

**Wirtschaftspatent**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

213 949Int.Cl.³ 3(51) C 12 Q 1/02**AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN**

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP C 12 Q/ 2483 821	(22)	02.03.83	(44)	26.09.84
------	---------------------	------	----------	------	----------

(71)	PAEDAGOGISCHE HOCHSCHULE "WOLFGANG RATKE" KOETHEN;DD;
(72)	KRAMER, CLAUS-RUEDIGER, DOZ. DR. SC. NAT.; ARNDT, HORST, DR. RER. NAT.; BOEHM, HEINZ, PROF. DR. SC. NAT.; DD;

(54) VERFAHREN ZUR GASANALYTISCHEN SELEKTION VON EFFEKTOREN MITTELS ZELLSUSPENSIONEN

(57) Die Erfindung „Verfahren zur gasanalytischen Selektion von Effektoren mittels Zellsuspensionen“ dient der Suche nach Pflanzenschutzmitteln. Sie verfolgt das Ziel über die Testung der biologischen Aktivität von Effektoren mittels photosynthetischer und respiratorischer Gaswechselumsatzanalysen von autotrophen und heterotrophen Zellsuspensionskulturen und entsprechender Auswertung der Analyseergebnisse neben der sicheren Selektion primärer Photosynthesehemmer und primärer Atmungseffektoren auch die Wirkspezifik besonders der photosynthetischen und respiratorischen Gaswechselumsatzbeeinflussung zu charakterisieren. Die Erfindung basiert auf einem Auswertungsverfahren, das die entwicklungsbedingte Beeinflussung der photosynthetischen und respiratorischen Gaswechselumsätze substanzbehandelter Zellsuspensionen nutzt. Die Fig. 3 illustriert anhand von Wirkbildern für die beiden Gaswechselumsatzbeeinflussung durch 3 Effektoren, daß das Auswertungsverfahren darüber hinaus Informationen über Einsetzen, Verlauf und Beständigkeit der Wirkungsausprägung in Abhängigkeit von der Dosis und von der Einwirkungsdauer der Effektoren sowie über Art und Weise der Wirkungsauslösung liefert. Weiterreichende Aussagemöglichkeiten zur Beeinflussung der Gaswechselumsätze durch Effektoren sind mittels Simultananalyse und Kombination der Analysenmethoden und anschließenden vergleichenden Betrachtungen möglich.

Titel der Erfindung

Verfahren zur gasanalytischen Selektion von Effektoren
mittels Zellsuspensionen

Anwendungsgebiet der Erfindung

Pflanzenschutzmittelforschung, Suche nach Regulatoren
biologischer Prozesse, Naturstoffchemie, Umweltschutz

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Es ist bekannt, daß für die Indikation der biologischen Aktivität von Effektoren Zellsuspensionen einzelliger Grünalgen genutzt werden können. Nach dem Patent "Verfahren zur Selektion biochemisch wirksamer Substanzen", DD WP 94 234, lassen sich mittels autotroph kultivierter Zellsuspensionen diejenigen Chemikalien aus einer Stichprobe selektieren, die den fundamentalen Prozeß des autotrophen Zellwachstums, die Photosynthese, unmittelbar oder mittelbar beeinträchtigen oder fördern. Geht man von heterotroph kultivierten Zellsuspensionen aus, so lassen sich nach diesem Verfahren aus einer Stichprobe von Chemikalien diejenigen selektieren, die den fundamentalen Prozeß des heterotrophen Zellwachstums, die Atmung, unmittelbar oder mittelbar beeinträchtigen oder fördern. Verfährt man nach diesem Verfahren, so sind prinzipiell

qualitative und quantitative Aussagen zur biologischen Wirksamkeit der zu prüfenden Effektoren möglich.

Bei Festlegung einer wünschenswerten minimalen Wirkkonzentration der zu untersuchenden Chemikalien in Masseprozent oder in Mol pro Liter, erlauben beide Testvarianten, qualitative Angaben zur Wirksamkeit im Sinne "wirksam" oder "nicht wirksam". Durch Konfrontation der Zellsuspensionen mit abgestuft konzentrierten Lösungen der zu prüfenden Substanzen und nachfolgenden Vergleich mit parallel kultivierten unbehandelten Kontrollsuspensionen sind über Dosis-Wirkungs-Analysen quantitative Angaben über die Hemmaktivität der Effektoren zugänglich.

Die nach diesen Verfahren als "biochemisch-wirksam" eingestuften Substanzen bilden aber hinsichtlich ihrer Wirkungsweise keine einheitliche Gruppe. Sie können die Photosynthese bzw. die Atmung unmittelbar beeinflussen, also als primäre Photosyntheseeffektoren oder primäre Atmungshemmer wirken. Aber es besteht auch die Möglichkeit, daß sie nur mittelbar bzw. im Ergebnis ihrer Metabolisierung den Photosyntheseprozess bzw. die Atmung tangieren, während sie ihre Hauptwirkung in anderen Stoffwechselbereichen manifestieren. Informationen hierüber sowie die Selektion von vorrangigen Photosynthesehemmern oder Atmungshemmern, von nicht primären Photosynthese- bzw. Atmungseffektoren, die Aufdeckung von Permeations-Effekten und die Selektion von Hemmern der Licht- und der Dunkelreaktion ermöglichen das "Verfahren zur gasanalytischen Selektion von Effektoren mittels autotropher Zellsuspensionen" und das "Verfahren zur gasanalytischen Selektion von Effektoren mittels heterotropher Zellsuspensionen".

