AUSLEIHEXEMPLAR

UFZ-Umweltforschungszentrum
Leipzig-Halle GmbH
Zentralbibliothek
Permoserstrasse 15
04318 Leipzig

UFZ-Bericht

tforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

Nr. 14/1996

Ökotoxikologische Wirkungen atmogener anorganischer Schadstoffe auf Kiefernforste

Horst Schulz (Projektleitung)
Gernot Huhn
Sigrid Härtling

UFZ-Umweltforschungszentrum
Leipzig-Halle GmbH
Sektion Chemische Ökotoxikologie

ISSN 0948-9452

Ökotoxikologische Wirkungen atmogener anorganischer Schadstoffe auf Kiefernforste

Autoren:
Dr. habil. Horst Schulz (Projektleitung)
Dr. Gernot Huhn
Sigrid Härtling

Sektion Chemische Ökotoxikologie
Sektionsleiter Prof. Dr. Gerrit Schüürmann
UFZ-Umweltforschungszentrum
Leipzig-Halle GmbH
Permoserstraße 15
D-04318 Leipzig

Archiv

Inhaltsverzeichnis

Seite

1. Zielsetzung 1

2. Durchgeführte Arbeiten 2
2.1. Material 2
2.1.1. Untersuchungsgebiete 2
2.1.2. Kiefernbestände 3
2.1.3. Klima- und Immissionssituation 3
2.1.4. Bodenchemische Charakterisierung 9
2.2. Testflächen 10
2.2.1. Probenahme 10
2.3. Methoden 11

3. Ergebnisse 14
3.1. Akkumulation und Metabolisierung 14
3.2. Antioxidative Abwehrreaktionen 25
3.3. Schädigung 28

4. Schlußfolgerungen 31

5. Berichte und Publikationen 32
5.1. Berichte 32
5.2. Publikationenn 32

6. Literatur 33

7. Anhang 39

1. Zielsetzung

Die Kiefernökosysteme im nordostdeutschen Tiefland unterlagen seit Jahren einer äußerst differenzierten Belastung durch atmosphärische Stoffeinträge. Erst ab 1990 traten deutliche Veränderungen im Depositionsgeschehen ein, als Hauptemissionskomponenten der Braunkohlenverbrennung wie Schwefeldioxid (SO_2), Stickoxide (NO_x) und Flugaschen durch Stillegung und Modernisierung von Großkraftwerken drastisch reduziert wurden. Mit Auswirkungen auf die Vegetation war zu rechnen, da Wälder auf den Einfluß von Luftverunreinigungen sehr empfindlich reagieren. Wirkungsveränderungen sollten daher mit geeigneten Bioindikationsparametern nachzuweisen sein.

Ziel dieses Teilprojektes war es, im Gesamtprojekt von SANA das Regenerationsverhalten von Kiefernökosystemen bei einem sich zeitlich ändernden Stoffeintrag zu untersuchen. Dazu wurden von 1991-1995 biochemische Untersuchungen an Kiefern (*Pinus sylvestris*) in Jung- und Altbeständen ausgewählter Standorte (Neuglobsow, Taura, Rösa) entlang großräumiger Depositionsgradienten (Ballungsraum Leipzig-Halle-Bitterfeld bis nördl. Brandenburg) durchgeführt. Von besonderem Interesse war dabei die Analyse von Nadelinhaltsstoffen.

Koniferen nehmen auch bei ausreichender Nährstoffversorgung zusätzlich Schwefel und Stickstoff in gasförmiger oder gelöster Form über die Stomata auf. Die hierbei auftretenden Primärprodukte wie Sulfit, Sulfat, Nitrit und Nitrat werden schnell zu organischen niedermolekularen Verbindungen (Cystein, Glutathion, Glutamin) reduziert (RENNENBERG & POLLE 1994). Diese unregulierte Nährstoffaufnahme ist bei sehr geringen Konzentrationen von SO_2 und NO_x in der Atmosphäre unproblematisch und führt bei Kiefern zunächst zu einem gesteigerten Wachstum. Bei hohen atmogenen Konzentrationen von SO_2 und NO_x werden im Stoffwechsel allerdings kritische Zustände erreicht. Die Metabolisierung von Schwefel und Stickstoff erreicht Wirkungsschwellen, bei deren Überschreitung verstärkt anorganische S-Verbindungen und/oder Aminosäuren akkumuliert werden (SLOVIK et al. 1992, EDFAST et al. 1990). Derartige Anreicherungen von bestimmten Stoffwechselprodukten bzw. -metaboliten signalisieren Streßzustände, die auch induziert werden, wenn eine erhöhte Aufnahme von nur einem der beiden Elemente erfolgt (N-Überernährung) oder wenn ein Element ins Defizit gelangt (S-Mangel). Die Folge ist immer eine unausgewogene S/N-Ernährung, die letztlich zu einer verringerten Proteinsynthese führt (DIJKSHOORN & WIJK 1966).

Sulfit, Hydrogensulfit und Nitrit initialisieren andererseits radikalische Kettenreaktionen, in deren Verlauf hochreaktive Sauerstoffverbindungen wie Superoxid und Wasserstoffperoxid entstehen (ASADA & TAKAHASHI 1987). Die Sauerstoffspezies sind äußerst phytotoxisch. Zum Schutz vor diesen reaktiven Verbindungen besitzen Pflanzen antioxidative Entgiftungssysteme (FOYER et al. 1994). Dazu gehören z.B. die Enzyme Superoxiddismutase und Glutathionreduktase sowie niedermolekulare Verbindungen wie Glutathion und Ascorbat. Wird die Kapazität der Schutzsysteme überschritten, treten auf zellulärer Ebene zunächst reversible und später irreversible Schäden auf. Das zeigt sich z.B. in einem verstärkten Abbau von Chlorophyll-Proteinen, in verringerten Chlorophyllgehalten und letztlich in Form von Nadelnekrosen (SHAW et al. 1993).

Die Anreicherung von Sulfat, Glutathion, Glutamin und Arginin wurde sowohl in Freiland-

untersuchungen als auch in kontrollierten Begasungsexperimenten nachgewiesen (KAISER et al. 1993, DE KOK 1990, MADAMACHANI & ALSCHER 1991). Von verschiedenen Autoren wurden auch signifikante Dosis-Wirkungs-Beziehungen zwischen Antioxidantien und Schwefeldioxid gefunden (HUTTUNEN & HEISKA 1988, POLLE et al. 1994). Es war also davon auszugehen, daß einige der o.g. Bioindikationsparameter zum Nachweis von Wirkungen luftgetragener Fremdstoffe (SO_2, NO_x, NH_y, O_3) auf Kiefern geeignet sind. Zeitliche und gebietsbezogene Aktivitäts- bzw. Gehaltsveränderungen der Wirkungsparameter sollten Aussagen zur aktuellen Belastungssituation ermöglichen und letztlich zur Ableitung von Schwellenwerten für S- und N-Belastungen bei Kiefern unter Freilandbedingungen führen.

2. Durchgeführte Arbeiten

Im Einzelnen wurden folgende Indikationsparameter untersucht:

a. Gehalte von Gesamtschwefel, Sulfat-S, org. Schwefel, Gesamtstickstoff, Nicht-Protein-N und Protein-N sowie

b. Antioxidative Enzyme (Peroxidase und Superoxiddismutase) in Kiefernnadeln.

Die Parameter Ascorbat, Glutathion, Glutathionreduktase, Glutamin, Arginin, lösliches Protein, Gesamtchlorophyll, Nadelnekrosität und die Gesamtbenadelung wurden zusätzlich in die Untersuchungen einbezogen . Zur Charakterisierung des Ernährungszustandes wurden außerdem die Nadelgehalte von Magnesium, Mangan, Kalium, Calcium und Zink bestimmt.

Die Humusauflagen in Kiefernalt- und Kiefernjungbeständen wurden 1993 und 1995 auf ihren pH-Wert sowie auf den S- und N-Versorgungszustand untersucht. Zur Bestimmung der Einträge von SO_4^{2-}-S, NO_3^--N und NH_4^+-N wurde die Borkenanalyse angewendet und weiterentwickelt.

2.1 Material

2.1.1 Untersuchungsgebiete

Die Untersuchungen wurden in den Jahren von 1991 bis 1995 an folgenden Standorten durchgeführt:

a. Neuglobsow

Das Untersuchungsgebiet (Abb.1) befindet sich ca. 3 km südlich des Stechlinsees im Land Brandenburg, Oberhavelkreis Oranienburg, Forstamt Fürstenberg.

Testfläche 1 gehört zum Forstrevier Roofen, Testfläche 2 und 3 zum Forstrevier Neuglobsow und die Testflächen 3 und 5 zum Forstrevier Sellenweide.

b. Taura

Das Untersuchungsgebiet (Abb.2) befindet sich in der Dahlener Heide, etwa 40 km nordöstlich von Leipzig im Freistaat Sachsen, Landkreis Torgau-Oschatz, Forstamt Taura.
Alle Testflächen gehören zum Forstrevier Taura.

c. Rösa

Das Untersuchungsgebiet (Abb.3) befindet sich ca. 10 km östlich von Bitterfeld am Westrand der Dübener Heide im Land Sachsen-Anhalt, Landkreis Bitterfeld, Forstamt Bitterfeld.
Alle Testflächen gehören zum Forstrevier Rösa.

2.1.2 Kiefernbestände

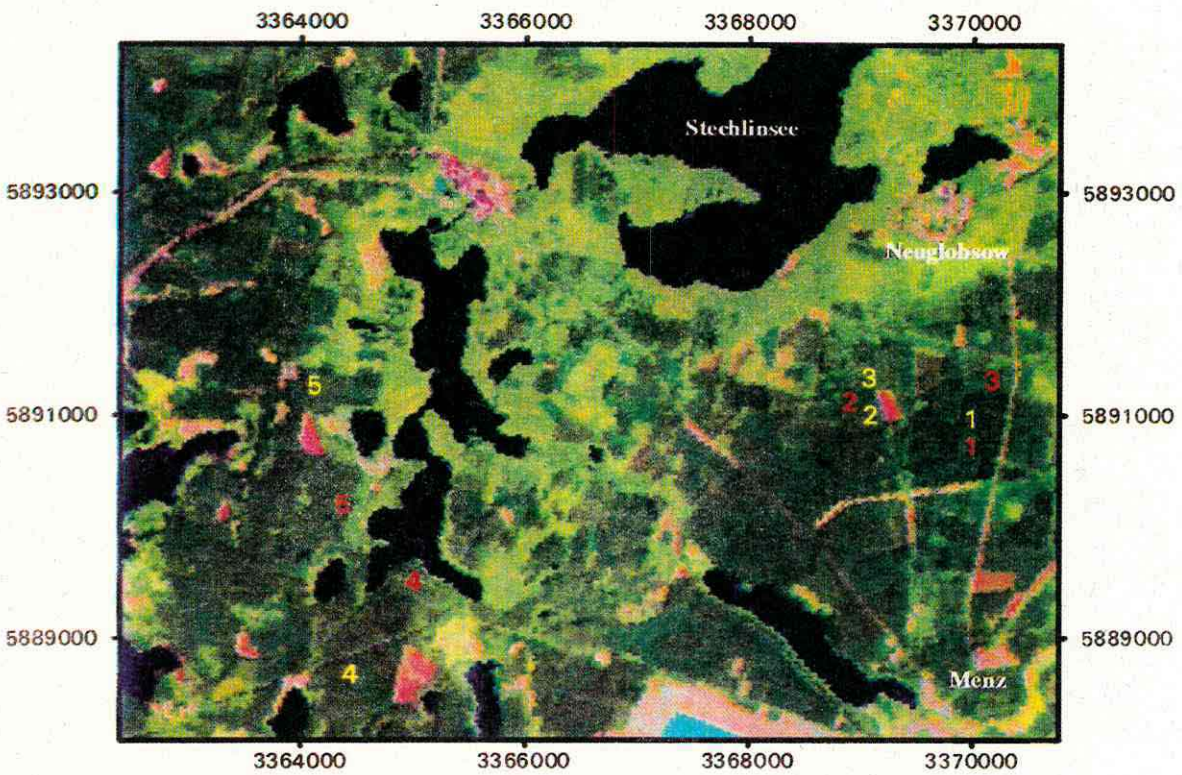
Das Alter der Kiefernbestände variiert zwischen 41 (Taura), 60 (Neuglobsow) und 64 (Rösa) Jahren. Die Bestände stocken auf Braunerden mit unterschiedlichem Podsolierungsgrad: Schwach podsolige Braunerden in Neuglobsow mit feinhumusarmen Moder, Podsol-Braunerden in Taura und Braunerde-Podsole in Rösa jeweils mit Humusauflagen von rohhumusartigem Moder. Die 20-25 jährigen Jungbestände befinden sich in unmittelbarer Nähe der Altbestände. Ihre Humusauflagen sind nur gering ausgeprägt.

An allen drei Standorten zeigen sich deutliche Unterschiede in der Vegetation. Auf die unterschiedliche Vegetationsstruktur hatte die Depositionsbelastung einen entscheidenden Einfluß. Am gering belasteten Standort Neuglobsow findet man noch vorwiegend den typischen Drahtschmielen-Heidelbeer-Kiefernforst vor. In den beiden stärker belasteten Testgebieten Taura und Rösa dominieren kalkliebende Arten. In Rösa konnten sich durch hohe N-Einträge, Harnstoffdüngung und basische Flugstäube besonders Landreitgras (*Calamagrostis epigejos*) und Brombeere (*Rubus plicatus*) ausbreiten.

2.1.3 Klima- und Immissionssituation

Detaillierte Kenntnisse über die Immissionsbelastung (SO_2, NO, NO_2, O_3) der Standorte existieren nur von den in räumlicher Nähe der Forststandorte liegenden Luftmeßstationen Neuglobsow, Melpitz (Umweltbundesamt) und Pouch (Landesamt für Umweltschutz Sachsen-Anhalt). Mit Hilfe der Borkenanalyse konnten zusätzliche Informationen über die Depositionsbelastung der Standorte bzw. der einzelnen Testflächen erhalten werden. Langjährige klimatische Daten wie Lufttemperatur und Niederschlagsmenge standen von Stationen (Gossa, Neuglobsow) des Deutschen Wetterdienstes sowie kurzfristig von Feldstationen, die jeweils in Altbeständen an allen drei Standorten installiert waren, zur Verfügung. In Tab.1 und Tab.2 werden die Jahressummen der Niederschlagsmengen und die Jahresmittel der Lufttemperaturen an allen drei Standorten im Zeitraum von 1988-1995 wiedergegeben. Bezogen auf das langjährige Mittel liegen die Niederschlagsmengen in Neuglobsow geringfügig über denen von Rösa. Ausgesprochene trockene Jahre (geringer 400 mm) kamen im Untersuchungszeitraum in allen Testgebieten nicht vor. Für das Jahr 1991 und 1994 bestehen allerdings Abweichungen vom langjährigen

Satellitenbildkarte Untersuchungsgebiet Neuglobsow



Maßstab 1 : 55 000

2 0 2 Kilometer

Dr. Ellen Banzhaf

UFZ Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

Landsat-5-TM Satellitenbildszene vom 21.7.1994
Spektrale Information und Farbzuweisung:

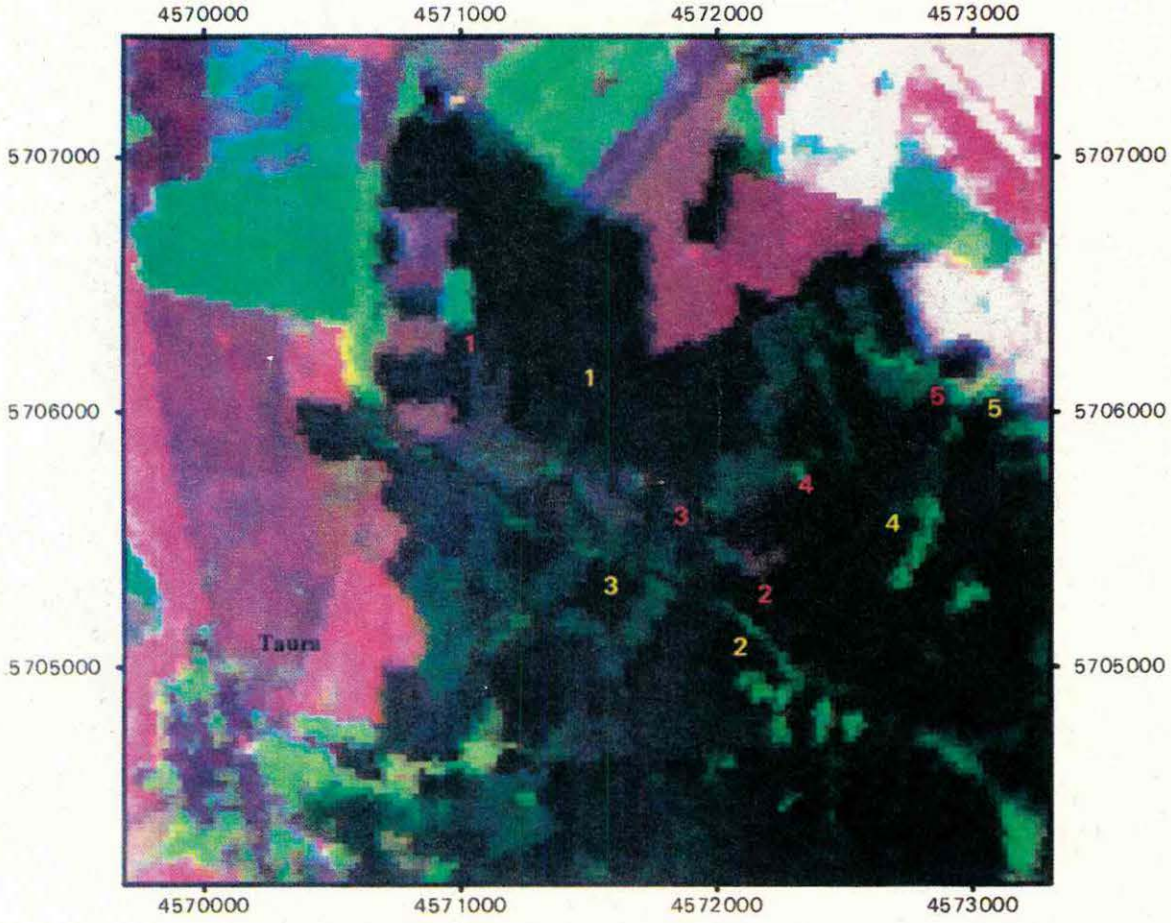
Kanal 5 (mittleres Infrarot)	rot
Kanal 4 (nahes Infrarot)	grün
Kanal 2 (gelbgrüner Bereich des sichtbaren Lichts)	blau

Diese Kombination gibt Vegetation in Grüntönen, andere Oberflächenklassen in "Falschfarben" wieder.

