

**PFLANZENTOXISCHE ORGANISCHE SCHADSTOFFE
UND ENZYMATISCHE REAKTIONEN IN FICHTEN
EMITTENTENFERNER WALDSTANDORTE
ÖSTERREICHS**

**Teil 1: Nitrophenole, leichtflüchtige halogenierte
Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure in
Fichtennadeln**

Peter Weiss

**Teil 2: Glutathion-S-Transferase- und Glucosyltransferase-
Aktivität in Fichtennadeln**

Peter Schröder, Burkhard Meßner, Peter Weiss

MONOGRAPHIEN

Band 123

M-123

Wien, 2000

Autoren

Teil 1: Peter Weiss[#]

Teil 2: Peter Schröder[♦], Burkhard Meßner[♦], Peter Weiss[#]

[#] Umweltbundesamt Wien

[♦] GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit
D-85758 Oberschleißheim

Probenahme

Bernhard Schwarzl[#]

Chemische Analysen

Nitrophenole: Franz Svabenicky[#], Gundi Lorbeer[#]

Halogenierte Kohlenwasserstoffe: Claudia Stephan[#], Gundi Lorbeer[#]

GST-Aktivität: Peter Schröder[♦], Susanna Holzinger[♦], Tobias Herbst[♦]

GT-Aktivität: Peter Schröder[♦], Burkhard Meßner[♦], Sara Kusch[♦], Katja Sigl[♦]

Statistische Analysen

Peter Weiss[#]

Übersetzung

Brigitte Read

Danksagung

Für die unbürokratisch verwirklichte Ansprache der Kronenverlichtung der Probenahmebäume im Rahmen der Aufnahmen des Waldschadensbeobachtungssystems sowie für das zur Verfügung Stellen von weiteren Standortdaten möchten wir uns bei Dr. Markus Neumann und Dr. Franz Mutsch sowie bei den weiteren involvierten Mitarbeitern von der Forstlichen Bundesversuchsanstalt herzlich bedanken.

Impressum

Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt GmbH (Federal Environment Agency Ltd)
Spittelauer Lände 5, A-1090 Wien (Vienna), Austria

Druck: Riegelnik, 1080 Wien

© Umweltbundesamt GmbH, Wien, 2000
Alle Rechte vorbehalten (all rights reserved)
ISBN 3-85457-545-9

ZUSAMMENFASSUNG

Über die ubiquitär in Österreich feststellbare Pflanzenbelastung mit Nitrophenolen, leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure lag bisher wenig Information vor. Untersuchungen zu den derzeit in Pflanzen nachweisbaren Nitrophenolgehalten sind aber auch international bisher kaum vorhanden, obwohl diese Schadstoffe eine ausgeprägte Toxizität, v.a. auch Pflanzentoxizität, aufweisen. Die vorliegende Studie sollte daher Anhaltspunkte liefern, ob und in welcher Höhe und Zusammensetzung diese potentiell waldschädigenden Schadstoffe derzeit in Fichten entlegener Standorte feststellbar sind. An 25 verteilt über Österreich gelegenen Waldstandorten in emittententferner Lage (Abb. I) wurden dazu Fichtennadelproben im Oktober 1995 geworben und auf ihre Gehalte an Nitrophenolen, leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen sowie Trichloressigsäure untersucht. Gleichzeitig sollten die Ergebnisse dieser Immissionsuntersuchungen durch die Analyse von physiologischen Wirkungsparametern in den Nadeln unterstützt werden, die nachweislich auf die Belastung mit organischen Schadstoffen reagieren. Aus diesem Grund wurde eine Analyse der Aktivität der Glutathion-S-Transferasen und Glucosyltransferasen und des Glutathiongehaltes in den Fichtennadelproben in die Untersuchung miteinbezogen.

