



universität
wien

MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

„Einfluss von Bodenwassergehalt auf die Pflanzen-
verfügbarkeit von Nitrat und Ammonium“

verfasst von / submitted by

Martin Trommler BSc

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Master of Science (MSc)

Wien, 2018 / Vienna 2018

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

A 066 855

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Masterstudium Geographie

Betreut von / Supervisor:

Ass.-Prof. Mag. Dr. Robert Peticzka

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
Eidesstattliche Erklärung	3
Kurzfassung	4
Abstract	4
1. Einführung	5
1.1. Stickstoff	5
1.2. Analysemethoden	6
2. Forschungsfragen und Hypothesen.....	8
3. Probenahme	9
4. Materialien und Methoden	10
4.1. Probenvorbereitung	10
4.2. Chemische Analyse.....	12
4.2.1. Nitrat	12
4.2.2. Ammonium	12
4.3. Statistische Auswertung	13
5. Ergebnisse	14
5.1. Analyse vom Probevolumen.....	14
5.1.1. Einfluss des Wassergehaltes.....	14
5.1.2. Einfluss des Substrates	17
5.1.3. Einfluss der Pumprate	17
5.2. Analyse von Nitrat	19
5.2.1. Einfluss des Wassergehaltes.....	19
5.2.2. Einfluss des Substrates	21
5.2.3. Einfluss der Pumprate	22
5.3. Analyse von Ammonium	23
5.4. Extrakte	24
5.4.1. Einfluss des Extraktionsmittels.....	24
5.4.2. Einfluss des Substrats	26
5.5. Vergleich der Analysemethoden	27
6. Diskussion.....	28
6.1. Probevolumen	28

6.1.1. Wassergehalt.....	28
6.1.2. Substrat	30
6.1.3. Pumprate.....	30
6.1.4. Gesamteffekt.....	30
6.2. Nitrat	33
6.2.1. Wassergehalt.....	33
6.2.2. Substrat	36
6.2.3. Pumprate.....	38
6.3. Ammonium.....	40
6.4. Extrakte	40
6.4.1. Extraktionsmittel	40
6.4.2. Substrat	41
6.5. Vergleich MD – Extrakte	41
7. Zusammenfassung.....	42
8. Quellenverzeichnis	44

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich,

- dass ich die vorliegende Masterarbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und mich auch sonst keiner unerlaubter Hilfe bedient habe,
- dass ich dieses Masterarbeitsthema bisher weder im In- noch im Ausland in irgendeiner Form als Prüfungsarbeit vorgelegt habe
- und dass diese Arbeit mit der vom Begutachter beurteilten Arbeit vollständig übereinstimmt.

Wien, am 13. März 2018

Kurzfassung

Stickstoff ist mengenmäßig der wichtigste Pflanzennährstoff und seine wichtigsten anorganischen Formen sind Nitrat und Ammonium. Die Versorgung der Pflanzen mit diesen Stickstoffverbindungen (sowie mit anderen Nährstoffen) wird durch Massenfluss und Diffusion über die Pflanzenwurzeln gewährleistet. Da diese beiden Prozesse in der Bodenlösung stattfinden, ist zu vermuten, dass die Änderung des Bodenwassergehaltes in der Änderung der Pflanzenverfügbarkeit von Nitrat und Ammonium resultiert. Mit sinkendem Bodenwassergehalt gewinnt die Diffusion immer mehr an Bedeutung. Eine kürzlich entwickelte Methode, die Mikrodialyse, die auf dem Prinzip der passiven Diffusion basiert, kann die Versorgung der Pflanzenwurzeln mit Nährstoffen bei unterschiedlichen Bodenwassergehalten simulieren. In dieser Arbeit wurde mittels Mikrodialyse der Einfluss vom Bodenwassergehalt auf die Pflanzenverfügbarkeit von Nitrat und Ammonium untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die Mikrodialyse-Methode bei allen Bodenwassergehaltniveaus angewendet werden kann, jedoch muss beim sehr trockenen Bodenzustand die Zeit, die theoretisch zur Gewinnung des geplanten Probevolumens erforderlich ist, verlängert werden. Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse, dass die Pflanzenverfügbarkeit von Nitrat stark von dem Bodenwassergehalt abhängt. Während der Dürreperioden leiden die Pflanzen also nicht nur unter Trockenstress, sondern auch unter Nährstoffmangel.

Abstract

Nitrogen is the most important nutrient by quantity and the most prominent inorganic forms of nitrogen are nitrate and ammonium. The supply of these (and other) nutrients into the plant roots is ensured by mass flow and diffusion. As these processes take place in soil solution, the change of soil water content may lead to the change in plant availability of ammonium and nitrate. With decreasing soil water content, the diffusion becomes more and more important. A recently developed microdialysis method, based on the principle of passive diffusion, can simulate the supply of nutrients as nitrate and ammonium into the plant roots at different soil water content levels. In this work microdialysis was used for investigating the influence of soil water content on the plant availability of nitrate and ammonium. The results show that the microdialysis method can be used at all soil water content levels, but under very dry conditions, the time theoretically necessary to obtain the planned probe volume must be prolonged. Moreover, the supply of nitrate to the plant depends very much on the soil water content. During drought periods, the plants are not only under drought stress but also suffer from nutrient shortage.

1. Einführung

Die Versorgung der Pflanzen mit Bodenstickstoff (und anderen Nährstoffen im Boden), welche über Wurzelhaare stattfindet, wird über den Massenfluss und die Diffusion gewährleistet (Hintermaier-Erhard & Zech 1997; Scheffer & Schachtschabel 2010). Diese zwei Mechanismen sind für die nährstoffbedingte Leistungsfähigkeit der Pflanzen entscheidend und finden in der Bodenlösung statt (Chapin 1980; Clarkson 1985; Robinson 1986; Marschner 1995; Leadley et al. 1997; Lambers et al. 2008). Bisher konnte keine direkte Messung der Diffusion von Stickstoff in Böden in Abhängigkeit vom Bodenwassergehalt durchgeführt werden. Eine kürzlich entwickelte Methode, die Mikrodialyse, die auf dem Prinzip der passiven Diffusion basiert, kann die Versorgung der Pflanzenwurzeln mit Nährstoffen bei unterschiedlichen Bodenwassergehalten simulieren (Miro et al. 2010). Im Rahmen dieser Arbeit wird die Anwendbarkeit dieser Methode bei einem breiten Spektrum vom Bodenwassergehalt überprüft. Weiter wird mittels Mikrodialyse der Einfluss vom Bodenwassergehalt auf die Pflanzenverfügbarkeit von Stickstoffformen Nitrat und Ammonium untersucht.

1.1. Stickstoff

Stickstoff ist ein chemisches Element, welches zu 78% am Aufbau der unteren Atmosphäre beteiligt ist. Die Bodenvorräte sind vor allem auf die biologische Stickstofffixierung und Düngung zurückzuführen. Man unterscheidet zwischen dem organischen und dem anorganischen Stickstoff im Boden. Organischer Stickstoff entsteht, wenn Mikroorganismen den mineralischen Stickstoff aufnehmen und diesen in organische Verbindungen einbauen. Freilebende oder in Symbiose mit Pflanzen lebende stickstoffbindende Bakterien können den Stickstoff aus der Bodenluft (N_2) assimilieren. Anorganische Stickstoffformen (Nitrit (NO_2^-), Nitrat (NO_3^-) und Ammonium (NH_4^+)) entstehen umgekehrt bei der Zersetzung von organischen Substanzen. Ein Teil des Bodenstickstoffes kann dabei in die Atmosphäre als Ammoniak (NH_3), molekularer Stickstoff (N_2) oder Lachgas (N_2O) entweichen (Hintermaier-Erhard & Zech 1997; Rowell 1997). Diese Zusammenhänge sind in der Abbildung 1 dargestellt.

Stickstoff ist der von den Pflanzen mengenmäßig am meisten benötigte Nährstoff und wird bei der Synthese deren Körperbausteine benötigt (Hintermaier-Erhard & Zech 1997). So wie andere Nährstoffe aus dem Boden wird auch der Stickstoff in die Pflanze mittels Massenfluss (gelöster Stoff gelangt in die Pflanze in der aufgenommenen Bodenlösung) und mittels Diffusion aus der Bodenlösung (gelöster Stoff diffundiert durch die Pflanzenmembranen aufgrund des Konzentrationsgradienten zwischen der Bodenlösung und Pflanzeninnerem) aufgenommen (Scheffer & Schachtschabel 2010). Diese Nährstoffaufnahme findet über Wurzelhaare statt. Die wichtigsten anorganischen Stickstoffformen bezüglich der Pflanzenernährung sind Nitrat und Ammonium (Hintermaier-Erhard & Zech 1997). Sie entstehen durch Mineralisierung, bei der der organische Stickstoff mikrobiell in anorganischen Stickstoff umgewandelt wird (Rowell 1997). Aufgrund ihrer Wichtigkeit als Nährstoffe, sowohl in natürlichen als auch land- und forstwirtschaftlichen Ökosystemen stehen sie im Fokus dieser Arbeit.

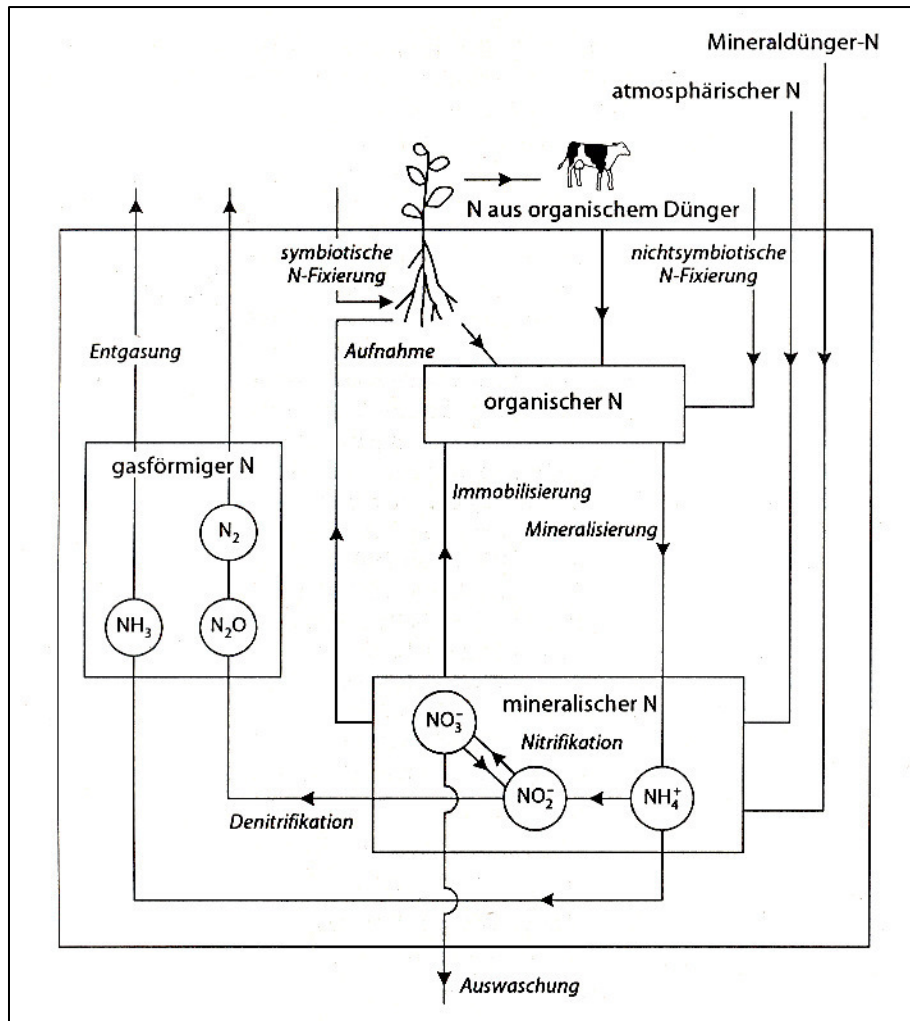


Abbildung 1: Stickstoffkreislauf (Rowell 1997).

1.2. Analysemethoden

Die am häufigsten angewendeten Methoden zur Bestimmung von Stickstoff im Boden sind Extraktion in Wasser oder in Salzen, Bodenzentrifugation und Bodenwasserentnahme mittels Tensio-Lysimetern (Andersson 2003; Kielland et al. 2007; Rousk & Jones 2010).

Der Nachteil von den ersten zwei genannten Methoden ist die Zerstörung der natürlichen Struktur des Bodens während der Vorbereitung der Bodenproben und beträchtliche Zeitverzögerung von der Bodenprobenahme bis zur tatsächlichen Analyse (Inselsbacher et al. 2011). Die Behandlung des Bodens vor der Analyse (Sieben und Homogenisieren, Filtrieren, pH-Pufferung, Einfrieren und Auftauen, Derivatisierung, Trocknen, Zerkleinerung) stellt eine signifikante Fehlerquelle dar (Jones & Willett 2006; Miro & Hansen 2006; Warren & Taranto 2010; Carillo-Gonzalez et al. 2013; Makarov et al. 2013). Die chemischen Veränderungen während der Probenahme und -vorbereitung führen meist zu einer Über- bzw. Unterschätzung von den analysierten Nährstoffvorräten, wobei anorganische Stickstoffformen über- und organische unterschätzt werden (Jämtgård et al. 2010; Rousk & Jones 2010; Inselsbacher 2014). Weiter, Salzextraktionen liefern unterschiedliche Ergebnisse je nach Siebprozedur, dem angewendeten

Salz, dem Verhältnis von Extraktionsmittel zum beprobten Boden und Extraktionsdauer (Stevens & Laughlin 1995; Reemtsma et al. 1999; Jones & Willett 2006; Rousk & Jones 2010; Warren & Taranto 2010; Carrillo-Gonzales et al. 2013; Chen & Williams 2013; Makarov et al. 2013). Darüber hinaus reagieren verschiedene Böden auf dieselbe Extraktionsprozedur unterschiedlich (Chantigny 2003; Willett et al. 2004; Jones & Willett 2006). Aufgrund von diesen Umständen können die Extraktionen nur eine sehr beschränkte Auskunft über die Nährstoffverfügbarkeit und -dynamik *in situ* liefern (Miro & Frenzel 2011; Inselsbacher & Näsholm 2012b; Hobbie & Hobbie 2013).

Mehrere Studien zeigen, dass die Nährstoffaufnahme nicht durch Aufnahmeraten von Wurzeln, sondern durch die Versorgungskapazität des Bodens limitiert ist (Nye & Marriott 1969; Nye & Tinker 1977; Clarkson & Hanson 1980; Leadley et al. 1997; Tinker & Nye 2000). Diese Versorgungskapazität wird hauptsächlich durch Massenfluss und Diffusion gewährleistet. Diese zwei Versorgungsmechanismen sind für die nährstoffbedingte Leistungsfähigkeit der Pflanzen entscheidend (Chapin 1980; Clarkson 1985; Robinson 1986; Marschner 1995; Leadley et al. 1997; Lambers et al. 2008). Dementsprechend sind Methoden von Vorteil, mit denen man diese zwei Mechanismen untersuchen kann.

Die Tensio-Lysimeter-Methode weist die genannten Nachteile der vorigen Methoden nicht auf und bildet die Nährstoffversorgung durch Massenfluss gut ab (Jämtgård et al. 2010; Inselsbacher et al. 2011). Der Nachteil dieser Methode ist die Veränderung der Bodenverhältnisse durch das Entziehen des Bodenwassers und die Abhängigkeit der Methode von höheren Bodenwassergehalten. Weiter wird mit dieser Methode vor allem das Wasser aus Grobporen entzogen, da sich Poren wegen des unterschiedlichen Wasserpotentials der Größe nach (von größten zu den kleinsten) entleeren (Andersson 2003). Die Stickstoff-Konzentrationen in den kleinsten Poren können somit nicht ermittelt werden (Miro et al. 2010).

Kürzlich wurde eine neue *in situ* Probenahmemethode für Umweltfragestellungen basierend auf dem Prinzip der Mikrodialyse entwickelt (Miro et al. 2005; Miro & Frenzel 2005; Sulyok et al. 2005; Miro & Hansen 2006; Miro et al. 2010). Die passive Mikrodialyse basiert auf dem Prinzip der Osmose (Diffusion durch eine semipermeable Membran) (Ungerstedt 1991; Torto et al. 2001; Seethapathy et al. 2008). Da diese Methode aufgrund der kleinen Membran kaum invasiv ist und nur gelöste Stoffe liefert, wurde sie als geeignet für Umweltfragestellungen erkannt und kann zur Beobachtung der Stickstoff-Dynamik *in situ* angewendet werden (Miro & Frenzel 2004; Miro & Frenzel 2005; Inselsbacher et al. 2011; Inselsbacher & Näsholm, 2012a,b). Mit der Mikrodialyse können auch sehr kleine Bodenbereiche untersucht werden, was die Methode im Unterschied zu Tensio-Lysimeter auch für Untersuchungen der Rhizosphäre (Wurzelbereiche im Boden) geeignet macht (Inselsbacher et al. 2011).

