

BIOCHEMISCHE EFFEKTE UND SYMPTOMENTWICKLUNG BEI
BUCHEN (*Fagus sylvatica* L.) UND NADELGEHÖLZEN
UNTER REALEN UND PROPORTIONAL ERHÖHTEN
OZONKONZENTRATIONEN

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt
von
Sabina Simons
aus
Pavullo nel Frignano (Italien)
April 1993

1. Berichterstatter: Prof. Dr.H.Sandermann

2. Berichterstatter:

Tag der mündlichen Prüfung:

INHALTSVERZEICHNIS:

I.	Einleitung	1
1.	Entwicklung der "Neuartigen Waldschäden"	1
2.	Vorkommen und Schadsymptome bei der Buche	2
3.	Bedeutung von Luftschadstoffen für die neuartigen Waldschäden	3
4.	Ozonbildung in der Troposphäre	4
5.	Ozonwirkung auf Pflanzen	5
6.	Streßinduziertes Ethylen	8
7.	Chronische Ozonbelastungen bei Bäumen und "Memory Effekt"	11
8.	Themenstellung	13
II.	Material und Methoden	15
1.	Pflanzenmaterial	15
1.1.	Langzeitversuch mit Buchen und Latschen	15
1.1.1.	Herkunft der Pflanzen	15
1.1.2.	Bodenanalyse und Düngung	16
1.2.	Versuche mit Fichtenkeimlingen	17
2.	Expositionseinrichtungen	18
2.1.	Langzeitversuch mit Buchen und Latschen	18
2.1.1.	Klimakammern (EPOKAs), Neuherberg	19
2.1.1.1.	Schadgasdosierung	20
2.1.1.2.	Lichtsystem	20
2.1.1.3.	Temperatur und Luftfeuchtigkeit	21
2.1.1.4.	Windgeschwindigkeit	21
2.1.1.5.	Bewässerung	22
2.1.2.	Semi-Open-Top-Kammern und Freiland, Schönenbuch	22
2.2.	Versuch mit Fichtenkleimlingen	23
3.	Behandlungen	23
3.1.	Langzeitversuch	23
3.1.1.	Zeitlicher Ablauf des Versuchs	23
3.1.2.	Verteilung der Pflanzen und Versuchsdesign	24
3.2.	Versuch mit Fichtenkeimlingen	25
4.	Qualität der Simulation im Langzeitversuch	25
5.	Biometrische Untersuchungen beim Langzeitversuch	28
5.1.	Austrieb von Buchen	28
5.2.	Zuwachsrates	28
5.3.	Blatt- und Nadelfärbung	28
5.4.	Blatt- und Nadelverlust	29
6.	Gaswechsellmessungen beim Langzeitversuch	29

7.	Ernteplan und Elementgehalte	30
7.1.	Langzeitversuch	30
7.2.	Versuche mit Fichtenkeimlingen	33
8.	Biochemische Untersuchungen	34
8.1.	Bestimmung von 1-Aminocyclopropan-1-Carbonsäure (ACC) und Malonyl-ACC	34
8.1.1.	Extraktion von ACC und MACC aus Buchenblättern und Latschennadeln	34
8.1.2.	Extraktion von ACC aus Kiefern- und Fichtennadeln	35
8.2.	Hydrolyse von MACC zu ACC	35
8.3.	Umwandlung von ACC zu Ethylen	35
8.4.	Gaschromatographische Bestimmung von Ethylen aus ACC	37
8.5.	Wiederfindungsrate von ACC in Blatt- und Nadelextrakten	39
8.6.	Ethylenentwicklung von Buchenblättern und Fichtenkeimlingen	39
8.7.	Bestimmung der freien Polyamine	40
8.8.	Freisetzung von Kationen und Fluorescein-Oxidation in Buchenblattscheiben	40
9.	Statistische Auswertung	41
III.	Ergebnisse	42
1.	Versuchsaufbau des Langzeitversuches mit realen und proportional erhöhten Ozonkonzentrationen	42
2.	Ergebnisse des Langzeitversuches zur Ozonwirkung bei Buchen	48
2.1.	Austriebsverhalten und Zuwachsrates	48
2.2.	Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit	51
2.2.1.	Netto-Photosynthese von Buchen in den Klimakammern	51
2.2.2.	Stomatäre Leitfähigkeit von Buchen in den Klimakammern	53
2.2.3.	Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit 3-jähriger Buchen unter Bergklima (Klimakammern)	53
2.2.4.	Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit der Buchen in den Open-Top-Kammern und im Freiland	55
2.3.	Freisetzungsraten von Kalium, Magnesium, Calcium aus Blattscheiben	56
2.3.1.	Freisetzungsraten bei 3-jährigen Buchen	56
2.4.	Dichlorfluorescindiaceat-Test (FDA)	58
2.4.1.	Dichlorfluorescindiaceat-Test (FDA) an 3-jährigen Buchen	58
2.5.	Ethylenbiosynthese in Buchen	60
2.5.1.	ACC- und MACC-Gehalte bei 3-jährigen Buchen	60
2.5.2.	ACC- und MACC-Gehalte bei 5-jährigen Buchen	63
2.6.	Polyamingehalt bei Buchen	64
2.7.	Ozoninduzierte Symptomentwicklung	66
2.7.1.	Ozonabhängige Symptome bei 3-jährigen Buchen	66
2.7.2.	Ozonabhängige Symptome bei 3-jährigen Buchen im Bergklima	71
2.7.3.	Ozonabhängige Symptome bei 5-jährigen Buchen	72
2.8.	Verlauf des Blattfalls	73
2.8.1.	Blattfall bei 3-jährigen Buchen	73
2.8.2.	Blattfall bei 5-jährigen Buchen	75
2.9.	Austriebsverhalten und Zuwachsrates im Folgejahr nach der Behandlung	76
2.9.1.	Austriebsverhalten und Zuwachs der 3-jährigen Buchen	76
2.10.	ACC- und MACC-Gehalt im Folgejahr nach der Behandlung	79
2.10.1.	ACC- und MACC-Gehalt bei 3- und 5-jährigen Buchen	79

3.	Ergebnisse des Langzeitversuches zu Ozonwirkungen bei Latschen	80
3.1.	Zuwachsrates bei Latschen	80
3.2.	ACC- und MACC-Gehalte bei Latschen	81
3.3.	Ozonabhängige Symptomentwicklung bei Latschen	83
3.4.	Nadelfall bei Latschen	85
4.	Ozonabhängige Ethylenentwicklung, ACC- und MACC-Gehalte bei Fichtenkeimlingen	86
4.1.	Vierwöchige Behandlung	86
4.1.1.	Nadelkränze	86
4.1.2.	Wurzeln	89
4.2.	Kurzzeitbehandlung	91
4.2.1.	Kinetik der Ethylenbiosynthese-Parameter bei einmaliger Ozonbehandlung	91
4.2.1.	Kinetik der Ethylenbiosynthese-Parameter nach 2 oder 18 Tagen Ozonbehandlung	92
4.3.	Untersuchungen zur Ethylenbiosynthese bei 600nL L ⁻¹ Ozon nach Vorinkubation bei 300nL L ⁻¹ Ozon	95
IV.	Diskussion	97
1.	Simulation von Freiland-Ozonkonzentrationen in Klimakammern	97
2.	Vergleich zwischen den Klimakammern, Open-Top-Kammern und dem Freiland	100
3.	Wirkungen von Ozon auf Buchen und Latschen	101
3.1.	Entwicklung ozonabhängiger Symptome	102
3.2.	Verfrühter Blattfall und Nacheffekte	104
3.3.	Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit	107
3.4.	Freisetzung von Kationen aus Blattscheiben	109
3.5.	Ozoninduzierte Ethylenbiosynthese	110
3.6.	Schwellenwerte für Ozon bei Buchen	115
3.7.	Ozonempfindlichkeit der Latsche	117
4.	Einfluß von Ozon unter simuliertem Bergklima	117
V.	Zusammenfassung	118
VI.	Literaturverzeichnis	121
	Anhang	131

I. EINLEITUNG

1. Entwicklung der "Neuartigen Waldschäden"

Vor zehn Jahren wurde von Haber (1983) im Rat der Sachverständigen für Umweltfragen der Begriff "neuartige Waldschäden" geprägt. Darunter wurde eine Vielzahl von Symptomen wie Vergilbung, vorzeitige Entnadelung und verfrühter Blattfall bis zu einem Absterben der Baumspitze oder der Endäste der Baumkrone zusammengefaßt, die großflächig und an mehreren Baumarten in kurzer Zeit aufgetreten waren. Die Erscheinung dehnte sich geographisch nicht nur in Deutschland, sondern in ganz Europa aus. Ähnliche Symptome wurden auch in Nordamerika beobachtet. Die ersten schwerwiegenden Schäden wurden an Tannen (*Abies alba* L.) festgestellt, dann an Fichten (*Picea abies* L.) und Kiefern (*Pinus sylvestris* L.) und schließlich an Buchen (*Fagus sylvatica* L.) und Eichen (Forschungsbeirat Waldschäden/Luftverunreinigungen der Bundesregierung und der Länder, 1986). Zur Erfassung der Erkrankung und ihrer Entwicklung wurden zunächst Dauerbeobachtungsflächen eingerichtet und ab 1983 großräumige Stichprobeninventuren durchgeführt (Forschungsbeirat Waldschäden/Luftverunreinigungen der Bundesregierung und der Länder, 1989). Die jährlichen Waldschadenserhebungen, die sich auf den prozentualen Blatt- oder Nadelverlust und auf Blatt- oder Nadelverfärbungen stützten (Blank et al., 1988), lieferten seitdem die Datenunterlagen über den Zustand des Waldes und der einzelnen forstwirtschaftlich bedeutenden Baumarten in der Bundesrepublik Deutschland. Die Waldschadenserhebung von 1989 zeigte, daß sich seit 1986 der Zustand von Fichte, Tanne und Kiefer verbessert hatte, der von Buchen und Eichen sich aber regional begrenzt verschlechterte. Bei Eiche und Buche wurde in den Jahren 1988 und 1989 ein erhöhter Befall auch durch biotische Schadorganismen (Buchenspringrüßler und Eichenwickler) beobachtet, der zu der erhöhten Schädigung dieser zwei Laubbäumen

beigetragen hat (Forschungsbeirat Waldschäden/Luftverunreinigungen der Bundesregierung und der Länder, 1989). Bei einer Anhörung des bayerischen Landtags im Jahre 1991 (Bayerischer Landtag, 1991) wies Krapfenbauer darauf hin, daß bei Nadelbäumen keine weitere Schadenszunahme beobachtet wurde, während bei Buchen und Eichen weiterhin eine Verschlechterung zu verzeichnen war. Rehfuß und Haemmerli (Bayerischer Landtag, 1991) machten darauf aufmerksam, daß von einem "Waldsterben" im Sinne eines flächigen Zusammenbruchs von Wäldern nicht gesprochen werden kann, sahen jedoch in der zunehmenden Kronenverlichtung besonders bei der Fichte und vor allem in den Höhenlagen ein offenes Problem.

2. Vorkommen und Schadsymptome bei der Buche

Die Buche (*Fagus sylvatica* L.) ist die in Mitteleuropa am weitesten verbreitete Laubbaumart. Allein in Deutschland bestehen 20 % der Waldfläche aus Buchenwäldern (Schütt et al. 1992). Neben Mitteleuropa, wo sie besonders die Ebenen und die mittleren Höhenlagen der Gebirge besiedelt, fasst sie auch in den südlichen Teilen der skandinavischen Halbinsel, in England und in den höheren Lagen Italiens und Griechenlands Fuß. In der Schweiz ist die Buche im grössten Teil des Mittellandes und in sämtlichen Tälern der Alpennordseite weit verbreitet. In den Nordalpen kommt sie bis zu Höhenlagen von 1600m, in den Südalpen bis 1800m vor. Die Buche ist eine Schattenbaumart mit langsamer Jugendentwicklung, später Zuwachskulmination und sehr lang anhaltender Zuwachsleistung. Sie benötigt ausreichend feuchtes und relativ wintermildes Klima (Minimum: 500-600 mm Jahresniederschläge). Obwohl weitgehend unabhängig von der geologischen Unterlage, dem Säuregrad und dem Humuszustand des Bodens, liegt ein Verbreitungsschwerpunkt in Kalkgebieten (Jura, Nordalpen). Ihr Wuchsoptimum wird in mittel- bis tiefgründigen, frischen, nährstoff- und basenreichen, lockeren Lehm Böden (Braunerden) erreicht; empfindlich ist sie gegen Wechselfeuchte und Staunässe, Spät- und extreme Winterfröste sowie Dürre (Schütt et al., 1992).

Zu Beginn der achtziger Jahre wurden bei Buchen eine Reihe von Schadsymptomen beobachtet (Forschungsbeirat Waldschäden/Luftverunreinigungen der Bundesregierung und der Länder, 1989). Diese bezogen sich sowohl auf die Farbe und Morphologie der Blätter als auch auf das Gesamtbild des Baumes. Bei den Blättern wurden Gelb- und Braunverfärbungen bis hin zu nekrotischen Blatteilen sowie ein Einrollen und eine Verkleinerung der Blätter beobachtet. Außerdem wurde ein erhöhter Blattverlust festgestellt, einhergehend mit einer Verlichtung der Baumkrone und verzögertem Austreiben im Frühjahr. Die seit 1983 in Deutschland jährlich erhobenen Daten über den Zustand der Buchen, zeigten eine starke Verschlechterung des Zustands bis 1987; danach nahmen die Schäden regional begrenzt zu. Zech wies sogar auf eine Verbesserung des Zustand der Buche in den tieferen Lagen des Fichtelgebirges hin (Bayerischer Landtag, 1991). Die regionale Verschlechterung des Schadbildes der Buchen wurde, wie schon oben erwähnt, von einem verstärkten Insektenbefall, vor allem durch den Buchenspringgrübler (*Rhynchaenus fagi*) mitgeprägt.

3. Bedeutung von Luftschadstoffen für die neuartigen Waldschäden

Es wird heute allgemein angenommen, daß die "neuartigen Waldschäden" von einem sehr komplexen Wirkungsgefüge verursacht sind. Dabei ist weitgehend akzeptiert, daß Luftschadstoffe eine wichtige Rolle spielen, wobei der Wirkort für sichtbare Schäden auf unterschiedlichen Ebenen angenommen werden kann (Bayerischer Landtag, 1991). Der mögliche Ferntransport von Luftschadstoffen könnte die geographische Ausweitung der Waldschäden erklären. Luftschadstoffe und Witterung (Prinz und Krause, 1989; Schulze und Lange, 1990) oder Nährstoffungleichgewichte (Flückiger, 1988) können als mögliche prädisponierende Faktoren wirken, die zu einer Schwächung der Pflanzen und damit einer erhöhten Anfälligkeit gegenüber Schädlingen, Trocknis und Frost führen können. Die

wichtigsten Luftschadstoffe mit überregionaler Bedeutung sind Schwefeldioxid, Stickoxide sowie Photooxidantien, bei letzteren vor allem Ozon.

Ozon ist heute unter den bekannten Luftschadstoffen der am weitesten verbreitete (Lefohn, 1992; Heck et al., 1988). Im Jahresmittel sind die heutigen Ozonkonzentrationen 2-3mal höher, während der Vegetationsperiode sogar 4-6mal höher als vor hundert Jahren (Flückiger, 1988). Die ansteigenden Ozonkonzentrationen (jährlich 1-2 %), die seit den 50er Jahren in der unteren Atmosphäre festgestellt wurden (Enquete-Kommission, 1989), stellen für Pflanzen eine chronische Belastung dar.

Auf Grund der Korrelation zwischen geographischer Verteilung der neuartigen Waldschäden und der gemessenen erhöhten Ozonwerte wurde eine Beteiligung von Ozon an der Entstehung dieser Schäden postuliert. Prinz und Krause (1989) und Osswald und Elstner (1986) wiesen insbesondere darauf hin, daß erhöhte Ozonkonzentrationen in den sogenannten Reinluftgebieten in Höhenlagen über 800 m vorkommen, und diese Lage geographisch mit dem Auftreten der stärksten Waldschäden übereinstimmt.

4. Ozonbildung in der Troposphäre

Ozon entsteht in der unteren Troposphäre durch Reaktion von Luftsauerstoff mit einem durch Photolyse aus NO_2 abgespaltenen O-Atom (Becker, 1990). Die schnelle Reaktion des entstandenen NO zu NO_2 , z.B. über eine Umsetzung mit Peroxyradikalen (RO_2 bzw. HO_2) und Wiederholung der Reaktionsschritte ermöglicht die Akkumulation von Ozon. Peroxyradikale (RO_2 bzw. HO_2) entstehen durch Reaktion flüchtiger organischer Verbindungen mit photolytisch entstandenen OH-Radikalen und anschließender Anlagerung von Luftsauerstoff. RO_2 -Radikale reagieren je nach vorliegenden Konzentrationsverhältnissen entweder miteinander unter Entstehung von H_2O_2 , oxidieren NO zu NO_2 oder reagieren mit NO_2 zu

Peroxyacetylnitrat (PAN). Gleichzeitig kann NO direkt mit Ozon reagieren. Da Ozon über photochemische Prozesse gebildet wird, korrelieren erhöhte Ozonkonzentrationen mit hoher Sonnenstrahlung und hohen Temperaturen, wie sie bei Hochdruckwetterlagen zu beobachten sind. Das heißt, daß besonders im Sommerhalbjahr die Bedingungen für vermehrte photochemische Umsetzungen immissionsbedingter Vorläufer und damit für hohe Ozonwerte vorliegen.

5. Ozonwirkung auf Pflanzen

Ozon als gasförmige Verbindung gelangt durch die Spaltöffnungen in das Blatt- oder Nadelinnere (Laisk et al., 1989). Im Blattgewebe zerfällt Ozon spontan, sobald es mit der wässrigen Phase der Interzellularräume in Berührung kommt (Hock und Elstner, 1988). Der Apoplast, den Interzellularraum und die Zellwände umfassend, stellt den ersten Angriffsort für Ozon dar. Es können sich unter anderem Hydroxylradikale bilden, die wegen ihrer hohen Reaktivität mit organischen Verbindungen weiter reagieren und zur Entstehung weiterer Radikale führen (Peroxyradikale und Ozonide) (Heath, 1988a). Reaktive Sauerstoffspezies entstehen aber auch als Nebenprodukte des normalen Elektronentransportes in Chloroplasten und Mitochondrien, bei dem enzymatischen Lipidabbau sowie bei Redox-Reaktionen an der Plasmamembran (Hock und Elstner, 1988). Die Pflanze schützt sich vor diesen reaktiven Verbindungen mit einer Reihe biochemischer Abwehrmechanismen. Dabei wirken niedermolekulare Stoffe wie Ascorbat, Glutathion und α -Tocopherol als radikalfangende Substanzen und Enzyme wie Superoxid-Dismutase, Katalase, Ascorbat-Peroxidase und Glutathion-Reduktase sind in der Lage, aktivierte Sauerstoffspezies umzusetzen (Elstner, 1987; Bowler et al., 1992). Erhöhte Mengen an Ozon könnten zu einer Zerstörung von Schlüsselmolekülen, zu einer Überflutung der Reparaturmechanismen (Stegmann et al., 1991) und schließlich zu sichtbaren Schädigungen führen (Hock und Elstner, 1988). Ozon selbst oder die entstehenden Folgeprodukte können leicht oxidierbare Verbindungen wie ungesättigte Fettsäuren

des Plasmalemmas oder SH-Gruppen von Cystein und Methionin in membrangebundenen Proteinen, angreifen und deren molekulare Struktur ändern (Heath, 1988a). Untersuchungen an ozonbehandelten Pflanzen zeigten die Induktion von Schutzsubstanzen mit radikalfangenden Eigenschaften wie Polyphenolen (Bors et al., 1990) oder konjugierten Polyaminen (Dohmen et al., 1990; Langebartels et al., 1991a). Des weiteren konnten strukturelle (Booker et al., 1991) sowie biochemische (Sandermann et al., 1989) Veränderungen der Zellwand beobachtet werden, wie z.B. die Einlagerung von Lignin, Callose und Extensin. Rosemann et al. (1991) zeigten in Kiefern eine schnelle Induktion von Pinosylvin und Pinosylvin 3-Methyläther. Diese Stilbene werden zu den Phytoalexinen gerechnet, also Stoffen, die einer Pathogenabwehr dienen.

Ozon kann auf verschiedene Organisationsebenen der Pflanze einwirken: im subzellulären Bereich, auf Zellen und Gewebe, Organe, und schließlich auf die Pflanze als Gesamtsystem (Günthardt-Goerg et al., 1991). Bei krautigen Pflanzen sind Wachstumsstörungen und Ertragseinbußen infolge erhöhter Ozonkonzentrationen im Freiland, vor allem aus den USA, seit langem bekannt (Heggestad, 1991). Bei Bäumen wurde die schädigende Wirkung von Ozon hauptsächlich bei Studien in Open-Top-Kammern festgestellt. Reich (1987) zeigte, daß die Ozonempfindlichkeit von krautigen Pflanzen über Laubgehölze zu Nadelbäumen abnimmt. Werden die Effekte jedoch auf die Lebensdauer der Blätter oder Nadeln bezogen, so ergibt sich eine erstaunliche Übereinstimmung der Empfindlichkeit.

Für die Untersuchung von Ozoneffekten auf Bäume wurden Anfang der '80 Jahre hauptsächlich Nadelbäume verwendet, insbesondere Fichten (Prinz et al., 1982 ; Keller und Häsler, 1987; Reich, 1987; Guderian et al., 1988a). Unter den Laubbäumen wurden bevorzugt Pappelarten (*Populus interamericana*; Guderian et al., 1988b), (*Populus tremuloides*; Keller, 1988) und Birke (*Betula pendula*; Günthardt-Georg et al., 1991; Reich, 1983) untersucht, die sich bezüglich Ozon für grundlegende Untersuchungen geeignet erwiesen. Es konnte festgestellt werden, daß

chronische Ozonbelastungen von 85 und 120 nL L⁻¹ Ozon bei einem Pappelklon (*Populus deltoides* x *trichocarpa*) zu einer Abnahme der Netto-Photosynthese und des Chlorophyllgehaltes führten (Reich, 1983). Auch Birkenklone reagierten auf ähnliche Ozonwerte (75 und 100 nL L⁻¹) mit einer erniedrigten Photosynthese (Matyssek et al., 1991). Weiterhin wurden Ozoneffekte auf Ahorn (*Acer platanoides*) und Eiche (*Quercus robur*) untersucht (Krause und Prinz, 1989). Diese zeigten, daß Ozonkonzentrationen von 50 bzw. 100 nL L⁻¹ über 5 bzw. 6 Wochen zu latente Schädigungen führten, mit Verfärbungen der Blätter und Abnahme der Chlorophyllgehalte. Untersuchungen an ozonbehandelten Buchen wurden erstmals 1984 von Krause und Prinz durchgeführt (Krause und Prinz, 1989). Ozonkonzentrationen von 50 nL L⁻¹ über 25 Tage reichten aus, um bei 5-jährigen Buchen Nekrosen hervorzurufen. Guderian et al. (1990) konnten bei 3-jährigen Buchen nach 18wöchiger Behandlung mit 45 nL L⁻¹ Ozon eine Bronzeverfärbung der Blätter, einen erniedrigten Stärkegehalt sowie einen verfrühten Blattfall feststellen. Versuche in Open-Top-Kammern mit Buchenkeimlingen zeigten eine durch Ozon verursachte Wachstumshemmung und eine erhöhte Frostempfindlichkeit (Flückiger, 1988). Leonardi et al. (1990) zeigten, daß 2-jährige Buchen bei 75 nL L⁻¹ Ozon nach einer Behandlungswoche mit einer transienten Erhöhung der stomatären Leitfähigkeit und anschließend mit einer deutlich verringerten Netto-Photosynthese reagierten. Zusätzlich war der Blattfall in Abhängigkeit von der Ozondosis bis zu zwei Wochen verfrüht (Leonardi et al., 1990).

Vergleichende Untersuchungen mit mehreren Baumarten in Klimakammern zeigten an Hand von sichtbaren Symptomen und Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel, daß Buchen im Vergleich zu Kiefern weniger empfindlich, im Vergleich zu Fichten und Weisstannen jedoch bei deutlich niedrigeren Ozonkonzentrationen reagierten (Landolt und Lüthy-Krause, 1991).

6. Stressinduziertes Ethylen

Bei Untersuchungen an krautigen Pflanzen und Bäumen wurde festgestellt, daß durch Ozon biochemische und physiologische Änderungen induziert werden, die denen bei vorzeitiger Seneszenz ähneln (Grandjean und Fuhrer, 1989). Dazu gehören Membranänderungen (Keitel und Arndt, 1983), erhöhte Lipidperoxidation (Pauls und Thompson, 1980), Abnahme des Chlorophyllgehalts (Bender et al., 1990) und der Netto-Photosynthese (Reich et al., 1986 a, b; Guderian et al., 1990; Matyssek et al., 1991), erhöhte lytische Enzymaktivitäten (Wolfenden et al., 1988; Langebartels et al., 1990) sowie Induktion der Ethylenbiosynthese (Tingey et al., 1976; Wolfenden et al., 1988; Langebartels et al., 1991a; Telewski, 1992). Eine Rolle von Ethylen bei der Induktion von Seneszenzprozessen wurde an ethylenbehandelten Pflanzen bestätigt. Diese zeigten nach der Behandlung verminderte Protein-, Stärke und Chlorophyllgehalte (Mattoo und Aharoni, 1988). Die Induktion der Aktivität lytischer Enzyme, unter anderem Cellulase, durch Ethylen ist seit längerer Zeit bekannt (Abeles, 1969). Ethylen als Vermittler von Streßreaktionen wurde mehrfach diskutiert. Eine frühe Induktion von β -1,3-Glucanase, Chitinase und anderen "pathogenesis-related proteins" wurde von Vera und Conjero (1990) bei Ethephon-behandelten Tomaten-Blattscheiben (*Lycopersicon esculentum*), von Takeuchi et al. (1990) bei ethylenbehandelten Sojakotyledonen (*Glycine max*) und von Campillo und Lewis (1992) bei ethylenbehandelten Bohnenblättern (*Phaseolus vulgaris*) festgestellt. Mauch et al. (1984) konnten andererseits die Induktion von Chitinase und β -1,3-Glucanase nicht mit der Ethylenentwicklung bei infizierten Erbsenpflanzen (*Pisum sativum*) korrelieren. Boller (1988) beschreibt Ethylen als "tonic factor", um dessen verstärkende, aber nicht ausschließliche Wirkung bei der Auslösung von Abwehrmechanismen zu charakterisieren. Ecker und Davis (1987) zeigten bei Pathogen-Befall eine durch Ethylen induzierte Zunahme von mRNA für Enzyme des Phenylpropanstoffwechsels (Phenylalanin-Ammonium Lyase (PAL) und 4-Cumarat:CoA Ligase) und des Flavonoidstoffwechsels (Chalconsynthase).

Untersuchungen von Ke und Saltveit (1989) an *Lactuca sativa* schlossen andererseits eine Induktion der PAL durch Ethylen bei Verwundung aus.

Die Bildung von Ethylen geht von der Aminosäure Methionin aus (Abb.1). Der direkte Vorläufer von Ethylen ist 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure (ACC), das aus S-Adenosylmethionin (SAM) mit Hilfe der ACC-Synthase entsteht (Theologis, 1992). ACC wird in Gegenwart von Sauerstoff durch ACC-Oxidase, zu Ethylen umgewandelt.

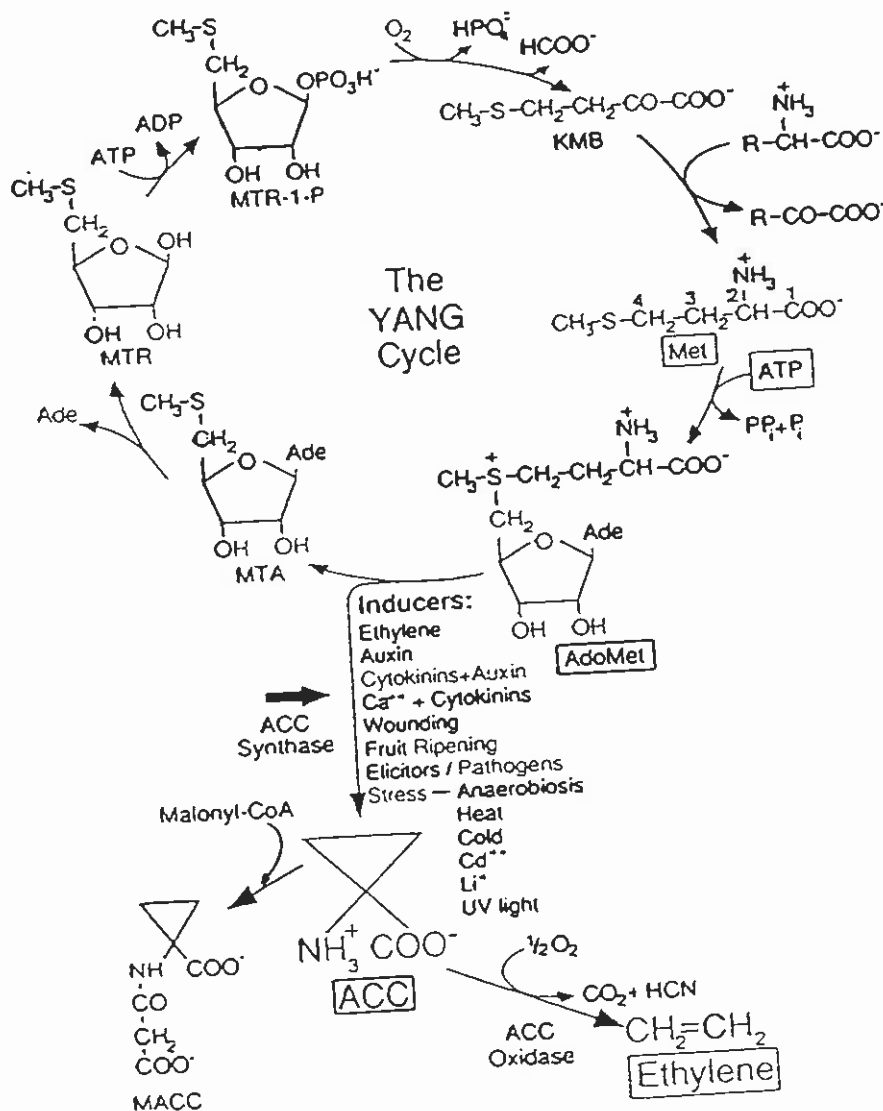


Abb. 1: Ethylenbiosynthese bei Pflanzen.
 AdoMet, S-Adenosyl-L-Methionin; ACC, 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure;
 KMB, 2-Keto-4-Methylthiobutyrat; MACC, Malonyl-ACC; MTA, 5'-
 Methylthioadenosin; MTR, 5'-Methylthioribose; MTR-1-P, MTR-1-Phosphat (aus
 Theologis, 1992).

Boller (1988) und Theologis (1992) sehen in der ACC-Synthese den regulierenden Schritt der Ethylenbiosynthese. Untersuchungen an *Phytophthora infestans* infizierten Tomatenblättern zeigten einen bedeutenden Ethylenanstieg innerhalb 30 h, wobei nach 24 h die ACC-Synthase-Aktivität um das 60fache, die ACC-Oxidase-Aktivität nur um das 3fache zugenommen hatte (Boller, 1988). Bei Elicitorbehandlung stellte die Induktion der ACC-Synthase auf Ebene der Translation die schnellste Enzyminduktion dar (Chappell et al., 1984; Ecker und Davis, 1987). Gleichermaßen wurde die ACC-Synthase in Tomaten durch Wundreiz induziert (Acaster und Kende, 1983; Sato und Theologis, 1989). Die Kodierung der ACC-Synthase erfolgt über eine Multi-Gen-Familie (Theologis, 1992), wobei je nach Reiz unterschiedliche Gene stimuliert wurden (Van der Straeten et al., 1990).

Die Charakterisierung der ACC-Oxidase hat seit 1990 große Fortschritte gemacht. In diesem Jahr war von Ververidis und John (1990) festgestellt worden, daß ein Gen in der Tomate eine Peptidkette der ACC-Oxidase codiert, welche große Ähnlichkeit mit der Flavanon-3-Hydroxylase besitzt (Hamilton et al., 1990). Daraus ergaben sich die geeigneten Reaktionsbedingungen, nämlich nach Extraktion in sauerstofffreier Umgebung die Bestimmung der Enzymaktivität in Anwesenheit von Ascorbat und Fe^{2+} -Ionen. Wegen der im Reifeprozess sehr stark erhöhten Ethylenproduktion wurden bislang zur Charakterisierung der ACC-Oxidase Fruchtschalen (Mesocarp) von Melone (*Cucumis melo*), Avocado (*Persea americana*) und Apfel (*Malus domestica*) verwendet (Smith et al., 1992; McGarvey und Christoffersen, 1992; Dong et al., 1992).

ACC kann entweder zu Ethylen oxidiert oder zu N-Malonyl-Aminocyclopropan-1-carbonsäure (MACC) malonyliert werden (Hoffman et al., 1982; siehe Abb.1). Fuhrer-Fries (1985) und Skorupka (1985) stellten eine Akkumulation von MACC bei verwundeten Erbsen- und mit Trockenstreß behandeltem Weizen fest. Fuhrer (1985) konnte bei Untersuchungen von Nadeln geschädigter und nicht geschädigter Tannen aus dem Freiland eine Beziehung zwischen dem Schädigungsgrad und der

Ethylenemission sowie dem ACC- und MACC-Gehalt feststellen. Gesunde Nadeln zeigten geringe Ethylenemissionen sowie ACC- und MACC-Gehalte. Bäume höherer Schadstufen, deren Nadeln nicht gelb gefärbt, aber kürzer waren, produzierten höhere Ethylenmengen und hatten höhere ACC- und MACC-Gehalte. Bäume, die einen erhöhten Nadelfall aufwiesen, zeigten parallel einen Chlorophyllabbau und eine erhöhte Ethylenemission. Die Behandlung von Fichten mit saurem Regen führte zu sichtbaren Schädigungen, begleitet von erhöhten Ethylenemissionen und einer Akkumulation von ACC (Chen und Wellburn, 1989). Erhöhte Ethylenemissionen wurden auch im Freien festgestellt, bei Fichten die in mit Ozon und saurem Regen belasteten Gebieten wuchsen (Wolfenden et al. 1988). Weitere Untersuchungen, insbesondere Dosis-Effekt-Studien zur ozoninduzierten Ethylenbiosynthese und zu ACC- und MACC-Gehalten bei Bäumen, sind bisher nicht durchgeführt worden.

7. Chronische Ozonbelastungen bei Bäumen und "Memory Effekt"

Als chronische Ozonbelastungen werden langandauernde Behandlungen mit subletalen Ozondosen verstanden, die ein Ausbleichen, Vergilben oder sonstiges Verfärben von Blättern oder Nadeln verursachen. Langebartels et al. (1990) untersuchten die Auswirkung einer mehrwöchigen Ozonbelastung mit 150 und 300 nL L⁻¹ Ozon auf Kiefer und Fichte. Diese Werte entsprechen zwei- bis vierfachen Ozonkonzentrationen im Sommer. Es zeigte sich, daß bei Kiefern Chlorosen und ein verfrühter Nadelfall bei älteren Nadeljahrgängen schon während der Behandlung eintraten, bei den jüngsten mit Ozon belasteten Jahrgängen aber erst ein Jahr nach der Behandlung während der Phase herbstlicher Seneszenz. Bei den Fichten bildeten sich chlorotische Verfärbungen und bei Vorbehandlung mit mehr als 300 nL L⁻¹ Ozon chlorotische Bänderungen ("mottling") im Frühjahr des folgenden Jahres aus. Diese späte Entwicklung sichtbarer Symptome setzt in der Pflanze biochemische Reaktionen voraus, die dazu führen, daß die Pflanze sich an frühere Ozonbelastungen "erinnern"

kann. Das Auftreten der Schäden im Neuaustrieb könnte als Folge der Summierung latenter Wirkungen erklärt werden (Guderian et al., 1988b). Eine weitere Möglichkeit ist die Translokation oder Freisetzung ozoninduzierter toxischer Substanzen aus der Vakuole. Um das späte Auftreten von ozonverursachten Symptomen zu beschreiben wurde von Sandermann et al. (1990) der Begriff "Memory-Effekt" geprägt. Ein Vergleich mit SO₂- und NO₂-behandelten Fichten zeigte, daß die verspäteten Symptome nur im Falle einer Behandlung mit Ozon auftraten (Langebartels et al., 1990). Lucas (1989) stellte ebenfalls eine Symptomentwicklung in Form von Chlorosen bei *Picea sitchensis* im vierten Jahr nach einer 3-jährigen Ozonbehandlung (70 nL L⁻¹) fest. Erst nach einer zweijährigen Ozonbehandlung (40 und 80 nL L⁻¹) konnten Guderian et al. (1988a) in der Fichte eine Abnahme der Biomasseproduktion beobachten, begleitet von einer reduzierten Photosynthesekapazität und einer geänderten Assimilatverteilung. Eine reduzierte Biomassenproduktion ergab sich in *Pinus taeda* nach 3-jähriger Ozonbehandlung (Edwards et al., 1992). In Fichte und Tanne stellten Bender et al. (1989) nach zweijähriger Ozonbehandlung reduzierte Photosynthesekapazitäten und erhöhte Peroxidase- und Glutamatdehydrogenase-Aktivitäten fest.

Bei Langzeitexpositionen wurden bisher hauptsächlich Nadelbaumarten untersucht. Für Laubbäume liegen Daten meist über amerikanische Arten wie Esche (*Fraxinus pennsylvanica*), Aspe (*Populus tremuloides*), *Robinia pseudoacacia* und Tulpenbaum (*Liriodendron tulipifera*) vor, wobei eine durch die Ozonbehandlung verursachte Abnahme der Biomasse und ein reduziertes Höhenwachstum festgestellt wurde (Pye, 1988). Effekte einer langdauernden Ozoneinwirkung auf Buche wurden bisher nur selten untersucht.

8. THEMENSTELLUNG

Ozonwerte im Freiland zeigen ein typisches Profil während des Jahres, mit Maxima in der Vegetationsperiode und an Tagen mit hoher Sonneneinstrahlung. Bei Arbeiten in unserem Institut (Langebartels et al., 1990) wie auch in der Literatur (Reich, 1987; Heck et al., 1988) wurden dagegen bisher fast ausschließlich konstante erhöhte Ozonkonzentrationen zur Behandlung verwandt, ohne eine exakte Simulation der Ozon- und Klimawerte. Ziel dieser Arbeit war nun, Untersuchungen an Buchen über die Dauer einer gesamten Vegetationsperiode bei realen und proportional erhöhten (1,5x und 2x) bzw. erniedrigten (0,15x) Ozonkonzentrationen durchzuführen. Parallel dazu sollte die Ozon-Toleranz von Latschen bei proportional erhöhten (2x) Ozonkonzentrationen untersucht werden.

Für eine genaue Simulation eines realen Ozonprofils boten sich die Expositionskammern des Instituts an. Eine Annäherung an Freilandbedingungen sollte aus simultanen Studien an Bäumen gleichen Alters und gleicher Vorkultur resultieren, die in Klimakammern, Open-top-Kammern sowie im Freiland vorgenommen wurden.

Schadstoffe können auf verschiedene Organisationsebenen der Pflanze einwirken: im subzellulären Bereich (Zellinhaltsstoffe, Enzymsysteme), auf Zellen und Gewebe, Organe (Blatt, Stamm, Wurzel) und, diese Ebenen zusammenfassend, auf die Pflanze als Gesamtsystem. Im Laufe der hier beschriebenen Versuche sollten Daten auf diesen unterschiedlichen Ebenen erhoben werden, wobei der Schwerpunkt der Arbeit neben einer Analyse von Wachstumsveränderungen und Symptomausbildungen auf möglichen biochemischen Mechanismen für Ozonschäden bei Bäumen liegen sollte. Dazu wurden insbesondere Parameter des Ethylenstoffwechsels über die gesamte Versuchsdauer gemessen. Parallel sollten Änderungen in der Permeabilität der Zellmembran festgestellt werden; regelmäßige Gaswechsellmessungen und Bestimmungen von Wachstumsparametern sowie eine

Beschreibung der Symptomentwicklung bis zum Blattfall sollten die Verknüpfung von Streßbefunden auf den verschiedenen Organisationsebenen ermöglichen.

II. MATERIAL UND METHODEN

1. PFLANZENMATERIAL

1.1. Langzeitversuch mit Buchen und Latschen

1.1.1. Herkunft der Pflanzen

Einhundertdreißig 3- und zwanzig 5-jährige Buchen (*Fagus sylvatica* L.) sowie zwanzig 3-jährige Latschen (*Pinus mugo* Turra) aus dem Pflanzgarten Laufen der Bayerischen Landesanstalt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht wurden in Töpfen von 20 cm Durchmesser und 5 l Volumen eingetopft.

Die jeweiligen Baumarten wurden in folgende Bodensubstrate eingetopft:

3-jährige Buchen:	sandiger Lehm aus dem A-Horizont einer Rendzina Erde (Bayerischen Landesanstalt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht, Laufen).
5-jährige Buchen:	Mull-Rendzina Erde (Bayerischen Landesanstalt für forstliche Saat- und Pflanzenzucht, Laufen)
3-jährige Latschen:	Fruhstorfer Einheitserde Typ I (Industrie- Erdenwerk Archut) Perlit (Agriperl) im Verhältniss 2:1 (v/v)

Die durchschnittliche Höhe der Bäume betrug:

3-jährige Buchen	19.9 ± 0.9 cm (n=130)
5-jährige Buchen	48,0 ± 1.1 cm (n=20)
3-jährige Latschen	32,0 ± 1.5 cm (n=20)

während des Versuches mit Stickstoff
O₄], Mangan [MnSO₄ H₂O] und
: Mn 4 %, Fe 4 %, Cu 1.5 %, Zn 1.5
Co 0.05 %] gedüngt. Diese wurden in

Lösung vor...

26.3.1990	(NH ₄) ₂ SO ₄ , 20 mg N pro Topf
28.3.1990	Fetrilon combi, 60 mg pro Topf
1.6.1990	(NH ₄) ₂ SO ₄ , 45 mg N pro Topf
22.6.1990	KH ₂ PO ₄ +K ₂ SO ₄ , 160 mg K pro Topf
7.7.1990	KH ₂ PO ₄ +K ₂ SO ₄ , 160 mg K pro Topf
21.7.1990	(NH ₄) ₂ SO ₄ , 90 mg N pro Topf
21.7.1990	Fetrilon combi, 60 mg pro Topf
7.9.1990	MnSO ₄ H ₂ O, 10 mg Mn pro Topf

Die Düngungen wurden gleichzeitig in den Expositionskammern und in den Open-Top-Kammern vollzogen. Im Frühjahr 1991 nach Ende der Behandlung wurden von jeweils einem Topf pro Baumart die Bodensubstrate mit der NH₄Cl-Perkolations-methode analysiert (Hantschel, 1987). Getrocknete und gesiebte Erdproben (2,5g oder 1,25g, wenn Humusanteile vorhanden) wurden in mit Filter versehenen Spritzen eingefüllt und auf die Perkolationsanlage aufgesetzt. Die Perkolation dauerte 5h, wobei der regelmäßige Zufluß von 1M NH₄Cl für einen pH-Bereich von 4,1 bis 4,6 sorgte, der dem im Wurzelbereich entspricht. Vom erhaltenen Perkolat wurden pH und Elementgehalte bestimmt. Die Elementgehalte wurden von der "Zentralen Analytik" des GSF-Instituts für Ökologische Chemie unter der Leitung von Dr.Schramel untersucht. Mg und P wurden mit ICP (Inductively-Coupled-Plasmaemissionspektrographie) bestimmt; Ca, K, Mn mit DCP (Direct-Current-Plasma-Emissionsspektrographie; Schramel, 1988). In Tabelle 1 sind die erhaltenen Elementwerte dargestellt, wobei bei allen untersuchten Proben eine gute Versorgung mit Calcium, Kalium

1.1.2. Bodenanalyse und Düngung

Die Bäume wurden zu Beginn und während des Versuches mit Stickstoff $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$, Kalium $[\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4]$, Mangan $[\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ und Spurenelementen [Fetrilon combi, BASF: Mn 4 %, Fe 4 %, Cu 1.5 %, Zn 1.5 %, B 0.5 %, Mo 0.1 %, Mg 9 %, Co 0.05 %] gedüngt. Diese wurden in Lösung verabreicht.

