

Ökophysiologische Aspekte der Kontamination von Kulturpflanzen mit dem Schwermetall Cadmium

Hartmut Klein, Albrecht Priebe, Hans-Jochen Weigel, Hans-Jürgen Jäger

Abstract

Uptake and distribution of cadmium by cultivated plants, some metabolic responses of plants to cadmium contamination, and the subcellular distribution and binding form of cadmium have been investigated. Cadmium uptake via the roots is much higher and more detrimental to plants than the absorption of foliar-applied cadmium. With only 5 ppm cadmium in the soil the cadmium concentrations in the edible vegetative parts of some of the cultivated plants by far exceed the 1 ppm dry weight level, whereas this does not happen in fruits. Responses of the plant metabolism to low (< 10 ppm) cadmium concentrations of the tissues were alterations of free amino acid concentrations and a stimulation of the glutamate dehydrogenase and peroxidase activity. After differential centrifugation of homogenates of cadmium-containing tissues 63-73 % of the heavy metal was detected in the soluble fraction. Little cadmium (10-20 %) was bound to the cell wall fraction or to organelles. Gel filtration of the soluble fraction showed cadmium to be associated mainly with 5000 to 10 000 molecular weight components in roots and 700 to 4000 molecular weight components in leaves, which could be characterized as peptides and/or low molecular weight proteins.

Cadmium contamination, cadmium ecotoxicology, cadmium metabolism, subcellular distribution, binding form.

1. Einführung

Unter den Umweltchemikalien, die durch mittelbares oder unmittelbares Zutun des Menschen in der Biosphäre Konzentrationen erreichen, die bei Pflanzen, Tieren und Menschen toxische Wirkungen verursachen können, beansprucht das Schwermetall Cadmium in neuerer Zeit zunehmendes Interesse. Als integrierter Bestandteil der Biosphäre in Konzentrationen von 0.01-5 ppm natürlicherweise in Böden vorhanden (ERNST 1974, KLOKE 1974), reichert sich Cadmium durch Düngung, Kompost-, Abwasser- und Klärschlammausbringung, Industrieabfälle, Autoabgase und industrielle Emissionen in aquatischen und terrestrischen Ökosystemen an. Da Cadmium auf Grund seiner starken Adsorption an organische Bodenbestandteile im Boden kaum einer Auswaschung unterliegt, kommt es in den oberen Schichten cadmiumkontaminierter Böden zu Cadmiumanreicherungen bis zu hundert ppm (JOHN et al. 1972, BUCHAUER 1973). Die Pflanzen schwermetallbelasteter Standorte sind daher sowohl der direkten Kontamination ihrer oberirdischen Teile durch schwermetallhaltige Stäube und Aerosole als auch der indirekten Schwermetalleinwirkung über die Wurzeln ausgesetzt. Die sich davon aus ökotoxikologischer und ökophysiologischer Sicht ergebenden Konsequenzen werden in dem vorliegenden Beitrag an einer Reihe von Kulturpflanzen untersucht.

2. Methodik

2.1 Kultivierung und Kontamination der Pflanzen

Die Kurzzeitversuche wurden unter kontrollierten Bedingungen in Pflanzenwuchskammern (JÄGER und STEUBING 1970) durchgeführt. Der Vegetations-Langzeitversuch fand während der Vegetationsperiode 1978 als Gefäßversuch im Freiland statt. Für die Nährlösungsversuche wurde eine nach KLEIN und JÄGER (1976) zusammengesetzte Nährlösung, für die Bodenversuche wurde Einheitserde (Typ ED 73) verwendet. Die Kontamination der Nährlösungen geschah durch Zupipettieren von Cadmiumsulfatlösung. Die Einheitserde wurde durch gleichmäßiges Untermischen eines Cadmiumoxid-Sand-Gemisches kontaminiert (KLEIN et al. 1979). Die Bestäubungsversuche mit Cadmiumoxid erfolgten in einer speziellen Pflanzenbestäubungskammer nach KRAUSE (1974).

2.2 Analytik

Für die Bestimmung der im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen herangezogenen Meßgrößen dienten folgende Methoden:

Cadmium: Mittels Atomabsorptionsspektrometrie an einem Perkin Elmer 360 mit Graphitrohrküvette HGA-72 bei 228.8 nm.

Gesamt-N und Rohprotein: Nach Fraktionierung des getrockneten Pflanzenmaterials mit der Kjeldahl-Methode (KLEIN et al. 1974).

Aminosäuren: Extraktion des Frischmaterials nach JÄGER et al. (1972) und säulenchromatographische Bestimmung mit dem Aminosäureanalysator LKB BC 3201 (modifiziert nach JÄGER 1975).
 Glutamatdehydrogenase: Messung der Enzymaktivität (reduktive Aminierung der α -Ketoglutaräure) modifiziert nach PAHLICH und JOY (1971) über die Extinktionsänderung von NADH bei 340 nm.
 Malatdehydrogenase: Messung der Aktivität in Richtung Malatbildung modifiziert nach HABIG und RACUSEN (1974) und BLACKWOOD und MIFLIN (1976) über die Extinktionsänderung von NADH bei 340 nm.
 Peroxidase: Messung der Extinktionszunahme des durch peroxidatische Dehydrogenierung aus p-Phenylendiamin entstehenden Oxydationsproduktes bei 485 nm (KELLER und SCHWAGER 1971).
 Saure Phosphatase: Messung der Extinktionszunahme des durch das Enzym aus p-Nitrophenylphosphat abgespaltenen Nitrophenols bei 405 nm im Alkalischen nach BOEHRINGER (1977).
 Proteinsyntheserate: Messung des Einbaus eines uniform C 14 markierten Aminosäuregemisches in durch Säure fällbares Protein nach JONES und STODDART (1970) und HUBER (1974) mit dem Flüssigkeitsszintillationszähler Isocap/300 der Firma Nuclear Chicago Division.
 Zellfraktionierung: Differentialzentrifugation des Homogenates cadmiumkontaminierter Pflanzen (0.05 M Tris/HCl, pH 7.5, 1 mM Dithioerythrit) modifiziert nach BONNER und VARNER (1965). Zellwandfraktion = Rückstand der Gazefiltration; Organellenfraktion (Kerne, Stärke, Chloroplasten, Mitochondrien) = Sediment der Zentrifugation bei 45000 g; Cytosolfraktion = Überstand der Zentrifugation bei 45 000 g.
 Gelchromatographie: Auftrennung der Cytosolfraktion mit Sephadexgelen der Firma Pharmacia Fine Chemicals (Uppsala). Erste Auftrennung mit G-100, danach Vereinigung der niedermolekularen cadmiumbindenden Fraktionen und erneute Auftrennung über G-10 (Sproß) und G-25 (Wurzel).

