

ZUSAMMENHÄNGE ZWISCHEN DER SCHWEFELDIOXYDKONZENTRATION UND DEN SCHÄDEN DER NADELBLÄTTER DES KIEFERS

(PINUS SILVESTRIS L.)

M. K. NYOMÁRKAY – L. FRIDVALSZKY – J. SZÁSZ

Institut für Pflanzenanatomie der Eötvös Loránd Universität, Budapest

Eingegangen: 10. Januar 1981

Einleitung

In der Untersuchung der Luftverunreinigung kann – außer den instrumentalen Methoden bzw. statt dieser – der Anwendung speziell empfindlicher Pflanzenarten, d. h. den pflanzlichen Bioindikatoren eine wichtige Rolle zufallen. In den sich auf die Erkennung von neuen Indikatorpflanzen richtenden Forschungen erhalten die Versuchspflanzen das bestimmte Gas bzw. Gasgemenge entweder mehrmals in kleinen Konzentrationen oder bloß einmal, jedoch in wesentlich größerer Konzentration. Dementsprechend ist die Folge die chronische oder akute Schädigung der Pflanze. Die chronische Schädigung tritt bei längere Zeit anhaltenden Einwirkungen auf. In diesem Falle kann oft unter anderen eine Wachstumsverringering festgestellt werden. Die hohe Immissionskonzentration beeinflusst primär die Stoffwechselprozesse, was wiederum sekundär zu morphologischen Veränderungen führen und schließlich die Pflanze zugrunde richten kann. Die Nadelblättrigen reagieren auf eine Luftverunreinigung von niedriger Konzentration empfindlicher, als die Laubblättrigen (D ä s s l e r 1974).

Die Schädigung der Pflanzen wird von den luftverunreinigenden Stoffen, vor allem durch das Schwefeldioxyd verursacht. Die Nadelbäume akkumulieren vor allem in ihren Nadelblättern das Schwefeldioxyd. Das Anwachsen des Gesamtschwefeldioxydgehaltes der Nadelblätter zeigt vor jeden sonstigen sichtbaren Veränderungen die anfängliche Schädigung der Pflanze, was zugleich auch auf die Zunahme der Luftverunreinigung hinweist (G u d e r i a n 1970). *Pinus silvestris* L. reagiert in dieser Hinsicht besonders empfindlich und kann auf diese Weise betreffs des Schwefeldioxyds als Indikatorpflanze angesehen werden (Z i n k e r n a g e l 1958, J ä g e r - S t e u b i n g 1970, Nyomárkay – Südi 1980).

Material und Methode

Die Untersuchungen haben wir an den erstjährigen Nadelblättern von *Pinus silvestris* L. durchgeführt. Zu den Laborversuchen wurden dreijährige Setzlinge einbezogen. Die Pflanzen hielten wir in einem Inhalator, in dem die erwünschte Schwefeldioxydkonzentration der Luft anhaltend gesichert werden konnte. Die Versuchseinrichtung bestand aus einer Gasgemischeinheit und dem infraroten Gasprüfer URAS 2T. Das in einer Flasche gespeicherte, unter Hochdruck stehende, konzentrierte Schwefeldioxydgas haben wir nach Dekompression und Dehydratation mit gereinigter Luft verdünnt. Gleichzeitig haben wir das Volumen und den Druck des primären Schwefeldioxyds bzw. der Luft gemessen. Aus diesen Angaben wurde die Gaskonzentration errechnet. Der Schwefeldioxydgehalt des erhaltenen primären Gemisches war noch allzu hoch, weshalb mit weiterer Zugabe von gereinigter Luft eine zweite Verdünnung durchgeführt wurde. Die Konzentration des fertigen Gemisches haben wir mit dem Gasprüfer URAS 2T kontrolliert. Der in den organischen Verbindungen der Nadelblätter gebundene Schwefelgehalt wurde in den nach Glühung in Quarz-Verbrennungsröhrenglas von Krekeler-Typ sich entweichenden Gasen durch Titrierung mit $\text{Ba}/\text{NO}_3/2$ gemessen. Der anorganische Schwefelgehalt wurde aus der zurückgebliebenen Asche festgestellt.