26.3.1990	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 90 mg N pro Topf
28.3.1990	Fetrilon combi, 60 mg pro Topf
1.6.1990	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 45 mg N pro Topf
22.6.1990	$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4$, 160 mg K pro Topf
7.7.1990	$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{K}_2\text{SO}_4$, 160 mg K pro Topf
21.7.1990	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 90 mg N pro Topf
21.7.1990	Fetrilon combi, 60 mg pro Topf
7.9.1990	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 10 mg Mn pro Topf

Die Düngungen wurden gleichzeitig in den Expositions-kammern und in den Open-Top-Kammern vollzogen. Im Frühjahr 1991 nach Ende der Behandlung wurden von jeweils einem Topf pro Baumart die Bodensubstrate mit der NH_4Cl -Perkolutions-methode analysiert (Hantschel, 1987). Getrocknete und gesiebte Erdproben (2,5g oder 1,25g, wenn Humusanteile vorhanden) wurden in mit Filter versehenen Spritzen eingefüllt und auf die Perkolutionsanlage aufgesetzt. Die Perkolation dauerte 5h, wobei der regelmäßige Zufluß von 1M NH_4Cl für einen pH-Bereich von 4,1 bis 4,6 sorgte, der dem im Wurzelbereich entspricht. Vom erhaltenen Perkolat wurden pH und Elementgehalte bestimmt. Die Elementgehalte wurden von der "Zentralen Analytik" des GSF-Instituts für Ökologische Chemie unter der Leitung von Dr.Schramel untersucht. Mg und P wurden mit ICP (Inductively-Coupled-Plasmaemissionspektrographie) bestimmt; Ca, K, Mn mit DCP (Direct-Current-Plasma-Emissionsspektrographie; Schramel, 1988). In Tabelle 1 sind die erhaltenen Elementwerte dargestellt, wobei bei allen untersuchten Proben eine gute Versorgung mit Calcium, Kalium

und Magnesium festgestellt werden konnte. Außer bei 3-jährige Buchen der Filterluft-OTC war auch Mangan ausreichend vorhanden (Hartmann et al., 1988).

Tab. 1: Elementanalyse von Bodenproben aus jeweils einem Topf pro Baumart. Probenahme am 5.4.1991.

Element	Bodenprobe von:			
	Buchen	Buchen	Buchen	Latschen
	5-jährig	3-jährig	3-jährig	
	(0.15x)	(1.5x)	(Filterl.)	(0.15x)
Ca ($\mu\text{eq g}^{-1}$)	286	280	420	520
K ($\mu\text{eq g}^{-1}$)	11.59	10.66	4.02	22.97
Mg ($\mu\text{eq g}^{-1}$)	39.33	40.2	58.0	109.3
Mn ($\mu\text{eq g}^{-1}$)	1.51	0.35	0.038	6.25

Während des Versuches wurden Blätter, die mit Buchenblattbaumläusen (*Phyllaphis fagi* L.) befallen waren, mit Wasser und etwas Spülmittel abgewischt.

1.2. Versuche mit Fichtenkeimlingen

Die Fichtensamen (*Picea abies* [L.] Karst.) wurden von der Staatlichen Samenklänge und Pflanzschule in Laufen bezogen. Diese wurden in Kunststoffbehältern (23 x 7.5 x 5 cm) auf Perlit mit Ingestad-Nährlösung gezogen (Rosemann, 1990) und mit demineralisiertem Wasser versehen. Die Anzucht der Fichten erfolgte bei einer Luftfeuchtigkeit von 75 %, einer Temperatur von 22 / 17 °C, einer Lichtintensität von 60 mE m⁻² s⁻¹ und einer Lichtphase von 14 Stunden (von 6 Uhr bis 20 Uhr).

2. EXPOSITIONSEINRICHTUNGEN

2.1. Langzeitversuch mit Buchen und Latschen

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Angewandte Pflanzenbiologie (IAP), Schönenbuch, Schweiz, (Dr. S. Leonardi) fand von April bis Oktober 1990 ein Langzeitversuch statt, in dem Effekte umweltrelevanter Ozonkonzentrationen auf Buchen und Latschen untersucht wurden. Pflanzenmaterial aus derselben Vorkultur wurde gleichzeitig in Klimakammern, Open-top-Kammern und im Freiland behandelt. Abbildung 2 stellt schematisch den Versuchsaufbau da: die Versuchsfläche von Schönenbuch mit der Meßstation zur Erhebung von Ozon- und Klimadaten, die Open-Top-Kammern (Umluft und Filterluft) und die Freilandbehandlung und die Klimakammern (EPOKA) unseres Instituts.

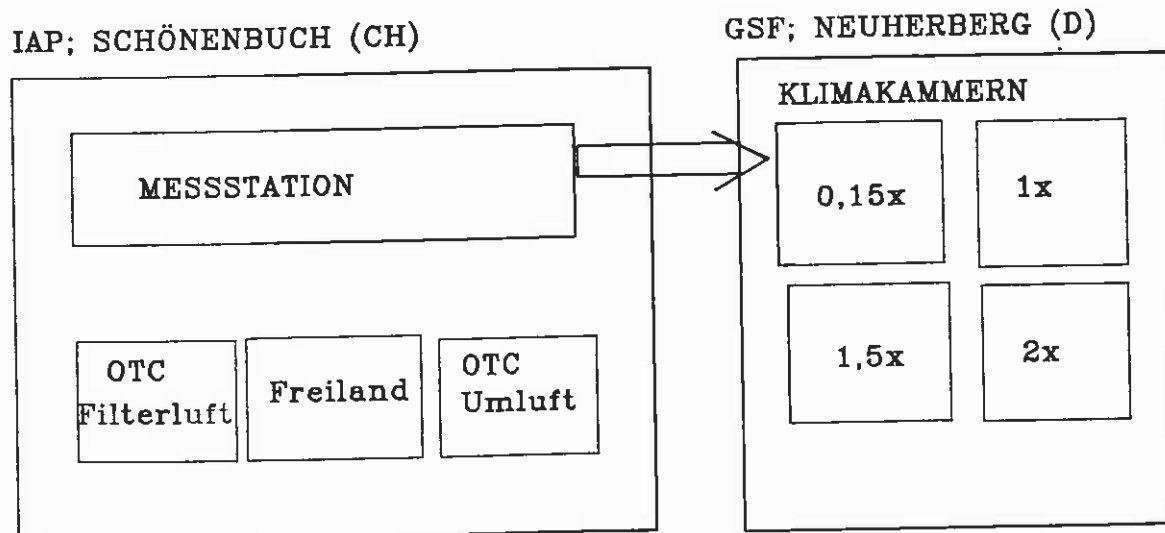


Abb. 2: Versuchsaufbau.

In der Versuchsanlage des Instituts für Angewandte Pflanzenbiologie wurden Pflanzen in Open-top-Kammern (OTC) und im Freiland behandelt. Ozon- und Klimadaten wurden von der dortigen Messstation erfasst und zu der GSF (Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit GmbH) per Modem übertragen. In der GSF wurden die Daten 12 Tage später in den Klimakammern simuliert.

Die wesentlichen Untersuchungen erfolgten in den Klimakammern des Instituts. Ozonkonzentrationen und Klimadaten wie Lichtintensität, Temperatur, Luftfeuchtigkeit wurden kontinuierlich an der Meßstation in Schönenbuch gemessen. Wöchentlich wurden die 2h- bzw. 1/2h-Durchschnittswerte mit Modem nach Neuherberg (München) übertragen. Nach einer Zeitspanne von 12 Tagen wurden die in Schönenbuch gemessenen Werte in den Klimakammern für die Behandlung der Pflanzen eingesetzt. Die Zeitangaben in der folgenden Arbeit beziehen sich immer auf Schönenbuch. Die Behandlung wurde über eine gesamte Vegetationsperiode durchgeführt.

In einem parallel laufenden Versuch wurden die Temperaturen von Schönenbuch (500 m) um 3-5 °C erniedrigt, um eine erhöhte Höhenlage zu simulieren (Bergklima). Die biologische Phasenverschiebung durch die tiefere Temperatur sollte ermöglichen das Einwirken von erhöhtem Ozon während der empfindlichen Austriebsphase zu untersuchen.

2.1.1. Klimakammern (EPOKAs), Neuherberg

Für das Experiment wurden in unseren Institut drei Kammern (Expositionskammern), mit jeweils vier Kleinkammern von 0,6 m² Fläche und 1,55m Höhe (0,35 m davon für Wurzelraum) verwendet. Der Luftdurchfluß der Großkammer betrug 3000-23000 m³h⁻¹, der der Kleinkammern 40-150 m³h⁻¹. Die Gasdosierung konnte getrennt in den Kleinkammern gesteuert werden (Payer et al, 1986). Mit einer Verschiebung um 12 Tage wurden die 2h- bzw. 1/2h-Durchschnittswerte der in Schönenbuch gemessenen Ozonkonzentrationen und Klimadaten simuliert. Tabelle 2 gibt eine Übersicht der in den Klimakammern eingesetzten Bedingungen für den Langzeitversuch.

Tab. 2: Bedingungen des Langzeitversuches (28.3.1990-23.9.1990) in den Klimakammern (EPOKA):

Ozonkonzentration [nL L ⁻¹]	2h-Mittelwerte aus Schönenbuch
Dauer der Lichtphase	tägliche Änderung, Sonnenaufgang und Untergang des Standort Basel
Lichtintensität (W m ⁻²)	1/2h-Mittelwerte aus Schönenbuch
Lufttemperatur (°C)	2h-Mittelwerte aus Schönenbuch
Luftfeuchtigkeit (% rel.)	2h-Mittelwerte aus Schönenbuch

2.1.1.1. Schadgasdosierung

Die in den Kammern eingesetzte Außenluft wurde von Staub, NO₂, SO₂ und O₃ durch folgende Filtersysteme gereinigt: Partikelfilter, Aktivkohle, Permanganat-überzogene Aluminiumpartikel (Purafil II) (Payer, 1986; Brown et al. 1990). Ozon wurde durch elektrische Entladung in reinem Sauerstoff generiert (500M, Fischer, Köln) und der Reinluft mit Hilfe von Massenflussreglern zugemischt. Pro Ozonvariante wurden drei Massenflussregler auf 1/7, 2/7 und 4/7 der täglichen maximalen Ozonkonzentration eingestellt und über Zeitschaltuhren allein oder in Kombination betrieben (D. Strube). Die Analyse des eingesetzten Ozons erfolgte durch UV-Absorption mit CSI-3100 Analysatoren (Messer-Griesheim, München).

2.1.1.2. Lichtsystem

Die Beleuchtungseinrichtung bestand aus Metallhalidlampen (UBS 1000 W), Xenonlampen 4500 W und Kryptonlampen 100 W (Payer, 1986). Die Kryptonlampen wurden jeweils 30 min morgens und abends eingesetzt, um den Sonnenauf- und -untergang zu simulieren. Die Dauer der Lichtphase wurde

täglich auf die Sonnenauf- und untergangszeiten von St.Gallen bezogen, mit einer Korrektur von 7 min für Basel. Die maximale Lichtintensität in den Kammern betrug 420 W m^{-2} , die minimale 40 W m^{-2} . Werte über 420 W m^{-2} konnten in den Klimakammern nicht erreicht werden. Maximale Tageswerte, die unter 420 W m^{-2} lagen, wurden auf 420 W m^{-2} erhöht, und proportional dazu die übrigen Tageswerte. Die Strahlungsstärke in den Klimakammern wurde mit einem Cosine-Luxmeter gemessen (PRC Krochmann, Berlin).

2.1.1.3. Temperatur und Luftfeuchtigkeit

Die Kontrolle der Temperatur erfolgte über Pt 100-Meßfühler, die der Luftfeuchtigkeit durch Rotronic-Sensoren. Da die Simulation von Temperaturen zwischen -2°C und $+2^{\circ}\text{C}$ schwierig war, wurden Temperaturen unter Null nur dann in den Klimakammern eingesetzt, wenn die in Schönenbuch gemessene Temperatur niedriger als -2°C war. Dies trat nur im April auf und bezog sich fast ausschließlich auf die Simulation des Bergklimas. Die Wurzelraumtemperatur wurde auf konstant 7°C eingestellt.

Für die Luftfeuchtigkeit wurden ab Mitte Juni die 2hMittelwerte vom Standort Schönenbuch simuliert. Bis dahin lagen die Werte zwischen 60 und 100%.

2.1.1.4. Windgeschwindigkeit

In jeder Kleinkammer waren in zwei entgegengesetzten Ecken Ventilatoren angebracht, die im Winkel von 45° um die eigene Achse schwenkten. Durch diese Drehung wurden in den Klimakammern wechselnde Windgeschwindigkeiten zwischen 0.3 und 1 m sec^{-1} erreicht. Dies ermöglichte sowohl den Grenzflächenwiderstand an den Blattoberflächen herabzusetzen, als auch eine homogene Verteilung des Ozons und der Temperatur speziell bei hohen Beleuchtungsstärken (persönliche Mitteilung von S. Leonardi). Vom

24.8. bis zum Ende des Versuches am 23.9.1990 wurden die Ventilatoren nur an Tagen in Funktion gesetzt, an denen die Ozonkonzentration 60 nL L^{-1} und die Temperatur 25°C unterschritt (insgesamt 11 Tage), um windstille Tage zu simulieren.

2.1.1.5. Bewässerung

Diese erfolgte durch Tensiometer, die computer gesteuert eine automatische Bewässerung einleiteten, wenn Trockenheitssituationen ($< 150 \text{ hPa}$) im Boden erreicht wurden (Pfirrmann et al., 1990). Zwei Tensiometer steuerten die Bewässerung für jeweils 5 Töpfe, die in einer Wanne standen ($60 \times 40 \text{ cm}$). Die Töpfe standen auf zwei Lagen Glasfasermatten und wurden mit gelochten Polyurethanplatten abgedeckt.

2.1.2. Semi-Open-Top-Kammern und Freiland, Schönenbuch

Auf der Versuchsfläche des Instituts in Schönenbuch standen acht Semi-open-top-Kammern (OTC) von denen zwei für den hier beschriebenen Versuch verwendet wurden. Die OTCs waren mit einer PVC-Folie überzogen. Die Dächer schlossen sich automatisch bei Regen. Die Luft in den OTCs wurde über Partikelfilter, Kaliumpermanganat imprägniertem Aluminiumoxid (Purafil) und Aktivkohlefilter gereinigt (Braun und Flückiger, 1988). Für die 1x-Behandlung in der Umluft-OTC wurden keine Aktivkohlefilter verwendet. Die filtrierte Luft wurde durch einen Schlauch in die Kammern geleitet, der auf 1 m Höhe in den OTCs angebracht war. Da ständig gefilterte Luft nachströmte, konnte es durch das offene Dach nicht zu einer Durchmischung mit der Umgebungsluft kommen. Die Bestimmung der Ozonkonzentrationen erfolgte durch Messung der UV-Absorption bei 254 nm und wurde mit einem Dasibi-Ozonalysator durchgeführt.

Neben den OTCs wurde eine Fläche von $1 \text{ m} \times 1,5 \text{ m}$ für Pflanzen

verwendet, die eingetopft im Freien standen.

Die Datenaufnahme sowie die Betreuung der Anlage in Schönenbuch erfolgte durch Dr. S. Leonardi.

2.2. Versuch mit Fichtenkeimlingen

Unter der Leitung von Dr. W. Heller wurde ein vierwöchiger Versuch mit Fichtenkeimlingen durchgeführt. Sechs Wochen alte Keimlinge wurden zur Behandlung in Plexiglaskammern (70 x 110 x 110 cm) gestellt. Die Kammern wurden mit Frischluft versorgt (Luftdurchsatz $60 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) und mit Ozon in den gewählten Konzentrationen. Die Beleuchtungsstärke und die Klimabedingungen wurden an die Anzuchtbedingungen angepasst (siehe Kap. 1.2.).

3. BEHANDLUNGEN

3.1. Langzeitversuch

3.1.1. Zeitlicher Ablauf des Versuchs

Vom 16.3.1990 an wurden die Pflanzen in den Expositions-kammern bei 7°C Tagestemperatur und 2°C Nachttemperatur; ca. 200 W m^{-2} Beleuchtungsstärke von 6 bis 19 Uhr und einer Feuchte von 70% am Tag und 80% in der Nacht akklimatisiert. Als Hintergrundbelastung wurden konstant 10 nL L^{-1} Ozon gegeben. Vom 25.3.1990 an wurde in den Kammern die Temperatur graduell auf eine Tagestemperatur von 14°C und eine Nachttemperatur von 5°C erhöht. Am 28.3.1990 wurden dreißig 3-jährige Buchen nach Schönenbuch transportiert und dort für die Filter-und Umluft-Behandlung in je eine OTC und im Freiland ausgesetzt. Hundert 3-jährige

Buchen, zwanzig 5-jährige Buchen und zwanzig Latschen wurden in die Expositionskammern gestellt.

Die Behandlung der Buchen und der Latschen geschah vom 28.3.1990 bis zum 23.9.1990. Die Buchen der Bergklima-Behandlung wurden vom 28.3.1990 bis zum 21.7.1990 behandelt. Die Bäume wurden nach der Behandlung in den Institutsgarten gestellt, und die Töpfe über Winter mit Rindenmulch bedeckt. Die Pflanzen bekamen natürlichen Regen, nur bei längeren Trockenperioden wurden sie mit Leitungswasser gegossen. Die Ozonkonzentration in der Umgebungsluft wurde über die gesamte Zeit kontinuierlich aufgezeichnet.

3.1.2. Verteilung der Pflanzen und Versuchsdesign

In den Klimakammern wurden die realen Ozonkonzentrationen von Schönenbuch simuliert. Zusätzlich wurden Behandlungen mit proportional erniedrigten (0,15x) und erhöhten (1,5x, 2x) Ozonkonzentrationen durchgeführt. Tabelle 3 gibt einen Überblick des Versuchsdesigns in den Klimakammern.

Tab. 3: Überblick der Verteilung und Behandlung der Bäume in den Klimakammern (siehe auch Abb. 9):

Kammer	Ozonbehandlung	Baumart
1	0,15x , 2x	Latschen + 5-jährige Buchen
2	0,15x, 1x, 1,5x, 2x	3-jährige Buchen
3	0,15x, 1x, 1,5x, 2x	3-jährige Buchen (Bergklima)

In den OTCs wurden Buchen mit den realen Ozonkonzentrationen (Umluft) und mit filtrierter Luft (Filterluft) behandelt. Die Überprüfung der Ozonkonzentrationen in den OTCs zeigte in der Umluft-OTC gegenüber dem Sollwert ca. 20% niedrigere Ozonkonzentration und in der Filter-OTC um ca. 85% niedrigere Ozonkonzentration.

3.2. Versuch mit Fichtenkeimlingen

Für die Behandlung der Fichtenkeimlinge wurden von 12 bis 20 Uhr Ozonkonzentrationen von 300 und 600 nL L⁻¹ Ozon eingesetzt; als Kontrolle diente eine Ozonkonzentration von 20 nL L⁻¹. Der Versuch lief vier Wochen, bei einer Temperatur von 20-17 °C und einer Lichtphase von 6 bis 20 Uhr.

4. QUALITÄT DER SIMULATION IM LANGZEITVERSUCH

In den Abb. 3a, 3b, 3c, 3d werden am Beispiel eines Tagesprofils die 1/2h- und 2h-Mittelwerte von Ozon- und Klimadaten verglichen. Der Vergleich zeigt, daß bei Ozonkonzentrationen, Temperatur und Luftfeuchtigkeit die unterschiedlichen Mittelwerte ein vergleichbares Profil ergeben. Bei der Lichtintensität ergibt der 1/2-Mittelwert einen genaueren Verlauf als der 2h-Mittelwert. Daher wurden in den Klimakammern zur Simulation der Ozonkonzentrationen, Temperatur und Luftfeuchtigkeit 2h-Mittelwerte eingesetzt, für die Lichtintensität 1/2h-Mittelwerte (ab Juni).

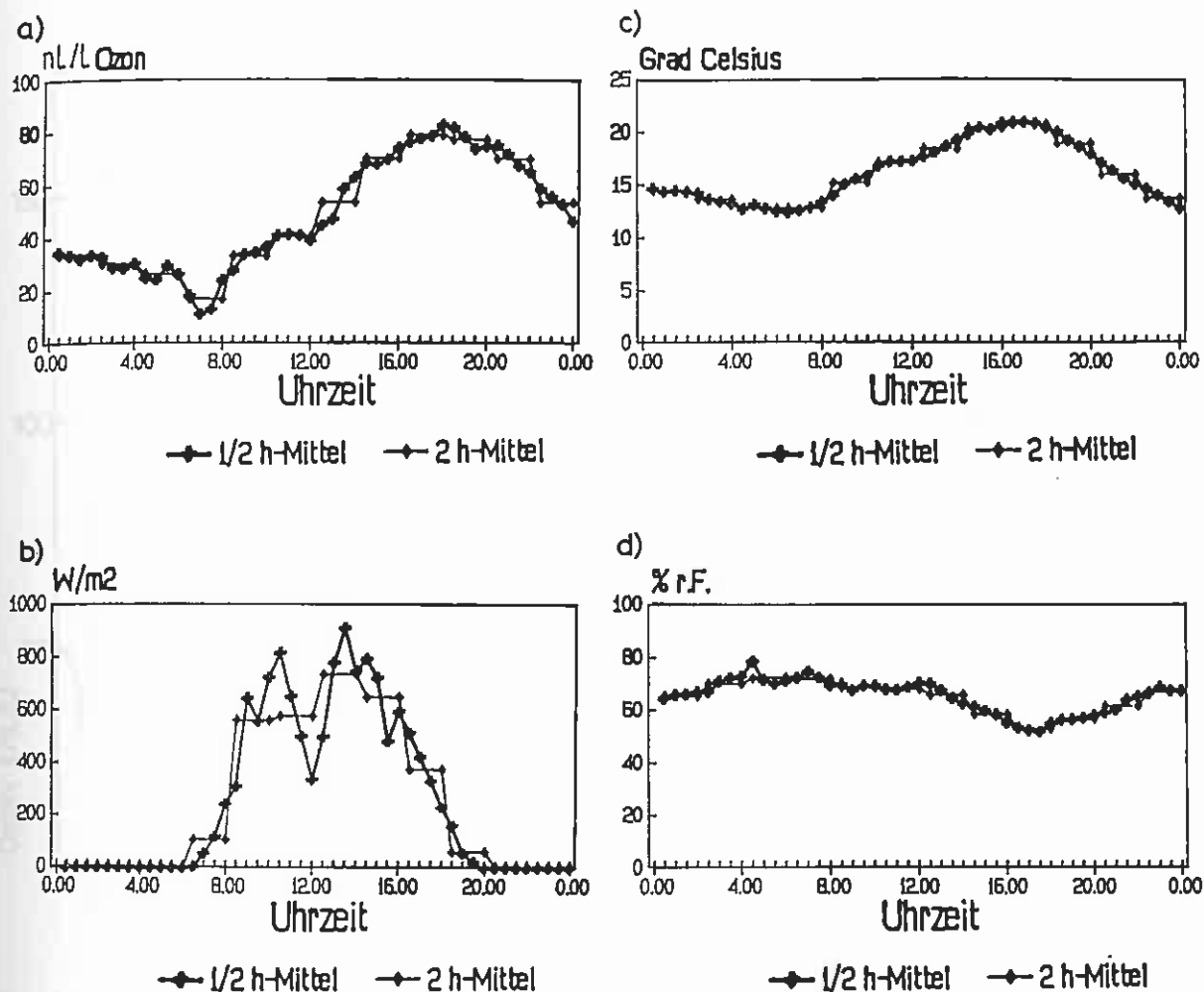


Abb. 3: Vergleich von 1/2h- und 2h-Mittelwerten von a) Ozonkonzentration, b) Lichtintensität, c) Temperatur und d) Luftfeuchtigkeit für einen repräsentativen Tag im Mai 1990.

Die Qualität der Simulation für Ozon wird beispielhaft in Abbildung 4 dargestellt, an Hand eines Vergleichs zwischen 2-fach erhöhten Ozonkonzentrationen von Schönenbuch und deren Simulation in den Klimakammern vom 25.6.- 5.7.1990. Es zeigt sich, daß die Ozonwerte maximal um 10 % abweichen.

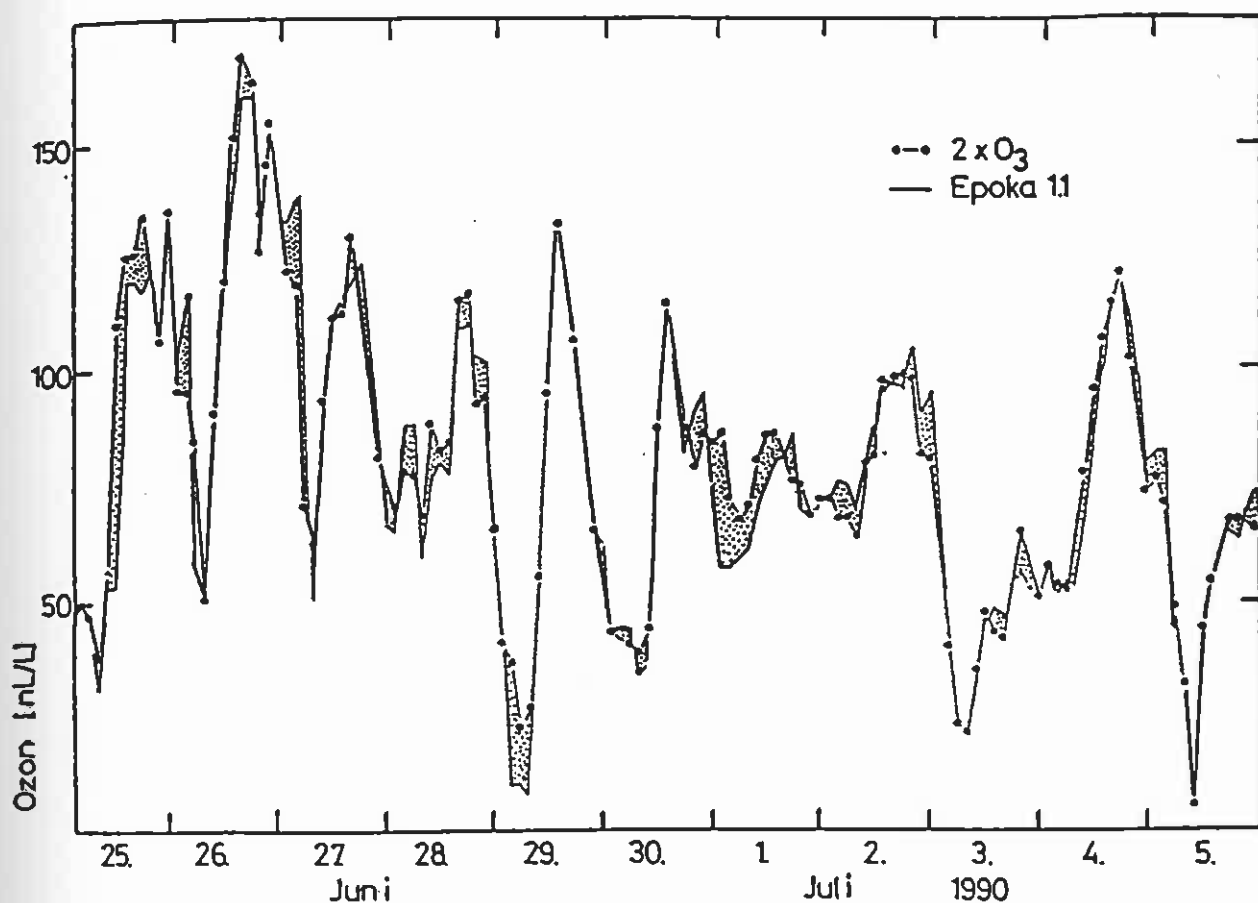


Abb. 4: Vergleich zwischen 2x erhöhten Freiland-Ozonkonzentrationen und simulierten Ozonwerten in der Klimakammer 1.1. für den Zeitraum 25.6. - 5.7.1990.

Die Ozonmessungen erfolgten in Schönenbuch mit einem Dasibi-Analysator, in den Klimakammern mit CSI-3100-Analysatoren. Um Meßunterschiede zwischen den Geräten festzustellen, wurden während des Versuches einen Tag lang beide Analysator-Typen in Schönenbuch parallel eingesetzt. Die im Freiland gemessenen Ozonkonzentrationen zeigten nur eine Abweichung von 5% zwischen den Geräten, wobei der Dasibi-Analysator die niedrigeren Werte angab.

5. BIOMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN BEIM LANGZEITVERSUCH

5.1. Austrieb von Buchen

Der Austrieb der einzelnen Bäumen wurde in 5 Phasen aufgeteilt und wöchentlich eine Bewertung durchgeführt.

- Austribsstadien
- 0: keine Knospenschwellung
 - 1: leichte Knospenschwellung
 - 2: deutliche Knospenschwellung
 - 3: ersten Blattspitzen sichtbar
 - 4: ersten Blättchen entfaltet
 - 5: alle Blätter aus der Knospe entfaltet

5.2. Zuwachsrates

Wöchentlich wurde die Länge des Haupttriebes gemessen (Länge ab Knospenmitte bis zur Triebspitze oder bis zu dem jüngsten Blatt). Mit der Berechnungsformel von Chiarello et al. (1989) wurde die Zuwachsrates bestimmt.

$$\text{Zuwachswachsrates} = (\ln l_i - \ln l_{i-1}) t^{-1}$$

- $\ln l_i$ = Logarithmus der Länge des Haupttriebes
 $\ln l_{i-1}$ = Logarithmus der Länge, welche bei der vorherigen Messung bestimmt wurde
 t = Anzahl Tage.

5.3. Blatt- und Nadelfärbung

Der Anteil nekrotisierter Blattoberfläche bei den Buchen wurde wöchentlich im Laufe des Versuches visuell festgestellt. Zur Überprüfung wurde der nekrotische Blattanteil (in Prozent auf die Gesamtblattfläche) mit einem

Flächenmeßgerät (Delta-T, Burwell, England) bestimmt.

Bei den Latschen wurde der Vergilbungsgrad nach folgendem Schema festgestellt (Langebartels et al., 1989):

1 : dunkelgrün

2 : grünlich-gelb

3 : gelb

4 : gelb bis braun

5 : braun

Die Bewertung wurde 1 bis 2 mal wöchentlich durchgeführt. Jeder Baum wurde einzeln bewertet und anschließend wurde über 10 Bäume pro Behandlung gemittelt.

5.4. Blatt- und Nadelverlust

Um den prozentualen Blattverlust bei Buchen festzustellen, wurde nach Beendigung des Austriebs für jeden Baum die Anzahl der Blätter bestimmt und der ermittelte Wert als 100 % festgelegt. Von Beginn des Blattfalls an wurden die abgefallenen Blätter pro Woche gezählt. Pro Baum wurde der Prozentsatz noch vorhandener Blätter berechnet und für jede Behandlungsvariante gemittelt.

Bei den Nadelbäumen wurde der prozentuale Nadelverlust für jeden Baum und Nadeljahrgang abgeschätzt, und anschließend wurde über die Bäume einer Behandlung gemittelt.

6. GASWECHSELMESSUNGEN BEIM LANGZEITVERSUCH

Die Gaswechsellmessungen wurden an jeweils 2 Blättern pro Baum zwischen 13 und 15 Uhr mit einem transportablen Porometer (LCA-2 Analyzer, Parkinson Leaf Chamber, ADC, GB-Hoddesdon) durchgeführt. Die Messungen wurden immer an denselben Blättern bei maximaler Lichtintensität

vorgenommen. Die Blätter wurden nach guter Lichtexposition und einer der Meßküvette entsprechenden Größe ($6,2 \text{ cm}^2$) ausgewählt. In den Klimakammern wurden zur Messung die Pflanzen an einen definierten Ort innerhalb der Großkammer gebracht. Um Unterschiede zwischen den ersten und den letzten Messungen des Tages zu kompensieren, wurde in der Meßfolge zwischen den unterschiedlichen Behandlungsvarianten gewechselt. Während der Messung wurde die Ozonbehandlung in der jeweiligen Klimakammer abgeschaltet.

7. ERNTEPLAN UND ELEMENTGEHALTE

7.1. Langzeitversuch

Im Laufe des Versuches wurden die Bäume zur Bestimmung biochemischer Parameter beprobt. Drei Probenahmen wurden an den 3-jährigen Buchen durchgeführt, sieben an den 5-jährigen Buchen und neun an den 3-jährigen Latschen (Tab.4).

Tab. 4: Erntezeitpunkte für Buchen (3- und 5-jährig) und Latschen.

Erntezeit	Buchen	Buchen	Latschen
	3-jährig	5-jährig	
19.5.1990		x	x
30.5.1990		x	x
16.6.1990		x	x
27.6.1990		x	x
15.7.1990		x	x
22.7.1990	x		
2.8.1990		x	x
17.8.1990		x	x
18.8.1990	x		
24.8.1990			x
14.9.1990	x		
15.9.1990			x

Alle Bäume wurden im Folgejahr während der Weiterkultur im Freiland ein weiteres Mal beerntet (1.9.1991). Geerntet wurden Blätter aus dem oberen Bereich, nicht aber das jeweils letzte Blatt eines Triebes. Von den Johannistrieben wurden keine Blätter geerntet. Bei der Probenahme wurde darauf geachtet, daß die aktuelle Ozonkonzentration (1x-Variante) zwischen 40-

60 nL L⁻¹ Ozon lag und daß die Lichtintensität in den Klimakammern dem höchstmöglichen Wert von 420 W m⁻² entsprach.

Die Ernten der 3-jährigen Buchen wurden zeitgleich durchgeführt, das heißt in den Klimakammern 12 Tage später als im Freiland (Schönenbuch). Nach der Frischgewichtbestimmung wurden die Proben sofort in flüssigem Stickstoff eingefroren und bei -80° C gelagert. Von Blättern, die im Juni und im August 1990 geerntet wurden, wurden Elementgehalte bestimmt (Tab.5).

Tab. 5: Elementgehalte von Blattproben bezogen auf Trockenmasse

Element Erntedatum									
		12.6.90		11.8.90		19.8.90			
		1x+2x	0,15x	1x	1,5x	2x	0,15x	1x	1,5x 2x
C (mg g ⁻¹)							440 ±30	442 ±42	468 ±7 475 ±3
N (mg g ⁻¹)							14.6 ±1.0	13.7 ±1.3	15.6 ±0.8 15.9 ±0.3
Ca(mg g ⁻¹)	11,4	11,1 ±2,2	13,2 ±0,7	10,5 ±0,8	12,1 ±1,2		15,7 ±1,0	14,0 ±2,3	11,9 ±1,1 13,0 ±1,1
Fe (µg g ⁻¹)	184	132 ±22	132 ±41	435 ±267	112 ±36		445 ±269	381 ±184	378 ±214 375 ±144
K (µg g ⁻¹)	2882	3780 ±90	4283 ±230	3852 ±279	4353 ±174		4079 ±627	3285 ±237	4116 ±140 3852 ±264
Mg(µg g ⁻¹)	4053	4128 ±419	3948 ±26	3754 ±157	3868 ±267		4007 ±776	3157 ±451	3100 ±155 3325 ±345
Mn(µg g ⁻¹)	17	13.7 ±1.6	17.5 ±3.2	28.0 ±11.4	41.9 ±3.2		56.9 ±39.1	15.7 ±2.8	14.7 ±1.4 17.8 ±4.1
P (µg g ⁻¹)	1531	1188 ±56	1234 ±48	1354 ±120	1541 ±83		1275 ±113	1107 ±124	1361 ±41 1437 ±68
S (µg g ⁻¹)	1163	913 ±79	987 ±37	849 ±60	885 ±17		1251 ±110	1055 ±127	1300 ±65 1267 ±38

Die Blätter wurden bei 85°C getrocknet und im Dismembrator zerkleinert. Um Verunreinigungen zu vermeiden, wurden Teflongefäße und Porzellanlöffel benutzt. Die Elementanalyse wurde von der "Zentralen Analytik" (Dr. Schramel) durchgeführt (siehe 1.1.2.). Ein Vergleich mit Literaturangaben (Hartmann et al., 1988; Flückiger et al., 1989) zeigte, daß der Mangengehalt sich im Grenzbereich befand, die anderen Elementgehalte aber ausreichend vorlagen.

7.2. Versuch mit Fichtenkeimlingen

Während der vier Behandlungswochen wurden neun Probenahmen durchgeführt: eine vor Behandlungsbeginn, drei während der ersten drei Tage und jeweils zwei in den folgenden Wochen. Die Probenahmen fanden zwischen 11 und 12 Uhr statt. Die Keimlinge wurden in Primärnadeln und Kotyledonen, Hypokotyle und Wurzeln getrennt. Zusätzliche Probenahmen wurden jeweils um 17 Uhr, fünf Stunden nach Beginn der täglichen Ozonbehandlung, durchgeführt und zur Bestimmung der Ethylenentwicklung verwendet.

Während der ersten zwei Behandlungstage wurden in einem 2-3 Stundenrhythmus Keimlinge der 300 und 600 nL L⁻¹ Ozonbehandlung sowie die der Kontrolle geerntet und in Nadelkränze, Hypokotyle und Wurzeln getrennt eingefroren. Frische Nadelkränze wurden zur Ethylenbestimmung verwendet.

Nach 18 Behandlungstagen wurde erneut eine Tageskinetik durchgeführt. Zusätzlich wurden in einer Variante Keimlinge von 300 auf 600 nL L⁻¹ Ozon umgestellt und auf Änderungen der analysierten Parameter während des Tagesverlaufs untersucht.

8. BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN

8.1. Bestimmung von 1-Aminocyclopropan-1-Carbonsäure (ACC) und Malonyl-ACC

8.1.1. Extraktion von ACC und MACC aus Buchenblättern und Latschennadeln

Die Extraktion von 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure aus Buchenblätter nach Langebartels et al. (1991) wurde verändert. Etwa 0,2g Blätter wurden unter flüssigem Stickstoff zermörsert, in Eppendorfgefäße überführt und mit 1 ml 80% Ethanol 5 min heftig geschüttelt, anschließend 5 min bei 13500 rpm und 4°C zentrifugiert (Sigma 202 MK). Der Überstand wurde wieder in Eppendorfgefäße überführt und das Pellet zweimal mit 0,5 ml 80 % Ethanol wie oben nachextrahiert. Die gesammelten Überstände wurden unter Vacuum zur Trockne eingengt (Speed Vac Concentrator, Savant). Der Rückstand wurde mit 1 ml Wasser (bidest.) und 1 ml Chloroform versetzt und kurz zentrifugiert (2 Minuten bei 13500 rpm in der Sigma 202 MK), um eine bessere Phasentrennung zu erreichen. Die Chloroformphase wurde mittels einer Pipette entfernt. Zur verbliebenen Wasserphase wurden 0.01 g Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP, Sigma, Deisenhofen) zugesetzt. Dann wurde geschüttelt und kurz zentrifugiert (2 Minuten bei 13500 rpm).

Für die Extraktion von ACC aus Latschennadeln wurden 0,2 g Nadeln verwendet. Diese wurden in flüssigen Stickstoff eingefroren und mit einem Dismembrator (Mikro-Dismembrator II, P.Braun, Reutlingen) 5 min homogenisiert. Die Extraktion wurde wie oben beschrieben durchgeführt.

8.1.2. Extraktion von ACC aus Kiefern- und Fichtennadeln

Die Extraktion verlief nach der für Fichten beschriebenen Vorschrift von Chen und Wellburn (1989). Etwa 0,2g Nadelmaterial wurden unter flüssigem Stickstoff mit einem Dismembrator zerkleinert und in Eppendorfgefäßen mit 1,2 ml 2 % (v/v) Metaphosphorsäure (Aldrich-Chemie, Steinheim) 1 min kräftig geschüttelt. Nach Zugabe von 0,01 g PVPP wurde 1 min geschüttelt und anschließend 15 Minuten bei 14000 rpm zentrifugiert (Sigma 3K12). Der klare Überstand wurde zur ACC-Bestimmung am Gaschromatographen eingesetzt (s. Abschnitt 8.4.).

8.2. Hydrolyse von MACC zu ACC

Für die Bestimmung von MACC wurde nach der oben beschriebenen Extraktion eine Hydrolyse durchgeführt, um den Malonylrest abzuspalten. 500 µl des Extraktes wurden mit 100 µl 12N HCl 3 Stunden in verschlossenen Glasröhrchen bei 120°C hydrolysiert. Die Reaktion wurde mit 600 µl 2N NaOH gestoppt. Die Bestimmung des Malonyl-ACC erfolgte durch Differenz-Bildung nach der Formel

$$(\text{Gesamt-ACC} - \text{ACC})_{\text{frei}} = \text{MACC}$$

8.3. Umwandlung von ACC zu Ethylen

Zur ACC-Bestimmung wurde die Methode von Lizada und Yang (1979) angewendet. 200 µl Extrakt, 500 µl Wasser (bidest.) und 100 µl 10 mM HgCl₂ wurden in ein 7 ml Reagenzglas gegeben, dieses mit einem Silikonstopfen verschlossen und in Eis gestellt. Bei der Gesamt-ACC Bestimmung wurden 480 µl hydrolysiertes Extrakt, 220 µl Wasser (bidest.) und 100 µl 10mM HgCl₂ eingesetzt. Durch den Silikonstopfen (Verneret, Pulheim/Frankreich) wurden

mit einer Spritze 200 μl Oxidationslösung (2 Teile 5% NaOCl und 1 Teil gesättigte NaOH-Lösung) zugegeben. Die Ausbeute an Ethylen durch Zugabe verschiedener Mengen von Oxidationsmittel in ACC-Standardlösungen zeigte, daß durch Zugabe von 200 μl Oxidationsmittel eine maximale Ausbeute erreicht wurde (Abb. 5).

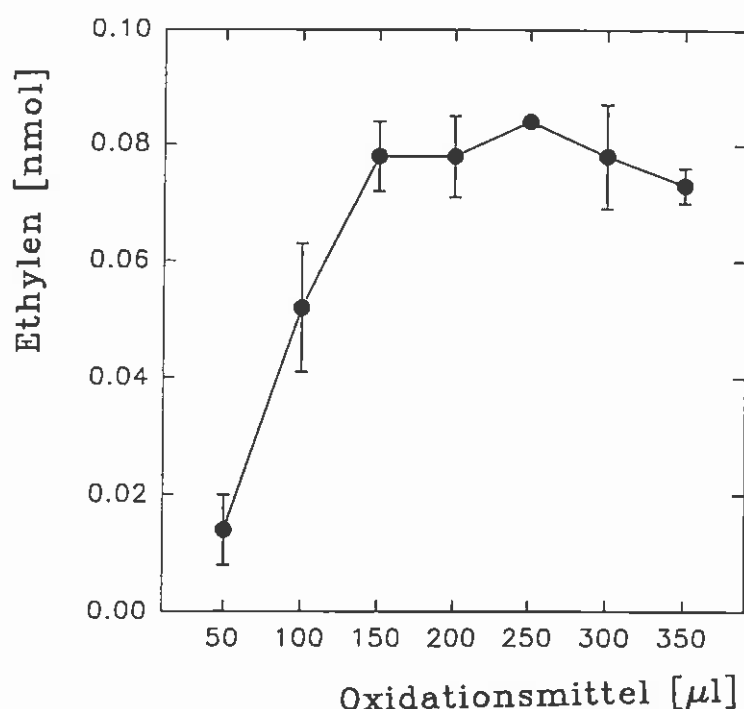


Abb. 5: Wiederfindung von ACC (0,1 nmol) als Ethylen nach Zugabe steigender Mengen von Oxidationsmittel. Mittelwert $\pm$ SE. (n = 3).

Das Reaktionsgemisch wurde kurz geschüttelt (10 Sekunden) und 2,5 Minuten auf Eis stehen lassen. Nach weiteren 10 Sekunden Schütteln wurde 1 ml der Gasphase am Gaschromatographen analysiert.

In den Latschenextrakten war eine erhöhte Zugabe von Oxidationsmittel (300 μl) nötig, um das vorhandene ACC zu Ethylen zu oxidieren, vermutlich wegen erhöhter Gehalte an oxidierbaren Stoffe. Die Wiederfindungsrate von

ACC im Latschenextrakt war bei Zugabe von 300 μl Oxidationsmittel $68 \pm 3,5$ %, bei Zugabe von 200 μl $50 \pm 7,6$ %.

8.4. Gaschromatographische Bestimmung von Ethylen aus ACC

Die ACC-Messungen wurden mit einem 5890 A-Gaschromatographen (Hewlett-Packard) mit gepackter Säule (Porapak Q; 80-100 mesh; 1,83x2mm) und Flammenionisationsdetektor (FID) durchgeführt. Die Gasflußraten waren: Stickstoff 20 ml min^{-1} , Wasserstoff 28 ml min^{-1} , synthetische Luft 250 ml min^{-1} . Die Säulentemperatur betrug 50 °C, die Injektortemperatur 150 °C, die Detektortemperatur 200 °C. Bei diesen Bedingungen war die Retentionszeit des Ethylens 1,8-1,9 min, die von Ethan 2,6 min.

Für die Quantifizierung wurde eine Eichgerade mit Ethylen-Standardgas erstellt. Diese zeigte eine Linearität von 0.002 bis 20 nmol (Abb. 6).

