

## Die Fettsäurezusammensetzung der verseifbaren Lipide aus Nadeln von *Taxus baccata* L. an Standorten unterschiedlicher Immissionsbelastung

### Fatty Acid Composition of Saponifiable Lipids in Needles of *Taxus baccata* L. from Places with Different Immission-Stresses

MICHAEL HÖLLWARTH und ULRICH KULL

Eingegangen am 8. August 1978 · Angenommen am 11. Oktober 1978

#### Summary

The fatty acid composition of saponifiable lipids in needles of *Taxus baccata* grown in three areas with different immission-stresses (forest, park within the town, place of high traffic-density in the city), was measured by gas-liquid-chromatography of methyl esters during the course of a year. No distinct periodicity of fatty acids during the year was found, but there were characteristic differences of the fatty acid patterns from the different places, with regard mostly to palmitic, linoleic, and linolenic acids. At places with higher immission-stresses the percentage of saturated fatty acids is reduced and that of linoleic and linolenic acids increased. Similar effects were induced when twigs of *Taxus* were fumigated with 0.5 ppm SO<sub>2</sub>. Distinct effects were also measured after fumigation with car-exhaust-gas.

*Key words:* fatty acid pattern, immission-stress, SO<sub>2</sub>-gassing, *Taxus baccata*.

#### Einleitung

Durch Immissionen hervorgerufene physiologische Veränderungen in Pflanzen können wertvolle Hinweise auf die Belastung der Standorte liefern. Vor allem «immissionsresistente» Pflanzen, die auch in innerstädtischen Bereichen in genügender Individuenzahl zu finden sind, können – sofern physiologische Reaktionen bekannt sind und gegen einen unbelasteten Standort gemessen werden – wichtige Standortdifferenzierungen hinsichtlich der Immissionsbelastung auch ohne Auftreten äußerlicher Schädigungen ermöglichen.

Bekannt sind Wirkungen auf Enzymaktivitäten, wie z. B. die Aktivierung der Peroxidaseaktivität durch Immissionsbelastung (KELLER, 1974; FLÜCKIGER et al., 1977) oder die Aktivierung der Glutamatdehydrogease und der Glutaminsynthetase, verbunden mit einer gleichzeitigen Hemmung der Oxalacetat- und Glutamat-Pyru-

vat-Transaminase (JÄGER, 1977). Physiologische Veränderungen erfährt auch der Kohlenhydratstoffwechsel (HÖLLWARTH, 1977). Für die praktische Umweltdiagnose wichtig ist die Kenntnis möglichst vieler anwendbarer Parameter; erwünscht ist ferner eine Kenntnis darüber, welche Immissionen zu den einzelnen Veränderungen führen.

Um weitere möglicherweise von der Immission abhängige Parameter zu erhalten, untersuchten wir die Auswirkungen städtischer Standorte auf die Zusammensetzung der Fettsäuren der verseifbaren Lipide. Hinweise auf die verursachenden Immissionskomponenten sollten Begasungsversuche mit  $\text{SO}_2$  und Autoabgasen, den wichtigsten Schadgasen des Untersuchungsraumes, ergeben.

### Material und Methoden

Untersucht wurden die Nadeln von *Taxus baccata* L. von drei Standorten im Raum Darmstadt. Der Standort im Kranichsteiner Forst im Osten Darmstadts wird als «unbelastete» Kontrolle verwendet, im innerstädtischen Bereich wurde ein Parkstandort (Herrngarten) und ein verkehrsexponierter Standort (Luisenplatz) ausgewählt. Es handelt sich um dasselbe Probenmaterial, das bereits zu früheren Untersuchungen verwendet wurde (HÖLLWARTH, 1977).

