas (80:20, v/v) als Substrate eingesetzt. Die Inkubation erfolgte bei 10 °C für 12 Wochen und bei 28 °C für 6 Wochen.

Nach der entsprechenden Inkubationszeit der Proben wurde die Methanbildung mit Hilfe des Gaschromatographen bestimmt. Als positiv wurden alle Proben gewertet, in denen mehr als 30 ppm Methan gebildet waren.

#### **4.6.2.2 Koch'sches Plattengußverfahren**

Für die Bestimmung der Zellzahlen chemoorganotropher Bakterien wurden aus einer, wie in Kapitel 4.6.2.1 beschriebenen, Verdünnungsreihe je 3 Agarplatten (DEV, Merck) mit 0,1 ml Suspension beimpft und bei 28 °C für 7 Tage inkubiert. Durch Auszählen und Multiplikation der erhaltenen Keimzahlen mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor läßt sich die Keimzahl pro Gramm Boden ermitteln.

### **4.6.3 Isolierung von methanogenen Bakterien**

#### **4.6.3.1 Anreicherungskultur**

Zur Isolierung von methanogenen Bakterien wurden entweder die höchsten noch bewachsenen Verdünnungsstufen eines MPN-Ansatzes oder Anreicherungskulturen von Bodenproben des Untersuchungsstandortes Asseler Sand verwandt.

Für die Anreicherungskulturen wurden 2 g feldfrische Bodenprobe (Lage 60 - 70 cm Tiefe) in eine 120 ml Serumflasche eingewogen und mit 50 ml Nährmedium versetzt. Als Kohlenstoff- und Energiequelle wurden folgende Substrate eingesetzt: H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Gas (80:20 v/v, 100 kPa Überdruck), Acetat (20 mM), Formiat (10 mM), Methanol (20 mM), Ethanol (10 mM) und Trimethylamin (10 mM). Außer bei Verwendung von H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> als Substrat wurden alle Ansätze unter einer N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Atmosphäre (80:20 v/v) kultiviert. Die Inkubation erfolgte bei 10 °C, 17 °C und 28 °C für 4 bis 12 Wochen. Wachstum wurde anhand des gebildeten Methans kontrolliert. Alle Arbeitsschritte wurden unter streng anaeroben Bedingungen durchgeführt. Die Aufreinigung erfolgte über Agar-Verdünnungsreihen unter Verwendung von Erythromycin und Phosphomycin (je 50 µg ml<sup>-1</sup> Medium; HILPERT et al., 1981).

#### **4.6.3.2 Agar-Verdünnungsreihe**

Zur Isolation von Reinkulturen methanogener Bakterien wurde unter anderem die Methode der Agar-Verdünnungsreihe (Agarshake) angewandt (modifiziert nach WIDDEL & BAK, 1992). Hierbei wurden Bakterien über eine Verdünnungsreihe in Agar vereinzelt, so daß sie später mit Hilfe einer sterilen Pasteurpipette aufgenommen und weiter vereinzelt werden konnten.

In einem kochenden Wasserbad wurde aus Agar Nobel (Difco) eine 3%ige Lösung hergestellt, die in 3 ml Portionen in Reagenzgläser mit Gewindekopf (15 ml) abgefüllt, mit einer Plastik- kappe verschlossen und autoklaviert (30 min bei 112 °C) wurden.

Die vorbereiteten Agarröhrchen wurden in der Mikrowelle verflüssigt und bei 60 °C im Wasserbad aufbewahrt. Anschließend wurden je 6 ml des auf 42 °C vorgewärmten, sterilen Nährmediums zugegeben, wobei darauf geachtet wurde, daß die Pipettenspitze in die Agarlösung eintauchte. Dabei wurden die Plastikkappen durch entsprechende, sterile Butyl-Stopfen ausgetauscht.

Zur Beimpfung wurden die Anreicherungskulturen gut aufgeschüttelt und etwa 0,1 ml der Kultur in das erste Röhrchen gegeben. Nach vorsichtigem Umschwenken wurden wenige Tropfen in das nächste Röhrchen überführt und somit die Anreicherungskultur sukzessive weiter verdünnt. Anschließend wurden die Agarröhrchen gasdicht verschlossen, zum Erstarren in ein vorbereitetes Eisbad überführt und mit N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20 v/v) anaerobisiert. Bei der Verwendung von Wasserstoff als Substrat wurden die Röhrchen anstatt mit N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20 v/v) begast. Die Inkubationszeit betrug 3 Monate bei 28 °C und 6 Monate bei 10 °C.

Im Falle der Isolation psychrophiler bzw. psychrotropher Bakterienstämme (10°C-Anreicherungskulturen) mußte längerer Kontakt der Bakterien mit erwärmten Agarmedium vermieden werden. Deshalb wurde das Inokulum zunächst separat in kaltem Medium ausverdünnt und anschließend von dort in die begasten und verschlossenen, jedoch noch warmen Agarröhrchen (42 °C) injiziert.

Aus Agarröhrchen, die Methanbildung zeigten, wurden Kolonien mit Hilfe einer sterilen, unter einer Bunsenbrennerflamme ausgezogenen Pasteurpipette aufgenommen. Dazu wurde unter dem Binokular die Pipette vorsichtig in das Röhrchen eingeführt. Auf diese Weise konnten Kolonien, die entweder weit an der Agaroberfläche oder in einer hohen Verdünnungsstufe zu finden waren, durch akkurates Anstechen mit der Pipette aufgesaugt werden. Die so erhaltenen Bakterien wurden erneut in einer Agarverdünnungsreihe ausverdünnt und anschließend zur weiteren Charakterisierung in flüssigem Kulturmedium resuspendiert und als Arbeitskultur inkubiert.

#### **4.6.3.3 Reinheitstest**

Reinheitskontrollen erfolgten durch regelmäßige lichtmikroskopische Untersuchung der Stamm- und Arbeitskulturen. Darüber hinaus wurden die Kulturen im Abstand von 3 Monaten auf Nährmedium für methanogene Bakterien (Kap. 4.6.1), das mit Glucose und Pepton

(20 mM) versetzt wurde, überimpft. Eine Kultur galt als rein, wenn nach vierwöchiger Bebrütung bei 28 °C keine Trübung auftrat.

#### **4.6.3.4 Kulturführung**

Die Stammkulturen wurden in Serumflaschen (120 ml) mit 50 ml Nährlösung und den entsprechenden Substraten bei 10 °C bzw. 28 °C angezogen. Die Flaschen waren mit einem Butyl-Stopfen gasdicht verschlossen und mit einer Bördelkappe gesichert. Sobald die Kulturen Trübung zeigten, wurden sie bei 5 °C inkubiert. Im Abstand von drei Monaten wurden die Stammkulturen auf frisches Medium überimpft.

Die Arbeitskulturen wurden ebenfalls in Serumflaschen (120 ml) mit 50 ml Medium angezogen. Die bei 28 °C inkubierten Kulturen wurden im Abstand von 14 Tagen auf frisches Medium überimpft, während die 10°C-Kulturen im Sechs-Wochen-Rhythmus überimpft wurden.

### **4.6.4 Charakterisierung der Isolate**

#### **4.6.4.1 Transmissionselektronenmikroskopie**

Zur näheren morphologischen Charakterisierung der isolierten Bakterienstämme wurden Ultradünnschnitte im Transmissionselektronenmikroskop (TEM) untersucht. Zur Herstellung der Präparate mußten die Zellen zunächst fixiert und kontrastiert werden. Nach der sich anschließenden Einbettung in einen Kunstharz wurden Ultradünnschnitte mit einem Mikrotom angefertigt.

Es wurden 50 ml einer zwei Wochen alten Kultur abzentrifugiert und anschließend zweimal mit 0,05 M Phosphatpuffer (pH 7,0) gewaschen. Die Fixierung erfolgte nach SABATINI et al. (1963) mit 2,5 % Glutaraldehyd in 0,05 M Phosphatpuffer (pH 7,2) im Verhältnis 1:1 für 2 Stunden. Nach erneutem Waschen mit Phosphatpuffer erfolgte die Kontrastierung mit 1 % Osmiumtetroxid in 0,05 M Phosphatpuffer für 3 Stunden. Nach nochmaligem Waschen mit Phosphatpuffer wurden die Zellen in einem Tropfen Agar Noble (Difco) aufgenommen und bis zur Einbettung bei 4 °C aufbewahrt.

Für die Einbettung in Kunstharz (Epon) mußten die Zellen in steigenden Ethanol-Konzentrationen (15 %, 30 %, 50 %, 70 %, 90 % und 100 %) für jeweils 15 min entwässert werden. Anschließend erfolgte eine Überführung in Propylenoxid (25 %, 50 %, 75 % und 100 % je 15 min). Danach konnten die Zellen über Propylenoxid-Eponmischungen mit steigenden Eponkonzentration (25 %, 50 %, 75 % und 100 %) in reines Epon überführt werden. Die Polymerisation erfolgte für 5 h bei 35 °C, 18 h bei 45 °C und zuletzt für 24 h bei 60 °C in einer Einbettungsform.

Zur Anfertigung von Ultradünnschnitten diente ein Ultramikrotom (Fa. Reichert OMU 2) mit einem Diamantmesser (Fa. Diatom). Die Schnitte wurden mit Kupfernetzen (300 mesh) aufgenommen, die mit 0,25 % Movital in Chloroform befilmt waren und anschließend nach

der Methode von WATSON (1958) und REYNOLDS (1963) mit Uranylacetat und Bleicitrat (je 7 min) nachkontrastiert. Die so behandelten Schnitte wurden bei 13.500 bis 30.000facher Vergrößerung unter einem Transmissionselektronenmikroskop der Firma Phillips (Modell 420) mikroskopiert.

#### 4.6.4.2 Substratspektrum

Alle isolierten Bakterienstämme wurden auf Wachstums mit folgenden Substraten getestet:  $H_2/CO_2$  (80:20, v/v), Acetat (20 mM), Formiat (10 mM), Methanol (20 mM), Ethanol (10 mM), Isopropanol (10 mM) und Trimethylamin (10 mM).

Die Serumflaschen (120 ml) mit 50 ml Nährmedium wurden mit 10 % Inokulum der zu untersuchenden Kultur beimpft. Die Inkubation erfolgte für 12 Wochen bei der entsprechenden Isolationstemperatur auf einem Schüttler. Das Wachstum der Kulturen wurde am Ende der Inkubationszeit durch Bestimmung der Methanbildung im Gasraum der Serumflaschen mittels Gaschromatographie (Kap. 4.5.6) bestimmt.

#### 4.6.4.3 Temperaturoptimum

Alle isolierten Bakterienstämme wurden hinsichtlich ihrer Temperaturoptima untersucht. Die Untersuchungen wurden in Serumflaschen (120 ml) mit 50 ml Nährmedium mit dem zur Anreicherung und Isolation verwendeten Substrat durchgeführt. Das Inokulum betrug 10 %. Die Kulturen wurden bei 5 °C, 10 °C, 15 °C, 22 °C, 28 °C, 32 °C, 37 °C, 42 °C, 47 °C, 53 °C, 60 °C für 4 ( $\geq 22$  °C) bis maximal 10 ( $< 22$  °C) Wochen inkubiert. Anhand der spezifischen Methanbildungsraten ( $\mu_{CH_4}$ ) während des exponentiellen Wachstums wurde das Temperaturoptimum bestimmt.

#### 4.6.4.4 Salz- und pH-Optimum

Eine Auswahl der isolierten Bakterienstämme wurden hinsichtlich ihres Wachstums bei verschiedenen Salzgehalten und pH-Werten untersucht. Diese Untersuchungen erfolgten in Serumflaschen (120 ml) mit 50 ml Nährmedium. Das Inokulum betrug 10 %.

Zur Untersuchung des Salzoptimums wurde eine Mineralsalz-Stammlösung (2,25 M bezogen auf NaCl) mit folgender Zusammensetzung verwandt: NaCl ( $131,0 \text{ g l}^{-1}$ ),  $MgCl_2 \times 6H_2O$  ( $56,4 \text{ g l}^{-1}$ ),  $CaCl_2 \times 2H_2O$  ( $7,4 \text{ g l}^{-1}$ ). Insgesamt 9 Ansätze mit Salzkonzentrationen im Bereich zwischen 20 mM (● Süßwassermedium) und 420 mM (● Meerwassermedium) in Abständen von 50 mM bezogen auf NaCl wurden mit einer entsprechenden Menge Mineralsalz-Stammlösung eingestellt.

Zur Untersuchung des pH-Optimums wurden je Kultur 8 Ansätze mit 20 mM Phosphatpuffer-Lösung auf Werte zwischen pH 5,5 und pH 8,5 eingestellt.

Die Kulturen wurden für 3 Wochen bei 28 °C auf einem Schüttler inkubiert. Im Abstand von 24 h wurden Gasproben durch den Gummistopfen entnommen und im Gaschromatographen analysiert. Aus dem Anstieg der Methankonzentration für den linearen Bereich wurden die Methanbildungsraten berechnet.

#### **4.6.4.5 16S-rRNA-Sequenzierung**

Eine zuverlässige systematische Zuordnung neu isolierter Bakterienstämme erfordert eine 16S-rRNA-Sequenz-Analyse. Diese wurde am Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie in Bremen von Dr. G. Muyzer und Mitarbeitern durchgeführt.

Zunächst wurde die bakterielle DNA durch direkte Lyse nach der Methode von GARCIA-PICHEL et al. (1996) isoliert werden. Dafür wurden 100 ml einer bewachsenen Bakterienkultur abzentrifugiert und in ein Reaktionsgefäß (1,5 ml, Eppendorf) überführt. Das Pellet wurde mit 5 µl PCR-Puffer folgender Zusammensetzung aufgenommen: Tris-HCl (100 mM, pH 9), MgCl<sub>2</sub> (15 mM), KCl (500 mM), Gelatine (0,1 %, w/v), Triton X-100 (1 %, v/v). Anschließend wurde 1 µl Dithiothreitol (200 mM), 1 µl SDS (0,01 %, w/v) sowie 42 µl Aqua dest. hinzugegeben und die Suspension einem dreimaligen Gefriertrocknungszyklus unterzogen. Im Anschluß an die Gefriertrocknung wurde 1 µl Proteinase-K-Lösung (10 mg ml<sup>-1</sup>) hinzugegeben und die Suspension für 1 h bei 55 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Probe 5 min bei 18500 x g (Heraeus Minifuge) zentrifugiert und der Überstand für die PCR-Amplifikation eingesetzt.

Die PCR-Amplifikation erfolgte nach MUYZER et al. (1995) unter Verwendung der Primer ARC4F und GM2R. Die Effizienz der PCR wurde durch gelelektrophoretische Analyse (Agarose-Gel, 2 %, w/v, Ethidiumbromid, 0,5 µg ml<sup>-1</sup>) überprüft. Die Reinigung erfolgte mit dem ‚Qiaquick-Spin-PCR-Aufreinigungs-Kit‘, während die Markierung der 16S-rRNA-Fragmente mit Hilfe des ‚DyeDeoxy-Terminator-Cycle-Sequencing-Kit‘ (Fa. Applied Biosystems) durchgeführt wurde. Die Sequenzanalyse erfolgte mit dem 373S-DNA-Sequencer der Firma Applied Biosystems.

Die erhaltenen 16S-rRNA-Sequenzen wurden auf Übereinstimmung mit bekannten Bakterien in den Daten des Ribosomal-Database-Project und der GenBank (MAIDAK et al., 1997) überprüft. Die Sequenzübereinstimmungen wurden mit Hilfe des Sequenz-Editors SeqApp (GILBERT, 1992) geprüft und die phylogenetischen Beziehungen in Form eines Stammbaumes auf der Basis der Neighbor-Joining-Methode (SAITOU & NEI, 1987) dargestellt. Ferner wurde durch eine sogenannte Bootstrap-Analyse die Stabilität der Stammbaumtopologie, daß heißt deren Wahrscheinlichkeit auf richtige Zuordnung einzelner Entwicklungslinien zu Gruppierungen, berechnet.



## 4.7 Fraktionierung der organischen Bodensubstanz

### 4.7.1 DOC-Extraktion

Für die Extraktion des löslichen organischen Kohlenstoffs (DOC) wurden 200 g feldfrisches Probenmaterial in 1000 ml Aqua dest. suspendiert und 2 h im Dunkeln geschüttelt. Anschließend wurde die Suspension 20 min bei 5000 x g sedimentiert und der Überstand mittels Druckfiltration (N<sub>2</sub>, 100 kPa; 0,45 µm Polyethersulfan-Filter, Fa. Gelman Science) für die Gefriertrocknung vorbereitet. Im Anschluß an die Gefriertrocknung wurde der Kohlenstoff-Gehalt (Kap. 4.4.1) bestimmt und anschließend der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert (Kap. 4.4.2) ermittelt.

### 4.7.2 Dichtefraktionierung

Die Dichtefraktionierung der organischen Bodensubstanz wurde in Anlehnung an die Methode von BEUDERT (1988) durchgeführt, jedoch wurde das von CAMBARDELLA & ELLIOTT (1993) vorgeschlagene Salz Natriumpolywolframat ( $3\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 9\text{WO}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ , Fa. Sometu) als Dichtentrennmittel verwandt.

Für die Fraktionierung wurden drei Lösungen mit den Dichten  $1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ,  $2,0 \text{ g cm}^{-3}$  und  $2,4 \text{ g cm}^{-3}$  eingesetzt, die durch entsprechende Verdünnung (RICHTER et al., 1975) einer Natriumpolywolframat-Stammlösung ( $2,94 \text{ g cm}^{-3}$ ) hergestellt wurden. Durch Wägung wurde die eingestellte Dichte überprüft und bei einer Abweichung um mehr als  $0,02 \text{ g cm}^{-3}$  gegebenenfalls korrigiert. Nach TURCHENEK & OADES (1979) sowie BEUDERT (1988) sind die so gewonnenen Fraktionen der organischen Substanz folgendermaßen definiert:

- Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ : frische bis schwach zersetzte Streu- und Wurzelstoffe
- Dichte  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$ : organische Feinsubstanz und Mikroaggregate
- Dichte  $2,0 - 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ : organo-mineralische Komplexe
- Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ : mineralische Bodenbestandteile

Die Dichtefraktionierung wurde für beide Untersuchungsstandorte durchgeführt, wobei der ostchinesische Standort sowohl am Ende der Weizensaison als auch am Ende der Reissaison beprobt wurde. Die Fraktionierung erfolgte für alle Horizonte der Untersuchungsprofile. Je Horizont wurden bis zu 140 g lufttrockene Feinerde ( $< 2 \text{ mm}$ ) in 10-g-Portionen fraktioniert, um genügend Material für die weiteren Analysen zu gewinnen. Soweit nicht anders vermerkt ist, erfolgten alle Zentrifugationsvorgänge bei 5000 x g für 20 min (Cryofuge IV, Fa. Christ-Hereaus).

10 g Probenmaterial wurde in einen Zentrifugenbecher (100 ml) eingewogen und mit 50 ml Natriumpolywolframat-Lösung der Dichte  $1,6 \text{ g cm}^{-3}$  versetzt. Die Suspension wurde dann

60 s in einem Ultraschallgerät (Branson Sonifier 450) dispergiert (50 W, 20 kHz) und anschließend zentrifugiert. Dabei wurde das Material mit einer Dichte  $\geq 1,6 \text{ g cm}^{-3}$  sedimentiert, während alles Material mit einer Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$  im Überstand schwamm. Der Überstand konnte nun über eine Filternutsche (Robu-Glas, 75 ml, Porosität 1), die mit einem Glasfibrer-Rundfilter (Schleicher & Schüll, GF6) bestückt war, unter Vakuum abfiltriert werden. Das Filtrat wurde aufgefangen und wieder auf das im Zentrifugenbecher verbliebene Pellet gegeben. Diese Prozedur wurde solange wiederholt bis im Überstand kein Material mehr schwamm. Zur Gewinnung der auf dem Filter liegenden Fraktion mit der Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$  wurde das Material vorsichtig mit wenig Aqua dest. in 250-ml-Zentrifugenbecher überführt, sedimentiert und nach Abgießen des Überstandes bei  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  getrocknet.

Zur Abtrennung der nächsten Fraktion wurde das in den 100-ml-Zentrifugenbechern verbliebene Pellet mit 50 ml Natriumpolywolframat-Lösung der Dichte  $2,0 \text{ g cm}^{-3}$  versetzt, 30 s mit Ultraschall dispergiert und zentrifugiert. Da das Filtrieren des schwimmenden Materials aufgrund seiner Dichte mittels einer Filternutsche nicht mehr möglich war, wurde es vorsichtig mit einem Löffel abgeschöpft und in Bechergläsern gesammelt. Dieses Material entsprach der Dichte  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$ . Die Prozedur wurde ebenfalls solange wiederholt bis im Überstand kein Material mehr schwamm. Beim letzten Durchgang wurde nicht nur das schwimmende Material abgeschöpft, sondern die gesamte Dichtelösung abgegossen, so daß der verbleibende Rückstand mit der nächsten Dichtelösung ( $2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) bearbeitet werden konnte. Die bei der Fraktionierung gewonnene Suspension wurde mit etwas Aqua dest. verdünnt, wodurch sich die Dichte der Lösung verringerte. Das organische Material, das im Vergleich zur Dichtelösung nun relativ schwerer geworden war, konnte durch Zentrifugation sedimentiert werden. Nach vorsichtigem Abdekantieren des Überstandes wurde die Fraktion zur Entfernung des Dichtesalzes dreimal mit je 100 ml Aqua dest. gewaschen und im Anschluß bei  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  getrocknet. Die letzte Fraktionierungsstufe wurde 30 s mit Ultraschall behandelt und nach einer Zentrifugation von 45 min Dauer ebenso behandelt, wie die vorangegangene Fraktionierungsstufe.

Der am Ende der Fraktionierung in den Zentrifugenbechern verbliebene Rückstand stellte die vierte Fraktion mit einer Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$  dar. Dieser Rückstand wurde dreimal mit je 50 ml Aqua dest. gewaschen und anschließend im Trockenschrank bei  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  getrocknet. Nach Abschluß der Trocknung wurden alle Fraktionen auf einer Analysenwaage gewogen und erst dann für die weiteren Untersuchungen zerkleinert und homogenisiert. Die Wiederfindungsrate des Kohlenstoffs in den einzelnen Dichtefraktionen, bezogen auf den Gehalt an organischem Kohlenstoff des unfraktionierten Bodenmaterials, betrug durchschnittlich 85 %.

Nach der Fraktionierung der organischen Substanz schloß sich für die carbonat-haltigen Proben des Asseler Sandes eine Carbonat-Zerstörung an (Kap. 4.4.2). Anschließend wurden für alle Fraktionen die organischen Kohlenstoff- und Gesamtstickstoff-Gehalte bestimmt (Kap. 4.4.1). Der Aufschluß für die isotonenanalytischen Untersuchungen sowie die eigentlichen Isotopenverhältnismessungen erfolgten wie in Kapitel 4.4.2 beschrieben.

## 4.8 Statistische Analysen

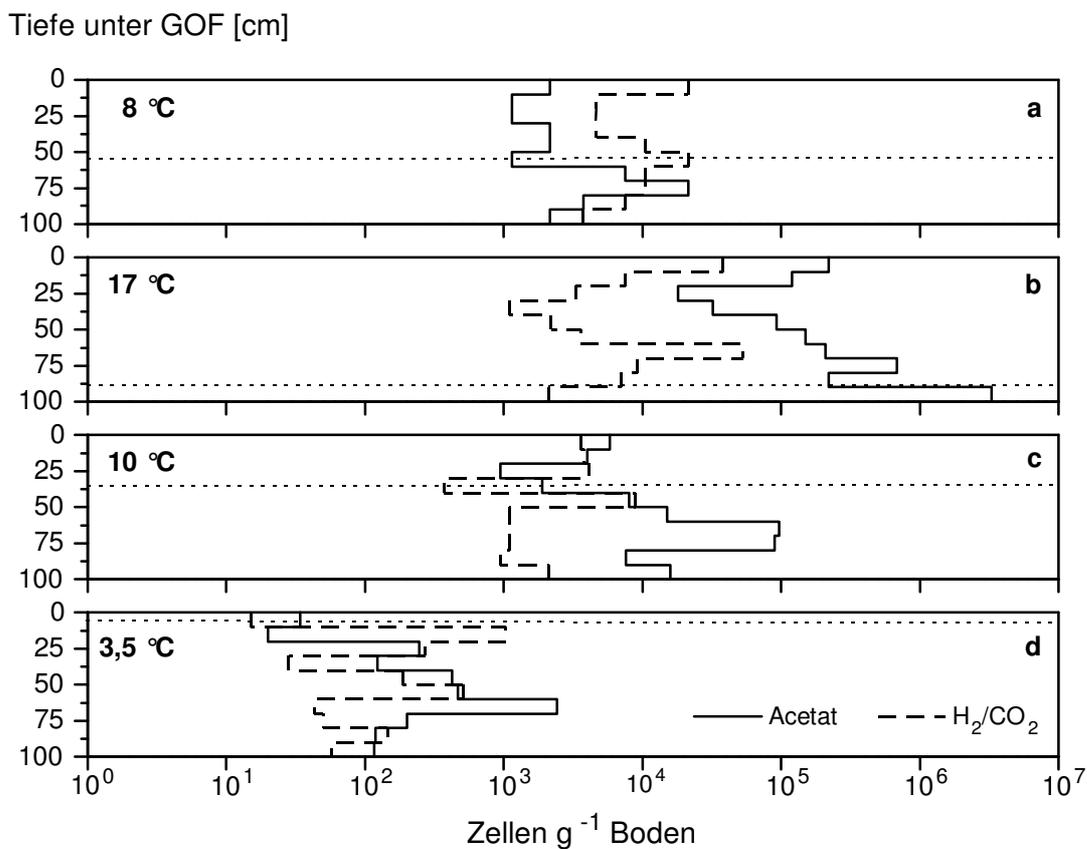
Alle angegebenen Mittelwerte stellen arithmetische Mittel dar. Die Standardabweichungen wurden als Abweichungsmaß vom arithmetischen Mittelwert berechnet. Für den Vergleich aller Stichproben einer Untersuchung wurde eine Varianzanalyse nach Kruskal-Wallis durchgeführt. Für den Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde der verteilungsunabhängige *U*-Test nach Mann-Whitney herangezogen. Zusätzlich war für einige Untersuchungen der parametrische *t*-Test nach Kolmogorov-Smirnov zulässig. Die in der vorliegenden Arbeit angewandten statistischen Analysen sind bei WARDLAW (1985) ausführlich beschrieben.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Bodenmikrobiologische Standortcharakterisierung

#### 5.1.1 Marschboden (Asseler Sand)

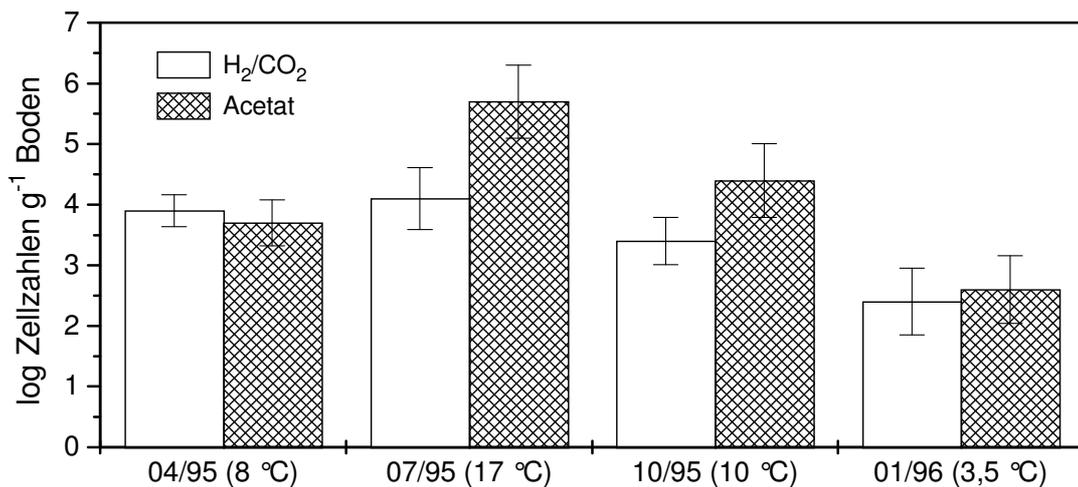
Die saisonale Entwicklung der Zellzahlen methanogener Bakterien und der aktuellen Methanbildungsraten wurde für in-situ-Temperaturen anhand von vier, über ein Jahr verteilte Probenahmen (04/95, 07/95, 10/95, 01/96) untersucht.



**Abb. 5-1.** Saisonale Entwicklung der Zellzahlen methanogener Bakterien des Marschbodens mit Acetat (20 mM) oder  $H_2/CO_2$  (80:20 v/v) als Substrat in Abhängigkeit von der Tiefe. Probenahmemonat und in-situ-Temperaturen waren: **a** 04/95, 8 °C; **b** 07/95, 17 °C; **c** 10/95, 10 °C; **d** 01/96, 3,5 °C. Die gepunktete waagerechte Linie gibt den jeweiligen Grundwasserstand an.

Methanogene Bakterien konnten sowohl für den anoxischen als auch für den oxischen Bereich des Untersuchungsprofils regelmäßig nachgewiesen werden (Abb. 5-1). Die Zellzahlen der methanogenen Bakterien schwankten während des Untersuchungszeitraumes zwischen  $4,2 \times 10^2$  und  $5,0 \times 10^5$  Zellen  $g^{-1}$  Boden mit Acetat als Substrat sowie zwischen  $2,3 \times 10^2$  und  $1,3 \times 10^4$  Zellen  $g^{-1}$  Boden mit  $H_2/CO_2$  als Energie- und Kohlenstoff-Quelle. Dabei wurden die niedrigsten Zellzahlen jeweils im Januar bei 3,5 °C und die höchsten Zellzahlen im Juli bei 17 °C in-situ-Temperatur beobachtet.

Die Mittelwerte der Zellzahlen verdeutlichen, daß sich die Anzahl der hydrogenotrophen methanogenen Bakterien in der Zeit von April bis Oktober in einer ähnlichen Größenordnung bewegten und erst während des Winters (01/96) eine signifikante Abnahme festzustellen war (Abb. 5-2). Im Gegensatz dazu zeigten die Zellzahlen der acetotrophen methanogenen Bakterien eine größere saisonale Schwankung, die sich in der Größenordnung von  $10^2$  bis  $10^5$  Zellen  $g^{-1}$  Boden bewegte. Auch hier war eine deutliche Abnahme während des Winters zu beobachten. Nach dem Kruskal-Wallis-Test waren diese Unterschiede in den Zellzahlen acetotropher methanogener Bakterien hoch signifikant ( $P = 8,34 \times 10^{-7}$ ). Zwischen den Zellzahlen mit Acetat als Substrat und den Zellzahlen mit  $H_2/CO_2$  als Substrat zeigte sich im Januar gemäß des Mann-Whitney-Tests kein signifikanter Unterschied ( $P = 0,545$ ), wohingegen im April, Juli und Oktober die Zellzahlen der acetotrophen methanogenen Bakterien auf dem  $P < 0,01$ -Niveau signifikant höher als die Zellzahlen der hydrogenotrophen methanogenen Bakterien waren.



**Abb. 5-2.** Mittelwerte der Zellzahlen methanogener Bakterien für das Untersuchungsprofil Asseler Sand in Abhängigkeit von der Jahreszeit mit Acetat (20 mM) oder  $H_2/CO_2$  (80:20 v/v) als Substrat (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 10$ ).

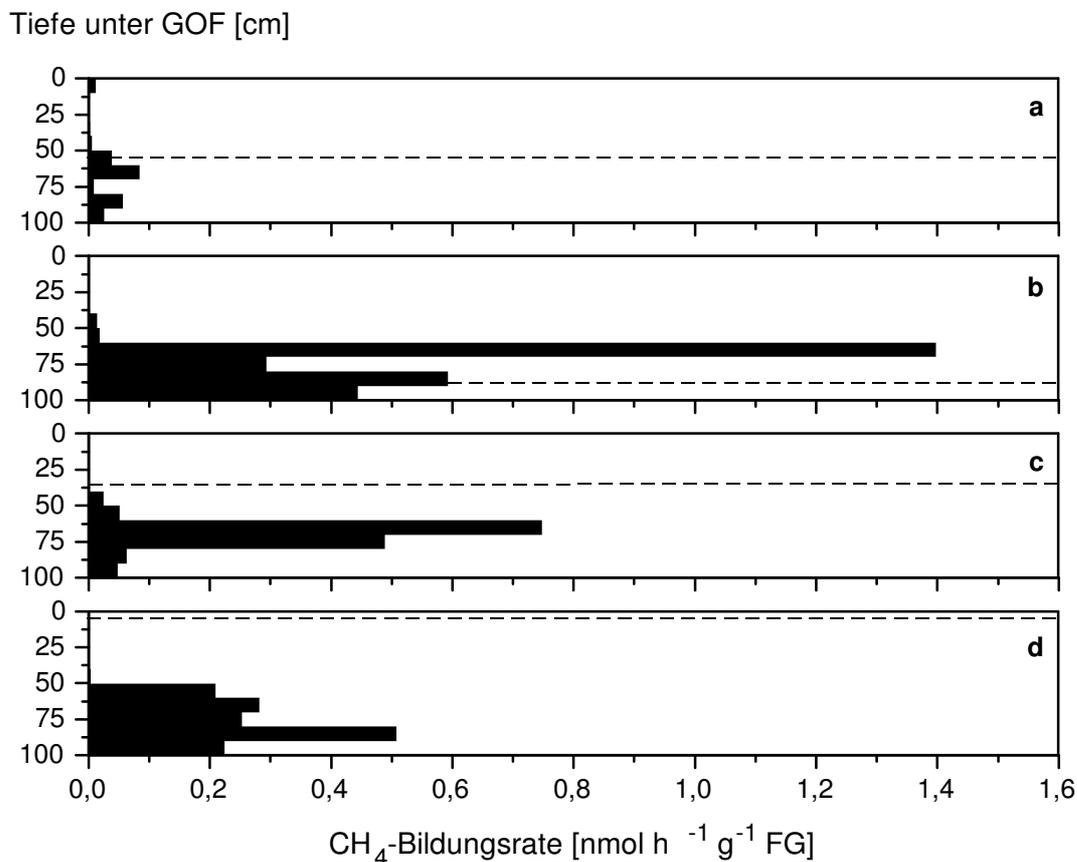
Methanbildungsaktivität konnte während des ganzen Jahres für den Profilbereich 40 - 100 cm Tiefe nachgewiesen werden (Abb. 5-3). Dieser Bereich stimmte mit dem langfristigen Einfluß des Grundwasserstandes überein, der zwischen 40 - 50 cm Tiefe schwankte (Abb. 3-5, Tab. 3-1). Wie aus Abbildung 5-3 ersichtlich, war die Höhe der Methanbildung nicht durch den aktuellen Grundwasserstand bestimmt.

Die niedrigste durchschnittliche Methanbildungsrate wurde im April mit  $0,023 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  und die höchste im Juli mit  $0,276 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  gemessen. Auffallend war die hohe durchschnittliche Methanbildungsrate im Januar ( $\bar{\text{O}} 0,148 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$ ) bei  $3,5 \text{ }^\circ\text{C}$  in-situ-Temperatur, die etwa in der gleichen Größenordnung lag wie die durchschnittliche Bildungsrate im Oktober ( $\bar{\text{O}} 0,142 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$ ) bei  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ . Ein Vergleich

beider Aktivitätsprofile zeigte jedoch, daß die Methanbildungsraten im Oktober stark schwankten, während das Tiefenprofil im Januar relativ gleichmäßige Raten aufwies. Beide Bildungsraten waren etwa halb so hoch wie die durchschnittliche Methanbildungsrate im Juli für 17 °C.

Die höchsten Methanbildungsraten im Tiefenprofil wurden im April sowie vor allem im Juli und Oktober (0,084, 1,397 und 0,748 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> FG) jeweils in der Lage 60 - 70 cm Tiefe nachgewiesen, wohingegen im Januar die Lage 80 - 90 cm Tiefe mit 0,508 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> FG die höchste Rate im Profil zeigte.

Ein Zusammenhang zwischen der saisonalen Entwicklung der Zellzahlen methanogener Bakterien sowie deren Tiefenverteilung im Bodenprofil und dem Verlauf der Methanbildungsaktivität konnte nicht festgestellt werden.

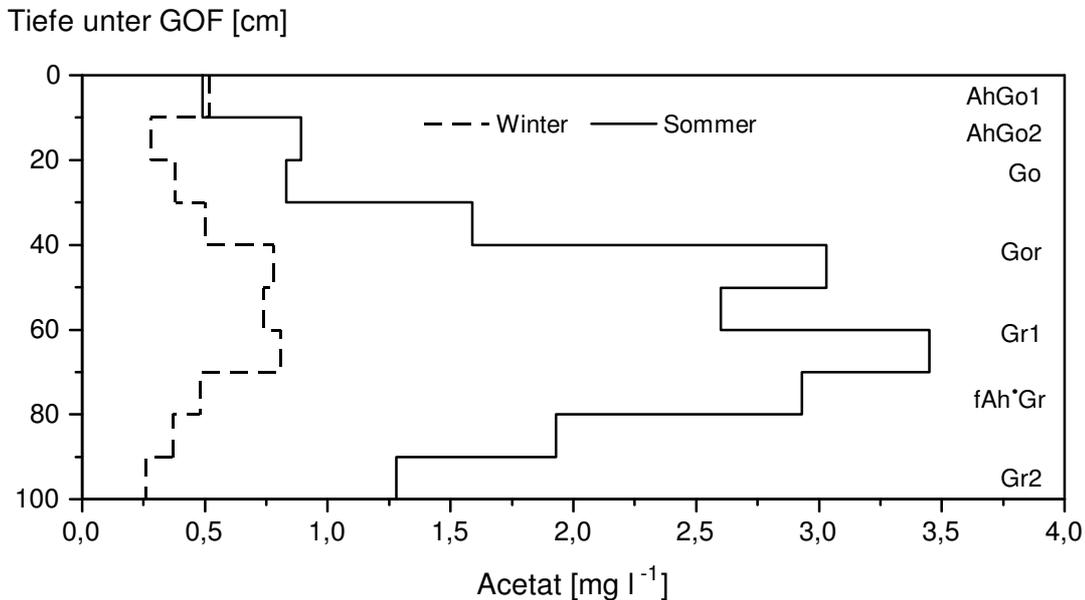


**Abb. 5-3.** Saisonaler Verlauf der aktuellen Methanbildungsaktivität des Marschbodens in Abhängigkeit von der Tiefe. Probenahmemonat und in-situ-Temperaturen waren: **a** 04/95; 8 °C; **b** 07/95; 17 °C; **c** 10/95; 10 °C; **d** 01/96; 3,5 °C. Die gestrichelte Linie gibt den jeweiligen Grundwasserstand an.

Aufgrund ihrer Bedeutung als Substrat für die methanogenen Bakterien wurde die Acetat-Konzentration für das Untersuchungsprofil einmal für das Winter- und für das Sommerhalbjahr untersucht.

Im Winter (01/96; 3,5 °C) schwankten die Acetat-Konzentration zwischen 0,26 und 0,81 mg l<sup>-1</sup>, während die Gehalte im Sommer (07/95; 17 °C) zwischen 0,49 und 3,45 mg l<sup>-1</sup>

variieren (Abb. 5-4). Die höchsten Gehalte wurden dabei im Winter zwischen 40 und 70 cm Tiefe ( $\bar{\theta}$  0,78 mg l<sup>-1</sup>) und im Sommer zwischen 40 und 80 cm Tiefe ( $\bar{\theta}$  3,00 mg l<sup>-1</sup>) gemessen, also in den Bereichen, die außer im Januar auch die höchsten Methanbildungsraten zeigten. Die durchschnittlichen Acetat-Gehalte waren im Sommer etwa viermal so hoch als im Winter.

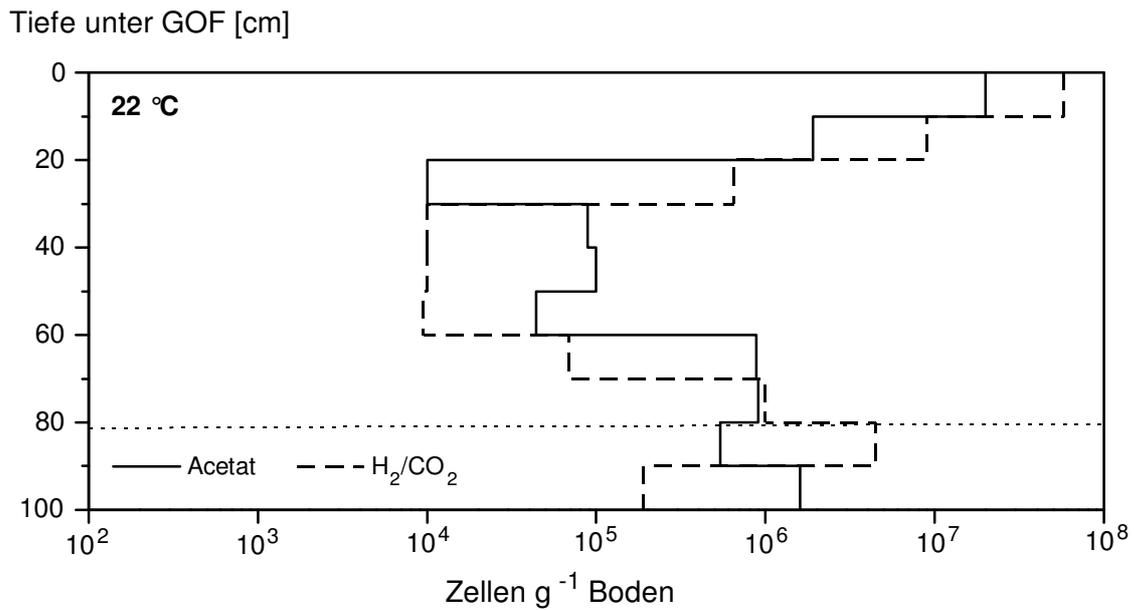


**Abb. 5-4.** Tiefenverteilung der Acetat-Gehalte im Winter- (01/96; 3,5 °C) und Sommerhalbjahr (07/95; 17 °C) für das Untersuchungsprofil des Asseler Sandes.

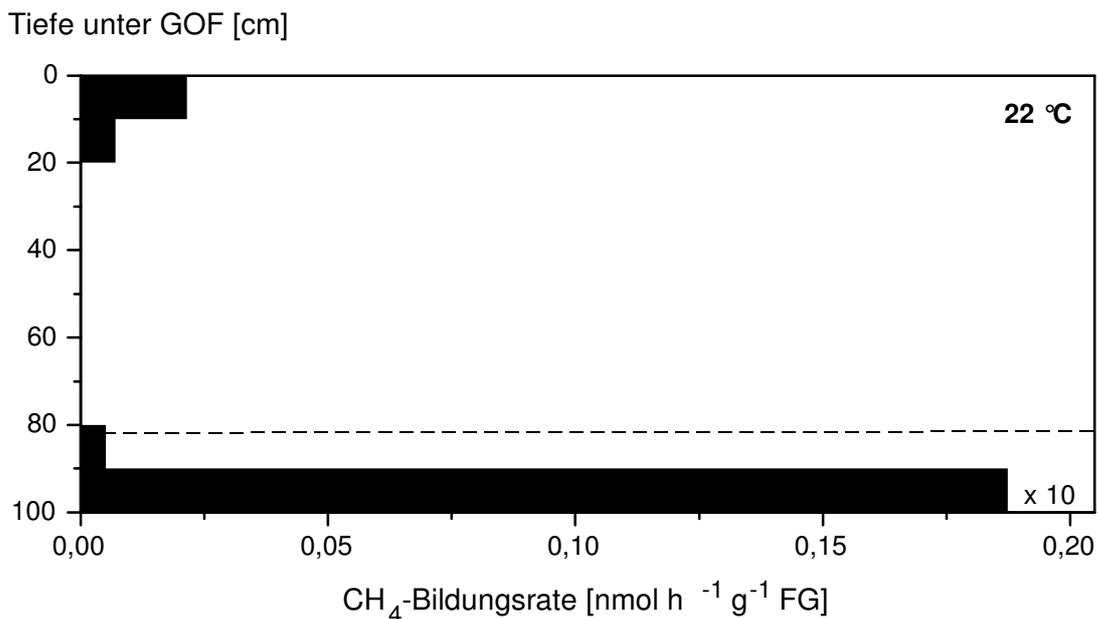
### 5.1.2 Reisboden (Suzhou)

Im Gegensatz zum Untersuchungsstandort Asseler Sand wurden die Untersuchungsfelder in China hinsichtlich der Zellzahlen methanogener Bakterien und der aktuellen Methanbildungsraten einmalig am Ende der Reissaison (10/95) untersucht.