Zu den Untersuchungen der elektronenmikroskopischen Ultrastruktur haben wir aus den Nadelblättern herausgeschnittene 1/2 mm dicke Scheiben in 5%iger gepufferter Glutaraldehydlösung von 7,2 pH sowie in ähnlich gepufferter 1%iger Osmiumtetroxydlösung fixiert. Nach dem Auswaschen und der Dehydratation wurden sie in Kunstharz (Durcupan) eingebettet. Die aus der eingebetteten Substanz gefertigten ultradünnen Schnitte wurden mit Bleizitrat kontrastiert und mit dem Elektronenmikroskop von Tesla BS 500-Typ untersucht.

Die Nadelblätter der zum Vergleich dienenden Kontrollpflanzen haben wir von solchen Standorten eingeholt, wo die Luft in Bezug des Schwefeldioxydgehaltes praktisch rein bzw. in verschiedenen Maßen verunreinigt war: Hármashatárhegy; Arboretum von Szarvas; Keckemét, Komlóser Anlage; Pestszentlőrinc, Zentralinstitut für Atmosphärische Physik.

Ergebnisse und Schlußfolgerungen

Pflanzenchemische Untersuchungen

Im Falle von in Laboratorium, in einem geschlossenen System erzeugten Pflanzen nahm der auf die Trockensubstanz der Nadelblätter umgerechnete Gesamtschwefelgehalt von Mai bis Dezember allmählich zu. Diese Zunahme des Schwefelgehaltes war im Versuchsluftraum von verschiedener Schwefeldioxydkonzentration gleichfalls konstatierbar (Tab. I). Das Anwachsen des Schwefelgehaltes war auch in solchen Fällen wahrnehmbar, wo wir den Schwefelgehalt der Versuchsluft sehr niedrig einge-

Tabell I

Gesamtschwefelgehaltsänderung der Nadelblätter des Kiefers in $\mu\text{g/g}$ Trockensubstanz, im Laboratorium, in geschlossenem System (1979)

SO ₂ Konzentration mg/m ³	Monate							
	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	XI.	XII.
0,01	200	275	350	400	450	500	550	550
0,05	250	300	400	500	650	750	800	850
0,075	300	500	650	750	900	950	1100	1200
0,1	450	650	900	1000	1150	1300	1500	1750
0,5	500	700	950	1150	1400	1750	1900	2100
1,0	600	900	1100	1250	1500	1700	2050	2350

Tabell II

Durchschnittlicher Gesamtschwefelgehalt der Nadelblätter des Kiefers in $\mu\text{g/g}$ Trockensubstanz

Sammelstelle	Sammelzeit					
	1978. XII.	1979. III.	1979. IX.	1979. XII.	1980. III.	1980. VI.
Hármashatárhegy Arboretum von Szarvas	1650 – 1800	550 – 650	1000 – 1200	1550 – 1750	550 – 600	600 – 700
Kecskemét, Komloser Anlage	–	–	850 – 950	1250 – 1350	450 – 550	500 – 600
Pestlőrinc, Zentralinstitut für Atmosphä- rische Physik ..	–	–	850 – 900	–	–	–
	–	–	1100 – 1200	1600 – 1700	600 – 650	650 – 750

stellt haben, der also praktisch der nicht verunreinigten Luft entsprochen hat. Diese Erscheinung ergibt sich aus der Natur des Schwefelstoffwechsels der Pflanze. Es kann also festgestellt werden, daß die relative Zunahme des Schwefelgehaltes von Mai bis Dezember den natürlichen Stoffwechsel von *Pinus silvestris* L. charakterisiert. Seine absoluten Werte hängen hingegen von dem Schwefeldioxydgehalt der Luft ab.