Die Begasung wurde in 50-l-Glaströgen mit  $\text{SO}_2$ -Konzentrationen von 0,5 ppm, 50 ppm und 500 ppm nach der Methode von HÄRTEL und MIKLAU (1971) durchgeführt. Als Versuchsmaterial dienten in mit Paraffin abgedecktes Wasser gestellte Zweige der Eibe aus dem Kranichsteiner Forst. Ein weiterer Glastrog enthielt ca. 3 % Autoabgase.

Die Extraktion der Lipide, die Verseifung und Veresterung erfolgte wie bei KULL und JEREMIAS (1972) beschrieben. Die GC erfolgte mit einem Varian-Aerograph 2700; Säule  $20' \times 1/8''$  Stahl, 10 % EGSS-X auf Chrom 60–80 W/AW-DMCS; Temperaturprogramm 172–216°, 2° je min; Detektor: FID, 280 °C, Injektortemperatur 220 °C; Trägergas:  $\text{N}_2$  30 ml/min.

Die Identifizierung der einzelnen Peaks erfolgte durch Bestimmung der relativen Retentionszeiten und durch Mitchromatographieren von Bezugssubstanzen. Die quantitative Auswertung erfolgte mit Chromatographie-Datensystem CDS 111 der Fa. Varian. Jede Probe wurde mindestens viermal chromatographiert und die erhaltenen Flächenwerte gemittelt.

Die gaschromatographischen Messungen an den begasten Proben wurden in einem anderen Zeitraum durchgeführt. Infolge des anderen Säulenzustandes ergaben sich daher bei der automatischen Auswertung für die erst nach Erreichen der oberen Temperaturgrenze des Programms eluierten Fettsäureester ( $\text{C}_{20}$  und längerkettig) Werte, die gegenüber den vorhergehenden Messungen abweichen. Da die zugehörigen Kontrollen jeweils gleichzeitig gemessen wurden, ist dies für unsere Fragestellung von untergeordneter Bedeutung.

Die Signifikanzprüfung der Standortunterschiede erfolgte nach dem t-Test.

### Ergebnisse

Tab. 1 gibt die im Jahresverlauf gefundene Zusammensetzung der Fettsäuren der einzelnen Standorte wieder. Eine ausgeprägte Jahresperiodik ergab sich für keine der gefundenen Fettsäuren. Deutlich sind aber die Unterschiede der einzelnen Standorte zu erkennen. Auffällig ist der geringere Gehalt des Anteils der gesättigten Fettsäuren, vor allem der Palmitinsäure, an den belasteten Standorten. Dagegen

Table 1: Fatty acid composition of saponifiable lipids in needles of *Taxus* from places of different immissionstresses, expressed as percentages of total fatty acids.

