

## EINFLUSS SCHWEFELHALTIGER ABGASE AUF DAS SH-SYSTEM VON PFLANZEN

Von

GRILL D. und ESTERBAUER H.

Institut für Pflanzenphysiologie und

Institut für Biochemie der Karl-Franzens-Universität Graz

### E I N L E I T U N G

Zum Unterschied zu anderen sauren Abgasen, wie HF, HCl, stellt der Schwefel ein lebenswichtiges Makroelement dar und ist als solcher von vorneherein nicht unbedingt giftig. Der S aus dem SO<sub>2</sub> kann zumindest teilweise in den Stoffwechsel eingebaut werden. Allerdings muß man sich im klaren sein, daß die Pflanzen passiv mit dem Gasaustausch SO<sub>2</sub> aufnehmen und somit mit einer großen, u.U. unphysiologischen Menge dieses Elements konfrontiert werden, wohingegen die Wurzeln die Sulfataufnahme aus dem Boden mehr oder weniger steuern können.

Die Wirkungsweise des SO<sub>2</sub> ist, je nach der Stärke der Begasungen, unterschiedlich. So führen starke SO<sub>2</sub>-Ausbrüche von einigen mg/m<sup>3</sup> Luft zu sichtbaren Symptomen (Verfärbungen z.B.), geringe Begasungen von wenigen zehntel oder hundertstel mg rufen eher Stoffwechselstörungen hervor, die aber als Schadsymptome als solche nicht unbedingt sichtbar sein müssen. Die Ergebnisse von starken SO<sub>2</sub>-Schädigungen sind von geringem Interesse, da solche Effekte vor allem auf der H<sup>+</sup>Wirkung (SO<sub>2</sub> in H<sub>2</sub>O gelöst ergibt schwefelige Säure), aber auch auf der starken Reduktionskraft des SO<sub>2</sub> beruhen.

Wichtiger sind hingegen die Aussagen über chronische SO<sub>2</sub>-Belastung, d.h. SO<sub>2</sub>-Konzentrationen, denen Pflanzen für längere Zeit, oft über viele Jahre, ausgesetzt sind und in deren Folge es zu einer Veränderung des Stoffwechsels kommt (ZIEGLER 1975). Nachweisreaktionen für chronische Belastung basieren häufig auf derartigen Störungen, z.B. Photosynthese, Chlorophyll, Peroxidase. Aber alle derartigen Veränderungen sind nicht spezifisch für SO<sub>2</sub>-Belastung, sondern zeigen eher eine allgemeine Reaktion auf Streßsituationen.

Bei unseren Untersuchungen, die sich auf Freilandmaterial beziehen, welches mit bis zu 0,3 mgSO<sub>2</sub>/m<sup>3</sup> Luft im Durchschnitt belastet ist, ist eine direkte Wirkung von SO<sub>2</sub> auf die Zellen kaum zu erwarten, da der Luftsauerstoff das im Zellwandwasser als Sulfit gelöste SO<sub>2</sub> zu Sulfat oxidieren kann, bzw. können dies auch verschiedene Oxidasen, welche bereits in Zellwandnähe lokalisiert sind, bewerkstelligen. Sulfit konnte bis jetzt bei niedrigen Begasungskonzentrationen in den Pflanzen nie nachgewiesen werden.

Die Frage ist nun, wie beeinflußt  $\text{SO}_2$  den Stoffwechsel nachhaltig, da  $\text{SO}_4^{2-}$  ja an sich nicht giftig ist bzw. gibt es Reaktionen, die bei  $\text{SO}_2$  bzw.  $\text{SO}_4^{2-}$  Einfluß auftreten und stoffwechselwirksam sind. Wir fanden bei sämtlichem chronisch  $\text{SO}_2$ -belasteten Freilandmaterial stets eine deutliche Erhöhung von wasserlöslichen SH-Verbindungen (GRILL, ESTERBAUER & KLÖSCH 1979). Hier soll nun über Befunde, insbesondere von Fichtennadeln, berichtet werden, die das SH-System der Zellen in den Mittelpunkt stellen.

