

# Die Anwendung der „Cytogenetischen Bioindikation“ zur Früherkennung von Vegetationsschäden in der Steiermark\*

Von Maria MÜLLER, Helmut GUTTENBERGER, Dieter GRILL und Blanca DRUŠKOVIČ

Mit 2 Abbildungen und 2 Tabellen (im Text)

Eingelangt am 4. April 1991

**Zusammenfassung:** In der vorliegenden Arbeit werden die mit Hilfe der cytogenetischen Methode (vgl. MÜLLER & al. 1991) in der Steiermark von Untersuchungen an Fichten gewonnenen Ergebnisse vorgestellt, und die Zusammenhänge mit den in der Steiermark sonst angewendeten herkömmlichen Methoden werden diskutiert. Nach den vorliegenden Befunden stellt diese Methode eine brauchbare Ergänzung und Erweiterung in der Waldschadensforschung dar.

**Summary:** The Use of the “Cytogenetic Bioindication” as a Tool for the Determination of Vegetation-Damages in Styria. – This paper shows the results of investigations on spruces by using a cytogenetic method (MÜLLER & al. 1991) in Styria and discusses the connections with the methods usually applied in Styria. According to the present conclusions this method describes a valuable completion and enlargement in the research of forest decline.

## 1. Einleitung

Auf die Vitalität von Fichten haben verschiedene natürliche und anthropogene Einwirkungen einen großen Einfluß. Mit den bisher durchgeführten Methoden der Bioindikation (Schwefelbestimmungen in Nadeln, Beurteilen von Kronenzustandsformen usw.) konnte die Vitalität nicht eindeutig beurteilt werden. Die hier beschriebene Methode der cytogenetischen Bioindikation versucht mit Hilfe von Störungen im genetischen Material von Meristemen Aufschluß über den Vitalitätszustand zu geben. Die Methode wurde in Slowenien entwickelt und bereits in größerem Rahmen angewendet (DRUŠKOVIČ 1985, 1987, 1988a, 1988b). Im Jahr 1989 wurde die Methode der cytogenetischen Bioindikation (CGBI) auch in der Steiermark eingeführt und auf die Anwendbarkeit für unser Bundesgebiet geprüft.

## 2. Material und Methoden

Als Bioindikatorbaum dient die Fichte (*Picea abies* (L.) Karsten). In der Regel werden an den Standorten (vgl. Abb. 1) im Frühjahr drei Anflugfichten in Tontöpfe eingepflanzt und eingossen. Die Standorte wurden gemeinsam mit der LFI Steiermark (DI SCHÖGGL) in den Bezirken Deutschlandsberg, Leibnitz, Voitsberg und Graz/Graz-Umgebung ausgewählt. Sie schließen an das bereits vorhandene cytogenetische Netz von DRUŠKOVIČ in Slowenien an (um Vergleichsmöglichkeiten zu erhalten) und sind größtenteils mit den Punkten des Bioindikatornetzes (BIN) ident, unterschiedlich belastet und in verschiedenen Seehöhen gelegen. Es wurde darauf

\* gewidmet Prof. Dr. Otto HÄRTEL anlässlich seines 80. Geburtstages.