Kennzeichnung der Testflächen:

Altbestände	rote Ziffern
Jungbestände	gelbe Ziffern

Satellitenbildkarte Untersuchungsgebiet Taura



Maßstab 1 : 24 000

1 0 1 Kilometer

Dr. Ellen Banzhaf
UFZ Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

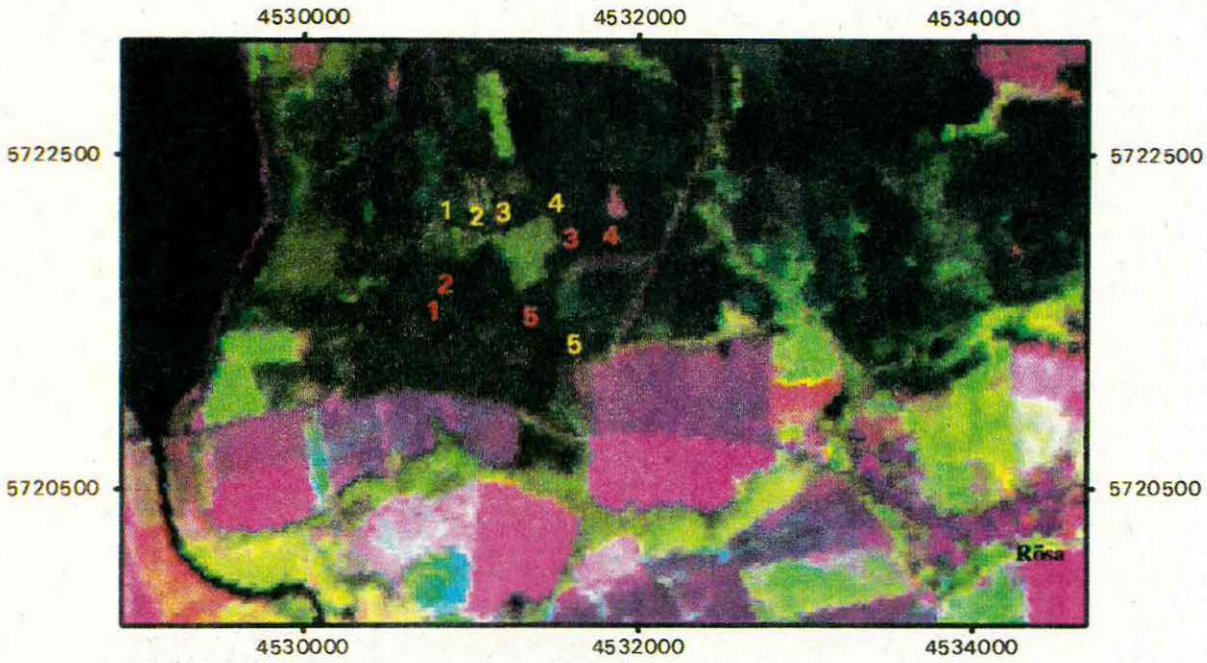
Landsat-5-TM Satellitenbildszene vom 21.7.1994
Spektrale Information und Farbzuweisung:

Kanal 5 (mittleres Infrarot)	rot
Kanal 4 (nahes Infrarot)	grün
Kanal 2 (gelbgrüner Bereich des sichtbaren Lichts)	blau

Diese Kombination gibt Vegetation in Grüntönen, andere Oberflächenklassen in "Falschfarben" wieder.
Kennzeichnung der Testflächen:

Altbestände	rote Ziffern
Jungbestände	gelbe Ziffern

Satellitenbildkarte Untersuchungsgebiet Rösa



Maßstab 1 : 37 000

1 0 1 Kilometer

Dr. Ellen Banzhaf

UFZ Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

Landsat-5-TM Satellitenbildszene vom 21.7.1994
Spektrale Information und Farbzuweisung:

Kanal 5 (mittleres Infrarot)	rot
Kanal 4 (nahes Infrarot)	grün
Kanal 2 (gelbgrüner Bereich des sichtbaren Lichts)	blau

Diese Kombination gibt Vegetation in Grüntönen, andere Oberflächenklassen in "Falschfarben" wieder.
Kennzeichnung der Testflächen:

Altbestände	rote Ziffern
Jungbestände	gelbe Ziffern

Mittel der Niederschläge. Das Jahr 1991 war relativ trocken, während 1994 mit 124% in Neuglobsow und mit 144% in Rösa deutlich höhere Niederschlagssummen zu verzeichnen waren.

Tab.1 Jahressummen der Niederschlagshöhe (mm) von Neuglobsow, Taura und Rösa.

	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	Mittel
Neuglobsow	566	427	611	487	597	670	731	531	585
Taura	-	-	-	-	-	-	718	-	-
Rösa	539	466	515	442	653	602	818	631	570

Mittel - langjähriges Mittel von 1983-1995

Tab.2 Jahresmittel der Lufttemperaturen (°C) von Neuglobsow, Taura und Rösa.

	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	Mittel
Neuglobsow	8,9	9,5	9,4	8,2	9,2	8,0	9,0	8,5	8,4
Taura	-	-	-	-	-	-	8,9	-	-
Rösa	9,3	10,1	10,0	8,9	10,1	9,0	10,2	9,4	9,1

Mittel - langjähriges Mittel von 1983-1995

Die Jahresmittel der Lufttemperaturen zeigen keine signifikanten gebietsbezogenen Unterschiede. In Neuglobsow liegen die Lufttemperaturen etwa um 1°C niedriger als in Rösa.

Die Entwicklung der Immissionssituation an den drei Forschungsstandorten wird in Tab.3 zusammenfassend dargestellt. Gebietsbezogene Unterschiede bestehen für SO_2 und NO_x. Deutlichen Verringerungen unterliegen an allen Standorten die SO_2-Immissionen, während die NO_x- und Ozon-Immissionen nahezu unverändert bleiben. Die Ergebnisse der Depositionsmessungen

Tab.3 Zeitlicher Verlauf der Immissionen von SO_2, NO_x und O_3 (Jahresmittelwerte in $\mu g*m^{-3}$)

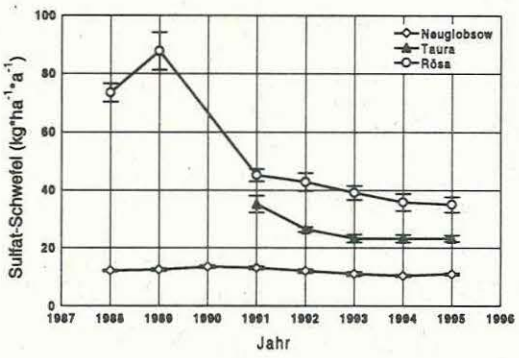
Testgebiet	SO_2						NO_x						O_3					
	88	91	92	93	94	95	88	91	92	93	94	95	88	91	92	93	94	95
Neuglobsow*	11	-	9	11	7	7	-	-	12	10	19	10	44	-	53	52	56	51
Taura*	-	-	-	37	23	19	-	-	-	-	14	15	-	-	-	40	50	50
Rösa**	143	106	72	61	32	25	-	13	16	21	22	21	-	61	66	69	64	51

* Meßstationen Neuglobsow bzw. Melpitz vom Umweltbundesamt (Entfernung ca. 5 km), ** Meßstation Pouch des Landesamtes für Umweltschutz Sachsen-Anhalt (Entfernung ca. 3 km)

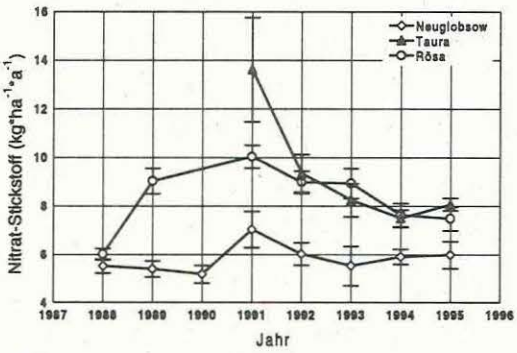
mit Hilfe der Borkenanalyse (Abb.4a-c) bestätigen die Immissionsveränderungen. Besonders auffällig sind die drastischen Verringerungen der Einträge von Sulfat-S und Ammonium-N. Im Gegensatz dazu nehmen die Depositionen von Nitrat-N in Rösa und Neuglobsow geringer ab.

Abb.4 Zeitliche Veränderung der mittleren Einträge (± Standardfehler) von Sulfat-S(a), Nitrat-N (b) und Ammonium-N (c) in Kiefernaltbeständen auf der Grundlage von Borkenanalysen.

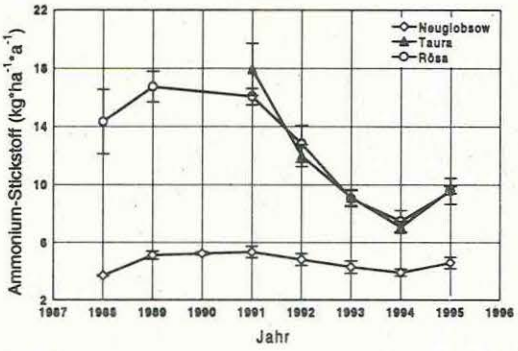
a.



b.



c.



Im Jahr 1995 liegen die Depositionsraten von NO_3-Stickstoff an allen drei Standorten noch deutlich über den Werten von 1988. In den Sommermonaten werden seit 1992 erhöhte Ozonkonzentrationen in Melpitz gemessen (SPINDLER et al. 1995). Diese an allen drei Forschungsstandorten zu beobachtenden Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Luft führt wahrscheinlich auch zur Ausbildung eines neuen Depositionstyps. Es dominieren jetzt Einträge

von Stickstoff und H^+-Ionen, die langfristig zu einer Rückversauerung der Humusauflagen am Standort Rösa führen könnten.

Tab.4 Gehalte von ausgewählten Schwefel- und Stickstofffraktionen sowie pH-Werte (Mittelwerte ± Standardfehler) in der Humusauflage (O_f/O_h-Horizont) von Kiefernaltbeständen. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei $P<0,05$) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1993.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		S (mg*g^{-1} TG)	
1993	1,83 ± 0,19 a; A	2,91 ± 0,22 b; A	3,94 ± 0,18 c; A
1995	1,90 ± 0,10 a; A	2,66 ± 0,22 b; A	3,13 ± 0,27 b; A
		SO_4-S (mg*g^{-1} TG)	
1993	0,026 ± 0,002 a; A	0,092 ± 0,009 b; A	0,148 ± 0,036 b; A
1995	0,023 ± 0,002 a; A	0,046 ± 0,005 b; B	0,066 ± 0,007 b; A
		N (mg*g^{-1} TG)	
1993	10,7 ± 1,2 a; A	13,8 ± 0,7 a,b; A	14,6 ± 0,4 b; A
1995	11,8 ± 0,5 a; A	12,8 ± 0,7 a; A	11,3 ± 1,1 a; A
		NO_3-N (mg*g^{-1} TG)	
1993	nicht nachweisbar	0,016 ± 0,006 a; A	0,041 ± 0,010 a; A
1995	nicht nachweisbar	0,036 ± 0,008 a; A	0,020 ± 0,003 a; B
		NH_4-N (mg*g^{-1} TG)	
1993	0,88 ± 0,09 a; A	1,41 ± 0,14 b; A	1,47 ± 0,04 b; A
1995	0,89 ± 0,06 a; A	1,10 ± 0,13 a; A	1,01 ± 0,09 a; B
		pH (0,1 N KCl)	
1993	2,92 ± 0,02 a; A	3,47 ± 0,05 b; A	4,24 ± 0,09 c; A
1995	2,98 ± 0,05 a; A	3,46 ± 0,03 b; A	4,56 ± 0,10 c; A

2.1.4 Bodenchemische Charakterisierung

Die unterschiedlich hohen S- und N-Einträge spiegeln sich im chemischen Zustand der Humusauflagen (Tab.4). Charakteristisch sind in Taura und Rösa die hohen Gehalte an Gesamtschwefel und Sulfat-S, die sich aufgrund der reduzierten Stoffeinträge schon innerhalb von zwei Jahren (1993/1995) besonders in Taura signifikant verringert haben. Weniger ausgeprägte Differenzierungen zeigen sich in den gebietsbezogenen und zeitlichen Veränderungen der Gesamtstickstoffgehalte. Signifikante Standortsunterschiede ergeben sich im Ammonium- und Nitratgehalt. An den Standorten mit höheren pH-Werten (Taura und Rösa) werden hohe Nitratgehalte nachgewiesen. In Neuglobsow ist die Nitrifikation bei signifikant geringerem pH völlig unterbunden (FISCHER et al. 1995). Die zeitlichen Veränderungen der pH-Werte an den Standorten ergeben

allerdings noch keinen Hinweis für eine beginnende Bodenversauerung. Gleiche Aussagen treffen für die Kiefernjungbestände zu, wo die Untersuchungen im Zeitvergleich 1986/1993 zu gleichen Ergebnissen führten (SCHULZ et al. 1995).

2.2 Testflächen

An jedem Standort wurden für beide Altersklassen (Jung- und Altbestände) jeweils 5 Testflächen eingerichtet. Die Testflächengröße beträgt ca. 1-2 ha. Jung- und Altbestände liegen meist nebeneinander (Abb. 1-3). Die Entfernungen zwischen Testflächen der gleichen Alters-klasse variieren um ca. 100 - 1000 m.

2.2.1 Probenahme

a. Nadelproben

Die Gewinnung von Nadelmaterial (Tab.5) erfolgte von jeweils 15 Probebäumen pro Testfläche, wobei im zweijährigen Wechsel immer die gleichen Bäume beprobt wurden. Pro Baum wurde ein Ast im oberen Kronenbereich geerntet. In Jungbeständen erfolgte die Probenahme mit Hilfe einer Stangenschere, in Altbeständen von der Plattform einer Hebebühne. Nach der Nadelbonitur wurden Triebe 1. Ordnung von den Ästen abgeschnitten und nach Jahrgängen getrennt vereinigt. Für spezielle Laboruntersuchungen wurden noch vor Ort von dem zu untersuchenden Nadeljahrgang (Trieb) anteilig Nadeln gezupft, zu etwa gleichen Volumenanteilen vermischt, in flüssigem Stickstoff eingefroren und später bis zur weiteren Verarbeitung bei -80 °C im Tiefstkühlschrank gelagert. Die verbleibenden Triebe wurden im Autokühlschrank aufbewahrt, im Labor mit bidest. Wasser gewaschen und für die verschieden Probenaufarbeitungen (Acetontrockenpulver, Frischmaterial, Trockenmaterial) und Untersuchungen identische Nadelmischproben gebildet.

b. Borkenproben

Von 25 Bäumen pro Testfläche wurden ca. 5g der äußeren Borkenschicht (bis 1,5 mm Tiefe) entnommen und zu einer Mischprobe vereinigt. Die Probenahme erfolgte in 1,50-1,70 m Höhe auf der nicht von Flechten besiedelten Stammseite. Nach Trocknung bei 30^{0}C wurde zur Analyse staubfein gemahlen (HUHN et al. 1995).

c. Bodenproben

Die Entnahme der Proben erfolgte mit einem Stechrahmen im O_F/O_H-Horizont (Humusauflage). Pro Testfläche wurden 5 Einzelproben entnommen und zu einer Mischprobe vereinigt. Die Proben wurden auf 2 mm gesiebt, luft- bzw. gefriergetrocknet zur chemischen Analyse gemahlen.

Tab.5 Entnahmetermine für Nadel-, Borken- und Bodenproben der Jahre 1991 bis 1995 an den Forschungsstandorten Neuglobsow, Taura und Rösa.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
1991	21.10.	24.10.	25.10.
1992	12.10.	15.10.	16.10.
1993	11.10.	14.10.	15.10.
1994	10.10.	12.10.	13.10.
1995	18.10.	17.10.	16.10.