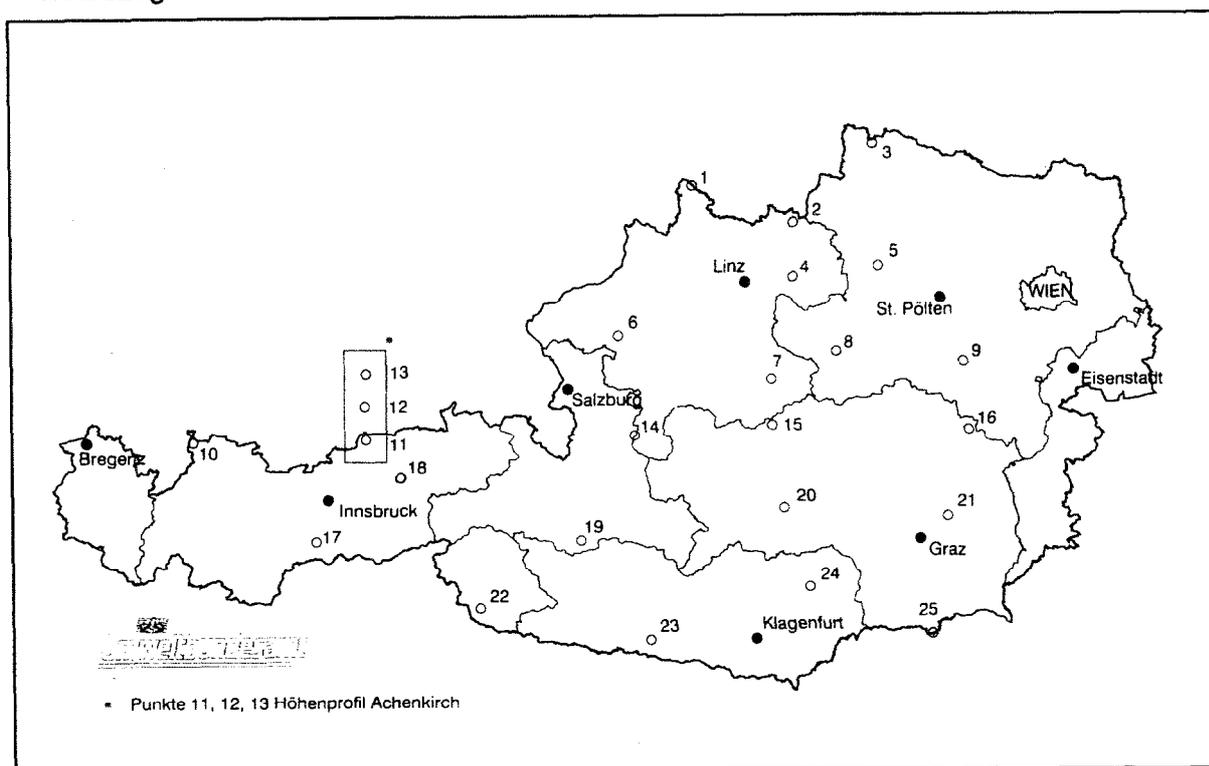


Abb. I: Lage der Untersuchungsstandorte

Nitrophenole in Fichtennadeln

Nitrophenole sind eine Gruppe von organischen Schadstoffen, für deren derzeitigen Nachweis in der Umwelt v.a. luftchemische Umwandlungsprozesse aus Vorläufersubstanzen, wie monoaromatischen Verbindungen (z.B. Benzol, Toluol), oxidierten Stickstoffverbindungen und Hydroxyl-Radikalen, in Betracht gezogen werden. Nitrophenole weisen eine ausge-

prägte Toxizität gegenüber Pflanzen aber auch gegenüber anderen Organismen auf. Ein möglicher Beitrag dieser Verbindungen an den neuartigen Waldschäden wurde in der Fachliteratur diskutiert.

In der vorliegenden Studie wurden Nitrophenolgehalte bis 160,0 µg/kg FS (Median 60,9 µg/kg FS) in den ½-jährigen Fichtennadeln und bis 244,1 µg/kg FS (Median 94,9 µg/kg FS) in den 1½-jährigen Fichtennadeln als Summe der 16 analysierten Substanzen nachgewiesen (FS = Frischsubstanz). Dies sind unerwartet hohe Konzentrationen, die in einer Größenordnung liegen, für die bereits physiologische Wirkungen in Pflanzen in der Fachliteratur berichtet werden. Die Konzentrationen wurden v.a. durch 4-Nitrophenol und 2-Nitrophenol dominiert. Im 2. Nadeljahrgang wurden fast durchwegs signifikant höhere Konzentrationen als im 1. Nadeljahrgang nachgewiesen, was auf eine Anreicherung mit dem Nadelalter hindeutet. Besonders im 2. Nadeljahrgang zeigten sich ausgeprägte, positive Korrelationen zwischen den Nadelgehalten einzelner Nitrophenole.

Lageunterschiede in der Belastung konnten identifiziert werden, wobei Standorte nördlich der Zentralalpen tendenziell höhere Gehalte aufwiesen als der Süden des Bundesgebietes. Die Untersuchung eines Höhenprofils ergab vergleichsweise höhere Konzentrationen in mittlerer Lage, was mit einem potentiellen Einfluss von Inversionen in Verbindung gebracht werden kann.

Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe (LHKW) und Trichloressigsäure (TCA) in Fichtennadeln

Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe wurden während der letzten Jahrzehnte für verschiedene technische Zwecke hergestellt und eingesetzt. Die Anwendung sowie die teilweise lange Lebensdauer führten in den letzten Jahrzehnten zu einem Anstieg der in der Atmosphäre nachweisbaren Konzentrationen. Mittlerweile wurde der Verbrauch einzelner dieser Schadstoffe u.a. durch gesetzliche Regelungen national wie international drastisch eingeschränkt bzw. verboten. Einzelne LHKWs stehen in Verdacht krebserregend zu sein, weiters sind pflanzentoxische Wirkungen in der Fachliteratur beschrieben. Erheblich giftiger für Pflanzen sind jedoch einzelne luftchemische Umwandlungsprodukte der LHKWs, worunter die Trichloressigsäure (TCA) zu zählen ist. Diese Schadstoffe wurden in der Fachliteratur mehrfach mit den neuartigen Waldschäden in Verbindung gebracht.

