©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	**Vol. 25**	Fasc. 2	277–291	30. 11. 1985

Zur Physiologie des Trübungstests, einer Methode zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen

Von

Heinz FUCHSHOFER und Otto HÄRTEL*)

Mit 8 Figuren

Eingelangt am 19. November 1984

Key words: Trübungstest, turbidity test, air pollution, bioindication, SO_2, conifers, spruce, *Picea abies*.

Summary

FUCHSHOFER H. & HÄRTEL O. 1985. The physiology of the „Trübungstest" (turbidity test), a method for the bioindication of effects of air pollutants on Conifers. – Phyton (Austria) 25 (2): 277–291, with 8 figures. – German with English summary.

The physiological basis of the „Trübungstest" (turbidity test), a simple and proved method for the bioindication of effects of air pollutants on conifers, seems to be largely explained. Using homogenous samples of spruce needles, it is possible to reproduce the whole range of turbidity values obtainable in polluted areas by changing the Ca^{2+}-level during the standardized extraction process. In the presence of sufficient amounts of Ca^{2+} the results are opalescent extracts which are typical for unaffected needles, whereas removal of Ca^{2+} causes milky extracts which characterize heavily polluted needles. The experiments suggest that Ca-ion alters the permeability of the outermost cell-wall layers of the needles controlling in this way the efflux of the substances which determine the density of the obtained extract. Under these assumptions, the increased turbidity values obtained in polluted areas can be explained either by conversion of Ca^{2+} into insoluble compounds ($CaSO_4$, insoluble Ca-F-compounds) in the case of pollution by SO_2 or gaseous fluorine compounds, or by leaching out Ca^{2+} at it is known when spruce has been fumigated with ozone.

Zusammenfassung

FUCHSHOFER H. & HÄRTEL O. 1985. Zur Physiologie des Trübungstests, einer Methode zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen. – Phyton (Austria) 25 (2): 277–291, mit 8 Figuren. – Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

---

*) Anschrift für Bestellungen von Sonderdrucken: Prof. Dr. O. HÄRTEL, Institut für Pflanzenphysiologie, Karl-Franzens-Universität Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Die physiologische Grundlage des sog. Trübungstests, einer einfachen und erprobten Methode zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen, konnte weitgehend geklärt werden. Es gelingt, an homogenem Nadelmaterial (Fichte) durch Verändern des Ca^{2+}-Spiegels während der standardisierten Extraktion den ganzen Bereich der unter Abgaseinwirkungen auftretenden Trübungswerte zu reproduzieren. Ca^{2+}-Zusatz führt zu opaleszierenden Extrakten, wie sie für unbelastete Nadeln kennzeichnend sind, während Ca^{2+}-Entzug zu milchigen, starke Immissionsbelastung anzeigenden Extrakten führt. Die Versuche sprechen dafür, daß das Ca-Ion die Durchlässigkeit der äußersten Wandschichten der Nadeln und damit das Austreten der die Trübung bestimmenden Stoffe während des Kochvorganges verändert. Wenn durch gasförmige Immissionen wie SO_2 oder fluorhaltige Verbindungen Ca-Ion in der Nadel in unlösliche Verbindungen ($CaSO_4$, unlösliche Ca-F-Verbindungen) festgelegt wird oder wenn es, wie es nach Ozon-Begasung bekannt ist, aus den Nadeln ausgewaschen wird, führt dies zu den beobachteten hohen Trübungswerten.

Einleitung

HÄRTEL 1953 konnte zeigen, daß Nadeln der Fichte, *Picea abies* (L.) KARST., beim Kochen mit Wasser umso trübere Extrakte liefern, je stärker ihre vorangegangene Belastung durch SO_2-hältige Abgase war. Die Stärke der Trübung variiert von schwach opaleszierend bis milchig-trüb, sie kann durch Messung der Lichtabsorption im Reagensglasphotometer quantitativ ausgedrückt werden und Werte zwischen etwa 20% Absorption bei Fichten aus reiner Luft bis 80–90% Lichtabsorption bei Nadeln aus Industriegebieten annehmen. Dieses Phänomen bildet die Grundlage des sog. „Trübungstests", nachdem es sich erwiesen hat, daß bei standardisierter Durchführung (HÄRTEL 1960, 1972) die Stärke der Trübungen gut mit der jeweiligen Entfernung vom Werk, mit dem Schwefelgehalt der Nadeln, mit der Stärke der SO_2-Immissionen, aber auch mit dem Ertragsrückgang korrelieren (HÄRTEL 1972). Er hat vielfach Anwendung gefunden und wurde auf der II. Internationalen Arbeitstagung forstlicher Rauchschadenssachverständiger 1959 in Bochum als Test anerkannt.

Zwei Beispiele mögen den Zusammenhang zwischen dem Ausfall des Trübungstest und anderen Parametern illustrieren.

In Fig. 1 sind die Mittelwerte der in einem obersteirischen Immissionsgebiet (Emissionsquelle: SO_2 emittierendes chemisches Werk) erhaltenen Trübungswerte über den Logarithmen der Entfernung vom Werk, einer SO_2 emittierenden chemischen Fabrik, aufgetragen; die gemessenen Einzelwerte wurden dabei in Klassen zu je 250 m Breite gemittelt. Die in den einzelnen Zonen erhaltenen Mittelwerte ordnen sich auffalllend gut zu einer Geraden, die Korrelation zwischen den Einzelwerten zu ihrer jeweiligen Entfernung zum Werk beträgt $r = -0{,}73$ mit $P<0{,}001$. Zu der allerdings nicht unbedeutenden Streuung der Einzelwerte (Variationskoeffizient zwischen 8 und 36%, im Mittel rd. 25% des jeweiligen Zonenmittels) ist allerdings zu berücksichtigen, daß in die Standardabweichungen nicht nur die unver-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