2.3 Methoden

Superoxiddismutase (SOD) und Peroxidase (POD)

Herstellung von Enzymextrakten aus Acetontrockenpulver

3-6 g Nadelfrischmaterial werden bei -25°C in vorgekühltem Aceton homogenisiert. Nach Acetonabtrennung wird die Nadelprobe bei Raumtemperatur getrocknet. Zur Enzymextraktion werden 25 mg Acetontrockenpulver mit 1 mL 0,02 M Kaliumphosphatpuffer versetzt und 15 Minuten geschüttelt. Nach Zentrifugation werden die Extrakte zur Aktivitätsbestimmung von SOD und POD gelelektrophoretisch aufgetrennt (SCHULZ 1981).

Gelelektrophorese

Die gelelektrophoretische Auftrennung der multiplen POD-Formen und SOD-Isozyme erfolgt in 5- bzw. 7 %igen Polyacrylamid-Rundgelen (⌀5 mm). Bei einer konstanten Stromstärke von 2,5 mA/Röhrchen ist die Auftrennung nach ca. 1 h 20 min beendet. Für die Berechnung der R_f-Werte dient als innerer Standard die Bande von Bromphenolblau.

Aktivitätsbestimmung

Die Inkubation der Gele erfolgt mit Benzidin/Guajakol-Substratlösung (POD) bzw. mit Jodnitrotetrazoliumchlorid/Phenazinmethosulfat/NADH-Substratlösung (SOD). Die quantitative Auswertung erfolgt bei 513 nm mit einem Densitometer (SCHULZ 1983; 1985).

Glutathionreduktase

N_2-gefrorenen Kiefernnadeln werden mit einem Mikrodismembrator pulverisiert. Etwa 500 mg Nadelpulver werden mit 4 mL 50 mM Kaliumphosphat-Puffer pH 7,0, der zusätzlich 4% lösliches PVP, 2 mM EDTA und 5 mM DTE enthält, unter Kühlung (4°C) 1 min mit dem Ultra-Turrax homogenisiert und anschließend 40 min bei 4°C und 26500 g zentrifugiert. Der so gewonnene Rohextrakt wird direkt zur Aktivitätsbestimmung eingesetzt. Testansatz: 50 mM Phosphatpuffer (pH 7,8), 1 mM GSSG, 0,17 mM NADPH, 1 mM EDTA. Bei 340 nm und 25°C wird die Extinktionsabnahme pro Minute bestimmt (WINGSLE & HÄLLGREN 1993).

Lösliches Protein

Der Proteingehalt der Rohenzymextrakte wird nach der Methode von BRADFORD (1976) bestimmt.

Gesamtascorbat , Gesamtglutathion, Cystein, γ-Glutamylcystein

N_2-gefrorene Kiefernnadeln werden mit einem Mikrodismembrator pulverisiert. Zur Extraktion von Ascorbat und den Thiolen werden ca. 0,2 g pulverisiertes Nadelmaterial in Zentrifugenröhrchen eingewogen, die 7 mL 0,1N HCl und 1 mM EDTA enthalten. Anschließend wird der Inhalt 45 sec mit einem Ultra Turrax bei 4°C homogenisiert, 10 Minuten bei 26500 g zentrifugiert und der Überstand zur weiteren Analyse von Ascorbat und den Thiolen verwendet.

Gesamtascorbat

Der Gesamtascorbatgehalt (oxidiert+reduziert) wird nach der Methode von POLLE et al. (1990) bestimmt. Ascorbinsäure wird mit Ascorbatoxidase zu Dehydroascorbinsäure oxidiert und mit o-Phenylendiamin zu einem Chinoxalin-Derivat umgesetzt, das durch reversed-phase-Hochleistungs-Flüssigchromatographie (RP-HPLC) getrennt und fluorimetrisch detektiert wird.

Gesamtglutathion, Cystein, γ-Glutamylcystein

0,4 mL des sauren Extraktes werden mit 0,6 mL 0,2M CHES-Puffer neutralisiert und anschließend mit 0,1mL 3 mM DTT 1h bei Raumtemperatur reduziert. Zur Derivatisierung gibt man zu 495 µL des Reaktionsgemisches 20 µL 15mM Monobrombimanlösung und inkubiert 15 min im Dunkeln bei Raumtemperatur. Die Auftrennung und quantitative Bestimmung der Fluoreszenzderivate erfolgt durch HPLC (HÄRTLING & SCHULZ 1995).

Glutamin, Arginin

N_2-gefrorene Kiefernnadeln werden mit einem Mikrodismembrator pulverisiert. 0,7 g des Pulvers werden für 1 min in 7 mL 4 %-iger Sulfosalicylsäure und 200 µL einer 1mM Norvalin-Lösung (interner Standard) homogenisiert. Anschließend wird für 1 h bei 4°C inkubiert und nachfolgend 5 min bei 4°C und 26500xg zentrifugiert. Zur Entfernung von Schwebstoffen werden die Extrakte membranfiltriert und bis zur weiteren Analyse bei -30°C aufbewahrt.
Zur Analyse werden 30 µL Extrakt mit 150 µL FMOC (2,5mM in Aceton) und 100 µL Borat-Puffer (1 M Borsäure pH 7,8 eingestellt mit 30 %-iger NaOH) inkubiert. Nach 3-minütigem Schütteln ist die Derivatisierung beendet. Nach Zugabe von 200 µL ADAM (25 mM) zur Entfernung von überschüssigem FMOC erfolgt die Auftrennung und quantitative Bestimmung der FMOC-Aminosäurederivate mittels RP-HPLC und fluorimetrischer Detektion (HUHN et al. 1995).

Gesamtchlorophyll

250 mg Nadelpulver werden mit 5 mL Wasser und Seesand extrahiert, über ein Glaswollefilter filtriert. Die Extinktion des Pigmentextrakts wird bei 663, 646 und 470 nm am Spektralphotometer gemessen. Zur Berechnung des Chlorophyllgehaltes werden die Absorptionskoeffizienten nach LICHTENTHALER & WELLBURN (1983) verwendet.

Nekrosegrad

Die Schätzung des Nekrosegrades erfolgt nach folgendem Boniturschlüssel: 1 - grüne Nadeln ohne Symptome, 1,5 - einige Nadeln mit gelben Spitzen, 2 - alle Nadeln zeigen gelbe Spitzen, 2,5 - einige Nadeln mit Spitzennekrosen, 3 - alle Nadeln zeigen Spitzennekrosen, 3,5 - einige Nadeln mit fortgeschrittenen Nekrosen, 4 - alle Nadeln zeigen fortgeschrittene Nekrosen. In die Schätzung werden nur Nadeln des 1. und 2. Jahrganges einbezogen. Der summarische Nekrosewert ergibt sich als Mittel von 15 Astbonituren pro Testfläche.

Benadelung

Die Bestimmung der Benadelungsdichte erfolgt in 10% Intervallen, wobei der von den ursprünglich gewachsenen Nadeln noch vorhandene Anteil geschätzt wird. Zur Erfassung der Gesamtbenadelung werden die Benadelungsprozente der einzelnen Jahrgänge addiert. Pro Testfläche erfolgen 15 Astbonituren.

Gesamtschwefel in Nadel, Borke und Humusauflage

Die Gesamtschwefelbestimmung erfolgt mit dem Schwefelanalysator CS-mat 5500 der Firma Ströhlein GmbH. 100-150 mg getrocknetes Probenmaterial (60°) werden bei 1350°C im Sauerstoffstrom (99,95%) unter Verwendung von 100 mg Eisen(III)-phosphat oder Quarzsand zu Schwefeldioxid verbrannt und in einer IR-Durchflußmeßzelle detektiert. Zur Kalibrierung des Gerätes wird ein Kohlestandard verwendet (1,115% S). Als Referenzmaterial dient ein Fichtennadelstandard der Landesanstalt für Umweltschutz des Landes Baden-Württemberg (0,104% S).

Sulfat- und Nitrat in Nadel, Borke und Humusauflage

0,5 g getrocknetes Material werden mit 25 mL Reinstwasser 40 min geschüttelt. Der Extrakt filtriert und je nach Gehalt bis zu 1:20 mit Reinstwasser verdünnt. Die Trennung der Anionen erfolgt mit einem Metrohm IC 690 Ionenchromatographiesystem (Säule: Hamilton PRP X-100).

Gesamtstickstoff in Nadel, Borke und Humusauflage

250 mg (Nadel, Borke) bzw. 1,25 g (Boden) der getrockneten Probe werden mit 20 mL konz. Schwefelsäure und 5g Wieninger-Katalysator-Gemisch 40 min unter Sieden aufgeschlossen.

Zur anschließenden Stickstoffbestimmung wird die Aufschlußlösung mit 60 mL 32% NaOH alkalisch gemacht und mit Wasserdampf der freiwerdende Ammoniak in eine Borsäurevorlage (60 mL) überdestilliert. Es wird automatisch mit 0,05 N Schwefelsäure auf den pH-Wert der Borsäure zurücktitriert und der Stickstoffgehalt aus dem Säureverbrauch berechnet.

Ammoniumbestimmung in Borke und Humusauflage

12,5 g Borke werden mit 50 mL 1%iger Kaliumsulfatlösung 1,5 Std. geschüttelt, filtriert und Aliquote zur Wasserdampfdestillation eingesetzt. Die weitere N-Analyse erfolgt wie bereits oben beschrieben. Zur Ammoniumbestimmung in den Humusauflagen werden 1,5 g gefriergetrocknetes Material mit 30 mL Reinstwasser sowie 25 mL 32 % Natronlauge versetzt und nach 20 min Reaktionszeit mit Wasserdampf destilliert. Die weitere N-Analyse erfolgt wie bereits oben beschrieben.

Löslicher Nichtprotein-Stickstoff (NPN)
0,5 g getrocknetes Nadelpulver werden mit 20 mL Trichloressigsäure 10 min bei 100°C extrahiert. Zur vollständigen Proteinfällung werden die Extrakte über Nacht bei 5 °C belassen und anschließend mit bidest. Wasser auf 20 mL aufgefüllt. Nach Filtration werden Aliquote von 10 mL entnommen und nach Aufschluß weiter wie oben beschrieben analysiert.

Nährelemente (Nadel)
500 mg getrocknetes Material werden mit 2,5 mL konz. Salpetersäure (65%ig) bei 150°C unter Druck in der Mikrowelle aufgeschlossen. Die Gehalte von Ca, Mg, K, Mn und Zn werden nach Filtration und Verdünnen der Aufschlußlösung mit bidest. Wasser mittels ICP-AES (Jobin Yvon JY 24, Longjumeau Cedex, Frankreich) bestimmt.

3. Ergebnisse

Die vorliegenden Untersuchungen an Kiefernnadeln von Jung- und Altbeständen haben gezeigt, daß die Altbestände an allen drei Standorten immer stärker von Schädigungssymptomen (Nadelnekrosen) betroffen waren als Jungbestände. Bei gleicher SO_2-Belastung enthalten Nadeln von Altbeständen immer höhere Sulfatgehalte. Bestandeshöhe und Kronenstruktur tragen offensichtlich dazu bei, daß Altbestände stärker als Jungbestände Fremdstoffe aus der Luft ausfiltern und über längere Zeit in ihren mächtigeren Humusauflagen anreichern. Im Folgenden wird daher hauptsächlich auf Ergebnisse eingegangen, die an Altbeständen erzielt wurden. Es sei aber darauf verwiesen, daß auch die an Jungbeständen erzielten Ergebnisse vergleichbare gebietsbezogene Differenzierungen ergaben. Halbjährige Kiefernnadeln haben sich insgesamt als Untersuchungsgegenstand bewährt. Die auf biochemisch-physiologischer Ebene gemessenen Reaktionen sind hinreichend sensitiv, um atmosphärische Belastungveränderungen sicher zu indizieren. Nur zur Bewertung des Ernährungszustandes der Nadeln sowie zur Bonitur der Nadelnekrosität und Benadelung wurden auch ältere Nadeljahrgänge hinzugezogen.

3.1 Akkumulation und Metabolisierung

Im Verlauf der 5-jährigen Untersuchungen haben sich an allen Standorten die Immissionen und Depositionen von luftgetragenen Schwefel- und Stickstoffverbindungen mit Ausnahme der Stickoxidimmissionen (NO_x) signifikant verringert (Tab.3, Abb.4). Die Stickoxide stiegen gering, aber stetig an. Besonders in Rösa kam es von 1992-1995 zu einer Erhöhung der NO_x-Immissionen. Im Folgenden wurde geprüft, wie sich diese atmosphärischen Belastungsveränderungen auf den Gehalt bestimmter S- und N-Fraktionen in Kiefernnadeln auswirken.

Ein Vergleich der drei Untersuchungsgebiete zeigt, daß an den noch stärker mit SO_2 belasteten Standorten (Rösa>Taura>Neuglobsow) der Schwefelgehalt in Kiefernnadeln erhöht ist (Tab.6).

Tab.6 Gesamtschwefelgehalte (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten an. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in bezug auf 1991.

	Schwefel (mg*g^{-1} TG)		
Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
1991	1,35 ± 0,03 a; A	1,72 ± 0,04 b; A	1,86 ± 0,05 b; A
1992	1,32 ± 0,01 a; A	1,88 ± 0,03 b; B	1,92 ± 0,04 b; A
1993	1,25 ± 0,05 a; A	1,67 ± 0,05 b; A	1,85 ± 0,06 b; A
1994	1,20 ± 0,02 a; B	1,67 ± 0,04 b; A	1,63 ± 0,02 b; B
1995	1,09 ± 0,05 a; B	1,66 ± 0,04 b; A	1,60 ± 0,03 b; B

Diese gebietsbezogene Differenzierung läßt sich auch für andere S-Fraktionen wie Sulfat-Schwefel, organischer Schwefel (Tab.7) sowie für die Thiole Glutathion und Cystein (Tab.8) nachweisen. In Nadeln von Taura und Rösa wurden über den gesamten Untersuchungszeitraum immer signifikant höhere Gehalte an anorganischen und organischen S-Verbindungen gefunden als in Kiefernnadeln von Neuglobsow.

Tab. 7 Gehalte von Sulfat-Schwefel und org. Schwefel (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten an. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Sulfat-Schwefel (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,33 ± 0,02 a; A	0,59 ± 0,01 b; A	0,65 ± 0,02 b; A
1992	0,32 ± 0,02 a; A	0,59 ± 0,02 b; A	0,59 ± 0,03 b; A
1993	0,24 ± 0,02 a; B	0,46 ± 0,02 b; B	0,49 ± 0,04 b; A
1994	0,21 ± 0,01 a; B	0,39 ± 0,02 b; B	0,33 ± 0,02 b; B
1995	0,21 ± 0,02 a; B	0,38 ± 0,01 b; B	0,35 ± 0,02 b; B
		org. Schwefel (mg*g^{-1} TG)	
1991	1,02 ± 0,02 a; A	1,12 ± 0,03 b; A	1,21 ± 0,04 b; A
1992	0,99 ± 0,01 a; A	1,29 ± 0,03 b; B	1,33 ± 0,02 b; B
1993	1,01 ± 0,03 a; A	1,20 ± 0,03 b; A	1,37 ± 0,02 c; B
1994	0,99 ± 0,02 a; A	1,28 ± 0,03 b; B	1,30 ± 0,02 b; A
1995	0,88 ± 0,03 a; B	1,28 ± 0,03 b; B	1,25 ± 0,02 b; A

In bezug auf Neuglobsow waren die Sulfatgehalte in Taura und Rösa um das Doppelte und die Glutathiongehalte um etwa das 1,5-fache erhöht. Damit konnte eindeutig nachgewiesen werden, daß atmosphärische SO_2-Belastungen in Kiefernnadeln zu einer Akkumulation S-haltiger Verbindungen führen. Die Gehaltsveränderungen der verschiedenen S-Fraktionen erlauben klare Aussagen über Veränderungen der SO_2-Immissionen an den Standorten. Aus den Gehaltsveränderungen der verschiedenen S-Fraktionen lassen sich außerdem Rückschlüsse auf Veränderungen in der Aufnahme, Anreicherung und Metabolisierung von Schwefel in Kiefernnadeln ziehen.

So gilt inzwischen als gesichert, daß Sulfat-S die SO_2-Aufnahme in Kiefernnadeln spezifischer indiziert als der Gesamt-S (GASCH et al. 1988). Zu gleichen Aussagen kommen KAISER et al. (1993) und MANNINEN & HUTTUNEN (1991). Beide Arbeitsgruppen konnten zwischen der SO_2-Konzentration der Luft und dem Sulfat-S Gehalt von Fichten- und Kiefernnadeln eine hohe korrelative Beziehung nachweisen. Bei unseren Untersuchungen mit Kiefernnadeln von Jung- und Altbeständen wurde ebenfalls eine enge Beziehungen zwischen dem Gehalt von Sulfat-S in Nadeln und der SO_2-Konzentration der Umgebungsluft gefunden (Abb. 5).