\* = Probestandort für die cytogenetische Bioindikation in der Steiermark

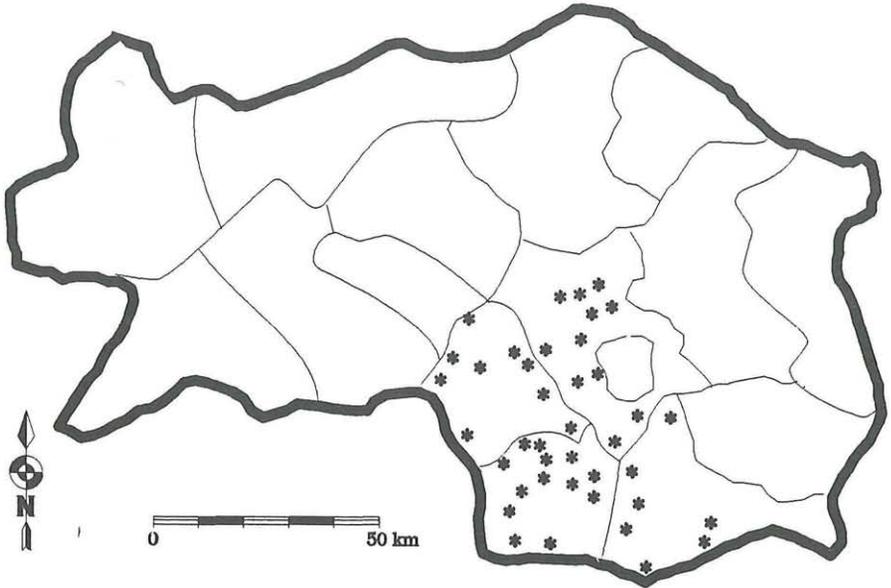


Abb. 1: Lage der Probestpunkte in der Steiermark. \* = Probestpunkt.

geachtet, daß Standorte ausgewählt wurden, die zu den sogenannten „klassischen“ Waldschadensgebieten zählen und andere, an denen „neuartige“ Waldschäden beobachtet werden können.

Im Herbst und im Frühjahr werden die Wurzelspitzen geerntet, mit einem Mitosehemmer versetzt und anschließend in Alkohol : Eisessig = 3:1 fixiert (vgl. MÜLLER & al. 1991). Die so vorbehandelten Präparate können bis zur Aufarbeitung bei  $-18^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt werden.

Das fixierte Material wird gut in aq. dest. gewaschen und mit einer abgewandelten Feulgen-Reaktion gefärbt (vgl. DRUŠKOVIČ 1987, 1988a, 1988b, MÜLLER & al. 1991). Aus den so vorbereiteten Wurzeln wird das Meristem unter einem Stereomikroskop präpariert, auf einen Objektträger mit Karminessigsäure übertragen, gequetscht und unter dem Lichtmikroskop bei 1000-facher Vergrößerung die Teilungsstadien auf Störungen hin beobachtet.

Pro Baum werden 200 Metaphasen ganzer, nicht geplatzter Zellen auf Chromosomen-Aberrationen untersucht. Um Störungen an Chromosomen untersuchen und einteilen zu können, werden cytogenetische Standortsindices (= CSI) berechnet. Diese Standortsindices lassen sich mit Hilfe eines Kontrollstandortes, d. i. in der Praxis der Standort mit der geringsten Anzahl an Störungen, berechnen. Es wird deshalb der natürliche Standort mit der geringsten Anzahl an Störungen herangezogen, da im Freiland kein gänzlich unbelasteter Standort vorzufinden ist bzw. ein geringer Anteil an Chromosomenstörungen auch an völlig unbelasteten Meristemen auftreten kann (DRUŠKOVIČ unveröffentlicht, MÜLLER & al. 1991).

Mit Hilfe dieser CSI's lassen sich die Standorte in empiristisch festgelegte Güteklassen von 1–4 (nach DRUŠKOVIČ 1988a) in 10 Stufen einteilen (vgl. MÜLLER & al. 1991).

Die spezielle Fragestellung, ob es möglich ist Vitalitätsprüfungen an jungen Fichten durchzuführen und Rückschlüsse auf die Vitalität eines gesamten Bestandes zu ziehen, konnte von MÜLLER & al. 1991 bereits positiv beantwortet werden.

Die statistische Prüfung der erhaltenen Werte wurde mit dem Statistikpaket NCSS durchgeführt.

Tab. 1.: Vergleich der Ergebnisse der CGBI mit BIN-Werten (nach Schwefelbelastung) und BIN-Klassen (nach SCHÖGGL) in der Steiermark 1989.