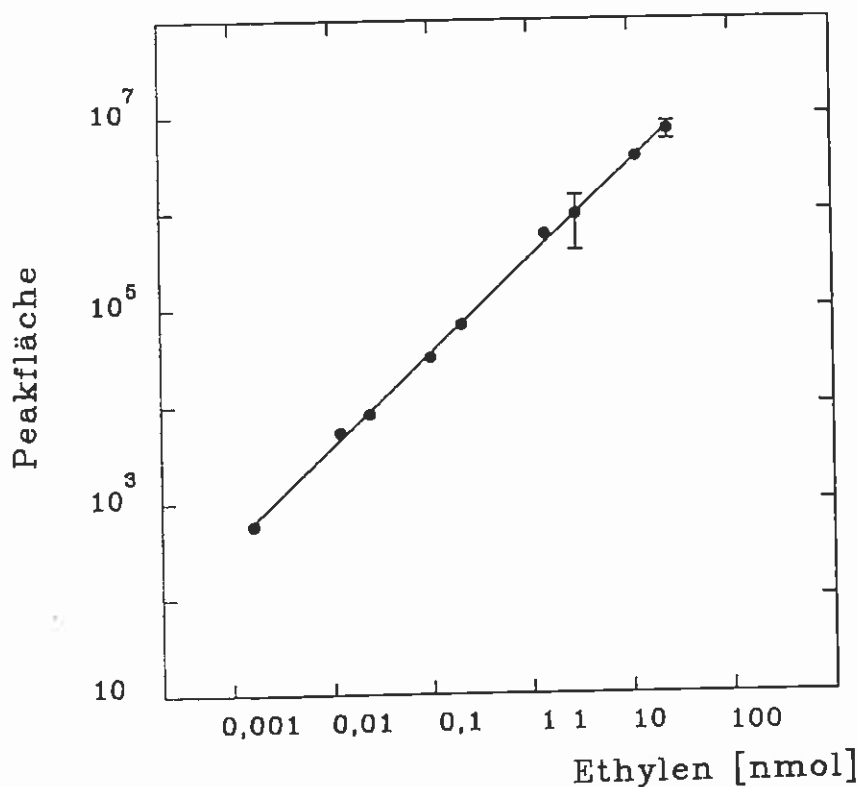


Abb. 6: Eichkurve zur quantitativen Auswertung der gaschromatographischen Ethylenbestimmung, erstellt durch Verdünnung von Standardgas in Gefäßen mit Stickstoff-Atmosphäre. Mittelwert $\pm$ SE. (n = 3).

Mit den Meßwerten wurde eine lineare Regression durchgeführt und die folgende Formel für die Umrechnung der Peakfläche zur Ethylenmenge verwendet.

$$\text{nmol Ethylen} = 10^{\frac{[(\log \text{Peakfläche} - 5,51)/0,96]}{\text{x Volumen}}}$$

Um den linearen Bereich der Umwandlung von ACC zu Ethylen zu bestimmen, wurden von einer ACC-Standardlösung unterschiedliche ACC-Mengen in bidestilliertem Wasser gelöst. In jeweils dreifachem Ansatz wurden zu einem der Bereich von 0,05 bis 20 nmol ACC (Abb. 7a), und zum zweiten der Bereich von 0,001 bis 1 nmol (Abb. 7b) untersucht. Die Eichkurve war im Bereich von 0,005 bis 20 nmol linear.

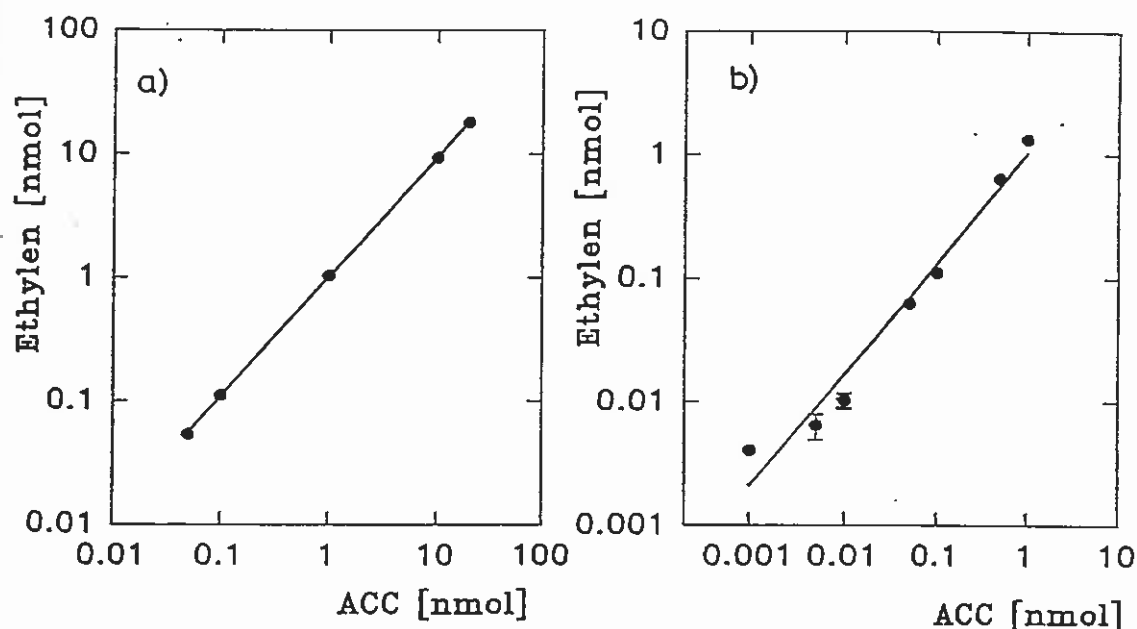


Abb. 7: Quantitative Umwandlung von ACC-Standard in Ethylen nach Lizada und Yang (1979). ACC-Standardlösungen verschiedener Konzentrationsbereiche wurden in 2 unabhängigen Experimenten eingesetzt. a) Konzentrationsbereich 0,05 - 20 nmol ACC. b) Konzentrationsbereich 0,001 - 1 nmol ACC. Mittelwert $\pm$ SE. (n= 3).

8.5. Wiederfindungsrate von ACC in Blatt- und Nadelextrakten

Zur Bestimmung der Wiederfindungsrate wurden zum Extrakt 0,01, 0,05 oder 0,1 nmol ACC gegeben und der ACC im Überstand bestimmt. Die Wiederfindungsrate wurde berechnet nach der Formel:

$$[(\text{Probe} + \text{Standard})_{\text{gemessen}} / (\text{Probe} + \text{Standard})_{\text{Theorie}}] \times 100$$

Die Wiederfindungsraten nach den einzelnen Extraktionsverfahren sind in Tabelle 6 angegeben.

Tab. 6: Wiederfindungsraten von ACC bei verschiedenen Baumarten nach unterschiedlichen Extraktionsverfahren (n = 3-6)

Pflanze	Extraktionsverfahren	Wiederfindungsrate (%)
Buche	Ethanol	76 ± 3,0
Latsche	Ethanol	50 ± 7,6
	Ethanol (bei 300 µl Oxidationsmittel)	68 ± 3,5
	Oxidationsmittel)	31 ± 3,5
Metaphosphorsäure		
Fichte	Metaphosphorsäure	77 ± 12,5
Kiefer	Ethanol	66 ± 2,3
	Metaphosphorsäure	83 ± 1,7

8.6. Ethylenentwicklung von Buchenblättern und Fichtenkeimlingen

Für die Bestimmung der Ethylenentwicklung von Buchenblättern wurden je zwei Buchenblätter (0,2 g) mit ihren Stiel vorsichtig in breithalsige 25ml-Erlenmeyerkolben mit 2 ml bidestilliertem Wasser gestellt. Die Gefäße wurden mit Silikon-Septen verschlossen und 1 Stunde bei 22°C und für die

Ethylenentwicklung inkubiert.

Für die Bestimmung der Ethylenentwicklung aus Fichtenkeimlingen wurden etwa 0,3 g abgeschnittene Nadelkränze mit je 0,5 cm Hypokotyl in enghalsige 25ml-Erlenmeyerkolben gelegt, diese mit Silikonsepten verschlossen und 2h inkubiert. Mit einer Einwegspritze wurde jeweils 1 ml Gasphase entnommen und mittels Gaschromatographie analysiert. Das Volumen der Inkubationsgefäße wurde durch Füllen mit Wasser und anschließendem Auswiegen bestimmt.

8.7. Bestimmung der freien Polyamine

Die Bestimmung der freien Polyamine erfolgte durch HPLC-Analyse nach Derivatisierung mit 9-Fluorenylmethylchloroformat (FMOC-Cl) (Schraudner, 1992). 0,2 g mit flüssigem Stickstoff pulverisiertes Blattmaterial von Buchen wurde 1 h mit 5 % Perchlorsäure extrahiert und 5 min im Ultraschallbad bei 4 °C behandelt. Nach Derivatisierung mit FMOC-Cl wurden Putrescin, Spermidin und Spermin über HPLC aufgetrennt.

8.8. Freisetzung von Kationen und Fluorescein-Oxidation in Buchenblattscheiben

Für die Bestimmung der Freisetzungsraten von Calcium, Kalium und Magnesium wurden pro Behandlungsvariante 14 Blätter geerntet (1-2 Blätter pro Pflanze). Aus dem frisch geernteten Material wurden Blattscheiben mit einem Durchmesser von 11,5 mm mit einem Korkbohrer ausgestochen, wobei die Mittelrippe ausgespart wurde. Pro Behandlung wurden 6 Parallelproben mit je 5 Blattscheiben pro Probe angesetzt. Die Blattscheiben wurden sofort in jeweils ein 25ml-Becherglas mit 5 ml 10 mM 1,4-Piperazin-bis-(ethansulfonsäure)-NaOH-Puffer (pH 5,6) und 10 µl 2',7'-Dichlorofluoresceindiacetat (Serva) (5µg

ml⁻¹) in reduzierter Form (DFA) gelegt. Nach 1 Stunde Inkubation unter leichtem Schwenken wurde der Puffer abgegossen und zweimal mit neuem Puffer (20-40 ml) gewaschen. Nach Inkubation in neuem Puffer wurden 3 ml aus der Inkubationslösung entnommen und am ICP-OES auf den Elementgehalt (K, Mg, Ca) analysiert.

Für die Bestimmung der Oxidationsrate der Blattscheiben wurden nach 30 und 60 Minuten je 1 ml aus der gleichen Inkubationslösung entnommen und mit einem Fluoreszenzspektrophotometer (Hitachi F-3000, München) bei einer Anregungswellenlänge von 495 nm und einer Emissionswellenlänge von 520 nm vermessen.

9. STATISTISCHE AUSWERTUNG

In den Abbildungen sind die Mittelwerte der Messungen (n=3-10) und die Standardfehler (SE) angegeben.

Für die statistische Auswertung wurden Multiple range analysis (LSD-Test, Statgraphics) mit einem Signifikanzniveau von 5 % ($p < 0,05$) und eine mehrfaktorielle Varianzanalyse (Analysis of Variance, ANOVA), durchgeführt.

III. ERGEBNISSE

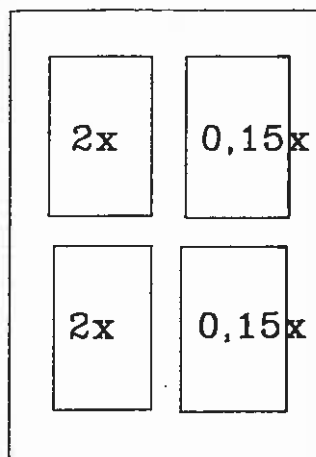
1. VERSUCHSAUFBAU DES LANGZEITVERSUCHS MIT REALEN UND PROPORTIONAL ERHÖHTEN OZONKONZENTRATIONEN

Von März bis Oktober 1990 wurde ein Versuch zur Wirkung realer bzw. realitätsnaher Ozonkonzentrationen auf Buchen durchgeführt. Die Ozon- und Klimadaten stammten aus Schönenbuch bei Basel (Schweiz) und wurden in den Expositionskammern (EPOKAs) unseres Instituts simuliert. Dabei wurden reale (1x), zwei proportional erhöhte (1,5x und 2x) und eine erniedrigte (0,15x) Ozonkonzentration verwendet. In Schönenbuch wurden gleichzeitig eine Behandlung in Open-Top-Kammern (OTC) mit Umgebungs- und Filterluft durchgeführt sowie Bäume im Freien kultiviert. Abbildung 8 gibt einen Überblick über den Versuchsaufbau, mit den 3 Klimakammern unseres Instituts und die jeweiligen vier Behandlungsvarianten, die zwei Open-Top-Kammern (Filterluft und Umluft) und die Behandlungsvariante im Freiland. Für den Hauptversuch wurden 3-jährige Buchen in Expositionskammern, Open-Top-Kammern und im Freiland eingesetzt. Parallel dazu wurden in den Klimakammern 5-jährige Buchen und 3-jährige Latschen mit 2x erhöhten und auf 0,15x erniedrigten Ozonkonzentrationen behandelt. Die 5-jährigen Buchen ermöglichten auf Grund der höheren Blattzahl gegenüber den 3-jährigen Buchen eine größere Anzahl von Probenahmen und damit eine genauere Bestimmung zeitlicher Verläufe biochemischer Prozesse. In Abbildung 9 sind die Open-Top-Kammern sowie die Bäume des Freilands abgebildet. Die Abbildung gibt auch einen Einblick in eine Klimakammer (Abb. 9c) mit den entsprechenden Küvetten in denen 3-jährige Buchen standen.

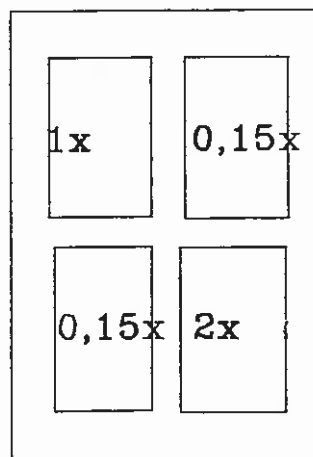
Bei weiteren 3-jährigen Buchen wurde zusätzlich zur Ozonbehandlung die Temperatur um 3-5 °C erniedrigt, wodurch die Simulation einer Höhenlage

(simuliertes Bergklima) angestrebt wurde. Ziel dieses Versuches war, der Austrieb der Buche soweit zu verzögern, daß dieser in den Zeitraum erhöhter Ozonbelastung fiel, um somit die Einwirkung erhöhter Ozonwerte in der Austriebsphase studieren zu können.

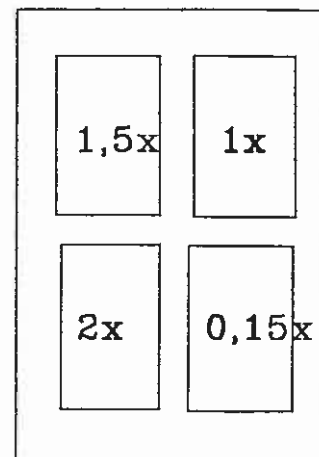
KLIMAKAMMERN



5-jährige Buchen
und Latschen

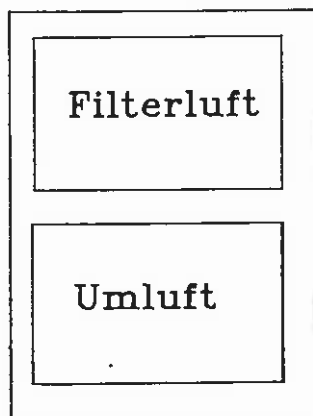


3-jährige Buchen



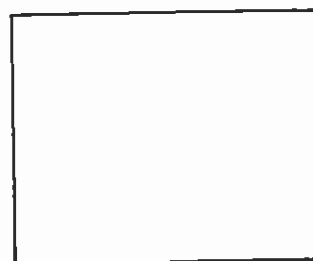
3-jährige Buchen
(Bergklima)

OPEN-TOP-KAMMERN



3-jährige Buchen

FREILAND



3-jährige Buchen

Abb. 8: Versuchsaufbau. Behandlung und Verteilung der Pflanzen in den Klimakammern (GSF), Open-Top-Kammern (Schönenbuch) und im Freiland (Schönenbuch).



Abb. 9: a) Ansicht der Versuchsanlage in Schönenbuch, mit der Meßstation (links) und 2 Open-Top-Kammern (OTCs). Zwischen den OTCs wurden Buchen unter Freilandbedingungen exponiert (b).
 c) Einblick in eine Klimakammer (EPOKA) mit vier Küvetten, in denen Buchen unterschiedlichen Ozonbehandlungen ausgesetzt wurden.

Der zeitliche Verlauf der Ozonwerte während der Vegetationsperiode 1990 wird in Abbildung 10 wiedergegeben. Deutlich sind ansteigende Werte von April bis Juli erkennbar, insbesondere ein sprunghafter Anstieg von relativ niedrigen Werten Anfang Juli (durchschnittlich 30 nL L^{-1}) auf mehr als 60 nL L^{-1} (24h-Mittelwert) von Mitte Juli bis Mitte August. In diesem Zeitraum wurden Spitzenwerte von 120 nL L^{-1} Ozon erreicht. Die 1,5x und 2x erhöhten Freilandwerte erreichten $50\text{-}70 \text{ nL L}^{-1}$ sowie $80\text{-}100 \text{ nL L}^{-1}$ Ozon als Tagesmittelwerte von Mai bis August 1990.

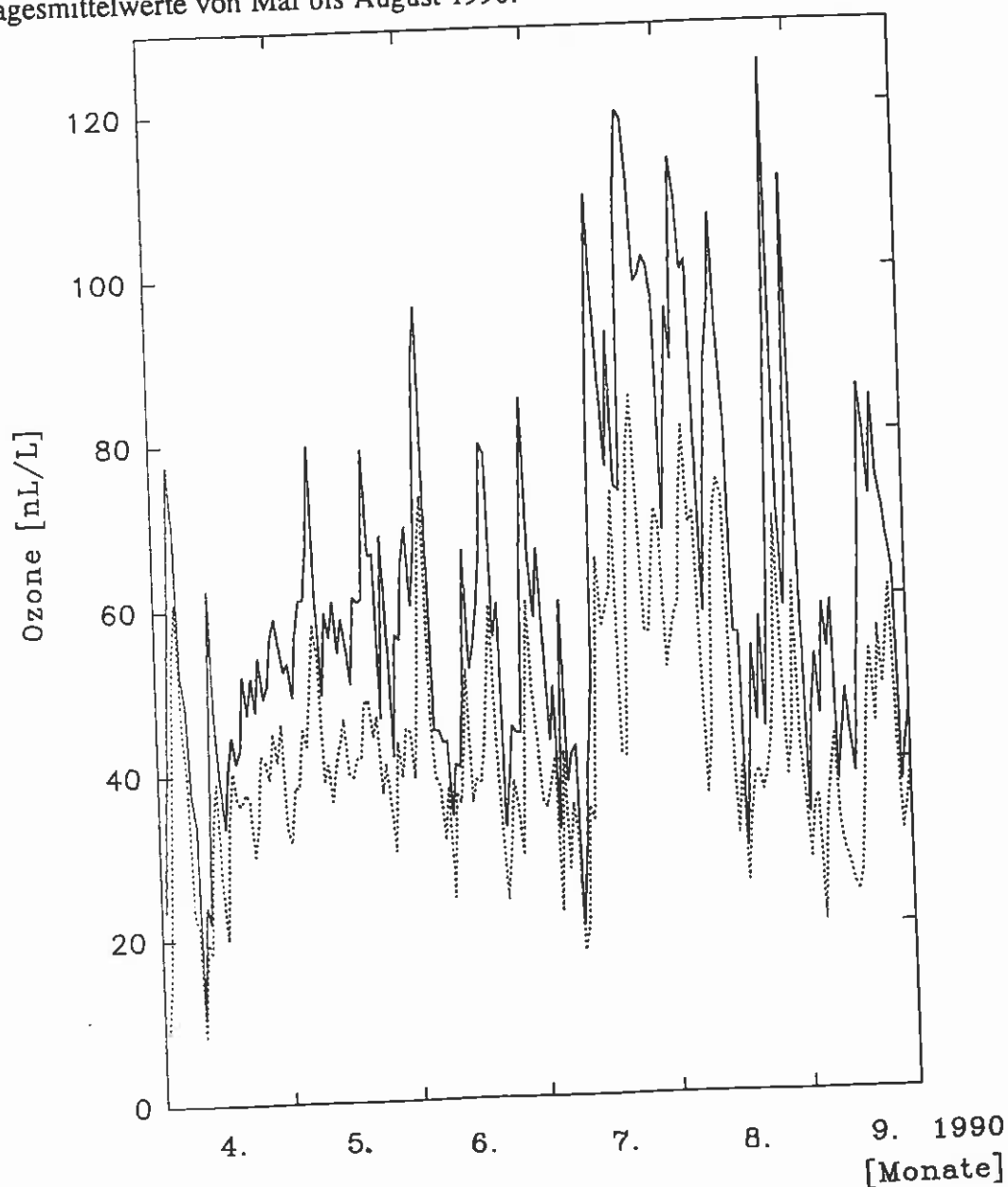


Abb 10 : Maximale Tageskonzentrationen (2h-Mittelwert) (durchgezogene Linie) und Tagesdurchschnittswerte (24h) der Ozonkonzentrationen (gestrichelt) von April 1990 bis September 1990 in Schönenbuch.

Ähnlich hohe Ozonwerte wurden bereits während der letzten Jahre erreicht (Flückiger, 1988). Demgegenüber werden seit einigen Jahren SO_2 -Konzentrationen unterhalb des Grenzwert der Luftreinhalteverordnung von $100 \mu\text{g m}^{-3}$ und NO_2 -Konzentrationen unterhalb des Grenzwert der Luftreinhalteverordnung von $80 \mu\text{g m}^{-3}$ gemessen.

Die Qualität der Simulation für die vier Behandlungen in den Klimakammern wird in Abbildung 11 am Beispiel von 3 Tagen aus dem August 1990 gezeigt. Neben den Freilandwerten Schönenbuchs sind die Ozonkonzentrationen aus vier Klimakammern der Expositionskammern dargestellt, in denen 3-jährige Buchen unterschiedlichen Belastungen ausgesetzt wurden. Am 11.8. wurde von 13 bis 15 Uhr die Ozonbehandlung unterbrochen, um Photosynthesemessungen durchführen zu können.

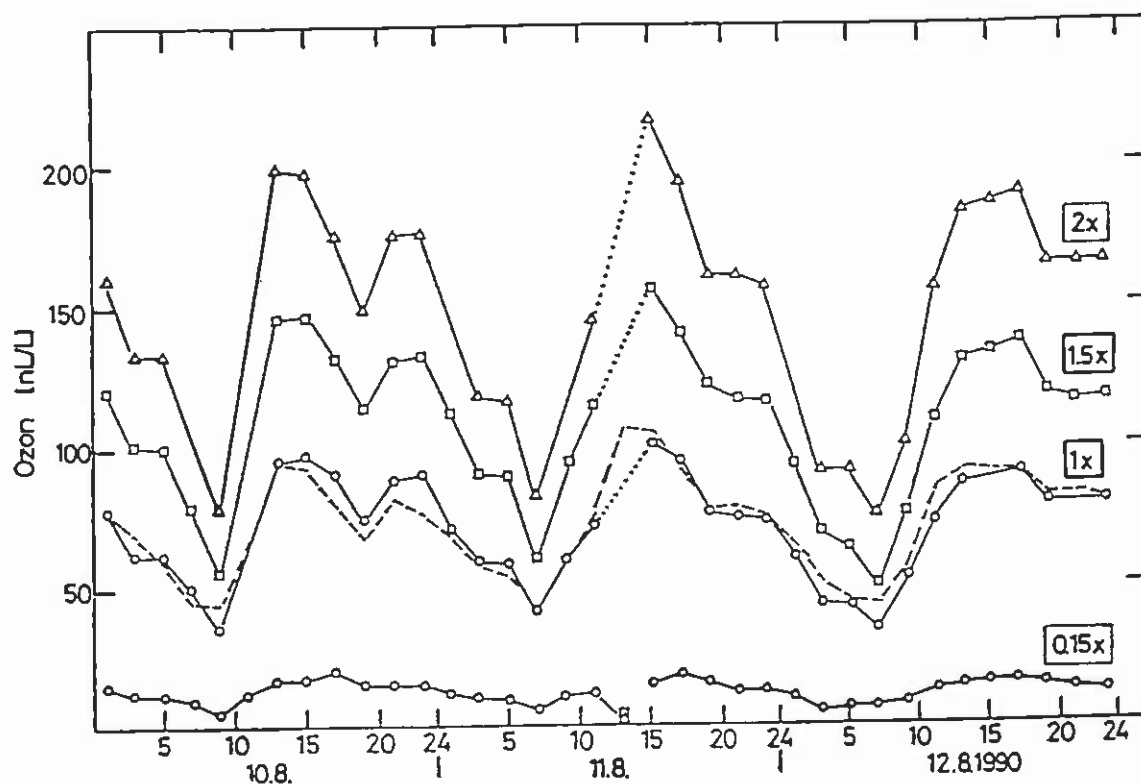


Abb. 11: Simulation von einfachen (1x), proportional erhöhten (1,5x und 2x) und erniedrigten (0,15x) Ozonkonzentrationen in den Klimakammern. Gezeigt werden die in den Klimakammern bei den vier Behandlungsvarianten gemessenen 2h-Mittelwerte an drei Tagen (10. bis 12.8.1990). Am 11.8. wurde die Ozonbehandlung von 13 bis 15 Uhr unterbrochen, um Photosynthesemessungen durchzuführen. Zusätzlich werden die 2h-Mittelwerte der im Freiland gemessenen Ozonkonzentrationen gezeigt (gestrichelte Linie, Sollwert 1x).

Nach der Behandlung wurden die Bäume im Institutsgarten weiterkultiviert. Dort waren sie den in Neuherberg natürlich auftretenden Ozonkonzentrationen ausgesetzt, mit sommerlichen Spitzenwerten von 100 nL L^{-1} (Abb. 12).

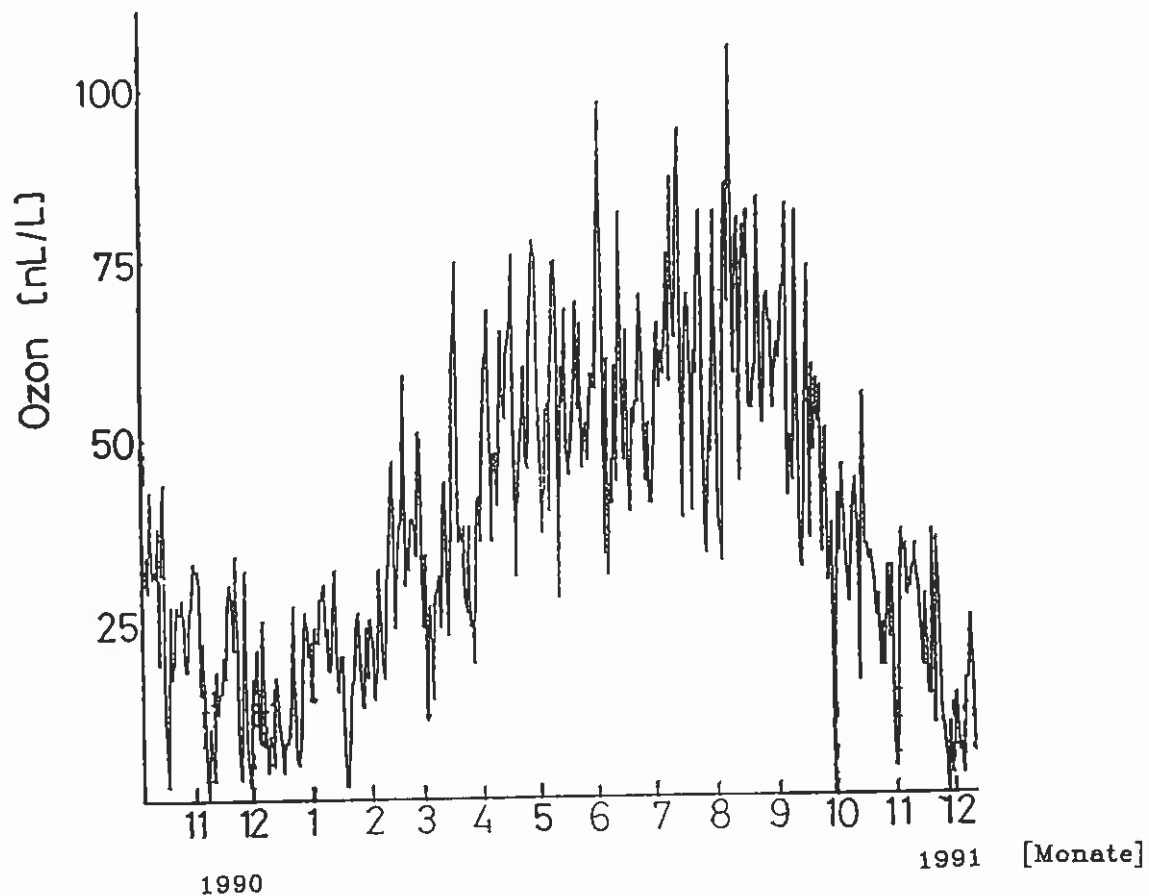


Abb. 12: Maximale Tagesozonkonzentrationen von Oktober 1990 bis Dezember 1991, gemessen in Neuherberg.

2. ERGEBNISSE DES LANGZEITVERSUCHS ZUR OZONWIRKUNG BEI BUCHEN

2.1. Austriebsverhalten und Zuwachsrate

Die Bestimmung des Austriebsverhaltens und der Zuwachsrate erfolgte durch wöchentliche Beobachtungen und Bonitierungen von der Knospenschwellung bis zur Blattentfaltung und durch wöchentliche Messungen der Länge des Haupttriebes. Zum Behandlungsbeginn (28.3.1990) waren die Knospen noch klein und geschlossen. Im April konnte eine zunehmende Knospenschwellung beobachtet werden, bis am Anfang Mai die ersten Blattspitzen sichtbar wurden (Abb. 13).

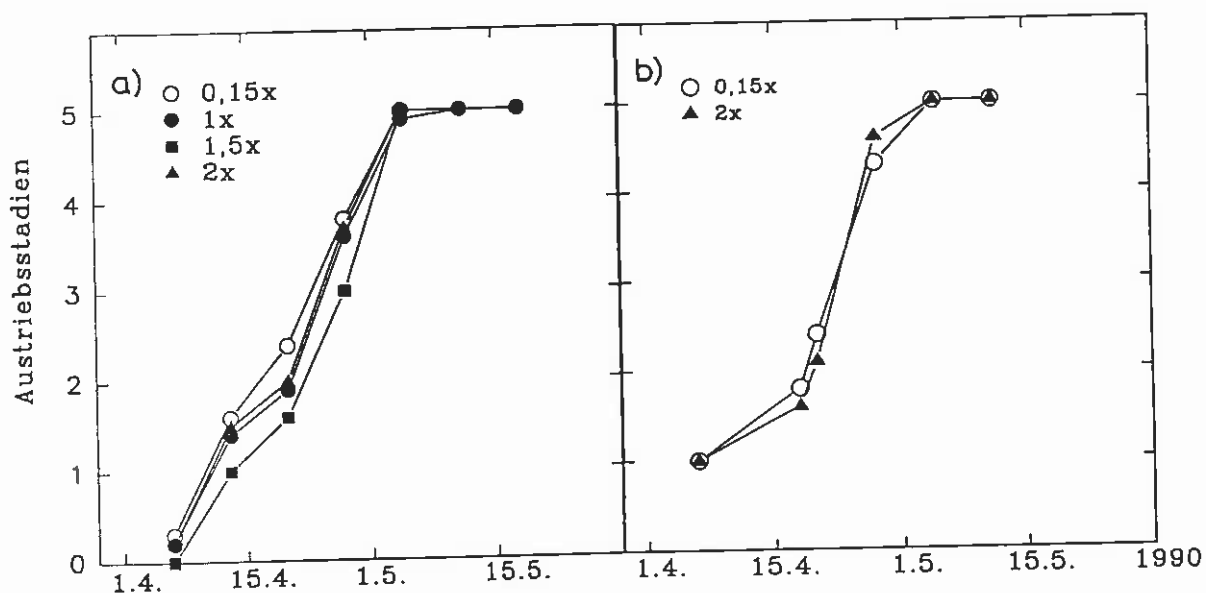


Abb. 13: Zeitlicher Verlauf des Austriebs a) 3-jähriger und b) 5-jähriger Buchen bei unterschiedlicher Ozonbehandlung.

Austriebsstadien: 0: keine Knospenschwellung, 1: leichte Knospenschwellung, 2: deutliche Knospenschwellung, 3: erste Blattspitzen sichtbar, 4: erste Blättchen entfaltet, 5: alle Blätter aus der Knospe entfaltet. (Siehe Abschnitt II.5.1.). Mittelwert $\pm$ SE ($n = 10$).

Innerhalb von 2-4 Tagen waren alle Blätter entfaltet. Es traten keine Unterschiede zwischen den Behandlungen und zwischen 3- und 5-jährigen Buchen auf.

Zur Bestimmung der Zuwachsrates des Haupttriebes wurde die Länge zwischen Knospenmitte und Knospenspitze, bzw. der Spitze des obersten Blatts wöchentlich gemessen.

Der Zuwachs begann mit der Schwellung der Knospen im April; die maximale Zuwachsrates konnte, sowohl in den Klimakammern als in den OTCs, Anfang Mai beobachtet werden (Abb. 14).

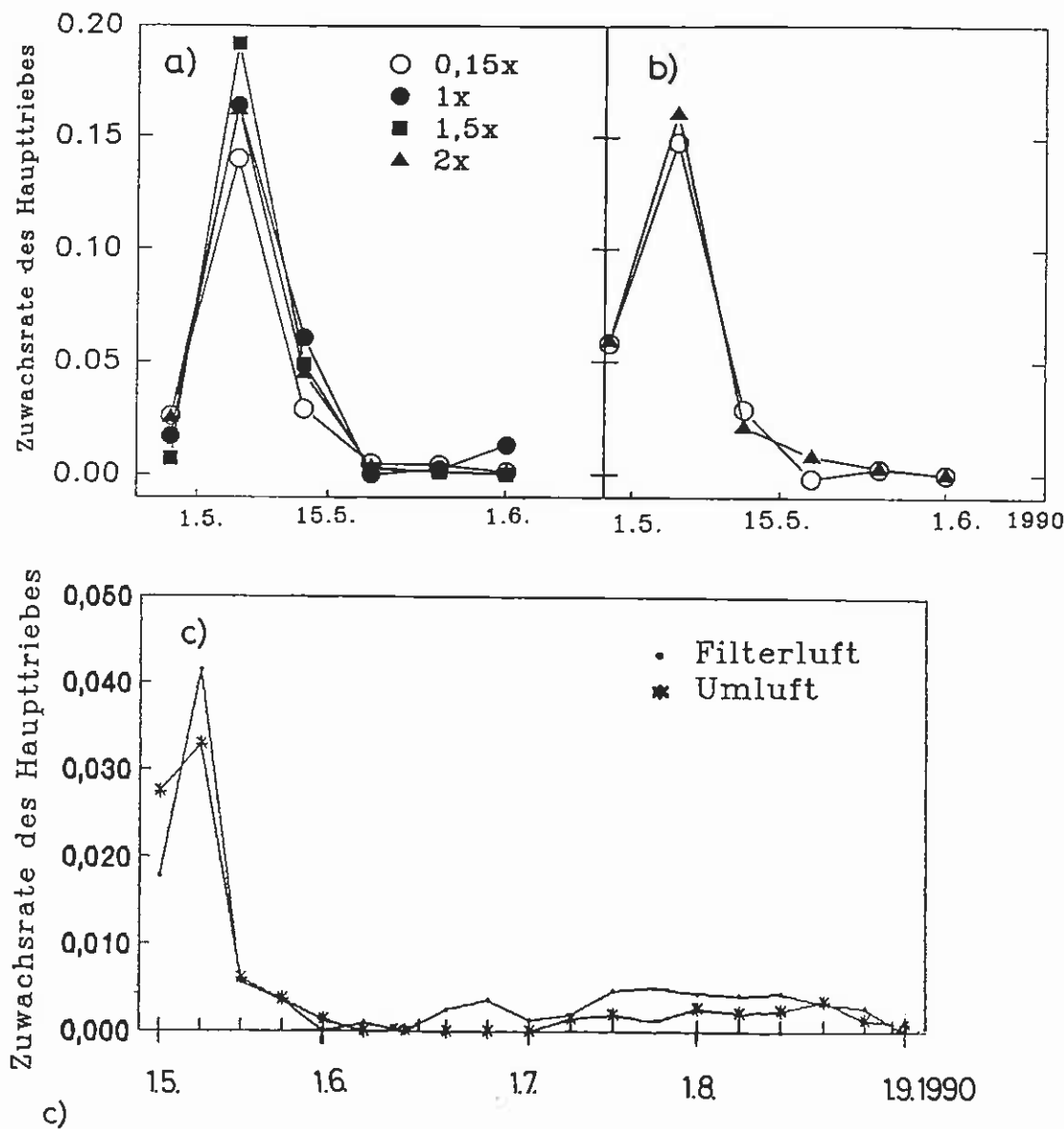


Abb. 14: Zeitlicher Verlauf der Zuwachsrates des Haupttriebes a) 3-jähriger und b) 5-jähriger Buchen unter realen, erniedrigten und erhöhten Ozonkonzentrationen in den Klimakammern; c) Zuwachsrates von 3-jährigen Buchen in Open-top-Kammern. Die Zuwachsrates wurde nach Chiarello et al. (1989) bestimmt (siehe Abschnitt II.5.2.). Mittelwert $\pm$ SE ($n = 10$).

Die maximale Zuwachsrate fiel mit der kompletten Entfaltung der Blätter zusammen. Bis Mitte Mai fand eine kontinuierliche Abnahme der Zuwachsrate statt, sodaß Zuwachs und Blattentwicklung während eines Zeitraumes von ca. 3 Wochen erfolgten. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der Zuwachsrate zwischen den Ozonbehandlungen festgestellt werden. Während nur zwei der in den Klimakammern behandelten Buchen Johannistriebe entwickelten, traten ab Mitte Juni in den OTCs an 70 % der Pflanzen Johannistriebe auf, erkennbar an leicht erhöhten Zuwachsraten (Abb. 14c). Im August konnten in der Filterluft-OTC doppelt so lange Johannistriebe wie in der Umluft-OTC gemessen werden.

3-jährige Buchen, die bei erniedrigten Temperaturen exponiert wurden, zeigten einen um ca. 10 Tage verzögerten Austrieb und einen verlangsamten Zuwachs des Haupttriebes (vergleiche Abb. 15 mit Abb. 13a und 14a). Zuwachs und Blattentwicklung fanden bei diesen Buchen im "Bergklima" während eines Zeitraumes von ca. 5 Wochen statt. Wiederum zeigten die vier Ozonvarianten einen gleichmäßigen Verlauf von Austrieb und Zuwachsrate.

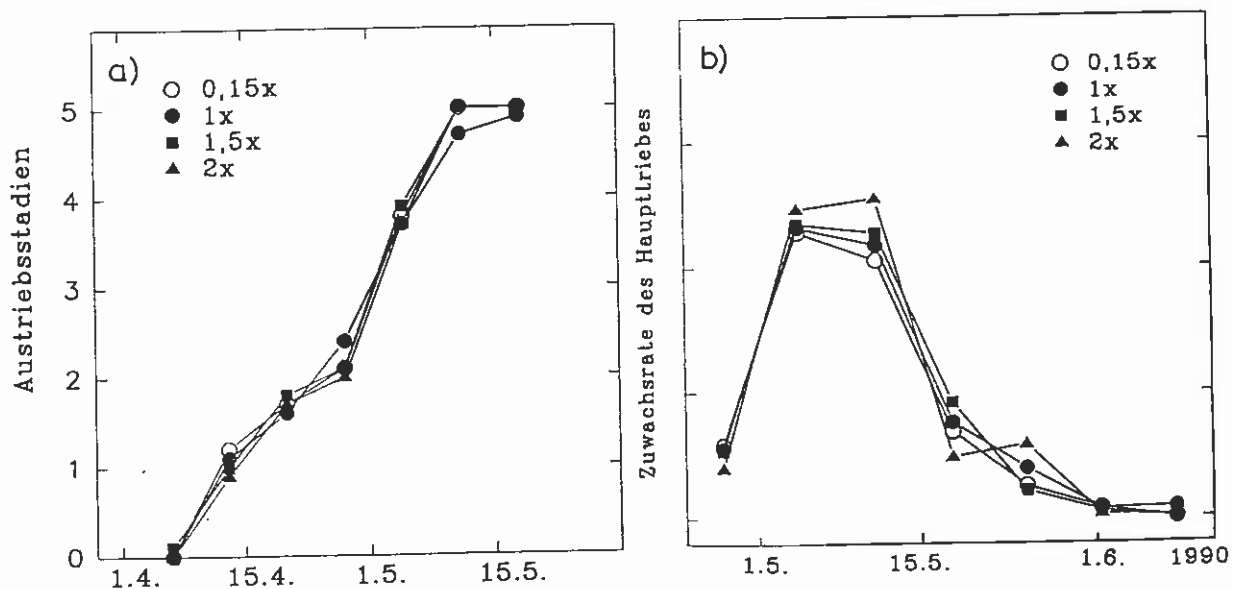


Abb. 15: Zeitlicher Verlauf von a) Austrieb (siehe Legende Abb.13) und b) Zuwachsrate des Haupttriebes (siehe Legende Abb.14) von 3-jährigen Buchen bei unterschiedlichen Ozonkonzentrationen und bei Temperaturen, die um 3-5°C unter den Werten des Standortes Schönenbuch lagen (simuliertes Bergklima). Mittelwert $\pm$ SE (n = 10).

2.2. Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit

2.2.1. Netto-Photosynthese von Buchen in den Klimakammern

Nach Abschluß der Blattentwicklung wurden ab Mitte Juli in regelmäßigen Zeitabständen die Netto-Photosynthese und die stomatäre Leitfähigkeit der 3-jährigen Buchen mit einem ADC-Gaswechsel-Meßgerät gemessen (siehe Abschnitt II.6.). Abbildung 16 zeigt, wie bereits ab der ersten Messung (18.7.) ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen der Netto-Photosynthese der 1x- und der 1,5x- sowie 2x-Behandlungen festgestellt werden konnte, mit 20 % bzw. 40 % niedrigeren Werten bei den erhöhten Behandlungen. Bis Ende Juli war eine Abnahme der Netto-Photosynthese in allen vier Behandlungsvarianten festzustellen, die jedoch in den 1,5x- und 2x-Behandlungen (20 bis 30 % Abnahme) deutlicher war als in den 1x- und 0,15x-Behandlungen (6 bis 7 % Abnahme).

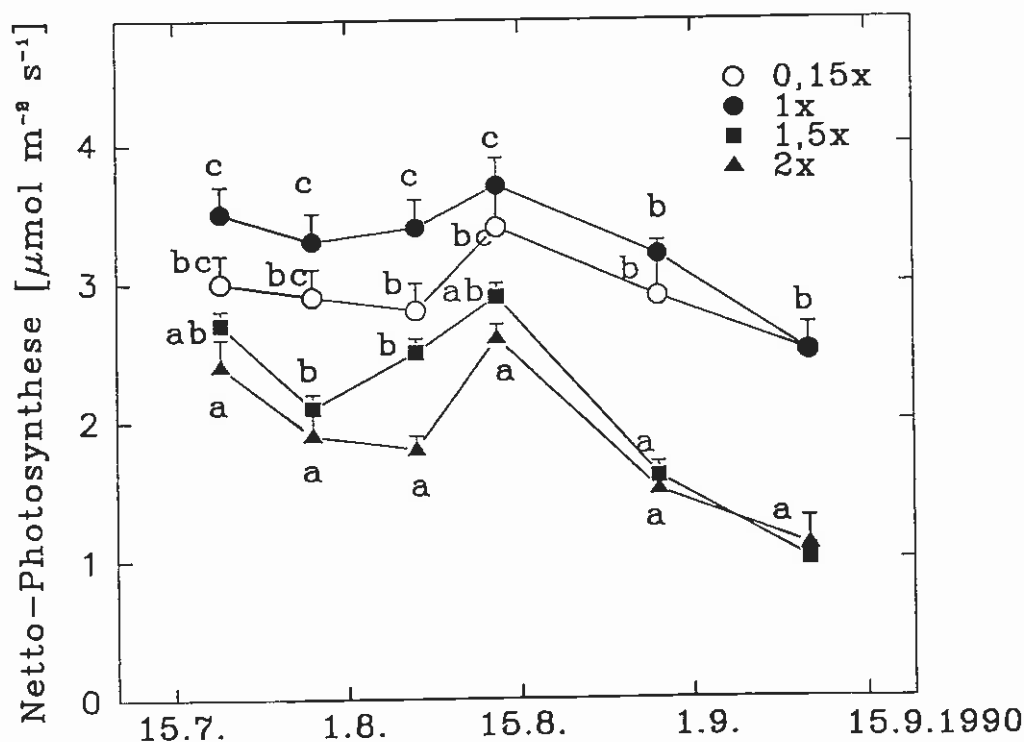


Abb. 16: Netto-Photosynthese von 3-jährigen Buchen bei unterschiedlicher Ozonbehandlung. Die Messungen erfolgten in dreiwöchigen Intervallen an vollentwickelten Blättern bis kurz vor dem Blattfall. Mittelwert $\pm$ SE ($n = 20$) für ein Datum mit gleichen Buchstaben sind nicht signifikant ($p < 0,05$) verschieden nach dem LSD Multiple Range Test.