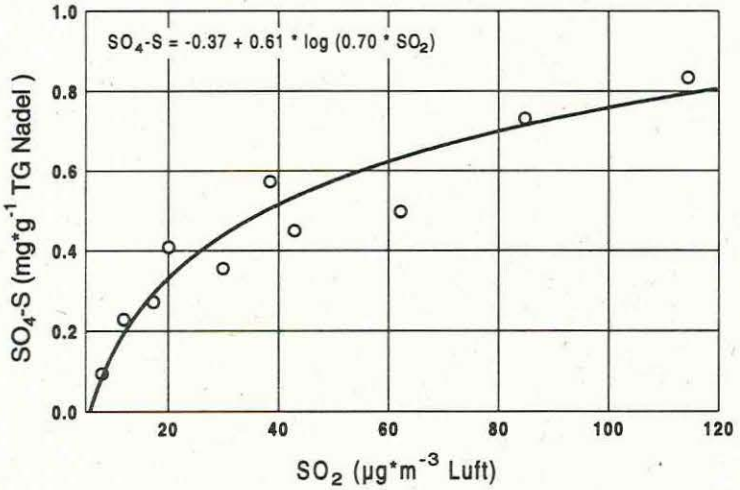


Abb.5 Sulfat-S Gehalt der Kiefernnadeln als Funktion der SO_2-Konzentration der Umgebungsluft.

Die von 1991-1995 an allen drei Standorten sich signifikant verringerten Sulfat-S Gehalte in halbjährigen Nadeln lassen somit auf nachlassende SO_2-Belastungen der Kiefernbestände schließen. Besonders deutliche Verringerungen zeigten sich in Rösa, wo der mittlere Sulfatgehalt von 0,65 auf 0,35 mg/g TG abnahm, aber im Vergleich zu Neuglobsow noch immer deutlich erhöht ist. Im Gegensatz dazu verändern sich die Glutathion- und Cysteingehalte an allen Standorten gering. Die Veränderungen lassen sich in den meisten Fällen nicht statistisch sichern (Tab.8).

Tab.8 Glutathion- und Cysteingehalte (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1992.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Glutathion (µg*g^{-1} TG)	
1992	329 ± 25 a; A	484 ± 23 b; A	504 ± 23 b; A
1993	314 ± 12 a; A	469 ± 12 b; A	441 ± 24 b; A
1994	339 ± 10 a; A	547 ± 9 b; A	488 ± 27 b; A
1995	284 ± 18 a; A	444 ± 15 b; A	431 ± 13 b; B
		Cystein (µg*g^{-1} TG)	
1993	6,34 ± 0,12 a; A	8,90 ± 0,31 b; A	9,77 ± 0,63 b; A
1994	7,88 ± 0,25 a; B	9,41 ± 0,17 b; A	9,20 ± 0,37 b; A
1995	7,17 ± 0,37 a; A	10,84 ± 0,52 b; B	11,06 ± 0,41 b; A

Erst 1995 fallen die Glutathiongehalte in Taura und Rösa deutlich ab, während die Gehalte von Cystein tendenziell ansteigen. Die zeitlichen Gehaltsveränderungen der Nicht-Protein-S Verbindungen in Kiefernnadeln lassen noch keinen eindeutigen Trend erkennen. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß die an allen Standorten deutlich geringere SO_2-Belastung nicht nur zu einer verringerten SO_2-Aufnahme in Kiefernnadeln geführt hat, sondern auch entscheidend die S-Metabolisierung in Kiefernnadeln beeinflußt hat. Wie schon eingangs beschrieben, wird in SO_2-belasteten Kiefernnadeln neben Sulfat-S auch verstärkt Glutathion angereichert. Zwischen Sulfat-S und Glutathion besteht eine korrelative Beziehung, die wie in Abb.6 gezeigt wird, einer Optimumskurve folgt, d.h. auf eine anfängliche Gehaltssteigerung von Glutathion folgt bei ca. 0,37 - 0,45 mg SO_4-S/g TG ein Gehaltsabfall. Bei Sulfat-S Gehalten über 0,45 mg/g TG kommt es wahrscheinlich zu einer Beeinflussung der assimilatorischen Sulfatreduktion. Hohe SO_2-Belastungen würden danach zu einer Gehaltsverringerung von Glutathion führen. Eine solche Annahme ist wahrscheinlich, da nach KINDERMANN et al. (1995) Kiefern überschüssigen Schwefel (ca. 10%) in Form von H_2S wieder in die Atmosphäre abgeben können. Denkbar wäre allerdings auch eine Beeinflussung des Glutathiongehaltes durch organische Schadstoffe (SCHRÖDER et al. 1992, PFLUGMACHER & SCHRÖDER 1995). Erste eigene Untersuchungen (HÄRTLING et al. 1995) haben gezeigt, daß im Vergleich zu Neuglobsow die Enzymaktivitäten der Glutathion-S-Transferase - ein Enzym, das die Bildung von Konjugaten zwischen Glutathion und chlororganischen Verbindungen katalysiert - in Kiefernnadeln an den stärker belasteten Standorten Taura und Rösa signifikant erhöht sind. Leider liegen noch keine Untersuchungsergebnisse zum Gehalt ausgewählter Chlororganika in Kiefernnadeln vor. Die bisher mit der Glutathion-S-Transferase erzielten Ergebnisse machen aber einen Einfluß von Chlororganika auf den Glutathiongehalt wahrscheinlich. Andererseits deutet die seit 1991 nachgewiesene

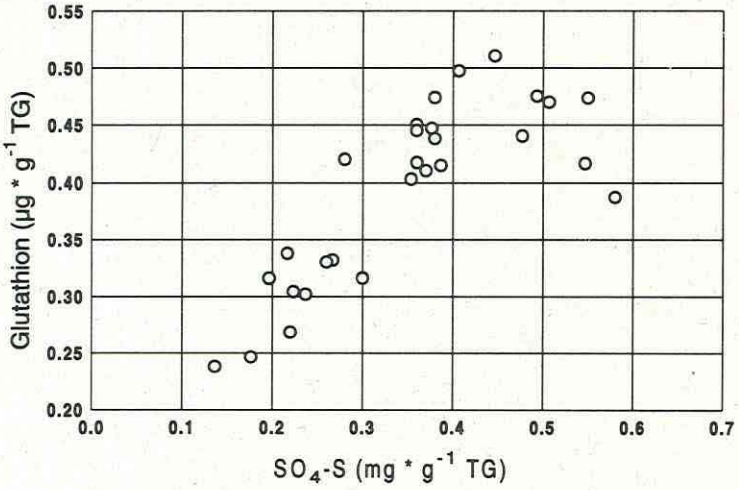


Abb.6 Korrelation zwischen SO_4-S und Glutathion in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände in Neuglobsow, Taura und Rösa.

Zunahme der organischen S-Fraktion in Nadeln von Taura und Rösa darauf hin, daß bei nachlassender SO_2-Belastung nun ein starker Druck in die reduktive S-Entgiftung besteht (Tab.8). Dieser Anstieg zeigt sich auch im Cysteingehalt, obwohl mehr als 95% der organischen S-Fraktion aus Protein-S besteht. Es ist anzunehmen, daß die Kiefern bei geringerer SO_2-Belastung Schwefel nun verstärkt über die Wurzeln aufnehmen, der nahezu vollständig auf reduktivem Weg metabo-

lisiert wird (SLOVIK et al. 1995). Von HERSCHBACH und RENNENBERG (1994) wird postuliert, daß das in den Nadeln synthetisierte Glutathion die Aufnahme von Sulfat über den Wurzelpfad reguliert. Geringe Glutathiongehalte würden danach die Sulfataufnahme stimulieren, d.h. bei abnehmenden SO_2-Immissionen kommt es zur Verringerung von Glutathion in den Nadeln, wodurch die Aufnahme von Sulfat über die Wurzeln induziert wird. Seit 1993 nehmen die Sulfatgehalte in den Humusauflagen rapide ab (Tab.4). Betroffen sind davon besonders die Jungbestände in Neuglobsow, wo in den Humusauflagen zur Zeit nur noch 10% des Sulfatgehaltes von 1993 verfügbar sind. Entsprechend enthalten die Nadeln der Jungbestände von Neuglobsow bei geringer SO_2-Aufnahme über den Luftpfad äußerst geringe Sulfat-S Gehalte. Nach MANNINEN & HUTTUNEN (1991) liegen die Sulfat-S Gehalte mit 0,15 mg/g Nadeltrockengewicht bereits im Normalbereich.

Im Vergleich zu den S-Fraktionen lassen sich bei den N-Fraktionen nur geringe Gehaltsveränderungen nachweisen. Nahezu 99,7% des Gesamt-N liegt in organisch gebundener Form vor. Der Anteil von Ammonium- und Nitrat-N beträgt zusammen nur ca. 0,2-0,3%. Der gesamte Stickstoff verteilt sich auf zwei organische N-Fraktionen. Neben der Protein-N Fraktion ist besonders die lösliche Nicht-Protein-N (NPN) Fraktion von Interesse, da sie mit ca. 1-10% den Aminosäurestickstoff als Primärprodukt der Ammoniumassimilation enthält. Für den Nachweis von N-Belastungen auf Kiefernnadeln nimmt daher die NPN-Fraktion wie der Sulfat-S eine wichtige Indikatorfunktion ein.

In Tab.9 sind die mittleren Gehalte von Gesamt-N und NPN zusammenfassend dargestellt. Es zeigt sich, daß im gesamten Untersuchungszeitraum die Altbestände von Rösa die höchsten Werte ausweisen. Deutliche Unterschiede bestehen zwischen Taura und Rösa. Das ist zunächst unverständlich, da sich zwischen beiden Gebieten die Einträge von Ammonium und Nitrat oder deren Gehalte in den Humusauflagen nur gering unterscheiden (Abb.7 und 8). Vermutlich führen dazu die signifikant höheren Nitratgehalte der Bodenlösung (WEISDORFER et a. 1995) sowie

Tab.9 Gehalte von Gesamt-N und Nicht-Protein-N (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten an. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Stickstoff (mg*g^{-1} TG)	
1991	15,2 ± 0,3 a; A	16,1 ± 0,4 a; A	19,2 ± 1,2 b; A
1992	13,9 ± 0,3 a; B	16,5 ± 0,2 b; A	18,8 ± 1,0 b; A
1993	14,6 ± 0,4 a; A	16,9 ± 0,2 b; A	21,4 ± 1,1 c; A
1994	14,8 ± 0,5 a; A	17,9 ± 0,3 b; B	19,8 ± 0,6 c; A
1995	14,0 ± 0,6 a; A	17,8 ± 0,1 b; B	19,2 ± 0,5 b; A
		Nicht-Protein-Stickstoff (mg*g^{-1} TG)	
1991	2,9 ± 0,1 a; A	3,0 ± 0,1 a; A	5,7 ± 0,9 b; A
1992	2,3 ± 0,1 a; B	3,0 ± 0,1 b; A	5,6 ± 0,9 c; A
1993	3,0 ± 0,1 a; A	3,6 ± 0,2 b; A	6,9 ± 1,1 c; A
1994	3,1 ± 0,1 a; A	3,4 ± 0,1 a; B	5,1 ± 0,6 b; A
1995	2,9 ± 0,1 a; A	3,7 ± 0,1 b; B	5,0 ± 0,5 b; A

die gegenüber Taura auch deutlich höheren NO_x-Konzentrationen in der Umgebungsluft (Tab.3).

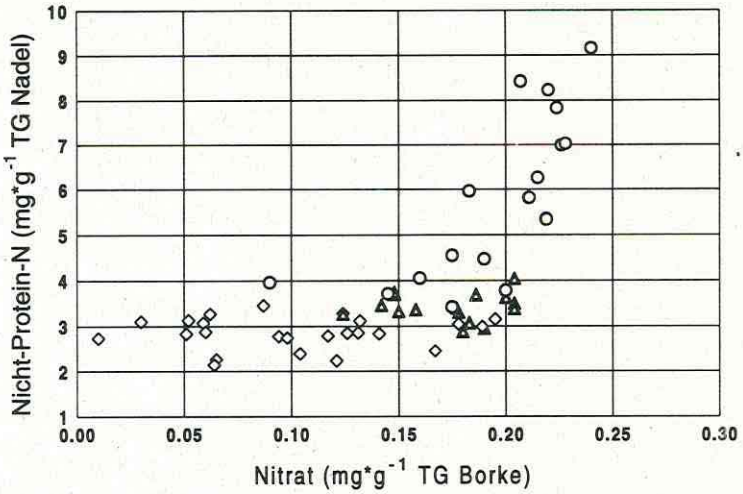


Abb.7 Beziehung zwischen Nicht-Protein-N in Kiefernnadeln und Nitratgehalten in Borken (1991-1995).
◇ Neuglobsow
△ Taura
○ Rösa

Aus den zeitlichen Veränderungen im NPN-Gehalt der Kiefernnadeln ergeben sich in Rösa und Neuglobsow keine Hinweise für eine Veränderung der N-Einträge. Es ist anzunehmen, daß die in Rösa seit 1991 verringerten NH_4- und NO_3-Depositionen durch ansteigende NO_x-Konzentrationen ausgeglichen werden. In Taura werden seit 1994 wieder signifikant ansteigende NPN-Gehalte beobachtet, die wahrscheinlich durch ansteigende NH_4-Einträgen verursacht werden (Abb.4c).

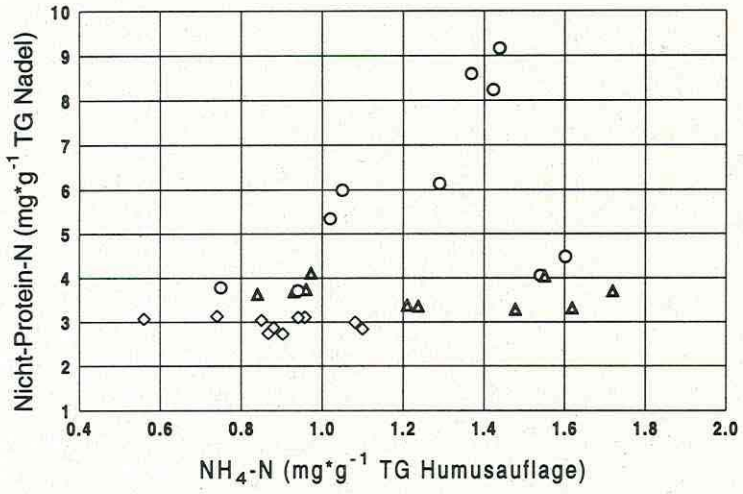


Abb.8 Beziehung zwischen Nicht-Protein-N in Kiefernnadeln und den Gehalten von Ammonium-N in Humusauflagen der Altbestände (1993 und 1995).
◇ Neuglobsow
△ Taura
○ Rösa

Vergleichbare Ergebnisse wurden mit Gesamtprotein-N und der Fraktion lösliches Protein erzielt (Tab.10). An den stärker N-belasteten Standorten Taura und Rösa enthalten die Nadeln signifikant höhere Proteingehalte. Die zeitlichen Veränderungen zeigen an allen Standorten eine zunehmende Tendenz. In Neuglobsow steigen die löslichen Proteingehalte deutlich an. Diese Befunde sprechen für eine hohe Intensität des N-Stoffwechsels. Seit 1993 wurden daher auch

ausgewählte Aminosäuren wie Glutamin und Arginin in die Untersuchungen einbezogen. Beide Aminosäuren fungieren als N-Speichersubstanzen. Dem Arginin wird von verschiedenen Autoren (PEREZ-SOBA & VAN DER EERDEN 1993, NÄSHOLM 1994, FANGMEIER et al. 1994, ZEDLER et al. 1986) eine Indikatorfunktion für Störungen im N-Stoffwechsel zugesprochen.

Tab.10 Gehalte von Protein-Stickstoff und löslichem Protein (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten an. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Protein-Stickstoff (mg*g^{-1} TG)	
1991	12,3 ± 0,3 a; A	13,0 ± 0,3 a; A	13,4 ± 0,3 a; A
1992	11,6 ± 0,3 a; A	13,5 ± 0,1 b; A	13,1 ± 0,2 b; A
1993	11,6 ± 0,4 a; A	13,3 ± 0,3 b; A	14,5 ± 0,2 c; A
1994	11,7 ± 0,5 a; A	14,5 ± 0,3 b; B	14,7 ± 0,1 b; B
1995	11,1 ± 0,6 a; A	14,1 ± 0,1 b; A	14,2 ± 0,3 b; A
		lösliches Protein (mg*g^{-1} TG)	
1991	1,3 ± 0,2 a; A	4,5 ± 0,8 b; A	7,2 ± 0,9 b; A
1992	3,2 ± 0,6 a; B	9,0 ± 1,7 b; A	8,2 ± 1,2 b; A
1993	2,2 ± 0,3 a; A	3,4 ± 0,6 a; A	4,9 ± 1,3 a; A
1994	5,0 ± 0,6 a; B	8,0 ± 0,9 b; B	8,0 ± 0,8 a,b; A
1995	2,5 ± 0,2 a; B	6,4 ± 1,1 b; A	5,6 ± 0,7 b; A

Die Ergebnisse in Tab.11 belegen, daß die Nadelgehalte von Glutamin und insbesondere von Arginin deutliche gebietsbezogene Differenzierungen zeigen. Die in bezug auf Neuglobsow in Taura und Rösa signifikant erhöhten Glutamingehalte deuten auf eine erhöhte Proteinsynthese hin. Bemerkenswert sind die extrem hohen Argingehalte in Nadeln der Kiefernaltbestände von Rösa. Allerdings unterliegen die Argingehalte besonders hohen individuellen Schwankungen, so daß die Mittelwertunterschiede nicht immer statistisch zu sichern sind. Insofern sind auch die zeitlichen Veränderungen der Argingehalte mit besonderer Vorsicht zu betrachten. In Taura und Rösa ist die Tendenz der beiden Aminosäuregehalte fallend. Statistisch gesichert sind allerding nur die Gehaltsveränderungen von Glutamin. Im Bezugsjahr 1993 wurden mit 21,4 mg/gTG allerdings auch die höchsten Gesamtstickstoffgehalte in Kiefernnadeln von Rösa erhalten (Tab.9), so daß die zeitlichen Veränderungen im Aminosäuregehalt weiterer Beobachtungen bedarf.