Aufgrund der genannten Vorteile der Mikrodialyse (in situ Beprobung, relativ kurze Zeit zwischen der Probenahme und der Analyse, Möglichkeit der Probenahme bei unterschiedlichen Wassergehalten) wird sie in dieser Arbeit zur Untersuchung von Bodenstickstoff angewendet.

2. Forschungsfragen und Hypothesen

Die Diffusion von Nährstoffen vom Boden zu den Wurzeloberflächen, die mit der Mikrodialyse-Membran simuliert werden kann, ist von mehreren Faktoren abhängig. Inselsbacher & Näsholm (2012a) haben z.B. den Einfluss der Temperatur und der Molekularmasse auf die Diffusion von pflanzenverfügbaren Stickstoffformen untersucht. Die Stickstoffversorgung der Pflanze durch Diffusion hängt neben anderen Faktoren stark vom Bodenwassergehalt ab. Bisher konnte keine direkte Messung der Diffusion von Nitrat und Ammonium in Böden in Abhängigkeit vom Bodenwassergehalt durchgeführt werden. Das Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss vom Bodenwassergehalt auf die Diffusion von Nitrat und Ammonium zu untersuchen. Zusätzlich soll überprüft werden, ob und wie viel von dem durchpumpten Wasser aus dem Mikrodialyse-System (siehe Kapitel 4) durch die semipermeable Membran in das Bodensubstrat mit unterschiedlichen Wassergehalten osmotisch entweicht. Da sich das Bodenwasser in dem Porengefüge der Bodenmatrix befindet und dessen Struktur auch von der Körnung des Bodens abhängt (Scheffer & Schachtschabel 2010), werden Bodensubstrate unterschiedlicher Körnung herangezogen. Die Mikrodialyseproben können mit unterschiedlicher Pumprate erzeugt werden und da die Pumprate einen starken Einfluss auf die Ergebnisse hat (Inselsbacher et al. 2011), wird dieser Faktor ebenfalls ausgewertet. Das Ziel dieser Arbeit ist die Beantwortung von folgenden Forschungsfragen:

1. Gibt es einen signifikanten Einfluss vom Bodenwassergehalt, vom Bodensubstrat und von der Pumprate des Mikrodialyse-Systems auf das Volumen der gewonnenen Probe und auf die Diffusion von Nitrat bzw. Ammonium?
2. Gibt es signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen bezüglich der relativen Versorgung der Pflanzen mit Nitrat und Ammonium, die einerseits mit Mikrodialyse und andererseits mit der Bodenextraktionsmethode gewonnen wurden?

3. Probenahme

Die Bodenproben für diese Arbeit wurden an drei Standorten entnommen. Zwei davon befinden sich in der Ortschaft Mitterschildbach der Gemeinde Bischofstetten und einer in der Ortschaft Seyring der Gemeinde Gerasdorf bei Wien (vgl. Abbildung 2). Alle drei sind landwirtschaftliche Flächen, sie unterscheiden sich aber in der Korngrößenzusammensetzung. Dadurch ist die Untersuchung von dem Faktor Körnung möglich.

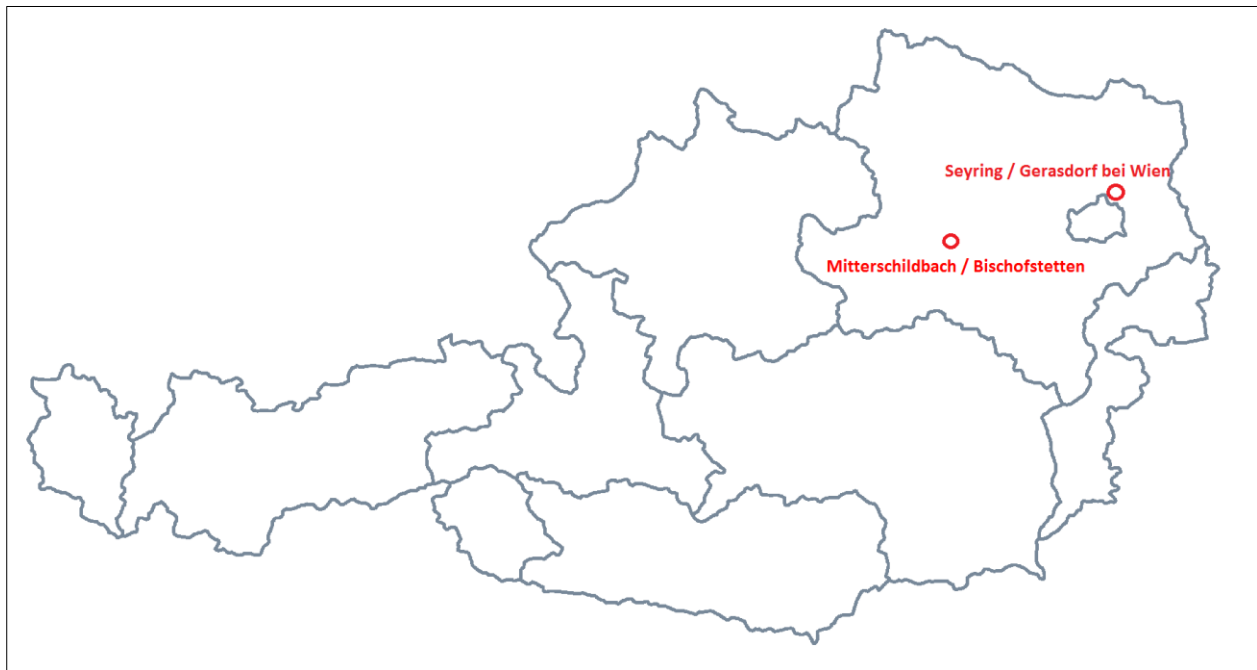


Abbildung 2: Standorte der Probenahmen (<https://www.rainbows.at/wp-content/uploads/2014/07/oesterreich.png>, modifiziert).

Der Standort 1 im Mitterschildbach befindet sich auf einem ebenen Feld, an dem Mais angebaut wird. Entlang des Feldes fließt ein Bach. Der Boden hat einen hohen Tongehalt. Der Standort 2 ist wenige hundert Meter von dem ersten Standort entfernt, im Mittelhang eines anderen Feldes mit geringer Steigung (etwa 15°). Der Boden ist lehmig. Auch dort wird Mais angebaut. Der Standort 3 in Seyring befindet sich auf einer Ebene und es wird dort Roggen angebaut. Der Boden ist sandig.

In der Folge wurde auf jedem Standort eine Mischprobe aus den obersten 30 Zentimeter des Bodens entnommen und in verschlossenen Plastikbehältern ins Labor transportiert.

4. Materialien und Methoden

Nach der Bodenprobenahme wurden die Proben im Labor behandelt und es wurden Experimente zur Beantwortung der Forschungsfragen durchgeführt. Die dabei ermittelten Werte wurden statistisch ausgewertet. Die Einzelheiten werden in diesem Kapitel beschrieben.

4.1. Probenvorbereitung

Im Labor wurde der Boden gesiebt und weiter wurde nur noch die 2-mm-Feinerde verwendet. Diese wurde durch mechanisches Mischen homogenisiert. Diese Feinerde wurde als Substrat für die Arbeit herangezogen. Böden der Standorte 1-3 entsprechen im Weiteren den Substraten S1-S3. Ein Teil der Feinerde von jedem Substrat wurde in Metallzylinder gefüllt und gewogen. Die Zylinder wurden danach in ein Wasserbad gelegt. Nach 24 Stunden wurden sie bei maximaler Wasserkapazität wieder gewogen. Schließlich wurden die Zylinder bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Aus den drei Gewichten konnten der aktuelle (vor dem Wasserbad), der maximale (nach dem Wasserbad) und der minimale (nach dem Trocknen) Wassergehalt bestimmt werden. Um den Einfluss vom Wassergehalt auf die vorgegebenen Probeparameter bestimmen zu können, wurden Substrate mit verschiedenen Wassergehaltstufen hergestellt: mit 10%, 25%, 50%, 75% und 90% des maximalen Substratwassergehaltes (weiter als WK10, WK25, WK50, WK75 und WK90). Dafür wurde jeweils ein Teil der homogenisierten Feinerde in eine Petrischale gleichmäßig verteilt und in der Folge mit Reinstwasser aus einer Sprühflasche bewässert (bzw. im Trockenschrank bei 30 °C getrocknet), bis das gewünschte Gewicht der Substratprobe, welches dem gewünschten Substratwassergehalt entspricht, erreicht wurde. Das Befeuchten in einer Petrischale war für gleichmäßige Befeuchtung der Substratprobe notwendig. Diese Vorgehensweise wurde für jede Wassergehaltstufe neu gemacht um zu vermeiden, dass der Ammonium- und Nitratentzug aus dem Substrat mittels Mikrodialyse Auswirkungen auf weitere Messungen hat. Danach wurde das Substrat jeweils in ein Becherglas (100 ml) überführt und die Mikrodialysesonde wurde eingeführt. Das Überführen in ein Probeglas erfolgte, damit die Mikrodialyse-Sonden eingeführt werden können, ohne dass sie in Kontakt mit dem Gefäß kommen.

Das ganze Mikrodialysesystem (Abb. 3) ist – wie bei Inselsbacher (2011) – folgendermaßen aufgebaut: zwei Pumpen (CMA 400) sind mit jeweils 4 Injektionsspritzen (5 ml) ausgestattet. Aus diesen führen Schläuche das Reinstwasser zu den 8 Mikrodialysesonden (CMA 20). Auf jeder Sonde befindet sich eine Polyarylethersulfon-Membran mit Molekulargewichtausschlussgrenze bei 20kDa. In diesem Bereich findet die Osmose statt – die gelösten Stoffe diffundieren aufgrund des Konzentrationsgradienten aus dem Bodensubstrat durch die Membran in den Mikrodialyseumlauf hinein. Die Sonden sind mittels weiteren Schläuchen mit zwei gekühlten Probensammlern (CMA 470) verbunden, in denen die Proben in 0,3 ml Plastikprobegefäßen gesammelt wurden. Die Proben wurden nach der Probenahme bis zur chemischen Analyse gekühlt (4 °C) gelagert. Die Geräte wurden von der Firma CMA Microdialysis AB (Solna, Schweden) angeschafft.

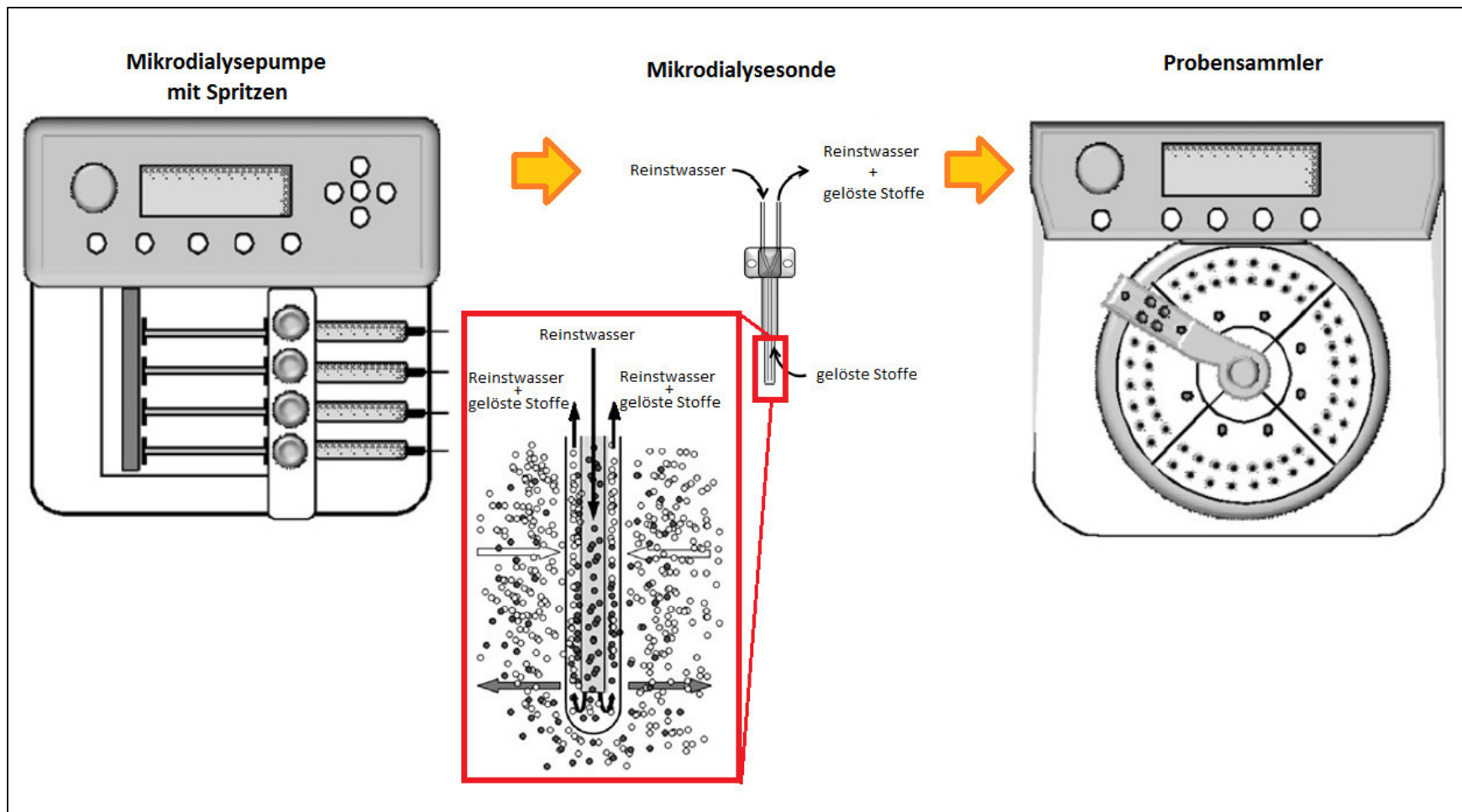


Abbildung 3: Aufbau des Mikrodialysesystems (Inselbacher et al. 2011; Chaurasia et al. 2007, modifiziert).

Das Volumen der Proben wurde durch das Wiegen der Probegefäße vor und nach der Mikrodialyse ermittelt. Bei jedem Substrat und jeder Wassergehaltstufe wurden die Proben bei 3 Mikrodialyse-Pumpraten hergestellt: $1\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ (weiter nur G1), $5\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ (weiter nur G5) und $10\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ (weiter nur G10). Aus drei Substraten, 3 Mikrodialyse-Pumpraten und fünf Wassergehaltstufen ergeben sich 45 Experimentgruppen, mit jeweils 8 Pseudoreplikaten. Das entspricht insgesamt 360 Proben. Durch das Untersuchen von Unterschieden zwischen diesen Gruppen kann die Forschungsfrage 1 beantwortet werden.

Abgesehen von den Mikrodialyseproben wurden auch Substratproben mittels Extraktion vorbereitet: 2 g Feinerde wurden in 15 ml Reinstwasser bzw. Kaliumchlorid (KCl; 1M) extrahiert. Die Extraktion in Szintillationsgefäßen (20 ml) dauerte jeweils eine Stunde im Schüttelapparat bei der Frequenz von 375 rpm. Danach wurde der Inhalt der Behälter durch Filterpapier filtriert und bis zur Analyse gekühlt ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) gelagert. Pro Substrat wurden immer eine Wasserextrakt- und eine KCl-Extraktgruppe mit jeweils 8 Pseudoreplikaten erzeugt. Durch das Untersuchen von Unterschieden zwischen den Mikrodialyse- und Extraktproben hinsichtlich der Nitrat- und Ammoniumgehalten kann die Forschungsfrage 2 beantwortet werden.

4.2. Chemische Analyse

Nach dem Vorbereiten der Proben wurden ihre Nitrat- und Ammoniumgehalte ermittelt.

4.2.1. Nitrat

Der Nitratgehalt der Proben wurde mit der Vanadium(III)-Chlorid und Griess-Methode nach Hood-Nowotny et al. (2010) analysiert, die auf der Prozedur nach Miranda et al. (2001) basiert: 400 mg Vanadium(III)-Chlorid wurden in 50 ml 1-molarer Salzsäure gelöst. 50mg N-(1-Naphthyl)-ethylendiamin Dihydrochlorid (NEDD) wurden in 250 ml Reinstwasser gelöst (Griess-Reagenz 1). 5 g Sulfanilamid wurden in 500 ml 3-molarer Salzsäure gelöst (Griess-Reagenz 2). Nach der Zubereitung von den Chemikalien wurden jeweils $75\mu\text{l}$ von Standards, Klarproben und Proben in Polystyrol-Mikrotiter-Platten pipettiert. Es wurden jeweils $75\mu\text{l}$ von Vanadium(III)-Chlorid dazu pipettiert. Dann wurden die beiden Griess-Reagenzien im Verhältnis 1:1 vermischt und um die Farbreaktion hervorzurufen wurden jeweils $75\mu\text{l}$ von dieser Mischung dazu pipettiert. Die Platten wurden in der Folge bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ eine Stunde lang inkubiert. Die Extinktion von den Proben wurde mit dem Photometer TECAN NanoQuant infinite M200 PRO bei einer Wellenlänge von 540 nm gemessen.

