

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fachgebiet für Waldernährung und Wasserhaushalt

**Kleinräumige Variabilität der Nitratkonzentrationen
im Sickerwasser eines N-gesättigten Fichtenforstes
– Beschreibung, Erklärung, Konsequenzen**

Michael Kohlpaintner

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. A. Fischer

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. A. Göttlein
2. apl. Prof. Dr. J. Prietzel

Die Dissertation wurde am 15.06.2011 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 02.11.2011 angenommen.

Vorwort

Diese Studie wurde dankenswerter Weise von der deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) finanziert und beschäftigt sich mit der räumlichen und zeitlichen Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser N-gesättigter Wälder. Die zugrunde liegenden Einzelstudien befassen sich mit (1) der Beschreibung der Nitratheterogenität, (2) deren Auswirkungen auf die Mittelwertschätzung sowie (3) den Ursachen dieser Heterogenität.

In Kapitel 1 und 2 werden der Hintergrund und der derzeitige Stand des Wissens zum Thema beleuchtet. Kapitel 3 und 4 beschreiben das Untersuchungsgebiet sowie die verwendeten Ansätze und Methoden. In Kapitel 5 werden die Ergebnisse der vier innerhalb dieser Arbeit entstandenen Publikationen zusammengefasst, intensiv diskutiert und bewertet. Kapitel 6 und 7 enthalten eine Zusammenfassung und die zitierte Literatur. Kapitel 8 beinhaltet schließlich die vier Publikationen:

Publikation [I] „Kohlpaintner M., Huber C., Weis W. & Göttlein A. (2009) **Spatial and temporal variability of nitrate concentration in seepage water under a mature Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst] stand before and after clear cut**“ ist bereits in der Zeitschrift *Plant and Soil* (314 (1-2):285-301) erschienen.

Publikation [II] „Kohlpaintner M., Huber C. & Göttlein A. (2011) **Improving the precision of estimating nitrate (NO₃⁻) concentration in seepage water of forests by prestratification with soil samples**“ wurde am 11.02.2011 bei der Zeitschrift *European Journal of Forest Research* eingereicht und befindet sich im Begutachtungsverfahren.

Publikation [III] „Matejek B., Kohlpaintner M., Gasche R., Huber C., Dannenmann M. & Papen H. (2008) **The small-scale pattern of seepage water nitrate concentration in an N saturated spruce forest is regulated by net N mineralization in the organic layer**“ ist bereits in der Zeitschrift *Plant and Soil* (310 (1-2):167-179) erschienen.

Publikation [IV] „Kohlpaintner M., Huber C., Matejek B., Papen H. & Göttlein A. (2011) **Explanation of the small scale variability of nitrate concentration in seepage water of an N saturated mature spruce forest**“ wurde am 09.06.2011 bei der Zeitschrift *Annals of Forest Science* eingereicht.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	II
Tabellenverzeichnis	II
Zusammenfassung	III
Abstract	VIII
1 Einführung und Problemstellung	1
2 Bisheriger Kenntnisstand zur Variabilität der Nitratkonzentration im Sickerwasser und deren mögliche Einflussgrößen	7
2.1 Räumliche und zeitliche Heterogenität	7
2.2 N-Eintrag	8
2.3 Mikrobielle N-Umsetzung	8
2.4 N-Aufnahme und Immobilisierung	9
2.5 Bodenchemische und bodenphysikalische Einflussgrößen	10
2.6 Vertikaler Transport von mineralischem N	11
2.7 Zusammenfassende Übersicht	12
3 Beschreibung des Untersuchungsgebiets	14
4 Experimentelles Design und durchgeführte Feld- und Laborarbeiten	18
4.1 Messung der zeitlichen und räumlichen Heterogenität der Nitratkonzentration im Altbestand und nach Kahlschlag	18
4.2 Untersuchung der Auswirkungen der Heterogenität auf die Mittelwertschätzung	20
4.3 Entwicklung von Methoden zur Verbesserung der Mittelwertschätzung	21
4.4 Untersuchung der Ursachen der Nitratheterogenität mit einfach zu erhebenden Parametern	23
4.5 Untersuchung der Ursachen der Nitratheterogenität mit intensiven zum Teil destruktiven Messungen an 20 Saugkerzenplätzen	24
4.6 Allgemeine Laboranalysen und -arbeiten	29
5 Diskussion und Bewertung der erzielten Ergebnisse	30
5.1 Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser (Kon_{NO_3}) und deren Auswirkung auf die Mittelwertschätzung (Publikation [I und II])	30
5.1.1 <i>Räumliche und zeitliche Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser</i>	31
5.1.2 <i>Auswirkungen der Heterogenität auf die Mittelwertschätzung und Methoden zu deren Verbesserung</i>	36
5.2 Ursachen der Nitratheterogenität (Publikation [I, III und IV])	43

5.2.1	Erklärung mit einfach zu erhebenden Parametern am Gesamtkollektiv.....	44
5.2.2	Erklärung mit Intensivmessungen und destruktiver Beprobung an ausgewählten Saugkerzenplätzen.....	46
6	Zusammenfassung und Ausblick	55
7	Literatur.....	59
8	Publikationen I bis IV	69

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Zusammenfassende Übersicht über die Prozesse und Faktoren, welche die Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser beeinflussen könnten.	13
Abb. 2:	Versuchsfläche mit Saugkerzen im Fichtenaltbestand im Jahr 2005.	19
Abb. 3:	Versuchsfläche mit Saugkerzen nach Kahlschlag (Januar 2006) im Mai 2006. ...	20
Abb. 4:	Niederschlagsfänger direkt über der Saugkerze mit Ring und Rahmen für die Schätzung der Vegetationsdeckungsgrade.	26
Abb. 5:	Humusprobenahme: Stechrahmen mit Saugkerzenplatzhalter im Zentrum (links); Mineralbodenprobenahme: eingetriebener Stechrahmen und eingeschlagene Stechzylinder (rechts).	27
Abb. 6:	Streudiagramm der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser und des Nitratgehaltes im Boden mit linearem Korrelationskoeffizienten.....	38

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Lage- und Klimaparameter des Standorts Höglwald (Huber et al. 2010).	14
Tab. 2:	Zusammenfassende Darstellung der wichtigsten Ergebnisse zur zeitlichen und räumlichen Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ und zur Geostatistik.....	30
Tab. 3:	Deskriptive Statistik der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser zu den jeweiligen Messterminen im Altbestand (2005) sowie nach Kahlschlag (2006). ...	32
Tab. 4:	Zusammenfassung und Vergleich der multiplen linearen Regressionsmodelle für alle Saugkerzenplätze (einfach zu erhebende Parameter; Altbestand und Kahlschlag) sowie für die Intensivmessplätze (nur Altbestand).....	43

Zusammenfassung

In weiten Gebieten Mitteleuropas haben anhaltend hohe Stickstoffdepositionen zu einer drastischen Veränderung des Stickstoffkreislaufs in Waldökosystemen geführt. In vielen Wäldern hat der atmosphärische Eintrag von Stickstoff (N) den Bedarf der Bäume überschritten. Dies führt zur N-Sättigung und zum Verlust von N in Form von Nitrat (NO_3^-) mit dem Sickerwasser und hat erhöhte Nitratkonzentrationen in Oberflächengewässern und im Grundwasser zur Folge. Innerhalb dieser N-gesättigten Wälder zeigt die Nitratkonzentration im Sickerwasser ($\text{Konz}_{\text{NO}_3}$) in der Regel eine sehr ausgeprägte räumliche Variabilität. Bisher gibt es kaum Studien, die sich mit dieser starken räumlichen Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ auf der Meterebene sowie mit deren Auswirkungen auf die Genauigkeit der Mittelwertschätzung beschäftigen. Auch die Ursachen der Nitratheterogenität sind weitgehend ungeklärt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die zeitliche und räumliche Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ unterhalb des Hauptwurzelraumes eines N-gesättigten Fichtenaltbestandes sowohl vor als auch nach dessen Kahlschlag untersucht. Das Ziel der Untersuchung war die Identifizierung, Beschreibung und Quantifizierung der Nitratheterogenität in hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung sowie die Klärung ihrer Ursachen. Des Weiteren wurden die Auswirkungen der räumlichen Heterogenität auf die Mittelwertschätzung untersucht, sowie Methoden zur Verbesserung dieser Schätzung erarbeitet.

Im April 2005 wurden in einem 100-jährigen N-gesättigten Fichtenforst 121 Saugkerzen in einem 2x2 m Raster in 40 cm Tiefe installiert. Anschließend wurde monatlich (April bis Oktober 2005) Sickerwasser gewonnen und die Nitratkonzentration bestimmt. Im Januar 2006 wurde der Baumbestand komplett entfernt. Ab April 2006 erfolgte auf dem Kahlschlag im Rahmen einer weiteren Messperiode (April bis Dezember 2006) die monatliche Gewinnung und Analyse von Sickerwässern an exakt den gleichen Messplätzen.

Beim Einbau der Saugkerzen erfolgte die Entnahme von Bodenproben aus dem Saugkerzenbohrer an denen der Nitratgehalt bestimmt wurde. Dabei wurde die Tiefenstufe 30-40 cm beprobt, die exakt der späteren Lage des Keramikkörpers der Saugkerze entsprach. Eine enge Korrelation zwischen Bodennitratgehalt

und $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ am Einzelmessplatz könnte dazu genutzt werden, eine Vorauswahl von Messplätzen zu treffen und die Mittelwertschätzung dadurch zu verbessern. Mögliche Ursachen der Nitratheterogenität wurden zunächst in hoher räumlicher Auflösung ($n=121$) mit einfach zu erhebenden Parametern wie Vegetationsdeckungsgrad, Bestandesdichte, Humusmächtigkeit und Wassermenge in den Sickerwassersammelflaschen am jeweiligen Messplatz im Altbestand sowie 2006 auf dem Kahlschlag untersucht. Ab Juli 2005 wurden im Altbestand 20 Intensivmessplätze ausgewählt, die den gesamten bis dahin gemessenen Konzentrationsgradienten abdeckten. An diesen Messplätzen erfolgten zusätzliche Messungen zu N-Umsatz, N-Eintrag, Wurzelbiomasse sowie von bodenphysikalischen und bodenchemischen Parametern. Die Auswertung der Daten erfolgte mit konventionellen, geostatistischen und multivariaten statistischen Methoden sowie mit Resampling-Verfahren (Bootstrapping).

Die mittleren $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im Altbestand lagen von April bis August zwischen 35,2 (s.d. $\pm 28,1$) und 32 ($\pm 24,9$) mg l^{-1} und gingen bis Oktober auf 21,4 ($\pm 23,9$) mg l^{-1} zurück. Die räumliche Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ und den einzelnen Probenahmeterminen war sehr hoch, während die zeitliche Variabilität am Einzelmessplatz demgegenüber gering war. Nach dem Kahlschlag lagen die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im April und Mai 2006 zunächst unter 10 mg l^{-1} . Erst im Juli waren mit 33,2 ($\pm 13,0$) mg l^{-1} wieder die Mittelwerte vom Vorjahr erreicht und ab August erfolgte ein dramatischer Anstieg der Nitratkonzentrationen, bis zu einem Mittelwert von über 150 ($\pm 44,1$) mg l^{-1} bei der letzten Messung im Dezember. Dies führte im Gegensatz zum Altbestand zu einer sehr hohen zeitlichen Variabilität am Einzelmessplatz, während die räumliche Variabilität stark abnahm. Für künftige Nitratstudien in N-gesättigten Wäldern bedeutet dies, dass gerade in ausdifferenzierten Altbeständen eine hohe Anzahl an Messplätzen nötig ist, um den Mittelwert präzise schätzen zu können. Die zeitliche Auflösung der Messungen kann dagegen niedrig bleiben (z.B. vierteljährlich). Bei Untersuchungen auf Kahlschlägen ist die zeitliche Auflösung der Messung zu erhöhen (monatlich), die Anzahl an Wiederholungen kann dagegen im Vergleich zum Altbestand reduziert werden.

Im Altbestand wurde eine ausgeprägte räumliche Autokorrelation der Nitratkonzentrationen in einem Bereich von unter 10 m festgestellt. Um unabhängige Stichproben zu gewährleisten, ist im untersuchten Bestand dieser Mindestabstand zwischen den Saugkerzen einzuhalten. Nach Kahlschlag hingegen nimmt sowohl die Stärke als auch die Reichweite der räumlichen Autokorrelation stark ab. Hier sind Messplatzabstände von mindestens 5 m ausreichend, um unabhängige Stichproben zu erhalten.

Die mit Hilfe von wässrigen Extrakten bestimmten Nitratgehalte im Boden korrelierten sehr gut mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ ($r = 0,96^{***}$). Bodenproben eignen sich daher hervorragend für eine Vorauswahl von Saugkerzenplätzen in Nitratstudien. Durch eine geeignete Vorauswahl kann die Mittelwertschätzung erheblich verbessert und die Anzahl von Saugkerzenplätzen deutlich reduziert werden. Innerhalb dieser Studie waren für eine präzise Schätzung des Mittelwertes bei zufälliger Messplatzauswahl mindestens 250 Saugkerzen nötig. Mit einer Vorauswahl von Messplätzen anhand von Bodennitratgehalten kann die Zahl der Saugkerzen, bei gleich bleibend hoher Genauigkeit (Abweichung $<\pm 10\%$ vom wahren Mittelwert; $\alpha < 0,05$), auf 20 reduziert werden. Weiterhin war es im Rahmen dieser Studie möglich, die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ direkt aus den Bodennitratgehalten zu berechnen. Dies eröffnet die Möglichkeit einer regelmäßigen Überprüfung der Repräsentativität von bereits implementierten Saugkerzenplätzen mit Hilfe von Bodenproben. Die Anwendung der innerhalb dieser Arbeit erzielten Erkenntnisse in künftigen Sickerwasseruntersuchungen (und an Level II Standorten), werden die Schätzung der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ kurz-, mittel-, und langfristig verbessern.

Die Ursachen der Nitratheterogenität im Altbestand konnten mit einfach zu erhebenden Parametern am Gesamtkollektiv ($n=121$) nur zum Teil erklärt werden (maximal 40%). Signifikante Einflussgrößen waren (1) die Bestandesdichte (nicht linear) und Vegetationsdeckungsgrade von (2) Moosen (negativ) und (3) *Oxalis acetosella* (positiv). Während die Bestandesdichte und der Deckungsgrad von Moosen als Zeiger für das Mikroklima und den N-Eintrag angesehen werden können, wurde *Oxalis* als Zeiger für erhöhte Mineralisationsraten interpretiert.

Nach Kahlschlag konnten nur etwa 30% der Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im Sickerwasser erklärt werden. Signifikante Einflussgrößen waren (1) der Deckungsgrad mit Gefäßpflanzen (negativ), (2) der Durchmesser des nächstgelegenen Baumstumpfes (positiv), (3) die Dicke der organischen Auflage (positiv) sowie (4) die Menge an Sickerwasser in den Sammelflaschen (positiv). Während hohe Vegetationsdeckungsgrade auf eine hohe N-Aufnahme schließen lassen, könnten große Baumstümpfe ein Indikator für eine höhere Feinwurzelbiomasse sein, die nach Kahlschlag mineralisiert wird und zu hohen $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ führt. Dicke Humusaufgaben sind ein Zeichen für hohe Substratverfügbarkeit für die Mineralisierung, während geringe Mengen an Wasser in den Sammelflaschen auf dichten Boden hinweisen, in dem aufgrund des höhern Wasserangebots nach Kahlschlag möglicherweise Denitrifikation stattfindet.

An den Intensivmessplätzen im Altbestand ($n=20$) konnte mit zusätzlich erhobenen Parametern bis zu 93% der Nitratheterogenität erklärt werden. Die Netto-N-Mineralisation (NetMin_N) der Freilandinkubationen in der organischen Auflage wirkte signifikant positiv auf die Nitratkonzentration und lieferte dabei stets den höchsten Erklärungsanteil. Dies deutet darauf hin, dass die Bildung von überschüssigem anorganischem N in der organischen Auflage die Hauptsteuerungsgröße der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ ist. Die Feinwurzelbiomasse im oberen Mineralboden wirkte ebenfalls signifikant positiv auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$, was durch eine höhere Wasseraufnahme im Vergleich zur N-Aufnahme zu erklären ist. Die Schwach- und Feinwurzeln im Unterboden hingegen hatten einen signifikant negativen Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Dies kann auf die Aufnahme von Nitrat in dieser Bodentiefe zurückgeführt werden. Als vierte signifikante Variable war die Bestandesdichte mit einem negativen Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ beteiligt. Das kühlere und trockenere Bestandesklima an Stellen mit hohem Bestockungsgrad und die dadurch gehemmte Mineralisation könnte die Ursache hierfür sein.

Bodenchemische und bodenphysikalische Parameter sowie der über den Bestandesniederschlag eingetragene anorganische N und die Menge an Humus am Messplatz hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Diese Parameter variieren deutlich weniger auf der untersuchten

Fläche als die erhobenen biologischen Parameter (N-Umsatzraten, Wurzelbiomasse, Deckungsgrad der Vegetation).

Im Altbestand scheint die Messung der NetMin_N im Juli/August repräsentativ für die gesamte Vegetationsperiode zu sein, da sie signifikant mit allen Sickerwasserprobenahmen korrelierte. Dieser Messzeitraum ist daher auch für nachfolgende Studien in Betracht zu ziehen.

Die in dieser Studie erarbeiteten Zusammenhänge sollten an weiteren N-gesättigten Standorten mit unterschiedlichen Bestandestypen, Böden und klimatischen Bedingungen untersucht und verifiziert werden. Weiterer Forschungsbedarf besteht hinsichtlich der zeitlichen Variabilität der NetMin_N sowie der Ursachen der räumlichen Heterogenität dieses Parameters.

Da die N-Einträge in Deutschland und Mitteleuropa nach wie vor ein hohes Niveau haben, wird sich der Anteil N-gesättigter Wälder in Zukunft noch erhöhen. Daher sind weitere detaillierte Untersuchungen nötig, um dieses Phänomen sowie die daraus resultierende Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ vollständig und auf allen Skalenebenen zu verstehen.

Abstract

In large areas of central Europe high nitrogen (N) deposition during the last decades has severely altered the N-cycling in forest ecosystems. In many forests, N-deposition has exceeded the uptake capacity of the trees by now, leading to N-saturation and substantial N losses via seepage water in the form of nitrate (NO_3^-). This causes surface and ground water pollution. In these N-saturated forests the spatial distribution of the nitrate concentration in seepage water ($\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$) is very heterogeneous. The high spatial heterogeneity hampers a precise estimate of this parameter.

The aim of the present study was to detect, describe, quantify and explain the spatial and temporal variation of the $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ using a high resolution sampling scheme (in time and space) in a mature N-saturated spruce forest, as well as after the clear cut of this forest. Furthermore I investigated the implications of the observed variability concerning the accuracy and precision of the estimation of the mean $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ and developed a method to improve this estimation.

The spatial and temporal variability of the $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ below the main rooting zone was investigated using 121 suction cups which were implemented in a 2x2 m grid at 40 cm depth in the mineral soil in April 2005. Seepage was collected monthly during the vegetation period in 2005. In January 2006 trees were felled and seepage water was again collected monthly from April to December 2006. Conventional and geostatistical, methods were used to investigate the spatial and temporal heterogeneity of $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$.

I further investigated, whether a preselection of seepage water sampling places, by a prior intensive soil sampling, can improve the precision of the estimate of $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$. Therefore, the soil removed with the soil auger during suction cup implementation was sampled at a depth of 40 cm ($n=121$) and analyzed for water extractable NO_3^- . The NO_3^- content in soil ($\text{Soil}_{\text{NO}_3}$) was calculated. With this data set the correlation between $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ and $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ was tested and a random selection of sampling places (RS) as well as a prestratified selection of sampling places based on $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ (PS) was simulated with bootstrap statistics. In a further approach the $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ was calculated from the $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$.

The reasons of the observed variability were first investigated at all sampling places (n=121) with simple and non destructive measurements concerning vegetation, stand and soil parameters in the mature stand as well as after the clear cut. In a second approach, 20 sampling places were selected in the mature stand in July 2005, in order to obtain additional intensive measurements concerning N turnover, N-Input, tree root biomass, soil chemistry, soil physics, stand parameters, etc. Multivariate statistics were used to explain the observed spatial variability of NO_3^- seepage.

The NO_3^- seepage in the mature stand showed mean values between 35.2 (s.d. ± 28.1) and 32.0 (± 24.9) mg l^{-1} at the sampling dates from April to August 2005 and declined to 21.4 (± 23.9) mg l^{-1} in October 2005. The distributions were positively skewed. The temporal variability was much lower than the spatial variability. NO_3^- in seepage water showed clear structural patterns over the whole vegetation period. Spatial autocorrelation ranged between 16 and 19 m and structural variance was between 65 and 80% of the whole model semivariance. However, for practical purposes it is sufficient to consider an autocorrelation range of about 10-12 m, as the last 5-6.5 m only explained 5% of the total structural variance of NO_3^- seepage.

After the clear cut, mean values of NO_3^- seepage per sampling date were below 10 mg l^{-1} in spring but increased to 151.7 (± 44.1) mg l^{-1} until December 2006. The data followed almost a Gaussian distribution. The patterns of spatial and temporal variability were reversed compared to the mature stand. Spatial structuring was less pronounced with autocorrelation ranges decreasing from 10 m in April 2006 to values below 3 m during the following vegetation period. The structuring variance was below 30% at most sampling dates.

Highly significant correlations between SoilNO_3 and NO_3^- seepage were found ($r=0.96^{***}$). With PS, the accuracy of the mean value of NO_3^- seepage improved considerably. To achieve a 95% confidence interval smaller than $\pm 10\%$, 250 suction cups would be necessary for RS compared to 20 for PS. Six months after implementation, precision of mean NO_3^- seepage was still higher for sampling places selected with the PS method. It was even possible to calculate NO_3^- seepage

from Soil_{NO₃}. Here best results were achieved when Soil_{NO₃} was determined from field moist soil samples.

With simple and non destructive measurable parameters about 40% of total variability of NO₃⁻_{seepage} could be explained by statistical models in the mature stand. Vegetation coverage of *Oxalis acetosella* (positive) and mosses (negative), as well as stand parameters such as distance (not linear) and size (not linear) of the trees surrounding the measuring points, significantly contributed to explained. After the clear cut the thickness of the humus layer (positive) and amount of water collected in the sampling bottles (positive), which were not considered in the mature stand, contributed significantly to the explanation of variability after the clear cut. Together with vegetation coverage (negative) and stand parameters (positive) 30% of the total NO₃⁻ variability could be explained by statistical models.

At the 20 intensively measured suction cups in the mature stand, relatively few parameters could explain up to 93% of the variability of NO₃⁻_{seepage} with multiple linear regression models. Net N mineralization rates in the humus layer and fine root biomass in the upper mineral soil had the highest explanatory power and influenced NO₃⁻_{seepage} positively. Root biomass in deeper soil layers (20-40 cm depth) and stand density had a negative influence. We interpret the results that net N mineralization at the site is the main driver for the heterogeneity of NO₃⁻_{seepage} due to a highly variable spatial production of inorganic N. Roots in the upper mineral soil take up high amounts of water, but not nitrate, causing a concentration of NO₃⁻_{seepage}. In contrast to this, roots in the deeper mineral soil take up nitrate, but only to a relative small extent water, which leads to decreasing nitrate concentrations. High stand density also had a negative effect on nitrate, which may be explained by unfavourable conditions for mineralization due to cooler micro-climate and/or high N uptake by roots. N input by throughfall and the C/N ratio, which are relevant predictors of NO₃⁻ leaching at regional scale, did not contribute to small scale variability at the study site. Ground vegetation coverage and the relative homogeneous chemical and physical soil parameters were also not included as significant parameters into the models.

The results clearly indicate that different sampling strategies are needed to estimate NO_3^- seepage. In the mature stand many suction cups are needed to cover the high spatial variability, while the temporal resolution may be low (4 times a year). In contrast, after clear cut, the temporal resolution of the sampling has to be high (monthly sampling) to track the high temporal variability, whereas less suction cups are needed to cover the considerably smaller spatial variability. High spatial dependencies of NO_3^- seepage, especially in the mature stand, suggest minimum distances between sampling places of at least 10 m. In contrast, after clear cut, sampling distances of 5 m already guarantee a spatially independent sampling.

Using soil samples for the preselection of suction cup places in studies concerning NO_3^- leaching seems to be a promising tool to improve the precision of the mean estimation of NO_3^- seepage. This should be verified in future studies. A detailed description is given of how these findings may be applied in new studies and in ongoing monitoring programs focusing on NO_3^- leaching in forest ecosystems.

Easy to measure vegetation, stand and soil parameters could not explain satisfactorily the spatial variation of the NO_3^- seepage. Intensive measurements are necessary to explain this variability. As the net N mineralization was shown to be a good predictor for the NO_3^- seepage and as it is relatively easy to measure it should be used to further investigate the small scale patterns of NO_3^- leaching at the plot level. The measurement of net N mineralization in July/August seems to be representative for the whole vegetation period, as all seepage water samplings were significantly correlated with this parameter. This should be considered in following studies.

The findings of this investigation should be verified in other N-saturated forests with different tree species and different stand, soil and climatic characteristics. Further investigations on the temporal variation of net N mineralization, its direct impact on NO_3^- seepage as well as on the reasons for the variability of the net N mineralization are needed.

As N deposition is still at a high level in central Europe in the future more forests will show signs of N-saturation. Therefore more research is required to better

understand the reported phenomena and the associated temporal and spatial variability of the nitrate concentration in seepage water at all scales.

1 Einführung und Problemstellung

Vor mittlerweile mehr als 100 Jahren entwickelte Fritz Haber die Ammoniaksynthese und anschließend zusammen mit Carl Bosch das Haber-Bosch-Verfahren zur industriellen Herstellung von Ammoniak. Dies legte den Grundstein für die Herstellung von Kunstdüngern und damit im Fortgang die Sicherstellung der Ernährung für Millionen von Menschen. Smil (2002) schätzt, dass derzeit die Ernährung von ca. 40% der Weltbevölkerung, etwa 2,5 Milliarden Menschen, direkt von der Ammoniaksynthese abhängt. Diese Zahlen lassen erahnen welchen Einfluss das Haber-Bosch-Verfahren auf die Entwicklung der Gesellschaft des 20. Jahrhunderts genommen hat. Die Auswirkungen auf die Ernährung der Menschheit und auf die Herstellung von Sprengstoff waren damals vielleicht schon absehbar. Den Einfluss, den die Ammoniaksynthese in den letzten 100 Jahren auf den Stickstoffkreislauf genommen hat, konnte man sich damals wohl kaum vorstellen.

Obwohl die Atmosphäre zu 78% aus molekularem Stickstoff (N_2) besteht, ist Stickstoff (N) in von Menschen unbeeinflussten Ökosystemen ein das Pflanzenwachstum begrenzender Faktor. Der Grund dafür ist die starke Dreifachbindung der beiden N-Atome innerhalb des N-Moleküls, die von den meisten Organismen nicht aufgebrochen werden kann.

Auf natürlichem Wege kann diese Bindung lediglich durch einige terrestrische und marine N-fixierende Bakterien sowie zu einem weitaus geringeren Anteil durch die Energie, die bei Blitzschlägen entsteht, gespalten werden. Durch diese Prozesse werden jährlich ca. 230 Mt N a^{-1} auf natürlichem Wege in eine biologisch verfügbare N-Form umgewandelt und liegen anschließend als reaktiver N (rN) vor (Galloway et al. 2004).

Der natürliche Stickstoffkreislauf wurde jedoch in den letzten 150 Jahren durch menschliche Aktivitäten entscheidend verändert. Während die anthropogen bedingte Menge an biologisch verfügbarem Stickstoff im Jahr 1860 noch 15 Mt a^{-1} betrug, waren es im Jahr 2005 bereits 187 Mt a^{-1} . Dies stellt fast eine Verdoppelung des auf natürliche Weise entstehenden rN dar.

Der weitaus größte Anteil an anthropogenem rN wird mittels der Ammoniaksynthese hergestellt (121 Mt a^{-1}). 80% des auf diese Weise gewonnenen rN werden dabei zur Herstellung von Düngemitteln verwendet. An zweiter Stelle steht die biologische N-Fixierung durch landwirtschaftlichen Pflanzenbau mit 40 Mt a^{-1} und schließlich die unbeabsichtigte Entstehung von rN bei der Verbrennung von fossilen Energieträgern im Straßenverkehr oder in der Energieproduktion, bei der jährlich 25 Mt rN entstehen (Galloway et al. 2008).

Der atmosphärische Transport ist weltweit gesehen der dominierende Prozess für den Eintrag von rN in Ökosysteme. Während 1860 noch geschätzte 34 Mt a^{-1} N als NO_x und NH_3 emittiert und über die Atmosphäre wieder als NO_y und NH_x deponiert wurden, waren es 1995 bereits 100 Mt a^{-1} . Für das Jahr 2050 wird eine weitere Verdoppelung prognostiziert (Galloway et al. 2004).

In Deutschland wurden zwischen 2000 und 2004 jährlich ca. $1,1 \text{ Mt rN}$ durch Landwirtschaft, Verkehr und Industrie in die Atmosphäre emittiert. Davon wurden jährlich $1,0 \text{ Mt}$ als nasse und trockene Deposition in terrestrischen Ökosystemen wieder abgelagert. Unter Berücksichtigung der Einträge durch Düngung von landwirtschaftlichen Ökosystemen werden jährlich etwa $1,1 \text{ Mt rN}$ von terrestrischen Ökosystemen in Oberflächengewässer und das Grundwasser verlagert (Umweltbundesamt 2009).

Während Gebiete ohne anthropogenen Einfluss Depositionen von weniger als $0,5 \text{ kg rN ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ aufweisen (Dentener et al. 2006; Hedin et al. 1995), wurden in Deutschland zwischen 1999 und 2004 im Durchschnitt jährlich 28 kg rN ha^{-1} in terrestrische Ökosysteme eingetragen (Gauger et al. 2008).

Die N-Deposition beschränkt sich jedoch nicht auf landwirtschaftlich genutzte Flächen, die im Rahmen ihrer Bewirtschaftung ohnehin mit rN gedüngt werden, sondern betrifft auch natürliche und naturnahe Ökosysteme. Wälder sind von der Stoffdeposition aufgrund ihres Struktureichtums und ihrer hohen Blattoberfläche (Auskämmeffekt) deutlich stärker betroffen als landwirtschaftlich genutzte Flächen, Graslandschaften und Heidelandschaften (Fowler et al. 1999). Nadelwälder sind dabei stärker betroffen als Laubwälder, da sie einen höheren Blattflächenindex aufweisen und zudem ganzjährig benadelt sind (Rothe 2005; Rothe et al. 2002).

In vom Menschen unbeeinflussten Gebieten kann der N-Kreislauf als annähernd geschlossen angesehen werden. Hier gibt es keine oder nur geringe N-Verluste in Form von organischen Stickstoffverbindungen (Hedin et al. 1995). Stickstoff ist hier ein das Wachstum limitierender Faktor. Zusätzlicher N-Eintrag in natürliche Ökosysteme führt zunächst zu einer gesteigerten Biomasseproduktion (Aber et al. 1989) mit einer Speicherung des zusätzlichen N in Pflanzenbiomasse, im Boden und in Mikroorganismen sowie einer Intensivierung des internen N-Kreislaufs. Die Speicherfähigkeit nimmt jedoch mit anhaltend hohen N-Einträgen ab und führt schließlich zur N-Sättigung. Dieser Punkt ist erreicht, wenn Netto-Nitrifikation stattfindet und das Ökosystem rN in Form von Nitrat (NO_3^-) mit dem Sickerwasser verliert (Aber et al. 1998).

Die Folgen von fortwährend hohen N-Einträgen und der damit einhergehenden N-Sättigung sind vielfältig. So kommt es zur direkten Versauerung von Böden und Oberflächengewässern durch den Eintrag von Salpetersäure (HNO_3). Die Protonenproduktion bei der Aufnahme oder der Nitrifikation des eingetragenen Ammoniums trägt zudem auf indirektem Weg zur Bodenversauerung bei (Vitousek et al. 1997). Um die negative Ladung der NO_3^- -Ionen im Sickerwasser auszugleichen, werden basische Kationen (in sauren Böden vor allem Aluminium) zum Ladungsausgleich mit der Bodenlösung nach unten verlagert (Weis et al. 2006). Dies führt zum Verlust von wichtigen Pflanzennährstoffen und zur Verringerung der Säureneutralisationskapazität. Durch Versauerung und Ladungsausgleich werden Aluminiumionen und -verbindungen mobilisiert, die in höheren Konzentrationen toxisch auf Pflanzenwurzeln und Bodenleben wirken (Aber et al. 1998; Weis et al. 2006; Dahlgren and Driscoll 1994). Darüber hinaus führt N-Sättigung auch zum Verlust von Biodiversität. Spezialisierte Pflanzen, die sich durch Besonderheiten in der N-aquise auf nährstoffarmen Standorten ansiedeln können, werden durch das erhöhte N-Angebot von nitrophilen Arten verdrängt (Vitousek et al. 1997; Bobbink et al. 2010).

In Waldbeständen entstehen Nachteile durch Nährstoffungleichgewichte, die zu einer verstärkten Anfälligkeit der Bäume gegenüber biotischen (z.B. Borkenkäfer, Pilzkrankheiten) und abiotischen (Trockenheit, Frost, Aluminiumtoxizität) Schäden führen können (McNulty et al. 2005; Magill et al.

2004; Nihlgard 1985). Erhöhte Emissionen der Spurengase NO und N₂O aus N-gesättigten Böden (Butterbach-Bahl et al. 2002a) tragen durch Bildung von troposphärischem Ozon zur Gesundheitsgefährdung des Menschen und zur Klimaerwärmung bei. N₂O hat die 298-fache Treibhauswirkung von CO₂, eine lange Lebenszeit und fördert den Abbau stratosphärischen Ozons sobald es in entsprechende Höhen gelangt (Graedel and Crutzen 1994).

Bei anhaltend hohen atmosphärischen N-Einträgen können Wälder ihre N-Filter- und Retentionsfunktion nicht mehr erfüllen. NO₃⁻ gelangt in Oberflächengewässer und trägt zur Eutrophierung von Flüssen und Seen bei. Wird es mit dem Sickerwasser in tiefere Bodenschichten transportiert und gelangt ins Grundwasser, wird dort die Nitratkonzentration erhöht, mit negativen Folgen für die Trinkwassergewinnung. NO₃⁻ wird im Körper zu Nitrit umgewandelt und kann bei Säuglingen zur Zyanose führen. Außerdem können über Nitrit im Körper krebserregende Nitrosamine entstehen (Wolfe and Patz 2002).

In einer bayernweiten Nitratinventur im Jahr 2001/2002 in 399 Waldbeständen zeigten 37% der untersuchten Bestände Anzeichen von N-Sättigung. In 8% der Wälder war sogar der Grenzwert der nationalen Trinkwasserverordnung (50 mg NO₃⁻ l⁻¹) überschritten (Mellert et al. 2005b). Diese Studie zeigte, dass die Nitratkonzentrationen sowohl regional als auch überregional sehr unterschiedlich sind. Diese hohe Variabilität in Wäldern wird signifikant von Bestandestyp (Baumart, Alter) und -geschichte, der Geologie, dem Klima und vom N-Eintrag beeinflusst (Mellert et al. 2005a). Doch auch auf der Bestandesebene, auf der die oben genannten Einflussgrößen einheitlich sind, ist eine starke räumliche Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser unterhalb des Hauptwurzelraumes zu finden. Diese ausgeprägte kleinräumige Heterogenität reicht bis in den Zentimeter-Bereich hinein (Göttlein and Stanjek 1996) und ist bis heute weitgehend ungeklärt. In der Literatur findet sich weder eine systematische Beschreibung dieser kleinräumigen Heterogenität, noch sind deren Ursachen bisher umfassend untersucht worden. Das ist im Wesentlichen auf eine allgemein geringe Anzahl an Messplätzen, sowie auf fehlende umfassende Messungen von möglichen Einflussgrößen an diesen Messplätzen zurückzuführen.

Viele Sickerwasserstudien arbeiten zwar mit einer zeitlich hohen Auflösung (monatliche Messungen) aber mit geringen Wiederholungszahlen (5-10 Saugkerzen), so dass gerade die räumliche Heterogenität nur unzureichend untersucht und beschrieben wird. Dies liegt unter anderem an den hohen Kosten, die beim Einrichten eines Saugkerzenmessplatzes entstehen, sowie dessen hoher Betriebs- und Wartungsaufwand. Aus diesem Grund fehlen bisher detaillierte Informationen zur kleinräumigen Heterogenität von NO_3^- im Sickerwasser. Die genaue Kenntnis dieser Heterogenität ist jedoch wichtig, um Probenahmestrategien und -designs für eine exakte Mittelwertschätzung zu ermitteln. Repräsentative Mittelwerte sind sowohl für Bilanzierungen von N-Austrägen als auch für Umweltstudien zur Nitratverlagerung in Grund- und Oberflächenwässer unabdingbar, da auf ihrer Grundlage Entscheidungen im Umweltmanagement getroffen werden. So ist zum Beispiel die Kenntnis der Nitratgehalte im Sickerwasser für Trinkwasserversorger enorm wichtig, um künftige Veränderungen der Wasserqualität abschätzen zu können. Ebenso müssen Maßnahmen wie der gerade stattfindende großflächige Waldumbau sowie Nutzungseinschränkungen verlässlich auf ihre Wirkungen bezüglich der Nitratkonzentration überprüft werden können.

Die Ursachen der beobachteten Nitratheterogenität sind ebenfalls unklar. Selbst in homogenen Beständen, in denen Baumart, Alter, Bodensubstrat, Relief und Klima einheitlich sind, ist die räumliche Variabilität sehr hoch. Der N-Kreislauf von Waldökosystemen ist komplex. Eine Vielzahl biotischer und abiotischer Prozesse und Faktoren sind an der Nitratproduktion, -konsumption und -verlagerung beteiligt. Bereits der N-Eintrag mit dem Bestandesniederschlag sowie der Streufall in Waldökosystemen sind räumlich sehr heterogen. Neben bodenchemischen und bodenphysikalischen Faktoren sind es vor allem biologische Prozesse, die den N-Umsatz kleinräumig steuern. Mikroorganismen wandeln Pflanzenreste in anorganischen N um, welcher wiederum von den Wurzeln der Pflanzen aufgenommen wird.

In verschiedenen Studien wurden bereits Faktoren und Prozesse, welche die Nitratkonzentration im Sickerwasser beeinflussen, untersucht und diskutiert. Es wurde jedoch bisher kein einzelner Parameter gefunden, der die Variabilität

zufrieden stellend erklärt. Um die Steuergrößen der Nitratkonzentration zu identifizieren, gilt es daher möglichst viele potentielle Einflussfaktoren und Prozesse gleichzeitig mit einer hohen räumlichen Auflösung zu untersuchen und direkt mit der Nitratkonzentration im Sickerwasser zu vergleichen.

Ein gutes Verständnis der Zusammenhänge zwischen Bodenparametern, Mikrobiologie, Vegetation und der Nitratkonzentration im Sickerwasser kann somit helfen den Nitrataustrag besser verstehen und im Fortgang auch modellieren zu können.

Darauf aufbauend verfolgt die vorliegende Arbeit folgende Ziele:

- Identifizierung, Beschreibung und Quantifizierung der räumlichen und zeitlichen Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser eines N-gesättigten Fichtenaltbestandes sowie nach dessen Kahlschlag.
- Quantifizierung des Einflusses dieser Heterogenität auf die Mittelwertschätzung der Nitratkonzentration sowie die Erarbeitung von Methoden zur Verbesserung dieser Schätzung.
- Erklärung der Ursachen der räumlichen Variabilität der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser mit (1) einfach zu erhebenden Parametern mit hoher Anzahl an Wiederholungen sowie an (2) ausgewählten Saugkerzenplätzen mit intensiven Messungen, die am Ende der Vegetationsperiode mit einer destruktiven Bodenprobenahme abschließen.

Die erhobenen Daten werden mit Hilfe von geostatistischen und multivariaten Analysemethoden hinsichtlich der zeitlichen und räumlichen Variabilität der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser sowie deren Ursachen untersucht.

2 Bisheriger Kenntnisstand zur Variabilität der Nitratkonzentration im Sickerwasser und deren mögliche Einflussgrößen

2.1 Räumliche und zeitliche Heterogenität

Die sehr hohe räumliche Variabilität von Nitrat in der Bodenlösung wurde auf der Mikroskala (cm-Skala) (Göttlein and Stanjek 1996), auf Plotebene (m-Skala) (Huber et al. 2010; Weis et al. 2006), auf Bestandesebene (Mellert et al. 2008; Manderscheid and Matzner 1995b) sowie auf regionaler und überregionaler Ebene (Rothe and Mellert 2004) beobachtet. Vor allem in N-gesättigten Fichtenwäldern sind Varianzkoeffizienten über 100% keine Seltenheit.

Vergleiche von Einzelmessplätzen in N-gesättigten Wäldern auf Bestandes- und Plotebene zeigen bei verschiedenen Studien eine deutlich höhere räumliche im Vergleich zur zeitlichen Variabilität (Mellert et al. 2008; Manderscheid and Matzner 1995a; Laverman et al. 2000; Asano et al. 2006). Auch im Höglwald, in dem die vorliegende Studie durchgeführt wurde, zeigt sich eine hohe räumliche Heterogenität der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser in 40 cm Tiefe im Altbestand (Huber et al. 2010; Huber et al. 2004b). Einzelne Saugkerzenplätze behalten dabei ihr Konzentrationsprofil im Altbestand über längere Zeiträume bei. Dieses Verhalten könnte zur Untersuchung der Ursachen der Nitratheterogenität genutzt werden.

Nach Kahlschlägen kommt es in Europa in N-gesättigten Wäldern meist zu einem dramatischen Anstieg der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser (Gundersen et al. 2006). Ein Anstieg der Konzentrationen sollte auch mit einer höheren zeitlichen Variabilität am Einzelmessplatz verbunden sein. Im Höglwald wurden solche Anstiege bereits in früheren Experimenten beobachtet (Huber et al. 2004b). Auch die räumliche Heterogenität war nach Kahlschlag nach wie vor hoch, jedoch konnten bisher aufgrund von geringen Wiederholungszahlen weder genauere Aussagen zur zeitlichen noch zur räumlichen Variabilität gemacht werden.

2.2 N-Eintrag

Der N-Eintrag mit dem Bestandesniederschlag ist eine wichtige Einflussgröße für die Nitratkonzentrationen im Sickerwasser. Sowohl auf europäischer (Dise and Wright 1995; Dise et al. 1998; Kristensen et al. 2004; Gundersen et al. 2006), nationaler (Borken and Matzner 2004) und regionaler Ebene (Mellert et al. 2005a) steigen mit den N-Einträgen auch die mittleren Nitratkonzentrationen an. Ein Eintrag von $10 \text{ kg ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ scheint der Schwellenwert zu sein, ab dem mit erhöhten Nitratkonzentrationen in der Bodenlösung zu rechnen ist (Dise and Wright 1995; Kristensen et al. 2004). Auf der Bestandesebene beeinflusst die Bestandesstruktur den Eintrag von mineralischem N und anderen Ionen mit dem Bestandesniederschlag. Ionenkonzentration und -eintrag sinken in der Regel mit steigendem Abstand zum Stamm und sorgen für eine kleinräumige Variabilität des Eintrags, die allerdings geringer ist als diejenige der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser (Beier et al. 1993). Koch und Matzner (1993) fanden signifikant höhere Nitratkonzentrationen in 40 cm Bodentiefe und 4 m Abstand zum Stamm im Vergleich zum stammnahen Bereich bei der Fichte. Bei der Buche dagegen wurden signifikant höhere Konzentrationen in Stammnähe (Abstand 10 cm) gemessen. Manderscheid und Matzner (1995a) konnten jedoch auf der Einzelmessplatzebene keinen direkten Zusammenhang zwischen anorganischem N-Eintrag mit dem Bestandesniederschlag und der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser feststellen.

Über den Streufall werden dem Boden ebenfalls große Mengen an N zugeführt. Im Höglwald sind dies ca. $73 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ (Kreutzer et al. 2009; Huber et al. 2010). Die Bäume sorgen dabei aktiv für eine räumliche Umverteilung von organischer Substanz und damit auch von N, was sich unter anderem in der Variabilität der Humusmächtigkeiten zeigt. Auch die Qualität der Streu kann sich von Baum zu Baum unterscheiden und zur kleinräumigen Variabilität beitragen.

2.3 Mikrobielle N-Umsetzung

Abgesehen von N-limitierten Systemen, in denen signifikante Mengen von N in organischer Form von Pflanzen mit Hilfe von Mykorrhizapilzen aufgenommen

werden (Schimel and Bennett 2004) können, muss der organisch gebundene N der Streu erst in anorganische Formen umgewandelt werden, bevor er von den Pflanzen genutzt werden kann. Dies geschieht durch mikrobielle Umsetzungsprozesse im Boden. Im Rahmen der N-Mineralisierung wird dabei zunächst durch die Ammonifikation organischer N in Ammonium (NH_4^+) umgewandelt. Dies erfolgt hauptsächlich durch unspezifische heterotrophe Mikroorganismen. Durch die Nitrifikation wird schließlich NH_4^+ über die Zwischenstufen Hydroxylamin (NH_2OH) und Nitrit (NO_2^-) zu Nitrat (NO_3^-) oxidiert (Paul and Clark, 1996). Dies kann sowohl durch autotrophe als auch durch heterotrophe Mikroorganismen geschehen. Während erstere üblicherweise aus zwei koexistierenden Bakteriengruppen bestehen (Ammonium- und Nitritoxidierer), setzen sich letztere vor allem aus verschiedenen Bodenpilzen aber auch heterotrophen Bakteriengruppen zusammen. Da autotrophe Nitrifizierer empfindlich auf niedrige pH-Werte reagieren, dürften heterotrophe Nitrifizierer in sauren Böden einen bedeutenden Teil zur Nitratbildung beitragen (Papen and von Berg 1998; Persson et al. 2000). Untersuchungen von Laverman et al. (2002; 2000) haben gezeigt, dass die Produktion von NH_4^+ und NO_3^- in sauren Waldböden räumlich stark variieren kann.

2.4 N-Aufnahme und Immobilisierung

Die Wurzeln der Bäume stellen eine wichtige Senke für anorganischen N dar. In Ökosystemen mit niedrigem N-Status konkurrieren sie mit den Mikroorganismen um den limitiert vorhanden N (Schimel and Bennett 2004; Kaye and Hart 1997). In N gesättigten Systemen wird der zur Verfügung stehende N jedoch nicht vollständig von Mikroorganismen und Vegetation beansprucht. Untersuchungen zeigen, dass bei hohem N-Angebot Baumwurzeln NH_4^+ gegenüber NO_3^- bevorzugen (Kronzucker et al. 1996; Marschner et al. 1991). Gessler et al. (1998) stellten am Standort Höglwald fest, dass Fichtenwurzeln in der organischen Auflage und im oberen Mineralboden (Ah) ausschließlich NH_4^+ und kein Nitrat aufnehmen. In Laborversuchen wurde jedoch in der gleichen Arbeit festgestellt, dass Fichtenwurzeln bei Abwesenheit von NH_4^+ in der Nährlösung Nitrat aufnehmen. Je nachdem, in welchem Verhältnis die Wurzeln NH_4^+ , NO_3^-

und Wasser aufnehmen, kommt es zu einer Aufkonzentrierung oder Verdünnung von Nitrat im Sickerwasser. Die kleinräumige Variation der Wurzelbiomasse und vor allem der Feinwurzelbiomasse könnte daher einen wichtigen Einfluss auf die Nitratkonzentrationen im Sickerwasser nehmen.

Besonders nach Kahlschlag zeigen Messplätze mit hohen Deckungsgraden an Naturverjüngung und Schlagvegetation niedrigere Nitratkonzentrationen (Mellert et al. 1996; Weis et al. 2001; Huber et al. 2004b). Dies deutet auf verstärkte Aufnahme von N durch die Bodenvegetation hin.

Die Mikroorganismen selbst können große Mengen an mineralischen N immobilisieren. Im Höglwald sind beispielsweise 54 bis 80 kg N permanent in der mikrobiellen Biomasse gespeichert (Kreutzer et al. 2009; Rosenkranz et al. 2010). Der jährliche Umsatz von N durch Mikroben ist jedoch mit Bruttoumsatzraten von 800-980 kg N ha⁻¹ weitaus größer (Rosenkranz et al. 2010).

2.5 Bodenchemische und bodenphysikalische Einflussgrößen

Auf überregionaler Ebene scheint das C/N-Verhältnis der organischen Auflage ein guter Vorhersageparameter für erhöhte Nitratkonzentrationen zumindest in Fichtenwäldern zu sein. Sowohl Kristensen et al. (2004) als auch Borken und Matzner (2004) stellten bei einem C/N-Verhältnis von <25 erhöhte Nitratkonzentrationen im Sickerwasser fest. Im cm-Bereich konnten Strong et al. (1998a) in Mineralböden allerdings keinen Einfluss des C/N-Verhältnisses auf die N-Mineralisierung nachweisen.

Der pH-Wert des Bodens wirkt sich auf die N-Umsetzung im Boden aus. Dise et al. (1998) beschreiben einen negativen Zusammenhang zwischen pH-Werten im Unterboden und dem N-Austrag auf europäischer Ebene. Auf der Zentimeterebene beschreiben Strong et al. (1998a) einen negativen Einfluss von niedrigen pH-Werten auf die Nitrifikation.

Das Wasserangebot hat einen entscheidenden Einfluss auf die mikrobielle Aktivität und auf den Transport von gelöstem N in tiefere Schichten. Die Bestandesstruktur steuert den Wassereintrag und sorgt für seine kleinräumige Variabilität.

Strong et al. (1998a) betont den Einfluss der kleinräumigen Variabilität von bodenphysikalischen Parametern auf die Nitratbildung im Mineralboden. Vor allem die Lagerungsdichte korrelierte sehr stark negativ mit der Nitratbildung in kleinen Bodenwürfeln. Auch die Porengröße hatte einen entscheidenden Einfluss auf die Verteilung des N im Boden. Strong et al. (1998b; 1999) heben dabei besonders die Bedeutung des Mittelporenbereichs für die N-Mineralisation hervor. Neben ihrem Einfluss auf die mikrobielle N-Umsetzung könnten kleinräumige Unterschiede in Lagerungsdichte und Porenvolumenverteilung eine wichtige Rolle bei der Tiefenverlagerung von organischem und anorganischem N spielen.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Temperatur, welche die mikrobielle Aktivität beeinflusst. Die Temperaturverteilung im Bestand hängt stark von dessen Struktur ab und kann kleinräumig stark variieren.

2.6 Vertikaler Transport von mineralischem N

NH_4^+ wird vor allem in der organischen Auflage gebildet. Es wird gegenüber NO_3^- bevorzugt von Pflanzen und Mikroorganismen aufgenommen oder in Nitrat umgewandelt. Weiterhin kann es reversibel an die organischen und anorganischen Austauschkomplexe des Bodens angelagert werden oder irreversibel in die Zwischenschichten von Tonmineralen eingebaut werden (Paul and Clark 1996). Im Höglwald ist NH_4^+ im Humusausfluss (Humuslysimeter) noch eindeutig nachzuweisen, in 20 cm Mineralbodentiefe ist es jedoch kaum noch in der Bodenlösung zu finden (Kreutzer et al. 1991a).

Nitrat dagegen wird in geringerem Maße von Pflanzen und Mikroorganismen aufgenommen und immobilisiert. Auch zeigt es keine Affinität zu Bodenaustauschern und zur Fixierung von Tonmineralen. Es bleibt also im Sickerwasser gelöst und wird leicht in tiefere Bodenschichten transportiert. Außerdem kann es auch im Mineralboden noch in nennenswerten Mengen gebildet werden (Matejek et al. 2010).

2.7 Zusammenfassende Übersicht

Abb. 1 fasst wichtige Größen zusammen, welche Einfluss auf die zeitliche und kleinräumige Variabilität der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser haben könnten. Die Struktur des Baumbestandes (wie z.B. der Blattflächenindex) direkt über dem Messplatz bestimmt den Eintrag an N über den Bestandesniederschlag und den Streufall (räumlich wie zeitlich). Dies führt dann zu unterschiedlichen räumlichen Mustern im Substratangebot und damit auch der N-Umsetzung. Die Bestandesstruktur ist zusätzlich verantwortlich für die kleinräumige Verteilung des Wasserangebots und der Temperatur. Durch die Aufnahme von N durch Baumwurzeln, Bodenvegetation und Mikroorganismen, die ihrerseits stark räumlich variieren, wird N immobilisiert. Der ständige Auf- und Abbau von Mikroorganismen und (Fein-) Wurzeln sorgt für einen bodeninternen N-Kreislauf, bei dem ein Teil des N zwischen organischer und anorganischer Form wechselt. Die Umsetzungsprozesse und die Aufnahme werden von bodenchemischen Parametern wie z. B. C/N-Verhältnis, pH-Wert, Wasserangebot und Sauerstoffangebot beeinflusst. Aber auch bodenphysikalische Faktoren wie Lagerungsdichte, Porenvolumen und Temperatur wirken sich auf die N-Umsetzung aus. Nicht zuletzt wirken sich die bodenchemischen und bodenphysikalischen Parameter auch auf den vertikalen Transport von N aus.

Das kleinräumige Zusammenwirken all dieser Prozesse und Faktoren dürfte im Verlauf der Vegetationsperiode einen großen Einfluss auf die Nitratkonzentrationen im Sickerwasser unterhalb des Hauptwurzelaumes haben.

