

©Bundesforschungszentrum für Wald, Wien, download unter www.zobodat.at
CHEMISCHE UND PHYSIKALISCHE REAKTIONEN
SO₂-BEGASTER PFLANZEN UND BLÄTTER

von

Karl F i s c h e r

Botanisches Institut der Technischen Hochschule Darmstadt

ABSTRACT

Intact plants of *Brassica napus*, *Nicotiana tabacum*, *Vicia faba* and *Borago officinalis* were subjected to continuous exposure to SO₂ and their leaves examined at different stages of damage for changes in certain vital substances.

Even before there were any visible signs of damage to the leaves of *Brassica napus* the concentrations of thiamin, pantothenic acid and folic acid were found to be lower. In necrotic areas the amounts of niacin und biotin were also found to be reduced.

The influence of SO₂ on the energy level of the leaves was confirmed by measurement of the ATP concentrations. After exposure to 4,2 mg SO₂/m³ the leaves of *Vicia faba* partly showed a sizeable increase in the ATP level. A slight increase was also found in *Nicotiana tabacum* after exposure to 0,8 mg SO₂/m³. When more concentrated SO₂ (4,8 mg/m³) was used, a reduction in the ATP concentrations was observed in *Nicotiana tab.* and *Borago officinalis*. Exposition to 0,8 mg SO₂/m³ caused a slight increase in the activity of the NADP⁺-dependent GPD both in *Vicia f.* and in *Nicotiana tab.* The activity of this enzyme decreased considerably in concentrations of approx. 4,5 mg SO₂/m³. The lowest values were obtained both in the acute necrotic and chlorotic areas.

The sensitivity of *Vicia f.* to SO₂ could be increased by prior treatment of the plants with kinetin.

Measurement of the gas exchange in certain leaves, before, during and after exposition to SO₂ showed a strong dependence of the assimilation of CO₂ on the absorption of SO₂ and a correlation to transpiration. There would appear to be a certain feed-back between photosynthesis and absorption of SO₂ through the stomata which seems partly to express itself in a well-defined oscillation between photosynthesis, transpiration and absorption of SO₂.

EINFÜHRUNG

Die nachfolgend geschilderten Experimente dienten der Absicht, einige Aussagen zu erhalten über das Verhalten der Pflanzen während und nach einer SO_2 -Exposition. Die SO_2 -Begasung der Pflanzen erfolgte in einer aus vier Expositionskammern bestehenden Begasungsanlage. In drei Kammern konnten die Versuchspflanzen SO_2 in verschiedenen hohen Konzentrationen ausgesetzt werden, die vierte diente zur Aufnahme der Kontrollpflanzen. Folgende Fragen sollten geklärt oder einer Klärung nähergebracht werden:

1. Bewirkt die Begasung von Pflanzen mit Schwefeldioxid in den Blättern eine Veränderung von Stoffen, die für die Pflanzen lebensnotwendig sind?
Getestet wurden:
 - 1.1 Vitamine, die katalytisch wirksam sind und Coenzymen angehören,
 - 1.2 eine energiespeichernde Verbindung aus dem Adenylsäuresystem,
 - 1.3 die Aktivität eines wasserstoffübertragenden Enzyms,
 - 1.4 der Gehalt an Strukturprotein.
2. Läßt sich die Empfindlichkeit von Pflanzen gegen das Schwefeldioxid mit chemischen Maßnahmen beeinflussen?
3. Besteht eine Relation zwischen CO_2 -Assimilation, Transpiration, SO_2 -Aufnahme und SO_2 -Empfindlichkeit?

EXPERIMENTELLE BEHANDLUNG DER EINZELNEN FRAGEN UND DEREN MESSERGEBNISSE

Zu 1.1: Die Wirkung von SO_2 auf verschiedene Vitamine in vivo

Testpflanze

Brassica napus ssp. oleifera (Lihoraps)

SO_2 -Konzentration $9,7 \text{ mg/m}^3$ (ca. $3,7 \text{ ppm}$ bei 760 mmHg , $+25^\circ \text{ C}$)

Dauer der SO_2 -Exposition 3 1/2 h

Methode

Die Homogenate von Test- und Kontrollblättern wurden mit Hilfe mikrobiologischer Methoden auf ihren Vitamingehalt geprüft. Die Messung erfolgte turbidimetrisch oder acidimetrisch.

Meßergebnisse

Es zeigte sich, daß schon bei Blättern, die noch keine äußerlich sichtbaren Schäden besaßen, die Konzentrationen von Thiamin, Pantothensäure und Folsäure gegenüber den Kontrollen vermindert waren. In frischen Blattnekrosen lagen auch die Werte für Nicotinsäure und Biotin unter den Kontrollwerten. In beiden Fällen zeigte Thiamin den stärksten Abfall. In der nachfolgenden Tabelle sind die Meßergebnisse aufgeführt. Für die statistische Behandlung dieser Werte wurde das Verfahren der linearen Regression benutzt.

Tab.1 Vitaminkonzentrationen von SO₂-begastem Blattmaterial in % der Kontrollen

| Vitamin | Vitaminkonz. von Blättern ohne Nekrosen in % | Vitaminkonz. von reinen Blattnekrosen in % |
|----------------|--|--|
| Thiamin | 60,0 xx | 57,2 x |
| Pantothensäure | 72,2 x | 80,1 xx |
| Folsäure | 79,0 xx | 65,8 x |
| Riboflavin | 91,0 | 91,0 |
| Niacin | 100,0 | 86,2 xx |
| Biotin | 125,0 | 64,6 xx |

x statist. Sicherung P < 0,05

xx statist. Sicherung P < 0,01

Zu 1.2: Der Einfluß von SO₂ auf die Konzentration von Adenosin-5'-triphosphat in Blättern

Testpflanzen

Vicia faba (Sorte Wagners Perfekta), *Nicotiana tabacum* (Herkunft Südafrika), *Borago officinalis*

Methode

Die ATP-Messung erfolgte nach dem Verfahren von STREHLER, L. und McELROY, W.D., das leicht abgewandelt wurde durch Verwendung von Phosphatpuffer. Zuvor wurde das Blattmaterial durch Gefriertrocknung von Feuchtigkeit und evtl. freiem oder gelöstem SO₂ befreit. (Zur Messung des Fluoreszenzlichtes wurde das Farrand-Fluorometer Modell A-2 benutzt.)

Meßergebnisse

Bei *Vicia faba* wurden nach SO₂-Begasung mit einer Konzentration von 4,2 mg SO₂/m³ bei einer Dauer von 3,6 h in den Blättern mit und ohne Nekrosen durchweg Steigerungen der ATP-Konzentration bis zu 212 % der Kontrollen gefunden. Eine Zunahme auf 107,5 % wurde auch bei *Nicotiana tabacum* nach einer SO₂ Exposition von 596 h bei 0,8 mg SO₂/m³ ermittelt. Abnahmen der ATP-Konzentration wurden bei Blättern von *Nicotiana tabacum* (SO₂-Exposition: 4,8 mg SO₂/m³, 26 h) und *Borago officinalis* (SO₂-Exposition: 3,8 mg SO₂/m³, 2 h), die frische Nekrosen aufwiesen, mit 76,2 % bzw. 89,5 % der Kontrollen festgestellt.

Zu 1.3: Der Einfluß von SO₂ auf die Aktivität der NADP⁺-abhängigen Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

Testpflanzen

Vicia faba, *Nicotiana tabacum*, *Borago officinalis*

Methode

Die Messung der Aktivität der NADP^+ -abhängigen Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (= NADP^+ -abh.GPD) erfolgte an ganz frischen ausgestanzten Blattstücken nach HEBER, U. und PON, N.G. Gemessen wurde die Extinktionsabnahme bei 340 nm mit dem Zeiß-Spektralphotometer PMQ II, 1 cm-Quarzküvette, Filter 325-380 nm.