Beide Verfahren basieren auf einem Auswertungsmodus, der die entwicklungsbedingte Beeinflussung des photosynthetischen bzw. des respiratorischen Gaswechselumsatzes wie

Sauerstoffumsatz und Kohlendioxidumsatz substanzbehandelter autotropher bzw. heterotropher Zellsuspensionen nutzt. Die vorgeschlagenen Auswertungsverfahren sind darüber hinaus in der Lage, den Wirkungsverlauf näher zu charakterisieren. Trotz dieser Fortschritte erlauben beide Verfahren keine Aussagen darüber, ob die Effektoren nur oder hauptsächlich die Photosynthese oder die Atmung hemmen bzw. ob beide Stoffwechselprozesse im Ergebnis der Metabolisierung der Wirkstoffe spezifisch oder unspezifisch tangiert werden.

Da das Verhältnis der Hemmung des Photosyntheseprozesses zur Hemmung des Atmungsprozesses auch für den möglichen Einsatz der potentiellen Herbizide in der Vorauf- oder Nachaufbehandlung von Bedeutung ist, ergibt sich der Wunsch nach einem Verfahren, das zwar ebenfalls auf Suspensionskulturen einzelliger Grünalgen beruht, dessen Auswertungsmodus jedoch neben der Selektion vorrangiger Photosynthese- und Atmungshemmer auch die genauere Charakterisierung der Effektoren hinsichtlich ihrer Wirksamkeit auf die Photosynthese- und Atmungsprozesse erlaubt.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung verfolgt das Ziel, für die Tests der biologischen Aktivität von Effektoren mittels photosynthetischer und respiratorischer Gaswechselumsatzanalysen von autotrophen und heterotrophen Suspensionskulturen einzelliger Grünalgen einen Auswertungsmodus vorzuschlagen, der neben einer Selektion primärer Photosynthesehemmer und primärer Atmungseffektoren sowie einer Selektion von Effektoren, die nicht primär die Photosynthese bzw. Atmung tangieren, aber biologisch wirksam sind, auch die Wirksamkeit besonders der photosynthetischen und respiratorischen Gaswechselumsatzbeeinflussungen zu charakterisieren und zu vergleichen erlaubt.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, mittels eines speziellen Auswertungsverfahrens auf der Grundlage von Vergleichen der Analysenergebnisse der photosynthetischen und respiratorischen Gaswechselumsätze substanzbehandelter autotroph und heterotroph kultivierter einzelliger Grünalgensuspensionen primäre Photosyntheseeffektoren, primäre nichtphotosynthetische Effektoren, primäre Atmungseffektoren und nicht primär die Atmung tangierende Effektoren bzw. unspezifische Photosynthese- und Atmungseffektoren zu charakterisieren und zu differenzieren.

Insbesondere erlaubt die Erfindung die sichere Identifizierung von Photosynthesehemmern und Atmungseffektoren und damit eine Selektion von Effektoren, die vorrangig als Nachaufdauerherbizide oder Voraufdauerherbizide genutzt werden können. Das Auswertungsverfahren liefert darüber hinaus Informationen über Einsetzen, Verlauf und Beständigkeit der Wirkungsausprägung in Abhängigkeit von der Dosis und von der Einwirkungsdauer der Effektoren, über Art und Weise der Wirkungsauslösung wie Soforthemmung der Photosynthese und/oder der Atmung über Permeations- und Transportprobleme sowie über den Wirkungsmechanismus des Effektors.

Beim "Verfahren zur gasanalytischen Selektion von Effektoren mittels Zellsuspensionen" verfährt man zunächst grundsätzlich so, wie es das "Verfahren zur Selektion biochemisch wirksamer Substanzen" empfiehlt, also definierte Mengen chemischer Verbindungen parallel oder simultan mit autotroph und heterotroph kultivierten Zellsuspensionen einzelliger Grünalgen in unmittelbaren Kontakt bringt und diese Proben parallel mit unbehandelten Vergleichskulturen bei einheitlicher Temperatur zwischen 20 °C und 38 °C im Licht bzw. im Dunkeln belüftet, so daß sie auf der Grundlage der sich vollziehenden Photosynthese- und Atmungs-

prozesse wachsen und sich entwickeln. Kontinuierlich oder zu festgelegten Zeitpunkten werden dann Proben und Vergleichskulturen oder Anteile von beiden parallel oder in definierter Folge durch Analyse des photosynthetischen bzw. respiratorischen Sauerstoffumsatzes mittels Paramagnet-Gasanalysatoren, sauerstoffsensitiver Elektroden, polarografischer und anderer elektrochemischer Meßketten, manometrischer Verfahren oder der Winkler-Methode und/oder des photosynthetischen bzw. respiratorischen Kohlendioxidumsatzes mittels Infrarot-Gasanalysatoren, ^{14}C -Methode, photometrischen Methoden und pH-Messungen untersucht und die dabei gewonnenen Ergebnisse beider Testvarianten vergleichenden Betrachtungen unterzogen.