fatty acid	October			December			January			March			June			August		
	Forest	Park	City	Forest	Park	City	Forest	Park	City	Forest	Park	City	Forest	Park	City	Forest	Park	City
< 14:0	1,7	3,9	0,6	1,1	5,0	0,6	2,7	2,8	0,9	2,5	3,0	0,9	1,6	2,4	1,0	0,9	1,4	0,6
14:0	4,7	5,3	3,0	4,2	5,6	2,6	6,7	5,3	4,3	6,9	6,8	2,2	4,9	5,5	4,0	3,4	2,3	3,1
14:1	0,8	0,5	0,2	Sp	0,6	0,6	Sp	0,6	0,8	Sp	0,7	Sp	Sp	0,6	0,7	Sp	0,6	0,4
14:2	-	0,2	0,3	-	4,5	0,2	-	0,4	0,2	-	0,1	Sp	-	0,4	0,3	-	0,4	0,2
14:3	5,7	3,4	2,4	4,3	1,6	1,7	7,7	4,9	2,8	6,9	1,8	2,5	-	0,6	2,7	0,5	2,7	3,1
16:0	23,2	15,5	15,0	20,8	15,3	12,4	26,9	18,5	18,7	29,9	22,7	19,4	22,7	21,4	15,0	26,6	15,8	14,8
16:1/2/3	Sp	1,1	3,4	1,4	2,2	3,5	Sp	3,2	3,1	0,9	1,6	3,2	Sp	1,6	4,7	Sp	6,0	4,0
18:0/1	10,4	7,4	7,5	9,7	6,7	6,4	9,0	7,4	7,7	11,9	9,6	11,0	9,2	8,8	9,3	7,0	11,5	10,2
18:2	4,8	6,6	9,6	4,0	6,4	10,8	3,8	7,6	13,0	5,7	7,0	12,4	4,8	5,9	12,8	5,2	9,0	7,7
18:3	10,8	13,6	28,9	9,0	12,7	29,4	8,6	16,5	35,2	9,8	12,3	31,8	8,6	13,0	30,9	9,0	15,3	29,5
20:1 ?	15,2	11,9	9,7	11,8	10,8	7,3	13,2	10,1	2,3	12,9	8,6	3,5	16,4	8,5	4,2	14,4	11,6	7,5
20:2 ?	7,6	8,1	9,3	5,3	6,4	10,3	4,3	6,4	4,2	4,0	5,8	5,5	3,8	6,8	6,4	4,2	7,8	8,2
22:0	4,1	10,7	1,1	5,5	2,7	1,7	4,7	2,6	0,5	Sp	3,9	1,0	4,5	2,3	1,0	4,9	3,7	7,2
22:1	-	4,1	2,6	7,3	7,4	5,1	5,7	6,8	2,1	5,9	7,8	3,0	9,3	6,6	3,5	8,9	7,0	2,7
24:0/1	2,3	3,9	Sp	5,2	2,8	Sp	3,0	1,4	Sp	2,0	4,1	1,7	4,3	5,8	1,5	3,7	1,2	0,8
not identif.	8,8	3,8	6,4	10,4	9,3	7,5	3,7	5,5	4,2	0,7	4,2	1,9	8,5	9,8	5,7	11,3	3,7	0

Table 2: Comparison of mean-values of fatty acid content between the places within the town and the forest-station, t-test.

	14:0	14:0	14:1	14:2	14:3	16:0	16:1	16:2	16:3
Park	.	.	+	++	.	+	.	++	+
City	+	+	.	+++	.	++	.	.	+++
	18:0/1	18:2	18:3	20:1	20:2	22:0	22:1	24:0/1	
Park	.	++	++	++	+	.	.	.	
City	.	+++	+++	++	.	.	++	++	

. : not significant  
 + :  $\alpha < 0,05$   
 ++ :  $\alpha < 0,01$   
 +++ :  $\alpha < 0,001$

ist der Anteil an Linol- und Linolensäure stark erhöht. Der statistische Vergleich (t-Test, Tab. 2) ergibt für den City-Standort für Tetradekadien-, Hexadekatrien-, Linol- und Linolensäure auf dem 0,1 %-Niveau signifikant höhere Werte des Anteils dieser Fettsäuren. Mit Ausnahme der Hexadekatriensäure, deren Abweichung auf dem 5 %-Niveau signifikant ist, zeigen diese Fettsäuren auf dem 1 %-Niveau signifikant höhere Anteile auch am Parkstandort. Die Dokosaensäure und die C<sub>24</sub>-Säuren zeigen nur am City-Standort auf dem 1 %-Niveau signifikant geringere Werte gegenüber dem Waldstandort.

Betrachtet man die Ergebnisse der 20stündigen Begasung mit  $\text{SO}_2$ , so erkennt man bei einer  $\text{SO}_2$ -Konzentration von 0,5 ppm eine Abnahme des Anteils der Palmitinsäure und eine Zunahme von Linol- und Linolensäure. Auch der Anteil von  $\text{C}_{24}$ -Säuren nimmt ab. Bei höheren  $\text{SO}_2$ -Konzentrationen jedoch steigt der Anteil der Palmitinsäure, während Linol- und Linolensäure wieder die Werte der Kontrolle aufweisen. Die meisten übrigen Fettsäuren zeigen nur undeutlich Reaktionen auf  $\text{SO}_2$ -Begasung; ungesättigte  $\text{C}_{16}$ -Säuren scheinen allerdings bei höheren  $\text{SO}_2$ -Konzentrationen stark abzunehmen.

