

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

PATENTCHRIFT

(19) **DD** (11) **234 943 A1**

4(51) **G 01 N 33/483**

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP G 01 N / 273 504 6 (22) 25.02.85 (44) 16.04.86

(71) Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, Institut für Landschaftsforschung und Naturschutz,
4020 Halle, Neuwerk 4, DD

(72) Schulz, Horst, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Meister, Armin, Dr. rer. nat. Dipl.-Phys., DD

(54) **Verfahren zur Früherkennung von Immissionswirkungen mittels derivativspektroskopischer Analyse**

(57) Vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Früherkennung von Immissionswirkungen mittels Analyse von Chlorophyll-Protein-Komplexen. Die Erfindung verfolgt das Ziel, ein Verfahren vorzuschlagen, das durch die Bestimmung des Verhältnisses der 4. Ableitungen der Extinktionen von zwei Chlorophyll-A-Protein-Maxima mittels derivativspektroskopischer Analyse an homogenisierten Zellsuspensionen, insbesondere von Koniferen, den Nachweis von Immissionswirkungen im Bereich unsichtbarer Schadsymptome gestattet. Das Untersuchungsverfahren ist aufgrund der Veränderung des Verhältnisses der 4. Ableitung der Extinktionen durch die Immissionswirkung geeignet, Pflanzen oder Pflanzengesellschaften nach ihrem äußerlich unsichtbaren Schädigungsgrad zu differenzieren und auszuweisen.

ISSN 0433-6461

3 Seiten

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

PATENTCHRIFT

(19) **DD** (11) **234 943 A1**

4(51) G 01 N 33/483

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP G 01 N / 273 504 6	(22)	25.02.85	(44)	16.04.86
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR, Institut für Landschaftsforschung und Naturschutz, 4020 Halle, Neuwerk 4, DD
(72)	Schulz, Horst, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Meister, Armin, Dr. rer. nat. Dipl.-Phys., DD

(54)	Verfahren zur Früherkennung von Immissionswirkungen mittels derivativspektroskopischer Analyse
------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------

(57) Vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Früherkennung von Immissionswirkungen mittels Analyse von Chlorophyll-Protein-Komplexen. Die Erfindung verfolgt das Ziel, ein Verfahren vorzuschlagen, das durch die Bestimmung des Verhältnisses der 4. Ableitungen der Extinktionen von zwei Chlorophyll-A-Protein-Maxima mittels derivativspektroskopischer Analyse an homogenisierten Zellsuspensionen, insbesondere von Koniferen, den Nachweis von Immissionswirkungen im Bereich unsichtbarer Schadsymptome gestattet. Das Untersuchungsverfahren ist aufgrund der Veränderung des Verhältnisses der 4. Ableitung der Extinktionen durch die Immissionswirkung geeignet, Pflanzen oder Pflanzengesellschaften nach ihrem äußerlich unsichtbaren Schädigungsgrad zu differenzieren und auszuweisen.

ISSN 0433-6461

3 Seiten

Zur PS Nr. ...*234 943*.....

ist eine Zeitschrift erschienen.

(Teilweise bestätigt gem. § 18 Abs.1 d.Änd.Ges.z.Pat.Ges.)

Erfindungsanspruch:

1. Verfahren zur Früherkennung von Immissionswirkungen mittels derivativspektroskopischer Analyse von Chlorophyll-Protein-Komplexen, dadurch gekennzeichnet, daß man in homogenisierten Zellsuspensionen höherer Pflanzen die Extinktion des langwelligen und des kurzwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums bestimmt und die Immissionswirkung bzw. Immissionsbelastung über die Veränderung des Verhältnisses der 4. Ableitungen der Extinktionen dieser Maxima nachweist.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß es zur Früherkennung von SO₂-Immissionswirkungen an Pflanzen eingesetzt wird.
3. Verfahren nach Punkt 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß als Pflanzen Koniferen eingesetzt werden.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Umweltüberwachung, forstliche Resistenzforschung, Pflanzenschutzmittelforschung

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Der Nachweis von Immissionswirkungen, insbesondere SO₂, bzw. die Indikation der biologischen Aktivität von Immissionen wurde bisher mittels Nekrosenbonitur (SCHUBERT, Hercynia, N. F. Leipzig 14, 399-412, 1977), Bestimmung des Chlorophyllgehaltes (JOCOVA-BAURENSKA et al., Gorsko stopanstvo, Sofija 37, 39-41, 1981) und enzymatischen Verfahren (DD WP G 01 N 33/48 147 878 sowie DD WP G 01 N 33/48 2 608 365) geführt.

Die Verfahren mittels Nekrosenbonitur und Chlorophyllbestimmung sind aufgrund ihrer ungenügenden Empfindlichkeit (Nachweis der Immissionswirkung erst bei hohen Effortorkonzentrationen) nur im Bereich sichtbarer Schadsymptome anwendbar und somit zur Früherkennung von Immissionswirkungen nicht geeignet.