Standort	Seehöhe	Klasse-CGBI	Klasse-BIN	Klasse-Schögggl
D 23	300 m	1	2/2	1
GU 56	360 m	1	2/1	1
GU 75	820 m	1	2/1	1
D 3	1 600 m	1	2/1	1
L 14	320 m	-1	-	1
L 2	370 m	-1	2/1	1
GU 6	550 m	-1	2/1	1
D 2	1 450 m	2	2/1	1
L 16	490 m	-2	2/1	1
L 21	380 m	+3	-	1
V 22	500 m	+3	-	2
D 16	900 m	+3	2/2	2
V 5	1 050 m	+3	2/2	1
V 2	1 530 m	+3	2/1	1
D 4	350 m	3	2/1	2
V 16	350 m	3	2/1	2
GU 51	400 m	3	3/3	2
GU 104	700 m	3	4/2	2
D 25	1 000 m	3	2/1	1
V 4	1 140 m	3	2/1	2
D 22	1 080 m	-3	2/2	2
GU 25	600 m	+4	2/1	3
V 18	900 m	+4	2/1	3
V 7	1 140 m	+4	-	3
D 20	350 m	4	3/2	3
L 19	360 m	4	3/2	3
D 28	370 m	4	3/2	3
D 17	380 m	4	3/2	3
V 1	500 m	4	4/4	3
D 29	760 m	4	3/2	3
D 15	1 100 m	4	2/1	3

Verzeichnis der Abkürzungen: D = Deutschlandsberg, L = Leibnitz, V = Voitsberg, GU = Graz/Graz-Umgebung.

CGBI: nach Chromosomenstörungen (4 Klassen, vgl. MÜLLER & al. 1991)

Klassen nach SCHÖGGL (3 Klassen): diese Bewertungsklassen aus der Praxis setzen sich aus mehreren Parametern zusammen; zum einen aus den BIN-Klassen aufgrund der Nadel-schwefelgehalte, wobei die Werte von 1986–1989 herangezogen werden (bewertet wurde hierbei, wie oft in diesen Jahren die Schwefeldaten über den Grenzwerten lagen, Tab. 2) und zum anderen aus Beobachtungen der Anzahl der Nadeljahrgänge (1988–1989), sowie zum näheren Definieren das Alter der Bäume und ihre Exposition.

BIN nach Schwefelbelastung: in % S-Gehalt von Fichtennadeln in der Trockensubstanz (5 Klassen, vgl. Tag. 2).

### 3. Ergebnisse und Diskussion

*Picea abies* (L.) KARSTEN ist die bei uns am weitesten verbreitete Baumart, sie ist sehr wichtig für die forstliche Nutzung und wird deshalb als Bioindikatorbaum verwendet. Aufgrund ihrer großen Chromosomen und ihres empfindlichen genetischen Materials (REICHELT & KOLLERT 1985) eignet sich die Fichte sehr gut zum Feststellen von Umwelteinflüssen.

Der Karyotyp von *Picea abies* umfaßt  $2n = 24$  Chromosomen (vgl. MIYAKE 1903, SAX & SAX 1933, LÖVE & LÖVE 1961, SASAKI 1976, HIZUME 1988, PRICE 1989). Die bei *Picea abies* beobachteten Chromosomen-Aberrationen, d. s. Störungen an Chromosomen, durch die sich die Chromosomen von denen des normalen Karyotyps unterscheiden, werden an Metaphaseplatten untersucht, da in diesem Mitosestadium Störungen am einfachsten und effektivsten zu beobachten sind.

Es können spezifische Störungen, die Einzelchromosomen betreffen, z. B. Brüche, Fragmente und Störungen des gesamten Chromosomensatzes (= unspezifische Störungen), z. B. Verklumpungen unterschieden werden. Die genauen Definitionen der Aberrationen sind aus MÜLLER & al. 1991 ersichtlich.

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der CGBI 1989 in den Bezirken Deutschlandsberg, Leibnitz, Voitsberg und Graz/Graz-Umgebung, verglichen mit BIN-Werten (eingeteilt nach Schwefelbelastung) und mit kombinierten BIN-Klassen (nach SCHÖGGL unveröffentlicht).