Table 3: Fatty acid composition of saponifiable lipids in needles of *Taxus* after 20 hr gassing with  $\text{SO}_2$  and respectively with car-exhaust-gas.

fatty acid	open air control	chamber control	0,5 ppm $\text{SO}_2$	50 ppm $\text{SO}_2$	500 ppm $\text{SO}_2$	car exhaust gas
< 14:0	0,4	0,3	0,6	0,1	0	1,8
14:0	3,1	3,0	2,7	3,1	2,7	0,6
14:1/2/3	1,2	1,0	0,6	1,6	0,7	0
16:0	20,3	19,6	16,4	28,6	25,0	14,5
16:1/2/3	4,8	5,5	5,0	0	0	4,5
18:0/1	5,4	4,5	4,1	4,2	4,1	3,7
18:2	3,7	4,0	5,1	3,3	3,8	4,9
18:3	8,6	8,8	15,5	9,6	8,3	18,5
20:1/2	4,5	4,9	5,3	5,1	6,6	5,6
22:1	12,6	10,7	8,3	10,9	10,8	10,1
22:0	6,8	7,6	7,5	7,3	9,4	8,0
24:0/1	19,4	20,8	16,5	22,5	22,4	19,0
not identif.	9,3	9,4	11,3	3,6	6,2	8,9

Table 4: Fatty acid composition of saponifiable lipids in needles of *Taxus* after 72 hr gassing with  $\text{SO}_2$  and respectively with car-exhaust-gas.

fatty acid	open air control	chamber control	0,5 ppm $\text{SO}_2$	50 ppm $\text{SO}_2$	500 ppm $\text{SO}_2$	car exhaust gas
< 14:0	0	0,3	0,2	0,1	0,1	0,5
14:0	2,0	2,7	2,3	2,5	2,2	0,4
14:1/2/3	0,5	1,4	0,9	1,2	0,8	0
16:0	15,4	22,4	22,1	27,3	27,2	13,8
16:1/2/3	5,2	6,4	6,1	0	0	8,0
18:0/1	3,5	4,0	4,4	3,5	4,3	3,2
18:2	4,0	1,9	3,1	2,3	3,4	2,6
18:3	12,5	3,3	9,1	4,9	7,0	8,4
20:1/2	5,6	4,9	4,1	4,5	5,6	5,8
22:0	7,6	6,9	6,6	8,4	7,5	7,8
22:1	12,5	10,9	8,7	12,8	9,4	11,8
24:0/1	21,2	22,0	17,5	22,1	19,7	27,6
not identif.	10,0	12,9	14,8	10,4	12,8	10,1

Die Reaktion der Fettsäurezusammensetzung auf Autoabgase ist sehr ausgeprägt. Auch hierbei nimmt der Palmitinsäureanteil ab und derjenige von Linolensäure stark zu.

Nach 72stündigem Aufenthalt im Glastrog ergibt sich auch eine Veränderung der Kontrolle gegenüber den Freilandwerten; Linolensäure hat in der Kammer stark abgenommen, Palmitinsäure dementsprechend zu. Betrachtet man die Werte der begasten Proben gegenüber der Kontrolle, so ergibt sich auch in diesem Versuch eine Zunahme des Anteils der Linolensäure, vor allem bei 0,5 ppm SO<sub>2</sub>. Dagegen verändert sich der Palmitinsäureanteil zunächst nicht und steigert sich erst bei höheren SO<sub>2</sub>-Konzentrationen, bei denen ungesättigte C<sub>16</sub>-Säuren wiederum nicht mehr nachweisbar sind.