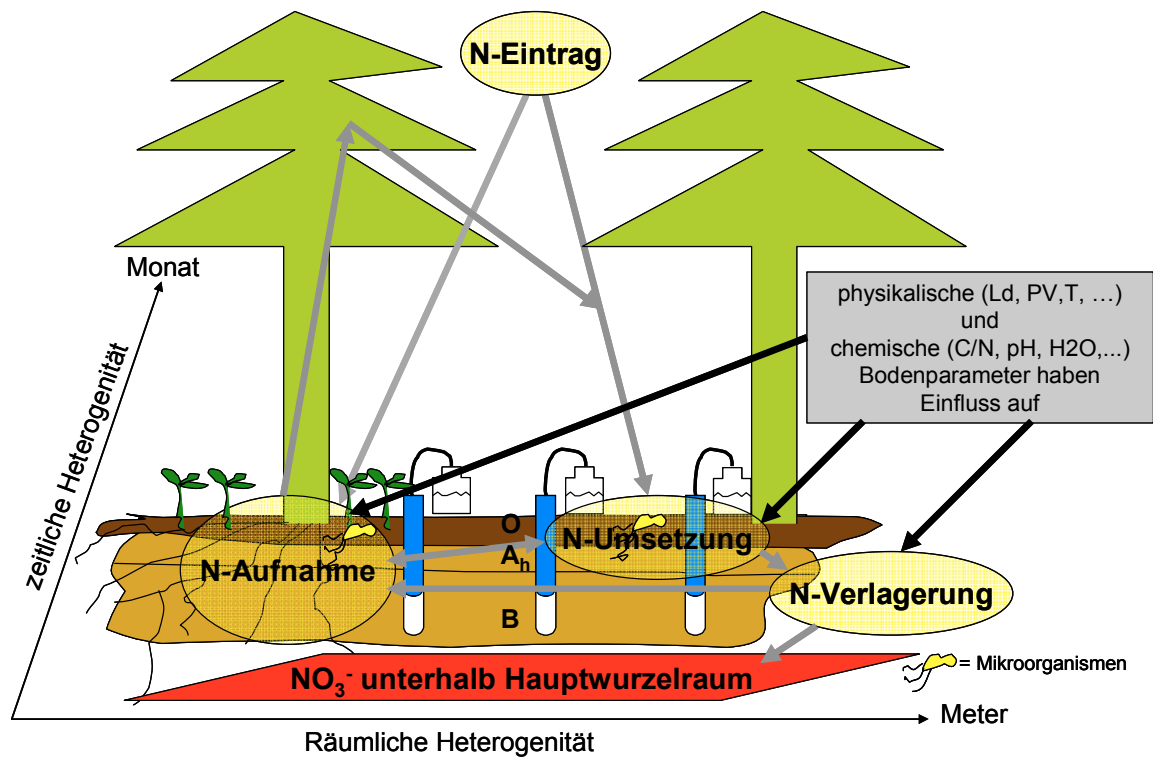


Abb. 1: Zusammenfassende Übersicht über die Prozesse und Faktoren, welche die Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser beeinflussen könnten.

Ziel dieser Arbeit war es nicht Flussgrößen zu quantifizieren. Dies wäre aufgrund des hohen Messaufwandes für eine größere Anzahl an Messplätzen nicht möglich gewesen. Ziel war es vielmehr Parameter zu identifizieren, die mit der Nitratkonzentration im Sickerwasser korrelieren und in multivariaten statistischen Modellen möglichst viel von der beobachteten Nitratheterogenität erklären. Die untersuchten Parameter, die verwendeten Methoden sowie das Untersuchungsgebiet werden in den folgenden Kapiteln beschrieben.

3 Beschreibung des Untersuchungsgebiets

Die Untersuchungsfläche liegt im Höglwald, einem Standort, an dem Seit 1982 Waldökosystemforschung betrieben wird. Die Forschungsschwerpunkte lagen zunächst im Bereich der Ökosystemversauerung, durch die damals anhaltend hohe, saure atmosphärische Deposition, sowie deren Kompensation durch Kalkung. Seit Anfang der 90er Jahre rückte immer mehr das Problem der anhaltend hohen N-Deposition mit all seinen negativen Folgen für Waldökosysteme in den Vordergrund. In Langzeitstudien wurden im Höglwald grundlegende Kenntnisse über die am N-Kreislauf beteiligten Prozesse gewonnen. Detaillierte Informationen zu Standort und Versuchsanlagen finden sich unter anderem in Kreuzer et al. (1991b), Göttlein und Kreuzer (1991), Kreuzer und Weiss (1998), Butterbach-Bahl et al. (1998; 2002c), Gessler et al. (1998), Huber et al. (2002), Huber und Kreuzer (2002), Papen und Butterbach-Bahl (1999), Rothe et al. (2002), sowie in den Sonderbänden von Plant and Soil von 1998 (Vol 199, Issue 1) und 2002 (Vol 240, Issue 1).

Tab. 1: Lage- und Klimaparameter des Standorts Höglwald (Huber et al. 2010).

Lage:	40 km nordwestlich von München (48°17'N; 11°04'E); 540 m üNN
Wuchsbezirk:	12.8 (Oberbayerisches Tertiärhügelland)
Forstbetrieb:	Landsberg (Forstdistrikt Höglwald)
Temperatur:	1984-2004: 7,5°C; 2005: 8°C; 2006: 8,7°C
Niederschlag:	1984-2004: 940 mm; 2005: 1050 mm; 2006: 735 mm
Vegetationszeit:	220-230 Tage

Der Standort Höglwald liegt am Rand der Nordstaulage der Alpen, die für etwas höhere Niederschläge sorgt, von denen über die Hälfte während der Vegetationsperiode fallen. In Tabelle 1 sind Lage und Klima des Standortes beschrieben. Die Landschaft ist gekennzeichnet durch Flächen mit intensiver landwirtschaftlicher Nutzung (Milchviehhaltung und Rindermast) und eingesprengten Waldungen.

Das Ausgangsmaterial für die Bodenentwicklung sind sandig-schluffige Sedimente der oberen Süßwassermolasse, die deutlich von Lößeinwehungen

beeinflusst sind. Löß und Süßwassermolasse wurden während des Quartärs intensiv vermischt. Daraus hat sich eine Parabraunerde (WRB-IUSS-Working-Group (2007): Alisol) entwickelt, die leichte Anzeichen von Podsolierung aufweist. An einigen Stellen zeigen sich auch deutliche Merkmale einer Pseudovergleyung.

Der Mineralboden wird von einem 6-10 cm mächtigen, typischen Moderhumus überlagert. Dieser zeigt eine abnehmende Basensättigung von 80 auf 40% vom L- bis zum O_n-Horizont und ist mit einem pH-Wert von 2,75 (KCl) im O_n sehr sauer. Trotz des niedrigen pH-Wertes weist die organische Auflage einen relativ hohen N-Gehalt (ca. 1,7%) und ein günstiges C/N-Verhältnis zwischen 24 und 27 auf (eigene Messungen).

Der mineralische Oberboden ist ebenfalls stark versauert mit pH-Werten um 3 (KCl) in 0-5 cm Tiefe und pH-Werten um 3,7 in 30-40 cm Tiefe. Die Basensättigung bis 40 cm Tiefe liegt bei weniger als 10%, bis 80 cm Tiefe steigt sie auf 50% an (Kreutzer and Weiss 1998). Das entspricht dem Basensättigungstyp 3-4 (Kölling 1999; Kölling et al. 1996), bei dem nur sehr tief wurzelnde Pflanzen der Krautschicht und ältere Bäume die basischen Kationen aus dem Unterboden nutzen und somit als Basenpumpe fungieren können. Diese Basenausstattung ist typisch für die im Untersuchungsgebiet vorkommenden tertiären Böden mit Lößüberlagerung.

Die Bodenart im Profil schwankt zwischen schwach bis stark lehmigem Sand. Das gesamte Bodenprofil ist nahezu skelettfrei, weist eine hohe Wasserspeicherkapazität auf und ist tiefgründig durchwurzelbar.

Aktuell werden die Bestände im Höglwald von der Fichte (*Picea abies*) dominiert. Im Zuge des Waldumbaus werden jedoch wieder vermehrt Buchen und andere Laubbäume eingebracht. Die Rotbuche (*Fagus sylvatica*) stellt die Hauptbaumart der potentiell natürlichen Vegetation an diesem Standort dar, welche ein saurer, gut mit Nährstoffen versorgter Buchenwald (*Luzulo-Fagetum*) wäre (Rodenkirchen 1998a).

Eine Strauchschicht ist innerhalb der Altbestände kaum Vorhanden und besteht vor allem aus Naturverjüngung des Altbestandes sowie *Frangula alnus*, *Sorbus aucuparia* und *Sambucus nigra*. In Lichtungen und Kahlschlägen bilden sich

dichte und wüchsige Sukzessionsstadien aus *Rubus*-Arten, sowie Naturverjüngung von *Picea abies*, *Betula pendula*, *Populus tremula*, *Fagus sylvatica*, *Frangula alnus*, *Sambucus nigra* und *Sorbus aucuparia*.

Die Krautschicht weist Deckungsgrade von 15-30% auf und besteht vorwiegend aus *Oxalis acetosella* (dominante Art), *Carex brizoides* und *Dryopteris*-Arten. Vereinzelt kommen *Deschampsia flexuosa*, *Impatiens*-Arten, *Rubus*-Arten sowie Sämlinge von *Picea abies*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus excelsior*, *Acer pseudoplatanus* und *Sorbus aucuparia* vor. Die Mooschicht weist im Altbestand hohe Deckungsgrade von ca. 80% auf und besteht vorwiegend aus *Thuidium tamariscinum* als dominante Art (Rodenkirchen 1991).

Auf der aktuell untersuchten Fläche stockt ein wüchsiger 100-jähriger Fichtenaltbestand. Die Stammzahl beträgt 640 Bäume ha⁻¹, bei einer Grundfläche von ca. 77 m² ha⁻¹ und jährlichen Zuwachsraten von ungefähr 20 Vfm ha⁻¹ (1992-1995) (Huber et al. 2004b).

Aufgrund der intensiven Landbewirtschaftung, der dichten Besiedelung des Umlandes (Augsburg und München) sowie des daraus resultierenden hohen Verkehrsaufkommens (z.B. Autobahn A8), ist der N-Eintrag seit Jahrzehnten auf hohem Niveau. Der Höglwald ist gemäß der Definitionen von Aber et al. (1998) und Gundersen et al. (2006) N-gesättigt. Er kann den eingetragenen N nicht mehr in Bestand, Vegetation und Boden speichern. Der überschüssige N wird mit dem Sickerwasser in tiefere Bodenschichten verlagert und gelangt ins Grundwasser. Ein weiterer Teil wird über gasförmige Verluste an die Atmosphäre abgegeben. Der Höglwald erhält jährlich ca. 45 kg N ha⁻¹ aus nasser und trockener atmosphärischer Deposition (Kreutzer et al. 2009). Der Eintrag mit dem Bestandesniederschlag beträgt ca. 30 kg N ha⁻¹ a⁻¹, wobei das Verhältnis zwischen NH₄⁺-N zu NO₃⁻-N etwa 2:1 beträgt (Rothe et al. 2002). Der hohe NH₄⁺-Anteil spiegelt den starken Einfluss der Landwirtschaft beim N-Eintrag wider. Dazu kommen gasförmige Depositionen in Form von NH₃ und NO₂ in den Baumkronen in Höhe von ca. 4 kg N ha⁻¹ a⁻¹ (Gessler et al. 2000, 2002) und gasförmige Deposition am Waldboden in Form von NH₃ und NO₂ von ca. 12 kg N ha⁻¹ a⁻¹ (Papen and Butterbach-Bahl 1999; Huber et al. 2002).

Der Austrag mit dem Sickerwasser erfolgt fast ausschließlich in Form von NO_3^- und liegt bei geschätzten $21 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ (Rothe et al. 2002). Weitere wichtige Verlustquellen sind gasförmiger Natur in Form der klimarelevanten Spurengase N_2O und NO_2 in Mengen von 1 bzw. $8 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$. Weitere Verluste von $7 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ a}^{-1}$ durch Denitrifikation in Form von N_2 kommen hinzu (Butterbach-Bahl et al. 2002b). Kreuzer et al. (2009) bilanzieren einen jährlichen Nettoüberschuss von 16 kg N ha^{-1} , welcher in die Biomasse des wachsenden Bestandes eingebaut wird.

4 Experimentelles Design und durchgeführte Feld- und Laborarbeiten

4.1 Messung der zeitlichen und räumlichen Heterogenität der Nitratkonzentration im Altbestand und nach Kahlschlag

Im April 2005 wurden auf einer Fläche von ca. 20x30 m 121 Saugkerzen (Typ: SKL 100, UMS GmbH, München) in einem Raster von 2x2 m unterhalb des Hauptwurzelaumes der Fichten eingebaut (Abb. 2). Der Mindestabstand zum nächsten Baum betrug 1 m, da frühere Untersuchungen ergeben haben, dass die Nitratkonzentrationen im Sickerwasser in Stammnähe im Vergleich zum Zwischenstammbereich signifikant höher sind (Daten nicht veröffentlicht). Dieser Aufkonzentrationseffekt kann der erhöhten Wasseraufnahme in Stammnähe zugeschrieben werden. Um diesen Faktor auszuschließen, wurde in dieser Studie nur der Zwischenstammbereich, welcher ca. 70% der Gesamtfläche einnimmt, berücksichtigt. Der Einbau der Saugkerzen erfolgte senkrecht von oben in Löchern, die mit einem Saugkerzenbohrer vorbereitet wurden. Der Keramikkörper der Kerzen wurde in 40 cm Tiefe (Oberkante Mineralboden) installiert. Da sich im Zwischenstammbereich nahezu die gesamte Feinwurzelbiomasse oberhalb von 40 cm befindet (Kreutzer et al. 1991b), verändern sich die Nitratflüsse zwischen 40 und 175 cm nicht wesentlich (Kreutzer et al. 1991a). Der Einbau der Saugkerzen, die monatliche Sickerwassergewinnung und die chemische Analyse der Bodenlösung hinsichtlich Nitrat und Ammonium erfolgten nach standardisierten Methoden, die im Detail in Publikation [I] beschrieben sind.

Um die Veränderungen der Variabilität der Nitratkonzentration im Sickerwasser nach Kahlschlag zu untersuchen, wurden im Januar 2006 alle Bäume auf der Untersuchungsfläche motomanuell gefällt. Beim Fällen wurde darauf geachtet, die Fläche möglichst wenig zu stören. Anschließend erfolgte die Entfernung des Schlagabraums. Um eine Beschädigung der Saugkerzen zu vermeiden, wurden diese vor dem Fällen vorsichtig entfernt, und die frei werdenden Löcher mit Platzhaltern versehen. Im April 2006 erfolgte der erneute Einbau der

Saugkerzen. So war es möglich, die Veränderungen der Nitratkonzentrationen nach Kahlschlag an exakt den gleichen Messplätzen zu untersuchen (Abb. 3). Nach Verwerfen der ersten Wasserproben wurde von April bis Dezember 2006 monatlich Sickerwasser an allen Messplätzen gewonnen.



Abb. 2: Versuchsfläche mit Saugkerzen im Fichtenaltbestand im Jahr 2005.

Um geostatistische Analysen zur Aufdeckung räumlicher Strukturen der Nitratkonzentration durchführen zu können, wurden alle Bäume und alle Saugkerzenplätze mit Hilfe eines Theodolithen exakt mit x- und y-Koordinaten eingemessen. Die Kalkulation der empirischen Semivariogramme und die Modellfindung zur Beschreibung des räumlichen Zusammenhangs erfolgte mit dem Softwarepaket g-stat (Pebesma 2004), welches auf der statistischen Plattform R 2.5.0 (R-Development-Core-Team 2007) implementiert ist. Räumliche Abhängigkeit (Autokorrelation) zeigt sich dadurch, dass die gemittelten Semivarianzen zunächst linear oder kurvenförmig mit zunehmender Abstandsklasse ansteigen, bis sie ein Maximum erreichen und im weiteren Verlauf um dieses schwanken. Durch diese Punkte kann nun eine modellhafte

Linie gelegt werden, die auch die Grundlage für die Berechnung der Stärke und der maximalen Reichweite der räumlichen Abhängigkeit ist.



Abb. 3: Versuchsfläche mit Saugkerzen nach Kahlschlag (Januar 2006) im Mai 2006.

Lässt sich im Semivariogramm kein solches Muster erkennen, liegt in der Regel auch keine räumliche Autokorrelation der Messwerte vor. Alle Voraussetzungen für die Durchführung geostatistischer Analysen waren gegeben oder wurden durch Transformation der Datensätze erreicht. Die Auswahl und Interpretation der Modelle erfolgte nach standardisierten Verfahren die im Detail in Publikation [I] und in Webster und Oliver (2001) beschrieben sind.

4.2 Untersuchung der Auswirkungen der Heterogenität auf die Mittelwertschätzung

Mit Hilfe der Bootstrap-Methode erfolgte die Überprüfung der Genauigkeit der Mittelwertschätzung bei zufälliger Saugkerzenplatzauswahl ($n = 5-300$), wie sie in der Praxis üblich ist. Dies wurde für 5 bis 300 zufällig ausgewählte Messplätze simuliert. Bootstrap-Sampling wurde zur Schätzung von

Konfidenzintervallen von statistischen Parametern entwickelt und rekonstruiert die Verteilung des interessierenden Parameters direkt aus einer konkret vorliegenden Stichprobe (Efron 1979). Ihr großer Vorteil liegt darin, dass es sich um ein nicht parametrisches Verfahren handelt, welches keine Normalverteilung der Daten voraussetzt.

Aus einer tatsächlich vorliegenden Stichprobe werden dabei viele Unterstichproben mit „Zurücklegen“ gezogen. Zurücklegen bedeutet, dass ein Messwert, der einmal für eine Unterstichprobe gezogen wurde, nicht aus der Originalstichprobe entfernt wird. So kann ein und dieselbe Beobachtung theoretisch mehrmals in der Unterstichprobe vorkommen. Auf diese Weise können für die Schätzung von Konfidenzintervallen auch Stichprobengrößen generiert werden, die eine höhere Anzahl an Wiederholungen (n) aufweisen als die Originalstichprobe.

Von jeder Unterstichprobe wird nun der interessierende Parameter (hier der Mittelwert der Nitratkonzentration) berechnet. 1000 Unterstichproben reichen aus, um Konfidenzintervalle verlässlich zu schätzen. Bei der Perzentil-Methode (Efron and Tibshirani 1986) wird das Konfidenzintervall direkt an den entsprechenden Perzentilen der 1000 Unterstichproben abgelesen. Das 95%-Konfidenzintervall unseres Mittelwertes entspricht also der Spanne zwischen dem 2,5. und dem 97,5. Perzentil der 1000 Mittelwerte. Um die Konfidenzintervalle verschiedener Probenahmen mit unterschiedlichen n in einem Diagramm vergleichen zu können, war eine Standardisierung der Werte nötig. Dabei wurde die absolute Abweichung der Intervalle in mg l^{-1} durch die jeweils die prozentuale Abweichung vom Mittelwert der Originalstichprobe ersetzt.

4.3 Entwicklung von Methoden zur Verbesserung der Mittelwertschätzung

Bei diesem Ansatz wurde überprüft, ob eine Vorauswahl/Vorstratifizierung von Saugkerzenplätzen anhand von Nitratgehalten im Boden zu einer Verbesserung der Mittelwertschätzung führt, bzw. ob diese zu einer Reduzierung von „teueren“ Saugkerzenplätzen führen kann. Die Gewinnung der Bodenproben erfolgte beim

Einbau der Saugkerzen im April 2005. An jedem Messplatz wurden dabei die unteren 10 cm (30-40 cm Tiefe) des Bodenvolumens aus dem Saugkerzenbohrer entnommen. Dies entsprach exakt der späteren Lage des Keramikkörpers der Saugkerze. Nach dem Trocknen der 121 Bodenproben erfolgte die Extraktion von Nitrat in einer wässrigen Lösung. Die Voraussetzung für eine Vorstratifizierung stellt eine enge Korrelation zwischen Nitratgehalt im Boden und Nitratkonzentration im Sickerwasser dar, die in diesem Fall gegeben war (siehe Abb. 6).

Der Datensatz, bestehend aus Saugkerzenplätzen (Zeilen) und Nitratgehalten im Boden sowie den zugehörigen Nitratkonzentrationen im Sickerwasser zu den jeweiligen Messterminen (Spalten), wurde zunächst nach aufsteigenden Nitratgehalten im Boden sortiert. Anschließend wurde dieser sortierte Datensatz entsprechend der gewünschten Zahl an Wiederholungen (5, 10, 15, 20, 30 bzw. 40 Saugkerzen) in Gruppen unterteilt (20 Saugkerzenplätze entsprechen z.B. 20 Gruppen). Die letzte Gruppe wies immer eine Datenzeile mehr auf, da es sich um 121 ursprüngliche Plätze handelte. Aus jeder dieser Gruppen wurde nun zufällig eine Datenzeile ausgewählt und aus diesen Zeilen eine Unterstichprobe gebildet. Ein Vorteil dieser Vorstratifizierungsmethode ist eine gute Nachbildung der Verteilung der Originalstichprobe (siehe auch Abb. 1 in Publikation [II]). Aus jeder Unterstichprobe erfolgte analog zur oben beschriebenen Methode die Berechnung des Mittelwertes, in diesem Fall separat für jede Spalte (Nitratgehalt im Boden, Nitratkonzentrationen an den einzelnen Probenahmeterminen). Diese Prozedur wurde für 1000 Unterstichproben wiederholt. Von den daraus resultierenden 1000 Mittelwerten wurde das 2,5. und das 97,5. Perzentil abgelesen und auf diese Weise das 95%-Konfidenzintervall für jede untersuchte Wiederholungszahl bestimmt.

Die zufällige und die stratifizierte Auswahl erfolgte mit dem Softwarepaket R (R-Development-Core-Team 2007). Das Bootstrapping wurde mit der Funktion „sample“ durchgeführt. Für die Auswahl mit Vorstratifizierung wurden die Datensätze in Tabellenkalkulationsprogrammen entsprechend vorbereitet (Sortierung und Einteilung in Gruppen). Die Ziehung der Unterstichproben, die Berechnung der Mittelwerte sowie die Ausgabe des 95%-Konfidenzintervalls erfolgt mit Hilfe einer im Rahmen dieser Arbeit in R entwickelten Routine.

In einem weiteren Ansatz wurde versucht, die Nitratkonzentrationen im Sickerwasser aus den Nitratgehalten im Boden nach folgender Formel zu berechnen:

$$\text{berKonz}_{\text{NO}_3} [\text{mg l}^{-1}] = (\text{Boden}_{\text{NO}_3} [\mu\text{g g}^{-1}] \times \text{Ld} [\text{g cm}^{-3}]) \times 100 / \text{H}_2\text{O}_{\text{Fk}} [\text{vol.}\%]$$

Dabei steht **berKonz_{NO₃}** für die berechnete Nitratkonzentration im Sickerwasser, **Boden_{NO₃}** für den Nitratgehalt im Boden, **Ld** für die Lagerungsdichte in der Tiefe 30-40 cm und **H₂O_{Fk}** für den Wassergehalt des Bodens bei Feldkapazität. Letztere kann über die Korngrößenverteilung und die Lagerungsdichte in 30-40 cm Tiefe aus der Forstlichen Standortaufnahme (AK-Standortskartierung 2003) abgeleitet werden.

Um den Einfluss der Trocknung des Bodens auf den Nitratgehalt zu untersuchen, wurden im Oktober 2005 erneut Bodenproben in 30-40 cm Tiefe direkt am Keramikkörper der Saugkerze entnommen. Die Wasserextraktion von Nitrat erfolgte sowohl an feldfrischen als auch an getrockneten Bodenproben. Zusätzlich wurde der aktuelle Wassergehalt an jedem Messplatz bestimmt.

4.4 Untersuchung der Ursachen der Nitratheterogenität mit einfach zu erhebenden Parametern

Am Gesamtkollektiv der 121 Saugkerzen wurde sowohl im Altbestand als auch nach dessen Kahlschlag versucht, die Ursachen der Nitratheterogenität mit nicht destruktiven und leicht zu erhebenden Messungen zu erklären. Um Informationen über die Substratmenge am Messplatz zu erhalten, wurde zunächst beim Einbau der Saugkerzen die Mächtigkeit der Humusschicht an jedem Messplatz aufgenommen. Es erfolgte die exakte Bestimmung der Abstände der Messplätze zu den nächstgelegenen Bäumen sowie die Messung des Brusthöhenumfangs (in 1,3 m Höhe) dieser Bäume. Im Altbestand (Juli 2005) sowie nach dem Kahlschlag (Juli 2006) wurden die Deckungsgrade der Vegetation, unterteilt in Moos-, Kraut-, und Strauchschicht, in einem Umkreis von 30 cm an jeder Saugkerze bestimmt. Um Anhaltspunkte über den

Wasserhaushalt am Messplatz zu erhalten, erfolgte bei allen Sickerwasserprobenahmen die Dokumentation der Wassermenge in den Sammelflaschen. Alle untersuchten Parameter sind in Tabelle 1 in Publikation [I] aufgelistet.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte zum einen mit der schrittweisen multiple lineare Regression (sMLR) und zum anderen mit der multiple Klassifikationsanalyse (MCA). Letztere hat den Vorteil auch nicht lineare Zusammenhänge aufzudecken. Liefern beide Methoden ähnliche Ergebnisse, so unterstreicht dies die Plausibilität der Modelle. Die Voraussetzung der Normalverteilung und der Homogenität der Varianzen bei der MCA wurde überprüft und die Daten gegebenenfalls transformiert. Die erklärenden Variablen wurden für die MCA in jeweils vier Klassen unterteilt. Diese waren offen an den Enden, äquidistant in der Mitte und wiesen vergleichbare Beobachtungszahlen auf. Die Aufnahme der Variablen in die Modelle erfolgte auf einem Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Alle verwendeten erklärenden Variablen und ihre Einteilung in Klassen sind in Tabelle 1 in Publikation [I] dargestellt.

Im Altbestand wurde aufgrund der geringen zeitlichen Variabilität der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser der Mittelwert der 8 Probenahmen je Messplatz gebildet und als zu erklärende Variable verwendet. Nach dem Kahlschlag wurde aufgrund der zeitlichen Verzögerung des Anstiegs der Nitratkonzentrationen, die letzte Probenahme vor der destruktiven Beprobung der Intensivmessplätze (Oktober 2006) als abhängige Variable eingesetzt.

4.5 Untersuchung der Ursachen der Nitratheterogenität mit intensiven zum Teil destruktiven Messungen an 20 Saugkerzenplätzen

Im April 2005 wurden zunächst 20 gleichmäßig über die Fläche verteilte Saugkerzen ausgewählt, an denen die Bestimmung von Parametern zur N-Umsatzung erfolgte. Ab Juli 2005 wurden die N-Umsatzmessungen an ein anderes Saugkerzenkollektiv ($n=20$) verlegt, welches den gesamten bis dahin erfassten Konzentrationsgradienten (aus den Probenahmen von April, Mai, Juni, Juli) der Nitratkonzentrationen abdeckte ($1-160 \text{ mg l}^{-1}$) und ebenfalls gleichmäßig über die Untersuchungsfläche verteilt war (siehe auch Abb. 1 in

Publikation [IV]). An diesem zweiten Kollektiv erfolgte die Erhebung eines globaleren Variablensatzes, der zusätzlich den N-Eintrag, physikalische und chemische Bodenparameter sowie weitere biologische Parameter beinhaltete. Alle in diesem Zusammenhang erhobenen Parameter und deren Tiefenstufen sind in Tabelle 1 in Publikation [IV] aufgeführt.

Um den N-Eintrag am Messplatz zu charakterisieren, wurde über jeder Saugkerze der Bestandesniederschlag aufgefangen und die Wassermenge sowie der anorganische N von Mitte Juli bis Mitte Oktober in einem zweiwöchigen Rhythmus gemessen. Die kleine Auffangfläche von 50,3 cm² verhinderte die Störung des Wasser- und Ionenflusses am Messplatz (Abb. 4).

Im Rahmen einer Zusammenarbeit mit dem Institut für Meteorologie und Klimaforschung in Garmisch-Partenkirchen erfolgten an den Intensivmessplätzen im Altbestand (ab April 2005) Untersuchungen zum Netto-N-Umsatz, zur mikrobiellen Respiration und zur Bruttonitrifikation in der organischen Auflage.

Für die Bestimmung von in situ Netto-N-Umsatzraten (Netto-Mineralisation, Netto-Ammonifikation und Netto-Nitrifikation) wurde die sog. „buried-bag“-Methode (Eno 1960; Gasche et al. 2002; Runge 1970) eingesetzt. Hierzu wurden in der Nähe des jeweiligen Saugkerzenplatzes (Abstand zur Saugkerze mind. 50 cm) Mischproben aus der organischen Auflage in Polyethylen-Beutel überführt und diese wieder an der Entnahmestelle vor Ort inkubiert. Jeweils zu Beginn und zum Ende einer Inkubationsperiode wurden die NH₄⁺- und NO₃⁻-Gehalte in den Proben mittels KCl-Extraktion bestimmt. Aus der Differenz der Gehalte und der Inkubationszeit konnten die Ammonifikations- bzw. Nitrifikationsraten in mg N kg⁻¹ d⁻¹ berechnet werden. Die durchgeführten Extraktionsschritte sind im Detail in Publikation [III] beschrieben.



Abb. 4: Niederschlagsfänger direkt über der Saugkerze mit Ring und Rahmen für die Schätzung der Vegetationsdeckungsgrade.

Die Brutto-Nitrifikationsraten wurde mit der Methode der Barometrischen-Prozesseparation (BaPS) bestimmt, die es auch erlaubt heterotrophe Bodenatmungsraten zu messen. Eine ausführliche Beschreibung der Methode findet sich in Ingwersen et al. (1999) und Müller et al. (2004). Die Methode basiert auf der Bestimmung von Druckabnahme bzw. Druckzunahme sowie der CO_2 -, O_2 - und Gesamtgasbilanz in einem gasdichten Inkubationssystem bei konstanter Temperatur. Druckänderungen im System können dabei durch Nitrifikation (verursacht Druckabnahme durch Netto-Verbrauch von O_2), Denitrifikation (verursacht Druckzunahme durch Netto- CO_2 -Produktion und Produktion gasförmiger N-Verbindungen) und die physikochemische Lösung von CO_2 im Bodenwasser erfolgen. Die Bodenrespiration ist druckneutral bei einem angenommenen Respirationskoeffizienten von 1. Über die Veränderung der O_2 - und CO_2 -Bilanzen im System kann die Netto-Produktion von gasförmigen N-Verbindungen berechnet werden. Über eine inverse Bilanzierung

der Gesamt-Gas-Bilanz können schließlich die Raten der Bodenrespiration und Nitrifikation ermittelt werden (siehe Publikation [III]).

Am Ende der Vegetationsperiode im Oktober 2005 erfolgte eine destruktive Beprobung der Intensivmessplätze. Zunächst wurde ein Stechrahmen von 45 cm Durchmesser mit der Saugkerze im Zentrum in den Boden geschlagen (Abb. 5). Innerhalb des Rahmens wurde die organische Auflage entnommen und nach Streu, Vegetationsteilen (Moos, *Oxalis acetosella*, sonstige Vegetation) und der O-Lage getrennt. Die O-Lage wurden durch ein 4 mm Sieb gepresst und dabei die lebenden Baumwurzeln getrennt nach Feinwurzeln (<2 mm), Schwachwurzeln (2-5 mm) und Grobwurzeln (>5 mm) aussortiert. Die gesiebten Humusproben wurden bei 45°C getrocknet und für die Messung von pH-Werten, C- und N-Gehalten vorbereitet. Trockengewicht und Mächtigkeit der organischen Auflage wurden für jeden Messplatz bestimmt.



Abb. 5: Humusprobenahme: Stechrahmen mit Saugkerzenplatzhalter im Zentrum (links); Mineralbodenprobenahme: eingetriebener Stechrahmen und eingeschlagene Stechzylinder (rechts).

Nach Entnahme der organischen Auflage wurde ein weiterer Stechrahmen (Durchmesser 36 cm) zentral positioniert und bis 40 cm Tiefe in den Mineralboden eingetrieben. Innerhalb dieses Zylinders erfolgte die Beprobung in 10 cm Schichten (bis 40 cm Tiefe). Von jeder Schicht wurden zunächst vier ungestörte Stechzylinderproben (100 cm³) zur Bestimmung bodenphysikalischer Kenngrößen (Lagerungsdichte, Porenvolumen) entnommen (Abb. 5).

Beim Zerkleinern des restlichen Mineralbodens in einem 2 mm Sieb wurden alle lebenden Baumwurzeln entnommen und wie bei der organischen Auflage nach

Größenklassen sortiert. Von jeder Schicht wurden Aliquote bei 65°C getrocknet und für weitere chemische Analysen vorbereitet.

Die statistische Analyse der Nitratheterogenität der 20 Intensivmessplätze im Altbestand erfolgte ebenfalls mit der sMLR. In Publikation [III] wurden die Nitratkonzentrationen über die jeweiligen Inkubationszeiträume (April-Juni und Juli-September) gemittelt und mit den N-Umsatzparametern in Beziehung gesetzt. Aufgrund der relativ geringen zeitlichen Variabilität der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser und des weiten zeitlichen Messbereiches der erklärenden Variablen wurde in Publikation [IV] zunächst der Mittelwert der 8 Probenahmen am entsprechenden Saugkerzenplatz als abhängige Variable gewählt um die Variablenzahl für die sMLR zu reduzieren. Es erfolgte zunächst eine varianzanalytische Untersuchung jedes einzelnen Parameters bzw. dessen gemessene Tiefenstufe. Für die sMLR wurden nur Variablen verwendet die bezüglich der erklärten Varianz der mittleren Nitratkonzentrationen im Sickerwasser einen F-Wert $>1,5$ aufwiesen. Damit sollte verhindert werden, dass aufgrund der Vielzahl von erklärenden Variablen rein zufällig signifikante Zusammenhänge entstehen. Alle für die sMLR verwendeten Variablen sind in Tabelle 2 in Publikation [IV] dargestellt. Mit diesen wurde nun eine schrittweise MLR für jeden der 8 Probenahmeterminen durchgeführt. Alle erklärenden Variablen, die an einem oder mehreren Terminen signifikant zu Modellerklärung beitrugen ($p < 0,05$), wurden ausgewählt und in einer rückwärtsgewandten sMLR für jeden einzelnen Termin angeboten. Hier lag das Ausschlusskriterium bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,1$. Diese statistischen Modelle wurden hinsichtlich ihrer Güte (Multikollinearität, Heteroskedasizität) überprüft. Variablen, die aufgrund von Interkorrelationen zu erhöhten Multikollinearitätsindizes führten, wurden aus den Modellen entfernt. Heteroskedastizität war nicht gegeben. Weitere Details zur statistischen Analyse finden sich in Publikation [IV].

4.6 Allgemeine Laboranalysen und -arbeiten

Alle Sickerwässer und Niederschläge wurden nach der Probenahme umgehend gekühlt und innerhalb weniger Tage im Labor des Fachgebiets für Wasserhaushalt und Waldernährung mittels Ionenchromatographie (Dionex DX 120) auf Nitrat analysiert. Die Bestimmung von Ammonium erfolgte mit einem Segmented Flow Analysator der Firma SKALAR (SKALAR SAN plus System). Ammonium lag jedoch stets unter der Nachweisgrenze.

Die wässrige Extraktion der Bodenproben erfolgte in einem Verhältnis von 1:5 (Boden zu Wasser). Die Extrakte wurden über Nacht geschüttelt, am nächsten Tag filtriert und analysiert. Anschließend erfolgte die Umrechnung der gemessenen Konzentrationen in $\mu\text{g NO}_3^-$ je g trockener Boden.

Die Bestimmung der C- und N-Gehalte der org. Auflage und des Mineralbodens erfolgte an gemahlene Proben mit einem CHN Analysator (Leco).

Die sortierten Wurzelklassen wurden gewaschen und getrocknet. Anschließend erfolgte die Bestimmung des Trockengewichtes.

Mit einer Kombination aus Sedimentation und Siebung wurde die Korngrößenzusammensetzung des Mineralbodens in allen 4 Schichten bestimmt. Vor der Analyse erfolgte eine vollständige Dispergierung mit Natriumphosphat.

Der pH Wert wurde in Wasser sowie in 1 M KCl an feldfrischen Proben in einem Gewichts- (Mineralboden) bzw. Volumenverhältnis (Humus) von 1:2,5 bestimmt. In Druckkammern wurde das Porenvolumen der Stechzylinderproben auf Keramikplatten bei einem Druck von 60 mbar, und 300 mbar bestimmt. Die Proben wurden mit Wasser aufgesättigt und zunächst bei 60 mbar sowie anschließend bei 300 mbar jeweils bis zum Gleichgewicht behandelt. Es folgte die Trocknung der Proben bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz. Zwischen allen Druckschritten sowie nach der Trocknung erfolgte die Wiegung der Proben. Aus den Gewichtsunterschieden wurden die Anteile der weiten Grobporen (>50 μm), der engen Grobporen und Mittelporen (50-10 μm), der Mittel- und Feinporen (>10 μm) sowie das Gesamtporenvolumen berechnet. Tabelle 1 in Publikation [IV] enthält alle Parameter die an den 20 Intensivmessplätzen im Altbestand untersucht wurden.

5 Diskussion und Bewertung der erzielten Ergebnisse

5.1 Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser ($Konz_{NO_3}$) und deren Auswirkung auf die Mittelwertschätzung (Publikation [I und II])

Die Untersuchungen zur räumlichen und zeitlichen Variabilität der Nitratkonzentration im Sickerwasser ($Konz_{NO_3}$) im Fichtenaltbestand sowie auf dem neu entstandenen Kahlschlag ergaben stark unterschiedliche Ergebnisse. Tabelle 2 zeigt, dass die räumliche Variabilität im Altbestand hoch, nach Kahlschlag jedoch gering war. Für die zeitliche Variabilität gilt das Gegenteil – im Altbestand gering und nach Kahlschlag hoch. Auch die statistische Verteilung der Werte war unterschiedlich. Während sie im Altbestand stark rechtsschief verlief, zeigte sich die $Konz_{NO_3}$ nach Kahlschlag annähernd normal verteilt. Die räumliche Autokorrelation der $Konz_{NO_3}$ war mit einem Einflussbereich von ca. 17 m im Altbestand deutlich höher als nach Kahlschlag, wo der Einflussbereich lediglich ca. 6 m betrug. Diese Zusammenhänge sollten bei der Planung von Stichprobendesigns zur Erfassung der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser berücksichtigt werden.

Tab. 2: Zusammenfassende Darstellung der wichtigsten Ergebnisse zur zeitlichen und räumlichen Heterogenität der $Konz_{NO_3}$ und zur Geostatistik.

$Konz_{NO_3}$	Altbestand	Kahlschlag
räumliche Heterogenität	hoch	niedrig
zeitliche Heterogenität	niedrig	hoch
statistische Verteilung	stark rechtsschief	annähernd normal
Reichweite der räumliche Autokorrelation	~ 17 m	~ 6 m

Die hohe räumliche Variabilität der $Konz_{NO_3}$ im Altbestand erfordert eine hohe Anzahl an Wiederholungen um den Mittelwert korrekt schätzen zu können. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass mit Hilfe von Bodenproben eine Vorauswahl von Saugkerzenplätzen erfolgen kann, mit der sowohl die Mittelwertschätzung verbessert, als auch die Wiederholungszahl deutlich reduziert werden kann.

Im Folgenden werden die Ergebnisse zur zeitlichen und räumlichen Variabilität sowie zur Mittelwertschätzung im Einzelnen diskutiert und bewertet.

5.1.1 Räumliche und zeitliche Heterogenität der Nitratkonzentration im Sickerwasser

Altbestand

Die mittleren Nitratkonzentrationen im Sickerwasser ($Konz_{NO_3}$) schwankten im Altbestand von April bis August nur wenig und lagen zwischen 35,2 und 32,0 mg l⁻¹. Im September gingen sie auf 26,0 und im Oktober auf 21,4 mg l⁻¹ zurück (Tabelle 3; Abb. 1 in Publikation [I]). An einzelnen Messplätzen wurden Maximalwerte von über 160 mg l⁻¹ (Juni) gemessen, während die Minimalwerte unter der Nachweisgrenze lagen (September und Oktober). Im Vergleich zu anderen europäischen Wäldern sind diese Mittelwerte hoch (Gundersen et al. 2006), liegen aber im erwarteten Bereich für den Standort Höglwald (Huber et al. 2004b; Rothe et al. 2002). Die hohen Nitratkonzentrationen im Höglwald sind eine Folge des hohen N-Eintrags mit dem Bestandesniederschlag (ca. 30 kg a⁻¹) sowie der zusätzlichen trockenen Deposition von N im Kronenraum und am Waldboden (ca. 15 kg a⁻¹) (Kreutzer et al. 2009).

Die $Konz_{NO_3}$ zeigte im Altbestand während der gesamte Vegetationsperiode eine stark rechtsschiefe Verteilung mit Schiefe-Werten zwischen 1,2 und 2,1 (Tabelle 3; siehe auch Abb. 2 in Publikation [I]). Dies deutet sich bereits durch den im Vergleich zum Mittelwert wesentlich niedrigeren Median an. Auch Mellert et al. (2008) berichten von stark rechtsschiefen Verteilungen der $Konz_{NO_3}$ in N-gesättigten Wäldern im Raum Fürstenfeldbruck (Bayern). Callesen et al. (1999) fanden bei einer Nitratstudie in dänischen Wäldern rechtsschiefe Verteilungen und Gundersen et al. (2006) beschrieben diesen Verteilungstyp für N-gesättigte europäische Wälder in einem Übersichtsartikel. Es ist erstaunlich, dass diese Verteilungsform der $Konz_{NO_3}$ sowohl auf der Zentimeter- (Göttlein and Stanjek 1996), der Meter- (diese Untersuchung), der Plot- (Huber et al. 2004a; Huber et al. 2004b; Manderscheid and Matzner 1995a) und der Bestandesebene, als auch auf überregionaler (Mellert et al. 2005b) und europäischer Ebene (Kristensen et al. 2004) zu finden ist.

Tab. 3: Deskriptive Statistik der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser zu den jeweiligen Messterminen im Altbestand (2005) sowie nach Kahlschlag (2006).

	Datum	n	Mittelwert	Median	Max	Min	Varianz	Stabw	VK	Schiefe	Kurtosis
Einheit			mg l ⁻¹	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹	mg l ⁻¹		mg l ⁻¹	%		
Altbestand 2005	03.05	121	35,2	27,0	139,2	2,1	789,0	28,1	79,9	1,8	3,5
	11.05	121	35,0	26,7	138,0	1,5	781,3	28,0	79,8	1,8	3,7
	01.06	121	34,2	25,3	161,1	0,4	840,6	29,0	84,9	2,0	5,0
	23.06	121	33,7	24,8	158,9	0,8	788,9	28,1	83,3	2,1	5,7
	21.07	121	32,0	25,2	137,2	0,5	622,1	24,9	77,9	1,7	4,2
	25.08	121	33,6	27,9	128,5	0,1	668,9	25,9	76,9	1,2	1,7
	21.09	121	26,0	18,3	121,9	0,0	635,2	25,2	96,9	1,6	2,9
	17.10	121	21,4	14,6	120,4	0,0	569,5	23,9	111,6	1,9	4,2
nach Kahlschlag 2006	27.04	118	9,7	8,9	25,9	0,6	20,5	4,5	46,7	0,6	0,3
	22.05	118	9,7	9,4	29,5	0,3	20,2	4,5	46,4	0,9	2,1
	26.06	118	21,7	21,1	56,4	0,0	83,5	9,1	42,0	0,7	1,1
	17.07	118	33,2	32,6	83,7	0,0	168,3	13,0	39,1	0,4	1,1
	21.08	118	77,2	81,0	134,6	0,2	653,6	25,6	33,1	-0,5	0,1
	25.09	118	105,8	114,2	144,4	0,1	792,9	28,2	26,6	-1,3	1,8
	22.10	118	129,0	125,4	212,2	0,2	1656,4	40,7	31,5	-0,4	0,3
	30.11	94	143,4	144,7	239,8	1,3	1637,5	40,5	28,2	-0,5	1,0
07.12	94	151,7	156,1	251,5	2,8	1949,0	44,1	29,1	-0,4	0,6	

Stabw = Standardabweichung

VK = Varianzkoeffizient

Varianzkoeffizienten von 77 bis 112% an den einzelnen Probenahmeterminen im Altbestand zeigen die hohe räumliche Variabilität des untersuchten Parameters. Am Einzelmessplatz war die zeitliche Variabilität über die 8 Probetermine meist deutlich niedriger. Abb. 3 in Publikation [I] zeigt für die einzelnen Probenahmen einen mittleren Varianzkoeffizienten von 86%, während er am Einzelmessplatz im Mittel bei nur 33% liegt. Das bedeutet, dass die räumliche Variabilität die zeitliche, zumindest im Verlaufe einer Vegetationsperiode bei weitem übersteigt. Hohe Korrelation zwischen den $Konz_{NO_3}$ der einzelnen Probenahmen (r zwischen 0,99 und 0,77) zeigen, dass die Einzelmessplätze ihr Konzentrationsprofil bzw. ihre Konzentrationsverhältnisse zueinander im Verlauf der Vegetationsperiode meist beibehalten. Dies kann zur Untersuchung der Ursachen der Nitratheterogenität genutzt werden. Höhere räumliche im Vergleich zu einer geringeren zeitlichen Variabilität wurde auch in Studien von Manderscheid und Matzner (1995a), Mellert et al. (2008), Laverman (2000) sowie Asano et al. (2006) beobachtet. Geringe saisonale Unterschiede in der $Konz_{NO_3}$ ergaben sich aus einem Datensatz von über 100 Level-II-Standorten (Kristensen et al. 2004). Stoddard (1994) berichtet ebenfalls von geringeren saisonalen Schwankungen in

Wasserläufen von N-gesättigten Einzugsgebieten im Vergleich zu Einzugsgebieten mit niedrigem N-Status.

Im Altbestand waren hohe Nitratkonzentrationen meist nicht auf einzelne Messplätze beschränkt. In vielen Fällen bildeten 3 bis mehr als 10 Saugkerzen sog. Hot Spots mit erhöhten Konzentrationen. Diese Hot Spots hatten über die Vegetationsperiode hinweg Bestand wie Vergleiche zwischen den interpolierten Konzentrationen vom April und vom Oktober 2005 zeigen (Abb. 4 in Publikation [I]). Geostatistische Auswertungen unterstützten die Annahme, dass eine räumliche Autokorrelation der Messwerte vorlag. Mit pentasphärischen Modellen konnten zu verschiedenen Zeitpunkten zwischen 65 (Mai) und 80% (Oktober) der Variabilität durch die räumliche Struktur der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ erklärt werden (Abb. 5 und Tabelle 2 in Publikation [I]). Die Reichweite der Autokorrelation, der sog. Range, betrug je nach Probenahmetermin zwischen 16 und 19 m. Jedoch erklärten die letzten 5-6 m lediglich einen geringen Anteil der Varianz. Daher wurde in Anlehnung an Webster und Oliver (2001) der Range bei einem Sill (maximale Semivarianz des Modells) von 95% berechnet. Der auf diese Weise korrigierte Range beträgt im Altbestand zwischen 10.5 und 12.5 m (Abb. 7 in Publikation [I]). Dieser Wert ist auch als Mindestabstand zur Gewinnung von räumlich unkorrelierten Proben für die Mittelwertschätzung der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ zu sehen. Mellert et al. (2008) berichten von Autokorrelationen im Bereich von 15 m in einem 50-60 jährigen N-gesättigten Fichtenbestand, fanden jedoch keine räumlichen Abhängigkeiten im Bereich von 15 m bis zu 1 km. Manderscheid und Matzner (1995b) konnten keine räumlichen Abhängigkeiten in einem Fichtenaltbestand bei einem Beprobungsraster von 25x25 m nachweisen. Gallardo et al. (2006) und Garbin et al. (2006) fanden deutlich niedrigere Ranges und geringere Anteile an erklärter struktureller Varianz bei Gehalten von NO_3^- und NH_4^+ in Oberböden von Kiefernwäldern und anderen Ökosystemen.

Kahlschlag

Nach dem Fällen und Entfernen der Bäume im Januar 2006 lag die mittlere $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im April und Mai 2006 unter 10 mg l^{-1} . Im Juni lag der Mittelwert bei $21,7 \text{ mg l}^{-1}$ und im Juli waren mit $33,2 \text{ mg l}^{-1}$ wieder die Mittelwerte vom Vorjahr erreicht. Ab Juli erfolgte ein dramatischer Anstieg der Nitratkonzentrationen, bis

zu einem Mittelwert von über 150 mg l^{-1} bei der letzten Messung im Dezember (Tabelle 3; Abb. 1 in Publikation [I]). Da keine weiteren Messungen auf dieser Untersuchungsfläche durchgeführt wurden, bleibt offen, ob die Konzentrationen noch weiter angestiegen sind. Maximalwerte an Einzelmessplätzen lagen bei über 250 mg l^{-1} , während die Minimalwerte unter 2 mg l^{-1} lagen. Damit war die Konzentrationsspanne deutlich höher als im Altbestand. Dieser zeitliche Verlauf der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ ist bezeichnend für Kahlschläge in N-gesättigten Fichtenwäldern der temperierten Klimaregionen (Dahlgren and Driscoll 1994; Mellert et al. 1996; Weis et al. 2006; Gundersen et al. 2006). Ein ähnlicher Verlauf wurde auch nach einem Kahlschlag in der Nähe unseres Bestandes im Februar 2000 (Huber et al. 2004b) festgestellt. In stickstofflimitierten Ökosystemen wurde bisher kein vergleichbarer Anstieg der Konzentrationen beobachtet (Cummins and Farrell 2003; Weis et al. 2001; Piirainen et al. 2002). Der Anstieg der Nitratwerte ist auf die Ankurbelung der Mineralisierungs- und Nitrifikationsprozesse aufgrund von höheren Temperaturen und einem erhöhten Wasserangebot auf der Kahlschlagsfläche zurückzuführen. Da noch keine Schlagflora vorhanden war, konnte der mineralisierte N nicht aufgenommen werden. Ammonium wurde nitrifiziert und das gebildete Nitrat mit dem Sickerwasser in tiefere Bodenschichten verlagert und schließlich ausgetragen. Die zeitliche Verzögerung der Konzentrationsanstiege ist unter anderem auf den Transportweg des im Oberboden gebildeten NO_3^- bis in 40 cm Tiefe zurückzuführen. Durch die höheren Wasserflüsse erfolgte die Verlagerung zwar schneller, es fand jedoch auch eine starke Verdünnung statt. Während die Versickerung im Altbestand ca. 300 mm a^{-1} beträgt, steigt sie nach Kahlschlag auf 900 mm a^{-1} an (Huber et al. 2010). Zusätzlich ist davon auszugehen, dass anfänglich eine starke Immobilisierung von mineralisiertem N zum Aufbau mikrobieller Biomasse stattfand (Kreutzer 1986).

Im Gegensatz zur rechtsschiefen Verteilung im Altbestand waren die Nitratkonzentrationen nach Kahlschlag annähernd normal verteilt. Median und Mittelwert unterscheiden sich kaum und Kurtosis und Schiefe liegen im Vergleich zum Altbestand deutlich näher an Null (Tabelle 3; Abb. 2 in Publikation [I]).

Die Variationskoeffizienten der einzelnen Probenahmen waren deutlich niedriger als im Altbestand und gingen im Verlauf der Vegetationsperiode von 47 auf 29% zurück. Die räumliche Variabilität nach Kahlschlag war mit einem mittleren Variationskoeffizienten von 36% nur halb so groß wie im Altbestand. Die zeitliche Variabilität am Einzelmessplatz hingegen war viel höher und lag im Mittel bei 81%. Abb. 3 in Publikation [I] zeigt, dass sich die Verhältnisse zwischen räumlicher und zeitlicher Variabilität nach Kahlschlag in etwa umkehrten. Huber et al. (2004b) haben am gleichen Standort ebenfalls geringere räumliche Variabilität nach Kahlschlag mit einer sehr hohen zeitlichen Variabilität am Einzelmessplatz beobachtet.

Die räumliche Struktur der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ ging verloren, da sich die für den Altbestand charakteristischen Hot Spots bis zum April 2006 auflösten (Abb. 4 in Publikation [I]). Dies zeigte sich auch in veränderten Semivariogrammen (Abb. 5 in Publikation [I]). Der Anteil der erklärten räumlichen Varianz lag zu Beginn der Vegetationsperiode bei 30% und ging bis zum Dezember auf 18% zurück. Die Distanz der räumlichen Autokorrelation war im Vergleich zum Altbestand mit zunächst 10 m im April und anschließend mit lediglich 2 bis 6 m deutlich niedriger (Tabelle 2 in Publikation [I]).

Während im Altbestand die Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ vor allem durch die Netto-N-Mineralisation und die Wurzelbiomasse zu erklären ist (siehe Kapitel 5.2 sowie Publikation [IV]), scheinen diese Parameter nach Kahlschlag weniger Einfluss zu haben. Dafür könnte eine homogenere Verteilung von Wärme und Wasser verantwortlich sein, welche einheitlichere Bedingungen für die Mineralisation schaffen. Außerdem fehlt der Entzug von Wasser und N durch die Bäume, der ebenfalls für Variabilität sorgt. Die atmosphärischen N-Einträge sind auf Kahlschlägen deutlich gleichmäßiger verteilt als in Altbeständen. Die Schlagvegetation ist im ersten Jahr noch nicht stark entwickelt und hat daher nur einen geringen Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Außerdem wurde durch das vorsichtige Vorgehen beim Fällen der Bäume sowie das Entfernen des Schlagabraums zusätzliche Heterogenität vermieden. Auf stärker gestörten Kahlschlagflächen ist evtl. mit einer höheren räumlichen Heterogenität der Nitratkonzentrationen zu rechnen (Guo et al. 2004; Weis et al. 2006; Gundersen et al. 2006).