Tab. 2.: % S-Gehalt in den Fichtennadeln und dazugehörige Klasseneinteilung (SCHNOPF-HAGEN 1980).

1. Nadeljahrgang	2. Nadeljahrgang	Klasse
-0,08	-0,11	1
0,09-0,11	0,12-0,14	2
0,12-0,14	0,15-0,17	3
0,15-0,17	0,17-0,19	4
0,17-	0,20-	5

Von den beobachteten 31 Standorten (siehe Material und Methoden, Abb. 1) des Jahres 1989 wurden nach der cytogenetischen Methode 7 Standorte der CGBI-Klasse 1 und -1 (d. s. ca. 23 % aller untersuchten Standorte) zugeordnet. Diese Standorte (bis zur Klasse +2) können als unbelastet betrachtet werden (DRUŠKOVIČ unveröffentlicht). Nach BIN sind 19 Standorte (d. s. 61 % aller untersuchten Standorte) den Klassen 1 und 2 zuzurechnen, d. h. diese Standorte sind nicht bzw. nur bis zum Grenzwert schwefelbelastet. Bei der Klassifizierung nach SCHÖGGL ist bei 12 Standorten (d. s. ca. 39 % aller untersuchten Standorte) eine Zuordnung zur zugehörigen Klasse 1 möglich, d. h. diese Standorte zeigten in keinem Untersuchungs-jahr seit 1986 eine erhöhte Schwefelbelastung (über den Grenzwert) und viele Nadeljahrgänge (es können in Seehöhen über 1000 m bis zu 10 Nadeljahrgänge und in Seehöhen unter 1000 m bis zu 8 Nadeljahrgänge gezählt werden). Eine Übereinstimmung der CGBI, der BIN und der Beurteilung nach SCHÖGGL zeigt sich bei den Standorten, die nach CGBI in Klasse 1 bis -1 eingeordnet werden konnten und in einer Seehöhe liegen, wo kaum Probleme durch Inversionen auftreten (vgl. GRILL & HÄRTEL 1973, PFEIFHOFER & al. 1987, GRILL & al. 1988). Bei höheren Lagen, wo bekanntermaßen Probleme durch Inversionen auftreten (schon dahingehend ausgewählt – siehe Material und Methoden) ist eine Übereinstimmung zwischen CGBI