Methanogene Bakterien konnten für den gesamten Profilbereich nachgewiesen werden (Abb. 5-5). Die Zellzahlen lagen zwischen  $1,0 \times 10^4$  und  $2,0 \times 10^7$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden mit Acetat als Substrat sowie zwischen  $9,5 \times 10^3$  und  $5,8 \times 10^7$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> als Energie- und Kohlenstoff-Quelle. Dabei wurden die höchsten Zellzahlen in der Größenordnung von  $10^7$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden im reduzierten Oberboden (Ap-Horizont, Hardpan) und in der Größenordnung  $10^6$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden im Unterboden (Gor2-, Gr-Horizont) ermittelt. Im mittleren Profilbereich, der durch Oxidationsflecken gekennzeichnet war (Tab. 3-3), lagen die Zellzahlen ein bis zwei Zehnerpotenzen niedriger. Die durchschnittlichen Zellzahlen methanogener Bakterien mit Acetat ( $2,6 \times 10^6$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden) bzw. H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ( $7,3 \times 10^6$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden) als Substrat waren nicht signifikant unterschiedlich.



**Abb. 5-5.** Tiefenverteilung der Zellzahlen methanogener Bakterien des Untersuchungsgebietes Suzhou am Ende der Reissaison (10/95) mit Acetat (20 mM) oder H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20 v/v) als Substrat. Die in-situ-Temperatur betrug 22 °C. Die gepunktete waagerechte Linie markiert den Grundwasserstand.



**Abb. 5-6.** Aktuelle Methanbildungsraten des Untersuchungsgebietes Suzhou am Ende der Reissaison (10/95) in Abhängigkeit von der Tiefe. Die in-situ-Temperatur betrug 22 °C. Die gestrichelte Linie markiert den Grundwasserstand.

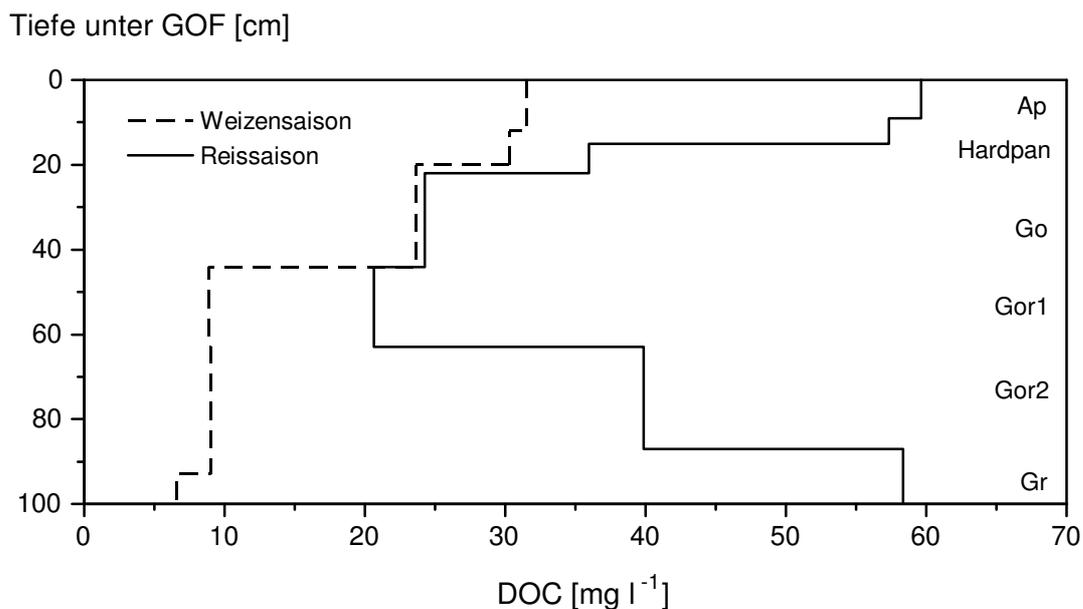
Die reduzierten Profillbereiche im Ober- und Unterboden, die die höchsten Zellzahlen methanogener Bakterien aufwiesen, zeigten auch die höchsten aktuellen Methanbildungsaktivitäten, wohingegen für den mittleren Profillbereich von 20 - 80 cm Tiefe keine aktuelle Aktivität nachweisbar war (Abb. 5-6). Die Methanbildungsraten lagen zwischen 0,005 und 1,874 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> FG, wobei die höchste Rate im deutlich reduzierten

Gr-Horizont gemessen wurde. Die durchschnittliche Methanbildungsrate des untersuchten Reisbodens lag mit

0,19 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> FG etwas niedriger als die entsprechende Methanbildungsrate des Marschbodens (0,28 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> FG; 07/95; 17 °C).

Da es nicht möglich war, für den chinesischen Untersuchungsstandort die Acetat-Gehalte zu ermitteln, wurde statt dessen der Gehalt an löslichem organischen Kohlenstoff (DOC), der als leichtverfügbares Substrat für die methanogenen Bakterien gilt, bestimmt. Aus diesem Grund wurden die DOC-Gehalte für die untersuchten Profile am Ende der Weizen- und Reissaison untersucht.

Die DOC-Gehalte schwankten am Ende der Weizensaison zwischen 6,60 und 31,56 mg l<sup>-1</sup> und am Ende der Reissaison zwischen 20,66 und 59,61 mg l<sup>-1</sup> (Abb. 5-7). Sie waren damit während der Reissaison im Durchschnitt fast 2,5 mal so hoch wie während der Weizensaison. In der Weizensaison nahmen die DOC-Gehalte im Tiefenprofil ab, während am Ende der Reissaison in den reduzierten Ober- und Unterbodenhorizonten die Gehalte am höchsten waren. Dies waren auch die Bereiche, die die höchsten Methanbildungsraten zeigten (Abb. 5-6).



**Abb. 5-7.** Tiefenverteilung des löslichen organischen Kohlenstoffs (DOC) am Ende der Weizen- und Reissaison des Untersuchungsstandortes Suzhou.

## 5.2 Temperaturcharakteristika der methanogenen Flora

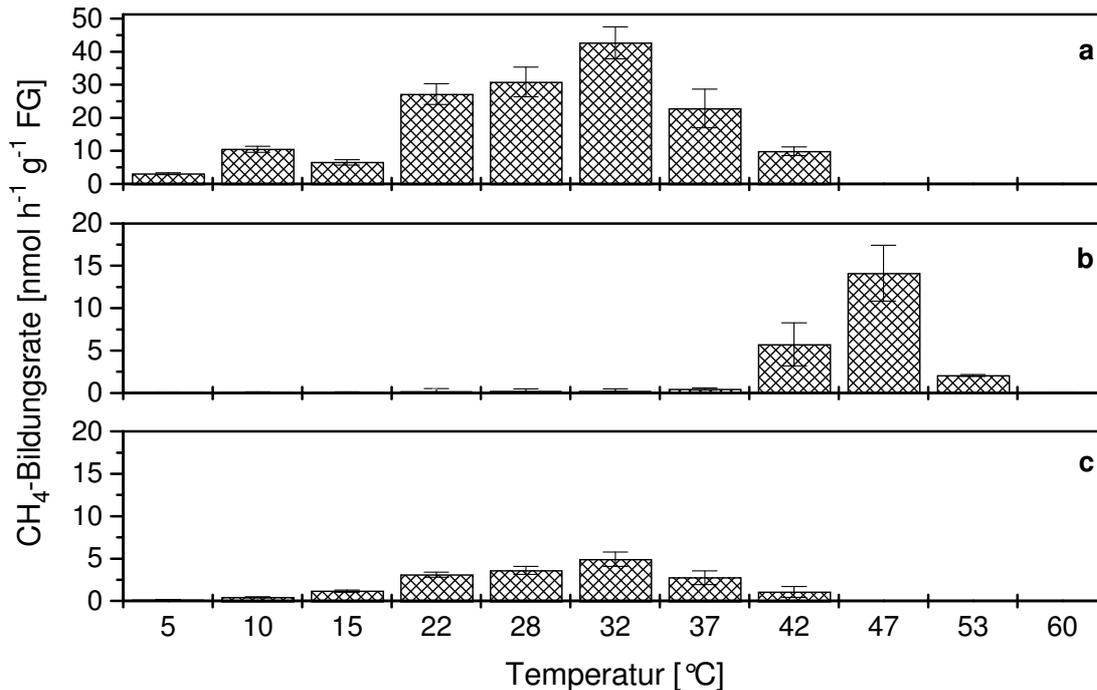
### 5.2.1 Temperaturoptimum

Die Untersuchung von Methanbildungsaktivitäten natürlicher Proben in Abhängigkeit von der Temperatur wurde für die Untersuchungsgebiete Asseler Sand und Suzhou mittels Laboranalysen durchgeführt (Kap. 4.5.1). Als Vergleichsstandort wurde ein von PFEIFFER et al.

(1996) charakterisiertes Tundrengebiet in Sibirien (Taimyr-Halbinsel) herangezogen.  
Letzteres

ist durch ein subarktisches Klima (langjähriges Monatsmittel an der Meßstation Taimyr-See: Januar  $-32,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ , Juli  $+6,6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) gekennzeichnet.

Ein Vergleich der Temperaturoptima für die Methanbildungsraten der drei Untersuchungsstandorte zeigte für den Reisboden ein Optimum von  $47\text{ }^{\circ}\text{C}$  sowie für den Marschboden und die Tundra von  $32\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Abb. 5-8).



**Abb. 5-8.** Methanbildungspotentiale nach Zugabe von standortspezifischer organischer Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur, **a** Marsch/Asseler Sand ( $n = 14$ ), **b** Reisboden/Suzhou ( $n = 3$ ) und **c** Tundra/Taimyr ( $n = 3$ ). Für den Standort Asseler Sand wurde aufgrund der höheren Raten eine andere Skalierung gewählt (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung).

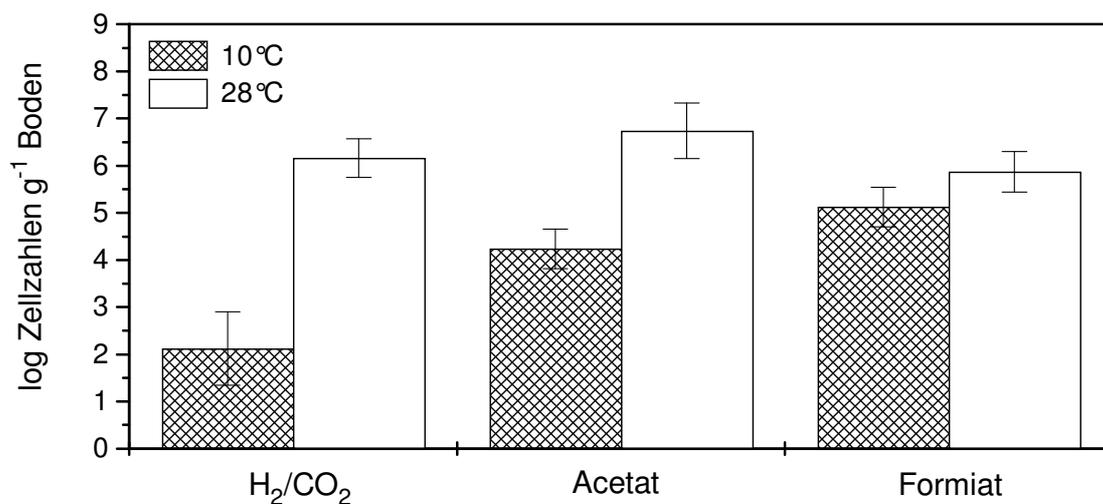
Für die Marsch wurde darüber hinaus mit  $10,51 \pm 0,96\text{ nmol h}^{-1}\text{ g}^{-1}\text{ FG}$  bei  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  ein weiteres Temperaturoptimum bestimmt (Abb. 5-8a). Die Methanbildungsrate war dabei um das 3,4fache höher als für  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  und um das 1,6fache höher als für  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Das  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ -Optimum ließ sich statistisch mit verschiedenen Testverfahren absichern. Der Kruskal-Wallis-Test zeigte einen signifikanten Unterschied in den Methanbildungsraten zwischen  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  und  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  auf dem 1%-Niveau ( $P < 0,01$ ). Der Mann-Whitney-Test zeigte eine hohe Signifikanz sowohl für die Methanbildungsrate bei  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  verglichen mit dem  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ -Temperaturoptimum ( $P = 7,45 \times 10^{-6}$ ) als auch für die Rate bei  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  verglichen mit dem  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ -Temperaturoptimum ( $P = 7,48 \times 10^{-6}$ ). Für die Methanbildungsraten bei  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  und  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  konnte zusätzlich der parametrische  $t$ -Test nach Kolmogorov-Smirnov angewandt werden. Dieser Test bestätigte den signifikanten Unterschied der untersuchten Daten auf dem 1%-Niveau ( $P < 0,01$ ).

Der Standort Asseler Sand zeigte von den drei Untersuchungsgebieten insgesamt die höchsten Methanbildungsraten, die die Raten der entsprechenden Temperaturen des Standortes Suzhou um etwa das 100fache und die Raten der Taimyr-Proben um durchschnittlich das 10fache überstiegen. Aus diesen Verhältnissen wird deutlich, daß auch die Methanbildungsaktivität des Vergleichstandortes Taimyr, vor allem für die niedrigen Temperaturen, deutlich höher waren als für die Suzhou-Proben, die insgesamt einen vergleichsweise steilen Verlauf der temperaturabhängigen Methanbildung zeigten. Im Gegensatz zu den beiden anderen Untersuchungsstandorten zeigte der Reisboden mit Ausnahme der Temperaturen 42 °C und 47 °C eine sehr niedrige Methanbildung (Abb. 5-8b).

### 5.2.2 Zellzahlen methanogener Bakterien in Abhängigkeit von Temperatur und Substrat

Für den Untersuchungsstandort Asseler Sand wurden für ausgewählte Bodenproben die Zellzahlen methanogener Bakterien für 10 °C und 28 °C sowie mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, Acetat und Formiat als Substrate untersucht (Kap. 4.6.2). Die gewählten Temperaturen entsprachen den ermittelten Optima des Marschbodens.

Bei 10 °C variierten die Zellzahlen zwischen  $3,1 \times 10^2$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> und  $1,9 \times 10^5$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden mit Formiat als Substrat (Abb. 5-9). Für diesen Temperaturbereich zeigte der Kruskal-Wallis-Test einen hoch signifikanten Unterschied ( $P = 0,0096$ ) für die mit verschiedenen Substraten ermittelten Zellzahlen. Gemäß des Mann-Whitney-Tests wiesen die Zellzahlen methanogener Bakterien mit Formiat einen signifikanten Unterschied zu den Zellzahlen mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> ( $P = 0,014$ ) und Acetat ( $P = 0,029$ ) auf.



**Abb. 5-9.** Zellzahlen methanogener Bakterien mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20 v/v), Acetat oder Formiat (20 mM) als Substrat für 10 °C und 28 °C (Mittelwerte ± Standardabweichung, n = 4).

Für 28 °C variierten die Zellzahlen in einem engen Bereich zwischen  $1,0 \times 10^6$  und  $9,7 \times 10^6$  Zellen  $g^{-1}$  Boden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen für 10 °C konnte kein signifikanter Unterschied ( $P = 0,1148$ ) zwischen den mit verschiedenen Substraten ermittelten Zellzahlen dieses Temperaturbereiches ermittelt werden.

Ein Vergleich der Zellzahlen methanogener Bakterien durch den Mann-Whitney-Test, die bei 10 °C bestimmt wurden, mit den Zellzahlen, die bei 28 °C ermittelt wurden, zeigte ferner hoch signifikante Unterschiede für jedes Substrat ( $P$ -Wert für  $H_2/CO_2 = 0,014$ , Acetat =  $0,014$  und Formiat =  $0,043$ ).

### 5.2.3 Einfluß verschiedener Substrate auf die Methanbildung

Der Einfluß verschiedener Substrate (Acetat,  $H_2/CO_2$ , Glucose) auf die Methanbildung wurde für den Untersuchungsstandort Asseler Sand an ausgewählten Bodenproben bei 10 °C und 20 °C untersucht (Kap. 4.5.1). Dabei können Acetat und  $H_2/CO_2$  direkt von den methanogenen Bakterien als Substrate genutzt werden, während Glucose erst durch fermentative Bakterien zu methanogenen Substraten vergoren werden muß.

**Tab. 5-1.** Methanbildung des Marschbodens bei 10 °C und 20 °C mit verschiedenen Substraten im Vergleich zu einer Kontrolle ohne Substrat (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 3$ ).

Substrate	CH <sub>4</sub> -Bildungsrate (nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> TG)	
	10 °C	20 °C
Acetat	0,166 $\pm$ 0,077	15,89 $\pm$ 6,51
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	0,085 $\pm$ 0,015	44,15 $\pm$ 0,64
Glucose	0,088 $\pm$ 0,035	31,72 $\pm$ 12,50
Kontrolle ohne Substrat	0,014 $\pm$ 0,001	0,099 $\pm$ 0,04

Die Methanbildungsrate bei 10 °C mit Acetat als Substrat betrug  $0,166 \pm 0,077$  nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> TG. Dieser Wert war etwa doppelt so hoch wie die Raten mit  $H_2/CO_2$  oder Glucose als Substrat (Tab. 5-1). Bei 20 °C wurden die höchsten Methanbildungsraten mit  $44,15 \pm 0,64$  nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> TG hingegen mit  $H_2/CO_2$  als zusätzliches Substrat ermittelt, während die niedrigsten Raten mit Acetat ( $15,89 \pm 6,51$  nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> TG) als Substrat bestimmt wurden. Im Vergleich zu den Proben mit Substratgabe zeigten die entsprechenden Kontrollen ohne zusätzliches Substrat nur eine sehr geringe Methanbildungsrate.

### 5.3 Isolierung und Charakterisierung von methanogenen Bakterien

#### 5.3.1 Grundlagen

Aus Bodenproben des Asseler Sandes wurden methanogene Bakterien bei 10 °C, 17 °C und 28 °C angereichert und isoliert, um die methanogene Flora dieses Untersuchungsgebietes hinsichtlich ihrer Temperatureigenschaften charakterisieren zu können. Für die Isolierung wurde von Anreicherungskulturen auf Minimalmedium, die mit verschiedenen Substraten (H<sub>2</sub>, Acetat, Formiat, Methanol, Ethanol, Trimethylamin) versetzt waren, ausgegangen (Kap. 4.6.4). Die Aufreinigung erfolgte über Agarverdünnungsreihen bzw. aus den höchsten Verdünnungsstufen der MPN-Ansätze (Zellzahlbestimmung) unter Zugabe von Antibiotika (Erythromycin, Phosphomycin).

Sowohl bei 10 °C als auch bei 28 °C konnten Reinkulturen methanogener Bakterien isoliert werden. Darüber hinaus konnten bei 10 °C und 17 °C verschiedene bisher nicht näher charakterisierte Bakterien auf unterschiedlichen Substraten angereichert werden (Tab. 5-2).

**Tab. 5-2.** Anreicherungskulturen methanogener Bakterien, die bei 10 °C und 17 °C mit verschiedenen Substraten gewonnen wurden. Anhand der vorherrschenden Morphologie wurde auf die wahrscheinliche Zellgestalt der angereicherten methanogenen Bakterien geschlossen.

Bezeichnung	Temperatur [°C]	Substrat	Substrat- konzentration [mM]	Zellgestalt
AS-58	10	Acetat	20	irreg. Coccen
AS-60	10	Methanol	20	(Pseudo-)Sarcinen
AS-64	10	Formiat	10	Kurzstäbchen
AS-65	10	Trimethylamin	10	(Pseudo-)Sarcinen
AS-66	10	Acetat	20	irreg. Coccen
AS-67	10	Methanol	20	(Pseudo-)Sarcinen
AS-69	10	Ethanol	10	Kurzstäbchen
AS-70	10	Acetat	20	irreg. Coccen
AS-71	10	Acetat	20	irreg. Coccen
AS-43	17	Acetat	20	irreg. Coccen
AS-44	17	Formiat	10	Kurzstäbchen
AS-48	17	Ethanol	10	irreg. Coccen
AS-49	17	Trimethylamin	10	(Pseudo-)Sarcinen
AS-54	17	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	80:20 v/v	Stäbchen
AS-55	17	Acetat	20	irreg. Coccen
AS-58	17	Acetat	20	irreg. Coccen

irreg. = irregulär

### 5.3.2 Morphologische Merkmale

Zur näheren Charakterisierung der isolierten und in Reinkultur gehaltenen methanogenen Bakterien wurden folgende morphologischen Merkmale erfaßt: Zellgestalt und -größe, Beweglichkeit und Koloniefarbe (Tab. 5-3).

Bei 10 °C konnten zwei Bakterienstämme isoliert werden. Bei Stamm AS-11 handelte es sich um ein stäbchenförmiges Bakterium mit einer Zellgröße von etwa 2,5 - 8,1 x 0,3 - 0,5 µm (Abb. 5-10b). Stamm AS-57 repräsentierte ein sarcinenförmiges Bakterium, das in typischer Tetradenform wuchs, aber auch in größeren Zellaggregaten auftrat. Die Größe der Einzelzellen variierte zwischen 1,0 - 1,4 x 0,6 - 1,0 µm (Abb. 5-10a).

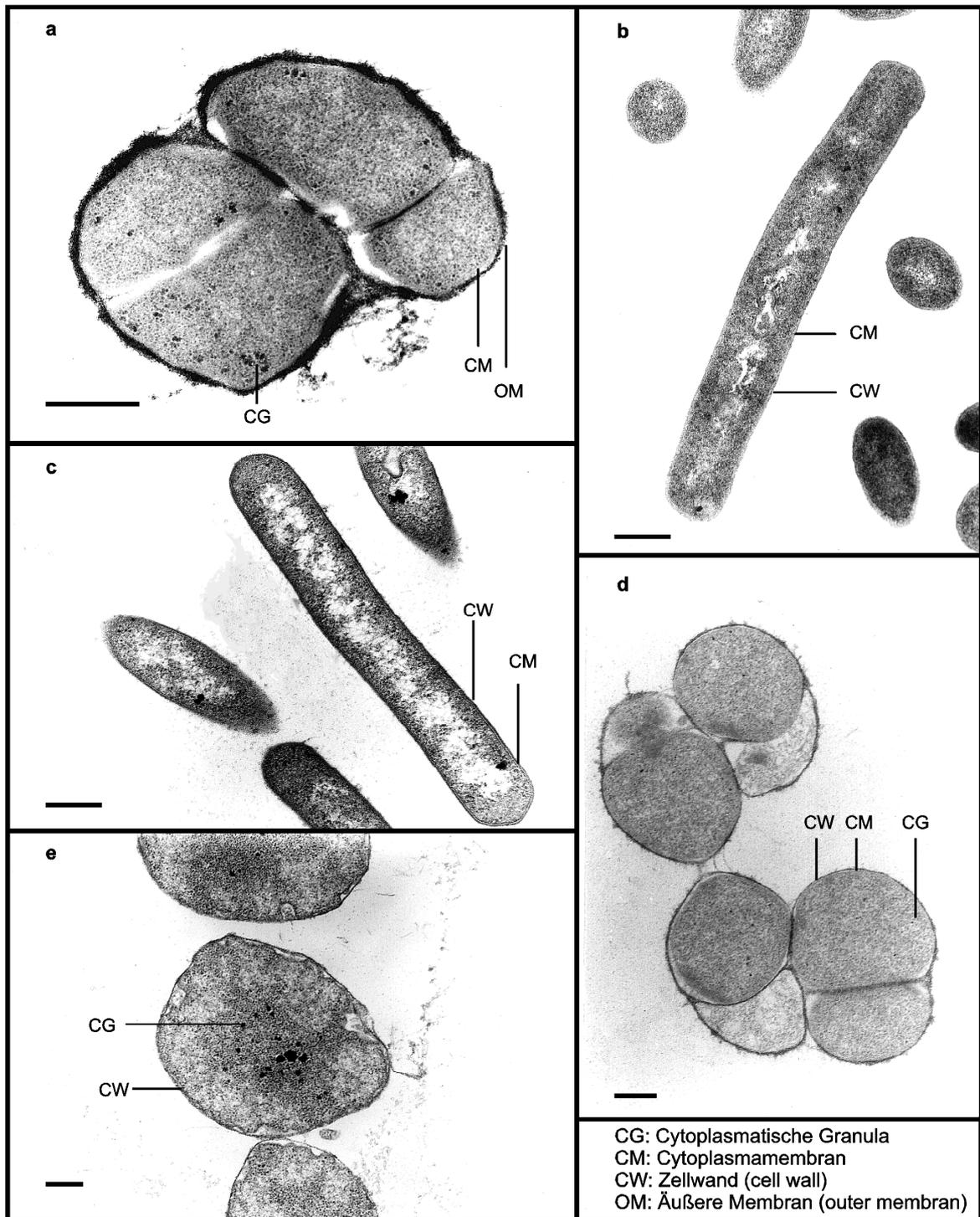
Bei 28 °C konnten insgesamt sieben Bakterienstämme isoliert werden, bei denen es sich um zwei sarcinenförmige, ein stäbchenförmiges und fünf coccoide Bakterien handelte (Tab. 5-3). Von diesen Isolaten wurden drei exemplarisch mit Hilfe des Transmissionselektronenmikroskops dargestellt (Abb. 5-10c bis 5-10e). Stamm AS-2 war ein sarcinenförmiges Bakterium, das in typischer Tetradenform wuchs, aber überdies auch als Einzelzellen auftrat.

**Tab. 5-3.** Ausgewählte morphologische Merkmale der aus Bodenproben des Asseler Sandes isolierten methanogenen Bakterien.

Stamm	Isolations- temperatur [°C]	Zellgestalt	Zellgröße [µm]	Beweg- lichkeit	Kolonie- farbe
AS-11	10	Stäbchen	2,5-8,1 x 0,3-0,5	-	n.b.
AS-57	10	(Pseudo-)Sarcinen	1,0-1,4 x 0,6-1,0	-	n.b.
AS-1	28	(Pseudo-)Sarcinen	n.b.	-	weiß
AS-2	28	(Pseudo-)Sarcinen	1,5-2,6 x 2,1-3,2	-	weiß
AS-3	28	Stäbchen	4,3-9,3 x 0,3-0,5	-	n.b.
AS-19	28	irreg. Coccen	1,4-2,0 x 1,3-1,6	-	n.b.
AS-35	28	irreg. Coccen	n.b.	-	weiß
AS-80	28	irreg. Coccen	2,4-4,0 x 2,9-5,1	-	weiß
AS-90	28	irreg. Coccen	2,7-4,5 x 3,0-5,4	-	weiß

irreg. = irregulär, n.b. = nicht bestimmt

Die Größe der Einzelzellen innerhalb der Aggregate variierte zwischen 1,5 - 2,6 x 2,1 - 3,2 µm (Abb. 5-10d). Stamm AS-3 repräsentierte einen ebenfalls stäbchenförmigen Organismus mit einer Zellgröße von etwa 4,3 - 9,3 x 0,3 - 0,5 µm (Abb. 5-10c). Stamm AS-90 wies die morphologische Gestalt von irregulären Coccen auf mit einer durchschnittlichen Zellgröße von 2,7 - 4,5 x 3,0 - 5,4 µm (Abb. 5-10e).



**Abb. 5-10.** Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von Ultradünnschnitten ausgewählter Bakterien. **a** Stamm AS-57, der Schnitt zeigt die typische tetradenartige Gestalt des Organismus, 30.000fach; **b** Stamm AS-11, der Schnitt zeigt die stäbchenförmige Zellgestalt, 13.500fach; **c** Stamm AS-3, der Schnitt zeigt die stäbchenförmige Zellgestalt, 23.000fach; **d** Stamm AS-2, der Schnitt zeigt den tetradenartig wachsenden Organismus, 18.500fach; **e** Stamm AS-90, der Schnitt zeigt die typisch irregulär coccoide Gestalt des Organismus, 13.500fach; Balkenlänge = 500 nm.

Diese drei Stämme zeigten eine positive Gram-Färbung, während die anderen Stämme daraufhin nicht weiter untersucht wurden. Keines der bei 10 °C oder 28 °C isolierten Bakterien zeigte Beweglichkeit.

### 5.3.3 Physiologische Merkmale

Folgende physiologische Eigenschaften wurden zur weiteren Charakterisierung der neun Stämme untersucht (Kap. 4.6.4): Autotrophes Wachstum, Substratspektrum, Temperatur-, NaCl- und pH-Optimum (Tab. 5-4).

Die beiden bei 10 °C isolierten Stämme zeigten ein relativ eingeschränktes Substratspektrum. Stamm AS-11 wurde auf H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> isoliert und konnte darüber hinaus nur mit Formiat wachsen, während Stamm AS-57 einzig mit Methanol und Trimethylamin zu wachsen vermochte. Stamm AS-11 hatte ein Temperaturoptimum von 35 °C, wohingegen Stamm AS-57 mit 30 °C ein niedrigeres Temperaturoptimum aufwies. Beide Isolate zeigten auch bei 5 °C noch Wachstum.

**Tab. 5-4.** Ausgewählte physiologische Merkmale der aus Bodenproben des Asseler Sandes isolierten methanogenen Bakterien.

Stamm	Isolations-substrat	Autotrophes Wachstum	Substratspektrum	Temperatur [°C]	NaCl [mM]	pH
AS-11	H <sub>2</sub>	+	H <sub>2</sub> , F	35 (5-42)	n.b.	n.b.
AS-57	Methanol	-	M, TMA	30 (5-37)	n.b.	n.b.
AS-1	Methanol	-	M, TMA	37 (5-47)	70 (20-320)	7,7
AS-2	Methanol	-	M, A, F	34 (10-37)	n.b.	7,6
AS-3	H <sub>2</sub>	+	H <sub>2</sub> , F	32 (5-42)	n.b.	7,4
AS-19	H <sub>2</sub>	+	H <sub>2</sub> , M, TMA, A	37 (10-42)	70 (20-320)	7,2
AS-35	H <sub>2</sub>	+	H <sub>2</sub> , M, TMA, A	32 (5-37)	70 (20-270)	7,8
AS-80	H <sub>2</sub>	+	H <sub>2</sub> , M, TMA, A, E	30 (10-47)	n.b.	7,5
AS-90	H <sub>2</sub>	+	H <sub>2</sub> , M, TMA	37 (5-47)	70 (20-320)	7,2

Substratspektrum: H<sub>2</sub> = H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Gasgemisch (80:20, v/v), M = Methanol, TMA = Trimethylamin, A = Acetat, F = Formiat, E = Ethanol; n.b. = nicht bestimmt; in Klammern angegeben ist der entsprechende Bereich, in dem die Organismen noch zu wachsen vermögen

Von den bei 28 °C isolierten Stämmen wurden zwei auf Methanol und fünf auf H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> als Substrat angezogen. Darüber hinaus zeigten die Stämme AS-19, AS-35, AS-80 und AS-90 ein sehr breites Substratspektrum, das H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, Methanol, Trimethylamin und Acetat umfaßte. Stamm AS-80 war auch in der Lage, mit Ethanol zu wachsen. Die Stämme AS-1, AS-19 und AS-90 wiesen ein Temperaturoptimum von 37 °C auf, während die anderen Isolate ein niedrigeres Temperaturoptimum zeigten, das zwischen 30 °C und 34 °C lag. Die meisten Kulturen konnten auch bei 5 °C noch wachsen. Alle auf Wasserstoff isolierten Stämme waren zu litho-

autotrophem Wachstum befähigt. Keines der Isolate war in der Lage, Isopropanol als Substrat zu nutzen.

Die Stämme AS-1, AS-19, AS-35 und AS-90 zeigten mit 70 mM NaCl ein leicht erhöhtes Wachstum. Die Isolate, bei denen das Salzoptimum nicht näher bestimmt wurde, wuchsen bei einer NaCl-Konzentration von 20 mM.

Das pH-Optimum der isolierten Stämme lag im neutralen Bereich und variierte zwischen pH-Werten von 7,2 und 7,8.

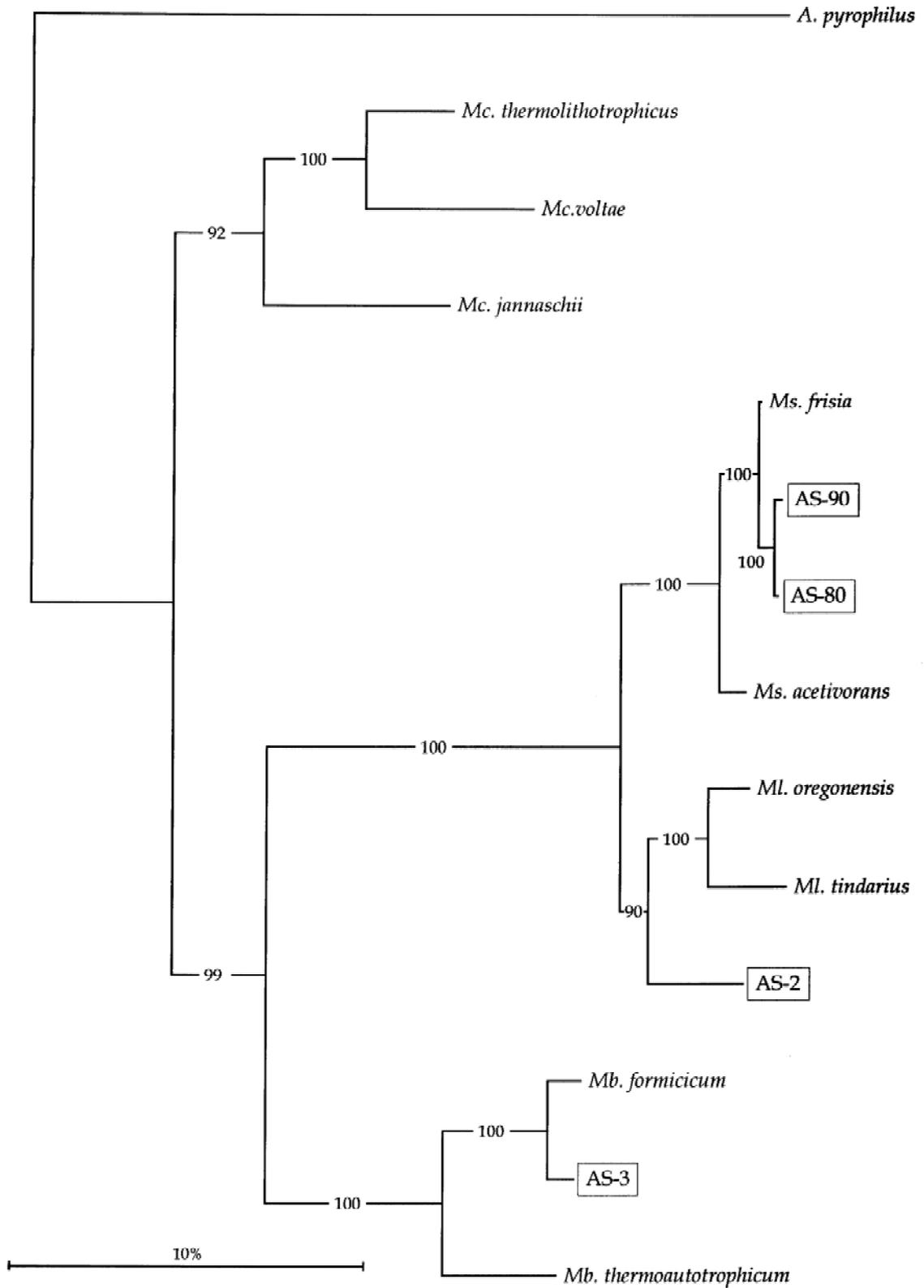
### 5.3.4 Phylogenetische Auswertung der 16S-rRNA-Sequenzen methanogener Bakterien

Zur systematischen Zuordnung wurde an ausgewählten Stämmen eine 16S-rRNA-Sequenz-Analyse durchgeführt (Kap. 4.6.4.5).

Die Ergebnisse des Vergleiches der erhaltenen 16S-rRNA-Sequenzen der isolierten methanogenen Stämme (AS-2, AS-3, AS-80, AS-90) mit bekannten Gattungen sind in Tabelle 5-5 dargestellt. Ferner wurde auf der Basis der Ergebnisse der 16S-rRNA-Sequenzierung ein phylogenetischer Stammbaum für die untersuchten Reinkulturen methanogener Bakterien erstellt (Abb. 5-11). Als Referenzorganismus wurde das hyperthermophile H<sub>2</sub>-oxidierende Bakterium *Aquifex pyrophilus* (HUBER et al., 1992) herangezogen, das eine nahe Verwandtschaft zu den Archaea aufweist.

Die Analysen zeigten eine nahezu 100%ige Übereinstimmung der 16S-rRNA-Sequenzen der Isolate AS-80 und AS-90. Da in den morphologischen und physiologischen Merkmalen ebenfalls eine weitgehende Übereinstimmung vorlag, wurde im Folgenden davon ausgegangen, daß es sich bei den beiden genannten Reinkulturen um zwei Stämme der gleichen Art handelte. Aufgrund der in Tabelle 5-3 und 5-4 beschriebenen Eigenschaften und einer 99,3%igen Übereinstimmung in der 16S-rRNA-Sequenz mit dem methanogenen Bakterium *Methanosarcina frisia* (BLOTEVOGEL et al., 1986; BLOTEVOGEL & FISCHER, 1989) kann davon ausgegangen werden, daß die beiden Isolate AS-80 und AS-90 dieser Gattung zuzuordnen sind.





**Abb. 5-11.** Phylogenetischer Stammbaum der im Rahmen dieser Arbeit isolierten methanogenen Bakterien auf Basis von 16S-rRNA-Sequenz-Analysen. Die Zahlen an den Verzweigungen geben deren Wahrscheinlichkeit in [%] an. Als Referenzorganismus wurde *Aquifex pyrophilus* (HUBER et al., 1992) herangezogen.

Das Isolat AS-3 zeigte eine Übereinstimmung von 98,2 % in der 16S-rRNA-Sequenz mit dem methanogenen Bakterium *Methanobacterium formicicum* (BRYANT & BOONE, 1987). Da sich dieses Ergebnis mit den morphologischen und physiologischen Merkmalen der Gattung *Methanobacterium* deckte, wurde die Reinkultur dieser Gattung zugeordnet.

Im Gegensatz zu den anderen drei Isolaten, ließ sich die Reinkultur AS-2 anhand der 16S-rRNA-Sequenz sowie der morphologischen und physiologischen Eigenschaften keiner der bekannten Gattungen zuordnen. Die nächste Verwandtschaft bestand zu der marinen Gattung *Methanlobus* (STETTER, 1989). Da die Übereinstimmung in der 16S-rRNA-Sequenz zu *Ml. oregonensis* jedoch nur 94,3 % und zu *Ml. tindarius* lediglich nur 93,1 % betrug, kann davon ausgegangen werden, daß es sich bei dem Isolat AS-2 um ein bisher nicht beschriebenes methanogenes Bakterium handelt.

## 5.4 Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff

### 5.4.1 Hemmung der Methanoxidation durch Acetylen

Die Untersuchung der Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff erfolgte an Bodenmaterial mit der natürlichen mikrobiellen Flora. Diese Flora beinhaltet neben den methanbildenden Bakterien auch die sogenannten methylotrophen Bakterien, die Methan mittels Sauerstoff zu Kohlendioxid oxidieren. Da die Oxidation des gebildeten Methans zu einer Verfälschung der zu messenden Methanbildungsaktivität führen würde, wurden die methylotrophen Bakterien spezifisch gehemmt. Zu diesem Zweck wurde Acetylen ( $0,06 \mu\text{l ml}^{-1}$  Gasraum) als spezifischer Hemmstoff des methanoxidierenden Enzyms (Methanmonooxygenase) der methylotrophen Bakterien eingesetzt (WATANABE et al., 1995).

Ein Vorversuch zeigte, daß in Gegenwart von Acetylen eine Methankonzentration von 2,5 % in synthetischer Luft über einen Zeitraum von etwa 170 Stunden konstant blieb (Abb. 5-12). Im Gegensatz dazu wurde die eingesetzte Methanmenge ohne Acetylen innerhalb von etwa 95 Stunden vollständig abgebaut.

In zwei weiteren Ansätzen wurde der Einfluß von Acetylen auf die Methanbildung unter anaeroben Bedingungen mit Acetat als Substrat untersucht. Die Methanbildungsraten betrugen dabei ohne Acetylen  $46,52 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  und mit Acetylen  $30,25 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$ . Diese Differenz entspricht in etwa der Schwankungsbreite der Methanbildung von Naturproben (Abb. 5-8).

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde für die nachfolgenden Experimente davon ausgegangen, daß die eingesetzte Acetylen-Konzentration die Methanoxidation vollständig hemmt, ohne gleichzeitig die Methanbildung zu beeinflussen.

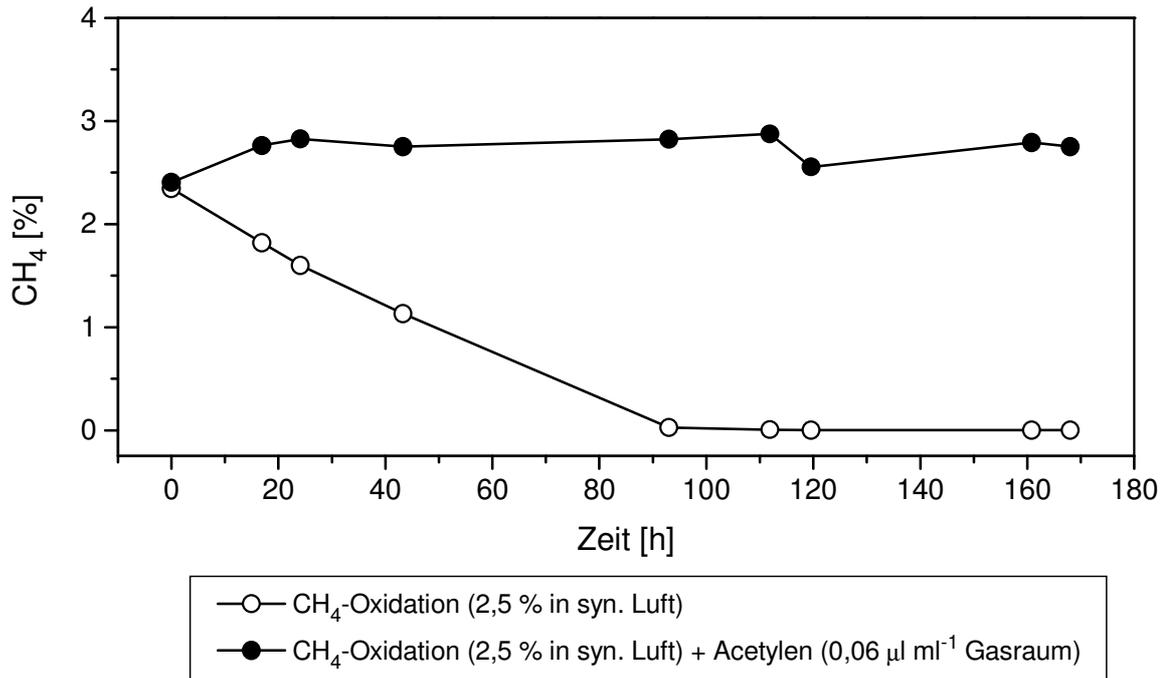


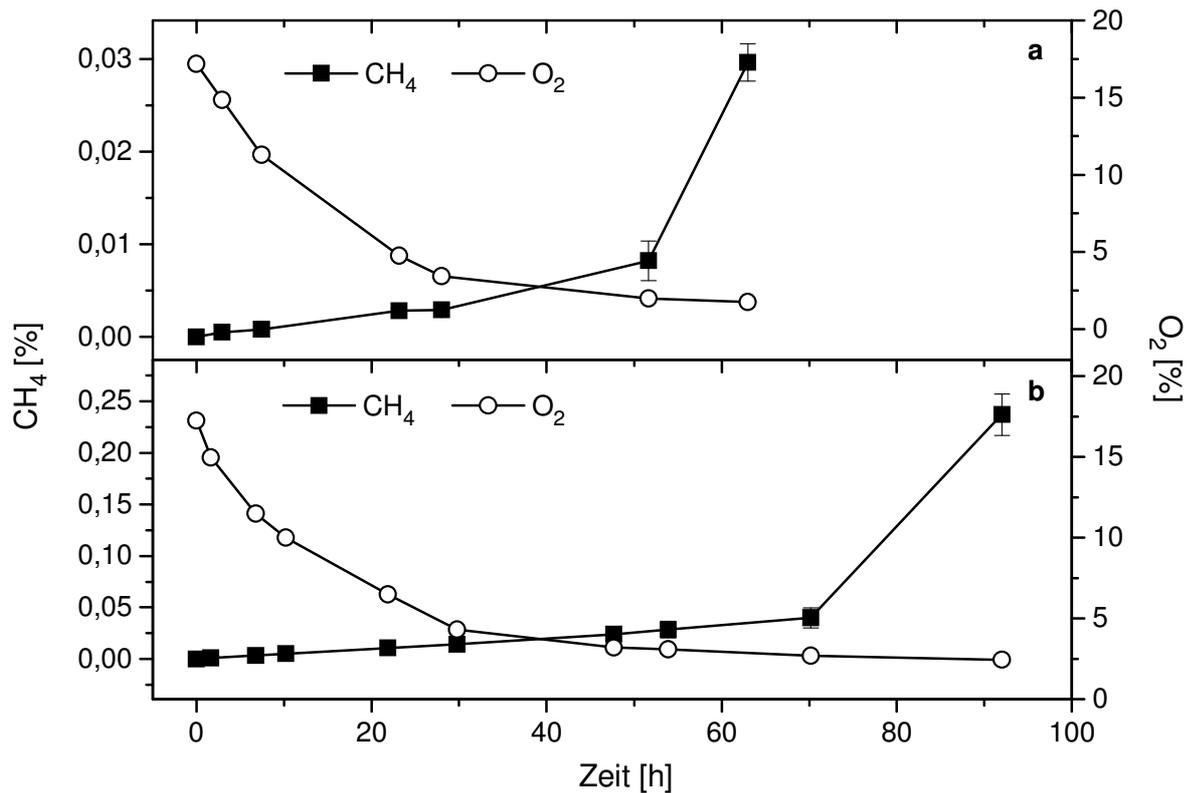
Abb. 5-12. Einfluß von Acetylen auf die aerobe Methanoxidation in Marschbodenproben.