Hohe Anreicherungen von Arginin in Kiefernnadeln (100-fach in bezug auf Neuglobsow) wurden bisher nur in Nähe von Massentierhaltungsanlagen (KAUPENJOHANN et al. 1989, PIETILÄ et al. 1991) und bei Begasungsexperimenten mit NH_3 (PEREZ-SOBA et al. 1994, VAN DER EERDEN & PEREZ-SOBA 1992) gefunden. Es ist daher anzunehmen, daß die Kiefernbestände in Rösa auch durch NH_3-Immissionen exponiert sind. In diesem Zusammenhang

Tab.11 Glutamin- und Argininingehalte (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten an. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in bezug auf 1993.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Glutamin (µg*g^{-1} TG)	
1993	104 ± 13 a; A	272 ± 29 b; A	558 ± 22 c; A
1994	192 ± 28 a; B	314 ± 28 b; A	433 ± 30 c; B
1995	75 ± 11 a; A	127 ± 13 b; B	248 ± 29 c; B
		Arginin (µg*g^{-1} TG)	
1993	96 ± 11 a; A	456 ± 204 b; A	9287 ± 3175 c; A
1994	29 ± 9 a; B	256 ± 178 b; A	4636 ± 1793 c; A
1995	59 ± 16 a; A	170 ± 58 a, b; A	4075 ± 1617 b; A

stellt sich auch die Frage, ob die einzelnen Kiefernbestände in Rösa stärker über den Luftpfad und/oder den Bodenpfad mit Stickstoff belastet sind. Wahrscheinlich wird die Anreicherung von Arginin in Kiefernnadeln durch ein überhöhtes N-Angebot sowohl im Boden als auch in der Luft induziert (MENZ 1991). Sicher ist, daß erhöhte Argininingehalte auf ein Überangebot von Stickstoff hinweisen. Arginin hat ein geringes C/N-Verhältnis und ist als Transport- und Detoxifizierungsmetabolit für im Überschuß aufgenommenen Stickstoff bekannt (EDFAST et al. 1990, VAN DIJK & ROELOFS 1988). Im Gegensatz zu anderen Aminosäuren (Glutamin, Asparagin) werden im Arginin zur Fixierung von 4 Molen N nur 6 Mole C benötigt, wodurch photosynthetisch gewonnene Energie eingespart wird. Andererseits wird Arginin auch eine Funktion zur Detoxifizierung von Ammoniak, der in der Zelle bei Protein- und Aminosäureabbau gebildet wird, zugesprochen (RICHTER et al. 1995). Es ist aber davon auszugehen, daß selbst die in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbeständen von Rösa beobachteten hohen Argininingehalte nicht auf einen Zustand der Degradation hinweisen, da in diesem Fall die Proteingehalte in bezug auf Taura nicht erhöht, sondern erniedrigt wären (Tab.10).

Aus Abb. 9 und Abb. 10 ist zu entnehmen, daß zwischen den Gehalten von NPN und Glutamin sowie Arginin eine enge Korrelation besteht. Dabei fällt auf, daß bei etwa 4 mg NPN/g TG

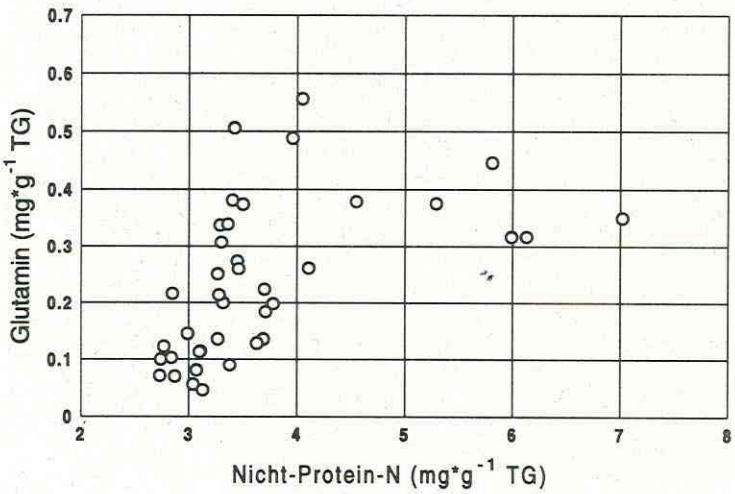


Abb.9 Beziehung zwischen dem Glutamin und dem Nicht-Protein-N in Kiefernnadeln der Altbestände (1993-1995).

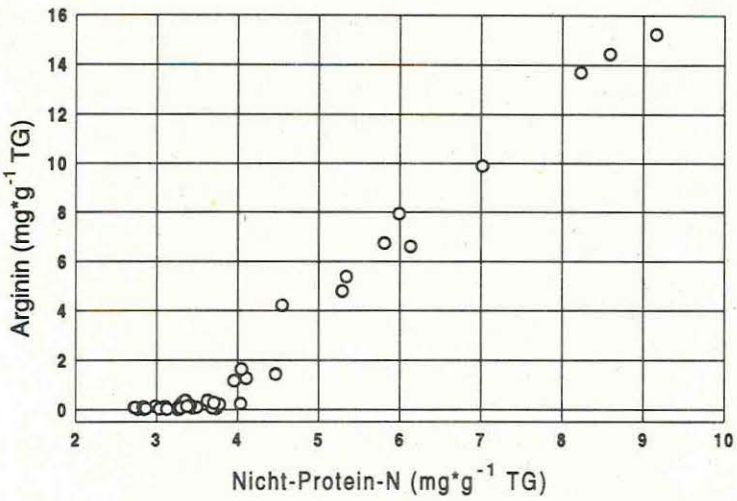


Abb.10 Beziehung zwischen Arginin und Nicht-Protein-N in Kiefernnadeln der Altbestände (1993-1995).

Schwellenwerte in der N-Metabolisierung erreicht werden. Bis zu diesem Schwellenwert wird Stickstoff in Form von Glutamin gespeichert (Abb.9), das vorwiegend für die Proteinsynthese zur Verfügung gestellt wird. In dieser Phase der N-Aufnahme steigen auch die Protein-N Gehalte an (Abb. 11). Eine weitere N-Aufnahme führt zu keiner adäquaten Steigerung der Proteinsynthese. Der im Überschuß aufgenommene Stickstoff wird nun in Form von Arginin in der NPN-Fraktion gespeichert (Abb.10).

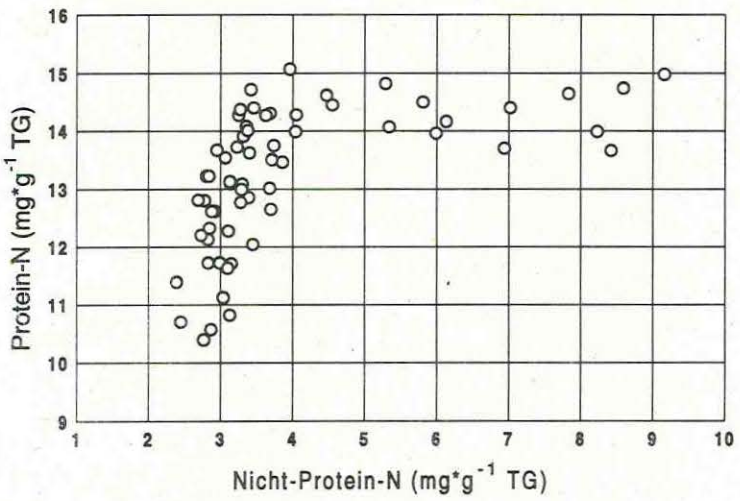


Abb.11 Beziehung zwischen Nicht-Protein-N und Protein-N in Kiefernnadeln der Altbestände (1991-1995).

Gehalte von 4 mg Nicht-Protein-N/g TG entsprechen Gesamtstickstoffgehalten von etwa 1,8 %. Nach HOFMANN et al. (1990) wird damit die Sättigungsphase der N-Ernährung von halbjährigen Kiefernnadeln erreicht. Bei weiterer Aufnahme von Stickstoff kommt es zunehmend zu Wachstumstörungen, die zur Ausbildung von abnormalen Kronenstrukturen führen (Abb.12).

Voruntersuchungen zur Aktivität der PEP-Carboxylase und zum Gehalt löslicher Kohlenhydrate zeigen, daß an den stärker belasteten Standorten Rösa und Taura signifikant höhere

Abb. 12 Abnormale Kronenstruktur von Kiefernjung- (oberes Foto) und -altbeständen (unteres Foto) bei hoher N-Belastung

Carboxylierungsaktivitäten bei deutlich geringeren Glucosegehalten bestehen (Tab.12). Diese zunächst vorläufigen Ergebnisse deuten daraufhin, daß die PEP-Carboxylase im aktivierten N-Metabolismus als eine Art Reparaturmechanismus für den Stoffwechsel fungiert (TIETZ & WILD 1990). Das Enzym gewährleistet die Bereitstellung von Kohlenhydraten bzw. C-Gerüsten in Form von α-Ketoglutarat, die für eine gesteigerte Proteinsynthese benötigt werden. Andererseits wäre zumindest für die Altbestände in Rösa auch ein aktivierter interner N-Stoffwechsel zu diskutieren. Für diesem Fall liefert die PEP-Carboxylase zusätzliche Kohlenhydrate für die Reassimilation von freiwerdenden Ammoniumionen (LATZKO & KELLY 1983).

Tab.12 Aktivität der Phosphoenolpyruvatcarboxylase (PEP-Carboxylase) und Gehalt an löslicher Glucose (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Jungbestände (1993). Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten an. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		PEP-Carboxylase (Unit*g^{-1} TG)	
1993	0,59 ± 0,03 a	1,55 ± 0,41 b	1,15 ± 0,12 b
		Glucose (mg*g^{-1} TG)	
1993	9,7 ± 3,6 a	5,0 ± 1,0 a	4,3 ± 0,9 a

Disharmonien im Stoffwechsel der Kiefernnadeln treten auch auf, wenn bei hohen SO_2-Immissionen die Kiefernnadeln verstärkt Sulfat-S anreichern (Abb.5), d.h. Schwefel bevorzugt oxidativ entgiftet wird (HÜVE et al. 1995). Wie schon oben beschrieben, kommt es dabei zu einer Verringerung im Glutathiongehalt. Gleichzeitig steht auch weniger Cystein für die Proteinsynthese zur Verfügung. Die Folge ist eine Abnahme des Proteingehaltes. Aus dieser in Abb.13 dargestellten korrelativen Beziehung läßt sich somit auch für Sulfat-S ein Schwellenwert ableiten, der bei etwa 0,37 mg/gTG liegt.

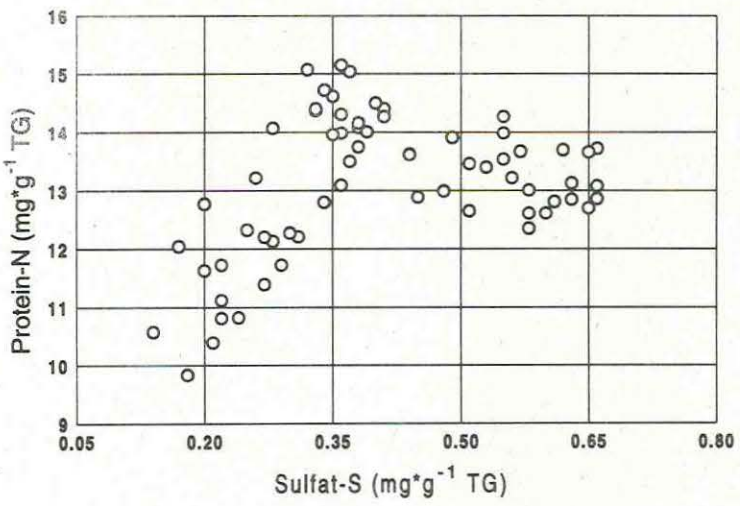


Abb.13 Beziehung zwischen Protein-N und Sulfat-S in Kiefernnadeln der Altbestände (1991-1995).

Durch die Akkumulation von Sulfat-S und/oder von Nicht-Protein-N (NPN) kann das molare S/N-Verhältnis in Kiefernnadeln verändert werden (DIJKSHOORN & WIJK 1966). Nach den bisher vorliegenden Untersuchungsergebnissen ist davon auszugehen, daß Abweichungen vom Normalzustand (molares S/N-Verhältnis = 0,030) auf eine unausgewogene S/N-Ernährung der Kiefern hinweisen. Man kann auch davon ausgehen, daß bei Überschreitung der gefundenen Schwellenwerte Schädigungssymptome an den Assimilationsorganen auftreten.

3.2 Antioxidative Abwehrreaktionen

Bei der lichtinduzierten Oxidation von SO_2 zu SO_4^{2-} sowie dem Einfluß von Ozon werden in Nadeln von Koniferen verstärkt reaktive Sauerstoffspezies (O_2^-, H_2O_2) gebildet (ASADA 1980, ELSTNER 1987). Für ihre Entgiftung ist ein ganzes System von verschiedenen antioxidativen Enzymen und Antioxidantien verantwortlich (FOYER et al. 1994). Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurden in Kiefernnadeln Superoxiddismutasen (SOD), Peroxidasen (POD), Glutathionreduktase, Ascorbat und Glutathion untersucht.

In Tab.13 und 14 sind die Ergebnisse der Aktivitätsmessungen von jeweils zwei SOD-Isozymen und multiplen POD-Formen zusammengefaßt. Für die SOD-Isozyme lassen sich signifikante standortsabhängige Unterschiede nachweisen. Die multiplen Formen der POD unterliegen größeren individuellen Schwankungen, so daß die gebietsbezogenen Aktivitätsdifferenzierungen nicht für jedes Untersuchungsgebiet statistisch zu sichern sind. Die zeitlichen Veränderungen zeigen aber eine deutlich steigende Tendenz, wenn die antioxidativen Enzymaktivitäten gegen die Proteingehalte aufgetragen werden (Abb.14 und 15). In Taura und Rösa steigen bei annähernd

Tab.13 Aktivität der Superoxiddismutase-Isozyme SOD1 und SOD 3 (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei $P<0,05$) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		SOD 1 (Unit*mg^{-1} TG)	
1991	0,32 ± 0,03 a; A	0,75 ± 0,03 b; A	1,07 ± 0,07 c; A
1992	0,94 ± 0,14 a; B	1,07 ± 0,03 a; B	1,48 ± 0,10 b; B
1993	0,71 ± 0,06 a; B	1,04 ± 0,09 b; B	1,14 ± 0,13 a,b; A
1994	1,34 ± 0,08 a; B	1,90 ± 0,12 b; B	2,13 ± 0,10 b; B
1995	0,92 ± 0,07 a; B	1,37 ± 0,11 b; B	1,50 ± 0,14 b; B
		SOD 3 (Unit*mg^{-1} TG)	
1991	0,39 ± 0,03 a; A	0,85 ± 0,04 b; A	1,12 ± 0,05 c; A
1992	0,97 ± 0,13 a; B	1,13 ± 0,04 a; B	1,32 ± 0,08 a; A
1993	0,70 ± 0,05 a; B	1,01 ± 0,08 a,b; A	1,07 ± 0,10 b; A
1994	1,19 ± 0,08 a; B	1,86 ± 0,17 b; B	1,67 ± 0,14 a,b B
1995	0,83 ± 0,04 a; B	1,35 ± 0,08 b; B	1,37 ± 0,14 b; A

Tab.14 Aktivität der multiplen Peroxidaseformen POD2- und POD4-Form (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		POD 2 ($\Delta E*min^{-1}*mg^{-1}$ TG)	
1991	0,086 ± 0,003 a; A	0,127 ± 0,013 a,b; A	0,156 ± 0,015 b; A
1992	0,168 ± 0,008 a; B	0,129 ± 0,004 b; A	0,144 ± 0,008 a,b; A
1993	0,113 ± 0,012 a; B	0,184 ± 0,026 b; A	0,163 ± 0,019 a,b; A
1994	0,134 ± 0,014 a; B	0,179 ± 0,021 a; A	0,167 ± 0,010 a; A
1995	0,120 ± 0,015 a; B	0,200 ± 0,005 b; B	0,199 ± 0,021 b; A
		POD 4 ($\Delta E*min^{-1}*mg^{-1}$ TG)	
1991	0,120 ± 0,002 a; A	0,161 ± 0,012 b; A	0,196 ± 0,017 b; A
1992	0,203 ± 0,008 a; B	0,171 ± 0,009 b; A	0,180 ± 0,007 a,b; A
1993	0,124 ± 0,004 a; A	0,183 ± 0,017 b; A	0,189 ± 0,012 b; A
1994	0,170 ± 0,012 a; B	0,201 ± 0,009 a,b; A	0,208 ± 0,003 b; A
1995	0,203 ± 0,004 a; B	0,212 ± 0,003 a,b; B	0,220 ± 0,002 b; A

unveränderten Proteingehalten (Tab.10) die Aktivitäten von SOD- und POD signifikant an, d.h. auch die spezifischen Aktivitäten sind seit 1991 erhöht. Offensichtlich unterliegen die Kiefern bzw. ihre Nadeln stärker als bisher oxidativen Belastungen. In der Vegetationsperiode werden seit 1992 in Melpitz (Nähe Taura) auch signifikant ansteigende Ozonkonzentrationen gemessen (SPINDLER et al. 1995).