Ausführungsbeispiele

1. Ausführungsbeispiel

Von den zu prüfenden Substanzen A bis E werden in einem Autotrophtest die Beeinflussung der photosynthetischen Sauerstoffproduktion und des photosynthetischen Kohlendioxidverbrauchs und in einem Heterotrophtest die Beeinflussung der respiratorischen Kohlendioxidproduktion und des respiratorischen Sauerstoffverbrauchs untersucht. Hierzu werden autotroph und heterotroph kultivierte Zellsuspensionen einzelliger Grünalgen der Species *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris*, Stamm BÖHM und BURNS 1972/1 in einer Suspensionsdichte von 12×10^6 Zellen/cm³ mit verschiedenen konzentrierten wässrigen oder Dimethylsulfoxid-Lösungen der zu prüfenden Substanzen A bis E beimpft und zusammen mit unbehandelten Kontrollen bei 37,5 °C im Licht bzw. bei der Heterotrophvariante im Dunkeln belüftet, wobei in diesem Fall Glukose als organische Kohlenstoffquelle eingesetzt wird, so daß

alle erforderlichen Voraussetzungen für die Photosynthese bzw. für die Atmung gegeben sind.

Die Analyse der photosynthetischen und respiratorischen Sauerstoff- und Kohlendioxidumsätze erfolgt nach einer spezifisch entwickelten Meßanordnung, die durch Kopplung von kommerziell erhältlichen Infrarot- und Paramagnet-Gasanalysatoren eine gleichzeitige Bestimmung der Sauerstoff- und Kohlendioxidkonzentrationen der entwicklungsbedingten Gaswechselumsätze an 6 Meßplätzen im offenen Gasstrom mit hoher Genauigkeit ermöglicht. Während der Gaswechselumsatz der in Nährlösung suspendierten Zellen in den unbehandelten Vergleichskulturen einer normalen autotrophen bzw. heterotrophen Wachstumsentwicklung entspricht, werden die Kohlendioxid- und Sauerstoffumsätze in den mit Chemikalien versetzten Chlorellasuspensionen während des Wachstums und der Entwicklung mehr oder weniger beeinflusst, wenn verschiedene Substanzkonzentrationen den Photosynthese- oder den Atmungsprozeß mehr oder weniger stören.

Die Ergebnisse der Analysen für die Substanzen A bis F sind den Figuren 1 bis 2 zu entnehmen. Beide Figuren enthalten in den oberen Hälften die Wirkbilder für die Beeinflussung der Photosynthesegeschwindigkeit und in den unteren Hälften die Wirkbilder für die Beeinflussung der Respirationsgeschwindigkeit durch diese Substanzgruppe. Aus praktischen Gründen werden die Wirkbilder in Form von Auftragungen der Sauerstoffproduktionsgeschwindigkeit - obere Hälfte der Figuren - bzw. der Kohlendioxidproduktionsgeschwindigkeit - untere Hälften der Figuren - dc/dt in Pikoliter pro Stunde und Zelle - $pl\ h^{-1}\ Zelle^{-1}$ - als Funktion der Zeit vorgestellt, wobei der Maßstab $dc : dt$ für die Respirationsgeschwindigkeit, dem natürlichen Verhältnis nahekoment, auf das zehnfache gestreckt wurde.

Die Mit K bezeichneten Graphen sind jeweils die entsprechenden Gasumsatz-Geschwindigkeits-Zeit-Kurven der unbehandelten Kontrollen von der nullten bis zur achten Stunde und die mit

den Ziffern 1 bis 5 bezeichneten Graphen die entsprechenden Gasumsatz-Geschwindigkeits-Zeit-Kurven für die mit abgestuften, zunehmenden Konzentrationen der Substanzen A bis F versetzten Proben 1 bis 5. Die senkrechten Pfeile kennzeichnen die Applikationszeitpunkte, die meist in der Nähe der vierten Zyklusstunde liegen.

Die Wirkbilder der Substanz A in Fig. 1, A sind für Triazole wie Amitrol typisch. Nach Wirkstoffzugabe fällt die Photosynthesegeschwindigkeit und die Atmung relativ langsam, aber konzentrationsabhängig ab. Solche Verbindungen besitzen eine unspezifische Wirkung, d. h., sie tangieren die verschiedensten Wirkorte. Langzeitig kommt es zur Überlagerung direkter Wirkungen sowohl auf die Photosynthese als auch auf die Atmung und indirekter Effekte in den Wirkbildern. Besonders auffällig ist, daß die Beeinflussung durch gleiche Wirkstoffkonzentrationen, bei Beachtung des Verhältnisses von 1 : 10 beider Gaswechselumsätze, sich in ähnlicher Weise in beiden Wirkbildern widerspiegeln.