#### 5.4.2 Einfluß der Begleitflora

Die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff wurde an Bodenproben des Standortes Asseler Sand nach Zugabe von Acetat (20 mM) oder H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20, v/v) untersucht. Die Proben, die zu Versuchsbeginn von anaerober Inkubation nach aerober Inkubation überführt wurden, zeigten zwei Phasen der Methanbildung (Abb. 5-13). Mit Acetat als Substrat zeigte die Methanbildung für die ersten 50 Stunden eine konstante Rate (Abb. 5-13a), während mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> als Substrat die erste Phase mit einem linearen Anstieg der Methanbildung etwa 70 Stunden andauerte (Abb. 5-13b).

In dieser ersten Phase nahm die Sauerstoffkonzentration in beiden Versuchsansätzen von etwa 18 % auf 2,5 % (● 0,25 mM - 0,035 mM gelöstem Sauerstoff) ab. In der zweiten Phase (mikroaerophile Bedingungen), die nach dem Absinken der Sauerstoffkonzentration auf einen Wert von ≤ 2,5 % einsetzte, stieg die Methanbildung sprunghaft an.

Die Methanbildungsraten in Gegenwart von hohen Sauerstoffkonzentrationen (erste Phase) waren sehr viel niedriger als die Methanbildungsraten von Vergleichsproben, die unter streng anaeroben Bedingungen inkubiert wurden (Tab. 5-6). Dabei betrug die Methanbildungsrate in Gegenwart von Sauerstoff (aerobe Bedingungen) 0,35 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> TG mit Acetat, während die Rate mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> etwa sieben mal so hoch war (2,43 nmol h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> TG). Die Raten unter aeroben Bedingungen entsprachen etwa 1 % der Methanbildung unter anaeroben Bedingungen mit Acetat und 5 % mit H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> als Substrat.



**Abb. 5-13.** Methanbildung von Marschbodenproben nach Überführung von anaeroben zu aeroben Bedingungen, **a** mit Acetat (20 mM) und **b** mit  $H_2/CO_2$  (80:20 v/v) als Substrat. Der sprunghafte Anstieg der Methanbildung unter mikroaerophilen Bedingungen (zweite Phase) setzte sich über den Versuchszeitraum von 200 Stunden fort (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 4$ ).

Die Methanbildungsraten in der zweiten Phase unter mikroaerophilen Bedingungen ( $\leq 2,5\%$ ) waren für beide Substrate höher als während der ersten Phase des Experiments unter vollständig aeroben Bedingungen (18 - 2,5 %). Die Raten erreichten mit Acetat etwa 20 % bzw. mit  $H_2/CO_2$  35 % der unter streng anaeroben Bedingungen bestimmten Methanbildungsraten.

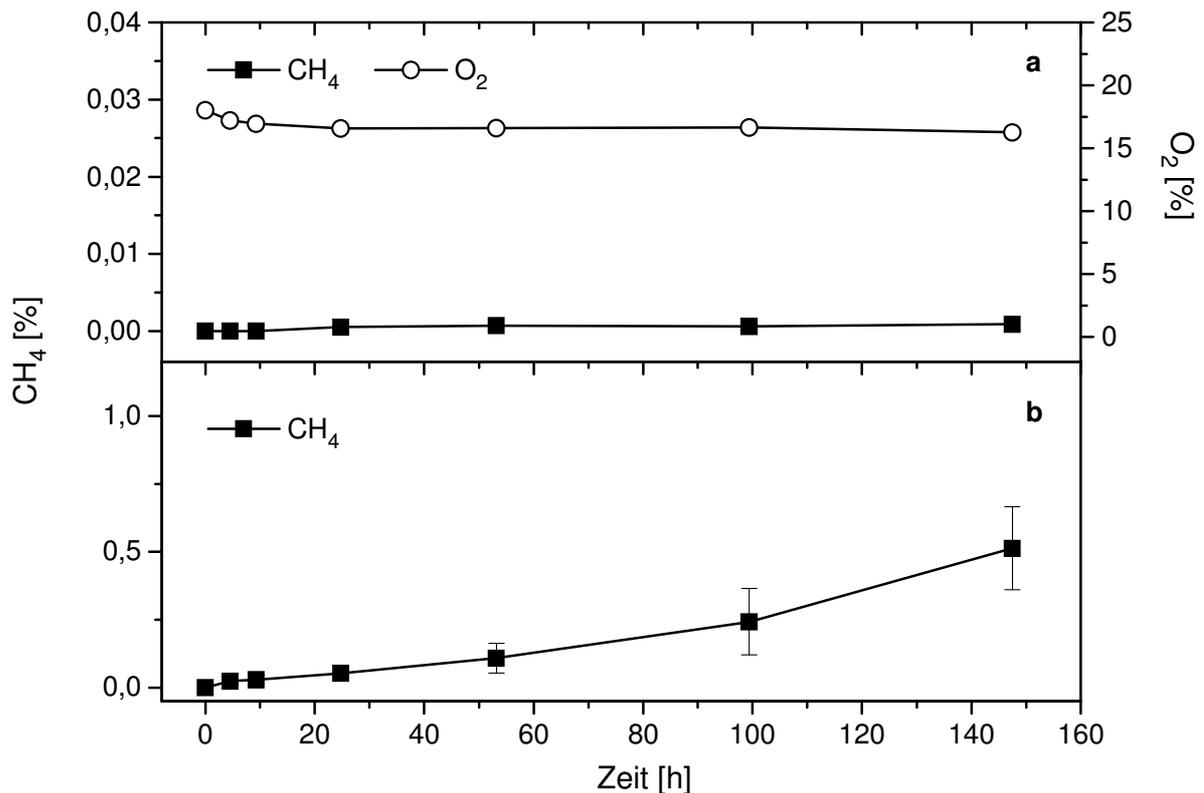
**Tab. 5-6.** Methanbildungsraten für Acetat und  $H_2/CO_2$  als Substrat unter anaeroben, aeroben ( $> 2,5\%$   $O_2$ ) und mikroaerophilen ( $\leq 2,5\%$   $O_2$ ) Bedingungen (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung).

Substrat	CH <sub>4</sub> -Bildungsraten [nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> TG]								
	anaerob	n	r	aerob (18 - 2,5 %)	n	r	mikroaerophil ( $\leq 2,5\%$ )	n	r
Acetat	48,97 $\pm$ 6,10	3	0,997	0,35 $\pm$ 0,10	4	0,983	9,48 $\pm$ 3,28	4	0,959
$H_2/CO_2$	46,45 $\pm$ 3,52	3	0,985	2,43 $\pm$ 0,51	4	0,995	16,33 $\pm$ 3,29	4	0,998

$n$  = Probenanzahl,  $r$  = Korrelationskoeffizient

Die Bedeutung der Begleitflora für die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff konnte mit sterilisierten Bodenproben, die anschließend mit *Methanosarcina mazei* beimpft wurden, gezeigt werden.

Abbildung 5-14a zeigt die Methanbildung von *Ms. mazei* bei Abwesenheit der Begleitflora (vorherige Sterilisation) unter aeroben Bedingungen. Die Sauerstoffkonzentration blieb während des gesamten Versuchszeitraumes bei etwa 17 % konstant. Die angeimpfte methanogene Kultur war unter diesen Bedingungen nicht in der Lage Methan zu bilden. Unter anaeroben Bedingungen zeigte sich hingegen auch bei Abwesenheit der Begleitflora eine Methanbildung (Abb. 5-14b) der angeimpften methanogenen Bakterien mit einer Rate von  $14,29 \pm 3,47 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ TG}$  (berechnet für den linearen Bereich).



**Abb. 5-14.** Methanbildung von *Methanosarcina mazei* (DSM 2053) mit Acetat (20 mM) in sterilisierten Marschproben, **a** unter aeroben und **b** unter anaeroben Bedingungen (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 3$ ).

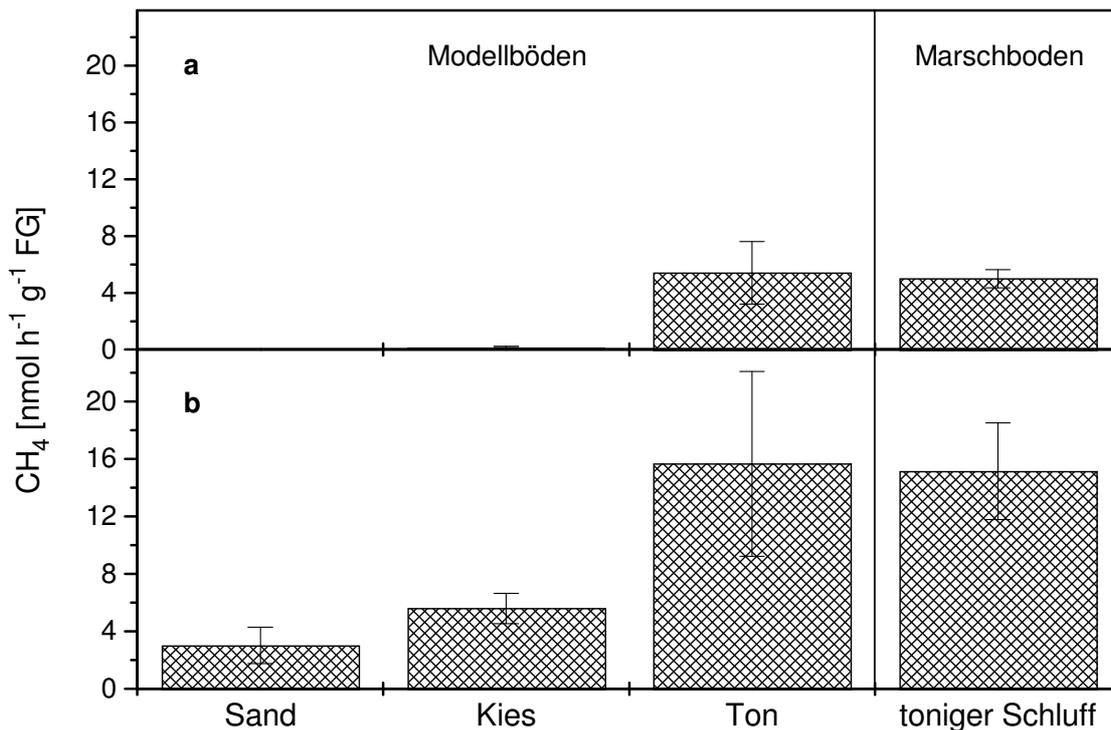
### 5.4.3 Einfluß der Bodenart

Die Bedeutung der Bodenart für die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff konnte anhand von sogenannten Modellböden gezeigt werden. Die Modellböden zeichneten sich durch unterschiedliche Bodenarten aus. Diese Böden wurden mit einer geringen Menge Marschboden, die die entsprechende Begleitflora enthielt, und zusätzlich mit Reinkulturen methanogener Bakterien beimpft (Kap. 4.5.4).

Die Methanbildungsraten der Modellböden zeigten unter anaeroben Bedingungen eine Abhängigkeit von der Bodenart (Abb. 5-15b). Dabei variierten die Methanbildungsraten zwischen  $3,0 \pm 1,3 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  in den Modellbodenproben aus Sand und  $15,7 \pm 6,4 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$

in den Proben aus Ton. Die Raten der tonig schluffigen Naturproben (Marschboden) waren in diesen Experimenten vergleichbar mit den Raten für die Modellböden aus Ton.

In Gegenwart von Sauerstoff konnte in dem Marschboden und den Modellböden aus Ton eine relativ hohe Methanbildungsrate beobachtet werden, die etwa ein Drittel der Rate unter anaeroben Bedingungen betrug (Abb. 5-15a). In den Modellböden aus Kies konnte hingegen nur eine sehr geringe Methanbildungsrate von  $0,18 \pm 0,04 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  gemessen werden, was etwa 3 % der Rate unter anaeroben Bedingungen entsprach. Die Modellböden aus Sand zeigten indes keine Methanbildung unter den aeroben Bedingungen, obwohl auch in diesem System der Sauerstoff im Laufe des Versuches durch die Begleitflora, die mit dem angeimpften Marschboden eingebracht worden war (Kap. 4.5.4), verbraucht wurde (Abb. 5-16). Die Methanbildungsraten zwischen den Modellböden aus Ton einerseits und Kies bzw. Sand andererseits waren nach dem Mann-Whitney-Test sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen auf dem  $P < 0,05$ -Niveau signifikant unterschiedlich. Dies galt auch für die Methanbildungsraten der Modellböden aus Kies im Vergleich zu Sand.



**Abb. 5-15.** Methanbildungsraten verschieden texturierter Modellböden im Vergleich zu einem Marschboden, **a** unter aeroben und **b** unter anaeroben Bedingungen. Acetat (20 mM) und H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20, v/v) wurden als Substrate eingesetzt (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung,  $n = 3$ ).

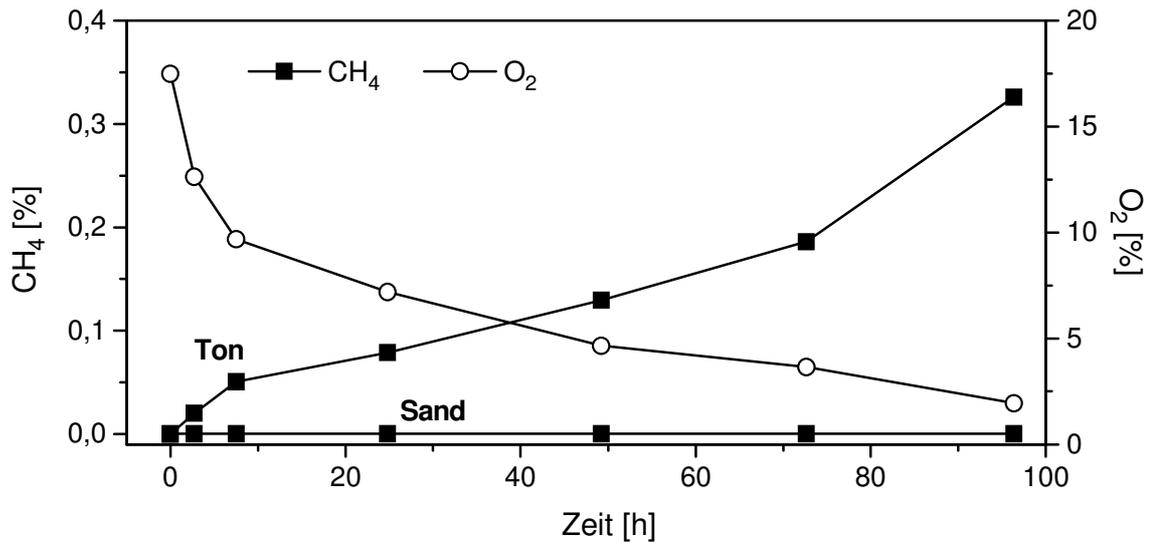


Abb. 5-16. Sauerstoff-Verbrauch der angepflanzten Begleitflora und Methanbildung ebenfalls angepflanzter methanogener Bakterien im Vergleich der Modellböden *Sand* und *Ton*.

#### 5.4.4 Methanbildung bei definierten Wassergehalten

In einem natürlich gelagerten Boden wird die Aktivität der Mikroorganismen unter anderem vom Wassergehalt beeinflusst. Der Wassergehalt und die Porengrößenverteilung bestimmen wiederum maßgeblich den Anteil des gasgefüllten Porenraumes und damit auch den Einfluß des Sauerstoffs auf die Methanbildungsaktivität der methanogenen Bakterien. Aus diesem Grund wurde die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff bei definierten Wassergehalten an ungestörten Bodenproben untersucht.

Das Substanzvolumen des untersuchten Marschenprofils betrug im Durchschnitt 26,6 Vol.% und das Porenvolumen 73,4 Vol.%. Das Porenvolumen konnte wiederum in verschiedene Porenbereiche gegliedert werden, so daß sich folgende Porengrößenverteilung ergab (Abb. 5-17). Die weiten Grobporen ( $> 50 \mu\text{m}$ ) variierten zwischen 9,1 und 16,4 Vol.% mit einem Durchschnitt von 11,7 Vol.%, während der Anteil der engen Grobporen ( $50 - 10 \mu\text{m}$ ) über die gesamte Profiltiefe mit einem Durchschnittswert von 5,4 Vol.% sehr homogen war. Insgesamt ergab sich ein Grobporenanteil von 17,1 Vol.%. Der Anteil der Mittelporen ( $10 - 0,2 \mu\text{m}$ ) betrug durchschnittlich 40,2 Vol.% und nahm mit der Profiltiefe zu. Der Anteil der Feinporen variierte mit 6,5 bis 22,9 Vol.% ( $\bar{\phi} = 16,1 \text{ Vol.}\%$ ) am stärksten. Während das Substanzvolumen und der Grobporenanteil über das gesamte Profil relativ einheitlich waren, nahm der Feinporenanteil in dem Maße, wie der Mittelporenanteil mit der Profiltiefe anstieg, ab.

Um den Einfluß der Wasserverfügbarkeit auf die methanogenen Bakterien abschätzen zu können, wurde die Methanbildung ungestörter Bodenproben zunächst unter anaeroben Bedingungen untersucht. Dazu wurden vier verschiedene Wassergehalte zwischen 39 und 54 Gewichtsprozenten (Gew.%) eingestellt, wobei 54 Gew.% einem Wassergehalt von 100 % Wassersätti-

gung der Proben entsprachen. Den anderen Entwässerungsstufen konnte aufgrund des zur Entwässerung benötigten Druckes ein bestimmter Anteil des Porensystems zugeordnet werden. Die in Abbildung 5-18 dargestellte Wasserspannungskurve verdeutlicht den Zusammenhang zwischen dem Wasserpotential (Wasserspannung), der Porengröße und dem Wassergehalt in den ungestörten Bodenproben.

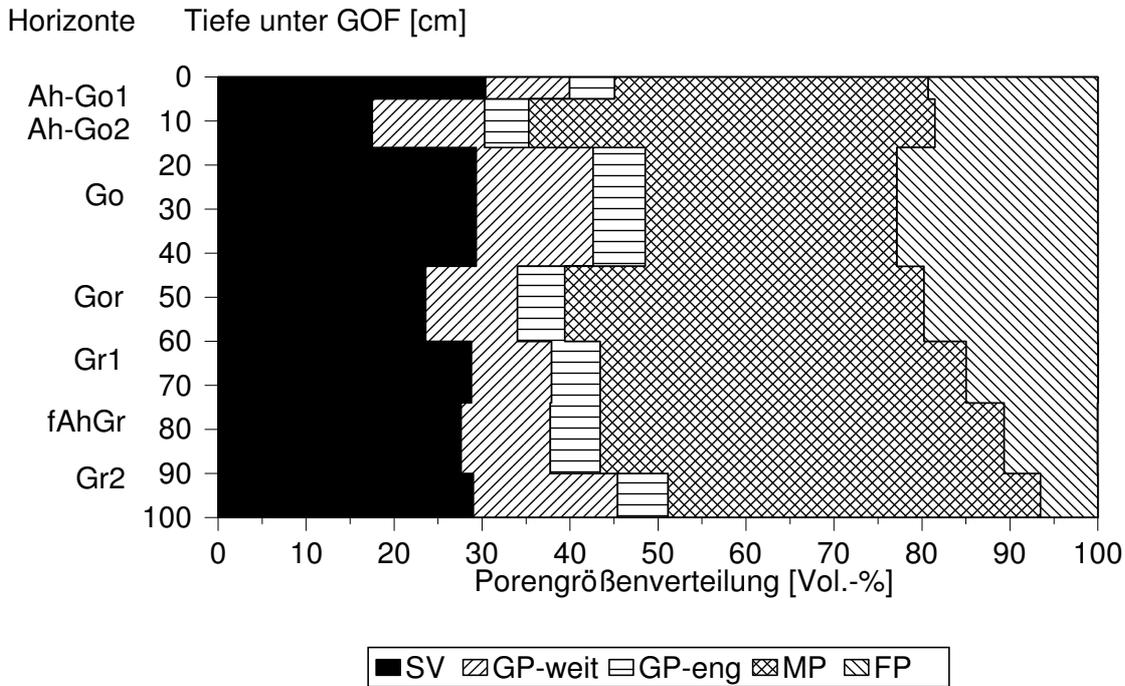


Abb. 5-17. Tiefenprofil der Porengrößenverteilung des Marschbodens (SV = Substanzvolumen, GP = Grobporen, MP = Mittelporen, FP = Feinporen).

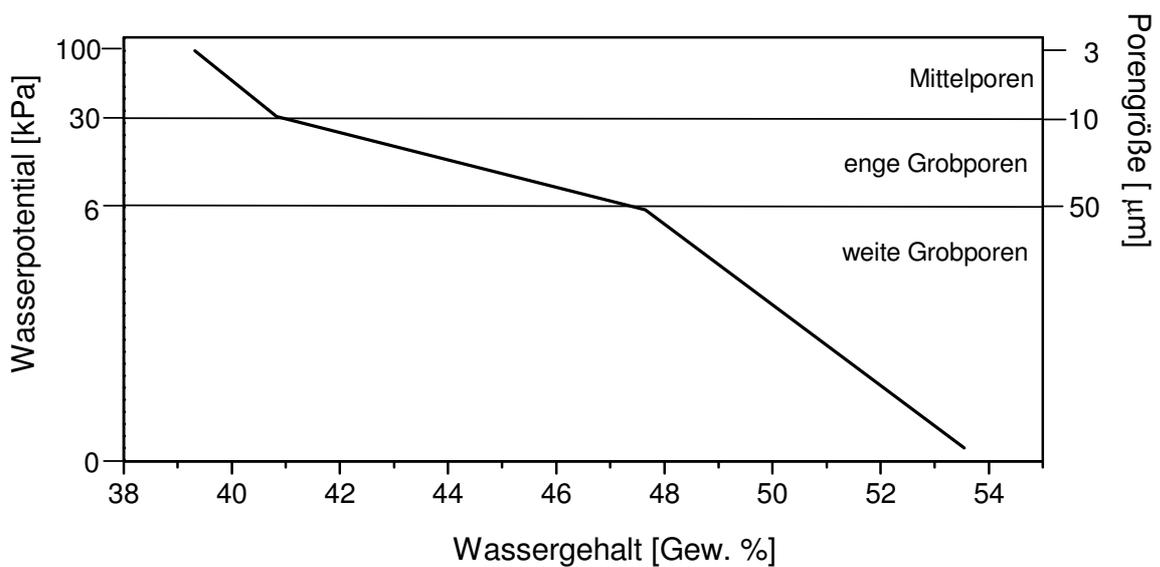
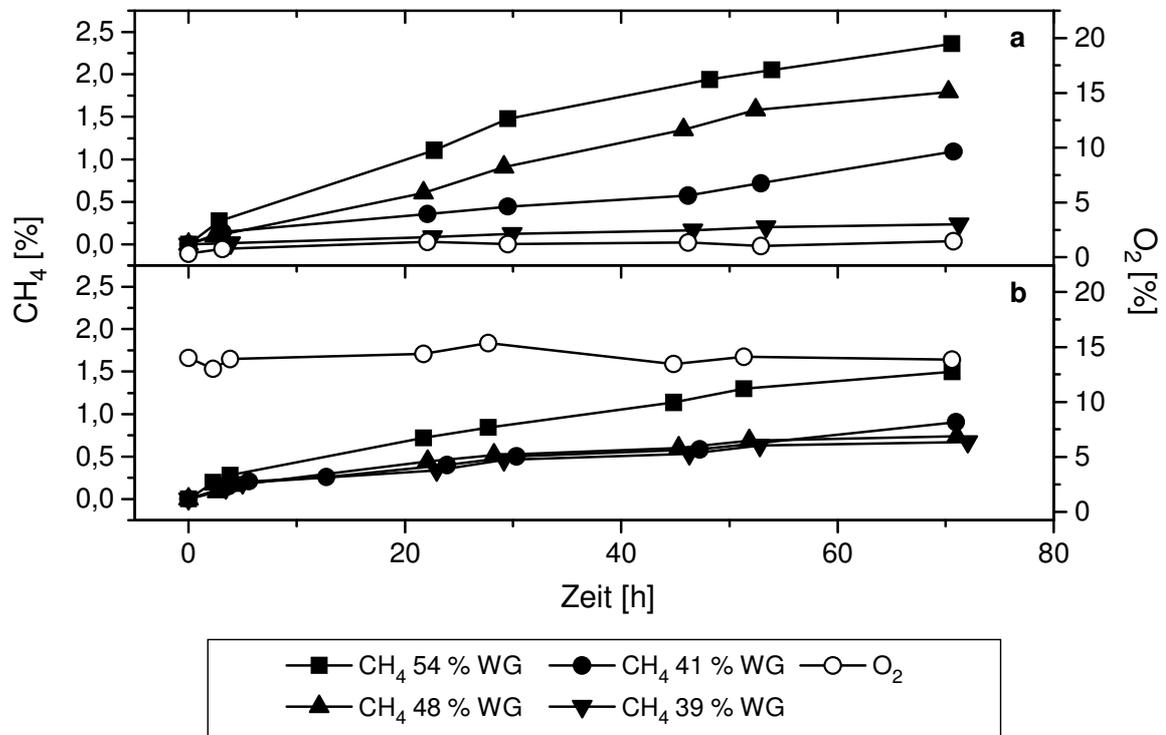


Abb. 5-18. Wasserspannungskurve der ungestörten Marschbodenproben für die im Versuch eingesetzten Druckstufen.

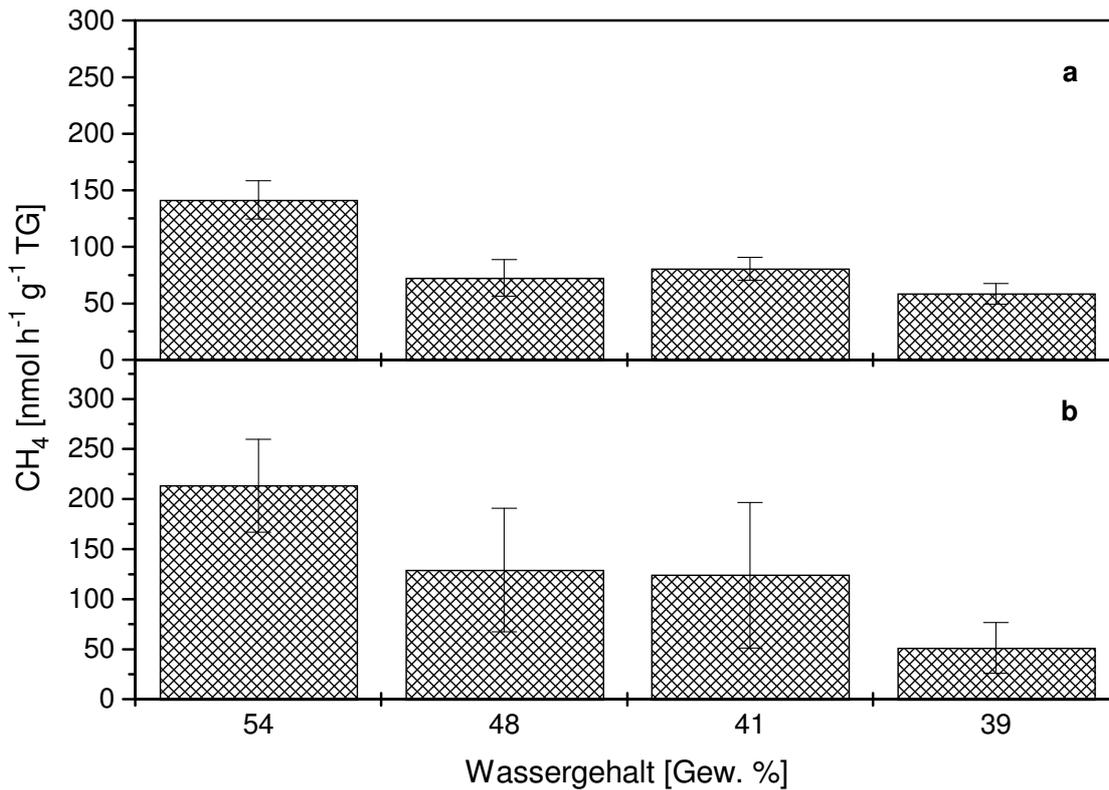
Der Verlauf der Methanbildung unterschiedlich entwässerter, ungestörter Bodenproben war sowohl unter anaeroben Bedingungen als auch in Gegenwart von Sauerstoff über den Versuchszeitraum von etwa 70 Stunden nahezu linear (Abb. 5-19). Dabei wies der Sauerstoffgehalt in den aeroben Ansätzen einen konstanten Wert von etwa 15 % auf.



**Abb. 5-19.** Verlauf der Methanbildung unterschiedlich entwässerter, ungestörter Bodenproben, **a** unter anaeroben und **b** unter aeroben Bedingungen. Als Substrat wurde  $H_2/CO_2$  (80:20, v/v) eingesetzt (WG = Wassergehalt, anaerobe Ansätze  $n = 3$ , aerobe Ansätze  $n = 4$ , Standardabweichung aufgrund der besseren Übersicht nicht dargestellt).

Die Methanbildungsraten unter anaeroben Bedingungen ließen trotz der hohen Schwankungsbreite in den einzelnen Ansätzen eine Abhängigkeit der Raten vom eingestellten Wassergehalt erkennen (Abb. 5-20b,  $r = 0,957$ ,  $P = 0,043$ ). Die höchste Methanbildungsrate wurde mit  $213,37 \pm 46,4 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ TG}$  in den Proben mit 100 % Wassersättigung (54 Gew.%) und die niedrigste Rate in den am stärksten entwässerten Proben mit  $51,27 \pm 25,52 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ TG}$  gemessen.

In Gegenwart von Sauerstoff war ein Zusammenhang zwischen der Methanbildungsaktivität und dem Wassergehalt nicht mehr erkennbar (Abb. 5-20a,  $r = 0,848$ ,  $P = 0,152$ ). Unter aeroben Bedingungen zeigten die 100 % wassergesättigten Proben mit  $141,28 \pm 16,99 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ TG}$  die höchste Methanbildungsrate, wohingegen alle drei stärker entwässerten Proben mit Werten zwischen  $58,43 \pm 9,32$  und  $80,71 \pm 10,18 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ TG}$  kaum Unterschiede in der Methanbildungsrate aufwiesen (Abb. 5-20a).



**Abb. 5-20.** Methanbildungsraten unterschiedlich entwässerter, ungestörter Bodenproben, **a** unter aeroben und **b** unter anaeroben Bedingungen. Als Substrat wurde H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20, v/v) eingesetzt (Mittelwerte ± Standardabweichung, n = 3 anaerobe Ansätze, n = 4 aerobe Ansätze).

Ein Vergleich der Methanbildungsraten mit und ohne Sauerstoff zeigt, daß die Rate unter aeroben Bedingungen für 100 % Wassersättigung noch etwa zwei drittel der Rate unter anaeroben Bedingungen betrug (Abb. 5-20), während die Methanbildungsraten für die anderen drei Entwässerungsstufen noch etwa ein Drittel der Raten unter anaeroben Bedingungen bezogen auf 100 % Wassersättigung ausmachten. Vergleicht man die Proben mit gleichen Wassergehalten untereinander, so zeigte sich, daß für 48 und 41 % Wassergehalt die Methanbildungsraten in Gegenwart von Sauerstoff noch etwa die Hälfte der entsprechenden Raten unter anaeroben Bedingungen betragen. Für 39 % Wassergehalt lagen die Raten hingegen in der gleichen Größenordnung. Werden die Methanbildungsraten der aerob inkubierten Proben untereinander verglichen betragen die Raten für 48 %, 41 % und 39 % Entwässerung

**Tab. 5-7.** Prozentuale Aktivitätsanteile unter aeroben und anaeroben Bedingungen der unterschiedlich entwässerten, ungestörten Bodenproben bezogen auf 100 % Wassersättigung (● 54 % Wassergehalt, grau unterlegt).

	Wassergehalt [Gew. %]			
	54	48	41	39
Aktivitätsanteil				
[%], aerob	100,00	51,30	57,10	41,40
Aktivitätsanteil				

---

[%], anaerob	----- 100,00	60,52	58,10	24,00
--------------	-----------------	-------	-------	-------

---

etwa 50 % der Rate bei 100 % Wassersättigung, wobei die 39%-Stufe diesen Wert mit 41,4 % Anteil nicht ganz erreichte.

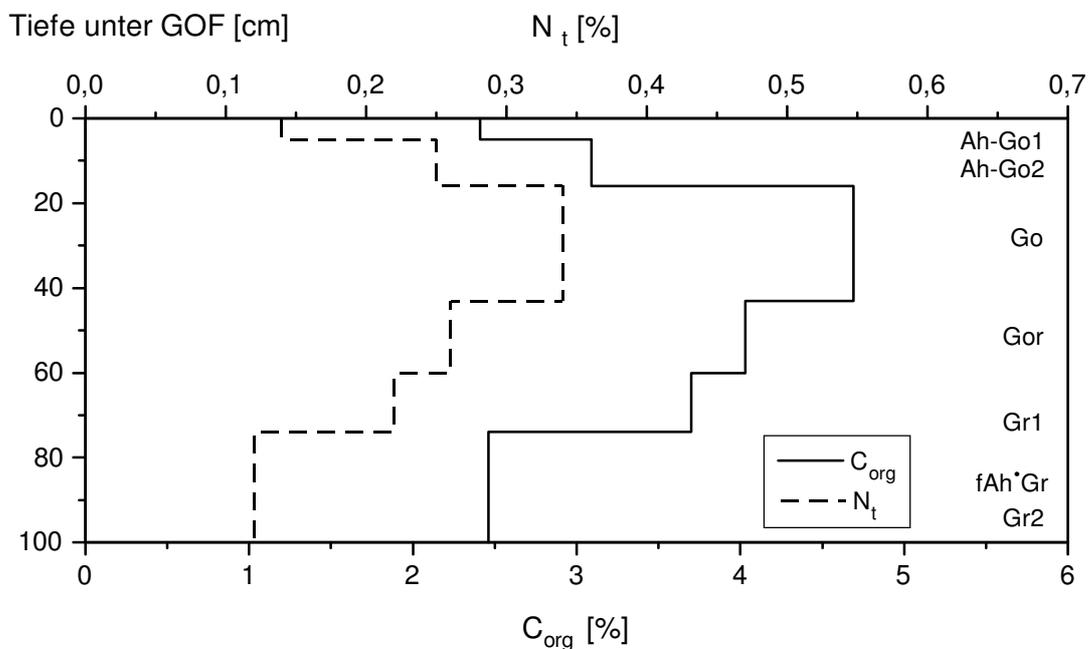
## 5.5 Charakterisierung der organischen Bodensubstanz in Hinblick auf die CH<sub>4</sub>-Bildung

### 5.5.1 Marschboden (Asseler Sand)

#### 5.5.1.1 Kohlenstoff- und Stickstoff-Parameter

Wie eingangs bereits erwähnt, stellt die organische Bodensubstanz letztendlich das Ausgangssubstrat für die Methanogenese dar. Mit Hilfe von kohlenstoff- und isotopenanalytischen Methoden sollten Rückschlüsse zum Abbau und Umsatz der organischen Substanz unter aeroben und anaeroben Bedingungen (saisonale Änderungen im Wasserregime) sowie deren Bedeutung für die Methanbildung erlangt werden.

Der organische Kohlenstoff-Gehalt ( $C_{org}$ ) variierte für die einzelnen Horizonte des Untersuchungsprofils zwischen 2,41 und 4,69 % (Abb. 5-21). Die niedrigsten Werte wurden dabei in den Ober- (Ah-Go1, Ah-Go2) und Unterbodenhorizonten (fAh\*Gr, Gr2) gemessen, während die höchsten Kohlenstoff-Gehalte in den Go- und Gor-Horizonten der Profilmitte zu finden waren.



**Abb. 5-21.** Tiefenverteilung des organischen Kohlenstoffs ( $C_{org}$ ) und des Gesamtstickstoffs ( $N_t$ ) des Untersuchungsprofils Asseler Sand.

Die Gesamtstickstoffgehalte ( $N_t$ ) zeigten ein ähnliches Tiefenprofil wie die Kohlenstoffgehalte (Abb. 5-21). Die Werte schwankten zwischen 0,12 und 0,34 % Stickstoff. Das C/N-Verhältnis betrug durchschnittlich 16,0.

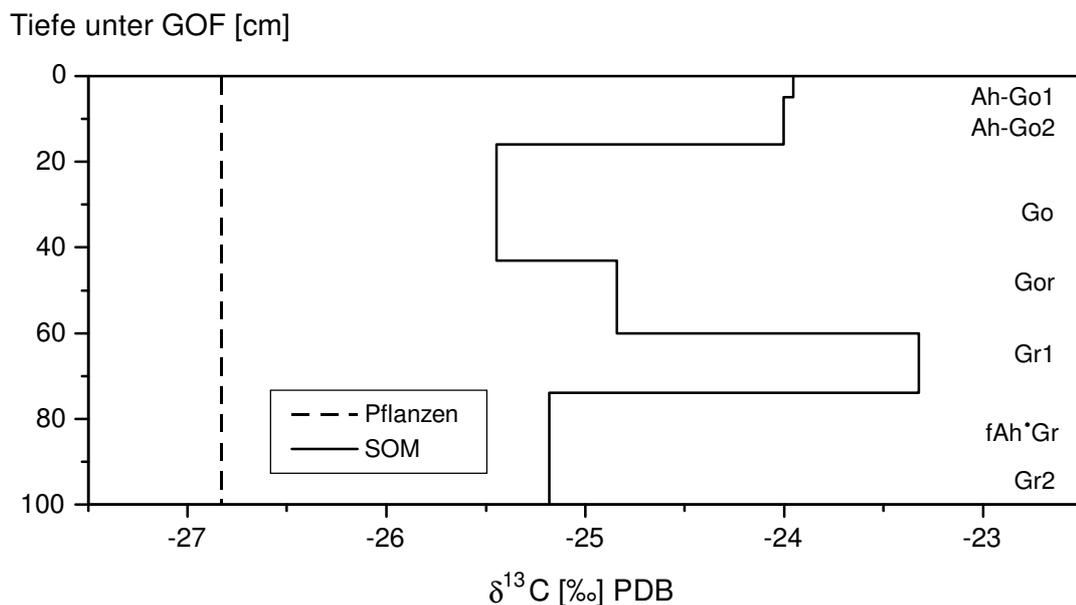
### 5.5.1.2 Isotopenanalytische Untersuchung der organischen Bodensubstanz

Da die Vegetation der Untersuchungsfläche das Ausgangsmaterial der organischen Bodensubstanz darstellt, wurden die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wichtiger Pflanzen/Pflanzenorgane bestimmt (Tab. 5-8). Der Mittelwert aller untersuchten Pflanzenteile ( $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von  $-26,83\text{‰}$ ) diente dabei als Bezugsgröße der folgenden isotopenanalytischen Untersuchungen.

**Tab. 5-8.**  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte wichtiger Pflanzen/Pflanzenorgane des Untersuchungsstandortes Asseler Sand.

Pflanzenmaterial	$\delta^{13}\text{C}$ -Wert [‰]	Pflanzenmaterial	$\delta^{13}\text{C}$ -Wert [‰]
<i>Phragmites</i> -Blatt	-27,11	<i>Typha</i> -Blatt	-26,41
<i>Phragmites</i> -Rhizom	-26,27	<i>Typha</i> -Rhizom	-26,74
<i>Phalaris</i> -Blatt	-27,61	<b>Mittelwert</b>	<b>-26,83</b>

Die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der organischen Bodensubstanz (SOM) des untersuchten Profils schwankten zwischen etwa  $-25,18\text{‰}$  und  $-23,32\text{‰}$  (Abb. 5-22). Somit zeigten alle Horizonte eine relative Anreicherung an schwerem Kohlenstoff von durchschnittlich etwa  $2\text{‰}$  im Vergleich zum pflanzlichen Ausgangsmaterial. Der Tiefenverlauf war indifferent und zeigte keinen Trend zu positiveren  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten in den reduzierten Horizonten. Auffallend waren jedoch zwei



**Abb. 5-22.** Tiefenverteilung der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der organischen Bodensubstanz (SOM) des Untersuchungsprofils Asseler Sand.

Bereiche mit einer deutlichen Anreicherung an schwerem Kohlenstoff. Die beiden Ah-Go-Horizonte wiesen mit etwa -24 ‰ eine Anreicherung von ca. 1 ‰ gegenüber den anderen Horizonten auf, während der Bereich von 60 bis 74 cm (Gr1-Horizont) mit -23,3 ‰ eine noch stärkere Anreicherung an  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff von ca. 1,5 ‰ aufwies.