Abkürzungen: GSH: Glutathion, GSSG: oxidiertes Glutathion, Prot-SH: Protein-SH, Prot-S-S-Prot: Proteindisulfid, DTNB: 5,5'-Dithiobis-nitrobenzoesäure, FG: Frischgewicht, TG: Trockengewicht

## ER G E B N I S S E U N D B E S P R E C H U N G

### Der Gehalt

### an wasserlöslichen SH-Verbindungen

Der Nachweis von SH wurde mit DTNB (GRILL, ESTERBAUER & WELT 1977) durchgeführt. Bei Auftrennungen von Fichtennadelextrakten über Sephadex-Ionenaustauschersäulen (GRILL & ESTERBAUER 1973a) konnte herausgefunden werden, daß der Gehalt an wasserlöslichen SH-Verbindungen sowohl in unbelasteten als auch belasteten Fichtennadeln zu über 95 % aus dem Tripeptid Glutathion entstammt und nur zum geringen Teil auf Cystein zurückgeht. Wasserlösliches Protein-SH konnte wohl auf Grund der fallenden Wirkung der Gerbstoffe der Fichtennadeln nie nachgewiesen werden, auch konnte nie Sulfid gefunden werden. Die Zunahme von wasserlöslichen SH-Verbindungen geht also stark zu Lasten des GSH. Von GSH weiß man jedoch, daß es eine wichtige Funktion im pflanzlichen Stoffwechsel einnimmt und es ist interessant, daß in der Literatur über Mangelsymptome an tierischen Organismen berichtet wird, aber eine überhöhte Menge unbeachtet blieb.

Der GSH-Anstieg infolge  $\text{SO}_2$  konnte bei unterschiedlich belasteten Bäumen aus  $\text{SO}_2$ -Rauchschadensgebieten wie *Picea abies* (L.) Karsten, *Pinus sylvestris* L., *Larix decidua* Mill., aber auch *Betula pendula* Roth beobachtet werden. So besitzen diese Pflanzen zwischen 0,24 und 0,33  $\mu\text{Mol/gFG}$ , belastete bis 2,07  $\mu\text{Mol/gFG}$ . Die Freilandergebnisse werden durch nach künstlichen Begasungen erhaltene Befunde unterstützt; künstliche Begasungen führten bei Fichten und Erbsen zu einer GSH-Erhöhung (GRILL, ESTERBAUER & KLÖSCH 1979). Wichtig ist die genaue Kenntnis der Physiologie der betreffenden Individuen bei derartigen Untersuchungen. So ist der SH-Gehalt zwar nicht von der Tageszeit, jedoch von Jahreszeit und Alter abhängig (GRILL & ESTERBAUER 1973b).

Der S aus dem  $\text{SO}_2$  wird, wie schon erwähnt, entweder enzymatisch oder auch nicht enzymatisch durch den Luftsauerstoff zu Sulfat oxidiert. Der nicht im Stoffwechsel benötigte S wird als Sulfat abgelagert. Der Gesamtschwefelgehalt vollentwickelter Nadeln einjähriger Triebe betrug bei unseren Versuchsbäumen

1,59 - 2,02 mg/gTG. Durch Einwirkung von  $\text{SO}_2$  erhöhte er sich bis auf 4,79 mg/gTG. Mindestens 50 - 75%, bei Abgaseinfluß höher, liegen nach JÄGER 1976 vom Gesamtschwefel als Sulfat vor, der restliche Teil in organischer Form. Der Anteil von GSH am Gesamtschwefel beträgt nur rund 1 %. Dies bedeutet, daß der vom  $\text{SO}_2$  bewirkte GSH-Anstieg sicherlich keinen Entgiftungsmechanismus darstellt, um überschüssigen S zu beseitigen. Weiters kann ausgeschlossen werden, daß der GSH-Anstieg aus einer Reduktion von S-S zu SH durch etwa lokal vorhandenes  $\text{SO}_3^{--}$  oder  $\text{HSO}_3^-$  resultiert, da das GSSG nur weniger als 5 % des Gesamtglutathiongehalts ausmacht. Ebenfalls spricht die Glutathionreductaseaktivität (ESTERBAUER & GRILL 1978) gegen eine vermehrte Anreicherung aus GSSG, denn im allgemeinen ist sie bis zu 50 % bei abgasbelastetem Material vermindert. Die von WEIGL & JÄGER 1980 hingegen berichtete Aktivierung dürfte darauf beruhen, daß es sich um künstliche Begasungen handelt, wobei eine kurzfristige Aktivierung denkbar ist. Bei unseren Versuchen handelt es sich ja um Freilandmaterial, das schon lange einer chronischen Belastung ausgesetzt war. Die Aktivität ist aber noch groß genug, um eine Oxidation von GSH hintanzuhalten.

Nach unseren Untersuchungen scheint es eher so, daß in  $\text{SO}_2$ -beeinflussten Blättern der erhöhte Sulfat Spiegel entweder die GSH-Biosynthese stimuliert oder ihren Abbau inhibiert. Dafür spricht auch, daß es bei Fütterung mit Sulfat ( $5 \cdot 10^{-4}\text{M K}_2\text{SO}_4$ ) bei Fichtenzweigen zu einer GSH-Erhöhung kommt. Man kann annehmen, daß allein ein verstärktes Sulfatangebot, das den S-Gehalt der Nadeln nicht einmal meßbar (RABER, LIKUSSAR & GRILL 1976) verändert, die Reaktionen fördert, die zu GSH führen und zwar in einer "feed forward" Reaktion. Eine zu vermutende Steigerung des GSH synthetisierenden Enzymsystems ist bei Freilandmaterial nicht zu beobachten (Tab.), wodurch dem der Pflanze aufgezwungenen Schwefelangebot wohl die ausschlaggebende Bedeutung für die GSH-Erhöhung zukommt.