In den Nadelblättern der von verschiedenen Standorten stammenden Kontrollpflanzen war eine solche Tendenz der Änderung des Schwefeldioxydgehaltes gleichfalls erkennbar, so wie dies die Daten der Tab. II zeigen. Die Zeitpunkte der Probeentnahmen haben wir nach Z i n k e r n a g e l (1958) und G u d e r i a n (1970) ausgewählt, unter Berücksichtigung dessen, wie sich in den Assimilationsorganen die Konzentration des schädlichen Stoffes im Laufe der Vegetationsperiode ändert. Der Schwefelgehalt der Nadelblätter wächst in der Monaten November, Dezember all-

mählich an, Ende Februar – Anfang März nimmt er mit dem Wert 100 – 200 $\mu\text{g/g}$ ab, von Frühjahr bis Herbst ist von der Hintergrundkonzentration abhängig wiederum ein Anwachsen wahrzunehmen.

Die im Stoffwechsel eintretenden Änderungen manifestieren sich nach Verlauf einer gewissen Zeit über die physiologischen Aberrationen hinaus auch in sichtbaren morphologischen Schädigungen. Aus unseren experimentellen Untersuchungen konnten wir feststellen, daß bei gesteigerter Schwefeldioxydzugabe sich an den Nadelblättern zuerst eine apikale Vergilbung zeigt, der dann die Nekrotisierung folgt. Dieser Prozeß geht bei anhaltender Einwirkung der Basis zu (Tab. III). Den mit freien Augen sichtbaren Symptomen müssen jedoch feinere zytologische Veränderungen vorangehen. Dieser Umstand veranlaßte uns auch elektronenmikroskopische Strukturuntersuchungen zu unternehmen.

Tabell III

Schädigung der Nadelblätter des Kiefers im Zusammenhang mit dem Gesamtschwefelgehalt

Die sichtbaren Zeichen der Schädigung auf den Nadelblättern	Schwefelgehalt in $\mu\text{g/g}$ Trockensubstanz
Symptombfrei	220 – 550
Die Blattspitze vergilbt auf 1 mm	600 – 850
Die Blattspitze vergilbt auf 2,5 mm	900 – 1200
Die Blattspitze vergilbt auf 15 mm, einsetzende nekrotische Zeichen	1250 – 1550
Das ganze Nadelblatt vergilbt, die Spitze ist in einer Länge von 3 – 5 mm trocken	1600 – 1950
Vertrocknet von der Spitze bis zum Grund, fällt dann ab	2000 – 2500

Tabell IV

Auf Grund des Schwefelgehaltes der Nadelblätter errechnete SO_2 Konzentration in mg/m^3

	1978. XII.	1979. III.	1979. IX.	1979. XII.	1980. III.	1980. VI.
Hármashatárhegy ...	0,1	–	0,09	0,09	–	0,1
Arboretum von Szarvas	–	–	0,075	0,075	–	0,075
Kecskemét, Komlóser Anlage	–	–	0,05	–	–	–
Pestlőrinc, Zentralinstitut für Atmosphärische Physik ..	–	–	0,1	0,1	–	0,2

Aus dem oben Gesagten kann man darauf schließen, daß zwischen der Schwefeldioxydkonzentration des Luftraumes und dem Schwefelgehalt der Nadelblätter von *Pinus silvestris* L. ein Zusammenhang besteht, der uns die Möglichkeit gibt aus dem letzteren auf das erstere zu schließen. Da der Schwefeldioxydgehalt in den Nadelblättern in Dezember kulminiert, ist es zweckmäßig die Probeentnahme in diesem Monat zu verrichten. 1978–80 haben wir bezüglich der Schwefeldioxydkonzentration der Luft auf diese Art und Weise durchgeführt. Die Ergebnisse enthält Tab. IV.