Zu diesem Zeitpunkt war die Netto-Photosynthese der 1,5x- und 2x-Behandlungen um 40 % gegenüber den 1x- und 0,15x-Behandlungen vermindert. Bis Anfang August erfolgte keine weitere Abnahme; bei der 1,5x-Behandlung nahm die Netto-Photosynthese sogar um 20 % zu. Eine Woche später (ca. 15.8.) wurden bei allen Behandlungsvarianten 20 bis 40 % höhere Werte gemessen. Es ist auszuschließen, daß dieser Anstieg durch Temperaturänderungen oder durch eine Düngung beeinflusst wurde (die letzte Düngung wurde am 21.7. durchgeführt). Zu bemerken ist, daß zu diesem Zeitpunkt die Ozonkonzentrationen abgenommen hatten (vergleiche Abb. 10). Zwischen Ende August und Anfang September nahm die Netto-Photosynthese in allen Behandlungen wieder ab, vermutlich aufgrund beginnender herbstlicher Seneszenz. Betrachtet man die gesamte Meßzeit, so zeigt sich eine signifikante Verminderung der Netto-Photosynthese bei 1,5x und 2x Ozon gegenüber der 1x-Behandlung; zwischen der 0,15x- und 1x-Behandlung waren keine signifikanten Unterschiede feststellbar, obwohl bei 1x Ozon tendenziell immer höhere Werte gemessen wurden. Die 1,5x- und 2x-Behandlungen verhielten sich gleichartig, mit Ausnahme der Messung am 4.8., bei der signifikante Unterschiede auftraten.

Eine umfangreiche Bestimmung von wichtigen Photosynthese-Parametern wie der maximalen Photosyntheserate, der Carboxylierungseffizienz, der Photosynthesekapazität, der stomatären Leitfähigkeit, der apparenten Quantenausbeute und der Dunkelatmung wurden an den gleichen Versuchspflanzen von M. Lippert durchgeführt (Lippert, 1992). Erste Messungen im Juni zeigten keine behandlungsabhängigen Unterschiede. Eine zweite Meßreihe erfolgte Ende August. Sie zeigte eine statistisch gesicherte Abnahme der maximalen Photosyntheserate und der Carboxylierungseffizienz in den 1,5x- und 2x-Behandlungen gegenüber der 0,15x- und 1x-Behandlung und bestätigte die oben beschriebenen Ergebnisse.

2.2.2. Stomatäre Leitfähigkeit von Buchen in den Klimakammern

Das Verhalten der stomatären Leitfähigkeit zeigte einen ähnlichen behandlungsabhängigen Trend wie die Netto-Photosynthese: erhöhte Ozonkonzentrationen führten ab Ende Juli zu einer Reduktion von ca. 15-20 % gegenüber den Kontrollen (Abb. 17). Die Pflanzen bei 0,15x und 1x Ozon wiesen fast identische Werte auf.

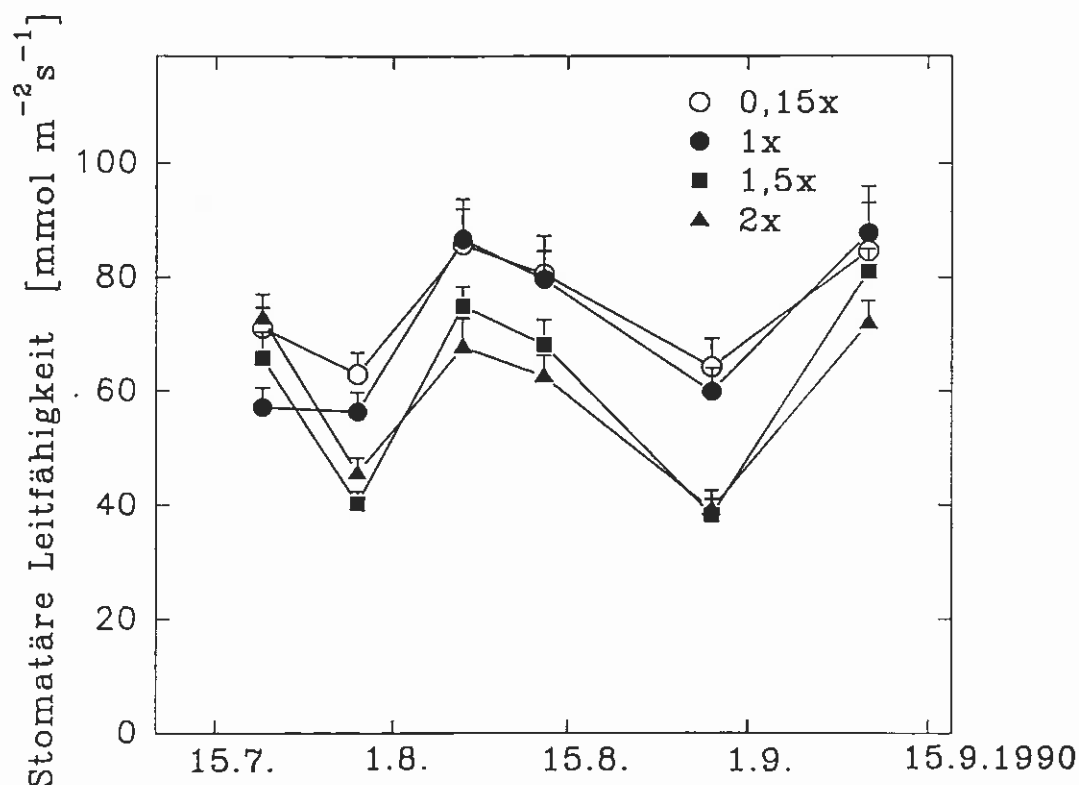


Abb. 17: Stomatäre Leitfähigkeit von 3-jährigen Buchen. Die Messungen erfolgten parallel mit denen der Netto-Photosynthese (Abb. 16). Mittelwert $\pm$ SE ($n=20$).

2.2.3. Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit 3-jähriger Buchen unter Bergklima (Klimakammern)

Die Buchen, die bei einer verminderten Temperatur gehalten wurden, zeigten Mitte Juli rund 30 % niedrigere Netto-Photosynthese- und stomatäre Leitfähigkeitswerte als Pflanzen, die bei normaler Temperatur (Schönenbuch)

2.2.4. Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit der Buchen in den Open-Top-Kammern und im Freiland

Wie in Tabelle 7 gezeigt, wurden in den OTCs keine Unterschiede in der Netto-Photosynthese der Buchen zwischen der Umluft- und Filterluft-Behandlung festgestellt. Die stomatäre Leitfähigkeit der Pflanzen in der Filterluft war gegenüber der Umluft-Behandlung um 20 % vermindert. Eine vergleichende Messung am 24. August zwischen Buchen im Freiland und in OTCs zeigte im Freiland eine um rund 30 % niedrigere Netto-Photosynthese und eine um etwa das doppelte erhöhte stomatäre Leitfähigkeit im Vergleich zur Umluft-Behandlung.

Die in den OTCs und im Freiland durchgeführten Gaswechselfmessungen zeigten im Vergleich zu den Klimakammern (Abb. 16 und 17) 3-fach erhöhte Messwerte, wahrscheinlich auf Grund der in den OTCs und im Freiland herrschenden höheren Lichtintensitäten.

Tab. 7: Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit von 3-jährigen Buchen in den Open-Top-Kammern (Filterluft und Umluft) und im Freiland. Mittelwert $\pm$ SE (n = 5-19).

Behandlung	Netto-Photosynthese [$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	st. Leitfähigkeit [$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$]
12.7.1990		
Filterluft	$11,7 \pm 0,8$	233 ± 18
Umluft	$11,2 \pm 0,3$	254 ± 30
24.8.1990		
Filterluft	$11,8 \pm 0,6$	297 ± 21
Umluft	$12,8 \pm 0,7$	376 ± 20
Freiland	$9,1 \pm 1,3$	673 ± 263
5.9.1990		
Filterluft	$13,9 \pm 0,7$	155 ± 9
Umluft	$14,9 \pm 0,8$	209 ± 13

2.3. Freisetzungsraten von Kalium, Magnesium und Calcium aus Blattscheiben

2.3.1. Freisetzungsraten bei 3-jährigen Buchen

Die Freisetzung von Kalium, Magnesium und Calcium wurde an ausgestanzten Blattscheiben bestimmt, die mit Puffer von pH 5,6 gewaschen und dann in einer Pufferlösung flottiert wurden. Nach 1h Inkubation wurden die Elementgehalte des Mediums bestimmt. Dabei zeigte sich bei der ersten Meßreihe Ende Juli eine um 40 % (1,5x) und 100 % (2x Ozon) erhöhte K-Freisetzungsrates gegenüber der 1x-Behandlung (Abb. 19a). Bei der 1x-Behandlung entsprach das freigesetzte Kalium 1-2 % des Gesamtgehaltes im Blatt, bei den 1,5x- und 2x-Behandlungen 2-3 %. Die Mg-Freisetzungsrates war bei 1,5x- und 2x-Behandlung um ca. 20 % gegenüber der 0,15x und 1x-Behandlung erhöht (ca. 3 % des Gesamtgehaltes; Abb. 19b). Bei der Ca-Freisetzung konnten keine signifikanten behandlungsabhängigen Unterschiede festgestellt werden (1 % des Gesamtgehaltes; Abb. 19c). Bei allen drei Elementen waren keine signifikanten Unterschiede zwischen der 0,15x- und 1x-Behandlung festzustellen. Sechs Wochen später, im September, blieben die K-Freisetzungsrates der 1,5x- und 2x-Behandlungen im Vergleich zur 1x-Behandlung weiterhin signifikant erhöht ($p < 0,05$; Abb. 19a). Die Mg-Freisetzungsrates bei den beiden erhöhten Ozonbehandlungen nahm deutlich zu; die Freisetzung betrug 13,9 und 20,5 nmol Mg cm⁻² h⁻¹, und entsprach 6-10 % des Blattgehalts (Abb. 19b). Bei diesem Kation trat eine statistisch gesicherte lineare Erhöhung mit der Ozondosis auf. Die Freisetzungsrates für Calcium waren allgemein gegenüber der Messung im Juli erhöht, wiesen aber nur Unterschiede zwischen der 1x und 2x Behandlung auf (Abb. 19c).

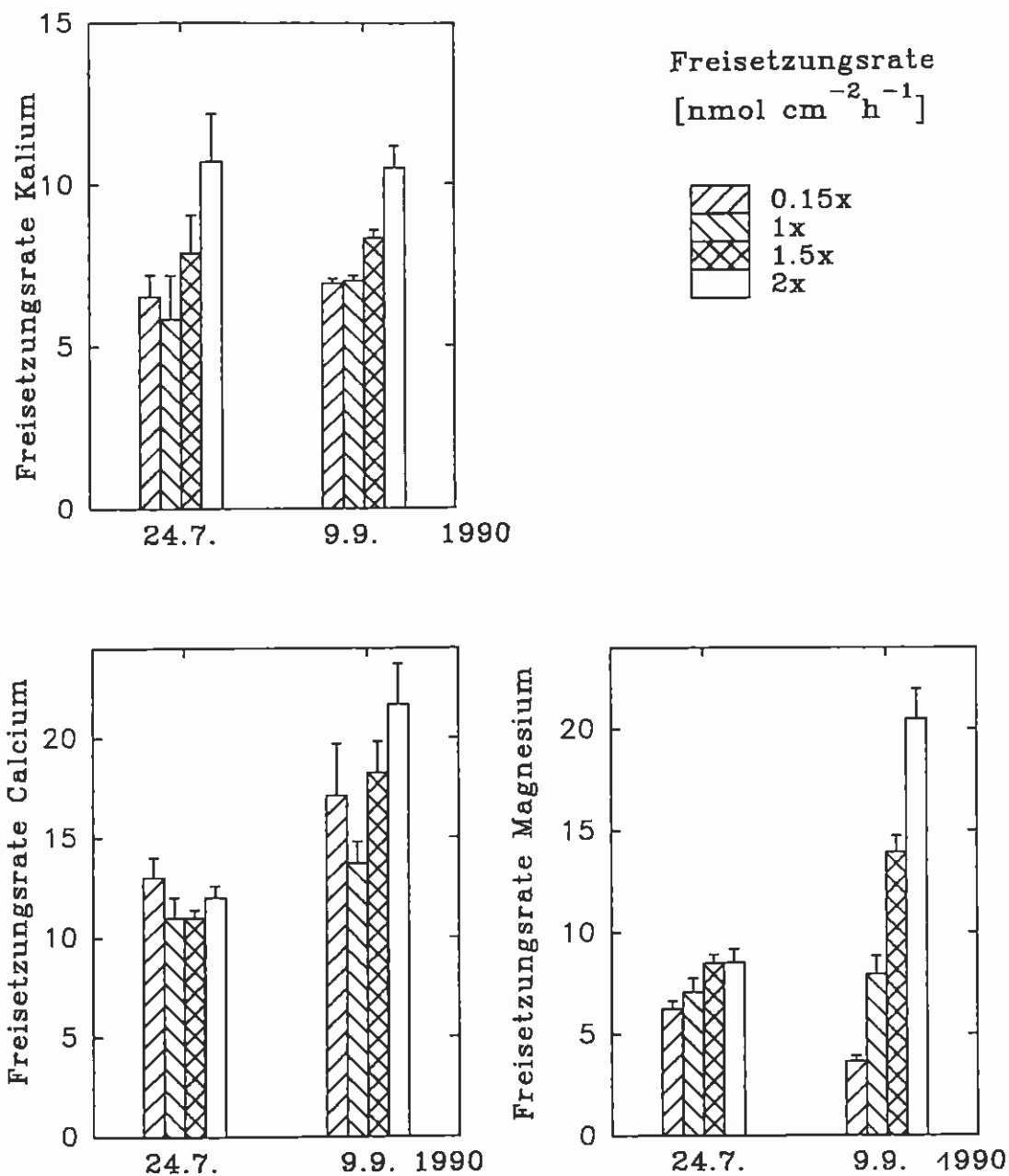


Abb. 19: Freisetzungsraten von a) Kalium, b) Magnesium, c) Calcium, gemessen an Blattscheiben von 3-jährigen Buchen im Juli und im September nach unterschiedlicher Ozonbehandlung. Mittelwert $\pm$ SE ($n = 6$) für ein Datum mit gleichen Buchstaben sind nicht signifikant ($p < 0,05$) verschieden nach dem LSD Multiple Range Test.

2.4. Dichlorfluoresceindiaceetat-Test (FDA)

2.4.1. Dichlorfluoresceindiaceetat-Test (FDA) an 3-jährigen Buchen

Oxidative Prozesse in Buchenblattscheiben wurden mit Hilfe einer Inkubation mit einem Fluoreszenzfarbstoff untersucht. Es wurde 2',7'-Dichlorfluoresceindiaceetat eingesetzt, welches in reduziertem Zustand vorliegt und nicht fluoresziert. Unter der Wirkung von Zellinhaltsstoffen kann eine Oxidation zu dem fluoreszierenden Dichlorfluoresceindiaceetat erfolgen (Abb. 20), die mit einem Fluoreszenzspektrofotometer bestimmt werden kann.

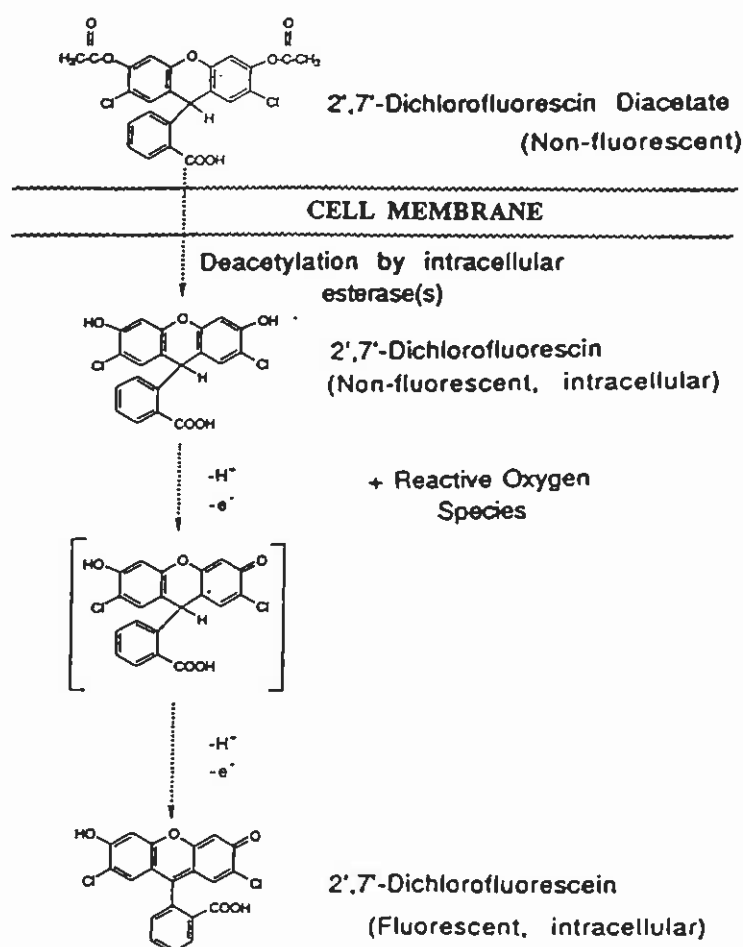


Abb. 20: Möglicher Reaktionsweg zur Oxidation von 2',7'-Dichlorfluoresceindiaceetat (FDA). In der Zelle eingedrungenes FDA wird durch die Aktivität von Esterasen deacetyliert und durch reaktive Sauerstoffspezies zum fluoreszierenden 2',7'-Dichlorfluoresceindiaceetat oxydiert (verändert nach LeBel et al. 1992).

Fluoreszenzmessungen erfolgten in dem Homogenat aus Blattscheiben sowie im Inkubationsmedium; die Mengen korrelierten und werden im folgenden zusammenfassend in pmol fluoreszierende Substanz dargestellt. Am 24.7. zeigte die Menge an oxidiertem FDA in Buchenblattscheiben keine Unterschiede zwischen den Behandlungen (Tab. 8). Die Werte lagen bei 40 pmol g⁻¹FG. Gleichzeitig zeigten Blattscheiben 3-jähriger Buchen, die bei niedriger Temperatur behandelt wurden, Werte um 50-60 pmol g⁻¹FG. Zwischen den Ozonbehandlungen selbst gab es keine Unterschiede.

Am 9.9.1990 wurden die Buchen, die bei Normaltemperatur behandelt wurden, ein zweites mal beprobt. Die Menge an oxidiertem FDA in den Blattscheiben war in Abhängigkeit der Ozonbehandlung deutlich erhöht. Der Anstieg der Fluoreszenz mit zunehmender Ozonkonzentration von 60 auf 170 pmol FDA g⁻¹FG bei der 2x-Behandlung konnte statistisch gesichert werden ($p < 0,05$).

Tab. 8: Vergleich der Menge oxidierten FDAs in Blattscheiben 3-jähriger Buchen, gemessen im Juli und im September bei proportional erniedrigten und erhöhten Ozonkonzentrationen (Mittelwert $\pm$ SE, $n = 3-6$).

Behandl.	FDA-Gehalt (pmol g ⁻¹ FG)		
	24.7.90 Schönenbuch-Klima	24.7.90 Bergklima	9.9.90 Schönenbuch-Klima
0.15x	37,5 $\pm$ 1,0	54,1 $\pm$ 3,2	60,4 $\pm$ 4,3
1x		59,6 $\pm$ 3,2	88,4 $\pm$ 4,6
1.5x		56,8 $\pm$ 1,7	122,1 $\pm$ 10,3
2x	39,8 $\pm$ 3,0	59,1 $\pm$ 3,1	169,7 $\pm$ 14,0

2.5. Ethylenbiosynthese in Buchen

Die kurzfristige Freisetzung des pflanzlichen Hormons Ethylen stellt einen bekannten, durch unterschiedliche Streßbedingungen induzierten Seneszenzparameter dar (Abeles, 1969). Als möglicher Vermittler für weitere Reaktionen bzw. als wichtige Komponente bei der Entwicklung einer Schädigung spielt Ethylen auch bei Ozonbelastung eine wesentliche Rolle. Deshalb wurde im Laufe des Versuches aus Blattmaterial von Buchen die Ethylenvorstufe 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure (ACC) und deren malonylierte Form, Malonyl-ACC (MACC) bestimmt.

2.5.1. ACC- und MACC-Gehalte bei 3-jährigen Buchen

Die 3-jährigen Buchen aus den Klimakammern, OTCs und den Freiland wurden zweimal im Laufe des Versuches, im Juli und im September, beerntet. Zusätzlich wurden in den Klimakammern im August Blattproben von Buchen der 0,15x- und 2x-Behandlung entnommen. Die Messung der ACC-Gehalte der Buchenblätter aus den Klimakammern zeigte, daß die Werte der 1,5x und 2x-Behandlungen bereits Ende Juli 2-3fach höher lagen als bei den 1x- und 0,15x-Behandlungen ($p < 0,01$; genauere statistische Auswertung mit ANOVA ist in dem Anhang 1 zu finden) (Abb. 21a). Bis Mitte August erfolgte eine weitere Zunahme, die bis zum September, mit 4,5-fach erhöhten Werten bei 2x-Behandlung, erhalten blieb. Zu diesem Zeitpunkt war in der 1,5x-Behandlung der ACC-Gehalt im Vergleich zu der 1x-Behandlung 3-fach erhöht. Die ACC-Gehalte der 0,15x- und 1x-Behandlungen in den Klimakammern lagen in der gesamten Zeit bei ca. $0,2 \text{ nmol g}^{-1}\text{FG}$. Die Messungen in den OTCs ergaben vergleichbare Werte und keine Unterschiede zwischen Umluft und Filterluft (Abb. 21b). Im Freiland lagen die ACC-Gehalte im Juli in ähnlicher Größenordnung wie in den OTCs, erreichten aber im September sehr hohe

Werte von $1,3 \text{ nmol g}^{-1} \text{FG}$ (Abb. 21c).

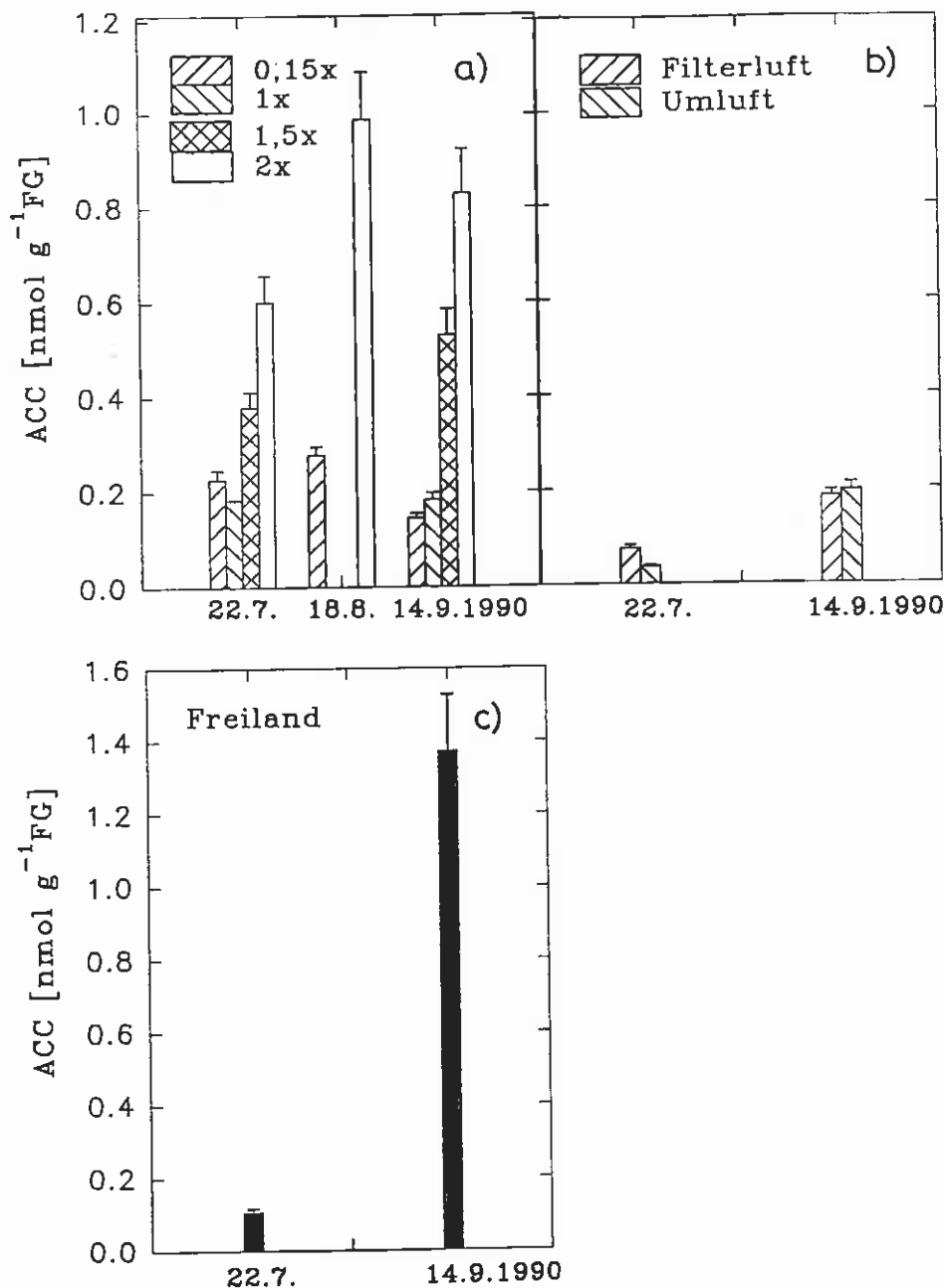


Abb. 21: Zeitliche Änderungen im ACC-Gehalt von 3-jährigen Buchen in Abhängigkeit der Behandlungsart a) in Klimakammern, b) in Open-top-Kammern und c) im Freiland. Mittelwert $\pm$ SE ($n = 10$).

Im MACC-Gehalt konnten Ende Juli signifikante Unterschiede ($p < 0.05$; genauere statistische Auswertung mit ANOVA ist in dem Anhang 2 zu finden) zwischen der 2x- und der 1x-Behandlung festgestellt werden (Abb. 22a). Bei der Beprobung der Buchen aus den 0,15x- und 2x-Behandlungen Mitte August nahmen die MACC-Gehalte der 2x-Behandlung weiterhin zu und im September

zeigten sich signifikante Unterschiede ($p < 0,01$). Die 2x- und 1,5x-Behandlungen wiesen gegenüber der 1x-Behandlung 3-fach erhöhte Werte auf. Die MACC-Gehalte der 0,15x- und 1x-Behandlungen in den Klimakammern lagen in der gesamten Untersuchungszeit bei 5 bis 8 $\text{nmol g}^{-1}\text{FG}$. Die Messungen in den OTCs und im Freiland ergaben vergleichbare Werte zu denen der Klimakammern; nur im September trat bei den Freilandbuchen eine Erhöhung auf ca. 11 $\text{nmol g}^{-1}\text{FG}$ auf (Abb. 22b,c).

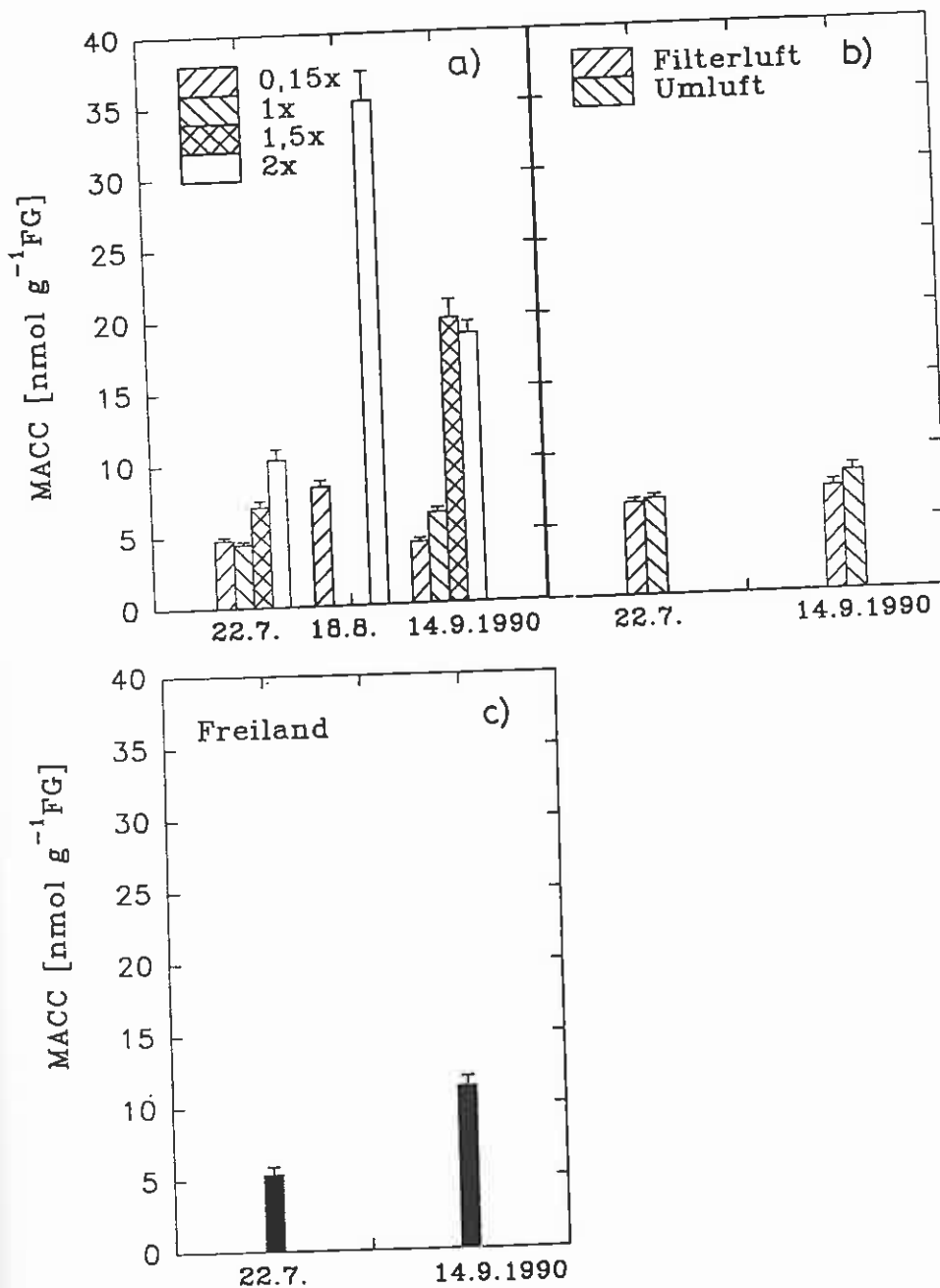


Abb. 22: Zeitliche Änderungen im MACC-Gehalt von 3-jährigen Buchen während der Behandlung a) in Klimakammern, b) in Open-top-Kammern und c) im Freiland. Mittelwert $\pm$ SE ($n = 10$).

2.5.2. ACC- und MACC-Gehalte bei 5-jährigen Buchen

Die größere Blattanzahl von 5-jährigen Buchen erlaubte eine häufigere Beprobung (6 Ernten) und damit eine genauere Bestimmung des zeitlichen Verlaufs von Änderungen im ACC- und MACC-Gehalt. Die Bestimmung der ACC- und MACC-Gehalte von Mai bis August 1990 zeigte, daß beide Komponenten mit der Ozonkonzentration entsprechend den Befunden bei 3-jährigen Buchen, anstiegen. Anfang August nahmen sowohl die ACC- als auch die MACC-Gehalte bei der 2x-Behandlung zu und erreichten Mitte August Werte, die in beiden Fällen über das 10-fache gegenüber der 0,15x-Behandlung erhöht waren (Abb.23a und b).

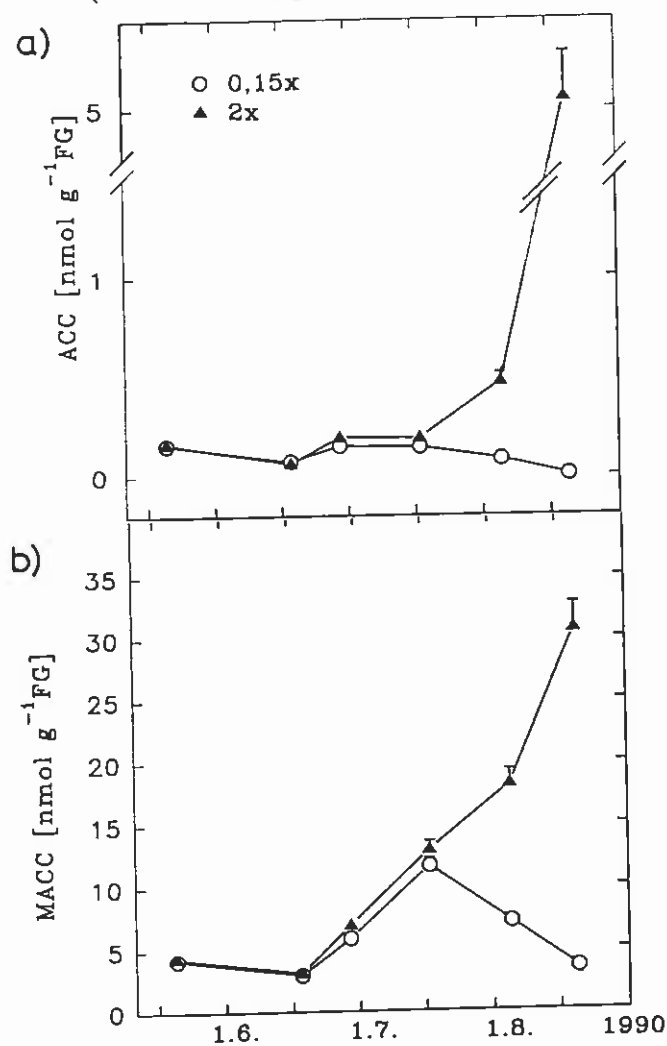


Abb. 23 : Zeitliche Änderungen im a) ACC-Gehalt und b) MACC-Gehalt von 5-jährigen Buchen in Klimakammern unter proportional erniedrigten und erhöhten Ozonkonzentrationen. Mittelwert $\pm$ SE (n = 9-10).

Der MACC-Gehalt der 0,15x-Behandlung zeigte im Laufe der Versuchszeit einen Anstieg Mitte Juli und eine darauf folgende Abnahme. Dieser Verlauf deutet auf eine Jahreskinetik hin, deren Überprüfung weiterer Messungen an Kontrollbäumen bedarf.

In Zusammenarbeit mit der Abteilung Biologie der Universität Bonn wurde die Ozonbehandlung von Buchen mit 0,15x- und 2x-Ozonwerten von Juli und August aus Schönenbuch wiederholt. Nach 6 Wochen Behandlung wurde die Ethylenentwicklung aus Buchenblättern nach der im Abschnitt 8.5. beschriebenen Methode gemessen. Die Ergebnisse zeigen einen signifikanten Anstieg der Ethylenentwicklung um 40 % bei der 2x-Behandlung gegenüber der 0,15x-Behandlung (Abb. 24).

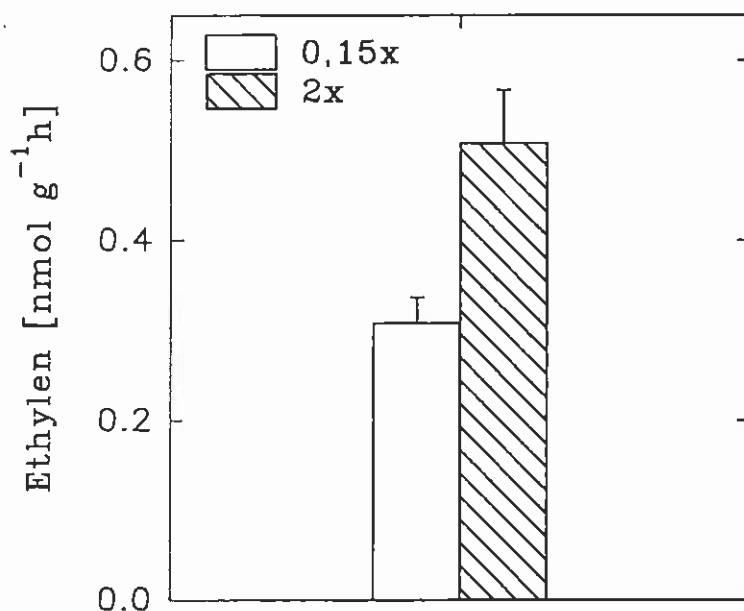


Abb. 24: Ethylenentwicklung von Buchenblättern nach 6-wöchiger Behandlung mit 0,15x und 2x erhöhten Ozonkonzentrationen (Simulation der Juli und Augustwerte 1990). Mittelwert $\pm$ SE (n= 6).

2.6. Polyamingehalt bei Buchen

Der Gehalt der wichtigsten aliphatischen Polyamine (Putrescin, Spermidin und Spermin) wurde zu drei Zeitpunkten in den 3-jährigen Buchen bestimmt.

Die erhöhten Ozonkonzentrationen führten zu gesteigerten Putrescingehalten in den Blättern (Abb. 25a). Bereits im Juli war der Putrescingehalt bei der 2x-Behandlung im Vergleich zur 1x-Behandlung 2,8-fach erhöht. Im September erreichten die Pflanzen aus der 1,5x-Behandlung gleiche Putrescinkonzentrationen wie die der 2x-Behandlung ($40 \text{ nmol g}^{-1}\text{FG}$), womit ein deutlicher Unterschied gegenüber den 0,15x- und 1x-Behandlungen (rund $20 \text{ nmol g}^{-1}\text{FG}$) festgestellt werden konnte. Die Spermidin- und Spermin-Gehalte zeigten im selben Zeitraum keine signifikanten behandlungsabhängigen Unterschiede (Abb. 25b und c).

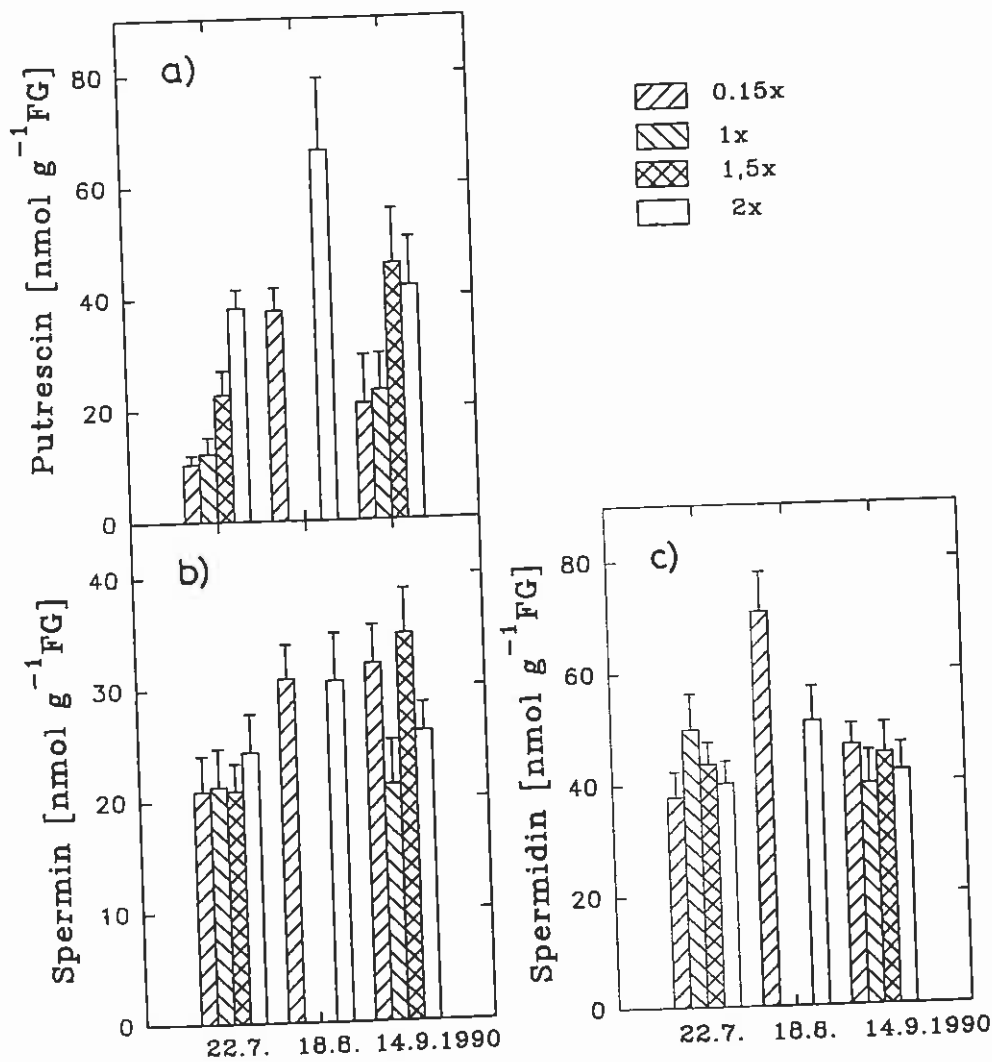


Abb. 25: Zeitliche Änderungen im Polyamingehalt von a) Putrescin b) Spermidin c) Spermin von 3-jährigen Buchen in Klimakammern bei unterschiedlicher Ozonbehandlung. Mittelwert $\pm$ SE ($n = 10$).