Meßergebnisse

Blätter von *Vicia faba* und *Nicotiana tabacum* zeigten nach einer SO_2 -Exposition von 72 h bei $0,8 \text{ mg SO}_2/\text{m}^3$ bzw. 436 h und $0,8 \text{ mg SO}_2/\text{m}^3$ im Durchschnitt eine leichte Erhöhung der Enzymaktivität auf 107,4 % bzw. 105,0 % der Kontrolle. Mit der Zunahme der SO_2 -Konzentration und des zeitlichen Abstandes zwischen Begasungsende und Messung nahmen die inneren und äußeren Schäden zu. Blattareale ohne sichtbare Schäden, aber aus der unmittelbaren Nachbarschaft von Nekrosen, besaßen Aktivitäten der NADP^+ -abh.GPD um 65 % der Kontrolle. In Blättern von *Vicia faba* mit akuten, aber noch sehr frischen Nekrosen (glasig) wurde 20 h nach einer SO_2 -Exposition (Dauer $5 \frac{1}{2}$ h, SO_2 -Konzentration $4,2 \text{ mg SO}_2/\text{m}^3$) ein Minimalwert der Enzymaktivität von 42,3 % der Kontrolle gemessen. Der errechnete Mittelwert lag bei 58,2 %. Bei Blättern von *Nicotiana tabacum*, ebenfalls mit akuten, aber noch frischen Nekrosen, wurde 4 h nach einer SO_2 -Exposition von 36 h im Licht und 63 h im Dunkeln bei $4,7 \text{ mg SO}_2/\text{m}^3$ ein Minimalwert der Aktivität von 35,8 % der Kontrolle gefunden. Der Mittelwert lag bei 70,8 %. Mit der Ausbildung von Chlorosen als Folge einer vorausgegangenen SO_2 -Exposition nahmen die Enzymaktivitäten weiter ab. Sowohl bei *Vicia faba* als auch bei *Nicotiana tabacum* wurden Werte bis 18 % der Kontrolle gemessen. Die angewandte Methode der Aktivitätsbestimmung versagte bei *Borago officinalis* völlig.

Zu 1.4: Der Proteingehalt SO_2 -begaster Blätter

Zur Gewinnung einer Bezugsgröße für die Berechnung der spez. Aktivität der NADP^+ -abh.GPD wurden Proteinbestimmungen durchgeführt, wobei auf Grund der angewandten Methode in der Hauptsache das Strukturprotein erfaßt wurde.

Testpflanzen

Vicia faba, *Nicotiana tabacum*

Methode

Es wurde das Verfahren von LOWRY, O.H. et al. benutzt. Extinktionsmessung mit dem Zeiß-Spektralphotometer PMQ II bei 720 nm, 1 cm-Glasküvette.

Meßergebnisse

Die Proteingehalte der SO_2 -begasten Blätter lagen mit ihren Prozentwerten mit Ausnahme der chlorotischen Blattbezirke im gleichen Bereich wie die Aktivitäten der NADP^+ -abh.GPD. Für die

Blattchlorosen wurden als Minimalwerte bis 41,9 % der Kontrolle bei *Vicia faba* und 30,5 % bei *Nicotiana tabacum* ermittelt.

Zu 2.: Die Beeinflussung der SO₂-Empfindlichkeit von Pflanzen mit einer chemischen Methode

Testpflanze

Vicia faba in Topfkultur

Methode

Es wurden zwei Gruppen von Pflanzen gebildet. Die Versuchspflanzen wurden mit Kinetin = 1,6 N-Furfuryl-amino-purin vorbehandelt, indem die Blätter 7, 6, 2 und 1 Tag vor der SO₂-Exposition mit einer Kinetinlösung (40 mg pro Liter 0,0005 M HCL-Lösung) besprüht wurden. Die Kontrollpflanzen wurden in gleicher Weise, jedoch nur mit einer 0,0005 M HCL-Lösung besprüht.

Beide Gruppen von Pflanzen wurden mit einer SO₂-Konzentration von 4,7 mg SO₂/m³ 4 1/2 h begast.

Meßergebnisse

Die Kinetinvorbehandlung hatte eine Erhöhung der SO₂-Schädigungsquote mit dem Faktor 1,8 zur Folge. Bei den Kontrollpflanzen waren 20,1 % der Blattfläche geschädigt, bei den kinetinbehandelten Pflanzen 36,4 %. Die Kinetinvorbehandlung machte sich vor allem bei der Ausbildung der Chlorosen, d.h. der Spätschäden bemerkbar (s. Abb. 1). Außerdem besteht offenbar eine Beziehung zwischen Kinetinwirksamkeit und Blattalter, denn die jüngeren der zur Zeit der SO₂-Begasung voll entfaltenen Fiederblätter zeigten die höchste Steigerung der SO₂-Empfindlichkeit, allerdings nicht die absolut höchste Schädigungsquote. Der Schädigungsgrad nahm zu den jüngeren Blättern hin ab (s. Abb. 2).

Zu 3.: Relationen zwischen CO₂-Assimilation, Transpiration und SO₂-Aufnahme der Versuchspflanzen

Einführung

Die nachfolgend beschriebenen Versuche wurden durchgeführt auf Grund von Fragestellungen, die zweiseitig formuliert waren in folgender Weise:

Wie wirkt sich die von den Blättern pro Zeit- und Flächeneinheit aufgenommene SO₂-Menge auf die Photosyntheseintensität aus und wie wirkt sich die augenblickliche Photosyntheseintensität auf die Aufnahmerate von SO₂ aus?

In entsprechender Weise wurde auch die Frage nach dem Zusammenhang von SO₂-Aufnahme und Transpiration gestellt, d.h., wie hängt die Transpiration von der SO₂-Aufnahme ab und mit welcher Rückwirkung der Transpiration auf die SO₂-Aufnahmeintensität hat man zu rechnen.

Beide Fragen wurden unter Berücksichtigung der SO₂-Empfindlichkeit der betreffenden Blätter experimentell behandelt.

Beim Vergleich der Meßwerte von CO₂-Assimilation (Nettophoto-

synthese), Transpiration und SO_2 -Aufnahme zeigten sich sehr häufig auffällige Unterschiede im Verhalten der Blätter der beiden benutzten Pflanzenarten.

Für die notwendigen SO_2 -Begasungsversuche wurde eine besondere Begasungsanlage gebaut, die es gestattete, einzelne Blätter, die sich noch an der Pflanze befanden, unter definierten Bedingungen bei künstlicher Beleuchtung und im Dunkeln zu begasen.

Testobjekte

Blätter von *Vicia faba* (Sorte Dreifach weiße) aus dem 5. bis 7. Nodium. Anzucht im Freiland, im Gewächshaus und in der Klimakammer.

Blätter von *Nicotiana tabacum* (Herkunft Südafrika) aus dem 15. bis 20. Nodium. Anzucht im Gewächshaus.

Alle Blätter waren voll entwickelt.

Methode

Registriert wurden die Konzentrationen von CO_2 , Wasserdampf und SO_2 des Luftstromes vor Eintritt in die Blattkuvette und nach deren Verlassen. Die Temperatur dieses Luftstromes unterhalb des exponierten Blattes und die Temperatur der Blattunterseite wurden ebenfalls registriert.

Der Volumenstrom v betrug 0,1 oder 0,2 m^3/h , die Bestrahlungsstärke 10 mW/cm^2 und die angewandte SO_2 -Konzentration 4,8 oder 9,6 $\text{mg SO}_2/\text{m}^3$. Die Temperatur der Luft in der Kuvette wurde so eingestellt, daß die Blatteperatur zu Beginn der SO_2 -Exposition $+22^\circ$ bis $+23^\circ$ C betrug. Die Feuchtigkeit der zugeführten Luft wurde auf $+3^\circ$ od. $+5^\circ$ C Taupunkttemperatur eingestellt.

Als Meßgeräte dienten:

Für Kohlendioxid und Wasserdampf das Ultrarotabsorptionsgerät URAS 1 der Fa. Hartmann u. Braun, für SO_2 das Gasspurenmeßgerät "Ultragas 3" der Fa. Wösthoff, für die Temperaturmessungen Thermoelemente aus Kupfer-Konstantan. Die Registrierung aller Meßwerte mit Ausnahme der SO_2 -Konzentrationen erfolgte durch den 12-fach-Punktendrucker Polycomp 2K der Fa. Hartmann u. Braun, der auch die Steuerung der verschiedenen Gasströme übernahm.

Die zur Exposition benötigte Luft wurde aus der freien Atmosphäre in 15 m Höhe entnommen. Die Schwankungen der natürlichen CO_2 -Konzentration lagen im allgemeinen unter $\pm 10\%$ des Mittelwertes, der bei 305 ppm lag.