Die Standards ($500\text{--}3,9\mu\text{M}$) wurden aus einer Stammlösung (100 mM) durch Verdünnung in Reinstwasser vorbereitet. Die Stammlösung wurde vorbereitet, in dem 1,01 g KNO_3 in 100 ml Reinstwasser bzw. Kaliumchlorid (KCl; 1M) gelöst wurde.

4.2.2. Ammonium

Der Ammoniumgehalt der Proben wurde mit einer modifizierten Indophenol-Methode nach Hood-Nowotny et al. (2000) analysiert, die auf der klassischen Berthelot-Reaktion basiert (Kandeler & Gerber 1988): 0,6 g Natriumhydroxid (NaOH) wurde in Reinstwasser gelöst. Weiter wurden 8,5 g Natriumsalicylat und 63,9 mg Natrium Nitroprussid Dihydrat in 50 ml Reinstwasser gelöst. Aus diesen 2 Lösungen wurde direkt vor der Messung ein Farbreagenz hergestellt, in dem beide mit Reinstwasser im Verhältnis 1:1:1 gemischt wurden. Die Oxidationslösung wurde durch Lösen von 0,1 g Dichlorisocyanursäure Natriumsalz-

Dihydrat in 100 ml Reinstwasser hergestellt. Es wurden wieder 75 µl von Standards, Klarproben und Proben in Mikrotiter-Platten pipettiert. Danach wurden 75 µl vom frisch vorbereiteten Farbreagens und direkt im Anschluss 30 µl der Oxidationslösung dazu pipettiert. Die Extinktion von den Proben wurde mit dem Photometer nach 30 Minuten bei 640 nm gemessen.

Die Standards (500-3,9 µM) wurden aus einer Stammlösung (100 mM) durch Verdünnung im Reinstwasser vorbereitet. Die Stammlösung wurde vorbereitet, indem 0,535 g Ammoniumchlorid (NH₄Cl) in 100 ml Reinstwasser bzw. Kaliumchlorid (KCl; 1M) gelöst wurde.

4.3. Statistische Auswertung

Nach den Labormessungen wurden die Ergebnisse statistisch ausgewertet. Die Extinktion von Nitrat und Ammonium wurde den zugehörigen Standardreihen entsprechend zu Konzentrationen in den Proben umgerechnet. Die Diffusion von Nitrat und Ammonium vom Substrat über die Mikrodialysemembran wurde weiter unter Einbeziehung der Probenahmedauer und der Membranfläche berechnet und wird als Flussrate in nmol·cm⁻²·h⁻¹ angegeben (Inselsbacher & Näsholm 2012a).

Extremwerte, die einen Abstand größer als das 1,5fache der Standardabweichung vom Mittelwert aufwiesen, wurden ausgeschlossen. Alle statistischen Tests wurden mit dem Programm SPSS durchgeführt.

Aus dem Versuchsaufbau resultieren folgende drei Faktoren, die manipuliert wurden und deren Einfluss auf die vorgegebenen Probeneigenschaften bestimmt werden sollte: der Wassergehalt, das Substrat und die Pumprate des Mikrodialysegerätes. Obwohl die Nitrat- und Ammoniumflüsse sowie die Volumina der Proben metrisches Niveau aufweisen, sind andere Voraussetzungen für parametrische Tests wie die Varianzanalyse und der t-Test nach Huber et al. (2014) nicht gegeben: pro Experimentgruppe sind maximal nur 8 Werte vorhanden, manche von diesen Gruppen sind nicht normalverteilt (geprüft mit Kolmogorov-Smirnov-Test) und die Varianzhomogenität zwischen den Gruppen (geprüft mit Levene-Test) ist überwiegend auch nicht gegeben. Deshalb wurden die Statistiken mit dem Kruskal-Wallis-Test und dem Mann-Whitney-Test berechnet. Der Kruskal-Wallis-Test ist ein nicht-parametrischer Test, mit dem die zentrale Tendenz von mehr als drei Gruppen verglichen wird. Die genannten Voraussetzungen der parametrischen Varianzanalyse sind dabei nicht gegeben (Field 2005). Nach jedem Kruskal-Wallis-Test müssen sogenannte Post-Hoc-Tests durchgeführt werden. Ein signifikantes Ergebnis bedeutet nämlich nur, dass ein oder mehrere der paarweisen Vergleiche zwischen den Gruppen signifikant ist. Es gibt aber keinerlei Auskunft darüber, wie viele und welche von diesen Vergleichen signifikant sind (ebd.). Bei dem Kruskal-Wallis-Test ist in SPSS nur der konservative Post-Hoc-Test nach Dunn-Bonferroni möglich. Falls nur zwei Gruppen verglichen werden, wird ein Mann-Whitney-Test (der sogenannte U-Test) angewendet. Dieser ist ein nicht-parametrischer Test und kann dementsprechend ohne die genannten Voraussetzungen des parametrischen t-Tests angewendet werden (Field 2005).

5. Ergebnisse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Laboranalyse und der statistischen Analyse präsentiert. In der Tabelle 1 sind Angaben zu der Probenanzahl pro Experimentgruppe angegeben. Wie schon im vorigen Kapitel erwähnt wurde, waren ursprünglich 8 Proben pro Experimentgruppe vorgesehen (Spalte *Start*). Bei Störungen während der Probenahme mittels Mikrodialyse (MD), z.B. Zerreißen der Membran auf der Sonde sind maximal 2 Pseudoreplikate pro Experimentgruppe verlorengegangen (Spalte *MD*). In dem Volumen-Datensatz gab es insgesamt 4 Extremwerte, die ausgeschlossen wurden (Spalte *EW*). Für die statistischen Tests wurden in der Folge 6 bis 8 Werte pro Experimentgruppe verwendet (Spalte *Anzahl*). Bei der Nitrat-Analyse (NO_3) gab es viele Proben, deren Extinktion unter dem Detektionslimit ($< 3,9 \mu\text{M}$) lag (Spalte *DL*). Zusammen mit weiteren 5 Proben, die während der chemischen Analyse verunreinigt wurden (Spalte *ChA*) und 6 Extremwerten wurden sie ausgeschlossen. Für statistische Tests waren also 2 bis 8 Werte pro Experimentgruppen verfügbar. Vier Experimentgruppen (S2-WK10-G10, S3-WK25-G10, S3-WK25-G5 und S3-WK25-G1) konnten gar nicht ausgewertet werden. Bei der Analyse des Ammoniumgehaltes (NH_4) waren fast alle (340 von 360) Proben unter dem Detektionslimit.

In den Kapiteln 5.1. – 5.3. werden die Analyseergebnisse von den Probeparametern Volumen, Nitratgehalt und Ammoniumgehalt präsentiert. Um die Einflüsse der einzelnen Faktoren auf die gemessenen Parameter einzeln auswerten zu können, wurden bei jeder von den Auswertungen Analysegruppen gebildet, die aus mehreren Experimentgruppen bestehen. Die Kriterien für das Bilden von den Analysegruppen sind in den entsprechenden Unterkapiteln beschrieben. In dem Kapitel 5.4. wird die Analyse der Extrakte vorgestellt. In dem Kapitel 5.5. ist der Vergleich von den Analysemethoden Extraktion und Mikrodialyse präsentiert.

5.1. Analyse vom Probevolumen

In den folgenden Unterkapiteln werden die Analysen der Einflüsse von den Faktoren Wassergehalt, Substrat und Mikrodialyse-Pumprate auf das Probevolumen vorgestellt.

5.1.1. Einfluss des Wassergehaltes

Für die Auswertung des Einflusses des Wassergehaltes auf das Probevolumen wurden bei jedem Substrat und bei jeder Pumprate die Experimentgruppen aller fünf Wassergehaltstufen zusammengeschlossen, wodurch neun Analysegruppen entstanden sind. In der Abbildung 4 sind die Volumina der Proben eingetragen. Die Pseudoreplikate sind jeweils in einer horizontalen Linie übereinander gereiht. Aus der Abbildung lässt sich bereits erkennen, dass signifikante Unterschiede im Hinblick auf den Faktor Wassergehalt vor allem bei den Analysegruppen mit der niedrigsten Pumprate G1 ($1 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$, grüne Farbe) zu erwarten sind.

In der Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests eingetragen. Mit diesem Test wurden alle Analysegruppen getestet. Nur in den Analysegruppen S1-G1, S2-G1 und S3-G1 sind die Unterschiede signifikant. Die Vermutung von signifikanten Ergebnissen bei der Pumprate G1 hat sich bestätigt.

Standort	Pumprate	Wassergehalt	Start	MD	Volumen		NO3				NH4		
					EW	Anzahl	DL	EW	ChA	Anzahl	DL	ChA	Anzahl
Substrat S1	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	8	0	1	7	4	0	0	4	8	0	0
		WK25	8	0	0	8	5	0	0	3	8	0	0
		WK50	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
		WK75	8	0	1	7	0	0	0	8	8	0	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	8	1	1	6	3	0	0	4	7	0	0
		WK25	8	0	0	8	2	0	0	6	8	0	0
		WK50	8	0	0	8	0	1	0	7	8	0	0
		WK75	8	0	0	8	0	0	0	8	7	0	1
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	8	0	0	8	4	0	0	4	7	1	0
		WK25	8	1	0	7	0	0	0	7	4	0	3
		WK50	8	1	0	7	0	0	0	7	4	0	3
		WK75	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
Substrat S2	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	8	1	0	7	7	0	0	0	7	0	0
		WK25	8	1	0	7	3	0	0	4	7	0	0
		WK50	8	0	0	8	3	0	0	5	8	0	0
		WK75	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	8	1	0	7	0	0	0	7	7	0	0
		WK25	8	1	0	7	2	1	0	4	7	0	0
		WK50	8	0	0	8	3	0	0	5	8	0	0
		WK75	8	0	0	8	0	0	0	8	7	1	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	8	1	0	7	0	0	0	7	6	1	0
		WK25	8	1	1	6	0	0	0	7	7	0	0
		WK50	8	0	0	8	0	0	0	8	4	0	4
		WK75	8	0	0	8	0	1	0	7	8	0	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	3	0	5
Substrat S3	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	8	2	0	6	4	0	0	2	5	0	1
		WK25	8	0	0	8	6	0	2	0	8	0	0
		WK50	8	0	0	8	2	0	0	6	8	0	0
		WK75	8	0	0	8	1	1	0	6	8	0	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	8	2	0	6	4	0	0	2	6	0	0
		WK25	8	0	0	8	6	0	2	0	8	0	0
		WK50	8	0	0	8	0	1	0	7	8	0	0
		WK75	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	8	2	0	6	0	1	1	4	4	0	2
		WK25	8	0	0	8	8	0	0	0	8	0	0
		WK50	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
		WK75	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0
		WK90	8	0	0	8	0	0	0	8	8	0	0

Tabelle 1: Daten zu Pseudoreplikat-Ergebniswerten der Experimentgruppen: Anfangsanzahl der Proben (Start), Ausschluss der Proben im Zuge der Mikrodialyse-Beprobung (MD), im Zuge der chemischen Analyse (ChA), aufgrund der Unterschreitung vom Detektionslimit (DL), aufgrund von Extremwerten (EW) und die tatsächliche Anzahl der Proben pro Parameter, die in der Analyse ausgewertet wurden (Anzahl).



Abbildung 4: Probevolumen nach Experimentgruppen. Auf der x-Achse sind die Wassergehaltstufen und auf der y-Achse die Probevolumina (in μl ; gravimetrisch bestimmt) eingetragen. Das Zielvolumen war in allen Fällen $300 \mu\text{l}$ und wurde durch die Probenahmedauer bestimmt (30 min bei $10 \mu\text{l min}^{-1}$ Pumprate, 1 h bei $5 \mu\text{l min}^{-1}$, 5 h bei $1 \mu\text{l min}^{-1}$). WK10, WK25, WK50, WK75 und WK90 stehen für 10, 25, 50, 75 und 90% der maximalen Wasserkapazität.

Substrat 1			Substrat 2			Substrat 3		
G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1
0,656	0,779	0,004	0,556	0,854	0,003	0,636	0,808	0,016

Tabelle 2: Signifikanzergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests vom Parameter Probevolumen beim Faktor Wassergehalt nach Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

In der Tabelle 3 sind die Ergebnisse vom Post-Hoc-Test nach Dunn-Bonferroni eingetragen. In der Analysegruppe S1-G1 unterscheidet sich der Wassergehalt WK10 von den Gehalten WK50, WK75 und WK90 signifikant. In der Analysegruppe S2-G1 unterscheidet sich der Wassergehalt WK10 von WK75 und WK90 signifikant. In der Analysegruppe S3-G1 gibt es einen signifikanten Unterschied nur zwischen den Wassergehalten WK10 und WK75.

Substrat 1 - G1					Substrat 2 - G1					Substrat 3 - G1				
WK	25	50	75	90	WK	25	50	75	90	WK	25	50	75	90
10	0,234	0,024	0,009	0,013	10	1	0,485	0,015	0,005	10	1	1	0,035	0,137
25		1	1	1	25		1	0,452	0,226	25		1	0,171	0,588
50			1	1	50			1	1	50			1	1
75				1	75				1	75				1

Tabelle 3: Signifikanzergebnisse der Post-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni vom Parameter Probevolumen beim Faktor Wassergehalt in den signifikanten Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

Insgesamt zeigen die Statistiken, dass es signifikante Wassergehalt-bedingte Unterschiede beim Probeparameter Probevolumen nur in den Analysegruppen mit niedrigster Pumprate des Mikrodialysegerätes gibt. Es unterscheidet sich immer der Wassergehalt WK10 von den mittleren bzw. höheren WK50 und/oder WK75 und/oder WK90.

5.1.2. Einfluss des Substrates

Für die Auswertung des Einflusses des Substrates auf das Probevolumen wurden bei jeder Wassergehaltstufe und bei jeder Pumprate die Experimentgruppen der drei Substrate zusammengeschlossen, wodurch fünfzehn Analysegruppen entstanden sind. In der Tabelle 4 sind die Ergebnisse vom Kruskal-Wallis Test eingetragen. Es gibt kein signifikantes Ergebnis.

WK10			WK25			WK50			WK75			WK90		
G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1
0,76	0,96	0,33	0,15	0,74	0,91	0,89	0,99	0,80	0,45	0,43	0,35	0,37	0,37	0,50

Tabelle 4: Signifikanzergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests vom Parameter Probevolumen beim Faktor Substrat nach Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

Insgesamt gibt es bei dem Faktor Substrat keinen signifikanten Einfluss auf das gewonnene Probevolumen.

5.1.3. Einfluss der Pumprate

Für die Auswertung des Einflusses der Mikrodialyse-Pumprate auf das Probevolumen wurden bei jeder Wassergehaltstufe und Substrat die Experimentgruppen von allen drei Pumpraten zusammengeschlossen, wodurch fünfzehn Analysegruppen entstanden sind.

Aus der Abbildung 4 lassen sich Unterschiede zwischen den Pumpraten vor allem in den Analysegruppen mit den niedrigen Wassergehaltstufen vermuten. In der Tabelle 5 sind die Ergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests eingetragen. In 6 Analysegruppen sind die Ergebnisse signifikant. Es sind überwiegend Analysegruppen mit niedrigen Wassergehaltstufen WK10 und WK25. Die Vermutung von signifikanten Ergebnissen bei niedrigen Wassergehalten hat sich bestätigt.

Substrat 1				
WK10	WK25	WK50	WK75	WK90
0,001	0,005	0,152	0,418	0,553

Substrat 2				
WK10	WK25	WK50	WK75	WK90
0,003	0,391	0,049	0,169	0,2

Substrat 3				
WK10	WK25	WK50	WK75	WK90
0,014	0,003	0,164	0,339	0,332

Tabelle 5: Signifikanzergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests vom Parameter Probevolumen beim Faktor Pumprate nach Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

In der Tabelle 6 sind die Ergebnisse von Post-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni eingetragen. In der Analysegruppe S2-WK50 gibt es kein signifikantes Ergebnis, was aus der sehr konservativen Bonferroni-Korrektur resultiert. Das Probevolumen unterscheidet sich in den restlichen Analysegruppen immer zwischen der niedrigsten und höchsten Pumprate, oft auch zwischen der mittleren und höchsten Rate.