Fazit und Bewertung

- ☞ **Im Altbestand ist die räumliche Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ sehr groß, während die zeitliche gering bleibt. Um den Mittelwert präzise zu schätzen sind daher viele Messplätze erforderlich. Die zeitliche Auflösung der Messungen kann dagegen niedrig bleiben (vierteljährlich).**
- ☞ **Nach Kahlschlag ist die zeitliche Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ sehr hoch, während die räumliche gering ist. Daher kann die Anzahl der Messplätze im vgl. zum Altbestand reduziert werden. Jedoch ist die zeitliche Auflösung zu erhöhen (monatliche Messung) um die Dynamik der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ zu erfassen.**
- ☞ **Im Altbestand besteht eine hohe räumliche Autokorrelation der Nitratkonzentrationen im Bereich von unter 10 m. Diese Distanz ist als Mindestabstand einzuhalten um unabhängige Stichproben zu erhalten.**
- ☞ **Nach Kahlschlag gehen der Einflussbereich und die Stärke der räumlichen Autokorrelation deutlich zurück. Messplatzabstände von mindestens 5 m sind daher ausreichend um unabhängige Stichproben zu erhalten.**

5.1.2 Auswirkungen der Heterogenität auf die Mittelwertschätzung und Methoden zu deren Verbesserung

Die hohe Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ in N-gesättigten Wäldern macht eine hohe Anzahl von Stichproben (n) erforderlich, um den Mittelwert präzise zu schätzen. Bei der Sickerwasserprobenahme im April wären für eine Mittelwertschätzung deren 95%-Konfidenzintervall nicht mehr als +/-10% vom wahren Mittelwert abweicht mindestens 250 Stichproben notwendig gewesen. Im Oktober hätte man dazu sogar mehr als 300 Wiederholungen benötigt (Abb. 2 in Publikation [II]). Manderscheid und Matzner (1995a) berechneten ebenfalls bis zu 220 nötige Messplätze für einen Fichtenbestand im Fichtelgebirge um die Nitratkonzentration mit der gleichen Sicherheit und Präzision zu schätzen. Da in

anderen Studien in N-gesättigten Wäldern ebenfalls sehr hohe Variationskoeffizienten gefunden wurden, dürften die nötigen Stichprobenzahlen auch dort in einem ähnlichen Bereich liegen (Mellert et al. 2008). Für die hier untersuchte Anzahl von 121 Saugkerzen betragen die 95%-Konfidenzintervalle +15 bis -13% vom Mittelwert im April und +21 bis -19% vom Mittelwert für die Oktoberprobenahme (Tabelle 1 in Publikation [III]). Selbst wenn man einen Fehler von +/-20% des Mittelwertes in Kauf nimmt, sind bei zufälliger Auswahl der Messplätze 60 (April) bis 120 (Oktober) Saugkerzen für die Schätzung nötig. Dies ist in der Praxis kaum umsetzbar. In wissenschaftlichen Untersuchungen werden nach wie vor 5 bis 10 (Huber et al. 2004b; Xu et al. 1998), maximal jedoch 15 oder 20 (Huber et al. 2004a) Saugkerzen für Sickerwasseruntersuchungen eingesetzt. Auf den Level II Messflächen wird ein Minimum von 5 Saugkerzen zur Bestimmung der mittleren $KonZ_{NO_3}$ gefordert (Derome et al. 2002). In der vorliegenden Studie weicht das 95%-Konfidenzintervall für 20 zufällig ausgewählte Saugkerzen bis zu +50% vom Stichprobenmittelwert ab, bei 5 Saugkerzen sind über 100% Abweichung möglich (Abb. 2 in Publikation [III]). Dies kann zu hohen Fehleinschätzungen von Konzentrationen und Flüssen bei Nitratstudien in N-gesättigten Wäldern führen. Aufgrund der engen Korrelation zwischen dem Nitratgehalt im Boden und im Sickerwasser (Abb. 6; Tabelle 1 in Publikation [III]) könnte der Bodennitratgehalt für eine Vorauswahl/Vorstratifizierung von Saugkerzenplätzen genutzt werden. Bei der Mittelwertschätzung ist natürlich auch die Verteilung des zu schätzenden Parameters von Interesse. Abb. 1 in Publikation [III] zeigt an einem Beispiel, dass mit der vorgeschlagenen Vorstratifizierungsmethode die Verteilung der Originalstichprobe auch mit deutlich weniger Messplätzen gut nachgebildet wird. Die meisten der 10 Werte der Unterstichprobe stammen aus dem Bereich der höchsten Dichte der Originalverteilung, während weniger dicht besetzte Bereiche deutlich weniger Werte in der Unterstichprobe aufweisen. Eine Vorstratifizierung anhand der Nitratgehalte im Boden hatte bei allen Probenahmen und für alle Wiederholungszahlen deutlich engere 95%-Konfidenzintervalle und damit eine präzisere Mittelwertschätzung im Vergleich zur zufälligen Auswahl zur Folge (Abb. 3 in Publikation [III])

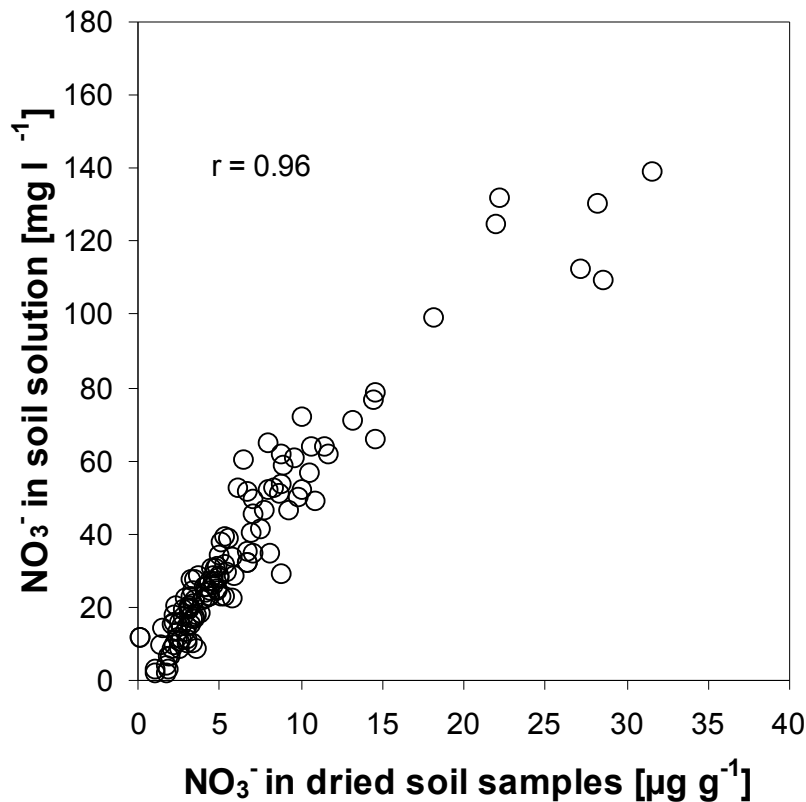


Abb. 6: Streudiagramm der Nitratkonzentrationen im Sickerwasser und des Nitratgehaltes im Boden mit linearem Korrelationskoeffizienten.

Für die Sickerwasserprobenahme im April konnten die 95%-Konfidenzintervalle durch die Vorstratifizierung für $n=20$, $n=30$ und $n=40$ um ca. 75% verkleinert werden, für die Probenahme im Juli immerhin noch um 54-62% und für die Probenahme im Oktober um 30-40%. Mit einer vorstratifizierten Saugkerzenauswahl wären im April lediglich 10 Saugkerzen nötig gewesen, um die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ mit einer Abweichung von kleiner $\pm 20\%$ vom wahren Mittelwert zu schätzen. Abweichungen kleiner $\pm 10\%$ wären bereits mit 20 Saugkerzen erreicht worden, während dazu bei zufälliger Auswahl 250 Stichproben nötig gewesen wären. Die Vorstratifizierung hatte auch 6 Monate nach Einbau der Saugkerzen noch deutliche Vorteile gegenüber der zufälligen Auswahl und zeigte engere Konfidenzintervalle (Abb. 3 in Publikation [III]).

Am Anfang einer Nitratstudie hätte man zunächst nur die Daten der Bodennitratgehalte. Sickerwasserdaten zur Abschätzung der Mindestanzahl an Messplätzen für die gewünschten Vertrauensbereiche fehlen dagegen. Eine Abschätzung des nötigen Stichprobenumfangs kann jedoch über eine simulierte

stratifizierte Vorauswahl mit den Nitratgehalten im Boden getroffen werden. Abb. 3 in Publikation [III] zeigt, dass die standardisierten Konfidenzintervalle von Nitratgehalten im Boden und der Sickerwasserkonzentrationen im April sehr ähnlich sind. Die Festlegung der Mindestanzahl anhand der Konfidenzintervalle der Bodennitratgehalte hätte hier zum gleichen Ergebnis geführt wie das Anwenden der Konfidenzintervalle der Sickerwasserprobenahme vom April.

Da auch in anderen Studien (Evers et al. 2002) gute Korrelationen zwischen Nitratgehalten im Boden und Konzentrationen im Sickerwasser gefunden wurden, bietet sich die Verwendung der vorgeschlagen Vorstratifizierungsmethode in zukünftigen Nitratstudien an. Im Einzelfall muss natürlich die Korrelation zwischen den beiden Nitratwerten überprüft werden.

Die Berechnung der Sickerwasserkonzentrationen aus den Nitratgehalten der getrockneten Bodenproben, die beim Einbau der Saugkerzen genommen wurden (N=121), lieferte eine gute Übereinstimmung mit den gemessenen $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ (Abb. 4a in Publikation [III]). Der Mittelwert der berechneten Konzentrationen betrug $34,4 \text{ mg l}^{-1}$ während der Mittelwert der gemessenen Konzentrationen mit $35,2 \text{ mg l}^{-1}$ nur wenig höher lag und sich statistisch nicht signifikant unterschied.

Die Trocknung der Bodenproben hatte jedoch einen gewissen Einfluss auf die Nitratgehalte. Ein Vergleich zwischen getrockneten und feldfrischen Proben (n=20) im Oktober 2005 ergab signifikant höhere Nitratgehalte bei ersteren. Dies führte zu signifikant höheren Werten bei den berechneten Konzentrationen. Die Berechnungen aus den Gehalten von feldfrischen Bodenproben waren hingegen nicht signifikant verschieden von den gemessenen $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ und korrelierten zudem besser mit diesen (Abb. 4c und 4d in Publikation [III]).

Djurhuus und Jacobsen (1995) fanden auf landwirtschaftlich genutzten Flächen keine signifikanten Unterschiede zwischen mittleren Nitratkonzentrationen in der Saugkerzenlösung und Konzentrationen, die aus Gehalten in Bodenproben berechnet wurden. Auch Mellert et al. (2008) und Gensior et al. (2003) fanden in Waldökosystemen eine gute Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden. Jedoch wurden in diesen Studien die Lysimeterproben und die Bodenproben an unterschiedlichen Stellen genommen. Evers et al. (2002) hingegen beprobten

an exakt den gleichen Stellen und fanden gute Korrelationen zwischen den beiden Methoden. Jedoch waren die aus Bodengehalten berechneten Nitratkonzentrationen fast doppelt so hoch wie die der Saugkerzenlösung. Als mögliche Ursachen wurden zusätzliche Nitratmengen aus Bodenaggregaten und Feinporen, die durch die Probenahme und Extrahierung zerstört wurden, angegeben. Zusätzliche Mineralisation und Nitrifikation während der Probenahme, Trocknung und Lagerung hätten den gleichen Effekt.

In verschiedenen Studien wurden in der Desorptionslösung deutlich höhere NO_3^- Konzentration gefunden als in der Saugkerzenlösung (Blattner et al. 2000; Schack-Kirchner et al. 2005; Augustin and Hildebrand 2001). Dies wurde methodischen Unterschieden zwischen den Verfahren zugeschrieben. Während bei der Desorptionslösung stationäres Wasser aus Mittel- und Feinporen gewonnen wird, beprobt die Saugkerze das leicht bewegliche Wasser der schnell dränenden Grobporen. Nissinen et al. (2000) postuliert, dass die Interaktion zwischen diesen Wasserfraktionen speziell während der Vegetationsperiode, in welcher der Boden kaum Wassersättigung aufweist, limitiert ist. Konzentrationsunterschiede in diesen Wasserfraktionen würden unweigerlich zu methodisch bedingten Differenzen zwischen aus Bodengehalten berechneten und in der Saugkerzenlösung gemessenen Nitratkonzentrationen führen (Evers et al. 2002; Alberts et al. 1977).

Für den Höglwald scheint dieses Problem nicht zu bestehen. Dies könnte an den relativ niedrigen Tongehalten (<12%) und den daher geringen Anteilen an Feinporen liegen. Schack-Kirchner et al. (2005) fanden eine Annäherung der Nitratkonzentrationen von Saugkerzenlösung und Desorptionslösung mit abnehmenden Tongehalten. Aber auch saisonale Konzentrationsunterschiede zwischen und innerhalb des Grob und Mittel-/Feinporenwassers könnten eine Rolle spielen. Sie könnten die Ursache dafür sein, dass die getrockneten Bodenproben vom April eine gute Schätzung der mittleren Nitratkonzentrationen erlaubten, während die getrockneten und extrahierten Bodenproben vom Oktober den Mittelwert der Saugkerzenlösung signifikant überschätzten. Aufgrund der besseren Korrelationen der feldfrischen Bodenproben mit den $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ werden diese für die Vorstratifizierung von Saugkerzenplätzen empfohlen.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit Hilfe einer einmaligen und intensiven Bodenprobenahme die Schätzung der mittleren $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ bei der Flächeninstallation in zukünftigen Nitratstudien ohne hohen Kostenaufwand deutlich verbessert werden kann. Davon wird sowohl die Beurteilung des N-Status von Wäldern sowie des Austrags von Nitrat in angrenzende Ökosysteme und ins Grundwasser profitieren.

Für eine Übertragung der Ergebnisse in die Praxis wird folgende Vorgehensweise vorgeschlagen:

- (1) Am Beginn einer Nitratstudie werden mit dem Saugkerzenbohrer Bodenproben in hoher Wiederholungszahl, in der späteren Einbautiefe der Saugkerzen gewonnen. Diese potentiellen Saugkerzenplätze werden mit Platzhaltern versehen (Holz oder Plastikstäbe mit dem Durchmesser der Saugkerzen) bis der Auswahlprozess abgeschlossen ist.
- (2) Anschließend wird im Labor der Nitratgehalt der feldfrischen Bodenproben mittels wässriger Extraktion sowie der Wassergehalt bestimmt. Es folgt die Berechnung der Nitratgehalte je Gramm trockenen Boden sowie der statistischen Kennwerte der Stichprobe.
- (3) Es sollte überprüft werden ob die Anzahl der Bodenproben die räumliche Variabilität des untersuchten Parameters repräsentiert (evtl. Konfidenzintervalle mit Bootstrap-Sampling schätzen).
- (4) Mit geostatistischen Analysen und Semivariogrammen können Informationen über optimale Beprobungsabstände erzielt werden.
- (5) Die vorgeschlagene Vorstratifizierungsmethode (siehe Material und Methoden) wird für unterschiedliche Wiederholungszahlen auf die Stichprobe der Bodennitratgehalte angewendet. Die 95%-Konfidenzintervalle dienen als Anhaltspunkt für die je nach gewünschter Schätzgenauigkeit benötigte Zahl an Saugkerzenplätzen.
- (6) Anschließend wird eine Stichprobe, die den Mittelwert gut trifft, ausgewählt und die Saugkerzen an den entsprechenden Plätzen eingebaut.
- (7) Nach dem Verwerfen der ersten Proben werden Sickerwasserproben gewonnen.
- (8) Abschließend sollte die Korrelation zwischen Nitratgehalt im Boden und $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ überprüft werden.

Falls die Anzahl der Saugkerzen begrenzt ist, können die Punkte 5 und 6 folgendermaßen vereinfacht werden: i) Aufsteigende Sortierung der Bodennitratgehalte, ii) Unterteilung in Gruppen gemäß der Anzahl zur Verfügung stehender Saugkerzen, iii) Auswahl des Medianes jeder Gruppe für den Saugkerzeneinbau.

Nach der ersten Sickerwasserprobenahme kann getestet werden, ob sich die Nitratkonzentration im Sickerwasser aus den Bodennitratgehalten berechnen lässt. Falls dies möglich ist, kann das Saugkerzenkollektiv in gewissen Zeitabständen auf seine Repräsentativität untersucht werden, indem erneut Bodenproben untersucht werden.

Fazit und Bewertung

- ☞ **Die hohe räumliche Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im Altbestand macht bei zufälliger Messplatzauswahl hohe Stichprobenzahlen nötig um den Mittelwert präzise zu schätzen.**
- ☞ **Nitratgehalte von Bodenproben die beim Einbau der Saugkerzen gewonnen wurden, korrelierten sehr eng mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ und eignen sich daher zur Vorauswahl von Saugkerzenplätzen.**
- ☞ **Für den Standort Höglwald wurde bei zufälliger Messplatzauswahl eine Saugkerzenzahl von mindestens 250 errechnet um ein 95%-Konfidenzintervall zu erhalten das weniger als $\pm 10\%$ vom wahren Mittelwert abweicht. Mittels einer Vorauswahl mit Hilfe von Bodenproben hätte diese Zahl bei gleichen Präzisionsanforderungen auf 20 reduziert werden können.**
- ☞ **Am Standort Höglwald kann die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ sogar direkt aus den Bodennitratgehalten berechnet werden. Dies eröffnet die Möglichkeit einer regelmäßigen Überprüfung der Repräsentativität von bereits implementierten Saugkerzenplätzen.**
- ☞ **In dieser Arbeit wurde eine detaillierte Vorgehensweise ausgearbeitet, mit der in künftigen Nitratstudien die Mittelwertschätzung deutlich verbessert werden kann.**

5.2 Ursachen der Nitratheterogenität (Publikation [I, III und IV])

In einem ersten Schritt wurden die Ursachen der Nitratheterogenität mit einfach zu erhebenden Parametern an allen Messplätzen (n=121) untersucht. In einem weiteren Ansatz erfolgte im Juli 2005 eine Auswahl von Intensivmessplätzen (n=20), an denen zusätzliche Messungen zu N-Umsatz, Wurzelbiomasse, N-Eintrag, Bodenphysik und Bodenchemie erfolgten. Eine Zusammenfassung der MLR-Modelle in Tabelle 4 zeigt, dass die Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im Altbestand und nach Kahlschlag mit einfach zu erhebenden Parametern nur unzureichend zu erklären ist (multiples $R^2 \sim 0,30$), während mit den intensiven Messungen im Altbestand viel höhere Erklärungsanteile erzielt wurden (multiples $R^2 = 0,90$).

Tab. 4: Zusammenfassung und Vergleich der multiplen linearen Regressionsmodelle für alle Saugkerzenplätze (einfach zu erhebende Parameter; Altbestand und Kahlschlag) sowie für die Intensivmessplätze (nur Altbestand).

Einflußgröße	Erklärung der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ mit		
	einfach zu erhebenden Parametern n=121		intensiven Messungen n=20
	Altbestand	Kahlschlag	Altbestand
Vegetation Oxalis (Deckungsgrad)	1**	-	-
Vegetation Moos (Deckungsgrad)	3**	-	-
Vegetation Gefäßpflanzen (Deckungsgrad)	-	1**	-
Bestandesdichte (ehemalige Be- standesdichte beim Kahlschlag)	2**	4**	3*
Humusmächtigkeit	-	3**	-
Sickerwassermenge in Sammelflasche	-	2**	-
Netto-N-Mineralisation in der organischen Auflage	k.m.	k.m.	1***
Biomasse Feinwurzeln Fichte (10- 30 cm)	k.m.	k.m.	2***
Biomasse Feinwurzeln Fichte (30- 40 cm)	k.m.	k.m.	4*
angepasstes multiples R^2	0,30	0,27	0,90

1-4 Reihenfolge (absteigend) des statistisch signifikanten Einflusses; grün: positiver Einfluß auf $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$;

rot: negativer Einfluß auf $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$; k.m. = keine Messungen; - = kein statistisch signifikanter Einfluß

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$;

Von den Parametern die in den Modellen der einfach zu erhebenden Parametern signifikant waren, ging lediglich die Bestandesdichte in das Modell der Intensivmessungen ein. Bei den einfach zu erhebenden Parametern lieferten jeweils Vegetationsdeckungsgrade höchste Erklärungsanteile, bei den

Intensivmessungen im Altbestand waren es dagegen Parameter zum N-Umsatz und zur Feinwurzelbiomasse der Fichte, die lediglich mit aufwändigen bzw. destruktiven Messungen zu erheben sind. Im Folgenden werden die statistischen Modelle und ihre signifikanten Einflussgrößen auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im Detail diskutiert und bewertet.

5.2.1 Erklärung mit einfach zu erhebenden Parametern am Gesamtkollektiv

Im Altbestand konnten sowohl mit der Multiplen linearen Regression (MLR) als auch mit der Multiplen Klassifikationsanalyse (MCA) ca. 40% (Summe der Betaquadrate) der vorhandenen Nitratvariabilität erklärt werden. Vegetationsparameter in Form von Deckungsgraden von Moosen und *Oxalis acetosella* erklärten 19 (MCA) bzw. 24% (MLR) der Variabilität. Bei den Bestandesparametern trugen bei der MCA die Grundfläche der Bäume im Umkreis von 4 m (21%) signifikant zur Erklärung bei, während bei der MLR der Abstand zum nächsten Baum sowie dessen Umfang (16%) ins Modell aufgenommen wurde. Die erhobenen Bodenparameter konnten die Modelle nicht signifikant verbessern (Tabelle 4; Tabelle 3 in Publikation [I]).

Dabei zeigten Saugkerzenplätze mit hohen Deckungsgraden an *Oxalis* (>25%) und geringen Deckungsgraden an Moosen (<70%) sowie moderaten Bestandesdichten die höchsten $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Eine geringe Biomasseentwicklung von *Oxalis acetosella* im Höglwald lässt darauf schließen, dass es keinen signifikanten Einfluss auf die N-Dynamik hat (Rodenkirchen 1995). Da niedrige Gehalte an verfügbarem Calcium im Höglwald ein limitierender Faktor für *Oxalis* sind (Rodenkirchen 1998a), könnte ein hoher Deckungsgrad auf erhöhte Mineralisation hinweisen, bei der verfügbares Calcium und anorganischer N entstehen. Außerdem wird *Oxalis*, das im Gegensatz zur Fichte bevorzugt NO_3^- aufnimmt, durch verstärkte Nitrifikation gefördert. NH_4^+ wirkt sich sogar negativ auf die Calciumaufnahme bei *Oxalis* aus (Rodenkirchen 1998b). Daher ist diese Pflanze im Höglwald eher als Indikator für erhöhte Mineralisation und Nitrifikation denn als Ursache erhöhter Nitratkonzentrationen zu sehen. Hohe Deckungsgrade von Moosen deuten hingegen auf ein kühleres Mikroklima hin, bei dem die N-Umsetzung gehemmt wird und daher niedrigere $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ zu

finden sind. Moderate Bestandesdichten führen zu signifikant höheren Nitratkonzentrationen im Sickerwasser im Vergleich zu hohen und niedrigen Bestandesdichten (siehe auch Abb. 6 in Publikation [I]). Messplätze mit niedrigen Bestandesdichten weisen einen geringeren N-Eintrag mit dem Bestandesniederschlag und mit dem Streufall auf. Beier et al. (1993) fanden negative Gradienten für den N-Eintrag mit abnehmender Baumgröße und zunehmendem Abstand vom Baum. Gundersen et al. (1998a) berichteten über abnehmende Nährstoffkonzentrationen und ansteigende Wassereinträge mit zunehmendem Abstand vom Stamm. Hohe Bestandesdichten könnten trotz des hohen Input an N über den Bestandesniederschlag und Streufall zu hohen Aufnahmeraten wegen höherer Feinwurzelmasse führen. Außerdem gehen hohe Bestandesdichten meist mit einem kühleren Mikroklima im Boden einher, welches wenig förderlich für die N-Mineralisierung ist. Im Gegensatz zu unseren Annahmen trug die Mächtigkeit der organischen Auflage nicht zur Erklärung der sehr variablen $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ bei. Auch die durchschnittliche Menge an Sickerwasser in den Sammelflaschen, die Informationen bezüglich des Wasserhaushaltes haben könnte, verbesserte die Modelle nicht. Daher ist anzunehmen, dass die Aktivität der Bäume und/oder der Mikroorganismen die Substratverfügbarkeit und Verdünnungs- oder Aufkonzentrationseffekte im Altbestand überlagern.

Nach dem Kahlschlag konnten im Oktober 2006 ca. 30% der Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ durch die beiden statistischen Modelle erklärt werden. Oxalis war nach dem Kahlschlag kaum mehr vorhanden und hatte somit keine Relevanz mehr im statistischen Modell. Der Deckungsgrad mit Gefäßpflanzen erklärte ca. 10% und der Brusthöhenumfang des nächsten Baumes erklärte 6% der Variabilität. Im Gegensatz zum Altbestand trugen die Parameter (1) Humusmächtigkeit und (2) Sickerwassermenge in den Sammelflaschen ca. 15 % zur Erklärung bei (Tabelle 3 in Publikation [I]).

Saugkerzenplätze mit Konzentrationen unter 100 mg l^{-1} waren im Oktober 2006 die Ausnahme. Diese fanden sich an (1) Stellen mit hohen Deckungsgraden an Gefäßpflanzen (>30%), (2) Plätzen an denen vor Kahlschlag keine oder lediglich kleine Bäume standen sowie an (3) Orten mit geringmächtiger organischer Auflage (<50 mm) und (4) geringen Wassermengen in den Sammelflaschen.

Höhere Vegetationsdeckungsgrade führten auch in anderen Kahlschlaguntersuchungen zu niedrigeren Nitratkonzentrationen (Weis et al. 2001; Gundersen et al. 2006; Mellert et al. 1996) und sind auf die Aufnahme von N durch die Vegetation zurückzuführen. Huber (2005) beobachtete diesen Effekt jedoch erst im zweiten Jahr nach dem Absterben eines Fichtenaltbestandes im Bayerischen Wald. Signifikant höhere $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ in der Nähe großer Baumstümpfe könnten durch höhere Feinwurzelmassen an diesen Messplätzen erklärt werden. Nach dem Kahlschlag mineralisieren diese schnell und tragen im Folgenden zu verstärkter Nitratbildung bei. Die Substratverfügbarkeit hat ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Geringmächtige organische Auflagen schränken die Mineralisation und die nachfolgende Nitrifikation ein und führen so zu niedrigeren Nitratkonzentrationen. Geringe Mengen an Sickerwasser in den Sammelflaschen deuten auf eine schlechte Wasserleitfähigkeit im Mineralboden hin. Daran könnten verstärkt anaerobe Bedingungen geknüpft sein, die zu gasförmigen N-Verlusten via Denitrifikation führen. Bereits nach früheren Kahlschlägen wurden im Höglwald höhere Denitrifikationsraten im Vergleich zum Altbestand gemessen (Papen et al. 2001).

5.2.2 Erklärung mit Intensivmessungen und destruktiver Beprobung an ausgewählten Saugkerzenplätzen

An den Intensivmessplätzen im Altbestand waren die Korrelationen zwischen den meisten N-Umsatzparametern und der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ sehr hoch, gleichgültig ob letztere über die gesamte Sickerwassermessperiode (Tabelle 2 in Publikation [IV]), oder nur über die Perioden der tatsächlichen Inkubationszeiten gemittelt wurden (Abb. 1 in Publikation [III]). Lediglich die Brutto-Nitrifikationsrate des 2. Messplatzkollektivs und die Bodenrespiration beider Kollektive zeigten keinen Zusammenhang mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Weitere signifikante Korrelationen wurden für Vegetationsdeckungsgrade, die Wurzelbiomasse in verschiedenen Tiefenstufen, sowie für bodenchemische Parameter festgestellt. Bestandesparameter, bodenphysikalische Parameter sowie die Mächtigkeit der organischen Auflage zeigten keine signifikanten Korrelationen zur $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$, jedoch F-Werte $>1,5$ in der varianzanalytischen Untersuchung. Der N-Eintrag mit dem

Bestandesniederschlag sowie der Wassereintrag wiesen dagegen weder signifikante Korrelationen mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$, noch F-Werte $>1,5$ auf und wurden nicht in die lineare Regression einbezogen.

Auffällig war, dass die biologischen Parameter meist ähnlich hohe Varianzkoeffizienten wie die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ aufwiesen, während die Variabilität der gemessenen bodenphysikalischen und bodenchemischen Parameter sowie des N-Eintrags einen Varianzkoeffizienten von 20 % kaum überstieg (Tabelle 2 in Publikation [IV] und Tabelle 2 in Publikation [III]).

Die Netto-N-Mineralisation (NetMin_N) wurde als einzige signifikante Variable in das Modell der schrittweisen multiplen linearen Regression (sMLR) mit allen Parametern bezüglich des N-Umsatzes aufgenommen. Sie erklärte 51% (April-Juni) bzw. 59% (Juli bis September) der Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ (Tabelle 3 in Publikation [III]). Weitere Variablen der N-Umsetzung wurden wegen der starken Interkorrelation mit der NetMin_N nicht berücksichtigt (siehe Tabelle 4 in Publikation [III]).

Die NetMin_N konnte zum großen Teil (51-70%) durch die Variation des Bodenwassergehaltes der inkubierten organischen Auflage und durch das Substratangebot am Messplatz erklärt werden (Tabelle 5 in Publikation [III]). Diese Variablen zeigten jedoch keinen signifikanten Einfluss bei der Erklärung der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$.

In Tabelle 3 in Publikation [IV] sind die 8 Parameter aufgelistet, die an mindestens einem der Probenahmeterminen in das Modell der sMLR aufgenommen wurden. Die Modelle der rückwärtsgewandten sMLR zeigen, dass nur 5 dieser Parameter hohe Anteile der Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ erklären (bis zu 93%). Dies waren (1) die NetMin_N in der organischen Auflage, (2) die Verteilung der Feinwurzeln im Oberboden, die Verteilung der (3) Fein- und (4) Schwachwurzeln im Unterboden, sowie (5) die Grundfläche der Bäume in der Nähe der Messplätze. Das Volumen der Mittel- und Feinporen, der pH im Boden in 20-30 cm Tiefe sowie die Deckung mit Oxalis gingen zwar signifikant in einige der Modelle ein, führten aber zu sehr hohen Kollinearitätsindizes und wurden daher ausgeschlossen.

Netto-N-Mineralisation

Die NetMin_N in der organischen Auflage zeigte bei allen Sickerwasserprobenahmen den höchsten Erklärungsanteil. Dies ist erstaunlich wenn man bedenkt, dass die erste Konzentrationsmessung im April 2005 durchgeführt wurde, 3 Monate vor Beginn der Inkubationen. Selbst für die im Juli gemessenen NetMin_N muss beachtet werden, dass der Transport des gebildeten anorganischen N mit dem Sickerwasser bis in 40 cm Tiefe noch Wochen bis Monate dauern kann. Das spricht dafür, dass die NetMin_N an einem Messplatz über längere Zeit konstant bleibt, bzw. zumindest die Relationen zwischen den Mineralisationsraten an den verschiedenen Messplätzen über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben. Da der Messzeitpunkt Juli/August repräsentative Ergebnisse für die gesamte Vegetationsperiode lieferte, sollte er auch für zukünftige Studien in Betracht gezogen werden. Relativ konstante NetMin_N -Raten während der Vegetationsperiode könnten auch die Erklärung für die geringe zeitliche Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ am Einzelmessplatz sein. Im Vergleich zu den N-Umsatzparametern der Freilandinkubationen korrelierten die N-Umsatzparameter der Laborinkubationen nicht mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ (Matejek et al. 2010). Dies unterstreicht einmal mehr den Einfluss des Kleinstandortes auf die N-Umsetzung und die Wichtigkeit von in situ Messungen.

Am Ende der Vegetationsperiode ging die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ zurück. Auch der Erklärungsanteil der Regressionsmodelle wurde etwas geringer. Möglicherweise hängt dies mit Veränderungen der Mineralisationsraten zum Ende der Vegetationsperiode zusammen. Da der zeitliche Verlauf der Mineralisation in dieser Arbeit jedoch nicht untersucht wurde, können darüber keine Aussagen gemacht werden. Laverman et al. (2000) fanden während eines gesamten Messjahres eine deutliche Variation der NetMin_N im L-Horizont eines N-gesättigten Kiefernforst in den Niederlanden, jedoch wesentlich geringe zeitliche Schwankungen im O_f -Horizont.

Es ist erstaunlich, dass die Nettonitrifikation (NetNit) eine geringere Korrelation im Vergleich zur NetMin_N zeigte. Die NetNit am Standort beträgt weit über 50% der Bruttonitrifikation (Matejek et al. 2010), was bedeutet, dass der größte Teil des produzierten Nitrates für die Pflanzenaufnahme bzw. die Verlagerung in tiefere Bodenschichten zur Verfügung steht. Bei den Inkubationsversuchen

wurden jedoch die Wurzeln ausgeschlossen. Daher steht produziertes NH_4^+ , welches bei ungestörten Verhältnissen von den Wurzeln aufgenommen worden wäre, zusätzlich zur Nitrifikation zur Verfügung. Die NetNit-Raten könnten im Vergleich zu natürlichen Bedingungen daher, methodisch bedingt, überschätzt werden. Diese Hypothese wird durch die deutlich bessere Korrelation des gesamten anorganischen N-Pools im Vergleich zu den einzeln betrachteten Pools unterstützt. Die Bildung von überschüssigem anorganischem N in der organischen Auflage scheint wichtiger zu sein als die Nitrifikation. Diese kann auch im Mineralboden erfolgen. Im Höglwald gelangt ein beträchtlicher Teil des NH_4^+ von der organischen Auflage in den oberen Mineralboden (Kreutzer et al. 1991a; Kreutzer 1995), wo es von Mikroorganismen immobilisiert, von Pflanzen aufgenommen oder nitrifiziert wird. Das NO_3^- , welches aus der Nitrifikation resultiert, kann in tiefere Bodenschichten transportiert werden und so die Konzentration in 40 cm Tiefe erhöhen. Laborinkubationsversuche haben gezeigt, dass die Nitrifikationsraten an diesem Standort im Mineralboden beträchtlich und räumlich sehr variabel sind (Matejek et al. 2010).

Wurzelbiomasse

Eine weitere wichtige Variable für die Erklärung der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ war die Wurzelbiomasse am Messplatz. Die horizontale und vertikale Verteilung der Fein- (<2 mm) und Schwachwurzeln (2-5 mm) war im Einklang mit früheren Studien im Höglwald (Rothe 1997; Kreutzer et al. 1991b) und zeigte ein tiefenstufenabhängiges Muster bezüglich ihrer Korrelationen mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Während in der organischen Auflage keine Korrelation zwischen Wurzelbiomasse und der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ bestand, war diese im oberen Mineralboden signifikant positiv. In tieferen Schichten (20-40 cm) dagegen war diese Korrelation zum Teil signifikant negativ. Die Grobwurzeln (>5 mm) zeigten keinen signifikanten Zusammenhang mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. In allen Modellen war die Biomasse der Feinwurzeln im oberen Mineralboden (0-30 cm) die zweitwichtigste erklärende Variable. Der signifikant positive Einfluss auf die Nitratkonzentration im Sickerwasser deutet darauf hin, dass die Feinwurzeln aus dem oberen Mineralboden hohe Mengen an Wasser aufnehmen aber kaum NO_3^- und so für eine Aufkonzentrierung sorgen. Dieser Aufkonzentrationseffekt

wurde im Höglwald bereits für den stammnahen (<1m) Bereich beobachtet (Daten nicht veröffentlicht). Gessler et al. (1998) wies für den Höglwald nach, dass in der organischen Auflage und im oberen Mineralboden lediglich NH_4^+ von den Wurzeln aufgenommen wird, aber kein NO_3^- .

In tieferen Bodenschichten hingegen wirkt die Wurzelbiomasse signifikant negativ auf die Nitratkonzentration im Sickerwasser, was für eine Aufnahme von NO_3^- spricht. Marschner et al. (1991) berichten von signifikant höherer Nitrataufnahme aus Nährlösungen bei geringen Konzentrationen von NH_4^+ . Im Höglwald ist bereits in 20 cm Tiefe kaum noch NH_4^+ in der Bodenlösung zu finden (Kreutzer et al. 1991a) und in 40 cm Tiefe war es im Rahmen dieser Studie nicht mehr nachzuweisen.

Während also im oberen Mineralboden Feinwurzeln durch hohe Wasseraufnahme für eine Anreicherung von Nitrat in der Bodenlösung sorgen, reduzieren sie in tieferen Bodenschichten die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ durch Nitrataufnahme. Letzteres wird unterstützt durch niedrigere Nitratflüsse in 40 cm Tiefe im Vergleich zu 20 cm Tiefe (Kreutzer et al. 1998).

Bestandesdichte

Der Zusammenhang zwischen der Grundfläche der Bäume in der Nähe von Saugkerzen und der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ war zwar nur schwach, lieferte jedoch einen signifikanten Beitrag zu deren Erklärung in den meisten Modellen. Die Bestandesdichte zeigte bereits bei den leicht zu erhebenden Parametern einen signifikanten Beitrag zur Erklärung der Nitratvariabilität des gesamten Saugkerzenkollektivs. Auch dort sorgten hohe Bestandesdichten für niedrigere $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Obwohl an diesen Messplätzen viel N mit dem Bestandesniederschlag und dem Streufall eingetragen wird, sorgen wohl die kühleren und eventuell trockeneren mikroklimatischen Bedingungen für eine geringere N-Umsetzung.

Bodenvegetation

Der Deckungsgrad von *Oxalis acetosella* zeigte eine sehr hohe signifikante positive Korrelation mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ ($r=0,75^{**}$). Dieser Zusammenhang wurde bereits am Datensatz des gesamten Saugkerzenkollektivs beobachtet, wenn auch nicht in dieser Stärke. *Oxalis* zeigte aber auch eine hoch signifikante

positive Korrelation mit der NetMin_N ($r=0,72^{**}$). Dies bestätigt die bereits im Kapitel 5.2.1 aufgestellte Hypothese, dass hohe Deckungsgrade von Oxalis die Folge von hohen Mineralisationsraten und der damit verbundenen höheren Verfügbarkeit an anorganischen N (vor allem NO_3^-) und Calcium sind (Rodenkirchen 1998b). In den statistischen Modellen war der Deckungsgrad von Oxalis lediglich bei der Erklärung der mittleren $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ signifikant, führte aber zu hohen Kollinearitätsindizes und wurde daher wieder aus diesem Modell entfernt.

Hohe Deckungsgrade mit Moosen korrelierten signifikant negativ mit der Nitratkonzentration im Sickerwasser ($r=-0,45^*$). Bereits bei den leicht zu erhebenden Parametern wurde dieser Zusammenhang für das gesamte Saugkerzenkollektiv festgestellt und mit kühlerem Mikroklima, welches die N-Umsetzung hemmt, erklärt.

Der Deckungsgrad aller Gefäßpflanzen (ohne Oxalis) an den jeweiligen Messplätzen zeigte eine schwach negative Korrelation mit den $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$, die auf eine N-Aufnahme hindeutet. Für die statistischen Modelle im Altbestand hatten die Deckungsgrade jedoch keine Relevanz. Nach dem Kahlschlag war diese Variable in den Modellen des gesamten Saugkerzenkollektives signifikant. Verschiedene Studien berichten über niedrigere $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ an Messplätzen mit hohen Vegetationsdeckungsgraden vor allem auf Kahlflächen (Weis et al. 2001; Huber et al. 2004b; Mellert et al. 1996).

Bodenchemische und bodenphysikalische Parameter

Der pH-Wert in 20-40 cm Tiefe zeigte einen signifikant negativen Zusammenhang mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Auch Dise et al. (1998) und Kristensen et al. (2004) berichten von negativen Zusammenhängen zwischen gelöstem anorganischen N und pH-Werten in B-Horizonten europäischer Wälder. Sie kommen zu dem Schluss, dass die niedrigeren pH-Werte eher eine Folge von chronisch erhöhten N-Einträgen und der damit einhergehenden Protonenfreisetzung durch Überschussnitrifikation sind. In dieser Studie ist wohl ebenfalls eine erhöhte Nitrifikation am Messplatz der Grund für den Zusammenhang. Trotzdem ist der pH-Wert eine der wenigen Variablen, die

sowohl auf der regionalen als auch auf der Bestandesebene mit der Nitratkonzentration im Sickerwasser korreliert.

Die Korrelationen zwischen C/N-Verhältnis in 20-40 cm Tiefe und der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ waren (zum Teil signifikant) negativ. Höhere Nitratkonzentrationen in der Bodenlösung könnten in diesem Fall für höhere Nitratgehalte im Boden und damit für ein engeres C/N-Verhältnis verantwortlich sein. C- und N-Parameter im Humus und im Oberboden zeigten dagegen positive, jedoch nicht signifikante Zusammenhänge mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$.

Keiner der bodenchemischen Parameter leistete einen Beitrag zur Erklärung der Nitratvariabilität in den linearen Regressionsmodellen. Auch nicht das C/N-Verhältnis, welches auf regionaler Ebene ein wichtiger Parameter für den Nitrataustrag ist (Dise et al. 2009; van der Salm et al. 2007).

Das Volumen an Grobporen (Poren $>50 \mu\text{m}$) in der Bodenschicht über der Saugkerze (20-30 cm Tiefe) hatte eine negative Korrelation mit Nitrat im Sickerwasser, während Mittel- und Feinporenvolumen sowie Lagerungsdichte positiv mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ korrelierten. Ein hohes Makroporenvolumen sorgt für einen schnellen Wasserabfluss in die Tiefe und damit für wenig Interaktion zwischen Wurzeln und Wasser. An diesen Stellen kann also nur wenig Wasser aufgenommen werden, wodurch der Aufkonzentrationseffekt geringer ist. Hohe Lagerungsdichten sind mit höheren Anteilen an Mittel- und Feinporen verbunden. Strong et al. (1998b) betonen die Bedeutung der Mittelporen für die N-Umsetzung, da hier sowohl der Wassergehalt als auch die Zugänglichkeit zum organischen Material stets optimal ist, während Grobporen und Feinporen ungünstiger sind, da erstere öfters austrocknen und letztere schwer zugänglich für die Mikroorganismen sind. Hohe Lagerungsdichten wirken sich dagegen laut Strong et al. (1998a) negativ auf die N-Umsetzung aus. In der vorliegenden Studie wurde jedoch ein schwach positiver Zusammenhang mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ gefunden. Hohe Lagerungsdichten sind aber sehr stark mit hohen Mittel- und Feinporen korreliert. Während Strong et al. (1997) mit Bodenvolumina von $<2 \text{ cm}^3$ arbeiten und somit die Variabilität auf viel kleinerem Raum untersuchen, beträgt das Volumen der hier untersuchten Einheiten 100 cm^3 . Diese

unterschiedliche räumliche Auflösung der Messungen könnte ein Grund für unterschiedliche Ergebnisse sein.

N-Eintrag und Humusmächtigkeit

Es war überraschend, dass der anorganische N-Eintrag mit dem Bestandesniederschlag keinen Zusammenhang mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ zeigte, obwohl dieser auf regionaler Ebene der wichtigste Vorhersageparameter für den Nitrataustrag ist (Gundersen et al. 1998b; Dise et al. 1998; Dise and Wright 1995; Kristensen et al. 2004; Borken and Matzner 2004). Manderscheid und Matzner (1995a) fanden in einem Fichtenaltbestand ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen diesen Parametern. Anhaltend hohe N-Einträge sind zwar die Voraussetzung für N-Sättigung und die damit verbundene hohe Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Auf der Bestandesebene scheint die Variabilität des N-Eintrags, die mit Varianzkoeffizienten um 25% deutlich niedriger ist als die Nitratheterogenität, jedoch keinen signifikanten Einfluss $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ zu haben.

Die Mächtigkeit der organischen Auflage war schwach positiv mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ korreliert, leistete aber keinen Beitrag zu Erklärung in den statistischen Modellen. Auf die Netto-N-Mineralisationsraten hatte jedoch die Menge an organischer Substanz einen signifikant positiven Einfluss (Tabelle 5 in Publikation [III]) und somit indirekt auch auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$.

Es war erstaunlich, dass keiner der bodenphysikalischen und bodenchemischen Parameter, ebenso wenig wie das Substratangebot, die Variabilität der Nitratkonzentration schlüssig erklären konnte. All diese Variablen und deren Tiefenstufen zeigten im homogenen Fichtenaltbestand im Vergleich zum Nitrat im Sickerwasser eine sehr geringe Variabilität. Ihre Varianzkoeffizienten lagen meist unter 20%. Das deutet darauf hin, dass diese Parameter in homogenen Waldbeständen relativ wenig Einfluss auf Nitrat im Sickerwasser haben. Die biologischen Parameter wie N-Umsetzungsprozesse, Wurzelverteilung und Bestandesdichten waren dagegen deutlich heterogener und scheinen auch aus diesem Grund die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ zu bestimmen. Daher sollte man sich in folgenden

Nitratstudien in homogenen Beständen vor allem auf diese biologischen Parameter konzentrieren.

Fazit und Bewertung

- ☞ **Einfach zu erhebende Parameter können die Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ nur unzureichend erklären.**
- ☞ **Intensive Untersuchungen zeigen, dass im Altbestand die N-Umsetzung am Messplatz den größten Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ hat.**
- ☞ **In statistischen Modellen erklärt die Netto-N-Mineralisation aus Freilandinkubationen einen großen Teil der Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im Altbestand. Darüber hinaus zeigten die Biomasse an Fichtenfeinwurzeln und die Bestandesdichte am Messplatz einen signifikanten Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$.**
- ☞ **Die in situ Netto-N-Mineralisation ist im Vergleich zu den Bruttoumsatzraten relativ einfach zu bestimmen und sollte daher ein fester Bestandteil von nachfolgenden Untersuchungen zu den Ursachen der Nitratheterogenität sein.**
- ☞ **Die gemessenen Parameter bezüglich N-Eintrag und Substratangebot, sowie bodenphysikalische und bodenchemische Parameter hatten in den statistischen Modellen keinen signifikanten Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Ein Grund dafür könnte die geringe Variabilität dieser Parameter im homogenen Fichtenaltbestand sein.**

6 Zusammenfassung und Ausblick

Die hoch aufgelöste Messung der Nitratkonzentration im Sickerwasser ($\text{Konz}_{\text{NO}_3}$) eines N-gesättigten Fichtenaltbestandes hat gezeigt, dass die räumliche Variabilität der Nitratkonzentration sehr hoch ist, während die zeitliche Variabilität demgegenüber gering ist. Nach Kahlschlag drehen sich diese Beziehungen um, die zeitliche Variabilität überwiegt, während die räumliche stark abnimmt. Für künftige Nitratstudien in N-gesättigten Wäldern bedeutet dies, dass in Altbeständen viele Messplätze benötigt werden, um den Mittelwert präzise zu schätzen. Die zeitliche Auflösung der Messungen hingegen kann niedrig bleiben (z.B. vierteljährlich). Bei Untersuchungen auf Kahlschlägen ist die zeitliche Auflösung der Messung zu erhöhen (monatlich), die Anzahl an Wiederholungen kann dagegen im Vergleich zum Altbestand reduziert werden. Im Altbestand wurde eine ausgeprägte räumliche Autokorrelation der Nitratkonzentrationen in einem Bereich von mindestens 10 m festgestellt. Um unabhängige Stichproben zu erhalten, sollte im Höglwald dieser Mindestabstand zwischen den Saugkerzen nicht unterschritten werden. Nach Kahlschlag hingegen nimmt sowohl die Stärke als auch die Reichweite der räumlichen Autokorrelation stark ab. Hier sind Messplatzabstände von mindestens 5 m zu empfehlen, um unabhängige Messungen zu erhalten.

Die mit Hilfe von wässrigen Extrakten bestimmten Nitratgehalte im Boden korrelieren sehr gut mit der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Bodenproben eignen sich daher hervorragend für eine Vorauswahl von Saugkerzenplätzen in Nitratstudien. Durch eine geeignete Vorauswahl kann die Mittelwertschätzung erheblich verbessert und die Anzahl von Saugkerzenplätzen deutlich reduziert werden. Innerhalb dieser Studie wären für eine präzise Schätzung des Mittelwertes bei zufälliger Messplatzauswahl mindestens 250 Saugkerzen nötig gewesen. Mit einer Vorauswahl von Messplätzen anhand von Bodennitratgehalten könnte die Zahl der Saugkerzen auf 20 reduziert und trotzdem eine hohe Genauigkeit (Abweichung $<10\%$ vom wahren Mittelwert, bei 95% Sicherheit) erzielt werden. Weiterhin war es im Rahmen dieser Studie möglich, die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ direkt aus den

Bodennitratgehalten zu berechnen. Dies eröffnet die Möglichkeit einer regelmäßigen Überprüfung der Repräsentativität von bereits implementierten Saugkerzenplätzen mit Hilfe von Bodenproben.

In dieser Arbeit wurden 121 Saugkerzen verwendet, um die räumliche Variabilität sowie das Konzentrationsspektrum der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ für den untersuchten Bestand zu beschreiben. Im Höglwald könnte dies in zukünftigen Untersuchungen mit einer repräsentativen Anzahl von Bodenproben erfolgen. Dies spart Zeit und Kosten und sollte deshalb auch auf andere Standorte übertragen werden.

Die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse sollten bei der Neuanlage von Sickerwasseruntersuchungen und an Level II Standorten angewandt werden, um die Schätzung der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ kurz-, mittel-, und langfristig zu verbessern.

Die Ursachen der Nitratheterogenität im Altbestand konnten mit einfach zu erhebenden Parametern am Gesamtkollektiv ($n=121$) nur zu maximal 40% erklärt werden. Signifikante Einflussgrößen waren (1) die Bestandesdichte (nicht linear) und (2) die Vegetationsdeckungsgrade von Moosen (negativ) und (3) *Oxalis acetosella* (positiv). Während die Bestandesdichte und der Deckungsgrad von Moosen als Zeiger für das Mikroklima und den N-Eintrag angesehen werden können, wurde Oxalis als Zeiger für erhöhte Mineralisationsraten interpretiert.

Nach Kahlschlag konnten nur etwa 30% der Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ im Sickerwasser erklärt werden. Signifikante Einflussgrößen waren (1) der Deckungsgrad mit Gefäßpflanzen (negativ), (2) der Durchmesser des nächstgelegenen Baumstumpfes (positiv), (3) die Dicke der organischen Auflage (positiv) sowie (4) die Menge an Sickerwasser in den Sammelflaschen (positiv). Während hohe Vegetationsdeckungsgrade auf eine hohe N-Aufnahme schließen lassen, könnten große Baumstümpfe ein Indikator für höhere Feinwurzelbiomasse sein, die nach Kahlschlag mineralisiert wird und zu hohen $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ führt. Dicke Humusaufgaben sind ein Zeichen für hohe Substratverfügbarkeit für die Mineralisierung, während geringe Mengen an Wasser in den Sammelflaschen auf dichten Boden hinweisen, in dem aufgrund

des höheren Wasserangebots nach Kahlschlag möglicherweise Denitrifikation stattfindet.

An den Intensivmessplätzen im Altbestand (n=20) konnte mit zusätzlich erhobenen Parametern bis zu 93% der Nitratheterogenität erklärt werden. Die Höhe der in situ Netto-N-Mineralisation (NetMin_N) der organischen Auflage wirkte signifikant positiv auf die Nitratkonzentration und lieferte dabei stets den höchsten Erklärungsanteil. Dies deutet darauf hin, dass die Bildung von überschüssigem anorganischem N in der organischen Auflage die Hauptsteuerungsgröße der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ ist. An zweiter Stelle stand die Feinwurzelbiomasse im oberen Mineralboden. Sie hatte einen signifikant positiven Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$, was durch eine höhere Wasseraufnahme im Vergleich zur N-Aufnahme zu erklären ist. Die Schwach- und Feinwurzeln im Unterboden (20-40 cm) hingegen hatten einen signifikant negativen Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$. Dies kann auf die Aufnahme von Nitrat in dieser Bodentiefe zurückzuführen sein. Als vierte signifikante Variable war die Bestandesdichte mit einem negativen Einfluss auf die $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ beteiligt. Ein kühleres und trockeneres Bestandesklima an Stellen mit hohen Bestandesdichten und eine dadurch gehemmte Mineralisation könnten die Ursache hierfür sein.

Bodenchemische und bodenphysikalische Parameter sowie der über den Bestandesniederschlag eingetragene anorganische N und die Menge an Humus am Messplatz hatten keinen signifikanten Einfluss auf die Heterogenität. Diese Parameter variieren deutlich weniger auf der untersuchten Fläche als die erhobenen biologischen Parameter (N-Umsatzraten, Wurzelbiomasse und Vegetationsdeckung).

Die Messung der NetMin_N im Juli/August scheint repräsentativ für die gesamte Vegetationsperiode zu sein, da sie signifikant mit allen Sickerwasserprobenahmen korrelierte. Dieser Messzeitraum sollte daher auch in folgenden Studien besonders in Betracht gezogen werden.

Die in dieser Studie erarbeiteten Zusammenhänge sollten an weiteren N-gesättigten Standorten mit unterschiedlichen Bestandestypen, Böden und klimatischen Bedingungen untersucht und verifiziert werden.

Weiterer Forschungsbedarf besteht bezüglich der zeitlichen Variabilität der NetMin_N im Freiland. Möglicherweise ist dies die Komponente, welche die zwar im Vergleich zur räumlichen wesentliche geringe, aber dennoch vorhandene zeitliche Variabilität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ erklärt. Die Messung der NetMin_N sollte daher nicht nur in der Vegetationsperiode sondern auch während der Vegetationsruhe erfolgen. Im Vergleich zu den Brutto-N-Mineralisationsraten ist dieser Parameter deutlich leichter und weniger aufwändig zu erheben.

Weiterhin sollten die Ursachen der Variabilität der NetMin_N eingehend untersucht werden. Die Ergebnisse deuten an, dass mikroklimatische Bedingungen einen Einfluss auf die NetMin_N haben, aber auch Unterschiede in der Zusammensetzung der Mikroorganismenpopulation sowie in der Abbaubarkeit der organischen Substanz könnten die Heterogenität der NetMin_N entscheidend beeinflussen. Räumlich hoch aufgelöste Messungen zum Mikroklima, die Bestimmung der an der N-Mineralisierung beteiligten Organismengruppen sowie die Bestimmung der Abbaubarkeit der organischen Substanz mittels NMR-Spektroskopie könnten weitere bedeutende Informationen in diesem Zusammenhang liefern.

Da die N-Einträge in Deutschland und Mitteleuropa nach wie vor ein hohes Niveau haben, wird der Anteil N-gesättigter Wälder in Zukunft noch steigen. Detaillierte Untersuchungen sind nötig, um dieses Phänomen und die Heterogenität der $\text{Konz}_{\text{NO}_3}$ vollständig und auf allen Skalenebenen zu verstehen. Dies ist erforderlich, damit die langfristigen Folgen des hohen N-Eintrags auf unsere Wälder abgeschätzt, eventuelle Meliorationsmaßnahmen sinnvoll eingesetzt und Maßnahmen hinsichtlich Waldbewirtschaftung, Oberflächen- und Trinkwasserschutz sowie der Luftreinhaltung auf ihre Wirksamkeit gegenüber dem Nitratustrag überprüft werden können.

Langfristig kann das Problem der N-Sättigung und des damit verbundenen Nitratustrags aus Wäldern allerdings nur durch eine starke Reduzierung der Stickstoffemissionen aus Landwirtschaft, Verkehr und Industrie gelöst werden.