### 5.5.1.3 Charakterisierung der organischen Substanz mittels Dichtefraktionierung

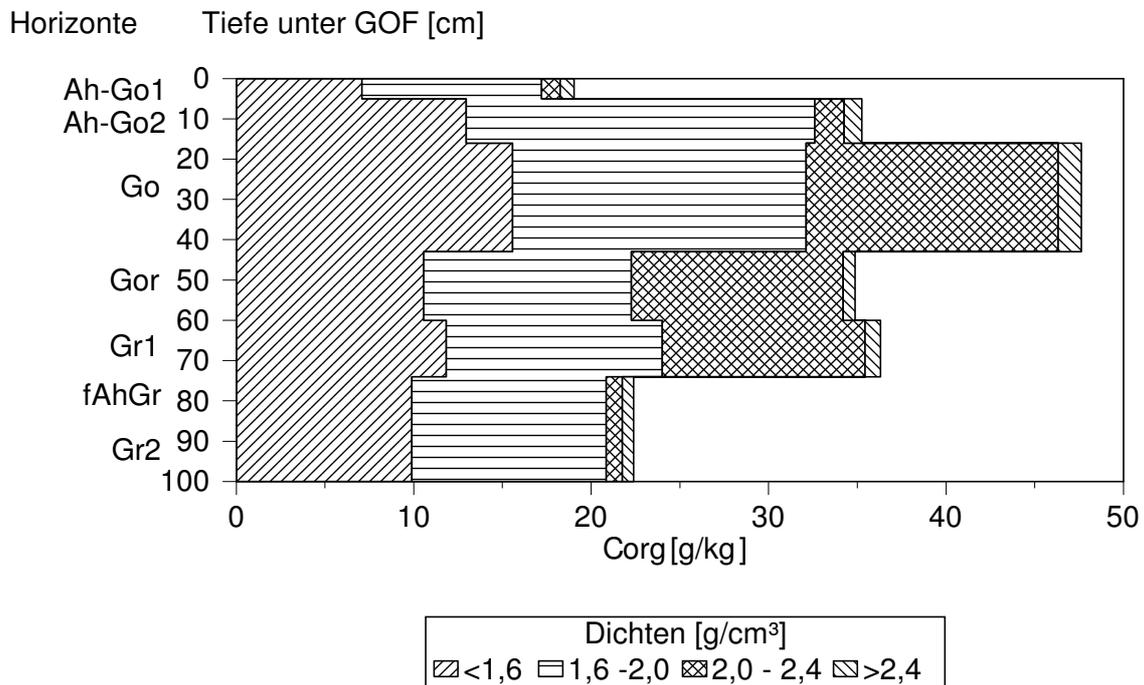
Über die Qualität der organischen Substanz der untersuchten Böden sollte die Dichtefraktionierung Aufschluß geben (Kap. 4.7.2). Die organischen Kohlenstoff-Gehalte der einzelnen Dichtefractionen zeigten, daß in allen Bodentiefen die Gehalte in der leichten Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) aus Streu- und Wurzelstoffen mit durchschnittlich 26,4 % am höchsten waren (Tab. 5-9). In den anderen drei Fraktionen nahm der organische Kohlenstoff-Anteil kontinuierlich mit ansteigender Dichte ab, so daß die schwerste Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) aus überwiegend mineralischen Bodenbestandteilen nur noch Gehalte von 0,1 % aufwies.

**Tab. 5-9.** Organische Kohlenstoff-Gehalte des unbehandelten Bodenmaterials ( $C_{\text{org}}$ ) und der einzelnen Dichtefractionen ( $C_{\text{org}}$  Dichtefractionen).

Horizont	Tiefe [cm]	$C_{\text{org}}$ [%]	$C_{\text{org}}$ [%] der Dichtefractionen			
			$<1,6$	1,6 - 2,0	2,0 - 2,4	$>2,4$
Ah-Go1	0 - 5	2,4	24,0	5,4	1,0	0,1
Ah-Go2	5 - 16	3,1	27,5	5,3	3,4	0,2
Go	16 - 43	4,7	27,5	10,3	4,5	0,2
Gor	43 - 60	4,0	25,9	11,3	3,4	0,1
Gr1	60 - 74	3,7	28,5	10,4	3,5	0,2
fAh*Gr	74 - 90	2,5	25,7	6,1	1,5	0,1
Gr2	90 - 100	2,5	25,7	6,1	1,5	0,1
<b>Mittelwert</b>		<b>3,3</b>	<b>26,4</b>	<b>7,8</b>	<b>2,7</b>	<b>0,1</b>

Am Gesamt-Kohlenstoff-Pool des Untersuchungsprofils war der Gewichtsanteil der leichten Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) mit durchschnittlich 1,7 g am geringsten und der der schweren Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) mit durchschnittlich 25,3 g am höchsten. Diese Anteile entsprachen etwa 4 bzw. 63 % der Einwaage. Die mittleren beiden Fraktionen (Dichten 1,6 - 2,0 und 2,0 - 2,4  $\text{g cm}^{-3}$ ), die die organische Feinsubstanz bzw. die organo-mineralischen Komplexe beinhalten, hatten einen Gewichtsanteil in der Größenordnung von etwa 7 g bis 8 g, was einem Anteil an der Einwaage von etwa 20 % entsprach. Im Gegensatz zu der leichten und schweren Fraktion, die im Tiefenprofil relativ gleichmäßige Anteile aufwiesen, zeigten die beiden mittleren Fraktionen große Schwankungen. Die Anteile variierten zwischen 1,9 g und

14,9 g in den einzelnen Horizonten, wobei hohe Anteile in der einen Fraktion niedrige Anteile in der anderen Fraktion bedingten.



**Abb. 5-23.** Gewichtsbezogener Kohlenstoff-Anteil der einzelnen Dichtefractionen am organischen Kohlenstoff in Abhängigkeit von der Tiefe des Untersuchungsprofils Asseler Sand.

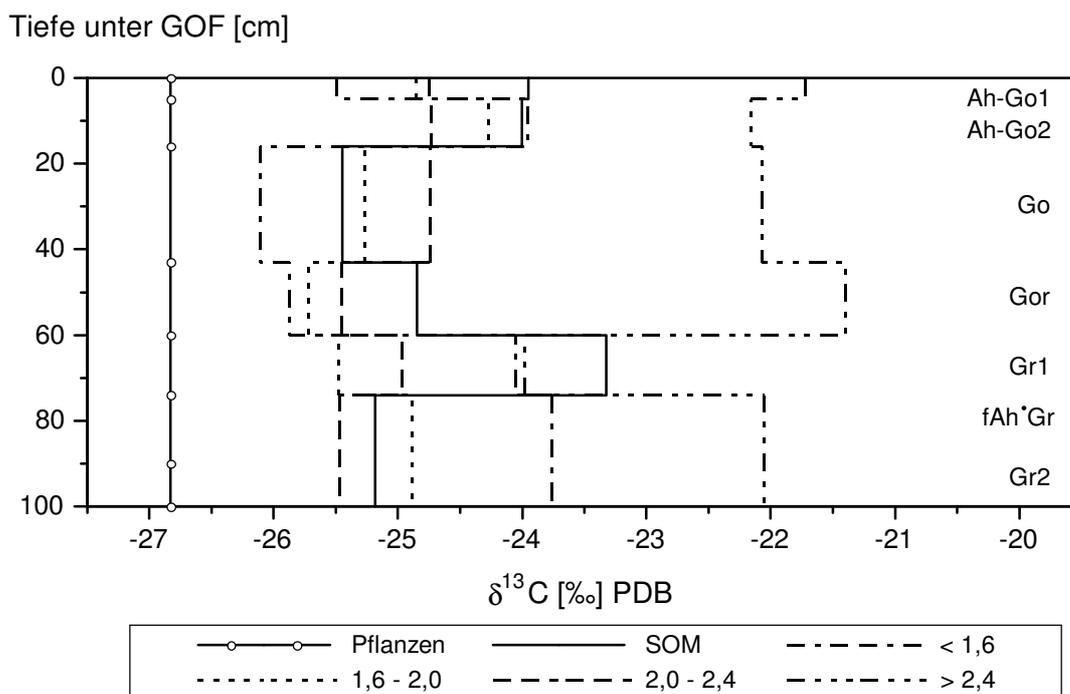
Nach Verrechnung der Kohlenstoff- und Gewichtsanteile miteinander, wurde deutlich, daß die beiden leichten Fraktionen (Dichten  $< 1,6$  und  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$ ) für die gesamte Profiltiefe über die größten Kohlenstoff-Reserven verfügten mit durchschnittlich  $11,32 \text{ g C kg}^{-1}$  bzw.  $13,52 \text{ g C kg}^{-1}$  Boden (Abb. 5-23). Die Fraktion mit der Dichte  $2,0 - 2,4 \text{ g cm}^{-3}$  wies in den Horizonten (Go, Gor) mit hohen organischen Kohlenstoff-Gehalten (Abb. 5-21) ebenfalls hohe Kohlenstoff-Reserven auf, die den Gehalten in den beiden leichteren Fraktionen entsprachen. Im Ober- und Unterboden (Ah-Go, fAh•Gr, Gr) waren die gewichtsbezogenen Gehalte in dieser Fraktion jedoch ebenso gering, wie für die schwere Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ), die über die gesamte Profiltiefe einen sehr geringen Anteil von durchschnittlich  $0,87 \text{ g C kg}^{-1}$  Boden hatte.

Die C/N-Verhältnisse der leichten Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) lagen aufgrund der hohen Kohlenstoff-Gehalte höher als die C/N-Verhältnisse des unbehandelten Bodens, während die drei übrigen Fraktionen durchweg niedrigere C/N-Verhältnisse aufwiesen (Tab. 5-10). Besonders auffällig waren dabei die C/N-Verhältnisse der schweren Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ), die mit einem durchschnittlichen C/N-Verhältnis von 3,8 über sehr niedrige Werte für alle Horizonte verfügte. Aufgrund des ähnlichen Tiefenverlaufes der Stickstoff- und Kohlenstoff-Gehalte (Abb. 5-21) wiesen die C/N-Verhältnisse innerhalb der einzelnen Fraktionen relativ homogene Werte auf.

**Tab. 5-10.** C/N-Verhältnisse des unbehandelten Bodenmaterials und der Dichtefractionen.

Horizont	Tiefe [cm]	C/N-Verhältnisse				
		Boden	<1,6	1,6 - 2,0	2,0 - 2,4	>2,4
Ah-Go1	0-5	17,2	17,8	10,4	12,0	2,9
Ah-Go2	5-16	12,4	17,3	10,9	9,6	4,4
Go	16-43	13,8	16,6	11,0	8,9	4,9
Gor	43-60	15,5	19,8	12,1	9,8	3,6
Gr1	60-74	16,8	19,4	12,3	9,8	4,1
fAh*Gr	74-90	20,5	23,8	12,2	12,0	2,8
Gr2	90-100	20,5	23,8	12,2	12,0	2,8
<b>Mittelwert</b>		<b>16,2</b>	<b>19,1</b>	<b>11,5</b>	<b>10,4</b>	<b>3,8</b>

Die isotopenanalytische Untersuchung der einzelnen Dichtefractionen zeigte eine deutliche Anreicherung an  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff für alle Dichten und Horizonte gegenüber dem  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des pflanzlichen Ausgangsmaterials (Abb. 5-24). Die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Dichten  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ,  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$  und  $2,0 - 2,4 \text{ g cm}^{-3}$  variierten im Bereich zwischen etwa  $-26,1 \text{ ‰}$  und  $-23,8 \text{ ‰}$ . Damit lagen die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte dieser Fraktionen im Bereich der organischen Bodensubstanz ( $\delta^{13}\text{C}$ -Werte  $-25,5 \text{ ‰}$  bis  $-23,3 \text{ ‰}$ ). Während die beiden mittleren Fraktionen (Dichten  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$  und  $2,0 - 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) eng dem Tiefenverlauf der organischen Bodensubstanz (SOM) folgten, zeigte die leichte Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) eine Anreicherung an



**Abb. 5-24.**  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der einzelnen Dichtefractionen der organischen Bodensubstanz sowie des pflanzlichen Ausgangsmaterials und der organischen Bodensubstanz (SOM) in Abhängigkeit von der Tiefe des Untersuchungsprofils Asseler Sand.

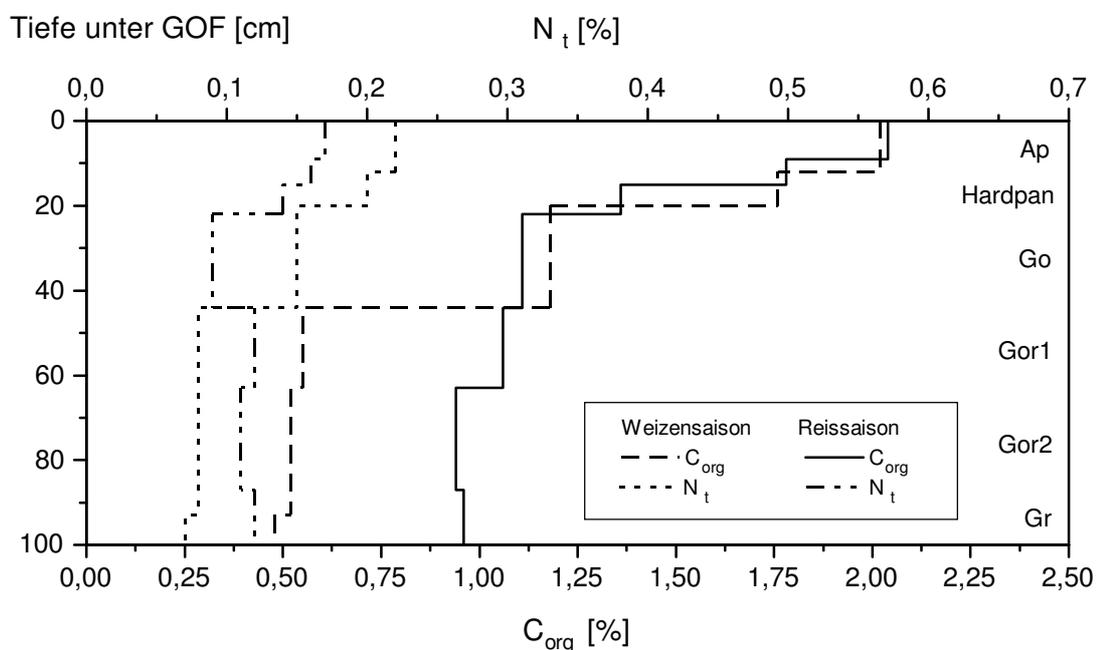
schwerem Kohlenstoff sowohl im Oberboden (Ah-Go2) als auch in den reduzierten Unterbodenhorizonten (Gr, fAh\*Gr).

Die höchste Anreicherung an  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff fand sich in der schwersten Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ), die mit durchschnittlich  $-22,23 \text{ ‰}$  eine deutliche Anreicherung von über  $2 \text{ ‰}$  gegenüber dem Durchschnittswert ( $-24,46 \text{ ‰}$ ) der organischen Bodensubstanz (SOM) aufwies.

## 5.5.2 Reisboden (Suzhou)

### 5.5.2.1 Kohlenstoff- und Stickstoff-Parameter

Im Gegensatz zum Untersuchungsstandort Asseler Sand wurden die Untersuchungsflächen in China landwirtschaftlich genutzt. Der Standort war durch eine Reis-Weizen-Fruchtfolge gekennzeichnet, die den Eintrag und den Umsatz der organischen Bodensubstanz mitbestimmt. Aus diesem Grund wurden vergleichende Untersuchungen an Proben zweier Bodenprofile durchgeführt, die jeweils am Ende der entsprechenden Vegetationsperiode (Weizen- bzw. Reissaison) entnommen wurden.



**Abb. 5-25.** Tiefenverteilung des organischen Kohlenstoffs ( $\text{C}_{\text{org}}$ ) und des Gesamtstickstoffs ( $\text{N}_t$ ) am Ende der Weizen- und Reissaison des Untersuchungsgebietes Suzhou.

Im Gegensatz zum Marschenprofil (Abb. 5-21) zeigten die Profile des chinesischen Untersuchungsstandortes einen von oben nach unten abnehmenden organischen Kohlenstoff-Gehalt

(Abb. 5-25). Am Ende der Weizensaison (Profil III) variierte der organische Kohlenstoff-Gehalt ( $C_{org}$ ) zwischen 0,48 und 2,02 %, während die Gehalte am Ende der Reissaison (Profil V) zwischen 0,96 und 2,04 % lagen. Im Oberboden beider Profile waren die Kohlenstoff-Gehalte sowie die Tiefenfunktion des organischen Kohlenstoffs annähernd gleich, während im Unterboden die Kohlenstoff-Gehalte am Ende der Reissaison mit durchschnittlich 0,99 % etwa doppelt so hoch waren wie am Ende der Weizensaison ( $\emptyset$  0,52 %). Anorganischer Kohlenstoff konnte in keiner der Proben nachgewiesen werden.

In Bezug auf den Gesamtstickstoffgehalt ( $N_t$ ) zeigten beide Profile einen ähnlichen Verlauf (Abb. 5-25). Die Gehalte nahmen mit der Tiefe ab und variierten zwischen 0,07 und 0,22 %. Das C/N-Verhältnis lag am Ende der Weizensaison im Durchschnitt bei 7,7 und am Ende der Reissaison bei 10,1.

### 5.5.2.2 Isotopenanalytische Untersuchungen der organischen Bodensubstanz

Da die Vegetation der Untersuchungsflächen das Ausgangsmaterial der organischen Bodensubstanz darstellte, wurden die  $\delta^{13}C$ -Werte wichtiger Pflanzen/Pflanzenorgane bestimmt (Tab. 5-11). Der Mittelwert aller untersuchten Pflanzenteile ( $\delta^{13}C$ -Wert von -27,34 ‰) diente dabei als Bezugsgröße aller anderen isotopenanalytischen Untersuchungen.

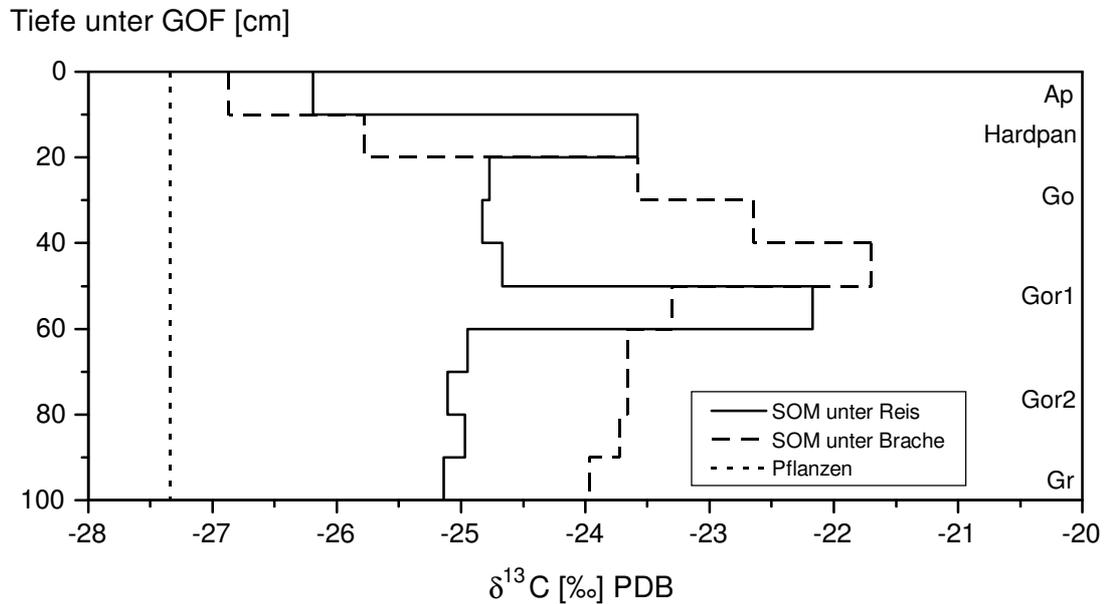
**Tab. 5-11.**  $\delta^{13}C$ -Werte wichtiger Pflanzen/Pflanzenorgane des Untersuchungsstandortes Suzhou.

Pflanzenmaterial	$\delta^{13}C$ -Wert [‰]	Pflanzenmaterial	$\delta^{13}C$ -Wert [‰]
Weizensproß	-26,13	Reissproß	-28,00
Weizenwurzel	-29,43	Reiswurzel	-27,76
Weizenstroh	-28,80	Reisstroh	-25,66
<i>Astragalus spec.</i>	-26,69	Reisähre	-25,47
Begleitvegetation	-28,13	<b>Mittelwert</b>	<b>-27,34</b>

Die Tiefenverteilung der  $\delta^{13}C$ -Werte der organischen Bodensubstanz zweier ausgewählter Profile ist in Abbildung 5-26 dargestellt. Die  $\delta^{13}C$ -Werte beider Profile schwankten im Bereich zwischen etwa -26,50 ‰ und -21,50 ‰, wobei die niedrigsten Werte jeweils im Ap-Horizont zu finden waren. Im Tiefenverlauf zeigten beide Profile einen Trend zu positiveren  $\delta^{13}C$ -Werten im Vergleich zum pflanzlichen Ausgangsmaterial, was einer relativen Anreicherung an schwerem Kohlenstoff ( $^{13}C$ ) gleichzusetzen war.

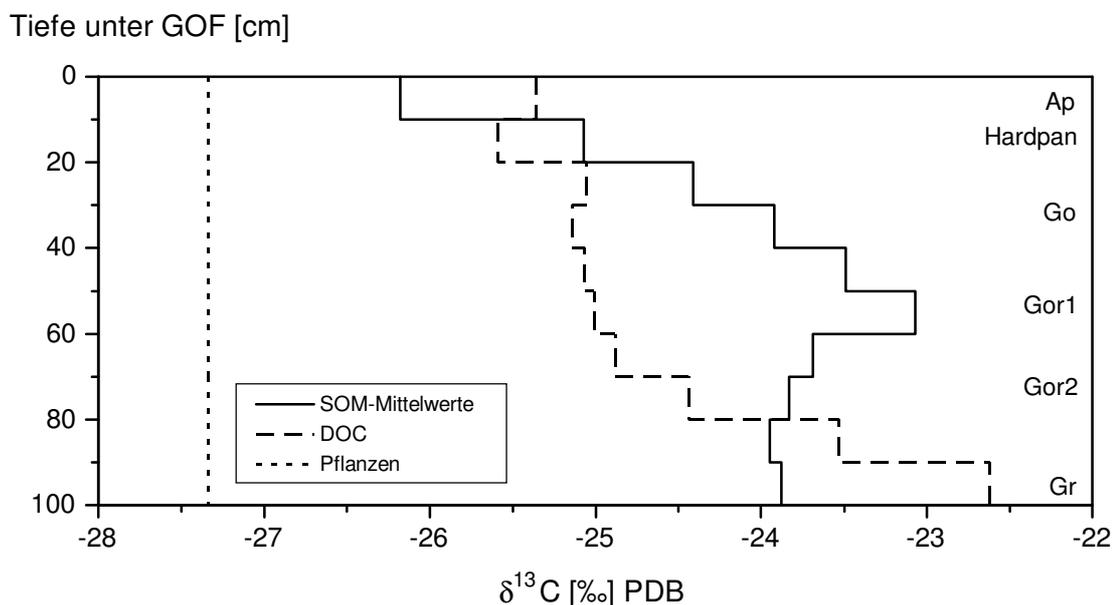
Im untersuchten Reisprofil (Profil I) fielen zwei Domänen mit einer deutlichen Anreicherung des  $^{13}C$ -Kohlenstoffs auf. Die Tiefenstufe von 10 - 20 cm (Hardpan) zeigte eine Anreicherung von etwa 1 ‰, wohingegen der zweite Profildbereich (Lage 40 - 50 cm) mit einem  $\delta^{13}C$ -Wert von -22,17 ‰ eine starke Anreicherung von etwa 2,5 ‰ gegenüber dem Profildurchschnitts-

wert (-24,64 ‰) erkennen ließ. Abweichend vom Reisprofil ließ die Brachfläche (Profil II) nur einen Bereich (Lage 40 - 50 cm) mit deutlicher Anreicherung des schweren Kohlenstoffs ( $\delta^{13}\text{C}$  von -21,70 ‰) erkennen. Dieser Bereich zeigte eine Anreicherung von etwa 2,2 ‰ gegenüber dem Profildurchschnittswert von -23,89 ‰.



**Abb. 5-26.** Tiefenverteilung der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der organischen Bodensubstanz (SOM) zweier ausgewählter Reisbodenprofile des Untersuchungsgebietes Suzhou.

Die  $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der organischen Bodensubstanz (SOM) aller untersuchten Tiefenprofile spiegeln die langfristigen Prozesse wieder. Es ließ sich in allen Horizonten mit Reduktionsmerkmalen (Gor1, Gor2, Gr) eine deutliche Anreicherung des schweren Kohlenstoffs von etwa 3,7 ‰ gegenüber dem Mittelwert der am Standort vorkommenden Pflanzen erkennen (Abb. 5-27).



**Abb. 5-27.** Tiefenprofil der  $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der organischen Bodensubstanz (SOM) aller untersuchten Profile ( $n = 4$ ) und  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des löslichen organischen Kohlenstoffs (DOC) des Untersuchungsgebietes Suzhou. Demgegenüber spiegelten die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des leichtverfügbaren löslichen organischen Kohlenstoffs (DOC) am Ende der anaeroben Reissaison die aktuellen Prozesse wieder. Die Werte lagen zwischen  $-25,59\text{‰}$  und  $-22,62\text{‰}$ , wobei die stärksten Anreicherungen jedoch auf die Horizonte mit starken Reduktionsmerkmalen (Gor2, Gr) beschränkt blieben.

### 5.5.2.3 Charakterisierung der organischen Substanz mittels Dichtefraktionierung

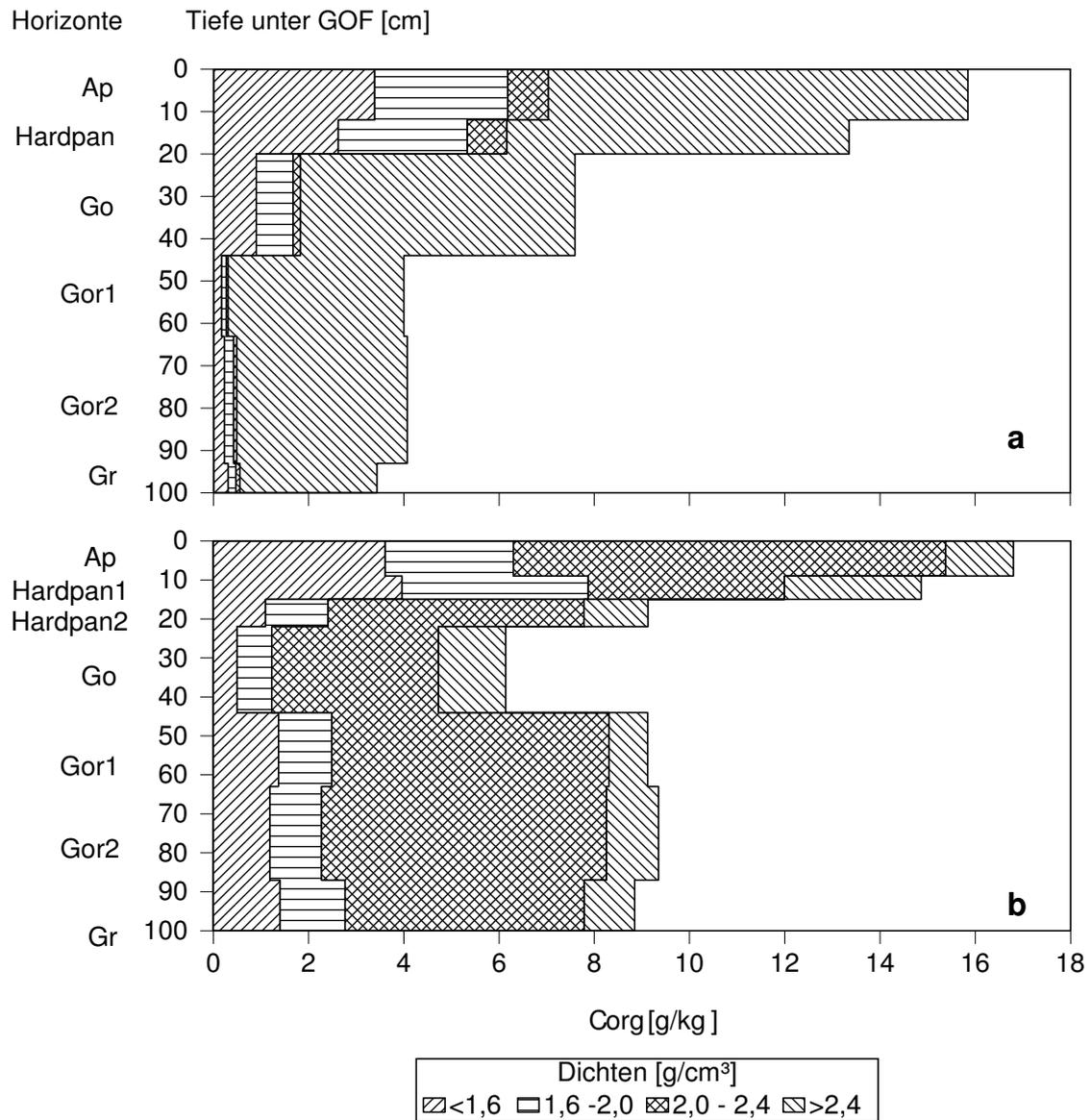
Die organischen Kohlenstoff-Gehalte der einzelnen Dichtefractionen zeigten, daß in allen Bodentiefen die Gehalte in der leichten Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) für beide untersuchten Profile am höchsten waren (Tab. 5-12). Die Kohlenstoff-Gehalte in dieser Fraktion, die hauptsächlich aus Streu- und Wurzelstoffen bestand, waren dabei am Ende der Weizensaison mit durchschnittlich etwa 33 % etwas niedriger als am Ende der Reissaison ( $\bar{\varnothing}$  39 %). Mit zunehmender Dichte nahmen die organischen Kohlenstoff-Gehalte stetig ab. In der schwersten Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ), die die mineralischen Bodenbestandteile mit Resten organischer Substanz darstellte, lagen die organischen Kohlenstoff-Gehalte überwiegend unter 1 %. In den beiden Fraktionen mittlerer Dichte war auffallend, daß die durchschnittlichen

**Tab. 5-12.** Organische Kohlenstoff-Gehalte der organischen Bodensubstanz ( $C_{\text{org}}$ ) und der einzelnen Dichtefractionen ( $C_{\text{org}}$  der Dichtefractionen) am Ende der Weizen- und Reissaison.

Horizont	Tiefe [cm]	$C_{\text{org}}$ [%]	$C_{\text{org}}$ [%] der Dichtefractionen			
			<1,6	1,6 - 2,0	2,0 - 2,4	>2,4
<b>Weizensaison</b>						
Ap	0 - 12	2,0	32,8	23,3	10,2	0,9
Hardpan	12 - 20	1,8	37,7	22,6	9,6	0,7
Go	20 - 44	1,1	38,5	26,5	11,8	0,6
Gor1	44 - 63	0,6	27,3	18,4	7,5	0,4
Gor2	63 - 93	0,5	34,2	12,3	4,0	0,4
Gr	93 - 100	0,5	29,2	11,9	2,7	0,3
	<b>Mittelwert</b>	<b>1,1</b>	<b>33,3</b>	<b>19,2</b>	<b>7,6</b>	<b>0,5</b>
<b>Reissaison</b>						
Ap	0 - 9	2,0	31,1	23,6	1,9	0,2
Hardpan1	9 - 15	1,8	40,4	15,8	1,4	0,3
Hardpan2	15 - 22	1,4	41,4	20,6	1,4	0,2
Go	22 - 44	1,1	46,5	13,7	0,8	0,2
Gor1	44 - 63	1,1	41,1	15,5	1,4	0,1
Gor2	63 - 87	0,9	37,1	22,1	1,5	0,2

Gr	87 - 100	1,0	37,0	29,3	0,8	0,2
	<b>Mittelwert</b>	<b>1,3</b>	<b>39,2</b>	<b>20,1</b>	<b>1,3</b>	<b>0,2</b>

Kohlenstoff-Gehalte der Fraktion 1,6 - 2,0 g cm<sup>-3</sup> am Ende beider Vegetationsperioden annähernd gleich waren, wohingegen in der Fraktion 2,0 - 2,4 g cm<sup>-3</sup> die Gehalte am Ende der Reissaison im Durchschnitt etwa nur ein sechstel der Gehalte am Ende der Weizensaison betragen.



**Abb. 5-28.** Gewichtsbezogener Kohlenstoff-Anteil der einzelnen Dichtefractionen am organischen Kohlenstoff in Abhängigkeit von der Tiefe am Ende der Weizen- (a) und Reissaison (b) des Untersuchungsgebietes Suzhou.

Am Gesamt-Kohlenstoff-Pool der Untersuchungsprofile war der Gewichtsanteil der leichten Fraktionen (Dichten < 1,6 g cm<sup>-3</sup> und 1,6 - 2,0 g cm<sup>-3</sup>) am geringsten und der der schwereren Fraktionen (Dichten 2,0 - 2,4 g cm<sup>-3</sup> und > 2,4 g cm<sup>-3</sup>) am höchsten. Nur etwa 1 % der Ein-

waage entfielen beispielsweise auf die leichte Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ), wohingegen mehr als 95 % in der schwersten Fraktion zu finden waren.

Während der aeroben Phase der Weizenkultur in der Fruchtfolge reicherte sich gewichtsbezogen der größte Anteil des organischen Kohlenstoffs mit einem durchschnittlichen Gehalt von  $5,3 \text{ g C kg}^{-1}$  Boden in der schwersten Fraktion (Dichten  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) an (Abb. 5-28a). Die übrigen drei Fraktionen zeigten vor allem erhöhte Kohlenstoff-Gehalte im Oberboden (0 - 44 cm Tiefe), die zwischen  $0,9 \text{ g C kg}^{-1}$  und  $3,4 \text{ g C kg}^{-1}$  Boden lagen. Mit der Tiefe nahmen die Kohlenstoff-Gehalte der leichten Fraktionen stark ab.

Im Gegensatz dazu, ließ sich am Ende der Reiskultur auf dem Höhepunkt der anaeroben Verhältnisse der größte Anteil des Kohlenstoffs, mit Gehalten zwischen  $3,5 \text{ g C kg}^{-1}$  und  $9,0 \text{ g C kg}^{-1}$ , in der Fraktion mit der Dichte  $2,0 - 2,4 \text{ g cm}^{-3}$  finden, während der Kohlenstoff-Anteil der schwersten Fraktion im Vergleich mit der Weizensaison nur noch einen geringen Gehalt ( $\emptyset 1,4 \text{ g C kg}^{-1}$  Boden) aufwies (Abb. 5-28b). Unter den anaeroben Bedingungen der Reiskultur wiesen auch die beiden leichten Fraktionen (Dichten  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$  und  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$ ) bis in den Unterboden erhöhte Kohlenstoff-Gehalte auf, die im Durchschnitt über  $1 \text{ g C kg}^{-1}$  Boden lagen.

Während der Kohlenstoff-Gehalt am Ende der Weizensaison mit der Tiefe kontinuierlich abnahm, waren die Gehalte am Ende der Reissaison in den Horizonten mit Reduktionsmerkmalen deutlich erhöht.

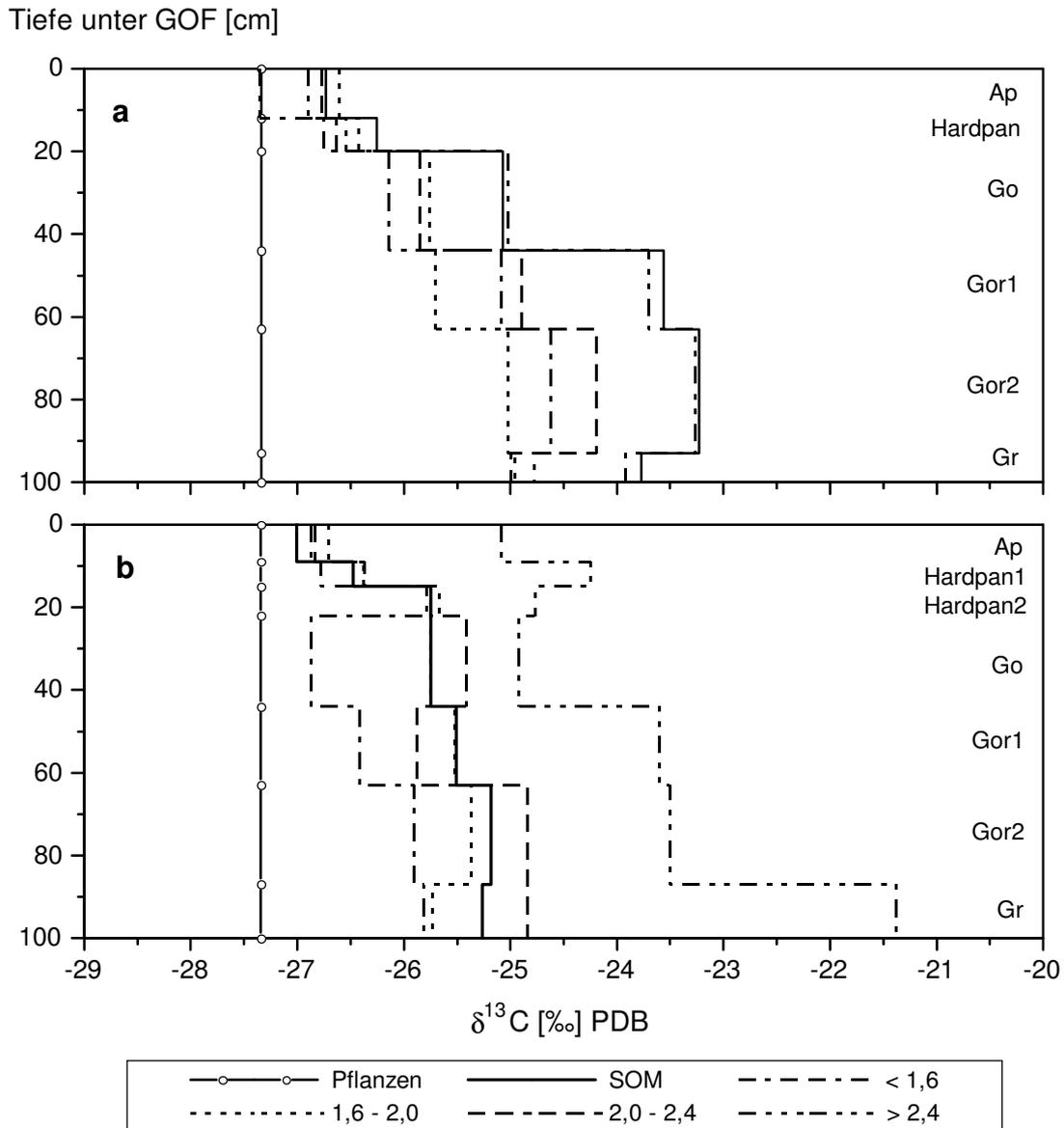
**Tab. 5-13.** C/N-Verhältnisse des unbehandelten Bodenmaterials und der Dichtefraktionen am Ende der Weizen- und Reissaison.

Horizont	Tiefe [cm]	C/N-Verhältnisse				
		Boden	<1,6	1,6 - 2,0	2,0 - 2,4	>2,4
<b>Weizensaison</b>						
Ap	0 - 12	9,2	16,9	13,4	14,0	9,1
Hardpan	12 - 20	8,8	16,0	14,1	14,5	10,6
Go	20 - 44	7,9	17,5	15,1	16,4	11,6
Gor1	44 - 63	6,9	20,8	13,6	13,6	9,3
Gor2	63 - 93	6,5	23,0	14,0	23,5	4,5
Gr	93 - 100	6,9	24,8	12,0	16,9	4,1
	<b>Mittelwert</b>	<b>7,7</b>	<b>19,8</b>	<b>13,7</b>	<b>16,5</b>	<b>8,2</b>
<b>Reissaison</b>						
Ap	0 - 9	12,0	17,4	15,0	9,7	3,3
Hardpan1	9 - 15	11,1	19,8	15,0	5,8	4,7
Hardpan2	15 - 22	9,7	21,0	18,9	10,1	4,8
Go	22 - 44	12,3	19,8	17,9	6,1	4,4
Gor1	44 - 63	8,8	20,5	17,8	7,2	3,3
Gor2	63 - 87	8,6	19,1	16,0	6,5	2,1

Gr	87 - 100	8,0	19,2	13,8	8,8	3,2
	<b>Mittelwert</b>	<b>10,1</b>	<b>19,6</b>	<b>16,4</b>	<b>7,8</b>	<b>3,7</b>

Die C/N-Verhältnisse der meisten Dichtefractionen lagen höher als die C/N-Verhältnisse des unbehandelten Bodens. Eine Ausnahme bildeten die Dichten 2,0 - 2,4 g cm<sup>-3</sup> und > 2,4 g cm<sup>-3</sup> der Reissaison, die niedrigere C/N-Verhältnisse zeigten als das unbehandelte Bodenmaterial (Tab. 5-13). Besonders auffällig dabei waren die C/N-Verhältnisse der Dichte > 2,4 g cm<sup>-3</sup> der Reissaison, die sehr geringe Werte zwischen 2,1 und 4,8 aufwiesen. Ähnlich niedrige Werte wurden sonst nur noch im Gor2- und Gr-Horizont der selben Dichte der Weizensaison gefunden. Ein Trend zu niedrigeren oder höheren C/N-Verhältnissen ließ sich im Tiefenprofil für die meisten Fraktionen nicht nachweisen.

Die isotopenanalytische Untersuchung der einzelnen Dichtefractionen zeigte eine deutliche Anreicherung an <sup>13</sup>C-Kohlenstoff für die meisten Dichten und Horizonte sowohl der Weizensaison als auch der Reissaison gegenüber dem  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des pflanzlichen Ausgangsmaterials.



**Abb. 5-29.**  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Dichtefractionen sowie des pflanzlichen Ausgangsmaterials und der organischen Bodensubstanz (SOM) in Abhängigkeit von der Tiefe am Ende der Weizen- (a) und Reissaison (b).

Während der aeroben Bedingungen am Ende der Weizensaison (Abb. 5-29a) zeichnen die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Fraktionen den Verlauf der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der organischen Bodensubstanz (SOM) nach. Dabei zeigten die Horizonte mit Reduktionsmerkmalen (Gor1, Gor2, Gr) die größte Anreicherung an schwerem Kohlenstoff, wohingegen im Oberboden die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der einzelnen Fraktionen nahe am  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des pflanzlichen Ausgangsmaterials lagen. Insgesamt zeigte die leichte Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) aus Streu- und Wurzelstoffen die geringsten und die schwerste Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) aus überwiegend mineralischen Bodenbestandteilen die höchsten Anreicherungen an  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff.

Am Ende der Reissaison (Abb. 5-29b), unter anaeroben Bedingungen, zeigten die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der schwersten Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) mit durchschnittlich  $-23,93 \text{ ‰}$  eine deutliche Anreicherung an schwerem Kohlenstoff von etwa  $2 \text{ ‰}$  im Verhältnis zum  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der organischen Bodensubstanz (SOM,  $\bar{\delta} -25,85 \text{ ‰}$ ). Die höchsten Anreicherungen wurden dabei in den reduzierten Bereichen des Hardpan1 ( $2,2 \text{ ‰}$  gegenüber SOM) und des Gr-Horizontes

(3,9 ‰ gegenüber SOM) gemessen. Im Vergleich zur Weizensaison wies die schwerste Fraktion die größte Kohlenstoff-Dynamik im Zuge des Fruchtfolgewechsels auf.

#### 5.5.2.4 Methanbildungspotentiale der Dichtefractionen

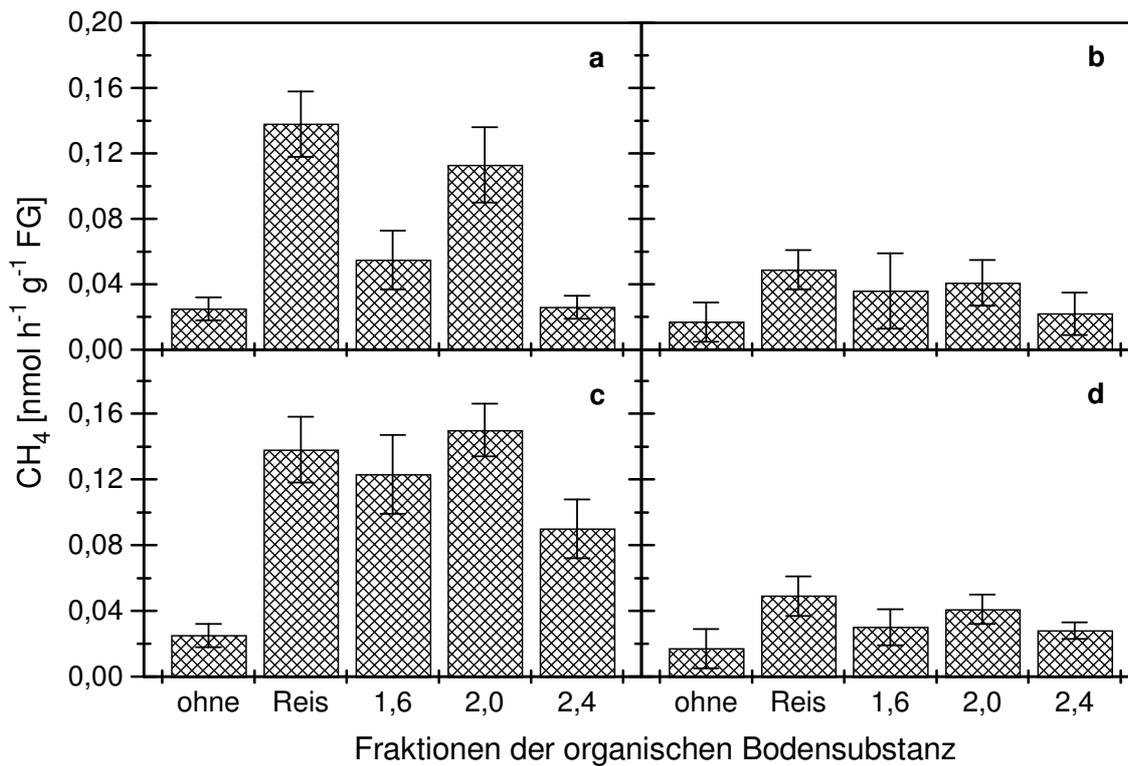
Zur weiteren Untersuchung der Qualität der organischen Substanz in Hinblick auf die Methanogenese wurde das Methanbildungspotential der einzelnen Dichtefractionen untersucht.

