



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **217 636 A1**3(51) G 01 N 33/48
G 01 N 24/00**AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN**

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP G 01 N / 250 801 1	(22)	11.05.83	(44)	16.01.85
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71)	Akademie der Wissenschaften der DDR, 1199 Berlin, Rudower Chaussee 5, DD
(72)	Schönborn, Hans-Jürgen, Dr. rer. nat. Dipl.-Biochem.; Hanke, Thomas, Dipl.-Chem.; Ebert, Bernd, Dr. rer. nat.; Kohlstock, Norbert, Dr. rer. nat.; Ewald, Dietrich, Dr. rer. nat.; Matschke, Jürgen, Dr. rer. nat., DD

(54) Bestimmungsverfahren für Immissionsschäden und Immissionsresistenz bei Pflanzen

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Bestimmung für Immissionsschäden und Immissionsresistenz bei Pflanzen. Erfindungsgemäß werden Pflanzenteile, vorzugsweise Assimilationsorgane, Wurzelgewebe oder Samen in ein ggf. gepuffertes wäßriges Medium eingebracht und 5 bis 30 Minuten gewässert. Anschließend wird der Mangan(II)gehalt im Medium und/oder in den Pflanzenteilen bestimmt und der erhaltene Wert mit dem im analogen Verfahren erhaltenen Wert für Kontrollmaterial verglichen. Die Mangan(II)konzentration wird quantitativ ESR-spektroskopisch bestimmt.

Dr. H.-J. Schönborn
Th. Hanke
Dr. B. Ebert
Dr. N. Kohlstock
Dr. D. Ewald
Dr. J. Matschke

"Bestimmungsverfahren für Immissionsschäden und Immissionsresistenz bei Pflanzen"

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Diagnostizierung, insbesondere zur quantitativen Bestimmung von Immissionsschäden an Pflanzen und zur Ermittlung von deren Immissionsresistenz. Es erlaubt die Bestimmung des Schädigungszustandes im Sinne eines Biomonitoring sowie die Selektion immissionsresistenter und sensitiver Individuen. Anwendungsgebiete dieses Verfahrens sind die Ermittlung von Immissionsschadstufen bzw. -schäden an Pflanzen in Land- und Forstwirtschaft bzw. im Rahmen von Umweltschutzuntersuchungen sowie die Selektion immissionsresistenter Pflanzen.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Komplexe Immissionsschäden werden hauptsächlich durch SO_2 hervorgerufen, wobei die primäre Schädigung auf eine durch SO_2 induzierte Radikalbildung und nachfolgende Radikalreaktionen zurückzuführen ist. Dadurch werden vorzeitige Alterung und Schädigung von Membranen hervorgerufen, was zu weiteren Sekundärschäden führt. Der Nachweis von Immissionsschäden wird bis jetzt mittels akkumulativer (Schadstoffanreicherung, z. B. Schwefel in Pflanzenmaterial) oder reaktiver (Veränderung von bestimmten pflanzenspezifischen Parametern, wie Pufferkapazität, pH, Enzymaktivitäten, Gasstoffwechsel ...) Indikationsverfahren und nach visueller Merkmalerfassung (z. B. Nekrosenbonituren, Wachstumsdepressionen) geführt

(Dässler, H. G.: "Einfluß von Luftverunreinigungen auf die Vegetation", Jena 1976). Diese Nachweismethoden sind unspezifisch bzgl. der primären Wirkung des Schadstoffes. Werden Pflanzen unter Standardbedingungen dem Schadstoff SO_2 exponiert, so lassen sich aus der Stärke der Schädigung Rückschlüsse auf die SO_2 -Resistenz der untersuchten Pflanzen ziehen. Bei den bisherigen Indikationsverfahren sind Bezüge zwischen Immissionsstadium und SO_2 -Resistenz nur z. T. erkennbar. Diese Verfahren erfassen die Resistenzfaktoren nur getrennt (entweder Toleranz- oder Avoidanzfaktoren).

(Levitt, J.: "Responses of Plants to Environmental Stresses," New York 1972, "Verfahren zur Ermittlung der SO_2 -Resistenz, insbesondere für Koniferen" DDR-WP 147 878, "Verfahren zum Screening auf die SO_2 -Resistenz" DDR-WP G 01 N/245 233/3).

Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, die Verfahren zur Ermittlung von Immissionsstadien und -schädigungen sowie die Verfahren zur Ermittlung der Immissionsresistenz von Pflanzen unter Ausschluß der dargelegten Mängel weiterzuentwickeln. Dadurch soll ein wesentlicher Beitrag zum Aufbau standardisierter Tests für das Biomonitoring von Umweltschäden und zur Selektion immissionsresistenter Pflanzen geleistet werden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Erfindungsgemäß wird das zu untersuchende Pflanzenmaterial, das Assimilationsorgane, Wurzelgewebe oder Samen sein können, in ein ggf. gepuffertes wäßriges Medium eingebracht und 5 bis 30 Minuten gewässert, wobei bei vorzeitiger Alterung und Schädigung der Membranen nach Schadstoffimmission eine Veränderung des Mangan(II)austrittes gegenüber dem des Kontrollmaterials auftritt. Die Stärke der Schädigung korreliert mit einer signifikanten Veränderung des Mangan(II)austrittes. Die

Mangan(II)konzentration wird wahlweise im Pflanzenmaterial oder im entsprechenden Medium gemessen. Die Veränderung des Mangan(II)austrittes ist ein direkter Ausdruck der primären Schadstoffwirkung, die dadurch meßbar wird. Zur quantitativen Bestimmung wird die ESR-Spektroskopie genutzt, die eine leicht durchführbare und standardisierbare Bestimmung gewährleistet. Kontroll- und Pflanzenmaterial sowie Medium brauchen dafür nach der Wässerung nicht weiter aufgearbeitet zu werden und können sofort vermessen werden, so daß keine Verfälschung der Meßergebnisse durch Probenbehandlung bzw. -alterung zu erwarten ist.

Das Verfahren wird wie folgt durchgeführt: Das Kontrollmaterial und das zu untersuchende Pflanzenmaterial, die ggf. vergleichbar zerkleinert wurden, werden jeweils in wäßriges, ggf. gepuffertes Medium eingebracht und gewässert. Nach Schütteln von 5 bis 30 Minuten werden Kontroll- und zu untersuchendes Pflanzenmaterial vom Medium getrennt und in Aliquoten des Mediums die jeweilige Mangan(II)konzentration quantitativ ESR-spektroskopisch bestimmt. Diese Bestimmungen werden ggf. auch mit dem gewässerten Kontroll- und zu untersuchenden Pflanzenmaterial selbst durchgeführt. Der Mangan(II)austritt wird aus dem zu untersuchenden Pflanzenmaterial zu dem aus dem Kontrollmaterial ins Verhältnis gesetzt, und das so erhaltene Meßergebnis wird wahlweise auf Oberfläche, Frisch- oder Trockengewicht des untersuchten Pflanzenmaterials bezogen. Dieses Verfahren läßt sich vorteilhaft anwenden zur Bestimmung der Immissionsresistenz von Pflanzen.

Werden Immissionsschäden an Pflanzen unter Standardbedingungen künstlich herbeigeführt und anschließend quantitativ bestimmt, können gleichfalls Rückschlüsse auf die Resistenz der entsprechenden Pflanzen gezogen werden. Resistente Pflanzen weisen gegenüber sensitiven einen signifikant geringeren Mangan(II)austritt auf, jeweils bezogen auf entsprechendes Kontrollmaterial. Mit dem dargelegten Verfahren sind die Schädli-

gungen nach SO_2 -Aufnahme sowohl über die Stomata (bei SO_2 -Exponierung) als auch unter Umgehung stomatärer Aufnahme (bei Inkubation in $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, SO_3^{2-} oder HSO_3^- haltigen Lösungen) nachweisbar. Damit wird eine Differenzierung zwischen Toleranz- und Avoidanzfaktoren möglich.

Die Vorteile des dargelegten Verfahrens liegen erstens in der Möglichkeit, die primären Wirkungen nach Schadstoffimmission zu erfassen, zweitens in der Differenzierung zwischen Avoidanz- und Toleranzfaktoren bei der Resistenzbestimmung und drittens in der Möglichkeit, Membranschädigungen zu erfassen, die durch komplexe Schadstoffwirkung (z. B. SO_2 in Verbindung mit NO_x , Ozon, Frost) hervorgerufen werden. Ein weiterer Vorteil ist die Schnelligkeit und Unkompliziertheit der Mangan(II)bestimmung mittels ESR-Spektroskopie. Dadurch ist z. B. die Untersuchung einer großen Anzahl von Proben aus verschiedenen Gebieten z. B. in einem methodisch-diagnostischen Zentrum ohne großen Zeitaufwand möglich.

Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Immissionsschäden und Immissionsresistenz bei Pflanzen, insbesondere bei Koniferen, dadurch gekennzeichnet, daß Pflanzenteile in ein ggf. gepuffertes, wäßriges Medium eingebracht und 5 bis 30 Minuten gewässert werden und anschließend eine Bestimmung des Mangan(II)gehaltes im Medium und/oder in den Pflanzenteilen sowie ein Vergleich des erhaltenen Wertes mit dem im analogen Verfahren erhaltenen Wert für Kontrollmaterial durchgeführt wird.
2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Pflanzenteile Assimilationsorgane, Wurzelgewebe oder Samen eingesetzt werden.
3. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mangan(II)konzentration quantitativ ESR-spektroskopisch bestimmt wird.