Die SO_2 -Dosierung erfolgte mit Hilfe einer elektron. Schlauchpumpe der Fa. Desaga.

Für die Einstellung beliebiger Luftfeuchtwerte wurde ein besonderes Gerät konstruiert, mit dem sich vier parallele Luftströme von je 0,2 m^3/h auf beliebige Feuchtwerte zwischen $+0,5^\circ$ und $+40^\circ$ C Taupunkttemperatur mit einer Toleranz von $\pm 0,1$ g $\text{H}_2\text{O}/\text{m}^3$ einstellen oder mit dem sich 0,65 m^3 Luft pro h von $+66^\circ$ C auf $+0,5^\circ$ C abkühlen bzw. trocknen lassen. Die von den Blättern in einem bestimmten Zeitraum aufgenommenen CO_2 - und SO_2 -Mengen bzw. abgegebenen Wasserdampfmenge wurden

durch Integration der Konzentrations-Zeitkurven, und zwar jeweils von Zu- und Abluft der Blattkuvette, und anschließende Differenzbildung ermittelt.

Meßergebnisse

Die SO_2 -Aufnahmerate der Blätter in der ersten Stunde der SO_2 -Exposition:

Die Blätter von *Nicotiana tabacum* nahmen bei einer SO_2 -Konzentration von $4,8 \text{ mg SO}_2/\text{m}^3$ im Durchschnitt $0,055 \text{ mg SO}_2$ pro dm^2 Blattfläche auf, die Blätter von *Vicia faba* hingegen unter praktisch gleichen Bedingungen $0,194 \text{ mg SO}_2$. D.h., die Blätter von *Nicotiana tabacum* nahmen im gleichen Zeitraum weniger SO_2 auf als die Blätter von *Vicia faba*. Das Verhältnis *Nicotiana tab.* zu *Vicia f.* war $1 : 3,52$. Bei Verdopplung der SO_2 -Konzentration auf $9,6 \text{ mg SO}_2/\text{m}^3$ stiegen die Aufnahmewerte. *Nicotiana tab.* nahm im Durchschnitt $0,080 \text{ mg SO}_2$ und *Vicia f.* $0,225 \text{ mg SO}_2$ auf. Das Verhältnis der beiden Aufnahmewerte wurde allerdings kleiner, es betrug jetzt $1 : 2,81$.

Die CO_2 -Assimilation der SO_2 -begasten Blätter:

Die durch Integration über den Begasungszeitraum der ersten Stunde ermittelten CO_2 -Mengen der Blätter zeigten unter Bezugnahme auf die Blattoberflächeneinheit eine Beziehung zur angewandten SO_2 -Konzentration und der im gleichen Zeitraum aufgenommenen SO_2 -Menge. Die Blätter von *Vicia f.*, die ja mehr SO_2 aufnahmen als die Blätter von *Nicotiana tab.*, wiesen auch eine stärkere Hemmung der Photosynthese auf. Der Zusammenhang ist aus der nachfolgenden Tabelle zu erkennen.

Tab.2 Aufgenommene SO_2 - und CO_2 -Mengen in der ersten Stunde der SO_2 -Exposition

| | <i>Nicotiana tab.</i> | <i>Vicia f.</i> | <i>Nicotiana tab.</i> | <i>Vicia f.</i> |
|---|-----------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|
| SO_2 -Konzentration | 4,8 | 4,8 | 9,6 | 9,6 |
| Aufgenommene SO_2 -Menge mg/dm^3 | 0,055 | 0,194 | 0,080 | 0,225 |
| Aufgenommene CO_2 -Menge in % des Normalwertes | 70,7 | 33,1 | 37,0 | 24,0 |

Ein direkter Einfluß der CO_2 -Assimilation auf die Aufnahmerate von SO_2 konnte nicht festgestellt werden. Es kam vor, daß die SO_2 -Aufnahme nach dem völligen Zusammenbruch der CO_2 -Assimilation in gleicher Höhe weiterlief wie zuvor. Auch SO_2 -Begasungsexperimente im Dunkeln ergaben, daß die Blätter je nach Diffusionswiderstand mehr oder weniger SO_2 pro Zeit- und Flächeneinheit aufnahmen.

Die Diffusionswiderstände der Blätter für Wasserdampf und Schwefeldioxid:

Aus den für die erste Stunde der SO_2 -Exposition ermittelten Werten für die Wasserdampf-Abgabe und die SO_2 -Aufnahme und den wirksamen Konzentrationsdifferenzen wurden die mittleren Diffusionswiderstände der untersuchten Blätter für Wasserdampf und SO_2 ermittelt. Der Diffusionswiderstand R wurde aus dem Quotient von Konzentrationsdifferenz Δc und aufgenommener bzw. abgegebener Gasmenge F berechnet. Die errechneten Werte gelten für die erste Stunde der SO_2 -Exposition. Ebenso wurden die Diffusionswiderstände der Blätter für Wasserdampf für die Zeit vor der SO_2 -Exposition bestimmt.

Die berechneten Werte wurden getrennt für *Vicia faba* und *Nicotiana tabacum* in der Tabelle 3 aufgeführt. Für *Vicia f.* wurden zwei Gruppen gebildet. Es wurde unterschieden in Blätter, die schon vor der SO_2 -Exposition relativ niedrige Diffusionswiderstände für Wasserdampf besaßen und in Blätter, die für diese Zeit hohe Diffusionswiderstände (Bezeichnung $R_{\text{O},\text{H}_2\text{O}}$) hatten.

Erläuterungen zur Tabelle 3 (S.11):

Waagrechte Spalten:

In der Spalte 1 sind alle Werte eingetragen für Blätter von *Vicia faba*, die schon vor der SO_2 -Exposition einen niedrigen Diffusionswiderstand für Wasserdampf besaßen. In Spalte 2 befinden sich die entsprechenden Werte für alle Blätter mit hohem Diffusionswiderstand für Wasserdampf. In Spalte 3 sind alle Werte für die Blätter von *Nicotiana tabacum* aufgeführt. Die Spalten 1, 2 und 3 sind jeweils unterteilt in die Spalten a und b. Alle Werte in den Spalten a stammen von Blättern, die mit $4,8 \text{ mg SO}_2/\text{m}^2$ begast wurden. In die Spalten b wurden alle Werte von den Blättern eingetragen, die mit $9,6 \text{ mg SO}_2/\text{m}^2$ begast wurden.

Senkrechte Spalten:

Spalte I: Hier stehen die Widerstandswerte der Blätter für Wasserdampf für die Zeit vor der SO_2 -Exposition. In Spalte II sind die angewandten SO_2 -Konzentrationen aufgeführt. Spalten III und IV enthalten die Diffusionswiderstände für Wasserdampf und SO_2 für die Zeit der SO_2 -Exposition. In Spalten V bis VIII befinden sich verschiedene Verhältniswerte der Diffusionswiderstände.

Aus den Werten der Tabelle 3 lassen sich verschiedene Aussagen gewinnen:

1. Die Blätter von *Nicotiana tabacum* besaßen schon normalerweise, d.h. vor der SO_2 -Exposition, einen höheren Diffusionswiderstand für Wasserdampf als die Blätter von *Vicia faba*. Mikroskopische Untersuchungen ergaben, daß sich die amphistomatischen Blätter von *Nicotiana tab.* und *Vicia f.* zwar in der Dichte der Stomata von Blattunter- und Blattoberseite unterschieden, doch bei Addition der jeweiligen Dichtezahlen von Blattober- und Blattunterseite waren die Unterschiede, für die gesamte Blattoberfläche betrachtet, kompensiert.
2. Besonders aus den Verhältniswerten der senkrechten Spalte V ergibt sich, daß die Diffusionswiderstände aller Blätter

für Wasserdampf durch die SO_2 -Behandlung erhöht wurden. Außerdem nahmen die Werte mit steigender SO_2 -Konzentration zu. Bei *Nicotiana tab.* lag der Steigerungsfaktor schon bei Blättern mit schwächerer SO_2 -Exposition viel höher als bei *Vicia f.*

3. Die Blätter von *Nicotiana tab.* erreichten durch die SO_2 -Begasung wesentlich höhere Diffusionswiderstände für Wasserdampf, da sie schon vor der SO_2 -Behandlung höhere Diffusionswiderstände besaßen. Ähnlich verhielten sich bei SO_2 -Begasung Blätter von *Vicia f.*, wenn sie ebenfalls von vornherein höhere Diffusionswerte besaßen. Aus Spalten VII und VIII ergibt sich, daß die Diffusionswiderstände der Blätter für SO_2 durch die SO_2 -Exposition (scheinbar ?) etwas stärker erhöht wurden als die Diffusionswiderstände für Wasserdampf.