2.7. Ozoninduzierte Symptomentwicklung

2.7.1. Ozonabhängige Symptome bei 3-jährigen Buchen

Während des Neuaustriebs (April) und der Blattentwicklung (Juni) wurden, wie beschrieben, keine sichtbaren Schädigungen an den Pflanzen festgestellt. Ende Juni trat bei allen Pflanzen in den Klimakammern eine leicht grünlich-gelbe Verfärbung der Blätter auf (Abb. 26a). Diese konnte nicht mit einem Nährstoffmangel in Verbindung gebracht werden (Tab.4), sondern beruhte vermutlich auf den gegenüber dem Freiland (bis 900 W m^{-2}) niedrigeren Lichtintensitäten in den Klimakammern (420 W m^{-2}). Ozonabhängige Symptome wurden bei den 1,5x- und 2x-Behandlungen in der ersten Julihälfte als bronzeartiger Schimmer auf der Blattoberseite festgestellt. Wurden die Blätter auf eine beleuchtete Fläche gelegt oder in Ethanol entfärbt, so zeigten sich kleine, punktförmige, braune Nekrosen. Auch bei Trocknung der Blätter traten diese Symptome deutlich hervor. Es ist also anzunehmen, daß nekrotische Bereiche im Anfangsstadium durch hohe Pigmentgehalte überdeckt werden können. Einhergehend mit der Zunahme der Ozonkonzentrationen entwickelten sich Ende Juli (28-30.7.) an den Pflanzen der 1,5x- und 2x-Behandlung kleine, dunkelbraune Punkte in den Interkostalfeldern nahe der Mittelrippe (Anteil nekrotisierter Blattfläche $< 10 \%$). Die Nekrosen breiteten sich anschließend gleichmäßig über das gesamte Blatt aus (Abb. 27). Abbildung 28 zeigt am Beispiel einiger Pflanzen die Symptomausprägung in den vier Behandlungsvarianten Anfang August. Während bei den 0,15x- und 1x-Behandlungen keine Nekrosen zu sehen waren, erreichten sie eine Ausdehnung von 20 bis 45 % bei den 1,5x- und 2x-Behandlungen. Bei zunehmender Schadausprägung bildeten sich größere Nekrosenflächen und schließlich wurden ganze Blattpartien nekrotisch (Abb. 26 b,d). Während bei der 0,15x-Behandlung sich über die gesamte Versuchszeit keine Nekrosen entwickelten (Abb. 26c),

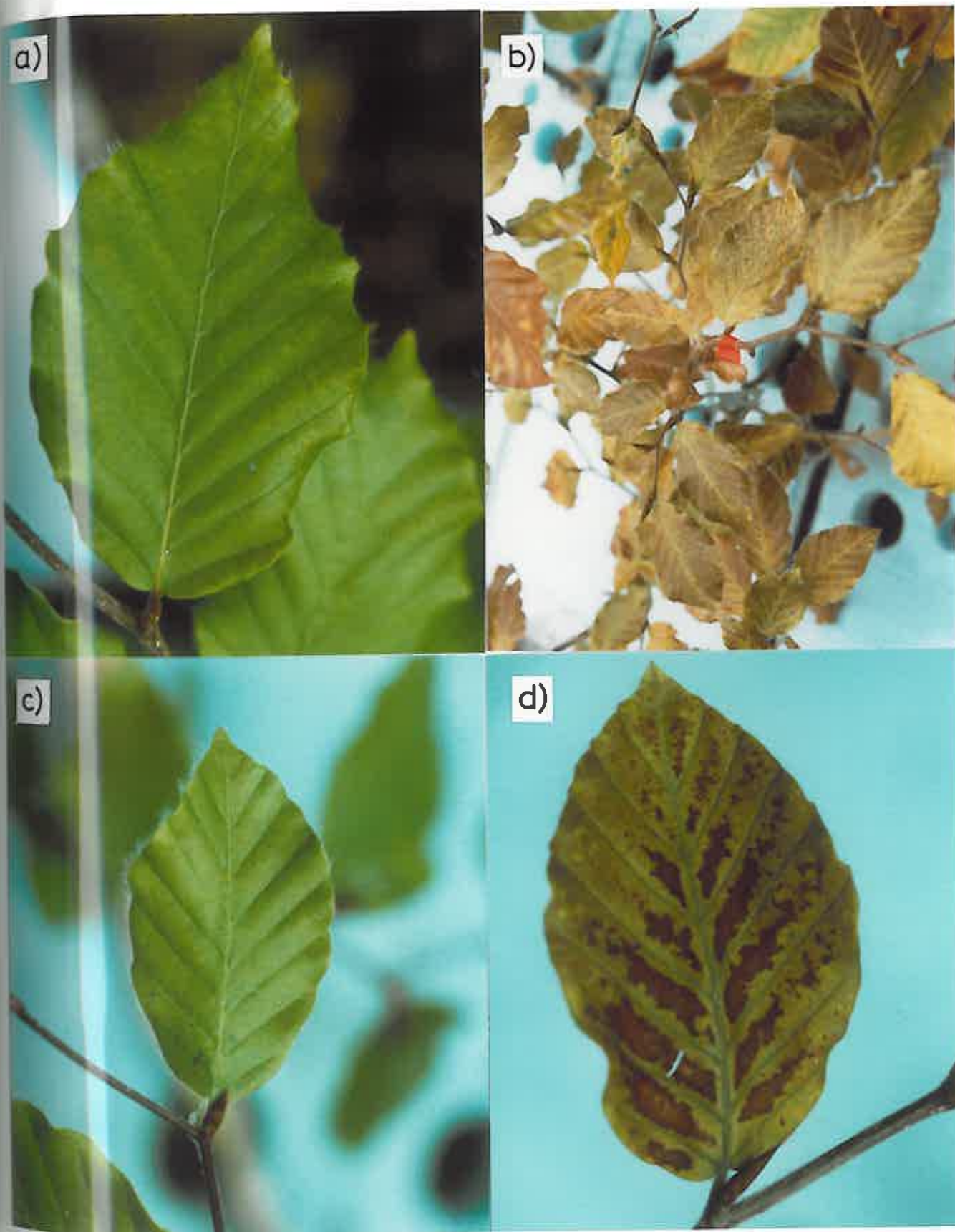


Abb. 26: a, b: Entwicklung der Symptome bei Buchenblättern in den Klimakammern bei 2x-Behandlung. a) Erste Anzeichen von Symptomen am 15.6. b) vorzeitige herbstliche Vergilbung am 15.9..

Vergleich von Buchenblättern der 0,15x-Behandlung (c) und 2x-Behandlung (d), 60 % Schädigung in den Klimakammern, Ende August.

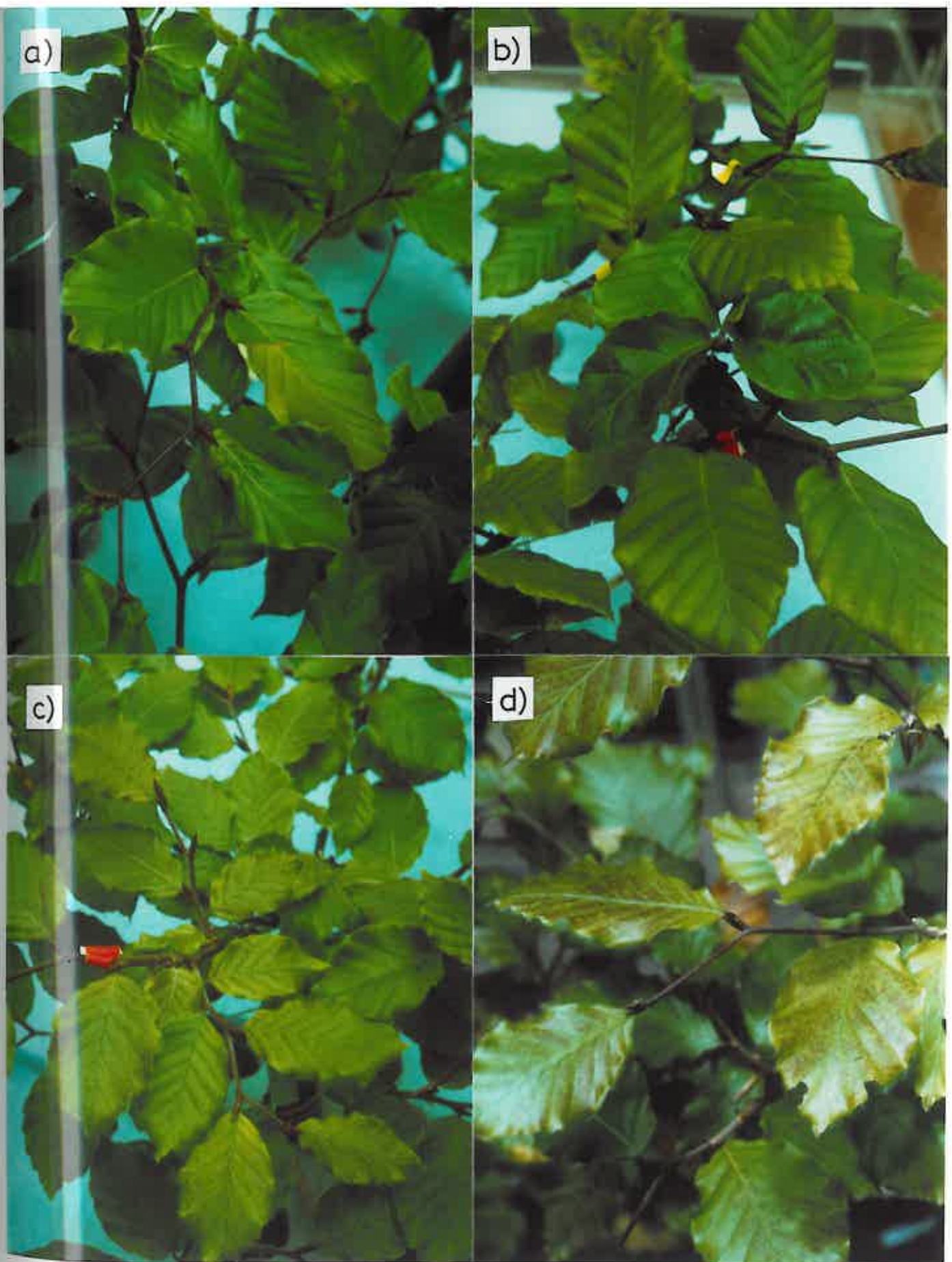


Abb. 28: Symptomausprägung bei 3-jährigen Buchen am 2.8.1990 unter realen, proportional erniedrigten und erhöhten Ozonkonzentrationen. a) 0,15x-Behandlung (Schädigungsgrad < 10 %), b) 1x-Behandlung (Schädigungsgrad < 10 %), c) 1,5x-Behandlung (Schädigungsgrad 20 %) und d) 2x-Behandlung (Schädigungsgrad 45 %).



Abb. 29: a) Symptomausprägung bei einer 3-jährigen Buche (rechts) der Umluft-Behandlung (Open-Top-Kammer), b) Detailaufnahme am 2.10.1990.
c) Exposition 3-jähriger Latschen in den Klimakammern (rechts: 0,15x, links: 2x) Mitte Mai. d) Vergilbung der 1-jährigen Nadeln bei 2x-Ozonbehandlung Mitte August.

Der Anteil der nekrotischen Blattfläche war mit 15-20 % vergleichbar dem der 1x-ozonbehandelten Buchen in den Klimakammern. Im Gegensatz zu den Buchen der Klimakammern nahmen aber die Nekrosen vom Blattrand zur Blattmitte hin ab. In der Filter-OTC zeigte keine der Buchen nekrotische Schäden.

2.7.2. Ozonabhängige Symptome bei 3-jährigen Buchen im Bergklima

3-jährige Buchen, die bei niedrigeren Temperaturen kultiviert wurden (Bergklima), wiesen ab Juli bei der 2x-Behandlung punktförmige Nekrosen auf (Abb. 30). Diese fanden sich vor allem im mittleren Bereich der Blattlamina. Vom 21. Juli an wurden die Bäume im Freiland weiterkultiviert, um die weitere Entwicklung der Symptome unter realen Ozonwerten zu verfolgen. Zu diesem Zeitpunkt konnten bei der 2x-Behandlung eine Blattschädigung von rund 30 % festgestellt werden, während sie bei den anderen Behandlungen bei etwa 10 % lag. Während der Weiterkultivierung im Institutsgarten (unter Beschattung) konnte keine weitere Nekrosenentwicklung beobachtet werden. Vorhandene Nekrosen schienen sich sogar zurückzubilden. Innerhalb von vier Wochen reduzierten sich bei der 2x-Behandlung die sichtbaren Nekrosen von 30 % auf 20 % der Blattfläche. Dies ist auf gesteigerte Chlorophyllgehalte zurückzuführen, welche existierende Nekrosen überdeckten. Anfang Oktober, während der herbstlichen Seneszenz, trat erneut eine Verbräunung auf, die bei der 2x-Behandlung gegenüber den anderen deutlich stärker war.

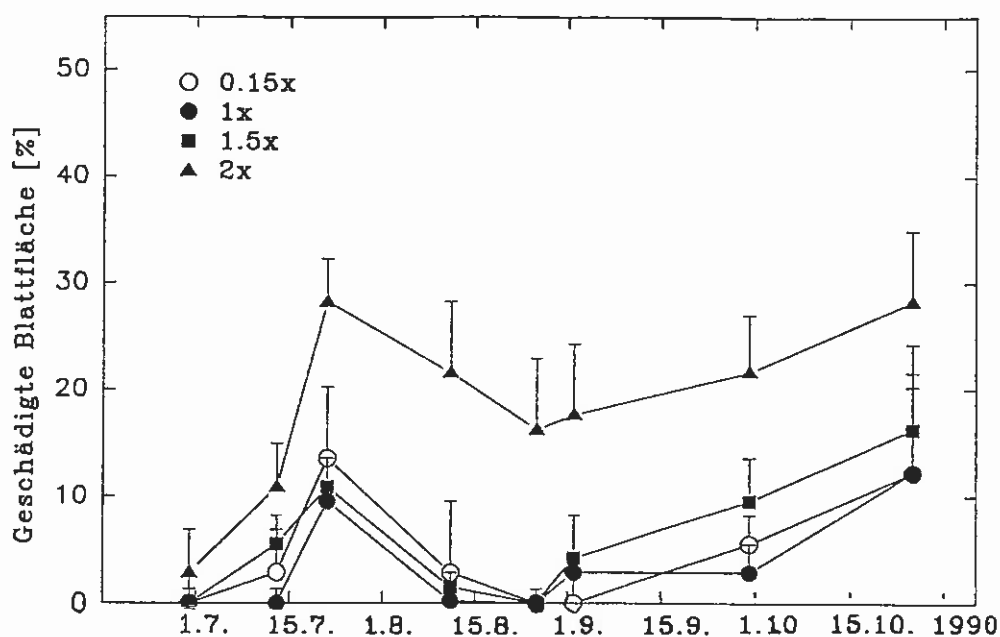


Abb. 30: Zeitlicher Verlauf der Schädigung (in % geschädigter Blattfläche) von Blättern 3-jähriger Buchen bei unterschiedlicher Ozonbehandlung und bei um 3-5°C verminderte Temperatur. Am 21. Juli endete die Behandlung in den Klimakammern und die Pflanzen wurden im Institutsgarten unter Freiland-Ozonwerten weiterkultiviert. Mittelwert $\pm$ SE (n = 10).

2.7.3. Ozonabhängige Symptome bei 5-jährigen Buchen

Bei den 5-jährigen Buchen traten erste ozonabhängige Symptome (Bronzeschimmer) in den ersten Julitagen auf. Die deutliche Entwicklung sichtbarer Nekrosen begann Ende Juli (Abb. 31). Mitte August, im gleichen Zeitraum wie bei den 3-jährigen Buchen, waren bei der 2x-Ozonbehandlung rund 50 % der Blattlamina nekrotisch. Die Buchen der 0,15x-Behandlung zeigten demgegenüber deutlich weniger Schäden, waren jedoch mit 20 % Blattschädigung stärker betroffen als die gleichbehandelten bei 3-jährigen Buchen. Aus dem ähnlichen Verlauf der Entwicklung sichtbarer

Symptomentwicklung bei 3- und 5-jährigen Buchen darf angenommen werden, daß eine Beeinflussung durch unterschiedliches Alter und verschiedene Bodensubstrate auszuschließen war.

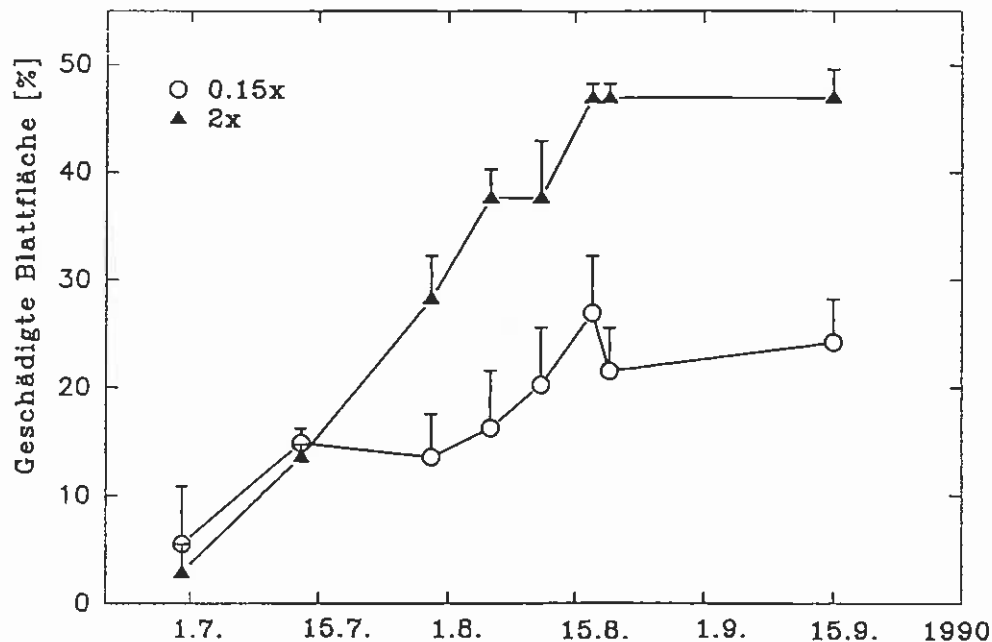


Abb. 31: Zeitlicher Verlauf der Schädigung (in % geschädigter Blattfläche) bei 5-jährigen Buchen unter proportional erniedrigten und erhöhten Ozonkonzentrationen. Mittelwert $\pm$ SE (n= 9-10).

2.8. Verlauf des Blattfalls

2.8.1. Blattfall bei 3-jährigen Buchen

Der Blattfall setzte bei den 3-jährigen Buchen der 2x-Behandlung schon Mitte August ein. Dies geschah etwa einen Monat früher als bei den 0,15x- und 1x-Ozonbehandlungen (Abb. 32).

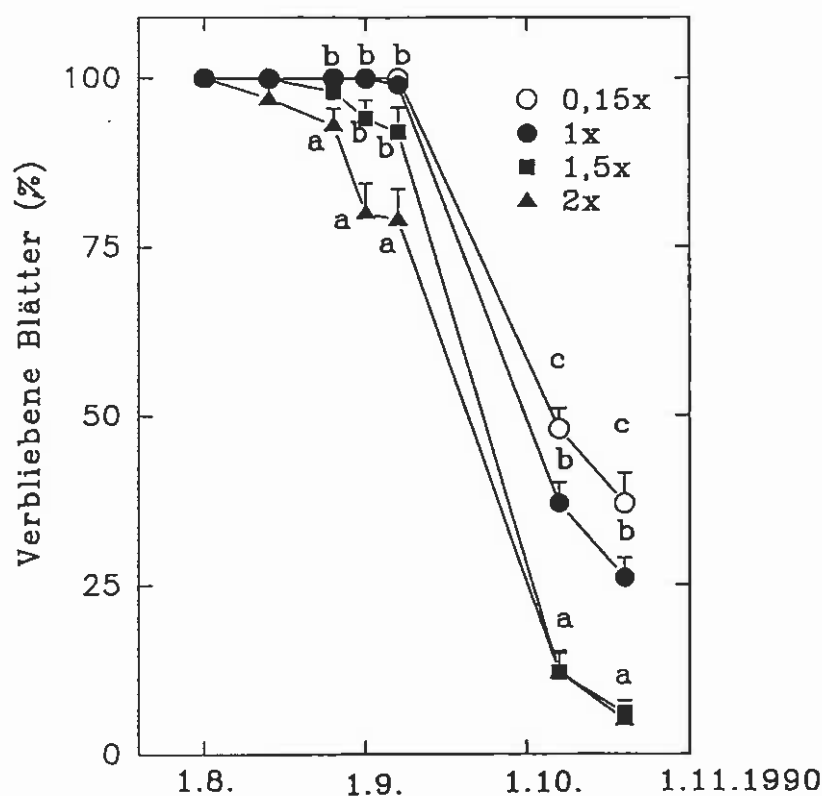


Abb. 32: Zeitlicher Verlauf des Blattfalls (in % Blätter am Baum) von 3-jährigen Buchen, die mit realen, proportional erniedrigten und erhöhten Ozonkonzentrationen behandelt wurden. Mittelwert $\pm$ SE ($n=10$) für ein Datum mit gleichen Buchstaben sind signifikant ($p < 0,05$) verschieden nach dem LSD Multiple Range Test.

Anfang September waren im Durchschnitt bei der 2x-Behandlung 20 % der Blätter abgefallen, bei der 1x-Behandlung noch keins. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Pflanzen in den Institutsgarten gestellt. Die 0,15x-Behandlung behielt bis zum Ende der Messungen (Mitte Oktober) die meisten Blätter, signifikant verschieden ($p < 0,05$) von der 1x-Behandlung wie auch der 1,5x- und 2x-Behandlung, welche bis zu diesem Zeitpunkt ihre Blätter nahezu vollständig verloren. Interessanterweise zeigten die 1,5x- und 2x-Behandlungen, deren Blattfall bis September signifikant unterschiedlich ($p < 0,05$) gewesen war, im Oktober wieder ähnliches Verhalten. Bei beiden Behandlungen (1,5x und 2x) waren nur noch 12 % der Blätter vorhanden, während es bei der 1x-

Behandlung fast 40 % waren. Berücksichtigt man den gesamten Verlauf des Blattfalls, so wurde ein 50%iger Blattfall bei den 2x- und 1,5x-Behandlungen rund eine Woche früher erreicht als bei den 0,15x- und 1x-Behandlungen.

2.8.2. Blattfall bei 5-jährigen Buchen

Die nekrotisierten Blätter der 2x-Behandlung von fünfjährigen Buchen fingen in der ersten Augushälfte an abzufallen (Abb. 33). Dies geschah rund eine Woche früher als bei den 3-jährigen Buchen (vergl. Abb. 32).

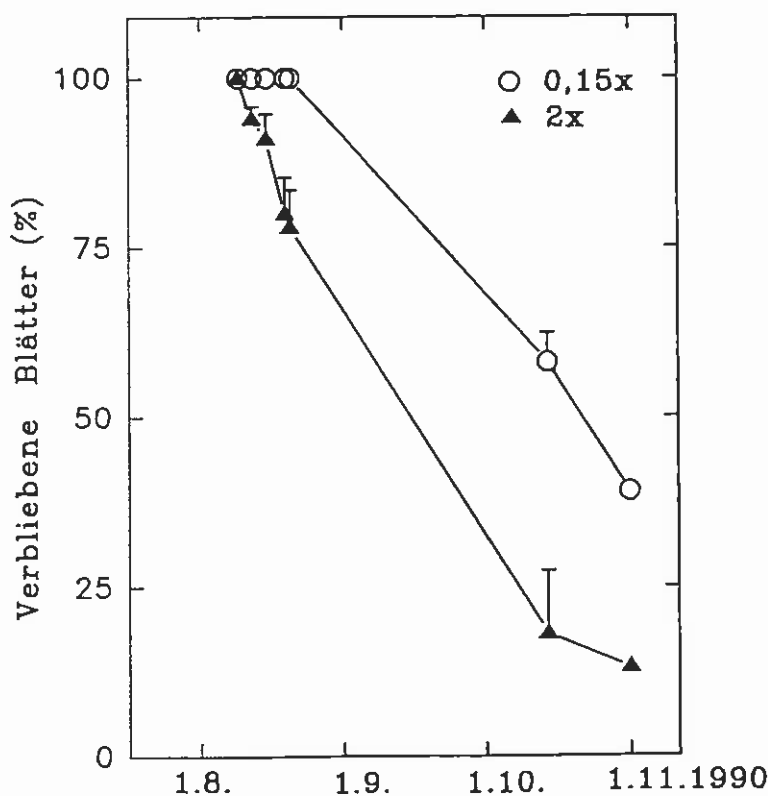


Abb. 33: Zeitlicher Verlauf des Blattfalls (in % Blätter am Baum) von 5-jährigen Buchen, die mit proportional erniedrigten und proportional erhöhten Ozonkonzentrationen behandelt wurden. Mittelwert $\pm$ SE ($n = 9-10$).

Mitte August waren bereits 20 % der Blätter gefallen. Während der Weiterkultivierung im Institutsgarten nahm der Blattfall bei der 2x-Behandlung weiter zu, und nach vier Wochen befanden sich nur noch 10 % der Blätter an den Bäumen, während es bei der 0,15x-Behandlung noch 40 % waren.

2.9. Austriebsverhalten und Zuwachsrate im Folgejahr nach der Behandlung

2.9.1. Austriebsverhalten und Zuwachsrate der 3-jährigen Buchen

Der Neuaustrieb begann wie schon 1990 in der ersten Aprilhälfte (Abb. 34). Die Knospen entwickelten sich im Vergleich zu 1990 etwas langsamer, und die komplette Entfaltung der Blätter war um einen Monat verspätet (Anfang Juli). Dies war durch die durchschnittlich niedrigeren Temperaturen in Neuherberg 1991 gegenüber den im Vorjahr simulierten Temperaturen von Schönenbuch bedingt. Die Knospenschwellung der Buchen, die 1990 in Basel in den OTCs und im Freiland exponiert waren, begann früher als die der Buchen aus den Klimakammern, das Erscheinen und Entfalten der ersten Blätter geschah jedoch gleichzeitig (Mitte Mai). Die Buchen aus den unterschiedlichen Ozonvarianten des Vorjahres zeigten ein vergleichbares Austriebsverhalten, mit einer Tendenz zu erhöhten Werten bei der 1x-Behandlung. Mit dem Austreiben der Blätter begann auch der Längenzuwachs, der ebenso wie im Jahr zuvor wöchentlich bestimmt wurde (Abb. 35). Dabei wurde beobachtet, daß die Buchen aus der 1,5x- und 2x-Behandlung die höchste Zuwachsrate des Haupttriebes rund 10 Tage später erreichten als die der Behandlungen mit weniger Ozon (0,15x, 1x), und daß diese niedriger war.

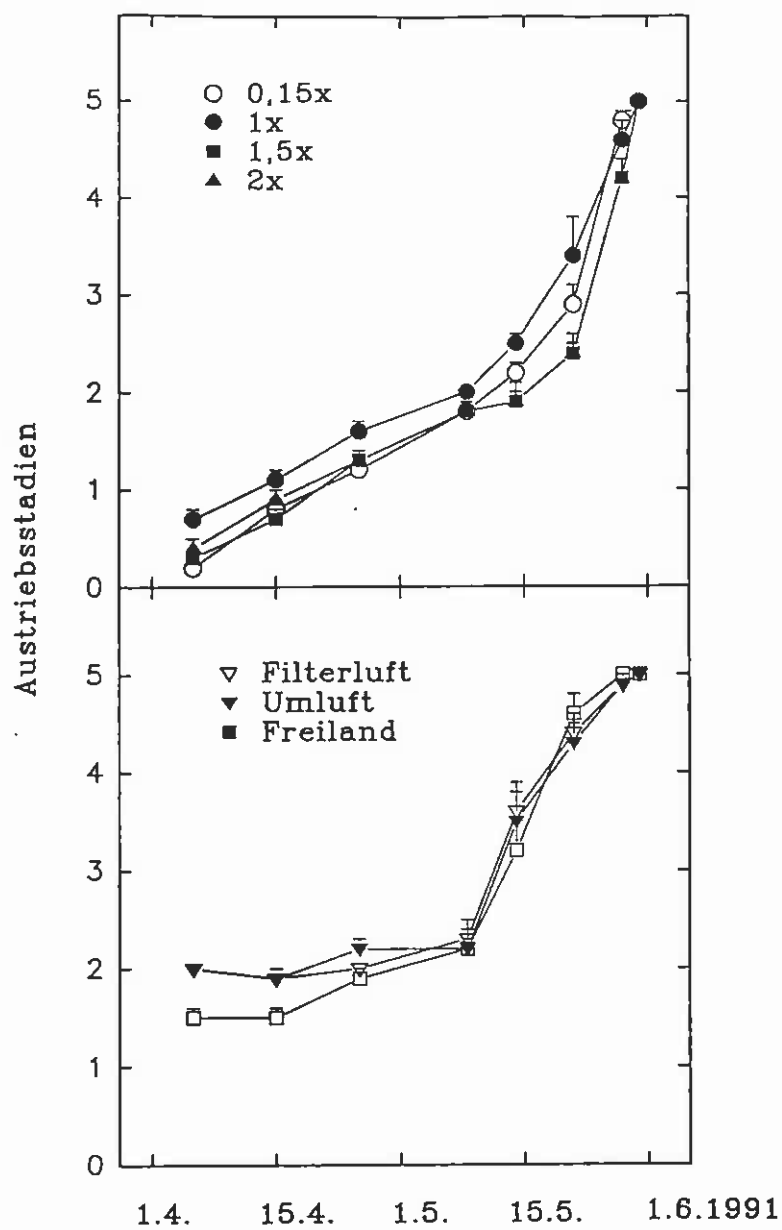


Abb. 34: Zeitlicher Verlauf des Austriebs während der Nachkultur im Freien bei 3-jährigen Buchen, die im Jahr zuvor in Klimakammern, in Open-top-Kammern und im Freiland exponiert worden waren. (siehe Legende Abb. 13). Mittelwert $\pm$ SE (n = 10).

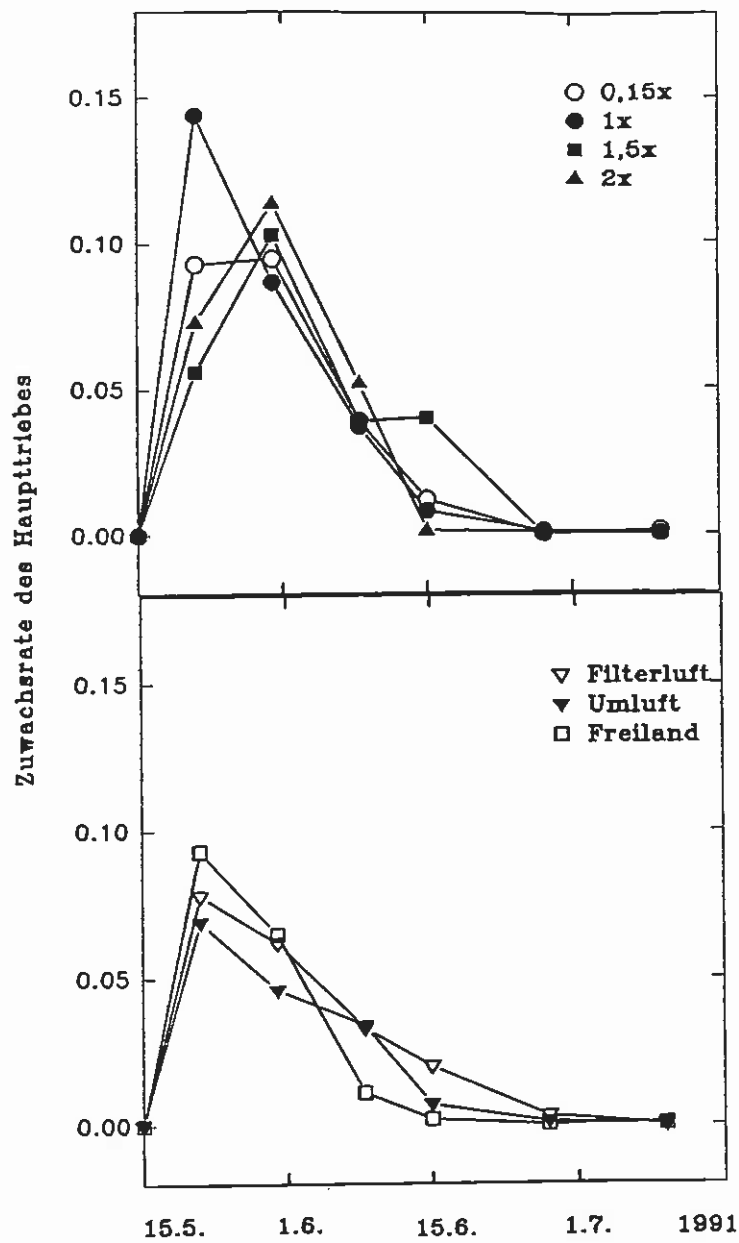


Abb. 35: Zeitlicher Verlauf der Zuwachsrates des Haupttriebes während der Nachkultur im Freien bei 3-jährigen Buchen, die im Jahr zuvor in Klimakammern, in Open-top-Kammern und im Freiland exponiert worden waren. (siehe Legende Abb. 14). Mittelwert $\pm$ SE ($n = 10$).

2.10. ACC- und MACC-Gehalte im Folgejahr nach der Behandlung

2.10.1. ACC- und MACC-Gehalte bei 3- und 5-jährigen Buchen

Im September 1991 wurden ACC- und MACC-Gehalte der im Jahr 1990 3- und 5-jährigen Buchen bestimmt. Bei den 3-jährigen Buchen wurden tendenziell niedrigere ACC- und MACC-Werte bei den Bäumen gemessen, die zuvor in den OTCs und im Freiland standen; es wurden aber keine behandlungsabhängigen Unterschiede bei den zuvor in den Klimakammern behandelten Buchen beobachtet (Abb. 36a). Bei den 5-jährigen Buchen wurden stattdessen 8-fach erhöhte ACC-Gehalte und um 30 % erhöhte MACC-Gehalte bei den im Vorjahr mit 2x Ozon behandelten Bäumen festgestellt (Abb. 36b).

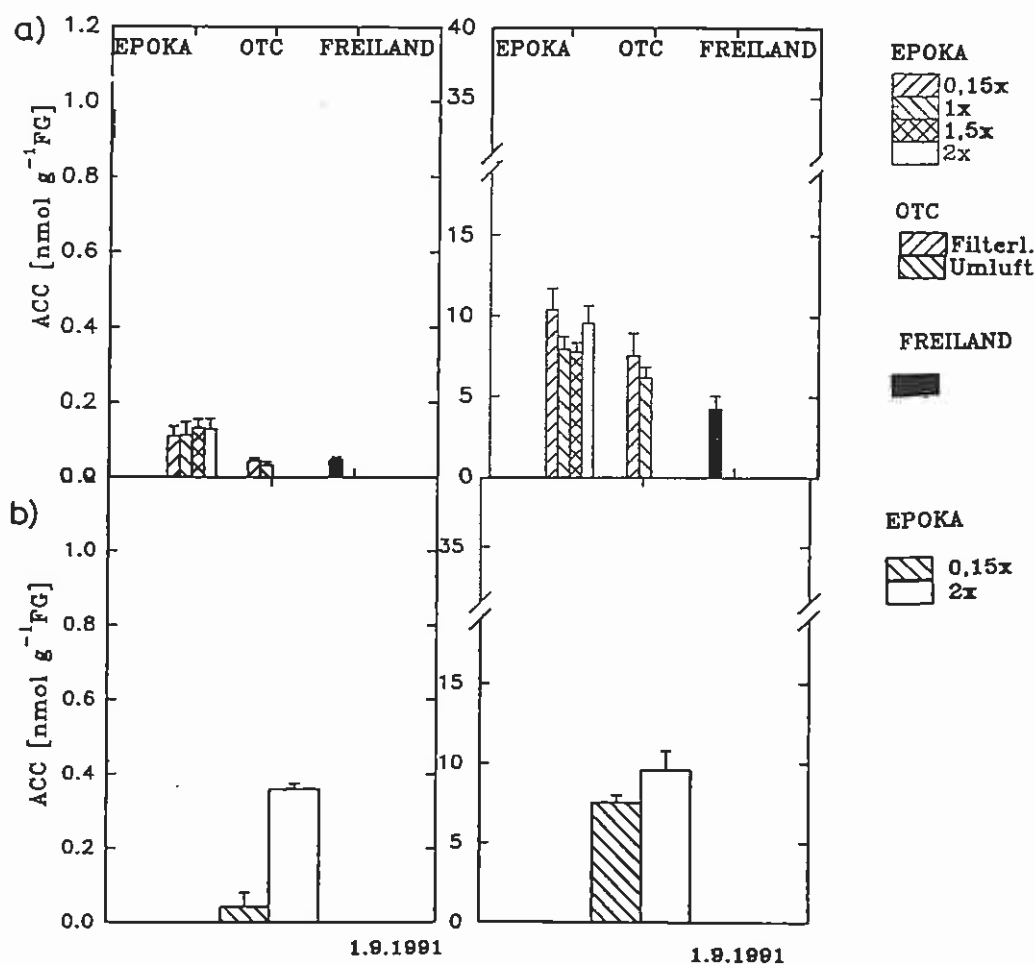


Abb. 36: ACC- und MACC-Gehalte bei a) 3-jährigen Buchen und b) 5-jährigen Buchen im Folgejahr nach der Behandlung. Mittelwert $\pm$ SE (n = 9-10).

3. ERGEBNISSE DES LANGZEITVERSUCHS ZU OZONWIRKUNGEN BEI LATSCHEN

3.1. Zuwachsrate bei Latschen

3-jährige Latschen wurden unter identischen Bedingungen wie Buchen mit 0,15x- und 2x-Ozonkonzentrationen in Klimakammern behandelt. Ende April 1990 begannen die Triebe der Latschen zu wachsen. Die wöchentliche Bestimmung der Zuwachsrate der Triebe zeigte, daß innerhalb von zwei Wochen, bis Mitte Mai, ein schneller Zuwachs des Haupttriebes stattfand (Abb. 37a).

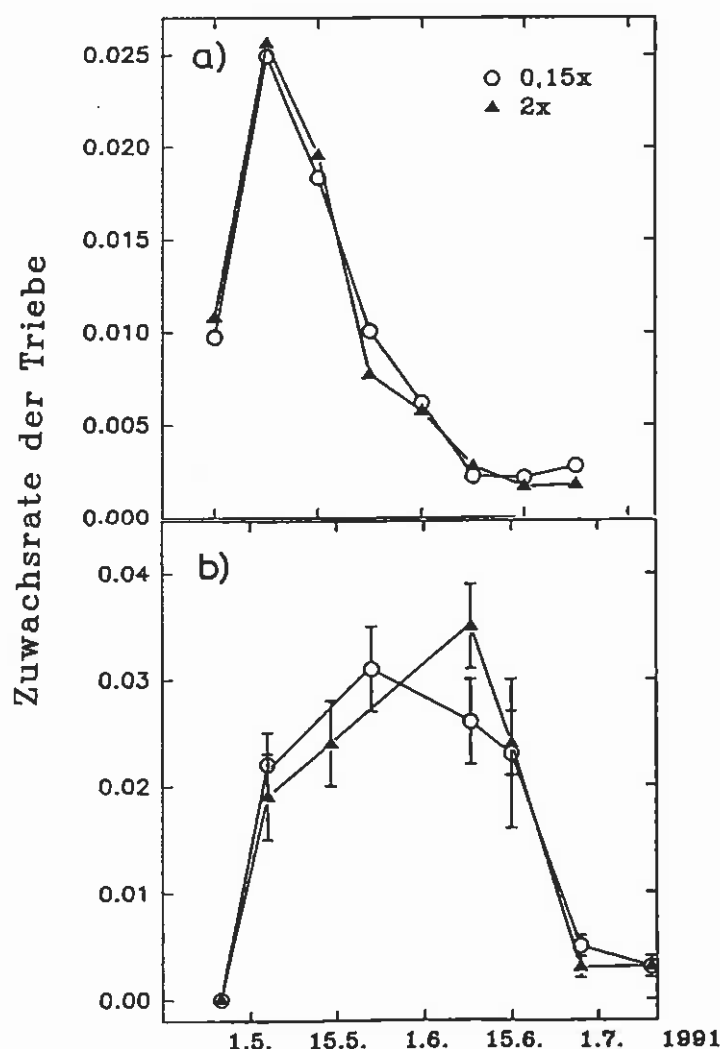


Abb. 37: Zeitlicher Verlauf der Zuwachsrate der Triebe 3-jähriger Latschen a) während der Behandlung (1990) und b) im Folgejahr nach der Behandlung (1991). Mittelwert $\pm$ SE (n = 10).

Danach verlangsamte sich der Zuwachs und kam Ende Juni zum Stillstand. Es wurden keine ozonabhängigen Unterschiede festgestellt.

Im Jahr nach der Behandlung 1991 begannen die Latschen erneut im April auszutreiben. Die maximale Zuwachsrates verzögerte sich jedoch bei den zuvor ozonbehandelten Latschen um zwei Wochen gegenüber den Kontrollen (Abb. 37b).

3.2. ACC- und MACC-Gehalte bei Latschen

Nadeln der Jahrgänge 1989 (1-jährige) und 1990 (diesjährige) wurden während der Ozonbehandlung Ende Mai und Ende August geerntet und auf ACC- und MACC-Gehalte untersucht. Bereits Ende Mai, bei vollkommen grünen Nadeln, wurden in ozonbehandelten Pflanzen 1,5-fach (Jahrgang 1990) und 3-fach (Jahrgang 1990) erhöhte ACC-Gehalte gemessen (Abb. 38a). Zunächst waren bei beiden Varianten die ACC-Gehalte im Nadeljahrgang 1989 gegenüber dem Nadeljahrgang 1990 erhöht. Ende August nahm jedoch der ACC-Gehalt im Nadeljahrgang 1990 zu (3,5-fach gegenüber der Kontrolle). Die MACC-Gehalte des Nadeljahrgang 1989 zeigten im Mai und August keine Unterschiede. Im Nadeljahrgang 1990 nahm Ende August der MACC-Gehalt zu, mit 2-fach erhöhten Werten gegenüber der Kontrolle. Eine Bestimmung der ACC- und MACC-Gehalte der Nadeljahrgänge 1989 und 1990 im Jahr nach der Ozonbehandlung zeigte keine signifikanten behandlungsabhängigen Unterschiede im ACC-Gehalt, aber 2-fach erhöhte MACC-Gehalte im Nadeljahrgang 1990 (Abb. 38b).

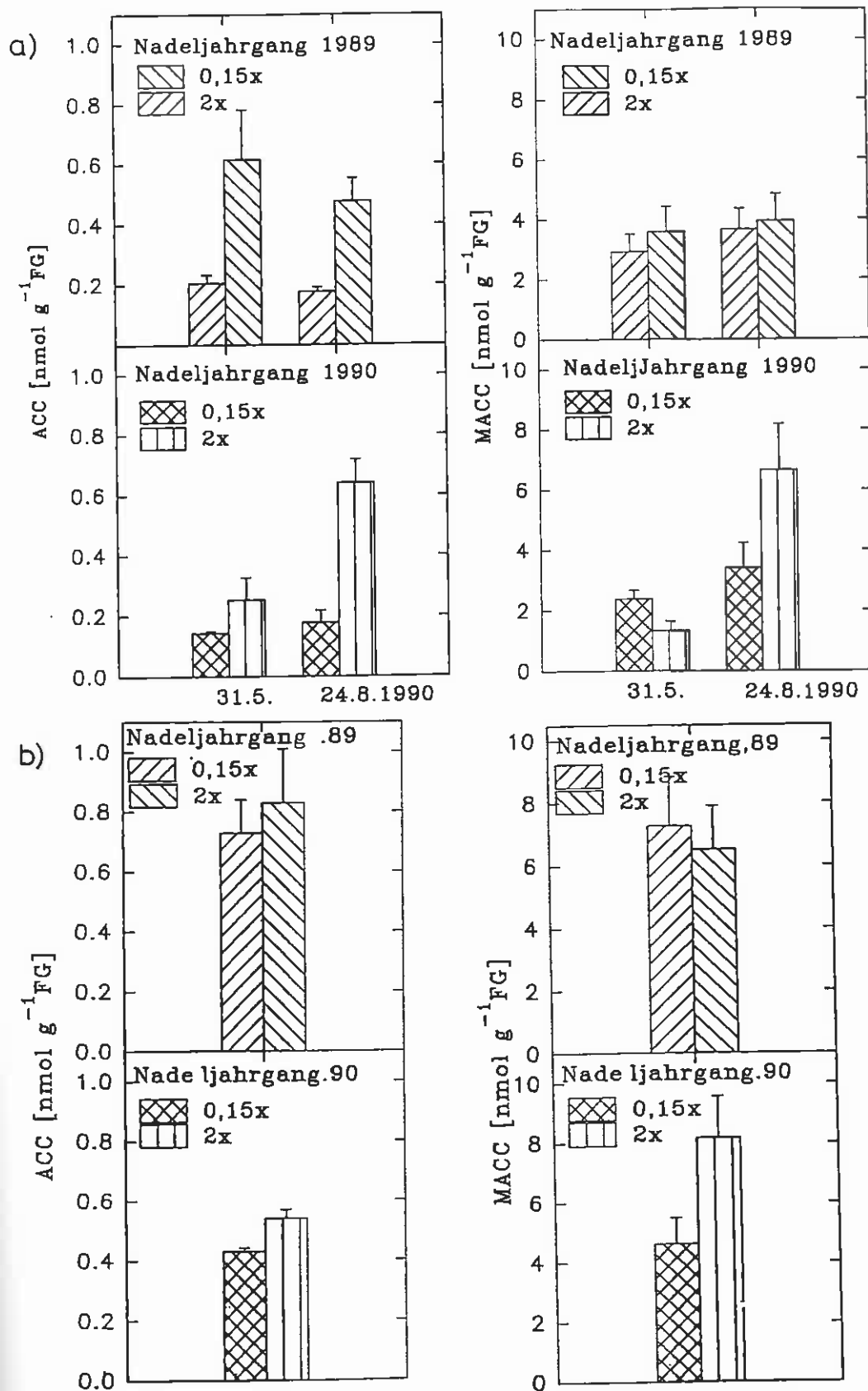


Abb. 38: ACC- und MACC-Gehalte von Latschennadeln (Jahrgänge 1989 und 1990) a) im Laufe der Behandlung mit erniedrigten und erhöhten Ozonkonzentrationen (31.5. und 24.8.1990) und b) im Folgejahr nach der Behandlung (1.9.1991). Mittelwert $\pm$ SE (n = 10).

3.3. Ozonabhängige Symptomentwicklung bei Latschen

Für die Symptombestimmung wurden im Laufe des Versuches 3 Nadeljahrgänge (1988 bis 1990) bonitiert. Abbildung 29c zeigt die Latschen der zwei Behandlungen (0,15x und 2x) im Mai als noch keine ozonabhängigen Symptome aufgetreten waren. Die 2-jährigen Nadeln (Jahrgang 1988) zeigten ab dem Beginn der Bonituren, Ende Mai, eine allgemeine altersabhängige Vergilbung (Abb. 39). Einen Monat später hatte die altersabhängige, gelbe-grüne Färbung von ein- und zweijährigen Nadeln zugenommen. Ende Juni traten gelbe Spitzen bei den einjährigen Nadeln ozonbehandelter Latschen auf. Die erhöhten Ozonkonzentrationen führten zu einer verstärkten Verfärbung mit einer deutlichen Vergilbung der einjährigen Nadeln (Jahrgang 1989) (Abb. 29d) und eine zunehmende Verbräunung der zweijährigen Nadeln (Jahrgang 1988) (Abb. 39). Die ozonabhängige Vergilbung der einjährigen Nadeln war vergleichbar mit der natürlichen Altersvergilbung der zweijährigen Nadeln. Zum gleichen Zeitpunkt (Ende August - Anfang September) waren die zweijährigen Nadeln der Ozonbehandlung deutlich braun gefärbt. Hinsichtlich der Verfärbung unterschieden sie sich von der Kontrolle ($p < 0,05$). Mitte September führte die Ozonbehandlung zu vergilbten Spitzen bei den neuen Nadeln (Jahrgang 1990).