Substrat 1 - WK10			Substrat 2 - WK10			Substrat 3 - WK10		
	G5	G1		G5	G1		G5	G1
G10	1	0,001	G10	1	0,007	G10	1	0,015
G5		0,014	G5		0,018	G5		0,12

Substrat 1 - WK25			Substrat 2 - WK50			Substrat 3 - WK25		
	G5	G1		G5	G1		G5	G1
G10	1	0,005	G10	1	0,121	G10	1	0,003
G5		0,039	G5		0,085	G5		0,059

Tabelle 6: Signifikanzergebnisse der Post-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni vom Parameter Probevolumen beim Faktor Pumprate in den signifikanten Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

Allgemein zeigen die Statistiken, dass sich die niedrigste von den höheren Pumpraten bei den niedrigen Wassergehaltstufen signifikant unterscheidet.

5.2. Analyse von Nitrat

In den folgenden Unterkapiteln werden die Analysen der Einflüsse von den Faktoren Wassergehalt, Substrat und Mikrodialyse-Pumprate auf den Nitratfluss vorgestellt.

5.2.1. Einfluss des Wassergehaltes

Für die Auswertung des Einflusses des Wassergehaltes auf den Nitratfluss wurden bei jedem Substrat und bei jeder Pumprate die Experimentgruppen aller fünf Wassergehaltstufen zusammengeschlossen, wodurch neun Analysegruppen entstanden sind.

In der Abbildung 5 sind die Nitratflüsse der Proben zu sehen. Die Pseudoreplikate sind jeweils in einer horizontalen Linie übereinander gereiht. Im Unterschied zum Parameter Probevolumen scheint es hier in jeder Analysegruppe mehrere signifikante Unterschiede zu geben.

In der Tabelle 7 sind die Signifikanzergebnisse vom Kruskal-Wallis-Test eingetragen. Alle Ergebnisse sind signifikant. Die Vermutung von signifikanten Ergebnissen hat sich bestätigt.

Die Ergebnisse von den Post-Hoc-Tests sind in der Tabelle 8 eingetragen. In den Analysegruppen S1-G10 und S2-G5 unterscheiden sich der Wassergehalt WK10 von den WK75 und WK90 sowie WK25 von WK75 signifikant. In der Analysegruppen S1-G5 und S2-G1 unterscheiden sich WK10 und WK25 jeweils von WK75 und WK90 signifikant. In der Analysegruppe S1-G1 unterscheiden sich WK10 und WK25 jeweils von WK50 und WK90 signifikant. In der Analysegruppe S2-G10 unterscheiden sich WK25 und WK50 von WK75 signifikant. In der Analysegruppen S3-G10 sowie S3-G5 unterscheiden sich WK10 und WK50 jeweils von WK90 signifikant. In der Analysegruppe S3-G1 unterscheidet sich WK10 von WK50 und WK75 signifikant. Es wurde vermutet, dass die Analyse mehr signifikante Vergleiche zeigt.

Allgemein zeigen die Statistiken, dass sich die niedrigeren Wassergehalte WK10 und WK25 von den höheren oft signifikant unterscheiden, jedoch nicht unter sich selbst (weder die niedrigeren noch die höheren Wassergehaltstufen).

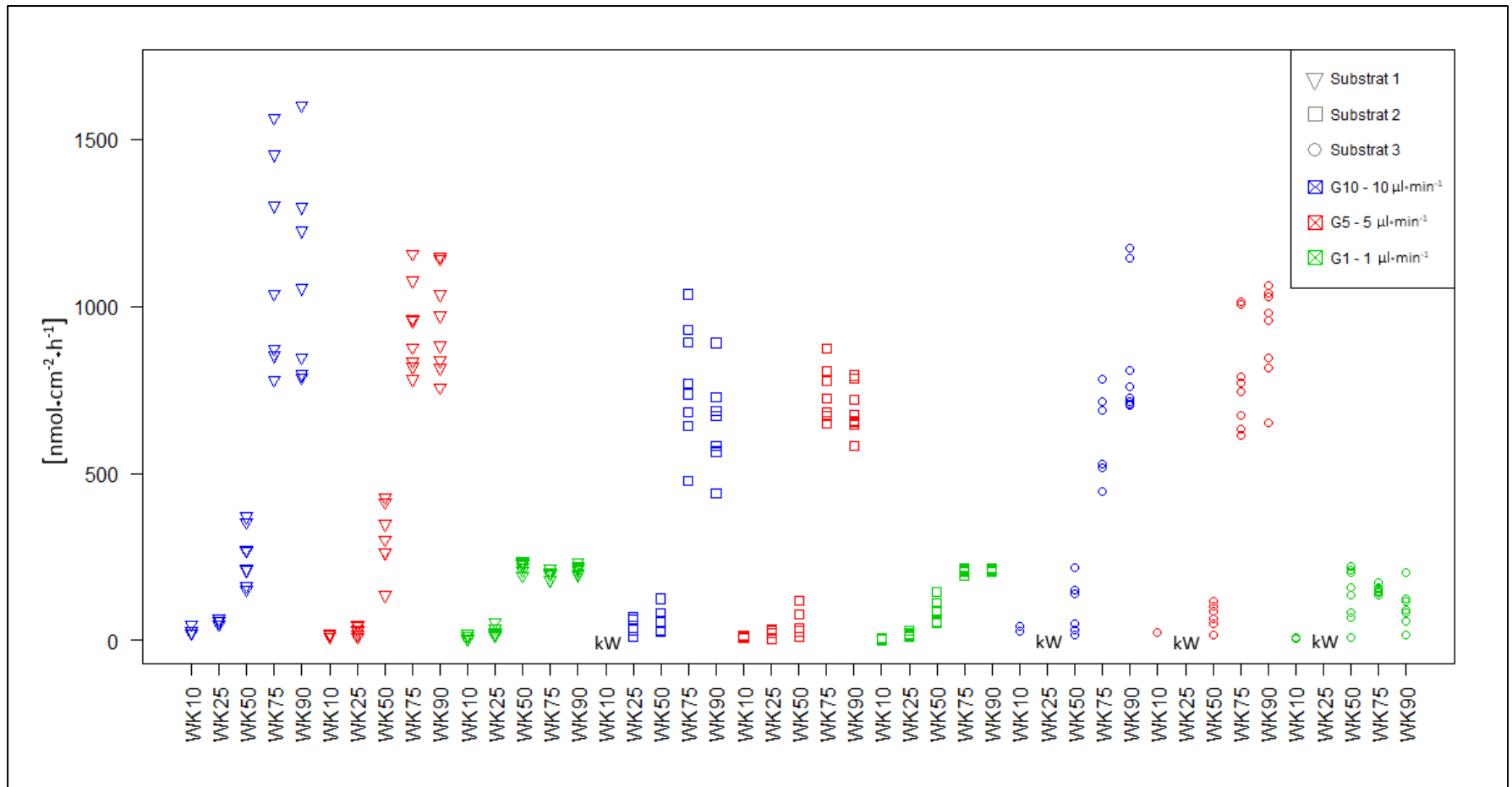


Abbildung 5: Nitratflüsse nach Experimentgruppen. Auf der x-Achse sind die Wassergehaltstufen und auf der y-Achse die Diffusionsraten von Nitrat über die Mikrodialysemembran der Nitratfluss der Proben eingetragen. WK10, WK25, WK50, WK75 und WK90 stehen für 10, 25, 50, 75 und 90% der maximalen Wasserkapazität. kW steht für keine Werte.

Substrat 1			Substrat 2			Substrat 3		
G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1
0	0	0	0	0	0	0,001	0	0,005

Tabelle 7: Signifikanzergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests von Nitratflüssen beim Faktor Wassergehalt nach Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

Substrat 1 - G10					Substrat 2 - G10					Substrat 3 - G10				
WK	25	50	75	90	WK	50	75	90		WK	50	75	90	
10	1	1	0,001	0,003	25	1	0,005	0,088		10	1	0,382	0,028	
25		1	0,032	0,061	50		0,005	0,096		50		0,22	0,002	
50			0,055	0,123	75			1		75			1	
75				1										
Substrat 1 - G5					Substrat 2 - G5					Substrat 3 - G5				
WK	25	50	75	90	WK	25	50	75	90	WK	50	75	90	
10	1	0,761	0,002	0,001	10	1	1	0	0,003	10	1	0,171	0,018	
25		1	0,005	0,003	25		1	0,033	0,139	25		0,74	0,001	
50			0,246	0,189	50			0,105	0,41	50				
75				1	75				1	75				1
Substrat 1 - G1					Substrat 2 - G1					Substrat 3 - G1				
WK	25	50	75	90	WK	25	50	75	90	WK	50	75	90	
10	1	0,001	0,205	0,006	10	1	0,096	0	0	10	0,022	0,004	0,356	
25		0,002	0,479	0,009	25		1	0,011	0,006	25		1	1	
50			0,571	1	50			0,426	0,317	50				
75				1	75				1	75			0,409	

Tabelle 8: Signifikanzergebnisse der Post-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni von Nitratflüssen beim Faktor Wassergehalt in den signifikanten Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

5.2.2. Einfluss des Substrates

Für die Auswertung des Einflusses des Substrates auf den Nitratfluss wurden bei jeder Wassergehaltstufe und bei jeder Pumprate die Experimentgruppen von allen drei Substraten zusammengeschlossen, wodurch fünfzehn Analysegruppen entstanden sind.

Aus der Abbildung 5 lassen sich in manchen Analysegruppen Unterschiede vermuten. In der Tabelle 9 sind die Ergebnisse vom Kruskal-Wallis Test eingetragen. Bei Analysegruppen mit zwei Experimentgruppen wurde der Mann-Whitney-Test durchgeführt. Signifikant sind vor allem höhere Wassergehaltstufen. Die Vermutung von signifikanten Ergebnissen hat sich bestätigt.

	WK10			WK25			WK50			WK75			WK90		
	G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1	G10	G5	G1
K-W		0,08	0,02				0	0	0	0,01	0,01	0	0	0	0
M-W	0,53			0,86	0,61	0,05									

Tabelle 9: Signifikanzergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests (K-W) bzw. der Mann-Whitney-Tests (M-W) von Nitratflüssen beim Faktor Substrat nach Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

In der Tabelle 10 sind die Ergebnisse von Post-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni eingetragen. In der Analysegruppe WK10-G1 gibt es aufgrund der strengen Bonferroni-Korrektur keine signifikanten Ergebnisse. In den Analysegruppen WK50-G10 und WK50-G5 unterscheidet sich jeweils das Substrat S1 von den anderen zwei Substraten signifikant. In den Analysegruppen WK50-G1, WK75-G5 und WK90-G10 unterscheidet sich jeweils nur das Substrat S1 von dem Substrat S2 signifikant. In der Analysegruppe WK75-G10 unterscheidet sich nur das Substrat S1 von dem Substrat S3 signifikant. In den Analysegruppen WK75-G1 und WK90-G1 unterscheidet sich jeweils das Substrat S3 von den anderen zwei signifikant. In der Analysegruppe WK90-G5 unterscheidet sich das Substrat S2 von den anderen zwei signifikant.

WK50 - G10			WK75 - G10			WK90 - G10		
	S2	S3		S2	S3		S2	S3
S1	0,007	0,035	S1	0,136	0,005	S1	0,002	0,359
S2		1	S2		0,586	S2		0,183
WK50 - G5			WK75 - G5			WK90 - G5		
	S2	S3		S2	S3		S2	S3
S1	0,005	0,01	S1	0,017	0,078	S1	0,006	1
S2		1	S2		1	S2		0,014
WK10 - G1			WK50 - G1			WK75 - G1		
	S2	S3		S2	S3		S2	S3
S1	0,065	1	S1	0,001	0,056	S1	0,584	0,017
S2		0,065	S2		0,715	S2		0
			WK90 - G1					
	S2	S3		S2	S3		S2	S3
S1			S1			S1	1	0,001
S2			S2			S2		0,008

Tabelle 10: Signifikanzergebnisse der Post-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni von Nitratflüssen beim Faktor Substrat in den signifikanten Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

Die Statistiken zeigen, dass sich die Substrate bei dem mittleren und bei den höheren Wassergehalten signifikant unterscheiden. Meistens unterscheidet sich Substrat 1 von den anderen signifikant, Substrate 2 und 3 unterscheiden sich selten.

5.2.3. Einfluss der Pumprate

Für die Auswertung des Einflusses der Mikrodialyse-Pumprate auf den Nitratfluss wurden bei jeder Wassergehaltstufe und Substrat die Experimentgruppen von allen drei Pumpraten zusammengeschlossen, wodurch fünfzehn Analysegruppen entstanden sind.

Aus der Abbildung 5 lassen sich Unterschiede vor allem in den Analysegruppen mit den höheren Wassergehalten (WK75, WK90) vermuten. In der Tabelle 11 sind die Ergebnisse vom Kruskal-Wallis Test eingetragen. Acht Analysegruppen zeigen ein signifikantes Ergebnis. Bei der Analysegruppe mit zwei Experimentgruppen (S2-WK10) wurde der Mann-Whitney-Test durchgeführt. Dieser ist signifikant, die mittlere Pumprate unterscheidet sich dort also von der niedrigsten signifikant. Die Vermutung von signifikanten Ergebnissen hat sich bestätigt, es sind jedoch auf Analysegruppen der niedrigsten Wassergehaltstufe WK10 signifikant.

	S1					S2					S3			
WK	10	25	50	75	90	10	25	50	75	90	10	50	75	90
K-W	0,021	0,082	0,148	0	0		0,25	0,286	0,001	0	0,05	0,263	0	0
M-W						0								

Tabelle 11: Signifikanzergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests (K-W) und der Mann-Whitney-Tests (M-W) von Nitratflüssen beim Faktor Pumprate nach Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

In der Tabelle 12 sind die Ergebnisse der Pos-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni eingetragen. In der Analysegruppe S3-WK10 gibt es aufgrund der konservativen Bonferroni-Korrektur kein signifikantes Ergebnis. In der Analysegruppe S1-WK10 unterscheiden sich nur die niedrigste und höchste Pumprate voneinander, in den restlichen Analysegruppen unterscheidet sich die niedrigste Pumprate jeweils von den beiden höheren.

S1 - WK10		
	G5	G1
G10	0,118	0,024
G5		1

S1 - WK75		
	G5	G1
G10	1	0,001
G5		0,005

S2 - WK75		
	G5	G1
G10	1	0,001
G5		0,007

S3 - WK75		
	G5	G1
G10	0,839	0,035
G5		0

S1 - WK90		
	G5	G1
G10	1	0,001
G5		0,003

S2 - WK90		
	G5	G1
G10	1	0,006
G5		0,001

S3 - WK90		
	G5	G1
G10	1	0,007
G5		0,001

Tabelle 12: Signifikanzergebnisse der Post-Hoc-Tests nach Dunn-Bonferroni von Nitratflüssen beim Faktor Pumprate in den signifikanten Analysegruppen. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

Die Statistiken zeigen, dass es signifikante Unterschiede bezüglich der Pumprate bei allen drei Substraten gibt und zwar bei den Wassergehalten WK10, WK75 und WK90. Es unterscheidet sich immer die niedrigste Pumprate von der höchsten bzw. meistens von den beiden höheren Pumpraten.

5.3. Analyse von Ammonium

Bei der Messung vom Ammonium waren nur 20 von den insgesamt 360 Proben über dem Detektionslimit (3,9 µM). Dementsprechend ist die Untersuchung vom Einfluss der Faktoren Wassergehalt, Substrat und Mikrodialyse-Pumprate nicht möglich.

5.4. Extrakte

In den folgenden Unterkapiteln werden die Analysen der Einflüsse von den Faktoren Substrat und Extraktionsmittel auf die Nitrat- und Ammoniumgehalte der Proben vorgestellt.

5.4.1. Einfluss des Extraktionsmittels

Es wurden von jedem Substrat jeweils acht Wasserextraktproben (weiter nur Wasser) und acht Kaliumchloridextraktproben (weiter nur KCl) hergestellt und ihr Nitrat- und Ammoniumgehalt gemessen. In den Gruppen S1-Wasser und S2-Wasser waren Ammoniumgehalte von jeweils fünf Proben unter dem Detektionslimit.

In den Abbildungen 6 und 7 sind die Nitrat- und Ammoniumgehalte der Extraktproben zu sehen. Die Pseudoreplikate sind jeweils in einer horizontalen Linie übereinander gereiht. Signifikante Unterschiede zwischen den Wasser- und KCl-Extraktgruppen sind basierend auf den Abbildungen bei jedem Substrat sowohl beim Nitrat- als auch beim Ammoniumgehalt zu erwarten.