Der zeitliche Verlauf des Gaswechsels SO_2 -begaster Blätter: Die aus der Tabelle 3 ersichtlichen Veränderungen der Diffusionswerte der Blätter für Wasserdampf und Schwefeldioxid, die durch die SO_2 -Exposition hervorgerufen wurden, müssen sich natürlich im zeitlichen Verlauf der Kurven für die Wasserdampf- und SO_2 -Konzentration der Luft am Küvettenausgang widerspiegeln.

Die Kurven zeigen darüber hinaus einen Effekt, der in der oben genannten Tabelle nicht hervortritt. Besonders bei *Nicotiana tab.* traten unmittelbar nach Einsetzen der SO_2 -Begasung Schwingungen auf im zeitlichen Verlauf aller Konzentrationskurven, die von der Luft des Küvettenausgangs stammten, d.h. mit dem Gaswechsel des betreffenden Blattes in Beziehung standen (s. Abb. 3 u. 4). Die Schwingungen der CO_2 -Konzentration waren denen der SO_2 -Konzentration ähnlich. Beide Konzentrationen verhielten sich in ihren Schwingungen spiegelbildlich zu denen der Wasserdampfkonzentration, da sich ja hier Stoffaufnahme und Stoffabgabe gegenüberstanden. Die Kurve der SO_2 -Konzentration besaß gegenüber der Kurve der Wasserdampf-Konzentration eine Phasenverschiebung von $\pi + x$. Für die Größe x wurden - im Zeitmaßstab ausgedrückt - einige Minuten gefunden. Im vorliegenden Beispiel waren es 2 Minuten.

Für die Länge der ersten Schwingungen wurden bei *Nicotiana tab.* häufig Werte zwischen 25 und 65 Minuten festgestellt. In unserem Beispiel betrug $\lambda_1 = 58$ Min. Die Amplituden der Schwingungen nahmen mit der Höhe der angewandten SO_2 -Konzentration zu (s. Abb. 5 u. 6). Außerdem waren auch Schwingungen zu beobachten bei den Kurven für die Transpiration der Blattunterseite und der Luft unterhalb des Blattes (hierbei allerdings schwach). Nach Beendigung der SO_2 -Exposition folgte, sofern keine Totschädigung des Blattes eingetreten war, eine Regenerationsphase, in deren Verlauf die CO_2 -Assimilations- und Transpirationsintensitäten in Abhängigkeit von der pro Zeit- und Flächeneinheit aufgenommenen SO_2 -Menge wieder anstiegen.

Solche ausgeprägten Schwingungen, wie sie bei *Nicotiana tab.* beobachtet wurden, traten bei *Vicia f.* nicht auf. Verschiedentlich zeigten die genannten Konzentrationskurven der SO_2 begasten Blätter von *Nicotiana tab.* auch einen Verlauf, der dem ähnlich war, der bei *Vicia f.* sehr häufig gefunden wurde

und anhand der Abb. 7 und 8 beschrieben wird:

Nach Einsetzen der SO_2 -Begasung fiel die CO_2 -Konzentration der Luft am Küvettenausgang erst stärker, dann schwächer; währenddessen sank die Konzentration von Wasserdampf zunächst sehr langsam ab und stieg dann ganz langsam wieder an, um nach Beendigung der SO_2 -Behandlung wieder langsam abzufallen. In anderen Fällen nahm die CO_2 -Konzentration, d.h. die CO_2 -Assimilation des betreffenden Blattes, sehr rasch ab, teilweise bis zum Kompensationspunkt oder darunter, ohne daß sich die Transpirations- und SO_2 -Aufnahmeintensitäten wesentlich änderten. Folgte der Begasungsphase, die in jedem Fall mit einer Depression der Photosynthese verbunden war, eine Regenerationsphase, so konnten z.T. oft mehrere Stunden lang ganz flache Schwingungen der Transpiration beobachtet werden.

Tab. 3: Diffusionswiderstände von Blättern für Wasserdampf und Schwefeldioxid

VIII

VII

VI

V

IV

III

II

I

| Pflanzen- art | R_{O, H_2O} sec/cm | SO_2 -Konz. mg/m^3 | R_{H_2O} sec/cm | R_{SO_2} sec/cm | $\frac{R_{O, H_2O}}{R_{H_2O}}$ | $\frac{R_{H_2O}}{R_{SO_2}}$ | $\frac{R_{H_2O} (a)}{R_{H_2O} (b)}$ | $\frac{R_{SO_2} (a)}{R_{SO_2} (b)}$ |
|----------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | | a | | | | | | |
| Vicia faba | 3,6 | 4,8 | 3,9 | 6,9 | 1 1,10 | 1 1,77 | 1 1,26 | 1 1,34 |
| | | b 9,6 | 4,9 | 11,6 | 1 1,36 | 1 2,36 | | |
| Vicia faba | 8,0 | a 4,8 | 8,7 | 13,6 | 1 1,09 | 1 1,56 | 1 1,59 | 1 1,71 |
| | | b 9,6 | 13,8 | 23,2 | 1 1,72 | 1 1,68 | | |
| Nicotiana tabacum | 12,6 | a 4,8 | 16,6 | 30,3 | 1 1,32 | 1 1,83 | 1 1,29 | 1 1,39 |
| | | b 9,6 | 21,4 | 42,2 | 1 1,70 | 1 1,97 | | |

1

2

3

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die bei den Versuchspflanzen beobachtete Beeinflussung verschiedener Vitamine durch das Schwefeldioxid dürfte sich auf den Ablauf der vielen katalysierten Prozesse in den Blättern negativ auswirken. Der Mechanismus des Abbaues der betreffenden Enzyme *in vivo* ist mit Ausnahme des Thiamins noch weitgehend unklar. Für Thiamin wurde schon 1935 von WILLIAMS, R.R. bei *in vitro*-Versuchen die Sulfitspaltung mit den beiden Spaltprodukten 2-Methyl-4-amino-5-Sulfomethyl-Pyrimidin und 4-Methyl-5-hydroxyäthylthiazol entdeckt, die ja zur Strukturklärung dieses Vitamins führte. Es wird vermutet, daß das SO₂ als schweflige Säure *in vivo* ebenso auf das Thiamin wirkt wie das Natriumsulfit bei den damaligen *in vitro*-Versuchen mit Reiskleie.

Die bei Anwendung niedriger SO₂-Konzentrationen beobachtete Erhöhung der ATP-Konzentration in Blättern dürfte auf die bekannte stimulierende Wirkung niedriger SO₂-Konzentrationen zurückzuführen sein.

Das Auftreten sowohl von Zunahmen als auch von Abnahmen der ATP-Konzentration bei Begasung mit höheren SO₂-Konzentrationen scheint zunächst verwirrend; doch kann man für diese divergenten Erscheinungen logische Erklärungen finden, wenn man z.B. die Ergebnisse der Aktivitätsmessungen der NADP⁺-abh.GPD berücksichtigt. Danach könnten sowohl die Zunahmen als auch die Verminderungen der ATP-Konzentration als Schädigungseffekte gedeutet werden: Der Anstieg der ATP-Konzentration könnte durch Hemmung ATP-verbrauchender Reaktionen wie z.B. des Calvin-Zyklus erklärt werden, sofern die ATP-Bildung weiterläuft. Die beobachteten Abnahmen müßten dann in Blättern mit fortgeschrittener innerer Zerstörung aufgetreten sein, bei denen z.B. die oxydative Phosphorylierung in den Mitochondrien zum Erliegen gekommen ist und abbauende Prozesse die Oberhand gewonnen haben.