Ultrastrukturuntersuchungen

In den Blättern der Kontrollpflanzen, die bei einer Konzentration von $0,005$ und $0,01$ mg/m^3 SO_2 , also praktisch vom Gesichtspunkt des Schwefeldioxyds in nicht verunreinigtem Luftraum lebten, war die Ultrastruktur der die Kohlendioxydassimilation verrichtenden Palisadenzellen normal. In diesen Zellen waren große Vakuolen sichtbar, das Cytoplasma verzog sich an die Zellwände und enthielt Chloroplasten (Abb. 1). Das innere Membransystem der Chloroplasten ist gut entwickelt, die Granumregionen – mit ihren eng aneinanderhaftenden Thylakoiden – grenzen sich von den Stromaregionen, wo die Thylakoiden frei stehen, gut ab. Die Zahl der lipidhaltigen Plastoglobuli ist durchschnittlich (Abb. 2). Im Cytoplasma ist auch die Struktur der Mitochondrien normal.

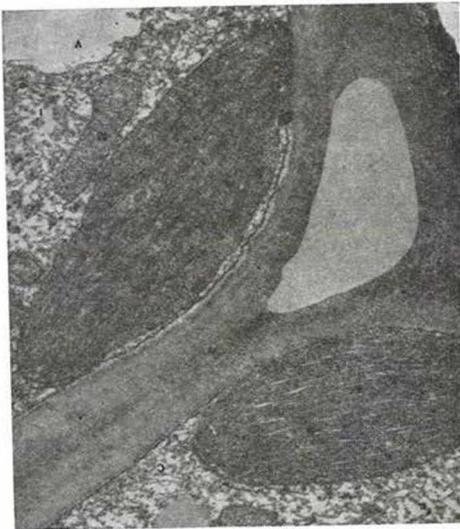


Abb. 1. Von der apikalen Region eines gesunden Nadelblattes entnommenes Parenchymgewebe, elektronenmikroskopische Aufnahme (2000 x) W Zellwand, V Vakuole, P Chloroplast, M Mitochondrium, C Cytoplasma

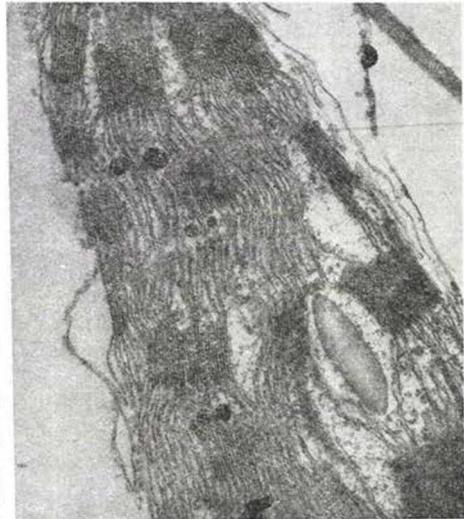


Abb. 2. Parenchymzelle aus Nadelblatt mit Chloroplasten, elektronenmikroskopische Aufnahme (65 000 x) W Zellwand, V Vakuole, C Cytoplasma, P Chloroplast, M. Mitochondrium

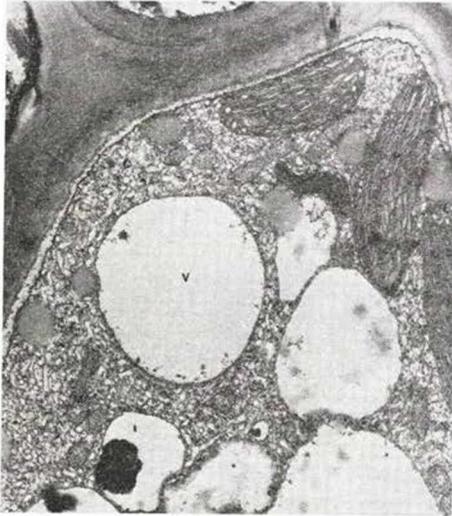


Abb. 3. Parenchymzellenteil mit Anfangszeichen der Schädigung in den Chloroplasten und im Cytoplasma, elektronenmikroskopische Aufnahme (15 000 x), V Vakuole, C Cytoplasma, P Chloroplast, M Mitochondrium