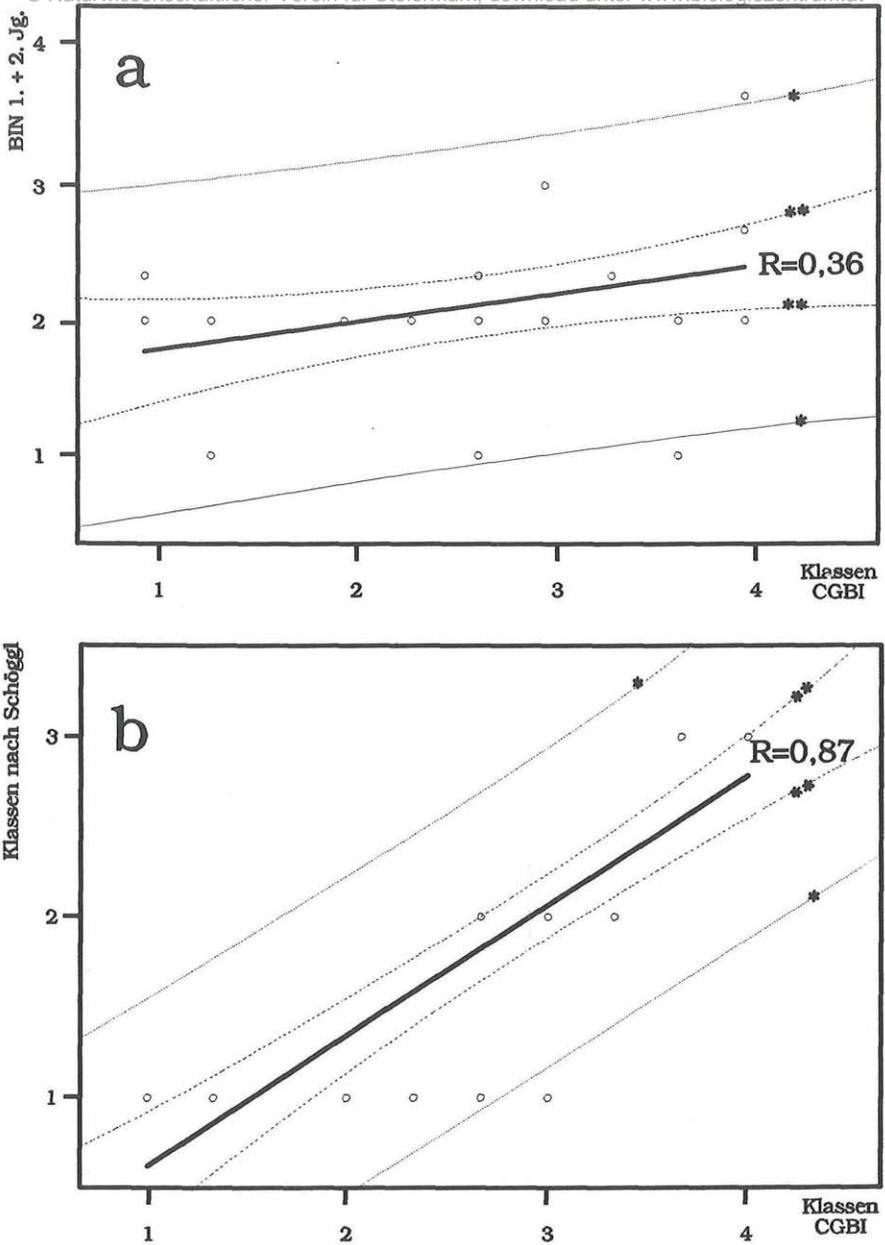


Abb. 2: R = Korrelationskoeffizient; — = Regressionsgerade (kleinste Quadrate Anpassung); -\*- = 95 % Konfidenzintervall für die Einzelbeobachtung; -\*\* = 95 % Konfidenzintervall für den Mittelwert.

a) Korrelation der CGBI-Klassen (x-Achse) mit den BIN-Klassen (Mittel aus 1. und 2. Nadeljahrgang, y-Achse)

b) Korrelation der CGBI-Klassen (x-Achse) mit der Klasseneinteilung nach SCHÖGGL (y-Achse).

Erklärung im Text.

und BIN überhaupt nicht möglich (vgl. D 2, V 5, V 2, D 15), da an diesen Standorten keine erhöhte Schwefelbelastung durch die Nadelanalyse festgestellt werden kann, d. h. die Einflüsse, die zu Störungen im genetischen Material führen, ganz anderer Natur sein müssen. Eine Korrelation an diesen Standorten der CGBI und der BIN-SCHÖGGL ist mit Einschränkungen möglich (z. B. V 4, V 7, D 15). An den anderen Standorten (z. B. D 2, V 5, V 2, D 25) zeigt sich besonders gut, daß die CGBI zur Erweiterung und Ergänzung bestehender Daten heranzuziehen ist, da sie öfters auch noch Einflüsse aufzeigt, die auch durch die kombinierten Daten nicht erkannt werden können, weil hier ein hoher CSI eine günstige Klassifizierung den anderen Kriterien gegenübersteht.

Die Standorte mit CGBI-Klasse 4 zeigen zwar öfters erhöhte Schwefelwerte (z. B. L 19, D 28, D 17, V 1, D 29), jedoch keine deutliche Übereinstimmung, da zwar CGBI-Klasse 4 die schlechteste Einstufung nach der cytogenetischen Methode darstellt, während sich die Schwefelwerte zwischen BIN-Klasse 2 und 4 von 5 möglichen Klassen einordnen lassen. Besonders auffällig ist diese Diskrepanz in Inversionszonen, die sogar der BIN-Klasse 1 – 2 zuzuordnen sind (z. B. D 15). Bei den nach CGBI schlechtest eingestuften Standorten (+4 bis 4) ist eine auffällig gute Korrelation mit BIN-SCHÖGGL zu beobachten (vgl. GU 25, V 18, V 7, D 20, L 19, D 28, D 17, V 1, D 29, D 15).