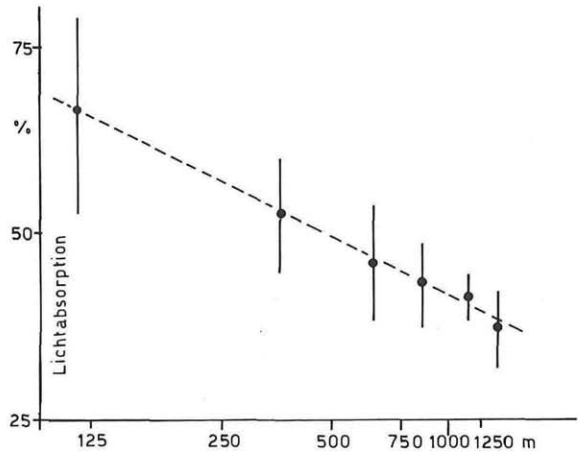

Fig. 1. Trübungstest (% Lichtabsorption der Nadelextrakte), über dem Logarithmus der Entfernung von der Immissionsquelle aufgetragen. Jeder Wert stellt das Mittel der Probestellen innerhalb der jeweiligen Zone mit der Standardabweichung der Einzelwerte dar.

meidlichen individuellen Streuungen (Standardabweichung zwischen ±8 und ±15% des jeweiligen Mittelwertes), sondern auch die bei der Mittelung nicht berücksichtigten Unterschiede in der Exposition der Probestellen wie natürlich auch das Gefälle innerhalb der 250 m-Zone eingehen.

Ein ähnliches Bild ergibt sich beim Auftrag der Trübungswerte über den jeweiligen Schwefelgehalten der Nadeln (Fig. 2). Auch in diesem Falle bilden die Mittelwerte über den SO_3-Gehalten (Klassenbreite 0,1%) mit nur ganz geringen Abweichungen eine Gerade. Die Variationskoeffizienten betragen über allen Abszissenabschnitten gleicherweise rd. ±22,5% der Mittelwerte, wobei aber zu berücksichtigen ist, daß in dieser Berechnung die Werte von vier Immissionsgebieten ganz unterschiedlicher Lage kumuliert sind. Die Korrelation zwischen SO_3-Gehalten und Trübungswerten ist mit $r = 0{,}67$ ($P<0{,}001$) recht gut und hochsignifikant.

Schon diese zwei Beispiele belegen, daß der Test zur Bioindikation von SO_2-Immissionen dienen kann. Ähnliche Beziehungen lassen sich auch zu den Immissionsstärken oder zum Ertrag bzw. den Jahresringbreiten herstellen (vgl. HÄRTEL 1972). Deshalb fand der Test zunächst gerade wegen seiner Einfachheit eine recht günstige Beurteilung (STEINHÜBEL 1957, PELZ 1958, MATERNA & HRNČÍŘOVA 1960, WENTZEL 1960, DÄSSLER 1963). In der Folge ist es allerdings etwas stiller um ihn geworden. Der Grund hiefür dürfte wohl sein, daß wir noch nicht wissen, worauf er beruht und was er eigentlich anzeigt (KELLER & al. 1976). Trockenheit oder Schädlinge vermögen ihn nicht merkbar zu beeinflussen, hingegen reagiert er auch auf Fluorimmis-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

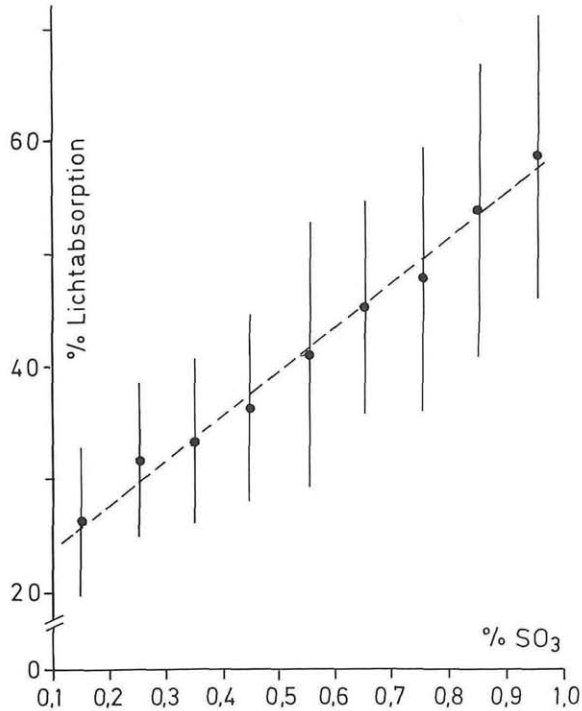

Fig. 2. Trübungstest (% Lichtabsorption der Nadelextrakte) und SO_3-Gehalt der Nadeln (in % TG). 4 Immissionsgebiete gemittelt, jeder Punkt stellt das Mittel aus 15–25 Einzelwerten mit den jeweiligen Standardabweichungen dar.

sionen (PELZ & DELLING 1963) und offenbar auch auf Ozon und andere Photooxidantien (GRILL & HÄRTEL 1973), was die Erklärung seiner Grundlagen sicher nicht vereinfacht.

Mehreren Anläufen in dieser Richtung, sowohl in Graz als auch in anderen Laboratorien (z. B. MATERNA–RYŠKOVÁ 1961) blieb ein Erfolg versagt. Wir gingen nun nicht von der sicher am nächsten liegenden Frage aus, welche Stoffe die Trübung verursachen, sondern wir versuchten an möglichst homogenem Nadelmaterial die Trübung zu verändern, also einen unterschiedlichen Ausfall des Tests modellmäßig zu reproduzieren. Den Schlüssel hiezu schienen uns Versuche zu liefern, bei denen nicht Wasser, sondern Salzlösungen zur Extraktion verwendet wurden, sie werden im folgenden beschrieben.