7 Literatur

- Aber J, McDowell W, Nadelhoffer K, Magill A, Berntson G, Kamakea M, McNulty S, Currie W, Rustad L, Fernandez I (1998) Nitrogen saturation in temperate forest ecosystems - Hypotheses revisited. *Bioscience* 48 (11):921-934
- Aber JD, Nadelhoffer KJ, Steudler P, Melillo JM (1989) Nitrogen Saturation in Northern Forest Ecosystems. *Bioscience* 39 (6):378-386
- AK-Standortskartierung (2003) Forstliche Standortsaufnahme. 6. Auflage, IHW-Verlag, Eching
- Alberts EE, Burwell RE, Schuman GE (1977) Soil Nitrate-Nitrogen Determined by Coring and Solution Extraction Techniques. *Soil Sci Soc Am J* 41 (1):90-92
- Asano Y, Compton JE, Church MR (2006) Hydrologic flowpaths influence inorganic and organic nutrient leaching in a forest soil. *Biogeochemistry* 81 (2):191-204
- Augustin S, Hildebrand EE (2001) Die Desorption feldfrischer Bodenproben zur Gewinnung der Bodenlösung: Vergleich mit Lysimeterlösungen. *Berichte der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 96 (2):395-396
- Beier C, Hansen K, Gundersen P (1993) Spatial Variability of Throughfall Fluxes in a Spruce Forest. *Environmental Pollution* 81 (3):257-267
- Blattner MS, Augustin S, Schack-Kirchner H, Hildebrand EE (2000) The desorption solution - an alternative approach to measure water soluble ions in soils. *J Plant Nutr Soil Sci-Z Pflanzenernähr Bodenkd* 163 (6):583-587
- Bobbink R, Hicks K, Galloway J, Spranger T, Alkemade R, Ashmore M, Bustamante M, Cinderby S, Davidson E, Dentener F, Emmett B, Erisman JW, Fenn M, Gilliam F, Nordin A, Pardo L, De Vries W (2010) Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis. *Ecological Applications* 20 (1):30-59
- Borken W, Matzner E (2004) Nitrate leaching in forest soils: an analysis of long-term monitoring sites in Germany. *J Plant Nutr Soil Sci-Z Pflanzenernähr Bodenkd* 167 (3):277-283
- Butterbach-Bahl K, Breuer L, Gasche R, Willibald G, Papen H (2002a) Exchange of trace gases between soils and the atmosphere in Scots pine forest ecosystems of the northeastern German lowlands 1. Fluxes of N₂O, NO/NO₂ and CH₄ at forest sites with different N-deposition. *Forest Ecology And Management* 167 (1-3):123-134
- Butterbach-Bahl K, Gasche R, Huber CH, Kreuzer K, Papen H (1998) Impact of N-input by wet deposition on N-trace gas fluxes and CH₄-oxidation in

- spruce forest ecosystems of the temperate zone in Europe. *Atmospheric Environment* 32 (3):559-564
- Butterbach-Bahl K, Gasche R, Willibald G, Papen H (2002b) Exchange of N-gases at the Hoglwald Forest - A summary. *Plant Soil* 240 (1):117-123
- Butterbach-Bahl K, Rothe A, Papen H (2002c) Effect of tree distance on N₂O and CH₄-fluxes from soils in temperate forest ecosystems. *Plant Soil* 240 (1):91-103
- Callesen I, Raulund-Rasmussen K, Gundersen P, Stryhn H (1999) Nitrate concentrations in soil solutions below Danish forests. *Forest Ecology and Management* 114 (1):71-82
- Cummins T, Farrell EP (2003) Biogeochemical impacts of clearfelling and reforestation on blanket-peatland streams - II. major ions and dissolved organic carbon. *Forest Ecology and Management* 180 (1-3):557-570
- Dahlgren RA, Driscoll CT (1994) The Effects of Whole-Tree Clear-Cutting on Soil Processes at the Hubbard-Brook-Experimental-Forest, New-Hampshire, USA. *Plant Soil* 158 (2):239-262
- Dentener F, Drevet J, Lamarque JF, Bey I, Eickhout B, Fiore AM, Hauglustaine D, Horowitz LW, Krol M, Kulshrestha UC, Lawrence M, Galy-Lacaux C, Rast S, Shindell D, Stevenson D, Van Noije T, Atherton C, Bell N, Bergman D, Butler T, Cofala J, Collins B, Doherty R, Ellingsen K, Galloway J, Gauss M, Montanaro V, Muller JF, Pitari G, Rodriguez J, Sanderson M, Solomon F, Strahan S, Schultz M, Sudo K, Szopa S, Wild O (2006) Nitrogen and sulfur deposition on regional and global scales: A multimodel evaluation. *Global Biogeochemical Cycles* 20 (4)
- Derome J, Expert-, Panel-on-Soil (2002) Submanual on soil solution collection and analysis. ICP forest manual part IIIb. International Co-operative Programme (ICP) on Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests,
- Dise NB, Matzner E, Gundersen P (1998) Synthesis of nitrogen pools and fluxes from European forest ecosystems. *Water Air Soil Pollut* 105 (1-2):143-154
- Dise NB, Rothwell JJ, Gauci V, van der Salm C, de Vries W (2009) Predicting dissolved inorganic nitrogen leaching in European forests using two independent databases. *Science Of The Total Environment* 407 (5):1798-1808
- Dise NB, Wright RF (1995) Nitrogen Leaching from European Forests in Relation to Nitrogen Deposition. *Forest Ecology and Management* 71 (1-2):153-161
- Djurhuus J, Jacobsen OH (1995) Comparison of Ceramic Suction Cups and KCl Extraction for the Determination of Nitrate in Soil. *European Journal of Soil Science* 46 (3):387-395

- Efron B (1979) 1977 Rietz Lecture - Bootstrap Methods - Another Look at the Jackknife. *Annals of Statistics* 7 (1):1-26
- Efron B, Tibshirani R (1986) Bootstrap methods for standard errors, confidence intervals, and other measures of statistical accuracy. *Statistical Science* 1 (1):54-77
- Eno CF (1960) Nitrate production in the field by incubating in polyethylene bags. *Soil Sci Soc Am J* 24:2722-2779
- Evers J, König N, Wolff B, Meiwes KJ (2002) Vorbereitung der Zweiten Bodenzustandserhebung im Wald - Untersuchungen zur Laboranalytik, Stickstoffbestimmung und zeitlichen Variabilität bodenchemischer Parameter. Niedersächsische Forstliche Versuchsanstalt i. A. des Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL), Göttingen
- Fowler D, Cape JN, Coyle M, Flechard C, Kuylenstierna J, Hicks K, Derwent D, Johnson C, Stevenson D (1999) The global exposure of forests to air pollutants. *Water Air Soil Pollut* 116 (1-2):5-32
- Gallardo A, Parama R, Covelo F (2006) Differences between soil ammonium and nitrate spatial pattern in six plant communities. Simulated effect on plant populations. *Plant Soil* 279 (1-2):333-346
- Galloway JN, Dentener FJ, Capone DG, Boyer EW, Howarth RW, Seitzinger SP, Asner GP, Cleveland CC, Green PA, Holland EA, Karl DM, Michaels AF, Porter JH, Townsend AR, Vorosmarty CJ (2004) Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* 70 (2):153-226
- Galloway JN, Townsend AR, Erisman JW, Bekunda M, Cai ZC, Freney JR, Martinelli LA, Seitzinger SP, Sutton MA (2008) Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. *Science* 320 (5878):889-892
- Garbin ML, Zandavalli RB, Dillenburg LR (2006) Soil patches of inorganic nitrogen in subtropical Brazilian plant communities with *Araucaria angustifolia*. *Plant Soil* 286 (1-2):323-337
- Gasche R, Butterbach-Bahl K, Papen H (2002) Development and application of a method for determination of net nitrification rates. *Plant Soil* 240 (1):57-65
- Gauger T, H.-D. H, Rösemann C, Nagel H-D, Becker R, Kraft P, Schlutow A, Schütze G, Weigelt-Kirchner R, Anshelm F (2008) Nationale Umsetzung UNECE-Luftreinhaltekonvention (Wirkungen) Teil 2: Wirkungen und Risikoabschätzungen Critical Loads, Biodiversität, Dynamische Modellierung, Critical Levels Überschreitungen, Materialkorrosion. Im Auftrag des Umweltbundesamtes, Dessau-Rosslau
- Gensior A, Kölling C, Mellert KH (2003) Die Nitratinventur in Bayern - Methodik und Ergebnisse. *Freiburger Forstliche Forschung* 49:101-103

- Gessler A, Rienks M, Rennenberg H (2000) NH₃ and NO₂ fluxes between beech trees and the atmosphere - correlation with climatic and physiological parameters. *New Phytologist* 147 (3):539-560
- Gessler A, Rienks M, Rennenberg H (2002) Stomatal uptake and cuticular adsorption contribute to dry deposition of NH₃ and NO₂ to needles of adult spruce (*Picea abies*) trees. *New Phytologist* 156 (2):179-194
- Gessler A, Schneider S, Von Sengbusch D, Weber P, Hanemann U, Huber C, Rothe A, Kreutzer K, Rennenberg H (1998) Field and laboratory experiments on net uptake of nitrate and ammonium by the roots of spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) trees. *New Phytologist* 138 (2):275-285
- Göttlein A, Kreutzer K (1991) Der Standort Höglwald im Vergleich zu anderen ökologischen Fallstudien. In: Kreutzer K, Göttlein A (eds) *Ökosystemforschung Höglwald: Beiträge zur Auswirkung von saurer Beregnung und Kalkung in einem Fichtenaltbestand*. Forstwissenschaftliche Forschungen, 39 edn. Paul Parey, Hamburg und Bremen, pp 22-29
- Göttlein A, Stanjek H (1996) Micro-scale variation of solid-phase properties and soil solution chemistry in a forest podzol and its relation to soil horizons. *European Journal of Soil Science* 47 (4):627-636
- Graedel TE, Crutzen PJ (1994) *Chemie der Atmosphäre*. Spektrum Akademischer Verlag,
- Gundersen P, Boxman AW, Lamersdorf N, Moldan F, Andersen BR (1998a) Experimental manipulation of forest ecosystems: lessons from large roof experiments. *Forest Ecology and Management* 101 (1-3):339-352
- Gundersen P, Callesen I, de Vries W (1998b) Nitrate leaching in forest ecosystems is related to forest floor C/N ratios. *Environmental Pollution* 102:403-407
- Gundersen P, Schmidt IK, Raulund-Rasmussen K (2006) Leaching of nitrate from temperate forests - effects of air pollution and forest management. *Environmental Reviews* 14 (1):1-57
- Guo DL, Mou P, Jones RH, Mitchell RJ (2004) Spatio-temporal patterns of soil available nutrients following experimental disturbance in a pine forest. *Oecologia* 138 (4):613-621
- Hedin LO, Armesto JJ, Johnson AH (1995) Patterns Of Nutrient Loss From Unpolluted, Old-Growth Temperate Forests - Evaluation Of Biogeochemical Theory. *Ecology* 76 (2):493-509
- Huber C (2005) Long lasting nitrate leaching after bark beetle attack in the highlands of the Bavarian Forest National Park. *J Environ Qual* 34 (5):1772-1779

- Huber C, Aherne J, Weis W, Farrell EP, Göttlein A, Cummins T (2010) Ion concentrations and fluxes of seepage water before and after clear cutting of Norway spruce stands at Ballyhooly, Ireland, and Höglwald, Germany. *Biogeochemistry* DOI: 10.1007/s10533-010-9459-9
- Huber C, Baumgarten M, Goettlein A, Rotter V (2004a) Nitrogen Turnover and Nitrate Leaching after Bark Beetle Attack in Mountainous Spruce Stands of the Bavarian Forest National Park. *Water Air and Soil Pollution: Focus* 4 (2-3):391-414
- Huber C, Kreutzer K (2002) Three years of continuous measurements of atmospheric ammonia concentrations over a forest stand at the Högwald site in southern Bavaria. *Plant Soil* 240 (1):13-22
- Huber C, Oberhauser A, Kreutzer K (2002) Deposition of ammonia to the forest floor under spruce and beech at the Högwald site. *Plant Soil* 240 (1):3-11
- Huber C, Weis W, Baumgarten M, Gottlein A (2004b) Spatial and temporal variation of seepage water chemistry after felled and small scale clear-cutting in a N-saturated Norway spruce stand. *Plant Soil* 267 (1-2):23-40
- Ingwersen J, Butterbach-Bahl K, Gasche R, Richter O, Papen H (1999) Barometric process separation: New method for quantifying nitrification, denitrification, and nitrous oxide sources in soils. *Soil Sci Soc Am J* 63 (1):117-128
- Kaye JP, Hart SC (1997) Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends In Ecology & Evolution* 12 (4):139-143
- Koch AS, Matzner E (1993) Heterogeneity of Soil and Soil Solution Chemistry under Norway Spruce (*Picea-Abies* Karst) and European Beech (*Fagus-Silvatica* L) as Influenced by Distance from the Stem Basis. *Plant Soil* 151 (2):227-237
- Kölling C (1999) Ordination of forest ecosystems using element concentrations of the solution phase and soil chemical depth gradients. *J Plant Nutr Soil Sci-Z Pflanzenernähr Bodenkd* 162 (1):89-95
- Kölling C, Hoffmann M, Gulder HJ (1996) Soil chemistry depth gradients as characteristic state variables of forest ecosystems. *Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 159 (1):69-77
- Kreutzer K (1986) Synoptical Discussion Of Results Of Field Experiments On The Influence Of Acid Deposition And Liming In Stands Of Norway Spruce (*Picea-Abies* [L] Karst). *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 105 (4):371-379
- Kreutzer K (1995) Effects of Forest Liming on Soil Processes. *Plant Soil* 169:447-470
- Kreutzer K, Beier C, Bredemeier M, Blanck K, Cummins T, Farrell EP, Lammersdorf N, Rasmussen L, Rothe A, de Visser PHB, Weis W, Weiss

- T, Xu YJ (1998) Atmospheric deposition and soil acidification in five coniferous forest ecosystems: a comparison of the control plots of the EXMAN sites. *Forest Ecology and Management* 101 (1-3):125-142
- Kreutzer K, Butterbach-Bahl K, Rennenberg H, Papen H (2009) The complete nitrogen cycle of an N-saturated spruce forest ecosystem. *Plant Biology* 11 (5):643-649
- Kreutzer K, Göttlein A, Pröbstle P (1991a) Auswirkungen von saurer Beregnung auf den Bodenchemismus in einem Fichtenaltbestand (*Picea abies* (L.) Karst). In: Kreutzer K, Göttlein A (eds) *Ökosystemforschung Höglwald: Beiträge zur Auswirkung von saurer Beregnung und Kalkung in einem Fichtenaltbestand*. Forstwissenschaftliche Forschungen, 39 edn. Paul Parey, Hamburg und Bremen, pp 174-186
- Kreutzer K, Göttlein A, Pröbstle P, Zuleger M (1991b) Höglwaldforschung 1982-1989 - Zielsetzung, Versuchskonzept, Basisdaten. In: Kreutzer K, Göttlein A (eds) *Ökosystemforschung Höglwald: Beiträge zur Auswirkung von saurer Beregnung und Kalkung in einem Fichtenaltbestand*. Forstwissenschaftliche Forschungen, 39 edn. Paul Parey, Hamburg und Bremen, pp 11-21
- Kreutzer K, Weiss T (1998) The Höglwald field experiments - aims, concept and basic data. *Plant Soil* 199 (1):1-10
- Kristensen HL, Gundersen P, Callesen I, Reinds GJ (2004) Throughfall nitrogen deposition has different impacts on soil solution nitrate concentration in European coniferous and deciduous forests. *Ecosystems* 7 (2):180-192
- Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass ADM (1996) Kinetics of NH_4^+ influx in spruce. *Plant Physiology* 110 (3):773-779
- Laverman AM, Borgers R, Verhoef HA (2002) Spatial variation in net nitrate production in a N-saturated coniferous forest soil. *Forest Ecology And Management* 161 (1-3):123-132
- Laverman AM, Zoomer HR, van Verseveld HW, Verhoef HA (2000) Temporal and spatial variation of nitrogen transformations in a coniferous forest soil. *Soil Biol Biochem* 32 (11-12):1661-1670
- Magill AH, Aber JD, Currie WS, Nadelhoffer KJ, Martin ME, McDowell WH, Melillo JM, Steudler P (2004) Ecosystem response to 15 years of chronic nitrogen additions at the Harvard Forest LTER, Massachusetts, USA. *Forest Ecology And Management* 196 (1):7-28
- Manderscheid B, Matzner E (1995a) Spatial and Temporal Variation of Soil Solution Chemistry and Ion Fluxes through the Soil in a Mature Norway-Spruce (*Picea-Abies* (L.) Karst) Stand. *Biogeochemistry* 30 (2):99-114
- Manderscheid B, Matzner E (1995b) Spatial heterogeneity of soil solution chemistry in a mature Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) stand. *Water Air Soil Pollut* 85 (3):1185-1190

- Marschner H, Haussling M, George E (1991) Ammonium And Nitrate Uptake Rates And Rhizosphere Ph In Nonmycorrhizal Roots Of Norway Spruce [Picea-Abies (L) Karst]. *Trees-Structure And Function* 5 (1):14-21
- Matejek B, Huber C, Dannenmann M, Kohlpaintner M, Gasche R, Gottlein A, Papen H (2010) Microbial nitrogen-turnover processes within the soil profile of a nitrogen-saturated spruce forest and their relation to the small-scale pattern of seepage-water nitrate. *Journal Of Plant Nutrition And Soil Science* 173 (2):224-236
- McNulty SG, Boggs J, Aber JD, Rustad L, Magill A (2005) Red spruce ecosystem level changes following 14 years of chronic N fertilization. *Forest Ecology And Management* 219 (2-3):279-291
- Mellert KH, Gensior A, Göttelein A, Kölling C (2005a) Risiko erhöhter Nitratkonzentrationen unter Wald in Bayern - Regionalisierung von Inventurergebnissen aus dem Raster des Level I. *Waldökologie - Online* 2 (4-24)
- Mellert KH, Gensior A, Gottlein A, Kölling C, Rucker G (2008) Variation in soil nitrate concentrations in two n-saturated norway spruce forests (Picea abies (L.) karst.) in southern Bavaria. *Water Air Soil Pollut* 187 (1-4):203-217
- Mellert KH, Gensior A, Kölling C (2005b) Stickstoffsättigung in den Wäldern Bayerns - Ergebnisse der Nitratinventur. *Forstarchiv* 76:35-43
- Mellert KH, Kölling C, Rehfuss KE (1996) Stoffaustrag aus Fichtenwaldökosystemen Bayerns nach Sturmwurf. *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 115:363-377
- Müller C, Abbasi MK, Kammann C, Clough TJ, Sherlock RR, Stevens RJ, Jäger HJ (2004) Soil respiratory quotient determined via barometric process separation combined with nitrogen-15 labeling. *Soil Sci Soc Am J* 68 (5):1610-1615
- Nihlgård B (1985) The Ammonium Hypothesis - An Additional Explanation To The Forest Dieback In Europe. *Ambio* 14 (1):2-8
- Nissinen A, Kareinen T, Tanskanen N, Ilvesniemi H (2000) Apparent cation - Exchange equilibria and aluminium solubility in solutions obtained from two acidic forest soils by centrifuge drainage method and suction lysimeters. *Water Air Soil Pollut* 119 (1-4):23-43
- Papen H, Butterbach-Bahl K (1999) A 3-year continuous record of nitrogen trace gas fluxes from untreated and limed soil of a N-saturated spruce and beech forest ecosystem in Germany - 1. N₂O emissions. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 104 (D15):18487-18503
- Papen H, Butterbach-Bahl K, Gasche R, Zumbusch E, Willibald G, Berger U, Nübling J (2001) Abschlussbericht zum Forschungsprojekt BMBF 0339728. Auswirkungen der Mischwaldbegründung in einem

- stickstoffgesättigten Fichtenökosystem (Höglwald) auf Bodenfruchtbarkeit, Sickerwasserqualität, Atmosphäre und Biodiversität. Teilprojekt B: Auswirkungen auf mikrobielle N- und C-Umsetzung, Gasaustausch zwischen Boden und Atmosphäre sowie mikrobielle Biodiversität.
- Papen H, von Berg R (1998) A Most Probable Number method (MPN) for the estimation of cell numbers of heterotrophic nitrifying bacteria in soil. *Plant Soil* 199 (1):123-130
- Paul EA, Clark FE (1996) *Soil Microbiology and Biochemistry*. 2 edn. Academic Press, San Diego
- Pebesma EJ (2004) Multivariable geostatistics in S: The gstat package. *Computers & Geosciences* 30 (7):683-691
- Persson T, Rudebeck A, Jussy JH, Colin-Bertrand M, Prieme A, Dambrine E, Karlsson P, Sjöberg M (2000) Soil nitrogen turnover - mineralisation, nitrification and denitrification in European forest soils. In: Schulze E-D (ed) *Carbon and Nitrogen Cycling in European Forest Ecosystems*, vol 142. *Ecological Studies*. Springer Verlag, Heidelberg, p 500
- Piirainen S, Finer L, Mannerkoski H, Starr M (2002) Effects of forest clear-cutting on the carbon and nitrogen fluxes through podzolic soil horizons. *Plant Soil* 239 (2):301-311
- R-Development-Core-Team (2007) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. 2.5.0 edn. R Foundation for Statistical Computing, Vienna
- Rodenkirchen H (1991) Entwicklung der Waldvegetation auf den Versuchsflächen des Höglwald-Experiments im Beobachtungszeitraum 1983 bis 1989. In: Kreuzer K, Göttlein A (eds) *Ökosystemforschung Höglwald: Beiträge zur Auswirkung von saurer Beregnung und Kalkung in einem Fichtenaltbestand*. *Forstwissenschaftliche Forschungen*, 39 edn. Paul Parey, Hamburg und Bremen, pp 22-29
- Rodenkirchen H (1995) Nutrient Pools and Fluxes of the Ground Vegetation in Coniferous Forests Due to Fertilizing, Liming and Amelioration. *Plant Soil* 169:383-390
- Rodenkirchen H (1998a) Evidence for a nutritional disorder of *Oxalis acetosella* L. on acid forest soils - I. Control situation and effects of dolomitic liming and acid irrigation. *Plant Soil* 199 (1):141-152
- Rodenkirchen H (1998b) Evidence for a nutritional disorder of *Oxalis acetosella* L. on acid forest soils - II. Diagnostic field experiments and nutrient solution studies. *Plant Soil* 199 (1):153-166
- Rosenkranz P, Dannenmann M, Brueggemann N, Papen H, Berger U, Zumbusch E, Butterbach-Bahl K (2010) Gross rates of ammonification and nitrification at a nitrogen-saturated spruce (*Picea abies* (L.) Karst.)

- stand in southern Germany. *European Journal Of Soil Science* 61 (5):745-758
- Rothe A (1997) Einfluß des Baumartenanteils auf Durchwurzelung, Wasserhaushalt, Stoffhaushalt und Zuwachsleistung eines Fichten-Buchen-Mischbestandes am Standort Höglwald. Forstliche Forschungsberichte München, Ludwig-Maximilians-Universität München und LWF, München
- Rothe A (2005) Tree Species Management and Nitrate Contamination of Groundwater: A Central European Perspective. In: Menyailo DBaO (ed) *Tree Species Effects on Soils: Implications for Global Change*. Springer Netherlands,
- Rothe A, Huber C, Kreuzer K, Weis W (2002) Deposition and soil leaching in stands of Norway spruce and European Beech: Results from the Högwald research in comparison with other European case studies. *Plant Soil* 240 (1):33-45
- Rothe A, Mellert KH (2004) Effects of forest management on nitrate concentrations in seepage water of forests in southern Bavaria, Germany. *Water Air Soil Pollut* 156 (1-4):337-355
- Runge M (1970) Untersuchungen zur Bestimmung der Mineralstickstoffnachlieferung am Standort. *Flora* 15:355-385
- Schack-Kirchner H, Wöhrle N, Hildebrand EE Die Desorptionslösung zur Bestimmung der Sickerwasserzusammensetzung in heterogenen Waldgebieten. In: Baden-Württemberg FFdUFaFV-uF (ed), *Wasservorsorge in bewaldeten Einzugsgebieten*, 2005.
- Schimel JP, Bennett J (2004) Nitrogen mineralization: Challenges of a changing paradigm. *Ecology* 85 (3):591-602
- Smil V (2002) Nitrogen and food production: Proteins for human diets. *Ambio* 31 (2):126-131
- Stoddard JL (1994) Long-Term Changes In Watershed Retention Of Nitrogen - Its Causes And Aquatic Consequences. In: *Environmental Chemistry Of Lakes And Reservoirs*, vol 237. *Advances In Chemistry Series*. pp 223-284
- Strong DT, Sale PWG, Helyar KR (1997) Use of natural heterogeneity in a small field site to explore the influence of the soil matrix on nitrogen mineralisation and nitrification. *Australian Journal Of Soil Research* 35 (3):579-590
- Strong DT, Sale PWG, Helyar KR (1998a) The influence of the soil matrix on nitrogen mineralisation and nitrification. I. Spatial variation and a hierarchy of soil properties. *Australian Journal Of Soil Research* 36 (3):429-447

- Strong DT, Sale PWG, Helyar KR (1998b) The influence of the soil matrix on nitrogen mineralisation and nitrification. II. The pore system as a framework for mapping the organisation of the soil matrix. *Australian Journal Of Soil Research* 36 (5):855-872
- Strong DT, Sale PWG, Helyar KR (1999) The influence of the soil matrix on nitrogen mineralisation and nitrification - III. Predictive utility of traditional variables and process location within the pore system. *Australian Journal Of Soil Research* 37 (1):137-149
- Umweltbundesamt (2009) Integrierte Strategie zur Minderung von Stickstoffemissionen. Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau
- van der Salm C, de Vries W, Reinds GJ, Dise NB (2007) N leaching across European forests: Derivation and validation of empirical relationships using data from intensive monitoring plots. *Forest Ecology And Management* 238 (1-3):81-91
- Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, Likens GE, Matson PA, Schindler DW, Schlesinger WH, Tilman GD (1997) Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7 (3):737-750
- Webster R, Oliver MA (2001) *Geostatistics for Environmental Scientists*. Wiley, Chichester
- Weis W, Huber C, Göttlein A (2001) Regeneration of Mature Norway Spruce Stands: Early Effects of Selective Cutting and Clear Cutting on Seepage Water Quality and Soil Fertility. *TheScientificWorldJOURNAL* 1 (Supplement no.: 2):493-499
- Weis W, Rotter V, Göttlein A (2006) Water and element fluxes during the regeneration of Norway spruce with European beech: Effects of shelterwood-cut and clear-cut. *Forest Ecology and Management* 224 (3):304-317
- Wolfe AH, Patz JA (2002) Reactive nitrogen and human health: Acute and long-term implications. *Ambio* 31 (2):120-125
- WRB-IUSS-Working-Group (2007) *World Reference Base for Soil Resources 2006. 1st update 2007*, FAO, World Soil Resources Reports 103, Rome
- Xu YJ, Blanck K, Bredemeier M, Lamersdorf NP (1998) Hydrochemical input-output budgets for a clean rain and drought experiment at Solling. *Forest Ecology and Management* 101 (1-3):295-306

8 Publikationen I bis IV

Publikation [I]

Kohlpaintner M., Huber C., Weis W. & Göttlein A.
(2009)

Spatial and temporal variability of nitrate concentration in seepage water under a mature Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst] stand before and after clear cut

Plant and Soil 314 (1-2):285-301
DOI 10.1007/s11104-008-9729-7

Publikation [II]

Kohlpaintner M., Huber C. & Göttlein A.
(2011)

Improving the precision of estimating nitrate (NO_3^-) concentration in seepage water of forests by prestratification with soil samples

European Journal of Forest Research

Eingereicht am 11.02.2011 in der in diesem Dokument abgedruckten Version
Die Publikation befindet sich noch im Begutachtungsverfahren

Publikation [III]

Matejek B., Kohlpaintner M., Gasche R., Huber C., Dannenmann M. & Papen H.
(2008)

The small-scale pattern of seepage water nitrate concentration in an N saturated spruce forest is regulated by net N mineralization in the organic layer

Plant and Soil 310 (1-2):167-179
DOI 10.1007/s11104-008-9643-z

Publikation [IV]

Kohlpaintner M., Huber C., Matejek B., Papen H. & Göttlein A.
(2011)

Explanation of the small scale variability of nitrate concentration in seepage water of an N saturated mature spruce forest

Annals of Forest Science

Eingereicht am 09.06.2011 in der in diesem Dokument abgedruckten Version

Publikation [I]

Kohlpaintner M., Huber C., Weis W. & Göttlein A.
(2009)

**Spatial and temporal variability of nitrate
concentration in seepage water under a mature
Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst] stand
before and after clear cut**

Plant and Soil 314 (1-2):285-301

DOI 10.1007/s11104-008-9729-7

Regular Article

Spatial and temporal variability of nitrate concentration in seepage water under a mature Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst] stand before and after clear cut

Michael Kohlpaintner¹, Christian Huber¹, Wendelin Weis¹ and Axel Göttlein¹

(1) Fachgebiet für Waldernährung und Wasserhaushalt, Department für Ökologie, Wissenschaftszentrum Weißenstephan, TU-München, Am Hochanger 13, 85354 Freising, Germany

Michael Kohlpaintner

Email: kohlpaintner@forst.tu-muenchen.de

Received: 14 February 2008 **Accepted:** 10 July 2008 **Published online:** 10 September 2008

Responsible Editor: Bernard Nicolardot.

Abstract The spatial and temporal variability of the nitrate (NO_3^-) concentration in seepage water below the main rooting zone of a mature spruce forest was investigated using 121 suction cups which were implemented in a 2×2 m grid at 40 cm depth in the mineral soil. Seepage was collected at least monthly during the vegetation period in 2005. In January 2006 a clear cut was performed on the plot and monthly seepage water was collected with 118 suction cups. Conventional and geostatistical methods were used to investigate the spatial and temporal variability in NO_3^- . We tried to explain the observed variability with multiple classification analysis (MCA) and multiple linear regression models (MLR) based on vegetation, stand and soil parameters, which could be measured without disturbance of the ecosystem. The NO_3^- concentration in the mature stand reached mean values up to 35.2 mg l^{-1} per sampling date and the distributions were positively skewed. The temporal variability was much lower than the spatial variability. NO_3^- in seepage water showed clear structural patterns over the whole vegetation period. Spatial autocorrelation ranged between 16 and 19 m and structural variance was between 65% and 80% of the whole model semivariance. However, for practical purposes it should be sufficient to consider an autocorrelation range of about 12 m as the last 5–6.5 m only explained 5% of the total structural variance of NO_3^- in seepage water. Vegetation and stand parameters such as distance and size of the trees surrounding the measuring points explained about 40% of total variability in the MCA and MLR models. After clear cut, concentration means per sampling date were below 10 mg l^{-1} in spring but increased to more than 150 mg l^{-1} until December 2006. The distribution was nearly normal. The patterns of spatial and temporal variability were reversed compared to the mature stand. Structuring was less pronounced with autocorrelation ranges decreasing from 10 m in April 2006 to values below 3 m during the following vegetation period. The structuring variance was below 30% at most sampling dates. Thickness of the humus layer and amount of water in the sampling bottles, which were not considered in the mature stand, contributed significantly to the explanation of variability after the clear cut. Together with vegetation coverage and stand parameters 30% of the total NO_3^- variability could be explained in the MCA and MLR models. The consequences for future seepage water investigations are discussed.

Keywords Nitrate leaching - Spatial and temporal variability - Norway spruce - Clear cut - Geostatistics - N saturation

Introduction

High nitrogen (N) deposition in large areas of central Europe has led to N saturation of many forested ecosystems (Dise and Wright 1995; Göttlein and Kreutzer 1991; Gundersen et al. 1998b). Coniferous forests are especially subject to high N inputs due to their high leaf area index and their evergreen status (Borken and Matzner 2004; Rothe et al. 2002). In these forests N is no longer a limiting nutrient. The surplus of N may result in nitrate (NO_3^-) leaching, soil acidification and the loss of nutrient cations (Aber et al. 1989; Huber et al. 2004a; Kreutzer 1995; Kreutzer and Weiss 1998). Furthermore, these processes may lead to soil deterioration and ground water contamination.

Nitrate leaching has been investigated in many studies due to its importance for forests and adjacent ecosystems (Gundersen et al. 2006). NO_3^- has been found to have a high spatial variability (Huber 2005; Weis et al. 2001, 2006). The cause of the observed variability remains unclear, even following detailed investigations on the macro and micro scale (Göttlein 1995; Grossmann and Kloss 1994; Manderscheid and Matzner 1995a,b). In general, the heterogeneity of NO_3^- on the stand level could not be fully described due to the lack of a sufficient number of replications.

After clear cutting of N saturated forests the NO_3^- concentrations in seepage water generally increase (Gundersen et al. 2006; Huber et al. 2004b). However, the high spatial and temporal variability makes it difficult to calculate accurate fluxes of NO_3^- and nutrient export in seepage water.

The aim of this study was to investigate the spatial and temporal variability of the NO_3^- concentration in the soil solution below the main rooting zone of a N saturated mature spruce stand and to observe the changes which occur after its clear cut. Therefore an exceptional high number of replications was used (121 and 118 suction cups, respectively) in the year before (2005) and the year after (2006) clear cutting. The observed data were analysed with descriptive statistics and geostatistical methods. In an attempt to explain the NO_3^- variability with easy to measure parameters concerning stand, vegetation, and soil properties we used parameters which could be estimated non destructively and at an appropriate resolution in relation to the high number of suction cups.

Material and methods

Site description

The “Höglwald” long-term ecological monitoring and experimentation site is located about 50 km west of Munich (48°17'N; 11°04'E) at an elevation of 540 m asl. The mean annual bulk precipitation between 1984 and 2004 was 940 mm and the mean annual temperature was 7.9°C, with 1,050 mm/8.0°C in 2005 and 735 mm/8.7°C in 2006. The region around the Höglwald is characterised by a mix of relatively small coniferous forests and intensive agriculture. The “Höglwald” is considered N saturated according to Gundersen et al. (2006) and Aber et al. (1989). The annual N input into the ecosystem by throughfall is about 30 kg ha⁻¹ year⁻¹, while output with seepage water is about the same amount (Rothe et al. 2002; Weis et al. 2007). Gaseous N input by absorption of ammonia in the forest floor (Huber et al. 2002) as well as relatively high gaseous emissions of N (Butterbach-Bahl et al. 1998) have been reported for this site. The soil is a Parabraunerde (KA 5) derived from Pleistocene Loess over Tertiary silty sand. The topsoil is strongly acidified with a base saturation of less than 10% in 40 cm depth and a pH of 3.7 (KCl). The mineral soil is covered by a 6–8 cm thick typical moder with a base saturation of 40–80% and extremely low pH values with a minimum of 2.75 (KCl) in the O_h horizon. The N content in the organic layer is about 1.7 % and the C/N ratio of 23–27 indicates good conditions for nutrient turnover. Soil texture ranges from loamy sand to sandy loam. No coarse material (>2 mm) is present in the mineral soil. A detailed description of the Höglwald experimental site is given in Kreutzer and Weiss (1998).

Research plot and experimental set-up

The newly installed study plot was located about 800 m to the south east of the “control plot” A1 of the “Höglwald” long-term ecological monitoring and experimentation site and in close vicinity to a similar stand, which was clear cut in February 2000 (Huber et al. 2004b). The plot was stocked with 100 year old spruce trees (640 stems per ha) and comprised an area of about 20×30 m. Ground vegetation was typical for spruce stands at the Höglwald. Most of the ground was covered by mosses (mainly *Thuidium tamariscinum*). The poorly developed herbaceous layer consisted mainly of *Oxalis acetosella*. *Carex brizoides* and *Deschampsia flexuosa* were also present in few places. In addition we found ferns (mainly *Dryopteris dilatata*), *Rubus fructinosa* agg., *Sorbus aucuparia* and seedlings of *Picea abies*, *Fagus sylvatica*, *Acer pseudoplatanus* and *Quercus robur*.

Suction cups were placed at least 1 m away from the next tree (distance measured at 1.3 m stem height) in a 2×2 m grid, i.e., the investigation was restricted to the interstem area. Previous surveys at the Höglwald revealed that the NO_3^- concentration near the stem (distance <1 m from the next tree) was significantly higher than in the interstem area (data unpublished). This effect could be clearly attributed to a concentration effect caused by increased water uptake near the stem. To exclude this factor we focused our study on the interstem area which represents approximately 70% of the forest floor. After installation, the sampling area was fenced and access to the suction cups was restricted. Seepage water was sampled with 121 suction cups (tension ceramic lysimeters, SKL 100, UMS GmbH München) below the main rooting zone at 40 cm from the top of the mineral soil. Installation was done vertically in hand-augered holes. A silicon collar with a diameter of 7.5 cm was placed around the shaft of the suction cup between the organic and mineral soil horizon to prevent water percolation along the tubing. After discarding the first sample, soil solution was collected at least monthly between May and October 2005. A vacuum suction of 60 kPa was applied one week before sampling and soil water was collected in glass bottles covered by plastic buckets to reduce light and temperature induced element turnover. During installation the thickness of the organic layer was measured at each suction cup. In January 2006, all trees on the study plot were felled. To avoid damages to the suction cups and to preserve the sampling places, cups were removed and cautiously replaced by wooden sticks of the same diameter. To keep the disturbance of the top-soil to a minimum the felling was carried out motor manually and the trees were removed with a harvester from outside the experimental plot. At the beginning of April 2006, 101 lysimeters were installed again exactly at the same places (at 20 points destructive sampling was performed, data not presented). Additionally, 17 new suction cups were implemented so that a total of 118 samplers were installed after the clear cut. As a result, the sampling plot was expanded for 6 m into the east direction. Again, the first samples were discarded and sampling was done monthly from April to December 2006.

In July 2005 and 2006 the ground vegetation coverage of every species in a circle of 30 cm around each suction cup was recorded. The exact co-ordinates of the suction cups and the trees were determined with an electronic theodolite and the distances between them were calculated. Breast height circumference of each tree in the plot was measured as well.

In the laboratory all seepage water samples were filtered using membrane filters with a pore size of 0.45 μm (Schleicher and Schuell NC 45) and stored at 4°C until they were analysed within a week after collection. NO_3^- concentration was determined by ion chromatography (Dionex DX-120).

Statistics

A geostatistical approach was used for the analysis of spatial structure of NO_3^- concentrations in seepage water. The calculation of empirical semivariograms and the modelling to detect the extent and strength of spatial autocorrelation was carried out using g-stat package (Pebesma 2004) which runs on the R 2.5.0 statistical platform (RDevelopmentCoreTeam 2007). Most models start with a semivariance value above zero at the y-intercept called the nugget (C_0) which is the unexplained variance. This can be attributed to variability at a smaller scale than the sampling resolution or to measurement errors. If there is spatial autocorrelation in the data the semivariance in the defined

distance intervals increases from the y-intercept with distance until it reaches its maximum called the sill ($C+C_0$). The variance between the nugget and the sill is called the partial sill (C) and is the part of the variance which is explained by the spatial structure of the data. The ratio of the partial sill and the total sill [$C/(C+C_0)$] determines the strength of the spatial autocorrelation. High values indicate a spatial pattern in the data. The distance where the model reaches the sill is called the range (a) which indicates the extent of the spatial dependence. If the model shows only nugget there is no spatial structure in the data. More information on geostatistical analysis concerning soil science can be found in Webster and Oliver (2001). A crucial assumption for performing geostatistical analysis is the near normal distribution of the data set. Therefore, all data for the mature stand were transformed using the Box-Cox transformation (Box and Cox 1964) while the data after clear cut showed normal distribution. For the calculation of the empirical semivariograms a lag interval of 2 m, corresponding to the spacing of our sample grid, was used. The maximum lag distance calculated was 20 m which is slightly more than half of the maximum sampling distance. All sample dates were investigated for anisotropy by using directional variograms before calculating the omnidirectional variograms. For interpretation of spatial dependencies the models with the least sum of squared errors were selected after an additional visual control. The number of samples per sampling date varied between 121 and 94 which is sufficient to calculate empirical semivariograms. The number of pairs behind the average semivariance values in the empirical semivariograms varied between 67 and 825 and were mostly above 200. No major anisotropy was detected by visual control of the directional semivariograms. Therefore we used omnidirectional variograms to analyse the spatial structure. Sample variograms were fitted to pentaspherical models for samples in the mature spruce stand and to linear models for samples after clear cut. We decided to use only one model for each year for better comparability. The sill of the fitted model should be roughly equal to the total sample variance ($(C+C_0)/s^2 \sim 1$) which is proof of model quality (Gross et al. 1995). This assumption was accomplished for our models (Table 2).

Two different approaches were used to test the influence of the measured vegetation, stand and soil parameters on the NO_3^- concentration: The multiple classification analysis (MCA) which uses the method of analysis of variances and the multiple linear regression (MLR) model. The advantage of the MCA is the detection of linear and nonlinear relationships in one model. Basic requirements for the MCA are the normal distribution of the sample, the homogeneity of the variances between the different classes and the independence of the explanatory variables. The first two were achieved by using the Box-Cox transformed NO_3^- concentrations of the mature spruce stand (for both the MCA and the MLR). These requirements were already met by the clear cut data set. The data for the MCA were divided into four classes, which were equidistant in the middle, open to higher/lower values at the edges and contained comparable numbers of replications (Table 1). In the models, we considered only variables which contributed to explanation at a significance level higher than $p = 0.05$. The ground vegetation parameters tested were the coverage in percent by mosses, oxalis acetosella, herbaceous plants including grasses and ferns (without oxalis), and the coverage by saplings in a circle of 30 cm around the suction cup. In addition we combined the two last variables. The stand parameters tested were the measured distances to and circumferences of the two nearest trees (ranking by distance) to the suction cup. Furthermore we tested the number of all trees in a circle of 4 m and in a circle of 2.2 m around the suction cup. Alternatively we calculated the basal stem area for all trees within a distance smaller than 2.2 m and for the trees with a circumference larger than 100 cm within a distance between 2.2 and 4 m. Smaller trees were assumed to have no or very little influence on the NO_3^- concentration at these distances. The soil parameters comprised the thickness of the humus layer and the average seepage water collected at each sampling place. For all vegetation parameters and the average amount of seepage water we defined distinct classes for the mature stand and the clear cut respectively (Table 1). Eight NO_3^- concentrations events per suction cup were measured for the mature stand. Because of the relatively low temporal variability at the single suction cup we decided to work with the arithmetic mean of these eight values for the MCA and the MLR. For the clear cut situation we used the concentrations of the sampling in October 2006 as afterwards 23 suction cups were removed for soil analysis (data not shown). Multiple classification analysis (MCA), multiple linear regression model (MLR) as well as all other statistical work were performed with the software package from SPSS 14.0. Plot visualisation in Fig. 4 was done with ARC-GIS 9.0.

Table 1 Variables tested in the multiple linear regression model (MLR) and in the multiple classification analysis (MCA) with the built classes (for the MCA) and the number of replicates (*N*) within each class

		mature stand		clear cut		
		classes	N	classes	N	
vegetation parameters	coverage moss in %	< 70	24	< 75	22	
		70 - 80	19	75-85	18	
		80- 90	24	85-95	47	
		> 90	54	> 95	31	
	coverage oxalis in %	< 5	25			
		5 - 15	35	—		
		15 - 25	22			
		> 25	39			
	coverage herbaceous plants, grass and ferns (without oxalis) in %	0	76	0	88	
		>0 - 10	18	0 - 10	16	
		10 - 30	12	10 - 30	9	
		> 30	15	> 30	5	
	coverage saplings in %	0	60	0	67	
		>0 - 5	33	> 0 - 10	15	
		5 - 10	10	10 - 30	14	
	> 10	18	> 30	22		
coverage of all vascular plants in %	0	35	0	50		
	>0 - 10	41	> 0 - 30	36		
	10 - 20	16	30 - 60	15		
	> 20	29	> 60	17		
stand parameters	distance to 1. tree in cm	< 150	29	< 150	28	
		150 - 200	35	150 - 200	33	
		200 - 250	32	200 - 250	33	
		> 250	25	> 250	24	
	(after the clear cut the stand parameters refer to the stumps of the respective trees)	circumference 1. tree in cm	< 100	29	< 100	26
		100 - 130	30	100 - 130	33	
		130 - 160	37	130 - 160	36	
		> 160	25	> 160	23	
	distance to 2. tree in cm	< 250	39	< 250	34	
		250 - 300	21	250 - 300	21	
		300 - 350	34	300 - 350	36	
		> 350	27	> 350	27	
	circumference 2. tree in cm	< 100	32	< 100	34	
		100 - 130	27	100 - 130	30	
		130 - 160	40	130 - 160	35	
	> 160	22	> 160	19		
basal are in the circumference of 2,2 m in cm ²	0	46	0	45		
	> 0 - 1100	20	> 0 - 1100	17		
	1100 - 2200	34	1100 - 2200	35		
	> 2200	21	> 2200	21		
basal are in the circumference of 2,2 - 4 m in cm ²	0	16	0	16		
	> 0 - 1500	22	> 0 - 1500	17		
	1500 - 3000	36	1500 - 3000	37		
	> 3000	47	> 3000	48		
numbers of trees in the circumference of 2,2 m	0	46	0	45		
	1	52	1	51		
	2	23	2	22		
numbers of trees in the circumference of 4 m	1	13	1	14		
	2	40	2	34		
	3	44	3	38		
	4	15	4	20		
	5	9	5	12		
soil parameters	thickness of the organic layer in cm	< 60	26	< 50	12	
		60 - 75	33	50 - 70	40	
		75 - 90	35	70-90	43	
		> 90	27	> 90	23	
	amount of water in sampling bottles in ml	< 350	25	< 400	20	
	350 - 450	26	400 - 500	42		
	450 - 550	37	500 - 600	43		
	> 550	33	> 600	16		

Results

Descriptive statistics

Figure 1 gives an overview of the time course of the NO_3^- concentration measured in the mature spruce forest and its changes after the clear cut. The mean NO_3^- concentrations in the mature stand were similar from beginning of May to August 2005 (ranging from 35.2 to 32.0 mg l^{-1}). Maximum values up to 160 mg l^{-1} were found at single suction cups in June. In September and October 2005 the concentrations declined to 21.4 mg l^{-1} , which was more than a third lower than the mean measured in April. The minimum values decreased from about 2 mg l^{-1} in May to values below the detection limit in September and October. After the clear cut in January 2006 the mean NO_3^- concentration declined to less than 10 mg l^{-1} in April and May 2006 (Fig. 1). From July to December 2006 mean concentrations strongly increased up to 150 mg l^{-1} , 15 fold higher than the initial values in April. Maximum values up to 250 mg l^{-1} were found at single suction cups. Minimum values remained below 3 mg l^{-1} until the end of the investigation. The variance and the standard deviation in the mature stand increased slightly from May to June 2005 and then declined to minimum values in October. After clear cut the variance and the standard deviation between April and July were very low compared to the mature stand. In August, they reached values comparable to the mature stand and then increased to much higher values from September to December (Fig. 1). The variability of the NO_3^- concentration expressed by the coefficient of variance was about 80% in the mature stand and increased in the months of September and October 2005 up to 112%. After the clear cut this variability was much lower with values between 40 and 50% in April, May and June and below 30% in September, November and December 2006. The skewness and kurtosis indicated that the mature forest data were not normally distributed which was denoted also by the differences between the mean value and the median. Figure 2 shows that the distribution was right skewed with a higher proportion of low NO_3^- concentrations in October due to declining concentrations at the end of the vegetation period 2005. In contrast, after the clear cut NO_3^- concentrations of most sampling events were nearly normal distributed or were even skewed to the left, e.g. in September 2006 (see medians in Fig. 1).

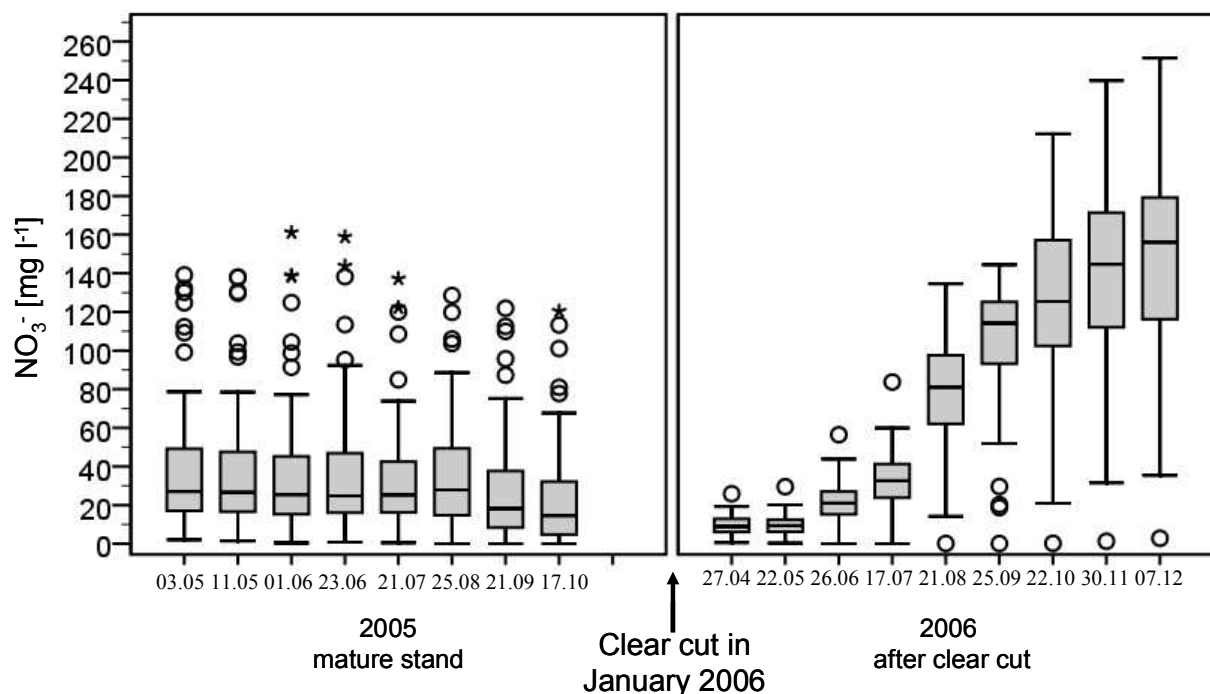


Fig. 1 Course of the NO_3^- concentration in seepage water in the mature spruce stand in 2005 (*left part*) and after the clear cut in 2006 (*right part*). *Box* Values between the first and the third quartile; *line in the box*: median; *whiskers* highest and lowest value which is still within 1.5 box-lengths from the edges of the box; *circles* values which are more than 1.5 box-lengths away from the edges of the box; *asterisks* values which are more than three box-lengths away from the edges of the box

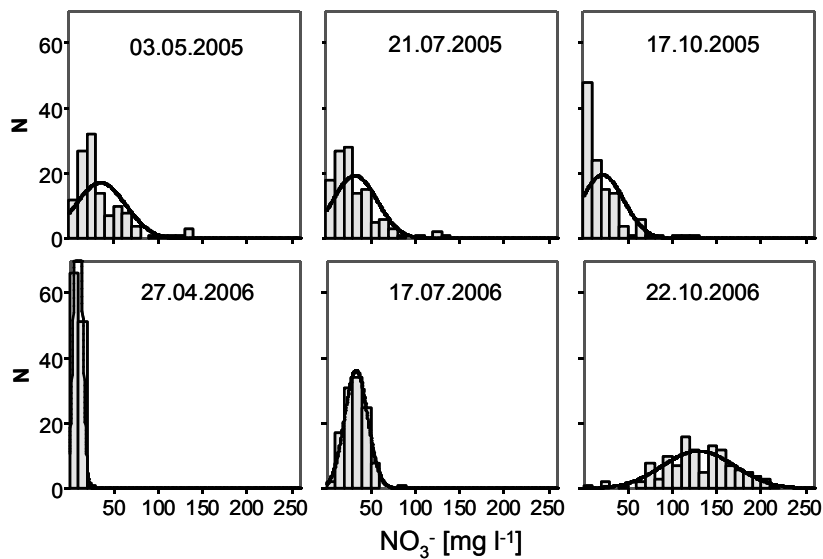


Fig. 2 Frequency distribution of the NO_3^- concentration in seepage water in the mature stand in 2005 (*upper part*) and after clear cut in 2006 (*lower part*) for selected sampling dates

Spatial and temporal variability

We used the coefficient of variance to compare the spatial and temporal variability of NO_3^- concentrations. Spatial variability was represented by the eight coefficients of variance which described the variability of the 121 suction cups on the respective sampling dates. Temporal variability is expressed by the 121 coefficients of variance which describe the variability over the eight sampling dates at the respective suction cup (Fig. 3). For the mature stand the spatial variability (mean $\text{CV}=86.4\%$) was more than 2.5 fold higher than the variability caused by changes in concentration at the single sampling places during the vegetation period 2005 (mean $\text{CV}=33.0\%$). After the clear cut we found a contrasting picture. The temporal variability at the single suction cups (mean $\text{CV}=80.4\%$) was almost 2.5 fold higher compared to the mature stand in 2005. This was caused by the steady increase in concentrations from April to December 2006. The spatial variability (mean $\text{CV}=35.9\%$) however, was less than half of the one found in 2005 (Fig. 3).

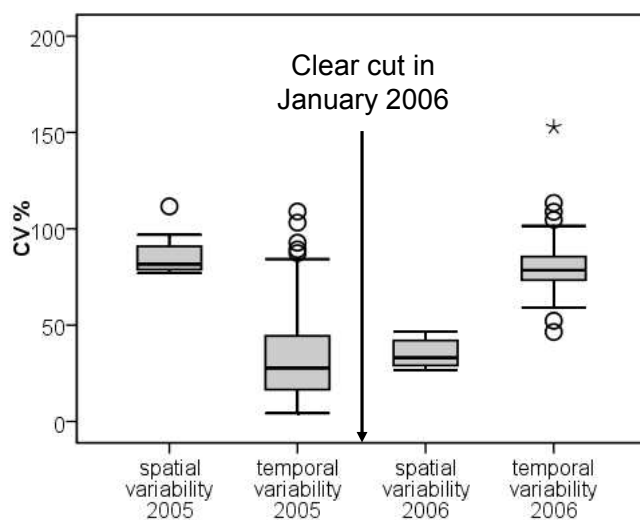


Fig. 3 Spatial and temporal variability of the NO_3^- concentration in seepage water in the mature spruce stand in 2005 (*left side*) and after clear cut in 2006 (*right side*). Spatial variability is expressed as the coefficient of variance of the sampling dates. Temporal variability is expressed as the coefficient of variance at the single suction cups. *CV%* Coefficient of variance in %. *Box plot symbols* are explained in Fig. 1

Structure and hot spots

In the mature stand high NO_3^- values were generally not isolated (Fig. 4). In most cases we found hot spots with three to more than ten adjacent sampling points showing elevated concentrations. We detected hot spots having extensions up to six m at the first May 2005 sampling. Almost six month later, in October, the NO_3^- concentrations were generally lower but the structure and hot spots from the first May sampling were still present (Fig. 4). This means that most of the samplers with low concentrations remained low and most of the samplers with high concentrations stayed high. This is supported by the high correlations (Pearson, $p < 0.001$) found between the sampling dates in the mature stand. The correlations of the samplings between May and July had at least a coefficient of correlation (r) of 0.95 and comparing the first (May) with the last (October) sampling we still found an r of 0.77. All other correlations between the sampling events were higher. After clear cut the spatial structure found in the mature stand vanished. In April 2006, NO_3^- variability was much smaller and concentrations were very low. The hot spots visible in the mature stand had completely disappeared. Further, during October 2006 mean concentrations were 13 fold higher than in April and the spatial structure was completely different to that found directly after clear cut. The spatial uncoupling of the processes controlling NO_3^- leaching after clear cut is also supported by the missing correlation between the mean concentrations measured in the mature stand and the means of the last three sampling events after the clear cut ($r = -0.05$; $p = 0.65$). In contrast to the hotspots in the mature stand we found some isolated places with very low NO_3^- concentrations (Fig. 4).