Die bei Anwendung niedriger SO₂-Konzentrationen in den Blättern gemessene kleine Erhöhung der NADP⁺-abh.GPD und des Strukturproteins wird ebenfalls als allgemeiner Stimulatioenseffekt des SO₂ auf den Stoffwechsel gewertet, während die z.T. hohen Aktivitätsabnahmen dieses Enzyms nach stärkerer SO₂-Exposition verschiedene Ursachen haben können:

Erstens besteht die Möglichkeit, daß die Abnahme dieser Enzymaktivität durch eine allgemeine Störung des Proteinstoffwechsels zustande kam, denn mit der Abnahme der Enzymaktivität war auch ein Rückgang des Proteingehalts verbunden. D.h., die schweflige Säure hätte die NADP⁺-abh.GPD auf der Seite des Apoenzyms negativ beeinflußt.

Zweitens ist auch dem Coenzym in bezug auf seine Stabilität gegen die schweflige Säure besondere Aufmerksamkeit zu schenken, da die Enzymaktivität durch den Angriff des SO₂ prozentual stärker absank als der Proteingehalt.

Unter Bezugnahme auf die Versuchsergebnisse von PFLEIDERER, G., JECKEL, D. u. WIELAND, TH (1956) und PFLEIDERER, G. u. HOHN-HOLZ, E. (1959) wird die Hypothese aufgestellt, daß das Sul-

fit-Ion mit dem oxydierten Coenzym Nicotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat (= NADP⁺) eine Additionsverbindung in Form einer Hydropyridin-4-sulfonsäure bildet und dieses Additionsprodukt mit dem Apoenzym der Dehydrogenase in einer stöchiometrischen Menge zusammentreten kann in Form eines ternären Enzym-NADP⁺-Sulfit-Symplexes. Bei der Anlagerung des Sulfits als sogen. Pseudosubstrat an das Enzym dürfte dessen SH-Gruppe evtl. eine wesentliche Rolle spielen.

Drittens muß auch eine Beeinflussung der Enzymaktivität durch das SO₂ über eine Verschiebung des pH-Wertes im mikroskopischen Bereich in Betracht gezogen werden.

Von den Experimenten, bei denen eine Steigerung der SO₂-Wirkung auf die Blätter von *Vicia faba* durch Kinetinvorbehandlung erzielt wurde, ist zunächst zu bemerken, daß dieses Purinderivat in pflanzliche Gewebe leicht eindringt und dort ohne größere Ortsveränderung lange Zeit beständig bleibt. Man muß also bei der Diskussion des beobachteten Effekts berücksichtigen, daß das Kinetin vom Zeitpunkt des Aufsprühens bis zur Registrierung der Blattschäden wirksam gewesen sein kann. Es besteht z.B. die Möglichkeit, daß es sich bei der beobachteten Steigerung der SO₂-Empfindlichkeit der Blätter in Wirklichkeit um eine Steigerung der sogen. Pseudoempfindlichkeit handelt. Das Kinetin könnte nämlich während der SO₂-Exposition die Reaktion der Schließzellen und damit die Diffusionswiderstände und den SO₂-Influx beeinflussen haben.

Als eine weitere Hypothese für die Interaktion von Kinetin und SO₂ könnten folgende Vorstellungen gelten:

Durch die Einwirkung des SO₂ bilden sich innerhalb eines Blattes oder zwischen verschiedenen Blättern mehr oder weniger große Unterschiede in der Attraktivität für lebensnotwendige Stoffe (z.B. Aminosäuren) aus, die das Kinetin aufgrund seiner bekannten Attraktivitätseigenschaften auf bestimmte Stoffe (z.B. Aminosäuren) noch verstärken kann.

Aus den Ergebnissen der Messungen des Gaswechsels einzelner Blätter während der ersten Stunden der SO₂-Exposition wird auf eine starke negative Abhängigkeit der CO₂-Assimilation von der aufgenommenen SO₂-Menge und eine Korrelation der SO₂-Aufnahme und des Diffusionskoeffizienten für SO₂ zu der abgegebenen Wasserdampfmenge und dem Diffusionskoeffizienten für Wasserdampf geschlossen. Es wird angenommen, daß bei den untersuchten Blättern die pro Zeit- und Flächeneinheit aufgenommene SO₂-Menge hauptsächlich von dem Diffusionswiderstand der Stomata, d.h. von ihrem Öffnungszustand abhängt, der seinerseits von der CO₂-Assimilation (der Schließzellen ?) entscheidend beeinflusst wird und daß der durch die Widerstände der Stomata limitierte SO₂-Influx seinerseits auf die CO₂-Assimilation zurückwirkt. Dieser Rückkoppelungseffekt scheint sich z.T. in besonders ausgeprägter Weise, nämlich in Schwingungen der apparenten Photosynthese, Transpiration und SO₂-Absorption der Blätter zu äußern. Es wird vermutet, daß die Stärke der Schwingungen nicht nur in Beziehung zur angewandten SO₂-Konzentration, sondern auch zum Blattpyp und der Anzucht in Relation steht. Offenbar zeigen Blätter, die von Natur aus

einer zu starken Beanspruchung ihres Wasserhaushalts mit sehr raschem Schließen ihrer Stomata entgegneten, eher und stärkere Schwingungen ihres apparenten Gaswechsels als solche mit dickerer Cuticula und größerem Wasservorrat.

Die beobachteten Schwingungen werden als Regelbewegungen der Schließzellen gedeutet, die nach RASCHKE, K. (1965) als Stellglieder in einem CO_2 -Regelkreis fungieren. Man kann sich das Zustandekommen der Schwingungen z.T. so vorstellen, daß durch den Angriff des SO_2 die CO_2 -Assimilation (= Störgröße) absinkt, dieser Abfall den Turgordruck (= Stellgröße) der Schließzellen (= Stellglieder) und damit die Stomataweite vermindert. Aufgrund der naturbedingten Totzeit, die von der Änderung der Photosyntheseintensität bis zur Ausführung der Regelbewegung vergeht, wird ein Überschwingen dieser Bewegung die Folge sein. Durch die Verringerung der Stomataweite wird der Diffusionswiderstand auch für das SO_2 erhöht, dadurch der SO_2 -Influx verringert und somit dessen Prozentsatz erhöht, der von der Pflanze kompensiert werden kann. Die Photosynthese kann sich wieder erholen, die CO_2 -Assimilation nimmt wieder zu, die Stomata werden weiter geöffnet; das Spiel beginnt von neuem, allerdings mit etwas verminderter Intensität.

Das SO_2 könnte in diesen Regelmechanismus noch auf verschiedene andere Weisen eingreifen, z.B., indem es den Wassertransport (= Regelverstärker) in die Schließzellen (= Stellglieder) durch Veränderung der Permeabilität der Membranen in den Schließzellen beeinflusst.

Erste SO_2 -Begasungsversuche im Dunkeln haben ergeben, daß auch bei Ausschluß der Photosynthese Schwingungen bei Transpiration und SO_2 -Aufnahme auftreten können. Man erhält hiermit einen Hinweis auf eine andere oder noch weitere Wirkung des SO_2 auf die Schließzellen. Man könnte an die Störung einer Gleichgewichtsreaktion in den Schließzellen denken.

Die bei den Temperaturkurven beobachteten Schwingungen lassen sich dagegen sehr leicht erklären durch die Oszillation der Transpiration, die aufgrund der auftretenden Verdunstungskälte auf die Temperatur des Blattes und der vorbeiströmenden Luft Einfluß nimmt.

In einer abschließenden Bemerkung über diese durch das SO_2 hervorgerufenen Schwingungen sei festgestellt, daß die oben genannten Konzentrations-Zeitkurven einen Verlauf zeigen, der dem einer gedämpften harmonischen Schwingung ähnlich sieht, deren Schwingungspol exponentiell abfällt und evtl. wieder ansteigt. Die Dämpfung scheint von der angewandten SO_2 -Konzentration abzuhängen.

Die oben geschilderten Beobachtungen wurden vor allem bei Blättern von *Nicotiana tabacum* gemacht.

Demgegenüber zeigte sich hauptsächlich bei SO_2 -begasteten Blättern von *Vicia faba* im zeitlichen Verlauf der Konzentrations-Zeitkurven, die den Gaswechsel des betreffenden Blattes darstellten, ein anderes Verhalten, bei dem Schwingungen oft nur angedeutet waren oder gänzlich fehlten. Es wird angenommen, daß die beobachteten aperiodischen Kriechbewegungen durch eine sehr starke Dämpfung des Regelvorganges, d.h. der Schließzellenbewegung hervorgerufen wurden.