Da in der schweren Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) methodisch bedingt der Salzgehalt sehr hoch war (Kap. 4.7.2), wurde diese Fraktion bei der Bestimmung des mikrobiologischen Methanbildungspotentiales nicht berücksichtigt.

Der Ap-Horizont zeigte eine aktuelle Methanbildungsaktivität (ohne Zugabe organischer Substanz; Kap. 4.5.1) von  $0,025 \pm 0,007 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  sowie eine potentielle Methanbildungsaktivität (nach Zugabe von Reisstroh; Kap. 4.5.2) von  $0,138 \pm 0,02 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  (Abb. 5-30a,b). Die Methanbildungspotentiale der untersuchten Dichtefractionen lagen mit Ausnahme der Dichtefraktion 1,6 -  $2,0 \text{ g cm}^{-3}$  der Reissaison ( $0,15 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$ ) zwischen diesen Werten ( $0,026 - 0,123 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$ ).

Die potentielle Methanbildungsaktivität der Fraktionen der organischen Bodensubstanz vom Ende der Weizensaison (Abb. 5-30a) hatte verglichen mit den Dichtefractionen vom Ende der Reissaison (Abb. 5-30b) ein deutlich niedrigeres Methanbildungspotential als die Fraktionen der organischen Substanz vom Ende der Reissaison. Die Methanbildungsraten der leichten Fraktion (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) vom Ende der Reissaison waren dabei etwa doppelt so hoch wie die entsprechenden Raten vom Ende der Weizensaison, während die Raten der Dichte  $2,0 - 2,4 \text{ g cm}^{-3}$  etwa das 3,5fache der Raten der Dichtefractionen vom Ende der Weizensaison betragen. Die Methanbildungsraten der Dichte  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$  lagen hingegen für beide Vegetationsperioden etwa in der gleichen Größenordnung.

Der Hardpan zeigte eine aktuelle Methanbildungsaktivität von  $0,017 \pm 0,012 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  (Abb. 5-30c,d). Die aktuelle Aktivität des Hardpans lag somit in der gleichen Größenordnung wie die aktuelle Methanbildungsaktivität des Ap-Horizontes. Die potentielle Methanbildungsaktivität betrug demgegenüber mit  $0,049 \pm 0,012 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$  nur etwa ein Drittel der potentiellen Aktivität des Ap-Horizontes. Die Methanbildungspotentiale aller untersuchten Dichtefractionen lagen zwischen diesen Werten ( $0,022 - 0,041 \text{ nmol h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FG}$ ). Die Untersuchung des Methanbildungspotentiales des Hardpans zeigte weder zwischen den einzelnen Fraktionen vom Ende der Weizensaison (Abb. 5-30c) noch vom Ende der Reissaison (Abb. 5-30d) einen signifikanten Unterschied. Ferner zeigte ein Vergleich der einzelnen Dichtefractionen vom Ende der Weizensaison mit den Fraktionen vom Ende der Reissaison eine nahezu vollständige Übereinstimmung der Potentiale.



**Abb. 5-30.** Methanbildungspotentiale mit und ohne Reisstroh sowie mit verschiedenen Fraktionen der organischen Bodensubstanz. Für die Potentialbestimmung wurden die oberen beiden Horizonte (Ap-Horizont, Hardpan) des Reisprofils eingesetzt, wobei die Dichtefraktionen der Weizen- und Reissaison untersucht wurden, **a** Ap-Horizont + der entsprechenden organischen Substanz der Weizensaison, **b** Ap-Horizont + der entsprechenden org. Substanz der Reissaison, **c** Hardpan + der entsprechenden org. Substanz der Weizensaison und **d** Hardpan + der entsprechenden org. Substanz der Reissaison. (**ohne** = ohne Zugabe org. Substanz; **Reis** = + Reisstroh; **1,6** = + Dichte < 1,6 g cm<sup>-3</sup>; **2,0** = + Dichte 1,6 - 2,0 g cm<sup>-3</sup>; **2,4** = + Dichte 2,0 - 2,4 g cm<sup>-3</sup>; Mittelwerte ± Standardabweichung, n = 3)

## 6 Diskussion

### 6.1 Einfluß der Temperatur auf die Methanogenese

In hydromorphen Böden wird die Methanbildung wesentlich durch die Temperatur und die Verfügbarkeit methanogener Substrate beeinflusst (ZEIKUS & WINFREY, 1976; WESTERMANN & AHRING, 1987; WESTERMANN et al., 1989; CONRAD & WETTER, 1990).

Die Temperatur kontrolliert dabei die physiko-chemischen Reaktionen aller biologischen Prozesse (HERBERT, 1986). Das Temperaturoptimum der meisten methanogenen Bakterien liegt über 30 °C. In Hinblick auf die Methanbildung am Standort ist jedoch vor allem der Temperaturbereich < 20 °C von großer Bedeutung, da fast alle Lebensräume methanogener Bakterien durch Temperaturen unterhalb von 20 °C gekennzeichnet sind (BAROSS & MORITA, 1978). Dabei gelten Habitate wie Permafrostböden, Sedimente, Ozeane und Wasser unterhalb der Thermokline mit Temperaturen unter 5 °C als thermostabil und werden daher als psychrophile Habitate angesehen (MORITA, 1992). Böden außerhalb der Permafrostregionen unterliegen in der Regel größeren saisonalen Temperaturschwankungen. Langjährige Messungen der Bodentemperatur am Untersuchungsstandort Asseler Sand, der durch ein gemäßigttes Klima gekennzeichnet ist, zeigten saisonale Schwankungen zwischen 3 °C im Januar und maximal 17 °C im Juli (PFEIFFER, 1997). Im Gegensatz dazu wies der Standort Suzhou in Ostchina aufgrund des subtropischen Klimas ein größeres Spektrum der Bodentemperatur auf, das von 6 °C im Winter bis 28 °C im Sommer reichte.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit belegen eine Anpassung der methanogenen Flora an die klimatisch bedingten Temperaturverhältnisse der jeweiligen Untersuchungsgebiete.

Das Untersuchungsgebiet Asseler Sand (Marsch) hatte, ebenso wie der subarktische Vergleichsstandort Taimyr (Tundra), bei 32 °C ein Temperaturoptimum der Methanbildung. Der durch subtropisches Klima geprägte ostchinesische Standort Suzhou (Reisboden) hatte dagegen mit 47 °C ein deutlich höheres Temperaturoptimum. Der Marschboden des Asseler Sandes zeigte ferner auch im Temperaturbereich von 5 °C bis 28 °C eine hohe Methanbildungsaktivität mit einem statistisch signifikanten zweiten Optimum bei 10 °C (Abb. 5-8).

Das Vorhandensein von zwei Temperaturoptima im untersuchten Marschboden deutet auf die Existenz zweier methanogener Bakterienpopulationen hin. Wie die Ergebnisse zum Einfluß verschiedener Substrate zeigen, ist die eine Population an die durchschnittliche Bodentemperatur von 9 °C angepaßt und nutzt überwiegend Acetat als Substrat, während die andere Population bei höheren Temperaturen hauptsächlich Wasserstoff zur Energiegewinnung oxidiert (Tab. 5-1). SVENSSON (1984) berichtete ebenfalls von zwei verschiedenen methanogenen Bakterienpopulationen in einem Moor. Die erste Gruppe nutzte Acetat als Substrat mit einem Temperaturoptimum von 20 °C und die zweite oxidierte Wasserstoff bei einem Temperaturoptimum von 28 °C.

Für die Annahme, daß zwei verschiedene methanogene Bakterienpopulationen existieren sprechen auch die vorliegenden Ergebnisse zur Zellzahlbestimmung methanogener Bakterien mit verschiedenen Substraten bei 10 °C und 28 °C. Bei 28 °C lagen die Zellzahlen mit allen untersuchten Substraten (H<sub>2</sub>, Acetat, Formiat) in der gleichen Größenordnung, wohingegen bei 10 °C die Zellzahlen mit Wasserstoff im Vergleich zu Acetat und Formiat signifikant niedriger waren (Abb. 5-9). Dieser Befund macht deutlich, daß in der untersuchten Marsch eine methanogene Flora existiert, die offensichtlich in Abhängigkeit vom Substrat gut an niedrige Bodentemperaturen im Bereich von 10 °C angepaßt ist.

Die Bedeutung von Acetat als wichtiges Stoffwechselzwischenprodukt in anaeroben Ökosystemen konnte von verschiedenen Autoren belegt werden (SMITH et al., 1980; JONES & SIMON, 1985; WESTERMANN, 1994; SCHULZ et al., 1997). Vor allem in kalten Habitaten ist die Bildung von Acetat als Intermediat von besonderer Bedeutung, da bei niedrigen Temperaturen Wasserstoff bevorzugt durch homoacetogene Bakterien zu Acetat oxidiert wird (KOTSYURBENKO et al. 1993). Für acetogene Bakterien sind mehrfach Stämme beschrieben worden, die an niedrige Temperaturen angepaßt sind (CONRAD et al., 1989; NOZHEVNIKOVA et al., 1994; KOTSYURBENKO et al., 1995). Bei niedrigen Temperaturen steht daher einerseits Wasserstoff, aufgrund der Konkurrenz durch acetogene Bakterien, nur in geringen Mengen als Substrat für die Methanogenese zur Verfügung und andererseits wird Acetat als nutzbares Substrat der methanogenen Bakterien im Zuge der Acetogenese vermehrt gebildet. SCHULZ & CONRAD (1996) konnten an Sedimentproben des Bodensees zeigen, daß die Methanbildung bei 4 °C ausschließlich über die Acetat-Fermentation läuft, während bei einer Temperaturerhöhung auf 20 °C ein Teil der Methanogenese auf die Oxidation von Wasserstoff zurückgeführt werden konnte. Der Befund, daß sowohl die Marsch als auch der subarktische Vergleichsstandort Taimyr im niedrigen Temperaturbereich eine relativ hohe Methanbildungsrate zeigten, während beim Reisboden lediglich bei > 30 °C nennenswerte Methanbildung auftrat (Abb. 5-8), deutet daraufhin, daß unter subtropischen Bedingungen eine an tiefe Temperaturen angepaßte hauptsächlich Acetat-nutzende Flora nicht vorhanden ist.

Das Ergebnis der Zellzahlbestimmung bei 10 °C, das mit Formiat signifikant höhere Zellzahlen als mit Wasserstoff als Substrate zeigte (Abb. 5-9), weist daraufhin, daß neben dem hauptsächlich genutzten Substrat Acetat Formiat ein weiteres wichtiges Substrat der methanogenen Flora bei niedrigen Temperaturen sein könnte. THIELE & ZEIKUS (1988) konnten zeigen, daß Lactat oder Ethanol in syntropher Assoziation (‘formate interspecies transfer’) durch *Desulfovibrio vulgaris* zu Formiat und Acetat oxidiert wird und anschließend von *Methanobacterium formicicum* zu Methan und Hydrogencarbonat metabolisiert wird. Ferner beobachteten STRAYER & TIEDJE (1978), daß Formiat als direktes Substrat für die Methanogenese eines eutrophen Sedimentes dienen kann. Da die meisten hydrogenotrophen methanogenen Bakterien durch die Formiat-Dehydrogenase in der Lage sind außer Wasserstoff auch Formiat als Elektronencarrier zu nutzen (BELAY et al., 1986; BENSTEAD et al., 1991), könnte die Formiat-Bildung und -Oxidation einen alternativen Weg zu Wasserstoff

als Substrat für den Elektronenfluß in anaeroben Ökosystemen bei niedrigen Temperaturen darstellen.

Im Gegensatz zum Asseler Sand wies der Standort Suzhou mit 47 °C ein hohes Temperatur-optimum auf, zeigte aber im niedrigen Temperaturbereich viel geringere Methanbildungsraten (Abb. 5-8). In Reisböden, die in der Regel durch ein wärmeres Klima geprägt sind, wird Wasserstoff vor allem im Zuge der Methanogenese umgesetzt (CHIN & CONRAD, 1995). CONRAD et al. (1987) zeigten, daß in diesen Böden die Aktivität der H<sub>2</sub>-bildenden Bakterien durch niedrige Temperaturen stärker abnimmt als die Aktivität methanogener Bakterien. Ferner spalten einige acetogene Bakterien bei hohen Temperaturen Acetat zu H<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> (LEE & ZINDER, 1988). Molekularökologische Untersuchungen und verschiedene Isolate methanogener Bakterien zeigten ferner, daß der überwiegende Teil der methanogenen Flora in Reisböden zu den H<sub>2</sub>-verwertenden methanogenen Gattungen gehört (RAJAGOPAL et al., 1988; KUDO et al., 1997). Der steile Abfall der Methanbildungsraten für den untersuchten Reisboden bei Temperaturen < 30 °C ist offensichtlich darauf zurückzuführen, daß bei niedrigen Temperaturen zu wenig Wasserstoff für die Methanogenese zur Verfügung steht.

Die Annahme einer Anpassung der methanogenen Flora an die Temperatur und die Verfügbarkeit methanogener Substrate wird auch durch die saisonal ermittelten Zellzahlen hydrogenotropher und acetotropher methanogener Bakterien bestätigt. In der Marsch mit einer durchschnittlichen Bodentemperatur von 9 °C waren die über ein Jahr gemittelten Zellzahlen der Acetat-verwertenden methanogenen Bakterien mit  $1,3 \times 10^5$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden signifikant höher als die durchschnittlichen Zellzahlen der H<sub>2</sub>-verwertenden methanogenen Bakterien ( $6,4 \times 10^3$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden; Abb. 5-2). Für den Reisboden mit einer in-situ-Temperatur von 22 °C wurden dagegen für beide Gruppen methanogener Bakterien Zellzahlen in der Größenordnung  $10^6$  Zellen g<sup>-1</sup> Boden gefunden (Abb. 5-5).

Aufgrund der Anpassung der natürlichen methanogenen Flora an die vorherrschenden in-situ-Temperaturen wurden methanogene Bakterien bei unterschiedlichen Temperaturen (10 °C, 17 °C, 28 °C) sowie mit verschiedenen Substraten (H<sub>2</sub>, Acetat, Formiat, Methanol, Ethanol, Trimethylamin, Isopropanol) angereichert und isoliert.

Mikroorganismen werden entsprechend ihres Hauptwachstumsbereiches und ihres Temperaturoptimums eingeteilt. Nach MORITA (1975) sowie ISAKSEN & JØRGENSEN (1996) werden Bakterien, die < 0 °C bis ≤ 20 °C wachsen und ein Temperaturoptimum ≤ 15 °C besitzen als psychrophile (obligat psychrophil) Organismen bezeichnet, wohingegen Bakterien mit einem Wachstumsbereich von ≤ 0 °C bis ≤ 35 °C und einem Temperaturoptimum ≥ 15 °C als psychrotrophe (fakultativ psychrophil) Organismen bezeichnet werden. Mesophile Bakterien haben hingegen ein Temperaturoptimum von 25 - 40 °C und ein Temperaturmaximum von 35 - 45 °C.

Die im Rahmen dieser Arbeit näher charakterisierten Reinkulturen methanogener Bakterien zeigten durchweg Wachstum in einem weiten Temperaturbereich zwischen 5 °C und 47 °C (Tab. 5-4). Die Temperaturoptima lagen sowohl für die bei 28 °C als auch für die bei 10 °C

isolierten Kulturen zwischen 30 °C und 37 °C. Daher müssen alle untersuchten Reinkulturen nach der strengen Definition von MORITA (1975) als mesophile Organismen angesehen werden, auch wenn andere Autoren (NEDWELL & RUTTER, 1994; KOTSYURBENKO et al., 1996) aufgrund der Fähigkeit bei niedrigen Temperaturen zu wachsen von ‚psychrotoleranten‘ oder ‚psychroaktiven‘ Organismen sprechen.

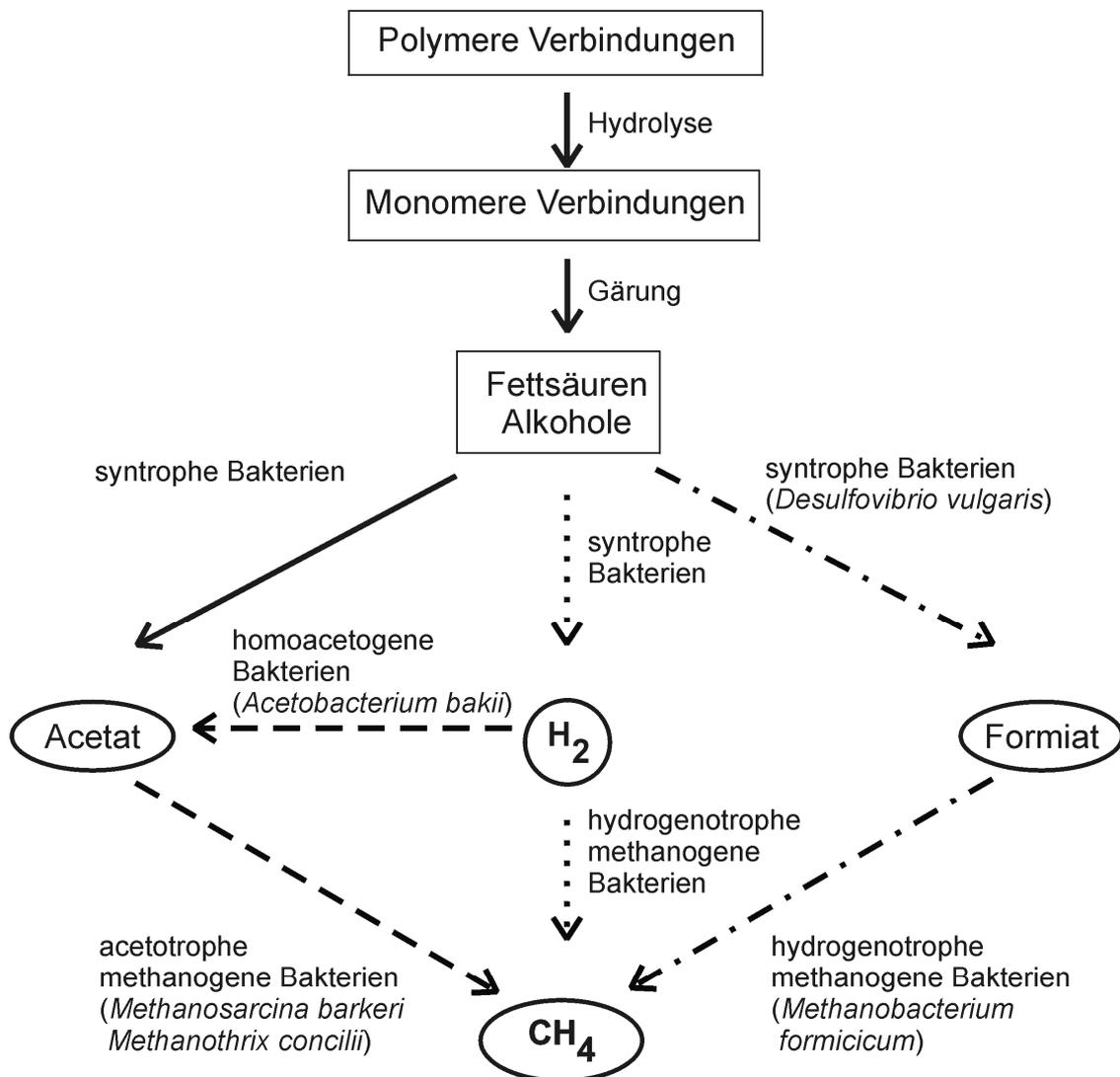
Während aus zahlreichen Bakteriengruppen psychrophile und psychrotrophe Organismen isoliert werden konnten (FINNE & MATCHES, 1974; GOUNOT, 1986; OMELCHENKO et al., 1993; KOTSYURBENKO et al., 1995; ISAKSEN & JØRGENSEN, 1996), gehören die in der Literatur beschriebenen methanogenen Arten, mit zwei Ausnahmen (FRANZMANN et al., 1992 und 1997), zu den mesophilen bzw. thermophilen Bakterien, die nicht in der Lage sind, unterhalb von 10 °C zu wachsen (JONES et al., 1987). Aus diesem Grund ist es bemerkenswert, daß 6 von 9 der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Isolate noch bei 5 °C zu wachsen vermochten.

Ungeachtet der Tatsache, daß es bisher nicht gelungen ist, psychrophile bzw. psychrotrophe methanogene Bakterien aus dem Marschboden zu isolieren, sprechen dennoch die Ergebnisse der Anreicherungen und die Eigenschaften der isolierten Stämme für die Annahme, daß zumindest psychrotrophe Organismen existieren.

Bei 28 °C wurden die meisten Anreicherungs- und Reinkulturen auf H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> als Substrat erhalten, während weitere Isolationen bisher nur auf Methanol gelangen. Es konnten insgesamt 7 Reinkulturen isoliert werden (Tab. 5-4). Bei niedrigen Temperaturen (10 °C, 17 °C) war aufgrund des langsameren Wachstums die Isolation ungleich schwerer, so daß bei 10 °C lediglich 2 Reinkulturen isoliert werden konnten (Tab. 5-4). Die 17°C-Kulturen wurden hingegen nicht mit der gleichen Intensität bearbeitet wie die beiden anderen Temperaturstufen, so daß für diese Temperatur bisher keine Reinkulturen erhalten wurden. Die bodenmikrobiologischen Standortuntersuchungen zeigten ferner, daß bei niedrigen Temperaturen zwar hohe Methanbildungsaktivitäten gefunden werden konnten, aber die Zellzahlen methanogener Bakterien vergleichsweise gering waren (Abb. 5-1, 5-3). Dieser Befund deutet daraufhin, daß das Ergebnis der Isolationen bei niedrigen Temperaturen nicht nur als Funktion der Temperatur zu interpretieren ist, sondern auch auf ein methodisches Problem bei der Anreicherung und Isolation der Organismen aus dem natürlichen Habitat in einem künstlichen Medium zurückzuführen sein könnte.

Im Gegensatz zur Isolation bei 28 °C wurden bei 10 °C und 17 °C nur eine Kultur auf H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> als Substrat erhalten, während 15 weitere Anreicherungen auf Substraten wie Acetat (n = 7), Formiat (n = 2), Methanol (n = 2), Ethanol (n = 2) und Trimethylamin (n = 2) gelangen (Tab. 5-2). Wie bereits erwähnt, können die meisten hydrogenotrophen methanogenen Bakterien neben Wasserstoff auch Formiat als Substrat nutzen. Dennoch gelang die Anreicherung hydrogenotropher methanogener Bakterien bei niedrigen Temperaturen überwiegend auf Formiat, während dieselbe Gruppe methanogener Bakterien bei hohen Temperaturen ausschließlich auf Wasserstoff isoliert werden konnte. Dieser Sachverhalt läßt sich nur so deuten, daß es in der untersuchten Marsch eine an niedrige Temperaturen angepaßte methanogene Flora gibt, die aufgrund ihrer enzymatischen Ausstattung an bestimmte Substrate angepaßt ist, die durch

eine spezielle auf niedrige Temperaturen eingestellte Begleitflora gebildet werden. Tatsächlich konnten NEDWELL & RUTTER (1994) zeigen, daß die Affinität zum Substrat generell bei niedrigen Temperaturen vermindert ist. Ferner sind Wachstumsparameter wie beispielsweise die Wachstumsrate ( $\mu$ ), die Substrataffinität ( $K_s$ ) und der Zellertrag ( $Y$ ) keine konstanten Größen, sondern solche, die sich in Abhängigkeit von der Temperatur ändern (HARDER & VELDKAMP, 1971). Enzyme psychrophiler Organismen zeichnen sich insgesamt durch eine höhere strukturelle Flexibilität aus, was zu einer Verminderung der Aktivierungsenergie und damit zu einer höheren katalytischen Aktivität bei niedrigen Temperaturen führt (FELLER et al., 1996). Dies



**Abb. 6-1.** Schema der vorherrschenden Abbauwege organischer Substanz im Zuge der Methanogenese bei niedrigen und hohen Temperaturen; gestrichelte Pfeile = niedriger Temperaturbereich  $\leq 20$  °C, gepunktete Pfeile

= hoher Temperaturbereich  $> 20\text{ °C}$ , schwarze durchgezogene Pfeile = wesentliche Abbauwege polymerer Verbindungen. Die Strich-Punkt-Linie markiert den vermuteten Abbauweg über Formiat als Intermediat bei niedrigen ( $\leq 20\text{ °C}$ ) Temperaturen. In Klammern angegeben sind typische Vertreter der einzelnen Abbaustufen der organischen Komponenten.

könnte bedeuten, daß die in hydrogenotrophen methanogenen Bakterien induzierbare Formiat-Dehydrogenase unter den gegebenen Wachstumsbedingungen bessere Umsatzraten mit Formiat zeigt als die konstitutiv gebildete Hydrogenase für den Umsatz von Wasserstoff.

Die dargestellten Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß eine Anpassung der verschiedenen methanogenen Populationen an niedrige und hohe Temperaturen vorliegt, die auf einer unterschiedlichen Substratverfügbarkeit basiert. Die Unterschiede in der Substratverfügbarkeit wiederum beruhen auf einer Änderung der Abbauewege der organischen Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur. Während bei 10 °C lösliche organische Säuren wie Acetat und Formiat als Substrate für die Methanogenese dienen, basiert die Methanbildung bei höheren Temperaturen vermehrt auf Wasserstoff als Substrat. Daher wird der Abbau organischer Substanz bei niedrigen Temperaturen in anaeroben Ökosystemen wie Sedimenten und Böden kalter Klimate im Zuge der Methanogenese einerseits über Acetat durch das Zusammenwirken homoacetogener Bakterien und acetotropher methanogener Bakterien sowie andererseits vermutlich über Formiat unter Beteiligung von syntrophen Bakterien und hydrogenotrophen methanogenen Bakterien gewährleistet (Abb. 6-1). Wohingegen im Falle eines wärmeren Klimas die organische Substanz offensichtlich zum Teil über H<sub>2</sub> als Intermediat von syntrophen und H<sub>2</sub>-bildenden Bakterien sowie von hydrogenotrophen methanogenen Bakterien zu Methan umgesetzt wird.

## 6.2 Einfluß von Sauerstoff auf die Aktivität methanogener Bakterien

Obwohl methanogene Bakterien als streng anaerobe Organismen gelten, zeigen sie insbesondere in ihren natürlichen Habitaten eine gewisse Toleranz gegenüber Sauerstoff (KIENER & LEISINGER, 1983; MAYER & CONRAD, 1990; KATO et al., 1993; SIEBURTH et al., 1993). Im Rahmen dieser Arbeit konnten sowohl für die untersuchte Marsch, als auch für den Reisboden regelmäßig hohe Zellzahlen methanogener Bakterien in den aeroben Bereichen (Go-Horizonte) der Bodenprofile nachgewiesen werden (Abb. 5-1, 5-5).

KIENER & LEISINGER (1983) zeigten, daß die Ausbildung von Biofilmen (z.B. Aggregation in Zellpaketen), wie sie bei der Gattung *Methanosarcina* zu finden ist, einen Schutz der Zellen gegenüber aeroben Bedingungen darstellt. Andere Untersuchungen zeigten, daß einige Stämme methanogener Bakterien Schutzmechanismen gegenüber Sauerstoff besitzen (HAUSINGER et al., 1985; KIENER et al., 1988; KENGEN et al., 1991). Beispielsweise konnten KIRBY et al. (1981) sowie MEILE et al. (1995) geringe Mengen des vor Oxidradikalen schützenden Enzyms Superoxid-Dismutase in methanogenen Bakterien der Gattung *Methanobacterium* nachweisen. Aber im Gegensatz zu den ebenfalls anaeroben sulfatreduzierenden Bakterien, bei denen bereits mikroaerophile Arten beschrieben wurden (DILLING & CYPIONKA, 1990; MARSCHALL et al., 1993), wurde Wachstum und Aktivität methanogener Bakterien bisher nur unter streng

anaeroben Bedingungen beobachtet (HUNGATE, 1967; ZEHNDER & WUHRMANN, 1977; ZINDER, 1993).

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff grundsätzlich möglich ist. Die Versuche zur Bedeutung der Begleitflora und der Bodenart für die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff wurden mit homogenisiertem Bodenmaterial durchgeführt, das kontinuierlich geschüttelt wurde, um Effekte durch eine verminderte Sauerstoff-Diffusion in Bodenaggregate auszuschließen.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß Methanbildung unter aeroben Bedingungen nur möglich ist in Gegenwart der natürlichen Begleitflora aerober und fakultativ anaerober Bakterien (Abb. 5-13, 5-14). Die Bedeutung der Begleitflora für die Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff besteht wahrscheinlich darin, daß sie den Sauerstoffpartialdruck vermindert und gleichzeitig Substrate bildet, die von methanogenen Bakterien genutzt werden können. GOTTSCHAL & SZEWZYK (1985) zeigten, daß 80 - 90 % aller chemoorganotrophen Bakterien eines tidebeeinflussten Ästuars zur Gruppe der fakultativ anaeroben Bakterien gehören. Viele dieser Bakterien sind in der Lage, unter sauerstofflimitierten Bedingungen Energie durch gleichzeitige Atmung und Gärung zu gewinnen (WIMPENNY & NECKLEN, 1971; LINTON et al., 1975). Methanogene Bakterien nutzen als Partner einer syntrophen Beziehung die gebildeten Substrate wie Wasserstoff und Formiat. Sie verschieben dadurch das thermodynamische Gleichgewicht zugunsten der Bildung dieser Produkte durch fakultativ anaerobe Bakterien (CONRAD et al., 1985; THIELE & ZEIKUS, 1988; STAMS, 1994). Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen vermuten, daß die Assoziation methanogener und fakultative anaerober Bakterien von großer Bedeutung für das Überleben methanogener Bakterien an der Grenze von aeroben zu anaeroben Verhältnissen, wie beispielsweise in den Gor-Horizonten hydromorpher Böden, ist. Dafür spricht auch der Befund, daß in verschiedenen Mischkulturen zwischen aeroben und obligat anaeroben Bakterien die anaeroben Organismen in der Lage waren, unter sauerstofflimitierten Bedingungen zu wachsen (GERRITSE et al., 1990; WIMPENNY & ABDOLLAHI, 1991; GERRITSE et al., 1992; GERRITSE & GOTTSCHAL, 1993). Darüber hinaus konnten BRUNE et al. (1995) zeigen, daß der Enddarm von Termiten, im Gegensatz zum Pansen von Rindern, nicht streng anaerob ist. Vielmehr laufen im Termitendarm aerobe und anaerobe Abbauprozesse (z.B. Methanogenese), die ein weites Spektrum des Redoxpotentials umfassen, nebeneinander ab.

Der zweite Faktor, der Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff ermöglicht, ist die Art des Bodenmaterials. An Modellböden konnte in Abhängigkeit von der Körnung des eingesetzten Materials (Bentonit, schluffiger Ton, Kies, Sand), das mit der natürlichen Marschenflora und mit Reinkulturen methanogener Bakterien beimpft worden war, signifikante Unterschiede in der Methanbildungsaktivität unter aeroben Bedingungen nachgewiesen werden (Abb. 5-15). Da die Zellzahlen der chemoorganotrophen und methanogenen Bakterien sowie die sauerstoffzehrende Aktivität der Begleitflora für alle Modellböden gleich waren, können die unterschiedlichen Methanbildungsaktivitäten als Funktion (sorptive Eigenschaften,

Partikel/Volumen-Verhältnisse) der untersuchten Materialien interpretiert werden. Die Kationenaustauschkapazität der Materialien nahm beispielsweise in folgender Reihenfolge zu: Sand < Kies < toniger Schluff (Marschboden) < Ton. Dabei zeigten die Böden mit einem hohen Anteil an Tonmineralen (tonig schluffige Marsch, Modellböden mit Bentonit) die höchsten und die Modellböden mit Sand die niedrigsten Methanbildungsraten unter aeroben und anaeroben Bedingungen (Abb. 5-15).

Die positive Wirkung von Tonmineralen auf die Aktivität von Bakterien wird durch ihre Oberflächenbeschaffenheit sowie durch die Art und Menge an Ladungen, die die Sorptionseigenschaften für Mikroorganismen und Nährstoffe bestimmen, bedingt (WEAVER & DUGAN, 1972; MACURA & STOTZKY, 1980; GHIORSE & WILSON, 1988; VAN LOOSDRECHT et al., 1990; HEIJNEN et al., 1992). Dabei ist die Bindung von Mikroorganismen an Tonminerale von der Ladung der austauschbaren Kationen abhängig. Mit steigender Ladungsdichte und einem höheren Anteil an mehrwertigen Ionen nimmt die Stärke der sogenannten Diffusen-Schicht ab. Dadurch wird die negative Nettoladung reduziert und damit auch das elektrokinetische Abstoßungspotential (STOTZKY, 1974; LIPSON & STOTZKY, 1983), wodurch eine Anheftung von Mikroorganismen begünstigt wird. Ferner konnten VAN LOOSDRECHT et al. (1987a, 1987b) zeigen, daß die Hydrophobizität und das elektrophoretische Potential von Bakterien als Maß für ihre Adsorptionsfähigkeit betrachtet werden können. Methanogene Bakterien wie *Methanosarcina barkeri* haben ebenso wie andere Bakterien eine hydrophobe Zelloberfläche und ein niedriges elektrophoretisches Potential, was die Anheftung der Organismen an Oberflächen von Bodenpartikeln begünstigt (GROTENHUIS et al., 1992).

An Oberflächen adsorbierte Zellen wachsen in sogenannten Biofilmen (COSTERTON et al., 1995). Biofilmzellen sind aufgrund der Struktur des Biofilms, der verminderten Diffusion und der physiologischen Aktivität der Begleitflora weniger sensitiv gegenüber äußeren Einflüssen als planktonische Zellen (COSTERTON et al., 1987; WIMPENNY & COLASANTI, 1997). DE BEER et al. (1993; 1994) konnten darüber hinaus zeigen, daß innerhalb von Zellaggregaten des Biofilms anaerobe Verhältnisse herrschen. Methanogene Bakterien dürften daher im Biofilm besser gegenüber Sauerstoff geschützt sein als solche in der Bodenlösung.

Der ungestörte natürliche Boden ist durch die Lagerung der mineralischen und organischen Bodenbestandteile (feste Phase) gekennzeichnet. Sie gibt dem Boden unter anderem eine Struktur (Gefüge) und bedingt ein definiertes Porensystem. Dabei bestimmen der Wassergehalt und die Porengrößenverteilung maßgeblich den Anteil des gasgefüllten Porenraumes und somit den Einfluß des Sauerstoffs auf die Aktivität der anaeroben methanogenen Bakterien. Aus diesem Grund wurde der Einfluß von Sauerstoff auf die Methanbildungsaktivität in natürlich gelagerten Bodenproben bei unterschiedlichen Wassergehalten untersucht. Um den Einfluß des Wassergehaltes unabhängig vom Einfluß des Sauerstoffes ermitteln zu können, wurden die Experimente auch unter anaeroben Bedingungen durchgeführt.

Es ist seit langem bekannt, daß die Aktivität von Mikroorganismen im Boden maßgeblich vom Wassergehalt gesteuert wird (HARRIS, 1981). Dementsprechend nahm unter anaeroben Bedingungen die Methanbildungsaktivität der ungestörten Bodenproben mit abnehmenden Wassergehalten ab (Abb. 5-20).

Unter aeroben Bedingungen wurde die Abhängigkeit vom Wassergehalt durch den Einfluß des Sauerstoffs auf die Aktivität der methanogenen Bakterien überlagert (Abb. 5-20). Die wassergesättigten Proben hatten in Gegenwart von Sauerstoff noch etwa zwei Drittel der Aktivität der unter anaeroben Bedingungen inkubierten Proben. Für die Wasserpotentiale von -6 bzw. -30 kPa (entspricht: weite bzw. enge Grobporen entwässert) waren die Methanbildungsraten in Gegenwart von Sauerstoff annähernd gleich und erreichten noch etwa 50 % der Rate im Vergleich zu den anaerob inkubierten 100 % wassergesättigten Proben. Bei einem Wasserpotential von -100 kPa nahmen die Raten nur noch geringfügig ab und wiesen ähnliche Werte auf wie die entsprechenden, unter anaeroben Bedingungen inkubierten Proben. Der Gasaustausch zwischen Boden und Atmosphäre sowie der Gastransport im Boden variiert in Abhängigkeit vom Wassergehalt auf der Basis unterschiedlicher Diffusionskoeffizienten wassergefüllter bzw. luftgefüllter Porenräume (CASTRO et al., 1995). Sauerstoff beispielsweise diffundiert in Luft ( $2,1 \times 10^{-1} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) fünf mal schneller als in Wasser ( $2,6 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ), wodurch die Unterschiede in der Methanbildungsaktivität zwischen den wassergesättigten und den entwässerten Proben erklärt werden können. Der geringe Unterschied in den Methanbildungsaktivitäten der unterschiedlich entwässerten Proben läßt darauf schließen, daß der Einfluß des Sauerstoffs hauptsächlich über die Grobporen wirkt. Hingegen zeigen die Methanbildungsraten bei einem Wasserpotential von -100 kPa, daß durch verminderte Diffusion im Bereich der Mittelporen und der sauerstoffzehrenden Aktivität der Begleitflora nur noch der Einfluß des Wassergehaltes zum tragen kommt, da die Methanbildungsraten in Gegenwart von Sauerstoff etwa genauso hoch sind wie die Raten unter anaeroben Bedingungen. Dies würde bedeuten, daß sowohl die methanogenen Bakterien als auch die fakultativ anaerobe Begleitflora wahrscheinlich in dem Porenbereich von 3 bis 1  $\mu\text{m}$  ihre größte Verbreitung haben. Diese Annahme deckt sich mit den Ergebnissen von SCHRICKER (1996), der zeigen konnte, daß das optimale Wasserpotential für Mikroorganismen zwar größer als -30 kPa ist, aber ein deutlicher Rückgang der mikrobiellen Aktivität erst zu beobachten war, wenn den Poren  $\ominus$  1  $\mu\text{m}$  das Wasser entzogen wurde. Dagegen konnte der Einfluß einer verminderten Substratverfügbarkeit in Abhängigkeit vom Wasserpotential ausgeschlossen werden, da dieser Effekt erst ab einem Wasserpotential von -600 kPa signifikant wird (STARK & FIRESTONE, 1995).

Die eigenen Ergebnisse zeigen, daß anaerobe Methanbildung in natürlichen Ökosystemen mit wechselnden Sauerstoffverhältnissen durch eine enge Kopplung an Atmungsprozesse möglich ist. Dabei ist die fakultativ anaerobe Begleitflora nur in Kombination mit den sorptiven Eigenschaften der natürlichen Bodenpartikel wie Ton oder Schluff sowie der organischen Substanz in der Lage eine Schutzfunktion für die methanogenen Bakterien in Gegenwart von Sauerstoff

zu entfalten. Diese Funktion ist von besonderer ökologischer Bedeutung, da die meisten anaeroben Habitate zumindest zeitweise in Kontakt mit Sauerstoff stehen (JØRGENSEN, 1977; REVSBECH et al, 1979; REVSBECH & WARD, 1984). Dieses gilt insbesondere für die in dieser Arbeit untersuchten, durch wechselnde Sauerstoffverhältnisse gekennzeichneten, hydromorphen Böden. Marschböden haben einen hochanstehenden Grundwasserspiegel, der im Jahresverlauf größeren Schwankungen unterliegt (WAGNER, 1993), während der Hydromorphiegrad der Reisböden vor allem vom Flutwasser bestimmt wird.

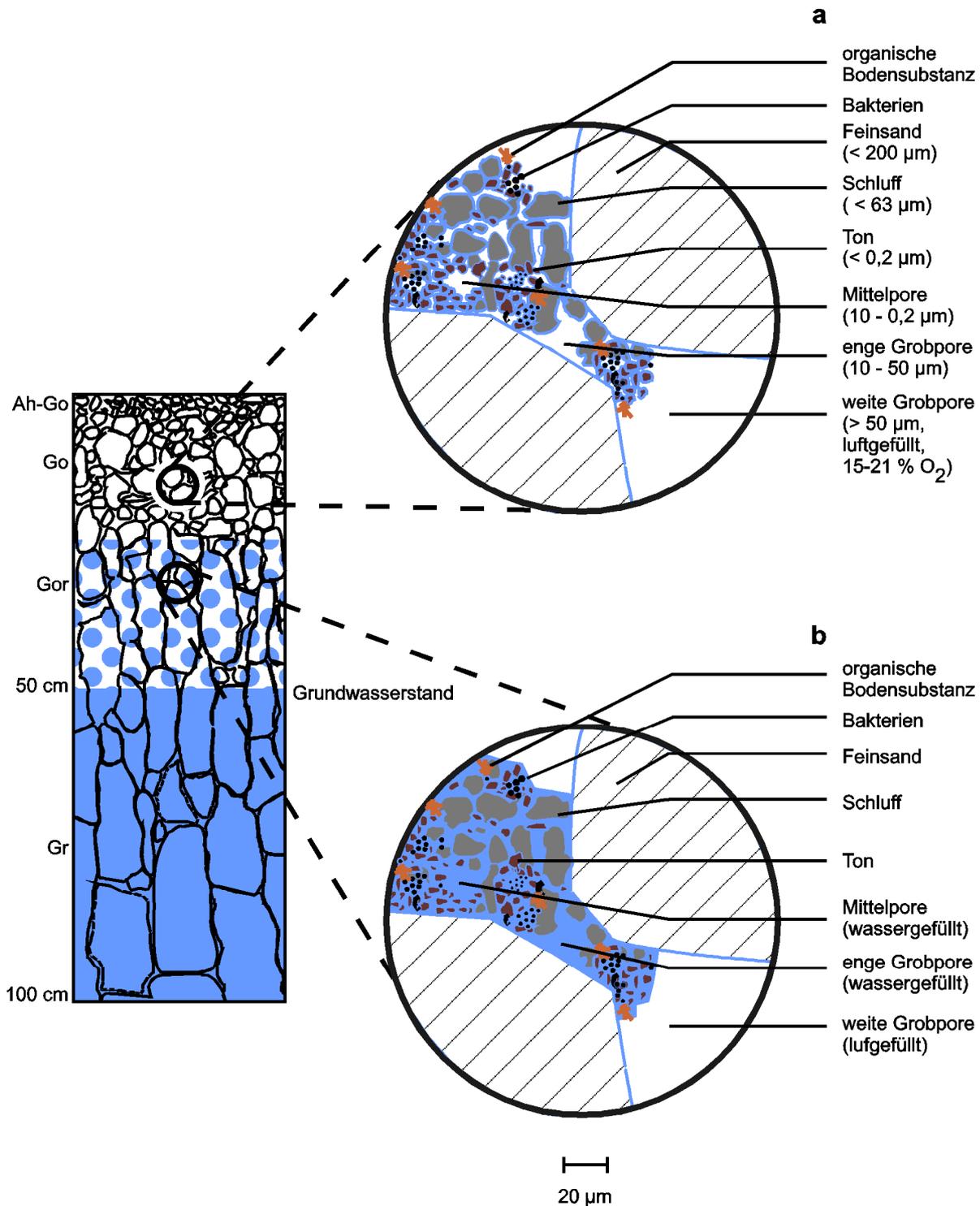
MOORE & ROULET (1993) zeigten, daß die Methanbildung in Moorböden abnimmt, wenn der Grundwasserspiegel sinkt. Neben der Methanbildung hat die Methanoxidation in den aeroben Horizonten der Böden entscheidenden Einfluß auf die Menge des emittierten Methans (OREMLAND & CULBERTSON, 1992; PFEIFFER, 1997). Ein hoher Grundwasserspiegel bedingt zudem auch weniger Methanoxidation (ROSLEV & KING, 1996).