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Aufnahme und Verteilung von Cadmium in Kulturpflanzen

Um festzustellen, in welchem Umfang Cadmium von Pflanzen aus kontaminiertem Boden und bei der Einwirkung von staubförmigem Cadmiumoxid auf die oberirdischen Organe aufgenommen wird, wurden Maispflanzen unter freilandrelevanten Bedingungen beiden Kontaminationsarten ausgesetzt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt. Wie Tab. 1 zeigt, wird Cadmium bei Kontamination des Bodens mit dem schwerlöslichen Cadmiumoxid, der wohl überwiegenden primären Cadmium-Emissionsform, schnell pflanzenverfügbar und im großen Umfang in den einzelnen Pflanzenteilen angereichert. Die schon bei 24 ppm Cadmium im Boden nach 4 Wochen in den Maisblättern erreichten Cadmiumkonzentrationen von 34 (junge Blätter) bis 148 (ältere Blätter) ppm gehen mit starken Ertragsrückgängen der Sprosse und einer charakteristischen Streifenchlorotisierung der älteren Blätter einher (KLEIN et al. 1979) und dokumentieren damit direkte Schwermetallüberschußwirkungen.

Tab. 1: Cadmiumkonzentrationen ($\mu\text{g Cd/g TS}$) in verschiedenen Pflanzenteilen von Mais nach 4-wöchiger Kultivierung auf Cadmiumoxid-kontaminiertem Boden

		ppm Cd im Boden			
		1(K)	24	48	96
Blattstadien	1- 4	2.7	148	171	187
	5+ 6	1.3	78	82	86
	7+ 8	0.8	49	62	71
	9+10	0.4	39	53	61
	11+12	0.9	34	43	44
Sproßachse		0.9	36	44	63
Wurzel		1.7	33	73	108

Tab. 2: Gesamtaufgestaubtes und in den Blättern von Maispflanzen angereichertes Cadmium ($\mu\text{g Cd/g TS}$) nach 14- und 28-tägiger Bestäubung mit Cadmiumoxid ($0.08 \text{ mg Cadmium/m}^2 \times \text{Tag}$).

		14 Tage		28 Tage	
		aufgestaubt	im Blatt	aufgestaubt	im Blatt
Blatt	1 + 2	195	9	255	24
Blatt	3 + 4	74	2	103	8
Blatt	5 + 6	10	1	81	7
Blatt	7 + 8	6	1	26	9
Blatt	9 + 10	-	-	16	8
Blatt	11 + 12	-	-	11	4

Im Vergleich zur Bodenkontamination ergibt die Bestäubung der oberirdischen Teile von Maispflanzen mit Cadmiumoxid ($0.08 \text{ mg Cd/m}^2 \times \text{Tag}$) trotz unspezifischer punktförmiger Blattnekrosen keine Ertragsdepressionen. Zwar werden durch die Bestäubung größenordnungsmäßig vergleichbare Cadmiummengen auf die Blätter aufgebracht, wie sie bei Bodenkontamination in den Blättern angereichert werden; der überwiegende Teil des Cadmiums liegt jedoch bei dieser Kontaminationsart auf den Blättern in leicht abwaschbarer Form vor. Die durch Bestäubung in den Blättern angereicherten Cadmiummengen betragen maximal 24 ppm (Tab. 2) und liegen damit deutlich unter den Konzentrationen, die auf kontaminiertem Boden erreicht werden.

Da die in den beiden Kontaminationsversuchen gewählten Cadmiumkonzentrationen (24 ppm im Boden; $0.08 \text{ mg/m}^2 \times \text{Tag}$) in der Umgebung von Schwermetallemitenten erreicht werden (JOHN et al. 1972, VETTER et al. 1974), können die erzielten Ergebnisse zur Abschätzung der Bedeutung beider Kontaminationsarten im Freiland herangezogen werden. Auf Grund der wesentlich geringeren Cadmiumaufnahme ins Innere der Pflanzen bei Kontamination der oberirdischen Pflanzenteile kommt hier nach der Cadmiumaufnahme der Pflanzen aus kontaminierten Böden die größere Bedeutung zu. Hierfür spricht auch die Entwicklung der im Freiland vorherrschenden Kontaminationssituation, die durch eher abnehmende Cadmiummissionen, jedoch zunehmende Anreicherung des Cadmiums in den oberen Bodenschichten gekennzeichnet ist.