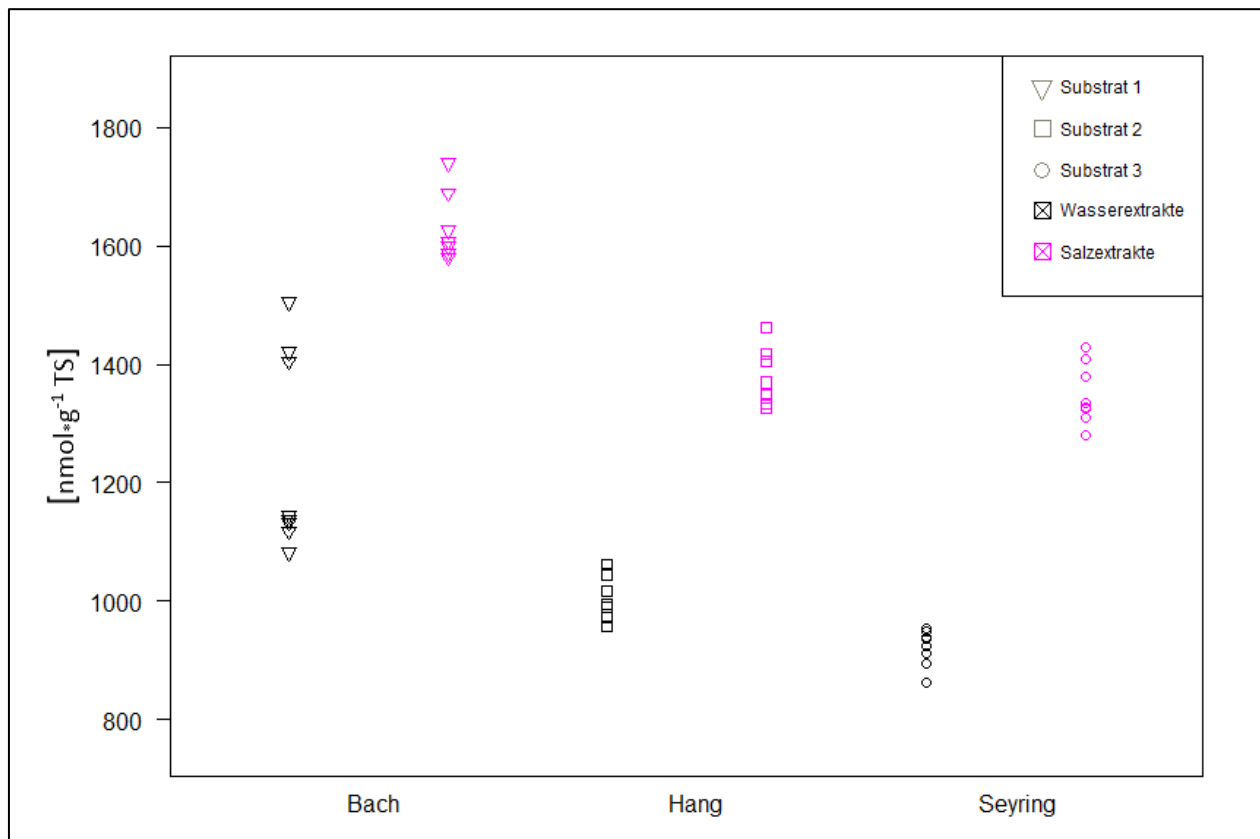


Abbildung 6: Nitratgehalte der Extraktgruppen. Auf der y-Achse ist der Nitratgehalt der Proben eingetragen. TS steht für Trockensubstanz.

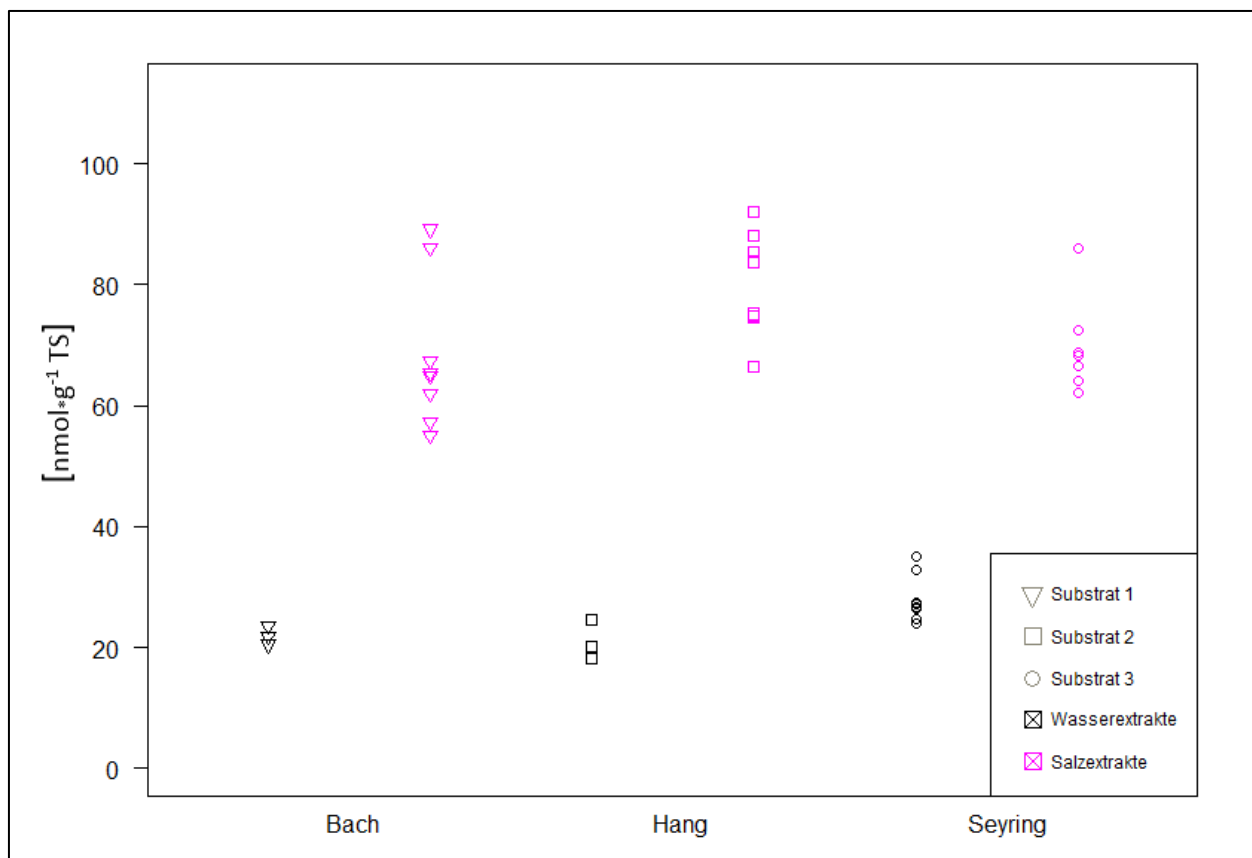


Abbildung 7: Ammoniumgehalte der Extraktgruppen. Auf der y-Achse ist der Ammoniumgehalt der Proben eingetragen. TS steht für Trockensubstanz.

In der Tabelle 13 sind die Signifikanzergebnisse der Mann-Whitney-Tests für den Faktor Extraktionsmittel eingetragen. Alle Ergebnisse sind signifikant, das heißt, dass sich die Wasser- und KCl-Extrakte hinsichtlich des Ammonium- und Nitratgehaltes bei allen Substraten voneinander signifikant unterscheiden. Die Vermutung von signifikanten Ergebnissen hat sich bestätigt.

	Substrat 1	Substrat 2	Substrat 3
Nitrat	0	0	0
Ammonium	0,012	0,012	0

Tabelle 13: Signifikanzergebnisse der Mann-Whitney-Tests von Nitrat- und Ammoniumgehalten beim Faktor Extraktionsmittel nach Substraten. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

5.4.2. Einfluss des Substrats

Aus den Abbildungen 6 und 7 lässt sich vermuten, dass signifikante Unterschiede zwischen den Substraten eher bei den Nitratgehalten zu erwarten sind und zwar bei beiden Extraktionsmitteln (Wasser und KCl). In der Tabelle 14 sind die Ergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests für den Faktor Substrat eingetragen. Alle Ergebnisse sind signifikant. Die Vermutung von signifikanten Ergebnissen hat sich bestätigt, es gibt signifikante Ergebnisse bei den Nitrat- und Ammoniumgehalten.

	Wasserextrakte	Salzextrakte
Nitrat	0	0
Ammonium	0,012	0,048

Tabelle 14: Signifikanzergebnisse der Kruskal-Wallis-Tests von Nitrat- und Ammoniumgehalt beim Faktor Substrat nach Extraktionsmittel. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

In der Tabelle 15 sind die Post-Hoc-Test-Ergebnisse eingetragen. Beim Nitrat unterscheiden sich unter den Wasserextraktgruppen die Substrate S1 und S3 signifikant voneinander. Bei Salzextrakten unterscheidet sich das Substrat S1 von den beiden anderen. Beim Ammonium unterscheiden sich die Wasserextraktgruppen zwischen den Substraten S2 und S3. Bei Salzextrakten gibt es aufgrund der sehr konservativen Bonferroni-Korrektur kein signifikantes Ergebnis.

Nitrat	Wasserextrakte			Salzextrakte		
		Substrat 2	Substrat 3		Substrat 2	Substrat 3
	Substrat 1	0,071	0	Substrat 1	0,007	0,001
	Substrat 2		0,071	Substrat 2		1
Ammonium	Wasserextrakte			Salzextrakte		
		Substrat 2	Substrat 3		Substrat 2	Substrat 3
	Substrat 1	1	0,073	Substrat 1	0,054	1
	Substrat 2		0,039	Substrat 2		0,231

Tabelle 15: Signifikanzergebnisse der Post-Hoc-Tests Tests von Nitrat- und Ammoniumgehalt beim Faktor Substrat nach Extraktionsmittel. Werte unter dem 0,05-Signifikanzniveau (hervorgehoben) sind signifikant.

Die Statistiken zeigen, dass sich die Wasser- und KCl-Extrakte bei allen Substraten voneinander signifikant unterscheiden – sowohl beim Nitratgehalt als auch beim Ammoniumgehalt. Beim Nitrat unterscheidet sich das tonigste Substrat von den grobkörnigeren signifikant, beim Ammonium gibt es in den Ergebnissen bezüglich der Korngröße keinen allgemeinen Trend.

5.5. Vergleich der Analysemethoden

Ein direkter Vergleich von den beiden angewendeten Methoden ist schwierig, weil die Mikrodialyse einen Stofffluss und die Extraktion einen Gesamtgehalt ermittelt. Man kann jedoch die Anteile von den Stickstoffformen vergleichen. In der Abbildung 8 ist das Verhältnis von Nitrat und Ammonium (weiter nur N-Koeffizient) eingetragen. Wie man sieht, sind nur 7 von 45 Mikrodialyse-Experimentgruppen eingetragen, da nur in wenigen Proben Ammonium nachgewiesen werden konnte, und zwei davon haben jeweils nur einen Wert. Die Mikrodialysewerte haben auch eine extreme Streuung, weshalb hier auf statistische Auswertung verzichtet wird. Wenn man die Wasser- und Salzextrakte vergleicht, haben die Salzextrakte bei jedem Substrat einen niedrigeren N-Koeffizient als die Wasserextrakte.

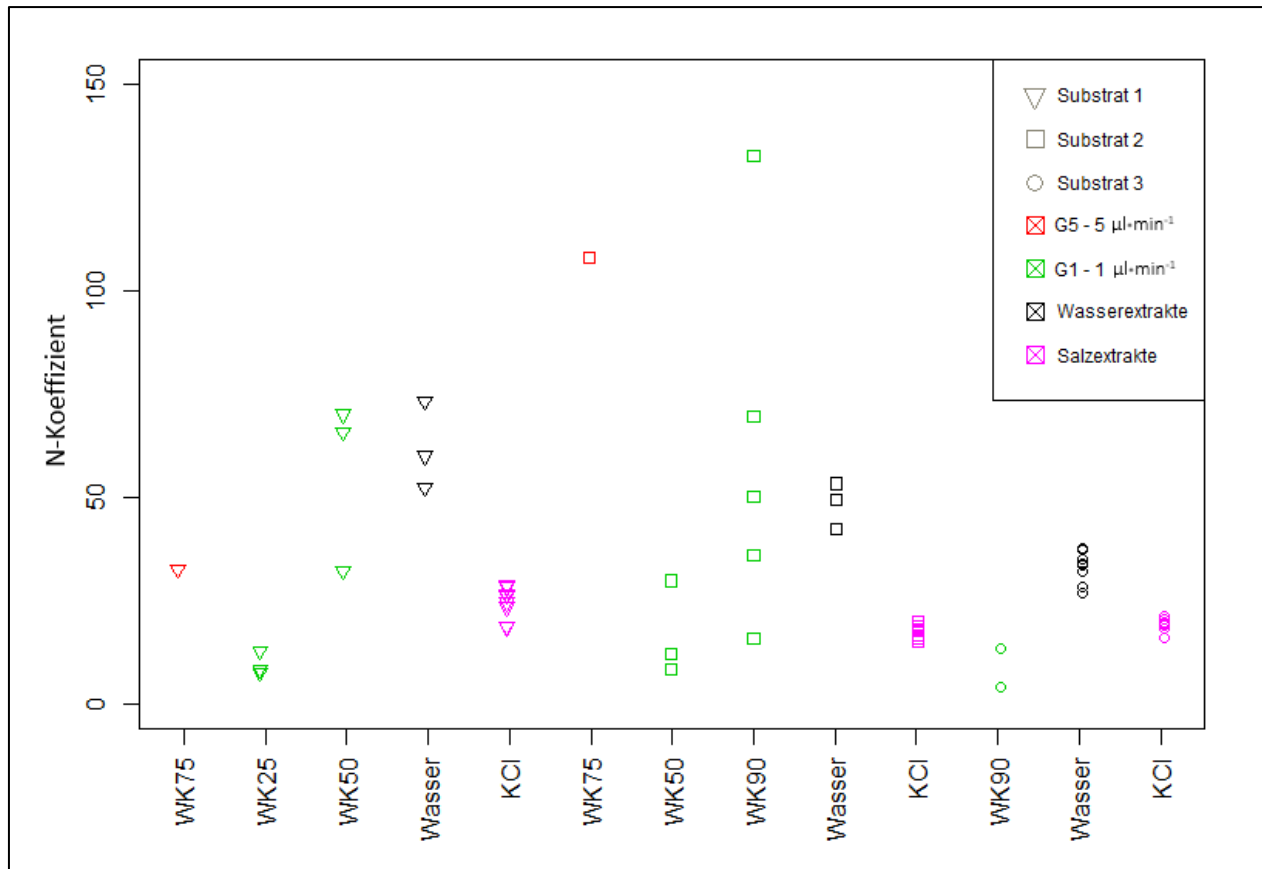


Abbildung 8: N-Koeffizient (Konzentration Nitrat : Ammonium) der Mikrodialyse- und Extraktgruppen.

6. Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Analyse aus dem Kapitel 5 näher betrachtet und kritisch interpretiert. Die Ursachen von den aufgedeckten Unterschieden werden aufgezeigt und die Wirkungsmechanismen werden beschrieben.

6.1. Probevolumen

Die Analyse des Parameters Volumen zeigte, dass man nur bei der niedrigsten Pumprate G1 ($1 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$) einen signifikanten Einfluss von Wassergehalt auf das Probevolumen feststellen kann: WK10 unterscheidet sich von den hohen Wassergehalten. Das Substrat hat auf das Probevolumen keinen Einfluss. Weiter zeigte sich, dass die niedrigste Pumprate des Mikrodialysegerätes nur bei niedrigen Wassergehalten (WK10 und WK25) in einem signifikant niedrigeren Probevolumen als bei höheren Pumpraten resultiert.

Das Muster ist also eindeutig: insgesamt zeigen die Ergebnisse in dem Kapitel 5.1., dass die niedrigste Pumprate in Kombination mit den niedrigen Wassergehalten des Substrates ein signifikant niedrigeres Probevolumen zu Folge hat.

6.1.1. Wassergehalt

Die Volumenunterschiede aufgrund des unterschiedlichen Wassergehaltes sind mit dem Konzept des Matrixpotenzials (bzw. Saugdrucks) des Bodensubstrates zu erklären. Je trockener das Substrat, desto niedriger das Matrixpotenzial und desto stärker wird das verbleibende Wasser von Matrixpotenzialbedingten Kräften zurückgehalten (Scheffer & Schachtschabel 2010).

Wenn die Mikrodialyse-Sonde in ein trockenes Substrat eingeführt wird, tritt aufgrund des Feuchtegradienten Wasser durch die Membran aus dem Mikrodialysekreislauf ins Substrat aus. Es entsteht dort ein Bereich, in dem das Matrixpotenzial ansteigt. Es entsteht ein Matrixpotenzialgefälle zwischen dem feuchten Substratbereich bei der Sonde und dem vergleichsweise trockenen Substratbereich mit niedrigerem Matrixpotenzial herum. Je trockener das Substrat ist, desto größer ist dieses Gefälle und die dadurch induzierte Wasserbewegung vom Bereich des höheren Potenzials in Richtung des niedrigeren Potenzials findet schneller statt. Einfach gesagt, je trockener das Substrat, desto schneller (bzw. mit desto größerer Kraft) wird das Wasser aus dem Mikrodialyse-Kreislauf entzogen.