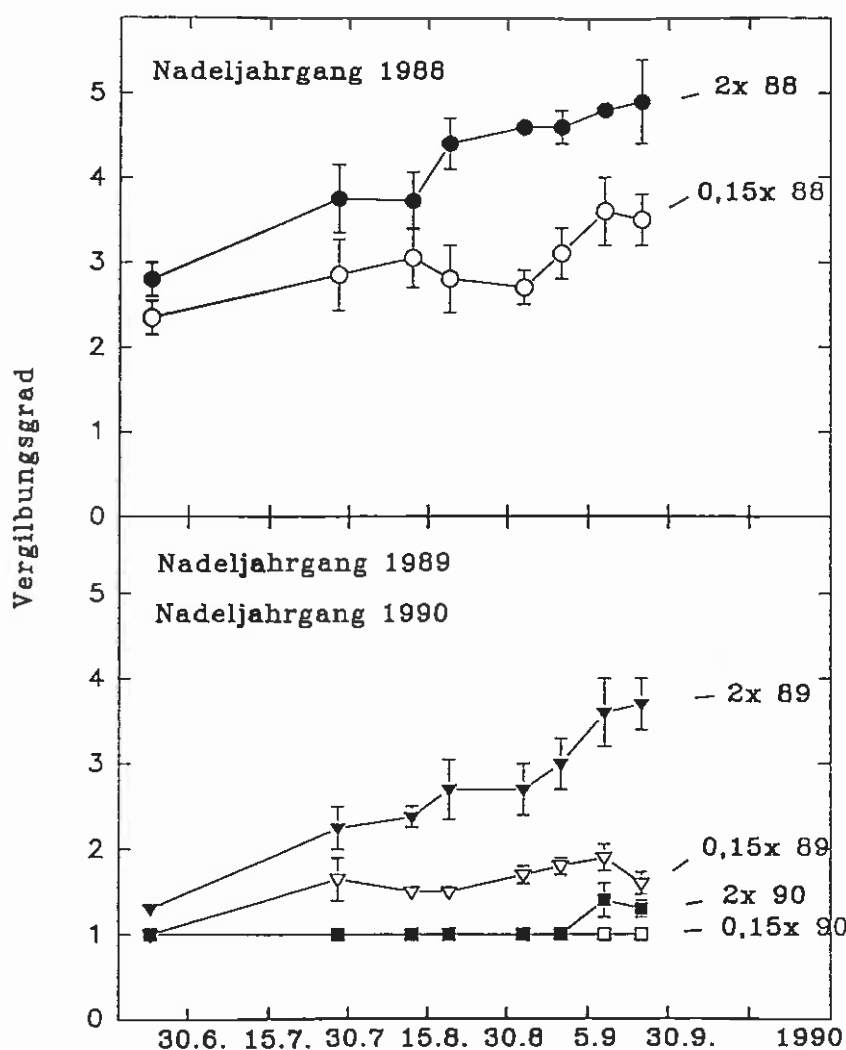


Abb. 39: Zeitlicher Verlauf der Vergilbung von Nadeln der Jahrgänge 1988 und 1989 bei Latschen unter 0,15x proportional erniedrigten und 2x proportional erhöhten Ozonkonzentrationen.

(Vergilbungsgrad: 1 : dunkelgrün; 2 : grünlich-gelb; 3 : gelb; 4 : gelb bis braun ; 5 braun). Mittelwert $\pm$ SE (n= 10).

Die weitere Bonitur der Latschen während der Nachkultur im Institutsgarten zeigte, daß die stärkere Vergilbung der im Vorjahr 2x-ozonbehandelten Nadeln (Jahrgang 1989 und 1990) bis zum Sommer erhalten blieb, ohne daß sich weitere Symptome entwickelten.

3.4. Nadelfall bei Latschen

Nach Behandlungsende im Oktober wurden die Bäume ins Freie (Institutsgarten) gestellt. Im Laufe des Frühlings 1991 verloren alle Latschen die Nadeln des Jahrgangs 1988 vollständig, unabhängig von der Behandlung. Es fielen auch einige Nadeln des Jahrgang 1989 ab, wobei hier jedoch deutliche behandlungsabhängige Unterschiede auftraten (Abb. 40). Anfang April waren bei den ozonbehandelten Latschen bereits rund 50 % der Nadeln abgefallen, bei den Pflanzen der 0,15x-Variante erst 10 %. Ein Nadelfall von 50 % wurde bei der 0,15x-Behandlung erst sechs Wochen später erreicht (Ende Mai), als bei den ozonbehandelten Latschen bereits 80 % der Nadeln abgefallen waren. In der Sommerperiode Juni-August konnte kein weiterer Nadelfall mehr festgestellt werden. Erst im September fielen erneut Nadeln ab, und im Oktober 1991 waren in beiden Gruppen nur noch einzelne Nadeln des Jahrgang 1989 vorhanden.

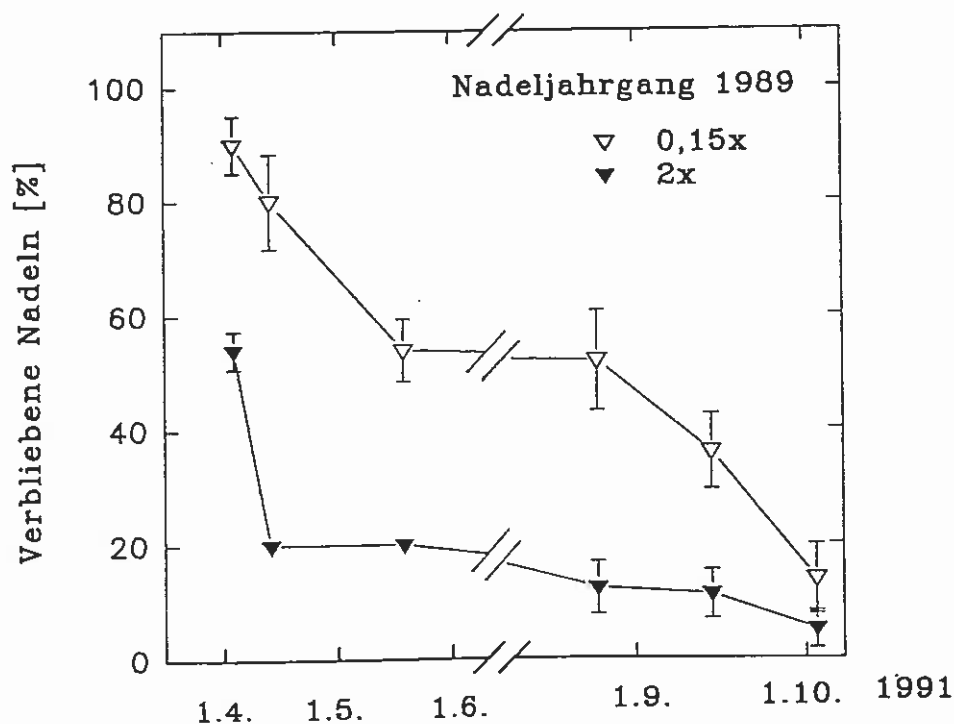


Abb. 40: Nadelfall (in % verbliebene Nadeln am Baum) des Jahrgang 1989 bei Latschen im Folgejahr nach der Ozonbehandlung. Mittelwert $\pm$ SE (n = 10).

4. OZONABHÄNGIGE ETHYLENENTWICKLUNG, ACC- UND MACC-GEHALTE BEI FICHTENKEIMLINGEN

Sechs Wochen alte Fichtenkeimlinge kultiviert in hydroponischer Kultur in Ingestad-Medium und Perlit, wurden für 20h (Kurzzeitbehandlung) bis zu maximal vier Wochen mit täglich wiederkehrenden Ozonpulsen (20, 300 und 600 nL L⁻¹) von 8h Dauer behandelt, um Ozoneffekte auf den Ethylenstoffwechsel zu untersuchen. Dafür wurden Nadelkränze und Wurzeln getrennt auf ihre ACC- und MACC-Gehalt untersucht. Bei Nadelkränzen wurde zusätzlich die Ethylenemission bestimmt.

4.1. Vierwöchige Behandlung

4.1.1. Nadelkränze

Über die gesamte Versuchsdauer konnten keine ozonabhängigen sichtbaren Symptome festgestellt werden. Nach 5 Tagen fühlten sich die Nadeln der mit 600 nL L⁻¹ Ozon behandelten Keimlinge lediglich deutlich steifer an. Die Beprobung und Ethylenmessung jeweils 1h vor Beginn der täglichen Behandlung, zeigte bei 300 nL L⁻¹ Ozon keine erhöhte Ethylenfreisetzung (nicht gezeigt), bei 600 nL L⁻¹ jedoch eine tendenzielle Erhöhung (Abb. 41a). Probenahmen jeweils 5h nach Behandlungsbeginn am zweiten, dritten und vierzehnten Tag zeigten bis zu 3-fach erhöhte Werte im Vergleich zur Kontrolle und um 30 % erhöhte Werte im Vergleich zu den 1h vor Behandlungsbeginn beprobten Keimlingen (Abb. 41b).

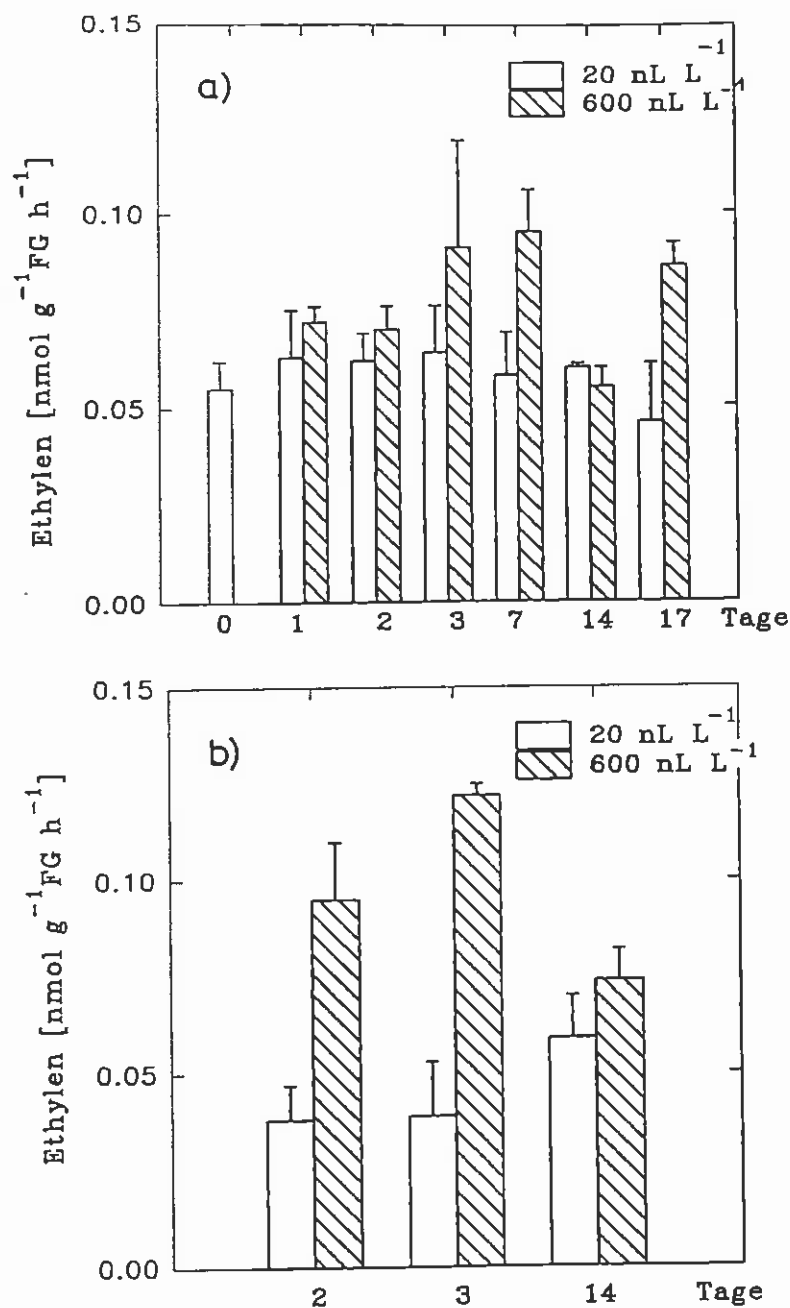


Abb. 41: Ethylenfreisetzung von abgeschnittenen Nadelkränzen bei Fichtenkeimlingen während einer vierwöchigen Ozonbehandlung mit 20 und 600 nL L⁻¹ (8 h/Tag). Die Probenahme wurde jeweils a) 1h vor der Ozonzugabe und b) 5h nach Beginn durchgeführt. Mittelwert $\pm$ SE (n= 3).

Die Bestimmung der ACC- und MACC-Gehalte in den Nadelkränzen jeweils 1h vor der täglichen Ozongabe zeigte eine langanhaltende Akkumulation sowohl

der ACC- als auch der MACC-Gehalte bei erhöhter Ozonbelastung. Bei 600 nL L⁻¹ Ozon wurde beobachtet, daß die ACC-Zunahme (Abb. 42a) bereits am zweiten Behandlungstag auftrat, mit 9-fach erhöhten Werte gegenüber den Kontrollen. Die Werten blieben in den folgenden Tagen weiterhin erhöht und überschritten 4-5 nmol g⁻¹FG. Nach vier Wochen lagen die ACC-Gehalte noch um das 8,5fache über den Kontrollen. Bei 300 nL L⁻¹ Ozon konnte erst am siebten Behandlungstag ein Anstieg der ACC-Gehalte gemessen werden, mit 5,5-fachen Werten im Vergleich zur Kontrolle. Innerhalb der nächsten Woche nahm der Gehalt wieder ab und erreichte wieder die Kontrollwerte um 0,2 nmol g⁻¹FG. Die MACC-Gehalte stiegen bei 600 und 300 nL L⁻¹ Ozon nach sieben bzw. zehn Behandlungstagen an (Abb. 42b). Innerhalb weiterer drei bzw. sieben Behandlungstage wurden die höchsten MACC-Gehalte erreicht, 6 nmol g⁻¹FG bei 300 nL L⁻¹ Ozon und 13 nmol g⁻¹FG bei 600 nL L⁻¹ Ozon. Der Anstieg der MACC-Gehalte erfolgte gleichzeitig mit der Abnahme der ACC-Gehalte in den Nadelkränzen. Nach 21 Behandlungstagen nahmen die MACC-Konzentrationen wieder ab, und zu Versuchsende wurden Kontrollwerte bei den mit 300 nL L⁻¹ Ozon behandelten Pflanzen erreicht.

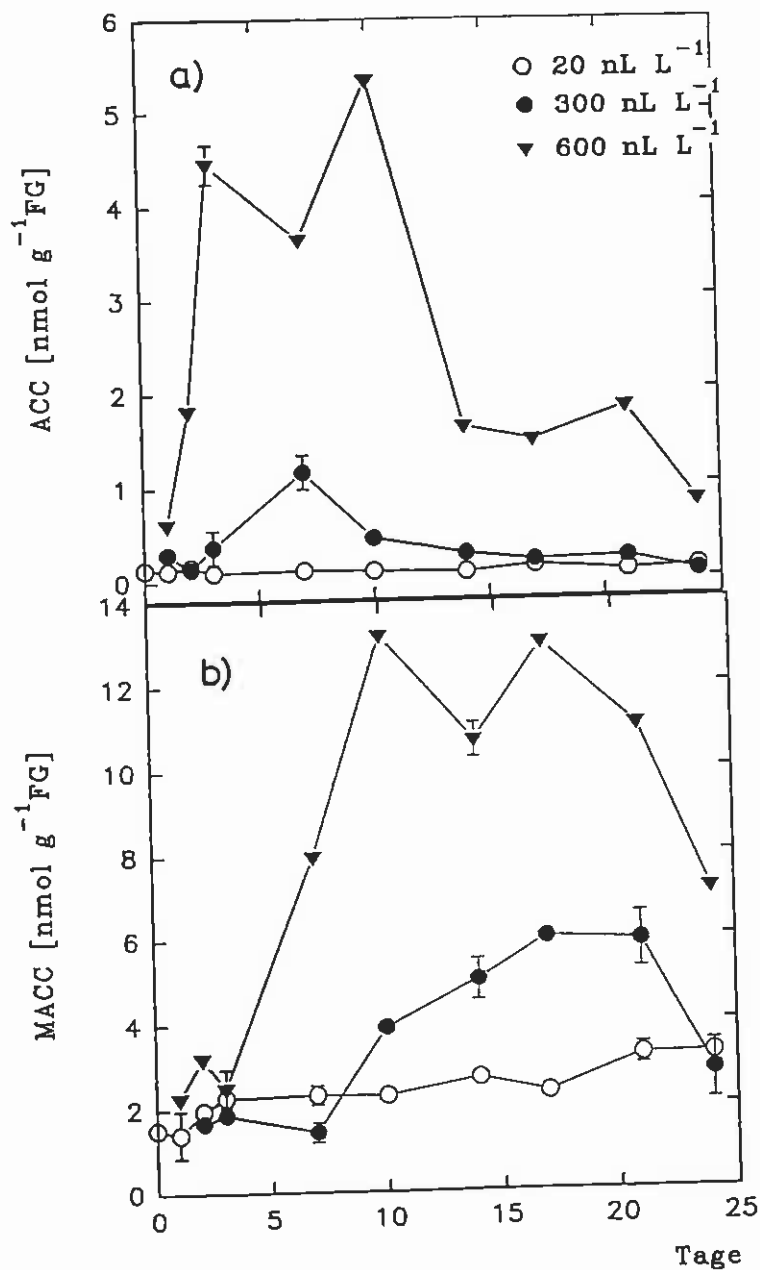


Abb. 42: a) ACC und b) MACC-Gehalte in Nadelkränzen von Fichtenkeimlingen im Laufe einer vierwöchigen Behandlung mit 20, 300 und 600 nL L⁻¹ Ozon (8h/Tag). Die Probenahmen fanden 1h vor Beginn der Ozonzugabe statt. Mittelwert $\pm$ SE (n = 3).

4.1.2. Wurzeln

Die Bestimmung der ACC-Gehalte in den Wurzeln (Abb. 43a) zeigte im Laufe des Versuches zunehmende Werte bei 300 nL L⁻¹ Ozon; am zehnten Tag wurden rund 3,5-fache Konzentrationen im Vergleich zur Kontrolle festgestellt.

Erstaunlicherweise trat keine Akkumulation bei Pflanzen auf, die mit 600 nL L^{-1} Ozon behandelt worden waren. MACC lag in den Wurzeln mit $4\text{--}5 \text{ nmol g}^{-1} \text{ FG}$ im Vergleich zu den Nadelkränzen in höheren Konzentrationen vor; im Laufe des Versuches traten Schwankungen bei allen Varianten, aber keine deutlichen behandlungsabhängigen Unterschiede auf (Abb. 43b).

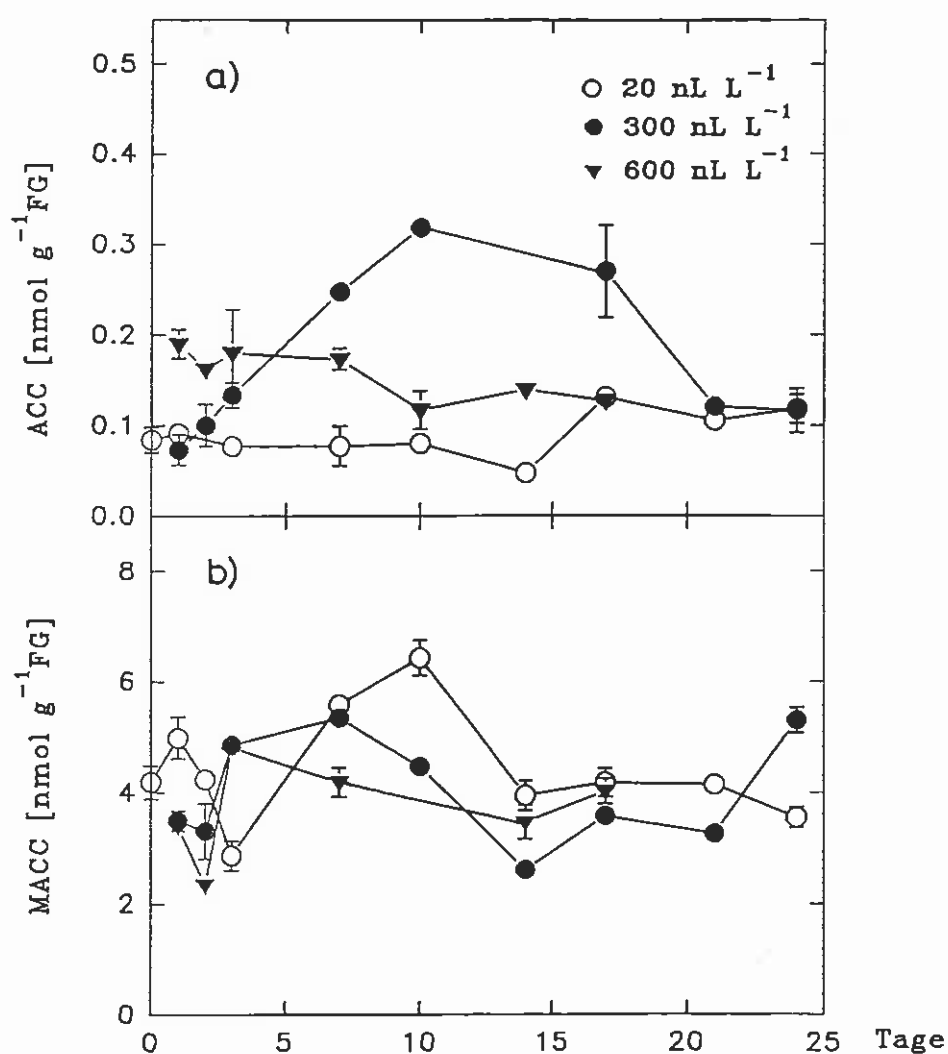


Abb. 43: a) ACC- und b) MACC-Gehalte in Wurzeln von ozonbehandelten Fichtenkeimlingen (siehe Abb. 40). Mittelwert $\pm$ SE ($n = 3$).

4.2. Kurzzeitbehandlung

4.2.1. Kinetik der Ethylenbiosynthese-Parameter bei einmaliger Ozonbehandlung

Fichtenkeimlinge, die acht Stunden mit Ozon behandelt und anschließend in ozonfreier Luft weiterkultiviert wurden, wurden in Abständen von 2-3h auf ihre Ethylenemission sowie auf ihre ACC- und MACC-Gehalte untersucht. Es wurde eine schnelle und transiente Induktion der Ethylenentwicklung sowie des ACC-Gehalts festgestellt (Abb. 44).

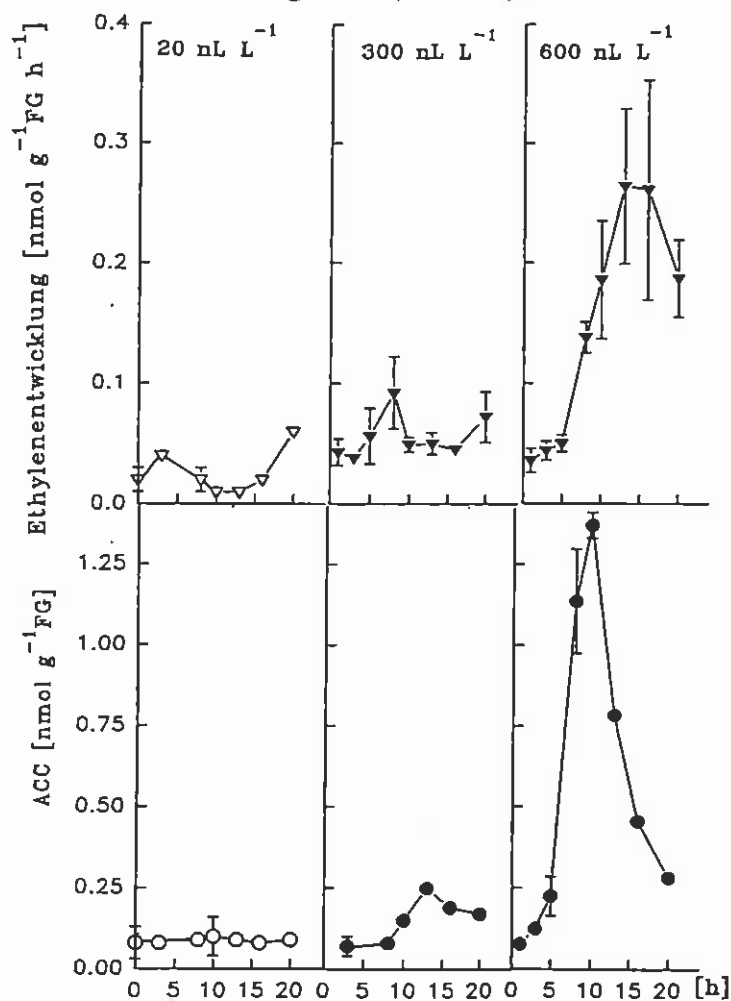


Abb. 44: Verlauf der Ethylenentwicklung und Änderungen im ACC-Gehalt von Fichtenkeimlingen bei einmaliger 8h Behandlung (0-8 h) mit 20, 300 und 600 nL L⁻¹ Ozon und einer Nachkultur in ozonfreier Luft (8-24 h). Mittelwert $\pm$ SE (n = 3).

300 nL L⁻¹ Ozon erhöhten im Vergleich zur Kontrolle die Ethylenfreisetzung um das doppelte und den ACC-Gehalt um das 3-fache. Der MACC-Gehalt zeigte keine behandlungsabhängigen Änderungen. 600 nL L⁻¹ Ozon erhöhten die Ethylenkonzentrationen um das 7-fache und die ACC-Gehalte um das 20-fache. Die Zunahme der Ethylenentwicklung sowie der ACC-Gehalte erfolgte nach 8 Behandlungsstunden und wies maximale Werte nach ca. 13h auf. Die MACC-Gehalte blieben unverändert gegenüber der Kontrolle (Daten nicht gezeigt). In den Wurzeln ließen sich keine Unterschiede im ACC-Gehalt aufgrund der Ozonbehandlung nachweisen, die MACC-Gehalte jedoch waren bei 600 nL L⁻¹ Ozon nach 13 - 15 Stunden um das 3-fache erhöht (Abb. 45).

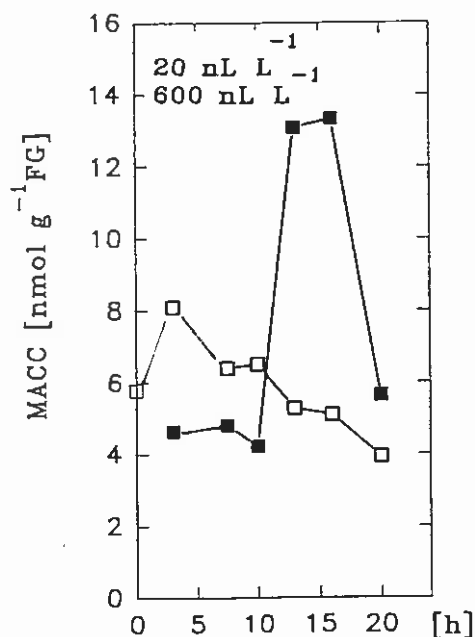


Abb. 45: MACC-Gehalte in Wurzeln von Fichtenkeimlingen bei einmaliger Behandlung mit 600 nL L⁻¹ Ozon (siehe Abb. 44).

4.2.1. Kinetik der Ethylenbiosynthese-Parameter nach 2 oder 18 Tagen Ozonbehandlung

Die Bestimmungen der Ethylenentwicklung sowie der ACC- und MACC-Gehalte während einer 2-tägigen Behandlung (8h/Tag) mit 600 nL L⁻¹ Ozon

zeigte einen wiederkehrenden Anstieg der Ethylenentwicklung und der ACC-Gehalte in den Nadelkränzen. Die MACC-Gehalte blieben unverändert (Abb. 46). In den Wurzeln wurden am zweiten Behandlungstag keine ACC- und MACC-Konzentrationsänderungen festgestellt.

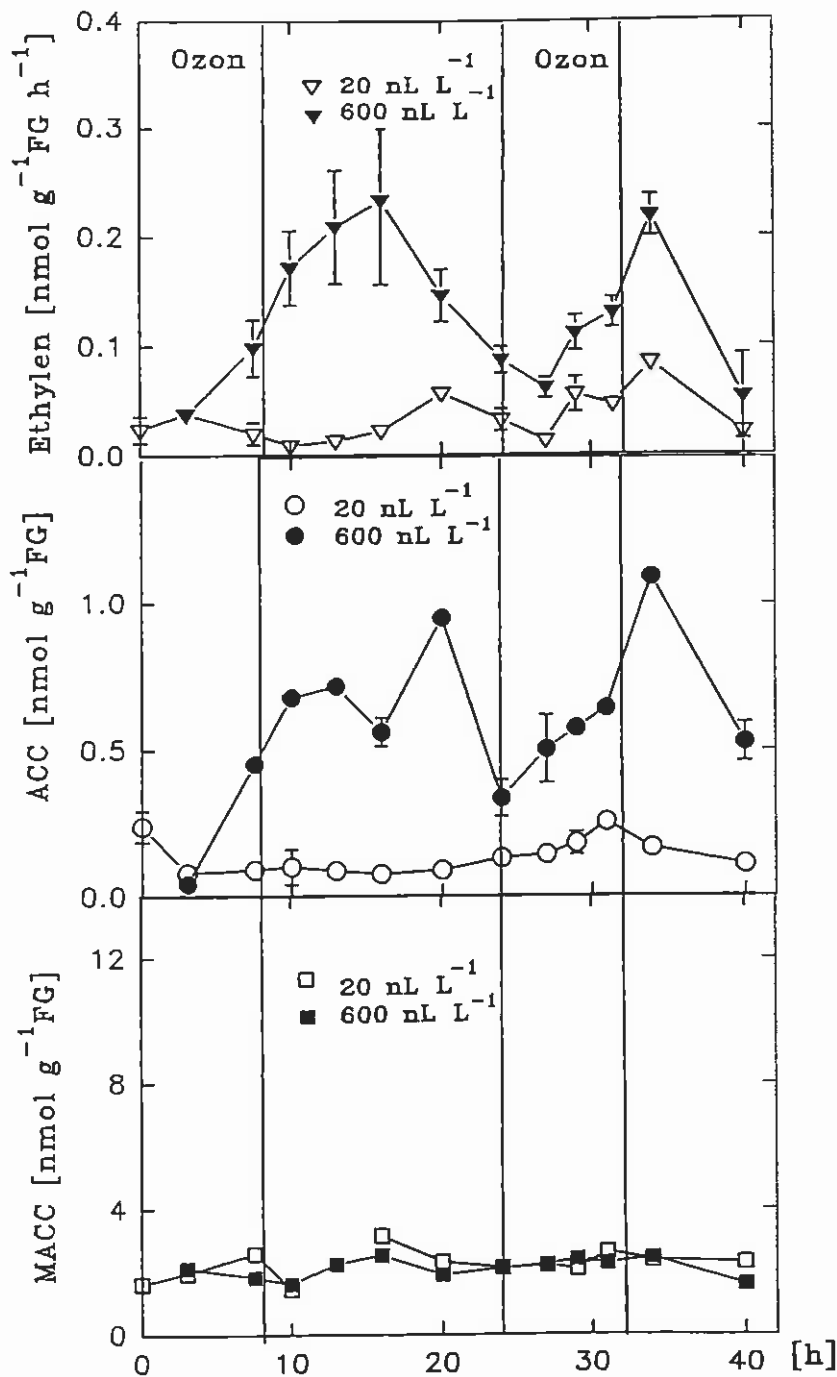


Abb. 46: Verlauf der Ethylenentwicklung sowie der ACC- und MACC-Gehalte in Nadelkränzen von Fichtenkeimlingen während zweier Behandlungstage mit 600 nL L⁻¹ Ozon (8h/Tag). Mittelwert für Ethylen und ACC $\pm$ SE (n=3).

Eine weitere Zeitkinetik nach 18 Behandlungstagen zeigte erneut einen transienten Ethylen- und ACC-Anstieg (Abb. 47).

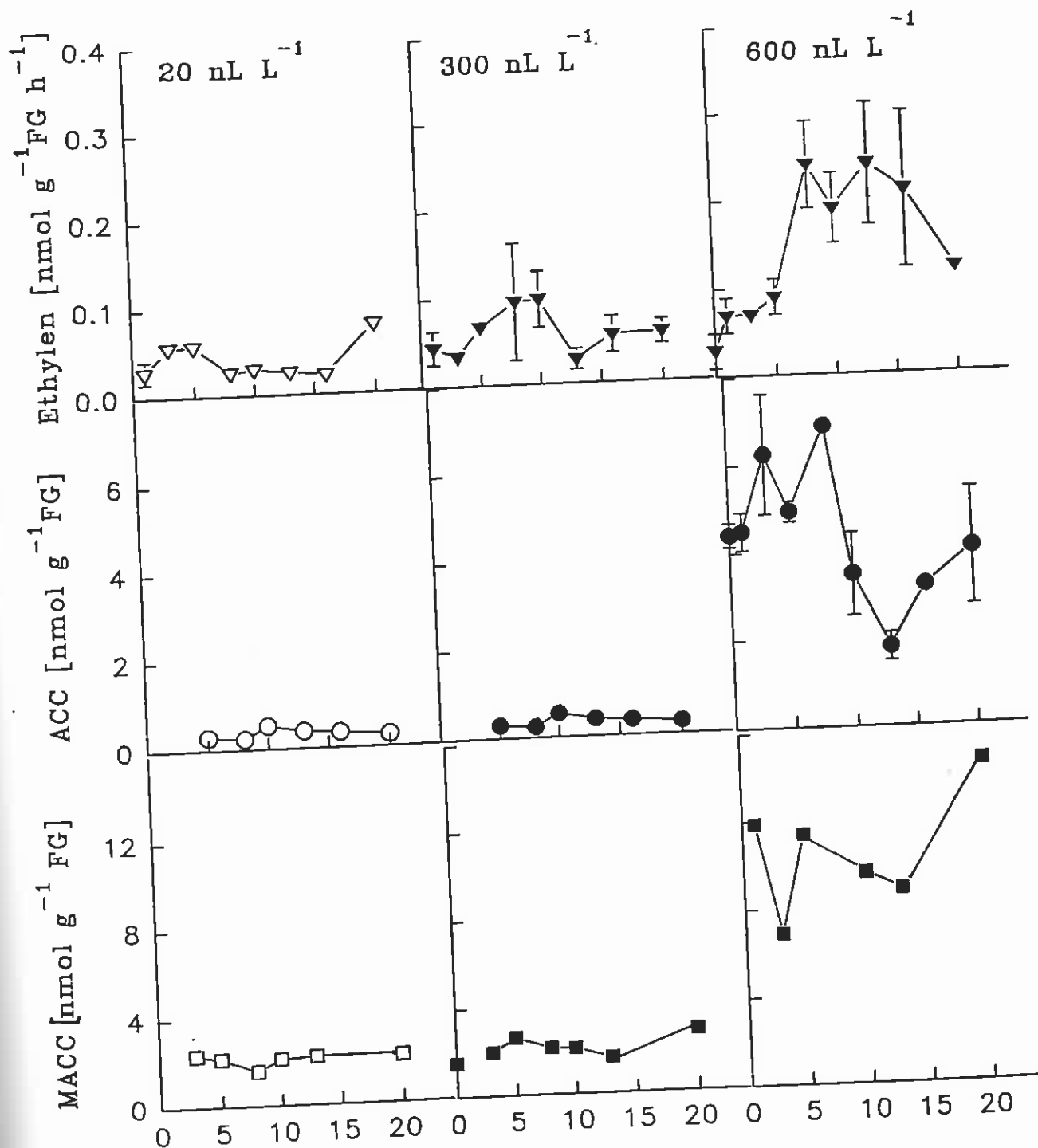


Abb. 47: Ethylenentwicklung sowie ACC- und MACC-Gehalte in Nadelkränzen von Fichtenkeimlinge nach 18 Behandlungstagen (8h/Tag) mit 20, 300 und 600 nL L⁻¹ Ozon. Mittelwert für Ethylen und ACC $\pm$ SE (n=3).

Die Ethylenentwicklung erreichte nach acht Behandlungsstunden bei 300 nL L⁻¹ Ozon 0,1 nmol g⁻¹FG h⁻¹ und bei 600 nL L⁻¹ Ozon 0,25 nmol g⁻¹FG h⁻¹. Die ACC-Gehalte erreichten von einem bereits erhöhten Niveau aus 0,7 nmol g⁻¹FG bei 300 nL L⁻¹ Ozon und 7 nmol g⁻¹FG bei 600 nL L⁻¹ Ozon. Der MACC-Gehalt war bei 300 nL L⁻¹ Ozon nicht erhöht, lag aber um das vier- bis sechsfache höher über die gesamte Meßzeit bei 600 nL L⁻¹ Ozon.

4.3. Untersuchungen zur Ethylenbiosynthese bei 600 nL L⁻¹ Ozon nach Vorinkubation bei 300 nL L⁻¹ Ozon

Nach achtzehntägiger Behandlung mit 300 nL L⁻¹ Ozon wurden Keimlinge 8h lang mit 600 nL L⁻¹ Ozon behandelt. Im Laufe der Behandlung wie auch während der Nachkultur in ozonfreier Luft wurden Keimlinge in bestimmten Zeitabständen geerntet, in Nadelkränze und Wurzeln getrennt und auf Ethylenemission sowie ACC- und MACC-Gehalte untersucht. Bei der Behandlung mit 600 nL L⁻¹ Ozon zeigte sich nach 8-10 Stunden eine 20-fach erhöhte Ethylenentwicklung (Abb. 48a). Diese war doppelt so hoch wie die Ethylenentwicklung der Keimlinge, die 18 Tage mit 600 nL L⁻¹ Ozon behandelt wurden (siehe zum Vergleich Abb. 47). Die ACC-Gehalte lagen bei den nachbehandelten Nadelkränzen nach drei Stunden bereits auf einem erhöhten Niveau und blieben es in den folgenden Stunden, lagen jedoch um das 5- bis 7-fache niedriger als die der 600 nL L⁻¹ Ozonbehandlungen (Abb. 48b, vergl. Abb. 47). Die MACC-Gehalte der Nadelkränze blieben unverändert und waren somit 6-fach geringer als die bei 600 nL L⁻¹ Ozon (Abb. 48c, vergl. Abb. 47). In den Wurzeln lagen die ACC- und MACC-Werte der behandelten Keimlinge auf dem Niveau der Kontrollwerte (um 0,1 bzw. 6 nmol g⁻¹FG).

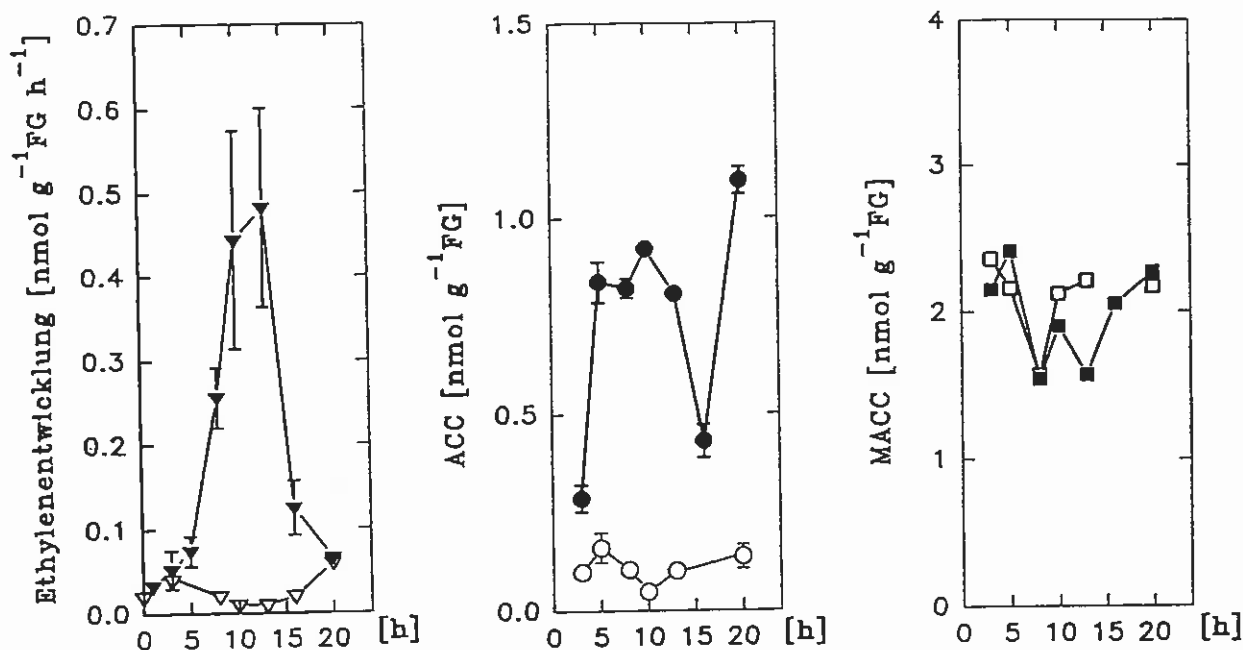


Abb. 48: Tagesverlauf der a) Ethylenentwicklung, b) ACC- und MACC-Gehalte von Nadelkränzen von Fichtenkeimlingen bei einer 8h Behandlung mit 600 nL L⁻¹ Ozon und 12h Nachkultur ohne Ozon. Die Fichtenkeimlinge waren zuvor 18 Tage lang über 8h/Tag mit 300 nL L⁻¹ Ozon behandelt worden. Mittelwert für Ethylen und ACC $\pm$ SE (n = 3).

IV. DISKUSSION

1. Simulation von Freiland-Ozonkonzentrationen in Klimakammern

Im Freiland auftretende Ozonkonzentrationen zeigen ein typisches Profil mit erhöhten Werten in den Sommermonaten und Minima im Winter (Kley et al., 1990). Bei Untersuchungen zu Ozoneffekten auf Pflanzen unter kontrollierten Bedingungen in Klimakammern wurden bisher jedoch fast ausschließlich kontinuierliche, konstante Ozonkonzentrationen oder täglich wiederkehrende Ozonpulse von gleichbleibender Höhe eingesetzt. Im hier beschriebenen Experiment, einer Behandlung von Buchen in Klimakammern, wurden erstmalig reale Ozonkonzentrationen mit proportional erhöhten und erniedrigten Werten über eine gesamte Vegetationsperiode (von April bis Oktober) simuliert. Als Bezugsort für die Simulation der Ozonkonzentrationen sowie der Klimadaten wurde Schönenbuch, nahe Basel (Schweiz), gewählt. In der Abbildung 48 werden die monatlichen Ozonmittelwerte von Schönenbuch mit Werten verschiedener Standorte in Deutschland verglichen. Man erkennt, daß die Monatsmittelwerte der Ozonkonzentrationen von Schönenbuch (1x) mit denen aus ozonbelasteten deutschen Regionen gut vergleichbar sind. Die zusätzlich proportional erhöhten Ozonbehandlungen liegen, im Fall der 1,5fach Behandlung, nur 10 % über den Werten vom Standort Schauinsland (Schwarzwald). Ozonwerte oberhalb 1,5x kamen im Jahr 1990 in Deutschland und der Schweiz nicht vor.

Die Dynamik der Behandlung kann das Ausmaß der pflanzlichen Reaktion beeinflussen (Hogsett et al., 1988). Rawlings et al. (1988) machten darauf aufmerksam, daß die gleiche Ozondosis, verteilt auf erhöhte und erniedrigte Ozonkonzentrationen gegenüber einer uniformen Verteilung, die Schadausprägung anders beeinflußt. Nach Lefohn und Runeckles (1987)

erreichen Pflanzen kritische Belastungsschwellen beim Überschreiten bestimmter Ozonkonzentrationen für eine Anzahl von Stunden, wobei bei jeder Pflanzenart und je nach Entwicklungszustand und Ernährung die Belastungsschwelle unterschiedlich ist.