Um die lebensmittelhygienischen Konsequenzen abschätzen zu können, die sich aus der Verwendung von Nahrungspflanzen ergeben, die auf Böden mit freilandrelevanten Cadmiumgehalten kultiviert wurden, wurden eine Reihe von Kulturpflanzen im Freilandvegetationsversuch auf cadmiumkontaminiertem Boden gezogen und nach Erlangung der Erntereife die Verteilung des Schwermetalls in den Pflanzen bestimmt. Tab. 3 gibt die Cadmiumgehalte der verschiedenen Pflanzenteile einer Auswahl von Kulturpflanzen wieder. Auf nicht kontaminiertem Boden (Cadmiumgehalt: 1.4 ppm i.d.TS) bleiben die Cadmiumkonzentrationen der Mehrzahl der Pflanzen unter 1 ppm d.TS, lediglich in den vegetativen Sproßteilen der Tomaten und in den ältesten Maisblättern wird dieser Wert überschritten. Bereits bei einem Cadmiumgehalt des Bodens von 4 ppm, der noch unter dem zur Zeit als gerade tolerierbar diskutierten Wert von 5 ppm liegt (KLOKE 1977), steigen in sämtlichen Pflanzen mit Ausnahme der Buschbohne die Cadmiumkonzentrationen sowohl in den Wurzeln als auch in den oberirdischen Pflanzenteilen beträchtlich an.

Tab. 3: Cadmiumverteilung in Kulturpflanzen ($\mu\text{g/g TS}$) in Abhängigkeit vom Cadmiumgehalt des Bodens ($\mu\text{g/g TS}$).

Pflanze	Pflanzenteil	Cadmium im Boden			
		1.4 (K)	4	10	30
Kopfsalat	Äußere Blätter	0.9	9.6	26	44
	Innere Blätter	0.8	3.9	8.0	18
	Wurzel	0.9	4.1	11	21
Lauch	Blätter	0.6	3.1	18	32
	Stange	0.5	2.2	6.0	14
	Wurzel	0.8	4.0	8.1	18
Tomate	Ältere Blätter (1-7)	3.3	20	32	36
	Junge Blätter	2.8	12	27	33
	Frucht	0.4	1.2	1.5	2.5
	Sproßachse	2.1	6.1	14	25
	Wurzel	1.3	5.1	9.0	18
Buschbohne	Blätter	0.3	0.4	0.5	0.9
	Hülse	0.3	0.2	0.3	0.6
	Samen	0.2	0.2	0.2	0.2
	Achse	0.2	0.3	0.3	0.8
	Wurzel	0.8	2.5	8.9	15
Mais	Ältere Blätter (1-5)	1.2	8.1	18	20
	Junge Blätter	0.7	1.1	9.1	13
	Sproßachse	0.9	1.2	1.9	3.1
	Korn	0.5	0.7	0.6	0.8
	Wurzel	0.9	2.1	4.2	9.3

Nach der Art der Verteilung in den Pflanzen ergibt sich folgendes Bild: Die Buschbohne schließt den Transport nennenswerter Mengen des Schwermetalls in den Sproß aus und läßt damit eine Wurzel-Sproß-Barriere erkennen. Die übrigen Pflanzen weisen gegenüber den Kontrollen erheblich erhöhte Cadmiumkonzentrationen im Sproß auf, wobei stets die älteren Blätter die größte Schwermetallanreicherung zeigen. Bei den Pflanzen mit eßbaren Früchten (Tomate, Mais) ist eine deutliche Barriere für den Cadmiumtransport zwischen Sproßachse und Frucht erkennbar. In Abhängigkeit von der Art der als Nahrungsmittel dienenden Pflanzenteile folgt aus diesen Befunden (Tab. 3), daß Pflanzen mit eßbaren vegetativen Sproßteilen, wie Blattgemüse und Pflanzen mit Speichergeweben der Achse schon bei niedrigen Cadmiumkonzentrationen im Boden (2-4 ppm) Cadmiumgehalte erreichen, die weit über dem zur Zeit als Richtwert für den Menschen geltenden Wert von 1 ppm d. TS liegen und daher als giftig einzustufen sind (KLOKE 1974), während in der Regel Früchte und Samen unter den gleichen Kontaminationsbedingungen noch keine bedenklichen Cadmiumgehalte erreichen. Auch bei höheren Cadmiumgehalten des Bodens (10-30 ppm) bleiben die erwähnten Barrieren für die Cadmiumverteilung in den Pflanzen weitgehend wirksam, während die Cadmiumgehalte der vegetativen verwertbaren Pflanzenteile weiter stark ansteigen. Als Fazit aus diesen unter freilandrelevanten Anzucht- und Kontaminationsbedingungen durchgeführten Versuchen bleibt festzuhalten, daß der zur Zeit als tolerierbar geltende Gehalt von 5 ppm Cadmium im Boden zu hoch angesetzt ist, als daß er eine Anreicherung des Cadmiums in Pflanzen und damit den Eintritt in die Nahrungskette wirksam begrenzen könnte.

3.2 Stoffwechselfysiologische Untersuchungen zur Wirkung von Cadmium auf Pflanzen

Makroskopisch erfaßbare Schädigungen phytotoxischer Stoffe, wie Ertragsdepressionen und symptomatologische Veränderungen, setzen Stoffwechseländerungen der Pflanzen voraus, die vor dem Auftreten sichtbarer Schäden einsetzen und daher als unsichtbare, physiologische oder latente Schädigungen bezeichnet werden (KELLER 1977). Um Informationen darüber zu erlangen, an welchen Stellen Cadmium in den pflanzlichen Stoffwechsel eingreift, wurden der Stickstoff-, Protein- und Aminosäuregehalt, die Proteinsynthese sowie die Enzyme Glutamatdehydrogenase (GDH), Malatdehydrogenase (MDH), Peroxidase und saure Phosphatase von cadmiumkontaminier-

Tab. 4: Ertrag (g Frischgew./Sproß), Cadmiumgehalt (μg Cadmium/g TS), Gesamtstickstoff und Protein (% d.TS) von Maissprossen in Abhängigkeit vom Cadmiumgehalt der Nährlösung (mg Cadmium/l).