Methodik

Bei der Herstellung der Nadelextrakte wurde nach dem Standardverfahren vorgegangen (HÄRTEL 1960, 1972). 2 g frische, sauber abgezupfte

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Fichtennadeln des letzten Jahrganges wurden mit kaltem Wasser einige Minuten gewaschen, oberflächlich abtrocknen gelassen und in Eprouvetten von 15 mm Ø gefüllt. Dann wurden sie mit 12 ml deionisiertem Wasser versetzt und ins bereits kochende Glyzerinbad (Glyzerin techn. und Wasser $\overline{aa}$) gestellt. Sobald das Wasser in den Röhrchen Blasen zu werfen begann, wurde die Bunsenflamme soweit zurückgenommen, daß der Röhrcheninhalt ruhig, jedenfalls ohne seinen Inhalt zu verspritzen, weiterkochte. Nach 12 min. Kochzeit (vom Beginn des Blasenwerfens an gerechnet) werden die Röhrchen aus dem Bad genommen, die Flüssigkeit wird abgegossen, auf 10 ml aufgefüllt und auf Zimmertemperatur abkühlen gelassen. Dann wird die Lichtabsorption der Flüssigkeit im Lange-Photokolorimeter mit Reagensglaseinsatz, in einer Reihe von Versuchen im Beckman Spektralphotometer Mod. B, zwecks Minderung eines störenden Einflusses allfälliger Eigenfärbung der Extrakte bei gelbem Licht ($\lambda = 600$ nm), bei einer Schichtdicke von 1 cm gemessen und, wenn nichts anderes vermerkt ist, in Prozenten angegeben. Die Standardisierung verschiedener Photometertypen für den vorliegenden Zweck wird in einer weiteren Publikation behandelt werden.

Jeder angegebene Wert stellt das Mittel aus mindestens 5 (bis 10) Wiederholungen dar; die senkrechten Indexstriche geben den wahrscheinlichen Fehler des jeweiligen Mittelwertes dar. Unterschiedliche Ausgangswerte der einzelnen Versuche sind u. a. dadurch bedingt, daß der Trübungstest auch an gesunden Nadeln zu den verschiedenen Zeiten des Jahres etwas unterschiedliche Werte und verschiedene Streuung zeigen kann; die geringsten Streuungen der Werte findet man im Herbst (September, Oktober, HÄRTEL 1960). Dieser Termin konnte in vorliegenden Untersuchungen naturgemäß nicht ausschließlich eingehalten werden.

Ergebnisse

Fig. 3 gibt das Ergebnis einer Versuchsreihe mit Salzen der HOFMEISTERschen Ionenreihe, Li^+, Na^+, K^+ und Ca^{2+}, als Chloride in drei Konzentrationsstufen geboten, in dreidimensionaler Darstellung wieder. Allen Salzen ist gemeinsam, daß die erhaltene Trübung mit steigender Salzkonzentration abnimmt, am ausgeprägtesten bei Ca^{2+}. In der schwächsten (0,05 M) LiCl-Lösung liegt die Trübung sogar noch etwas über der Wasserkontrolle. Die Trübung nimmt in der Reihe $Li^+ > Na^+ > K^+$ ab, weitaus am geringsten ist sie nach Extraktion der Nadeln in Ca^{2+}-Lösungen, die Abnahme ist statistisch hochsignifikant ($P < 0{,}001$).

Die durch die Anionen erzeugten Veränderungen der Trübungen sind weit weniger deutlich ausgeprägt (Fig. 4). Wohl zeigt sich auch hier die Trübungsabnahme in höheren Konzentrationen, aber die Wirkungen von Cl^-, Br^- und I^- (als Na-Salze dargeboten) unterscheiden sich nicht signifikant. Selbst die in diesem Zusammenhang natürlich besonders interessie-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

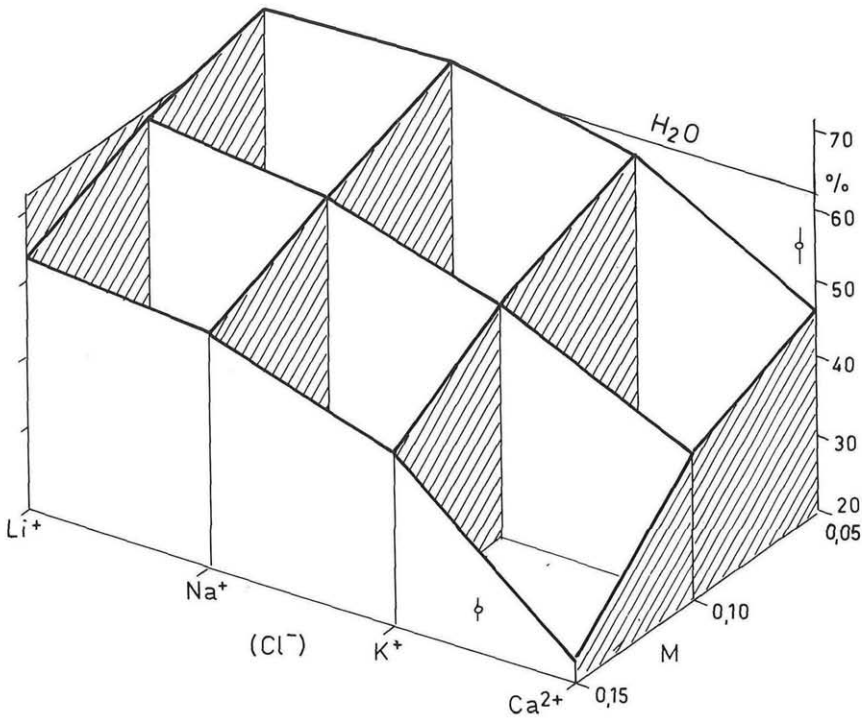

Fig. 3. Einfluß von Li^+, Na^+, K^+ und Ca^{2+} (als Chloride) in verschiedenen Konzentrationen (Abszissen) auf den Ausfall des Trübungstest an homogenem Nadelmaterial. Mittel aus 10 Wiederholungen, senkrechten Striche geben den mittleren Fehler der Mittelwerte an.

rende Sulfatlösung (0,25 M Na_2SO_4) erhöht die Trübung nur ganz geringfügig. Sulfat allein kann daher nicht unmittelbare Ursache größerer Trübungsänderungen sein.