Mit Ausnahme einer Steigerung des Anteils von C<sub>24</sub>-Säuren reagiert die 72 Stunden mit Autoabgasen behandelte Probe wie nach 20stündiger Behandlung mit einer Abnahme von Palmitin- und Zunahme von Linolensäure.

### Diskussion

Die Ergebnisse zeigen eine signifikante Veränderung der Zusammensetzung der Fettsäuren mit zunehmender Immissionsbelastung. An diesen Veränderungen sind vor allem Palmitinsäure, Stearinsäure/Ölsäure, Linol- und Linolensäure beteiligt. Insgesamt ergibt sich in Richtung Stadtzentrum eine Verschiebung zugunsten der ungesättigten Fettsäuren. Diese Tendenz bestätigt sich bei Begasungsversuchen mit 0,5 ppm SO<sub>2</sub> und noch deutlicher bei der Behandlung mit Autoabgasen.

Als Ursache der Veränderungen könnte man auch an Abweichungen der mikroklimatischen Bedingungen in der Stadt denken. So kommt es im Innenstadtbereich zu Temperaturerhöhungen, die mehrere °C erreichen können, daneben sind deutliche Abweichungen der rel. Luftfeuchtigkeit festzustellen (vgl. HÖLLWARTH, 1977). Die gefundenen Veränderungen der Fettsäurezusammensetzung verhalten sich gerade entgegengesetzt zu den Befunden über die Temperaturabhängigkeit des Fettsäuremusters vegetativer Pflanzenteile. So finden APPELQVIST (1971) bei *Brassica*, KULL und JEREMIAS (1972) bei *Populus*, HOFÄCKER-KLETT und BERINGER (1975) bei *Lolium* und DIAMANTOGLU und MELETIOU-CHRISTOU (1977) bei *Ceratonia* eine Zunahme der Linolensäure bei Kälte. Bei den vorliegenden Untersuchungen nimmt der Anteil der Linolensäure hingegen gerade an den wärmeren (aber stärker belasteten) innerstädtischen Standorten zu.

Eine prozentuale Zunahme von Linolensäure ist bei alternden Tabakblättern (BIACS et al., 1976) und bei dauerverdunkelten *Ceratonia*-Zweigen (DIAMANTOGLU und MELETIOU-CHRISTOU, 1977) als Streßeffekt nachgewiesen, so daß man an eine seneszenzfördernde Wirkung der Schadstoffe denken könnte. Auch ein Einfluß auf den O<sub>2</sub>-Gaswechsel könnte Effekte bei der O<sub>2</sub>-abhängigen Bildung mehrfach ungesättigter Fettsäuren haben. Es ist allerdings nichts darüber bekannt, welche Lipid-

fraktionen bzw. Organellen besonders beeinflußt werden; dies wäre in weiteren Untersuchungen zu prüfen.

Auch zwischen Park- und Citystandort besteht ein deutlicher Unterschied, so daß eine kontinuierliche Veränderung der Fettsäurezusammensetzung in der Abfolge Wald – Park – City erkennbar wird.

Untersuchungen des Bleigehaltes der Pflanzen (HÖLLWARTH, unveröff.) ergaben eine Zunahme des Bleigehaltes um 20 % (Park) bzw. um 28 % (City) gegenüber dem Waldstandort. Da die Bleigehalte der Pflanzen vorwiegend aus Autoabgasen stammen, ergibt sich eine Übereinstimmung der Befunde am Standort mit der sehr deutlichen Reaktion der Versuchspflanzen auf Autoabgase.

Bei höheren SO<sub>2</sub>-Konzentrationen bleibt die Fettsäurezusammensetzung, abgesehen von einer Zunahme der Palmitinsäure und gleichzeitiger Abnahme der Hexadecensäure, weitgehend gleich. Ein unterschiedliches Verhalten gegenüber niederen und hohen SO<sub>2</sub>-Konzentrationen fanden auch JÄGER et al. (1972) bei Erbsenkeimpflanzen für freie Aminosäuren. Ihr Gehalt nimmt bei geringen Konzentrationen zunächst zu und dann mit steigender Konzentration ab.