Es ist zu bemerken, daß die Blätter, deren Stomata bei SO_2 -Angriff eine oszillierende Reaktion zeigen, gegenüber den Blättern, deren Stomata keine oder nur eine schwache Reaktion (aperiod. Kriechbewegung) aufweisen, einen Vorteil besitzen, insofern, als sie bei gleicher SO_2 -Konzentration weniger SO_2 pro Zeit- und Flächeneinheit aufnehmen. Die Reaktionen der Schließzellen auf den SO_2 -Angriff dürften außerdem die Hauptursache dafür sein, daß die SO_2 -Aufnahme der untersuchten Blätter nicht dem Reizmengengesetz folgt.

LITERATURVERZEICHNIS

- PFLEIDERER, B., JECKEL, D. u. WIELAND, TH. (1956):
Über die Einwirkung von Sulfit auf einige DPN
hydrierende Enzyme. Biochem. Zeitschr. 328(3),
187-194.
- u. HOHNHOLZ, E. (1959):
Zum Wirkungsmechanismus von Dehydrogenasen. Über
binäre und ternäre Symplexe der Äpfelsäuredehydro-
genase mit Coenzym, Substrat und Sulfit. Biochem.
Zeitschr. 331, 245-253.
- SANN, E. u. STOCK, A. (1960):
Zum Wirkungsmechanismus von Dehydrogenasen. Das
Reaktionsverhalten von Pyridinnukleotiden (PN) und
PN-Modellen mit Sulfit als nukleophilem Agens.
Chem. Ber. 93, Nr. 12, 3083-3099, Sonderdruck,
Verl. Chemie, Weinheim.
- RASCHKE, K. (1965):
Die Stomata als Glieder eines schwingungsfähigen
CO₂-Regelsystems. Experimenteller Nachweis an
Zea mays L. Zeitschr. Naturforsch. 20b, 1261-1270.
- WILLIAMS, R. R., WATERMANN, R. E. u. a. (1935):
Studies of crystalline vitamine B₁. III. Cleavage
of vitamine B₁ with sulfite. Journ. Amer. chem. soc. 57,
vol. I, 536.

Die Verteilung der SO₂-Blattschäden über die Nodien von *Vicia faba* und ihre Beziehung zur Vorbehandlung der Pflanzen

Versuchsreihe (59) VI, 18
 Registr.: 36 Tage nach der SO₂-Begasung

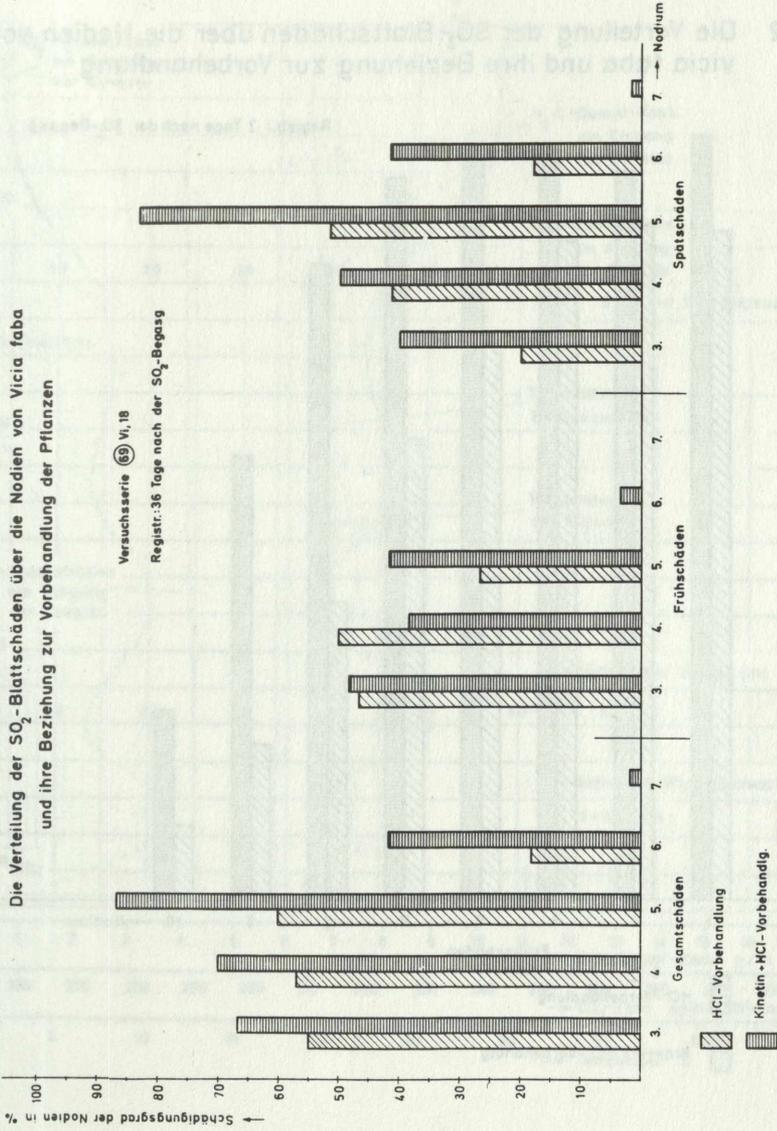
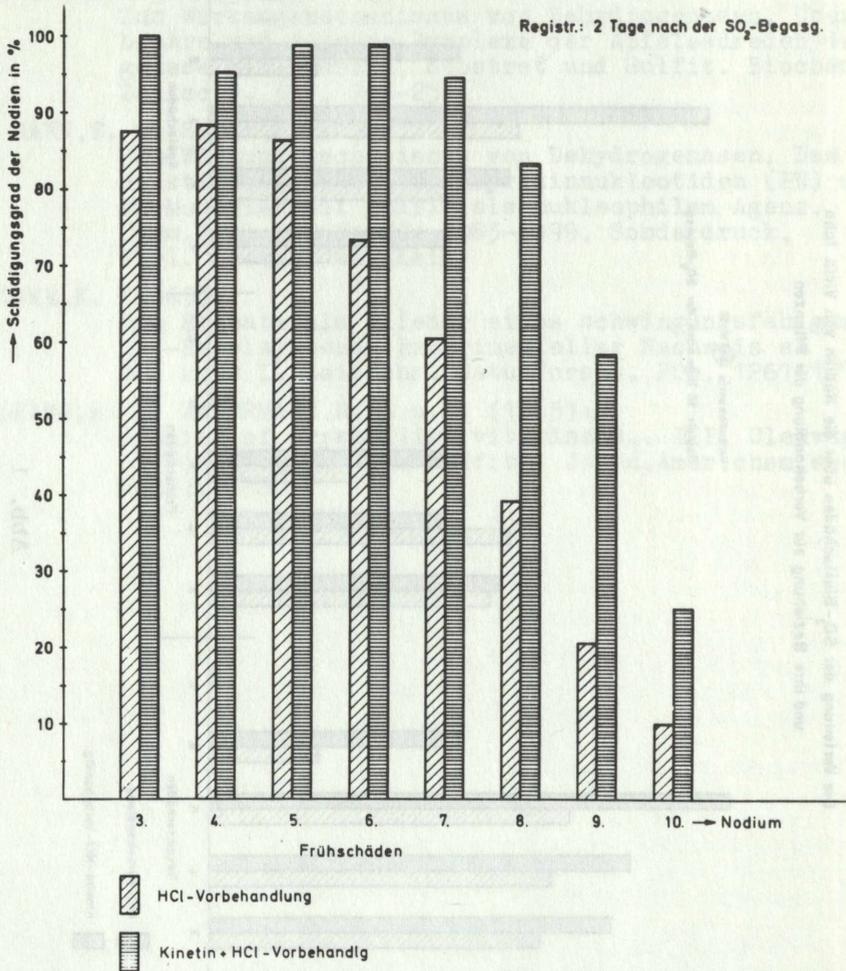


Abb. 1

Abb. 2 Die Verteilung der SO₂-Blattschäden über die Nodien von *Vicia faba* und ihre Beziehung zur Vorbehandlung