Die Analyse der photosynthetischen und respiratorischen Gaswechselumsätze der Substanz B zeigen die Wirkbilder Fig. 1, B. In diesen Fällen wird das entwicklungsbedingte Anwachsen der Gaswechselumsatzgeschwindigkeiten, abgesehen von sehr hohen Dosen, wo sich verschiedenste Wirkstoffeffekte überlagern, gegenüber der Kontrolle partiell vermindert oder völlig gehemmt. Diese Wirksamkeitsphasen dauern dosisabhängig eine oder mehrere Stunden. Danach ergibt sich eine Wirksamkeitssteigerung infolge der Überlagerung verschiedenster direkter und indirekter Effekte. Insbesondere die Wirkkurven der niederen Konzentrationen spiegeln im ersten Wirksamkeitsabschnitt den Wirkungsmechanismus der Substanzen wider. Im späteren Kurvenverlauf widerspiegeln sich u. a. Membran- und Atmungseffekte sowie weitere Wirkungen. Im Unterschied zur Substanz A sind zur Auslösung ähnlicher Effekte in beiden Wirkbildern für die Atmungsbeeinflussung vergleichsweise höhere Wirkstoffkonzentrationen nötig. Dies weist auf

eine stärkere partielle Hemmung der Photosynthese.

Die sehr ähnlichen Wirkbilder der Substanz C in Fig. 1, C zeigen, daß sofort nach der Wirkstoffapplikation die Gaswechselgeschwindigkeiten stark und dosisproportional abfallen, anschließend wieder relativ stark ansteigen, um sich dann auf eine dosisproportionale Inhibition des entwicklungsbedingten Gaswechselzuwachses einzustellen. Wie aus Vergleichsmessungen mit 2,4-D und dem Natriumsalz der 2,4-D hervorgeht, resultiert der v-förmige Angangsteil der Wirkkurven aus einem intrazellulären pH-Effekt, der die Gaswechselgeschwindigkeit unmittelbar tangiert. Derartige Erscheinungen ergaben sich bei der Störung des H^+ -Ionengradienten an den Thylacoiden und haben infolge der Reparaturreffekte nur kurzzeitigen Charakter.

Bei der Hemmung im anschließenden Wirkbildabschnitt dürften sich wiederum direkte Effekte im Photosynthese- bzw. Atmungsbereich und indirekte Wirkungen, die aus der Konfrontation anderer Metabolismen resultieren, Nukleinsäurehaushalt etc., überlagern. Die auffallenden Übereinstimmungen der Wirkbilder und ihre Spezifik weisen auf unspezifische Beeinflussungen der Photosynthese- und Atmungsprozesse hin.

Während die Wirkbilder der Substanzen A bis C in Fig. 1 für die Photosynthese und die Atmungsbeeinflussung vergleichbar waren, zeigen die Wirkbilder für die Substanzen D bis F, Fig. 2, D bis F, für beide Testvarianten deutliche Unterschiede.

So wird die Photosynthesegeschwindigkeit durch die Substanz D relativ schnell dosisabhängig verringert, was die ersten Kurvenabschnitte im entsprechenden Wirkbild Fig. 2, D verdeutlichen. Die Atmung wird zwar in ähnlicher Weise aber mit geringerer Geschwindigkeit beeinflusst, wie das Wirkbild Fig. 2, D, untere Hälfte, veranschaulicht.

Für die Substanz E wurden die beiden Wirkbilder in Fig. 2, E gefunden. Die photosynthetische Sauerstoffproduktion wird,

wie auch hier die ersten Kurvenabschnitte zeigen, dosisabhängig gehemmt, wobei starke Konzentrationen in Abhängigkeit der zunehmenden Dosis in immer kürzerer Zeit zu einer totalen Hemmung, ja sogar zu einer Umkehrung des photosynthetischen Gaswechselumsatzes zu einem respiratorischen Gaswechselumsatz führen. Auch das Wirkbild für die Respirationsbeeinflussung durch Substanz E zeigt komplizierte Gasumsatzgeschwindigkeits-Zeit-Kurven, die auf verschiedene nacheinander verlaufende und sich gegenseitig durchdringende Wirkungseffekte hinweisen. Allerdings sind zur Auslösung dieser Wirkungsverläufe vergleichsweise zur Photosynthesebeeinflussung höhere Wirkkonzentrationen dieser Substanz nötig.

Damit ist diese Substanz als ein Photosynthesehemmer einzustufen.

Die Beeinflussung der photosynthetischen und respiratorischen Gaswechselumsätze durch die Substanz F wird durch die Wirkbilder F in Fig. 2 veranschaulicht.

Das Wirkbild für die Photosynthesebeeinflussung läßt verschiedene Wirksamkeitsphasen erkennen. Zunächst ist der Einfluß der Substanz relativ gering, steigt dann aber stark an. Obwohl vergleichsweise erst höhere Wirkkonzentrationen die Wirkungsverläufe im Wirkbild für die Atmungsbeeinflussung determinierten, zeigen trotzdem deren Verläufe vergleichsweise in den ersten Kurvenabschnitten eine stärkere dosisabhängige Atmungshemmung, was auf eine vorrangig unspezifische Atmungshemmung hinweist.