Cd i.d.NL.	Cadmium	Ertrag	Gesamt-N	Protein
0.0 (K)	1	23	3.1	13.1
0.01	6	23	3.2	13.4
0.05	18	21	2.9	12.7
0.10	24	20	3.2	12.9
0.50	58	18	3.2	13.7
1.00	105	16	3.2	13.7
2.00	172	13	3.0	12.7
4.00	312	9	2.7	10.6
8.00	560	4	2.5	10.8

Tab. 5: Cadmiumgehalt (μg Cadmium/g TS), Gesamtstickstoff und Protein (% d.TS) von Maiswurzeln in Abhängigkeit vom Cadmiumgehalt der Nährlösung (mg Cadmium/l).

Cd i.d.NL.	Cadmium	Gesamt-N	Protein
0.0 (K)	1	2.4	9.3
0.01	11	2.0	10.0
0.05	38	2.7	13.1
0.10	45	3.1	10.3
0.50	213	3.0	13.1
1.00	320	2.6	10.1
2.00	650	2.6	10.1
4.00	1190	2.0	7.6
8.00	1880	2.1	8.5

ten Pflanzen untersucht. Tab. 4 gibt den Ertrag, den Cadmium-, Gesamt-N- und Proteingehalt von Maissprossen wieder, die steigenden Cadmiumkonzentrationen in der Nährlösung ausgesetzt waren.

Aus den Werten geht klar hervor, daß weder nicht ertragsmindernd wirkende noch toxische Cadmiumkonzentrationen den Gesamt-N- und Proteingehalt der Pflanzen signifikant reduzieren. Auch in den Wurzeln (Tab. 5), die noch höhere Cadmiumkonzentrationen (bis zu 1880 ppm i.d.TS) enthalten, nimmt weder der Gesamt-N noch der Proteingehalt gegenüber der Kontrolle signifikant ab. Nach diesen Ergebnissen werden die Prozesse der Stickstoffaufnahme und des Proteinstoffwechsels offenbar auch durch stark schädigende Cadmiumkonzentrationen in der Pflanze nicht nennenswert beeinträchtigt. Diese Annahme wird durch Messungen der Proteinsyntheserate untermauert, die an Sproß und Wurzeln junger Buschbohnenpflanzen durchgeführt wurden (Abb. 1). Die Proteinsyntheserate wurde als Zählrate der ¹⁴C-Aktivität in Protein inkorporierter markierter Aminosäuren pro g Frischgewicht und Stunde gemessen. Obwohl die Pflanzen zum Zeitpunkt der Messung bereits 30 ppm Cadmium im Sproß und 170 ppm Cadmium in der Wurzel angereichert hatten, ist die Proteinsynthese im Vergleich zu nichtkontaminierten Pflanzen nicht reduziert. Für den Sproß deutet sich vielmehr eine Stimulation an, die jedoch im vorliegenden Fall statistisch nicht gesichert ist.

Empfindlicher als der Stickstoff- und Proteingehalt sprechen die Gehalte freier Aminosäuren von Pflanzen auf Änderungen ökologischer Faktoren an (SCHWERDTFEGER 1969). Während der Einfluß gasförmiger Luftverunreinigungen auf freie Aminosäuren gut untersucht ist, existieren zur Zeit in der Literatur noch keine Angaben über Aminosäuregehalte cadmiumkontaminierter Pflanzen. Daher wurden im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen Erbsenpflanzen unter freiländnahen Bedingungen auf

Tab. 6: Konzentrationsänderungen freier Aminosäuren in Blättern CdO-kontaminierter Erbsenpflanzen in Abhängigkeit vom Cadmiumgehalt der Blätter (μg Cadmium/g TS) relativ zur Kontrolle. (+ = Zunahme, - = Abnahme).

Amino säure	Cadmiumkonzentration im Blatt								
	4.1	5.8	7.3	8.6	10.1	11.1	15.2	17.6	22.8
Glu				-					
Gln									
Pro									
Orn									
Arg	+		+						
Citr	-	-	-	-					
γ -ABS								-	-
Asp	-			-					
Asn									+
Thr	+	+							
Ile		-							
Met			-		-	-			
Lys	+	+	-			-		-	
Hser									
Ala				-	-		-	-	-
Val			-						
Leu	+	+				-		-	
Ser									
Gly					-		-		
Cys									
Tyr									-
Phe									
His	+					-			
GSH							-		
NH ₄	-		-						

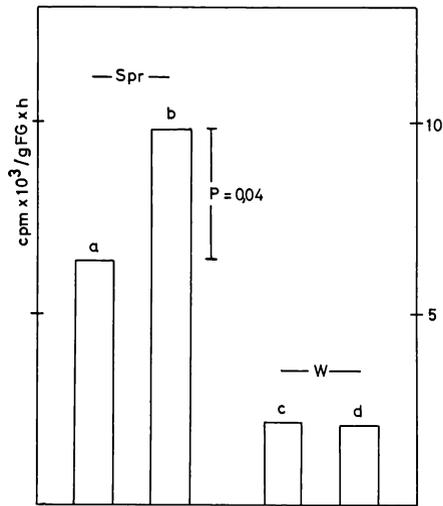


Abb. 1: Der Einfluß von Cadmium in vivo (0.45 mg Cd/l Nährlösung) auf die Proteinsyntheserate (cpm ¹⁴C-Aminosäuren eingebaut in Protein/g Fg x h) in Sproß (Spr) und Wurzel (W) von *Phaseolus vulgaris*.