Die Fichtennadeln der vorliegenden Studie wurden auf die LHKWs Chloroform, 1,1,1-Trichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Trichlorethylen, Perchlorethylen, Bromoform und Dibromchlormethan sowie auf Trichloressigsäure untersucht. Nahezu alle halogenierten Kohlenwasserstoffe konnten in den Fichtennadeln nachgewiesen werden, wobei Chloroform und TCA vergleichsweise höhere Konzentrationen aufwiesen. Als Summe der LHKWs wurden bis zu 23,9 µg/kg FS (Median 13,7 µg/kg FS) in den ½-jährigen Nadeln und bis zu 45,1 µg/kg FS (Median 29,7 µg/kg FS) in den 2½-jährigen Nadeln nachgewiesen. Diese Nadelgehalte der vorliegenden Studie liegen somit in einer vergleichbaren Größenordnung mit Werten aus der Literatur für ländliche Gebiete und auch Ballungsräume. Gleiches gilt für TCA, die in den ½-jährigen Nadeln Gehalte bis zu 23,3 µg/kg FS (Median 7,9 µg/kg FS) und in den 2½-jährigen Nadeln Gehalte bis zu 87,1 µg/kg FS (Median 19,6 µg/kg FS) aufwies.

Auch bei diesen Schadstoffen wurden in den 2½-jährigen Nadeln fast durchwegs signifikant höhere Konzentrationen als in den ½-jährigen Nadeln nachgewiesen. Besonders bei den 2½-jährigen Nadeln korrelierten einige LHKWs signifikant positiv. TCA verhielt sich grundlegend anders, korrelierte nicht oder negativ mit den einzelnen LHKWs. Die Standorte weisen daher unterschiedliche relative CKW-Muster, die sich aus den Prozentanteilen der Einzelsubstanzen an der Summe aller analysierten halogenierten Kohlenwasserstoffe je Standort zusammensetzen, auf. Jene Gruppe von Standorten mit den höchsten Prozentanteilen an

TCA im relativen CKW-Muster wies auch eine vergleichsweise höhere TCA-Konzentration bzw. Summenkonzentration LHKW+TCA in den Nadeln auf.

Glutathion-S-Transferase-Aktivität (GST) in Fichtennadeln

Glutathion-S-Transferasen sind Entgiftungsenzyme für organische Schadstoffe, auch für solche, die aus der Luft in pflanzliche Gewebe aufgenommen werden können. Daneben können GST auch durch zahlreiche andere Stressoren, wie Trockenheit, Ozon, Pathogene und unspezifisch oxidativ wirkende Schadstoffe induziert werden.

Generell waren in der gegenständlichen Studie GST-Aktivitäten in allen Proben nachweisbar, wobei die ½-jährigen Nadeln signifikant höhere spezifische Aktivitäten aufwiesen als die 1½- und 2½-Jahre alten Nadeln. Offenbar besteht ein altersbedingter Unterschied in der spezifischen GST-Aktivität. Von Bedeutung ist dieses Ergebnis v.a. auch deshalb, weil in der vorliegenden Studie Zunahmen der CKW-Gehalte mit dem Nadelalter festgestellt wurden, die möglicherweise mit diesem Unterschied in der GST-Aktivität zwischen den Nadeljahren in Zusammenhang stehen.

Teilweise erbrachte die vorliegende Studie auch Hinweise, die auf einen Zusammenhang zwischen CKW- bzw. Nitrophenol-Gehalt der Nadeln und der GST-Aktivität hindeuten: Bei einzelnen Nitrophenolen konnten Anstiege der GST-Aktivität mit Zunahme der Konzentrationen einzelner Nitrophenole in den Nadeln abgesichert werden. Bemerkenswert ist auch, dass jene Gruppe von Standorten mit höheren TCA-Anteilen bzw. -konzentrationen in den 2½-jährigen Nadeln signifikant höhere GST-Aktivitäten aufwies. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen jedoch auch, dass eine Reihe weiterer nicht erhobener Parameter einen Einfluss auf die festgestellten GST-Aktivitäten haben dürfte.

Glutathiongehalt in Fichtennadeln

Ergebnisse in der Fachliteratur zeigen, dass der Glutathiongehalt in der Pflanzenzelle sehr stark von physiologischen und äußeren Faktoren wie Schwefelgehalt, Temperatur, Verschmutzung, Schwermetalle und Xenobiotika beeinflusst wird. Dabei haben besonders Schwermetalle sowie xenobiotische organische Schadstoffe einen großen Einfluss auf den Glutathiongehalt der Zelle.

Auffällig an den Ergebnissen der vorliegenden Studie ist der signifikante Anstieg der Glutathion-Werte mit dem Schwefelgehalt und dem Alter der untersuchten Bäume. Ein sehr hoher Anteil der Variabilität der Glutathiongehalte in den Nadeln konnte mit dem Bestandesalter, den Zink- und Mangangehalten und der 2-Nitrophenolkonzentration der Nadeln erklärt werden, wobei die Glutathiongehalte mit Zunahme des Alters der Bäume und Zunahme der 2-Nitrophenolgehalte sowie abnehmenden Zink- und Mangangehalten in den Nadeln ansteigen.