Differenzierte bzw. detailliertere Aussagen zur Wirkspezifität solcher Substanzen, besonders mit ähnlichen Wirkspektren für die Gaswechselumsätze in beiden Testvarianten erhält man, wenn man Auswertungen der Meßdaten in Form von Vergleichen der Photosynthesequotienten c_{O_2}/c_{CO_2} und Respi-

rationsquotienten $c_{\text{CO}_2}/c_{\text{O}_2}$ oder durch Vergleichen der Quotienten $\log c_{\text{O}_2}/\log c_{\text{CO}_2}$ für die Photosynthesebeeinflussung mit den Quotienten $\log c_{\text{CO}_2}/\log c_{\text{O}_2}$ für die Atmungsbeeinflussung.

2. Ausführungsbeispiel

Mit den Substanzen G bis I wird wie im 1. Ausführungsbeispiel verfahren. Die Wirkbilder der Substanzen G bis I für die Photosynthese- und Atmungsbeeinflussung werden in Fig. 3 vorgestellt. Typisch für diese Substanzen ist, daß im Vergleich zur Atmungsbeeinflussung die Wirkbilder für die Photosynthesebeeinflussung sehr ähnlich sind. Vergleichbare Wirkbilder wie für die Substanzen G bis I wurden auch für Harnstoffherbizide, Triazine, Carbamate und Urazide gefunden. Sie verdeutlichen, daß sofort nach der Zugabe des Wirkstoffes die Photosynthesegeschwindigkeit proportional zur Konzentration blockiert wird. Die Wirkungsauslösung resultiert aus der Bindung des Wirkstoffs an ein Eiweiß wie das B-Protein der Elektronentransportkette der Photosynthese, wodurch der jeweilige Lebensprozeß der Zellen partiell oder total unterbunden wird. Die Beeinflussung der Atmungsprozesse durch die Substanzen G bis I zeigen die Wirkbilder G bis I in der unteren Hälfte der Fig. 3. Im Vergleich zur Photosynthesebeeinflussung durch diese Substanz zeigen sich hier qualitative und quantitative Unterschiede. So zeigen auch sehr hohe Konzentrationen der Substanz G, die vergleichsweise höher sind als 1 bis 5 im Wirkbild Fig. 3, G für die Photosynthesebeeinflussung, auf die Atmungsprozesse im Heterotrophtest keinen Einfluß. Solches Verhalten, das auch für Fenuron und Simazin nachgewiesen wurde, weist diese Substanz als einen relativ spezifischen Photosynthesehemmer aus.

Das Wirkbild für die Beeinflussung der Respiration durch die Substanz H in Fig. 3, H wird im Vergleich zur Photosynthesehemmung nur durch die zehnfache Menge am Wirkstoff verursacht, gleichzeitig ist die Atmungsbeeinflussung im Vergleich zur Photosynthesebeeinflussung bedeutend unspezifischer, was auch diese Substanz als einen primären Photosynthesehemmer ausweist. Ähnliche Wirkeigenschaften wurden auch für das Herbizid Proxipharm nachgewiesen. Im Gegensatz dazu weist das Wirkbild für die Atmungsbeeinflussung der Substanz I in Fig. 3, I, sowie die getesteten Wirkkonzentrationen aus, daß diese Substanz auch primär Wirkorte der Atmungsprozesse zu tangieren vermag, was besonders durch die Atmungsblockierung in Graph 2 Fig. 3, I untere Hälfte, illustriert wird.

Auch in diesen vorgestellten Fällen sind weitere genauere Charakteristiken der Wirkungsspezifität durch Auswertungen höherer Ordnung, wie sie im ersten Ausführungsbeispiel angedeutet wurden, möglich.

Neben den in den Fig. 1 bis 3 vorgestellten Wirkbildern, gibt es noch eine größere Anzahl qualitativ und quantitativ unterscheidbarer Wirkungsverläufe für die Beeinflussung der photosynthetischen und respiratorischen Kohlendioxid- und Sauerstoffumsätze. Durch Vergleich entsprechender Wirkbilder von neu untersuchten Substanzen, über deren herbizide Wirksamkeit bisher nicht oder wenig bekannt ist, mit einer Wirkbildkartei oder mit Hilfe der elektronischen Datenverarbeitung der Wirkdaten von gut untersuchten, auch kommerziell vertriebenen Herbiziden oder Standardherbiziden, erhält man konkrete Hinweise über ähnliche Wirkorte, Wirkmechanismen, Selektivität und Anwendungsmöglichkeiten solcher Effektoren.