(a, c = Kontrolle; b = 30 µg Cd/g TS, d = 170 µg Cd/g TS).

cadmiumkontaminiertem Boden bis zur Erntereife kultiviert und Cadmiumgehalte und freie Aminosäuren der ältesten, mittleren und jüngsten Blattfraktion ermittelt. In Tab. 6 sind die Konzentrationsänderungen der freien Aminosäuren in Abhängigkeit von der jeweils in den Blättern erreichten Cadmiumkonzentration relativ zur Kontrolle aufgeführt. Dabei sind die bei 5, 10 und 15 ppm Cadmium im Boden in den 3 Blattfraktionen gemessenen Cadmiumgehalte in steigender Reihenfolge angeordnet. Diese Art der Darstellung zeigt, daß sich mit steigendem Cadmiumgehalt der Blätter ein sich änderndes Muster an Zu- und Abnahmen freier Aminosäuren ergibt, wobei die Zunahmen eindeutig auf den Bereich niedriger Cadmiumgehalte beschränkt bleiben, während ab 8 ppm Cadmium i.d.TS fast ausnahmslos nur noch Abnahmen festzustellen sind. Möglicherweise stehen die Zunahmen der freien Aminosäuren bei niedrigen Schwermetallgehalten im Blatt mit der in der Literatur wiederholt beschriebenen Stimulation des Wachstums bei geringer Cadmiumkontamination des Substrates in Beziehung (JOHN 1973, BINGHAM et al. 1975, MILLER et al. 1976). Änderungen von Metabolitenkonzentrationen sind oft die Folge von Störungen enzymatischer Synthese- bzw. Abbauprozesse. Um festzustellen, ob Cadmium Alterationen von Enzymaktivitäten bewirkt, wurden in vivo-Untersuchungen zur Wirkung niedriger und schädigend wirkender Cadmiumkonzentrationen auf einige Enzyme durchgeführt, die wichtigen Teilbereichen des pflanzlichen Stoffwechsels zugehören. Die Glutamatdehydrogenase (GDH) als Schlüsselenzym des Aminosäurestoffwechsels wird in vivo sowohl im Sproß als auch in der Wurzel cadmiumkontaminierter Buschbohnenpflanzen im Vergleich zur Kontrolle stimuliert (Abb. 2) Während die Stimulation der GDH bei 4 ppm Cadmium im Sproß nicht überrascht, insbesondere, wenn man die erhöhten Gehalte mancher Aminosäuren und die Wachstumsförderung durch niedrigere Cadmiumkonzentrationen im Substrat bedenkt, ist die Aktivierung des Enzyms in stark geschädigten Sprossen und Wurzeln (20 bzw. 400 ppm Cadmium i.d.TS) auffallend. Darüber hinaus ist die GDH-Stimulation als spezifisch anzusehen, wie die Ergebnisse für die Malatdehydrogenase (MDH), einem Enzym des Citratzyklus, zeigen (Abb. 3). Dieses Enzym wird unter den gleichen Bedingungen durch Cadmium in keinem Fall stimuliert. Es wird im Gegenteil von einem bestimmten Cadmiumgehalt im Gewebe, der für Wurzel und Sproß unterschiedlich ist, inhibiert.

Als Enzym, das relativ unspezifisch auf physiologische Stresssituationen, darunter auch Immissionseinwirkung (KELLER 1974) anspricht, wurde die Peroxidase untersucht. Tab. 7 gibt die Cadmiumgehalte und die Peroxidaseaktivität verschieden alter Blattstadien von Erbsenpflanzen wieder, die bis zur Erntereife auf cadmiumkontaminiertem (15 ppm Cadmium im Boden) und nichtkontaminiertem Boden kultiviert wurden. In beiden Fällen ist die Peroxidaseaktivität in den älteren Blättern am größten, ein Befund, der für alternde Gewebe Allgemeingültigkeit zu besitzen scheint (KELLER 1974). Der Befund, daß die Aktivität des Enzyms nur in der mittleren Blattfraktion durch Cadmium gesteigert wird, unterstreicht die Notwendigkeit,

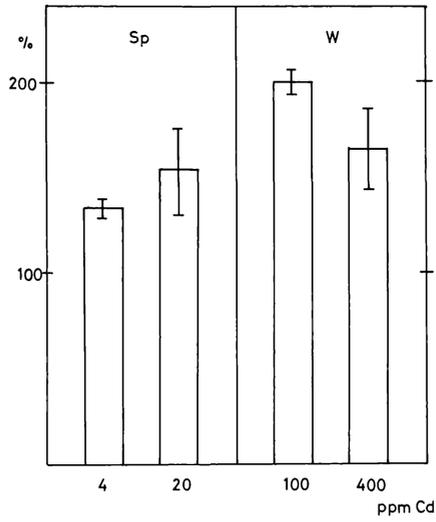


Abb. 2: Der Einfluß von Cadmium in vivo ($\mu\text{g Cd/g TS}$) auf die Aktivität der Glutamatdehydrogenase (in % der Kontrolle) aus Sproß (Sp) und Wurzel (W) von *Phaseolus vulgaris*.