Bei den Standorten, die nach cytogenetischer Methode in die Klassen 2 bis 3 eingeordnet werden, ist keine Korrelation zwischen CGBI und BIN zu erkennen, während auch hier gute Vergleichsmöglichkeiten zwischen der CGBI und BIN-SCHÖGGL bestehen (z. B. V 22, D 16, D 4, V 16, GU 51, GU 104, V 4).

Auch eine statistische Prüfung der Daten ergab, daß eine Übereinstimmung der CGBI-Klassen mit den Schwefelwerten der Nadeln (BIN, 1. und 2. Nadeljahrgang aufsummiert; die BIN Klasse 5 kommt bei den Probestandorten nicht vor) nur im geringen Maße vorhanden ist (Abb. 2a). Der Korrelationskoeffizient beträgt 0,36. Auch wenn man die Nadeljahrgänge einzeln mit den CGBI-Klassen korreliert, sind die Korrelationen nur geringfügig besser (Korrelationskoeffizient: 0,51, 1. Jahrgang; Korrelationskoeffizient: 0,50, 2. Jahrgang – Ergebnisse nicht wiedergegeben). Werden aber die CGBI-Daten mit einer Beurteilung verglichen, die nicht nur die Schwefelwerte einbezieht, sondern noch weitere Parameter, wie z. B. die Anzahl der Nadeljahrgänge, das Alter der Bäume, ihre Exposition etc. (Klasseneinteilung nach SCHÖGGL), so kommt es zu einer wesentlich besseren Übereinstimmung der Befunde (Abb. 2b, Korrelationskoeffizient 0,87). In dieser ganzheitlichen Betrachtungsweise sind auch die Kronenschädigungen oder Grenzwertüberschreitungen berücksichtigt und nicht nur der S-Gehalt weshalb die überraschend hohe Korrelation im Untersuchungsgebiet zustande kommt. Durch die cytogenetische Methode können öfters noch zusätzlich Aussagen zur Früherkennung getroffen werden, d. h. es können Einflüsse aufgezeigt werden, die durch die herkömmlichen Methoden zum Untersuchungszeitpunkt noch nicht abzudecken sind. So können z. B. Fröh-schäden, die noch keine sonstigen morphologischen oder physiologischen Symptome erkennen lassen, erfaßt werden; oder der Vitalitätszustand von Fichten mit einem hohen Nadelschwefelgehalt, aber guten übrigen Ergebnissen (dies gilt genauso für den umgekehrten Fall: wenig Schwefel in den Nadeln, aber schlechter sonstiger Zustand) kann mit der CGBI überprüft werden. Wie Untersuchungen zeigten (MÜLLER & al. 1991), kann man von den untersuchten Jungfichten direkt auf den Altbestand schließen. Durch Untersuchungen über mehrere Jahre kann auch die Dynamik (erholt sich ein Bestand, oder verschlechtert sich sein Zustand) erfaßt werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die CGBI mit Methoden, wie der Beurteilung nach BIN, wo nur ein Schadeinfluß nachgewiesen wird, schlecht bis gar nicht korreliert, da durch die Untersuchung von genetischem Material Hinweise auf kombinierte Schadeinflüsse gewonnen werden können. Dafür spricht auch, daß bei einer Kombination von Daten unterschiedlicher Untersuchungsmethoden gute Korrelationen zu beobachten sind.

## Dank

Für die gute Zusammenarbeit, die zahlreichen Anregungen und die tatkräftige Unterstützung bei den praktischen Arbeiten sei der LFI Steiermark, sowie den BFIs der Bezirke Deutschlandsberg, Graz, Leibnitz und Voitsberg herzlich gedankt.