Patentansprüche

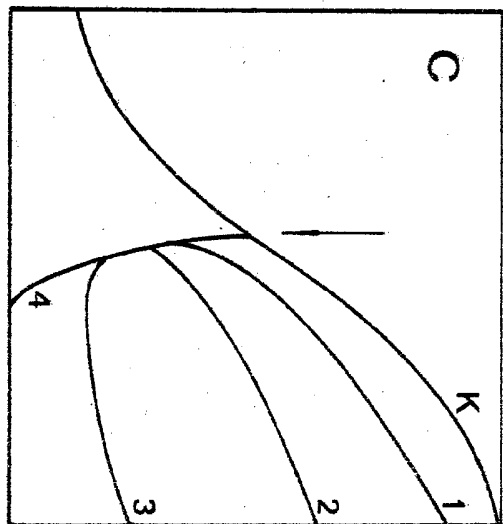
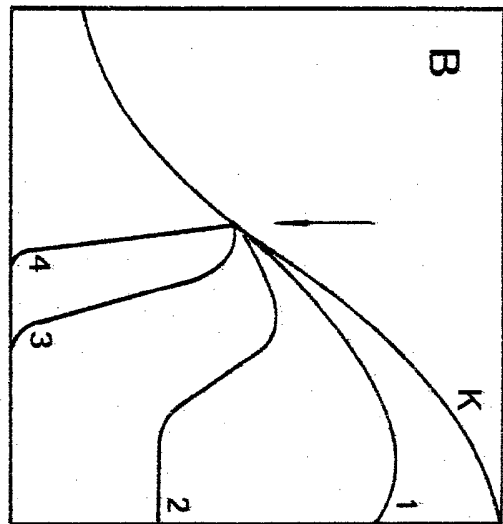
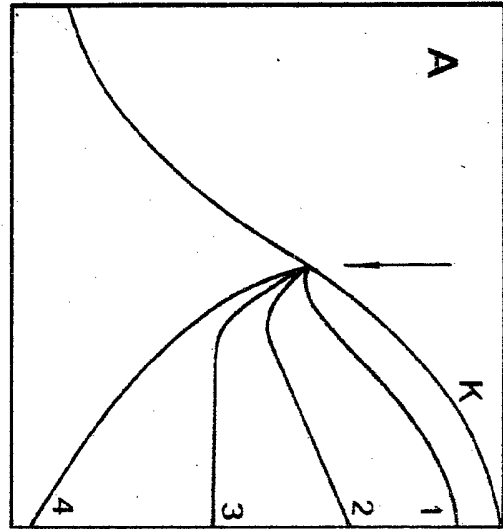
1. Verfahren zur Selektion von Effektoren mittels Gaswechselumsatzanalysen von Zellsuspensionen, dadurch gekennzeichnet, daß sowohl der photosynthetische Sauerstoff- und Kohlendioxid-Umsatz substanzbehandelter autotropher Zellsuspensionen oder Organismensuspensionen als auch der respiratorische Sauerstoff- und Kohlendioxid-Umsatz substanzbehandelter heterotropher Zellsuspensionen oder Organismensuspensionen genutzt wird, um mittels substanzinitiiert Variation des photosynthetischen und des respiratorischen Sauerstoff- und Kohlendioxid-Umsatzes solcher Suspensionen die Effektoren in primäre und sekundäre Photosyntheseeffektoren bzw. in primäre und sekundäre Atmungseffektoren sowie in unspezifische Photosynthese- und Atmungseffektoren differenzieren zu können.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß als autotrophe und heterotrophe Zellsuspensionen oder Organismensuspensionen alle suspendierbaren autotrophen und heterotrophen Bakterien, Blaualgen, Grünalgen sowie submers gehaltene niedere und höhere mehrzellige Pflanzen verwendet werden können.
3. Verfahren nach Punkt 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß der photosynthetische bzw. respiratorische Sauerstoffumsatz mittels Paramagnet-Gasanalysatoren, sauerstoffsensitiven Elektroden, Polarographie und anderen elektrochemischen Meßketten, manometrischen Verfahren und der Winklermethode oder durch Kombination mehrerer dieser Methoden analysiert wird.
4. Verfahren nach Punkt 1, 2 und 3, dadurch gekennzeichnet, daß der photosynthetische bzw. respiratorische

Kohlendioxidumsatz mittels Infrarot-Gasanalysatoren, ^{14}C -Methode, photometrischen Methoden oder durch Kombinationen dieser Methoden analysiert wird.