Für solche stärkere Änderungen der Trübungsstärke kommt nach diesen Versuchen allein das Ca^{2+}-Ion in Betracht. Dies demonstriert besonders deutlich Fig. 5. Sie zeigt noch einmal die drastische und hochsignifikante Abnahme der Trübung mit steigender Konzentration. Extrahiert man dagegen die Nadeln in Na-Oxalat-Lösungen, so nimmt die Trübung ebenso eindeutig zu. Von Bedeutung erscheint dabei, daß schon bei der niedrigsten Konzentration der volle Effekt auftritt und stärker konzentrierte Na-Oxalat-Lösungen am Ergebnis nichts mehr ändern. Dies muß wohl dahingehend interpretiert werden, daß offenbar schon in der niedrigsten Konzentration alles frei verfügbare Ca-Ion unlöslich gebunden wird, sodaß eine weitere Steigerung der Oxalat-Konzentration wirkungslos bleibt. Diese Unabhängigkeit der Wirkung von der Konzentration legt den Schluß nahe, daß dieses

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

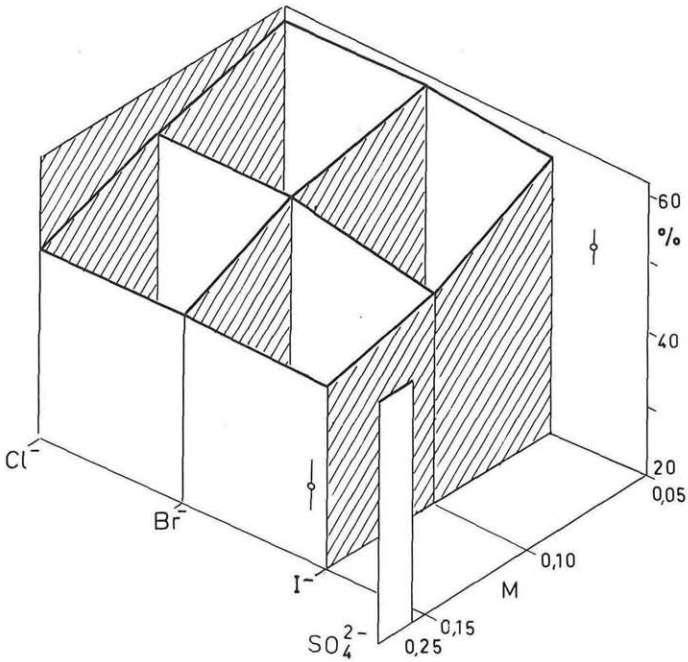

Fig. 4. Einfluß von Cl^-, Br^-, I^- und SO_4^{2-} (als Na-Salze geboten) auf den Ausfall des Trübungstests. Vgl. Legende zu Fig. 3.

Ion nicht unmittelbar, sondern indirekt über die Beeinflussung des Calcium-Spiegels wirkt. Es gelingt somit, lediglich durch Veränderung des Calciumspiegels praktisch die gesamte Spanne der Trübungswerte von 20% Lichtabsorption bei gesunden Nadeln bis über 80% bei stark durch SO_2 belasteten Nadeln zu reproduzieren, ein deutlicher Hinweis, daß das Ca^{2+}-Ion für den Ausfall des Trübungstests maßgebend sein dürfte.

Eine weitere Versuchsserie galt dem Vergleich der Trübungswerte, die beim Kochen ganzer und zerkleinerter Nadeln erhalten werden (Fig. 6). Die in den verschiedenen Salzlösungen an intakten Nadeln erhaltenen Trübungen entsprechen ganz dem bisher Gesagten, die Trübung nimmt von etwa 60% Lichtabsorption in Wasser bis gegen 20% in der $CaCl_2$-Lösung (0,15 M) ab. Dekokte zerkleinerter Nadeln liefern wesentlich stärker getrübte Lösungen (Lichtabsorption zwischen 80 und 90%), auch zeigen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Salzlösungen. Es sei hinzugefügt, daß nachträgliches Versetzen bzw. Kochen der trüben Extrakte mit den verwendeten Salzen keine weiteren Änderungen der Lichtabsorption mehr bewirkt; auf eine Wiedergabe diesbezüglicher Versuche darf verzichtet werden.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

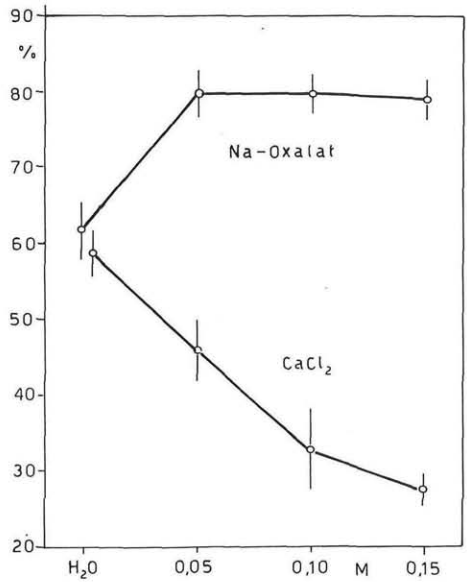

Fig. 5. Abhängigkeit des Trübungstests von Ca^{2+}-Spiegel während der Extraktion. Jeder Punkt = Mittel aus 7 Wiederholungen.