Glucosyltransferase-Aktivität (GT) in Fichtennadeln

Die Glucosyltransferasen (GT) repräsentieren eine große Gruppe von Enzymen des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels, deren natürliche Funktion in der Konjugation von Phenolen, Polyphenolen und anderen Naturstoffen liegt. Weiterhin werden GT den Entgiftungsenzymen der Phase II (Konjugation des Fremdstoffmoleküls mit hydrophilen, organismuseigenen Verbindungen) zugeordnet.

Glucosyltransferase-Aktivität war in allen untersuchten Nadelproben der vorliegenden Studie messbar. Ähnlich wie bei den Glutathiongehalten dürften Standortparameter, die Ernährung der Bäume sowie die Belastung mit organischen Schadstoffen einen Beitrag zu den festgestellten Standortsunterschieden der GT-Aktivität liefern. So zeigten sich statistisch absicher-

bare Zunahmen der GT-Aktivität in den ½-jährigen Nadeln mit Abnahme der Standortstemperatur, Zunahme des Alters der Bäume, Zunahmen der Nadelgehalte einzelner Nährstoffe (Calcium, Magnesium, Zink) und Zunahmen der Nadelkonzentrationen von chlorierten Kohlenwasserstoffen (Tetrachlorkohlenstoff, Trichlorethylen). Im Unterschied dazu dürften in den älteren Nadeljahrgängen eher die festgestellten standörtlichen Konzentrationsunterschiede bei einzelnen Nitrophenolen und chlorierten Kohlenwasserstoffen durch standörtliche Unterschiede der GT-Aktivitäten beeinflusst sein: Signifikante Abnahmen der Konzentrationen einzelner halogener Kohlenwasserstoffe und Nitrophenole in den älteren Nadeln mit Zunahme der GT-Aktivität wurden festgestellt.

In diesem Zusammenhang wurden auch Ansätze möglicher Erklärungen für die festgestellten fehlenden Korrelationen zwischen den Schadstoffkonzentrationen älterer und jüngerer Nadeljahrgänge bzw. fehlende Zunahmen der Gehalte einzelner Schadstoffe mit dem Nadelalter identifiziert und diskutiert. Hervorzuheben ist hier besonders die signifikante Abnahme der Konzentration von 2-Nitrophenol in den älteren Nadeln mit Zunahme der GT-Aktivität. 2-Nitrophenol war das einzige Nitrophenol, das keine Zunahmen, sondern Abnahmen mit dem Nadelalter zeigte.

Resümee

Nitrophenole und halogenierte Kohlenwasserstoffe waren in den Fichtennadeln entlegener Waldstandorte in teilweise unerwartet hohen Konzentrationen nachweisbar. Von einer ubiquitären Belastung der österreichischen Wälder mit diesen pflanzentoxischen Schadstoffen ist daher auszugehen. Aufgrund der Höhe der Nadelkonzentrationen kann derzeit nicht ausgeschlossen werden, dass die festgestellten Belastungen physiologische Effekte in den untersuchten Fichten hervorrufen. In diese Richtung könnten auch die festgestellten Zusammenhänge zwischen Schadstoffkonzentration und den Aktivitäten von Enzymen, die durch die Belastung mit organischen Schadstoffen induziert werden können, weisen, wobei hier weiterer Untersuchungsbedarf für eine Absicherung dieser Ergebnisse nötig ist. Die Ergebnisse zeigen, dass dem gesamten Problemkreis der ubiquitären Verfrachtung von und Belastung mit pflanzentoxischen organischen Schadstoffen auch künftig erhöhte Aufmerksamkeit zu widmen ist.

SUMMARY

Until now little information has been available on the ubiquitous pollution of plants in Austria by nitrophenols, volatile halogenated hydrocarbons and trichloroacetic acid. Hardly any analyses have been carried out at the international level either to determine nitrophenol contents in plants although these pollutants are highly toxic, especially to plants. The present study is therefore designed to give clues as to whether spruce trees in remote areas contain these pollutants which are potentially harmful to forests and if so, about pollutant levels and pollutant patterns. For this purpose, spruce needle samples were taken from 25 remote forest sites all over Austria and analysed to determine their contents of nitrophenols, volatile halogenated hydrocarbons and trichloroacetic acid. The results of these concentration analyses should be supported by an analysis of the physiological impact parameters in the needles of which it has been proved that they react to organic pollutants. Therefore the analysis of the activity of glutathione-S-transferases and glucosyl transferases and of the glutathione content in the spruce needle samples has been included in the study.

Nitrophenols in spruce needles

Nitrophenols are atmospherically formed from precursor substances such as monoaromatic compounds (e.g. benzene, toluene), oxidised nitrogen compounds and hydroxyl radicals. This is one of the reasons for their detection in the environment. Nitrophenols are especially toxic to plants, but also to other organisms. Their potential influence on the novel forest decline has been discussed in the literature.

In the present study the detected total nitrophenol concentrations (of the 16 analysed substances) in ½-year-old spruce needles were up to 160.0 µg/kg fresh weight (median 60.9 µg/kg f.w.) and up to 244.1 µg/kg f.w. (median 94.9 µg/kg f.w.) in 1½-year-old spruce needles. These concentrations are unexpectedly high and of an order which according to the literature could have a physiological impact on plants. 4-nitrophenol and 2-nitrophenol were dominant in the concentrations. Concentrations were almost always significantly higher in the second needle age class than in the first, which suggests an enrichment of these compounds with growing needle age. In the second needle age class especially there were significant positive correlations between the needle concentrations of individual nitrophenols.