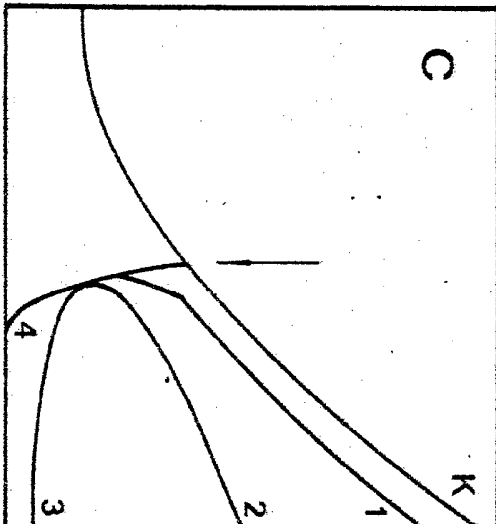
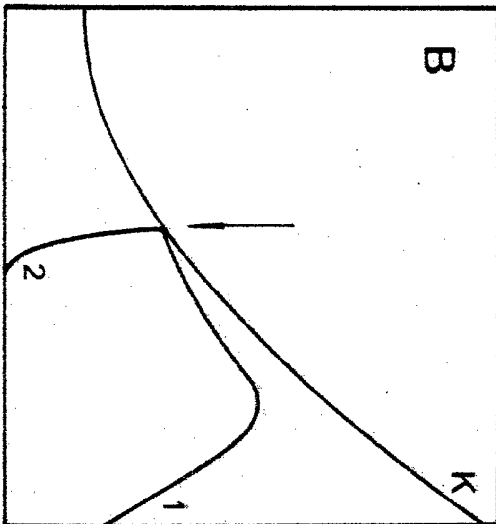
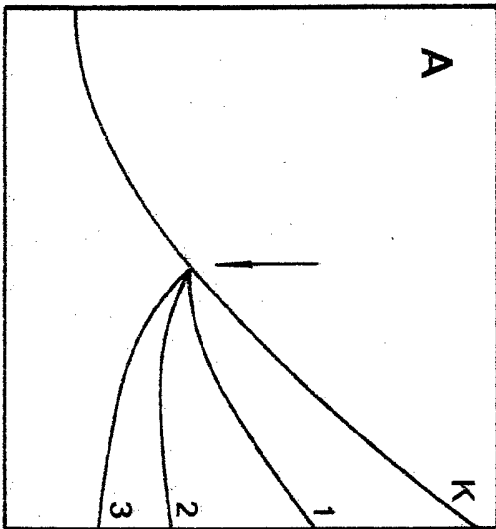
5. Verfahren nach Punkt 1, 2, 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß der photosynthetische oder/und respiratorische Sauerstoffumsatz und der photosynthetische oder/und respiratorische Kohlendioxidumsatz durch Kombination der Analysenmethoden simultan analysiert werden.