Aufschlußreich erscheint auch eine Versuchsreihe, in der ein und dieselbe Probe mehrere Male, selbstverständlich in jeweils frischem Extraktionsmittel (H_2O, 0,1 M LiCl- bzw. $CaCl_2$-Lösungen) extrahiert wurde (Fig. 7). Auf der linken Seite dieser Abbildung (A) sind die erhaltenen Trübungen wie bisher als Prozent Lichtabsoprtion aufgetragen. Bei der ersten Kochung liegt die in LiCl-Lösung erhaltene Trübung wie bereits mehrfach gefunden etwas über der Wasserkontrolle, der Unterschied verstärkt sich sogar bei der 2. und 3. Kochung. Dann aber nimmt die Trübung rasch ab und verbleibt ab der 4. Kochung stets unter der Wasserkontrolle. Die Ca-Kurve liegt erwartungsgemäß unter der Wasserkontrolle, sie bleibt aber bis zur 4. Kochung nur wenig verändert; der steile Abfall tritt erst ab der 5. Kochung auf, doch bleibt nun die Ca-Trübung stets über der Wasserkontrolle. Dieser Versuch läßt darauf schließen, daß der Austritt einer die Trübung bestimmenden Substanz durch Li^+ offenbar erleichtert wird, ja, daß diese fördernde Wirkung bei wiederholtem Kochen zunächst noch zunimmt; ab der 4. Kochung ist offenbar der Vorrat an trübungsbestimmender Substanz eher erschöpft als bei der Wasserkontrolle. Bei Gegenwart von Ca^{2+} scheint es umgekehrt, der Austritt trübender Stoffe ist gebremst (geringere Trübungswerte!), weshalb der Vorrat daran länger, bis über die 4. Kochung hinaus, vorhält, sodaß auch bei den folgenden Kochungen noch Trübungen über der Wasserkontrolle auftreten.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

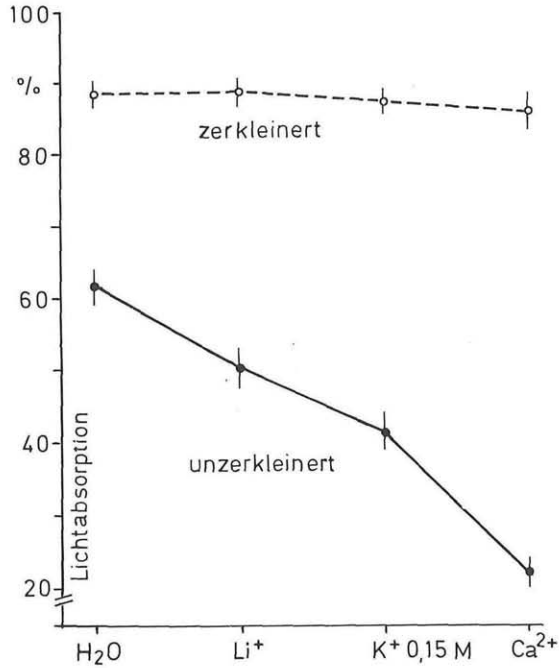

Fig. 6. Vergleich der mit ganzen und mit zerkleinerten Nadeln erhaltenen Trübungswerte. Jeder Punkt Mittel aus 7 Wiederholungen.

Die rechte Figur (B) gibt denselben Sachverhalt, jedoch in logarithmischem Auftrag, also als Extinktion wieder. Sicherlich ist es nicht korrekt, hier von einer Extinktion zu sprechen, denn eine trübe Lösung folgt keineswegs dem LAMBERT–BEERschen Gesetz. Deshalb wurde auch der ao erhaltene Wert mit E′ bezeichnet und Extinktion unter Anführungszeichen gesetzt. Aber auffälligerweise ergibt die Wasserkurve fast eine Gerade, die Überhöhung der Li-Kurve und die Depression der Ca-Kurve kommen deutlicher zum Ausdruck. Der annähernd logarithmische Verlauf der Wasserkurve läßt auch schließen, daß der Austritt trübender Stoffe von deren Konzentration in der Nadel abhängt. Es sei bereits an dieser Stelle bemerkt, daß auch Verdünnungsreihen trüber Extrakte innerhalb des in Frage kommenden Bereiches nur wenig von der Geraden abweichende Extinktionen zeigen, doch hängt dies wohl weitgehend vom verwendeten Photometer ab. Darüber wird in einer späteren Arbeit noch zu berichten sein.

Gegenüber pH-Änderungen der Extraktionslösung ist der Ausfall des Trübungstests im Bereich zwischen pH 5 und 10 relativ unempfindlich (Fig. 8). Erst unter pH 5 kommt es zu einem starken Abfall bis pH 2–3 (EISENZOPF, unveröffentlicht). Bei diesem Versuch sind im sauren Bereich McIlvaine-Puffer verwendet worden, bei denen die hohe H-Ionenkonzen-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

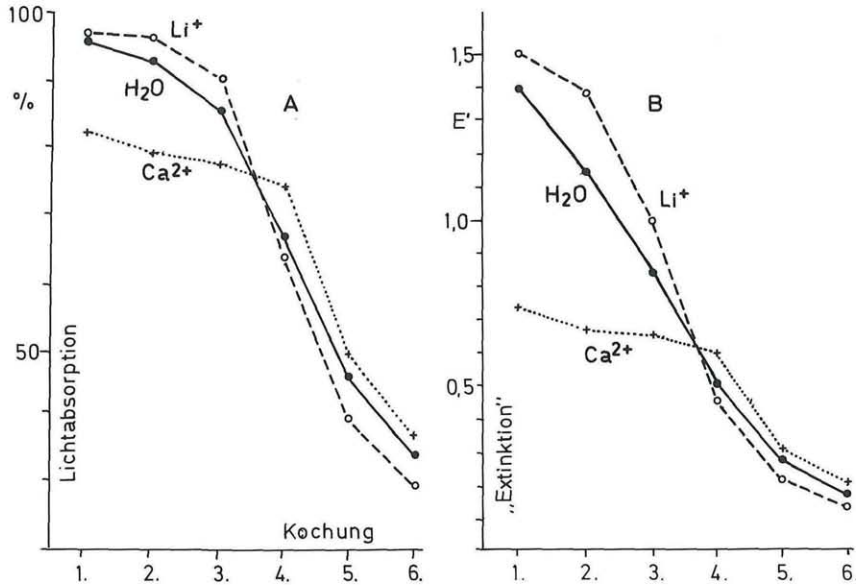

Fig. 7. Beim wiederholten Extrahieren von Nadeln in Wasser, LiCl und $CaCl_2$ (0,1 M) auftretende Trübungen. A = prozentualer Auftrag, B = Auftrag in Extinktionswerten. 5fache Wiederholung.

tration durch Glycocoll-Salzsäure eingestellt wird. Verwendet man hiezu entsprechend verdünnte Schwefelsäure, so steigt die Trübungskurve bis pH 1 deutlich an, verläuft also gegensätzlich zur erstbeschriebenen. Dabei nimmt die Streuung der Einzelwerte geradezu abrupt ab, was sich auch in einer Verminderung der mittleren Fehler der Mittelwerte auswirkt (P = 0,001). Die leeren Kreise geben die bei der zweiten Kochung der selben Proben erhaltenen Trübungswerte an. Je stärker die Schwefelsäure war, in der die Nadeln extrahiert wurden, desto stärker ist die bei der zweiten Kochung erhaltene Trübung über die erste erhöht. Dieser Versuch soll jedoch erst im Zusammenhang mit den übrigen, hier vorgelegten Ergebnissen interpretiert werden.