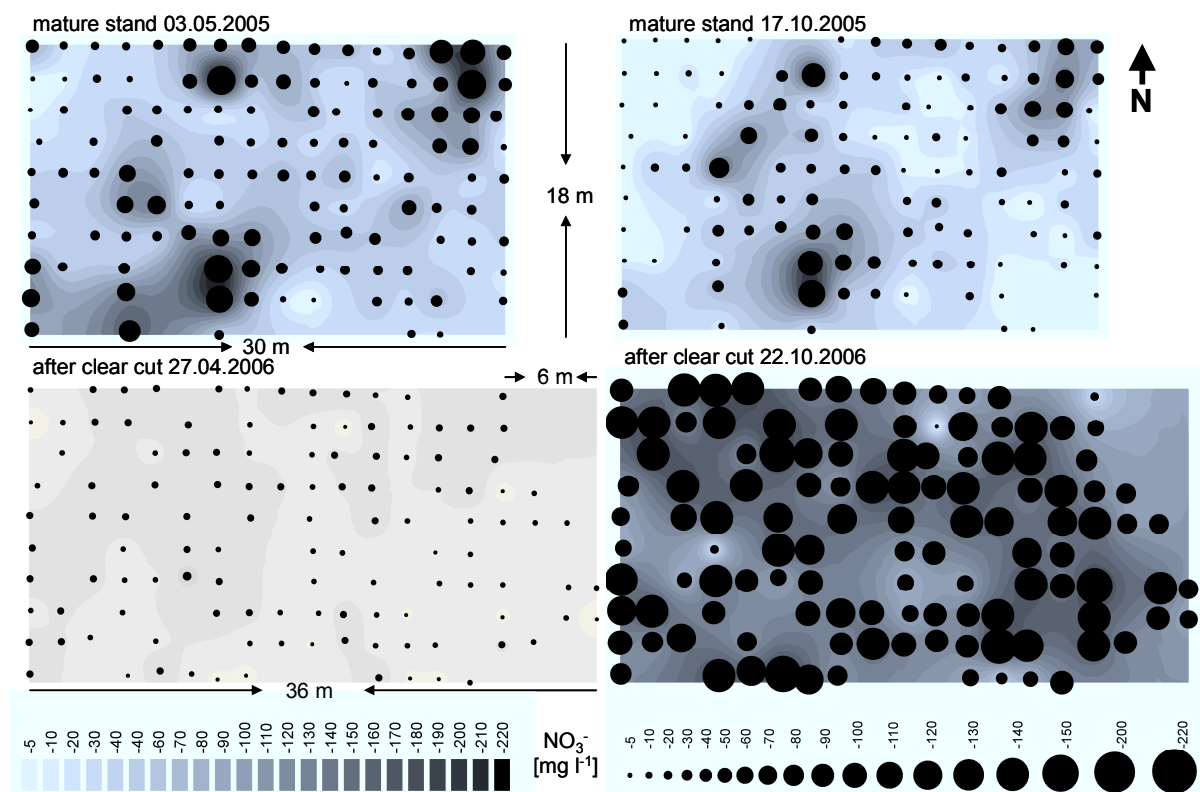


Fig. 4 Spatial distribution of the NO_3^- concentration in seepage water in the mature stand (April and October 2005; *upper part*) and after the clear cut (May and October 2006; *lower part*). The *black dots* represent the sampling location and the diameter represents the value of the measured NO_3^- concentration; the *filled contours* give the NO_3^- concentration ranges which are interpolated from the original data using radial basis function

Geostatistics

The structure in the spatial distribution of the NO_3^- concentration in seepage water indicated spatial autocorrelation. In the mature spruce stand a high proportion of spatial variability was explained by spatial structuring; about 65% from beginning of May to July, and up to 80% from August to October. The maximum distance of spatial autocorrelation was highest in the months of June and July with ranges about 19 m. In May as well as from August to October ranges were between 16 and 17 m (Fig. 5 and Table 2). After clear cut the nugget effect was considerably higher. Except for August 2006 there was only a small proportion of spatial variability (mostly below 30%) which could be explained by spatial structuring. The extent of the spatial autocorrelation also decreased considerably. In April after clear cut it was about 10 m and decreased to values between 5 and 6 m except from August (3.81 m) and December (2.17 m; Fig. 5 and Table 2).

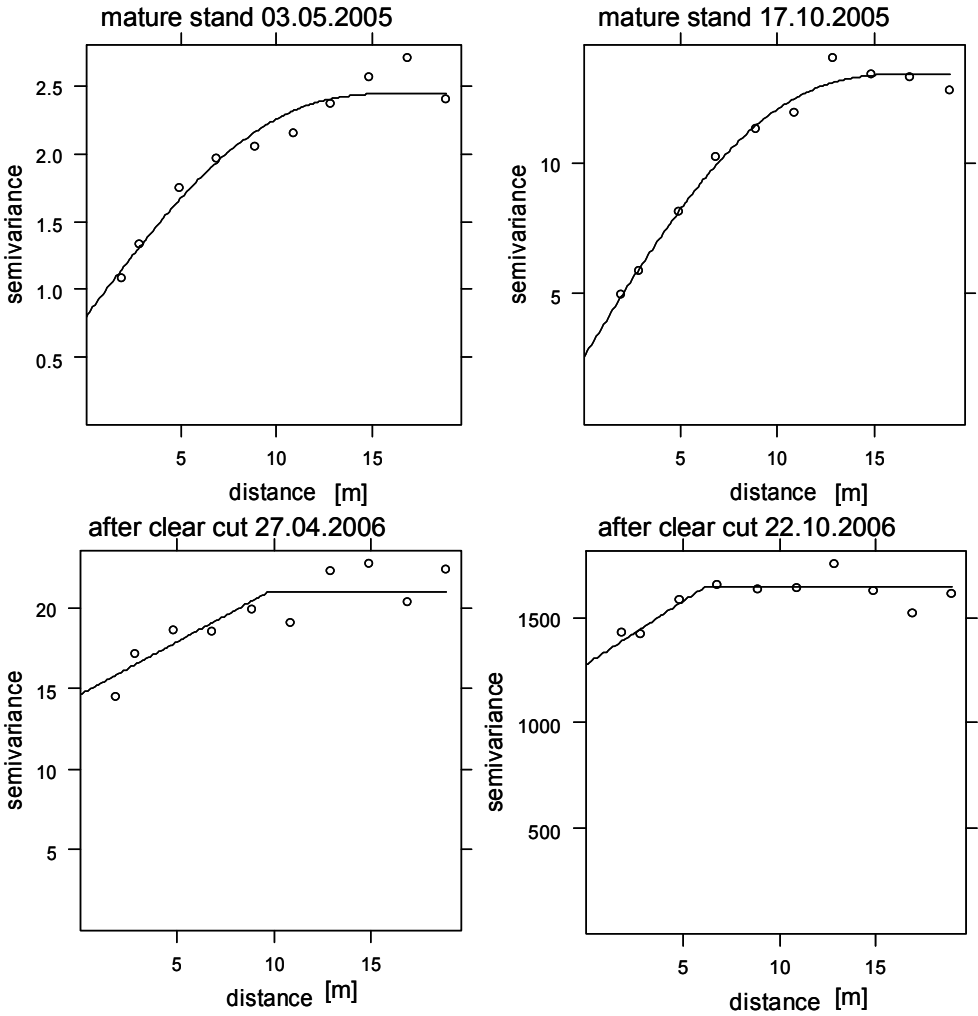


Fig. 5 Semivariograms of the NO_3^- concentration in seepage water with the fitted pentaspherical (mature stand) and linear (after clear cut) models for selected sampling dates

Table 2 Results of the semivariogram modelling of the different sampling dates in the mature spruce stand in 2005 and after clear cut in 2006

unit	sampling date	model	range (a) [m]	nugget variance (C ₀)	structural variance (C)	structural variance (C/(C+C ₀)) [%]	(C+C ₀)/s ²
mature stand 2005	03.05	pen	16.6	0.8	1.6	67	1.10
	11.05	pen	16.7	1.1	2.2	67	1.09
	01.06	pen	18.6	1.8	3.5	65	1.12
	23.06	pen	19.0	2.0	4.0	66	1.13
	21.07	pen	18.8	2.6	4.8	65	1.11
	25.08	pen	15.9	7.6	19.7	72	1.08
	21.09	pen	16.3	2.8	8.7	76	1.11
	17.10	pen	16.9	2.6	10.8	80	1.14
	after clear cut 2006	27.04	lin	9.7	15	6	30
22.05		lin	5.4	17	7	29	1.15
26.06		lin	5.9	65	19	22	1.00
17.07		lin	5.7	123	46	27	1.01
21.08		lin	3.8	260	407	61	1.02
25.09		lin	5.9	530	274	34	1.01
22.10		lin	6.2	1276	371	23	0.99
30.11		lin	5.6	1324	266	17	0.97
07.12		lin	2.2	1574	336	18	0.98

pen = pentaspherical model lin = linear model s² = sample variance

Multivariate statistics

In the mature stand about 40% of the total variability is explained by the measured stand and vegetation parameters (Table 3). The measured soil parameters did not contribute to the explanation. Vegetation coverage in the form of oxalis and mosses explained 19 and 24% of the variability. Concerning the stand parameters the MLR chose the distance to and the circumference of the nearest tree which explained 16% of total variability. The MCA on the other hand explained 21% of the variability by the basal stem area within a circle of 2.2 m and by basal area between 2.2 and 4 m distance to the suction cup. Increasing coverage of oxalis had a positive influence concerning NO₃⁻ concentrations the other variables had a negative one. The sum of total beta² of the MCA and the sum of total partial R² of the MLR (0.39 and 0.40) are almost equal. The difference between the multiple R² and the total beta² of the MCA differed only by 0.03 which indicates a good resolution of the correlations. In the MLR model the difference was 0.1 (Table 3). The relationship between the NO₃⁻ concentrations in seepage and the basal area of tree stems within a distance of 2.2 m to the sampling place was not linear as can be seen from the deviation of the class means from the whole sample mean (Table 3). We further compared the mean values of the different classes and tested them for significant differences. We found a significantly higher mean value for places which had a basal area of >0–1,100 cm² (which is equivalent to one small tree near the suction cup) compared to all other classes (Fig. 6). The basal area classes also can be interpreted as differences in stand density. As a result we summarise that low (no tree near to the suction cup) and high stand densities (one big tree or more trees near the suction cup) may favour lower mean NO₃⁻ concentrations, while moderate stand densities (one small tree near the suction cup) were associated with higher mean NO₃⁻ concentrations. After the clear cut about 30% of total NO₃⁻ variability could be explained and the chosen variables were the same for both methods. Each variable explained almost the same percentage of variability in both models. Oxalis was not present when estimating the plant coverage in July 2006. The vegetation coverage by all vascular plants (without mosses) explained about 10% and the circumference of the nearest tree explained 6%, but the vegetation and stand parameters explained less than half of the variability they explained in the mature stand. The thickness of the humus layer and amount of water

in sampling bottles, which did not contribute to the explanation in the mature stand, became important after the clear cut and accounted for about 15% of total variability. Total β^2 and the sum of total partial R^2 were almost the same for both models while the multiple R^2 differed by 0.1 (Table 3).

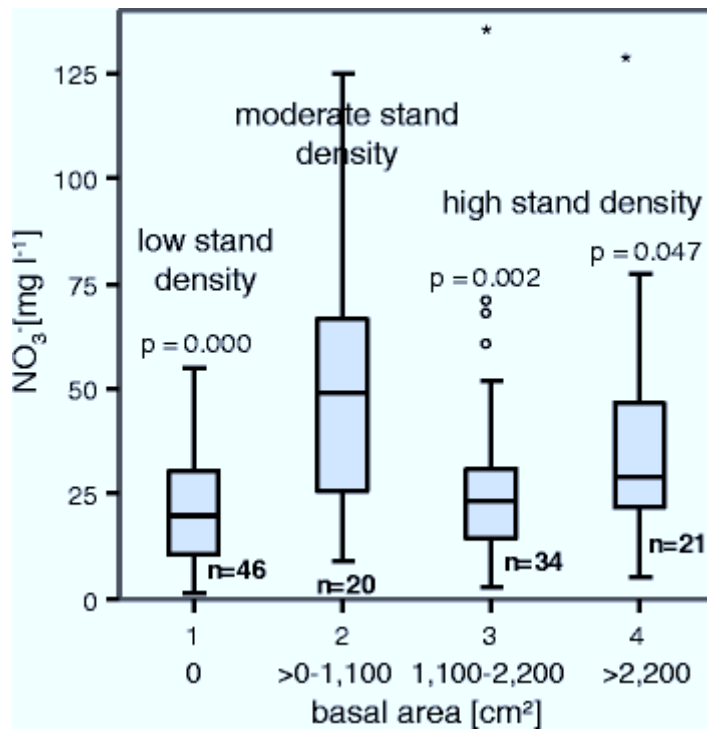


Fig. 6 NO_3^- concentrations in seepage water of the different classes of the variable “basal stem area within a circle of 2.2 m around the suction cup” in the mature stand. Class 2 was significantly different from all other classes which is shown by the p values above the classes 1, 3 and 4. From this variable we derived groups concerning the stand density. *Box plot symbols* are explained in Fig. 1

Table 3 Results of the multiple linear regression (MLR) analysis and the multiple classification analysis (MCA) for the mature spruce stand in 2005 and after clear cut in October 2006

	mature stand					after clear cut				
	sample mean = 31.5 mg l ⁻¹					sample mean = 129.0 mg l ⁻¹				
	MCA			MLR		MCA			MLR	
	classes	N	dev. [mg l ⁻¹]	Beta ²	part. R ²	classes	N	dev. [mg l ⁻¹]	Beta ²	part. R ²
vegetation parameters										
coverage oxalis in %	< 5	25	-9.0							
	5 - 15	35	-5.4							
	15 - 25	22	-3.0							
	> 25	39	12.3	0.09	0.16					
coverage moss in %	< 70	24	13.0							
	70 - 80	19	-0.1							
	80- 90	24	-3.8							
	> 90	54	-4.1	0.10	0.08					
coverage of all vascular plants in %						0	50	6.9		
						> 0 - 30	36	9.4		
						30 - 60	15	-26.7		
						> 60	17	-16.6	0.11	0.08
<i>sum Beta²; sum part R²</i>				0.19	0.24				0.11	0.08
stand parameters										
distance to 1. tree (stump after clear cut) in cm	< 150	29								
	150 - 200	35								
	200 - 250	32								
	> 250	25			0.11					
circumference 1. tree (stump after clear cut) in cm	< 100	29				< 100	26	-16.3		
	100 - 130	30				100 - 130	33	-0.4		
	130 - 160	37				130 - 160	36	3.3		
	> 160	25			0.05	> 160	23	13.9	0.06	0.06
basal area in the circumference of 2.2 m in cm ²	0	46	-9.0							
	> 0 - 1100	20	20.4							
	1100 - 2200	34	-2.4							
	> 2200	21	4.0	0.08						
basal area in the circumference of 2.2 - 4 m in cm ²	0	16	-8.8							
	> 0 - 1500	22	12.9							
	1500 - 3000	36	0.6							
	> 3000	47	-3.5	0.13						
<i>sum Beta²; sum part R²</i>				0.21	0.16				0.06	0.06
soil parameters										
thickness of the organic layer in mm						< 50	12	-27.2		
						50 - 70	40	-3.9		
						70-90	43	8.3		
						> 90	23	5.5	0.07	0.08
amount of water in sampling bottles in ml						< 400	20	-24.8		
						400 - 500	42	2.6		
						500 - 600	40	6.0		
						> 600	16	9.2	0.08	0.08
<i>sum Beta²; sum part R²</i>				0.00	0.00				0.15	0.16
<i>total Beta²; total part R²</i>				0.39	0.40				0.32	0.31
Multiple R ²				0.36	0.30				0.37	0.27

N = number of samples in each class
dev. = deviation of the class mean from sample mean
Beta² = variability explained by MCA
part R² = variability explained by MLR

Discussion

NO₃⁻ concentration in the mature stand

The mean NO₃⁻ concentrations in seepage water in the mature stand were between 21 and 35 mg l⁻¹ which was high compared to other forest sites (Gundersen et al. 2006), but were typical for mature spruce stands at the Höglwald (Huber et al. 2004b; Rothe et al. 2002). The high NO₃⁻ concentration can be explained by the N saturated status of this forest due to high N input in throughfall of 30 kg ha⁻¹ year⁻¹ (Rothe et al. 2002) while N storage in the biomass of the mature stand is a sink for only 5–10 kg ha⁻¹ year⁻¹ (Weis and Göttlein 2002).

The frequency distribution of NO₃⁻ was highly right skewed which was also observed by Mellert et al. (2008) in another N saturated spruce forest in southern Germany. Callesen et al. (1999) found right skewed distributions in an intensive investigation of Danish forests and Gundersen et al. (2006) reported this distribution type for most of the sites in their review article. It is striking that the same skewed distribution for NO₃⁻ in seepage water below forests was found at the centimeter scale (Göttlein and Stanjek 1996), as well as at the plot (this study) and forest scale up to the regional (Gensior et al. 2003) and even European (Kristensen et al. 2004) scale. Right skewed distributions are often observed for ecological data sets and are characterized by a high value density around the median which is lower than the arithmetic mean and a considerable amount of outliers towards higher values which may represent so called hot spots. Spatial variability at the different sampling dates was between 80 and 112 %, which is high compared to other nutrients in soil solution (Asano et al. 2006; Grossmann and Kloss 1994; Lischeid et al. 1998). This variability seems to be typical for N saturated spruce forests, as Mellert et al. (2008) and Manderscheid and Matzner (1995b) reported similar variability at larger scales in N saturated Norway spruce stands. Also, Göttlein and Stanjek (1996) found similar results at the cm scale at comparable depths. Temporal variability at the single suction cups was much lower than spatial variability at the sampling dates, which was reported by Manderscheid and Matzner (1995a, b), Mellert et al. (2007), Laverman et al. (2000) and Asano et al. (2006). Small seasonal differences were also found at the plot scale for a dataset from across Europe at more than 100 Level II monitoring sites (Kristensen et al. 2004). It is surprising that despite the highly variable processes of microbial N transformation and N uptake by plants the concentrations are relatively constant over a time span of several months. We suggest that the higher NO₃⁻ production in summer (Gasche et al. 2002) is compensated by higher N uptake rates by trees during periods with high soil temperature (Gessler et al. 1998), while in cold periods with lower production rates the equally lowered N uptake may lead to similar concentrations in seepage water. Within this context also the differences in seasonal water fluxes with its dilution effects in autumn, winter and early spring and concentration effects during summer due to evapotranspiration should be considered.

High values of structuring variance (65–81%) and autocorrelation distances between 16–19 m were found. Thus hot spots were not restricted to single sampling spots, but occurred in structured patches and extended over several meters. Mellert et al. (2008) reported spatial dependence for NO₃⁻ in seepage water up to a distance of 10 m under a 50 to 60 year old spruce stand but no more spatial correlation between 10 m and 1 km. Manderscheid and Matzner (1995b) found no spatial autocorrelation, but worked with a sampling resolution of 25×25 m. Gallardo et al. (2006) and Garbin et al. (2006) in contrast described much lower ranges and mostly lower structural variance for NO₃⁻ contents in the top soil of different ecosystems.

In the mature spruce stand high NO₃⁻ concentrations were more likely to be found at places with a high coverage of oxalis (>25%), relatively low coverage of mosses (<80%) and moderate stand densities. As *Oxalis acetosella* had a low biomass production at our site it is unlikely that this plant had a significant influence on N dynamics (Rodenkirchen 1995). Therefore, high coverage with this plant has to be considered rather as an indicator than a cause for high NO₃⁻ in seepage water. At our site, low calcium availability in the humus layer may be growth limiting for this plant (Rodenkirchen 1998). Patches with high coverage may therefore indicate higher calcium availability, the latter favouring mineralization and nitrification as well. In addition enhanced nitrification favours the

growth of oxalis. In contrast to spruce, which prefers ammonium (NH_4^+) as its N source (Gessler et al. 1998), oxalis is favoured by NO_3^- nutrition, while NH_4^+ has a negative effect on its calcium uptake (Rodenkirchen 1998). Mosses (mostly *Thuidium tamariscinum* at our site) may also serve as an indicator for NO_3^- in soil solution. High coverage indicates a shadier and cooler microclimate compared to sparsely covered places. This may lead to lower mineralization and or nitrification activity at such patches and as a consequence to lower NO_3^- concentrations in seepage water. According to our models, parameters indicating “moderate” stand densities had positive effects on NO_3^- in seepage, while low and high stand densities had a negative one. Patches with low stand densities may have less N input by litter fall and throughfall. Beier et al. (1993) found negative gradients of N input by throughfall with decreasing tree size and increasing distance from the next trunk. Gundersen et al. (1998a) reported decreasing overall concentrations in nutrients with distance from the next tree but increasing amounts of water input in the same direction. High stand densities, despite the possibly high N input, may lead to high N uptake and unfavourable climatic conditions for litter decomposition (lower water input, temperature and radiation). The measured soil parameters did not explain the NO_3^- variability. In contrast to our assumption, the thickness of the surface humus (indicator for the organic N pool in this horizon) had no significant influence on our model. In addition, the amount of water in the sampling bottles which we used as an indicator for water fluxes to detect possible dilution effects, did not contribute to the explanation of NO_3^- variability. We assume that the activity of trees and/or microbes override the effects of the substrate availability and dilution effects in the mature stand. Matejek et al. (2008) found in another investigation at the same plot, that the net N mineralization rate in the humus layer could explain more than 50% of the total variability of NO_3^- in seepage water.

NO_3^- concentrations after the clear cutting

The time course after the clear cut in January 2006 was typical for N saturated spruce stands under temperate climatic conditions (Dahlgren and Driscoll 1994; Gundersen et al. 2006; Mellert et al. 1996; Weis et al. 2001) and was very similar to the time course observed after clear cutting a spruce stand next to our stand in February 2000 (Huber et al. 2004b). The strong increase in NO_3^- can be attributed to the mineralization and nitrification processes stimulated by high temperatures and water availability in concert with mostly meagre vegetation coverage as a possible N sink (Weis et al. 2006). In N limited stands or sites closer to N limitation no or just a slight increase of NO_3^- in seepage water has been observed (Cummins and Farrell 2003; Piirainen et al. 2002; Weis et al. 2001). In the current study, spatial variability was considerably lower direct after clear cutting and decreased even more until the end of the vegetation period. Huber et al. (2004b) also found lower variability after a clear cut in February 2000 at the Höglwald compared to the intact stand. In contrast to the mature stand, most of the suction cups showed a high temporal variability compared to the spatial one due to the steady increase in concentrations for nearly all suction cups until the end of the vegetation period.

After clear cut, the range (mostly below six m) and strength of spatial autocorrelation (mostly below 30%) decreased considerably compared to the mature stand. The high nugget variance suggests that autocorrelation, if present, has to be investigated at a spatial resolution smaller than our sampling grid of 2×2 m. Guo et al. (2004) also found lower ranges and structural variances in one of two investigated plots 1 year after clear cut. We assume that lower spatial variability and loss of spatial structure and autocorrelation after the clear cut were caused by the more homogenous conditions for nutrient cycling. We created a relatively homogeneous area by keeping disturbance to a minimum during felling and by removing trees and slash from our plot. Temperature, soil water and N input are generally more equally distributed over the plot compared to a mature stand. Therefore abiotic conditions for mineralization and nitrification were more homogeneously distributed over the sampling area. Further, N uptake by trees which may be an important factor of heterogeneity in the mature stand was excluded after the cutting. The shift to a normal distribution can be explained by the more homogenous conditions created by the clear cut. Trees control the spatial heterogeneity of many processes concerning the N cycle like N input and uptake, temperature, water input and output. At a few points these processes may be combined in a way that favours high NO_3^- concentration in seepage water. These few hot spots are responsible for the generation of the positively skewed distribution. After clear cut, the heterogeneity caused by trees disappears and so do the combination of the

processes controlling N cycling at the respective places. The hot spots vanish and the distribution becomes nearly normal. The slightly left skewed distribution after the clear cut can be explained by a few points of very low NO_3^- concentrations at places with a high coverage of vegetation which act as a significant sink for N. The spatial variability of NO_3^- may be higher and the distribution may be different when the slash is left on the ground, after heavier soil disturbances from harvesters or in stands with dense natural regeneration or ground vegetation (Guo et al. 2004; Huber et al. 2004b; Weis et al. 2001).

After clear cut, low NO_3^- concentrations were likely to be found at places with high coverage of vascular plants (>30%), no stumps or stumps of small trees, thin organic layer (<50 mm) and low amounts of water (<400 ml) in the sampling bottles. The explained variability was highest for vegetation coverage. Places with higher coverage exhibited lower NO_3^- concentrations which is in accordance with Weis et al. (2001), Gundersen et al. (2006) and Mellert et al. (1996). However, Huber (2005) could not detect this effect until two years after the dieback of a spruce stand in the Bavarian National Park. In the current study, suction cups next to bigger tree stumps showed elevated NO_3^- concentrations. This may be due to a higher fine root biomass at these places which mineralize quickly and may be a significant source for NO_3^- leaching after cutting. In contrast to the mature stand, soil parameters had a significant influence on NO_3^- in seepage water. A thin organic layer and low amount of water in the sampling bottles caused lower NO_3^- in seepage water. After the cutting a low substrate availability (thin organic layer) may restrict NO_3^- production. Low amounts of water in sampling bottles may indicate lower water conductivity in the mineral soil. These places may be hot spots for gaseous N losses by denitrification. Higher denitrification rates and fluxes compared to mature stands have already been reported for the Höglwald in former clear cut experiments (Papen et al. 2001).

Implications for future investigations of NO_3^- in seepage water

Due to the high number of replications and the high temporal resolution of the sampling events, it is possible to make some general assumptions concerning sampling strategies for the investigation of NO_3^- in seepage water below N saturated spruce forests. The clear differences in spatial and temporal distribution of NO_3^- in seepage water in the mature stand and after clear cut suggest different sampling strategies to obtain accurate statistical results. While in the mature stand a high number of replicates is necessary to cover the high spatial variability, the sampling on the temporal scale can be less intensive. To reduce the financial and labour input it would be appropriate to install and measure high numbers of suction cups at the beginning of the investigation, while later the amount of suction cups can be reduced in a way that preserves the distribution and mean concentration. In contrast, after clear cutting a lower number of replicates is sufficient for a proper statistical description, while the temporal resolution has to be high to capture the more variable time course of NO_3^- in seepage water.

The geostatistical analysis showed that there are big differences in spatial dependencies and structural variances between the mature stand and the clear cut. In the mature stand the range and the strength of autocorrelation would lead to sampling distances of more than 16–19 m to get spatially independent NO_3^- concentrations for representative mean values at the stand level. On the other hand, the investigation of the small scale variability has to be carried out within these distances. However, the last meters of the range only explain a marginal part of the structural variance. Following the concept of a practical range (Webster and Oliver 2001) for exponential models, the calculated range at the 95% sill was 5–6.5 m shorter than in the original models. This would lead to practical ranges between 10.5 and 12.5 m in the mature stand (Fig. 7) and thus to a sampling spacing of the same dimension. After clear cut sampling distances of 6 m should already guarantee a spatial independent sampling. However, due to the small proportion of structuring variance smaller distances would not significantly influence the sampling results. These implications for sampling NO_3^- in seepage water may not only be valid for the Höglwald but also for other N saturated spruce forest.

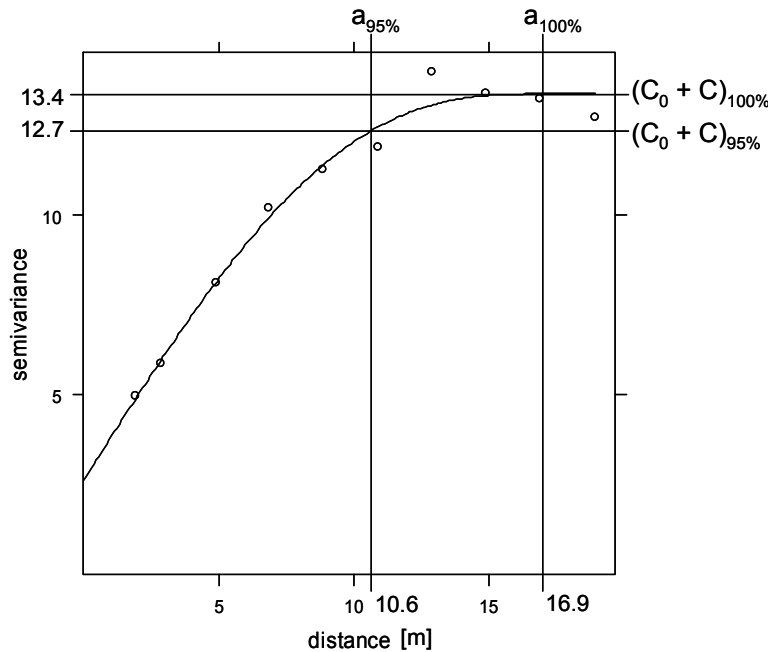


Fig. 7 Comparison of the pentaspherical model range ($a_{100\%}$) with the practical range ($a_{95\%}$) at the 95% sill (October 2005 sampling): The last 6.3 m of the model range only explain 5% of the structural variance. (C_0+C)_{100%}: Sill of the pentaspherical model; (C_0+C)_{95%}: 95% sill

Conclusions

The results show that the time course of NO_3^- in seepage water below mature spruce stand after experimental manipulation (a clear cut in our case) is reproducible to a large extent, even when the experiment is performed in different years.

Statistical and geostatistical analysis revealed that different sampling strategies are required to get representative values for NO_3^- in seepage water at our site. While in the mature stand a high number of replications with a lower temporal resolution is needed, after clear cut the temporal resolution has to be high and the number of replications can be less. It is necessary to work with sampling distances of at least 12 m in the mature stand while after clear cut a spacing of 6 m is sufficient to get spatially independent measurement values. Sampling at smaller distances can likely lead to an over- or underestimation of the mean. If hot spots are included into a random sampling scheme it is likely that points at smaller distances than the autocorrelation range also have high concentrations which may lead to an overestimation of the mean NO_3^- concentration. Similarly the random inclusion of spots with very low concentrations may lead to an underestimation of NO_3^- in seepage water. These results are specific for our N saturated forest at the Höglwald, but may apply to other N-saturated forests. In general, it would be desirable to characterize an N saturated forest with a systematic scheme using a high number of suction cups at the first sampling, and afterwards reduce sampling intensity according to the spatial variability and results of geostatistical analysis.

The hypothesis that easy and non destructive measurement parameters can explain variability of NO_3^- concentrations proved to be true partly – 40% of the variability could be explained by vegetation coverage and stand parameters in the mature stand while after clear cut 30% of variability could be described by the same parameters plus thickness of the organic layer and the differences in water regime. Further investigations which consider more parameters like variability in N input, N cycling and more detailed information about soil chemical and physical parameters at the suction cup places are required.

Acknowledgements The authors thank the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) for funding the presented investigation. Furthermore we would like to thank Manuela Theobald, Nora Salzer, Christine Pfab, Verena Rotter, Rita Heibl, Wolfgang Petrik and Daniel Glaser for support during the plot installation and for performing the laboratory analysis. Special thanks to Markus Steffens for valuable advices concerning geostatistical analysis and to Julian Aherne for a thoroughly proof reading.

References

- Aber JD, Nadelhoffer KJ, Steudler P, Melillo JM (1989) Nitrogen saturation in Northern forest ecosystems. *Bioscience* 39:378–386
- Asano Y, Compton JE, Church MR (2006) Hydrologic flowpaths influence inorganic and organic nutrient leaching in a forest soil. *Biogeochemistry* 81:191–204
- Beier C, Hansen K, Gundersen P (1993) Spatial variability of throughfall fluxes in a spruce forest. *Environ Pollut* 81:257–267
- Borken W, Matzner E (2004) Nitrate leaching in forest soils: an analysis of long-term monitoring sites in Germany. *J Plant Nutr Soil Sci* 167:277–283
- Box GEP, Cox DR (1964) An analysis of transformations. *J R Stat Soc Ser B Stat Methodol* 26:211–252
- Butterbach-Bahl K, Gasche R, Huber CH, Kreutzer K, Papen H (1998) Impact of N-input by wet deposition on N-trace gas fluxes and CH₄-oxidation in spruce forest ecosystems of the temperate zone in Europe. *Atmos Environ* 32:559–564
- Callesen I, Raulund-Rasmussen K, Gundersen P, Stryhn H (1999) Nitrate concentrations in soil solutions below Danish forests. *For Ecol Manage* 114:71–82
- Cummins T, Farrell EP (2003) Biogeochemical impacts of clearfelling and reforestation on blanket-peatland streams – II. major ions and dissolved organic carbon. *For Ecol Manage* 180:557–570
- Dahlgren RA, Driscoll CT (1994) The effects of whole-tree clear-cutting on soil processes at the Hubbard-Brook-experimental-forest, New-Hampshire, USA. *Plant Soil* 158:239–262
- Dise NB, Wright RF (1995) Nitrogen leaching from European forests in relation to nitrogen deposition. *For Ecol Manage* 71:153–161
- Gallardo A, Parama R, Covelo F (2006) Differences between soil ammonium and nitrate spatial pattern in six plant communities. Simulated effect on plant populations. *Plant Soil* 279:333–346
- Garbin ML, Zandavalli RB, Dillenburg LR (2006) Soil patches of inorganic nitrogen in subtropical Brazilian plant communities with *Araucaria angustifolia*. *Plant Soil* 286:323–337
- Gasche R, Butterbach-Bahl K, Papen H (2002) Development and application of a method for determination of net nitrification rates. *Plant Soil* 240:57–65
- Gensior A, Kölling C, Mellert KH (2003) Die Nitratinventur in Bayern-Methodik und Ergebnisse. *Freiburger Forstliche Forsch* 49:101–103
- Gessler A, Schneider S, Von Sengbusch D, Weber P, Hanemann U, Huber C et al (1998) Field and laboratory experiments on net uptake of nitrate and ammonium by the roots of spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) trees. *New Phytol* 138:275–285

- Göttlein A (1995) Mikroskalige Variabilität der Bodenlösungschemie - Ergebnisse eines Laborversuchs zum Vergleich von Standard- und Mikro-Saugkerzen. *J Plant Nutr Soil Sci* 158:205–206
- Göttlein A, Kreutzer K (1991) Der Standort Höglwald im Vergleich zu anderen ökologischen Fallstudien. In *Ökosystemforschung Höglwald: Beiträge zur Auswirkung von saurer Beregnung und Kalkung in einem Fichtenaltbestand*, Ed A Göttlein. Paul Parey, Hamburg und Bremen, pp 22–29
- Göttlein A, Stanjek H (1996) Micro-scale variation of solid-phase properties and soil solution chemistry in a forest podzol and its relation to soil horizons. *Eur J Soil Sci* 47:627–636
- Gross KL, Pregitzer KS, Burton AJ (1995) Spatial variation in nitrogen availability in 3 successional plant-communities. *J Ecol* 83:357–367
- Grossmann J, Kloss R (1994) Variability of water-quality in a spruce stand. *Z Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde* 157:47–51
- Gundersen P, Boxman AW, Lamersdorf N, Moldan F, Andersen BR (1998a) Experimental manipulation of forest ecosystems: lessons from large roof experiments. *For Ecol Manage* 101:339–352
- Gundersen P, Emmett BA, Kjonaas OJ, Koopmans CJ, Tietema A (1998b) Impact of nitrogen deposition on nitrogen cycling in forests: a synthesis of NITREX data. *For Ecol Manage* 101:37–55
- Gundersen P, Schmidt IK, Raulund-Rasmussen K (2006) Leaching of nitrate from temperate forests-effects of air pollution and forest management. *Environ Rev* 14:1–57
- Guo DL, Mou P, Jones RH, Mitchell RJ (2004) Spatio-temporal patterns of soil available nutrients following experimental disturbance in a pine forest. *Oecologia* 138:613–621
- Huber C (2005) Long lasting nitrate leaching after bark beetle attack in the highlands of the Bavarian Forest National Park. *J Environ Qual* 34:1772–1779
- Huber C, Oberhauser A, Kreutzer K (2002) Deposition of ammonia to the forest floor under spruce and beech at the Hoglwald site. *Plant Soil* 240:3–11
- Huber C, Kreutzer K, Rohle H, Rothe A (2004a) Response of artificial acid irrigation, liming, and N-fertilisation on elemental concentrations in needles, litter fluxes, volume increment, and crown transparency of a N saturated Norway spruce stand. *For Ecol Manage* 200:3–21
- Huber C, Weis W, Baumgarten M, Gottlein A (2004b) Spatial and temporal variation of seepage water chemistry after felling and small scale clear-cutting in a N-saturated Norway spruce stand. *Plant Soil* 267:23–40
- Kreutzer K (1995) Effects of forest liming on soil processes. *Plant Soil* 169:447–470
- Kreutzer K, Weiss T (1998) The Hoglwald field experiments-aims, concept and basic data. *Plant Soil* 199:1–10
- Kristensen HL, Gundersen P, Callesen I, Reinds GJ (2004) Throughfall nitrogen deposition has different impacts on soil solution nitrate concentration in European coniferous and deciduous forests. *Ecosystems* (N Y, Print) 7:180–192
- Laverman AM, Zoomer HR, van Verseveld HW, Verhoef HA (2000) Temporal and spatial variation of nitrogen transformations in a coniferous forest soil. *Soil Biol Biochem* 32:1661–1670
- Lischeid G, Alewell C, Bittersohl J, Gottlein A, Jungnickel C, Lange H et al (1998) Investigating soil and groundwater quality at different scales in a forested catchment: the Waldstein case study. *Nutr Cycl Agroecosyst* 50:109–118

- Manderscheid B, Matzner E (1995a) Spatial and temporal variation of soil solution chemistry and ion fluxes through the soil in a mature Norway-spruce (*Picea abies* (L) Karst) stand. *Biogeochemistry* 30:99–114
- Manderscheid B, Matzner E (1995b) Spatial heterogeneity of soil solution chemistry in a mature Norway spruce (*Picea abies* (L) Karst) stand. *Water Air Soil Pollut* 85:1185–1190
- Matejek B, Kohlpaintner M, Gasche R, Huber C, Dannenmann M, Papen H (2008) The small-scale pattern of nitrate concentration in seepage water below the main rooting zone in a N saturated homogenous mature spruce forest is regulated by net N mineralization in the organic layer. *Plant Soil* PLSO4331 (in press). doi:10.1007/s11104-008-9643-z
- Mellert KH, Kölling C, Rehfuess KE (1996) Stoffaustrag aus Fichtenwaldökosystemen Bayerns nach Sturmwurf. *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 115:363–377
- Mellert KH, Gensior A, Göttlein A, Kölling C (2007) Prädiktoren des Nitrataustrags aus Wäldern - Ergebnisse der bayerischen Nitratinventur im mitteleuropäischen Vergleich. *Forstarchiv* 78:139–149
- Mellert KH, Gensior A, Göttlein A, Kölling C, Rucker G (2008) Variation in soil nitrate concentrations in two n-saturated norway spruce forests (*Picea abies* (L.) karst.) in southern Bavaria. *Water Air Soil Pollut* 187:203–217
- Papen H, Butterbach-Bahl K, Gasche R, Zumbusch E, Willibald G, Berger U, Nübling J (2001) Abschlussbericht zum Forschungsprojekt BMBF 0339728. Auswirkungen der Mischwaldbegründung in einem stickstoffgesättigten Fichtenökosystem (Höglwald) auf Bodenfruchtbarkeit, Sickerwasserqualität, Atmosphäre und Biodiversität. Teilprojekt B: Auswirkungen auf mikrobielle N- und C-Umsetzung, Gasaustausch zwischen Boden und Atmosphäre sowie mikrobielle Biodiversität
- Pebesma EJ (2004) Multivariable geostatistics in S: the gstat package. *Comput Geosci* 30:683–691
- Piirainen S, Finer L, Mannerkoski H, Starr M (2002) Effects of forest clear-cutting on the carbon and nitrogen fluxes through podzolic soil horizons. *Plant Soil* 239:301–311
- RDevelopmentCoreTeam (2007) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna
- Rodenkirchen H (1995) Nutrient pools and fluxes of the ground vegetation in Coniferous forests due to fertilizing, liming and amelioration. *Plant Soil* 169:383–390
- Rodenkirchen H (1998) Evidence for a nutritional disorder of *Oxalis acetosella* L. on acid forest soils-II. Diagnostic field experiments and nutrient solution studies. *Plant Soil* 199:153–166
- Rothe A, Huber C, Kreuzer K, Weis W (2002) Deposition and soil leaching in stands of Norway spruce and European Beech: results from the Höglwald research in comparison with other European case studies. *Plant Soil* 240:33–45
- Webster R, Oliver MA (2001) *Geostatistics for environmental scientists*. Wiley, Chichester, p 271
- Weis W, Göttlein A (2002) Vergleich von Biomasse, Elementgehalten und Elementvorräten von Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.) und Buche (*Fagus sylvatica* L.) am Standort Höglwald zu Zeiten der Vegetationsruhe. *Forstliche Forschungsberichte Munchen* 186:163–167
- Weis W, Huber C, Göttlein A (2001) Regeneration of mature Norway spruce stands: early effects of selective cutting and clear cutting on seepage water quality and soil fertility. *Scientific World Journal* 1:493–499
- Weis W, Rotter V, Gottlein A (2006) Water and element fluxes during the regeneration of Norway spruce with European beech: effects of shelterwood-cut and clear-cut. *For Ecol Manage* 224:304–317
- Weis W, Baier R, Huber C, Göttlein A (2007) Long term effects of acid irrigation at the Höglwald on seepage water chemistry and nutrient cycling. *Water Air Soil Pollut Focus* 7:211–223

Publikation [II]

Kohlpaintner M., Huber C. & Göttlein A.

(2011)

Improving the precision of estimating nitrate (NO₃⁻) concentration in seepage water of forests by prestratification with soil samples

European Journal of Forest Research

Eingereicht am 11.02.2011 in der in diesem Dokument
abgedruckten Version

Die Publikation befindet sich aktuell noch im Begutachtungsverfahren

1 **Improving the precision of estimating nitrate (NO₃⁻)**
2 **concentration in seepage water of forests by**
3 **prestratification with soil samples**

4

5

6 Michael Kohlpaintner¹, Christian Huber & Axel Göttlein

7 Fachgebiet für Waldernährung und Wasserhaushalt, Department für Ökologie,

8 Wissenschaftszentrum Weihenstephan, TU-München, Hans-Carl-von-Carlowitz-Platz

9 2, D 85354 Freising, Germany.

10

11 ¹Corresponding author

12 Tel.: +49-(0)8161-714834

13 Fax: +49-(0)8161-714738

14 E-mail: kohlpaintner@forst.tu-muenchen.de

15

16

17

18

19 **Keywords:**

20 nitrate leaching, spatial variability, Höglwald, N-saturation, random sampling,

21 stratified sampling, soil samples

22 **Abstract:**

23

24 Nitrate (NO_3^-) concentrations in seepage water (SW_{NO_3}) of N saturated forests
25 regularly show a high spatial variability. As seepage water sampling is expensive,
26 most studies use small numbers of soil solution samplers. This implies high
27 uncertainties of calculated output data.

28 At the N saturated Höglwald site we investigated, whether a preselection of seepage
29 water sampling places by a prior intensive soil sampling can improve the precision of
30 the estimation of SW_{NO_3} . We implemented 121 suction cups and analyzed the soil,
31 removed with the soil auger during installation at the sampling depth of 40 cm, for
32 water extractable NO_3^- . The NO_3^- content in soil ($\text{Soil}_{\text{NO}_3}$) was calculated and SW_{NO_3}
33 was measured. With this data set we tested the correlation between $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ and
34 SW_{NO_3} and simulated a random selection of sampling places (RS) as well as a
35 prestratified sampling based on $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ (PS). With bootstrap statistics different
36 numbers of replications (n) were tested and the 95%-confidence interval (95%c.i.)
37 was used to compare RS with PS.

38 Highly significant correlations between $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ and SW_{NO_3} were found ($r=0.99^{***}$). It
39 was even possible to calculate SW_{NO_3} from $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$. Here best results were achieved
40 when $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ was determined from field moist soil samples. With PS the accuracy of
41 the mean value of SW_{NO_3} improved considerably. To achieve a 95%c.i. lower than +/-
42 10%, 250 suction cups would be needed for RS compared to $n=20$ for PS. Even six
43 months after implementation, precision of mean SW_{NO_3} was higher for suction cup
44 places selected with the RS method.

45 A detailed description is given, how these findings may be applied in studies and
46 monitoring programs focusing on NO_3^- leaching in forest ecosystems.

47 **Introduction**

48

49 Persisting high levels of nitrogen emissions to the atmosphere from fossil fuel
50 combustion and from the agricultural sector lead to nitrogen (N) saturation in forest
51 ecosystems in central Europe. An indicator for N saturation is an elevated nitrate
52 (NO_3^-) concentration in seepage water below the main rooting zone (Aber et al. 1989;
53 Gundersen et al. 2006). Beside that, NO_3^- is of great importance for forests and
54 adjacent ecosystems. NO_3^- leaching not only impairs seepage water quality, but
55 nitrification is also a significant contributor to soil acidification. It decreases acid-
56 neutralising capacity, mobilises aluminium (Al_3^+) and leads to losses of the nutrient
57 cations calcium (Ca^{2+}), magnesium (Mg^{2+}) and potassium (K^+) (Huber et al. 2010;
58 Aber et al. 1998). Further, the greenhouse gas N_2O is produced during nitrification
59 and denitrification processes (Butterbach-Bahl et al. 1998).

60 However, nitrate (NO_3^-) in seepage water of N saturated forests regularly shows a
61 high spatial variability even in forests of the same age with homogenous soil and
62 stand structure. This was reported for the scale of centimetres (Göttlein and Stanjek
63 1996) and meters (Kohlpaintner et al. 2009), for the plot scale (Huber et al. 2010;
64 Weis et al. 2006), stand level (Mellert et al. 2008; Manderscheid and Matzner 1995),
65 and for the regional scale (Rothe and Mellert 2004). Coefficients of variance above
66 100 % for NO_3^- were found in these studies. A high variability of NO_3^- for a certain
67 object (plot, forest, area) implicates a lack of adequate precision not only for nitrate
68 flux calculations, but also for flux calculations of cations, leached with NO_3^- .
69 According to Manderscheid and Matzner (1995) up to 200 and more lysimeters are
70 needed to estimate the NO_3^- average with a security of 95% and a precision of +/-
71 10% at the stand level in a 2.5 ha spruce forest in the Fichtelgebirge. However,
72 sampling of soil solution with suction cups or plates is expensive. Further,
73 maintenance and sampling are labour and time consuming. Therefore most
74 monitoring programs and studies concerning NO_3^- leaching are done with mostly
75 randomly distributed replicates of 5 to 10 suction cups or even less (Derome and
76 Expert-Panel-on-Soil 2002; Huber et al. 2010; Xu et al. 1998).

77 NO_3^- leaching has also been assessed by extracting NO_3^- from soil samples instead
78 of using suction cups (Mellert et al. 2008; Djurhuus and Jacobsen 1995). One
79 advantage of suction cups is that seepage water can be sampled directly and
80 repeatedly in situ from the soil. However, there are many advantages of using soil

81 samples: a) sampling equipment is cheap, b) samples can be taken immediately and
82 c) the low costs of sampling allows a high spatial resolution, which is important to get
83 a detailed information about spatial variability and d) the extraction of NO_3^- in the lab
84 with KCl, H_2O or CaCl_2 is easy to handle. A big disadvantage of soil samples is the
85 inevitable destructive sampling which does not allow the set up of time series at a
86 certain measuring spot. In few studies, which compared soil samples and suction
87 cups, a good agreement between calculated concentrations from NO_3^- content in the
88 soil and the measured concentration in seepage water was found (Djurhuus and
89 Jacobsen 1995; Mellert et al. 2008). However, direct comparisons between the two
90 sampling methods at identical sampling places are rare. To our knowledge at the
91 moment there are no studies about NO_3^- leaching available, which used the prior
92 information of soil NO_3^- content for a pre-selection of seepage water collection
93 places.

94 In this study we compared NO_3^- content in soil (determined by measuring water
95 extractable NO_3^-) and NO_3^- measured in suction cup solution at exact the same
96 sampling location with a high number of replications ($n=121$). With this dataset we
97 tested the hypothesis that a single soil extraction of NO_3^- before the installation of
98 suction cups can help to reduce the number of suction cups needed to get a precise
99 estimation of the NO_3^- mean in the following suction cup studies. Within this paper
100 the following major questions are addressed:

- 101 (1) How many replications (suction cups) are needed to estimate the mean NO_3^-
102 concentration at our nitrogen saturated forest plot doing random sampling for
103 different levels of precision?
- 104 (2) How strong is the correlation between NO_3^- in soil and NO_3^- in seepage water?
- 105 (3) Is it possible to use this correlation for reduction of replications while retaining
106 or even improving the precision of the NO_3^- mean?
- 107 (4) How many replications would be sufficient?
- 108 (5) Is it possible to calculate the mean NO_3^- concentration in seepage water
109 directly from the soil NO_3^- content?

110

111 **Materials and methods**

112

113 *Site description and research plot*

114

115 The “Höglwald” long-term ecological monitoring and experimentation site is located
116 about 50 km in the west of Munich (48°17’N; 11°04’E) at an elevation of 540 m asl..
117 The mean annual bulk precipitation between 1984 and 2008 was 920 mm and the
118 mean annual temperature was 8.0 °C, with 1050 mm/8.0°C in the year of the
119 investigation (2005). The region around Höglwald is characterised by a mix of
120 relatively small coniferous forests and intensive agriculture. The “Höglwald” is
121 considered as N saturated according to the definitions of Gundersen et al. (2006) and
122 Aber et al. (1989). The annual N input into the ecosystem by throughfall is about 30
123 kg ha⁻¹ a⁻¹, while output with seepage water is about the same amount (Rothe et al.
124 2002; Weis et al. 2007). The soil is an Alisol according to the FAO classification
125 (WRB-IUSS-Working-Group 2007) or a Parabraunerde according to the German soil
126 classification (AG-Boden 2005). It is derived from pleistocene loess over tertiary silty
127 sand. The topsoil is strongly acidified with a base saturation of less than 10 % in 40
128 cm depth and a pH of 3.7 (KCl). The mineral soil is covered by an organic layer (6-8
129 cm thick, typical moder). In the organic layer the base saturation of the cation
130 exchange capacity is rather high (40 % in the Oh, 80% in the litter layer) However,
131 pH values are extremely low with a minimum of 2.75 (KCl) in the O_h horizon. N
132 content in the organic layer is about 1.7 % and the C/N ratio of 23–27 indicates good
133 conditions for nutrient turnover. Soil texture ranges from loamy sand to sandy loam.
134 No coarse material (> 2 mm) is present in the mineral soil. A detailed description of
135 the Höglwald experimental site is given in (Kreutzer and Weiss 1998). The newly
136 installed plot for this NO₃⁻ study is located about 800 m in the south east of the
137 “control plot” A1 of the “Höglwald” site. More information about the plot can be found
138 in Kohlpaintner et al. (2009).

139

140 *Soil and seepage water sampling*

141

142 In April 2005 121 suction cups (tension ceramic lysimeters, SKL 100, UMS GmbH
143 München) were installed vertically in hand-augered holes in a 2x2 m grid in 40 cm
144 depth (from the start of the mineral soil). The plot size was 30x18 m. A rubber collar

145 was adjusted around the shaft of the suction cups at the level of the mineral soil to
146 prevent water flow along the shaft of the suction cup. After discarding the first
147 sample, soil solution was collected at least monthly between Mai and October 2005.
148 For this paper we used the NO_3^- concentrations in seepage water at the sampling
149 dates in April (SW1_{NO_3}), July (SW2_{NO_3}) and October (SW3_{NO_3}). A vacuum suction of
150 60 kPa was applied one week before the date of sampling collection. In the field the
151 glass bottles for soil water collection were covered by plastic buckets to reduce light
152 and temperature induced element turnover. After the installation the whole sampling
153 area was protected by a fence.

154 In the laboratory all seepage water samples were filtered using membrane filters with
155 a pore size of 0.45 μm (Schleicher and Schuell NC 45) and stored at 4 °C until they
156 were analysed within a week after collection.

157 During installation of the suction cups in April the soil was taken from the auger in 30
158 - 40 cm depth ($n=121$). This was exact the location where the ceramic body of the
159 suction cups were placed afterwards. The soil was dried immediately after sampling
160 at 45°C until no more weight loss could be detected.

161 The effect of soil drying on the NO_3^- content in soil samples was investigated in
162 October 2005. For this purpose soil samples were taken at 20 suction cup places,
163 which covered the whole previously detected concentration range of NO_3^- from 0 to
164 120 mg l^{-1} . The soil was taken in 30-40 cm depth directly around the ceramic body (in
165 a radius of 18 cm). Field moist soil samples were immediately stored at 4° C and
166 processed the next day. An aliquot of each soil sample was dried at 45° C for water
167 extracts and another aliquot was dried at 105° C to determine the actual water
168 content.

169 Deionised water was used to extract NO_3^- from the soil. Dry as well as the field moist
170 soil samples were extracted with water in a ratio of 1:5 (20 g soil and 100 g water).
171 The samples were shaken over night in 200 ml PE-bottles in a cooling chamber at 4°
172 C. The next day, after 1 h of sedimentation, they were decanted and filtered by using
173 membrane filters with a pore size of 0.45 μm (Schleicher and Schuell NC 45). NO_3^-
174 in the samples was measured within two days by ion chromatography. NO_3^- content
175 of dried and field moist soil was calculated as $\mu\text{g NO}_3^- \text{g}^{-1}$ dry soil, hereafter referred
176 to as $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$.

177 Soil samples from October were additionally analysed for particle/grain size
178 distribution and bulk density. Grain size was determined by the combination of

179 sieving and sedimentation. We used an aliquot of 20 g of dried soil which was
180 dispersed completely with natriumphosphat prior to sedimentation and sieving.
181 The bulk density was determined with 4 undisturbed soil cores (100 cm²) at each of
182 the 20 places which were dried at 105° C until no more weight loss could be
183 detected.

184 To investigate the implications of random sampling (RS) and sampling with
185 prestratification based on NO₃⁻ content in soil (PS) on the estimation of the arithmetic
186 mean value we simulated these sampling procedures with different numbers of
187 sampling places (n). This was possible as our original data set comprised 121
188 sampling spots where we had the information about NO₃⁻ in soil (Soil_{NO3}) and in
189 seepage water (Sw1-3_{NO3}) at exactly the same location.