Die zuletzt genannten biochemischen Verfahren erfüllen zwar die Anforderungen zur Früherkennung von Immissionswirkungen (Nachweis der Immissionen bei geringen Konzentrationen im Bereich unsichtbarer Schadsymptome), sind aber durch einen hohen analytischen Aufwand nur bedingt als Routineverfahren einsetzbar. Verfahren zur Früherkennung von Photosynthesebeeinträchtigung in Koniferen durch Chlorophyllfluoreszenz (SCHULZE et al., Forstarchiv Hannover, 54, 229-232, 1983 sowie DD WP G 01 N 33/52 2 496 432) sind auch zur Früherkennung von Immissionswirkungen anwendbar. Dieses Verfahren beruht auf dem Messen von Fluoreszenzveränderungen, die jedoch erst nach Auftreten einer Photosynthesehemmung nachweisbar sind.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung verfolgt das Ziel, ein Verfahren vorzuschlagen, das den Nachweis von Immissionswirkungen auf höhere Pflanzen bereits vor dem Auftreten einer deutlichen Photosynthesehemmung ermöglicht.

Das Verfahren soll einen geringen ökonomischen Aufwand und keine spezielle Gerätetechnik erfordern und als Routinemethode einsetzbar sein.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, mittels Derivativspektroskopie auf Grundlage von Vergleichen Immissionseinflüsse an höheren Pflanzen mit geringer bis hoher Belastung, insbesondere SO₂, durch Absorptionsveränderungen von Chlorophyll-Protein-Komplexen nachzuweisen.

Beim Verfahren zur Früherkennung von Immissionswirkungen mittels derivativspektroskopischer Analyse wird erfindungsgemäß in homogenisierten Zellsuspensionen die Absorption des langwelligen und des kurzwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums bestimmt und die Immissionswirkung bzw. Immissionsbelastung über die Veränderung des Verhältnisses der 4. Ableitungen der Extinktionen dieser Maxima nachgewiesen.

Höhere Immissionswirkungen bzw. Immissionsbelastungen, vorzugsweise von Schwefeldioxyd, sind überraschenderweise durch ein zunehmendes Verhältnis, gebildet aus der 4. Ableitung der Extinktion des langwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums (a_2) zur 4. Ableitung der Absorption des kurzwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums (a_1) gekennzeichnet. Diese Zunahme des Extinktionsverhältnisses bereits vor einer Photosynthesehemmung ermöglicht die Früherkennung von Immissionswirkungen bzw. Immissionsbelastungen.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist beispielsweise für Koniferen geeignet. Vorzugsweise werden die im Untersuchungs-jahr ausgebildeten terminalen Triebe 1. Ordnung einzelner Bäume entnommen und von den Nadeln nach an sich bekannten Methoden mit 0,05 M Tris-Puffer (sk3pH 9.0) ein lichtdurchlässiges Homogenat hergestellt. Die Bestimmung des Verhältnisses der Extinktionen der beiden Chlorophyll-A-Protein-Maxima erfolgt durch anschließende Derivativspektroskopie unter Bildung der 4. Ableitung des Absorptionsspektrums mittels kommerzieller Spektralphotometer im Spektralbereich von 550-770 nm.

Der ökonomische Aufwand für das erfindungsgemäße Verfahren ist wegen nur geringen Chemikalienverbrauchs nicht hoch. Die Gerätetechnik ist kommerziell verfügbar. Durch die Einfachheit der spektralphotometrischen Bestimmung ist das Verfahren als Routinemethode einsetzbar.

Die Erfindung wird nachstehend durch Ausführungsbeispiele erläutert.

Ausführungsbeispiele

Die Bestimmung des Verhältnisses der 4. Ableitungen der Extinktionen (a_2/a_1) wurde nach den beschriebenen Arbeitsschritten an zufällig ausgewählten Kiefernpfropflingen bzw. Freilandbäumen in verschiedenen Testgebieten mit unterschiedlicher SO₂-Immissionsbelastung durchgeführt.

Beispiel 1

Verhältnis der 4. Ableitung der Extinktion des langwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums (a_2) zur 4. Ableitung der Extinktion des kurzwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums (a_1) in Nadeln von Kiefernpfropflingen, deren Immissionsbelastung im Rauchsadprüffeld im Vergleich zu nicht SO₂-begasteten Kiefernpfropflingen getestet wurde.

Kiefernpfropflinge nicht SO ₂ -begast	0,32
	0,11
	0,65
	0,54
	0,47

Kiefernpropflinge SO ₂ -begast	2,70
	3,38
	4,17
	5,84
	6,68
	8,45

Die zweiseitige Anwendung des X-Testes nach VAN DER WAERDEN ergibt bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % hohe Signifikanz.

Beispiel 2

Verhältnis der 4. Ableitung der Extinktion des langwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums (a_2) zur 4. Ableitung der Extinktion des kurzwelligen Chlorophyll-A-Protein-Maximums (a_1) in Nadeln von Kiefern aus Gebieten mit geringer und höherer SO₂-Belastung.

		a_2/a_1^*
Festgebiet mit zunehmender	1	1,38 ± 0,33
Belastung	2	3,57 ± 0,34
Die Belastung wurde über den	3	4,34 ± 0,64
Schwefelgehalt in den Nadel-	4	4,95 ± 0,74
proben ermittelt.)	5	5,26 ± 0,42
	6	5,79 ± 0,40

* Der Quotient (a_2/a_1) ist als Mittelwert angegeben. Er errechnet sich aus Meßwerten von Mischproben (Nadelmaterial von 25 Einzelbäumen), die aus jeweils 5 Testflächen pro Testgebiet entnommen wurden.