It was possible to identify local differences in pollution levels, which tended to be higher in locations north of the Central Alps than in the southern areas of Austria. The study of an altitude profile showed comparatively higher concentrations at medium altitudes, which may be associated with the potential influence of inversions.

Volatile halogenated hydrocarbons and trichloroacetic acid in spruce needles

In the past few decades, volatile halogenated hydrocarbons were produced and used for various technical purposes. Their use and their partly long life-times led to an increase of the concentrations in the atmosphere. In the meantime the use of some of these pollutants has been dramatically restricted or banned by law at national and international level. Some volatile halogenated hydrocarbons are suspected to be carcinogenic and several toxic effects on plants have been described in the literature. However, atmospherically formed compounds of volatile halogenated hydrocarbons such as trichloroacetic acid are much more toxic to plants. In the literature these pollutants have repeatedly been associated with the novel forest decline.

In the present study, the spruce needles were analysed for the following volatile halogenated hydrocarbons: chloroform, 1,1,1-trichloroethane, tetrachloromethane, trichloroethylene, perchloroethylene, bromoform and dibromochloromethane. In addition, trichloroacetic acid was analysed in the needles. Nearly all halogenated hydrocarbons were detected in the spruce needles. Chloroform and trichloroacetic acid concentrations were comparatively higher. The sum of volatile halogenated hydrocarbons in the ½-year-old needles was up to 23.9 µg/kg f.w. (median 13.7 µg/kg f.w.) and up to 45.1 µg/kg f.w. (median 29.7 µg/kg f.w.) in the 2½-year-old needles. These concentrations compare to those mentioned in the literature on rural areas and conurbations. The same is true of trichloroacetic acid, with concentrations of up to 23.3 µg/kg f.w. (median 7.9 µg/kg f.w.) in the ½-year-old needles and up to 87.1 µg/kg f.w. (median 19.6 µg/kg f.w.) in the 2½-year-old needles.

The concentrations of these pollutants tended to be significantly higher in the 2½-year-old needles than in the ½-year-old needles. Significant positive correlations between some volatile halogenated hydrocarbons were identified for the 2½-year-old needles. With trichloroacetic acid it was different, there was either no or a negative correlation with the individual volatile halogenated hydrocarbons. The sites therefore had varying relative patterns of chlorinated hydrocarbons (individual substance percentages of the sum of all analysed chlorinated hydrocarbons). The group of sites with the highest trichloroacetic acid percentages in the relative pattern of chlorinated hydrocarbons also had higher trichloroacetic acid concentrations and sum concentrations of all analysed halogenated compounds in the needles.

Glutathione-S-transferase activity in spruce needles

Glutathione-S-transferases are detoxification enzymes for organic pollutants including those which are taken up from the atmosphere. Furthermore GSTs can be induced through various other stressors such as drought, ozone, pathogens and pollutants with an unspecific oxidising activity.

In the present study, GST activities were detectable in all samples. In the ½-year-old needles the specific activities were significantly higher than in the 1½- and 2½-year-old needles, which means that GST activity seems to vary with age. This finding could be an explanation for the detected increase of chlorinated hydrocarbon concentrations with needle age, which may be related to the varying GST activity at different ages.

Some results of the present study indicated that chlorinated hydrocarbon and nitrophenol concentrations in the needles may be related to GST activity: it was found that GST activity increased with the concentrations of some nitrophenols. It is also worth mentioning that significantly higher GST activities were found in the group of sites with higher trichloroacetic acid concentrations in the 2½-year-old needles. However, the results of the present study show that other parameters which have not been analysed are likely to have a pronounced influence on the detected GST activities.

Glutathione contents in spruce needles

Results in the literature show that the glutathione content in a plant cell is highly dependent on physiological and exterior factors such as sulphur content, temperature, pollution, concentrations of heavy metals and xenobiotics. Heavy metals and xenobiotic organic pollutants especially have a major impact on the glutathione content of a cell.

The results of the present study show a significant increase of glutathione contents with the sulphur content and the age of the investigated trees. Much of the variability of the glutathione contents in the needles could be statistically related with the age of the stands, the zinc, manganese and 2-nitrophenol concentrations in the needles. Glutathione contents increased

with the age of the trees, with increasing 2-nitrophenol concentrations and with decreasing zinc and manganese concentrations in the needles.

Glucosyl transferase (GT) activity in spruce needles

Glucosyl transferases (GTs) are a large group of enzymes in the secondary plant metabolism. Their natural function is the conjugation of phenols, polyphenols and other natural substances. Furthermore GTs are assigned to the phase II detoxification enzymes.

Glucosyl transferase activity was detectable in all analysed needle samples. As with the glutathione levels, site parameters, nutrient supply of the trees and organic pollutant levels seem to have an influence on the observed local differences in GT activity. There were statistically significant increases of GT activity in the ½-year-old needles with decreasing site temperatures, increasing nutrient levels (calcium, magnesium, zinc) in the needles and increasing concentrations of chlorinated hydrocarbons (tetrachloromethane, trichloroethylene) in the needles. However, in older needle age classes the observed local differences between individual nitrophenol and chlorinated hydrocarbon concentrations might be influenced by local differences in GT activities: in the older needle age classes significant decreases of the concentrations of some halogenated hydrocarbons and nitrophenols were observed with increasing GT activity.