190

191 *Simulation of Random Sampling (RS)*

192

193 RS is equivalent to the common practice of implementing suction cups randomly
194 across an investigation plot. We simulated this process for different numbers of
195 replications (n) to investigate the implications of the RS on the precision of the mean
196 value. This simulation was done with the bootstrap method (Efron 1979) for different
197 n from our existing combined seepage water/soil samples data set (n=121). This
198 method is a non parametric statistical procedure which does not require normal
199 distribution of the investigated data set. Bootstrapping is the creation of subsamples
200 by randomly drawing observations (x) from an original sample with replacement.
201 Replacement in this case means, that an observation (x) once drawn for the
202 subsample is not removed from the original sample and may be drawn again. Hence,
203 a certain observation (x) may be represented various times in the subsample. With
204 this method subsamples may be produced which have even higher n than the
205 original sample.

206 From each subsample the parameter of interest, in our case the mean value, can be
207 calculated. If this was done for 1000 subsamples the confidence interval of this
208 parameter can be estimated by simply looking at the respective percentiles
209 (Percentile Method, see (Efron and Tibshirani 1986). For the 95 % confidence
210 interval this would be the 2.5 percentile and the 97.5 percentile. In this paper we
211 used the bootstrapping for the estimation of 95% confidence intervals (95%-c.i.) for
212 n=5 up to n=300.

213

214 *Simulation of a pre-stratified sampling based on NO₃⁻ content in soil samples (PS)*

215

216 As important prerequisite for preselection of suction cup places with soil sampling is
217 a high correlation between NO₃⁻ in soil and in seepage water. Our aim was to
218 estimate the mean value with adequate precision but reduced number of replications
219 on the one hand and to represent the distribution of the originally sampled population
220 (n=121) on the other hand. Therefore we arranged the original data set according to
221 ascending values of Soil_{NO₃}. After this we divided the data into groups of equal size
222 according to the investigated n (5, 10, 15, 20, 30 and 40). Because the original
223 sample size was n=121 the last group always contained one observation more than
224 the others. 1000 subsamples were created for each n by randomly drawing one data
225 record (which contained Soil_{NO₃} as well as Sw1-3_{NO₃} of the respective sampling
226 place) out of each group. Analogous to the random sampling we calculated the mean
227 of each subset (for Soil_{NO₃} and Sw1-3_{NO₃} respectively) and estimated the 95%
228 confidence interval by choosing the 2.5 and 97.5 Percentiles of the 1000
229 subsamples. The advantage of an ascending arrangement with subsequent
230 generation of groups is a good representation of the distribution of the measured
231 values. In NO₃⁻ content ranges where the density of observations is high, more
232 sampling spots are selected than in ranges where observations are scarce (see also
233 Fig. 1).

234

235 Fig. 1

236

237 The bootstrap samplings were performed with the function “sample” in the R-
238 package. The random selection out of the prestratified groups was done by a routine
239 which we developed within the software package R (RDevelopmentCoreTeam 2007).
240 All other statistical work was performed with the software package SPSS 17.0.

241

242 *Calculation of NO₃⁻ concentration in seepage water from soil NO₃⁻ content*

243

244 To calculate the NO₃⁻ concentration in seepage water (SW_{calc}) from Soil_{NO₃} we used
245 the formula:

246 **(F1) SW_{calc} [mg l⁻¹] = (Soil_{NO₃} [µg g⁻¹] x bulk density [g cm⁻³])/H₂O_{fc} [vol.%]**

247

248 Where $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ is the NO_3^- content in soil and $\text{H}_2\text{O}_{\text{fc}}$ [vol%] is the volumetric water content
249 at field capacity.

250 To estimate the $\text{H}_2\text{O}_{\text{fc}}$ [vol%] we determined the average bulk density and the medium
251 grain size distribution of the sample area at the 20 sampling places from the October
252 soil sampling at 40 cm depth. Bulk density was 1.57 g cm^{-3} and the mineral soil
253 consisted of 58.6% sand, 29.8% silt and 11.6% clay. Soil texture was between loamy
254 sand (SI3 with a clay content <12% and very loamy sand (SI4 with a clay content
255 >12%) according to AG-Boden (2005). With the information about bulk density and
256 soil texture we estimated the $\text{H}_2\text{O}_{\text{fc}}$ [vol%] from Table 70 in AG-Boden (2005) to 29 %.
257 $\text{H}_2\text{O}_{\text{fc}}$ [vol%] was replaced by the actual water content in the case of NO_3^- calculation
258 in Figure 4c.

259 For comparing NO_3^- in dried and field moist soil samples from the October sampling
260 and calculated and measured NO_3^- concentrations in seepage water we used the
261 Wilcoxon test for paired samples. Levels of significance are indicated by asterisks: *
262 $\alpha < 0.05$, ** $\alpha < 0.01$ and *** $\alpha < 0.001$.

263

264 **Results**

265

266 *Descriptive statistics*

267

268 Mean NO_3^- content in soil samples ($\text{Soil}_{\text{NO}_3}$) taken during the installation of the 121
269 suction cups was $6.36 \mu\text{g NO}_3^- \text{ g}^{-1}$ soil (Table 1). The mean NO_3^- concentration in
270 seepage water at the first sampling in April (Sw1_{NO_3}) was 35.15 mg l^{-1} . It declined to
271 32.02 mg l^{-1} in July (SW2_{NO_3}) and to 21.73 mg l^{-1} in October (SW3_{NO_3}). The medians
272 of all samples were between 21 and 33% lower than the means. The ranges between
273 the maximum and the minimum values were up to 4 to 5.5 times higher than the
274 respective mean value. $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ and $\text{SW1-3}_{\text{NO}_3}$ showed right skewed distributions (see
275 also Fig. 1) with skewness values from 2.48 to 1.74. Standard deviations were almost
276 as high as the respective mean value in the case of SW3_{NO_3} even higher. All samples
277 showed a similar high coefficient of variance between 0.8 and 1.10 which indicates a
278 high spatial variability which was already described by Kohlpaintner et al. (2009).

279

280 Table 1

281
282 SW1-3_{NO3} showed highly significant positive linear correlation with Soil_{NO3}. It was
283 highest for the first sampling in April ($r=0.96^{***}$) and still 0.69^{***} six months after
284 suction cup implementation (SW3_{NO3}) (Table 1). This was a prerequisite to test our
285 Hypothesis that a prestratification of sampling places based on Soil_{NO3} can improve
286 the estimation of seepage water NO_3^- .

287
288 *Implications of Random sampling (RS)*

289
290 After the simulation of random sampling (RS) with the bootstrap method we
291 determined the 95% confidence intervals (95%-c.i.) for each investigated numbers of
292 replications (n). With the actual sample size of 121 the 95%-c.i. of the Sw1_{NO3} is 30.5
293 to 40.3 mg $\text{NO}_3^- \text{ l}^{-1}$. This range is equal to deviations of +15 to -13 % of the measured
294 mean of all 121 samples. For Soil_{NO3} the 95% c.i. was 5.5 to 7.5 $\mu\text{g N g}^{-1}$ which is
295 equal to +18 to -16 % of the measured sample mean (Table 1). To be able to
296 compare the different samples (Soil_{NO3} and Sw1-3_{NO3}) in the following we will only
297 present the 95%-c.i. as % deviation from the sample mean calculated from the
298 respective 121 sampling places, hereafter referred to as “mean121”

299
300 Lines of 95%-c.i. for different n were similar for Soil_{NO3} and Sw1_{NO3} but were wider for
301 SW3_{NO3} (Fig. 2). The 95%-c.i. for SW2_{NO3} was very similar to SW1_{NO3} and therefore
302 not presented. To achieve confidence intervals smaller than +-10% from the 121-
303 mean about 250 to 300 replications and even more (SW3_{NO3}) are needed. For a
304 maximum deviation from the mean121 of less than +-20% at least 60 sampling
305 places are required. For Soil_{NO3} and SW3_{NO3} even more (80 and 121 respectively)
306 replications are necessary. Working with 5 or 10 sampling places at our nitrogen
307 saturated forest plot leads to high uncertainties. Here the 95%-c.i. exceeds +-40 % of
308 the original sample mean by far and goes up to deviations of 100% and even more
309 (Soil_{NO3} and SW3_{NO3}).

310
311 Figure 2:

312
313 *Sampling with prestratification based on NO_3^- content in soil samples (PS)*

314

315 Figure 1 shows a histogram of Soil_{NO₃} and an example of a prestratified sampling for
316 n=10. It is shown that with this method the original distribution of the sample is well
317 reproduced. At least 6 values are drawn from the range of 2 to 6 µg NO₃⁻ g⁻¹ soil
318 where the number of observations is highest. In contrast, from the much wider range
319 of 8 to 32 µg which contains considerably fewer observations only 3 values are
320 selected.

321 For the PS method the accuracy of the mean estimation could be improved for all
322 seepage water samplings. The lines of the 95%-c.i. for the mean value are much
323 narrower compared to the random sampling (Fig. 3). E.g. for SW_{1NO₃} the 95%-c.i.
324 could be reduced by about 75% for n=20, 30 and 40 respectively by using PS. For
325 SW_{2NO₃} the reduction was still 54-62% for the same numbers of replication. The PS
326 has still advantages 6 months after the selection of the suction cup places. The
327 95%c.i. for SW_{3NO₃} are 30-39% smaller for n=20, 30 and 40. For the PS for SW_{1NO₃}
328 with 15 suction cups a narrower 95%-c.i. was achieved then for the original sample
329 size of n=121 (+10 to -14 % compared to +15 to -13 %).

330 To achieve 95%-c.i. below +/-10 % of the mean121 at least 20 (SW_{1NO₃}), 30
331 (SW_{2NO₃}) and far more then 40 (SW_{3NO₃}) replications are needed, while 95%-c.i. with
332 a maximum of +/-20 % are reached with 10 (SW_{1NO₃}), 15 (SW_{2NO₃}) and 40 (SW_{3NO₃})
333 sampling places.

334 Implementing the PS method into practice we would have of course no prior
335 information of seepage water data available to decide how many suction cups would
336 result in a precise mean value. A raw estimate of the required n is given by the PS of
337 Soil_{NO₃}. The confidence intervals here are very similar to the PS of SW_{1NO₃}. To
338 achieve 95%-c.i. not wider than +/-20 % from the mean121 for the soil as well as for
339 the seepage water sampling we would need 10 sampling places and for 95%-c.i.
340 smaller than +/-10 % in both cases we would need 20 sampling spots (Fig. 3).

341

342 Figure 3:

343

344 *Calculation of NO₃⁻ concentration in seepage water from soil NO₃⁻ content*

345

346 The scatter plot in Figure 4a shows a comparison between the measured NO₃⁻
347 concentration in seepage water in April (n=121) and values calculated with formula
348 F1 from the respective NO₃⁻ contents in soil samples. Most of the points are close to

349 the 1:1 line. This means that NO_3^- in seepage water was adequately estimated by the
350 calculation. If we compare the statistical values of the measured (SW1_{NO_3}) and the
351 calculated concentrations ($\text{SW}_{\text{calc}_{\text{NO}_3}}$) the differences are small (Table 1). The mean
352 of the sampled seepage water was 35.15 mg l^{-1} and 34.4 mg l^{-1} for calculated
353 concentrations which is only 2 % lower. No statistical difference between calculated
354 and measure concentration was detected. The median and the minimum value of the
355 calculated concentrations were also slightly lower, while other statistical values like
356 the standard deviation and the total concentration range were higher. Coefficient of
357 variance, skewness, and kurtosis were of course the same as for $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$.

358

359 Figure 4

360

361 *Field moist vs. dried soil samples*

362

363 With the 20 soil samples taken in October 2005 and the respective seepage water
364 samples we investigated the effect of drying soil prior to NO_3^- extraction with water.
365 NO_3^- content in dried soil samples (mean = $7.73 \mu\text{g g}^{-1}$ dry weight) was significantly
366 higher ($p=0.002$) compared to nitrate content in field moist soil samples (mean = 6.34
367 $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight). Compared to the measured mean NO_3^- concentration in the 20
368 suction cups (34.9 mg l^{-1}), concentrations calculated from dried soil sample content
369 on the moisture basis of field capacity were significantly higher (mean = 41.8 mg l^{-1})
370 but highly correlated ($r=0.95^{***}$). The overestimation is already indicated, because
371 most of the points in the scatter plot are on the right side of the 1:1 line (Figure 4b). In
372 contrast concentrations calculated from NO_3^- content determined in field moist soil
373 samples showed no significant difference to NO_3^- concentration in seepage water, no
374 matter whether calculation was done on the basis of actual water content (mean =
375 37.44 mg l^{-1}) or on the basis of field capacity (mean = 34.25 mg l^{-1}). Correlations with
376 measured seepage water NO_3^- were also higher ($r=0.99^{***}$). Plotted against the
377 concentrations found in suction cup solution the calculated values fitted very well to
378 the 1:1 line (Figure 4c and 4d).

379 These results suggests that at our N saturated plot NO_3^- concentration in seepage
380 water may be calculated from NO_3^- contents in soil determined by water extractable
381 NO_3^- from field moist soil samples (under the assumption of field capacity).

382

383 **Discussion**

384

385 At our plot of 30 x 18 m variation of NO_3^- in soil and seepage water was extremely
386 high. A concentration range from 2 to almost 139 $\text{mg NO}_3^- \text{ l}^{-1}$ was found at the first
387 seepage water sampling. Similar heterogeneity was reported for other plots at this
388 site (Huber et al. 2010). Mellert et al. (2008) and Manderscheid and Matzner (1995)
389 detected similar variability at larger scales in N-saturated norway spruce stands. A
390 high variability of NO_3^- in N-saturated ecosystems makes it difficult to estimate mean
391 values of this parameter with an adequate precision. In addition, a high variability of
392 NO_3^- is also responsible for a high variability of cations concentrations (e.g. Al^{3+} ,
393 Ca^{2+} , Mg^{2+}), which are leached in association with NO_3^- (Huber et al. 2010).
394 Therefore, a lack of a precise NO_3^- mean value leads also to a lack of precise flux
395 estimations for NO_3^- and other ions in seepage water.

396

397 *NO_3^- mean and randomly selected replications*

398

399 Most studies and monitoring programs are working with low numbers of randomly
400 selected sampling places. Five to 10 suction cups per sampling depth and plot are
401 usual, even at intensively investigated sites like Höglwald (Huber et al. 2010) or
402 Solling (Xu et al. 1998). Generally, at forest monitoring sites even lower numbers of
403 suction cups have been used, e.g ICP level II monitoring sites (Derome and Expert-
404 Panel-on-Soil 2002).

405 At our N-saturated plot the 95%-c.i. for less than 10 suction cups in the RS
406 simulations has wide ranges which deviate far more than +/- 40% of the original
407 sample mean. To achieve confidence intervals which do not deviate more than +/-
408 20% from the sample mean 60 to 120 suction cups would be necessary. This shows
409 that the potential errors in estimating NO_3^- concentration in seepage water are high
410 when using low numbers of randomly implemented samplers.

411 As equipment and sampling is expensive, an optimized sampling strategy would
412 greatly increase the precision of these concentration and flux estimations. A pre-
413 selection of potential suction cup spots with prior soil analysis could be a cost
414 effective strategy to optimize the number of suction cups.

415

416 *Correlation between NO_3^- concentration in seepage water and NO_3 content in soil*

417

418 An important prerequisite for the suitability of soil samples as pre-selection method is
419 a high correlation between the concentration in seepage water and NO_3^- content in
420 soil. The correlation found between $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ and SW1_{NO_3} in this study was high and
421 significant ($r=0.96^{***}$, Table 1). The coefficient of variance and the skewness for NO_3^-
422 in soil and seepage water were similar. This underlines the suitability of soil sampling
423 to detect spatial variability and distribution of NO_3^- concentration in seepage water.
424 Good, but lower correlation between NO_3^- in soil and in suction cup solution collected
425 at identical sampling places were also found by Evers et al. (2002) who compared
426 different forest sites in their study.

427 Due to this good correlation soil sampling also could be used for the detection of
428 spatial dependencies. At our plot we found hotspots with high NO_3^- concentrations
429 involving three to more than ten suction cups and an overall spatial dependence in
430 the range of 10 m (Kohlpaintner et al. 2009). This spatial dependence has to be
431 considered when choosing sampling designs, as spatially correlated samples
432 influence the precision of the mean.

433

434 *Pre-selection of suction cup spots using NO_3^- content in soil samples*

435

436 Figure 2 shows that a pre-selection of sampling places based on NO_3^- content in soil
437 samples greatly improves the accuracy of the mean NO_3^- concentration in seepage
438 water. The lines of the 95%-c.i. are much narrower than for the same numbers of
439 randomly selected sampling places. The fact, that the accuracy of the mean
440 estimation of 15 suction cups selected with the RS is higher than with 121 randomly
441 selected sampling places shows the high potential to improve the estimation of NO_3^-
442 concentration in seepage water using soil samples for a prestratification.

443 An additional advantage of the here proposed PS procedure is the reproduction of
444 the original distribution. Figure 2 shows that values from ranges which include more
445 observations are more frequently represented in the PS-subsample.

446 Comparing $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ and SW1_{NO_3} there is not much difference between the ranges of
447 the intervals for the PS. Hence the simulation of a stratified sampling with NO_3^-
448 content in soil may act as a template. From this simulation one can derive how many
449 sampling places are needed to estimate NO_3^- in seepage water with a certain
450 accuracy. At the Höglwald site we would need between 10 and 20 suction cups to get

451 a more or less precise estimate of NO_3^- in seepage water when using the PS method.
452 This is a realistic number for seepage monitoring in respect to cost and labour effort.
453 For other sites the same method may be useful to estimate the number of needed
454 replications. It improves precision on the one hand and it helps to save costs on the
455 other hand. In all cases the number of replications must be adjusted to the site
456 specific spatial heterogeneity of NO_3^- in seepage water.

457

458 *Estimating the NO_3^- concentration in seepage water directly from the soil NO_3^-*
459 *content*

460

461 In our study it was possible to estimate the mean value of NO_3^- concentration in
462 seepage water using $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$. Table 1 shows that the mean value of the calculated
463 concentration (34.4 mg l^{-1}) and the measured mean concentrations are very similar
464 (35.15 mg l^{-1}). Most of the points in the scatter plot in Figure 4a are near to the 1:1
465 line. For the October soil sampling fits were even better. Higher correlations were
466 achieved with field moist soil (Fig. 4c and 4d) compared to dried soil samples. The
467 drying process at that date may have caused additional mineralization, nitrification
468 and/or volatilization of different N compounds which resulted in different NO_3^-
469 contents compared to the field moist soil samples.

470 Djurhuus and Jakobsen (1995) found no significant differences between NO_3^-
471 concentration in water sampled with suction cups and concentrations calculated from
472 soil samples extracted by KCl in sandy soils of arable fields. Mellert et al. (2008) and
473 Gensior et al. (2003) also found a good agreement between the two methods at
474 different Bavarian forest sites. But these studies did not sample seepage water and
475 soil at the same spots. In contrast, Evers et al. (2002) sampled at identical spots.
476 They found good correlations (r between 0.83 and 0.90) between NO_3^- in seepage
477 water and NO_3^- in soil extracted with different extraction methods (KCl, equilibrium
478 soil solution and water extracts). However, calculated NO_3^- concentrations were
479 significantly higher (up to twice as high) compared to NO_3^- in suction cups.
480 Correlation as well as calculation was best for field moist processed soil samples. As
481 possible reasons for the higher calculated concentrations from soil samples they
482 suggested the additional dissolution of NO_3^- from soil aggregates and micro pores
483 which are destroyed by the sampling and extraction methods. This NO_3^- fraction is
484 not captured by suction cups because they only sample water from meso and macro

485 pores. Mineralization and nitrification processes during sampling, storage and
486 extraction may have similar effects.

487 Blattner et al. (2000), Augustin and Hildebrand (2001) and Schack-Kirchner (2005)
488 found higher NO_3^- concentrations in desorption solution compared to lysimeter
489 solution. They attributed this to the sampling of water from different pore sizes for the
490 two methods. While the lysimeters collect mainly fast draining water, the desorption
491 solution consists mainly of water from meso to micro pores. Nissinen (2000)
492 postulated that the interchange between micro pore water and more rapidly flowing
493 macro pore and meso pore water is limited.

494 Higher NO_3^- concentrations compared to lysimeter solution were also reported in
495 centrifugated soil extracts (Zabowski and Ugolini 1990; Ludwig et al. 1999; Ranger et
496 al. 2001). In these papers also the different pore sizes and mineralization processes
497 during centrifugation were discussed as possible reasons for the detected
498 differences. During the water extraction aggregates were destroyed (agitation over
499 12 h) and NO_3^- was released also from the meso and micro pores. A difference in
500 NO_3^- concentration between fast draining water and micro pore water will inevitable
501 result in differences between the calculated concentrations from field moist soil
502 samples and lysimeter solutions (Evers et al. 2002; Alberts et al. 1977). For the
503 Höglwald site this problem may be of lower relevance due to the relatively low clay
504 content (around 12%) and therefore a lower meso and micro pore fraction compared
505 to clay rich soils. Schack-Kirchner et al. (2005) detected highest differences between
506 seepage water and desorption solution in soils developed from jurassic limestone,
507 smaller differences for soils developed from loess and lowest differences from soils
508 developed from sandstone. This suggests that the differences may be caused by
509 different clay contents, causing different pore size distribution. At a lower clay
510 contents the difference between desorption and lysimeter solution was smaller.
511 However, also a seasonal variability in meso pore and micro pore water may play an
512 important role. These seasonal differences may be the reason that dried soil samples
513 delivered a good estimate for the April sampling but overestimated the concentration
514 in seepage water significantly in October. Nevertheless due to the better correlation
515 we recommend the use of field moist soil samples for the preselection of spots for the
516 installation of soil solution samplers.

517

518 *Suggestions for field studies and monitoring programs*

519

520 We suggest the following procedure for the preselection of suction cup places:

521

522 (1) Collection of soil samples at the depth of installation with a high number of
523 replications at the potential suction cup locations. Soil is taken with the
524 same soil auger used for the installation of suction cups. The holes can be
525 covered with placeholders (wooden or plastic stick) that have the size of
526 the suction cups until the selection process is finished.

527 (2) Determination of NO_3^- content in the soil by water extraction of field moist
528 soil samples (stored at low temperature and processed the day after
529 sampling).

530 (3) Calculation of descriptive statistics, characterization of the distribution, and
531 check if the number of soil samples is high enough to represent the spatial
532 variability of NO_3^- content in soil.

533 (4) Optionally, with geostatistical analysis (semivariograms) information about
534 optimal sampling distances can be achieved (Kohlpaintner et al. 2009;
535 Mellert et al. 2008). Spatial dependencies between sampling places should
536 be avoided.

537 (5) Application of the PS method to the whole $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ sample for different n.
538 Calculation of the 95%-c.i. for each n. Choosing n according to the desired
539 accuracy.

540 (6) Selection of one subsample which represents the original sample mean
541 well. Installation of suction cups at the selected sampling places and
542 seepage water collection.

543 (7) Test of the correlation between NO_3^- in seepage water samples and the
544 NO_3^- content measured in soil at the selected places.

545

546 If the number of soil solution samplers is restricted, points 5 and 6 can be simplified
547 by: i) an ascending arrangement of the $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ values and ii) the partitioning of the
548 values into groups according to the available number of soil solution samplers and iii)
549 finally the selection of the sampling places, which represent the median of each
550 group.

551

552 Further, it may be tested if NO_3^- concentration in seepage water can be calculated
553 from soil NO_3^- content. If this is the case, it is possible to verify after a certain time
554 step (one or two years), if the selected sampling places still represent the mean value
555 off the plot/area. As there is also a temporal variability of NO_3^- concentration in
556 seepage water in N-saturated forests (Kohlpaintner et al. 2009) repeated soil
557 sampling may be a good tool for the cross validation of the actual selected sampling
558 spots.

559

560

561 **Conclusions**

562

563 This study shows that the soil NO_3^- content is an appropriate measure to improve the
564 estimation of mean NO_3^- concentration in seepage water of N-saturated forest
565 ecosystems. Costs of soil sampling and analysis procedures are low and the gain of
566 additional Information is high. With this parameter it is possible to estimate the
567 variability of NO_3^- in soil solution of the investigated area and the pre-selection of
568 sampling places improves the estimation of the mean NO_3^- concentration in seepage
569 water considerably. With the PS method the number of replications needed for a
570 precise mean estimation can be estimated. This should be done for every single site
571 according to its inherent variability of NO_3^- in soil solution. In our case it was even
572 possible to calculate the NO_3^- concentration in seepage water from the content in
573 soil. This possibility should be tested also for other sites with different soil, climatic,
574 stand and N-deposition characteristics. The applications of these findings in field
575 studies and monitoring programs, e.g. the Level II plots, will help to improve the
576 precision of the estimation of NO_3^- concentration in seepage water. This helps to
577 enhance the quality of flux calculations and environmental risk assessments
578 concerning NO_3^- losses from forested ecosystems.

579

580 **Acknowledgements**

581 The authors thank the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) for funding the
582 presented investigation. Furthermore we would like to thank Manuela Theobald,
583 Christine Pfab, Verena Rotter, Rita Heibl, Wolfgang Petrik, Daniel Glaser and
584 Wendelin Weis for support during the plot installation and for performing the
585 laboratory analysis.

586

587 **References**

588

- 589 Aber J, McDowell W, Nadelhoffer K, Magill A, Berntson G, Kamakea M, McNulty S,
590 Currie W, Rustad L, Fernandez I (1998) Nitrogen saturation in temperate
591 forest ecosystems - Hypotheses revisited. *Bioscience* 48 (11):921-934
- 592 Aber JD, Nadelhoffer KJ, Steudler P, Melillo JM (1989) Nitrogen Saturation in
593 Northern Forest Ecosystems. *Bioscience* 39 (6):378-386
- 594 AG-Boden (2005) Bodenkundliche Kartieranleitung. 5. Aufl. edn. Bundesanstalt für
595 Geowissenschaften und Rohstoffe in Zusammenarbeit mit den Staatlichen
596 Geologischen Diensten der BRD, Hannover
- 597 Alberts EE, Burwell RE, Schuman GE (1977) Soil Nitrate-Nitrogen Determined by
598 Coring and Solution Extraction Techniques. *Soil Sci Soc Am J* 41 (1):90-92
- 599 Augustin S, Hildebrand EE (2001) Die Desorption feldfrischer Bodenproben zur
600 Gewinnung der Bodenlösung: Vergleich mit Lysimeterlösungen. *Berichte der*
601 *Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 96 (2):395-396
- 602 Blattner MS, Augustin S, Schack-Kirchner H, Hildebrand EE (2000) The desorption
603 solution - an alternative approach to measure water soluble ions in soils. *J*
604 *Plant Nutr Soil Sci-Z Pflanzenernähr Bodenkd* 163 (6):583-587
- 605 Derome J, Expert-Panel-on-Soil (2002) Submanual on soil solution collection and
606 analysis. ICP forest manual part IIIb. International Co-operative Programme
607 (ICP) on Assessment and Monitoring of Air Pollution Effects on Forests,
- 608 Djurhuus J, Jacobsen OH (1995) Comparison of Ceramic Suction Cups and KCl
609 Extraction for the Determination of Nitrate in Soil. *European Journal of Soil*
610 *Science* 46 (3):387-395
- 611 Efron B (1979) 1977 Rietz Lecture - Bootstrap Methods - Another Look at the
612 Jackknife. *Annals of Statistics* 7 (1):1-26
- 613 Efron B, Tibshirani R (1986) Bootstrap methods for standard errors, confidence
614 intervals, and other measures of statistical accuracy. *Statistical Science* 1
615 (1):54-77
- 616 Evers J, König N, Wolff B, Meiwes KJ (2002) Vorbereitung der Zweiten
617 Bodenzustandserhebung im Wald - Untersuchungen zur Laboranalytik,
618 Stickstoffbestimmung und zeitlichen Variabilität bodenchemischer Parameter.
619 Niedersächsische Forstliche Versuchsanstalt i. A. des Bundesministerium für
620 Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL), Göttingen
- 621 Gensior A, Kölling C, Mellert KH (2003) Die Nitratinventur in Bayern - Methodik und
622 Ergebnisse. *Freiburger Forstliche Forschung* 49:101-103
- 623 Göttlein A, Stanjek H (1996) Micro-scale variation of solid-phase properties and soil
624 solution chemistry in a forest podzol and its relation to soil horizons. *European*
625 *Journal of Soil Science* 47 (4):627-636
- 626 Gundersen P, Schmidt IK, Raulund-Rasmussen K (2006) Leaching of nitrate from
627 temperate forests - effects of air pollution and forest management.
628 *Environmental Reviews* 14 (1):1-57
- 629 Huber C, Aherne J, Weis W, Farrell EP, Göttlein A, Cummins T (2010) Ion
630 concentrations and fluxes of seepage water before and after clear cutting of
631 Norway spruce stands at Ballyhooly, Ireland, and Höglwald, Germany.
632 *Biogeochemistry* DOI: 10.1007/s10533-010-9459-9
- 633 Kohlpaintner M, Huber C, Weis W, Göttelein A (2009) Spatial and temporal variability
634 of nitrate concentration in seepage water under a mature Norway spruce

635 Picea abies (L.) Karst stand before and after clear cut. Plant Soil 314 (1-
636 2):285-301

637 Kreutzer K, Weiss T (1998) The Hoglwald field experiments - aims, concept and
638 basic data. Plant Soil 199 (1):1-10

639 Ludwig B, Meiwes KJ, Khanna P, Gehlen R, Fortmann H, Hildebrand EE (1999)
640 Comparison of different laboratory methods with lysimetry for soil solution
641 composition - experimental and model results. J Plant Nutr Soil Sci-Z
642 Pflanzenernähr Bodenkd 162 (3):343-351

643 Manderscheid B, Matzner E (1995) Spatial and Temporal Variation of Soil Solution
644 Chemistry and Ion Fluxes through the Soil in a Mature Norway-Spruce (Picea-
645 Abies (L) Karst) Stand. Biogeochemistry 30 (2):99-114

646 Manderscheid B, Matzner E (1995) Spatial heterogeneity of soil solution chemistry in
647 a mature Norway spruce (Picea abies (L) Karst) stand. Water Air Soil Pollut 85
648 (3):1185-1190

649 Mellert KH, Gensior A, Gottlein A, Kolling C, Rucker G (2008) Variation in soil nitrate
650 concentrations in two n-saturated norway spruce forests (Picea abies (L.)
651 karst.) in southern Bavaria. Water Air Soil Pollut 187 (1-4):203-217

652 Nissinen A, Kareinen T, Tanskanen N, Ilvesniemi H (2000) Apparent cation -
653 Exchange equilibria and aluminium solubility in solutions obtained from two
654 acidic forest soils by centrifuge drainage method and suction lysimeters.
655 Water Air Soil Pollut 119 (1-4):23-43

656 Ranger J, Marques R, Jussy JH (2001) Forest soil dynamics during stand
657 development assessed by lysimeter and centrifuge solutions. Forest Ecology
658 and Management 144 (1-3):129-145

659 RDevelopmentCoreTeam (2007) R: A Language and Environment for Statistical
660 Computing. 2.5.0 edn. R Foundation for Statistical Computing, Vienna

661 Rothe A, Huber C, Kreutzer K, Weis W (2002) Deposition and soil leaching in stands
662 of Norway spruce and European Beech: Results from the Hoglwald research
663 in comparison with other European case studies. Plant Soil 240 (1):33-45

664 Rothe A, Mellert KH (2004) Effects of forest management on nitrate concentrations in
665 seepage water of forests in southern Bavaria, Germany. Water Air Soil Pollut
666 156 (1-4):337-355

667 Schack-Kirchner H, Wöhrle N, Hildebrand EE Die Desorptionslösung zur
668 Bestimmung der Sickerwasserzusammensetzung in heterogenen
669 Waldgebieten. In: Baden-Württemberg FFdUFaFV-uF (ed)), Wasservorsorge
670 in bewaldeten Einzugsgebieten, 2005.

671 Weis W, Baier R, Huber C, Gottlein A (2007) Long Term Effects of Acid Irrigation at
672 the Höglwald on Seepage Water Chemistry and Nutrient Cycling. Water, Air, &
673 Soil Pollution: Focus 7 (1-3):211-223

674 Weis W, Rotter V, Gottlein A (2006) Water and element fluxes during the
675 regeneration of Norway spruce with European beech: Effects of shelterwood-
676 cut and clear-cut. Forest Ecology and Management 224 (3):304-317

677 WRB-IUSS-Working-Group (2007) World Reference Base for Soil Resources 2006.
678 1st update 2007, FAO, World Soil Resources Reports 103, Rome

679 Xu YJ, Blanck K, Bredemeier M, Lamersdorf NP (1998) Hydrochemical input-output
680 budgets for a clean rain and drought experiment at Solling. Forest Ecology
681 and Management 101 (1-3):295-306

682 Zabowski D, Ugolini FC (1990) Lysimeter and Centrifuge Soil Solutions - Seasonal
683 Differences between Methods. Soil Sci Soc Am J 54 (4):1130-1135

684

685

Figure 1: Histogram of soil NO₃⁻ content (Soil_{NO3}) and an example for the selection of 10 sampling places with a prestratified sampling (PS). Right upper side: ascending arrangement of Soil_{NO3} values and prestratification of 10 groups with n=12 each. From each group one value was drawn randomly to create a subset of n=10 (black rhombuses).

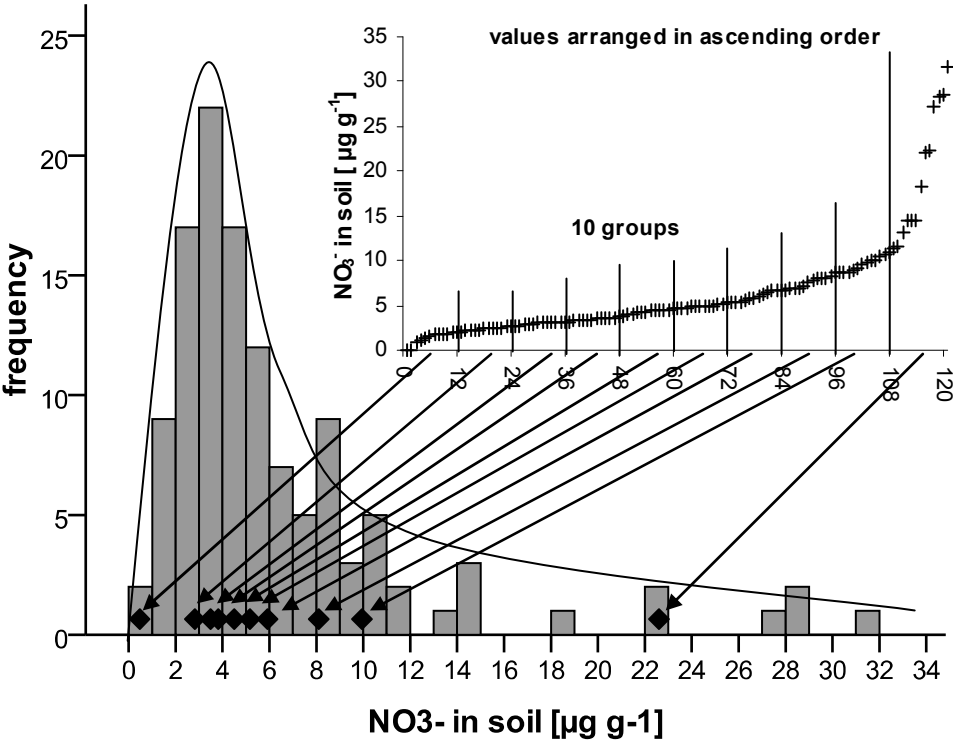


Figure 2: Lines of 95% confidence intervals (displayed as % deviation from the measured 121- mean) for random sampling (RS) estimated from 1000 bootstrap samples and for different numbers of replications for Soil_{NO3}, and SW1_{NO3} and SW3_{NO3}.

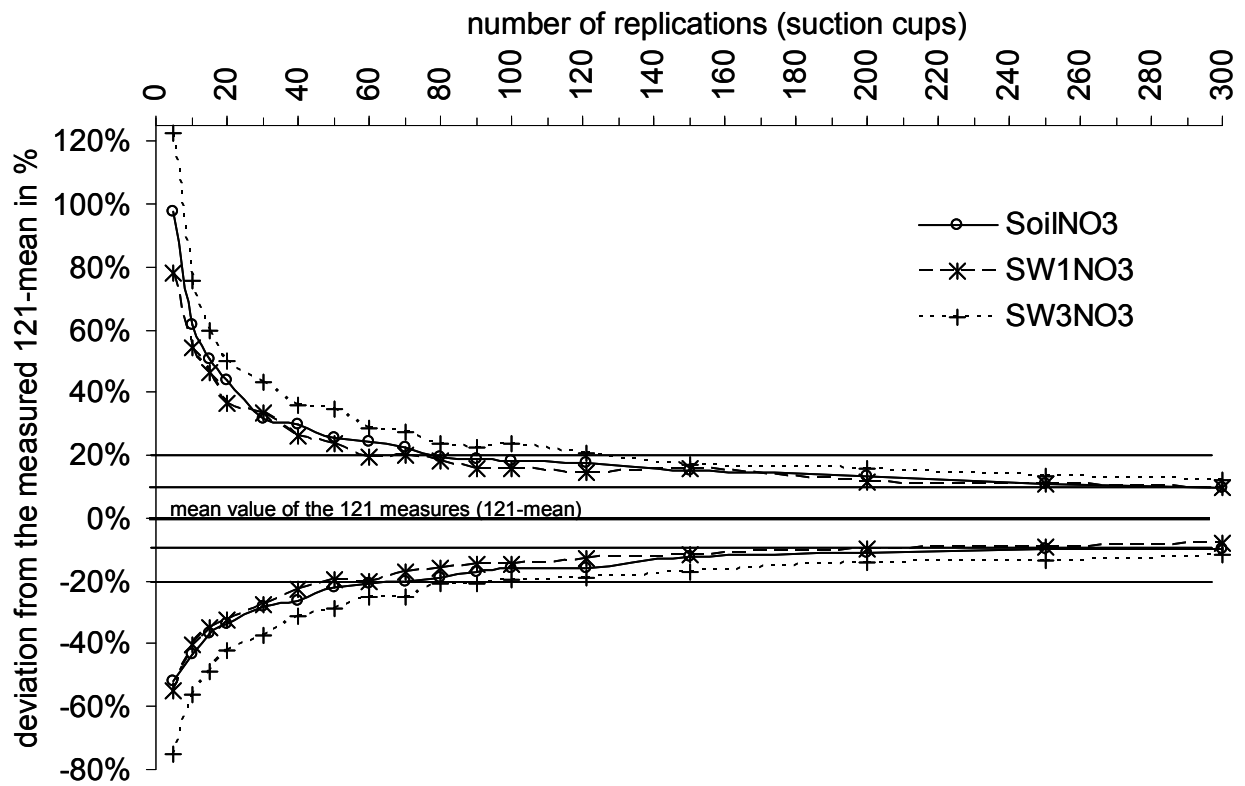


Figure 3: Lines of 95% confidence intervals (displayed as % deviation from the measured 121- mean) for random sampling (RS) and prestratified sampling (PS) based on NO_3^- content in soil for soil samples ($\text{Soil}_{\text{NO}_3}$), and seepage water samples in April (SW1_{NO_3}), July (SW2_{NO_3}) and October (SW3_{NO_3}).

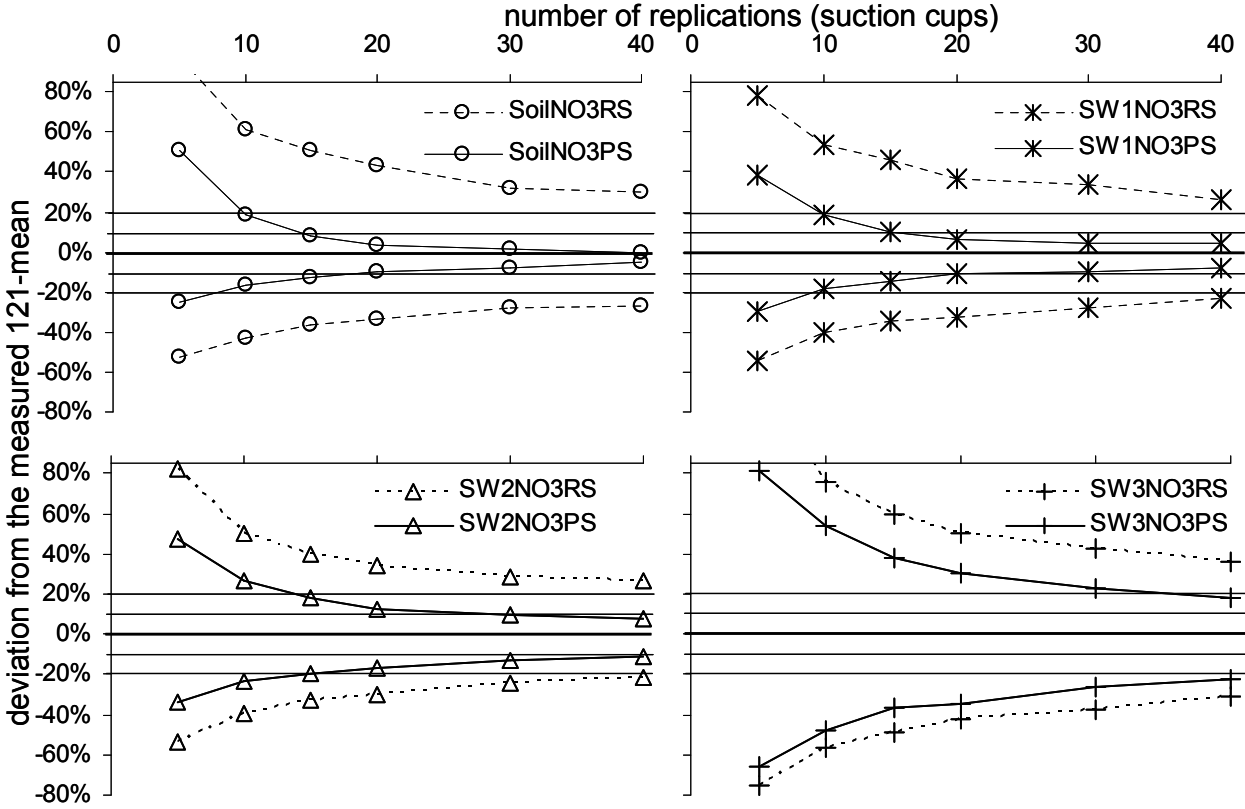


Figure 4: Scatter plot of the NO_3^- concentration measured in seepage water and concentrations calculated from the NO_3^- content of dried and/or field moist soil samples under the assumption of field capacity or actual water content.
 a) Seepage water and soil sampling in April; b) to c) Seepage water and soil sampling in October.

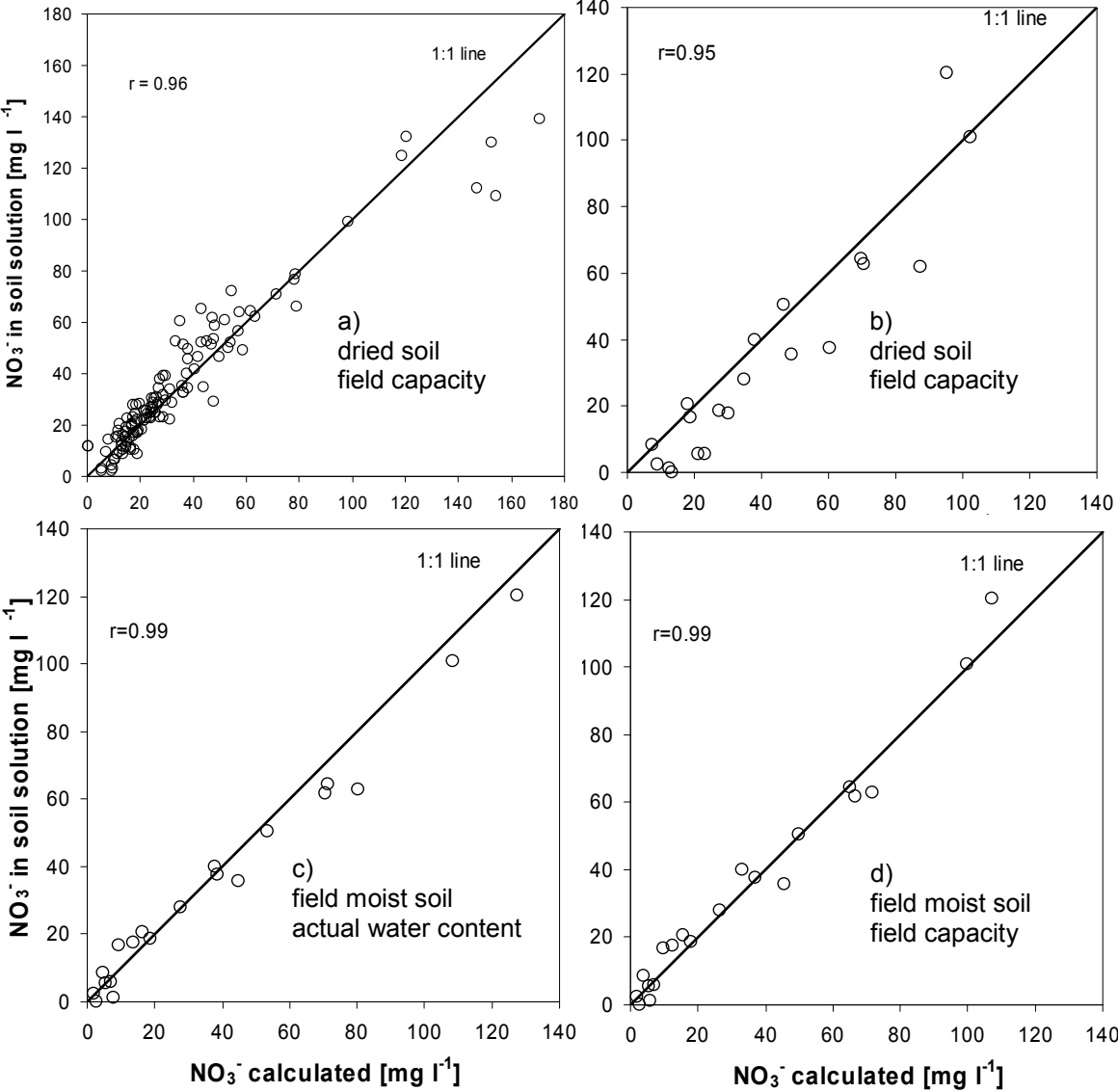


Table 1: Descriptive statistics of the NO_3^- content in soil samples ($\text{Soil}_{\text{NO}_3}$) and NO_3^- concentration in seepage water in April (SW1_{NO_3}), July (SW2_{NO_3}) and October (SW3_{NO_3}), and nitrate concentration calculated from $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ ($\text{SWcalc}_{\text{NO}_3}$); 95%c.i. = 95% confidence interval of 1000 bootstrap samples ($n=121$); r with $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$ = linear correlation coefficient of $\text{SW1-3}_{\text{NO}_3}$ with $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$

NO_3^-	in soil samples	in seepage water			calculated from NO_3^- in soil
abbreviation	$\text{Soil}_{\text{NO}_3}$	SW1_{NO_3}	SW2_{NO_3}	SW3_{NO_3}	$\text{SWcalc}_{\text{NO}_3}$
sampling date	April	April	July	October	April
unit	$\mu\text{g/g}$	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l
n	121	121	121	121	121
121-mean	6,36	35,15	32,02	21,73	34,37
median	4,7	27,0	25,24	14,65	25,1
s.d.	5,7	28,1	24,94	23,82	31,0
max.	31,6	139,2	137,18	120,38	170,5
min.	0,10	2,08	0,53	0,00	0,54
c.v.	0,90	0,80	0,78	1,10	0,90
skewness	2,48	1,78	1,74	1,83	2,48
kurtosis	6,91	3,47	4,17	3,93	6,91
95%c.i.	[5,4 - 7,5]	[30,5 - 40,3]	[27,9 - 37,0]	[17,6 - 26,3]	
95%c.i. in % of the 121-mean	[18 to (-16)]%	[15 to (-13)]%	[15 to (-13)]%	[21 to (-19)]%	
r with $\text{Soil}_{\text{NO}_3}$		0,96**	0,87**	0,69**	

Publikation [III]

Matejek B., Kohlpaintner M., Gasche R., Huber C.,
Dannenmann M. & Papen H.
(2008)

**The small-scale pattern of seepage water nitrate
concentration in an N saturated spruce forest is
regulated by net N mineralization in the organic
layer**

Plant and Soil 310 (1-2):167-179
DOI 10.1007/s11104-008-9643-z

Regular Article

The small-scale pattern of seepage water nitrate concentration in an N saturated spruce forest is regulated by net N mineralization in the organic layer

B. Matejek¹, M. Kohlpaintner², R. Gasche¹, C. Huber², M. Dannenmann¹ and H. Papen¹

(1) Institute for Meteorology and Climate Research, Atmospheric Environmental Research (IMK-IFU), Forschungszentrum Karlsruhe GmbH, Kreuzteckbahnstraße 19, 82467 Garmisch-Partenkirchen, Germany

(2) Division of Forest Nutrition and Water Resources Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Am Hochanger 13, 85354 Freising, Germany

H. Papen

Email: hans.papen@imk.fzk.de

Received: 15 January 2008 **Accepted:** 28 April 2008 **Published online:** 4 July 2008

Responsible editor: Ute Skiba

Abstract Soil net nitrogen (N) mineralization and nitrification as well as gross nitrification rates were studied in a forest soil within a 30×18m homogeneous plot located in an N saturated mature spruce stand at the Höglwald Forest (Bavaria, Germany) in order to explain the small-scale variation in nitrate (NO₃⁻) concentration in seepage water. Seepage water was sampled below the main rooting zone in 40cm depth with suction cups over two periods at 20 measuring spots respectively. The sampling spots were uniformly distributed over the plot for both sampling periods, and represented the whole concentration range of seepage water NO₃⁻ concentrations measured within a close mesh of 121 suction cups. At each measuring spot soil net N mineralization, gross and net nitrification, heterotrophic soil respiration, extractable soil ammonium (NH₄⁺) and NO₃⁻, and additional physical and chemical soil parameters were measured in the organic layer and correlated with the NO₃⁻ concentrations in seepage water. Furthermore, the effects of environmental parameters on N conversion processes were evaluated using multiple linear regression analysis. We found that the small-scaled variations in seepage water NO₃⁻ concentration were related to similar small-scaled variations in key processes of microbial N turnover rates in the organic layer. Within this study net N mineralization in the organic layer could explain 51–59% of the corresponding small-scale variation of nitrate concentrations in seepage water below the main rooting zone using a multiple linear regression model with stepwise procedure. In addition, we found that small-scale patterns of N turnover in the organic layer were strongly influenced by water content in the organic layer and the dry mass of organic matter.

Keywords Gross nitrification - N saturation - Net N mineralization - Net nitrification - Nitrate leaching - Norway spruce

Introduction

In Southern Bavaria, Norway spruce (*Picea abies* (L.) H.Karst.) replaced largely the natural occurring beech forests (*Fagus sylvatica* L.). Forests in Bavaria are now predominantly covered by coniferous tree species (Bayerische Landesanstalt für Wald-und Forstwirtschaft 2005). Spruce is one of the most productive and profitable tree species in Southern Bavaria. However, concern is rising about the negative ecological impacts of these uniform Norway spruce stands, due to the observed increased nitrate leaching from forest soils that are exposed to high N deposition (Aber et al. 1989; Dise and Wright 1995; Kortelainen et al. 1997; Rothe et al. 2002; Huber et al. 2004b).

Since the nineteenth century elevated atmospheric inputs of NH_4^+ and NO_3^- have caused N saturation of many forest ecosystems of Central Europe (Göttlein and Kreutzer 1991; Fangmeier et al. 1994; Gundersen et al. 1998a; Rennenberg et al. 1998; Borken and Matzner 2004). In some forests, chronically high N deposition has exceeded the uptake capacity of the ecosystem by now, leading to release of nitrogen (Aber et al. 1989; Dise and Wright 1995). Elevated N deposition was also thought to make a major contribution to C sequestration in temperate forest (e.g. Schindler and Bayley 1993; Hudson et al. 1994; Townsend et al. 1996). But Nadelhoffer et al. (1999a, b) pointed out that despite being the largest sink for carbon via C sequestration woody biomass constitutes the smallest nitrogen sink in this budget. In contrast, soil assimilates almost 15 times as much nitrogen deposition as woody biomass. The authors assumed that, on average, 10% of nitrogen inputs were exported as either dissolved NO_3^- or nitrogen gases.

Due to its outstanding ecological significance N losses from soils to the environment have been remaining an important research area and public policy issue in recent years (Lovett et al. 2002). Leaching of nitrate is a widespread problem and the associated contamination of groundwater has, beside the environmental damages, an undesirable negative effect on economy (Stockdale et al. 2002). Beside the hydrological pathway, other major pathways of N losses from soils of N saturated forest ecosystems are gaseous losses of environmentally relevant gases (NO_x), greenhouse gases (N_2O) or inert molecular dinitrogen (N_2) (e.g. Gasche and Papen 1999; Butterbach-Bahl et al. 2002a, b).

Nitrogen losses from forests have been found to be extremely variable, and the variation has been ascribed to many causes, including differences in atmospheric N deposition (Stoddard 1994; Dise and Wright 1995), geology (Holloway et al. 1998), hydrology (Creed and Band 1998), forest history (Vitousek et al. 1997; Goodale et al. 2000) and stand and site characteristics (Rothe et al. 2002; Weis 2002). The N cycle in forests is a complex system between soil, plants and microbes, and controls on N losses from forest ecosystems are—despite their outstanding ecological significance—still not well understood (Lovett et al. 2002). Besides soil hydrology, the delicate balance between inorganic N producing microbial processes (ammonification, nitrification), inorganic N consuming microbial processes (microbial immobilization of inorganic N, denitrification), atmospheric N input and plant uptake of inorganic N regulates nitrate leaching (Tietema et al. 1993).

There is increasing knowledge on the influence of N deposition, stand properties, soil characteristics, soil properties and management practice on nitrate export from forest ecosystems (Laverman et al. 2002; Lovett et al. 2002; Rothe et al. 2002; Borken and Matzner 2004; Huber et al. 2004b). However, the lack of detailed knowledge on magnitude and environmental controls of small-scale variations in NO_3^- leaching is still limiting the accuracy of nitrate export predictions of biogeochemical models.

This study provides for the first time data on net and gross N transformation rates with high spatial resolution (intra-site scale) within a small area of an N saturated mature spruce stand characterized by small-scale variations of NO_3^- concentrations in seepage water below the main rooting zone. The results of small scale spatial variability of NO_3^- concentration in seepage water below the main rooting zone for the complete experimental setup within the close mesh of in total 121 suction cups is given in a companion paper (Kohlpaintner et al. 2008).