Gegenwärtig existierende Modelle zur Berechnung der Methanfreisetzung gehen davon aus, daß der Wasserstand die Grenze zwischen Methanbildung und -oxidation darstellt (CAO & DENT, 1995; WALTER et al., 1996). Auf der Basis der vorgestellten Untersuchungen dieser Arbeit erscheint es wahrscheinlich, daß auch die Aktivität der methanogenen Bakterien in den aerob/anaeroben Übergangshorizonten (Gor-Horizonte) der Marsch zur Methanbildung und damit zur Methanemission beiträgt. Abbildung 6-2 zeigt eine anhand der vorliegenden Ergebnisse entwickelten Modellvorstellung, die die Bodenfeuchteverhältnisse des untersuchten Marschenprofils mit der potentiellen Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff in Einklang bringt.

Im Bereich des Grundwassers (unterhalb von 50 cm Bodentiefe) sind alle Poren wassergefüllt und die Diffusion von Sauerstoff in diesen Bereich tendiert gegen Null ( $E_h \approx -200$  mV), wodurch optimale Bedingungen für die methanogenen Bakterien und damit für die Methanbildung gewährleistet sind. Oberhalb des Grundwasserspiegels in den Gor-Horizonten ist vor allem die Tonfraktion, die einen 20%igen Anteil im Untersuchungsprofil aufwies, in der Lage, Wasser entgegen der Schwerkraft im Boden zu halten und somit genügend Wasser für biologische Prozesse zu speichern (STOTZKY, 1986). Unter diesen Bedingungen sind in erster Linie die Grobporen entwässert (Abb. 6-2b). Bei einem Sauerstoffanteil von 15 - 21 % in den Poren, ist eine ausreichende Versorgung von Atmungsprozessen noch bei einer Schichtdicke des Wasserfilms von 1 cm gewährleistet (ROWELL, 1994). Bei einem 10%igen Grobporenanteil im Untersuchungsprofil ist dadurch eine relativ gute Sauerstoffdiffusion über diese Poren anzunehmen. Unter diesen Bedingungen wird aber ebenfalls noch Methan gebildet, da die Mittel- und Feinporen zwischen den feinen Bodenpartikeln, in denen die Mikroflora bevorzugt vorkommt, nach wie vor wassergesättigt sind. Dadurch ist die Sauerstoffdiffusion in diese Bodenbereiche weiterhin vermindert.

In den Go-Horizonten sowie in trockenen Perioden, wenn der Grundwasserstand stark abfällt, können neben den weiten Grobporen auch die engen Grobporen und die Mittelporen entwässert sein, so daß um die Sand- und Schluff-Partikel nur noch ein dünner Wasserfilm existiert (Abb. 6-2a). In dieser Situation könnte eine Hemmung der methanogenen Bakterien in Folge

des Wasserstressses eintreten und Methanoxidation signifikant zunehmen. Jedoch zeigen die Ergebnisse, daß bei diesen Bodenwasser-/Bodenluft-Verhältnissen immer noch ein viertel der Methanbildungsrate im Vergleich zu anaeroben Bedingungen erreicht wird (Abb. 5-20). Dafür



**Abb. 6-2.** Schema der Bodenfeuchte- und Bodenluftverhältnisse des untersuchten Marschbodens bei verschiedenen Wassergehalten, **a** bei Entwässerung der Grob- und Mittelporen (bis -100 kPa Wasserpotential), **b** bei

Entwässerung der weiten Grobporen (-6 kPa Wasserpotential). Die Unterschiede im Wassergehalt beziehen sich auf den Füllungsgrad der Poren (blau).

sind einerseits die Tonminerale verantwortlich, die unter diesen Bedingungen immer noch im gequollenen Zustand vorliegen und dadurch die Sauerstoff-Diffusion vermindern (STOTZKY & REM, 1966) sowie andererseits die enge Assoziation der verschiedenen Mikroorganismen mit geladenen Bodenpartikeln, wodurch weiterhin Stoffwechselprozesse ermöglicht werden (FLETSCHER & MARSHALL, 1983).

Aus diesem Grund haben die Untersuchungen Einfluß auf die Modellierung von Methanemissionen natürlicher Feuchtgebiete. Sie zeigen, daß Methanbildung in der Wechselzone von aeroben zu anaeroben Verhältnissen bzw. in Übergangshorizonten (Gor-Horizonte) durch die Kalkulationen berücksichtigt werden müssen. Wie die Zellzahlbestimmungen zeigen, überleben die methanogenen Bakterien im aeroben Bereich der Marsch nicht nur, sondern könnten aufgrund ihrer Methanbildungsaktivität in Gegenwart von Sauerstoff zur Methanbildung beitragen.

### **6.3 Bedeutung der organischen Bodensubstanz für die Methanogenese**

Die organische Bodensubstanz ist definiert als die Gesamtheit aller abgestorbenen pflanzlichen- und tierischen Stoffe im und auf dem Boden (SCHNITZER, 1991). Sie ist ständigen Ab-, Um- und Aufbauprozessen unterworfen und umfaßt schwach zersetzte Streustoffe ebenso wie komplexe Huminstoffe. Letztere stellen stark umgewandelte nieder- und hochmolekulare Verbindungen wie Fulvo- und Huminsäuren dar. Lebende Bodenbestandteile wie Pflanzenwurzeln, Mikroorganismen und Bodentiere zählen nach der oben genannten Definition nicht zur organischen Substanz.

In Hinblick auf die Methanbildung in hydromorphen Böden kommt der organischen Bodensubstanz als Vorstufe methanogener Substrate eine wichtige Rolle zu. Die Sedimentation frischen organischen Materials in Seen ebenso wie Ernterückstände bei Reisböden führen zu einem Anstieg der Methanbildung und somit zu einer erhöhten Methanemission (KELLY & CHYNOWETH, 1981; SASS et al., 1991; MURASE et al., 1993; SCHULZ & CONRAD, 1995). Die Steigerung der Methanfreisetzung durch Reisstroh beispielsweise war bei gleicher chemischer Zusammensetzung vom Zersetzungsgrad des organischen Materials abhängig (WATANABE et al., 1993).

Entscheidend für die mikrobielle Aktivität in Böden ist weniger die Gesamtmenge an Kohlenstoff als vielmehr die Qualität und Abbaubarkeit der organischen Substanz (GHIORSE & WILSON, 1988). Dies konnte auch durch die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Dabei ließen die Kohlenstoff-Analysen Rückschlüsse zum Abbau der organischen Substanz unter aeroben und anaeroben Bedingungen (saisonale Änderung im Wasserregime) und dessen Bedeutung für die Methanbildung zu. Ein Zusammenhang zwischen der Methanbildungsaktivität und dem absoluten Gehalt an organischem Kohlenstoff bestand weder bei der Marsch noch beim Reisboden. Die einzelnen Fraktionen des organischen Kohlenstoffs wiesen jedoch deutlich unterschiedliche Methanbildungspotentiale auf.

Das Marschenprofil zeigte generell Methanbildungsaktivität in den durch Reduktionsmerkmale gekennzeichneten Horizonten unterhalb von 40 cm Bodentiefe (Abb. 3-5). In diesem Bereich nahmen die organischen Kohlenstoff-Gehalte stetig ab. Dennoch konnte im Jahresverlauf das Aktivitätsmaximum und die höchsten Zellzahlen methanogener Bakterien regelmäßig für den Bereich 60 - 70 cm Tiefe bestimmt werden (Abb. 5-1, 5-3). Der Kohlenstoff-Gehalt war mit 3,7 % in dieser Tiefe relativ niedrig.

Für den Bereich des Aktivitätsmaximums der Methanbildung wurden ganzjährig hohe Acetat-Gehalte bestimmt bei gleichzeitig niedrigen Gehalten an organischem Kohlenstoff (Abb 5-4, 5-21). Dieses Ergebnis weist auf die Bedeutung von Acetat für die Methanbildung hin. KOYAMA (1976) konnte für ein Sediment zeigen, daß das Tiefenprofil der Methanbildung bei gleichzeitig hohem Kohlenstoff-Gehalt der Verteilung von Amino- und Fettsäuren folgte. Der Abbau des organisch gebundenen Kohlenstoffs wird unter anaeroben Bedingungen durch hydrolytische, gärende, acetogene und methanogene Bakterien bewerkstelligt (ZEHNDER, 1978; ZEIKUS, 1983). Bis zu 30 % der organischen Substanz bestehen aus Cellulose und anderen Polysacchariden (KÖGEL, 1987; STOTT & MARTIN, 1990). Diese werden im Zuge der Buttersäuregärung während des primären Abbaus vor allem durch saccharolytische Clostridien zu Glucose, dem wichtigsten monomeren Zwischenprodukt der Polysaccharid-Hydrolyse, umgesetzt (KING & KLUG, 1982). Acetat wiederum ist das hauptsächliche Produkt der Vergärung von Glucose, so daß die Homoacetogenese der bedeutendste Glucose-Abbauweg unter anaeroben Bedingungen ist (KRUMBÖCK & CONRAD, 1991). Verschiedene Untersuchungen zeigten, daß Acetat bei gemäßigttem Klima mit einem Anteil von 60 - 80 % das wichtigste Substrat der methanogenen Bakterien in Böden und Sedimenten darstellt (LOVLEY & KLUG, 1982; THEBRATH et al., 1993).

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten isopenanalytischen Untersuchungen lieferten weitere Hinweise für die Bedeutung von Acetat als methanogenes Substrat. Im Zuge der Methanogenese kommt es zu einer der stärksten Isotopenfraktionierungen des Kohlenstoffs in der Natur (WHITICAR et al., 1986). Dabei reichert sich die im Boden verbleibende organische Substanz mit  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff an, während das emittierte Methan isotopisch deutlich leichter wird (PFEIFFER, 1994b; SCHARPENSEEL et al., 1996). BLAIR & CARTER (1992) zeigten, daß der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von Acetat in marinen Sedimenten ohne methanogene Aktivität mit -17,6 ‰ im Bereich des  $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes der partikulären organischen Substanz lag. In Sedimenten mit Methanbildungsaktivität stellten die Autoren dagegen eine deutliche Anreicherung des im Boden verbliebenen Acetats an schwerem Kohlenstoff (-2,8 ‰) fest. Da, bei der  $\text{CO}_2$ -Reduktion im Zuge der Acetogenese nur eine geringe Anreicherung an schwerem Kohlenstoff stattfindet (GELWICKS et al., 1989), kann der beobachtete Isotopieeffekt einzig auf die Aktivität der methanogenen Bakterien zurückgeführt werden.

Auf die Bedeutung der Acetat-Fraktion für die Methanogenese des Marschenstandortes wies bereits die durch PFEIFFER (1997) ermittelte Isotopensignatur des emittierten Methans hin. Da Methan aus der Acetat-Fermentation durch  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen -50 ‰ und -70 ‰ charakterisiert ist (WHITICAR et al., 1986), konnte die Methanbildung des Untersuchungsstandortes

Asseler Sand hauptsächlich auf die acetotrophe Methanogenese zurückgeführt werden. Darüber hinaus zeigten die vorliegenden isopenanalytischen Untersuchungen der organischen Substanz für den Profilbereich mit der höchsten Methanbildungsaktivität und den höchsten Acetat-Gehalten die stärkste Anreicherung an schwerem Kohlenstoff (Abb. 5-22), wodurch das Hauptbildungszentrum für Methan in diesem Bereich bestätigt werden konnte.

Im Gegensatz zur Marsch waren die am Untersuchungsstandort Suzhou untersuchten Reisböden durch kulturbedingte Maßnahmen (Reis-Weizen-Fruchtfolge) beeinflusst, die sich deutlich auf den Kohlenstoff-Haushalt der Böden auswirkten. Die Böden waren in den tiefen Horizonten durch Grundwasser geprägt und wiesen im Oberboden aufgrund der tonigen Bodenart deutliche Stauwassermerkmale auf. Grund- und Stauwassereinflüsse verstärkten die saisonal gesteuerten und kulturbedingten Hydromorphiegrade des Bodens. Die Weizenphase war durch abgesenkte Grundwasserstände im Unterboden und im Oberboden durch partiell vorhandene anaerobe Bodenzonen charakterisiert (Abb. 3-10). Es dominierte der aerobe Kohlenstoff-Abbau. In der Reissaison war der Boden oberhalb des Hardpans und in den durch das höher anstehende Grundwasser beeinflussten Horizonten stark reduziert (Abb. 3-11).

Die saisonale Änderung des Wasserregimes spiegelte sich auch in den organischen Kohlenstoff-Gehalten wieder. Am Ende der aeroben Weizensaison war der Kohlenstoff-Gehalt im Unterboden aufgrund des beschleunigten Abbaus unter aeroben Bedingungen deutlich niedriger als am Ende der anaeroben Reissaison. Insgesamt zeigten beide Untersuchungsprofile ganzjährig einen mit der Tiefe abnehmenden Kohlenstoff-Gehalt (Abb. 5-25). Die höchsten Methanbildungsraten wurden unabhängig vom Kohlenstoff-Gehalt in den reduzierten Ober- und Unterbodenhorizonten bestimmt, die auch die höchsten Zellzahlen methanogener Bakterien und die höchsten Gehalte an löslichem organischen Kohlenstoff (DOC) aufwiesen (Abb. 5-5, 5-7). Während des syntrophen Abbaus der organischen Substanz in Reisfeldern treten lösliche organische Komponenten wie Butyrat und Propionat als bedeutende Zwischenprodukte auf (WATANABE, 1984; KRYLOVA et al., 1997). Diese werden letztlich über Acetat und Wasserstoff, den beiden wichtigsten Intermediaten für die Methanbildung in Reisfeldern, zu Methan abgebaut (SCHÜTZ et al., 1989; THOLOZAN et al., 1990). Wie die Ergebnisse beider Standorte belegen, ist daher nicht der absolute Gehalt an organischem Kohlenstoff, sondern das Vorhandensein leichtverfügbarer Substrate für das Ausmaß der Methanogenese bestimmend.

Die isopenanalytischen Untersuchungen am Standort Suzhou zeigten, daß neben der oberflächennahen Hauptbildungszone für Methan ein weiteres Zentrum der Methanbildung in den tiefen anaeroben Bodenzonen der Untersuchungsfläche vorhanden war (Abb. 5-26). Dieser Befund korreliert mit den Aktivitätsmessungen. Die  $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der organischen Bodensubstanz aller untersuchten Tiefenprofile spiegeln dabei die langfristigen Prozesse wieder (Abb. 5-27). In allen Horizonten mit Reduktionsmerkmalen war eine deutliche Anreicherung des schweren  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoffs gegenüber dem Mittelwert der Isotopenverhältnisse der am Standort vorkommenden Pflanzen zu erkennen, was auf Methanogenese hinweist. Lediglich in

den Oberbodenhorizonten ließ sich der Effekt der Isotopendiskriminierung im Zuge der Methanogenese anhand der  $\delta^{13}\text{C}$ -Mittelwerte der organischen Substanz nicht deutlich erkennen, da diese durch den ständigen Eintrag an frischer organischer Substanz und ackerbaulicher Maßnahmen („Puddling“) beeinflusst waren. Demgegenüber spiegeln die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des leichtverfügbaren löslichen organischen Kohlenstoffs (DOC) am Ende der anaeroben Reissaison die aktuellen Prozesse wieder und unterstreichen damit die Bedeutung des DOC für die Methanbildung (Abb. 5-27). Der durch Stauwasser reduzierte Oberboden sowie der durch hochanstehendes Grundwasser stark reduzierte Unterboden zeigten für die DOC-Fraktion eine deutliche Anreicherung des  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoffs.

Die Isotopensignaturen des emittierten Methans zeigten für den Untersuchungsstandort Suzhou, daß während der Reissaison ein deutlicher Trend zu leichteren  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten erkennbar ist (BERGAMASCHI, 1997). Die Isotopensignatur des emittierten Methans läßt für den Standort Suzhou den Schluß zu, daß im Laufe der Saison eine Verschiebung von Acetat zu Wasserstoff als Substrat der methanogenen Bakterien stattfindet. Methan aus der Acetat-Fermentation ist dabei stärker an  $^{13}\text{C}$ -Kohlenstoff angereichert als Methan aus der  $\text{CO}_2$ -Reduktion (BURKE et al., 1992; ALPERIN et al., 1993; BLAIR et al., 1993). Dies ist auf die unterschiedlichen Fraktionierungsfaktoren während der acetotrophen und hydrogenotrophen Methanogenese zurückzuführen (FUCHS et al., 1979; KRZYCKI et al., 1987; GELWICKS et al., 1994; BOTZ et al., 1996). Der Wechsel in den Methanbildungspfaden könnte zum einen auf der Verfügbarkeit der verschiedenen methanogenen Substrate beruhen (BERGAMASCHI, 1997) und zum anderen den Einfluß der Temperatur auf die Methanbildungspfade widerspiegeln (vgl. Kap. 6.1).

Um die Dynamik der organischen Bodensubstanz hinsichtlich ihrer Gehalte und ihrer Abbaubarkeit bzw. -stabilität charakterisieren zu können, wurde ein physikalisches Trennverfahren, die Dichtefraktionierung, eingesetzt, da diese Methode nach Qualität und Abbaubarkeit der organischen Substanz trennt und nicht nach chemischen Stoffgruppen (CHRISTENSEN, 1992; CAMBARDELLA & ELLIOTT, 1993). Die klassischen Alkali-Fraktionierungen (HAYES & SWIFT, 1978) sind dagegen nicht geeignet, die Qualität der organischen Substanz hinsichtlich ihrer Verfügbarkeit zu untersuchen, da sie eine Trennung von jüngerem, schneller umsetzbaren und älteren, stabilem Material nicht gewährleisten (STOUT et al., 1981; OADES et al., 1988). Um die Dynamik und unterschiedliche Umsatzaktivität beschreiben zu können, wurden verschiedene „Pool-Modell“ entwickelt (MOLINA et al., 1983; PARTON et al., 1988; WOOPER et al., 1994; METHERELL et al., 1995). PARTON et al. (1988) unterteilten beispielsweise die organische Bodensubstanz in verschiedene Pools mit folgenden Umsatzzeiten: Stoffwechsel-Streu (< 0,5 Jahre), Struktur-Streu (< 3 Jahre), aktiver Vorrat (< 1,5 Jahre), langsamer Vorrat (< 25 Jahre), passiver Vorrat (< 1000 Jahre).

Da der Marschenstandort im Gegensatz zum Reisboden sowohl saisonal als auch tiefenabhängig eine relativ gleichmäßige Verteilung der verschiedenen organischen Fraktionen aufwies (Abb. 5-23), wird die Dynamik der organischen Substanz hinsichtlich ihrer Bedeutung für die

Methanbildung ausschließlich am Beispiel des Untersuchungsstandortes Suzhou dargelegt. Vor allem die Änderung in der Fruchtfolge (Weizen-Reis) und damit einhergehend eine Änderung von aeroben zu anaeroben Verhältnissen hatten Einfluß auf die Dynamik der organischen Bodensubstanz. Saisonale Änderungen in der Bodenfeuchte, der Bodentemperatur und dem Kohlenstoff-Eintrag durch Wurzelexudate und Pflanzenrückstände beeinflussen bekanntermaßen die Biomasse und Aktivität von Mikroorganismen sowie den Umsatz der organischen Bodensubstanz (ROSS, 1987; FRANZLUEBBERS et al., 1994; WATANABE et al., 1995). Der Einfluß einer Nutzungsänderung sowie Unterschiede im Eintrag an organischer Substanz machen sich dabei in der leichten Fraktion am deutlichsten bemerkbar (TIESSEN & STEWART, 1983; JANZEN et al., 1992). Die eigenen Ergebnisse zeigten, daß sich diese Änderung weniger in den Anteilen der leichten Fraktionen am Gesamtgehalt des organischen Kohlenstoffs auswirkten (Tab. 5-12), als vielmehr in ihren Methanbildungspotentialen, die deutliche Unterschiede sowohl zwischen den beiden Vegetationsperioden als auch zwischen den Fraktionen jeder Vegetationsperiode zeigten (Abb. 5-30). Da es in der Literatur gegenwärtig keinerlei Untersuchungen zur Qualität der organischen Substanz in Hinblick auf die Methanbildung gibt, ist eine Interpretation der Ergebnisse schwierig. Nach dem heutigen Kenntnisstand läßt sich jedoch vermuten, daß vor allem die Veränderung in den Abbauwegen der organischen Substanz unter aeroben und anaeroben Bedingungen für die Unterschiede in den Methanbildungspotentialen der beiden Vegetationsperioden verantwortlich sein könnten.

Demgegenüber lassen sich die Unterschiede in den Methanbildungspotentialen der einzelnen Fraktionen einer Vegetationsperiode mit der unterschiedlichen Verfügbarkeit und Abbaustabilität der verschiedenen Fraktionen erklären. Die leichten Fraktionen bestehen hauptsächlich aus Streu- und Wurzelstoffen, die schneller umgesetzt werden können und durch eine geringe Assoziation an Bodenpartikel nur einen minimalen physikalischen Schutz gegenüber biologischen Abbau aufweisen (CHRISTENSEN, 1992; HASSINK, 1995). Entsprechend konnte HASSINK (1994) mit zunehmender Dichte der organischen Substanz eine Verringerung der Abbauraten beobachten. Im Gegensatz dazu belegen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit für die leichte Fraktion ( $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$ ) aus Streu- und Wurzelstoffen in der Weizensaison deutlich geringere Methanbildungsraten als für die Fraktion mit der Dichte  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$  (Abb. 5-30). Dieser Befund kann auf den aeroben Abbau während der Weizensaison zurückgeführt werden, der einen schnellen Umsatz der Polysaccharide bewirkt und daher schwerer abbaubare Substanzen wie beispielsweise Lignine relativ anreichert (MARTIN et al., 1980; MACCARTHY et al., 1990). Insgesamt zeigte die Fraktion mit der Dichte  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$ , die nach BEUDERT (1988) hauptsächlich aus organischer Feinsubstanz und einem geringen Anteil an organo-mineralischen Aggregaten besteht, die höchsten Methanbildungsraten aller untersuchten Fraktionen. Die Fraktion mit der Dichte  $2,0 - 2,4 \text{ g cm}^{-3}$  besteht hingegen überwiegend aus organo-mineralischen Komplexen (BEUDERT, 1988), die einen stärkeren Humifizierungsgrad aufweisen und eine höhere Abbauresistenz bedingen (BALDOCK et al.,

1992; GOLCHIN et al., 1994). Daher zeigte diese Fraktion ein deutlich geringeres Methanbildungspotential als die anderen Fraktionen.

Anhand der Dichtefraktionierung ließ sich erkennen, daß in allen Bodentiefen insbesondere die für die Methanogenese wichtigen leichten Fraktionen (Dichte  $< 1,6 \text{ g cm}^{-3}$  und  $1,6 - 2,0 \text{ g cm}^{-3}$ )

die größten Kohlenstoff-Reserven aufwiesen. Der Kohlenstoff-Gehalt war mit Werten von etwa 20 bis 40 % am höchsten. In der schweren Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) hingegen lagen die Gehalte an organischer Substanz unter 1 % (Tab. 5-12). Dieser Kohlenstoff wurde aufgrund der niedrigen C/N-Verhältnisse (Tab. 5-13), die im Durchschnitt  $< 4$  waren, der mikrobiellen Biomasse zugeordnet (SPARLING et al., 1994).

In den aeroben Phasen der Fruchtfolge während der Weizenkultur, reicherte sich gewichtsbezogen der größte Anteil des organischen Kohlenstoffs in der schwersten Fraktion (Dichte  $> 2,4 \text{ g cm}^{-3}$ ) an (Abb. 5-28). Im Gegensatz dazu war am Ende der Reiskultur auf dem Höhepunkt der anaeroben Verhältnisse der größte Anteil des Kohlenstoffs in der mittleren Fraktion der Dichte 2,0 bis  $2,4 \text{ g cm}^{-3}$  vorhanden, während der Kohlenstoff-Anteil der schwersten Fraktion nur noch einen geringen Anteil aufwies. Dieser Kohlenstoff unterlag offensichtlich Ab-, Um- und Aufbauprozessen besonders unter den anaeroben Bodenverhältnissen.

Neben einer Verschiebung des Kohlenstoffs innerhalb der einzelnen Fraktionen, wurde ein Teil des Kohlenstoffs im Zuge des anaeroben Abbaus der Methanogenese zugeführt. Dies belegen die Ergebnisse der isopenanalytischen Untersuchung der einzelnen Kohlenstoff-Fraktionen (Abb. 5-29). Die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der schwersten Fraktion am Ende der Reissaison zeigten eine deutliche Anreicherung des schweren Kohlenstoffs im Verhältnis zum  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der organischen Bodensubstanz. Am deutlichsten ausgeprägt war dieser Befund in den reduzierten Bereichen des Hardpans (Hardpan 1) und des Gr-Horizontes.

Die Ergebnisse zur Qualität und Dynamik der organischen Substanz zeigen, daß die Methanbildung weitgehend unabhängig vom absoluten Gehalt an organischen Kohlenstoff ist. Herkunft, Qualität und Verweilzeit der verschiedenen Kohlenstoff-Pools kommt daher in Hinblick auf eine Bilanzierung von Methanemissionen eine wesentlich größere Bedeutung zu. Die Ergebnisse verdeutlichen, daß eine bessere Charakterisierung dieser Poolgrößen im Boden in Hinblick auf die Methanbildung und damit auch für die Methanflüsse und -emissionen durch die Differenzierung des organischen Substrates in verschiedene Fraktionen möglich ist. Um eine weitergehende Beurteilung der organischen Substanz in Hinblick auf die Methanogenese zu gewährleisten, erscheint es notwendig, die einzelnen Kohlenstoff-Fraktionen hinsichtlich ihrer stofflichen Zusammensetzung ( $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie) und ihres Alters (AMS-Analysen) zu bewerten.

#### **6.4 Wechselwirkungen der untersuchten Faktoren in hydromorphen Böden und ihre Bedeutung in Hinblick auf globale Klimaveränderungen**

Verschiedene Untersuchungen und Modellrechnungen neuerer Zeit belegen, daß die Zunahme der klimarelevanten Spurengase, insbesondere Kohlendioxid und Methan eine Erwärmung der Erdatmosphäre zur Folge hat. Es wird mit einer Temperaturerhöhung von  $2 \text{ }^\circ\text{C}$  bis zum Ende des nächsten Jahrhunderts gerechnet (PINTO et al., 1993; IPCC, 1994; SCHNEIDER, 1994;



würde ebenfalls zu einer verstärkten Methanbildung unter anaeroben Bedingungen führen. So konnten HEYER et al. (1995) für den ostchinesischen Untersuchungsstandort Suzhou eine Korrelation zwischen der emittierten Methanmenge und der Flutwassertemperatur aufzeigen. Ebenso zeigte GUNDELWEIN (1998) für zwei nordsibirische Tundrenböden, daß die Methanfreisetzung in erster Linie von der Temperatur abhängig ist. Neben direkten Auswirkungen einer Temperaturerhöhung auf die mikrobielle Aktivität sind auch indirekte Effekte zu berücksichtigen. Die vorliegenden eigenen Ergebnisse zeigen beispielsweise, daß im Marschenboden eine Temperaturerhöhung von 5 auf 10 °C zu einer Vervierfachung der Methanbildung führt. Für diesen Untersuchungsstandort wird nach KNOBLAUCH & PFEIFFER (1995a) bei gleicher Temperaturerhöhung die Methanoxidation lediglich um den Faktor 2 gesteigert. In der Folge ergäbe sich durch einen Anstieg der Durchschnittstemperatur ein relativer Anstieg der Methanemission. Ein weiteres Beispiel zeigt (INUBUSHI et al., 1984), daß in saisonal bewässerten Reisböden mit steigender Temperatur eine Beschleunigung der Reduktionsprozesse stattfindet. Dadurch würden die für die Methanogenese notwendigen niedrigen Redoxpotentiale (WANG et al., 1993b) schneller erreicht, was wiederum zu einer Steigerung der Methanbildung und damit auch zur Erhöhung der Methanemission führen würde.

Eine Temperaturerhöhung beeinflusst neben der mikrobiellen Aktivität auch den Bodenwasserhaushalt, der wiederum über die Veränderung im Bodenlufthaushalt den aeroben und anaeroben Abbau der organischen Substanz steuert. Die tatsächlich aus hydromorphen Böden emittierte Methanmenge ist abhängig vom Grundwasserstand und von der Substratversorgung der methanogenen und methanotrophen Bakterien (WHALEN & REEBURGH, 1990; CRILL et al., 1991; KOSCHORREK & CONRAD, 1993; KNOBLAUCH & PFEIFFER, 1995b). Der Bodenwasserhaushalt wird im Zuge einer möglichen Klimaerwärmung sowohl durch Veränderungen im Grundwasserspiegel (Meeresspiegelanstieg, Auftauereignisse im Permafrost) als auch durch vermutlich veränderte Niederschlagsmengen beeinflusst (MAXWELL, 1992; HAWKINS & FREEMAN, 1994). Dies kann je nach Landschaftsform und Relief zu einer Erhöhung (Abb. 6-3a) oder zu einer Verminderung (Abb. 6-3b) der Bodenfeuchte führen.

Für küstennahe Standorte wie dem Unterelberaum (Asseler Sand) oder dem Tai-Hu-Tiefland in Ostchina werden bei einer Temperaturerhöhung Überflutungen und ein Anstieg des Grundwasserspiegels erwartet (HAWKINS & FREEMAN, 1994). Als Folge davon vermindert sich insgesamt der Sauerstoffgehalt der Böden, weil die aeroben Bereiche (Go-Horizonte) an Mächtigkeit abnehmen, während der anaerobe Bodenbereich (Gr-Horizonte) zunimmt (MOORE & ROULET, 1993; ROSLEV & KING, 1996). Der Abbau der organischen Substanz würde infolgedessen verstärkt über den anaeroben Abbau zu Methan verlaufen mit entsprechend erhöhter Methanemission. Gleichzeitig würde durch die Verringerung aerober Bodenzonen die Methanoxidation gemindert werden. PFEIFFER (1997) prognostiziert für den Unterelberaum aufgrund der Änderung in den Sauerstoffverhältnissen und einer Zunahme der Fläche von hydromorphen Böden eine Erhöhung der Methanemission um den Faktor 30.

Damit würde bei einer Temperaturerhöhung die Bedeutung der Marschen für die Methanemission aus natürlichen Feuchtgebieten erheblich steigen. Bereits heute haben diese Böden einen 20%igen Anteil an der globalen Methanemission aus natürlichen Feuchtgebieten. Von noch größerer Bedeutung für den globalen Methankreislauf wäre eine Klimaerwärmung in Hinblick auf die subarktischen und arktischen Tundren, die die größte Gruppe der natürlichen Feuchtgebiete darstellen (BILLINGS, 1987). In den Tundrenböden sind etwa 14 % des globalen Bodenkohlenstoffs gespeichert (POST et al., 1982). Für diese Gebiete werden daher im Zuge einer Klimaerwärmung die tiefgreifendsten Änderungen der Kohlenstoff-Flüsse erwartet (MAXWELL & BARRIE, 1989; MITCHELL et al., 1990; KIRSCHBAUM, 1995). Der Bodenwasserhaushalt der Tundren ist außer von der Niederschlagsmenge vor allem von der Lage der Permafrostfront abhängig, die als ‚Staukörper‘ in diesen Böden wirkt (RIEGER, 1975). Das Auftauen des Permafrostes im Zuge einer Temperaturerhöhung wird in Abhängigkeit vom Relief aufgrund einer verbesserten Drainage der Böden einerseits zu einer verminderten Bodenfeuchte (VAN CLEVE et al., 1981) und andererseits, vor allem in Senken und Tiefebene, zu einem Anstieg der Bodenfeuchte (LASHOF, 1989) führen. Eine Abnahme der Bodenfeuchte erhöht den Sauerstoffanteil im Boden und vermindert den anaeroben Abbau der organischen Substanz (Abb. 6-3b). Als Folge davon nimmt die Methanbildung ab und die Methanoxidation wird erhöht. Unter diesen Bedingungen wird bei verringerter Methanemission der Bodenkohlenstoff im Zuge des aeroben Abbaus verstärkt als Kohlendioxid freigesetzt. Eine Erhöhung der Bodenfeuchte der Tundra würde ebenso wie bei der Marsch zu einer Erhöhung der Methanbildung und infolgedessen zu einer verstärkten Methanfreisetzung führen. Ob diese Gebiete weiterhin Senken für Kohlenstoff bleiben werden oder ob die gespeicherte organische Substanz im Zuge einer Klimaerwärmung verstärkt abgebaut wird, ist bisher unklar. Offen ist auch, ob unter diesen Bedingungen mehr oder weniger Methan bzw. Kohlendioxid emittiert wird (PFEIFFER & HARTMANN, 1995; BECKER, 1997; PFEIFFER et al., 1997; GUNDELWEIN, 1998).

Das ‚Internationale Symposium on Soil - Source and Sink of Greenhouse Gases‘ (MOSIER et al., 1997) machte deutlich, daß über die Quellen des Methans noch große Kenntnisdefizite bestehen. Die erheblichen Unterschiede der Methanemission verschiedener Untersuchungsgebiete werden oft nicht verstanden, weil wenig über die ursächlichen Prozesse und deren Einflußfaktoren bekannt ist. Die Methanbildungsaktivität wird dabei von Parametern wie der Temperatur und dem Grundwasserstand sowie der Aktivität der einzelnen Bakteriengruppen der anaeroben Nahrungskette und den daraus resultierenden Abbauwegen der organischen Substanz bestimmt (vgl. Kap. 2.5 und 6.1). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß die Methanemission aus Böden das Resultat eines komplexen Zusammenspiels zwischen abiotischen Faktoren wie der Temperatur, der Bodenart und der Bodenfeuchte sowie der standortangepaßten methanogenen Mikroflora ist. Standortfaktoren wie beispielsweise die Temperatur oder die Bodenfeuchte (Grundwasserspiegel) stellen wichtige Antriebsgrößen für prozeßorientierte Modelle dar. Dabei nutzen Methanemissionsmodelle, wie das von WALTER et al. (1996) entwickelte Modell ‚zur

Berechnung der Methanfreisetzung aus natürlichen Feuchtgebieten', beispielsweise den Grundwasserstand als Antriebsgröße für die Berechnung der potentiellen Methanbildung. Für diese Kalkulationen wird davon ausgegangen, daß oberhalb des Grundwasserspiegels keine Methanbildung, sondern ausschließlich Methanoxidation stattfindet. Die eigenen Ergebnisse zeigen jedoch, daß methanogene Bakterien aerobe Phasen im Boden überleben und darüber hinaus Methanbildung in Gegenwart von Sauerstoff grundsätzlich möglich ist. Methan wird also auch oberhalb des Grundwasserspiegels in den Gor-Horizonten gebildet. Dieses zusätzlich gebildete Methan muß, auch wenn ein Teil davon vermutlich direkt durch methylorophe Bakterien oxidiert wird, in die Berechnungen einfließen, um diese weiter zu präzisieren. Ferner werden Faktoren wie die Bodenart, die einerseits die Bodenfeuchte und andererseits die Aktivität von Mikroorganismen beeinflusst, bisher gar nicht in den Modellrechnungen berücksichtigt. Wie die Ausführungen zeigen, liefern die vorliegenden Ergebnisse grundlegende Prozeßdaten, die einen Beitrag zur Validierung vorhandener bzw. künftig zu entwickelnder Modelle zur Berechnung der Methanfreisetzung aus Feuchtgebieten leisten.

## 7 Literaturverzeichnis

- AG BODENKUNDE** (1994) Bodenkundliche Kartieranleitung (4.Auflage). E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart.
- ALEF, K.** (1991) *Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie*. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg/Lahn.
- ALPERIN, M.J.; BLAIR, N.E.; ALBERT, D.B. & HOEHLER, T.M.** (1993) The carbon isotope biogeochemistry of methane production in anoxic sediments: 2. Laboratory experiment. In: *Biogeochemistry of global change* (Oremland, R.S., ed.) pp.594-605. Chapman & Hall, London.
- AMARAL, J.A. & KNOWLES, R.** (1994) Methane metabolism in a temperate swamp. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 3945-3951.
- ANASTASI, C.; DOWDING, M. & SIMPSON, V.J.** (1992) Future CH<sub>4</sub> emissions from rice production. *J. Geophys. Res.* 97, 7521-7525.
- ANDRESEN, J.** (1996) Eigenschaften der Feststoff- und Lösungsphase von Aussendeichböden der Unterelbe. *Hamb. Bodenk. Arbeiten* 31.
- ASELMANN, I. & CRUTZEN, J.** (1989) Global distribution of natural freshwater wetlands and rice paddies, their net primary productivity, seasonality and possible methane emissions. *J. Atmospheric Chem.* 8, 307-358.
- ASELMANN, I. & CRUTZEN, J.** (1990) Global inventory of wetlands distribution and seasonality, net primary productivity, and estimated methane emissions. In: *Soils and the greenhouse effect* (Bouwman, A.F., ed.) pp. 441-449. Wiley & Sons, Chichester.
- AUGUSTIN, J.; MERBACH, W.; KÄDING, H.; SCHMIDT, W. & SCHALITZ, G.** (1996) Einfluß der Bewirtschaftung auf die Lachgas- und Methanemission aus entwässerten Niedermoorböden Norddeutschlands. *Landbauforschung Völkenrode* 165, 43-52.
- BACHELET, D. & NEUE, H.-U.** (1993) Methane emission from wetland rice areas of Asia. *Chemosphere* 26, 219-237.
- BADR, O.; PROBERT, S.D. & O'CALLAGHAN, P.W.** (1991) Atmospheric methane: its contribution to global warming. *Appl. Energy* 40, 273-313.
- BALCH, W.E.; SCHOBERTH, S.; TANNER, R.S. & WOLFE, R.S.** (1977) *Acetobacterium* a new genus of hydrogen-oxidizing, carbon dioxide-reducing, anaerobic bacteria. *Intern. J. Syst. Bacteriol.* 27, 355-361.
- BALCH, W.E.; FOX, G.E.; MAGRUM, L.J.; WOESE, C.R. & WOLFE, R.S.** (1979) Methanogens: reevaluation of a unique biological group. *Microbiol. Rev.* 43, 260-296.
- BALDOCK, J.A.; OADES, J.M.; WATERS, A.G.; PENG, X.; VASSALLO, A.M. & WILSON, M.A.** (1992) Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Biogeochem.* 16, 1-42.
- BARKER, H.A.** (1956) Biological fermentation of methane. In: *Bacterial fermentations* (Barker, H.A., ed.) pp. 1-27. John Wiley & Sons, New York

- BAROSS, J.A. & MORITA, R.Y.** (1978) Microbial life at low temperatures: ecological aspects. In: *Microbial life in extreme environments* (Kushner, D.J., ed.) pp. 9-71. Academic Press, London.
- BARTLETT, K.B.; HARRISS, R.C. & SEBACHER, D.J.** (1985) Methane flux from coastal salt marshes. *J. Geophys. Res.* 90, 5710-5720.
- BECKER, H.** (1997) Untersuchungen zur Biomasse typischer Boden-Vegetations-Komplexe von Permafroststandorten des Levinson-Lessing-See-Gebietes / Sibirien. *Diplomarbeit*, Universität Hamburg.
- BELAY, N.; SPARLING, R. & DANIELS, L.** (1986) Relationship of formate to growth and methanogenesis by *Methanococcus thermolithotrophicus* *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 1080-1085.
- BENSTEAD, J.; ARCHER, D.B. & LLOYD, D.** (1991) Formate utilization by members of the genus *Methanobacterium*. *Arch. Microbiol.* 156, 34-37.
- BERGAMASCHI, P.** (1997) Seasonal variations of stable hydrogen and carbon isotope ratios in methane from Chinese rice paddy. *J. Geophys. Res.* 102, 25383-25393.
- BERGAMASCHI, P. & FISCHER, H.** (1996) Messungen der  $^{13}\text{CH}_4/^{12}\text{CH}_4$ - und  $^{12}\text{CH}_3\text{D}/^{12}\text{CH}_4$ -Verhältnisse in Methan aus Reisfeldern (China) mittels Diodenlaserspektroskopie. Abschlußbericht des BMBF-Verbundprojektes Spurenstoffkreisläufe (unveröff.).
- BERGAMASCHI, P. & HARRIS, G.W.** (1995) Measurements of isotope ratios ( $^{13}\text{CH}_4/^{12}\text{CH}_4$ ;  $^{12}\text{CH}_3\text{D}/^{12}\text{CH}_4$ ) in landfill methane using a turnable diode laser absorption spectrometer. *Global Biogeochem. Cycles* 9, 439-447.
- BEUDERT, G.** (1988) Mikromorphologische, naßchemische und  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektroskopische Kennzeichnung der organischen Substanz von Waldhumusprofilen nach Dichtefraktionierung. *Bayreuther Bodenkd. Berichte* 8.
- BILLINGS, W.D.** (1987) Carbon balance of alaskan tundra and taiga ecosystems: past, present and future. *Quaternary Sci. Rev.* 6, 165-177.
- BINGEMER, H.G. & CRUTZEN, P.J.** (1987) The production of methane from solid wastes. *J. Geophys. Res.* 92, 2181-2187.
- BLAIR, N.E. & CARTER JR., W.D.** (1992) The carbon isotope biogeochemistry of acetate from a methanogenic marine sediment. *Geochim. Cosmochim. Acta* 56, 1247-1258.
- BLAIR, N.E.; BOEHME, S.E. & CARTER JR., W.D.** (1993) The carbon isotope biogeochemistry of methane production in anoxic sediments: 1. Field observations. In: *Biogeochemistry of global change* (Oremland, R.S., ed.) pp.574-593. Chapman & Hall, London
- BLAUT, M.** (1994) Metabolism of methanogens. *Antonie van Leeuwenhoek* 66, 187-208.
- BLOTEVOGEL, K.H. & FISCHER, U.** (1989) Transfer of *Methanococcus frisius* to the genus *Methanosarcina* as *Methanosarcina frisia* comb. nov. *Int. Syst. Bacteriol.* 39, 91-92.
- BLOTEVOGEL, K.H.; FISCHER, U. & LÜPKES, K.H.** (1986) *Methanococcus frisius* sp. nov., a new methylotrophic marine methanogen. *Can. J. Microbiol.* 32, 127-131.

- BOGENER, J.; SPOKES, K.; BURTON, E.; SWEENEY, R. & CORONA, V.** (1995) Landfills as atmospheric methane sources and sinks. *Chemosphere* 31, 4110-4130.
- BOONE, D.R. & BRYANT, M.P.** (1980) Propionate-degrading bacterium, *Syntrophobacter wolinii* sp. nov. gen. nov., from methanogenic ecosystems. *Appl. Environm. Microbiol.* 40, 626-632.
- BOONE, D.R. & MAH, R.A.** (1989) Methanogenic archaeobacteria. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Staley, J.T.; Bryant, M.P.; Pfennig, N. & Holt, J.G., eds.), pp. 2173-2216. Williams & Wilkins, Baltimore.
- BOONE, D.R.; WHITMAN, W.B. & ROUVIÈRE, P.** (1993) Diversity and taxonomy of methanogens. In: *Methanogenesis* (Ferry, J.G., ed.), pp. 35-80. Chapman & Hall, London.
- BOTZ, R.; POKOJSKI, H.-D.; SCHMITT, M. & THOMM, M.** (1996) Carbon isotope fractionation during bacterial methanogenesis by CO<sub>2</sub> reduction. *Org. Geochem.* 25, 255-262.
- BOUTTON, T.W.** (1996) Stable carbon isotope ratios of soil organic matter and their use as indicators of vegetation and climate change. In: *Mass spectrometry of soils*. (Boutton, T.W. & Yamasaki, S.I., eds.) pp. 47-82. Marcel Dekker, New York
- BRAUN, M.; MAYER, F. & GOTTSCHALK, G.** (1981) *Clostridium aceticum* (WIERINGA), a microorganism producing acetic acid from molecular hydrogen and carbon dioxide. *Arch. Microbiol.* 128, 288-293.
- BRUNE A., EMERSON D. & BREZNAK J.A.** (1995) The termite gut microflora as an oxygen sink: microelectrode determination of oxygen and pH gradients in guts of lower and higher termites. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 2681-2687.
- BRYANT, M.P. & BOONE, D.R.** (1987) Isolation and characterization of *Methanobacterium formicicum* MF. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 37, 171.
- BRYANT, M.P.; TZENG, S.F.; ROBINSON, J.M. & JOYNER JR., A.E.** (1971) Nutrient requirements of methanogenic bacteria. *Adv. Chem. Ser.* 105, 23-40.
- BRYANT, M.P.; CAMPBELL, L.L.; REDDY, C.A. & CRABILL, M.R.** (1977) Growth of *Desulfovibrio* in lactate or ethanol media low in sulfate in association with H<sub>2</sub>-utilizing methanogenic bacteria. *Appl. Environm. Microbiol.* 33, 1162-1169.
- BURKE JR., R.A.; BARBER, T.R. & SACKETT, W.M.** (1992) Seasonal variations of stable hydrogen and carbon isotope ratios of methane in subtropical freshwater sediments. *Global Biogeochem. Cycles* 6, 125-138.
- CAMBARDELLA, C.A. & ELLIOTT, E.T.** (1993) Methods for physical separation and characterization of soil organic matter fractions. *Geoderma* 56, 449-457.
- CAO, M. & DENT, J.B.** (1995) Modeling methane emissions from rice paddies. *Global Biochem. Cycles* 9, 183-195.
- CAPONE, D.G. & KIENE, R.P.** (1988) Comparison of microbial dynamics in marine and freshwater sediments: Contrasts in anaerobic carbon catabolism. *Limnol. Oceanogr.* 33, 725-749.