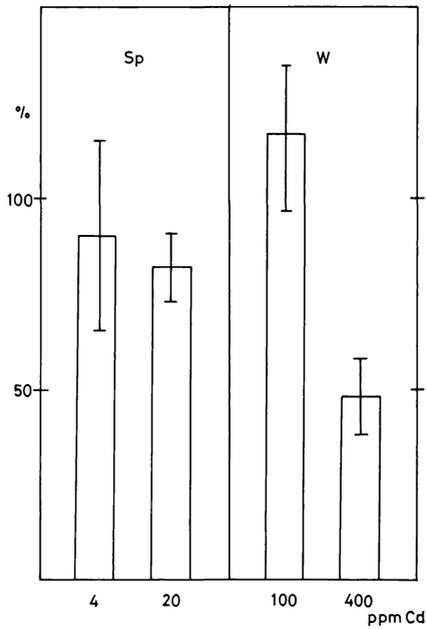


Abb. 3: Der Einfluß von Cadmium in vivo ($\mu\text{g Cd/g TS}$) auf die Aktivität der Malatdehydrogenase (in % der Kontrolle) aus Sproß (Sp) und Wurzel (W) von *Phaseolus vulgaris*.

für solche Untersuchungen unterschiedlich physiologisch aktive Pflanzenteile heranzuziehen. Während im Falle der älteren Blätter der Alterungsprozeß, wie die gleich hohen Werte für Kontrolle und cadmiumbehandelte Pflanzen zeigen, abgeschlossen ist, spricht die durch Cadmium erhöhte Aktivität der Blätter mittleren Alters für einen durch 15 ppm Cadmium i.d.TS ausgelösten vorzeitigen Alterungsprozeß, wohingegen der Cadmiumgehalt der jüngeren Blätter (8 ppm) hierfür offenbar noch nicht ausreicht. Dieser Befund steht in Einklang mit den Konzentrationsänderungen der freien Aminosäuren (Tab. 6), die ab 8 ppm Cadmium in den Blättern fast ausschließlich in Abnahmen bestehen. Damit kristallisiert sich dieser Cadmiumgehalt als eine Art stoffwechselphysiologischer Toxizitätsgrenzwert für die Versuchspflanzen heraus, bei dessen Überschreitung die toxischen Cadmiumwirkungen auf Stoffwechselebene manifest werden. Im Gegensatz zur Peroxidase wird die saure Phosphatase, die unter identischen Bedingungen untersucht wurde, in keinem der Blattstadien durch Cadmium beeinflusst (Tab. 7).

Tab. 7: Aktivität der Peroxidase und der sauren Phosphatase (Units/g TS) in unterschiedlichen Blattstadien cadmiumkontaminierter (Cd) und nichtkontaminierter (K) Erbsenpflanzen und Cadmiumgehalte der Blätter (μg Cadmium/g TS).

		Cadmium	Peroxidase	saure Phosphatase
Blatt 1 - 4	K	0.6	822	23
	Cd	23	806	21
Blatt 5 - 7	K	0.5	417	25
	Cd	15	561	26
Blatt 8 - 11	K	0.3	425	27
	Cd	9	465	26

3.3 Die subzelluläre Verteilung und Bindungsform des Cadmiums in Pflanzen

Die unter Cadmiumeinfluß auftretenden Änderungen von Metabolitenkonzentrationen und Enzymaktivitäten stellen bereits indirekte Beweise für ein Eingreifen des Cadmiums in den pflanzlichen Stoffwechsel dar. Um weitere, direkte Informationen über die Verteilung des Schwermetalls in den Pflanzengeweben zu erlangen, wurden wäßrige Homogenate cadmiumkontaminierter Buschbohnenpflanzen einer Differentialzentrifugation unterworfen, durch welche eine Fraktionierung des Homogenates in eine Cytosol-, eine Organellen- und eine Zellwandfraktion erreicht wurde. Wie Tab. 8 zeigt, sind von der insgesamt akkumulierten Cadmiummenge, die für die Wurzel 990 und den Sproß 80 μg Cd/g TS beträgt, in beiden Pflanzenteilen übereinstimmend etwa 2/3 des Schwermetalls im löslichen Überstand nachweisbar, der das Cytosol und die Mikrosomen enthält, während sich der restliche Cadmiumanteil relativ gleichmäßig auf die Organellen- und Zellwandfraktion verteilt.

Um festzustellen, ob das im löslichen Überstand nachweisbare Cadmium überwiegend als Ion oder an Bindungspartner gebunden vorliegt, wurde die bei der Zellfraktionierung erhaltene cadmiumhaltige Cytosolfraction mit Sephadex-Gelen, die Substanzgemische nach Molekülgröße trennen, aufgetrennt. Die in den Abbildungen 4

Tab. 8: Subzelluläre Verteilung von Cd in Sproß und Wurzel von *Phaseolus vulgaris*. Cadmiumanteil der einzelnen Zellfraktionen in μg Cd/g TS sowie in % des Gesamtcadmiumgehaltes (0.6 ppm Cd in der Nährlösung).

	Sproß		Wurzel	
	μg	%	μg	%
Zellwandfraktion	16	20	98	10
Organellenfraktion	8	10	112	11
Zytosolfraction	50	63	720	73
Gesamt	80	100	990	100
Wiederfindung %		93		94