Hierzu 3 Seiten Zeichnungen

Photosynthesegeschwindigkeit



Respirationsgeschwindigkeit



$\frac{dc}{dt}$

t

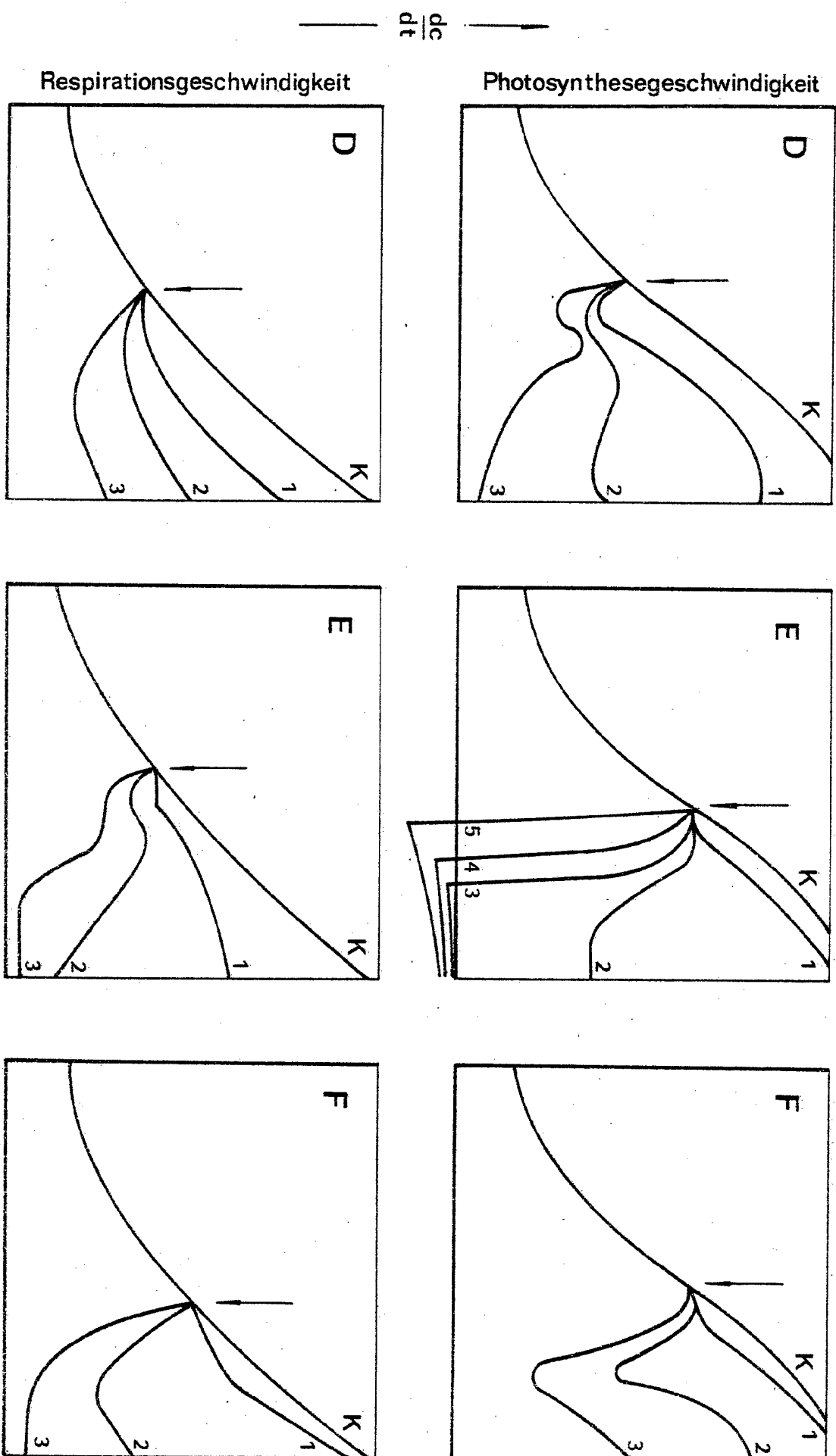


Fig. 3

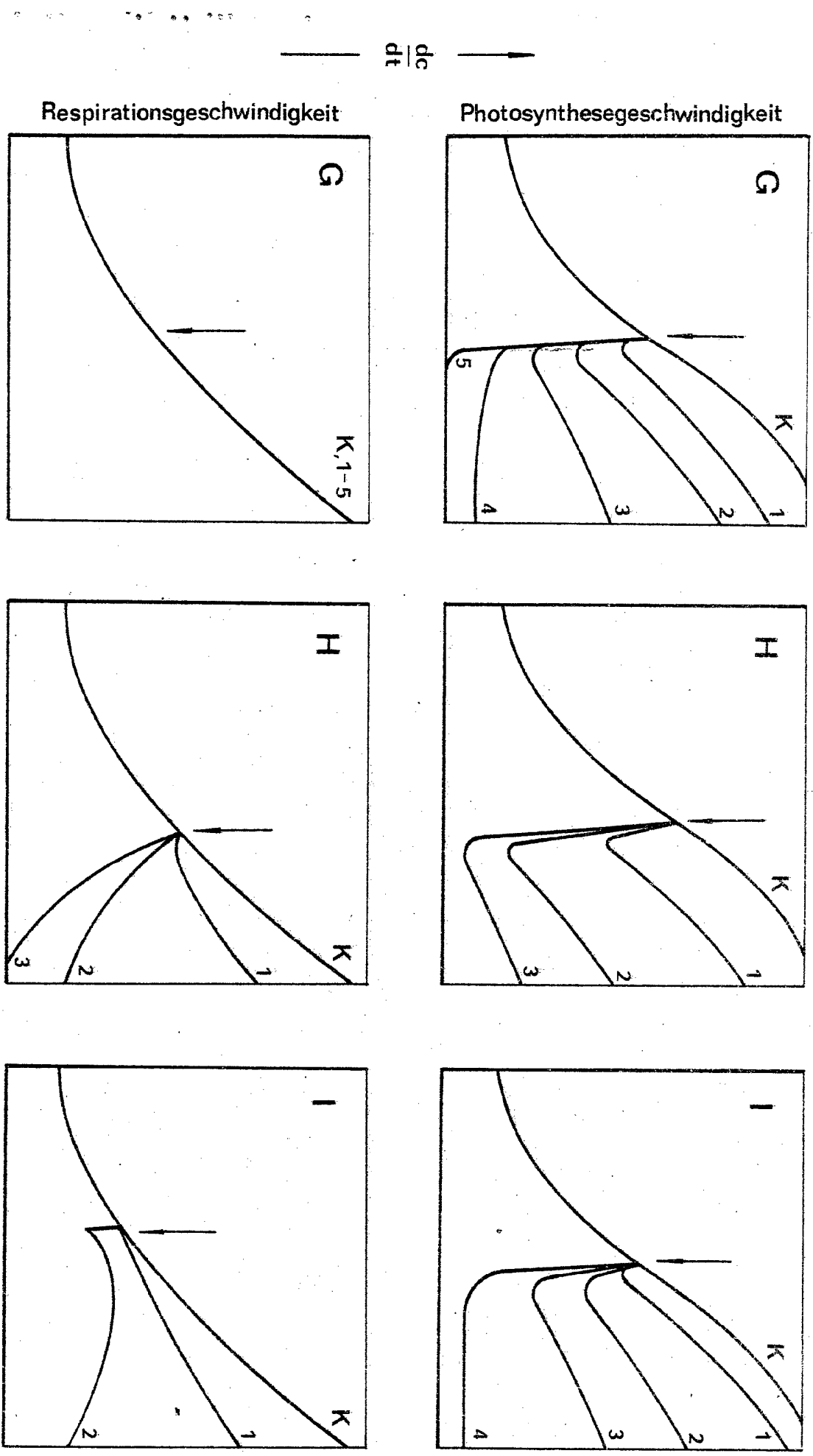


Fig. 2