- CASPERS, H. (1959) Die Einteilung der Brackwasserregionen in einem Aestuar. *Estratto Dall'Archivio Ozeanografica Limnologia* 11, 155-169.
- CASTRO, M.S.; STEUDLER, P.A. & BOWDEN, R.D. (1995) Factors controlling atmospheric methane consumption by temperate forest soils. *Global Biogeochem. Cycles* 9, 1-10.
- CHAPPELLAZ, J.; BARNOLA, J.M.; RAYNAUD, D.; KOROTKEVICH, Y.S. & LORUIS, C. (1990) Ice-core record of atmospheric methane over the past 160000 years. *Nature* 345, 127-131.
- CHEN, Z.; LI, D.; SHAO, K. & WANG, B. (1993) Features of CH<sub>4</sub> Emission from rice paddy fields in Beijing and Nanjing. *Chemosphere* 26, 239-245.
- CHIN, K.-J. & CONRAD, R. (1995) Intermediary methabolism in methanogenic paddy soil and the influence of temperature. *FEMS Microbiol. Ecol.* 18, 85-102.
- CHRISTENSEN, B.T. (1992) Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates. *Adv. Soil Sci.* 20, 1-90.
- CICERONE, R.J. & OREMLAND, R.S. (1988) Biogeochemical aspects of atmospheric methane *Global Biogeochem. Cycles* 2, 299-327.
- COLEMAN, D.D.; RISATTI, J.B. & SCHOELL, M. (1981) Fractionation of carbon and hydrogen isotopes by methane-oxidizing bacteria. *Geochim. Cosmochim. Acta* 45, 1033-1037.
- CONRAD, R. & WETTER, B. (1990) Influence of temperature on energetics of hydrogen metabolism in homoacetogenic, methanogenic, and other anaerobic bacteria. *Arch. Microbiol.* 155, 94-98.
- CONRAD, R.; PHELPS, T.J. & ZEIKUS, J.G. (1985) Gas metabolism evidence in support of the juxtaposition of hydrogen-producing and methanogenic bacteria in sewage sludge and lake sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 50, 595-601.
- CONRAD, R.; SCHÜTZ, H. & BABEL, M. (1987) Temperature limitation of hydrogen turnover and methanogenesis in anoxic paddy soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 45, 281-289.
- CONRAD, R.; BAK, F.; SEITZ, H.J.; THEBRATH, B.; MAYER, H.-P. & SCHÜTZ, H. (1989) Hydrogen turnover by psychrotrophic homoacetogenic and mesophilic methanogenic bacteria in anoxic paddy soil and lake sediment. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62, 285-294.
- COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.E.; KORBER, D.R. & LAPPIN-SCOTT, H.M. (1995) Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 711-745.
- COSTERTON, J.W.; CHENG, K.-J.; GEESEY, G.G.; LADD, T.I.; NICKEL, J.C.; DASGUPTA, M. & MARRIE, T.J. (1987) Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 41, 435-464.
- CRAIG, H. (1953) The geochemistry of the stable carbon isotopes. *Geochim Cosmochim Acta* 3, 53-92.
- CRAIG, H. & CHOU, C.C. (1982) Methane: the record in the polar ice cores. *Geophys. Res. Lett.* 9, 1221-1224.
- CRILL, P.M.; HARRISS, R.C. & BARTLETT, K.B. (1991) Methane fluxes from terrestrial wetland environments In: *Microbial production and consumption of greenhouse*

*gases: methane, nitrogen oxides, and halomethanes* (Roggers, J.E. & Whitman, W.B., eds.) pp. 91-109. American Society for Microbiology, Washington D.C.

- CRUTZEN, P.J.** (1991) Methane's sinks and sources. *Nature* 350, 380-381.
- CRUTZEN, P.J.** (1994) Global budgets for non-CO<sub>2</sub> greenhouse gases. *Environ. Monitoring Assessment* 31, 1-15.
- CRUTZEN, P.J. & ANDREAE, M.O.** (1990) Biomass burning in the tropics: impact on the atmospheric chemistry and biogeochemical cycles. *Science* 250, 1669-1678.
- CRUTZEN, P.J.; ASELMANN, I. & SEILER, W.** (1986) Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous, and humans. *Tellus* 38, 271-284.
- DE BEER, D.; VAN DEN HEUVEL, J.C. & OTTENGRAF, S.P.P.** (1993) Microelectrode measurement of the activity distribution in nitrifying bacterial aggregates. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 573-579.
- DE BEER, D.; STOODLEY, P.; ROE, F. & LEWANDOWSKI, Z.** (1994) Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transfer. *Biotechnol. Bioeng.* 43, 1131-1138.
- DELAUNE, R.D., PATRICK Jr., W.H., LINDAU, C.W. & SMITH, C.J.** (1990) Nitrous oxide and methane emission from Gulf coast wetlands. *In: Soils and the greenhouse effect.* (Bouwman, A.F., ed.), pp. 497-502. John Wiley and Sons, Chichester.
- DEPPENMEIER, U.; MÜLLER, V. & GOTTSCHALK, G.** (1996) Pathways of energy conservation in methanogenic archaea. *Arch. Microbiol.* 165, 149-163.
- DEUTSCHER NORMENAUSSCHUß** (1977) DIN 19683, Teil 1 und Teil 2. Bodenuntersuchungsverfahren im landwirtschaftlichen Wasserbau, chemische Laboruntersuchungen.
- DEUTSCHER WETTERDIENST** (1979) Das Klima der Bundesrepublik Deutschland. Kartensammlung, Zeitraum 1931 - 1960. Selbstverlag des Deutschen Wetterdienstes, Offenbach am Main.
- DEUTSCHER WETTERDIENST** (1995) Monatlicher Witterungsbericht. 43. Jahrgang, Nummer 1-12, Offenbach am Main.
- DEUTSCHER WETTERDIENST** (1996) Monatlicher Witterungsbericht. 44. Jahrgang, Nummer 1-12, Offenbach am Main.
- DICKINSON, R.E. & CICERONE, R.J.** (1986) Future global warming from atmospheric trace gases. *Nature* 319, 109-115.
- DILLING W. & CYPIONKA H.** (1990) Aerobic respiration in sulfate-reducing bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 71, 123-128.
- DI MARCO, A.A.; BOBIK, T.A. & WOLFE, R.S.** (1990) Unusual coenzymes of methanogenesis. *Ann. Rev. Biochem.* 59, 355-394.
- DOMRÖS, M. & PENG, G.** (1988) The climate of China. Springer-Verlag, New York.
- DUNFIELD, P.; KNOWLES, R.; DUMONT, R. & MOORE, T.R.** (1993) Methane production and consumption in temperate and subarctic peat soils: Response to temperature and pH. *Soil Biol. Biochem.* 25, 321-326.

- EGGEN, R.I.L.** (1994) Regulated gene expression in methanogens. *FEMS Microbiol. Rev.* 15, 251-260.
- EHLERS, J.** (1990) Untersuchung zur Morphodynamik der Vereisung Norddeutschlands unter Berücksichtigung benachbarter Gebiete. Bremer Beiträge zur Geographie und Raumplanung, Band 19.
- EICHLER, B. & SCHINK, B.** (1984) Oxidation of primary aliphatic alcohols by *Acetobacterium carbinolicum* sp. nov., a homoacetogenic anaerob. *Arch. Microbiol.* 140, 147-152.
- FELLER, G.; NARINX, E.; ARPIGNY, J.L.; AITTALEB, M.; BAISE, E.; GENICOT, S. & GERDAY, C.** (1996) Enzymes from psychrophilic organisms. *FEMS Microbiol. Ecol.* 18, 189-202.
- FERRY, J.G.** (1993) Fermentation of Acetat. In: *Methanogenesis* (Ferry, J.G., ed.), pp. 305-334. Chapman & Hall, London.
- FERRY, J.G. & WOLFE, R.S.** (1976) Anaerobic degradation of benzoate to methane by a microbial consortium. *Arch. Microbiol.* 107, 33-40.
- FETZER, S.; BAK, F. & CONRAD, R.** (1993) Sensitivity of methanogenic bacteria from paddy soil to oxygen and desiccation. *FEMS Microbiol. Ecol.* 12, 107-115.
- FINNE, G. & MATCHES, J.R.** (1974) Low-temperature-growing clostridia from marine sediments. *Can. J. Microbiol.* 20, 1639-1645.
- FISCHER, S.M.** (1994) Untersuchungen zum Wasserhaushalt tidebeeinflusster Vorlandsmarschen im Ästuar der Elbe. Elemente - Faktoren - Prozesse. *Hamb. Bodenkd. Arbeiten* 27.
- FLETSCHER, M. & MARSHALL, K.C.** (1983) Are solid surfaces of ecological significance to aquatic bacteria? In: *Advances in microbial ecology* (Marshall, K.C., ed.) Vol. 6, pp. 199-236. Plenum Publishing Corp., New York.
- FRANZLUEBBERS, A.J.; HONS, F.M. & ZUBERER, D.A.** (1994) Seasonal changes in soil microbial biomass and mineralizable C and N in wheat management systems. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1469-1475.
- FRANZMANN, P.D.; LIU, Y.; BALKWILL, D.L. & BOONE, D.R.** (1997) Isolation and characterization of a psychrophilic, H<sub>2</sub>-using methanogen from Ace Lake, Antarctica. Presented at the General Meetings of the American Society for Microbiology.
- FRANZMANN, P.D.; SPRINGER, N.; LUDWIG, W.; DE MACARIO, E.C. & ROHDE, M.** (1992) A methanogenic archaeon from Ace Lake, Antarctica - *Methanococoides burtonii* sp. nov. *Sys. Appl. Microbiol.* 15, 573-581.
- 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.
- FUCHS, G. & STUPPERICH, E.** (1986) Carbon assimilation pathways in archaeobacteria. *System. Appl. Microbiol.* 7, 364-369.
- FUCHS, G.; THAUER, R.; ZIEGLER, H. & STICHLER, W.** (1979) Carbon isotope fractionation by *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Arch. Microbiol.* 120, 135-139.

- GARCIA, J.L.** (1990) Taxonomy and ecology of methanogens. *FEMS Microbiol. Rev.* 87, 297-308.
- GARCIA-PICHEL, F.; PRUFERT-BEBOUT, L. & MUYZER, G.** (1996) Phenotypical and phylogenetic analysis show *Microcoleus chthonoplastes* to be a coherent, cosmopolitan cyanobacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 3284-3291.
- GELWICKS, J.T.; RISATTI, J.B. & HAYES, J.M.** (1989) Carbon isotope effects associated with autotrophic acetogenesis. *Org. Geochem.* 14, 441-446.
- GELWICKS, J.T.; RISATTI, J.B. & HAYES, J.M.** (1994) Carbon isotope effects associated with acetoclastic methanogenesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 467-472.
- GERRITSE J. & GOTTSCHAL J.C.** (1993) Two-membered mixed cultures of methanogenic and aerobic bacteria in O<sub>2</sub>-limited chemostats. *J. Gen. Microbiol.* 139, 1853-1860.
- GERRITSE J., SCHUT F. & GOTTSCHAL J.C.** (1990) Mixed chemostat culture of obligately aerobic and fermentative or methanogenic bacteria grown under oxygen-limiting conditions. *FEMS Microbiol. Lett.* 66, 87-94.
- GERRITSE J., SCHUT F. & GOTTSCHAL J.C.** (1992) Modelling of mixed chemostat cultures of an aerobic bacterium, *Comamonas testosteroni*, and an anaerobic bacterium, *Veillonella alcalescens*: comparison with experimental data. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1466-1476.
- GERUNDT, L.** (1997) Untersuchung zur vegetationsgebundenen Methanfreisetzung in einer Flußmarsch der Unterelbe. *Diplomarbeit*, Universität Hamburg.
- GHIORSE, W.C. & WILSON, J.T.** (1988) Microbial ecology of the terrestrial subsurface. In: *Advances in applied microbiology* (Laskin, A.I., ed.) Vol. 33, pp. 107-172. Academic Press, San Diego.
- GILBERT, D.G.** (1992) SeqApp - a biosequence analysis application. Indiana University, Bloomington.
- GOLCHIN, A.; OADES, J.M.; SKJEMSTAD, J.O. & CLARKE, P.** (1994) Soil structure and carbon cycling. *Aust. J. Soil Res.* 32, 1043-1068.
- GOTTSCHAL J.C. & SZEWZYK R.** (1985) Growth of a facultative anaerobe under oxygen-limiting conditions in pure culture and in co-culture with a sulfate-reducing bacterium. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31, 159-170.
- GOUNOT, A.-M.** (1986) Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. *Experimentia* 42, 1192-1197.
- GROTENHUIS J.T.C., PLUGGE, C.M., STAMS, A.J.M. & ZEHNDER A.J.B.** (1992) Hydrophobicities and electrophoretic mobilities of anaerobic bacterial isolates from methanogenic granular sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1054-1056.
- GUNDELWEIN, A.** (1998) Eigenschaften und Umsetzung der organischen Substanz in nordsibirischen Permafrostböden. *Hamburger Bodenkd. Arbeiten* 37 (in Vorbereitung).
- HARDER, W. & VELDKAMP, H.** (1971) Competition of marine psychrophilic bacteria at low temperatures. *Antonie van Leeuwenhoek* 37, 51-63.

- HARRIS, R.F.** (1981) Effect of water potential on microbial growth and activity. *In: Water potential relations in soil microbiology* (Parr, J.F.; Gardner, W.R. & Elliott, L.F., eds.) pp. 23-96. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- HARRISS, R.; BARTLETT, K.; FROLKING, S. & CRILL, P.** (1993) Methane emissions from northern high-latitude wetlands. *In: Biogeochemistry of global change*, pp. 449-485. Chapman & Hall, New York.
- HASSINK, J.** (1994) Decomposition rate constants of size and density fractions of soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 1631-1635.
- HASSINK, J.** (1995) Density fractions of soil macroorganic matter and microbial biomass as predictors of C and N mineralization. *Soil Biol. Biochem.* 27, 1099-1108.
- HAUSINGER, R.P.; ORME-JOHNSON, W.H. & WALSH, C.** (1985) Factor 390 chromophores: phosphodiester between AMP or GMP and methanogen factor 420. *Biochemistry* 24, 1629-1633.
- HAWKINS, J.E. & FREEMAN, C.** (1994) Rising sea levels - potential effects upon terrestrial greenhouse gas production. *Soil Biol. Biochem.* 26, 325-329.
- HAYES, M.H.B. & SWIFT, R.S.** (1978) The chemistry of soil organic matter colloids. *In: The chemistry of soil constituents* (Greenland, D.J. & Hayes, M.H.B., eds.) pp. 179-320. John Wiley and Sons, New York.
- HEIJNEN C.E., HOK-A-HIN C.H. & VAN VEEN J.A.** (1992) Improvements to the use of bentonite clay as a protective agent increasing survival levels of bacteria introduced into soil. *Soil Biol. Biochem.* 24, 533-538.
- HEIMANN, M.** (1995) Dynamics of the carbon cycle. *Nature* 375, 629-630.
- HERBERT, R.A.** (1986) The ecology and physiology of psychrophilic microorganisms *In: Microbes in extrem environments.* (Herbert, R.A., ed.) pp.1-23. Academic Press, London
- HEYER, J.; BERGER, U. & KOGGE, M.** (1995) Einfluß des Fruchtfolgewechsels auf die Methanemission aus Reisfeldern in China. Zwischenbericht des BMBF-Verbundprojektes Spurenstoffkreisläufe (unveröff.).
- HILPERT, R.; WINTER, J.; HANNES, W. & KANDLER, O.** (1981) The sensitivity of archaeobacteria to antibiotics. *Zentralbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg.* C2, 11-20.
- HUBER, R.; WILHARM, T.; HUBER, D.; TRINCONE, A.; BURGGRAF, S.; KOENIG, H.; RACHEL, R.; ROCKINGER, I.; FRICKE, H. & STETTER, K.O.** (1992) Aquifex pyrophilus new gen., new spec. Represents a novel group of marine hyperthermophilic hydrogen-oxidizing bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 15, 340-351.
- HUNGATE R.E.** (1967) A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. *In: Methods in Microbiology*, Vol 2B (J.R.Norris & D.W Ribbons, eds.), pp. 117-132. Academic Press, New York.
- INUBUSHI, K.; WADA, H. & TAKAI, Y.** (1984) Easily decomposable organic matter in paddy soil. IV. Relationship between reduction process and organic matter decomposition. *Soil Sci. Plant Nutr.* 30, 189-198.

- IPCC - INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE** (1994) Radiative forcing of climate change: the 1994 report of the scientific assessment working group of IPCC, WMO/UNEP. Cambridge University Press, New York.
- ISAKSEN, M.F. & JØRGENSEN, B.B.** (1996) Adaptation of psychrophilic and psychrotrophic sulfate-reducing bacteria to permanently cold marine environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 408-414.
- JANZEN, H.H.; CAMPBELL, C.A.; BRANDT, S.A.; LAFOND, G.P. & TOWNLEY-SMITH, L.** (1992) Light-fraction organic matter in soils from long-term crop rotations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 1799-1806.
- JARRELL, K.F. & KALMOKOFF, M.L.** (1988) Nutritional requirements of the methanogenic archaeobacteria. *Can. J. Microbiol.* 34, 557-576.
- JONES, J.G. & SIMON, B.M.** (1985) Interaction of acetogens and methanogens in anaerobic freshwater sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 944-948.
- JONES, W.J.; NAGLE JR., D.P. & WHITMAN, W.B.** (1987) Methanogens and the diversity of archaeobacteria. *Microbiol. Rev.* 51, 135-177.
- JØRGENSEN, B.B.** (1977) Bacterial sulfate reduction within reduced microniches of oxidized marine sediments. *Mar. Biol.* 41, 7-17.
- KATO, M.T.; FIELD, J.A. & LETTINGA, G.** (1993) High tolerance of methanogens in granular sludge to oxygen. *Biotech. Bioeng.* 42, 1360-1366.
- KEELING, C.D.; WHORF, T.P.; WHALEN, M. & VAN DER PFLICHT, J.** (1995) Interannual extremes in the rate of rise of atmospheric carbon dioxide since 1980. *Nature* 375, 666-670.
- KEILHACK, K.** (1898) Die Entwicklung der glacialen Hydrographie Nord-Deutschlands. *Zeitschr. Deutsch. Geol. Ges., Verhandl.* 77-83.
- KELLY, C.A. & CHYNOWETH, D.P.** (1981) The contribution of temperature and of the input of organic matter in controlling rates of sediment methanogenesis. *Limnol. Oceanogr.* 26, 891-897.
- KENGEN, S.W.M., VAN DEN HOFF, H.W., KELTJENS, J.T., VAN DEN DRIFT, C. & Vogels, G.D.** (1991) Hydrolysis and reduction of factor 390 by cell extracts of *Methanobacterium thermoautotrophicum* (strain  $\Delta$ H). *J. Bacteriol.* 173, 2283-2288.
- KERR, R.** (1994) Did Pinatubo send climate-warming gases into a dither? *Science* 263, 1562-1564.
- KHALIL, M.A.K. & RASMUSSEN, R.A.** (1993) Decreasing trend of methane: unpredictability of future concentrations. *Chemosphere* 26, 803-814.
- KHALIL, M.A.K. & SHEARER, M.J.** (1993) Sources of methane: an overview In: *Atmospheric methane: sources, sinks, and role in global change* (Khalil, M.A.K., ed.) pp. 180-198. Springer Verlag, Berlin
- KIENER, A. & LEISINGER, T.** (1983) Oxygen sensitivity of methanogenic bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 4, 305-312.

- KIENER, A.; ORME-JOHNSON, W.H. & WALSH, C.T.** (1988) Reversible conversion of coenzyme F<sub>420</sub> to the 8-OH-AMP and 8-OH-GMP esters, F<sub>390</sub>-A and F<sub>390</sub>-G, on oxygen exposure and reestablishment of anaerobiosis in *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Arch. Microbiol.* 150, 249-253.
- KING, G.M. & KLUG, M.J.** (1982) Glucose metabolism in sediments of a eutrophic lake: tracer analysis of uptake and product formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 44, 1308-1317.
- KIRBY, T.W.; LANCASTER, J.R. & FRIDOVICH, I.** (1981) Isolation and characterization of the iron-containing superoxide dismutase of *Methanobacterium bryantii*. *Arch. Biochem. Biophys.* 210, 140-148.
- KIRSCHBAUM, M.U.F.** (1995) The temperature dependence of soil organic matter decomposition, and the effect of global warming on soil organic storage. *Soil Biol. Biochem.* 27, 753-760.
- KLEMP, R.; CYPIONKA, H.; WIDDEL, F. & PFENNIG, N.** (1985) Growth with hydrogen, and further physiological characteristics of *Desulfotomaculum* species. *Arch. Microbiol.* 143, 203-208.
- KNOBLAUCH, C.** (1994) Bodenkundlich-mikrobiologische Bestandsaufnahme zur Methanoxidation in einer Flußmarsch der Tide-Elbe. *Diplomarbeit*, Universität Hamburg.
- KNOBLAUCH, C. & PFEIFFER, E.-M.** (1995a) Einfluß des Wassergehaltes auf die Methanoxidation in einer Flußmarsch der Unterelbe. *Mitteil. Deutschen Bodenk. Gesellsch.* 76, 521-524.
- KNOBLAUCH, C. & PFEIFFER, E.-M.** (1995b) Untersuchungen zum Einfluß der Temperatur und des Wassergehaltes auf die Methanoxidation in einer Flußmarsch der Unterelbe. *Hamburger Bodenk. Arbeiten* 30, 103-112.
- KÖGEL, I.** (1987) Organische Stoffgruppen in Waldhumusformen und ihr Verhalten während der Streuzersetzung und Humifizierung. *Bayreuther Bodenk. Berichte* 1.
- KÖNIG, H. & STETTER, K.O.** (1982) Isolation and characterization of *Methanobacterium tindarius* sp. nov., a coccoid methanogen growing only on methanol and methylamines. *Zentralbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten, Hygiene, Abteilung C* 3, 478-490.
- KOSCHORRECK, M. & CONRAD, R.** (1993) Oxidation of atmospheric methane in soil: measurements in the field, in soil cores and in soil samples. *Global Biogeochem. Cycles* 7, 109-121.
- KOTSYURBENKO, O.R.; NOZHEVNIKOVA, A.N. & ZAVARZIN, G.A.** (1993) Methanogenic degradation of organic matter by anaerobic bacteria at low temperature. *Chemosphere* 27, 1745-1761.
- KOTSYURBENKO, O.R.; NOZHEVNIKOVA, A.N.; SOLOVIOVA, T.I. & ZAVARZIN, G.A.** (1996) Methanogenesis at low temperatures by microflora of tundra wetland soil. *Antonie van Leeuwenhoek* 69, 75-86.

- KOTSYURBENKO, O.R.; SIMANKOVA, M.V.; NOZHEVNIKOVA, A.N.; ZHILINA, T.N.; BOLOTINA, N.P.; LYSENKO A.M. & OSIPOV, G.A.** (1995) New species of psychrophilic acetogens: *Acetobacterium bakii* sp. nov. , *A. paludosum* sp. nov., *A. fimetarium* sp. nov. *Arch. Microbiol.* 163, 29-34.
- KÖTTER, F.** (1961) Die Pflanzengesellschaften im Tidegebiet der Unterelbe. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* 26, 106-185.
- KOYAMA, T.** (1976) Vertical profile of microbiological decomposition rate for organic matter in lake sediments from the viewpoint of methane fermentation. *Geochemical J.* 10, 97-102.
- KRUMBEIN, W.** (1966) Zur Frage der Gesteinszerstörung. *Dissertation*, Universität Würzburg.
- KRUMBIEGEL, P.** (1970) *Isotopieeffekte*. Akademie-Verlag, Berlin.
- KRUMBÖCK, M. & CONRAD, R.** (1991) Metabolism of position-labelled glucose in anoxic methanogenic paddy soil and lake sediment. *FEMS Microbiol. Ecol.* 85, 247-256.
- KRYLOVA, N.I.; JANSSEN, P.H. & CONRAD, R.** (1997) Turnover of propionate in methanogenic paddy soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 23, 107-117.
- KRZYCKI, J.A.; KENEALY W.R.; DENIRO, M.J. & ZEIKUS J.G.** (1987) Stable carbon isotope fractionation by *Methanosarcina barkeri* during methanogenesis from acetate, methanol, or carbon dioxide-hydrogen. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2597-2599.
- KUDO, Y.; NAKAJIMA, T.; MIYAKI, T. & OYAZU, H.** (1997) Methanogen flora of paddy soils in Japan. *FEMS Microbiol Ecol.* 22, 39-48.
- KURR, M.; HUBER, R.; KÖNIG, H.; JANNASCH, J.W.; FRICKE, H.; TRINCONE, A.; KRISTJANSSON, J.K. & STETTER, K.O.** (1991) *Methanopyrus kandleri*, gen. nov. and sp. nov. represents a novel group of hyperthermophilic methanogens, growing at 110°C. *Arch. Microbiol.* 156, 239-247.
- KUBMAUL, M.; GRÖNGRÖFT, A. & KÖTHE, H.** (1997) Emission of porewater compounds and gases from subaquatic sediment disposal site Rodewischhafen, Hamburg harbour. *Terra et Aqua* 69, 14-19.
- KVENVOLDEN, K.A.** (1988) Methane hydrate - a major reservoir of carbon in the shallow geosphere? *Chem. Geology* 71, 41-51.
- LACIS, A.; HANSEN, G.; LEE, P.; MICHELL, T. & LEBEDEFF, S.** (1981) Greenhouse effect of trace gases. 1970-1980. *Geophys. Res. Lett.* 8, 1035-1038.
- LASHOF, D.A.** (1989) The dynamic greenhouse: feedback processes that may influence future concentrations of atmospheric trace gases and climate change. *Climatic Change* 14, 213-242.
- LEE, M.J. & ZINDER, S.H.** (1988) Isolation and characterization of a thermophilic bacterium which oxidizes acetate in syntrophic association with a methanogen and which grows acetogenically on H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 124-129.
- LELIEVELD, J.; CRUTZEN, P.J. & BRÜHL, C.** (1993) Climate effects of atmospheric methane. *Chemosphere* 26, 739-768.

- LINTON, J.D.; HARRISON, D.E.F. & BULL, A.T. (1975) Molar growth yields, respiration and cytochrome patterns of *Beneckea natriegens* when grown on different medium dissolved-oxygen tensions. *J. Gen. Microbiol.* 90, 237-246.
- LIPSON, S.M. & STOTZKY, G. (1983) Adsorption of reovirus to clay minerals: effects of cation exchange capacity, cation saturation, and surface area. *Appl. Environ. Microbiol.* 46, 673-682.
- LOVLEY, D.R. & KLUG, M.J. (1982) Intermediary metabolism of organik matter in the sediments of a eutrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 552-560.
- LOWE, D.C.; BRENNINKMEIJER, C.A.M.; BRAILSFOD, G.W.; LASSEY, K.R.; GOMEZ, A.J. & NISBET, E.G. (1994) Concentration and <sup>13</sup>C records of atmospheric methane in New Zealand and Antarctica: evidence for changes in methane sources. *J. Geophys. Res.* 99, 16913-16925.
- MACCARTHY, P.; BLOOM, P.R.; CLAPP, C.E. & MALCOLM, R.L. (1990) Humic substances in soil and crop sciences: an overview. In: *Humic substances in soil and crop sciences: Selected readings* (MacCarthy, P.; Clapp, C.E.; Malcolm, R.L. & Bloom, P.R., eds.) pp.261-271. American Society of Agronomy, Madison
- MACURA, J. & STOTZKY, G. (1980) Effect of montmorillonite and kaolinite on nitrification in soil. *Folia Microbiol.* 25, 90-105.
- MAH, R.A. (1980) Isolation and characterization of *Methanococcus mazei*. *Current Microbiol.* 3, 321-326.
- MAH, R.A. (1982) Methanogenesis and methanogenic partnerships. *Phil. Trans. Royal. Soc. Lond.* B297, 599-616.
- MAIDAK, B.L.; OLSEN, G.J.; LARSEN, N.; OVERBEEK, R.; MCCAUGHEY, M.J. & WOESE, C.R. (1997) The RDP (Ribosomal Database Project). *Nucleic Acids Res.* 25, 109-110.
- MAKOGON, Y.F. (1997) Hydrates of Hydrocarbons. Pennwell Publishing Company, Tulsa, Oklahoma.
- MARSCHALL, C.; FRENZEL, P. & CYPIONKA, H. (1993) Influence of oxygen on sulfate reduction and growth of sulfate-reducing bacteria. *Arch. Microbiol.* 159, 168-173.
- MARTIN, J.P.; HAIDER, K. & KASSIM, G. (1980) Biodegradation and stabilization after 2 years of specific crop, lignin, and polysaccharide carbons in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44, 1250-1255.
- MATTHEWS, E. & FUNG, I. (1987) Methane emission from natural wetlands: global distribution, area, and environmental characteristics of sources. *Global Biogeochem. Cycles* 1, 61-86.
- MAUCH, S. (1997) Untersuchung zur Verteilung und Fraktionierung der organischen Substanz zweier Flußmarschenstandorte (Grünland und Schilfgürtel) im Unterelberaum in Beziehung zur Methanbildung. Diplomarbeit, Universität Hamburg.
- MAXWELL, J.B. (1992) Artic climate: potential for change under global warming. In: *Artic ecosystems in a changing climate* (Chapin, F.S. III; Jefferies, R.L.; Reynolds, J.F.; Shaver, G.R.; Svoboda, J. & Chu, E.W., eds) pp. 11-34. Academic Press, San Diego.

- MAXWELL, J.B. & BARRIE, L.A.** (1989) Atmospheric and climate change in the Arctic and Antarctic. *Ambio* 18, 42-49.
- MAYER, H.-P. & CONRAD, R.** (1990) Factors influencing the population of methanogenic bacteria and the initiation of methane production upon flooding of paddy soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 73, 103-112.
- MCINERNEY, M.J.; BRYANT, M.P. & PFENNIG, N.** (1979) Anaerobic bacterium that degrades fatty acids in syntrophic association with methanogens. *Arch. Microbiol.* 132, 129-135.
- MCINERNEY, M.J.; BRYANT, M.P.; HESPELL, R.B. & COSTERTON, J.W.** (1981) *Syntrophomonas wolfei* gen. nov. sp. nov., an anaerobic, syntrophic, fatty acid-oxidizing bacterium. *Appl. Environm. Microbiol.* 41, 1029-1039.
- MEILE, L.; FISCHER, K. & LEISINGER, T.** (1995) Characterization of the superoxide dismutase gene and its upstream region from *Methanobacterium thermoautotrophicum* Marburg. *FEMS Microbiol. Lett.* 128, 247-253.
- METHERELL, A.K.; CAMBARDELLA, C.A.; PARTON, W.J.; PETERSON, G.A.; HARDING, L.A. & COLE, C.V.** (1995) Simulation of organic matter dynamics in dryland wheat-fallow cropping systems. In: *Soil management and greenhouse effect* (Lal, R.; Kimble, J.; Levine, E. & Stewart, B.A., eds.) pp.259-270. CRC Press, Inc.
- MEYNEN, E. & SCHMITHÜSEN, J.** (1965) Handbuch der naturräumlichen Gliederung Deutschlands. Veröff. d. Inst. f. Landeskunde u. d. Dtsch. Inst. f. Länderkunde. Selbstverlag d. Bundesanst. f. Landeskunde u. Raumforschung, Bad Godesberg.
- MIGEOTTE, M.V.** (1948) Spectroscopic evidence of methane in the earth's atmosphere. *Phys. Rev.* 73, 519-520.
- MILLER, T.L. & WOLIN, M.J.** (1985) *Methaospaera stadtmanii*, gen. nov., sp. nov.: a species that forms methane by reducing methanol with hydrogen. *Arch. Microbiol.* 141, 116-122.
- MINAMI, K. & NEUE, H.U.** (1994) Rice paddies as a methane source. *Climatic Change* 27, 13-26.
- MITCHELL, J.F.B.; MANABE, S.; TOKIOKA, T & MELESKO, V.** (1990) Equilibrium climate change and its implications for the future. In: *Climate change* (Houghton, J.T.; Jenkins, G.J. & Ephraums, J.J., eds.) pp. 131-172. Cambridge University Press, Cambridge.
- MITSCH, W.J. & WU, X.** (1995) Wetlands and global change In: *Soil management and greenhouse effect* (Lal, R.; Kimble, J.; Levine, E. & Stewart, B.A., eds.) pp. 205-230. Lewis Publishers, Boca Raton.
- MOLINA, J.A.E.; CLAPP, C.E.; SHAFFER, M.J.; CHICHESTER, F.W. & LARSON, W.E.** (1983) NCSOIL, a model of nitrogen and carbon transformations in soil: description, calibration and behavior. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47, 85-91.
- MOORE, T.R. & ROULET, N.T.** (1993) Methane flux: water table relations in northern wetlands. *Geophys. Res. Lett.* 20, 587-590.
- MORITA, R.Y.** (1975) Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 39, 144-167.

- MORITA, R.Y.** (1992) Low-temperature environments. *In: Encyclopedia of Microbiology* (Lederberg, J., ed.) pp.625-637. Academic Press, San Diego
- MOSIER, A.R.; INUBUSHI, K.; REICOSKY, D.C.; WILLISON, T.W.; XING, G.X. & YAGI, K.**, eds.(1997) Proceedings of the International Symposium on „Soil-Source and Sink of Greenhouse Gases“, September 1995, Nanjing, China. *Nutrient Cycling Agroecosys.* 49, 1-299.
- MOUNTFORT, D.L. & BRYANT, M.P.** (1982) Isolation and characterization of an anaerobic syntrophic benzoate-degrading bacterium from sewage sludge. *Arch. Microbiol.* 133, 249-256.
- MUNSELL** (1975) Soil color chart. Kollmogen Corporation, Baltimore.
- MURASE, J.; KIMURA, M. & KUWATSUKA, S.** (1993) Methane production and its fate in paddy fields. III. Effects of percolation on methane flux distribution to the atmosphere and the subsoil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 39, 63-70.
- MUYZER, G.; TESKE, A.; WIRSEN, C.O. & JANNASCH, H.W.** (1995) Phylogenetic relationships of *Thiomicrospira* species and their identification in deep-sea hydrothermal vent samples by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rRNA fragments. *Arch. Microbiol.* 164, 165-172.
- NAKAMURA, K.; TAKAI, Y. & WADA, E.** (1990) Carbon isotopes of soil gases and related organic matter in an agroecosystem with special reference to paddy field. *In: Geochemistry of gaseous elements and compounds* (Durrance, E.M.; Galimov, E.M.; Hinkle, M.E.; Reimer, G.M.; Sugisaki, R. & Augustithis, S.S., eds.), pp. 455-484. Theophrastus Publications.
- NAKAYAMA, T.** (1995) Estimation of methane emission from natural wetlands in Siberian permafrost area. *Dissertation*, Universität Hokkaido.
- NEDWELL, D.B.** (1984) The input and mineralization of organic carbon in anaerobic aquatic sediments. *Adv. Microbial Ecol.* 7, 93-131.
- NEDWELL, D.B. & RUTTER, M.** (1994) Influence of temperature on growth rate and competition between two psychrotolerant antarctic bacteria: low temperature diminishes affinity for substrate uptake. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 1984-1992.
- NEUE, H.U.** (1993) Methane emission from rice fields. *Bio Sci.* 43, 466-473.
- NEUE, H.U.; ZISKA, L.H.; MATTHEWS, R.B. & DAI, Q.** (1995) Reducing global warming - the role of rice. *Geo J.* 35, 351-362.
- NOZHEVNIKOVA, A.N.; KOTSYURBENKO, O.R. & SIMANKOVA, M.V.** (1994) Acetogenesis at low temperature. *In: Acetogenesis* (Drake, H.L., ed.) pp. 416-431. Chapman & Hall, New York
- NUGROHO, S.G.; LUMBANRAJA, J.; SUPRAPTO, H.; SUNYOTO; ARDJASA, W.S.; HARAGUCHI, H. & KIMURA, M.** (1994) Methane emission from an Indonesian paddy field subjected to several fertilizer treatments. *Soil Sci. Plant Nutr.* 40, 275-281.

- OADES, J.M., WATERS, A.G.; VASSALLO, A.M.; WILSON, M.A. & JONES, G.P.** (1988) Influence of management on the composition of organic matter in a red-brown earth as shown by  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance. *Aust. J. Soil Res.* 26, 289-299.
- OMELCHENKO, M.V.; VASILYEVA, L.V. & ZAVARZIN, G.A.** (1993) Psychrophilic methanotroph from tundra soil. *Current Microbiol.* 27, 255-259.
- OREMLAND, R.S. & CULBERTSON, C.W.** (1992) Importance of methane-oxidizing bacteria in the methane budget as revealed by the use of a specific inhibitor. *Nature* 356, 421-423.
- PANGANIBAN, A.T.; PATT, T.E.; HART, W. & HANSON, R.S.** (1979) Oxidation of methane in the absence of oxygen in lake water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 303-309.
- PARTON, W.J.; STEWART, J.W.B. & COLE, C.V.** (1988) Dynamics of C, N, P and S in grassland soils: a model. *Biogeochem.* 5, 109-131.
- PENG, S.; INGRAM, K.T.; NEUE, H.-U. & ZISKA, L.H.** (1995) Climate change and rice. Springer-Verlag, Berlin.
- PETERS, V. & CONRAD, R.** (1995) Methanogenic and other strictly anaerobic bacteria in desert soil and other oxic soils *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 1673-1676.
- PFEIFFER, E.-M.** (1993) Methanbildung und -emission aus Marschen und Mooren. *Mitteil. Dt. Bodenkundl. Gesellschaft* 72, 421-424.
- PFEIFFER, E.-M.** (1994a) Methane fluxes in natural wetlands (Marsh and Moor) in Northern Germany. *Current Topics Wetland Biogeochem.* 1, 36-47.
- PFEIFFER, E.-M.** (1994b)  $\delta^{13}\text{C}$ -Analysis of soil carbon and its relation to methane production in freshwater marshes of the Elbe river, Northern Germany. In: Soil processes and greenhouse effect (Lal, R.; Kimble, J.M. & Levine, E., eds.) pp. 46-54. USDA, Soil Conservation Service.
- PFEIFFER, E.-M.** (1997) Methanfreisetzung aus hydromorphen Böden verschiedener naturnaher und genutzter Feuchtgebiete (Marsch, Moor, Tundra, Reisanbau). *Habilitationsschrift*, Universität Hamburg.
- PFEIFFER, E.-M. & HARTMANN, J.** (1995) Characterization of organic matter in permafrost-affected soils. *Polar Res.* 175, 36-41.
- PFEIFFER, E.-M.; GUNDELWEIN, A.; NÖTHEN, T.; BECKER, H. & GUGGENBERGER, G.** (1996) Characterization of organic matter in permafrost soils and sediments. *Polar Research* 211, 46-63.
- PFEIFFER, E.-M.; GUNDELWEIN, A.; BECKER, H. & MÜLLER-LUPP, T.** (1997) Soil organic matter (SOM) studies at Taimyr Peninsula. *Polar Res.* 237.
- PFISTERER, U. & GRIBBOHM, S.C.** (1989) Zur Herstellung von Platinelektroden für Redoxmessungen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* 152, 455-456.
- PINTO, J.P.; BRÜHL, C.H. & THOMPSON, A.M.** (1993) The current and future environmental role of atmospheric methane: model studies and uncertainties In: Atmospheric methane: sources, sinks, and role in global change (Khalil, M.A.K., ed.) pp.514-531. Springer Verlag, Berlin

- POST, W.M.; EMANUEL, W.R.; ZINKE, P.J. & STANGENBERGER, A.G.** (1982) Soil carbon pools and world life zones. *Nature* 298, 156-159.
- RAJAGOPAL, B.S.; BELAY, N. & DANIELS, L.** (1988) Isolation and characterization of methanogenic bacteria from rice paddies. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53, 153-158.
- REVSBECH, N.P. & WARD, D.M.** (1984) Microelectrode studies of interstitial water chemistry and photosynthetic activity in a hot spring microbial mat. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 270-275.
- REVSBECH, N.P.; SØRENSEN, J.; BLACKBURN, T.M. & LOMHOLT, J.P.** (1979) Distribution of oxygen in marine sediments measured with a microelectrode. *Limnol. Oceanogr.* 25, 403-411.
- REYNOLDS, E.S.** (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17, 208-212.
- RICHARDS, L.A. & FIREMAN, M.** (1943) Pressure plate apparatus for measuring moisture sorption and transmission by soils. *Soil Sci.* 56, 395-404.
- RICHTER, M.; MIZUNO, I.; ARANGUEZ, S. & URIARTE, S.** (1975) Densimetric fractionation of soil organo-mineral complexes. *J. Soil Sci.* 26, 112-123.
- RIEGER, S.** (1975) Arctic soils. *In: Arctic and alpine environments* (Ives, J.D. & Barry, R.G., eds.) pp. 749-769. Methuen, London.
- RODHE, H.** (1990) A comparison of the contribution of various gases to the greenhouse effect. *Science* 248, 1217-1219.
- ROSENFELD, W.D. & SILVERMAN, S.R.** (1959) Carbon isotope fractionation in bacterial production of methane. *Science* 130, 1658-1659.
- ROSLEV, P. & KING, G.M.** (1996) Regulation of methane oxidation in a freshwater wetland by water table changes and anoxia. *FEMS Microbiol. Ecol.* 19, 105-115.
- ROSS, D.J.** (1987) Soil microbial biomass estimated by the fumigation-incubation procedure: seasonal fluctuations and influence of soil moisture content. *Soil Biol. Biochem.* 19, 397-404.
- ROUVIÈRE, P.E.; MANDELCO, L.C. & WOESE, C.R.** (1991) Phylogenetic analysis of methanogenic bacteria. *In: Microbiology and biochemistry of strict anaerobes involved in interspecies hydrogen transfer* (Bélaïch, J.P.; Bruschi, M. & Garcia, J.L., eds.), pp. 467. Plenum Press, New York.
- ROWELL, D.L.** (1994) *Bodenkunde - Untersuchungsmethoden und ihre Anwendung.* Springer-Verlag, Berlin.
- SABATINI, D.D.; BENSCH, K. & BARNETT, R.J.** (1963) Cytochemistry and electron microscopy of the preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyd fixation. *J. Cell Biol.* 17, 19-58.
- SAITOU, N. & NEI, M.** (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Bio. Evol.* 4, 406-425.