Diese Arbeit wurde im Rahmen des Forschungsprojekts „Cytogenetische Bioindikation zur Früherkennung von Vegetationsschäden“ der Bund-Bundesländerkooperation für Rohstoff-, Energie- und Umweltforschung der Steirischen Landesregierung und des BMWF durchgeführt.

## Literatur

- DRUŠKOVIČ, B. (1985): Spremembe rastlinskih populacij v okolici topilnice svinca. – Biol. Vestn. 33: 23-38.
- DRUŠKOVIČ, B. (1987): Citogenetski efekt populantov v industrijsko obremenjenem predelu. – Biol. Vestn. 35: 17-28.
- DRUŠKOVIČ, B. (1988a): Citogenetska bioindikacija I – Uporaba citogenetske analize pri odkrivanju delovanja genotoksičnih polutantov na gozdno drevje (Material in metoda). – Biol. Vestn. 36: 1-18.
- DRUŠKOVIČ, B. (1988b): Citogenetska bioindikacija II – Prikaz načina ocenjevanja obremenjenosti genetskega materialia in ocena ogroženosti smreke na posamezni lokaliteti (Primer: Relacija Mežica – Črna – Javorje – Zavodnje). – Biol. Vestn. 36: 31-44.
- GRILL, D. & HÄRTEL, O. (1973): Abgassymptome an Fichten in 1000 m Höhe? – Wetter und Leben 25: 91-95.
- GRILL, D., KERN, T., BERMADINGER, E. & JÄGER, H. J. (1988): Physiologische Reaktionen von Fichten in Inversionszonen. – GSF-Bericht 17: 391-399.
- HIZUME, M. (1988): Karyomorphological studies in the family *Pinaceae*. – Mem. Fac. Educ. Ehime Univ., Nat. Sci. 8: 1-108.
- LÖVE, A. & LÖVE, D. (1961): Chromosome numbers of central and northwest european plant species. – Opera bot. 5: 26.
- MIYAKE, K. (1903): On the development of the sexual organs and fertilization in *Picea excelsa*. – Ann. For. 17: 351-372.
- MÜLLER, M., GUTTENBERGER, H., GRILL, D., DRUŠKOVIČ, B. & PARADIŽ, J. (1991): A cytogenetic method for examining the vitality of spruces. – Phytion (Austria) 31: 143-155.
- PFEIFHOFFER, H., TSCHULIK, H. & GRILL, D. (1987): Zum physiologischen Verhalten von Fichten in Inversionszonen. – Ges. f. Ökol. (Graz 1985). XV.
- PRICE, R. A. (1989): The genera of *Pinaceae* in the Southeastern United States. – J. Arn. Arbor. 70: 247-305.
- SASAKI, Y. (1976): Karyotype studies on some conifers. – Bull. Ooita. Pref. For. Expt. Stn. 7: 103.
- SAX, K. & SAX, H. J. (1933): Chromosome number and morphology in the conifers. – J. Arn. Arbor. 14: 356-375.
- SCHNOPFHAGEN, K. S. (1980): Immissionskontrolle in Waldgebieten durch die Forstbehörde in der Steiermark; Beiträge zur Rauchsadenssituation in Österreich. – Österr. Agrarverlag 131.

Anschriften der Verfasser: Dr. Dieter GRILL, Mag. Dr. Helmut GUTTENBERGER, Dr. Maria MÜLLER, Inst. f. Pflanzenphysiologie der Univ. Graz, Schubertstraße 51, A 8010 Graz; Dr. Blanca DRUŠKOVIČ, Insitut za biologijo Univerze v Ljubljani, Karlovška 19, YU 61001 Ljubljana.

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen des naturwissenschaftlichen Vereins für Steiermark](#)

Jahr/Year: 1991

Band/Volume: [121](#)

Autor(en)/Author(s): Müller Maria, Guttenberger Helmut, Grill Dieter, Druskovic Blanca

Artikel/Article: [Die Anwendung der "Cytogenetischen Bioindikation" zur Früherkennung von Vegetationsschäden in der Steiermark. 43-50](#)