Das Kapitel 5.1.1. zeigte erstmals, welche Experimentgruppen sich voneinander signifikant unterscheiden. Um das Ausmaß dieser Unterschiede deutlich zu präsentieren, werden in der Tabelle 16 die mittleren Tendenzen der Experimentgruppen innerhalb der Analysegruppen in Prozentverhältnisse gesetzt. Da die Analysegruppen teilweise Werte haben, fließen die Randwerte relativ stark in den Mittelwert ein. Bei Gruppen mit wenigen Werten empfiehlt sich daher die Verwendung des Medians anstatt von Mittelwert (Holling & Gediga 2011). Dementsprechend werden hier Medianwerte herangezogen. In der Tabelle 16 sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare (basierend auf dem Kapitel 5.1.1.) hervorgehoben. In der Analysegruppe S1-G1 liefert die Gruppe WK10 verhältnismäßig deutlich weniger Volumen, als die Gruppen WK50, WK75 und WK90: nur 78-80% von deren Volumen. Der Anteil von WK10 an WK25 ist interessanterweise auch 80% trotz nicht signifikanter Statistik zwischen diesen Wassergehalten. Hier wird deutlich, dass es teilweise zu Diskrepanzen zwischen der statistischen Signifikanz und den "realen" Unterschieden kommen kann. In der Analysegruppe S2-G1 weicht die Wassergehaltstufe WK10 wieder

deutlich von den Stufen WK75 und WK90 ab: sie erreicht nur 83-84% von diesen. In der Analysegruppe S3-G1 ist die Abweichung der Wassergehaltstufe WK10 von der Stufe WK75 ähnlich: 85%.

Substrat	Pumprate	Wassergehalt	Prozentanteil an			
			WK90	WK75	WK50	WK25
Substrat S1	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	104	103	103	98
		WK25	106	104	104	
		WK50	101	100		
		WK75	101			
		WK90				
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	102	101	98	97
		WK25	105	104	100	
		WK50	104	103		
		WK75	101			
		WK90				
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	79	78	80	80
		WK25	98	97	100	
		WK50	98	97		
		WK75	101			
		WK90				
Substrat S2	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	101	101	102	106
		WK25	96	95	96	
		WK50	100	99		
		WK75	101			
		WK90				
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	101	100	100	100
		WK25	101	100	100	
		WK50	101	100		
		WK75	101			
		WK90				
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	83	84	89	92
		WK25	91	91	97	
		WK50	94	94		
		WK75	99			
		WK90				
Substrat S3	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	101	99	100	98
		WK25	103	101	102	
		WK50	101	99		
		WK75	101			
		WK90				
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	100	98	99	99
		WK25	101	100	100	
		WK50	101	100		
		WK75	102			
		WK90				
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	86	85	90	92
		WK25	94	92	98	
		WK50	95	94		
		WK75	102			
		WK90				

Tabelle 16: Prozentverhältnisse der Volumina der Experimentgruppen nach Wassergehalt-Analysegruppen. Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.1.1.

6.1.2. Substrat

In dem Kapitel 5.1.2. wurde kein Einfluss vom Substrat auf das Probenvolumen festgestellt. Der Einfluss der Körnung ist also vernachlässigbar, zumindest bei den Korngrößenzusammensetzungen der untersuchten Substrate.

6.1.3. Pumprate

Der dritte Faktor, also die Pumprate, sollte an sich keinen direkten Einfluss haben, sie verstärkt allerdings die Wirkung des Matrixpotenzials (vgl. Kapitel 6.1.1.). Mit unterschiedlicher Pumprate geht beim Einstellen vom gleichen geplanten Volumen eine unterschiedliche Probenahmedauer einher: bei der Pumprate G1 braucht man 10-mal bzw. 5-mal so lange, wie bei den Pumpraten G10 bzw. G5. Die "Saugkraft" des Bodensubstrates, die dem Matrixpotenzial entspricht, wirkt auf das durchpumpte Wasser dementsprechend 10- bzw. 5-mal länger ein und kann somit einen größeren Anteil von diesem entziehen.

In der Tabelle 17 sind die Prozentverhältnisse von den Medianen der Experimentgruppen innerhalb von Pumprate-Analysegruppen eingetragen. Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.1.3. Bei diesen signifikanten Paarvergleichen kann man Folgendes beobachten: in den Gruppen mit niedrigstem Wassergehalt (WK10) weicht das Volumen der niedrigsten Pumprate G1 von dem Volumen den höheren Pumpraten G5 und/oder G10 am stärksten ab und erreicht nur 73-75% (S1), 80-81% (S2) und 82% (S3) dieser Volumina. Beim Wassergehalt WK25 ist der Unterschied kleiner: 90-91% (S1), und 88% (S3).

6.1.4. Gesamteffekt

Da die Faktoren Wassergehalt und Pumprate zusammenhängen (vgl. Kapitel 6.1.3.), kann der kumulierte Effekt des Matrixpotenzials berechnet werden: In der Tabelle 18 ist in der Spalte "Prozentanteil an WK90-G10 " bei jedem Substrat für jede Experimentgruppe der Prozentanteil des Medians der jeweiligen Experimentgruppe an dem Median der Wassergehaltsstufe WK90 der Pumprate G10 eingetragen. Die Bezugsexperimentgruppe WK90-G10 sollte basierend auf dem Konzept des Matrixpotenzials und der Einwirkungszeit theoretisch den höchsten Volumen liefern. Die Darstellung der negativen Abweichungen erfolgt absteigend in 5%-Schritten (hell- bis dunkelrot), die positive Abweichung ist in Blau hervorgehoben.

Bis auf die Analysegruppe S1-WK25- G10, die eine positive Abweichung über 5% aufweist, zeigt sich ein klares Muster: negative Abweichungen über 5% gibt es nur in den Gruppen mit der Pumprate G1. Die zugehörigen Wassergehaltstufen WK10 weichen deutlich ab (76%, 81% und 83% der WK90-G10 Gruppe).

Allgemein können die positiven Abweichungen als die Grenze der natürlichen Streuung der Daten betrachtet werden. Dementsprechend sind die negativen Abweichungen unter 90% (S1-G1-WK10, S2-G1-WK10, S2-G1-WK25 und S3-G1-WK10) als verlässlich zu bewerten.

Substrat	Wassergehalt	Pumprate	Prozentanteil an	
			G10	G5
Substrat S1	WK10	G10		
		G5	97	
		G1	73	75
	WK25	G10		
		G5	98	
		G1	90	91
	WK50	G10		
		G5	102	
		G1	94	92
	WK75	G10		
		G5	99	
		G1	96	97
	WK90	G10		
		G5	99	
		G1	96	98
Substrat S2	WK10	G10		
		G5	99	
		G1	80	81
	WK25	G10		
		G5	104	
		G1	92	88
	WK50	G10		
		G5	101	
		G1	91	91
	WK75	G10		
		G5	99	
		G1	96	97
	WK90	G10		
		G5	99	
		G1	97	98
Substrat S3	WK10	G10		
		G5	99	
		G1	82	84
	WK25	G10		
		G5	98	
		G1	88	90
	WK50	G10		
		G5	100	
		G1	92	91
	WK75	G10		
		G5	100	
		G1	97	97
	WK90	G10		
		G5	100	
		G1	97	97

Tabelle 17: Prozentverhältnisse der Volumina der Experimentgruppen nach Wassergehalt-Analysegruppen. Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.1.3.

Substrat	Pumprate	Wassergehalt	Prozentanteil an WK90-G10
Substrat S1	G10 $10\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	104
		WK25	106
		WK50	101
		WK75	101
		WK90	100
	G5 $5\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	101
		WK25	104
		WK50	103
		WK75	100
		WK90	99
	G1 $1\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	76
		WK25	95
		WK50	95
		WK75	97
		WK90	96
Substrat S2	G10 $10\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	101
		WK25	96
		WK50	100
		WK75	101
		WK90	100
	G5 $5\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	100
		WK25	100
		WK50	100
		WK75	100
		WK90	99
	G1 $1\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	81
		WK25	88
		WK50	91
		WK75	97
		WK90	97
Substrat S3	G10 $10\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	101
		WK25	103
		WK50	101
		WK75	101
		WK90	100
	G5 $5\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	99
		WK25	101
		WK50	101
		WK75	101
		WK90	100
	G1 $1\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	WK10	83
		WK25	90
		WK50	92
		WK75	98
		WK90	97

Tabelle 18: Prozentverhältnisse der Volumina jeder Experimentgruppe am Volumen der WK90-G10-Experimentgruppe des gleichen Substrates. Die Darstellung der negativen Abweichungen erfolgt absteigend in 5%-Schritten (hell- bis dunkelrot), die positive Abweichung ist in Blau hervorgehoben.

6.2. Nitrat

Die Analyse des Parameters Nitratfluss hat gezeigt, dass die niedrigeren Wassergehalte im Vergleich mit den höheren oft in niedrigeren Nitratflüssen resultieren. Die Nitratflüsse unterscheiden sich auch zwischen den Substraten (meistens unterscheidet sich S1 von S2 und/oder S3) bei dem mittleren und bei den höheren Wassergehalten. Bei dem Faktor Pumprate unterscheidet sich in manchen Analysegruppen die niedrigste Pumprate von der höchsten oder von den beiden höheren Pumpraten, und zwar relativ unabhängig vom Wassergehalt und Substrat.

6.2.1. Wassergehalt

Die Nitratfluss-Unterschiede aufgrund des unterschiedlichen Wassergehaltes sind auf den Diffusivitätsparameter zurückzuführen. Dieser beschreibt das Bewegungsvermögen von einem gelösten Stoff in dem Substrat und ist von folgenden Größen abhängig: Wassergehalt, Tortuosität (Gewundenheit der Diffusionskanäle), Diffusionskoeffizient des gelösten Stoffes in der Bodenlösung und Pufferstärke des Bodens (Sposito 1989). Wie aus dem Kapitel 4.1. hervorgeht, wurden alle drei Substrate vor der Mikrodialyse-Beprobung homogenisiert. Deshalb ist in jeder Wassergehalt-Analysegruppe quasi dasselbe Substrat bei unterschiedlichen Wassergehaltstufen beprobt worden. Die Experimentgruppen innerhalb einer Analysegruppe unterscheiden sich also nur bezüglich des Wassergehaltes und der von ihm abhängigen Tortuosität. Der Diffusionskoeffizient und die Pufferstärke des Bodensubstrats sind gleich.

Mit sinkendem Wassergehalt nimmt die Tortuosität zu und der Diffusivitätsparameter des Nitrats sinkt. Es hängt mit der Veränderung der Verteilung der Substratlösung in der Substratmatrix bzw. in dem Porengefüge zusammen. Während bei hohen Wassergehalten nahezu alle Porenräume wassergefüllt sind und die Vernetzung der Substratlösung in dem Porengefüge sehr gut ist, entleeren sich mit sinkendem Substratwassergehalt die Poren der Größe nach von den größten zu den kleinsten (Andersson 2003) und die Substratlösung ist mittels eines immer kleineren Porennetzes verbunden. Die leeren Poren stellen Hindernisse und Sackgassen dar, die die Nitratmoleküle "umgehen" müssen, wenn sie sich aufgrund des Konzentrationsgradienten diffusiv zur Verarmungszone (Nitrat aufnehmende Pflanzenwurzel bzw. hier die Mikrodialysesonde) bewegen. Die Tortuosität nimmt zu, der Nitratnachschub zu der Verarmungszone lässt nach bzw. wird gehemmt. Außerdem kommt es dabei auch zur Isolation einzelner Bereiche der Substratmatrix, aus denen das Nitrat nicht mehr nachdiffundieren kann (Modrup et al. 2001).

Wie in dem Kapitel 6.1. gezeigt wurde, entweicht bei niedrigen Wassergehalten ein Teil des Reinstwassers aus dem Mikrodialysesystem ins Bodensubstrat. Das verbessert einerseits die Porenvernetzung in dem Bereich um die Sonde herum und der Diffusivitätsparameter steigt an. Andererseits wird dadurch die Substratlösung verdünnt und der Konzentrationsgradient gesenkt. Welcher von den Mechanismen eine stärkere Auswirkung hat und ob diese bedeutend ist, bleibt unbekannt. Die Unterschiede in den Nitratflüssen sind trotzdem hauptsächlich auf die mit sinkendem Wassergehalt des Substrates zunehmende Tortuosität des Porenraumes zurückzuführen, weil es signifikant unterschiedliche Nitratflüsse auch in Analysegruppen ohne signifikante Volumenunterschiede gibt.

In der Tabelle 19 sind die Prozentverhältnisse von den Experimentgruppen innerhalb der Wassergehalt-Analysegruppen eingetragen, um das Ausmaß der signifikanten Unterschiede deutlicher zu präsentieren. Da sich die Nitratflusswerte der Experimentgruppe S3-WK90-G1 zu stark von den restlichen Gruppen unterscheiden (sehr niedrige Werte, hohe Varianz) wurde diese Gruppe von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare (basierend auf dem

Kapitel 5.2.1.). Die Unterschiede sind enorm und zwar unabhängig von der Pumprate. Bei den signifikant unterschiedlichen Experimentgruppen diffundiert durch die Membran bei der Wassergehaltstufe WK10 nur 1-5% der Nitratmenge, welche bei Stufen WK50, WK75 und WK90 diffundiert. Bei der Stufe WK25 erreichen die Flüsse bei signifikant unterschiedlichen Experimentgruppen 3-11% der Flüsse von den höheren Stufen. Flüsse der Stufe WK50 haben bei signifikant unterschiedlichen Vergleichen 7-13% der Flüsse von den höheren Wassergehaltstufen.

Man sieht weiter, dass die signifikanten Unterschiede in jeder Analysegruppe am größten zwischen Wassergehaltstufen sind, die am weitesten voneinander liegen. Das heißt, dass sich die niedrigste Wassergehaltstufe von der höchsten immer am meisten unterscheidet. Auch allgemein steigt mit steigendem Wassergehalt der Nitratfluss. Die Ausnahmen (WK75 bzw. WK50 erreichen bis zu 120% der Flusshöhe von WK90; Experimentgruppe S3-WK90-G1 wird nicht betrachtet, wie oben erwähnt) kann man mit Hilfe der natürlichen Streuung der Flüsse und Wirkung von anderen Faktoren erklären. Es wäre möglich, dass das Nitrat trotz der Homogenisierung der Substrate nicht uniform verteilt war. Da aber Nitrat negativ geladen ist und der Boden auch, ist das Nitrat sehr mobil und diese Erklärung ist eher unwahrscheinlich. Bei der Mikrodialyse wurden an einem Tag aus zeitlichen Gründen immer nur Proben von einem Substrat und Wassergehalt hergestellt, wodurch es möglich ist, dass es im Laufe der Tage zur Veränderung der Vorräte von einzelnen Stickstoffformen gekommen ist (Jämtgård et al. 2010; Rousk & Jones 2010; Inselsbacher 2014). Genauso kann auch Verschmutzung bzw. Verstopfung von einem Teil der Membranporen im Laufe der Mikrodialyse-Probenvorbereitung eine Rolle gespielt haben (Torto et al. 1999; Snyder et al. 2001). Bei der Beprobung von Böden tritt die Membran nämlich mit unterschiedlichsten Lösungen mit einer Reihe von unterschiedlichen organischen Verbindungen in Kontakt (Torto et al., 1998).

Der höhere Nitratfluss bei G5 bei hohen Wassergehalten ist überraschend. Trotzdem kann der 20- bis 100-fache Unterschied zwischen WK10 und WK90 nicht zufällig zustande gekommen sein und unterstreicht den großen Einfluss des Wassergehaltes auf die Verfügbarkeit des Nitrats in der Bodenlösung und somit auf die Pflanzenernährung. Es muss jedoch erwähnt werden, dass die Diffusion von Nitrat bzw. Nährstoffen in die Pflanzen viel komplexer als die hier beschriebene Mikrodialyse-Beprobung ist: ein weiterer Faktor bei der Diffusion von Nitrat in die pflanzlichen Wurzeln sind nämlich die Pflanzenausscheidungen in der Rhizosphäre. Die von ihnen ausgelösten chemischen Prozesse erhöhen die Aufnahme der Nährstoffe in die Pflanzenwurzeln. Die Pflanzen können also die Aufnahme von Wasser und gelösten Stoffen regulieren (Hiltner 1904).

Einen positiven Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und ausgewählten Spurenmetallen (Pb, Cd, Ni, Cu) haben bereits Miro et al. (2010) gefunden. In ihrer Studie wurde auch die Mikrodialyse-Probenahmemethode verwendet. Ihre Ergebnisse sind im Einklang mit den Ergebnissen dieser Arbeit.