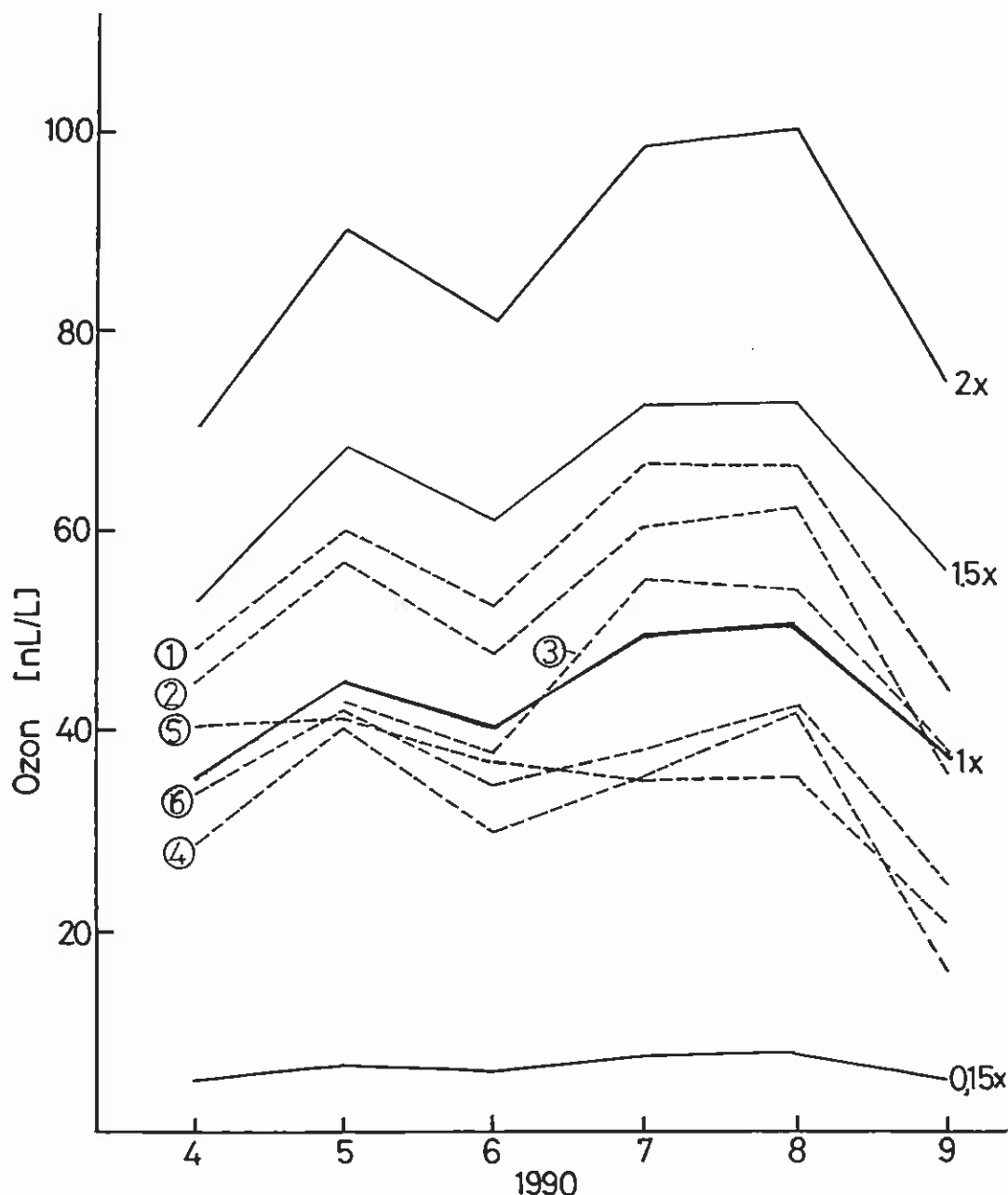


Abb. 48: Vergleich der monatlichen Ozonmittelwerte (24h-Mittel, von April bis September 1990) in Schönenbuch (1x) mit denen von höheren Lagen (um 1000m) 1) Schauinsland, 2) Brotjackriegel, 3) Wank, vergleichbaren Höhenlagen (ca. 500m) 4) Meinerzhagen und norddeutsches Flachland, 5) Langenbrügge-Waldhof. 6) Durchschnittswerte aller UBA-Stationen (Daten zusammengestellt aus Umweltbundesamt, 1990). Zusätzlich werden die monatlichen Ozonmittelwerte der proportional (1,5x und 2x) erhöhten und 0,15x erniedrigten Ozonbehandlungen gezeigt.

In Abbildung 49 ist die Anzahl der monatlichen Überschreitungen von 60 und 100 nL L⁻¹ Ozon für drei Behandlungen (1x, 1,5x und 2x; 2h-Mittelwerte) dargestellt. Bei der Behandlung mit 0,15x-Ozonkonzentrationen kamen diese Ozonwerte nicht vor. Die Ozonkonzentration von 60 nL L⁻¹ Ozon stellt den in der Schweiz gültigen Grenzwert dar; eine Ozonkonzentration von 100 nL L⁻¹ Ozon entspricht dem Richtwert (1h-Mittelwert) nach EG-Bestimmungen (Anonymus, 1993). Die Anzahl der Stunden mit Überschreitungen von 60 nL L⁻¹ Ozon lag bei den im Versuch eingesetzten 1,5x und 2x erhöhten Ozonkonzentrationen mit monatlich mehr als 50 h vergleichbar hoch, während es bei der Behandlung mit einfachen Ozonkonzentrationen zwischen 20 und 40 Stunden pro Monat waren. Spitzenwerte von 100 nL L⁻¹ Ozon kamen im Freiland (1x) vereinzelt im Juli vor. Bei den 2x erhöhten Konzentrationen wurden 100 nL L⁻¹ bereits im Mai öfters erreicht und überschritten, bei 1,5x erhöhter Ozonkonzentration erst im Juli.

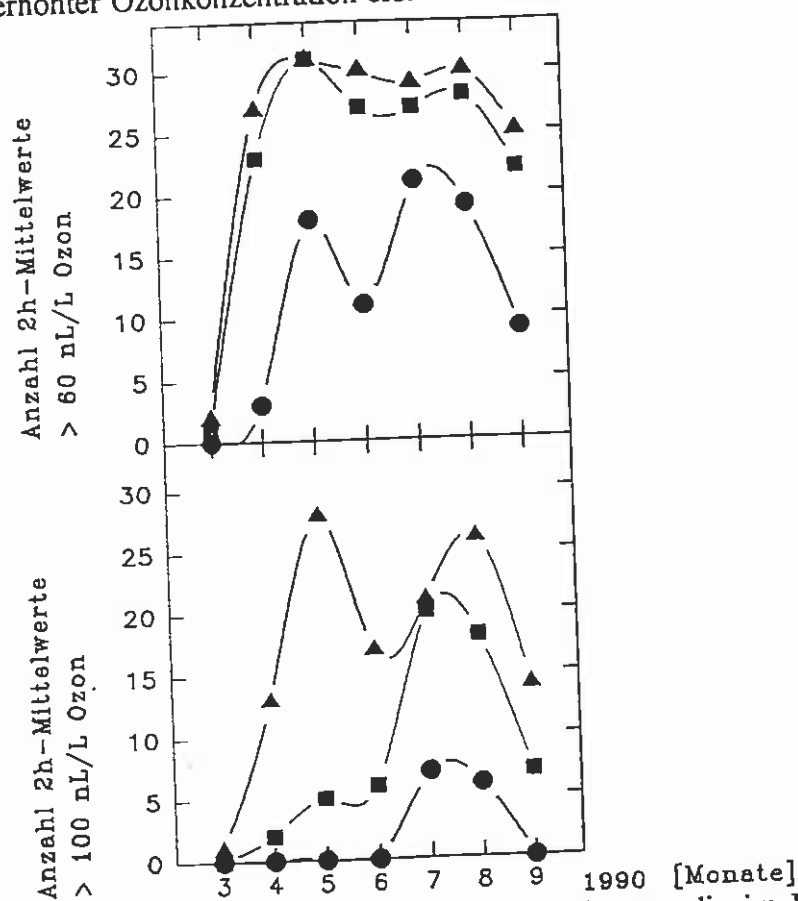


Abb. 49: Anzahl der 2h-Ozonmittelwerte, die im Laufe der Behandlung bei 1x (●), 1,5x (■) und 2x (▲) simulierten Ozonwerten Schwellenwerte von a) 60 nL L⁻¹ und b) 100 nL L⁻¹ Ozon überschritten.

2. Vergleich zwischen den Klimakammern, Open-Top-Kammern und dem Freiland

Durch die parallele Behandlung gleichaltrigen Pflanzenmaterials in Klimakammern, Open-Top-Kammern und im Freiland sollte die Übertragbarkeit der Resultate aus Klimakammern auf das Freiland überprüft werden. Der Vergleich zwischen den Behandlungen in den Klimakammern bei 0,15x- und 1x-Ozonkonzentrationen und in den OTCs bei Filterluft und Umluft ergab vergleichbare Werte im Gehalt von 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure (ACC) und dessen malonylierter Form (MACC). Außerdem wurden bei der Netto-Photosynthese keine behandlungsabhängigen Unterschiede zwischen der 0,15x- und der 1x-Behandlung in den OTCs oder in den Klimakammern festgestellt. Das gleiche galt für den Blattfall. Die zunehmende Kontrollmöglichkeit von Freilandversuchen über Open-Top-Kammern bis zu Klimakammern ermöglichte eine gesicherte Übertragung von "Laborergebnissen" auf das Freiland und die Erkennung von Nebeneffekten in den Klimakammern.

Die Simulation optimaler Wachstumsbedingungen für Bäume über einen längeren Zeitraum in geschlossenen Kammern bedarf eines großen technischen Aufwands. Die reproduzierbare Wiedergabe von klimatischen Bedingungen, wie sie in den Klimakammern unseren Instituts stattfindet, ist daher nur selten möglich. Bisher wurden die meisten Langzeitversuche mit Bäumen in Open-Top-Kammern oder im Freiland durchgeführt (Pye, 1988). Die Kontrollmöglichkeiten in Open-Top-Kammern ist gegenüber Klimakammern deutlich geringer. So ist die Filterwirkung in den Open-Top-Kammern schlechter, da durch die oben offenen Kammern immer Umgebungsluft eindringen kann. Außerdem kann das Klima nicht gezielt kontrolliert werden. Kaum kontrollierbar sind Freilandbehandlungen, sie geben aber andererseits die natürliche Situation am besten wieder. Zwangsläufige Schwächen einer reinen Freiland- bzw. Laborforschung werden durch die Einbringung sinnvoller

Zwischenglieder behoben (Seufert und Arndt, 1985). In unseren Klimakammern konnte als Nebeneffekt eine leichte gelbliche Verfärbung der Buchenblätter Ende Juni beobachtet werden. Ein Düngungseffekt konnte ausgeschlossen werden, da alle drei Behandlungsvarianten gleichmäßig versorgt wurden. Außerdem erfolgte bei Buchen, die den Klimakammern entnommen und im Freiland weiterkultiviert wurden, in den ersten Tagen eine deutliche Ergrünung. Vermutlich verursachten die in den Klimakammern herrschenden Lichtverhältnisse eine geringere Chlorophyllentwicklung. In den Klimakammern fehlte es an Blau-, UV-B- und Rotlicht (Blank et al., 1990). Messungen mit einem Quantensensor ergaben maximal $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) photosynthetisch aktive Strahlung in Höhe des Blatträumens der Versuchspflanzen in den Klimakammern, während im Freiland im Sommer doppelt so hohe Werte vorliegen (Lippert, 1992).

Durch die stufenweise (Klimakammern, Open-Top-Kammern, Freilandversuche) abgesicherte Analyse unserer Ergebnisse konnte die Übertragbarkeit der Daten aus den Klimakammern auf das Freiland auch bei längerer Expositionszeit gewährleistet werden. Übereinstimmend mit Pye (1988) und Reich (1987) kann daher gesagt werden, daß längere Expositionszeiten mit Ozonkonzentrationen, die nahe an den realen Werten liegen, am geeignetsten sind, um eine durch Ozon allgemein verursachte Wachstumsreduktion in Bäumen nachzuweisen. Matyssek et al. (1990) wiesen nach, daß auch das Wurzelwachstum durch Ozon stark reduziert wird.

3. Wirkungen von Ozon auf Buchen und Latschen

Es ist bekannt, daß Schadstoffe auf verschiedene Organisationsebenen der Pflanze einwirken können. Daher ist es wichtig eine "ganzheitliche" Betrachtungsweise der Pflanze zu gewährleisten, um die Wirkungsweise von Immissionen aufzudecken (Günthard-Goerg et al., 1991). Bei den hier

beschriebenen Studien zu Ozonwirkungen auf Buche wurde der Einfluß dieses Schadgases auf Zell- und Organebene sowie auf die Pflanze als Gesamtsystem untersucht. Parallel wurden Untersuchungen zur Ozoneinwirkung auf Latschen durchgeführt. Wahrscheinlich auf Grund der im Vergleich zu anderen Pinus-Arten sehr kleinen Ausdehnungsfläche und der geringen wirtschaftlichen Nutzung dieser Art liegen Untersuchungen über die Auswirkung von Ozon auf Latschen kaum vor. Die Latsche tritt in hochgelegenen Forstbeständen auf. Da gerade in Hochlagen erhöhte Ozonkonzentrationen vorkommen, ist die Latsche sommerlichen Ozonbelastungen ausgesetzt und daher für die Grundlagenforschung sehr interessant.

3.1. Entwicklung ozonabhängiger Symptome

Die Behandlung mit 1,5x und 2x erhöhten Ozonwerten führte zu einem bronzeartigen Schimmer der Buchenblätter, gefolgt von punktförmigen Nekrosen, die auf die Interkostalfelder der Blattoberseite beschränkt waren. Diese entwickelten sich zuerst im mittleren Bereich des Blattes, um sich dann auf das gesamte Blatt auszudehnen. Ein ähnliches durch Ozon verursachtes Schadbild wird von Hartmann et al. (1988) beschrieben.

Ozonschäden zeigten sich bei Latschen wie auch bei Kiefern in einer Vergilbung der Nadeln. Diese trat in Abhängigkeit vom Nadelalter verstärkt auf, was mit einer beschleunigten Seneszenz erklärt werden kann. Eine verstärkte Ausprägung von sichtbaren Symptomen in einjährigen Nadeln im Vergleich mit den jüngeren Nadeln wurde an Kiefer von Landolt und Lüthy-Krause (1991) beobachtet. Im Herbst traten bei den ozonbehandelten Latschen Vergilbungen an den Spitzen der jüngsten Nadeln auf. Der Herbst stellt für die Latsche vermutlich eine "sensitive Phase" dar, wie sie Langebartels et al. (1991 b) für die Kiefer beschrieben. Kiefern, die einer erhöhten Ozonbelastung

ausgesetzt worden waren, zeigten erst im Herbst des Folgejahres sichtbare Symptome an den jüngsten, ozonbehandelten Nadeln (Langebartels et al. 1991 b). Landolt et al. (1989) schildern, daß bei dreimonatiger Ozonbehandlung von vierjährigen Kiefern, im Sommer und im Herbst getrennt durchgeführt, im Herbst verstärkt Symptome auftraten. Vergleichende Beobachtungen der normalen Altersvergilbung von Latschen der Kontrollbehandlung und Kiefern aus dem Freiland bestätigen für beide Pinus-Arten einen ähnlichen Verlauf, mit erhöhter Nadelvergilbung und beginnendem Nadelfall im Herbst. In Abbildung 50 wird die Verfärbung von vier Nadeljahrgängen freistehender, ca.10-jähriger Kiefern nahe der GSF über einen Zeitraum von 2 Jahren gezeigt. Die herbstliche "sensitive Phase" ist deutlich an einer transienten Verfärbung der jeweils 1-jährigen Nadeljahrgänge zu erkennen, in dem Zeitraum, in dem der 2-jährige Nadeljahrgang abfällt. Eine Erholung der 1-jährigen Nadeln tritt anschließend sehr schnell bis zum Jahresende auf.

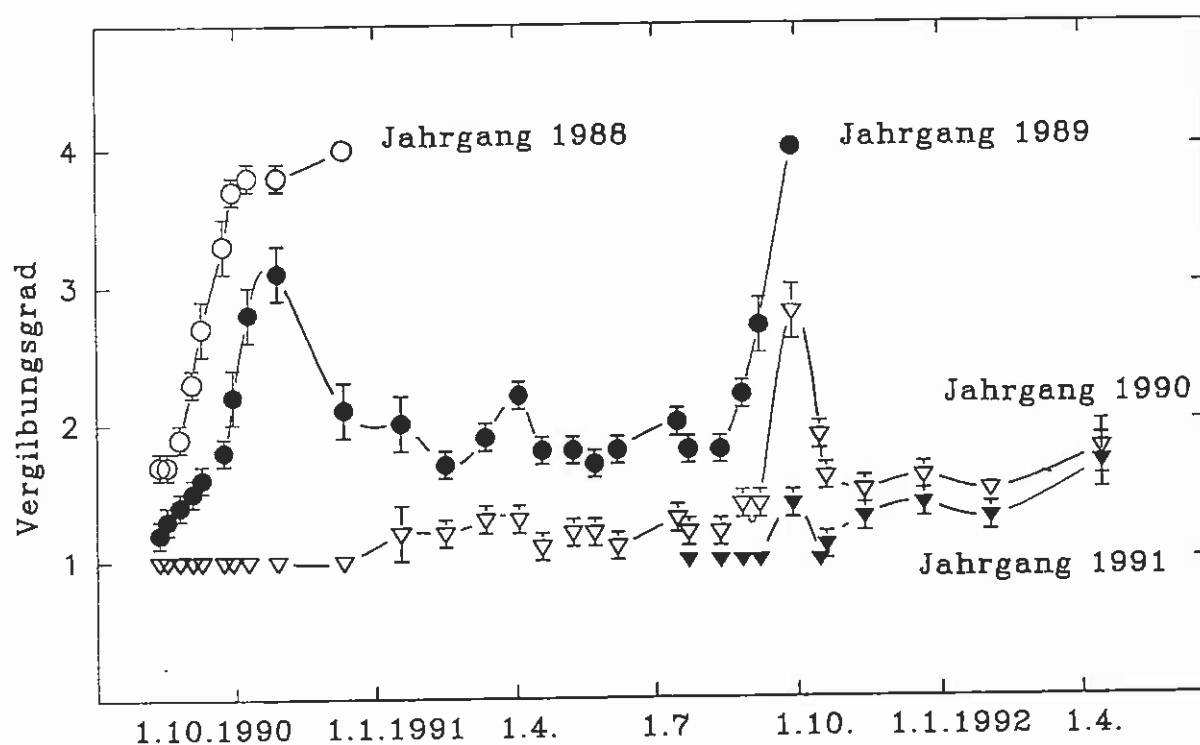


Abb. 50: Zeitlicher Verlauf der Vergilbung bei 4 Nadeljahrgängen (Nadeljahrgang 1988, 1989, 1990, 1991) von 10-jährigen Kiefern, die im Freien in unmittelbarer Nähe des Institutsgelände wuchsen. Der Verlauf der Vergilbung wurde anhand regelmäßiger Bonituren über 20 Monate, von August 1990 bis März 1992 bestimmt. (Vergilbungsskala: 1 grün; 2 grün-gelb; 3 gelb; 4 braun). Mittelwert $\pm$ SE ($n = 7-10$).

Hinweise auf biochemische Änderungen in Kiefernadeln im Herbst geben Befunde von Hartinger (1990), die stark erhöhte Cellulase-Aktivitäten auch in 1-jährigen Nadeln zeigte, während des Falls der 2-jährigen Nadeln.

3.2. Verfrühter Blattfall und Nacheffekte

Die erhöhte Ozonbehandlung führte zu einem verfrühten und verstärkten Blattfall, sowohl bei den Buchen als auch bei den Latschen. Dabei könnten sowohl die in Buchen und Latschen ozoninduzierte Ethylenentwicklung (siehe Kap. 2.3.) als auch die in den Buchenblättern nachgewiesene erhöhte Membranpermeabilität (siehe Kap. 2.5.) Auslöser dieses Phänomens gewesen sein. Eine Induktion von Cellulase, insbesondere Abszissions-Isoenzyme, durch Ethylen und Ozon wurden schon öfter bei krautigen Pflanzen beschrieben (Abeles, 1969; Kargiolaki, 1989; Takeuchi et al., 1990). Ein durch Ozon verfrühter Blattfall bei Bäumen wurde auch von Keller (1988), Guderian et al. (1990), Ashmore et al. (1989) und Leonardi et al. (1990) festgestellt. Neuere Versuche an Birken stellten auch bei dieser Baumart einen verstärkten Blattfall durch Ozon fest (Matyssek et al., 1992).

Buchen haben ein determiniertes Wachstum, das heißt, alle Blattanlagen sind in den Knospen enthalten und werden während eines Zeitraumes von 4-6 Wochen ausgebildet (siehe Austriebsentwicklung). Bei idealen Wachstumsbedingungen kann ein zweiter begrenzter Austrieb im Sommer erfolgen (sogenannte Johannistriebe). Baumarten wie Birke und Pappel dagegen produzieren fortlaufend neue Blätter und könnten durch ein stetes Erneuern des Blattmaterials die Schadwirkung von Ozon abschwächen. Tjoelker und Luxmoore (1991) stellten z.B. bei *Liriodendron tulipifera* L., einer Baumart mit indeterminiertem Wachstum, einen durch Ozon erhöhten Blattfall fest, zugleich aber eine Zunahme der Anzahl neu austreibender Blätter, was den Blattverlust ausglich.

Eine ganze Reihe von ozonverursachten Reaktionen, nämlich erhöhte Membranpermeabilität, Steigerung der Ethylenentwicklung, Abnahme der Netto-Photosynthese und insbesondere Abnahme der Ribulose- 1,5 -bisphosphat Carboxylase (Dann und Pell, 1989), reduzierte Chlorophyllgehalte (Reich, 1983) und schließlich erhöhter Blattfall deuten auf eine Beschleunigung der herbstlichen Seneszenz hin. Bei der natürlichen Seneszenz findet während der Verfärbung der Blätter, kurz vor den Blattfall, eine Umverteilung wichtiger Nährelemente statt. Während Calcium und Schwefel sich in den Blättern ansammeln, werden Kalium, Magnesium, Phosphor (Eschrich et al., 1988) und Stickstoff (Adams et al., 1990) in den Stamm verlagert. Auch in Buche fanden Glavac et al. (1990) während der Herbstphase erhöhte Kaliumgehalte im Phloemsaft der basalen Stammpartien. Eine Elementanalyse der Blätter unserer Buchen zu Beginn des Blattfalls zeigte keine behandlungsabhängigen Unterschiede. Im Gegensatz zum herbstlichen Blattfall ist also der ozoninduzierte Blattfall in der Buche mit einem Nährstoffverlust verbunden und entspricht somit nicht vollständig einer verfrühten Seneszenz. Zum gleichen Ergebnis führten Untersuchungen an ozonbehandelten Birken (Matyssek et al., 1991). Matyssek et al. (1991) und Günthardt-Goerg et al. (1991) machen zusätzlich darauf aufmerksam, daß bei Ozonbehandlung, im Gegensatz zur natürlichen Seneszenz, die strukturelle Integrität der Zelle nicht erhalten bleibt. Sie beschreiben, wie bei Beginn der Symptomausprägung in Blättern von *Betula pendula* bereits Deformationen der Kambium-, Phloem-, und Parenchymzellen, eine Verbräunung des Zellinhaltes sowie eine Kollabierung des Gewebes festzustellen sind. Es wurden Exudate an der Zellwand der Mesophyllzellen gebildet, die einen allgemeinen Indikator für Störungen des Zellmetabolismus darstellen und die bei natürlichen Seneszenzprozessen nicht vorkommen (Günthardt-Goerg et al., 1991).

Im Frühling 1991, bei der Nachkultur der Bäume im Freien, d.h. bei den Ozonkonzentrationen der Umgebungsluft (Abb. 50) war kein behandlungsabhängiger Unterschied im Wurzelwachstum, Zuwachs des Stammes oder in der Anzahl neu ausgebildeter Knospen festzustellen. Es zeigte sich aber eine verzögerte maximale Zuwachsrates des Haupttriebes bei den im Vorjahr mit Ozon behandelten Buchen und Latschen. Bei der Aspe führte Ozon in der zweiten Vegetationsperiode zu einer Abnahme der Länge und Dicke der neuen Triebe (Matyssek et al., 1993). Neuwirth (1959) stellte bei Fichten ein verzögertes Wachstum mit Stagnation in den ersten Austriebsphasen nach Entfernung der Altnadeln fest. Bei Kiefern und Latschen verhindert eine Schuppendeckung die aktive Assimilation der neuen Nadeln, so daß die Abhängigkeit von den älteren Nadeljahrgängen über die gesamte Zeit des Triebzuwachses andauert. Sind ältere Nadeln nicht vorhanden, dann müssen Reservestoffe aus dem Stamm transloziert werden, und der Zuwachs wird verzögert. Da die Zuwachsrates zum größten Teil von den im Vorjahr im Stamm oder älteren Nadeljahrgängen (Hansen und Beck, 1990; Fischer und Höll, 1991) gespeicherten Assimilaten abhängig ist, können sich die durch Ozon verminderte Netto-Photosynthese, die Schädigung der Blätter und der verfrühte Blattfall in einer geringeren Zuwachsrates auswirken. Untersuchungen an Blättern ozonbehandelter Buchen ergaben erhöhte Malat-, Citrat und Shikimisäure-Gehalte, erhöhte Aktivitäten der PEP-Carboxylase (Landolt und Lüthy-Krause, 1991) sowie verminderte Stärke-Gehalte (Guderian et al., 1990). Auch bei ozonbehandelten Pappeln (*Populus nigra* L. cv. Loenen, *P. maximowiczii* Henry x *P. nigra* L. cv. Rochester) zeigten sich verminderte Stärkegehalte zugunsten erhöhter Saccharosegehalte; weiterhin auch erhöhte Protein- und Aminosäure-Gehalte (Ballach et al., 1992). Die Ozonbehandlung führt also zu einer Anregung des Primärstoffwechsels, um den größeren Energiebedarf für die Abwehrreaktionen zu decken (Bücker und Ballach, 1992). Dies deutet darauf hin, daß durch Ozon sowohl Speichervorgänge vermindert als auch die

Translokation von Reservestoffen in den Stamm- und Wurzelbereich von Bäumen reduziert werden können. Erhöhte Ozonwerte in aufeinanderfolgenden Jahren könnten demnach zu verminderten Wachstumsraten und geringerer Frosthärte führen.

3.3. Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit

Im vorliegenden Versuch war bereits Mitte Juli, die Netto-Photosynthese der Buchen bereits um 20 -40 % vermindert. Zwischen Mitte Juli und Mitte August sind Buchenblätter photosynthetisch am aktivsten, mit 90 % der maximalen Photosyntheserate (Stickan und Zhang, 1992). Diese Zeitspanne stimmt mit dem Auftreten sommerlich erhöhter Ozonkonzentrationen überein (siehe Abb.9).

Eine Abnahme der Netto-Photosynthese durch Ozon wurde auch bei anderen Laubbäumen, vor allem bei Birke und Pappel beobachtet (Matyssek et al., 1991; Keller, 1988). Für die ozonempfindliche Pappel genügte eine Ozondosis von $27 \mu\text{L L}^{-1} \text{h}^{-1}$, um die Netto-Photosynthese um 61 % zu vermindern, bei der Eiche (*Quercus rubra*) erfolgte bei $25 \mu\text{L L}^{-1} \text{h}^{-1}$ eine Verminderung um 10 % (Pye, 1988). Eine Ozondosis von $180 \text{nL L}^{-1} \text{h}^{-1}$ verminderte die Photosynthese von Ahorn um 40 % (Krause und Prinz, 1989). Die hier untersuchten Buchen zeigten bei $100 \mu\text{L L}^{-1} \text{h}^{-1}$ eine Abnahme der Netto-Photosynthese um 20 %. Die Dunkelatmungsrate der Buchen wurde von Ozon nicht beeinflusst, wie Messungen von Lippert (1992) zeigten. Zum gleichen Ergebnis führten die Untersuchungen an Birke von Matyssek et al. (1990, 1991). Dabei muß berücksichtigt werden, daß die Atmungsrate auf die gesamte Blattfläche - inklusive der nekrotischen Fläche - bezogen ist. Die Rate der noch intakten, grünen Blattfläche eines nekrotischen Blattes muß demnach größer sein als eine vergleichbare Fläche eines vollkommen ungeschädigten Blattes.

Die ozonabhängige Abnahme der Photosynthese scheint durch eine Schädigung mehrerer Teilschritte verursacht zu sein. So sind die Elektronentransportkette und der Calvin-Cyclus gleichermaßen beeinflusst (Urbach et al., 1989). In den Photosynthesemessungen von Lippert (1992) an den hier beschriebenen Buchen stellte sich die Carboxylierungseffizienz als empfindlichster Photosynthesewert heraus. Die Quantenausbeute war nicht reduziert, was auf die Funktionsfähigkeit des vorhandenen Chlorophylls hindeutete. Auch Farange et al. (1991) beobachteten, daß als erster Teilprozess der Photosynthese die Carboxylierungseffizienz beeinflusst wurde. Pell und Pearson (1983) berichteten über eine ozoninduzierte Abnahme der Menge an Ribulose- 1,5 -bisphosphat-Carboxylase in Alfalfa, wobei es unklar blieb, ob dies indirekt durch erhöhte Membranpermeabilität, das Einwirken von Proteasen oder durch direkte Wirkung von Ozon oder seiner Folgeprodukte herbeigeführt wurde. Da die Ribulose- 1,5 -bisphosphat-Carboxylase reich an SH-Gruppen ist, ist sie leicht oxidierbar.

Die Stomata spielen bei allen Pflanzenarten eine fundamentale Rolle in der Aufnahme von Ozon (Freer-Smith et al. 1989). Die Ozonbehandlung der Buchen in unserem Versuch führte ab Ende Juli zu einer geringeren stomatären Leitfähigkeit. Diese trat ein, als bereits erhöhte K-Effluxraten gemessen wurden, was sich auf die Funktionsfähigkeit der Spaltöffnungen ausgewirkt haben könnte (Threshow und Anderson, 1988). Die Abnahme der stomatären Leitfähigkeit trat eine Woche später ein als die Abnahme der Netto-Photosynthese. Eine zeitlich versetzte Abnahme der stomatären Leitfähigkeit im Vergleich zur Abnahme der Photosynthese bei ozonbehandelten Buchen wurde auch von Leonardi et al. (1990) festgestellt. Diese Autoren beschrieben, wie die Ozonbehandlung zunächst eine Zunahme und später eine Abnahme der stomatären Leitfähigkeit verursachte. In unserem Versuch zeigten außerdem Vergleiche mit den von Lippert (1992) durchgeführten Messungen der

Transpiration, stomatären Leitfähigkeit und maximalen Photosyntheserate, daß die Ozoneffekte stärker auf die Photosynthese als auf die stomatäre Leitfähigkeit wirkten. Zu den gleichen Schlußfolgerungen führten Versuche anderer Autoren mit Laubbäumen (Darrall, 1989; Matyssek et al., 1991). Wallin und Skärby (1992) konnten auch bei Fichte nach Langzeit-Ozonbehandlung eine Reduktion der Photosynthese feststellen, die nur teilweise durch Stomataeffekte bedingt war.

Matyssek et al. (1990, 1991) sehen in der reduzierten Photosynthese sowie in der geringeren stomatären Leitfähigkeit einen Sekundäreffekt des gestörten Metabolismus. Sie beschreiben, wie bei ozonbelasteten Blättern an den Mesophyllzellen tropfenförmige Ausscheidungen, insbesondere angrenzend an Spaltöffnungen, auftreten und vermuten, daß die zugrundeliegenden Zellschädigungen die Gaswechseländerungen hervorrufen.

3.4. Freisetzung von Kationen aus Blattscheiben

Zusammen mit dem Auftreten ozonabhängiger Symptome in den Buchen wurde eine Zunahme der Freisetzungsraten für Kalium und Magnesium festgestellt. Erhöhte Ozonkonzentrationen verdoppelten die Freisetzungsraten für Kalium und Magnesium. Bereits Untersuchungen von Heath (1980, 1988b) beschrieben eine durch Ozon erhöhte Membranpermeabilität und einen erhöhten Ionenfluß in einzelligen Algen (*Chlorella*). Kerner (1990) und Leonardi und Langebartels (1990/91) stellten ebenfalls verstärkten Ionenfluß an Blattscheiben von Tabak und Buchen fest, die für einen Tag bis zu mehreren Wochen mit Ozon behandelt wurden. Außerdem wurde gezeigt, wie in isolierten Zellwänden ozonbehandelter Blätter erhöhte Kationen-Gehalte vorlagen. Weitere Untersuchungen von Leonardi und Langebartels (1990/91) zeigten, daß die erhöhten Ionenflüsse mit einer erhöhten Membranpermeabilität übereinstimmten. Eine unterschiedliche Verteilung von Ionen innerhalb des

Blattgewebes und eine erhöhte Membranpermeabilität könnten sich auf die Funktionsfähigkeit der Spaltöffnungen auswirken. Außerdem könnten, z.B. im Falle eines erhöhten Calcium-Effluxes, Enzyme wie β -1,3 Glucansynthasen oder Peroxidasen aktiviert werden (Heath, 1988a).

Eine erhöhte Membranpermeabilität könnte auch zu einer verstärkten Translokation anderer niedermolekularer Inhaltstoffe wie ACC aus der Zelle in den Apoplast führen. Saftner und Baker (1987) stellten bei reifenden Tomaten eine Verlagerung von α -Aminoisobuttersäure, einem Analogon des ACC, vom Cytoplasma in den Apoplasten fest. Sie beobachteten, wie mit der Reifung der Tomate, erhöhte α -AIB-Konzentrationen im Apoplasten wiederzufinden waren, was auf eine erhöhte Permeabilität der Plasmamembran gegenüber α -AIB und möglicherweise ACC hinwies.

3.5. Ozoninduzierte Ethylenbiosynthese

Die Ozonbehandlung der Buchen, Latschen und Fichten induzierte in allen drei Baumarten die Ethylenbiosynthese, mit Freisetzung von Ethylen und Akkumulation von ACC (1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure), der Vorstufe von Ethylen. Parallel dazu fand eine Akkumulation von malonyliertem ACC statt. Bei den Latschen wurden in den Nadeln der Jahrgänge 1990 und 1989 bereits erhöhte ACC-Gehalte festgestellt, als noch keine sichtbaren Symptome aufgetreten waren. Tingey et al. (1976) stellten fest, daß parallel zum Auftreten von ozonabhängigen Symptomen erhöhte Ethylenemissionen bei *Pinus ponderosa* Laws. auftraten. Erhöhte ACC- und MACC-Gehalte bei geschädigten Nadeln sowie erhöhte Ethylenemission parallel zu verminderten Chlorophyllgehalten, gefolgt von einem verfrühten Nadelfall wurden von Fuhrer (1985) bei Tannen im Freiland beobachtet. Der Einfluß von Ozon auf biochemische Parameter und insbesondere auf die Ethylenbiosynthese bei Laubbäumen ist nur wenig untersucht worden. So wiesen Tingey et al. (1976)

auf eine erhöhte Ethylenentwicklung nach einmaliger Ozonbehandlung in Eucalyptus nach; Ballach et al. (1992) nach dreiwöchiger Behandlung in Pappel. Arbeiten an landwirtschaftlichen Nutzpflanzen und an Koniferen zeigten eine Korrelation zwischen der Menge an freigesetztem Ethylen und dem Auftreten von Symptomen (Meyer et al., 1987; Tingey et al., 1976; Bucher, 1981). Bei der Bestimmung von Ethylen muß berücksichtigt werden, daß nur das aus der Pflanze abgegebene Ethylen erfaßt wird, nicht zelluläres und internes Ethylen. Die Bestimmung von nichtflüchtigen Metaboliten des Ethylenstoffwechsels, wie dem Ethylenvorläufer ACC und seinem Malonylkonjugat (MACC) ist daher sehr wichtig. Der ACC-Gehalt steht in enger Beziehung zur Rate der Ethylenbildung und stellt ein genaueres Maß der durch Ozon induzierten Ethylenbiosynthese dar. In den oben erwähnten Arbeiten mit Laubbäumen wurden keine Untersuchungen über ACC und MACC durchgeführt. Die Ergebnisse unseres Versuches zeigten, daß der MACC-Gehalt in den Buchenblättern mit dem Nekrotisierungsgrad korrelierte (Tab.9). Im Juli, bei Beginn der Nekrotisierung in den ozonbehandelten Blättern, wurden erhöhte MACC-Gehalte festgestellt. Mitte September bei zunehmender Nekrotisierung nahmen auch die MACC-Gehalte entsprechend weiter zu. Da Samenpflanzen verwendet wurden, bestand eine genetische Heterogenität, die sich bei einigen Pflanzen in einer zeitlich verzögerten oder verfrühten Symptomentwicklung im Vergleich zum Durchschnittsverhalten zeigte. Pflanzen mit erhöhtem Nekrotisierungsgrad wiesen dabei immer höhere MACC-Gehalte auf, als die mit vereinzelt Symptomen (siehe Vergleich der Symptome und MACC-Gehalte für die Extremfälle mit sehr geringer und sehr hoher Nekrotisierung).

Tab. 9: Schädigungsgrad und MACC-Gehalt von 3- und 5-jährigen Buchen am 22.7. und 2.8.1990 nach Ozonbehandlung:

Buche	Schädigungsgrad	MACC [nmol g ⁻¹ FG]
3-jährige (22.7.90)		
133	1	3,97
107	2	4,38
61	4	18,61
125	4	50,25
5-jährige (2.8.90.)		
218	2,5	4,65
216	2	6,90
213	4	25,50
214	4	29,01

Untersuchungen von Craker (1971), Mehlhorn und Wellburn (1987) sowie Mehlhorn et al. (1991) an Tomaten (*Lycopersicon esculentum* L.), Erbsen (*Pisum sativum* L.) und Tabak (*Nicotiana tabacum* L.) zeigten, daß das durch Ozon induzierte Ethylen das Ausmaß der Schädigung mitbestimmt. Mehlhorn und Wellburn (1987) kamen zu dieser Folgerung, indem sie Pflanzen vor der Ozonbehandlung mit Aminoethoxyvinylglycin (AVG), einem Inhibitor der Ethylenbiosynthese, behandelten. Diese Pflanzen zeigten anschließend weniger ozonabhängige Symptome. AVG wirkt als Inhibitor der ACC-Synthase, so daß außer der Ethylenbildung auch die Bildung von ACC (und MACC) gehemmt wird. Die Beteiligung von ACC oder MACC bei der Schadausbildung kann also nicht ausgeschlossen werden. Da von Mehlhorn und Wellburn (1987) kein spezifisches Hemmprodukt für die ACC-Oxidase eingesetzt wurde, konnten die Auswirkungen von Ethylen und ACC nicht auseinandergehalten werden. Ethylenbehandlungen von Bohnen und Erbsen (Mehlhorn, 1990) sowie der ozonempfindlichen Tabaksorte Bel W3 (Trost, 1990) führten zu keinen sichtbaren Symptomen. Bei diesen Behandlungen wurden sehr hohe, unrealistische Ethylenkonzentrationen eingesetzt, so daß vermutlich der reale

Ablauf der Reaktionen verändert wurde. Aber auch nach 13-monatiger Behandlung mit realistischen Ethylenkonzentrationen ($50 \mu\text{g m}^{-3}$) entwickelten sich bei Buchen keine Nekrosen (Krause und Prinz, 1989). Aus diesen Beobachtungen könnte geschlossen werden, daß a) exogenes Ethylen unterschiedliche Wirkungen zu intern gebildetem besitzt, b) Ozon und Ethylen miteinander reagieren und erst dann toxische Produkte zu Schäden führen (Mehlhorn, 1990; Elstner, 1987), c) ACC und Ethylen zusammen erhöht vorliegen müssen, um Wirkungen zu zeigen (Siefert et al., 1993).

In unserem Versuch an Fichtenkeimlingen wurden auf Grund der hohen Ozonresistenz der Fichte relativ hohe Konzentrationen (300 und 600 nL L^{-1}) eingesetzt. Schon bei einer Kurzzeitbehandlung über 8h trat eine transiente Zunahme von Ethylen und ACC ein, als frühe biochemische Reaktion auf Ozon (max. nach 13h). Die Induktionsgeschwindigkeit wurde nicht von der Höhe der Ozonkonzentration bestimmt, die Induktionshöhe war aber von der Ozonkonzentration abhängig. Bei 300 nL L^{-1} Ozon wurden eine um das doppelte erhöhte Ethylenfreisetzung und um 3-fach erhöhte ACC-Gehalte gemessen, bei 600 nL L^{-1} Ozon 7- bzw. 20-fach erhöhte Werte. Schnelle Reaktionen von ACC-Synthase und ACC-Oxidase bei Streßreaktionen in krautigen Pflanzen wurden von mehreren Autoren beschrieben, mit Maxima nach 1-4 Stunden (Theologis, 1992). Demgegenüber ist die ACC- und Ethylenbildung bei Fichtenkeimlingen deutlich langsamer. Yang und Hoffmann (1984) beobachteten einen schnellen Turn-Over der ACC-Synthase. Für den Rückgang des Streßethylens könnten auch ozoninduzierte Entgiftungsmechanismen verantwortlich sein, zum Beispiel über die Aktivierung der Ascorbat-Peroxidase, wobei das vorhandene Ascorbat als eine Art Puffersystem wirken könnte. Der transiente Anstieg der Ethylenentwicklung sowie des ACCs wiederholte sich bei gleichverlaufender Behandlung am zweiten und selbst bei Beprobung am achtzehnten Tag mit dem Unterschied, daß nach

18 Tagen der Grundlevel von ACC bei 600 nL L^{-1} Ozon deutlich erhöht war. Der Anstieg des Grundlevels an ACC bei den ozonbehandelten Fichtenkeimlingen könnte durch eine Neusynthese der ACC-Synthase erfolgen.

Während der vierwöchigen Versuche wurden in den Nadelkränzen der Fichtenkeimlinge langfristig erhöhte ACC- und MACC-Gehalte festgestellt. Der Anstieg erfolgte für ACC bei einer Ozondosis von $70 \mu\text{L L}^{-1}\text{h}^{-1}$ und für MACC bei einer Ozondosis von $84 \mu\text{L L}^{-1}\text{h}^{-1}$. Weitere Langzeitversuche zur Ethylenbiosynthese sind in der Literatur selten beschrieben worden. Eine transiente Zunahme von Ethylen und ACC als Reaktion auf Ozon wurde in Weizenblättern (Hoffman und Yang, 1982) festgestellt. In 4-jährigen Fichten waren nach 18-tägiger Behandlung mit 400 nL L^{-1} Ozon erhöhte Ethylen- und ACC-Konzentrationen nachweisbar, die nach 59 Tagen wieder abnahmen (Van den Driessche und Langebartels, 1993).

Bei Fichtenkeimlingen konnte bei 600 nL L^{-1} Ozon eine Aktivierung der Malonyltransferase-Aktivität (Tophof et al., 1989) erfolgen. MACC kann den Tonoplast (Tophof et al., 1989) und die Plasmamembran (Fuhrer und Fuhrer-Fries, 1985) in beiden Richtungen passieren. Dies erlaubt neben einer Akkumulation von MACC in Vacuolen (Bouzayen et al., 1988) auch eine Verlagerung von MACC in andere Pflanzenteile (Machackova et al., 1992). Im Laufe unseres Versuches erfolgte keine Zunahme der MACC-Gehalte in den Wurzeln, wobei nicht auszuschließen ist, daß die Versuchsdauer dafür zu kurz war. Bei 300 nL L^{-1} Ozon wurde nach 10 Tagen eine Zunahme des ACC-Gehalt in den Wurzeln festgestellt. Ozon könnte direkt auf die Wurzeln der Keimlinge gewirkt haben, da diese in befeuchtetem Perlite kultiviert wurden, der auf Grund seiner Struktur eine gute Durchlüftung bietet. Oder ACC könnte von den oberen Pflanzenteilen in den Wurzeln transportiert worden sein, ähnlich wie MACC (Fuhrer und Fuhrer-Fries, 1985). Eine erhöhte Ozonbelastung (600 nL L^{-1}) könnte auch zu einer Schädigung des Phloems geführt haben (Günthardt-Goerg et al., 1991) und somit den Transport von ACC in die Wurzeln

verhindert haben.

Eine Vorbehandlung mit niedrigen Ozonkonzentrationen führte bei mehreren Pflanzenarten zu unterschiedlichen Reaktionen gegenüber einer Ozonbelastung mit höheren Konzentrationen (Heath, 1980). Eine erhöhte Empfindlichkeit konnte in Tabak Bel W3 (Steinberger und Naveh, 1982) nachgewiesen werden, während bei Erbsen die Empfindlichkeit nach Vorbehandlung abnahm (Mehlhorn und Wellburn, 1987). Die untersuchten Fichtenkeimlinge zeigten nach 18-tägige Vorbehandlung mit 300 nL L^{-1} Ozon eine doppelt so hohe Ethylenentwicklung wie bei Keimlingen, die bereits 18 Tage lang mit 600 nL L^{-1} Ozon behandelt worden waren; parallel dazu erfolgte eine Zunahme der ACC-Gehalte.