In this context possible approaches to explain the observed missing correlations between the pollutant concentrations of older and younger needle age classes were discussed as well as non-existent increases of single analysed pollutants with growing needle age. The significant decrease in the 2-nitrophenol concentrations of the older needles with increasing GT activity is particularly noteworthy. 2-nitrophenol was the only phenol which showed lower concentrations in the older needles than in the younger needles.

Résumé

Nitrophenols and halogenated hydrocarbons were detectable in the spruce needles of remote forest sites in partly unexpected high concentrations. Hence, ubiquitous pollution by such phytotoxic substances exists in the Austrian forests. The concentrations found in the needles are of an order which does not exclude a potential physiological impact of the pollutants on the investigated spruce trees. The same may be concluded from the observed statistical relations between pollutant concentrations and enzyme activities. However, further investigations are required to confirm these findings. The results of the present study show that also in future, great importance will have to be attached to the problem area of the long-range transport of and pollution by phytotoxic organic compounds.



INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	I
SUMMARY	V
INHALTSVERZEICHNIS	i
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	iv
TABELLENVERZEICHNIS	vii
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	ix
TEIL 1: LEICHTFLÜCHTIGE HALOGENIERTE KOHLENWASSERSTOFFE, TRICHOLORESSIGSÄURE UND NITROPHENOLE IN FICHTENNADELN	1
1 EINLEITUNG	1
2 METHODEN	3
2.1 Standortwahl, Probenahme, Probentransport und -lagerung	3
2.2 Chemische Analysen	5
2.2.1 Nitrophenole	5
2.2.2 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe, Trichloressigsäure	7
2.3 Datendarstellungen und statistische Analysen	8
3 ERGEBNISSE	11
3.1 Nitrophenole	11
3.2 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe, Trichloressigsäure	20
3.3 Zusammenhänge zwischen Untersuchungsparametern	31
4 SCHLUSSFOLGERUNGEN ZU TEIL 1	40
5 LITERATUR	43
6 ANHANG	48
6.1 Korrelationstabellen	48

6.2	Lagemäßige Darstellung der Nitrophenol- und CKW-Gehalte in den Fichtennadeln.....	56
TEIL 2: GLUTATHION-S-TRANSFERASE- UND GLUCOSYL-TRANSFERASE-AKTIVITÄT IN FICHTENNADELN		70
1	EINLEITUNG	70
1.1	Glutathion S-Transferasen	71
1.2	GST in Nadelhölzern	72
1.3	Glucosyltransferasen	73
1.4	GT in Nadelhölzern	74
1.5	Glutathion	74
1.6	Ziele des Vorhabens	75
2	MATERIAL UND METHODEN	76
2.1	Untersuchungsstandorte, Ernte des Nadelmaterials und Lagerung der Proben	76
2.2	Glutathion S-Transferase Aktivität	76
2.2.1	Bestimmung der Glutathion S-Transferase Aktivität	76
2.2.2	Proteinbestimmung und Enzymassays.....	76
2.3	Glucosyltransferase Aktivität.....	77
2.3.1	Nadelaufarbeitung und Enzymisolierung	77
2.3.2	Proteinbestimmung und Enzymassays.....	77
2.4	Bestimmung der Glutathiongehalte.....	78
2.5	Statistische Auswertungen	79
3	ERGEBNISSE DER MESSUNGEN.....	80
3.1	Proteingehalte als Bezugsgröße.....	80
3.2	Glutathion S-Transferasen	82
3.3	Glutathiongehalte	93
3.4	Aktivität der Glucosyltransferasen	97
4	SCHLUSSFOLGERUNGEN ZU TEIL 2	103
5	LITERATUR.....	106
6	ANHANG	110
6.1	Korrelationstabellen	110