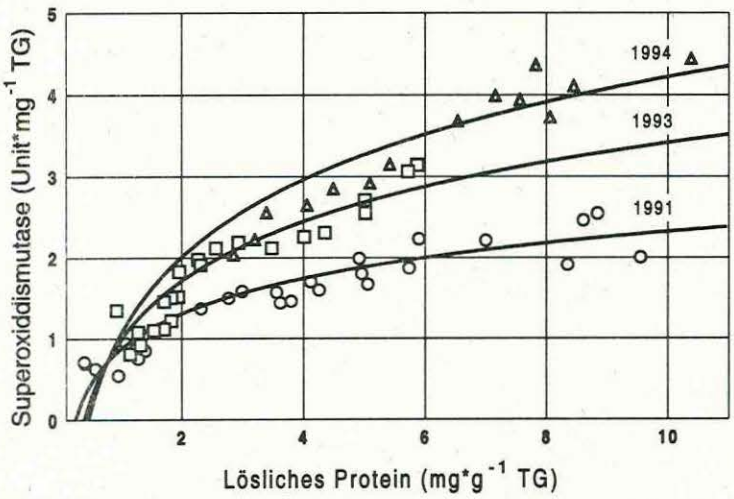


Abb.14 Beziehung zwischen der SOD-Aktivität (SOD1+SOD3) und dem löslichen Proteingehalt in Kiefernnadeln.

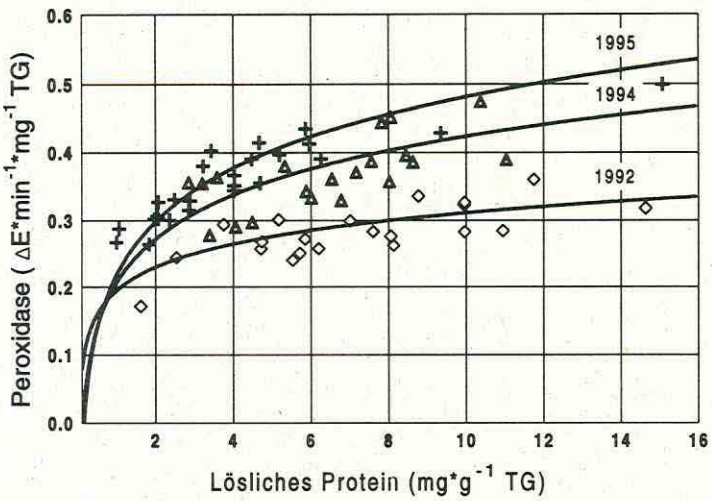


Abb.15 Beziehung zwischen der POD-Aktivität (POD2+POD4) und dem löslichen Proteingehalt in Kiefernnadeln.

Einen weiteren Hinweis für eine zunehmende oxidative Belastung der Kiefernbestände geben die Untersuchungen zum Glutathion- und Ascorbatgehalt sowie zur Aktivität der Glutathionreduktase. Die Parameter wurden 1992 bzw. 1993 zusätzlich in das Untersuchungsprogramm aufgenommen. Wie schon eingangs beschrieben, bleiben die Glutathiongehalte in Kiefernnadeln an allen Standorten nahezu unverändert (Tab.8). Das zeigt, daß Glutathion als Metabolit im antioxidativen System weiterhin zur Entgiftung von Sauerstoffspezies benötigt wird. Dazu ist es erforderlich, daß Glutathion ständig von der oxidierten (GSSG) in die reduzierte (GSH) Form überführt wird. Das Enzym Glutathionreduktase (GLR) katalysiert diese Umwandlung, wodurch eine effiziente Entgiftung von Sauerstoffspezies gewährleistet wird. Die Aktivität der GLR ist somit

Tab.15 Glutathionreduktaseaktivität (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1993.

	Glutathionreduktase (Unit*g^{-1} TG)		
Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
1993	5,53 ± 0,26 a; A	10,82 ± 0,41 b; A	11,25 ± 0,90 b; A
1994	4,61 ± 0,37 a; A	8,23 ± 0,21 b; B	8,80 ± 0,25 b; B
1995	5,08 ± 0,41 a; A	8,32 ± 0,33 b; B	8,62 ± 0,77 b; B

von entscheidender Bedeutung für die Aufrechterhaltung eines hohen Redoxzustandes im antioxidativen Entgiftungssystem der Kiefernnadeln. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen signifikante gebietsbezogene Differenzierungen (Tab.15). Besonders bemerkenswert sind die zeitlichen Änderungen in Taura und Rösa. An diesen Standorten werden seit 1994 signifikante Aktivitätsverringerungen gemessen. Im Gegensatz dazu haben sich die Gesamtglutathiongehalte nicht oder nur geringfügig geändert (Tab.11). Es ist anzunehmen, daß sich durch die Aktivitätsabnahme der GLR das GSH/GSSG-Verhältnis zum GSSG verschoben hat. SCHMIEDEN et al. (1993) haben gefunden, daß bei ansteigenden Ozonkonzentrationen das GSH/GSSG-

Verhältnis in Fichtennadeln verringert wird. Geringe Veränderungen im Redoxzustand von Glutathion führen bereits zur Beeinflussung der Proteinsynthese und stimulieren Alterungsprozesse (RENNENBERG 1982, GRILL et al. 1980). Besonders auffällig sind die im Vergleich

Tab.16 Gehalte von Gesamtascorbat (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1992.

	Ascorbat ($mg*g^{-1}$ TG)		
Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
1992	3,43 ± 0,17 a; A	3,34 ± 0,29 a; A	3,60 ± 0,30 a; A
1993	2,90 ± 0,08 a,b; A	2,80 ± 0,08 a; A	3,13 ± 0,08 b; A
1994	4,01 ± 0,09 a; A	4,07 ± 0,09 a; A	3,71 ± 0,08 b; A
1995	2,82 ± 0,09 a; B	3,26 ± 0,13 b; A	3,19 ± 0,12 a,b; A

zu Glutathion um ca. 10- bis 15-mal höher liegenden Gesamtgehalte von Ascorbat (Tab.16). Allerdings zeigen die Ascorbatgehalte weder gebietesgezogene Differenzierungen noch zeitliche Veränderungen. Die bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse lassen aber nicht erkennen, daß in Kiefernnadeln Ascorbat im Gegensatz zu Glutathion bevorzugt zur Abwehr reaktiver Sauerstoffspezies genutzt wird (POLLE & RENNENBERG 1994). Möglicherweise gibt es auch im Ascorbat/Dehydroascorbat-Verhältnis signifikante Gehaltsverschiebungen, die wie für das Glutathionsystem noch näher zu analysieren sind.

3.3 Schädigung

Die Belastung von Koniferen mit hohen SO_2- und NO_2-Konzentrationen führte bei Begasungsexperimenten unter kontrollierten Bedingungen und auch im Freiland zu Reduktionen der Photosynthese, Verringerungen im Chlorophyllgehalt und sichtbaren Schadsymptomen an den Assimilationsorganen (DARRELL 1989, SHAW et al. 1993). Die Schadsymptome werden meist durch Anreicherung oder Auswaschung von Nährelementen begleitet (RANTANEN et al. 1994).

Die in Tab.17 zusammengefaßten Ergebnisse zur Nadelnekrotisierung und Benadelung belegen, daß sich innerhalb der 5-jährigen Untersuchungen der Gesundheitszustand der Kiefernbestände nicht verbessert hat. Besonders an Nadeln der Altbestände von Rösa treten nach wie vor deutlich ausgeprägte Spitzennekrosen auf, die trotz verringerter SO_2-Immissionen nicht abgenommen haben. Die gleiche Entwicklung in der Nadelnekrosität und im Benadelungsgrad wurde an den Standorten Neuglobsow und Taura beobachtet. Trotz höherer S-Belastung in Taura zeigen die Nadeln allerdings wesentlich geringer ausgebildete Nekrosen. Auch die Ergebnisse der Pigmentanalysen geben zunächst wenig Aufschluß über diese gebietsbezogenen Differenzierungen

Tab.17 Nekrosesummen und Lebensdauer (Mittelwerte ± Standardfehler) von Kiefernnadeln des 1. und 2. Jahrganges der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Nekrosesummen	
1991	3,17 ± 0,13 a; A	3,34 ± 0,09 a; A	4,46 ± 0,16 b; A
1992	3,07 ± 0,09 a; A	3,10 ± 0,02 a; B	3,92 ± 0,07 b; B
1993	3,75 ± 0,14 a; A	3,85 ± 0,06 a; B	4,99 ± 0,10 b; B
1994	3,40 ± 0,10 a; A	3,93 ± 0,08 b; B	5,08 ± 0,05 c; B
1995	3,79 ± 0,05 a; B	3,89 ± 0,16 a; B	4,35 ± 0,09 b; A
		Lebensdauer	
1991	191,0 ± 6,5 a; A	200,6 ± 5,8 a; A	180,8 ± 8,5 a; A
1992	197,8 ± 9,0 a,b; A	221,2 ± 5,6 a; A	195,6 ± 3,5 b; A
1995	183,8 ± 8,5 a; A	194,2 ± 4,4 a; A	182,6 ± 8,1 a; A

und zeitlichen Veränderungen in der Nadelnekrosität. Die Nadeln in Taura und Rösa enthalten sogar signifikant höhere Chlorophyllgehalte als in Neuglobsow (Tab.18). In Rösa steigen seit 1991 bei hoher Nadelnekrosität die Pigmentgehalte kontinuierlich an. Aus Untersuchungen von

Tab.18 Gesamtchlorophyllgehalte (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1992.

	Chlorophyll a+b ($mg*g^{-1}$ TG)		
Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
1992	2,09 ± 0,12 a; A	2,62 ± 0,10 b; A	2,53 ± 0,05 b; A
1993	1,89 ± 0,03 a; A	2,30 ± 0,07 b; B	2,31 ± 0,05 b; B
1994	2,39 ± 0,06 a; A	2,80 ± 0,08 b; A	2,86 ± 0,06 b; B
1995	2,28 ± 0,07 a; A	2,86 ± 0,09 b; A	2,97 ± 0,07 b; B

PEREZ-SOBA et al. (1994) ist bekannt, daß die Chlorophyllgehalte in Kiefernnadeln nach NH_3-Exposition bei gleichzeitiger Akkumulation von Arginin stark erhöht sind. Erst später treten Chlorophyllverlust und sichtbare Schadsymptome an den Assimilationsorganen auf (VAN DIJK & ROELOFS 1988). Wie in Abb.16 gezeigt wird, steigt der Chlorophyllgehalt in den Kiefernnadeln an den drei Standorten mit zunehmender N-Ernährung an. Erst bei NPN Gehalten über 4 mg/g TG werden die Pigmente mit zunehmender Nadelnekrotisierung wieder verringert. Dieser Dosis-Wirkungs-Beziehung unterliegen wahrscheinlich auch die Kiefernbestände in Rösa, wo seit 1991 infolge verringerter NH_4-Depositionen (Abb.4c) die Chlorophyllgehalte wieder ansteigen. Wahrscheinlich werden bei optimaler N-Ernährung auch Chlorophyllverluste kompen-

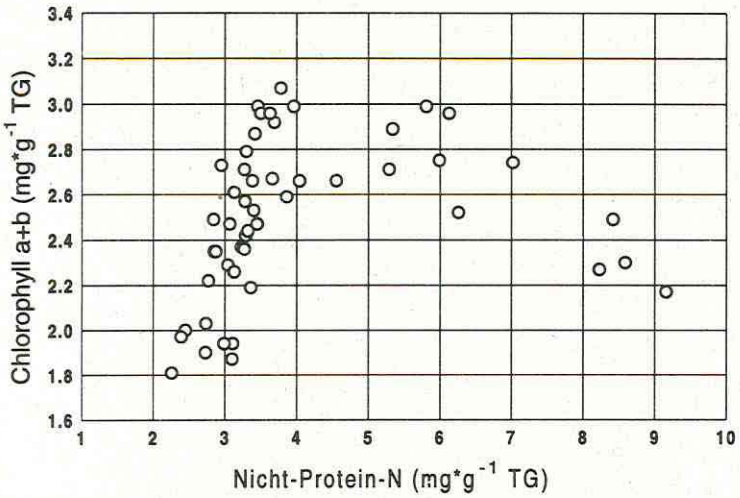


Abb.16 Beziehung zwischen dem Gesamtchlorophyll und Nicht-Protein-N in Kiefernnadeln der Altbestände.

Tab.19 Nährelementgehalte (Ca, K, Mg, Mn, Zn) (Mittelwerte ± Standardfehler) in Kiefernnadeln des 2. Nadeljahrganges der Altbestände. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei P<0,05) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante zeitliche Veränderungen in bezug auf 1991.

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Ca (mg*g^{-1} TG)	
1991	4,91 ± 0,34 a; A	5,59 ± 0,79 a,b; A	6,00 ± 0,19 b; A
1992	3,99 ± 0,34 a; A	5,10 ± 0,21 b; A	4,38 ± 0,25 a,b; B
1995	3,77 ± 0,16 a; B	5,08 ± 0,45 a,b; A	4,37 ± 0,14 b; B
		K (mg*g^{-1} TG)	
1991	4,86 ± 0,15 a,b; A	5,19 ± 0,28 a; A	4,40 ± 0,16 b; A
1992	4,90 ± 0,07 a; A	5,02 ± 0,23 a; A	4,65 ± 0,33 a; A
1995	4,08 ± 0,17 a; B	4,09 ± 0,33 a; B	4,06 ± 0,28 a; A
		Mg (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,74 ± 0,05 a; A	0,78 ± 0,03 a; A	0,77 ± 0,01 a; A
1992	0,68 ± 0,03 a; A	0,75 ± 0,06 a; A	0,68 ± 0,03 a; A
1995	0,52 ± 0,02 a; B	0,58 ± 0,06 a; B	0,55 ± 0,02 a; B
		Mn (mg*g^{-1} TG)	
1991	1,90 ± 0,13 a; A	0,89 ± 0,18 b; A	0,49 ± 0,07 b; A
1992	1,30 ± 0,12 a; B	1,01 ± 0,25 a,b; A	0,52 ± 0,10 b; A
1995	1,25 ± 0,13 a; B	1,00 ± 0,26 a,b; A	0,50 ± 0,08 b; A
		Zn (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,065 ± 0,003 a; A	0,046 ± 0,004 b; A	0,027 ± 0,003 c; A
1992	0,041 ± 0,005 a; B	0,037 ± 0,006 a; A	0,040 ± 0,004 a; B
1995	0,041 ± 0,003 a; B	0,039 ± 0,003 a; A	0,053 ± 0,006 a; B

siert die sonst schon im Vorfeld der Spitzennekrosen auftreten. Erst bei N-Überernährung (>4 mg NPN/g TG) kann der erhöhte Umsatz von funktionellen Chlorophyll-Proteinen (D1-Protein) nicht mehr durch die Proteinsynthese ausgeglichen werden, so daß der Abbau gegenüber der Neusynthese von Chlorophyll-Proteinen überwiegt (DANNEHL et al. 1995). Gleichzeitig treten Ernährungsstörungen bei anderen Elementen auf. Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnisse sind davon besonders die eineinhalbjährigen Kiefernnadeln betroffen (Tab.19). Von 1991 bis 1995 haben sich die Magnesiumgehalte an allen drei Standorten deutlich verringert. Mit Gehalten unter 0,6 mg/g TG sind die Nadeln mit Magnesium nur noch gering versorgt, während die Gehalte von Ca, K, Mn und Zn noch im Bereich ausreichender Versorgung liegen.

4. Schlußfolgerungen

Mit Hilfe von verschiedenen Indikationsparametern des S- und N-Stoffwechsels sowie des antioxidativen Entgiftungssystems wurden die Auswirkungen sich zeitlich ändernder Immissionen und Depositionen von S- und N-haltigen luftgetragenen Fremdstoffen (SO_2, NO_x, SO_4^{2-}, NO_3^-, NH_4^+) auf Kiefernnadeln von Jung- und Altbeständen an drei unterschiedlich belasteten Standorten (Neuglobsow, Taura, Rösa) untersucht.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, daß im Zeitraum 1991-1995 die Einträge von Sulfat, Nitrat und Ammonium mit dem Bestandesniederschlag an allen Standorten abnehmen. Signifikante Depositionsverringerungen lassen sich allerdings nur für Sulfat und Ammonium nachweisen. Die Einträge von Nitrat nehmen in bezug auf 1991 tendenziell ab. Eine ansteigende Tendenz wird für die Stickoxid- und Ozonkonzentrationen in der Umgebungsluft beobachtet. Die SO_2-Immissionen unterliegen mit 36-75% weitaus höheren Reduktionsraten als die Depositionen von Sulfat (16-23%). Wahrscheinlich nimmt das Oxidationspotential in der Atmosphäre zu.