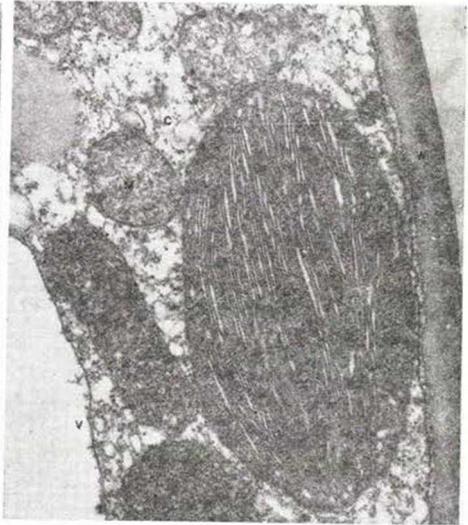


Abb. 4. Ultrastrukturelle Veränderungen in aus einem Luftraum von $0,75 \text{ mg/m}^3$ Konzentration stammenden Nadelblättern, elektronenmikroskopische Aufnahme (40 000 x) W Zellwand, V Vakuole, C Cytoplasma, P Chloroplast, M Mitochondrium

In einem Luftraum mit der Konzentration von $0,75 \text{ mg/m}^3 \text{ SO}_2$ die auch in Betrieben mit verunreinigtem Milieu vorkommt, können ultrastrukturelle Veränderungen insbesondere in den Chloroplasten wahrgenommen werden. Dies stimmt mit der Beobachtung von Malphotra (1976) überein. Das Anfangszeichen der Schädigung ist die allmähliche Ausdehnung (Dilatation) der Granumthylakoiden (Abb. 3, 4). Das Cytoplasma und die Mitochondriumstruktur scheinen noch normal zu sein, was darauf hinweist, daß die Zellenatmung sich wesentlich nicht vermindert hat. In vorgeschrittenerem Zustand der Schädigung kann eine allmähliche Destruktion der inneren Membransysteme der Chloroplasten beobachtet werden, die sich auch in der Verschwommenheit der Grenze der Granum- und Stromaregionen offenbart. In der Grundsubstanz des Cytoplasmas nehmen die voraussichtlich aus dem endoplasmatischen Retikulum stammenden Vesikuli zu und die Tubuli der Mitochondrien sind mehr verblaßter zu sehen (Abb. 5).

Bei der in den Experimenten zustande gebrachten extrem hohen Konzentration von $2,0 \text{ mg/m}^3 \text{ SO}_2$ ist die Ultrastruktur der Palisadenzellen zugrunde gegangen (Abb. 6). Eine solche Erscheinung ist die starke Strukturverzerrung des Cytoplasmas, seine abnormale Vakuolisierung, das Fehlen der Mitochondrien, die sich rauher gewordene Struktur der Chloroplasten und ihr zugrunde gegangenes Membransystem.

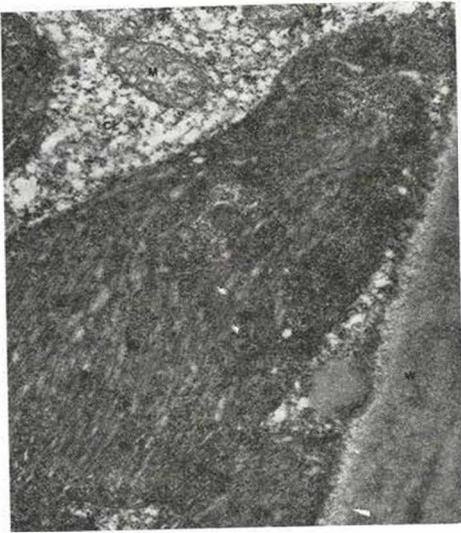


Abb. 5. Die Membrandestruktion and der Grenze der Granum- und Stromaregionen kann gut wahrgenommen werden, elektronenmikroskopische Aufnahme (55 000 x)
 W Zellwand, C Cytoplasma, P Chloroplast, M Mitochondrium