3.6. Schwellenwerte für Ozon bei Buchen

Die Ergebnisse der biochemischen und physiologischen Untersuchungen bei Buchen im Laufe der Behandlung mit 0,15x proportional erniedrigten und 1x, 1,5x, 2x proportional erhöhten Ozonkonzentrationen sind in der Tab. 10 zusammengefaßt. Die Unterschiede zwischen den Ozonbehandlungen traten im Juli zur Zeit erhöhter Ozonkonzentrationen ein. Es ist deutlich erkennbar, daß bei 1,5x erhöhter Ozonkonzentration die folgenden Reaktionen verstärkt auftraten: erhöhte Membranpermeabilität mit verstärktem Mg-Efflux, Stomataschluß, Verminderung der Netto-Photosynthese und schließlich sichtbare Symptome. Eine Erhöhung der Ozonkonzentrationen auf 2x verstärkte nur teilweise die Reaktionen.

	Behandlung 1990				Freiland 1990	1991
	April-Juni	Juli	August	September	Oktober	April-Juni
	0,15x 1x 1,5x 2x	0,15x 1x 1,5x 2x	0,15x 1x 1,5x 2x	0,15x 1x 1,5x 2x	0,15x 1x 1,5x 2x	0,15x 1x 1,5x 2x
Austrieb	-----					-----
Zuwachsrate (Haupttrieb)	-----					---↓↓
Netto-Photosynthese		--↓↓	--↓↓	--↓↓		
stomatäre Leitfähigkeit		--↓↓	--↓↓	---↓		
K-Effluxrate		---↑		--↑↑		
Mg-Effluxrate		--↑↑		↓-↑↑		
Ca-Effluxrate		-----		-----		
FDA-Test		- -		↓-↑↑		
ACC-Gehalt		--↑*↑	- ↑	--↑*↑		
MACC-Gehalt		---↑*	- ↑	--↑↑		
Putrescin-Gehalt		--↑↑	- ↑	--↑↑		
Blattschädigung		-----	--↑↑	--↑↑		
Blattfall			-----	-----↑	---↑↑	

Tab. 10: Übersicht über Reaktionen von 3-jährigen Buchen während des Langzeitversuchs (April - September 1990) und der anschließenden Exposition im Freien (Oktober 1990 - Juni 1991). Es sind die abgesicherten Ergebnisse für die einzelnen Behandlungen (0,15x, 1x, 1,5x, 2x) angegeben: - kein Unterschied, statistisch abgesicherte Zunahme im Vergleich zur 1x-Behandlung, statistisch abgesicherte Abnahme im Vergleich zur 1x-Behandlung. Bei dem FDA-Test gelten als Vergleichsparameter die Werte der ersten Messung im Juli. Für die statistische Auswertung wurden LSD-test ($p < 0,05$), oder Anova-test ($p < 0,01$ oder $0,05$ wenn rechts vom Pfeil ein * angegeben ist) verwendet, letzteres im Falle der ACC-, MACC-Gehalte und der Blattschädigung.

Für die Schadauswirkungen auf Buchen könnte demzufolge die Dauer der Überschreitung bestimmter Ozonkonzentrationen (z.B. $> 60 \text{ nL L}^{-1}$) ausschlaggebend sein (siehe Abb. 49).

3.7. Ozonempfindlichkeit der Latsche

Die Behandlung von Latschen führte zu Vergilbungen und verfrühtem Nadelfall und weist auf die Ozonempfindlichkeit dieser Baumart hin. Nach Literaturangaben (Landolt und Lüthy-Krause, 1991) und weiteren Versuchen unseres Instituts (Langebartels et al. 1991 b) mit Kiefer scheint die Ozonempfindlichkeit von Latschen vergleichbar mit der von Kiefern zu sein. Versuche mit Kiefern-, Latschen- und Fichtenkeimlingen zeigten - in dieser Reihenfolge - eine abnehmende Ozonempfindlichkeit (persönliche Mitteilung von R. Klotz), wobei eine deutliche Steigung der Ozontoleranz zwischen den Pinus-Arten und Fichten vorlag.

4. Einfluß von Ozon unter simuliertem Bergklima

Eine Verringerung der Temperaturwerte von Schönenbuch (ca. 500m) um 3-5 °C sollte zur Simulation eines Bergklimas (1000m Höhe) und zu einem dadurch verzögerten Blattaustrieb führen, genau dann, wenn erhöhte Ozonwerte auftraten. Die niedrigeren Temperaturen verzögerten den Austrieb um ca. 10 Tage, so daß die Blattexpansion bei Ozonwerten von $> 50 \text{ nL L}^{-1}$ Ozon (1x Variante) erfolgte. In der zweiten Julihälfte zeigten die so behandelten Buchen durchschnittlich zu 30 % nekrotisierte Blattflächen, während Buchen, bei höheren Temperaturen erst zwei Wochen später den entsprechenden Schädigungsgrad erreichten. Netto-Photosynthese und stomatäre Leitfähigkeit wurden durch die niedrigere Temperatur negativ beeinflusst. Nach der Umstellung der Buchen in den Institutsgarten (21. Juli) wurden Ozoneffekte sichtbar: die ozonbehandelten Buchen wiesen eine um 20 % verminderte stomatäre Leitfähigkeit und eine um 30 % verminderte Netto-Photosynthese gegenüber der mit 0,15x-Ozonbehandlung auf. Dies könnte auf ein erhöhtes Ausmaß der Ozonschädigung in einem Bergklima hindeuten.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Ozonempfindlichkeit von Buchen und Latschen wurde anhand von Symptomen und biochemischen Reaktionen bestimmt. Als Grundlage der Arbeit diente ein Versuch in den Expositionskammern, in dem 3- und 5-jährige Buchen mit realen, proportional erhöhten (1,5x und 2x) und proportional erniedrigten (0,15x) Ozonkonzentrationen behandelt wurden. Parallel dazu wurden Latschen mit proportional erhöhten (2x) Ozonkonzentrationen behandelt. Zum ersten Mal fand unter den kontrollierten Bedingungen von Klimakammern eine Ozonbehandlung statt, die über eine ganze Vegetationsperiode eine im Freiland herrschende Situation mit intermittierenden Belastungen und Spitzenwerten simulierte. Ein Vergleich der Ergebnisse aus den Klimakammern wurde mit identischem Pflanzenmaterial aus Open-Top-Kammern (Umluft- und Filterluftbehandlung) und aus dem Freiland vorgenommen.

Die Wirkung erhöhter Ozonkonzentrationen auf Buchen wurde sowohl auf Zell- und Organebene als auch auf der Ebene der Gesamt-Pflanze festgestellt. Die Behandlung führte zu einer anhaltenden Akkumulation der Ethylenvorstufe 1-Aminocyclopropan-1-carbonsäure (ACC), und deren malonylierter Form (MACC). Ende Juli wurden bei 2x-Ozonbehandlung in Buchenblättern 3 - 10fach erhöhte ACC-Gehalte und 2 - 3fach erhöhte MACC-Gehalte gemessen. Bei den entsprechenden Behandlungen in Klimakammern, Open-Top-Kammern und Freiland wurden über die gesamte Zeit vergleichbare ACC- und MACC-Gehalte erhalten. Da eine gesteigerte Ethylenfreisetzung aus ozonbehandelten Buchenblättern festgestellt wurde, ist eine über Wochen erhöhte Ethylenbiosynthese der Buchen anzunehmen.

Eine Beeinflussung der Membranpermeabilität durch Ozon konnte anhand erhöhter Kalium- und Magnesium-Effluxraten aus Blattscheiben ermittelt werden. Die Nettophotosynthese der 3-jährigen Buchen war Ende Juli bei erhöhten Ozonkonzentrationen im Vergleich zur 1x-Behandlung bis zu 40 % vermindert, die stomatäre Leitfähigkeit war um 15 bis 20 % reduziert.

Sichtbare Symptome bei Buchenblättern traten erstmals Anfang Juli bei den Varianten mit erhöhten Ozonwerten in Form von bronzartigem Schimmer auf. Im August entwickelten sich bei der 1,5x- und 2x-Behandlung punktförmige Nekrosen in den Interkostalfeldern der Blattoberflächen, bis maximal 50 - 60 % der Blattoberflächen nekrotisch waren.

Der Blattfall trat bei erhöhten Ozonkonzentrationen um zehn Tage verfrüht auf. Ozonwirkungen zeigten sich schließlich auch im folgenden Jahr bei Weiterkultur unter Freilandbedingungen. Der neue Haupttrieb erreichte die maximale Zuwachsrate im Vergleich zur 1x-Behandlung rund 10 Tage später.

Eine Versuchsvariante mit vier Ozonkonzentrationen bei erniedrigten Temperaturen (simuliertes Bergklima) sollte Austrieb und erhöhte Ozonwerte in engeren zeitlichen Zusammenhang stellen. Die Symptomausprägung nahm im Vergleich zu den Bäumen im Normalklima schneller zu, und bei 2x erhöhten Ozonkonzentrationen waren bereits Ende Juli 30 % der Blattoberflächen nekrotisiert.

Bei Latschen erfolgte vergleichbar zu den Buchen eine ozonabhängige Akkumulation von ACC und MACC. Erhöhte ACC-Gehalte wurden bereits Ende Mai in den Nadeln der Jahrgänge 1989 und 1990 festgestellt. Ende August hatte zusätzlich auch der MACC-Gehalt der neuen Nadeln zugenommen und blieb auch im folgenden Jahr, während der Nachkultivierung im Freien 2-fach erhöht.

Die Ozonbehandlung der Latschen führte zu einer Vergilbung und zu einem 5-fach erhöhten Nadelfall des zweijährigen Nadeljahrgangs.

Untersuchungen mit Fichtenkeimlingen, die 300 und 600 nL L⁻¹ Ozon (8h/Tag) über vier Wochen ausgesetzt wurden, zeigten auch hier eine Akkumulation der ACC- und MACC-Gehalte. Diese war dosisabhängig und blieb über 2 - 4 Wochen in Kotyledonen und Primärnadeln erhalten. Täglich fand zusätzlich ein transientes Maximum der Ethylenentwicklung und des ACC-Gehalts statt, wobei die Ethylenentwicklung jeweils auf die Ausgangswerte zurückging, die ACC-Gehalte aber ständig anstiegen.

In dieser Arbeit konnte damit nachgewiesen werden, daß eine realistische Belastung von Buchen und Latschen mit gering erhöhten Ozonkonzentrationen zu frühen biochemischen Reaktionen, zu Symptomen und schließlich zu beschleunigtem Blattfall bzw. Nadelfall führte. Es wurde gezeigt, daß Ozonbehandlung bei drei wichtigen Baumarten zu einer Akkumulation von ACC und MACC führt. Diese hier erstmals beschriebene Langzeitaktivierung der Ethylenbiosynthese unter proportional erhöhten Ozonwerten kann die schädigenden Wirkungen von Ozon verstärken und insbesondere zu einem beschleunigten Blatt- und Nadelfall beitragen.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- Abeles F B (1969) Abscission: Role of cellulase. *Plant Physiol* 44: 447-452
- Acaster M A, Kende H (1983) Properties and partial purification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase. *Plant Physiol* 72: 139-145
- Adams W W, Winter K, Schreiber U, Schramel P (1990) Photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics in relationship to changes in pigment and element composition of leaves of *Platanus occidentalis* L. during autumnal leaf senescence. *Plant Physiol* 93: 1184-1190
- Anonymus (1993) New EC directive sets thresholds. *Acid News*, p 11
- Ashmore M R, McHugh F M, Mepsted R, Garretty C (1989) Effects of ozone and acid mist on saplings of *Fagus sylvatica*. In: *Air Pollution and Forest Decline*. J B Bucher, I Bucher-Wallin, eds, Proc. 14th Int. IUFRO Meeting, Birmensdorf, pp 407-409
- Ballach H-J, Oppenheimer S, Mooi J (1992) Reactions of cloned poplars to air pollution: Premature leaf loss and investigations of the nitrogen metabolism. *Z Naturforsch* 47c: 109-119
- Bayerischer Landtag (1991) Anhörung: Bilanz der Waldschäden und Waldschadenforschung von 1983 bis 1991. 5.12.1991, Bayerischer Landtag Referat A III
- Becker K H (1990) Bildung von Photooxidantien: Laboruntersuchungen und Feldexperimente. *Ozon-Symposium 1990*. TÜV Akademie, pp 2-3
- Bender J, Jäger H J, Schweizer B, Seufert G, Arndt U (1989) Long-term effects of air pollutants on forest trees in open-top-chambers. Investigation of physiological and biochemical effects. In: *Air Pollution and Forest Decline*. J B Bucher, I Bucher-Wallin, eds, Proc. 14th Int. IUFRO Meeting, Birmensdorf, pp 167-172
- Bender J, Weigel H J, Jäger H J (1990) Regression analysis to describe yield and metabolic responses of beans (*Phaseolus vulgaris*) to chronic ozone stress. *Angew Bot* 64: 329-343
- Blank L W, Roberts T M, Skeffington R A (1988) New perspectives on forest decline. *Nature* 336: 27-30
- Blank L W, Payer H-D, Pfirrmann T, Gnatz G, Kloos M, Runkel K-H, Schmolke W, Strube D, Rehfuess K E (1990) Effects of ozone, acid mist and soil characteristics on clonal Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.)- An introduction to the joint 14- month tree exposure experiment in closed chambers. *Environ Pollut* 64: 189-207
- Boller T (1988) Ethylene and the regulation of antifungal hydrolases in plants. *Oxf Surv Plant Mol Cell Biol* 5:145-174
- Booker F L, Fiscus E L, Miller J E (1991) Ozone-induced changes in soybean cell wall physiology. In: E Pell, K Steffen, eds, *Active Oxygen/Oxidative Stress and Plant Metabolism*, American Society of Plant Physiologists, Rockville, pp 229-232

- Bors W, Heller W, Michel C, Saran M (1990) Flavonoids as antioxidants: Determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods Enzymol* 186: 343-355
- Bouzayen M, Latche A, Alibert G, Pech J-C (1988) Intracellular sites of synthesis and storage of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid in *Acer pseudoplatanus* cells. *Plant Physiol* 88: 613-617
- Bowler C, Van Montagu M, Inze D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 43: 83-116
- Braun S, Flückiger W (1988) Sekundäre Effekte von anthropogenen Luftverunreinigungen in ländlichen und alpinen Gebieten. In: Verteilung und Wirkung von Photooxidantien im Alpenraum. Projektgruppe Bayern zur Erforschung der Wirkung von Umweltschadstoffen (PBWU), ed, GSF-Bericht 17/88, pp 456-466
- Brown K A, Blank L W, Strube D (1990) Fumigation in closed chambers: some technical considerations; In: H-D Payer, T Pfirrmann, P Mathy, eds, *Environmental Research with Plants in Closed Chambers*. Air Pollution Research Reports of the EC 26: 182-185
- Bucher J B (1981) SO₂-induced ethylene evolution of forest tree foliage, and its potential use as stress-indicator. *Eur J For Pathol* 11: 369-373
- Bücker J, Ballach H-J (1992) Alterations in carbohydrate levels in leaves of *Populus* due to ambient air pollution. *Physiol Plant* 86: 512-517
- Campillo E, Lewis L N (1992) Identification and kinetics of accumulation of proteins induced by ethylene in bean abscission zones. *Plant Physiol* 98: 955-961
- Chappell J, Hahlbrock K, Boller T (1984) Rapid induction of ethylene biosynthesis in cultured parsley cells by fungal elicitor and its relationship to the induction of phenylalanine ammonia-lyase. *Planta* 161: 475-480
- Chen Y M, Wellburn A R (1989) Enhanced ethylene emissions from Red and Norway spruce exposed to acidic mist. *Plant Physiol* 91: 357-361
- Chiarello N R, Mooney H A, Williams K (1989) Growth, carbon allocation and cost of plant tissues. In: R W Percy, J Ehleringer, H A Mooney, P W Rundel, eds, *Plant Physiological Ecology*. Chapman and Hall, London, pp 327-365
- Craker L E (1971) Ethylene production from ozone injured plants. *Environ Pollut* 1: 299-304
- Dann M S, Pell E J (1989) Decline of activity and quantity of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase and net photosynthesis in ozone-treated potato foliage. *Plant Physiol* 91: 427-432
- Darrall N M (1989) The effect of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant Cell Environ* 12: 1-30
- Dohmen G P, Koppers A, Langebartels C (1990) Biochemical response of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) towards 14-month exposure to ozone and acid mist: Effects on amino acid, glutathione and polyamine titers. *Environ Pollut* 64: 375-383

- Dong J G, Fernandez-Maculet J C, Yang S F (1992) Purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase from apple fruit. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 9789-9793
- Ecker J R, Davis R W (1987) Plant defense genes are regulated by ethylene. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 5202-5206
- Edwards N T, Edwards G L, Kelly J M, Taylor G E (1992) Three-year growth responses of *Pinus taeda* L. to simulated rain chemistry, soil magnesium status, and ozone. *Water Air Soil Pollut* 63: 105-118
- Elstner E F (1987) Ozone and ethylene stress. *Nature* 328: 482
- Enquete-Kommission (1989) Bericht der Enquete-Kommission des Deutschen Bundestages: Vorsorge zum Schutz der Erdatmosphäre. Deutscher Bundestag, Bonn
- Eschrich W, Fromm J, Essiamah S (1988) Mineral partitioning in the phloem during autumn senescence of beech leaves. *Trees* 2: 73-83
- Farage P K, Long S P, Lechner E G, Baker N R (1991) The sequence of change within the photosynthetic apparatus of wheat following short-term exposure to ozone. *Plant Physiol* 95: 529-535
- Fischer C, Höll W (1991) Food reserves of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). Seasonal changes in the carbohydrate and fat reserves of pine needles. *Trees* 5: 187-195
- Flückiger W (1988) Stickstoff und Stickstoffverbindungen in der Luft und ihre ökologische Bedeutung. *Chimia* 42: 41-56
- Flückiger W, Braun S, Leonardi S (1989) Nährstoffentwicklung in Buchenlaub und Auswirkungen auf den Parasitenbefall. *Allgem Forst Z* 44: 772-778
- Forschungsbeirat Waldschäden/Luftverunreinigungen (1989) 3. Bericht, Kernforschungszentrum Karlsruhe
- Freer-Smith P H, Dobson M, Taylor G (1989) Factors controlling the rates of ozone uptake by spruce and beech. In: *Air Pollution and Forest Decline*. J B Bucher, I Bucher-Wallin, eds, *Proc. 14th Int. IUFRO Meeting*, Birmensdorf, pp 407-409
- Fuhrer J (1985) Ethylene production and premature senescence of needles from fir trees (*Abies alba*). *Eur J For Path* 15: 227-236
- Fuhrer J, Fuhrer-Fries C B (1985) Formation and transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in pea plants. *Phytochemistry* 24: 19-22
- Fuhrer J, Grandjean Grimm A, Tschannen W, Shariat-Madari H (1992) The response of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to ozone at higher elevations. *New Phytol* 121: 211-219
- Glavac V, Koenies H, Ebben U (1990) Seasonal variation of calcium, magnesium, potassium and manganese contents in xylem sap of beech (*Fagus sylvatica* L.) in a 35-year-old limestone beech forest stand. *Trees* 4: 75-80
- Grandjean A, Fuhrer J (1989) Growth and leaf senescence in spring wheat (*Triticum aestivum*) grown at different ozone concentrations in open-top field chambers. *Physiol Plant* 77: 389-394

- Guderian R, Ballach H-J, Klumpp A, Klumpp G, Kuppers K, Vogels K, Willenberg I-M (1988 a) Reactions of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) to air pollution in fumigation experiments and in damaged forest stands. In: Effects to Atmospheric Deposition on the Spruce-Fir Forests of the Federal Republic of Germany and the Eastern United States. Proceedings, Burlington, Vermont
- Guderian R, Küppers K, Six R (1988 b) Wirkungen von Ozon, Schwefeldioxid und Stickstoff-dioxid auf Fichte und Pappel bei unterschiedlicher Versorgung mit Magnesium, Kalium sowie auf die Blatflechte *Hypogymnia physodes*. VDI Ber 560: 657-701
- Guderian R, Klumpp G, Klumpp A (1990) Reaktionen von Baumarten auf Luftschadstoffe unter kontrollierten Bedingungen. In: B Ulrich, ed, International Congress on Forest Decline Research. State of Knowledge and Perspectives. Lectures Volume. Friedrichshafen, pp 445-478
- Günthardt-Goerg M, Matyssek R, Scheidegger C, Keller T (1991) Bioindikationen in Birkenblättern unter niedrigen Ozonkonzentrationen. VDI Ber 901: 631-647
- Hamilton A J, Lycett G W, Grierson D (1990) Antisense gene that inhibits synthesis of the hormone ethylene in transgenic plants. Nature 346: 284-287
- Hansen J, Beck E (1990) The fate and path of assimilation products in the stem of 8-year-old Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees. Trees 4: 16-21
- Hantschel R (1987) Wasser- und Elementbilanz von geschädigten, gedüngten Fichtenökosystemen im Fichtelgebirge unter Berücksichtigung von physikalischer und chemischer Bodenheterogenität. Bayreuther Bodenkundliche Berichte, Band 3
- Hartinger U (1991) Ozoninduktion von Cellulasen in *Phaseolus vulgaris* L.. Diplomarbeit, Univ. München
- Hartmann G, Nienhaus F, Butin H (1988) Farbatlas Waldschäden. Diagnose von Baumkrankheiten. Eugen Ulmer, Stuttgart
- Heath R L (1980) Initial events in injury to plants by air pollutants. Ann Rev Plant Physiol 31: 395-431
- Heath R L (1988 a) Biochemical mechanisms of pollutant stress. In: W W Heck, O C Taylor, D T Tingey, eds, Assessment of Crop Loss from Air Pollutants, Elsevier, London, pp 259-286
- Heath R L (1988 b) The biochemistry of ozone attack on the plasma membrane of plant cells. Adv Phytochem 21:29-54
- Heck W W, Taylor O C, Tingey D T, eds (1988) Assessment of Crop Loss from Air Pollutants. Elsevier, London
- Heggestad H E (1991) Origin of Bel-W3, Bel-C and Bel-B tobacco varieties and their use as indicators of ozone. Environ Pollut 74: 264-291
- Hock B, Elstner E F eds (1988) Schadwirkungen auf Pflanzen. Lehrbuch der Pflanzentoxikologie, BI Wissenschaftsverlag, Mannheim
- Hoffman N E, Yang S F, McKeon T (1982) Identification of 1-(malonylamino)cyclopropane-1-carboxylic acid as a major conjugate of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, an ethylene precursor in higher plants. Biochem Biophys Res Commun 104: 765-770

- Hogsett W E, Tingey D T, Lee E H (1988) Ozone exposure indices: Concepts for development and evaluation of their use. In: W W Heck, O C Taylor, D T Tingey, eds, *Assessment of Crop Loss from Air Pollutants*, Elsevier, London, pp 107-138
- Kargiolaki H (1989) Cell separation events in poplar in response to sulphur dioxide and ozone: Involvement of ethylene. DJ Osborne, MB Jackson, eds, *Cell Separation in Plants*. Nato ASI Series H35: 405-419
- Ke D, Saltveit M E (1989) Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism and susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. *Physiol Plant* 76: 412-418
- Keitel A, Arndt U (1983) Ozoninduzierte Turgeszenzverluste bei Tabak (*Nicotiana tabacum* var. Bel W3) - ein Hinweis auf schnelle Permeabilitätsveränderungen der Zellmembranen. *Angew Bot* 57: 193-204
- Keller T, Häsler R (1987) Some effects of long-term ozone fumigations on Norway spruce. *Trees* 1: 129-133
- Keller T (1988) Growth and premature leaf fall in American aspen as bioindications for ozone. *Environ Pollut* 52: 183-192
- Kerner K (1990) Biochemische und physiologische Untersuchungen zur unterschiedlichen Ozontoleranz der Tabaksorten (*Nicotiana tabacum* L.) Bel B und Bel W3. Dissertation, Univ. München
- Kley D, Geiss H, Heil T, Holzapfel C (1990) Ozon in Deutschland. Die Belastung durch Ozon in ländlichen Gebieten im Kontext der neuartigen Waldschäden. Monographien des Forschungszentrums Jülich, Band 2
- Krause G H M, Prinz B (1989) Experimentelle Untersuchungen der LIS zur Aufklärung möglicher Ursachen der neuartigen Waldschäden. LIS-Bericht Nr. 80, Landesanstalt für Immissionsschutz Nordrhein-Westfalen, Essen
- Laisk A, Kull O, Moldau H (1989) Ozone concentration in leaf intercellular air spaces is close to zero. *Plant Physiol* 90: 1163-1167
- Landolt W, Pfenninger I, Lüthy-Krause B (1989) The effect of ozone and season on the pool sizes of cyclitols in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Trees* 3: 85-88
- Landolt W, Lüthy-Krause B (1991) Wirkungen umweltrelevanter Ozon-Konzentrationen auf verschiedene Pflanzen. In: Stark M, ed, *Luftschadstoffe und Wald. Lufthaushalt, Luftverschmutzung und Waldschäden in der Schweiz. Ergebnisse aus dem Nationalen Forschungsprogramm*, Band 5, Verlag der Fachvereine, Zürich, pp 127-134
- Langebartels C, Führer G, Häckl B, Heller W, Kloos M, Payer H-D, Schmitt R, Sandermann H (1989) Dose-dependent reactions of Norway spruce to ozone fumigation. In: *Air Pollution and Forest Decline*. J B Bucher, I Bucher-Wallin, eds, Proc. 14th Int. IUFRO Meeting, Birmensdorf, pp 446-469
- Langebartels C, Heller W, Kerner K, Leonardi S, Rosemann D, Schraudner M, Trost M, Sandermann H (1990) Ozone-induced defense reactions in plants. In: H-D Payer, T Pfirrmann, P Mathy, eds, *Environmental Research with Plants in Closed Chambers*. Air Pollution Research Reports of the EC 26: 358-368

- Langebartels C, Kerner K, Leonardi S, Schraudner M, Trost M, Heller W, Sandermann H (1991 a) Biochemical plant responses to ozone. Differential induction of polyamine and ethylene biosynthesis in tobacco. *Plant Physiol* 95: 882-889
- Langebartels C, Ernst D, Heller W, Sandermann H (1991 b) Reactions of trees to air pollutants. In: *Ecological Approaches of Environmental Chemicals. Proceedings, Debrecen, GSF-Bericht 4/92*, pp 274-285
- LeBel C P, Ischiropoulos H, Bondy S C (1992) Evaluation of the probe 2',7' - Dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem Res Toxicol* 5: 227-231
- Lefohn A S (1992) *Surface Level Ozone Exposure and their Effects on Vegetation*. Lewis Publishers, Chelsea
- Lefohn A S, Runeckles V C (1987) Establishing standards to protect vegetation - ozone exposure/dose considerations. *Atmos Environ* 21: 561-568
- Leonardi S, Langebartels C, Sandermann H, (1990) Fall exposure of beech trees (*Fagus sylvatica* L.) to ozone and simulated acidic mist: immediate and post-treatment effects on whole plant physiology. In H-D Payer, T Pfirrmann, P Mathy, eds, *Environmental Research with Plants in Closed Chambers. Air Pollution Research Reports of the EC* 26: 369-380
- Leonardi S, Langebartels C (1990/91) Fall exposure of beech saplings (*Fagus sylvatica* L.) to ozone and simulated acidic mist: Effects on gas exchange and leachability. *Water Air Soil Pollut* 54: 143-153
- Lippert M (1992) Multifaktorieller Ansatz zur Analyse der Langzeitwirkung erhöhter CO₂- und Ozonkonzentrationen: Gaswechsellmessungen an jungen Fichten und Buchen in Expositions-kammern. Dissertation, Univ. Würzburg
- Lizada C C, Yang S F (1979) A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Anal Biochem* 100: 140-145
- Lucas P W (1989) The development of needle chlorosis following long-term exposure of Sitka spruce to ozone. In: B Ulrich, ed, *International Congress of Forest Decline Research: State of Knowledge and Perspectives*, Poster Volume. Friedrichshafen, pp 331-332
- Machackova I, Hanisova A, Krekule J (1992) Changes in the level of MACC during cold hardening and dehardening in winter wheat. *Physiol Plant* 84: 399-402
- Matyssek R, Keller T, Günthardt-Goerg M S (1990) Ozonwirkungen auf den verschiedenen Organisationsebenen in Holzpflanzen. *Schweiz Z Forstwes* 141: 631-651
- Matyssek R, Günthardt-Goerg M S, Keller T, Scheidegger C (1991) Impairment of gas exchange and structure in birch leaves (*Betula pendula*) caused by low ozone concentrations. *Trees* 5: 5-13
- Matyssek R, Günthardt-Goerg M S, Saurer M, Keller T (1992) Seasonal growth, ¹³C in leaves and stem, and phloem structure of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations. *Trees* 6: 69-76
- Matyssek R, Keller T, Koike T (1993) Branch growth and leaf gas exchange of *Populus tremula* exposed to low ozone concentrations throughout two growing seasons. *Environ Pollut* 79: 1-7

- Mattoo A K, Aharoni N (1988) Ethylene and plant senescence. In: L D Nooden, A C Leopold, eds, *Senescence and Aging in Plants*, Academic Press, San Diego
- Mauch F, Hadwiger L A, Boller T (1984) Ethylene: Symptom, not signal for the induction of chitinase and β -1,3-glucanase in pea pods by pathogens and elicitors. *Plant Physiol* 76: 607-611
- McGarvey D J, Christoffersen R E (1992) Characterization and kinetic parameters of ethylene-forming enzyme from avocado fruit. *J Biol Chem* 267: 5964-5967
- Mehlhorn H, Wellburn A R (1987) Stress ethylene formation determines plant sensitivity to ozone. *Nature* 327: 417-418
- Mehlhorn H (1990) Ethylene-promoted ascorbate peroxidase activity protects plants against hydrogen peroxide, ozone and paraquat. *Plant Cell Environ* 13: 971-976
- Mehlhorn H, O'Shea J M, Wellburn A R (1991) Atmospheric ozone interacts with stress ethylene formation by plants to cause visible plant injury. *J Exp Bot* 234: 17-24
- Meyer A, Müller P, Sembdner G (1987) Air pollution and plant hormones. *Biochem Physiol Pflanzen* 182: 1-21
- Neuwirth G (1959) Der CO₂-Stoffwechsel einiger Koniferen während des Knospenaustriebs. *Biol Zentralbl* 4: 559-584
- Osswald W F, Elstner E F (1986) Fichtenerkrankungen in den Hochlagen der Bayerischen Mittelgebirge. *Ber Deutsch Bot Ges* 99: 313-339
- Pauls K P, Thompson J E (1980) In vitro simulation of senescence-related membrane damage by ozone-induced lipid peroxidation. *Nature* 283: 504-506
- Payer H-D, Blank L W, Gnatz G, Schmolke W, Schramel P, Bosch C (1986) Simultaneous exposure of forest trees to pollutants and climatic stress. *Water Air Soil Pollut* 31: 485-497
- Pell E J, Pearson N S (1983) Ozone-induced reduction in quantity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in Alfalfa foliage. *Plant Physiol* 73: 183-187
- Pfaffmann T, v Unold G, Rehm G, Thiel P, Ströbel R, Schmolke W (1990) Automated irrigation of plants during long-term exposure in closed chambers. In: H-D Payer, T Pfaffmann, P Mathy, eds, *Environmental Research with Plants in Closed Chambers*. Air Pollution Research Reports of the EC 26: 234
- Prinz B, Krause G H M, Stratman H (1982) Waldschäden in der Bundesrepublik Deutschland. LIS-Bericht 28, Essen
- Prinz B, Krause G H M (1989) State of scientific discussion about the cases of the forest decline in the federal republic of Germany and surrounding countries. In: *Air Pollution and Forest Decline*. J B Bucher, I Bucher-Wallin, eds, Proc. 14th Int. IUFRO Meeting, Birmensdorf, pp 27-34
- Pye J M (1988) Impact of ozone on the growth and yield of trees: A review. *J Environ Qual* 17: 347-360
- Rawlings J O, Lesser V M, Heagle A S, Heck W W (1988) Alternative ozone dose metrics to characterize ozone impact on crop yield loss. *J Environ Qual* 2: 285-291

- Der Rat von Sachverständigen für Umweltfragen (1983) Waldschäden und Luftverunreinigungen. Sondergutachten März 1983: Bundestagsdrucksache 10/113, Kohlhammer Verlag, Stuttgart
- Reich P B (1983) Effects of low concentrations of O₃ on net photosynthesis, dark respiration, and chlorophyll contents in aging hybrid poplar leaves. *Plant Physiol* 73: 291-296
- Reich P B, Schoettle A W, Raba R M, Amundson R G (1986 a) Response of soybean to low concentrations of ozone: Reductions in leaf and whole plant net photosynthesis and leaf chlorophyll content. *J Environ Qual* 15: 31-36
- Reich P B, Schoettle A W, Amundson R G (1986 b) Effects of ozone and acidic rain on photosynthesis and growth in sugar maple and northern red oak seedlings. *Environ Pollut* 40: 1-5
- Reich P B (1987) Quantifying plant response to ozone: A unifying theory. *Tree Physiol* 3: 63-91
- Rosemann D (1990) Die Induktion der Stilben-Biosynthese als früher Indikator einer Ozonbelastung bei der Kiefer (*Pinus sylvestris* L.). Dissertation, Univ. München
- Rosemann D, Heller W, Sandermann H (1991) Biochemical plant responses to ozone II. Induction of stilbene biosynthesis in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings. *Plant Physiol* 97: 1280-1286
- Saftner R A, Baker J E (1987) Transport and compartmentation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and its structural analog, α -aminoisobutyric acid, in tomato pericarp slices. *Plant Physiol* 84: 311-317
- Sandermann H, Schmitt R, Heller W, Rosemann D, Langebartels C (1989) Ozone-induced early biochemical reactions in conifers. In: JWS Longhurst, ed, *Acid Deposition. Sources, Effects and Controls*. British Library, London, pp 243-254
- Sandermann H, Langebartels C, Heller W (1990) Ozonstress bei Pflanzen. Frühe und "Memory"- Effekte von Ozon bei Nadelbäumen. *Z Umweltchem Ökotox* 2: 14-15
- Sato T, Theologis A (1989) Cloning the mRNA encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, the key enzyme for ethylene biosynthesis in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 6621-6625
- Schramel P (1988) ICP and DCP spectrometry for trace element analysis in biomedical and environmental samples. *Spectrochim Acta* 43b: 881-896
- Schraudner M (1992) Frühe Reaktionen von Tabak und Buche auf Ozon: Induktion des Tyramin- und Polyaminstoffwechsels. Dissertation Technische Univ. München
- Schulze E-D, Lange O L (1990) Die Wirkungen von Luftverunreinigungen auf Waldökosysteme. *Chemie uns Zeit* 3: 117-130
- Schütt P, Schuck H J, Stimm B, eds (1992) Lexikon der Forstbotanik. Ecomed, Landsberg
- Seufert G, Arndt U (1985) Open-Top-Kammern als Teil eines Konzepts zur ökosystemaren Untersuchung der neuartigen Waldschäden. *Allgem Forst Z* 1/2: 13-18

- Skorupka H (1985) Effect of stress factors on the formation and metabolism of the ethylene precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. In: International Workshop on Physiology and Biochemistry of Stressed Plants. Projektgruppe Bayern zur Erforschung der Wirkung von Umweltschadstoffen (PBWU), ed, GSF-Bericht 44/85, pp 121-129
- Siefert F, Langebartels C, Boller T, Grossmann K (1993) Are ethylen and 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid involved in the induction of chitinase and β -1,3-glucanase activity in sunflower cell suspensio cultures? Plant Physiol (eingereicht)
- Smith J J, Ververidis P, John P (1992) Characterization of the ethylene-forming enzyme partially purified from melon. Phytochemistry 31: 1485-1494
- Stegmann H B, Schuler P, Ruff H-J, Knollmüller M, Loreth W (1991) Ascorbic acid as indicator of damage to forest. A correlation with air quality. Z Naturforsch 46c: 67-70
- Steinberger E H, Naveh Z (1982) Effects of recurring exposures to small ozone concentrations on Bel W3 tobacco plants. Agric Environ 7: 255-263
- Stickan W, Zhang X (1992) Seasonal changes in CO₂ and H₂O gas exchange of young European beech (*Fagus sylvatica* L.). Trees 6: 96-102
- Takeuchi Y, Yoshikawa M, Takeba G, Tanaka K, Shibata D, Horino O (1990) Molecular cloning and ethylene induction of mRNA encoding a phytoalexin elicitor-releasing factor, β -1,3-endoglucanase, in soybean. Plant Physiol 93: 673-682
- Telewski F W (1992) Ethylene production by different age class Ponderosa and Jeffery pine needles as related to ozone exposure and visible injury. Trees 6: 195-198
- Theologis A (1992) One rotten apple spoils the whole bushel: The role of ethylene in fruit ripening. Cell 70: 181-184
- Threshow M, Anderson F K, eds, (1988) Plant Stress from Air Pollution. Wiley, Chichester
- Tingey D T, Standley C, Field R W (1976) Stress ethylene evolution: A measure of ozone effects on plants. Atmos Environ 10: 969-974
- Tjoelker M G, Luxmoore R J (1991) Soil nitrogen and chronic ozone stress influence physiology, growth and nutrient status of *Pinus taeda* L. and *Liriodendron tulipifera* L. seedlings. New Phytol 119: 69-81
- Tophof S, Martinoia E, Kaiser G, Hartung W, Amrhein N (1989) Compartmentation and transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid and N-malonyl-1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in barley and wheat mesophyll cells and protoplasts. Physiol Plant 75: 333-339
- Trost M (1990) Ozon-Induktion der Ethylen-Biosynthese und mögliche Wirkung von Ethylen in unterschiedlich toleranten Tabakvarietäten. Diplomarbeit, Univ. München
- Umweltbundesamt (1990) Monatsberichte aus dem Meßnetz, Berlin

- Urbach W, Schmidt W, Kolbowski J, Rümmele S, Reisberg E, Steigner W, Schreiber U (1989) Wirkungen von Umweltschadstoffen auf Photosynthese und Zellmembranen von Pflanzen. In: Proceedings 1. Statusseminar der PBWU zum Forschungsschwerpunkt "Waldschäden" 1989, Neuherberg GSF-Bericht 6/89 pp 195-206
- Van den Driessche R, Langebartels C (1993) Response of droughted Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) to ozone exposure. *New Phytol* (eingereicht)
- Van der Straeten, Rodrigues-Pousada R A, Villarroel R, Hanley S, Goodman H M, Van Montagu M (1992) Cloning, genetic mapping, and expression analysis of an *Arabidopsis thaliana* gene that encodes 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 9969-9973
- Vera P, Conejero V (1990) Effect of ethephon on protein degradation and the accumulation of 'pathogenesis-related' (PR) proteins in tomato leaf discs. *Plant Physiol* 92: 227-233
- Ververidis P, John P (1991) Complete recovery in vitro of ethylene-forming enzyme activity. *Phytochemistry* 30: 725-727
- Wallin G, Skärby L (1992) The influence of ozone on the stomatal and non-stomatal limitation of photosynthesis in Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst., exposed to soil moisture deficit. *Trees* 6: 128-136
- Wolfenden J, Robinson D C, Cape J N, Paterson I S, Francis B J, Mehlhorn H, Wellburn A R (1988) Use of carotenoid ratios, ethylene emissions and buffer capacities for the early diagnosis of forest decline. *New Phytol* 109: 85-95
- Yang S F, Hoffman N E (1984) Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann Rev Plant Physiol* 35: 155-189

ANHANG

p-Werte der ANOVA sowie Mittelwerte der signifikant unterschiedlichen Behandlungen und p-Werte der Tests auf Unterschiede zwischen den Mittelwerten (paarweise T-Test).

1. ACC-Gehalte (nmol g⁻¹FG)

22.7.90	MW	0.15	1	1.5	2
0.15	0.207		0.4334	0.1484	0.0050
1	0.155			0.0201	0.0004
1.5	0.303				0.0004
2	0.429				0.0729
14.09.90	MW	0.15	1	1.5	2
0.15	0.110		0.7030	0.0227	0.0008
1	0.161			0.0391	0.0013
1.5	0.423				0.0945
2	0.658				

2. MACC-Gehalte (nmol g⁻¹FG)

22.7.90	MW	0.15	1	1.5	2
0.15	4.198		0.8715	0.2547	0.0499
1	3.930			0.1648	0.0279
1.5	6.065				0.2816
2	7.912				
14.09.90	MW	0.15	1	1.5	2
0.15	3.592		0.5722	0.0006	0.0035
1	5.654			0.0015	0.0088
1.5	17.254				0.7954
2	16.286				

3. Blattschädigung (%)

		Ozon			
	MW	0.15	1	1.5	2
28.06.90					
Ozon					
0.15	0.0000		0.8904	0.7936	0.4504
1	0.1810			0.8986	0.5253
1.5	0.8485				0.6110
2	3.5185				
12.07.90					
MW		0.15	1	1.5	2
0.15	0.0000		0.2118	0.0647	0.0155
1	0.0000			0.5178	0.1999
1.5	0.0000				0.5178
2	1.5160				
27.07.90					
MW		0.15	1	1.5	2
0.15	2.4064		0.9664	0.0127	0.0006
1	2.1835			0.0095	0.0004
1.5	16.2010				0.2478
2	22.2085				
09.08.90					
MW		0.15	1	1.5	2
0.15	3.1474		0.3234	0.0001	0.0001
1	8.1910			0.0005	0.0001
1.5	26.8810				0.0486
2	36.8935				
15.08.90					
MW		0.15	1	1.5	2
0.15	7.5969		0.1191	0.0001	0.0001
1	16.2010			0.0008	0.0001
1.5	35.5585				0.1354
2	43.5685				
30.08.90					
MW		0.15	1	1.5	2
0.15	3.1474		0.5260	0.0001	0.0001
1	16.8685			0.0009	0.0004
1.5	40.8985				0.7653
2	42.9010				
10.09.90					
MW		0.15	1	1.5	2
0.15	11.3056		0.0007	0.0001	0.0001
1	28.2160			0.0014	0.0009
1.5	43.5685				0.8806
2	44.2360				

Für die Übergabe des Arbeitsthema und die freundliche Unterstützung möchte ich Herrn Prof. Dr. Sandermann danken.

Dr. Langebartels und Dr. Leonardi danke ich für die optimale Vorbereitung und Vorarbeit des Langzeitversuchs. Dr. Langebartels bin ich außerdem für die Hilfestellung im Institut während der drei Jahren verbunden; Dr. Leonardis Begleitung während des Versuches war besonders herzlich.

Dr. Heller stete Bereitschaft hat mir während meiner Arbeit sehr gut getan.

Meinen Dank gilt:

Herrn Kratzel, Herrn Kunstmann, Herrn Arthofer, Herrn Strube, Herrn Bader für die geleistete technische Arbeit in den Klimakammern, so wichtig für das letzte Gelingen des Langzeitversuches.

Frau Payer, Christian Zwiener, Andreas Steiner und Lucia Göbl, die mir bei den Messungen geholfen haben, Andreas Steiner zusätzlich für die fürsorgliche Aufsicht der Pflanzen während der Nachkultur im Freien.

Martina Schraudner, Elke Mattes, Zu-Hua Yin und die anderen Arbeitskollegen des Instituts wegen des guten Arbeitsklimas.

Am Ende doch nicht abschließend möchte ich mich bedanken bei Werner Manz, Michael Lippert und meine Eltern für das Korrekturlesen und ihre Erwartung, daß die Ozonschäden behoben werden.

LEBENS LAUF

10.10.1963	geboren in Pavullo nel Frignano (Modena), Italien
1969-1974	Grundschule in Farneto (Bologna)
1974-1977	Mittelschule in S.Lazzaro (Bologna) und Merano (Bolzano)
1977-1982	Wissenschaftliches Lyzeum in Merano (Bolzano)
1982	Abitur
1982-1987	Studium der Biologie an der Università degli Studi in Firenze, Schwerpunkt: Botanik
1988	Abschlußarbeit und Prüfung: Pflanzliche Anpassung an Schwermetalle bei stark mineralhaltigen Böden.
1988-1989	einjähriges Pflichtpraktikum für das Staatsexamen - genetisches Institut für Botanik, Univ. Firenze - Institut für Landschaftsgestaltung, TUM Freising - GSF-Institut für Biochemische Pflanzenpathologie, Neuherberg
1989	Staatsexamen
1990	Beginn der Promotionsarbeit am GSF-Institut für Biochemische Pflanzenpathologie, Neuherberg