Schlußfolgerungen

Es sei vorausgeschickt, daß der Trübungstest in den hier vorgelegten Versuchen in der für die praktische Arbeit zur Bioindikation von SO_2-Einwirkungen an Fichten entwickelten Form ausgeführt wurde. Insbesondere haben wir bei der Darstellung der Ergebnisse bis auf eine Ausnahme den prozentualen Auftrag der Werte beibehalten, obgleich dieser namentlich bei starken Trübungen ein verzerrtes Bild der tatsächlichen Verhältnisse gibt, besonders wenn es um Vergleiche der Mengen der in den Extrakten

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

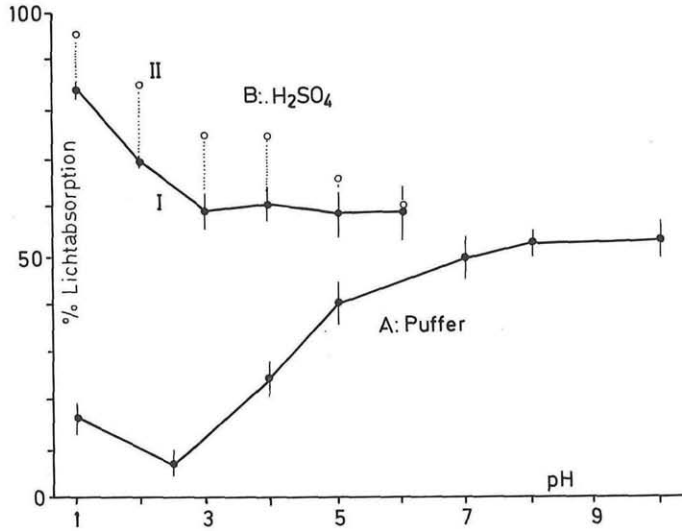

Fig. 8. pH-Abhängigkeit der Trübungswerte. A = pH mit McIlvaine- und Sørensen-Puffern, B = pH mit H_2SO_4 eingestellt. I (volle Kreise) = Ergebnis der ersten Kochung, leere Kreise (II) = zweite Kochung. 7 Wiederholungen.

befindlichen trübenden Stoffe ankommt. Soferne man die Ergebnisse aber nur vergleichend auswertet und Rückschlüsse auf Substanzmengen unterläßt, bleibt die Art des Auftrages ohne Einfluß auf die Schlußfolgerungen. Ebenso ist die Frage nach der chemischen Natur der die Trübungen verursachenden Stoffe für unsere Überlegungen vorderhand von zweitrangiger Bedeutung (hierüber wird in Graz derzeit gearbeitet).

Die in Fig. 6 und 7 dargestellten Versuchsreihen haben bereits erkennen lassen, in welcher Richtung eine Erklärung des Auftretens verschiedener Trübungen zu suchen ist. Es muß sich offenbar um eine Folge unterschiedlicher Filtrationswiderstände handeln, durch die wechselnde Mengen trübungsbestimmender Substanz während des Kochens aus der Nadel nach außen gelangen. Es erschiene auch undenkbar, daß die Trübungsunterschiede durch unterschiedliche Mengen trübungserzeugender Substanz in der Nadel zurückgehen könnten; um Trübungswerte zwischen 20 und 80% Lichtabsorption zu bewirken, müßte deren Menge über eine Spanne von mehr als 1 : 10 variieren! Zudem gelingt es ja, an ein und demselben Nadelmaterial, also bei annähernd gleicher Menge trübender Substanz, die ganze Spannweite der in Immissionsgebieten beobachtbaren Trübungswerte zu reproduzieren.

Die Versuche mit ganzen und zerkleinerten Nadeln legen die Annahme nahe, daß die Filtrationswiderstände in den äußersten Wandschichten der Nadel lokalisiert sind; aus zerkleinerten Nadeln kommt es zu wesentlich

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

stärkeren Trübungen bei geringerer Streuung der Einzelwerte, zudem ist im Gegensatz zu den an intakten Nadeln erhaltenen Trübungen der Salzeinfluß nur gering. Die Ionenabhängigkeit der Trübungen liegt offenbar ausschließlich in den Filtrationswiderständen, denn nachträglicher Zusatz von Salzen auch höherer Konzentration ändert die Lichtabsorption der getrübten Extrakte, auch bei nochmaligem Aufkochen, nicht merkbar.

Alle Ergebnisse sprechen dafür, daß das Ca^{2+}-Ion das die Durchlässigkeit der Wandschichten bestimmende Ion ist, die anderen untersuchten Ionen treten an Bedeutung weit zurück. Durch Ca^{2+}-Zusatz bzw. -Entzug allein gelingt es, die ganze Spannweite möglicher Trübungswerte zu reproduzieren (Fig. 5). Zudem weist der Umstand, daß die Steigerung der erhaltenen Trübungswerte bei Extraktion in Gegenwart von Na-Oxalat praktisch unabhängig von der Konzentration dieses Salzes ist, darauf hin, daß es nur auf die Bindung des Ca^{2+} in unlöslicher Form ankommt, eine spezifische unmittelbare Wirkung dieses Ions ist nicht erkennbar.