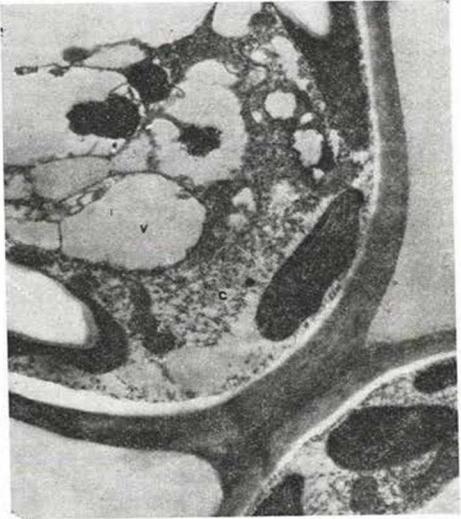


Abb. 6. Bei 1,0 mg/m³ SO₂ Konzentration geht die Ultrastruktur der Palisadenzellen zugrunde, elektronenmikroskopische Aufnahme (15 000 x), V Vakuole, C Cytoplasma, P Chloroplast, M Mitochondrium

Zusammenfassung

Es kann festgestellt werden, daß die Blätter des Kiefers mit Anhäufung des Schwefels, den an den Blättern erkennbaren morphologischen Schädigungen, ferner mit den im Plasma der Palisadenzellen vor allem in den Chloroplasten vor sich gehenden ultrastrukturellen Veränderungen auf den Schwefeldioxydgehalt der Luft empfindlich reagieren. Laut den in Inhalator durchgeführten Versuchen sowie der Untersuchung der eingesammelten Proben ist der Gesamtschwefelgehalt der einjährigen Blätter im Zusammenhang mit der Konzentration des Schwefeldioxyds der Luft. So kann auch daraus — auch unter Beachtung der Vegetationsperiode — quantitative auf die Verunreinigung des Schwefeldioxyds der Luft geschlossen werden. Die einjährigen Blätter von *Pinus silvestris* L. sind also geeignete biologische Indikatoren für die annähernde Bestimmung des Schwefeldioxydgehaltes der Luft.

Wir sprechen dem Staatsamt für Umwelt- und Naturschutz für die finanzielle Unterstützung der Forschung, unseren innigsten Dank aus.

SCHRIFTTUM

- D ä s s l e r, H. G. 1974. Einfluß von Luftverunreinigungen auf die Vegetation VEM G. Fischer Verlag, Jena
- G u d e r i a n, R. 1970. Untersuchungen über quantitative Beziehungen zwischen dem Schwefelgehalt von Pflanzen und dem Schwefeldioxydgehalt der Luft. Z. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz **77**: 200–289, 387.
- J ä g e r, H. J. – S t e u b i n g, L. 1970. Fraktionierte Schwefelbestimmung im Pflanzenmaterial zur Beurteilung einer SO₂-Einwirkung. Angew. Botanik **44**: 209–221.
- M a l p h o t r a, S. S. 1976. Effects of sulphur dioxide on biochemical activity and ultrastructural organization of Pine needle chloroplasts. New Phytol. **76**: 239–245.
- N y o m á r k a y, M. K. – S ü d i P. 1981. Szerves- és szulfátkén meghatározása növénymintákban ((Bestimmung von organischem und Sulphatschwefel in Pflanzenproben). Acta Pharmaceutica. Hung. **51**: 177–180.
- Z i n k e r n a g e l, H. 1958. Über den Wert der chemischen Bestimmungen des Schwefelgehaltes in Blättern bei Rauchschadendiagnosen. Schriftenreihe Ver. Wasser-Boden und Lufthygiene. Berlin–Dahlem **13**: 21.