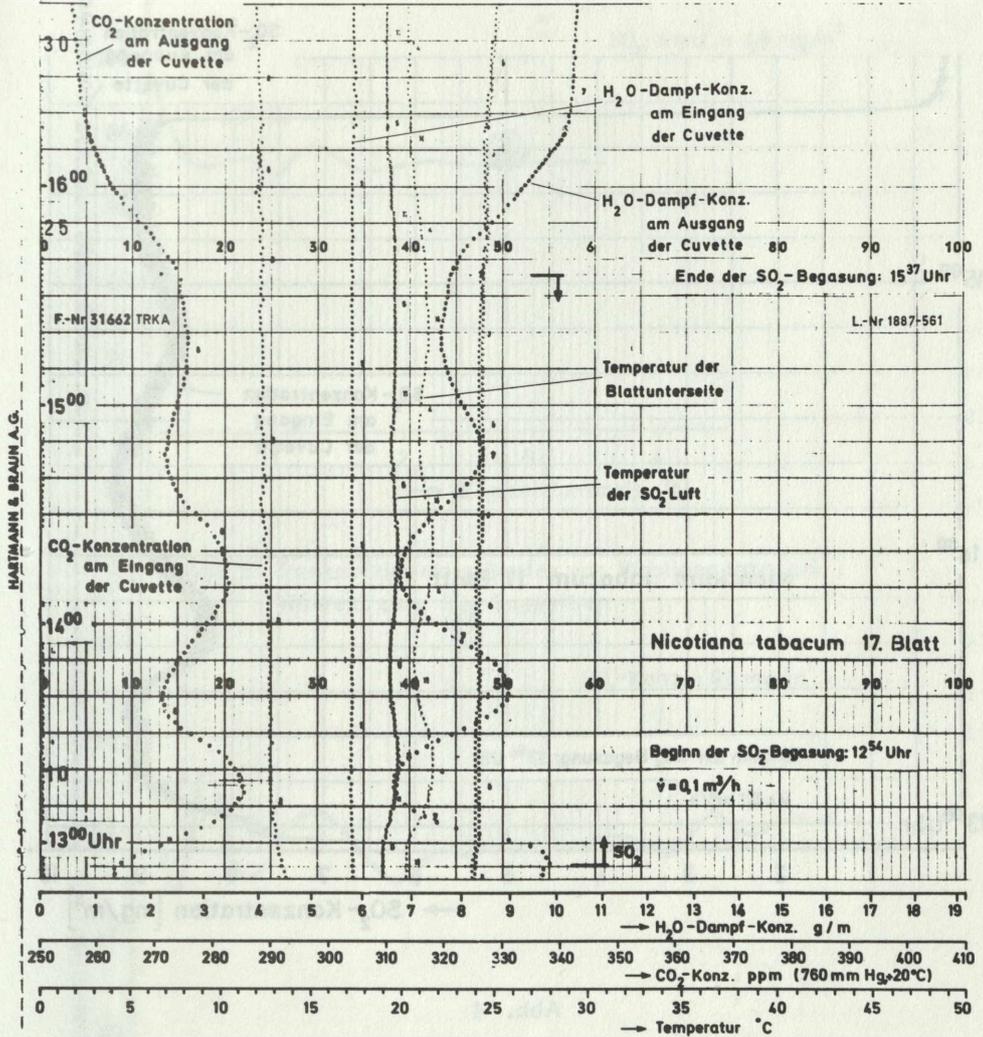


Abb. 3

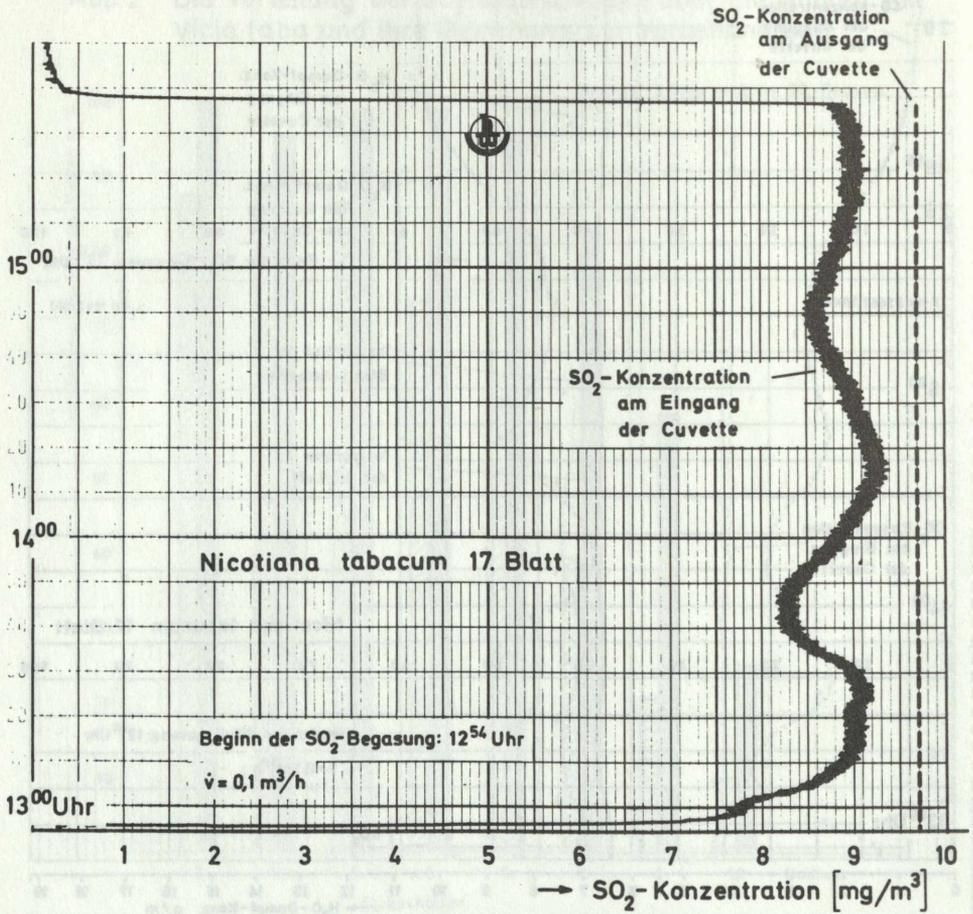


Abb. 4

Abb. 5 Transpiration eines Blattes von *Nicotiana tabacum* während einer SO_2 -Exposition

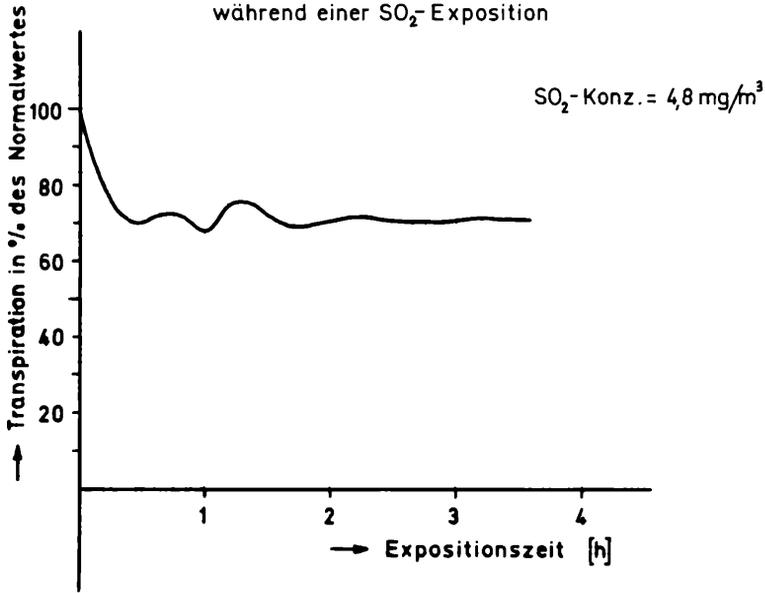
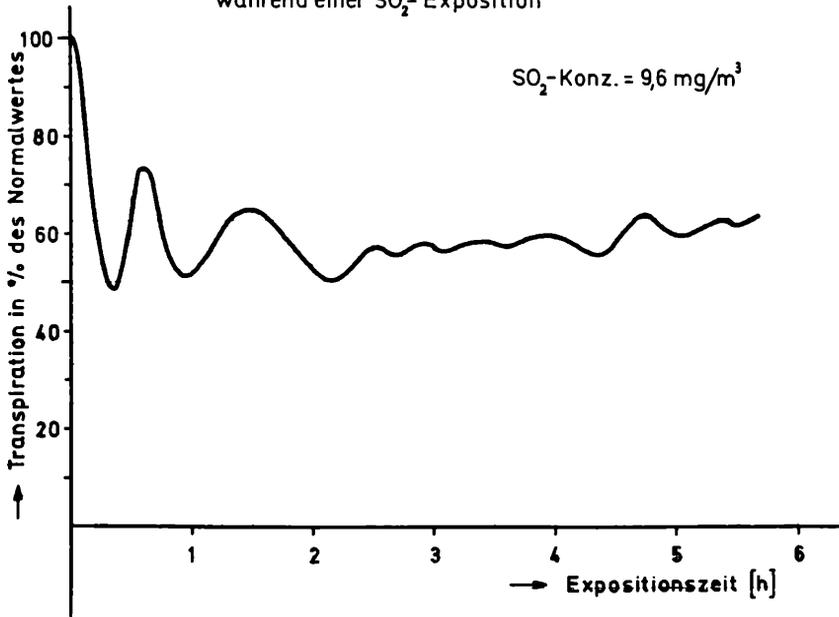