- SASS, R.L.; FISHER, F.M.; HARCUMBE, P.A. & TURNER, F.T.** (1991) Mitigation of methane emissions from rice fields: possible adverse effects of incorporated rice straw. *Global Biogeochem. Cycles* 5, 275-287.
- SCHARPENSEEL, H.W.** (1997) Preface to workshop 'Management of carbon in tropical soils under global change: science, practice and policy'. *Geoderma* 79, 1-8.
- SCHARPENSEEL, H.W. & NEUE, H.U.** (1984) Use of isotopes in studying the dynamics of organic matter in soils. In: *Organic matter and rice* (International Rice Research Institute), pp.273-310. IRRI Publ., Manila.
- SCHARPENSEEL, H.W. & PFEIFFER, E.-M.** (1995) Carbon Cycle in the pedosphere In: *Proceedings of the Tsukuba global carbon cycle workshop - global environment Tsukuba '95*. pp. 146-160. National Institute for Environmental Studies, Environment Agency of Japan
- SCHARPENSEEL, H.W.; PFEIFFER, E.-M. & BECKER-HEIDMANN, P.** (1996) Organic carbon storage in tropical hydromorphic soils In: *Structure and organic matter storage in agricultural soils* (Carter, M.R. & Stewart, B.A., eds.) pp. 361-392. Lewis Publishers, Boca Raton
- SCHINK, B.** (1992) Syntrophism among prokaryotes. In: *The Prokaryotes* (Balows, A.; Trüper, H.G.; Dworkin, M.; Harder, W. & Schleifer, K.H., eds.), pp. 276-299. Springer-Verlag, New York.
- SCHINK, B. & ZEIKUS, J.G.** (1982) Microbial ecology of pectin decomposition in anoxic lake sediments. *J. General Microbiol.* 128, 393-404.
- SCHMIDT-NIELSEN, S.** (1902) Über einige psychrophile Mikroorganismen und ihr Vorkommen. *Zentr. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionsk. Hyg. Abt. II* 9, 145-147.
- SCHNEIDER, S.H.** (1994) Detecting climatic change signals: are there any "fingerprints"? *Science* 263, 341-347.
- SCHNITZER, M.** (1991) Soil organic matter - the next 75 years. *Soil Science* 151, 41-58.
- SCHRICKER, K.** (1996) Mikrobielle Aktivitäten und Populationen in Abhängigkeit vom Wasserpotential und anderen Bodenparametern. *Bayreuther Forum Ökologie* 34, 1-191.
- SCHULZ, S. & CONRAD, R.** (1995) Effect of algal deposition on acetate and methane concentrations in the profundal sediment of a deep lake (Lake Constance) *FEMS Microbiol. Ecol.* 16, 251-260.
- SCHULZ, S. & CONRAD, R.** (1996) Influence of temperature on pathways to methane production in the permanently cold profundal sediment of Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.* 20, 1-14.
- SCHULZ, S.; MATSUYAMA, H. & CONRAD, R.** (1997) Temperature dependence of methane production from different precursors in a profundal sediment (Lake Constance). *FEMS Microbiol. Ecol.* 22, 207-213.
- SCHÜTZ, H.; SEILER, W. & CONRAD, R.** (1989) Processes involved in formation and emission of methane in rice paddies. *Biogeochem.* 7, 33-53.

- SHIRLEY** (1667) in: Dr. Otto-Albrecht Neumüller (Hrsg.), Römpps Chemie-Lexikon, Bd.4, Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 1987.
- SIEBERT, M.L. & HATTINGH, W.H.J.** (1967) Estimation of methane producing bacterial numbers by the most probable number (MPN) technique. *Water Res.* 1, 13-19.
- SIEBURTH, J. McN.; JOHNSON, P.W.; MACARIO, A.J.L. & de MACARIO, E.C.** (1993) C<sub>1</sub> bacteria in the water column of Chesapeake Bay, USA. II.: The dominant O<sub>2</sub>- and H<sub>2</sub>-tolerant methylotrophic methanogens, coenriched with their oxidative and sulphate reducing bacterial consorts, are all new immunotypes and probably include new taxa. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 95, 81-89.
- SMITH, M.R.; ZINDER, S.H. & MAH, R.A.** (1980) Microbial methanogenesis from acetate. *Proc. Biochem.* 15, 34-39.
- SOIL SURVEY STAFF** (1992) Keys to soil taxonomy (Fifth Edition). U.S. Department of Agriculture, Soil Conservation Service. Pocahontas Press, Blacksburg.
- SPARLING, G.P.; BRANDENBURG, S.A. & ZHU, C.** (1994) Microbial C and N in revegetated wheatbelt soils in western Australia: estimation in soil, humus and leaf-litter using the ninhydrin method. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1179-1184.
- SPROTT, G.D. & BEVERIDGE, T.J.** (1993) Microscopy. In: *Methanogenesis* (Ferry, J.G., ed.), pp. 81-127. Chapman & Hall, London.
- STAMS, A.J.M.** (1994) Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments. *Antonie van Leeuwenhoek* 66, 271-294.
- STARK, J.M. & FIRESTONE, M.K.** (1995) Mechanisms for soil moisture effects on activity of nitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 218-221.
- STEELE, L.P.; DLUGOKENCKY, E.J.; LANG, P.M.; TANS, P.P.; MARTIN, R.C. & MASERIE, K.A.** (1992) Slowing down of the global accumulation of atmospheric methane during the 1980s. *Nature* 358, 313-316.
- STETTER, K.O.** (1989) Genus *Methanobolus*. In: Bergey's manual of systematic bacteriology (Staley, J.T.; Bryant, M.P.; Pfennig, N. & Holt, J.G., eds.), Vol. 3, pp. 2205-2207. Williams & Wilkins, Baltimore.
- STEVENS, C.M.** (1993) Isotopic abundances in the atmosphere and sources In: *Atmospheric methane: Sources, sinks, and role in global change* (Khalil, M.A.K., ed.) pp. 62-88. Springer Verlag, Berlin
- STEVENS, C.M. & ENGELKEMEIER, A.** (1988) Stable carbon isotopic composition of methane from some natural and antropogenic sources. *J. Geophys. Res.* 93, 725-733.
- STIEB, M. & SCHINK, B.** (1985) Anaerobic oxidation of fatty acids by *Clostridium bryantii* sp. nov., a sporeforming, obligately syntrophic bacterium. *Arch. Microbiol.* 140, 387-390.
- STOTT, D.E. & MARTIN, J.P.** (1990) Synthesis and degradation of natural and synthetic humic material in soils. In: *Humic substances in soil and crop sciences: selected resdings* (MacCarthy, P.; Clapp, C.E.; Malcolm, R.L. & Bloom, P.R., eds.) pp. 37-63. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.

- STOTZKY, G.** (1974) Activity, ecology, and population dynamics of microorganisms in soil. In: *Microbial ecology* (Laskin, A.I. & Lechevalier, eds.) pp. 57-135. Chemical Rubber Co., Cleveland.
- STOTZKY G.** (1986) Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses. In: *Interactions of soil minerals with natural organics and microbes* (Huang, P.M. & Schnitzer, M, eds.) pp. 305-428. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- STOTZKY, G. & Rem, L.T.** (1966) Influence of clay minerals on microorganisms: I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. *Can. J. Microbiol.* 12, 547-563.
- STOUT, J.D.; GOH, K.M. & RAFTER, T.A.** (1981) Chemistry and turnover of naturally occurring resistant organic compound in soil. In: *Soil biochemistry* (Paul, E.A., ed.). Dekker, New York.
- STRAYER, R.F. & TIEDJE, T.M.** (1978) Kinetic parameters of the conversion of methane precursors to methane in a hypereutrophic lake sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* 36, 330-340.
- SUN, S.-C. & WU, Y.-F.** (1987) Recent sedimentation rates and distribution of some chemical elements in Tai Lake. *Mitt. Geol.-Paläont. Inst. Univ. Hamburg*, SCOPE/UNEP Sonderband 64, 251-259.
- SVENSSON, B.H.** (1984) Different temperature optima for methane formation when enrichments from acid peat are supplemented with acetat or hydrogen. *Appl. Environ. Microbiol.* 48, 389-394.
- SVENSSON, B.H. & ROSSWALL, T.** (1984) In situ methane production from acid peat in plant communities with different moisture regimes in a subarctic mire. *Oikos* 43, 341-350.
- THEBRATH, B.; MAYER, H.-P. & CONRAD, R.** (1992) Bicarbonate-dependent production and methanogenic consumption of acetat in anoxic paddy soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 86, 295-302.
- THEBRATH, B.; ROTHFUSS, F.; WHITICAR, M.J. & CONRAD, R.** (1993) Methane production in littoral sediment of Lake Constance. *FEMS Microbiol. Ecol.* 102, 279-289.
- THIELE, J.H. & ZEIKUS, J.G.** (1988) Control of interspecies electron flow during anaerobic digestion: Significance of formate transfer versus hydrogen transfer during syntrophic methanogenesis in flocs. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 20-29.
- THOLOZAN, J.L.; SAMAIN, E.; GRIVET, J.P. & ALBAGNAC, G.** (1990) Propionate metabolism in a methanogenic enrichment culture. Direct reductive carboxylation and acetogenesis pathways. *FEMS Microbiol. Ecol.* 73, 291-298.
- TIESSEN, H. & STEWART, J.W.B.** (1983) Particle-size fractions and their use in studies of soil organic matter: II. Cultivation effects on organic matter composition in size fractions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47, 509-514.
- TURCHENEK, L.W. & OADES, J.M.** (1979): Fractionation of organo-mineral complexes by sedimentation and density techniques. *Geoderma* 21, 311-341.

- TYLER, S.C.** (1991) The global methane budget. *In: Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides, and halomethanes* (Rogers, J.E. & Whitman, W.B., Eds), pp. 7-38. Am. Soc. Microbiol., Washington, DC.
- TYLER, S.C.** (1994) Rice paddy methane and its role in the atmospheric methane budget: What isotopes of carbon and hydrogen can tell us. *In: CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O: global emissions and controls from rice fields and other agricultural and industrial sources.* (Minami, K.; Mosier, A. & Sass, R., eds.) pp. 117-134. NIAES, Yokendo Publishers, Tokyo
- VAN CLEVE, K.; BARNEY, R. & SCHLENTNER, R.** (1981) Evidence of temperature control of production and nutrient cycling in two interior Alaska black spruce ecosystems. *Can. J. Forest Res.* 11, 258-273.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; LYKLEMA, J.; NORDE, W. & ZEHNDER, A.J.B.** (1990) Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol. Rev.* 54, 75-87.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; LYKLEMA, J.; NORDE, W.; SCHRAA, G. & ZEHNDER, A.J.B.** (1987a) The role of cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1893-1897.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M.; LYKLEMA, J.; NORDE, W.; SCHRAA, G. & ZEHNDER, A.J.B.** (1987b) Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 1898-1901.
- VDLUFA - Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten** (1991) *Methodenbuch Band 1: Untersuchungen von Böden.* VDLUFA-Verlag, Darmstadt.
- VENEMANN, P.L.M & PICKERING, E.W.** (1983) Salt bridge for field redox potential measurements. *Soil Sci. Plant Anal.* 14, 669-677.
- WAGNER, D.** (1993) Untersuchung zur Methanbildung einer Flußmarsch der Unterelbe in Abhängigkeit von der Temperatur. *Diplomarbeit*, Universität Hamburg.
- WAHLEN, M.** (1993) The global methane cycle. *Annu. Rev. Earth. Planet Sci.* 21, 407-426.
- WAHLEN, M.; TANAKA, N.; HENRY, R.; DECK, B.; ZEGLEN, J.; VOGEL, J.S.; SOUTHON, J.; SHEMESH, A.; FAIRBANKS, R. & BROECKER, W.** (1989) Carbon-14 in methane sources and in atmospheric methane: the contribution from fossil carbon. *Science* 245, 286-290.
- WALTER, B.P.; HEIMANN, M.; SHANNON, R.D. & WHITE, J.R.** (1996) A process-based model to derive methane emissions from natural wetlands. *Max-Planck-Institut für Meteorologie*, Report No. 215, 1-15.
- WANG, M.X.; DAI, A.; SHANGGUAN, X.; REN, L.; SHEN, R.; SCHÜTZ, H.; SEILER, W.; RASMUSSEN, R.A. & KHALIL, M.A.K.** (1994) Sources of Methane in China. *In: CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O: global emissions and controls from rice fields and other agricultural and industrial sources* (Minami, K.; Mosier, A. & Sass, R., eds.) pp. 9-26. NIAES, Yokendo Publishers, Tokyo.

- WANG, Z.P.; LINDAU, C.W.; DELAUNE, R.D. & PATRICK JR., W.H. (1993a) Methane emission and entrapment in flooded rice soils as affected by soil properties. *Biol. Fertil. Soils* 16, 163-168.
- WANG, Z.P.; DELAUNE, R.D.; MASSCHELEYN, P.H. & PATRICK JR., W.H. (1993b) Soil redox and pH effect on methane production in a flooded rice soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 382-385.
- WARD, D.M. & WINFREY, M.R. (1986) Interactions between methanogenic and sulfate-reducing bacteria in sediments. *Adv. Aquat. Microb.* 3, 141-179.
- WARDLAW, A.C. (1985) *Practical statistics for experimental biologists*. John Wiley & Sons, Chichester.
- WATANABE, I. (1984) Anaerobic decomposition of organic matter in flooded rice soils. In: *Organic matter and rice* (International Rice Research Institut) pp. 237-238. IRRI Publ., Manila.
- WATANABE, A.; KATOH, K. & KIMURA, M. (1993) Effect of rice straw application on CH<sub>4</sub> Emission from paddy fields. I. Effect of weathering of rice straw in the field during off-crop season. *Soil Sci. Plant Nutr.* 39, 701-706.
- WATANABE, A.; SATHO, Y. & KIMURA, M. (1995) Estimation of the increase in CH<sub>4</sub> emission from paddy soils by rice straw application. *Plant Soil* 173, 225-231.
- WATSON, M.L. (1958) Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *Biophys. Biochem. Cytol.* 4, 475-478.
- WATSON, R.T.; MEIRA FILHO, L.G.; SANHUEZA, E. & JANETOS, A. (1992) Greenhouse gases: source and sinks. In: *Climate change, the supplementary reports on the IPCC scientific assessment* (Houghton, J.T.; Callander, B.A. & Varney, S.K., eds.) pp. 25-46. Cambridge University Press, New York.
- WEAVER, T.L. & DUGAN, P.R. (1972) Enhancement of bacterial methane oxidation by clay minerals. *Nature* 237, 518.
- WESTERMANN, P. (1993) Temperature regulation of methanogenesis in wetlands. *Chemosphere* 26, 321-328.
- WESTERMANN, P. (1994) The effect of incubation temperature on steady-state concentrations of hydrogen and volatile fatty acids during anaerobic degradation in slurries from wetland sediments. *FEMS Microbiol. Ecol.* 13, 295-302.
- WESTERMANN, P. & AHRING, B.K. (1987) Dynamics of methane production, sulfate reduction and denitrification in a permanently waterlogged alder swamp. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2554-2559.
- WESTERMANN, P.; AHRING, B.G. & MAH, R.A. (1989) Temperature compensation in *Methanosarcina barkeri* by modulation of hydrogen and acetate affinity. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 1262-1266.
- WHALEN, S.C. & REEBURGH, W.S. (1990) Consumption of atmospheric methane by tundra soils. *Nature* 346, 160-162.

- WHALEN, S.C. & REEBURGH, W.S.** (1992) Interannual variations in tundra methane emission: a 4-year time series at fixed sites. *Global Biogeochem. Cycles* 6, 139-159.
- WHITE, R.H. & ZHOU, D.** (1993) Biosynthesis of the coenzymes in methanogens. *In: Methanogenesis* (Ferry, J.G., ed.), pp. 409-444. Chapman & Hall, London.
- WHITICAR, M.J.** (1993) Stable isotopes and global budgets *In: Atmospheric methane: Sources, sinks, and role in global change* (Khalil, M.A.K., ed.) pp. 139-167. Springer Verlag, Berlin
- WHITICAR, M.J.; FABER, E. & SCHOELL, M.** (1986) Biogenic methane formation in marine and freshwater environments: CO<sub>2</sub> reduction vs. acetate fermentation - isotopic evidence. *Geochim. Cosmochim. Acta* 50, 693-709.
- WHITMAN, W.B.; BOWEN, T.C. & BOONE, D.R.** (1992) The methanogenic bacteria. *In: The prokaryotes* (Balows, A.; Trüper, H.G.; Dworkin, M.; Harder, W. & Schleifer, K.H., eds.) pp. 719-767. Springer Verlag, New York.
- WIDDEL, F.** (1986) Growth of methanogenic bacteria in pure culture with 2-propanol and other alcohols as hydrogen donors. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1056-1062.
- WIDDEL, F. & BAK, F.** (1992) Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria. *In: The prokaryotes* (Balows, A.; Trüper, H.G.; Dworkin, M.; Harder, W. & Schleifer, K.H., eds.) pp. 3352-3378. Springer Verlag, New York.
- WIMPENNY, J.W.T. & ABDOLLAHI, H.** (1991) Growth of mixed cultures of *Paracoccus denitrificans* and *Desulfovibrio desulfuricans* in homogeneous and heterogeneous culture systems. *Microb. Ecol.* 22, 1-13.
- WIMPENNY, J.W.T. & COLASANTI, R.** (1997) A unifying hypothesis for the structure of microbial biofilms based on cellular automaton models. *FEMS Microbiol. Ecol.* 22, 1-16.
- WIMPENNY, J.W.T. & NECKLEN, D.K.** (1971) The redox environment and microbial physiology, I. The transition from anaerobiosis to aerobiosis in continuous culture of facultative bacteria. *Biochim. Biophys. Acta* 253, 352-359.
- WOESE, C.R.; MAGRUM, L.J. & FOX, G.E.** (1978) Archaeobacteria. *J. Mol. Evol.* 11, 245-252.
- WOLFE, R.S.** (1996) 1776-1996: Alessandro Volta's combustible air. *ASM News* 62, 529-534.
- WOLFE, R.S. & HIGGINS, I.J.** (1979) Microbial biochemistry of methane - a study in contrasts: microbial biochemistry. *Int. Rev. Biochem.* 21, 270-300.
- WOLIN, E.A.; WOLIN, M.J. & WOLFE, R.S.** (1963) Formation of methane by bacterial extracts. *J. Biol. Chem.* 238, 2882-2886.
- WOLIN, M.J.** (1976) Interactions between H<sub>2</sub>-producing and methane-producing species. *In: Symposium on microbial production and utilization of gases (H<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, CO)*. (Schlegel, H.G.; Gottschalk, G. & Pfennig, N., eds.) pp. 141-150. E. Goltze KG, Göttingen.
- WOOMER, P.L.; MARTIN, A.; ALBRECHT, A.; RESCH, D.V.S. & SCHARPENSEEL, H.W.** (1994) The importance and management of soil organic matter in the tropics. *In: The*

- biological management of tropical soil fertility* (Woomer, P.L., ed.) John Wiley & Sons, Chichester.
- XU, Q.; LU, Y.-C.; LIU, Y.-C. & ZHU, H.-G.** (1980) The paddy soil of Tai-Hu region in China (extended abstract in englischer Sprache). Shanghai Scientific and Technical Publishers, Shanghai.
- YAGI, K. & MINAMI, K.** (1990) Effect of organic matter application on methane emission from some Japanese paddy fields. *Soil Sci. Plant Nutr.* 36, 599-610.
- ZEHNDER, A.J.B.** (1978) Ecology of methane formation. In: *Water pollution microbiology* (Mitchell, R., ed.) Vol. 2, pp. 349-376. John Wiley, New York.
- ZEHNDER, A.J.B. & BROCK, T.D.** (1980) Anaerobic methane oxidation: occurrence and ecology. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, 194-204.
- ZEHNDER, A.J.B. & STUMM, W.** (1988) Geochemistry and biogeochemistry of anaerobic habitats. In: *Biology of anaerobic microorganism* (Zehnder, A.J.B., ed.) pp. 1-38. John Wiley and Sons, New York
- ZEHNDER, A.J.B. & WUHRMANN, K.** (1977) Physiology of a *Methanobacterium* Strain AZ. *Arch. Microbiol.* 111, 199-205.
- ZEIKUS, J.G.** (1977) The biology of methanogenic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41, 514-541.
- ZEIKUS, J.G.** (1983) Metabolic communication between biodegradative populations in nature. In: *Microbes in their natural environments* (Slater, J.H.; Whittenbury, R. & Wimpenny, J.W.T., eds.) pp. 423-462. Cambridge University Press, New York
- ZEIKUS, J.G. & BOWEN, V.G.** (1975) Comparative ultrastructure of methanogenic bacteria. *Can. J. Microbiol.* 21, 121-129.
- ZEIKUS, J.G. & WINFREY, M.R.** (1976) Temperature limitation of methanogenesis in aquatic sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 31, 99-107.
- ZEIKUS, J.G. & WOLFE, R.S.** (1972) *Methanobacterium thermoautotrophicus* sp. nov., an anaerobic, autotrophic, extreme thermophile. *J. Bacteriol.* 109, 707-713.
- ZELLNER, G. & WINTER, J.** (1987) Secondary alcohols as hydrogen donors for CO<sub>2</sub>-reduction by methanogens. *FEMS Microbiol. Lett.* 44, 323-328.
- ZHAO, S.** (1994) Geography of China. John Wiley & Sons, New York.
- ZINDER, S.H.** (1993) Physiological ecology of methanogenesis. In: *Methanogenesis* (J.G. Ferry, ed.), pp. 128-206. Chapman & Hall, New York.

## 8 Anhang

### Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht oder zur Veröffentlichung eingereicht. Die erste Publikation ist auf den folgenden Seiten wiedergegeben.

1. **WAGNER, D. & PFEIFFER, E.-M.** (1997) Two temperature optima of methane production in a typical soil of the Elbe river marshland. *FEMS Microbiology Ecology* 22, 145-153.
2. **WAGNER, D. & PFEIFFER, E.-M.** (1997) Charakterisierung der organischen Bodensubstanz einer Reis-Weizen-Fruchtfolge in Hinblick auf die Methanbildung. *Mitteilung der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 85, 623-626.
3. **WAGNER, D.; PFEIFFER, E.-M. & BOCK, E.** (1998) Methane production in marschland and different texured model soils under oxic conditions. Submitted for publication in *Soil Biology and Biochemistry*.

**Tab. A-1.** Korngrößenverteilung der Flußrohmarsch des Untersuchungsprofiles Asseler Sand (Schilfgürtel, Profil 1)

Horizont	Tiefe [cm]	T	U	S
Ah-Go1	0 - 5	14,82	51,28	33,90
Ah-Go2	5 - 16	31,29	56,29	13,55
Go	16 - 24	14,71	50,45	34,83
Gor	24 - 60	23,67	52,12	24,22
Gr1	60 - 74	16,99	45,37	37,64
fAh•Gr	74 - 90	21,22	57,45	21,33
Gr2	90 - 100	9,55	47,41	43,05

T = Tonfraktion, U = Schlufffraktion, S = Sandfraktion

**Tab. A-2.** Korngrößenverteilung eines Anthric Epiaquent des Untersuchungsgebietes Suzhou unter Reiskultur (Juli, 1994, Profil I)

Horizont	Tiefe [cm]	T	U	S
Ap	0 - 14	38,98	58,01	3,01
Hardpan	14 - 20	53,39	40,99	5,60
Go	20 - 35	42,20	56,70	1,10
Gor1	35 - 60	33,80	64,50	1,70
Gor2	60 - 90	46,18	51,72	2,20
Gr	90 - 100	33,19	63,77	3,04

T = Tonfraktion, U = Schlufffraktion, S = Sandfraktion

**Tab. A-3.** Zellzahlen methanogener Bakterien für das Untersuchungsprofil Asseler Sand in Abhängigkeit von der Jahreszeit mit Acetat (20 mM) oder H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20 v/v) als Substrat.

Tiefenstufe e	Zellzahlen methanogener Bakterien [Zellen g <sup>-1</sup> Boden]							
	04/95 (8 °C)		07/95 (17 °C)		10/95 (10 °C)		01/96 (3,5 °C)	
	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	Acetat	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	Acetat	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	Acetat	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	Acetat
0 - 10	2,2 x 10 <sup>4</sup>	2,2 x 10 <sup>3</sup>	3,8 x 10 <sup>4</sup>	2,2 x 10 <sup>5</sup>	3,6 x 10 <sup>3</sup>	5,8 x 10 <sup>3</sup>	1,5 x 10 <sup>1</sup>	3,4 x 10 <sup>1</sup>
10 - 20	4,7 x 10 <sup>3</sup>	1,2 x 10 <sup>3</sup>	7,5 x 10 <sup>3</sup>	1,2 x 10 <sup>5</sup>	3,8 x 10 <sup>3</sup>	4,0 x 10 <sup>3</sup>	1,0 x 10 <sup>3</sup>	2,0 x 10 <sup>1</sup>
20 - 30	4,6 x 10 <sup>3</sup>	1,2 x 10 <sup>3</sup>	3,3 x 10 <sup>3</sup>	1,8 x 10 <sup>4</sup>	4,1 x 10 <sup>3</sup>	9,5 x 10 <sup>2</sup>	2,7 x 10 <sup>2</sup>	2,5 x 10 <sup>2</sup>
30 - 40	4,7 x 10 <sup>3</sup>	2,2 x 10 <sup>3</sup>	1,1 x 10 <sup>3</sup>	3,2 x 10 <sup>4</sup>	3,7 x 10 <sup>2</sup>	1,9 x 10 <sup>3</sup>	2,8 x 10 <sup>1</sup>	1,2 x 10 <sup>2</sup>
40 - 50	1,1 x 10 <sup>4</sup>	2,2 x 10 <sup>3</sup>	2,2 x 10 <sup>3</sup>	9,3 x 10 <sup>4</sup>	8,9 x 10 <sup>3</sup>	8,0 x 10 <sup>3</sup>	1,9 x 10 <sup>2</sup>	4,2 x 10 <sup>2</sup>
50 - 60	2,2 x 10 <sup>3</sup>	1,2 x 10 <sup>3</sup>	3,6 x 10 <sup>3</sup>	1,5 x 10 <sup>4</sup>	1,1 x 10 <sup>3</sup>	1,5 x 10 <sup>3</sup>	5,1 x 10 <sup>1</sup>	4,7 x 10 <sup>1</sup>

	4	3	3	5	3	4	2	2
60 - 70	1,1 x 10 <sub>4</sub>	7,5 x 10 <sub>3</sub>	5,3 x 10 <sub>4</sub>	2,1 x 10 <sub>5</sub>	1,1 x 10 <sub>3</sub>	9,7 x 10 <sub>4</sub>	4,3 x 10 <sub>1</sub>	2,4 x 10 <sub>3</sub>
70 - 80	1,1 x 10 <sub>4</sub>	2,2 x 10 <sub>4</sub>	9,1 x 10 <sub>3</sub>	6,8 x 10 <sub>5</sub>	1,1 x 10 <sub>3</sub>	9,0 x 10 <sub>4</sub>	5,0 x 10 <sub>1</sub>	2,0 x 10 <sub>2</sub>
80 - 90	7,5 x 10 <sub>3</sub>	3,8 x 10 <sub>3</sub>	7,1 x 10 <sub>3</sub>	2,2 x 10 <sub>5</sub>	9,5 x 10 <sub>2</sub>	7,6 x 10 <sub>3</sub>	1,5 x 10 <sub>2</sub>	1,2 x 10 <sub>2</sub>
90 - 100	3,8 x 10 <sub>3</sub>	2,2 x 10 <sub>3</sub>	2,1 x 10 <sub>3</sub>	3,3 x 10 <sub>6</sub>	2,1 x 10 <sub>3</sub>	1,6 x 10 <sub>4</sub>	5,7 x 10 <sub>1</sub>	1,2 x 10 <sub>2</sub>
Mittelwert	1,0 x 10 <sub>4</sub>	4,5 x 10 <sub>3</sub>	1,3 x 10 <sub>4</sub>	5,0 x 10 <sub>5</sub>	2,7 x 10 <sub>3</sub>	2,5 x 10 <sub>4</sub>	2,3 x 10 <sub>2</sub>	4,2 x 10 <sub>2</sub>

**Tab. A-4.** Methanbildungspotentiale nach Zugabe von standortspezifischer organischer Substanz in Abhängigkeit von der Temperatur.

Parallelen	CH <sub>4</sub> -Bildungsraten [nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> FG]										
	5 °C	10 °C	15 °C	22 °C	28 °C	32 °C	37 °C	42 °C	47 °C	53 °C	60 °C
<b>Marsch</b>											
1	3,40	11,17	6,36	35,10	34,36	55,85	24,48	10,47	n.b.	n.b.	n.b.
2	3,14	12,67	7,44	27,73	39,39	40,10	22,04	8,91	n.b.	n.b.	n.b.
3	3,19	9,52	6,80	24,40	28,06	38,76	14,66	12,32	n.b.	n.b.	n.b.
4	2,86	10,35	6,69	25,78	29,25	45,77	29,11	7,44	n.b.	n.b.	n.b.
5	2,80	10,36	7,45	26,65	29,95	42,15	15,52	12,18	n.b.	n.b.	n.b.
6	2,98	11,14	7,18	22,30	25,15	34,96	19,67	13,75	n.b.	n.b.	n.b.
7	2,83	11,02	7,02	29,72	25,96	41,14	16,88	6,66	n.b.	n.b.	n.b.
8	2,92	11,24	4,78	22,81	31,19	40,43	15,67	8,31	n.b.	n.b.	n.b.
9	3,58	9,69	5,93	27,60	34,90	45,76	33,91	11,09	n.b.	n.b.	n.b.
10	3,17	9,17	6,56	26,57	37,04	42,69	14,44	9,11	n.b.	n.b.	n.b.
11	3,26	9,27	5,82	26,82	31,92	41,21	28,63	10,06	n.b.	n.b.	n.b.
12	3,34	10,29	6,81	28,00	33,29	39,76	34,64	11,99	n.b.	n.b.	n.b.
13	2,83	10,10	6,46	29,02	24,95	45,94	35,09	8,00	n.b.	n.b.	n.b.
14	2,87	11,11	5,45	28,30	26,31	43,44	12,82	7,29	n.b.	n.b.	n.b.
Mittelwert	3,08	10,51	6,48	27,20	30,84	42,71	22,68	9,82	-	-	-
<b>Reisbode</b>											
<b>n</b>											
1	0,013	0,145	0,138	0,096	0,156	0,505	0,276	0,176	14,73	2,00	0,033
2	0,034	0,071	0,051	0,617	0,154	0,184	0,585	3,66	6,14	1,97	0,022
3	0,082	0,066	0,112	0,050	0,523	0,238	0,526	13,29	21,48	2,19	0,026
Mittelwert	0,043	0,094	0,100	0,255	0,278	0,309	0,463	5,71	14,12	2,06	0,027
<b>Tundra</b>											
1	0,160	0,429	1,08	2,80	2,94	6,11	2,75	1,69	n.b.	n.b.	n.b.
2	0,141	0,366	1,39	3,49	3,78	4,25	3,90	0,42	n.b.	n.b.	n.b.
3	0,138	0,526	1,04	2,97	4,08	4,41	4,69	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
Mittelwert	0,146	0,440	1,17	3,09	3,60	4,92	3,78	1,06	-	-	-

n.b. = nicht bestimmt, FG = Frischgewicht

**Tab. A-5.** Zellzahlen methanogener Bakterien des Untersuchungsprofiles Asseler Sand mit Acetat (20 mM), Formiat (20 mM) oder H<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (80:20 v/v) als Substrat für 10 °C und 28 °C.

Parallelen	Zellzahlen methanogener Bakterien [Zellen g <sup>-1</sup> Boden]					
	10 °C			28 °C		
	Acetat	Formiat	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	Acetat	Formiat	H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>
1	4,9 x 10 <sup>4</sup>	4,7 x 10 <sup>5</sup>	2,3 x 10 <sup>2</sup>	2,3 x 10 <sup>7</sup>	1,2 x 10 <sup>6</sup>	1,2 x 10 <sup>6</sup>
2	2,3 x 10 <sup>4</sup>	1,2 x 10 <sup>5</sup>	1,2 x 10 <sup>1</sup>	1,2 x 10 <sup>7</sup>	4,7 x 10 <sup>5</sup>	5,0 x 10 <sup>5</sup>
3	4,9 x 10 <sup>3</sup>	1,2 x 10 <sup>5</sup>	1,2 x 10 <sup>2</sup>	1,2 x 10 <sup>6</sup>	2,2 x 10 <sup>6</sup>	5,0 x 10 <sup>6</sup>
4	1,7 x 10 <sup>4</sup>	4,6 x 10 <sup>4</sup>	8,7 x 10 <sup>2</sup>	2,7 x 10 <sup>6</sup>	2,4 x 10 <sup>5</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>
Mittelwert	2,4 x 10 <sup>4</sup>	1,9 x 10 <sup>5</sup>	3,1 x 10 <sup>2</sup>	9,7 x 10 <sup>6</sup>	1,0 x 10 <sup>6</sup>	2,1 x 10 <sup>6</sup>

**Tab. A-6.** Methanbildungsraten verschieden texturierter Modellböden im Vergleich zu einer Naturprobe (Marschboden) unter aeroben und anaeroben Bedingungen.

Parallelen	CH <sub>4</sub> -Bildungsraten [nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> FG]			
	Sand	Kies	Bentonit	Naturprobe
<b>aerob</b>				
1	0,006	0,223	5,79	5,65
2	0,013	0,161	3,04	4,36
3	0,003	0,155	7,39	5,00
Mittelwert	0,007	0,180	5,41	5,00
<b>anaerob</b>				
1	3,38	4,38	8,48	11,36
2	4,04	6,03	20,91	16,32
3	1,59	6,36	17,58	17,79
Mittelwert	3,01	5,59	15,66	15,15

FG = Frischgewicht

**Tab. A-7.** Methanbildungsraten unterschiedlich entwässerter, ungestörter Bodenproben des Untersuchungsprofils Asseler Sand unter aeroben und anaeroben Bedingungen.

Parallelen	CH <sub>4</sub> -Bildungsraten [nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> TG]			
	54 % WG	48 % WG	41 % WG	39 % WG
<b>aerob</b>				
1	114,09	93,27	87,82	56,40
2	150,41	89,30	93,46	70,86
3	141,09	53,31	72,19	42,65
4	159,51	58,05	69,36	63,62
Mittelwert	141,28	73,48	80,71	58,38
<b>anaerob</b>				
1	153,65	85,53	60,96	19,74
2	266,78	172,72	84,95	51,82
3	219,68	125,47	225,93	82,25
Mittelwert	213,37	127,91	123,95	51,52

TG = Trockengewicht, WG = Wassergehalt

**Tab. A-8.** δ<sup>13</sup>C-Werte der organischen Bodensubstanz verschiedener Profile des Untersuchungsgebietes Suzhou.

Tiefenstufe	δ <sup>13</sup> C-Werte [‰] PDB			
	Profil I (Reis)	Profil II (Brache)	Profil III (Weizen)	Profil V (Reis)
0 - 10	-26,190	-26,873	-25,609	-26,037
10 - 20	-23,580	-25,776	-25,353	-25,556
20 - 30	-24,770	-23,583	-24,524	-24,762
30 - 40	-24,830	-22,653	-24,212	-23,973
40 - 50	-24,670	-21,695	-23,553	-24,059
50 - 60	-22,170	-23,298	-23,026	-23,789
60 - 70	-24,950	-23,660	-22,566	-23,599
70 - 80	-25,110	-23,6540	-22,237	-24,304
80 - 90	-24,970	-23,725	-22,487	-24,636
90 - 100	-25,140	-23,965	-22,650	-23,772

PDB = siehe Abkürzungsverzeichnis

**Tab. A-9.** Methanbildungspotentiale mit und ohne Reisstroh sowie mit verschiedenen Fraktionen der organischen Bodensubstanz des Untersuchungsgebietes Suzhou.

Parallelen	CH <sub>4</sub> -Bildungsraten [nmol h <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> FG]				
	- Reis	+ Reis	+ DF < 1,6	+ DF 1,6 - 2,0	+ DF 2,0 - 2,4
<b>Weizensaison</b>					
1 - Ap	0,033	0,115	0,049	0,109	0,020
2 - Ap	0,021	0,148	0,043	0,138	0,024
3 - Ap	0,020	0,150	0,068	0,092	0,034
Mittelwert	0,025	0,138	0,053	0,113	0,026
<b>Reissaison</b>					
1 - Ap	0,033	0,115	0,098	0,145	0,111
2 - Ap	0,021	0,148	0,146	0,161	0,080
3 - Ap	0,020	0,150	0,125	0,139	0,078
Mittelwert	0,025	0,138	0,123	0,148	0,090
1 - Hardpan	0,008	0,041	0,042	0,035	0,027
2 - Hardpan	0,013	0,044	0,029	0,037	0,022
3 - Hardpan	0,030	0,063	0,020	0,051	0,033
Mittelwert	0,017	0,049	0,030	0,041	0,028

FG = Frischgewicht, DF = Dichtefraktion, Ap = Proben des Pflughorizontes, Hardpan = Proben des Verdichtungshorizontes, Weizensaison = Fraktionen der organischen Substanz gewonnen aus Proben der Weizensaison, Reissaison = Fraktionen der organischen Substanz gewonnen aus Proben der Reissaison

## Lebenslauf

Name: Dirk Wagner  
Anschrift: Amandastr. 34  
20357 Hamburg

Geburtsdatum: 19. Juli 1963 in Berlin  
Familienstand: ledig  
Staatsangehörigkeit: deutsch

**Schulbildung:**  
1970-1974 Grundschule in Barsbüttel  
1974-1983 Matthias-Claudius-Gymnasium in Hamburg  
Abschluß: Abitur

**Zivildienst:**  
11/1985-02/1987 Rettungssanitäter beim Malteser-Hilfsdienst in Hamburg

**Studium:**  
04/1987-12/1993 Studium der Biologie an der Universität Hamburg  
Schwerpunkte: Mikrobiologie, Bodenkunde, Genetik  
01/1993-12/1993 Diplomarbeit am Institut für Allgemeine Botanik,  
Abteilung Mikrobiologie der Universität Hamburg  
Thema: *Untersuchung zur Methanbildung einer Fluß-  
marsch der Unterelbe in Abhängigkeit von der Temperatur*  
Abschluß: Diplom

**Promotion:**  
04/1994-02/1998 Durchführung einer Doktorarbeit am Institut für  
Bodenkunde der Universität Hamburg  
Thema: *Einfluß von Temperatur, Sauerstoff und org-  
anischer Substanz auf die Methanogenese in hydro-  
morphen Böden*

**Berufstätigkeit:**  
08/1983-09/1985 Gewerblicher Angestellter bei der Fa. Oppermann  
Werbemittel in Hamburg, Bereich: Druckerei  
04/1994-04/1997 Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für  
Bodenkunde der Universität Hamburg im BMBF-  
Verbundprojekt ‚Spurenstoffkreisläufe‘  
seit 04/1995 Lehrauftrag am Institut für Bodenkunde der Universität  
Hamburg zur Durchführung der ‚Übungen zur  
Bodentypenlehre‘  
seit 03/1998 Wissenschaftlicher Angestellter am Institut für  
Bodenkunde der Universität Hamburg im BMBF-  
Verbundprojekt ‚Laptev-See 2000‘

**Auslandsaufenthalte:**  
07/1994; 04/1995; 09/1995 Forschungsaufenthalte in der V.R. China im Rahmen des  
BMBF-Verbundprojektes ‚Spurenstoffkreisläufe‘  
07/1998 Forschungsaufenthalt in Rußland/Sibirien im Rahmen des  
BMBF-Verbundprojektes ‚Laptev-See 2000‘  
08/1998 Teilnahme an der Expedition ARKTIS XIV/1b mit der FS  
‚Polarstern‘



## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen beiden „Doktorvätern“ Frau Priv. Doz. Dr. E.-M. Pfeiffer (Eva) und Herrn Prof. Dr. E. Bock, ohne deren Engagement es nicht möglich gewesen wäre, diese fachübergreifende Arbeit anzufertigen. Ohne Eva hätte ich das Fach Bodenkunde sicher vorzeitig wieder aufgegeben, da mir anfangs der Bezug zur Biologie fehlte. Herzlich danken möchte ich ihr für die Bereitstellung des Themas, ihr immerwährendes Interesse am Fortgang der Arbeit und die gelassenen Freiräume. Ebenso möchte ich Prof. Dr. E. Bock herzlich danken, der mich als kohlenstoffinteressierten Bodenmikrobiologen in seiner Arbeitsgruppe aufgenommen und mich durch sein Interesse und seine Diskussionsbereitschaft stets in jeglicher Hinsicht unterstützt hat.

Herrn Prof. Dr. H.-W. Scharpenseel bin ich zu besonderem Dank verpflichtet, da er sich trotz seiner Emeritierung bereit gefunden hat, diese Arbeit zu begutachten.

Dr. Reiner Mansch hat mich seit meiner Diplomarbeit mit seinem mikrobiologisch-ökologischen Sachverstand begleitet und mich mit zahlreichen Diskussionen in meiner Arbeit vorangetrieben. Dabei ist er mir zu einem Freund geworden, dem ich besonders für seine kritische Durchsicht dieser Arbeit danken möchte.

Holger Becker möchte ich herzlich für seine freundschaftliche Hilfe sowie für seine moralische Unterstützung bei der Bewältigung so unterschiedlicher Probleme wie: Computer, Freundin, Layout, Graphiken und Probennahmen bei sintflutartigen Niederschlägen, danken.

Birgit Grabellus und Susanne Kopelke gilt mein besonderer Dank für ihre tatkräftige Unterstützung im Labor, ihre unendliche Geduld und so allerlei ‚süßer‘ Unterbrechungen des Laborgeschehens.

Unserem ‚Kartographen‘ Thomas Müller-Lupp (kommt nich’ hin) danke ich für die Hilfe und Geduld bei der Anfertigung der Karten der Untersuchungsgebiete.

Dr. Jens Harder (Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie, Bremen) danke ich recht herzlich für die Einführung in das Arbeiten mit anaeroben Mikroorganismen, sein Interesse am Fortgang der Arbeit und so manch’ gutem Rat, der die Isolationsarbeiten vorangetrieben hat.

Dr. Gerard Muyzer (Max-Planck-Institut für Marine Mikrobiologie, Bremen) gilt mein besonderer Dank für die Durchführung und Auswertung der 16S-rRNA-Sequenz-Analysen der im Rahmen dieser Arbeit isolierten methanogenen Bakterien.

Sönke Haas sei stellvertretend für alle Hiwis, die im Laufe der Zeit hier und da mal Hand angelegt haben, für seine/ihre hervorragende Arbeit gedankt.

Jürgen Köhne sei an dieser Stelle gedankt für seine Hilfsbereitschaft bei der Lösung technischer Probleme.

Frau Wachholz danke ich für die Hilfe bei der Erstellung der Präparate für die Elektronenmikroskopie sowie für ihre Unterstützung am Elektronenmikroskop.

Meinem ‚China-Mitstreiter‘ Martin Kogge (Fraunhofer Institut für Atmosphärische Umweltforschung, Garmisch-Partenkirchen) danke ich für die gute Zusammenarbeit, wodurch mir die Aufenthalte in Suzhou in besonders angenehmer Erinnerung geblieben sind (...und Grüß’ mir die Ratten...).

Ferner danke ich den Kolleginnen und Kollegen (...die Schmutzigen, die Häßlichen und die Gemeinen...) des Institutes für Bodenkunde: Julia, Martin, Stephan, Guillermo, Katrin, Bernd, Ralph, Ecki und Andreas, sowie der Abteilung Mikrobiologie des Institutes für Allgemeine Botanik: Eva, Sabine, Silke x 2, Sus, Axel, Carsten, Dirk, Henry, Ingo, Michi, Peter, Ralf und Thore für den Spaß und das angenehme Arbeitsklima.

Ich danke L. Nimoy, B. Spinner und T. Russ, die mich seit meiner Diplomarbeit mit ihrem analytischen Verständnis begleitet haben (...faszinierend!).

Christian Schröter danke ich für viele leckere Mahlzeiten, die mir im Laufe der letzten Jahre vergönnt waren und die mich bei Laune gehalten haben sowie für die mühselige Endkontrolle (das Auge) dieser Arbeit.

Abschließend möchte ich mich bei meiner Mutter (Spitzname Jule) bedanken, die mich während meines ganzen Studiums direkt oder indirekt unterstützt hat und den Fortgang meiner Arbeit immer neugierig verfolgte.

Ein Teil der Arbeit wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) im Verbundprojekt ‚Spurenstoffkreisläufe‘ gefördert. Hierfür möchte ich an dieser Stelle danken.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1994 bis Februar 1998 am Institut für Bodenkunde und in der Abteilung Mikrobiologie des Instituts für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg unter Anleitung von Frau Priv. Doz. Dr. E.-M. Pfeiffer und Herrn Prof. Dr. E. Bock angefertigt.