### P h y s i o l o g i s c h e K o n s e q u e n z e n d e s e r h ö h t e n G S H - G e h a l t s (P r i m ä r e r i n d i r e k t e r $\text{SO}_2$ - E i n f l u s s )

GSH ist essentiell für die lebende Zelle. Eine Hauptfunktion ist der Schutz der SH-Gruppen der Enzyme und Strukturproteine, entweder als Schutz gegen oxidierende Enzyme oder Regeneration oxidierter SH-Gruppen. Überdies wird dem GSH ein "euphoristischer Effekt" (RACKER 1954) auf den Stoffwechsel zugeschrieben. Gesunde tierische oder pflanzliche Zellen halten den GSH-Gehalt innerhalb eines geringen Bereichs weitgehend konstant (Fichte, Föhre, Lärche, Birke 0,24-0,33  $\mu\text{Mole/g TG}$  im Sommer). Zieht man als Bezugssystem den Wassergehalt von Pflanzen heran, haben auch Erbsen vergleichbare SH-Mengen. Von tierischen Zellen weiß man, daß Agentien, welche das GSH beeinträchtigen, gleichzeitig verschiedene Stoffwechselfvorgänge inhibieren, jedoch ist nichts bekannt, ob zuviel GSH einen negativen Einfluß auf die Zelle hat. Dadurch, daß die Pflanzen den GSH-Spiegel weitgehend konstant halten, wäre anzunehmen, daß ein zu wenig gleich schlecht ist wie ein zuviel. Ein durch GSH verursachter gesteigerter Stoff-

wechsel könnte die Ursache für die vorzeitige Alterung (BÖRTITZ 1969) der  $\text{SO}_2$ -beeinflussten Pflanzen sein. Über Stimulierungen einzelner Stoffwechselprozesse nach  $\text{SO}_2$ -Einfluß wird überdies immer wieder berichtet. Deshalb nehmen wir an, daß zuletzt die Phytotoxizität auf einem erhöhten GSH-Gehalt in chronisch belasteten Nadeln beruht und nicht auf einer  $\text{SO}_3^{--}$  oder  $\text{HSO}_3^-$ -Wirkung, deren Existenz in der Pflanze bei chronischer Belastung gar nicht bewiesen ist. In diesem Zusammenhang erscheint ein Befund von SCHINDELBECK 1977 bemerkenswert, wonach resistente Fichtenklone nicht mit einer signifikanten Erhöhung von GSH auf  $\text{SO}_2$ -Begasungen antworten, empfindliche hingegen steigern den GSH-Gehalt beträchtlich.

### U n t e r s u c h u n g e n z u m P r o t e i n - S H - G e h a l t

Nicht nur der GSH-Gehalt ist erhöht, sondern auch der von Proteinen (GRILL et al. 1980). Der Protein-SH-Gehalt, der einem Jahresgang folgt, soll hier an einem Beispiel (Juli) demonstriert werden. Gesunde Nadeln besaßen im Mittel 2,57  $\mu\text{Mole/gFG}$  und erfuhren auf Grund von  $\text{SO}_2$ -Einfluß eine Erhöhung von rund 30 %, wie aus der Tabelle ersichtlich ist. Der Gehalt von GSH stieg hingegen von 0,29  $\mu\text{Mole/gFG}$  um rund 100 % an. Die SH-Erhöhung in Proteinen ist jedoch erst nach einiger Zeit zu bemerken, wogegen GSH relativ schnell auf  $\text{SO}_2$ -Einfluß anspricht. Ein Protein-SH-Anstieg durch Sulfitolyse ist auch in diesem Fall ähnlich GSSG kaum wahrscheinlich. Wahrscheinlich hingegen ist die reduzierende Wirkung des GSH, welches Prot-S-S-Prot-Verbindungen in 2 Prot-SH spaltet. Möglicherweise kommt auch ein verstärkter Einbau von S in Proteine in Frage, was aber bei einem normalen turn over sicherlich erst nach längerer Zeit zu meßbaren Werten führen könnte.