Wichtig erscheint uns die Übereinstimmung der Reaktion der Fettsäuren auf Autoabgase mit dem an den Standorten gefundenen Verhalten. Da der Kohlenhydratstoffwechsel sich durch Autoabgase kaum beeinflussen läßt (HÖLLWARTH, 1977), sondern nur auf SO<sub>2</sub> reagiert, könnte sich hier ein Ansatzpunkt zu einer Verursacherunterscheidung ergeben. Dies müßte allerdings durch eine größere Versuchsreihe noch statistisch abgesichert werden.

Für sorgfältige Mitarbeit danken wir Fräulein EVA-MARIA MOSER, für eine Sachbeihilfe (an U. K.) der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

### Literatur

- APPELQVIST, L.-Å.: Lipids in Cruciferae IX. *Physiol. plant.* 25, 493–502 (1971).
- BIACS, P., K. GRUIZ, and J. MOLLO: A study of tobacco lipids. Part I: Changes in the lipids of tobacco leaves in the course of vegetative development of the plant. *Acta Alimentaria* 5, 403–423 (1976).
- DIAMANTOGLOU, S. and M. S. MELETIOU-CHRISTOU: Das jahresperiodische Verhalten des Rohfetts und der Fettsäuren in Rinden und Blättern von *Ceratonia siliqua* L. *Z. Pflanzenphysiol.* 85, 95–101 (1977).
- FLÜCKIGER, W., H. FLÜCKINGER-KELLER und J. J. OERTLI: Der Einfluß verkehrsbedingter Luftverunreinigungen auf die Peroxydaseaktivität, das ATP-Bildungsvermögen isolierter Chloroplasten und das Längenwachstum von Mais. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* 85, 41–47 (1978).
- HARTEL, O. und S. MIKLAU: Eine Methode zur Herstellung definierter niedriger SO<sub>2</sub>-Spannungen. *Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz* 78, 538–543 (1971).
- HÖLLWARTH, M.: Zum Verhalten einiger Kohlenhydrate aus Nadeln von *Taxus baccata* L. an städtischen Standorten unterschiedlicher Immissionsbelastung. *Angew. Bot.* 51, 277–285 (1977).
- HOFMECKER-KLETT, I. and H. BERINGER: The influence of temperature and nitrogen fertilization on fatty acids in leaves of rye-grass (*Lolium perenne*). *Z. Pflanzenern. Bodenkd.* 1975, 147–151.

- JÄGER, H. J.: Physiologische und biochemische Wirkungen von SO<sub>2</sub> auf Pflanzen. *Phyton (Horn)* 18, 85-94 (1977).
- JÄGER, H. J., E. PAHLICH und L. STEUBING: Die Wirkung von SO<sub>2</sub> auf den Aminosäuren- und Proteingehalt von Erbsenkeimlingen. *Angew. Bot.* 46, 199-211 (1972).
- KELLER, TH.: The use of peroxidase activity for monitoring air-pollution areas. *Europ. J. Forest Pathol.* 4, 11-19 (1974).
- KULL, U. und K. JEREMIAS: Die Fettsäurezusammensetzung der verseifbaren Lipide aus Rinden von *Populus balsamifera* im Jahresgang. *Z. Pflanzenphysiol.* 68, 55-62 (1972).

Prof. Dr. ULRICH KULL, Biologisches Institut der Universität Stuttgart, Ulmer Straße 227, D-7000 Stuttgart 60.

Dr. MICHAEL HÖLLWARTH, Institut für Naturschutz der Stadt Darmstadt, Haelstraße 7, D-6100 Darmstadt.