Substrat	Pumprate	Wassergehalt	Prozentanteil an			
			WK90	WK75	WK50	WK25
Substrat S1	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	3	3	10	43
		WK25	6	6	24	
		WK50	25	25		
		WK75	100			
		WK90				
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	1	1	5	46
		WK25	3	3	10	
		WK50	33	33		
		WK75	99			
		WK90				
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	5	6	5	47
		WK25	11	12	11	
		WK50	107	115		
		WK75	93			
		WK90				
Substrat S2	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	kW	kW	kW	kW
		WK25	8	6	82	
		WK50	9	8		
		WK75	120			
		WK90				
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	2	2	34	50
		WK25	4	4	67	
		WK50	6	5		
		WK75	106			
		WK90				
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	2	2	4	26
		WK25	7	7	16	
		WK50	42	41		
		WK75	100			
		WK90				
Substrat S3	G10 10µl·min ⁻¹	WK10	5	6	38	kW
		WK25	kW	kW	kW	
		WK50	13	16		
		WK75	82			
		WK90				
	G5 5µl·min ⁻¹	WK10	3	3	38	kW
		WK25	kW	kW	kW	
		WK50	7	9		
		WK75	78			
		WK90				
	G1 1µl·min ⁻¹	WK10	8	5	5	kW
		WK25	0	0	0	
		WK50	142	95		
		WK75	150			
		WK90				

Tabelle 19: Prozentverhältnisse der Nitratflüsse der Experimentgruppen nach Wassergehalt-Analysegruppen (kW = keine Werte). Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.2.1.

6.2.2. Substrat

Die Statistiken zeigen, dass sich die Substrate bei dem mittleren (WK50) und bei den höheren Wassergehalten (WK75 und WK90) signifikant unterscheiden. Meistens unterscheidet sich Substrat 1 von den anderen Substraten signifikant. Substrate 2 und 3 unterscheiden sich selten.

Die drei Standorte wurden ausgewählt, weil sie sich hinsichtlich der Korngrößenzusammensetzung des Bodens (bzw. des Substrates) unterscheiden. Die in der Analyse aufgedeckten Unterschiede in den Nitratflüssen können aber nicht automatisch auf den Unterschied in der Körnung zurückgeführt werden. Unterschiede in Nitratflüssen können auch aufgrund von Unterschieden in Faktoren wie Humusgehalt, pH-Wert, Kationenaustauschkapazität (KAK), Düngung, Stickstoffdynamik, Edaphon-Zusammensetzung, etc. entstehen (Van Rees et al. 1990; Jungk & Claassen 1997; Scheffer & Schachtschabel 2010).

Trotzdem kann man mit der unterschiedlichen Körnung zumindest zum Teil erklären, warum es signifikante Unterschiede nur in Analysegruppen mit dem mittleren und mit den höheren Wassergehalten gibt, bzw. warum es bei den Wassergehalten WK10 und WK25 keine signifikanten Ergebnisse gibt. Der Unterschied in der Porengrößenverteilung ist zwischen den drei Substraten variabel und verwischt sich mit sinkendem Wassergehalt immer mehr. Die Poren entleeren sich nämlich mit sinkendem Wassergehalt der Größe nach von den größten zu den kleinsten (Andersson 2003). So bleiben bei niedrigen Wassergehalten in allen drei Substraten nur kleine Poren wassergefüllt. Die Unterschiede in den Nitratflüssen zwischen den Substraten können sich also erst bei höheren Wassergehalten entfalten. Aus der Analyse geht hervor, dass das Substrat 1 an 11 von insgesamt 14 signifikanten Paarvergleichen beteiligt ist. In allen 11 Vergleichen weist Substrat 1 höhere Flüsse auf: sechsmal höher gegenüber dem Substrat S2 und fünfmal höher gegenüber S3. Die Substrate S2 und S3 unterscheiden sich dagegen nur 3 Mal und ohne einen eindeutigen Trend: in zwei Fällen weist das Substrat S2 höhere Flüsse auf, einmal S3. In der Tabelle 20 sind die Prozentverhältnisse von den Experimentgruppen innerhalb der Substrat-Analysegruppen für den Faktor Substrat eingetragen, um das Ausmaß der signifikanten Unterschiede deutlicher zu präsentieren.

Die Nitratflüsse sind also bei dem tonigen Substrat (S1) deutlich höher als bei dem lehmigen (S2) und sandigen Substrat (S3). Es ist möglich, dass die Unterschiede zwischen den Substraten auf ihre Korngröße-bedingt unterschiedliche Tortuosität zurückzuführen sind – diese müsste aber zwischen den Substraten mit wachsendem Wassergehalt signifikant divergieren. Ob dieser Erklärungsansatz realistisch ist, kann erstmal nicht beantwortet werden – die Unterschiede sind auch durch andere Standort-bedingten Faktoren wie Humusgehalt, pH-Wert, KAK, Düngung, Stickstoffdynamik, Edaphon-Zusammensetzung, etc. erklärbar (Van Rees et al. 1990; Jungk & Claassen 1997; Scheffer & Schachtschabel 2010).

Wassergehalt	Pumprate	Substrat	Prozentanteil an		
			S1	S2	S3
WK10	G10 10µl*min ⁻¹	S1		kW	67,4
		S2	kW		kW
		S3	148,3	kW	
	G5 5µl*min ⁻¹	S1		108,7	55,0
		S2	92,0		50,6
		S3	181,7	197,6	
	G1 1µl*min ⁻¹	S1		319,7	141,9
		S2	31,3		44,4
		S3	70,5	225,3	
WK25	G10 10µl*min ⁻¹	S1		120,9	kW
		S2	82,7		kW
		S3	kW	kW	
	G5 5µl*min ⁻¹	S1		119,3	kW
		S2	83,8		kW
		S3	kW	kW	
	G1 1µl*min ⁻¹	S1		175,8	kW
		S2	56,9		kW
		S3	kW	kW	
WK50	G10 10µl*min ⁻¹	S1		417,3	254,6
		S2	24,0		61,0
		S3	39,3	163,9	
	G5 5µl*min ⁻¹	S1		810,7	464,5
		S2	12,3		57,3
		S3	21,5	174,5	
	G1 1µl*min ⁻¹	S1		261,2	154,1
		S2	38,3		59,0
		S3	64,9	169,5	
WK75	G10 10µl*min ⁻¹	S1		126,9	156,9
		S2	78,8		123,6
		S3	63,8	80,9	
	G5 5µl*min ⁻¹	S1		130,3	120,9
		S2	76,7		92,8
		S3	82,7	107,8	
	G1 1µl*min ⁻¹	S1		93,9	126,9
		S2	106,5		135,0
		S3	78,8	74,0	
WK90	G10 10µl*min ⁻¹	S1		151,5	128,0
		S2	66,0		84,5
		S3	78,1	118,3	
	G5 5µl*min ⁻¹	S1		139,2	95,9
		S2	71,8		68,9
		S3	104,3	145,2	
	G1 1µl*min ⁻¹	S1		101,9	205,0
		S2	98,2		201,3
		S3	48,8	49,7	

Tabelle 20: Prozentverhältnisse der Nitratflüsse der Experimentgruppen nach Substrat-Analysegruppen (kW = keine Werte). Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.2.2.

6.2.3. Pumprate

Die Unterschiede in Nitratflüssen zwischen den Mikrodialyse-Pumpraten sind mit dem Konzept der Extraktionseffizienz zu erklären. Sie beschreibt das Verhältnis der Konzentration des Stoffes von Interesse in dem Perfusat (durchpumptes Medium, hier Reinstwasser) und in der Bodenlösung. Die Extraktionseffizienz wird durch den Widerstand der Membran, des Perfusats und der Außenmatrix, sowie durch steigende Pumpgeschwindigkeit gesenkt (Bungay et al. 1990; Torto et al. 2001; Nandi & Lunte 2009). In den Analysegruppen ist davon auszugehen, dass die genannten Widerstände bei allen Experimentgruppen gleich sind (es wird immer das gleiche Perfusat und die gleiche Membran benutzt und der Boden ist vor der Mikrodialyse homogenisiert worden). Der einzige Faktor, der die Unterschiede in der Extraktionseffizienz steuern kann ist demnach die Pumprate. Je langsamer das Reinstwasser fließt, desto länger bleiben einzelne „Wasserpakete“ in dem Membranbereich der Mikrodialysesonde und desto länger kann Nitrat diffundieren, was in einer höheren Konzentration von Nitrat in der Mikrodialyse-Probe resultiert. Die niedrigste Pumprate führt deshalb zu den höchsten Konzentrationen pro Probe (vgl. Tabelle 21: Spalte "Prozentanteil an G10 (NO_3 -Konzentrationen)"). Das Verhältnis zwischen der Extraktionseffizienz und der Pumprate ist aber nicht linear, wie z.B. Inselsbacher (2011) gezeigt hat. Je langsamer die Pumprate, desto länger kann ein gelöster Stoff (hier Nitrat) in ein Wasserpaket des Perfusats in dem Membranbereich diffundieren, jedoch sinkt mit jedem diffundierten Molekül der Konzentrationsgradient (und somit die Extraktionseffizienz). Deshalb ändert sich nach der Berechnung der Flüsse, wo die (Nitrat-) Konzentration um den Faktor Zeit (der Faktor Membranoberfläche ist nur eine Konstante) korrigiert wird, das Bild: theoretisch sollten die höchsten Pumpraten auch die höchsten Flüsse liefern. Dieser Trend ist in den Daten nicht überall zu sehen, wie man in der Tabelle 21 sieht.

Bei den signifikant unterschiedlichen Experimentgruppen lässt sich keine Tendenz bezüglich der Wassergehaltstufe (signifikante Unterschiede gibt es sowohl bei dem niedrigsten als auch bei den hohen Wassergehalten) oder bezüglich des Substrates (signifikante Unterschiede sind bei allen drei Substraten nachgewiesen) feststellen. Die niedrigste Pumprate resultiert in 11-46% der Nitratflüsse der höheren Pumpraten.

Substrat	Wassergehalt	Pumprate	Prozentanteil an		Prozentanteil an G10 (NO ₃ -Konzentrationen)
			G10	G5	
Substrat S1	WK10	G10			100
		G5	56		111
		G1	46	83	459
	WK25	G10			100
		G5	51		103
		G1	42	81	418
	WK50	G10			100
		G5	125		251
		G1	95	76	947
	WK75	G10			100
		G5	96		192
		G1	21	22	207
	WK90	G10			100
		G5	98		195
		G1	22	23	225
Substrat S2	WK10	G10			kW
		G5	kW		100*
		G1	kW	28	140*
	WK25	G10			100
		G5	52		104
		G1	29	55	288
	WK50	G10			100
		G5	64		129
		G1	151	235	1513
	WK75	G10			100
		G5	93		187
		G1	28	30	280
	WK90	G10			100
		G5	106		212
		G1	33	31	334
Substrat S3	WK10	G10			100
		G5	68		136
		G1	22	32	218
	WK25	G10			kW
		G5	kW		kW
		G1	kW	kW	kW
	WK50	G10			100
		G5	69		137
		G1	156	228	1564
	WK75	G10			100
		G5	125		249
		G1	26	21	256
	WK90	G10			100
		G5	130		260
		G1	14	11	140

Tabelle 21: Prozentverhältnisse der Nitratflüsse der Experimentgruppen nach Pumprate-Analysegruppen (kW = keine Werte, * = Prozentanteil an G5, weil G10 nicht vorhanden ist). Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.2.3.

6.3. Ammonium

Dass kein Ammonium in den Substraten gefunden wurde, war überraschend, da es wegen der positiven Ladung dieses Moleküls oft an den negativ geladenen Bodenpartikeln gebunden wird. Möglicherweise wurde es während der mehrtägigen Probenvorbereitung bis zur Mikrodialyse mikrobiell zu anderen Verbindungen umgewandelt (vgl. Rowell 1997; Jämtgård et al. 2010; Rousk & Jones 2010; Inselebacher 2014).

6.4. Extrakte

Die Analyse hat gezeigt, dass sich die Wasser- und KCl-Extrakte bei allen Substraten voneinander signifikant unterscheiden – sowohl beim Nitratgehalt als auch beim Ammoniumgehalt. Beim Nitrat unterscheidet sich der tonigste Boden (S1) von den grobkörnigeren Böden (S2 und S3) signifikant und beim Ammonium gibt es in den Ergebnissen keinen Korngröße-bedingten Trend.

6.4.1. Extraktionsmittel

In der Tabelle 22 sind bei jedem Substrat die Prozentanteile der Mediane von Wasserextrakt-Experimentgruppen an den Medianen der Salzextrakt-Experimentgruppen eingetragen. Man sieht, dass der Anteil vom freien Nitrat (Wasserextrakte) zum gesamten Vorrat im Bodensubstrat (Salzextrakte) bei allen Substraten sehr ähnlich ist: 70-73%. Der Großteil des Nitrats ist also in der Substratlösung ohne weiteres verfügbar. Beim Ammonium ist das Verhältnis deutlich anders. Nur 25-39% des Ammoniums sind in der Substratlösung frei vorhanden, der Großteil ist an den Substratoberflächen gebunden. Das erklärt zum Teil die Tatsache, dass das Ammonium in den Mikrodialyseproben nicht nachgewiesen wurde. Trotzdem erreichen die Ammoniumgehalte nur einen Bruchteil von den Nitratgehalten (4-6%). Das bestätigt die Ergebnisse der Mikrodialyse-Analyse, dass Ammonium in den Substraten fast gar nicht vorhanden ist.

Analysierter Stoff	Substrat	Extraktionsmittel	Prozentanteil an KCl
Nitrat	S1	Wasser	71
Nitrat	S1	KCl	
Nitrat	S2	Wasser	73
Nitrat	S2	KCl	
Nitrat	S3	Wasser	70
Nitrat	S3	KCl	
Ammonium	S1	Wasser	34
Ammonium	S1	KCl	
Ammonium	S2	Wasser	25
Ammonium	S2	KCl	
Ammonium	S3	Wasser	39
Ammonium	S3	KCl	

Tabelle 22: Prozentverhältnisse der Nitrat- und Ammoniumgehalte der Extraktgruppen nach Extraktionsmittel-Analysegruppen. Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.4.1.

6.4.2. Substrat

In der Tabelle 23 sind die Unterschiede zwischen den Substraten in Form von Prozentanteilen eingetragen. Beim Nitrat unterscheidet sich unter Wasserextrakten nur Substrat S1 von dem Substrat S2 signifikant, bei den Salzextrakten von den beiden anderen Substraten (S2 und S3). Das ist im Einklang mit den Mikrodialyse-Ergebnissen, wo der Unterschied des Substrates S1 von S2 und/oder S3 dominiert hat. Falls bei der Mikrodialyse in einer Analysegruppe beide Vergleiche signifikant waren, war der Unterschied S1-S2 immer größer. Dieser Trend ist hier auch zu beobachten (Salzextrakte).

Diese Ergebnisse zeigen, dass sich die Nitratvorräte in den Substraten im Allgemeinen unterscheiden und dass ihre Verfügbarkeit, die mittels der Mikrodialyse in Nitratflüssen ausgedrückt wurde, nicht auf die mit wachsendem Wassergehalt divergierende Tortuosität der Substrate zurückzuführen ist. Die Unterschiede sind demnach durch einen anderen bzw. mehrere andere Faktoren wie Humusgehalt, pH-Wert, KAK, Düngung, Stickstoffdynamik, Edaphon-Zusammensetzung, etc. zu erklären (Van Rees et al. 1990; Jungk & Claassen 1997; Scheffer & Schachtschabel 2010).

Beim Ammonium gibt es nur einen signifikanten Unterschied, und zwar bei den Wasserextrakten zwischen den Substraten S2 und S3. Da aber gerade die Wasserextrakte-Ergebnisse teilweise knapp über dem Detektionslimit sind, hat dieses Ergebnis wenig Aussagekraft.

Analysierter Stoff	Gruppe	Extraktionsmittel	Anteil an		
			S1	S2	S3
Nitrat	S1	Wasser		115	123
Nitrat	S2	Wasser	87		107
Nitrat	S3	Wasser	82	94	
Nitrat	S1	KCl		119	122
Nitrat	S2	KCl	84		102
Nitrat	S3	KCl	82	98	
Ammonium	S1	Wasser		109	81
Ammonium	S2	Wasser	92		75
Ammonium	S3	Wasser	123	134	
Ammonium	S1	KCl		82	95
Ammonium	S2	KCl	122		116
Ammonium	S3	KCl	105	86	

Tabelle 23: Prozentverhältnisse der Nitrat- und Ammoniumgehalte der Extraktgruppen nach Substrat-Analysegruppen. Hervorgehoben sind signifikant unterschiedliche Gruppenpaare basierend auf dem Kapitel 5.4.2.