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Teil 1:	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe, Trichloressigsäure und Nitrophenole in Fichtennadeln	
Abb. 1.1:	Lage der Untersuchungsstandorte.....	4
Abb. 1.2:	Nitrophenole in den Fichtennadeln	12
Abb. 1.3:	Signifikante Korrelationen zwischen Nitrophenolen im 1. Nadeljahrgang sowie im 2. Nadeljahrgang.....	14
Abb. 1.4:	Signifikante Lageunterschiede in den Nitrophenolgehalten im 1. und 2. Nadeljahrgang.	15, 16
Abb. 1.5:	Nitrophenole im 1. und 2. Nadeljahrgang der Standorte des Höhenprofils Achenkirch.....	17
Abb. 1.6:	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure in Fichtennadeln	20
Abb. 1.7:	Signifikante Korrelationen zwischen LHKWs in den Fichtennadeln.....	22
Abb. 1.8:	Mittlere relative Halocarbon-Muster der einzelnen Cluster und Konzentrationen von LHKW, TCA und Summe LHKW + TCA in den Fichtennadeln der Cluster, 1. Nadeljahrgang	24
Abb. 1.9:	Mittlere relative Halocarbon-Muster der einzelnen Cluster und Konzentrationen von LHKW, TCA und Summe LHKW + TCA in den Fichtennadeln der Cluster, 3. Nadeljahrgang	25
Abb. 1.10:	Zunahmen bzw. Abnahmen der Prozentanteile einzelner Halocarbone an der Summe LHKW + TCA	25
Abb. 1.11:	Signifikante Lageunterschiede in den Gehalten leichtflüchtiger halogenerter Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure im 1. und 3. Nadeljahrgang.	26, 27
Abb. 1.12:	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure im 1. und 3. Nadeljahrgang der Standorte des Höhenprofils Achenkirch.....	28
Abb. 1.13:	Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogenerter Kohlenwasserstoffe und der Nitrophenole mit den Nadelgehalten schwerflüchtiger organischer Verbindungen und Cadmium.....	32
Abb. 1.14:	Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogenerter Kohlenwasserstoffe und den Nadelgehalten der Nitrophenole.....	33
Abb. 1.15:	Korrelation zwischen TCM und Kupfer in den Nadeln.....	33
Abb. 1.16:	Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogenerter Kohlenwasserstoffe, der Nitrophenole und meteorologischen Parametern sowie Standortparametern	34
Abb. 1.17:	Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogenerter Kohlenwasserstoffe und der Qualität der Spaltöffnungswachse der Nadeln	35
Abb. 1.18:	Korrelation zwischen dem Nadelgehalt von 2,4-DNP und dem Nadelgehalt löslicher kutikulärer Lipide.....	36

Abb. 1.19: Korrelation zwischen den Nadelgehalten halogener Kohlenwasserstoffe und der GT-Aktivität in den Nadeln	38
Abb. 1.20: Korrelation zwischen den Nadelgehalten der Nitrophenole und der GT- bzw. GST-Aktivität in den Nadeln	38
Abb. 1.21: Korrelationen zwischen Konzentrationsverhältnissen 3./1. Nadeljahrgang (halogenierte Kohlenwasserstoffe) sowie 2./1. Nadeljahrgang (Nitrophenole) und der GT-Aktivität und Glutathion in den Nadeln	39
Abb. 1.22: Korrelation zwischen dem Verhältnis TCM/TETRA und der GT-Aktivität in den Nadeln	39
Abb. 1.23: 2-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang und im 2. Nadeljahrgang.....	56
Abb. 1.24: 4-Methyl-2-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang und im 2. Nadeljahrgang.....	57
Abb. 1.25: 4-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang und im 2. Nadeljahrgang.....	58
Abb. 1.26: 2,4-Dinitrophenol im 1. Nadeljahrgang und im 2. Nadeljahrgang.....	59
Abb. 1.27: 3-Methyl-4-Nitrophenol und 2,6-Dimethyl-4-Nitrophenol im 2. Nadeljahrgang.....	60
Abb. 1.28: 4-Methyl-2,6-Dinitrophenol und 6-Methyl-2,4-Dinitrophenol im 2. Nadeljahrgang.....	61
Abb. 1.29: Summe der Nitrophenole im 1. Nadeljahrgang und im 2. Nadeljahrgang.....	62
Abb. 1.30: Chloroform im 1. Nadeljahrgang und im 3. Nadeljahrgang.....	63
Abb. 1.31: 1,1,1-Trichlorethan im 1. Nadeljahrgang und im 3. Nadeljahrgang.....	64
Abb. 1.32: Tetrachlorkohlenstoff im 1. Nadeljahrgang und im 3. Nadeljahrgang.....	65
Abb. 1.33: Perchlorethylen 1. Nadeljahrgang und im 3. Nadeljahrgang.....	66
Abb. 1.34: Trichloressigsäure im 1. Nadeljahrgang und im 3. Nadeljahrgang.....	67
Abb. 1.35: Summe der leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffe plus Trichloressigsäure im 1. Nadeljahrgang und im 3. Nadeljahrgang.....	68
Abb. 1.36: Lage der Standorte mit ähnlichem, relativen CKW-Muster im 1. Nadeljahrgang und im 3. Nadeljahrgang auf Basis der Clusteranalysen.....	69
 Teil 2: Glutathion-S-Transferase- und Glucosyltransferase-Aktivität in Fichtennadeln	
Abb. 2.1: Schematische Darstellung des Entgiftungsstoffwechsels in Pflanzen und Tieren.....	70
Abb. 2.2: Konjugation des Modellsubstrates 1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol mit Glutathion zu S-(2,4-Dinitrophenyl)-Glutathion.....	71
Abb. 2.3: Konjugation des Modellsubstrates 1,2-Dichloro-4-nitrobenzol mit Glutathion zu S-(2-Chloro-4-nitrophenyl)-Glutathion	72
Abb. 2.4: GST-Aktivitäten für die Konjugation des Modellsubstrates CDNB in verschiedenen Pflanzenarten	73
Abb. 2.5: Eichgerade für die Quantifizierung der Glutathion- und GSSG-Gehalte in den untersuchten Nadelproben.....	79
Abb.2.6: Proteingehalte in den Nadeln der beprobten Fichten bezogen auf ml Extrakt der Aufarbeitungen	80