Mit der Steuerung der Permeabilität der Wandschichten kann auch die gegenläufige pH-Abhängigkeit beim Einsatz verschiedener Pufferlösungen (Fig. 8) erklärt werden. Benutzt man McIlvaine-Puffer zum Einstellen der pH-Stufen, so sinken die Trübungswerte gegen pH 2–3 stark ab. Wie wir aus Vitalfärbungsstudien von HÖFLER 1946 und KINZEL 1953 wissen, nähern wir uns in diesem Bereich dem isoelektrischen Punkt bzw. dem Entladungspunkt der Polysaccharide der Zellwand, wodurch die Zellwände dichter werden könnten. Wird die hohe Wasserstoffionenkonzentration jedoch durch Schwefelsäure abgestufter Konzentration eingestellt, so erhöht sich im stark sauren Bereich die Permeabilität der Zellwände, die Trübungen werden stärker. Es könnte hier ein ähnlicher Effekt wie beim Na-Oxalat eintreten, durch die hohe SO_4^{2-}-Konzentration wird das Löslichkeitsprodukt für $CaSO_4$ stark zurückgedrängt, der ohnedies schwer lösliche Gips wird vollends unlöslich, die Trübung nimmt zu. Diese Deutung wird noch dadurch unterstützt, daß bei dem im Fig. 8 dargestellten Versuch die zweite Kochung umso höhere Trübungswerte ergibt, je stärker die zur Extraktion verwendete Säure war, zugleich nimmt die Streuung der Werte signifikant ab. Mit steigender Konzentration von Sulfation kann mehr $CaSO_4$ gebildet und damit Ca^{2+} festgelegt werden, was die Trübung verstärkt. Offenbar werden dabei aber auch die durch anfänglich ungleiche Anteile freien Ca-Ions bedingten Streuungen der Einzelwerte in dem Maße verringert, in dem gelöstes Ca^{2+} festgelegt wird.

Die Wandschicht, die dem Austritt trübender Substanzen den größten Widerstand entgegenzusetzen vermag, ist zweifellos die Cuticula der Nadel, zumal auch an isolierten Cuticeln, allerdings von *Citrus*-Blättern, eine gegenüber Na^{+} stark verminderte Wasserpermeabilität in Gegenwart von Ca^{2+} gefunden wurde (SCHÖNHERR 1976). Doch darf dabei nicht übersehen werden, daß nach dem gleichen Autor die Ionenreihe der Wasserpermeabilität isolierter Cuticeln gerade umgekehrt ist wie die Ionenabhängigkeit der

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Trübungen in unseren Versuchen; auch die Cuticulartranspiration folgt, auch an *Picea,* der umgekehrten Reihe ($Li^+ < Na^+ < K^+$) und das Ca^{2+} übt keineswegs eine so drastische Hemmung öaus, wie dies bei den hier vorgelegten Versuchen der Fall ist, im Gegenteil, es konnte sogar einer Erhöhung der Cuticulartranspiration unter Ca^{2+}-Einwirkung beobachtet werden (HÄRTEL 1951). Allerdings darf nicht übersehen werden, daß der Richtungssinn der Ionenreihen veränderlich ist. So kehrt sich an isolierten Cuticeln das Verhältnis $Na^+ : Ca^{2+}$ im sauren Bereich um (SCHÖNHERR 1976) und auch die Kationenreihe der Cuticulartranspiration ist durch Änderung des pH oder der Salzkonzentration umkehrbar (HÄRTEL 1951). Sicher darf der Durchtritt der die Trübung bestimmenden Substanzen nicht der für das Wasser gleichgesetzt werden, bei lipophilen Substanzen, um die es sich dabei zweifellos handelt (vgl. HÄRTEL 1960), können die Verhältnisse völlig anders liegen. Hierüber sind nähere Aussagen erst bei Kenntnis der chemischen Natur der trübenden Substanzen möglich.

Dennoch glauben wir auf Grund unserer hier vorgelegten Versuche die in Immissionsgebieten auftretenden unterschiedlichen Trübungswerte bereits ausreichend erklären zu können. Die den SO_2-Immissionen ausgesetzten Nadeln nehmen SO_2 auf, das hier zu SO_4^{2-} oxidiert wird und in weiterer Folge vorhandenes Ca^{2+} zu $CaSO_4$ bindet. Wohl ist dieses noch etwas löslich, aber eine gesättigte Lösung enthält nur ca. 2 g . 1^{-1} $CaSO_4$, was einer rd. 0,015 M Lösung entspricht. Ein Blick auf Fig. 3 lehrt, daß diese Konzentration weit unter den in unseren Versuchen verwendeten liegt und keine nennenswerte Minderung der Permeabilität der Zellwände mehr erwarten läßt, sodaß höhere Trübungswerte resultieren. Eine, wenn auch nicht vollkommene, Korrelation zu den Schwefelgehalten der Nadeln (vgl. Fig. 2) ist daher zu erwarten. Umgekehrt kann so auch der gelegentlich zu erhebende Befund erklärt werden, daß stark verstaubte Nadeln auch unter SO_2-Belastung nur wenig erhöhte Trübungswerte ergeben: Ca^{2+} im Überschuß verhindert das Zustandekommen hoher Trübungen. Beobachtungen, denenzufolge Nadeln, die nach stoßartiger Einwirkung hoher SO_2-Konzentrationen abgestorben sind (sog. akute Schäden), kaum erhöhte Trübungswerte ergeben, andrerseits Jungfichten unter künstlicher Begasung erst nach einigen Wochen ihre Trübungswerte erhöhen (HÄRTEL, GRILL, unveröffentlicht), fügen sich gut in diese Vorstellungen ein.

PELZ 1958 konnte zeigen, daß der Trübungstest auf fluorhältige Immissionen in ähnlicher Weise reagiert wie auf SO_2. Wenn Fluorwasserstoffsäure Ca^{2+} zu unlöslichem Ca-Fluorid zu binden vermag, tritt ebenfalls in den äußeren Zellwandschichten eine Verarmung an löslichem Calcium ein und die Folge ist wiederum ein verstärkter Ausfall des Tests.