Within this study, a set of 2×20 measuring spots from the close mesh of 121 measuring spots equipped with a suction cup were taken for testing the hypothesis that the observed small-scale variations of nitrate concentrations in seepage water are related to small-scale variations in key processes of microbial N turnover in the organic layer. Therefore, rates of soil net nitrogen mineralization, gross- and net nitrification, extractable soil NH_4^+ and NO_3^- in the organic layer were measured over two periods at 20 different measuring spots respectively. The first observation period lasted from late April to mid June 2005, the second from mid July to mid September 2005. Means of the determined variables were compared with the corresponding NO_3^- concentrations in the seepage water sampled below the main rooting zone. Furthermore, we evaluated the effects of potential environmental controls (water content of the forest floor, dry mass of organic matter and soil pH value) on N turnover rates in the organic layer.

Methods

Study site

All studies were performed in a 100year old homogeneous Norway spruce (*Picea abies* (L.) H.Karst.) forest at the Höglwald (Bavaria, Germany), which has been a long term ecological monitoring and experimentation site for more than 20years (Huber et al. 2005) with focus on biogeochemistry and ecosystem research. For more detailed information about the stand and site characteristics see Kreutzer and Bittersohl (1986), Göttlein and Kreutzer (1991), Kreutzer (1995), Kreutzer and Weis (1998), Gessler et al. (1998), Butterbach-Bahl et al. (1998, 2002b), Rothe et al. (2002), Huber et al. (2004a, b, 2005, 2006).

The site is exposed to high loads of atmospheric N deposition via throughfall of about $30\text{kg N ha}^{-1}\text{ year}^{-1}$ under spruce (Rothe et al. 2002) and has been shown to be a significant source for NO (Gasche and Papen 1999) and also for N_2O (Butterbach-Bahl et al. 2002a). In addition the excess of N caused high NO_3^- concentration (Huber et al. 2004b) in seepage water.

The soil is an acidic podzolic para brown earth (Dystric Cambisol, FAO) (Gessler et al. 1998). The mineral soil is covered by an organic layer variable in thickness (4–12cm) and the mean bulk density is about 0.9g cm^{-3} . The predominant humus form is moder (Huber et al. 2006). The organic layer is strongly acidified with pH values varying between 2.8 and 3.0. The mean C:N ratio of the organic layer is 26 ± 1 and spatial heterogeneity of the C:N ratio in the organic layer is relatively small ($c_v=17\%$).

Field sampling, water chemistry, physical and chemical soil parameters

In March 2005, 121 suction cups (tension ceramic lysimeters, SKL 100, UMS GmbH Munich, Germany) were installed vertically in hand-augered holes in a depth of 40cm from top of mineral soil in an area (30×18m) with homogeneous stand and site conditions (for details see Kohlpaintner et al. 2008). Disturbance was kept to a minimum during installation and subsequently, trampling was carefully avoided within a radius of 0.5m to the suction cup during sampling. The suction cups were positioned in a grid with 2m distance between each suction cup and a minimum distance of 1m to a tree. A gap was left, where a tree stocked closer than 1m to a potentially suction cup sampling spot. After discarding the first sample, soil solution was collected from beginning of May to October 2005 at least monthly. A vacuum suction of 60kPa was applied 1week before sampling and soil water was collected in glass bottles. All seepage water samples were filtered using membrane filters with a pore size of $0.45\mu\text{m}$ (Schleicher and Schuell MicroScience NC 45, Dassel, Germany) and stored at 4°C until they were analysed within a week after collection. Nitrate concentration was determined by ion chromatography (Dionex DX-120).

Measurements of net N mineralization and nitrification, gross rates of nitrification, extractable NH_4^+ and extractable NO_3^- concentrations were conducted from late April to mid June (dataset A), and from mid July to mid September 2005 (dataset B), respectively. In each investigation period 20 independent sampling spots were selected out of the close mesh of the 121 installed suction cups. The 20 suction

cup sampling spots of dataset A were randomly chosen because at the beginning of the experiments no information was available about the range of NO_3^- concentration in seepage water. So we selected 20 spots uniformly distributed over the plot. After analyses of the first three samplings of seepage water another set of 20 new spots were selected based on the results of NO_3^- concentrations in seepage water from the first three samplings. Both selection procedures, the random selection (dataset A), and the concentration based selection (dataset B) do represent the complete range of NO_3^- concentration in seepage water very well (Table 1).

Table 1 Mean, standard deviation, minimum and maximum value, and coefficient of variation (c_v) for nitrate concentrations in seepage water determined at different sampling dates during the vegetation period 2005 to identify temporal variation in NO_3^- concentration in seepage water

NO_3^- in seepage water ($\text{mg NO}_3^- \text{ l}^{-1}$)						NO_3^- in seepage water ($\text{mg NO}_3^- \text{ l}^{-1}$)					
Spot	Mean NO_3^-	Standard deviation	Minimum	Maximum	$c_v(\%)$	Spot	Mean NO_3^-	Standard deviation	Minimum	Maximum	$c_v(\%)$
(A)						(B)					
AB1	30.7	1.6	28.5	32.1	5.1	AB1	26.8	1.8	25.6	28.9	6.7
A2	50.9	1.7	48.8	52.4	3.3	B2	72.3	9.4	66.2	84.9	12.4
A3	31.1	2.7	28.5	34.8	8.6	B3	65.7	15.0	48.6	76.9	22.9
A4	48.1	1.3	46.5	49.2	2.7	B4	50.0	0.9	54.5	55.9	1.5
A5	42.8	3.3	11.5	14.3	10.3	B5	0.7	1.0	0.1	1.9	147.6
A6	12.5	1.3	40.1	46.5	7.6	B6	42.9	15.2	25.5	54.3	35.6
A7	5.6	0.6	5.1	6.4	10.6	B7	112.7	8.5	106.0	122.2	7.5
A8	49.9	1.9	47.1	51.5	3.9	B8	64.2	2.7	61.2	66.5	4.3
A9	23.6	1.2	21.9	24.6	5.1	B9	22.1	0.5	11.2	32.1	47.5
A10	10.9	2.9	8.3	14.9	26.3	B10	1.1	1.9	0.0	3.4	162.9
A11	22.7	0.7	22.0	23.7	3.2	B11	22.7	13.3	9.8	36.4	58.8
A12	15.1	0.5	14.6	15.7	3.5	B12	43.4	10.0	39.8	54.7	23.1
A13	66.3	1.5	65.1	68.4	2.3	B13	27.4	4.2	24.5	32.2	15.3
A14	29.8	2.9	28.7	33.9	9.6	B14	28.2	5.8	21.5	31.9	20.6
A15	15.9	3.1	12.1	18.5	19.8	B15	34.9	19.4	12.6	47.5	55.6
A16	7.6	7.6	1.7	18.4	99.0	B16	54.4	8.5	46.3	63.2	13.5
A17	12.4	1.6	10.5	14.1	12.6	B17	71.7	2.7	68.6	73.8	3.8
A18	32.4	2.3	29.1	34.4	7.1	B18	13.2	3.6	9.4	16.5	27.1
A19	98.8	5.0	92.3	104.4	5.0	B19	123.5	4.5	120.0	128.5	3.6
A20	51.0	1.0	50.0	51.8	1.8	B20	46.6	3.8	42.3	49.0	8.0
$c_v(\%)$	70.6					$c_v(\%)$	70.0				

The calculated coefficient of variation in the column Mean NO_3^- shows the spatial variation of the mean nitrate concentration in seepage water for the different sampling spots ($n=20$). (A) represents the 20 determined sampling spots from late April to mid June 2005 (number of samplings=4), and (B) the 20 sampling spots determined from mid July to mid September 2005 (number of samplings=3). AB1 was sampled in both periods.

Net nitrogen mineralization and net nitrification rates

Net N mineralization and nitrification rates were determined using the buried bag technique (Eno 1960; Hart et al. 1994). The investigation period lasted from late April to mid June (dataset A) and from mid July to mid September 2005, respectively (dataset B). Initiated over 4 weeks five measuring spots each week were sampled for determination of net N transformation rates. At each sampling spot three fresh soil samples (about 0.5kg each) from the organic layer were taken and placed into polyethylene bags. Three sub-samples were taken from each bag (10g soil fresh weight each sample) at the beginning of the incubation period for the determination of initial levels of NH_4^+ and NO_3^- in the organic layer. The bags were buried into the same location from which the samples had been taken from. After 4 weeks of incubation three further sub-samples were taken out of each bag and analyzed for NH_4^+ and NO_3^- concentrations. Net N turnover rates for the respective sampling period were calculated from the difference in extractable $\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N}$ (net mineralization) and NO_3^--N (net nitrification) between the end and the beginning of the incubation, divided by the incubation period (Hart et al. 1994). All samples were sieved (3.15mm mesh width) and extracted with 1M KCl (soil/solution ratio 1:6). The extracts were vacuum filtered through glass microfibre filter papers (Whatman GF/A, 110mm diameter, Cat No 1820 110), passed through a 0.2 μm syringe filter (Schleicher and Schuell MicroScience, Dassel, Germany) and frozen immediately until analysis for NH_4^+-N and NO_3^--N concentrations. All analyses were performed by a commercial laboratory (Dr.

Janssen, Gillersheim, Germany) using colorimetric determination according to VDLUFA A.6.1.4.1 (Hoffmann 1991). Results for both N turnover rates and inorganic N concentrations were expressed on an area basis considering individual organic layer thickness and density at the sampling spots. Simultaneously to the determination of net N transformation and gross nitrification rates, the initial inorganic N content in soil ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$), pH (0.01M CaCl_2), and gravimetric soil water content [SWC expressed as percent of soil dry weight] (drying soil at 105°C for 24h) were determined.

Determination of gross nitrification rates

Gross rates of nitrification were determined monthly (since April 2005) using the Barometric Process Separation (BaPS) technique (Ingwersen et al. 1999). The BaPS technique allows simultaneous determination of gross nitrification and heterotrophic soil respiration. The method is based on the determination of the concentrations of CO_2 and O_2 , the determination of the changes in pressure, and calculation of the total gas balance of well aerated soil samples incubated in an isothermal gas tight soil system. For further details about the measuring process, calculations and uncertainties see Ingwersen et al. (1999, 2008), Breuer et al. (2002), Butterbach-Bahl et al. (2002c), Kiese et al. (2002), Müller et al. (2004) and Rosenkranz et al. (2006).

For the measurements seven intact soil cores were taken from the organic layer from each sampling spot at a distance of 0.5m around the suction cup using stainless steel cores (5.6cm in diameter and 4.0cm height each). Immediately after sampling the undisturbed soil cores were sealed with Parafilm (American National Can Company, USA) and transported to the soil microbiology laboratory at IMK-IFU where they were stored in the dark at in situ soil temperature as determined at the field site. Measurements were performed within 3days after sampling. For measurement soil samples were incubated at in situ soil temperatures in the BaPS vessel for a minimum of 24h. Soil moisture content was determined gravimetrically using an additional soil core taken within the sampling spot. After analyses had been performed, soil cores were stored at 4°C in the dark until they were brought back to the field and incubated at the original sampling spots until the start of the next measurement.

Rates of heterotrophic soil respiration and gross nitrification were expressed as $\text{mg C m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ and $\text{mg N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$, respectively. Other studies showed the necessity of cross-calibration between BaPS measurements and ^{15}N pool-dilution measurements in order to iteratively adjust the respiratory quotient (Müller et al. 2004; Rosenkranz et al. 2006). For the present study we performed similar cross-calibration experiments in triplicate by combining BaPS and ^{15}N -labeling experiments in order to determine the respiratory quotient in the organic layer following the experimental setup described in detail by Müller et al. (2004) and Rosenkranz et al. (2006). The determined respiratory quotient was 0.89 ± 0.018 . Recent literature (Ingwersen et al. 2008) reported a unit error in the BaPS software leading to underestimation of CO_2 dissolution in soil water. However, this error becomes significant only at pH values above 5.5–6.0. In view of the acidic soils investigated within this study (pH values around 3) this problem could be neglected.

Statistics

All statistical analyses were performed using SPSS 8.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Regressions and correlations were fitted and computed using SPSS 8.0 and Origin 7.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

The calculation of the index of dispersion (DI, Selby 1965) revealed that the selected sampling spots were uniformly distributed within the sampling area for both sampling periods.

The mean, standard deviation, and coefficient of variation (c_v) were calculated for mean NO_3^- concentration in seepage water and all additionally determined variables at the different sampling locations to yield information about the spatial variation.

Multiple linear regression analyses with stepwise procedure were performed to determine factors controlling variation of mean nitrate concentration in seepage water, backward stepwise regression analyses in order to identify which factors mainly caused variation of N transformation rates and inorganic soil N pools. Variables included in the multiple regression models were also tested against mean nitrate concentration in seepage water, net N mineralization, net nitrification, gross nitrification, and inorganic soil N pools in bivariate correlation analyses. To test the relationship between two normally distributed datasets the Pearson correlation coefficient was used. For not normally

distributed data the Kendall-Tau-*b* correlation coefficient was used in order to cope with the small sample size of $n=20$.

Data analysis

The means of net N mineralization, net nitrification, gross nitrification and inorganic N concentrations were correlated with the corresponding mean NO_3^- concentrations in seepage water (Fig. 1) for the two respective sampling periods. Net N turnover rates, gross nitrification rates as well as the pool sizes of inorganic N were correlated with potential environmental controls by means of multiple linear regression analyses.

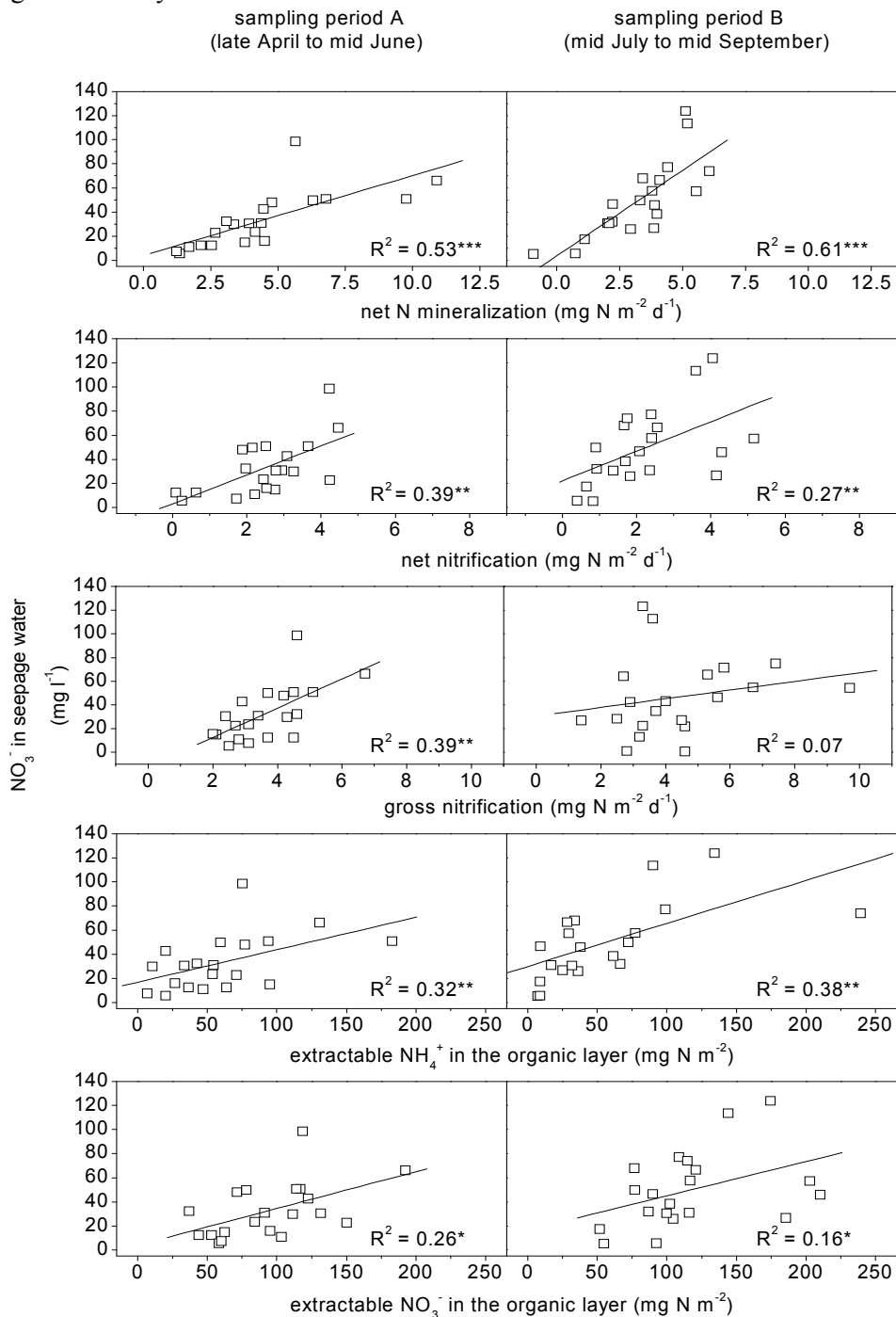


Fig. 1 Linear regression analyses between net N mineralization, net nitrification, gross nitrification, organic layer NO_3^- concentration and measured nitrate (NO_3^-) concentration (mg l^{-1}) in seepage water for the respective sampling period

Results

Small-scale spatial variability of NO_3^- concentrations in seepage water

Nitrate concentrations in seepage water showed distinct small-scale spatial variations. Differences in NO_3^- concentrations in seepage water up to a factor of 100 have been observed between the individual sampling spots (Table 1). Means of the 20 randomly selected sampling spots determined from late April to mid June (Table 1, dataset A) varied between 5.6 ± 0.6 and $98.8 \pm 5.0 \text{ mg NO}_3^- \text{ l}^{-1}$. The calculated coefficient of variation for the mean nitrate concentrations was 70.6%. NO_3^- concentration in seepage water for the 20 sampling spots determined from mid July to mid September (Table 1, dataset B) exhibited also a high spatial variability resulting in a similar coefficient of variation of 70.0%. The lowest mean value was $0.7 \pm 1.0 \text{ mg NO}_3^- \text{ l}^{-1}$, while the highest mean value calculated for an individual spot was $123.5 \pm 4.5 \text{ mg NO}_3^- \text{ l}^{-1}$. In contrast to this high spatial variation the temporal variation within the investigated time span for each dataset was less pronounced (see Table 1). However, duration of the investigation periods, at least 3 and 4 months (dataset A and dataset B, respectively) and amount of samples of seepage water nitrate concentrations taken within was too short for elucidating temporal variations.

Table 2 Mean, standard error, minimum and maximum value, and coefficient of variation (c_v) calculated for N turnover rates, heterotrophic soil respiration, extractable inorganic N pools in the organic layer, soil water content (SWC), mass of dry organic matter (DM) and pH to identify spatial variation

	<i>Mean</i>	<i>Standard error</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>c_v(%)</i>
(A)					
<i>pH</i>	3.1	0.0	3.0	3.2	2.1
<i>DM</i>	5.3	0.1	2.5	8.2	28.1
<i>Min_{net}</i>	4.4	0.6	1.2	10.9	58.5
<i>Nit_{net}</i>	2.5	0.3	0.1	4.5	49.0
<i>Nit_{gross}</i>	3.6	0.3	2.0	6.7	32.0
<i>Resp</i>	75.4	3.8	43.6	102.4	22.4
<i>NH₄⁺ pool</i>	60.0	9.5	6.8	182.8	71.0
<i>NO₃⁻ pool</i>	97.7	8.7	36.8	192.1	41.0
<i>SWC</i>	296.5	11.7	221.4	428.9	17.7
(B)					
<i>pH</i>	3.0	0.0	2.8	3.2	3.2
<i>DM</i>	6.5	0.4	3.7	10.1	30.1
<i>Min_{net}</i>	3.2	0.4	-0.9	6.1	53.8
<i>Nit_{net}</i>	2.3	0.3	0.4	5.2	60.3
<i>Nit_{gross}</i>	4.4	0.4	1.4	9.7	44.5
<i>Resp</i>	106.8	6.5	61.4	177.8	27.2
<i>NH₄⁺ pool</i>	55.7	12.4	7.2	239.2	99.5
<i>NO₃⁻ pool</i>	116.5	10.1	51.6	210.1	38.9
<i>SWC</i>	321.9	6.9	280.1	415.7	9.6

(A) represents the 20 sampling spots determined from late April to mid June 2005, and (B) the 20 sampling spots determined from mid July to mid September 2005.

c_v : coefficient of variation, Min_{net} : net rate of N mineralization ($\text{mg N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), Nit_{net} : net nitrification ($\text{mg N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), Nit_{gross} : gross rate of nitrification ($\text{mg N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), $Resp$: rate of heterotrophic soil respiration ($\text{mg C m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), $\text{NH}_4^+ \text{ pool}$: extractable NH_4^+ in the organic layer (mg N m^{-2}), $\text{NO}_3^- \text{ pool}$: extractable NO_3^- in the organic layer (mg N m^{-2}), SWC : soil water content (%), DM : dry mass of organic matter (kg m^{-2}), pH : pH value

Small-scale spatial variability of N conversion rates, physical and chemical soil parameters

Table 2 summarizes the range, magnitude and spatial variation of N turnover rates, inorganic N concentrations and further soil parameters. Nearly all determined variables showed a distinct small-scale spatial variability. Net N mineralization varied between 1.2 and 10.9 mg N m⁻² day⁻¹ (dataset A), and -0.9 and 6.1 mg N m⁻² day⁻¹ (dataset B), resulting in a coefficient of variation of 58.5% (dataset A) and 53.8% (dataset B), respectively. In general, gross and net rates of N turnover as well as inorganic N concentrations were characterized by high small-scale spatial variability (range in correlation coefficients 38.9% to 99.5%) while variability of heterotrophic soil respiration, soil water content and pH values was less (range in correlation coefficients 2.1% to 30.1%).

Environmental controls of mean nitrate concentration in seepage water

Bivariate correlation analysis between N transformation rates, extractable inorganic N in soil, and mean nitrate concentration in seepage water revealed a set of significant correlations (Fig. 1). There were highly significant ($p < 0.001$) and high significant ($p < 0.01$) positive correlations between mean nitrate concentrations in seepage water and the following tested parameters: Net N mineralization, net nitrification and extractable NH₄⁺ in the organic layer. The NO₃⁻ content in the organic layer was significantly positively correlated ($p < 0.05$) with mean nitrate concentrations in seepage water. Gross nitrification showed a high significant positive correlation ($p < 0.01$) with nitrate concentrations in seepage water obtained only from the 20 spots sampled in period A. In contrast, there was no significant positive or negative correlation between gross nitrification rates in the organic layer and the mean nitrate concentrations in seepage water for the 20 sampling spots determined in period B.

In order to identify the dominating environmental controls of nitrate concentration in seepage water a multiple linear regression analysis with stepwise procedure was performed including the variables net N mineralization, net nitrification, gross nitrification, heterotrophic soil respiration and extractable inorganic N pools in soil (Table 3). Given are the best model equations, where statistics revealed predictive importance of the independent variables at a given probability level ($p < 0.05$). For both datasets (April–June and July–September 2005) net N mineralization was the only significant predictive variable to explain nitrate concentration in seepage water. 51% and 59% of the variation in seepage water nitrate concentrations could be explained by net N mineralization, respectively.

Table 3 Summary of regression analyses of factors potentially controlling variation of nitrate concentrations in seepage water

	Final models	R ² _{adj}	p
(A)	$MeanNO_3^- = 3.794 + 6.623 Min_{net}$	0.51	< 0.001
(B)	$MeanNO_3^- = -0.897 + 14.656 Min_{net}$	0.59	< 0.001

The order of variables in the final model represents the significance of control factors listed according to decreasing importance of standardized beta weights.

Mean NO₃⁻: mean nitrate concentration in seepage water during vegetation period 2005 (mg NO₃⁻ l⁻¹), *Min_{net}*: net rate of N mineralization (mg N m⁻² day⁻¹)

Environmental controls of N turnover rates and inorganic N pools in soil

The bivariate correlation analyses (Table 4) revealed high significant positive correlations ($p < 0.01$) between the area-related NO₃⁻ pool size in the organic layer and net mineralization and net nitrification (datasets A and B) and gross nitrification (dataset A only). NO₃⁻ pool size was significantly ($p < 0.05$) positively correlated with soil water content and high significant ($p < 0.01$) positively correlated with dry mass of organic matter for both datasets (Table 4). Area-related rates for both net N mineralization and net nitrification were positively correlated with soil water content and dry mass of organic matter in both datasets. Gross nitrification was significantly positively correlated

with soil water content and dry mass of organic matter for dataset A only. In addition dataset B revealed a significant ($p<0.05$) positive correlation of gross nitrification with soil water content. Net nitrification was additionally correlated with NH_4^+ concentrations (both datasets). Gross nitrification was correlated with NH_4^+ concentrations (dataset A only).

Table 4 Correlation matrix for several variables related to soil nitrogen dynamics

	Min_{net}	Nit_{net}	Nit_{gross}	NH_4^+ <i>pool</i>	NO_3^- <i>pool</i>	<i>SWC</i>	<i>DM</i>
(A)							
Min_{net}	1.00						
Nit_{net}	0.79**	1.00					
Nit_{gross}	0.84**	0.64**	1.00				
NH_4^+ <i>pool</i>	0.88**	0.65**	0.80**	1.00			
NO_3^- <i>pool</i>	0.79**	0.91**	0.69**	0.69**	1.00		
<i>SWC</i>	0.63**	0.50*	0.47*	0.57*	0.47*	1.00	
<i>DM</i>	0.68**	0.61**	0.70**	0.50*	0.57**	0.12	1.00
(B)							
Min_{net}	1.00						
Nit_{net}	0.78**	1.00					
Nit_{gross}	0.50*	0.28	1.00				
NH_4^+ <i>pool</i>	0.76**	0.36	0.39	1.00			
NO_3^- <i>pool</i>	0.79**	0.98**	0.23	0.40	1.00		
<i>SWC</i>	0.59**	0.52*	0.42*	0.50*	0.49*	1.00	
<i>DM</i>	0.70**	0.64**	0.40	0.48*	0.72**	0.19	1.00

Min_{net} : net N mineralization ($\text{mg N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), Nit_{net} : net nitrification ($\text{mg N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), Nit_{gross} : gross nitrification ($\text{mg N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$), NH_4^+ *pool*: extractable NH_4^+ in the organic layer (mg N m^{-2}), NO_3^- *pool*: extractable NO_3^- in the organic layer (mg N m^{-2}), *SWC*: soil water content (%), *DM*: dry mass of organic matter (kg m^{-2})

* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$

Multiple regression in combination with backward stepwise procedure analyses revealed that the spatial patterns for net N mineralization and net nitrification were mainly influenced by the following parameters tested: dry mass of organic matter, soil water content, and, in case of gross and net nitrification, NH_4^+ pool size (Table 5). These factors together could explain 50.5–70.0%, 26.3–56.9% and 24.9–34.2% of variation in net N mineralization, net nitrification, and gross nitrification rates, respectively. Inorganic soil N pools were mainly influenced by dry mass of organic matter and soil water content. The two variables together explained 19.0–27.5% of variation in NH_4^+ concentration and 26.3–39.1% of variation in NO_3^- concentration in the organic layer (Table 5).

Table 5 Summary of regression analyses of factors controlling net N mineralization, net and gross nitrification, and sizes of inorganic N pools in the organic layer

Multiple linear regression with backward stepwise regression			
Final models		R ² _{adj}	p
(A)	$Min_{net} = -6.206 + 0.02922SWC + 0.464DM$	0.70	< 0.001
	$Nit_{net} = -0.951 + 0.01032SWC + 0.102DM + 0.0006466NH_4^+ pool$	0.26	< 0.05
	$Nit_{gross} = -0.125 + 0.00920SWC + 0.00579NH_4^+ pool + 0.025DM + 0.0139Resp$	0.25	0.81
	$NH_4^+ pool = -33.736 + 0.327SWC + 0.610DM$	0.19	0.065
	$NO_3^- pool = -17.558 + 0.290SWC + 6.011DM$	0.26	< 0.05
(B)	$Min_{net} = -8.344 + 0.03683SWC + 0.169DM$	0.51	< 0.001
	$Nit_{net} = -202.856 + 1.032SWC + 6.275DM - 0.275NH_4^+ pool$	0.57	< 0.05
	$Nit_{gross} = -2.065 + 0.02107SWC + 0.06152NH_4^+ pool + 0.460DM + 0.0288Resp$	0.34	< 0.05
	$NH_4^+ pool = -230.429 + 0.851SWC + 6.735DM$	0.28	< 0.05
	$NO_3^- pool = -5.302 + 0.0244SWC + 0.09269DM$	0.39	< 0.05

Multiple regression model and original model for backward stepwise procedure for (a) net N mineralization: $Y_1 = B \times SWC + B \times DM + B \times pH + B \times Resp$ wherein Y_1 is net rate of net N mineralization ($mg\ N\ m^{-2}\ day^{-1}$); (b) net and gross nitrification: $Y_{1,2} = B \times NH_4^+ pool + B \times SWC + B \times DM + B \times pH + B \times Resp$ wherein Y_1 is net nitrification ($mg\ N\ m^{-2}\ day^{-1}$) and Y_2 is gross nitrification ($mg\ N\ m^{-2}\ day^{-1}$); (c) inorganic N pools in the organic layer: $Y_{1,2} = B \times SWC + B \times DM + B \times pH$ wherein Y_1 is extractable NH_4^+ in the organic layer ($mg\ N\ m^{-2}$) and Y_2 is extractable NO_3^- in the organic layer ($mg\ N\ m^{-2}$). The order of variables in the final model represents the significance of control factors listed according to decreasing importance of standardized beta weights.

B : unstandardized coefficient, $NH_4^+ pool$: extractable NH_4^+ in the organic layer ($mg\ N\ m^{-2}$), $NO_3^- pool$: extractable NO_3^- in the organic layer ($mg\ N\ m^{-2}$), SWC : gravimetric soil water content (%), DM : dry mass of organic matter ($kg\ m^{-2}$), pH : pH value, $Resp$: rate of heterotrophic soil respiration ($mg\ C\ m^{-2}\ day^{-1}$)

Discussion

Studies investigating spatial patterns of N transformation rates and their relation to nitrate leaching have mainly focused on the comparison of forest ecosystems under different forest management practices (e.g. Lovett et al. 2002; Rothe et al. 2002; Borken and Matzner 2004; Huber et al. 2004b). To our knowledge this is the first study evaluating a direct linear relationship between N turnover processes in the organic layer of an N saturated mature spruce stand and nitrate concentrations in seepage water sampled below the main rooting zone at a small scale (intra-stand scale).

Within this study net N mineralization in the organic layer could explain 51% (period A) and 59% (period B) of the corresponding small-scale variation of nitrate concentrations in seepage water below the main rooting zone. It was an unexpected finding that the explanatory power of net N mineralization in the organic layer for the variation in seepage water NO_3^- concentration was that high. In this context it has to be considered that the inorganic N has to be relocated with the seepage water from upper soil layers to 40cm soil depth, where it may be subjected to various important interactions like plant uptake, microbial immobilization or denitrification. Nevertheless, net N mineralization in the organic layer appeared to exert the major influence on seepage water NO_3^- concentration below the main rooting zone within this study.

Net N mineralization comprises both microbial production (gross ammonification, gross nitrification) and microbial consumption (immobilization, denitrification) of inorganic N. The major determinants of net mineralization in this study were soil water content and dry mass of organic matter (Table 5). Since N availability appears to be in general the main regulator of gross ammonification (Accoe et al. 2004; Booth et al. 2005) it is reasonable to assume that area-related inorganic N production is highest where organic matter availability is highest. Litterfall is the major pathway by which (organic) N is returned to the forest floor. The nitrogen flux of this component is even higher than the N input via throughfall (Huber et al. 2004a). Thus, also the often observed intra stand variability of litter fall appears to be crucial in the regulation of small-scale patterns of inorganic N production. A thicker organic layer may indicate hot spots of organic N input via needle litter fall providing organic N as substrate for gross mineralization and gross nitrification. Recent biomass investigations at the

Höglwald site showed that dominating spruce trees had a considerable higher needle biomass (unpublished data), which may lead to a higher litter fall. Also, Saarsalmi et al. (2007) found a good correlation between tree height and litter fall in a study in southern Finland.

The role of soil water content in the stimulation of N turnover found within this study (Tables 4 and 5) is in agreement with most other studies (e.g. Emmer and Tietema 1990; Stark 1996; Gilliam et al. 2001; Wällder et al. 2008). It is reasonable to assume that both, high organic layer thickness and high water content favour higher gross rates of N turnover. The observation that also net rates of N turnover are crucially regulated by N availability and soil water content indicates that the balance of inorganic N production and consumption is altered with increasing availability of N and soil water. We hypothesize that at high levels of N substrate availability and soil water content microbial immobilization cannot keep up with inorganic N production due to a shortage of C substrate thus explaining high net rates of N mineralization and nitrification. Thus, it might also be hypothesized that atmospheric N input might not only be of crucial importance in the regulation of N turnover and nitrate leaching at large scales (Stoddard 1994; Dise and Wright 1995; Gundersen et al. 1998a) but might be also of significant influence on small scale patterns of N turnover and nitrate export. N-input via throughfall might also be very heterogeneous within the Höglwald site. Beier et al. (1993) observed a distinct stand inherent spatial variability exhibiting a linear relationship between N input to the soil and distance from the nearest stem i.e. highest N input close to the stem due to increased dry deposition and canopy exchange processes in the tops of the trees, which both were proven to contribute significantly to the observed higher solute fluxes close to the stems. Furthermore, these authors found that N deposition increased with increasing tree size. These findings implement important relevance for the observed spatial variability in N turnover processes because apart from nutrient ions, throughfall also contains suspended matter of dissolved organic compounds, including organic N leached from needles, bark, and epiphytic microorganisms (Gundersen et al. 1998b).

Within this study net N mineralization rather than gross or net nitrification was the best predictive variable to explain variation in NO_3^- concentration of seepage water in a multiple linear regression approach (Table 3). In the organic layer, NH_4^+ is present in large amounts since NH_4^+ deposition in the Höglwald is about $20\text{kg NH}_4^+-\text{N ha}^{-1}\text{ year}^{-1}$ (Huber et al. 2002). This excess NH_4^+ limits competition between plants and microorganisms. Thus, autotrophic nitrification is not supposed to be limited by substrate at the investigated N-saturated forest site. Since both spruce trees (Gessler et al. 1998) and microbes favour assimilation of NH_4^+ rather than NO_3^- in acidic soils like the Höglwald (Tiedje et al. 1981; Myrold and Tiedje 1986) NO_3^- is, once produced, likely to have a long mean residence time. This might be supported by the observation that denitrification rates are considerably smaller than gross nitrification rates at the investigated site (Butterbach-Bahl et al. 2002c) Thus, due to its excellent solution properties and low affinity to be fixed at soil particles NO_3^- is supposed to be easily leached out with downstream hydrological pathways while the proportion of nitrate which is consumed during transport might remains low. Furthermore, the NO_3^- pool might even increase during transport due to additional gross nitrification in deeper soil layers. Investigations on vertical soil profiles taken in three different soil depths revealed that NH_4^+ is still available and nitrification is still present in the mineral soil (data not shown). Overall, coactions of all these factors discussed above might explain the tight connection and explanatory power of net N mineralization in the organic layer and NO_3^- concentration in seepage water below the main rooting zone at a small scale demonstrated within this study.

Conclusions

High small-scale spatial variation in seepage water NO_3^- concentrations was observed within a homogeneous mature spruce stand exposed to long-term high atmospheric N deposition. Since within this study net N mineralization in the organic layer could explain 51–59% of the corresponding small-scale variation of nitrate concentrations in seepage water below the main rooting zone we could confirm our working hypothesis. We conclude that the small-scale pattern of net N mineralization plays a decisive role in the regulation of nitrate losses via hydrological pathways in the investigated N saturated ecosystem. Thus, only understanding the small-scale variation of environmental controls of

net N mineralization will lead to a more comprehensive understanding of N cycling and loss in the investigated ecosystem. Further research needs to be focused on understanding transport and conversion of different N species along the vertical soil profile from the organic layer to below the main rooting zone. In addition, the high small-scale spatial variation for both nitrate concentration in seepage water and N turnover processes in the organic layer demonstrated within this study implies that high spatial resolution sampling needs to be performed for N cycling studies in similar ecosystems in order to gain representative data.

Acknowledgements The authors thank G. Willibald, C. Brümmer, P. Rosenkranz, L. Zumbusch, A. Göttlein, and W. Weis for the technical assistance and scientific advice, P. Haas, L. Chlopik and M. Bauer for a helpful hand, the collection of samples and support in the laboratory. This work was funded by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) under contract number PA 442/5-2.

References

- Aber JD, Nadelhoffer KJ, Steudler M, Melillo JM (1989) Nitrogen saturation in northern forest ecosystems. *Bioscience* 39:378–386
- Accoe F, Boeckx P, Busschaert J, Hofman G, Van Cleemput O (2004) Gross transformation rates and net N mineralization rates related to the C and N contents of soil organic matter fractions in grassland soils of different age. *Soil Biol Biochem* 36:2075–2087
- Bayerische Landesanstalt für Wald-und Forstwirtschaft, LWF (ed) (2005) Die zweite Bundeswaldinventur 2002: Ergebnisse für Bayern. In: LWF-Wissen 49. Freising. pp. 102
- Beier C, Hansen K, Gundersen P (1993) Spatial variability of throughfall fluxes in a spruce forest. *Environ Pollut* 81:257–267
- Booth MS, Stark JM, Rastetter E (2005) Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: a synthetic analysis of literature data. *Ecol Monogr* 75:139–157
- Borken W, Matzner E (2004) Nitrate leaching in forest soils: an analysis of long-term monitoring sites in Germany. *J Plant Nutr Soil Sci* 167:277–283
- Breuer L, Kiese R, Butterbach-Bahl K (2002) Temperature and moisture effects on nitrification rates in tropical rain-forest soils. *Soil Sci Soc Am J* 66:834–844
- Butterbach-Bahl K, Gasche R, Huber C, Kreutzer K, Papen H (1998) Impact of N-input by wet deposition on N-trace gas fluxes and CH₄ oxidation in spruce forest ecosystems of the temperate zone in Europe. *Atmos Environ* 32:559–564
- Butterbach-Bahl K, Breuer L, Gasche R, Willibald G, Papen H (2002a) Exchange of trace gases between soils and atmosphere in Scots pine forest ecosystems of the northeastern German Lowlands. 1. Fluxes of N₂O, NO/NO₂ and CH₄ at forest sites with different N-deposition. *For Ecol Manag* 167:123–134
- Butterbach-Bahl K, Gasche R, Willibald G, Papen H (2002b) Exchange of N-gases at the spruce and beech sites at the Höglwald Forest—a summary. *Plant Soil* 240:117–123
- Butterbach-Bahl K, Gasche R, Willibald G, Papen H (2002c) Soil core method for direct simultaneous determination of N₂ and N₂O emissions from forest soils. *Plant Soil* 240:105–116
- Creed IF, Band LE (1998) Export of nitrogen from catchments within a temperate forest: evidence for a unifying mechanism regulated by variable source area dynamics. *Water Resour Res* 34:105–120

- Dise NB, Wright RF (1995) Nitrogen leaching from European forests in relation to nitrogen deposition. *For Ecol Manag* 71:153–161
- Emmer IM, Tietema A (1990) Temperature-dependent nitrogen transformations in acid oak-beech forest litter in the Netherlands. *Plant Soil* 122:193–196
- Eno CF (1960) Nitrate production in the field by incubating the soil in polyethylene bags. *Soil Sci Soc Am Proc* 24:277–279
ChemPort
- Fangmeier A, Hadwiger-Fangmeier A, Van der Eerden L, Jäger H-J (1994) Effects of atmospheric ammonia on vegetation—a review. *Environ Pollut* 86:43–82
PubMed CrossRef ChemPort
- Gasche R, Papen H (1999) A 3-year continuous record of nitrogen trace gas fluxes from untreated and limed soil of an N saturated spruce and beech forest ecosystem in Germany. *J Geophys Res* 104:18505–18520
- Gessler A, Schneider S, von Sengbusch D, Weber P, Hanemann U, Huber C, Rothe A, Kreutzer K, Rennenberg H (1998) Field and laboratory experiments on net uptake of nitrate and ammonium of the roots of spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) trees. *New Phytol* 138:275–285
- Gilliam FS, Bradley MY, Adams MB (2001) Temporal and spatial variation of nitrogen transformations in nitrogen-saturated soils of a central Appalachian hardwood forest. *Can J For Res* 31:1768–1785
- Göttlein A, Kreutzer K (1991) Der Standort Höglwald im Vergleich zu anderen ökologischen Fallstudien. *Forstwiss Forsch* 39:22–29
- Goodale CL, Aber JD, McDowell WH (2000) The long-term effects of disturbance on organic and inorganic nitrogen export in the White Mountains, New Hampshire. *Ecosystems* 3:433–450
- Gundersen P, Emmett BA, Kjønås OJ, Koopmans CJ, Tietema A (1998a) Impact of nitrogen deposition on nitrogen cycling in forests: a synthesis of NITREX data. *For Ecol Manag* 101:37–55
- Gundersen P, Boxman AW, Lamersdorf N, Moldan F, Andersen BR (1998b) Experimental manipulation of forest ecosystems: lessons from large roof experiments. *For Ecol Manag* 101:339–352
- Hart SC, Stark JM, Davidson EA, Firestone MK (1994) Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification. In *Methods of soil analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. *Soil Sci Soc Am Book Ser* 5. SSSA, Madison, WI, USA, pp 985–1018
- Hoffmann G (1991) *Handbuch der landwirtschaftlichen Versuchs- und Untersuchungsanstalten (Methodenhandbuch) Band 1: Die Untersuchung von Böden*. In: Bassler R (eds) VDUFLA-Verlag, Darmstadt, pp 1740
- Holloway JM, Dahlgren RA, Hansen B, Casey WH (1998) Contribution of bedrock nitrogen to high nitrate concentrations in stream water. *Nature* 395:785–788
- Huber C, Oberhauser A, Kreutzer K (2002) Deposition of ammonia to the forest floor under spruce and beech at the Höglwald site. *Plant Soil* 240:3–11
- Huber C, Kreutzer K, Röhle H, Rothe A (2004a) Response of artificial acid irrigation, liming, and N-fertilisation on elemental concentrations in needles, litter fluxes, volume increment, and crown transparency of an N saturated Norway spruce stand. *For Ecol Manag* 200:3–21

- Huber C, Weis W, Baumgarten M, Göttlein A (2004b) Spatial and temporal variation of seepage water chemistry after felling and small-scale clear-cutting in an N-saturated Norway spruce stand. *Plant Soil* 267:23–40
- Huber C, Schulze C, Baumgarten M (2005) Early effects of forest regeneration with selective and small scale clear-cutting on ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in a Norway spruce stand in Southern Bavaria (Höglwald). *Biodivers Conserv* 14:1989–2007
- Huber C, Weis W, Göttlein A (2006) Tree nutrition of Norway spruce as modified by liming and experimental acidification at the Höglwald site, Germany, from 1982 to 2004. *Ann For Sci* 63:861–869
- Hudson JJM, Gherini SA, Goldstein RA (1994) Modelling the global carbon cycle: nitrogen fertilization of the terrestrial biosphere and the “missing” CO₂ sink. *Glob Biogeochem Cycles* 8:307–333
- Ingwersen J, Butterbach-Bahl K, Gasche R, Richter O, Papen H (1999) Barometric process separation: new method for quantifying nitrification, denitrification, and nitrous oxide sources in soils. *Soil Sci Soc Am J* 63:117–128
- Ingwersen J, Schwarz U, Stange CF, Ju X, Streck T (2008) Shortcomings in the commercialized barometric process separation measuring system. *Soil Sci Soc Am J* 72:135–142
- Kiese R, Papen H, Zumbusch E, Butterbach-Bahl K (2002) Nitrification activity in tropical rain forest soils of the Coastal Lowlands and Atherton Tablelands, Queensland, Australia. *J Plant Nutr Soil Sci* 165:682–685
- Kohlpaintner M, Huber C, Weis W, Göttlein A (2008) Description, quantification and explanation of spatial and temporal variability of nitrate concentration in seepage water under a mature Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst) stand before and after clear cut. *Plant Soil* (in press)
- Kortelainen P, Saukkonen S, Mattsson T (1997) Leaching of nitrogen from forested catchments in Finland. *Glob Biogeochem Cycles* 11/4:627–638
- Kreutzer K (1995) Effects of forest liming on soil processes. *Plant Soil* 168–169:447–470
- Kreutzer K, Bittersohl J (1986) Investigations about the effects of acid deposition and compensative liming on the forest. *Forstwiss Cent Bl* 105:273–282 (in German with English summary)
- Kreutzer K, Weis W (1998) The Höglwald field experiments—aims, concepts and basic data. *Plant Soil* 199:1–10
- Laverman AM, Borgers P, Verhoef HA (2002) Spatial variation in net nitrate production in an N-saturated coniferous forest soil. *For Ecol Manag* 161:123–132
- Lovett GM, Weathers KC, Arthur MA (2002) Control of nitrogen loss from forested watersheds by soil carbon:nitrogen ratio and tree species composition. *Ecosystems* 5:712–718
- Müller C, Abbasi MK, Kammann C, Clough TJ, Sherlock RR, Stevens RJ, Jäger HJ (2004) Soil respiratory quotient determined via barometric process separation combined with nitrogen-15 labeling. *Soil Sci Soc Am J* 68:1610–1615
- Myrold DD, Tiedje JM (1986) Simultaneous estimation of several nitrogen cycles using ¹⁵N: theory and application. *Soil Biol Biochem* 18:559–568
- Nadelhoffer KJ, Emmet BA, Gundersen P, Kjønaas OJ, Koopmans CJ, Schleppi P, Tietema A, Wright RF (1999a) Nitrogen deposition makes a minor contribution to carbon sequestration in temperate forests. *Nature* 398:145–148

- Nadelhoffer KJ, Downs MR, Fry B (1999b) Sinks for ^{15}N -enriched additions to an oak forest and a red pine plantation. *Ecol Appl* 9(1):72–86
- Rennenberg H, Kreutzer K, Papen H, Weber P (1998) Consequences of high loads of nitrogen for spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*) forests. *New Phytol* 139:71–86
- Rosenkranz P, Brüggemann N, Papen H, Xu Z, Horváth L, Butterbach-Bahl K (2006) Soil N and C trace gas fluxes and microbial soil N turnover in a sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) forest in Hungary. *Plant Soil* 286:301–322
- Rothe A, Huber C, Kreutzer K, Weis W (2002) Deposition and soil leaching in stands of Norway spruce and European beech: results from the Höglwald research in comparison with other case studies. *Plant Soil* 240:33–45
- Saarsalmi A, Starr M, Hokkanen T, Ukonmaanaho L, Kukkola M, Nöjd P, Sievänen R (2007) Predicting annual canopy litterfall production for Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) stands. *For Ecol Manag* 242:578–586
- Schindler DW, Bayley SE (1993) The biosphere as an increasing sink for atmospheric carbon: estimates from increased nitrogen deposition. *Global Biogeochem Cycles* 7:717–733
- Selby B (1965) The index of dispersion as a test statistic. *Biometrika* 52:627–629
- Stark JM (1996) Modelling the temperature response of nitrification. *Biogeochemistry* 35:433–445
- Stockdale EA, Hatch DJ, Murphy DV, Ledgard SF, Watson CJ (2002) Verifying the nitrification to immobilisation ratio (N/I) as a key determinant of potential nitrate loss in grassland and arable soils. *Agronomie* 22:831–838
- Stoddard JL (1994) Long-term changes in watershed retention of nitrogen. In *Environmental chemistry of lakes and reservoirs*. In: Baker L (ed) *Advances in chemistry series* (237). American Chemical Society, Washington DC, pp 237–271
- Tiedje JM, Sorensen J, Chang YYL (1981) Assimilatory and dissimilatory nitrate reduction: perspectives and methodology for simultaneous measurement of several nitrogen cycle processes. In: Clark FE, Rosswall T (eds) *Terrestrial nitrogen cycles*. *Ecol Bull* (Stockholm) 33:331–342
- Tietema A, Riemer L, Verstraten JM, van der Maas MP, van Wijk AJ, vanVoorthuyzen I (1993) Nitrogen cycling in acid forest soils subject to increased atmospheric nitrogen input. *For Ecol Manag* 57:29–44
- Townsend AR, Braswell BH, Holland EA, Penner JE (1996) Spatial and temporal patterns in terrestrial carbon storage due to deposition of fossil fuel nitrogen. *Ecol Appl* 6:806–814
- Vitousek PM, Aber J, Howarth RW, Likens GE, Matson PA, Schindler DW, Schlesinger WH, Tilman GD (1997) Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. *Ecol Appl* 7:737–750
- Wälder K, Frischbier N, Bredemeier M, Näther W, Wagner S (2008) Analysis of humus mass variation in a mixed stand of European beech and Norway spruce: an application of structural equation modelling. *Ecol Model* (in press)
- Weis W (2002) Beeinflusst der Standort den Nitrataustrag? In: *Stickstoff in Bayerns Wäldern*. Bayerische Landesanstalt für Wald und Forstwirtschaft (eds) LWF-aktuell 34, pp 21–24

Publikation [IV]

Kohlpaintner M., Huber C., Matejek B., Papen H.
& Göttlein A.
(2011)

**Explanation of the small scale variability of nitrate
concentration in seepage water of an N saturated
mature spruce forest**

Annals of Forest Science

Eingereicht am 09.06.2011 in der in diesem Dokument
abgedruckten Version

1 Explanation of the small scale variability of nitrate 2 concentration in seepage water of an N saturated 3 mature spruce forest

4

5 Abstract

6

7 In N saturated forests nitrate concentrations in seepage water (NO_3^- _{seepage}) regularly
8 show a high spatial variability. Although NO_3^- _{seepage} has been investigated intensively
9 the reasons of the small scale variability at the stand level still remain unclear. Up to
10 now most studies focused on one or few major parameters, although NO_3^- leaching is
11 supposed to be complex. In this study we investigated at the N saturated Höglwald
12 site a multitude of parameters (N turnover, root biomass, soil chemistry, soil physics,
13 stand parameters, etc.) and related them with NO_3^- _{seepage}, which was measured with
14 suction cups in 40 cm depth.

15 Relatively few parameters could explain up to 93% of the variability of NO_3^- _{seepage} in
16 linear regression models. Net N mineralization rates in the humus layer and fine root
17 biomass in the upper mineral soil had highest explanatory power and influenced NO_3^-
18 _{seepage} positively. Fine root biomass in deeper soil layers (30-40 cm depth) and stand
19 density had a negative influence. We interpret the results that net N mineralization at
20 the site is the main driver for the heterogeneity of NO_3^- _{seepage} due to a highly variable
21 production of inorganic N. Roots in the upper mineral soil take up water in high
22 amounts, but not nitrate, causing an increase of NO_3^- _{seepage}. In contrast to that, roots
23 in the deeper mineral soil roots take up nitrate, but water to a relative smaller extent,
24 which leads to decreasing nitrate concentrations. Also, high stand density had a
25 negative effect on nitrate, which is explained by unfavourable conditions for
26 mineralization due to cooler micro-climate and/or high N uptake by roots. N input by
27 throughfall and the C/N ratio, which are relevant predictors of NO_3^- leaching at the
28 regional scale, did not contribute to small scale variability at our plot. Also, ground
29 vegetation coverage and the relative homogeneous chemical and physical soil
30 parameters were not included as significant parameters into the models.

31 As net N mineralization is relatively easy to measure it should be used to further
32 investigate the small scale patterns of NO_3^- leaching at the plot level.

33

34 Introduction

35

36 Due to persisting high levels of N deposition to forest ecosystems NO_3^- leaching has
37 become a serious problem in large parts of central European forests (Nihlgard 1985;
38 Dise et al. 1998; Kreuzer 1986, 1995; Gundersen et al. 2006). In the last decades
39 many forests shifted from a status of N limitation to N saturation which is indicated by
40 the onset of net nitrification and enhanced NO_3^- leaching (Aber et al. 1998; Aber et al.
41 1989; Vitousek et al. 1997). An input of about 10 kg N a⁻¹ by throughfall precipitation
42 is considered to be a threshold for elevated NO_3^- concentrations in seepage water
43 (Gundersen et al. 1998; Dise et al. 1998; Dise and Wright 1995; Kristensen et al.
44 2004). This threshold is exceeded by far for most German forests (Gauger et al.
45 2008). Mellert et al. (2005) found in a comprehensive survey in Bavaria in the years
46 2001 and 2002 that 37% of the investigated forests show clear signs of N saturation.
47 NO_3^- concentrations in seepage water (hereafter referred to as $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$) show a
48 high spatial variability in N saturated forests, even in homogenous even aged forest
49 stands (Mellert et al. 2008; Kohlpaintner et al. 2009; Gundersen et al. 2006;
50 Manderscheid and Matzner 1995a; Huber et al. 2004). The high spatial variability
51 makes it difficult to estimate nitrate with an adequate precision (Kohlpaintner et al.
52 2009; Manderscheid and Matzner 1995a).

53 Due to its importance for forests and adjacent ecosystems, NO_3^- leaching has been
54 investigated in many studies (Gundersen et al. 2006). However, the causes for the
55 observed variability still remain quite unclear (Göttlein and Stanjek 1996;
56 Manderscheid and Matzner 1995b; Kohlpaintner et al. 2009; Mellert et al. 2008).
57 Most studies investigated few major parameters concerning nitrate variability like N-
58 input (Dise et al. 1998), tree species composition (Rothe et al. 2002), stand age
59 (Rothe and Mellert 2004), and forest management (Huber et al. 2004), but a
60 comprehensive understanding about the regulating factors is still missing (Dise et al.
61 2009).

62 The homogenous Norway spruce plots at the N saturated stand "Höglwald" have
63 shown exemplarily very high spatial variability in nitrate (Kohlpaintner et al. 2009;
64 Huber et al. 2010). At that site Kohlpaintner et al. (2009) could explain about 40% of
65 the variability of $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ with easy and non destructive measurements in an
66 intensive campaign with 121 suction cups in a mature spruce stand. Vegetation
67 coverage and stand density were the explaining variables. Within the same plot

68 Matejek et al. (2008) found at 20 measuring places near to suction cups covering the
69 whole previously detected concentration gradient of the 121 spots that net N
70 mineralization in the organic layer explains around 50 to 60% of the variation of NO_3^-
71 $_{\text{seepage}}$. Additionally, we measured at the same 20 spots a multitude of physical,
72 chemical, and biological parameters which may influence NO_3^- leaching. In this paper
73 all parameters will be compiled and tested on the effect on nitrate concentration. We
74 will investigate first the relationship of each measured parameter to NO_3^- $_{\text{seepage}}$. In a
75 second step we developed a multivariate statistical model to explain as much
76 variability of NO_3^- $_{\text{seepage}}$ as possible. Therefore we used all data obtained in this study
77 as well as the data about microbiological N turnover presented in Matejek et al.
78 (2008).