Tab. Beispiel: 30. 7. 1980

	Kontrolle	belastet
Wasserlösliches-SH $\mu\text{Mole/g FG}$	0,29	0,60
GSH	97	100
Gesamtprotein-SH $\mu\text{Mole/g FG}$	2,57	3,34
GSH-Reductase U/g FG	3,03	1,86
GSH-Synthesekapazität		
GSH-Zunahme	55	15

Die Reaktion muß in jedem Fall Konsequenzen für die Zelle haben: Das SH/SS-Gleichgewicht von Proteinen, das bei Zellen innerhalb eines engen Bereichs liegt, wird empfindlich gestört, wodurch Enzyme aktiviert oder inaktiviert werden können. Daraus resultieren Störungen im Stoffwechsel. Auch kann ein geändertes Verhalten in der Plasmaströmung und in der Plasmolyse (HÄRTEL & MIKLAU-GRASSL 1974), aber auch unterschiedliches Adsorptionsverhalten von Enzymen an den Membranen, auf ein derart beeinflusstes SH-System zurückzuführen sein.

## S C H L U S S F O L G E R U N G E N

Nach unseren Untersuchungen, unterstützt durch die von SCHINDELBECK 1977, kann also gefolgert und auf die Praxis bezogen werden, daß diejenigen Individuen sich als resistent gegenüber chronische SO<sub>2</sub>-Belastung herausstellen, welche möglichst wenig GSH bilden, wenn sie veranlaßt werden passiv SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> zu inkorporieren. Entweder ist die Ursache hiefür im Enzymsystem zu suchen, wofür Untersuchungen noch ausstehen, oder aber in den Diffusionswiderständen der Blätter, welche die passive Aufnahme von S hintanhaltend.

## L I T E R A T U R

- BÖRTITZ, S., 1969: Physiologische und biochemische Beiträge zur Rauchschaadensforschung. II. Arch.Forstw. 18:124-131.
- ESTERBAUER, H. und GRILL, D., 1978: Seasonal variation of Glutathione and Glutathione Reductase in needles of *Picea abies*. Pl.Physiol. 61:119-21.
- GRILL, D. und ESTERBAUER, H., 1973a: Quantitative Bestimmung wasserlöslicher Sulfhydrylverbindungen in gesunden und SO<sub>2</sub>-geschädigten Nadeln von *Picea abies*. Phyton 15: 87-101.
- GRILL, D. und ESTERBAUER, H., 1973b: Cystein und Glutathion in gesunden und SO<sub>2</sub>-geschädigten Fichtennadeln. Eur.J.For.Pathol. 3: 65-71.
- GRILL, D., ESTERBAUER, H. und WELT, R., 1978: Stabilisierung von Sulfhydrylverbindungen in Pflanzenextrakten durch Ascorbinsäure. Phyton 18: 127-135.
- GRILL, D., ESTERBAUER, H. und KLÖSCH, U., 1979: Effect of sulfur dioxide on glutathione in leaves of plants. Environ. Pollut. 19: 187-194.
- GRILL, D., ESTERBAUER, H., SCHARNER, M., und FELGITSCH, CH., 1980: Effect of sulfur dioxide on protein-SH in needles of *Picea abies*. Eur.J.For.Pathol. 10:263-267.
- HÄRTEL, O. und MILAU-GRASSL, S., 1974: Über den Einfluß von SO<sub>2</sub> auf Pflanzenzellen. Phyton 16: 81-99.
- JÄGER, H.-J., 1976: S-Lokalisation in SO<sub>2</sub>-begasten Fichtennadeln. Eur.J.For.Pathol. 6: 25-29.
- RABER, J., LIKUSSAR, W. und GRILL, D., 1976: Eine spektralphotometrische Schnellmethode zur Bestimmung von Schwefel in Pflanzenmaterial. Int.J.Environ.Analyt.Chem. 4:251-255.
- RACKER, E., 1954: Glutathione as coenzyme in intermediary metabolism. In: Glutathione, ed.by COLOWICK, S., et al. 165-83. New York, Academic Press.
- SCHINDELBECK, W.E., 1977: Biochemische Beiträge zur Immissionsforschung. Forstwiss.Zentbl. 96:67-71.
- WEIGL, H.J. und JÄGER, H.-J., 1980: Physiologische Aspekte der unterschiedlichen SO<sub>2</sub>-Empfindlichkeit bei Pflanzen. Mitt.forstl.Bundesversuchsanst. Wien (im Druck).
- ZIEGLER, I., 1975: The effect of SO<sub>2</sub> pollution on plant metabolism. Resid.Rev. 56:79-105.

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

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mitteilungen der forstlichen Bundes-Versuchsanstalt Wien](#)

Jahr/Year: 1981

Band/Volume: [137\\_1\\_1981](#)

Autor(en)/Author(s): Grill Dieter, Esterbauer Hermann

Artikel/Article: [Einfluss schwefelhaltiger Abgase auf das SH-System von Pflanzen 121-125](#)