Schließlich könnten auf der gleichen Basis auch jene exorbitant erhöhten Trübungswerte eine Erklärung finden, die GRILL & HÄRTEL 1973 in Höhen um 1000 m wiederholt gefunden haben und die keinesfalls auf normale Schadstoffkomponenten wie SO_2 o. ä. zurückgeführt werden kön-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

nen. Da diese hohen Trübungswerte vor allem in jenen Höhenlagen auftreten, in denen sich die Obergrenzen der Temperaturinversionen befinden, wo also auch mit dem Auftreten von Ozon und anderen Photooxidantien (PAN) zu rechnen ist, nahmen GRILL & HÄRTEL 1973 diese als Ursache für die hohen Trübungswerte an, ohne daß zunächst eine Erklärung gegeben werden konnte, wieso diese ähnlich wirken sollten wie etwa SO_2. Nun haben aber jüngst KRAUSE & al. 1983 und JUNG & al. 1984 zeigen können, daß nach Begasung von Fichten mit Ozon Magnesium und vor allem Calcium aus den Nadeln ausgewaschen werden. Sowohl bei künstlicher Auswaschung wie auch unter natürlichen Bedingungen durch Regen werden zweifellos die äußersten Schichten am stärksten betroffen sein, eben jene Wandschichten, die wir als Sitz der Filtrationswiderstände für das Austreten der trübenden Substanzen aus der Nadel ansehen müssen. Es wäre sogar nicht auszuschließen, daß sich so Änderungen im Ausfall des Trübungstests ergeben, bevor die Analyse der Nadeln merkbar verringerte Calciumgehalte ergibt.

So plausibel das Verhalten des Trübungstests gegenüber Fluorimmissionen oder Ozon aus der Sicht der hier vorgelegten Versuche auch erscheinen mag, es handelt sich dabei vorerst noch um Vermutungen, die erst einer experimentellen Bestätigung bedürfen.

Schriftenverzeichnis

DÄSSLER H. G. 1963. Probleme der forstlichen Rauchschadensforschung. – Biol. Zbl. 82: 217–288.

GRILL D. & HÄRTEL O. 1973. Abgassymptome an Fichten in 1000 m Höhe? – Wetter u. Leben 25: 91–95.

HÄRTEL O. 1951. Ionenwirkung auf die Kutikulartranspiration von Blättern. – Protoplasma 40: 107–137.

— 1953. Eine neue Methode zur Erkennung von Raucheinwirkungen an Fichten. – Zbl. ges. Forst- u. Holzw. 72: 12–21.

— 1960. Über neuere Erfahrungen mit dem Trübungstest, inbesondere seine Eignung zur fortlaufenden Kontrolle von Abgasschäden. – Forst- u. Holzwirt 15: 260–262.

— 1972. Langjährige Meßreihen mit dem Trübungstest an abgasgeschädigten Fichten – Ergebnisse und Folgerungen. – Oecologia 9: 103–111.

HÖFLER K. 1946. Über den isoelektrischen Punkt natürlicher Zellulosemembranen und deren Färbbarkeit mit Fluorochromen. – Anz. Akad. Wiss. Wien, math.-nat. Kl. 7: 41–48.

JUNG K.-D., KRAUSE G. H. M. & PRINZ B. 1984. Forest dieback in Western Germany: Single and combined effects of ozone and acid precipitations. – Abstracts 4th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology Strasbourg 29. 7.–3. 8. 1984, p. 21.

KELLER Th., SCHWAGER H. & YEE-MEILER D. 1976. Der Nachweis winterlicher SO_2-Immissionen an jungen Fichten. Ein Vergleich dreier Methoden. – Eur. J. Forest Pathol. 6: 244–249.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

KINZEL H. 1953. Die Bedeutung der Pektin- und Zellulosekomponente für die Lage des Entladungspunktes pflanzlicher Zellwände. – Protoplasma 42: 208–226.

KRAUSE G. H. M., PRINZ B. & JUNG K.-D. 1983. Neuere Untersuchungen zur Aufklärung immissionsbedingter Waldschäden. – VDI-Bericht Nr. 500: 257–266. – VDI Verlag Düsseldorf.

MATERNA J. & HRNČÍŘOVA L. 1960. Der Trübungstest nach HÄRTEL und die Benzenextraktion der Nadeln als Methoden der Feststellung der Rauchschäden. – Sborník Českosl. Akad. Zeměd. Věd. 6 (XXXIII), Čislo 10: 877–884.

— & RYŠKOVÁ L. 1961. Beitrag zur Erkennung der biochemischen Grundlagen von HÄRTELS Trübungstest. – Sborník Českosl. Akad. Zeměd. Věd. 7 (XXXIV), Čislo 4: 389–400.

PELZ E. 1958. Erfahrungen mit dem Trübungstest nach HÄRTEL bei der Rauchschadendiagnose an Fichte. – Arch. Forstwesen 7: 105–112.

— & DELLING W. 1963. Untersuchungen über die Anwendbarkeit des Trübungstests nach HÄRTEL bei der Diagnose von Rauchschäden an Tanne. – Wiss. Z. Techn. Univ. Dresden 12: 533–541.

SCHÖNHERR J. 1976. Water permeability of isolated cuticular membranes: The effect of pH and cations on diffusion, hydrodynamic permeability and size of polar pores in the cutin matrix. – Planta 128: 113–126.

STEINHÜBEL G. 1957. Anwendung des HÄRTELschen Trübungstests bei der Feststellung von Schäden durch Rauchgase. – Biológia (Bratislava) 12: 611–617.

WENTZEL K. F. 1960. Untersuchungen über die von einer Bleihütte ausgehenden Immissionen und das Ausmaß der durch die während zweier Jahre verursachten Waldrauchschäden. – Ber. Landesamt Bodennutzungsschutz Nordrhein-Westfalen, Bochum 1960: 63–87.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1985

Band/Volume: 25_2

Autor(en)/Author(s): Fuchshofer Heinz, Härtel Otto

Artikel/Article: Physiologie des Trübungstests, einer Methode zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen. 277-291