Die wirkungsbezogenen Indikationsparameter spiegeln die gebietsbezogenen Unterschiede und zeitlichen Veränderungen in der Immissions- und Depositionsbelastung klar wider. Besonders deutlich korrelieren die Sulfatgehalte der Nadeln mit der SO_2-Konzentration in der Umgebungsluft der Kiefernstandorte. Entsprechend der Immissionssenkungen verringern sich auch die Sulfatgehalte der Nadeln an allen Standorten. In Rösa z.B. von 0,65 auf 0,35 mg Sulfat-S/g TG. Im Gegensatz dazu unterliegen die Gehalte der löslichen Nicht-Protein-N (NPN) Fraktion geringeren zeitlichen Veränderungen. Ansteigende NPN Gehalte werden nur in Taura beobachtet, wo auch der Gesamtschwefelgehalt ansteigt. Mit Verringerung der SO_2-Konzentration in der Umgebungsluft nehmen die Kiefern Schwefel in Form von Sulfat nun bevorzugt über die Wurzeln auf. Die Nadeln enthalten an den noch stärker mit Schwefeldioxid belasteten Standorten Taura und Rösa zunehmend mehr organischen Schwefel. Das deutet darauf hin, daß durch die Verringerung der SO_2-Immissionen die Kiefern stärker als bisher Schwefel auf reduktivem Weg metabolisieren. Die oxidative S-Entgiftung, bei der neben Sulfat auch reaktive Sauerstoffspezies gebildet werden, verliert damit immer mehr an Bedeutung.

Die Untersuchungsergebnisse zum antioxidativen Entgiftungssystem ordnen sich in die Befunde zur S-Assimilation nicht ein. Obwohl die Sulfatgehalte der Nadeln deutlich abgenommen haben, bleiben die Aktivitäten der Enzyme Superoxiddismutase und Peroxidase sowie die Gehalte von Glutathion und Ascorbat auf einem hohem Niveau. Die Aktivität der Superoxid-

dismutase, die Sauerstoffradikale auf enzymatischem Weg entgiftet, wird im Untersuchungszeitraum signifikant erhöht. Die Kiefern bzw. ihre Nadeln werden weiterhin durch oxidativem Streß belastet. Darauf deuten auch die seit 1991 an allen Standorten angestiegenen Nadelnekrosen hin. Vermutlich sind dafür die in der Atmosphäre zunehmenden oxidativen Belastungen verantwortlich, die aufgrund guter bis optimaler Stickstoffernährung der Nadeln aber noch zu keinen sichtbaren Pigmentausbleichungen geführt haben.

Mit Hilfe von Korrelationsanalysen wurden enge Beziehungen zwischen verschiedenen S- und N-Fraktionen sowie anderen biochemischen Parametern gefunden. Bei Nadelgehalten von ca. 4 mg NPN/g TM und bei Sulfat-S Gehalten von mehr als 0,37 mg/g TM erreichen die Gehalte von Protein-S bzw. Protein-N ein Optimum. Bei Überschreitung der Schwellenwerte treten Störungen im S/N-Stoffwechsel auf, die zu einer verringerten Proteinsynthese, Überforderung des antioxidativen Systems und Pigmentabbau führen.

Mit den biochemischen Wirkungserhebungen kann im Untersuchungszeitraum 1991-1995 trotz rückläufiger Tendenz des atmosphärischen SO_2 kein signifikanter Regenerationseffekt auf die Vitalität der Kiefernbestände nachgewiesen werden. Der Gesundheitszustand der Kiefern bleibt an allen drei Standorten bei unverändert hoher Stickstoffaufnahme und ansteigenden Ozonkonzentrationen weiterhin angespannt.

5. Berichte und Publikationen

5.1 Berichte

SANA Jahresbericht 1991. Biomonitoring: Borke, Benadelung, biochemische und ökophysiologische Variable (D 1.1).

SANA Jahresbericht 1992. Biomonitoring: Borke, Benadelung, biochemische und ökophysiologische Variable (E 1.1).

SANA Jahresbericht 1993. Biochemische Frühindikation (E 1.8).

SANA Jahresbericht 1994. Biochemische Frühindikation (E 1.8).

5.2 Publikationen

Härtling, S., und H. Schulz (1995), Ascorbat- und Glutathiongehalt in verschiedenartig schadstoffbeeinflußten Nadeln von *Pinus sylvestris* L., Forstw. Cbl., Bd. 114, 40-49

Härtling, S., und H. Schulz (1995), Field studies on young Scots pine: Effects of air pollutants on the antioxidant system, Fresenius Envir. Bull., Bd. 4, 215-220

Härtling, S., Sagan, D., und H. Schulz (1995), Glutathione S-Transferase in needles of Scots pine (*Pinus sylvestris*) from field, Fresenius Envir. Bull., Bd. 4, 737-742

Huhn, G., Schulz, H., Stärk, H-J., Tölle, R., und G. Schüürmann (1995), Evaluation of regional heavy Deposition by multivariate analysis of element contents in pine tree barks, Water, Air and Soil Pollution., Bd. 84, 367-383

Huhn, G., Mattusch, J., und H. Schulz (1995), Determination of polyamines in biological materials by using HPLC with FMOC precolumn derivatization, Fresenius J. Anal. Chem., Bd. 351, 563-566

Huhn, G., und H. Schulz (in press), Contents of Free Amino Acids of Scots Pine Needles from Field Sites with Different Levels of Nitrogen Deposition, New Phytol.

Schulz, H., Huhn, G., Niehus, B., Liebergeld, G., und G. Schüürmann (in press), Determination of throughfall rates on the basis of pine tree barks: Results of a field study, Journal of Air & Waste Management

Schulz, H., Huhn, G., und S. Härtling (1995), Akkumulation von luftgetragenen Spurenstoffen in Kiefernökosystemen und deren Einfluß auf biochemische Prozesse (Biochemische Indikation), in: Atmosphärensanierung und Waldökosysteme, Hüttl, R. F., Bellmann, K., und W. Seiler (Hrsg.), 180-196, Eberhard Blottner Verlag, Taunusstein

Schulz, H., Huhn, G., Härtling, S., und G. Schüürmann (1995a), Biochemical responses in needles of Scots pine (Pinus sylvestris) from air polluted field sites in Eastern Germany, in : Air Pollution III, Vol. 4 Observation and simulation of air pollution: results from SANA and EUMAC (EUROTRAC), Ebel, A., and N. Moussiopoulos (Eds.), 33-42, Computational Mechanics Publications, Southampton, Boston

6. Literatur

Asada, K. (1980), Formation and scavenging of superoxide in chloroplasts, with relation to injury by sulfur dioxide. Studies on the effects of air pollutants on plants and mechanisms of phytotoxicity, National Institute Environment Studies, Research Report, Bd. 11, 165-179

Asada, K., und M. Takahashi (1987), Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, in: Photoinhibition, Kyle, D., Osmond, C., und C. Arntzen, (Hrsg.), 222-287, Elsevier Scientific Publishers BV, Amsterdam

Bradford, M.M. (1976), A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, Anal. Biochem. Bd. 72, 248-254

Dannehl, H., Herbik, A., und D. Godde (1995), Stress-induced degradation of the photosynthetic apparatus is accompanied b changes in thylakoid protein turnover and phosphorylation, Physiol. Plant., Bd. 93, 179-186

Darrell, N. (1989), The effect of air pollutants on physiological processes in plants, Plant Cell Environm., Bd. 12, 1-30

De Kok, L. (1990), Sulfur metabolism in plants exposed to atmospheric sulfur, in: Sulfur nutrition and sulfur assimilation, Rennenberg, H., Brunold, Ch., de Kok, L. und I. Stulen, (Hrsg.), 111-131, The Netherlands: SPB Academic Publishing BV, The Hague

Dijkshoorn, W., und A. L. van Wijk (1966), The sulfur requirements of plants as evidenced by the sulfur-nitrogen ratio in the organic matter - a review of published data, Plant and Soil, Bd. 26, 129-157

Edfast, A.-B., Näsholm, T., und A. Ericsson (1990), Free amino acid concentrations in needles of Norway spruce and Scots pine trees on different sites in areas with two levels of nitrogen deposition, Can. J. For. Res., Bd. 20, 1132-1136

Elstner, E. F. (1987), Metabolism of activated oxygen species, in: Biochemistry of plants - a comprehensive treatise, Biochemistry of metabolism. Bd. 11, P. K. Stumpf, und E. E. Conn, (Hrsg.), 253-315, Academic Press, New York

Fangmeier, A., Hadwiger-Fangmeier, A., van der Eerden, L., und H. J. Jäger (1994), Effects of atmospheric ammonia on vegetation - a review, Environ. Pollut., Bd. 86, 43-82

Fischer, T., Bergmann, C., und R. F. Hüttl (1995), Auswirkungen sich zeitlich ändernder Schadstoffdepositionen auf Prozesse des Kohlenstoff- und Stickstoffumsatzes im Boden, in: Atmosphärensanierung und Waldökosysteme, Hüttl, R. F., Bellmann, K., und W. Seiler (Hrsg.), 87-111, Eberhard Blottner Verlag, Taunusstein

Foyer, C. H., Lelandais, M., und K. J. Kunert (1994), Photooxidative Stress in Plants, Physiol. Plant. Bd. 92, 696-717

Gasch, G., Grünhage, L., Jäger H.-J., und K.-F. Wentzel (1988), Das Verhältnis der Schwefelfraktionen in Fichtennadeln als Indikator für Immissionsbelastungen durch Schwefeldioxid, Angew. Botanik, Bd. 62, 73-84

Grill, D., Esterbauer, H., Scharner, M., und Ch. Felgitsch (1980), Effect of sulfur-dioxide on protein-SH in needles of *Picea abies*, Eur. J. For. Path., Bd. 10, 263-267

Härtling, S., und H. Schulz (1995), Ascorbat- und Glutathiongehalt in verschiedenartig schadstoffbeeinflußten Nadeln von *Pinus sylvestris* L., Forstw. Cbl., Bd. 114, 40-49

Härtling, S., Sagan, D., und H. Schulz (1995), Glutathione S-Transferase in needles of Scots pine (*Pinus sylvestris*) from field, Fresenius Envir. Bull., Bd. 4, 737-742

Hausladen, A., Madamachani, N. R., Fellows, S., Alscher, R., und R. G. Amundson (1990), Seasonal changes in antioxidants in red spruce as affected by ozone. New Phytol. 115, 447-458

Herschbach, C., und H. Rennenberg (1994), Influence of glutathione (GSH) on net uptake of sulfate and sulfate transport in tobacco plants, J. Exper. Botany, Bd. 45, 1069-1076

Hofmann, G., Heinsdorf, D., und H.-H. Krauß (1990), Wirkung atmogener Stickstoffeinträge auf Produktivität und Stabilität von Kiefern-Forstökosystemen, Beitr. Forstwirtsch., Bd. 24, 59-73

Hüve, K., Dittrich, A., Kindermann, G., Slovik, S., und U. Heber (1995), Detoxification of SO_2 in conifers differing in SO_2-tolerance, Planta, Bd. 195, 578-585

Huttunen, S., und E. Heiska (1988), Superoxide dismutase (SOD) activity in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) and Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) needles in northern Finland, Eur. J. For. Path., Bd. 18, 343-350

Huhn, G., Schulz, H., Stärk, H-J., Tölle, R., G. Schüürmann (1995), Evaluation of regional heavy deposition by multivariate analysis of element contents in pine tree barks, Water, Air and Soil Pollution., Bd. 84, 367-383

Kaiser, W., Dittrich, A., und U. Heber (1993), Sulfate concentrations in Norway spruce needles in relation to atmospheric SO_2: a comparison of trees from various forests in Germany with trees fumigated with SO_2 in growth chambers, Tree Physiol., Bd. 12, 1-13

Kaupenjohann, M., Döhler, H., und M. Bauer (1989), Effects of N-emissions on nutrient status and vitality of *Pinus sylvestris* near a hen-house, Plant and Soil, Bd. 113, 279-282

Kindermann, G., Hüve, K., Slovik, S., Lux, H., und H. Rennenberg (1995), Emission of hydrogen sulfide by twigs of conifers - A comparison of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst), Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) and Blue spruce (*Picea pungens Engelm).* Plant and Soil, Bd. 169, 421-423

Latzko, E., und G. J. Kelly (1983),The many-faced function of phosphoenolpyruvate carboxylase in C3-plants, Physiol. Veg., Bd. 21, 805-815

Lichtenthaler, H. K., und A. R Wellburn (1983), Determinations of total carotinoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents, Biochem. Soc. Trans., Bd. 603, 591-592

Madamachani, N., und R. Alscher (1991), Metabolic basis for differences in sensitivity of two pea cultivars to sulfur dioxide, Plant Physiol., Bd. 97, 88-93

Manninen, S., und S. Huttunen (1991), Needle and lichen sulfur analyses on two industrial gradients, Water, Air and Soil Pollution, Bd. 59, 153-163.

Menz, H. (1991), Der Einfluß von Luftschadstoffen und bodenchemischen Faktoren auf den Gehalt von Aminosäuren und phenolischen Sekundärstoffen in den Nadeln der Fichte (*Picea abies* (L.) KARST.), Diplomarbeit, Universität zu Köln

Näsholm, T. (1994), Removal of nitrogen during needle senescence in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), Oecologia, Bd. 99, 290-296

Pérez-Soba, M., und L. J. M. van der Eerden (1993), Nitrogen uptake in needles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) when exposed to gaseous ammonia and ammonium fertilizer in the soil, Plant and Soil, 153, Bd. 231-242

Pérez-Soba, M., Stulen, I., und L. J. M. van der Eerden (1994), Effect of atmospheric ammonia on the nitrogen metabolism of Scots pine (*Pinus sylvestris*) needles, Physiol. Plant., Bd. 90, 629-635

Pflugmacher, S., und P. Schröder (1995), Glutathione S-transferases in trees: Inducibility by various organic xenobiotics, Z. Pflanzenernähr. Bodenk., Bd. 158, 71-73

Pietilä, M., Lähdesmäki, P., Pietiläinen, P., Ferm, A., Hytönen, J., und A. Pätilä (1991), High nitrogen deposition causes changes in amino acid concentrations and protein spectra in needles of the Scots pine (*Pinus sylvestris*), Environ. Pollut., Bd. 72, 103-115

Polle, A., Chakrabarti, K., Schürmann, W., und H. Rennenberg (1990), Composition and properties of hydrogen peroxide decomposing systems in extracellular and total extracts from needles of Norway spruce (*Picea abies* L., Karst.), Plant Physiol., Bd. 94, 312-319

Polle, A., Eiblmeier, M., und H. Rennenberg (1994), Sulphate and antioxidants in needles of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) from three SO_2-polluted field sites in eastern Germany, New Phytol., Bd. 127, 571-577

Polle, A., und H. Rennenberg (1994), Photooxidative sress in trees, in: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, Foyer, C., H., und P. M. Mullineaux, (Hrsg.), 199-217, CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo

Rennenberg, H., (1982), Glutathione metabolism and possible biological role in higher plants, Phytochemistry., Bd. 21, 2771-2781

Rennenberg, H., und A. Polle (1994), Metabolic consequences of atmospheric sulfur influx into plants. In: Alscher R.G, A. R. Wellburn (Eds.) Plant responses to the gaseous environment. Molecular, metabolic and physiological aspects, 165-180, Chapman and Hall, Cambridge University Press.