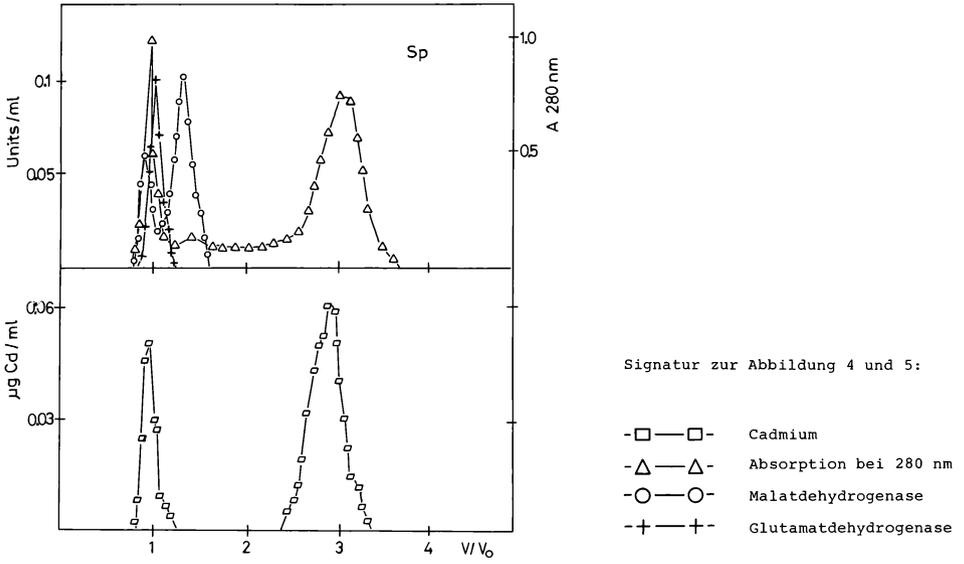


Abb. 4: Gelchromatographische Auftrennung der löslichen Cadmiumfraktion aus *Phaseolus vulgaris*-Sprossen über Sephadex G-100 nach Applikation des Cadmiums in vivo (0.5 mg Cd/l Nährlösung).

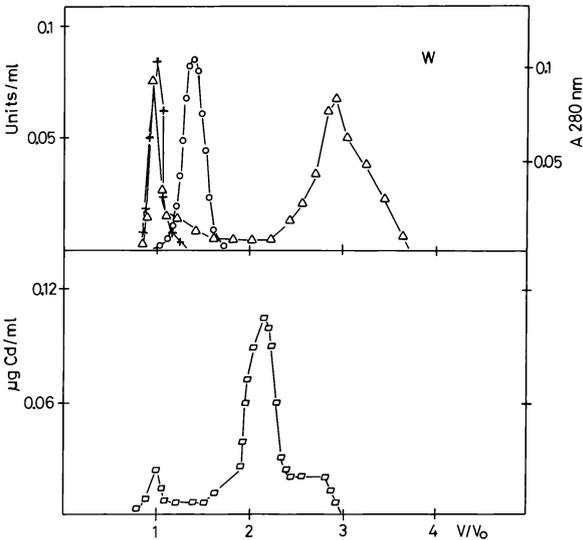


Abb. 5: Gelchromatographische Auftrennung der löslichen Cadmiumfraktion aus *Phaseolus vulgaris*-Wurzeln über Sephadex G-100 nach Applikation des Cadmiums in vivo (0.56 mg Cd/l Nährlösung).

und 5 für Sephadex G-100 dargestellten Elutionsdiagramme beinhalten neben dem Cadmiumgehalt die Absorption bei 280 nm sowie die Elutionsprofile der GDH und MDH als Leitenzyme der Proteinfraktion. Abb. 4 zeigt, daß von der löslichen Cadmiumfraktion des Sprosses ein Teil zusammen mit der Hauptmenge des löslichen Proteins eluiert. Dieser Teil korreliert mit der Aktivität der GDH, nicht jedoch mit der maximalen Aktivität der MDH. Das Molekulargewicht der ersten cadmiumhaltigen Fraktion läßt sich nach dem Elutionsverhalten auf > 150 000 veranschlagen. Das Molekulargewicht der zweiten cadmiumhaltigen Fraktion liegt zwischen 4000 und, wie eine erneute Auftrennung mit Sephadex G-10 zeigte, 700. In der Wurzel (Abb. 5) ist das Molekulargewicht der ersten cadmiumhaltigen Fraktion ebenfalls > 150 000. Der Cadmiumanteil ist hier, vermutlich wegen des geringeren Proteingehaltes, erheblich geringer als im Sproß. Die zweite cadmiumhaltige Fraktion eluiert in der Wurzel früher als im Sproß. Dieses Elutionsverhalten ergab in Zusammenhang mit einer zusätzlichen Auftrennung mit Sephadex G-25 ein Molekulargewicht zwischen 5000 und 10 000.

Um Kenntnisse über die Zuordnung der nach dem Molekulargewicht charakterisierten cadmiumhaltigen Fraktionen zu chemischen Stoffklassen zu gewinnen, wurden diese einer Reihe von Nachweisverfahren unterzogen. Ergebnis dieser Untersuchungen war der Nachweis einer Anzahl von Aminosäuren nach 20stündiger Hydrolyse mit 6 N HCl. Dies spricht dafür, daß es sich bei den Bindungspartnern des Cadmiums um Polypeptide bzw. deren Bruchstücke oder um Teile hochmolekularer Proteine handelt, deren Molekulargewicht in der gleichen Größenordnung liegt wie das des im tierischen und menschlichen Organismus nachgewiesenen induzierbaren Metallothioneins. Ionogenes Cadmium ist nicht in nachweisbaren Mengen vorhanden.

Obwohl bei der Fraktionierung von Homogenaten das Zustandekommen sekundärer, präparationsbedingter Verteilungsmuster nicht ausgeschlossen werden kann, sprechen die erzielten Ergebnisse, besonders, wenn man sie im Zusammenhang mit den stoffwechselphysiologischen Reaktionen auf die Cadmiumeinwirkung sieht, dafür, daß Cadmium auch bei geringer Kontamination der Pflanzen nach Aufnahme über die Wurzel nicht durch Festlegung (Bindung an Zellwand, Ausfällung etc.) inaktiviert wird, sondern schon früh in den Stoffwechsel eingreift, indem es in Interaktion mit physiologischen und regulatorischen Systemen eintritt.