6.5. Vergleich MD – Extrakte

Wie in dem Kapitel 5.5. bereits erwähnt wurde, gibt es in den Mikrodialyse-Experimentgruppen nur sehr wenige N-Koeffizient-Werte, die meisten Experimentgruppen sind nicht vertreten und die Streuung der Daten ist teilweise extrem (S2-G1-WK90). Eine darauf basierende Aussage wäre demnach eher eine Spekulation als eine wissenschaftlich fundierte Aussage.

7. Zusammenfassung

Die Forschungsfragen dieser Arbeit waren die folgenden:

1. Gibt es einen signifikanten Einfluss vom Bodenwassergehalt, vom Bodensubstrat und von der Pumprate des Mikrodialyse-Systems auf das Volumen der gewonnenen Probe und auf die Diffusion von Nitrat bzw. Ammonium?
2. Gibt es signifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen bezüglich der relativen Versorgung der Pflanzen mit Nitrat und Ammonium, die einerseits mit Mikrodialyse und andererseits mit der Bodenextraktionsmethode gewonnen wurden?

Sie können nun beantwortet werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit haben gezeigt, dass das Volumen der Mikrodialyseproben beim niedrigen Bodenwassergehalt und bei längerer Probenahmedauer aufgrund des Matrixpotenzials signifikant niedriger wird als bei höheren Wassergehalten und/oder kurzen Probenahmen. Die Körnung der untersuchten Böden bzw. Substrate hatte keinen signifikanten Einfluss auf das Probenvolumen. Allgemein müsste bei trockenen bzw. sehr trockenen Verhältnissen des Bodens die Mikrodialysepumpe bei der Pumprate von $1 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ um ca. 10-40% der Zeit länger laufen, um dieselben Volumina zu erzielen, wie bei einer Pumprate von $10 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ unter feuchten Bedingungen. Mit zunehmender Trockenheit des Bodens muss also eine längere Probenahmezeit eingeplant werden, die Funktionalität der Mikrodialyse wird sonst nicht beeinträchtigt.

Weiter wurde ein enormer Einfluss des Bodenwassergehaltes auf die Nitratflüsse aufgezeigt: die Nitratflüsse bei sehr niedrigem Wassergehalt (10% des maximalen Wassergehaltes des Substrates) erreichen maximal 8% der Nitratflüsse von hohen Wassergehalten (75% des maximalen Wassergehaltes des Substrates und mehr). Diese Wirkung ist auf die Tortuosität des Bodengefüges zurückzuführen. Es hat sich kein Trend bezüglich des Substrates oder der Pumprate gezeigt. Die Analyse von Extrakten hat gezeigt, dass ein Großteil des Nitrats im Boden frei vorhanden ist und sein Anteil am Gesamtnitratvorrat in allen drei Substraten sehr ähnlich ist (70-73%). Die Diffusion von Nitrat in die Pflanze kann insgesamt während der Dürreperioden massiv eingeschränkt werden.

Beim Vergleich der Substrate haben sich signifikante Unterschiede nur bei der mittleren (WK50) bzw. bei den höheren Wassergehaltstufen (WK75 und WK90) gezeigt. Dieser Unterschied ist aber laut den Ergebnissen nicht mit einer Körnung-bedingten Tortuositätsdivergenz, sondern mit anderen Faktoren (z.B. Humusgehalt, pH-Wert, KAK, Düngung, Stickstoffdynamik, Edaphon-Zusammensetzung, etc.) zu erklären, die im Rahmen dieser Arbeit nicht erhoben wurden. Es ist anzumerken, dass nur drei Substrate (mit unterschiedlicher Korngrößenzusammensetzung) untersucht wurden. Eine ausführliche Analyse vom Einfluss der Korngrößenzusammensetzung konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht erarbeitet werden.

Bei der Mikrodialyse-Pumprate gab es aufgrund der Extraktionseffizienz signifikante Unterschiede, unabhängig vom Wassergehalt und Substrat. Die Trends in der Extraktionseffizienz sind aber nicht uniform.

Für eine entsprechende Ammoniumanalyse gab es nicht genug Proben mit Ammoniumgehalten über dem Detektionslimit. Der Gesamtgehalt im Boden war im Vergleich zu Nitrat und auch im Allgemeinen sehr niedrig und der Anteil des frei verfügbaren Ammoniums war auch niedrig.

Ein Vergleich von den Methoden Mikrodialyse und Extraktion im Hinblick auf das Verhältnis der Stickstoffformen war nicht möglich, da der Großteil der gemessenen Ammoniumwerte unter dem Detektionslimit war.

Der Einfluss von Bodenwassergehalt auf Diffusion von Ammonium, sowie der Vergleich der Mikrodialyse und der Bodenextraktionsmethode bezüglich der relativen Versorgung der Pflanzen mit Nitrat und Ammonium kann erst in weiteren Studien beantwortet werden.

8. Quellenverzeichnis

Andersson, P. (2003): Amino acid concentration in sampled soil water: effects of sampling and storage using lysimeters with small pore-size and sterile preevacuated sampling tubes. – In: *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 34: 21-29.

Bungay, P.M.; Morrison, P.F.; Dedrick, R.L. (1990): Steady-state theory for quantitative microdialysis of solutes and water in vivo and in vitro. – In: *Life Sciences* 46: 105-119.

Carrillo-Gonzalez, R.; Gonzalez-Chavez, M.C.A.; Aitkenhead-Peterson, J.A.; Hons, F.M.; Loeppert, R.H. (2013): Extractable DOC and DON from a dry-land long-term rotation and cropping system in Texas, USA. – In: *Geoderma* 197-198: 79-86.

Chantigny, M.H. (2003): Dissolved and water-extractable organic matter in soils: a review on the influence of land use and management practices. – In: *Geoderma* 113: 357-380.

Chapin, F.S. (1980): The mineral nutrition of wild plants. – In: *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 233-260.

Chaurasia, C.; Müller, M.; Bashaw, E.; Benfeldt, E.; Bolinder, J.; Bullock, R.; Bungay, P.; DeLange, E.C.M.; Derendorf, H.; Elmquist, W.; Hammarlund-Udenaes, M.; Joukhadar, C.; Kellogg, D.; Lunte, C.; Nordstrom, C.H.; Rollema, H.; Sawchuk, R.J.; Cheung, B.W.Y.; Shah, V.P.; Yeo, H. (2007): AAPS-FDA Workshop White Paper: Microdialysis Principles, Application, and Regulatory Perspectives. – In: *Pharmaceutical research* 24: 1014-1025.

Chen, J. & Williams, D.G. (2013): A novel in situ water perfusion and extraction method for soil amino acid quantification. – In: *Soil Biology & Biochemistry* 59: 86-88.

Clarke, A.L. & Barley, K.P. (1968): The uptake of nitrogen from soils in relation to solute diffusion. – In: *Australian Journal of Soil Research* 6: 75-95.

Clarkson, D.T. (1985): Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants. – In: *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 36: 77-115.

Clarkson, D.T. & Hanson, J.B. (1980): The mineral nutrition of higher plants. – In: *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 31: 239-298.

Comerford, N.B. (2005): Soil factors influencing soil nutrient availability and uptake by plant roots: soil nutrient bioavailability. – In: Bassirirad, H. (Ed.): *Nutrient acquisition by plants. An ecological perspective*: 1-14. Serie: *Ecological studies* 181. Heidelberg: Springer.

Field, A. (2005): *Discovering statistics using SPSS: (and sex, drugs and rock'n'roll)*. London: Sage.

Hiltner, L. (1904): Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft* 98, 59-78.

Hintermaier-Erhard, G. & Zech, W. (1997): *Wörterbuch der Bodenkunde : Systematik, Genese, Eigenschaften, Ökologie und Verbreitung von Böden ; 43 Tabellen*. Stuttgart: Enke.

Hobbie, J.E. & Hobbie, E.A. (2013): Microbes in nature are limited by carbon and energy: the starving-survival lifestyle in soil and consequences for estimating microbial rates. – In: *Frontiers in Microbiology* 4: 324.

Holling, H. & Gediga, G. (2011): Statistik – Deskriptive Verfahren. Wien [u.a.] : Hogrefe.

Hood-Nowotny, R.; Hinko-Najera Umana, N.; Inselsbacher, E.; Oswald-Lachouani, P.; Wanek, W. (2010): Alternative methods for measuring inorganic, organic, and total dissolved nitrogen in soil. – In: *Soil Science Society of America Journal* 74: 1018-1027.

Huber, F.; Meyer, F.; Lenzen, M. (2014): Grundlagen der Varianzanalyse: Konzeption - Durchführung - Auswertung. Wiesbaden: Springer.

Inselsbacher, E. (2014): Recovery of individual soil nitrogen forms after sieving and extraction. – In: *Soil Biology & Biochemistry* 71: 76-86.

Inselsbacher, E. & Näsholm, T. (2012a): A novel method to measure the effect of temperature on diffusion of plant-available nitrogen in soil. – In: *Plant Soil* 354: 251-257.

Inselsbacher, E. & Näsholm, T. (2012b): The below-ground perspective of forest plants: soil provides mainly organic nitrogen for plants and mycorrhizal fungi. – In: *New Phytologist* 195: 329-334.

Inselsbacher, E.; Öhlund, J.; Jämtgård, S.; Huss-Danell, K.; Näsholm, T. (2011): The potential of microdialysis to monitor organic and inorganic nitrogen compounds in soil. – In: *Soil Biology & Biochemistry* 43: 1321-1332.

Jämtgård, S.; Näsholm, T.; Huss-Danell, K. (2010): Nitrogen compounds in soil solutions of agricultural land. – In: *Soil Biology & Biochemistry* 42: 2325-2330.

Jones, D.L. & Willett, V.B. (2006): Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil. – In: *Soil Biology & Biochemistry* 38: 991-999.

Jungk, A. & Claassen, N. (1997): Ion diffusion in the soil-root system. – In: *Advances in Agronomy* 61:53-110.

Kandeler, E. & Gerber, H. (1988): Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. – In: *Biology and Fertility of Soils* 6: 68-72.

Kielland, K.; McFarland, J.W.; Ruess, R.W.; Olson, K. (2007): Rapid cycling of organic nitrogen in taiga forest ecosystems. – In: *Ecosystems* 10: 360-368.

Lambers, H.; Chapin, F.S.; Pons, T.L. (2008): Plant physiological ecology. New York: Springer.

Leadley, P.W.; Reynolds, J.F.; Chapin, F.S.A. (1997): A model of nitrogen uptake by *Eriophorum vaginatum* roots in the field: ecological implications. – In: *Ecological Monographs* 67: 1-22.

Makarov, M.I.; Shuleva, M.S.; Malysheva, T.I.; Manyailo, O.V. (2013): Solubility of the labile forms of soil carbon and nitrogen in K₂SO₄ of different concentrations. – In: *Eurasian Soil Science* 46: 369-374.

Miranda, K.M.; Espey, M.G.; Wink, D.A. (2001): A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. – In: *Biology and Chemistry* 5: 62-71.

Marschner, H. (1995): Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press Limited.

- Miro, M.; Fitz, W.J.; Swoboda, S.; Wenzel, W.W. (2010): In-situ sampling of soil pore water: evaluation of linear-type microdialysis probes and suction cups at varied moisture contents. – In: *Environmental Chemistry* 7: 123-131.
- Miro, M. & Frenzel, W. (2004): Implantable flow-through capillary-type microdialyzers for continuous in situ monitoring of environmentally relevant parameters. – In: *Analytical Chemistry* 76: 5974-5981.
- Miro, M. & Frenzel, W. (2005): The potential of microdialysis as an automatic sample processing technique for environmental research. – In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24: 324-333.
- Miro, M. & Frenzel, W. (2011): Microdialysis in environmental monitoring. – In: Tsai, T.H. (Ed.): *Applications of Microdialysis in Pharmaceutical Science*: 509-530. Hoboken: Wiley & Sons, Inc.
- Miro, M. & Hansen, E.H. (2006): Recent advances and perspectives in analytical methodologies for monitoring the bioavailability of trace metals in environmental solid substrates. – In: *Microchimica Acta* 154: 3-13.
- Miro, M.; Hansen, E.H.; Chomchoei, R.; Frenzel, W. (2005): Dynamic flow-through approaches for metal fractionation in environmentally relevant solid samples. – In: *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 24: 759-771.
- Moldrup, P.; Olesen, T.; Komatsu, T.; Schjønning, P.; Rolston, D. (2001): Tortuosity, diffusivity, and permeability in the soil liquid and gaseous phases. – In: *Soil Science Society of America Journal* 65: 613-623.
- Nandi, P. & Lunte, S.M. (2009): Recent trends in microdialysis sampling integrated with conventional and microanalytical systems for monitoring biological events: a review. – In: *Analytica Chimica Acta* 651: 1-14.
- Nye, P.H. (1979): Diffusion of ions and uncharged solutes in soils and soil clays. – In: *Advances in Agronomy* 31: 225-272.
- Nye, P.H. & Marriott, F.H. (1969): A theoretical study of distribution of substances around roots resulting from simultaneous diffusion and mass flow. – In: *Plant and Soil* 30: 459-472.
- Nye, P.H. & Tinker, P.B. (1977): *Solute movement in the soil-root system*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Oyewole, O.A.; Inselsbacher, E.; Näsholm, T. (2014): Direct estimation of mass flow and diffusion of nitrogen compounds in solution and soil. – In: *New Phytologist* 201: 1056-1064.
- Reemtsma, T.; Bredow, A.; Gehring, M. (1999): The nature and kinetics of organic matter release from soil by salt solutions. – In: *European Journal of Soil Science* 50: 53-64.
- Robinson, D. (1986): Limits to nutrient inflow rates in roots and root systems. – In: *Physiologia Plantarum* 68: 551-559.
- Rousk, J. & Jones, D.L. (2010): Loss of low molecular weight dissolved organic carbon (DOC) and nitrogen (DON) in H₂O and 0.5 M K₂SO₄ soil extracts. – In: *Soil Biology & Biochemistry* 42: 2331-2335.
- Rowell, D. L. (1997): *Bodenkunde: Untersuchungsmethoden und ihre Anwendungen; mit 103 Tabellen*. Berlin [u.a.]: Springer.

Scheffer, F. & Schachtschabel, P. (2010): Lehrbuch der Bodenkunde. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.

Seethapathy, S.; Gorecki, T.; Li, X.J. (2008): Passive sampling in environmental analysis. – In: Journal of Chromatography A 1184: 234-253.

Snyder, K.L.; Nathan, C.E.; Yee, A.; Stenzen, J.A. (2001): Diffusion and calibration properties of microdialysis sampling membranes in biological media. – In: Analyst 126: 1261-1268.

Sposito, G. (1989): The chemistry of soils. New York [u.a.]: Oxford University Press.

Stevens, R.J. & Laughlin, R.J. (1995): Nitrite transformations during soil extraction with potassium-chloride. – In: Soil Science Society of America Journal 59: 933-938.

Sulyok, M.; Miro, M.; Stinger, G.; Koellensperger, G. (2005): The potential of flowthrough microdialysis for probing low-molecular weight organic anions in rhizosphere soil solution. – In: Analytica Chimica Acta 546: 1-10.

Tinker, P.B. & Nye, P.H. (2000): Solute movement in the rhizosphere. New York: Oxford University Press, Inc.

Torto, N.; Bång, J.; Richardson, S.; Nilsson, G.S.; Gorton, L.; Laurell T.; Marko-Varga, G. (1998): Optimal membrane choice for microdialysis sampling of oligosaccharides. – In: Journal of Chromatography A 806: 265-278.

Torto, N.; Laurell, T.; Gorton, L.; Marko-Varga, G. (1999): Recent trends in the application of microdialysis in bioprocesses. – In: Analytica Chimica Acta 379: 281-305.

Torto, N.; Majors, R.E.; Laurell, T. (2001): Microdialysis sampling e challenges and new frontiers. – In: LC GC North America 19: 462-475.

Ungerstedt, U. (1991): Microdialysis e principles and applications for studies in animals and man. – In: Journal of Internal Medicine 230: 365-373.

Van Rees, K.C.J.; Comerford, N.B.; Rao, P.S.C. (1990): Defining soil buffer power: implications for ion diffusion and nutrient uptake modeling. Soil Science Society of America Journal 54: 1505-1507.

Warren, C.R. & Taranto, M.T. (2010): Temporal variation in pools of amino acids, inorganic and microbial N in a temperate grassland soil. – In: Soil Biology & Biochemistry 42: 353-359.

Willett, V.B.; Green, J.J.; MacDonald, A.J.; Baddeley, A.J.; Cadisch, G.; Francis, S.M.J.; Goulding, K.W.T.; Saunders, G.; Stockdale, E.A.; Watson, C.A.; Jones, D.L. (2005): Impact of land use on soluble organic nitrogen in soil. – In: Water, Air, and Soil Pollution: Focus 4: 53-60.

<https://www.rainbows.at/wp-content/uploads/2014/07/oesterreich.png>