Rantanen, L., Palomäki V., Harrison, A. F., Lucas, P. W., und T. A. Mansfield (1994), Interactions between combined exposure to SO_2 and NO_2 and nutrient status of trees: effects on nutrient content and uptake, growth, needle ultrastructure and pigments, New Phytol., Bd. 128, 689-701

Richter, C. M., Kranig, S., und A. Wild (1995), Contents of free amino acids in needles of Norway spruce trees in relation to novel forest decline. Studies on trees from a site in the northern Black Forest, Environ. Pollut., Bd. 87, 303-312

Schmieden, U., Schneider, S., und A. Wild (1993) Glutathione status and glutathione reductase activity in spruce needles of healthy and demaged trees at two mountain sites, Environ. Pollut., Bd. 82, 239-244

Schröder, P., Pflugmacher, S., und H. Rennenberg (1992), Biomarker für organische Schadstoffe in Fichten (*Picea abies* L.): Dynamik des Entgiftungsenzyms Glutathion S-Transferase, Angew. Bot., Bd. 66, 174-179

Schulz, H. (1981), Enzymatisch-ökologische Untersuchungen an einigen Bodenpflanzen eines naturnahen Berg-Fichtenwaldes. Methodik der Probenahme, Probenaufbereitung und Enzymextraktion, Flora, Bd. 169, 135-149

Schulz, H. (1983), Aktivitätsbestimmung der Superoxid-Dismutase-Isoenzyme von *Pinus sylvestris* Nadeln im Polyacrylamidgel, Biochem. Physiol. Pflanzen, Bd. 178, 249-261

Schulz, H. (1985), Aktivitätsbestimmung von Peroxidase-Isoenzymen in Nadeln von *Pinus sylvestris*, Biochem. Physiol. Pflanzen, Bd. 180, 177-192

Schulz, H., Huhn, G., Härtling, S., und G. Schüürmann (1995), Biochemical responses in needles of Scots pine (Pinus sylvestris) from air polluted field sites in Eastern Germany, in : Air Pollution III, Bd. 4, Observation and simulation of air pollution: results from SANA and EUMAC (EUROTRAC), Ebel, A., and N. Moussiopoulos (Hrsg.), 33-42, Computational Mechanics Publications, Southampton, Boston

Shaw, P. J. A., Holland, M. R., Darrall, N. M., und A. R. Mc Leod (1993), The occurrence of SO_2-related foliar symptoms on Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in an open-air forest fumigation experiment, New Phytol., Bd. 123, 143-152

Slovik, S., Heber, U., Kaiser, W., Kindermann, G., und Ch. Körner (1992), Quantifizierung der physiologischen Kausalkette von SO_2-Immissionsschäden, Allgemeine Forst Zeitschrift, Bd. 17, 914-920

Slovik, S., Siegmund, A., Kindermann, G., Riebeling, R., und A. Balazs (1995), Stomatal SO_2 uptake and sulfate accumulation in needles of Norway spruce stands (*Picea abies*) in Central Europe, Plant and Soil, Bd. 168-169, 405-419

Spindler, G., Brüggemann, E., Rolle, W., und D. Theiss (1995), Immission and dry deposition of the trace gases O_3 and SO_2 leewards of a conurbation over longer time, in: Air Pollution III, Bd. 4: Observation and Simulation of Air Pollution: Results from SANA and EUMAC, Ebel, A., und N. Moussiopoulos (Hrsg.), 15-23, Computational Mechanics Publications, Southampton Boston

Tietz, S., und A. Wild (1990), Investigations on the Phosphoenolpyruvate Carboxylase Activity of Spruce Needles Relative to the Occurrence of Novel Forest Decline, J. Plant Physiol., Bd. 137, 327-331

Van der Eerden, L. J. M., und M. G. F. J. Perez-Soba (1992), Physiological responses of *Pinus sylvestris* to atmospheric ammonia, Trees, Bd. 6, 48-53

Van Dijk, H. F. G., und J. G. M. Roelofs (1988), Effects of excessive ammonium deposition on the nutritional status and condition of pine needles, Physiol. Plant., Bd. 73, 494-501

Weisdorfer, M., Schaaf, W., und R. F. Hüttl (1995), Auswirkungen sich zeitlich ändernder Schadstoffdepositionen auf Stofftransport und -umsetzung im Boden, in: Atmosphärensanierung und Waldökosysteme, Hüttl, R. F., Bellmann, K., und W. Seiler (Hrsg.), 56-74, Eberhard Blottner Verlag, Taunusstein

Wingsle, G., und J.-E. Hällgren (1993), Influence of SO_2 and NO_2 exposure on glutathione, superoxide dismutase and glutathione reductase activities in Scots pine needles, J. Exper. Botany, Bd. 44, 463-470

Zedler, B., Plarre, R., und G. M. Rothe (1986), Impact of Atmospheric Pollution on the Protein and Amino Acid Metabolism of Spruce *Picea abies* Trees, Environ. Pollut. Ser. A., Bd. 40, 193-212

7. Anhang

Gehalte von S-Fraktionen, N-Fraktionen, antioxidativer Enzyme, Gesamtascorbat, Chlorophyll und Nährelemente (Mittelwerte ± Standardfehler) in halbjährigen Kiefernnadeln der Jungbestände sowie Parameter der Nadelbonitur. Mittelwertsunterschiede wurden mit dem U-Test nach Mann Whitney (Signifikanz bei $P<0,05$) getestet. Verschiedene kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Testgebieten an. Verschiedene große Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in bezug auf 1991, 1992 bzw. 1993.

S-Fraktionen

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Schwefel (mg*g^{-1} TG)	
1991	1,16 ± 0,03 a; A	1,67 ± 0,09 b; A	1,69 ± 0,01 b; A
1992	1,02 ± 0,03 a; B	1,66 ± 0,07 b; A	1,65 ± 0,04 b; A
1993	1,13 ± 0,02 a; A	1,65 ± 0,13 b; A	1,63 ± 0,04 b; A
1994	1,08 ± 0,02 a; B	1,62 ± 0,09 b; A	1,52 ± 0,03 b; A
1995	1,08 ± 0,02 a; B	1,59 ± 0,08 b; A	1,61 ± 0,05 b; A
		Sulfat-Schwefel (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,25 ± 0,02 a; A	0,54 ± 0,02 b; A	0,52 ± 0,03 b; A
1992	0,23 ± 0,01 a; A	0,54 ± 0,05 b; A	0,51 ± 0,01 b; A
1993	0,20 ± 0,02 a; A	0,53 ± 0,03 b; A	0,49 ± 0,02 b; A
1994	0,14 ± 0,03 a; B	0,41 ± 0,04 b; B	0,31 ± 0,02 b; B
1995	0,15 ± 0,02 a; B	0,32 ± 0,04 b; B	0,32 ± 0,02 b; B
		org. Schwefel (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,91 ± 0,04 a; A	1,13 ± 0,07 b; A	1,17 ± 0,03 b; A
1992	0,79 ± 0,03 a; B	1,12 ± 0,04 b; A	1,14 ± 0,04 b; A
1993	0,93 ± 0,02 a; A	1,11 ± 0,10 a,b; A	1,14 ± 0,04 b; A
1994	0,94 ± 0,02 a; A	1,21 ± 0,07 b; A	1,21 ± 0,03 b; A
1995	0,93 ± 0,02 a; A	1,27 ± 0,08 b; A	1,29 ± 0,04 b; B
		Glutathion (µg*g^{-1} TG)	
1992	299 ± 12 a; A	445 ± 27 b; A	520 ± 32 b; A
1993	322 ± 12 a; A	423 ± 20 b; A	475 ± 25 b; A
1994	325 ± 20 a; A	494 ± 30 b; A	472 ± 11 b; A
1995	279 ± 11 a; A	429 ± 17 b; A	409 ± 12 b; B
		Cystein (µg*g^{-1} TG)	
1993	6,07 ± 0,19 a; A	9,13 ± 0,82 b; A	10,32 ± 0,61 b; A
1994	5,12 ± 0,25 a; B	10,34 ± 0,93 b; A	9,48 ± 0,27 b; A
1995	6,06 ± 0,22 a; A	10,67 ± 0,57 b; A	10,47 ± 0,57 b; A

N-Fraktionen

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Stickstoff (mg*g^{-1} TG)	
1991	14,8 ± 0,3 a; A	15,4 ± 0,9 a,b; A	16,5 ± 0,5 b; A
1992	12,2 ± 0,2 a; B	14,1 ± 0,7 a,b; A	14,9 ± 0,2 b; A
1993	13,7 ± 0,4 a; B	16,3 ± 1,2 a,b; A	16,2 ± 0,3 b; A
1994	14,1 ± 0,2 a; A	17,3 ± 0,9 b; A	16,2 ± 0,3 b; A
1995	14,5 ± 0,5 a; A	16,8 ± 1,2 a; A	16,5 ± 0,6 a; A
		Nicht-Protein-Stickstoff (mg*g^{-1} TG)	
1991	2,9 ± 0,1 a; A	3,6 ± 0,4 a,b; A	3,4 ± 0,2 a; A
1992	2,2 ± 0,1 a; B	2,7 ± 0,1 b; A	3,2 ± 0,1 c; A
1993	3,0 ± 0,1 a; A	3,8 ± 0,4 a,b; A	3,3 ± 0,1 a; A
1994	3,0 ± 0,1 a; A	3,7 ± 0,3 b; A	3,3 ± 0,1 a; A
1995	3,0 ± 0,1 a; A	4,0 ± 0,5 a; A	3,2 ± 0,1 a; A
		Protein-Stickstoff (mg*g^{-1} TG)	
1991	11,9 ± 0,3 a; A	11,8 ± 0,5 a,b; A	13,1 ± 0,4 b; A
1992	10,0 ± 0,3 a; B	11,4 ± 0,6 a,b; A	11,8 ± 0,2 b; B
1993	10,7 ± 0,3 a; B	12,5 ± 0,8 a,b; A	12,8 ± 0,3 b; A
1994	11,1 ± 0,2 a; B	13,6 ± 0,7 b; A	12,9 ± 0,2 b; A
1995	11,5 ± 0,5 a; A	12,8 ± 0,7 a; A	13,3 ± 0,5 a; A
		lösliches Protein (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,80 ± 0,17 a; A	4,37 ± 1,11 b; A	5,84 ± 0,69 b; A
1992	2,83 ± 0,36 a; B	6,28 ± 0,75 b; A	7,73 ± 1,12 b; A
1993	1,51 ± 0,12 a; B	3,53 ± 0,89 a,b; A	3,74 ± 0,74 b; A
1994	3,19 ± 0,14 a; B	7,57 ± 1,05 b; A	5,55 ± 0,40 b; A
1995	1,59 ± 0,23 a; B	3,93 ± 0,66 b; A	4,75 ± 0,89 b; A
		Glutamin (µg*g^{-1} TG)	
1993	102 ± 7 a; A	165 ± 30 a,b; A	186 ± 18 b; A
1994	50 ± 37 a; B	228 ± 45 b; A	180 ± 14 b; A
1995	51 ± 6 a; B	139 ± 31 b; A	122 ± 18 b; B
		Arginin (µg*g^{-1} TG)	
1993	76 ± 19 a; A	882 ± 476 a,b; A	262 ± 21 b; A
1994	30 ± 2 a; A	1545 ± 675 b; A	603 ± 248 b; A
1995	20 ± 4 a; A	2604 ± 1517 b; A	134 ± 55 b; A

Antioxidative Enzyme und Gesamtascorbat

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		SOD 1 (Unit*mg^{-1} TG)	
1991	0,29 ± 0,03 a; A	0,80 ± 0,11 b; A	0,78 ± 0,04 b; A
1992	0,80 ± 0,10 a; B	1,20 ± 0,06 b; B	1,39 ± 0,09 b; B
1993	0,56 ± 0,10 a; B	1,22 ± 0,38 b; A	1,10 ± 0,12 b; B
1994	1,18 ± 0,06 a; B	1,78 ± 0,13 b; B	1,63 ± 0,05 b; B
1995	0,76 ± 0,06 a; B	1,17 ± 0,10 b; A	1,31 ± 0,15 b; B
		SOD 3 (Unit*mg^{-1} TG)	
1991	0,39 ± 0,04 a; A	0,91 ± 0,10 b; A	0,95 ± 0,03 b; A
1992	0,86 ± 0,09 a; B	1,15 ± 0,03 b; A	1,30 ± 0,09 b; B
1993	0,47 ± 0,04 a; A	1,17 ± 0,15 b; A	1,12 ± 0,11 b; A
1994	1,07 ± 0,06 a; B	1,54 ± 0,18 b; B	1,27 ± 0,04 a,b; B
1995	0,60 ± 0,06 a; B	0,98 ± 0,06 b; A	1,13 ± 0,15 b; A
		POD 2 (ΔE*min^{-1}*mg^{-1} TG)	
1991	0,066 ± 0,004 a; A	0,116 ± 0,015 b; A	0,180 ± 0,013 c; A
1992	0,124 ± 0,017 a; B	0,117 ± 0,005 a; A	0,123 ± 0,005 a; B
1993	0,103 ± 0,008 a; B	0,181 ± 0,020 b; A	0,175 ± 0,008 b; A
1994	0,173 ± 0,011 a; B	0,188 ± 0,025 a,b; B	0,135 ± 0,009 b; B
1995	0,123 ± 0,009 a; B	0,160 ± 0,012 a; A	0,146 ± 0,016 a; A
		POD 4 (ΔE*min^{-1}*mg^{-1} TG)	
1991	0,105 ± 0,001 a; A	0,151 ± 0,015 b; A	0,228 ± 0,019 c; A
1992	0,142 ± 0,011 a; A	0,135 ± 0,007 a; A	0,155 ± 0,009 a; B
1993	0,135 ± 0,013 a; A	0,167 ± 0,009 a; A	0,158 ± 0,005 a; B
1994	0,160 ± 0,006 a; B	0,180 ± 0,011 a; A	0,168 ± 0,003 a; B
1995	0,166 ± 0,003 a; B	0,190 ± 0,007 b; A	0,183 ± 0,005 b; A
		Glutathionreduktase (Unit*g^{-1} TG)	
1993	5,99 ± 0,47 a; A	9,46 ± 0,63 b; A	11,12 ± 0,26 c; A
1994	4,14 ± 0,35 a; B	5,84 ± 0,35 b; B	6,81 ± 0,34 b; B
1995	4,31 ± 0,35 a; A	6,39 ± 0,61 b; B	6,27 ± 0,27 b; B
		Ascorbat (mg*g^{-1} TG)	
1992	1,99 ± 0,28 a; A	2,60 ± 0,11 b; A	3,61 ± 0,32 c; A
1993	2,73 ± 0,19 a; B	2,73 ± 0,22 a; A	2,75 ± 0,16 a; B
1994	2,90 ± 0,22 a B	3,29 ± 0,13 a; B	3,29 ± 0,22 a; A
1995	2,74 ± 0,30 a; A	2,81 ± 0,22 a; A	2,98 ± 0,26 a; A

Gesamtchlorophyllgehalte

	Chlorophyll a+b (mg*g^{-1} TG)		
Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
1992	2,04 ± 0,13 a; A	2,43 ± 0,16 a,b; A	2,81 ± 0,14 b; A
1993	1,90 ± 0,10 a; A	2,66 ± 0,20 b; A	2,48 ± 0,11 b; A
1994	2,60 ± 0,08 a; B	3,51 ± 0,24 b; B	3,30 ± 0,08 b; B
1995	2,65 ± 0,20 a; B	3,31 ± 0,16 a; B	3,19 ± 0,14 a; A

Nährelementgehalte (eineinhalbjährige Nadeln)

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Ca (mg*g^{-1} TG)	
1991	3,91 ± 0,22 a; A	4,35 ± 0,25 a; A	5,98 ± 0,36 b; A
1992	4,18 ± 0,24 a; A	3,93 ± 0,13 a; A	4,50 ± 0,31 a; B
1995	3,46 ± 0,34 a,b; A	3,17 ± 0,21 a; B	4,13 ± 0,20 b; B
		K (mg*g^{-1} TG)	
1991	4,39 ± 0,23 a; A	4,42 ± 0,19 a; A	4,89 ± 0,16 a; A
1992	4,59 ± 0,08 a; A	5,65 ± 0,35 b; B	4,64 ± 0,26 a,b; A
1995	3,91 ± 0,29 a; A	4,48 ± 0,19 a; A	4,20 ± 0,17 a; B
		Mg (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,69 ± 0,06 a; A	0,66 ± 0,07 a,b; A	0,95 ± 0,04 b; A
1992	0,66 ± 0,02 a; A	0,78 ± 0,08 a,b; A	0,90 ± 0,05 b; A
1995	0,59 ± 0,05 a,b; A	0,49 ± 0,03 a; B	0,72 ± 0,04 b; B
		Mn (mg*g^{-1} TG)	
1991	1,52 ± 0,09 a; A	0,81 ± 0,10 b; A	0,38 ± 0,07 c; A
1992	1,20 ± 0,08 a; B	0,71 ± 0,13 b; A	0,31 ± 0,08 b; A
1995	0,82 ± 0,14 a; B	0,64 ± 0,15 a,b; A	0,25 ± 0,06 b; A
		Zn (mg*g^{-1} TG)	
1991	0,059 ± 0,003 a; A	0,048 ± 0,005 a; A	0,032 ± 0,004 b; A
1992	0,034 ± 0,003 a; B	0,032 ± 0,001 a; B	0,033 ± 0,003 a; A
1995	0,044 ± 0,002 a; B	0,037 ± 0,004 a; A	0,037 ± 0,002 a; A

Parameter der Nadelbonitur

Jahr	Neuglobsow	Taura	Rösa
		Nekrosesummen	
1991	3,05 ± 0,09 a; A	3,28 ± 0,06 a; A	3,53 ± 0,22 a; A
1992	2,84 ± 0,05 a; A	2,97 ± 0,08 a; B	3,43 ± 0,08 b; A
1993	3,34 ± 0,14 a; A	3,52 ± 0,16 a,b; A	4,01 ± 0,15 b; A
1994	2,95 ± 0,11 a; A	3,14 ± 0,14 a; A	3,89 ± 0,16 b; A
1995	3,00 ± 0,19 a; A	2,97 ± 0,09 a; B	3,19 ± 0,16 a; A
		Lebensdauer	
1991	208,2 ± 3,6 a; A	214,8 ± 7,6 a; A	192,2 ± 5,8 a; A
1992	231,4 ± 4,2 a,b; A	256,8 ± 10,5 a; B	216,4 ± 6,6 b; B
1995	217,0 ± 3,6 a; A	238,8 ± 8,5 a; A	235,4 ± 8,9 a; B

Sektion Chemische Ökotoxikologie
UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH
Permoserstraße 15
04318 Leipzig
Telefon 0341/235-2309
Telefax 0341/235-2401