79

80

81 **Material and methods**

82

83 Site description and research plot

84 The “Höglwald” long-term ecological monitoring and experimentation site is located
85 about 50 km west of Munich (48°17’N; 11°04’E) at an elevation of 540 m asl. The
86 mean annual bulk precipitation between 1985 and 204 was 947 mm and the mean
87 annual temperature was 7.9°C (Huber et al. 2010). In the year of the investigation
88 (2005) bulk precipitation was 1050 mm and mean temperature was 8.0°C. The region
89 around the Höglwald is characterised by a mix of relatively small coniferous forests
90 and intensive agriculture with mainly cattle farming. The site is N saturated according
91 to the definitions of Gundersen et al. (2006) and Aber et al. (1989). The annual N
92 input via throughfall is about 30 kg ha⁻¹ a⁻¹, while output with seepage water is about
93 the same amount (Rothe et al. 2002; Weis et al. 2007). The soil is an Alisol according
94 to the FAO classification (WRB-IUSS-Working-Group 2007) or a Parabraunerde
95 according to the German soil classification (AG-Boden 2005). It is derived from
96 pleistocene loess over tertiary silty sand. The topsoil is strongly acidified with a base
97 saturation of less than 10% in 40 cm depth and a pH of 3.7 (KCl). The mineral soil is
98 covered by an organic layer (6-8 cm thick, typical moder). In the organic layer the
99 base saturation of the cation exchange capacity is rather high (40% in the Oh, 80% in
100 the litter layer) due to higher base saturation in the deeper mineral soil accessible to
101 tree root. However, pH values are extremely low with a minimum of 2.75 (KCl) in the
102 O_h horizon. N content in the organic layer is about 1.7% and the C/N ratio of 23–27
103 indicates good conditions for nutrient turnover. Soil texture ranges from loamy sand
104 to sandy loam. No coarse material (>2 mm) is present in the mineral soil. A detailed
105 description of the Höglwald experimental site is given in (Kreutzer and Weiss 1998).
106 The newly installed plot for this NO₃⁻ study is located about 800 m in the south east of
107 the “control plot” A1 of the “Höglwald” site. More information about the plot can be
108 found in Kohlpaintner et al. (2009).

109

110 Experimental set up

111 In April 2005 121 suction cups (tension ceramic lysimeters, SKL 100, UMS GmbH
112 München) were installed vertically in hand-augered holes in a 2x2 m grid in 40 cm
113 depth (from the start of the mineral soil). The plot size was 30x18 m. After discarding
114 the first sample, soil solution was collected at least monthly between May and

115 October 2005. A vacuum suction of 60 kPa was applied one week before the date of
116 sampling collection. In the field the glass bottles for soil water collection were
117 covered by plastic buckets to reduce light and temperature induced element turnover.
118 After the installation the whole sampling area was protected by a fence. For more
119 details see Kohlpaintner et al. (2009).

120 After four samplings we selected in July 2005 20 suction cup places which were
121 distributed uniformly over the investigation plot and covered the whole previously
122 detected concentration range of NO_3^- seepage from 1 to 160 mg l^{-1} (Kohlpaintner et al.
123 2009).

124 At these 20 places we measured a multitude of physical, chemical, biological and
125 stand parameters thought to influence NO_3^- leaching. Table 1 gives an overview over
126 the measured parameters and the soil layers where they have been determined and
127 the date or time span when measurements took place.

128 From mid July to mid October we measured water and N-Input via throughfall
129 precipitation with small samplers (area = 50.3 cm^2) directly above the suction cups.
130 The small sampling area was chosen in order to not disturb water and ion input to the
131 measuring spots. The depth of the organic layer was measured during the
132 implementation of the suction cups in April and during soil sampling in October. At
133 this date also the total dry weight of the organic layer was determined.

134 From mid of July to mid of September Matejek et al. (2008) measured net N
135 mineralization and nitrification rates with the buried bag technique (Eno 1960; Hart et
136 al. 1994) as well as gross rates of nitrification using the Barometric Process
137 Separation (BaPs) method (Ingwersen et al. 1999) and extractable amounts of nitrate
138 (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+) in the organic layer. Incubation time for the
139 determination of N turnover rates was 4 weeks. While Matejek et al. (2008) used
140 area related N turnover rates (e.g. $\text{mg N d}^{-1} \text{m}^{-2}$) already including substrate
141 availability at the different sampling spots, in this paper we refer to dry weight of
142 organic matter (e.g. $\text{mg N d}^{-1} \text{kg}^{-1}$) and considered the substrate availability
143 separately as weight and/or depth of the organic layer in kg m^{-2} and/or cm
144 respectively.

145 In July the vegetation coverage in a circle of 60 cm around each suction cup was
146 determined. We reported separately the percentage of coverage of the different
147 vegetation layers (shrub, herbaceous and moss layer) and for the major species
148 (*Oxalis acetosella*, different grasses, and tree saplings). At this time we also

149 determined stand parameters by measuring the distance of the suction cups to the
150 next trees and the breast height diameter of these trees.

151

152 Table 1

153

154 At the end of the vegetation period in October 2005 the 20 measuring spots were
155 sampled destructively to determine chemical, physical and biological parameters.

156 Organic layer samples were taken using a cylindrical template with a diameter of 45
157 cm. Tree roots were separated cautiously by using a 5 mm sieve. Organic layer
158 depth and total dry weight of the organic layer was determined. pH was measured in
159 H₂O and KCl. Part of the material was dried and prepared for total C and total N
160 analysis.

161 The mineral soil was sampled from 0-40 cm depth in layers of 10 cm using a
162 cylindrical steel template with a diameter of 36 cm which was introduced into the soil
163 down to 40 cm depth prior to sampling to assure constant volumes for the
164 determination of root biomass and other parameters. Prior to bulk soil sampling from
165 each layer 4 undisturbed soil cores (stainless steel cylinders of 100 cm³) were taken
166 for determination of bulk density and pore size distribution at 60, 300 and >300 mbar
167 pressure. Mineral soil was sieved with a 2 mm mesh to separate living tree root
168 biomass. PH value was measured in H₂O and KCl. An aliquot of each layer was
169 dried and prepared for other chemical and physical analysis.

170 All root material was taken to the lab, washed, separated into different root size
171 classes (<2 mm, 2-5 mm and >5mm). Afterwards roots were dried and weighted.

172

173 Chemical and laboratory analysis

174 In the laboratory all seepage water and throughfall samples were filtered using
175 membrane filters with a pore size of 0.45 µm (Schleicher and Schuell NC 45) and
176 stored at 4°C until they were analysed within a week after collection. NO₃⁻ was
177 determined by ion chromatography (Dionex DX120). NH₄⁺ in throughfall was
178 determined by the segmented flow analysis (Autoanalyzer from Skalar). NH₄⁺ was
179 not detectable in seepage water.

180 C and N content was determined on ground soil samples with a CHN analyzer
181 (Leco). PH was determined in H₂O and 1 M KCl using a soil to solution ratio of 1:2.5

182 applied on a weight basis for mineral soil and on a volume basis for organic layer
183 samples.

184 Grain size distribution of the mineral soil was determined by a combination of
185 sedimentation and sieving with an aliquot of 20 g of dried soil which was dispersed
186 completely with sodium pyrophosphate.

187 Pore Volume at different matrix potentials was determined in pressure chambers
188 where water saturated undisturbed soil cores were placed on ceramic plates using a
189 glass fibre filter to assure capillary connection. We applied 60 and 300 mbar of
190 pressure. Cylinders were weighted before and after each pressure step and allowed
191 to equilibrate. After the 300 mbar step samples were dried at 105°C and weighted to
192 determine bulk density. Pore volumes at 60, 300 and >300 mbar were calculated
193 using the weight differences of the cylinders at the different steps. The pore volumes
194 are equivalent to wide macro pores (>50 µm), small macro pores and meso pores
195 (50-10 µm) and meso to fine pores (<10 µm) at the respective pressure steps.

196

197 Statistics

198 As we had 8 different samplings for nitrate in seepage water (hereafter referred as
199 $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$) from April to October and temporal variability was considerably lower
200 than spatial variability (Kohlpaintner et al. 2009) we decided to test all explaining
201 variables with the arithmetic mean of these 8 measurements. We calculated a
202 univariate ANOVA and did a correlation analysis for the mean $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ and each of
203 the explaining variables. As we had a large set of explaining variables we ranked
204 them according to descending F-values from the ANOVA. For the stepwise linear
205 regression models we only chose variables with F-values greater than 1.5. As many of
206 the potential predictors are correlated with each other we calculated stepwise linear
207 regression models to identify the most significant multivariate relationships between
208 $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ and measured parameters. This was done for every sampling date and
209 the mean $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ with all parameters which showed F-values above 1.5.
210 Afterwards we took all variables which were significant in at least one of the models
211 (variables listed in Table 3) and calculated for every sampling date and the mean
212 $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ a stepwise backwards linear regression. Table 3 shows the results of the
213 regression models. Only variables which contributed to explanation at a significance
214 level of 0.05 were included into the stepwise linear regression models and for the
215 backwards procedure exclusion criteria was a p-value <0.1. The final models were

216 assessed for multicollinearity. Variables which showed variance inflation factors
217 above 5 were excluded as well as variables which caused a condition number above
218 30. A subsequent examination of the scatter plot of the standardized residuals versus
219 the predicted values showed no systematic patterns in the final models presented in
220 Table 3.

221 All statistical analyses were performed using SPSS 17.0.

222

223

224 **Results**

225

226 Nitrate in seepage water

227 NO_3^- seepage showed mean values from 1.6 (s.d. 1.4) to 127.7 (s.d. 7.4) mg l^{-1} at the
228 respective sampling places (Figure 1). The mean NO_3^- seepage at the sampling dates
229 slightly declined from April (56.6 mg l^{-1}) to July (50.2 mg l^{-1}) and then decreased to
230 34.9 at the last sampling in October. Temporal variation expressed as coefficient of
231 variance (c.v.) at the 20 sampling places ranged from 4 and 103% with a mean value
232 of 31%. Spatial variation expressed as c.v. at the respective sampling dates ranged
233 from 70 to 96%. Temporal as well as spatial variability at the 20 sampling places
234 were almost the same as reported for the whole set of 121 suction cups in
235 Kohlpaintner et al. (2009).

236 Table 2 describes all independent variables with an F-Value higher than 1.5 when
237 compared to the mean NO_3^- seepage.

238

239 Figure 1

240

241

242 N mineralization and nitrification

243 Processes and parameters related with N turnover were highly correlated with NO_3^-
244 seepage and showed high F values (Table 2). Net N mineralization measured between
245 July and September showed the highest positive significant correlation with an r of
246 0.87 and showed rates between -1.2 and 6.7 $\text{mg N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$. The spatial variability was
247 high (c.v. = 51%) and in the range of the variability of NO_3^- seepage. The pool of
248 inorganic N (NH_4^+ -N and NO_3^- -N) measured at the beginning of the incubation period
249 ranged between 456 and 114 mg N kg^{-1} and showed also a highly significant positive
250 correlation and the second highest F-value. If the pools of NH_4^+ and NO_3^- pool were
251 considered separately correlations were lower and ranges were from 9.3 to 186.4
252 (c.v. = 94%) and from 28.9 to 176.2 (c.v. = 40%) mg N kg^{-1} respectively. Net
253 nitrification had also a highly significant r and showed rates between 0.5 and 5.2 (c.v.
254 = 54%) $\text{mg N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$. Gross nitrification rates in contrast showed an F-value far
255 below 1.5 and had a very weak positive correlation with NO_3^- seepage (Matejek et al.
256 2008).

257

258 Ground vegetation coverage

259 Ground vegetation coverage of *oxalis acetosella* ranged from 3 to 50% and exhibited
260 highly significant positive correlation with the mean NO_3^- seepage. Coverage of mosses
261 ranged from 2 to 98% and exhibited significant negative correlation while the
262 coverage of all other vascular plants (range from 0 to 87%) showed a negative but
263 not significant correlation with NO_3^- seepage.

264

265 Tree roots

266 Figure 2 shows the horizontal distribution of fine and medium sized roots at the
267 investigated plot. Fine root biomass (<2 mm) and medium sized root biomass (2-5
268 mm) in the organic layer showed no significant correlation with NO_3^- seepage and had
269 very low F-values. In contrast fine root biomass in the upper two mineral soil layers
270 showed F-values above 1.5. Correlations with NO_3^- seepage were positive and
271 significant for fine root biomass in 0-10 cm and medium sized root biomass in 10-20
272 cm. For the 20-30 cm layer only the medium sized root biomass showed an F-value
273 above 1.5 but the correlations was negative and not significant. For the 4th layer (30-
274 40 cm) fine root biomass showed a significant negative correlation, while medium
275 sized root biomass exhibited a non significant negative correlation with NO_3^- seepage
276 (Table 2). More than 70% of the fine and medium sized root biomass in the
277 investigated soil profiles was located in the organic layer and the mineral soil from 0-
278 10 cm. 56 and 45% respectively were located in the 0-10 cm layer, while fractions of
279 fine and medium roots in 40 cm are below 5% and below 15% respectively (see also
280 Fig. 2).

281

282 Figure 2

283

284 Chemical and physical soil parameters

285 High F-values and significant negative correlations were determined for pH in H_2O in
286 the soil layers from 20-40 cm and for the C/N ratio in the 4th soil layer with pH ranges
287 from 4.0 to 4.5. Also negative but not significant correlations were measured for C
288 contents in layer 3 and 4 and for the C/N ration in the 3rd layer. Positive but weaker
289 correlations were found for C and N parameters in the organic layer and the 1st
290 mineral soil layer. The pH, C and N values of the other investigated soil layers had no
291 F-values above 1.5 and showed no relationship with NO_3^- seepage.

292 Volume of macro pores ($>50\ \mu\text{m}$) in 20 to 30 cm depth, the layer directly above the
293 sampling depth, had a weak negative correlation with NO_3^- seepage while volume of
294 meso and fine pores ($<10\ \mu\text{m}$) and bulk density of the same soil layer had a weak
295 positive correlation. Pore volume and bulk density in the other mineral soil layers had
296 no F-values above 1.5 as well as grain size distribution in all mineral soil layers.
297 Clay (particle size $<2\ \mu\text{m}$) content in the different layers was between 10 and 12%
298 while silt content was 30 and sand content was 60% with mostly fine sand.
299 Thickness of the Oh-layer and the whole O-layer (Of+Oh) had a weak positive
300 correlation with NO_3^- seepage and F-values around 2. They ranged from 18 to 44 mm
301 and 29 to 90 mm respectively and had a c.v. of 20%. The dry weight of the organic
302 layer which ranged from 2.0 to 10.1 kg m^{-2} (mean = 6.5 kg m^{-2}), had a c.v. of 30%
303 and showed no F-values above 1.5.

304

305 Stand parameters

306 Basal area of spruce trees in a circumference of 4 m around the suction cup, which
307 can be interpreted as a measure of stand density and ranged from 2200 to 5500 cm^2 ,
308 had a negative correlation with NO_3^- seepage as well as basal area between 2 and 4 m
309 around the suction cup.

310

311 Throughfall

312 Water Input via throughfall ranged from mid July to mid October ranged from 159 to
313 233 l m^{-2} . Mean value was 187 l m^{-2} and the c.v. was 10%. N input via throughfall
314 ranged from 3.8 to 9.1 kg N ha^{-1} at the 20 sampling places (mid July to mid October)
315 with a mean value of 6.1 kg N ha^{-1} . Whether throughfall inputs of NH_4^+ and NO_3^- , nor
316 the volume weighted concentrations of these parameters showed correlations with
317 the mean NO_3^- seepage (F-values below 1.5) and were therefore not used for linear
318 regression analysis. C.v. for N input parameters ranged from 23 to 29%.

319

320 Regression Models

321 Multiple R^2 were high and the models explained between 78 and 93% of the variation
322 of NO_3^- seepage. Net N mineralization was included in all models and had a positive
323 effect on NO_3^- seepage. Influence was stronger from April to August and declined in
324 September and October but it always explained the highest part of the variation in the

325 models. Sum of the squared standardized regression coefficients (β^2) are
326 consistently lower compared with adjusted multiple R^2 (Table 3).

327

328 Table 3

329

330 Fine root biomass in the mineral soil from 0-30 cm depth was also included in all of
331 the models and had a positive influence on NO_3^- seepage. In contrast fine roots in 30 to
332 40 cm depth had no significant explanatory influence until July where it started to
333 increase negatively until October. Medium sized roots in 20-30 cm depth had a small
334 negative influence from April to June but none afterwards. Basal area of the trees
335 showed a significant negative influence on NO_3^- seepage, which declined from April to
336 July but wasn't significant from August and October. Also, volume of pores $<10 \mu\text{m}$
337 and pH in 20-30 cm depth had a significant influence on NO_3^- seepage from April to June
338 and from August to October respectively. But both variables were excluded from the
339 models due to high collinearity indexes. *Oxalis acetosella* exhibited only in the model
340 with the mean NO_3^- seepage a significant positive influence but was also excluded
341 because of collinearity.

342

343

344 **Discussion**

345 Studies investigating the reasons for spatial patterns of NO_3^- seepage were mostly
346 focused on one or few parameters (Manderscheid and Matzner 1995a; Matejek et al.
347 2008; Kohlpaintner et al. 2009; Mellert et al. 2008). But the processes and
348 parameters involved in small scale N leaching at the stand level are supposed to be
349 complex and may involve multiple factors. To our knowledge this is the first study
350 which evaluates various parameters including N input, N turnover processes,
351 parameters relevant for N uptake, physical and chemical soil parameters and stand
352 parameters which may influence NO_3^- seepage below the main rooting zone of an N
353 saturated forest stand. However, the results of the linear regression models show
354 that relatively few parameters can explain up to 93% of the observed variability of
355 NO_3^- seepage at our plot. All of these parameters themselves are dependent on a variety
356 of other investigated parameters (e.g. soil parameters), which were not included in
357 the models. In all of the models net N mineralization and fine root biomass in the
358 upper mineral soil are positively influencing nitrate concentration; while roots in
359 deeper soil layers mostly had a negative effect on nitrate. Also, basal area of spruce
360 trees near to the sampling places is included in most of the models and exhibited a
361 negative effect on nitrate. The plausibility of these factors on nitrate will be discussed

362

363 N-turnover

364 Net N mineralization measured from July to August in incubation periods of 4 weeks
365 showed highest correlation with NO_3^- seepage and explained most of its small scale
366 variability at all sampling dates from April to October (see also (Matejek et al. 2008)).
367 It is surprising that even for the seepage water samplings from April to June (up to 3
368 months before the start of the incubations) the explanation power of net N
369 mineralization was high. Even for the rates measured in July the downward transport
370 of the produced N-compounds with seepage water will take weeks to months
371 depending on water fluxes with seepage. This implies that the rates or at least their
372 proportions may be relatively constant over a longer time period. At the end of the
373 vegetation period NO_3^- seepage declined (from 50 mg l^{-1} in July to 35 mg l^{-1} in October).
374 Also the explanation power of the models decreased for this period. Both findings
375 may be caused by changes in net N mineralization rates and indicates a temporal
376 variability in this process which was not investigated in this survey. Laverman et al.

377 (2000) found considerable temporal variation in net N mineralization rates during one
378 year of investigation in a N saturated scots pine forest in the Netherlands.

379 The sum of the inorganic N pool (NH_4^+ and NO_3^-) also showed a high correlation with
380 $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ which is reasonable as the pool of inorganic N is, beside throughfall input,
381 the result of the mineralization activity. In contrast to this the correlations between
382 $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ and other N turnover rates as well as the pools of NH_4^+ and NO_3^- , when
383 considered separately, were considerably lower. Due to the high intercorrelations
384 with net N mineralization parameters were not included into the linear regression
385 models.

386 It may be surprising that net nitrification explains less variability than net N
387 mineralization. However, there are some inevitable methodological side effects,
388 which may help to explain this result. Nitrification rates were determined under the
389 exclusion of tree/plant root uptake and according to our flux calculations from other
390 plots (Huber 1997) the N uptake occurs in the forest floor mainly via uptake of NH_4^+
391 (Gessler et al. 1998; Kronzucker et al. 1996). In nitrification experiments the
392 competition between microorganisms and plant roots is eliminated. Hence, more
393 substrate is available for nitrification in the experiment than would be under natural
394 conditions. Therefore the potential of net N mineralization is more important for
395 nitrate variability than the potential to nitrify at a certain measuring spot, as in reality a
396 large part of ammonified substrate would be taken up by the tree roots before
397 nitrification could occur. The higher correlation of $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$ with the sum of
398 inorganic N-pools in the organic layer compared to the separated pools (see table 2)
399 supports this hypothesis.

400 This suggests that conversion rates of organic N into inorganic N in the organic layer
401 are a very important driver for the observed variability of $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$. Another aspect
402 is that part of the NH_4^+ produced in the humus layer is leached into the mineral soil
403 where it may be immobilized, taken up or nitrified. The NO_3^- resulting from nitrification
404 may influence $\text{NO}_3^-_{\text{seepage}}$. As we measured in situ nitrification only in the organic
405 layer we have no information about this parameter in the mineral soil. But laboratory
406 measurements showed that net nitrification rates in the upper mineral soil (0-10 cm)
407 is still considerable and almost as high as gross nitrification and even in the mineral
408 soil layer from 10-40 cm nitrification takes place (Matejek et al. 2010).

409

410 Tree roots

411 Horizontal and vertical distribution of fine and medium roots is well in accordance
412 with other studies conducted at this site (Rothe 1997; Kreuzer et al. 1991). In the
413 linear regression models the biomass of fine roots in the upper mineral soil (0-30 cm
414 depth) were the second most important explaining variable for NO_3^- seepage. However,
415 we found no correlation between NO_3^- seepage and roots in the organic layer. The
416 biomass of medium sized roots in 20-30 cm depth had a significant negative effect on
417 NO_3^- seepage in the models from April and May. For the samplings from July to October
418 the fine root biomass in 30-40 cm depth had a significant negative explanatory effect.
419 The importance of the latter is even increasing from July to October and may be
420 dependent on the season due to root turnover processes.

421 The significant correlation with fine root biomass in the upper mineral soil suggests
422 that roots in this depth take up water but not (or to a relative small extend) NO_3^- ,
423 leading to an increase in NO_3^- seepage. This is supported by a significant negative
424 correlation between fine root biomass and water in sampling bottles (data not
425 presented). Further, Gessler et al. (1998) showed at our site, that NO_3^- was not taken
426 up in the organic layer and the uppermost mineral soil.

427 In 30 to 40 cm depth in contrast the correlation between NO_3^- seepage and fine roots
428 was significantly negative suggesting uptake of NO_3^- at this depth. Marschner et al.
429 (1991) reported significant higher uptake of NO_3^- when NH_4^+ wasn't present in
430 nutrient solution, which is the case at these depths at the Höglwald site. Within this
431 study we did not detect NH_4^+ in suction cup solution in 40 cm depth of the mineral
432 soil. These results suggest that fine roots in the upper mineral layer (0-30 cm) are
433 responsible for an enrichment of NO_3^- in soil solution by water and NH_4^+ uptake,
434 while in deeper mineral soil layers (30-40 cm) fine roots reduce nitrate concentration
435 by NO_3^- uptake. This is also supported by seepage water flux calculations at the
436 Höglwald site, where Kreuzer et al. (1998) found lower NO_3^- fluxes in 40 cm
437 compared to 20 cm depth

438

439 Stand parameters

440 There was a weak negative correlation between basal area ("stand density") around
441 the suction cup and NO_3^- seepage. Total basal area in a diameter of 4 m around the
442 suction cups was also included as a significant variable in the linear regression
443 model at most of the sampling dates with decreasing explanatory power at the end of
444 the vegetation period. A high stand density caused lower concentrations of NO_3^-

445 seepage. Kohlpaintner et al. (2009) interpreted a high stand density with high N input
446 but also high N uptake by tree roots. Additionally, the cooler and possibly drier micro
447 climate at dense subplots is not favourable for N-mineralization, leading to lower
448 nitrate production.

449

450 Ground vegetation

451 Coverage of *Oxalis* showed the second highest correlation with NO_3^- seepage. As the
452 biomass production of *Oxalis acetosella* at our site is low, it is unlikely that it has a
453 major influence on N cycling (Rodenkirchen 1995). High coverage of this plant may
454 be rather seen as an indicator than a cause for high NO_3^- seepage (Kohlpaintner et al.
455 2009). Therefore, coverage of oxalis was not a significant and relevant parameter in
456 most of the linear regression models. Highly significant positive correlations with N
457 turnover parameters suggest, that a high coverage of this plant is a consequence of
458 enhanced available inorganic N (especially NO_3^-) and calcium which is favourable for
459 its growth (Rodenkirchen 1998). High coverage of mosses had a significant negative
460 correlation with NO_3^- seepage, which was also detected by Kohlpaintner et al. (2009).
461 High moss cover may indicate cool and shady conditions which may hinder
462 mineralization and nitrification processes. Coverage by vascular plants (without
463 oxalis) showed a slight negative correlation with NO_3^- seepage which may be caused by
464 N uptake. Several studies already reported lower NO_3^- seepage at sampling places with
465 high vegetation coverage (Kohlpaintner et al. 2009; Weis et al. 2001; Huber et al.
466 2004; Mellert et al. 1996). However, coverage neither by mosses nor by vascular
467 plants was considered in the linear regression models.

468

469 Chemical soil parameters

470 Soil pH measured in H_2O in the subsoil showed significant negative correlation with
471 NO_3^- seepage. On a regional scale Dise et al. (1998) and Kristensen et al. (2004) also
472 found significant negative relationship between dissolved inorganic nitrogen and pH
473 in the B-horizon of European forests. They concluded that the meaning of this
474 relation is unclear as the lower pH values at sites with high N leaching may be
475 caused due to proton production during the excess nitrification and may therefore be
476 an effect of the long term high N deposition. In our case we assume that the lower
477 pH-values at high NO_3^- seepage are caused by the actual high nitrification rates in the
478 organic layer at these sampling places. But nevertheless pH in subsoil seems to be

479 one of the few parameters which is correlated with NO_3^- seepage on the regional scale
480 as well as at the small scale.

481 Negative correlations between C content, the C/N ratio in 20-40 cm depth and NO_3^-
482 seepage were found. In contrast to that, the same parameters in the organic layer and
483 in 0-10 cm depth parameters showed weak positive correlations with NO_3^- seepage.
484 However, none of the chemical soil parameters was a significant explaining variable
485 in the linear regression models. Even C/N which is an important parameter
486 concerning NO_3^- leaching at the regional scale (Dise et al. 2009; van der Salm et al.
487 2007) was not included into linear regression models.

488

489 Physical soil parameters

490 High macro pore volume in 20-30 cm depth has a negative correlation with NO_3^-
491 seepage while high middle and fine pore volume as well as high bulk density has a
492 positive one. High macro pore volume may cause fast drainage and low interactions
493 between water and roots. This leads to low water uptake and hence no concentrating
494 effects as observed in the upper soil layer at these places. High middle and fine pore
495 volumes which are correlated with high bulk densities may have inverse effects.
496 Strong et al. (1998) underlined the importance of the meso pore fraction for N
497 turnover processes. Within these pore size class water content and access to organic
498 matter is mostly favourable for micro organisms and N-turnover is fast. Macro pores
499 are more frequently subject to drying and fine pores are difficult to access for
500 microbes.

501

502 Throughfall

503 It was surprising, that N input via throughfall showed no correlation with NO_3^- seepage,
504 although at the large scale N input is a very significant predictor for nitrate leaching
505 (Gundersen et al. 1998; Dise et al. 1998; Dise and Wright 1995; Kristensen et al.
506 2004; Borken and Matzner 2004). Manderscheid and Matzner (1995a) haven't found
507 correlations between N input and NO_3^- seepage at the stand level either. High N input is
508 a prerequisite for N-saturation and the associated high spatial variability of NO_3^- seepage
509 but shows not enough small scale variability at our plot (c.v. about 25%) to
510 significantly explain variability of NO_3^- leaching.

511

512 Organic Layer

513 Depth of the organic layer was weakly positive correlated with NO_3^- seepage but was not
514 considered in the linear regression model. This was surprising, as substrate
515 availability was thought to have a positive influence on inorganic N production.

516

517 None of the measured chemical and physical soil parameters, nor the depth of the
518 organic layer were able to give sound explanations concerning NO_3^- seepage in the
519 linear regression models (pH and pore volume ($>10 \mu\text{m}$) at 20-30cm were excluded
520 from the models due to high collinearity indexes). All of these variables were
521 relatively uniform at the study site which is shown by c.v. mostly below 20%. This is
522 considerably lower than the c.v. for NO_3^- seepage and most of the measured biological
523 parameters (Table 2). This shows that at our homogenous spruce stand the
524 biological parameters are the driving factors responsible for the variability of NO_3^-
525 seepage while abiotic parameters play only a minor role which can not be resolved in
526 our models. This may be different at sites where these abiotic soil parameters are
527 more heterogeneous like in mountainous regions.

528

529

530 **Conclusions**

531 Biological parameters like net N mineralization, root distribution and stand density
532 explained most of the variability in NO_3^- seepage. While the rate of net N mineralization
533 seems to be decisive for NO_3^- production roots mediate the NO_3^- seepage in two ways.
534 While the fine roots in the upper mineral soil are responsible for enhanced NO_3^-
535 concentrations due to intensive water uptake medium sized roots and fine roots in
536 deeper soil layers take up NO_3^- and cause dilution. High stand density has a negative
537 influence on NO_3^- and cause lower NO_3^- seepage.

538 Physical and chemical soil parameters as well as N-input at the sampling places
539 which showed themselves only a small spatial variability in contrast could not
540 contribute in explaining the heterogeneity of NO_3^- seepage. This suggests that at our
541 homogenous site biological factors and processes are the main drivers of variation in
542 N leaching.

543 Important parameters which explain variation of nitrate leaching on the regional scale
544 like N-input by throughfall and C/N-ratio can obviously not explain leaching at the
545 small scale in homogenous N saturated stands.

546 Possible explaining variables were measured only once and at different times during
547 the vegetation period. Repeated and synchronous measurements especially for net
548 N mineralization would yield in better information about the temporal variability and
549 may even improve the explaining power of the models. As the measurement of this
550 parameter is not very complicated net N mineralization should be used to further
551 explore NO_3^- leaching in N saturated forests.

552 Also the turnover of the root biomass should be considered in a better temporal
553 resolution. In addition the high spatial variability of the NO_3^- seepage and its explaining
554 variables implies a sampling with high spatial resolution in order to gain
555 representative information.

556

557 **Acknowledgements**

558 The authors thank the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) for funding the
559 presented investigation. Furthermore we would like to thank Wendelin Weis, Verena
560 Rotter, Manuela Theobald, Christine Pfab, Rita Heibl, Wolfgang Petrik, Daniel Glaser
561 and and Rasmus Ettl for support during plot installation and sampling and for
562 performing the laboratory analysis.

563

564

565 **References**

566

567 Aber J, McDowell W, Nadelhoffer K, Magill A, Berntson G, Kamakea M, McNulty S,
568 Currie W, Rustad L, Fernandez I (1998) Nitrogen saturation in temperate
569 forest ecosystems - Hypotheses revisited. *Bioscience* 48 (11):921-934

570 Aber JD, Nadelhoffer KJ, Steudler P, Melillo JM (1989) Nitrogen Saturation in
571 Northern Forest Ecosystems. *Bioscience* 39 (6):378-386

572 AG-Boden (2005) Bodenkundliche Kartieranleitung. 5. Aufl. edn. Bundesanstalt für
573 Geowissenschaften und Rohstoffe in Zusammenarbeit mit den Staatlichen
574 Geologischen Diensten der BRD, Hannover

575 Borken W, Matzner E (2004) Nitrate leaching in forest soils: an analysis of long-term
576 monitoring sites in Germany. *J Plant Nutr Soil Sci-Z Pflanzenernahr Bodenkd*
577 167 (3):277-283

578 Dise NB, Matzner E, Gundersen P (1998) Synthesis of nitrogen pools and fluxes
579 from European forest ecosystems. *Water Air Soil Pollut* 105 (1-2):143-154

580 Dise NB, Rothwell JJ, Gauci V, van der Salm C, de Vries W (2009) Predicting
581 dissolved inorganic nitrogen leaching in European forests using two
582 independent databases. *Science Of The Total Environment* 407 (5):1798-1808

583 Dise NB, Wright RF (1995) Nitrogen Leaching from European Forests in Relation to
584 Nitrogen Deposition. *Forest Ecology and Management* 71 (1-2):153-161

585 Eno CF (1960) Nitrate production in the field by incubating in polyethylene bags. *Soil*
586 *Sci Soc Am J* 24:2722-27799

587 Gauger T, H.-D. H, Rösemann C, Nagel H-D, Becker R, Kraft P, Schlutow A, Schütze
588 G, Weigelt-Kirchner R, Anshelm F (2008) Nationale Umsetzung UNECE-
589 Luftreinhaltekonvention (Wirkungen) Teil 2: Wirkungen und
590 Risikoabschätzungen Critical Loads, Biodiversität, Dynamische Modellierung,
591 Critical Levels Überschreitungen, Materialkorrosion. Im Auftrag des
592 Umweltbundesamtes, Dessau-Rosslau

593 Gessler A, Schneider S, Von Sengbusch D, Weber P, Hanemann U, Huber C, Rothe
594 A, Kreuzer K, Rennenberg H (1998) Field and laboratory experiments on net
595 uptake of nitrate and ammonium by the roots of spruce (*Picea abies*) and
596 beech (*Fagus sylvatica*) trees. *New Phytologist* 138 (2):275-285

597 Göttlein A, Stanjek H (1996) Micro-scale variation of solid-phase properties and soil
598 solution chemistry in a forest podzol and its relation to soil horizons. *European*
599 *Journal of Soil Science* 47 (4):627-636

600 Gundersen P, Callesen I, de Vries W (1998) Nitrate leaching in forest ecosystems is
601 related to forest floor C/N ratios. *Environmental Pollution* 102:403-407

602 Gundersen P, Schmidt IK, Raulund-Rasmussen K (2006) Leaching of nitrate from
603 temperate forests - effects of air pollution and forest management.
604 *Environmental Reviews* 14 (1):1-57

- 605 Hart SC, Stark JM, Davidson EA, Fireston MK (1994) Nitrogen mineralization,
606 immobilization and nitrification. In: America SSSo (ed) Methods of soil
607 analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties. 5 edn. Soil
608 Science Society of America, Madison, WI, USA, pp 985-1018
- 609 Huber C (1997) Untersuchungen zu Ammoniakemission und Stoffhaushalt in einem
610 stickstoffübersättigten ungekalkten und neu gekalkten Fichtenökosystem
611 (Höglwald). Ludwig-Maximilians Universität, München
- 612 Huber C, Aherne J, Weis W, Farrell EP, Göttlein A, Cummins T (2010) Ion
613 concentrations and fluxes of seepage water before and after clear cutting of
614 Norway spruce stands at Ballyhooly, Ireland, and Höglwald, Germany.
615 Biogeochemistry DOI: 10.1007/s10533-010-9459-9
- 616 Huber C, Weis W, Baumgarten M, Göttlein A (2004) Spatial and temporal variation of
617 seepage water chemistry after felled and small scale clear-cutting in a N-
618 saturated Norway spruce stand. *Plant Soil* 267 (1-2):23-40
- 619 Ingwersen J, Butterbach-Bahl K, Gasche R, Richter O, Papen H (1999) Barometric
620 process separation: New method for quantifying nitrification, denitrification,
621 and nitrous oxide sources in soils. *Soil Sci Soc Am J* 63 (1):117-128
- 622 Kohlpaintner M, Huber C, Weis W, Göttlein A (2009) Spatial and temporal variability
623 of nitrate concentration in seepage water under a mature Norway spruce
624 *Picea abies* (L.) Karst stand before and after clear cut. *Plant Soil* 314 (1-
625 2):285-301
- 626 Kreutzer K (1986) Synoptical Discussion Of Results Of Field Experiments On The
627 Influence Of Acid Deposition And Liming In Stands Of Norway Spruce (*Picea-
628 Abies* [L] Karst). *Forstwissenschaftliches Centralblatt* 105 (4):371-379
- 629 Kreutzer K (1995) Effects of Forest Liming on Soil Processes. *Plant Soil* 169:447-470
- 630 Kreutzer K, Beier C, Bredemeier M, Blanck K, Cummins T, Farrell EP, Lammersdorf
631 N, Rasmussen L, Rothe A, de Visser PHB, Weis W, Weiss T, Xu YJ (1998)
632 Atmospheric deposition and soil acidification in five coniferous forest
633 ecosystems: a comparison of the control plots of the EXMAN sites. *Forest
634 Ecology and Management* 101 (1-3):125-142
- 635 Kreutzer K, Göttlein A, Pröbstle P, Zuleger M (1991) Höglwaldforschung 1982-1989 -
636 Zielsetzung, Versuchskonzept, Basisdaten. In: Kreutzer K, Göttlein A (eds)
637 Ökosystemforschung Höglwald: Beiträge zur Auswirkung von saurer
638 Beregnung und Kalkung in einem Fichtenaltbestand. *Forstwissenschaftliche
639 Forschungen*, 39 edn. Paul Parey, Hamburg und Bremen, pp 11-21
- 640 Kreutzer K, Weiss T (1998) The Höglwald field experiments - aims, concept and
641 basic data. *Plant Soil* 199 (1):1-10
- 642 Kristensen HL, Gundersen P, Callesen I, Reinds GJ (2004) Throughfall nitrogen
643 deposition has different impacts on soil solution nitrate concentration in
644 European coniferous and deciduous forests. *Ecosystems* 7 (2):180-192

- 645 Kronzucker HJ, Siddiqi MY, Glass ADM (1996) Kinetics of NH₄⁺ influx in spruce.
646 Plant Physiology 110 (3):773-779
- 647 Laverman AM, Zoomer HR, van Verseveld HW, Verhoef HA (2000) Temporal and
648 spatial variation of nitrogen transformations in a coniferous forest soil. Soil Biol
649 Biochem 32 (11-12):1661-1670
- 650 Manderscheid B, Matzner E (1995a) Spatial and Temporal Variation of Soil Solution
651 Chemistry and Ion Fluxes through the Soil in a Mature Norway-Spruce (Picea-
652 Abies (L) Karst) Stand. Biogeochemistry 30 (2):99-114
- 653 Manderscheid B, Matzner E (1995b) Spatial heterogeneity of soil solution chemistry
654 in a mature Norway spruce (Picea abies (L) Karst) stand. Water Air Soil Pollut
655 85 (3):1185-1190
- 656 Marschner H, Haussling M, George E (1991) Ammonium And Nitrate Uptake Rates
657 And Rhizosphere Ph In Nonmycorrhizal Roots Of Norway Spruce [Picea-Abies
658 (L) Karst]. Trees-Structure And Function 5 (1):14-21
- 659 Matejek B, Huber C, Dannenmann M, Kohlpaintner M, Gasche R, Gottlein A, Papen
660 H (2010) Microbial nitrogen-turnover processes within the soil profile of a
661 nitrogen-saturated spruce forest and their relation to the small-scale pattern of
662 seepage-water nitrate. Journal Of Plant Nutrition And Soil Science 173
663 (2):224-236
- 664 Matejek B, Kohlpaintner M, Gasche R, Huber C, Dannenmann M, Papen H (2008)
665 The small-scale pattern of seepage water nitrate concentration in an N
666 saturated spruce forest is regulated by net N mineralization in the organic
667 layer. Plant Soil 310 (1-2):167-179
- 668 Mellert KH, Gensior A, Gottlein A, Kölling C, Rucker G (2008) Variation in soil nitrate
669 concentrations in two n-saturated norway spruce forests (Picea abies (L.)
670 karst.) in southern Bavaria. Water Air Soil Pollut 187 (1-4):203-217
- 671 Mellert KH, Gensior A, Kölling C (2005) Stickstoffsättigung in den Wäldern Bayerns -
672 Ergebnisse der Nitratinventur. Forstarchiv 76:35-43
- 673 Mellert KH, Kölling C, Rehfuss KE (1996) Stoffaustrag aus
674 Fichtenwaldökosystemen Bayerns nach Sturmwurf. Forstwissenschaftliches
675 Centralblatt 115:363-377
- 676 Nihlgard B (1985) The Ammonium Hypothesis - An Additional Explanation To The
677 Forest Dieback In Europe. Ambio 14 (1):2-8
- 678 Rodenkirchen H (1995) Nutrient Pools and Fluxes of the Ground Vegetation in
679 Coniferous Forests Due to Fertilizing, Liming and Amelioration. Plant Soil
680 169:383-390
- 681 Rodenkirchen H (1998) Evidence for a nutritional disorder of Oxalis acetosella L. on
682 acid forest soils - II. Diagnostic field experiments and nutrient solution studies.
683 Plant Soil 199 (1):153-166

- 684 Rothe A (1997) Einfluß des Baumartenanteils auf Durchwurzelung, Wasserhaushalt,
685 Stoffhaushalt und Zuwachsleistung eines Fichten-Buchen-Mischbestandes am
686 Standort Höglwald. Forstliche Forschungsberichte München, Ludwig-
687 Maximilians-Universität München und LWF, München
- 688 Rothe A, Huber C, Kreuzer K, Weis W (2002) Deposition and soil leaching in stands
689 of Norway spruce and European Beech: Results from the Höglwald research
690 in comparison with other European case studies. *Plant Soil* 240 (1):33-45
- 691 Rothe A, Mellert KH (2004) Effects of forest management on nitrate concentrations in
692 seepage water of forests in southern Bavaria, Germany. *Water Air Soil Pollut*
693 156 (1-4):337-355
- 694 Strong DT, Sale PWG, Helyar KR (1998) The influence of the soil matrix on nitrogen
695 mineralisation and nitrification. II. The pore system as a framework for
696 mapping the organisation of the soil matrix. *Australian Journal Of Soil*
697 *Research* 36 (5):855-872
- 698 van der Salm C, de Vries W, Reinds GJ, Dise NB (2007) N leaching across
699 European forests: Derivation and validation of empirical relationships using
700 data from intensive monitoring plots. *Forest Ecology And Management* 238 (1-
701 3):81-91
- 702 Vitousek PM, Aber JD, Howarth RW, Likens GE, Matson PA, Schindler DW,
703 Schlesinger WH, Tilman GD (1997) Human alteration of the global nitrogen
704 cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications* 7 (3):737-750
- 705 Weis W, Baier R, Huber C, Göttlein A (2007) Long Term Effects of Acid Irrigation at
706 the Höglwald on Seepage Water Chemistry and Nutrient Cycling. *Water, Air, &*
707 *Soil Pollution: Focus* 7 (1-3):211-223
- 708 Weis W, Huber C, Göttlein A (2001) Regeneration of Mature Norway Spruce Stands:
709 Early Effects of Selective Cutting and Clear Cutting on Seepage Water Quality
710 and Soil Fertility. *TheScientificWorldJOURNAL* 1 (Supplement no.: 2):493-499
- 711 WRB-IUSS-Working-Group (2007) World Reference Base for Soil Resources 2006.
712 1st update 2007, FAO, World Soil Resources Reports 103, Rome
- 713
714

Table 1: Measured N input, biological, chemical, physical, and stand parameters which may influence NO_3^- seepage, measurement depth/layer as well as time/period of measurement.

parameter group	parameter	unit ¹	layer ²	time/period of measurement
nitrat in sepage water	NO_3^-	mg l^{-1}	4	April-Oct.
N-Input via throughfall	input of NH_4^+ , NO_3^- and total inorganic N	mg m^{-2} , kg ha^{-1}	-1	July-Oct.
	average volume weighted concentration of NH_4^+ , NO_3^- and total inorganic N	mg l^{-1}	-1	July-Oct.
water input and substrate availability in the organic layer	Input of water	l m^{-2}	-1	July-Oct.
	dry weight organic layer	g dw m^{-2}	0	Oct.
	depth of organic layer	cm	0	Oct.
N-turnover parametes in the organic layer	net N mineralization, net nitrification, gross nitrifikation	$\text{mg N d}^{-1} \text{kg}^{-1} \text{dw}$	0	July - August
	pools of NH_4^+ and NO_3^-	$\text{mg N kg}^{-1} \text{dw}$	0	
N-uptake parameters	tree root biomass (<2mm, 2-5 mm, >5mm)	g m^{-2}	0-4	Oct.
	vegetation cover of mosses, oxalis, other vascular plants	% coverage	-1	July
chemical soil parameters	pH in H_2O and KCl	neg dek log	0-4	Oct.
	N- and C-content	%		
	C/N	ratio	0-4	Oct.
physical soil parameters	bulk density	g cm^{-1}	1-4	Oct.
	pore volume of macro (>50 μm), meso (50-10 μm) and fine pores (<10 μm) and whole pore volume	% Volume	1-4	Oct.
	grain size distribution	% sand, % silt, % clay	1-4	Oct.
stand parameters	distance to next trees	cm	-1	July
	breast hight diameter of the next trees	cm	-1	July
	basal area of trees within a radius 4 m	cm^2	-1	July
	number of trees in a radius of 4 m	n	-1	July

²-1 = above organic layer, 0 = organic layer, 1 = mineral soil 0-10 cm, 2 = mineral soil 10-20 cm, 3 = mineral soil 20-30 cm, 4 = mineral soil 20-30 cm;

¹dw = dry weight

Table 2: Descriptive statistics and correlations with mean NO_3^- seepage for measured parameters showing an F-value above 1.5 when compared in a univariate ANOVA with mean NO_3^- seepage. Arrangement according to descending F-values.

group	parameter (layer/depth) ⁵	unit	mean value	s.d. ¹	c.v. ¹	r_{pearson} ³	F-value ²
mean NO_3^- in seepage water	NO_3^-	mg l^{-1}	49.5	35.2	71%		
N-turnover	net N minineralization ⁴	$\text{mg N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$	4.0	2.0	51%	0.87**	54.60
	inorg N pool ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$) ⁴	mg N kg^{-1}	143.2	61.9	43%	0.80**	32.70
	net nitrification ⁴	$\text{mg N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$	2.7	1.5	54%	0.65**	13.30
	NH_4^+ pool ⁴	mg N kg^{-1}	45.5	42.9	94%	0.62**	11.05
	NO_3^- pool ⁴	mg N kg^{-1}	97.7	39.4	40%	0.59**	9.25
vegetation coverage	oxalis acetosella	%	21%	14%	64%	0.75**	22.98
	mosses	%	72%	30%	41%	-0.45*	4.53
	other vascular plants	%	13%	25%	186%	-0.30	1.72
roots biomass	roots <2 mm (1-3)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	130.1	43.1	33%	0.52*	6.59
	roots 2-5 mm (2)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	20.9	12.7	61%	0.51*	6.31
	roots <2 mm (4)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	7.1	5.5	78%	-0.51*	6.17
	roots <2 mm (1)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	100.1	36.1	36%	0.51*	6.16
	roots <2 mm (2)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	21.9	11.6	53%	0.35	2.45
	roots 2-5 mm (1)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	96.2	28.4	30%	0.32	1.98
	roots 2-5 mm (4)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	6.5	7.2	111%	-0.16	1.78
	roots 2-5 mm (3)	$\text{g m}^{-2} \text{layer}^{-1}$	10.9	12.7	116%	-0.29	1.70
chemical soil parameters	pH in H_2O (4)		4.3	0.11	2%	-0.60**	9.95
	pH in H_2O (3)		4.3	0.12	3%	-0.53*	7.20
	C/N (4)	ratio	6.2	1.03	17%	-0.52*	6.70
	C content (4)	%	0.33	0.06	18%	-0.44	4.24
	C content (3)	%	0.52	0.10	20%	-0.44	4.11
	C/N (3)	ratio	8.6	1.34	16%	-0.43	3.90
	N content (1)	%	0.21	0.04	19%	0.35	2.43
	C content (0)	%	44.9	2.97	7%	0.31	1.97
	C content (1)	%	3.5	0.85	24%	0.30	1.70
	C/N (0)	ratio	25.9	1.12	4%	0.29	1.61
stand parameter	basal area within a radius of 4 m	cm^2	3706	964	26%	-0.39	3.19
	basal area within a radius of 2.2 to 4 m	cm^2	2346	1357	58%	-0.30	2.48
physical soil parameters	macro pores (>50 μm) (3)	% vol.	11.4	3.7	32%	-0.35	2.47
	meso and fine pores (<10 μm) (3)	% vol.	24.4	1.2	5%	0.34	2.37
	bulk density (3)	g cm^{-3}	1.46	0.07	5%	0.34	2.32
organic layer depth	depth Oh	mm	32.5	6.5	20%	0.32	2.05
	depth Oh+Of	mm	67.3	13.2	20%	0.32	2.03

¹ s.d = standard; c.v. = coefficient of variance deviation; ² F-Value for parameter in ANOVA with NO_3^- seepage

³ linear correlation coefficient with mean NO_3^- seepage; *p<0.05, **p<0.01

⁴ data from Matejek et al. (2008)

⁵ (0)=organic layer, (1-4)=mineral soil layers from 0-10 (1), 10-20 (2), 20-30 (3) and 30-40 cm (4)

Table 3: Significant parameters of the linear regression models for the different sampling dates with their standardized beta coefficients and the adjusted multiple R² for the whole model.

		Standardized regression coefficient (beta) of significant included variables									
parameter (layer) ²	unit	april	may-1	may-2	june	july	august	sept	oct	apr-oct	
1	net N mineralization (0)	mg N kg ⁻¹ d ⁻¹	0.64	0.65	0.65	0.67	0.69	0.73	0.58	0.52	0.62
2	roots <2mm (1-3)	g m ⁻²	0.34	0.37	0.4	0.41	0.37	0.35	0.38	0.41	0.41
3	roots <2mm (4)	g m ⁻²					-0.17	-0.17	-0.30	-0.34	-0.15
4	roots 2-5 mm (3)	g m ⁻²	-0.18	-0.17	-0.16	-0.14					
5	basal area circ. 4 m	cm ³	-0.31	-0.27	-0.25	-0.22	-0.15				-0.21
6	pore volume <10 µm (3)	% vol	*	*	*	*					
7	pH H2O (3)						*	*	*	*	*
8	cover oxalis	% coverage									*
Summ beta ²			0.65	0.66	0.67	0.69	0.66	0.68	0.57	0.55	0.62
adjusted multiple R ²			0.87	0.88	0.89	0.89	0.93	0.89	0.79	0.79	0.90

* parameter was originally included into the model but lead to high collinearity indexes and was therefore removed

² (0)=organic layer, (1-4)=mineral soil layers from 0-10 (1), 10-20 (2), 20-30 (3) and 30-40 cm (4)

Figure 1: Nitrate concentrations in seepage water at 40 cm depth at the different sampling places arranged in ascending mean concentrations. Every box plot contains the 8 measurements from April to October at each of the 20 intensively investigated suction cups.

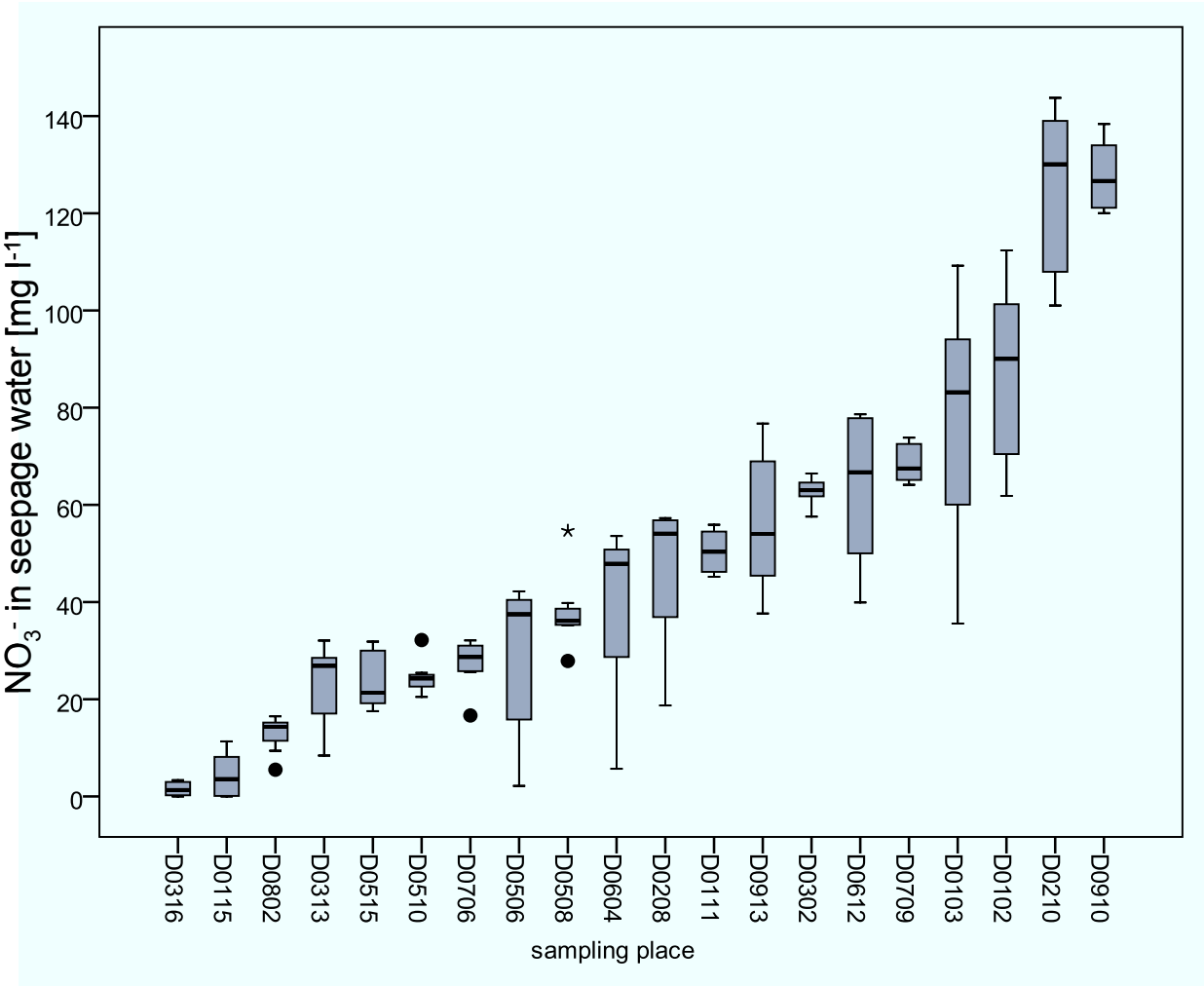


Figure 2: Horizontal distribution of fine (<2 mm) and medium sized (2-5 mm) roots. Mean values of the 20 sampling places.