Abb. 6 Transpiration eines Blattes von *Nicotiana tabacum* während einer SO_2 -Exposition



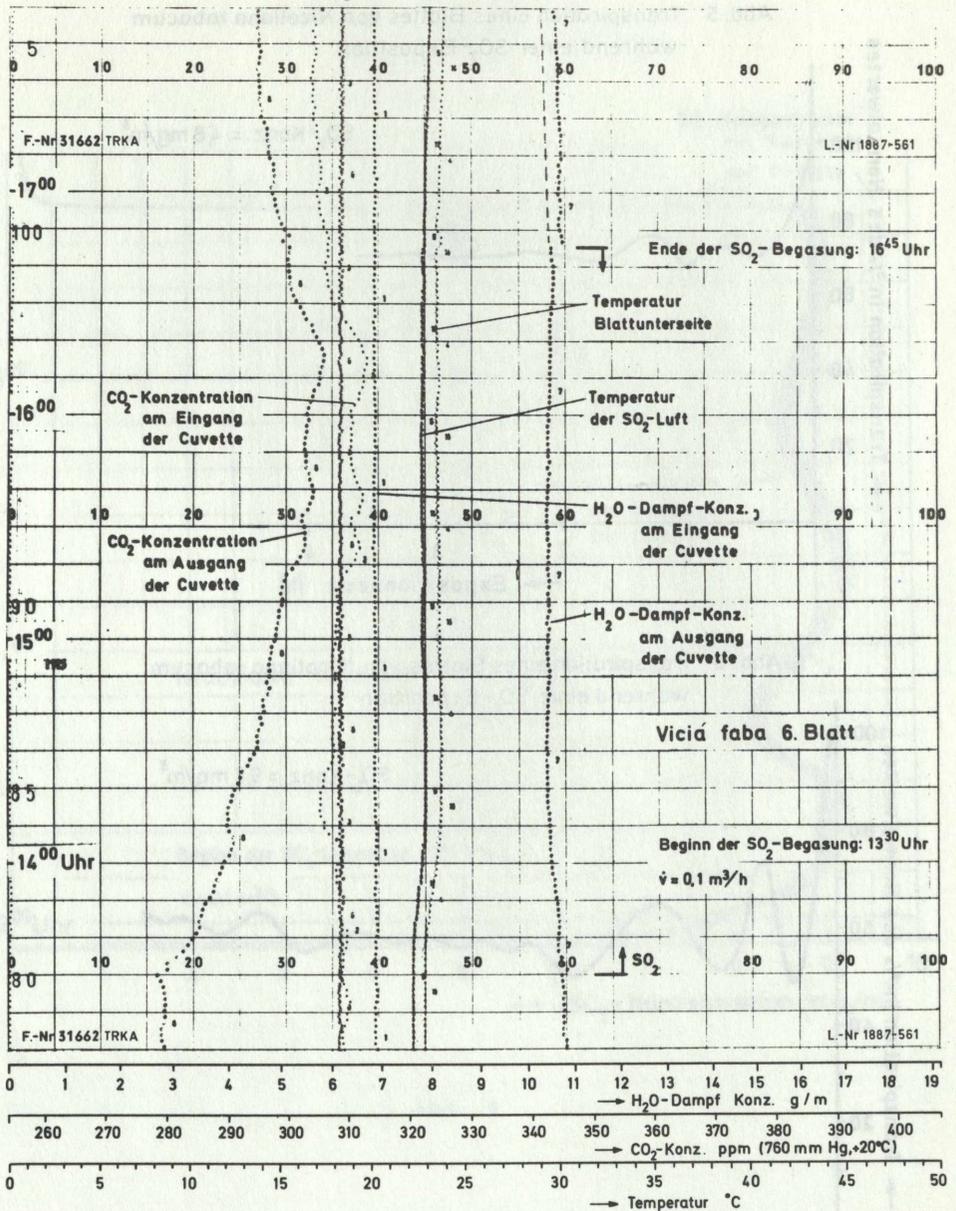


Abb. 7

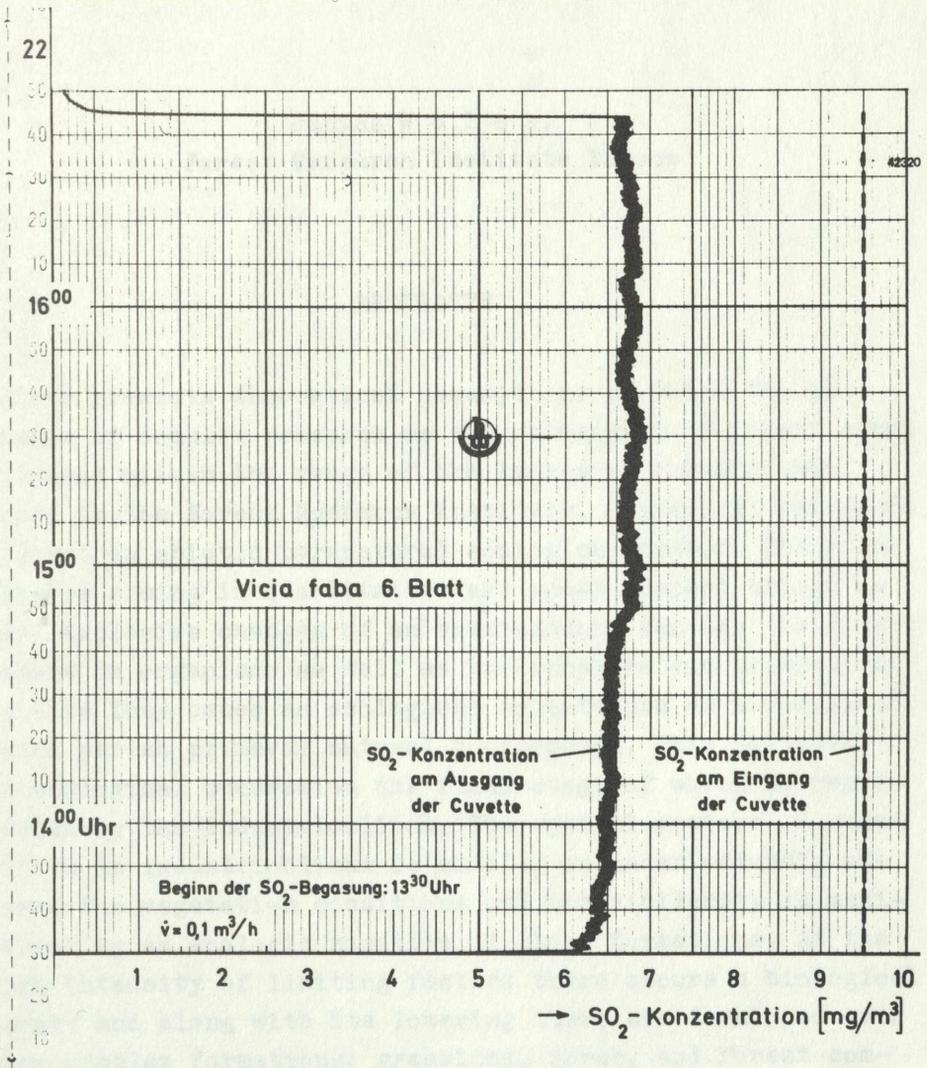


Abb. 8