Literatur

- BINGHAM F.T., PAGE A.L., MAHLER R.J., GANJE T.J., 1975: Growth and cadmium accumulation of plants grown on a soil treated with a cadmium-enriched sewage sludge. *J. Environm. Qual.* 4: 207-211.
- BLACKWOOD G.C., MIFLIN B.J., 1976: The effects of salts on NADH malate dehydrogenase activity in maize and barley. *Plant Science Letters* 7: 435-446.
- BOEHRINGER 1977: Test-Combination Saure Phosphatase. Mannheim (Boehringer GmbH Diagnostica).
- BONNER J., VARNER J.E., 1965: *Plant Biochemistry*. New York/London (Academic Press).
- BUCHAUER M.J., 1973: Contamination of soil and vegetation near a zinc smelter by zinc, cadmium, copper and lead. *Environm. Sci. Technol.* 7: 131-135.
- ERNST W., 1974: *Schwermetallvegetation der Erde*. Stuttgart (G. Fischer).
- HABIG W., RACUSEN D., 1974: An apparent oligomer of malate dehydrogenase from bean leaves. *Plant. Physiol.* 53: 402-410.
- HUBER W., 1974: Über den Einfluß von NaCl- oder Abscisinsäurebehandlung auf den Proteinmetabolismus und einige weitere Enzyme des Aminosäurestoffwechsels in Keimlingen von *Pennisetum typhoides*. *Planta* 121: 225-235.
- JÄGER H.-J., STEUBING L., 1970: Fraktionierte Schwefelbestimmung in Pflanzenmaterial zur Beurteilung einer SO₂-Einwirkung. *Angew. Bot.* 44: 209-221.
- JÄGER H.-J., PAHLICH E., STEUBING L., 1972: Die Wirkung von Schwefeldioxid auf den Aminosäure- und Proteingehalt von Erbsenkeimlingen. *Angew. Bot.* 46: 199-211.
- JÄGER H.-J., 1975: Zur säulenchromatographischen Bestimmung freier Aminosäuren und Diamine in Pflanzenmaterial. *Angew. Bot.* 49: 25-30.
- JOHN M.K., LAERHOVEN C.J. Van, CHUAH H.H., 1972: Factors affecting plant uptake and phytotoxicity of cadmium added to soils. *Environm. Sci. Technol.* 6: 1005-1009.
- JOHN M.K., 1973: Cadmium uptake by eight food crops as influenced by various soil levels of cadmium. *Environm. Poll.* 4: 7-15.
- JOHNES T.W.A., STODDART J.L., 1970: Gibberellin induced changes in protein synthesis and enzyme activity in shoot apices of *Trifolium pratense*. *J. Exp. Bot.* 67: 452-461.
- KELLER T., SCHWAGER H., 1971: Der Nachweis unsichtbarer ("physiologischer") Fluor-Immissions-schädigungen an Waldbäumen durch eine einfache kolorimetrische Bestimmung der Peroxidase-Aktivität. *Eur. J. For. Pathol.* 1: 6-18.

- KELLER T., 1974: Die Peroxidase-Aktivität als Indikator unsichtbarer Immissionsschädigungen. Anz. Schädlingskde. Pflanzen-Umweltschutz 47: 86-89.
- KELLER T., 1977: Begriff und Bedeutung der latenten Immissionsschädigung. Allg. Forst- u. J. Ztg. 148: 115-120.
- KLEIN H., JÄGER H.-J., STEUBING L., 1974: Der Einfluß der Schwefel- und Stickstoffversorgung auf die SO₂-Empfindlichkeit von Pisum sativum. Angew. Bot. 48: 1-8.
- KLEIN H., JÄGER H.-J., 1976: Einfluß der Nährstoffversorgung auf die SO₂-Empfindlichkeit von Erbsenpflanzen. Z. Pflanzenkrankh., Pflanzenschutz 83: 555-568.
- KLEIN H., JENSCH U.-E., JÄGER H.-J., 1979: Die Schwermetallaufnahme von Maispflanzen aus Zink-, Cadmium- und Kupferoxid-kontaminiertem Boden. Angew. Bot. 53: 19-30.
- KLOKE A., 1974: Beeinträchtigung der Qualität von Nahrungs- und Futterpflanzen durch Umweltchemikalien, insbesondere durch Schwermetalle. Qual. Plant.-Pl. Fds. hum. Nutr. 24: 137-157.
- KLOKE A., 1977: Orientierungsdaten für tolerierbare Gesamtgehalte einiger Elemente in Kulturböden. Mitt. des VDLUFA 2: 32-37.
- KRAUSE G.H.M., 1974: Zur Aufnahme von Zink und Cadmium durch oberirdische Pflanzenorgane. Diss. Bonn.
- MILLER J.E., HASSETT J.J., KOEPPE D.E., 1976: Uptake of cadmium by soybeans as influenced by soil cation exchange capacity, pH, and available phosphorus. J. Environm. Qual. 5: 157-160.
- PAHLICH E., JOY K.W., 1971: Glutamate dehydrogenase from pea roots: purification and properties of the enzyme. Canad. J. Biochem. 49: 127-138.
- SCHWERDTFEGER E., 1969: Die freien Aminosäuren einiger Nahrungspflanzen in Abhängigkeit von ökologischen Faktoren. Qual. Plant. Mat. Veg. 18: 152-169.
- VETTER H., MÄHLHOP R., FÜRCHTENICHT K., 1974: Immissionsstoffbelastung in der Nachbarschaft einer Blei- und Zinkhütte. Ber. Landw. 52: 327-350.

Adressen:

Dr. Hartmut Klein
 Dr. Albrecht Priebe
 Dr. Hans-Jochen Weigel
 Doz. Dr. Hans-Jürgen Jäger
 Institut für Pflanzenökologie
 Justus Liebig-Universität
 Heinrich-Buff-Ring 38
 D-6300 Gießen

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1980

Band/Volume: [8_1980](#)

Autor(en)/Author(s): Klein Hartmut, Priebe Albrecht, Weigel Hans-Jochen,
Jäger Hans-Jürgen

Artikel/Article: [Ökophysiologische Aspekte der Kontamination von Kulturpflanzen mit dem Schwermetall Cadmium 481-491](#)