Abb. 2.7:	Proteingehalte in den Nadeln der beprobten Fichten; Gesamtdarstellung aller 25 Standorte und der Nadeljahrgänge 1, 2 und 3.....	81
Abb. 2.8:	Proteingehalt im 3. Nadeljahrgang der untersuchten Probebäume getrennt in die Gruppen mit einem Entnadelungsprozent der Kronen kleiner bzw. größer als der Median des Entnadelungsprozents.....	81
Abb. 2.9:	GST-Aktivitäten für die Konjugation von CDNB in den Nadeljahrgängen 1, 2 und 3, aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte	83
Abb. 2.10:	Spezifische GST-Aktivitäten für die Konjugation von CDNB in den Nadeljahrgängen 1, 2 und 3, aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte	83
Abb. 2.11:	GST-Aktivitäten für die Konjugation von DCNB in den Nadeljahrgängen 1, 2 und 3, aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte	84
Abb. 2.12:	Spezifische GST-Aktivitäten für die Konjugation von DCNB in den Nadeljahrgängen 1, 2 und 3, aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte.....	85
Abb. 2.13:	Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von CDNB in den Nadeln der beprobten Fichten	86
Abb. 2.14:	Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von DCNB in den Nadeln der beprobten Fichten	86
Abb. 2.15:	Spezifische Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von CDNB in den Nadeln der beprobten Fichten.....	87
Abb. 2.16:	Spezifische Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von CDNB in den Nadeln der beprobten Fichten.....	88
Abb. 2.17:	Korrelationen zwischen den GST-Aktivitäten zur Konjugation von CDNB und DCNB innerhalb eines Nadeljahrganges sowie zwischen einzelnen Nadeljahrgängen	89, 90
Abb. 2.18:	Korrelationen zwischen den Nitrophenolkonzentrationen und der GST-Aktivität in Fichtennadeln.....	91
Abb. 2.19:	Korrelationen zwischen der spezifischen GST-Aktivität und den Gehalten löslicher kutikulärer Lipide im 1. Nadeljahrgang.....	91
Abb. 2.20:	Mittlere relative Halocarbon-Muster der einzelnen Cluster, Konzentrationen von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen (LHKW), Trichloroessigsäure (TCA) und Summe LHKW + TCA in den Fichtennadeln der Cluster und GST-Aktivität zur Konjugation von DCNB in den Fichtennadeln der Cluster, 3. Nadeljahrgang.....	92
Abb. 2.21:	Beispielhafte Darstellung eines HPLC-Chromatogramms für die Bestimmung des Gehalts an GSH und GSSG in einer Fichten-Zellkultur	93
Abb. 2.22:	Korrelationen zwischen GSH und GSSG im 1. bzw. 2. Nadeljahrgang.	95
Abb. 2.23:	Negative Korrelationen zwischen den GSH-Gehalten im 3. Nadeljahrgang der untersuchten Fichtennadeln und den pH-Werten im Auflagehumus sowie im Mineralboden 0-10 cm.	95
Abb. 2.24:	Positive Korrelation zwischen den GSH- sowie GSSG-Gehalten im 1. Nadeljahrgang der untersuchten Fichtennadeln und ihren Schwefelgehalten.....	95
Abb. 2.25:	Positive Korrelation zwischen den GSH-Gehalten im 1. Nadeljahrgang der untersuchten Fichtennadeln und dem Alter der untersuchten Fichten.	96

-
- Abb. 2.26: Korrelation für die Abhängigkeit zwischen GSH-Gehalten und Konzentrationen an leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen plus Trichloressigsäure im 1. Nadeljahrgang..... 96
- Abb. 2.27: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von Trichlorphenol sowie 2-Nitrophenol und Calcium-, Zink- oder Magnesium-Gehalten im 1. Nadeljahrgang der Fichtennadeln. 99
- Abb. 2.28: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von 4-Nitrophenol sowie 2-Nitrophenol und CKW- (hier: Perchloräthylen bzw. 1,1,1-Trichlorethylen)-Gehalten im 3. Nadeljahrgang der Fichtennadeln..... 99
- Abb. 2.29: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von Trichlorphenol und den Gehalten löslicher kutikulärer Lipide im 1. Nadeljahrgang der Fichtennadeln. 100
- Abb. 2.30: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von 4-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang bzw. TCP im 2. Nadeljahrgang und der Seehöhe des Standortes, der mittleren Temperatur im Probenahmemonat Oktober 1995 sowie dem Alter des Bestandes bzw. der Niederschlagssumme im Probenahmemonat Oktober 1995..... 101
- Abb. 2.31: Darstellung der Abhängigkeiten zwischen O-Glucosyltransferase-Aktivitäten in den beprobten Fichten: Beleg für die Präsenz unterschiedlicher Isoformen des Enzyms. 102

TABELLENVERZEICHNIS

Teil 1:	Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe, Tichloressigsäure und Nitrophenole in Fichtennadeln	
Tab. 1.1:	Standortparameter der Untersuchungsstandorte	3
Tab. 1.2:	Verleich von Nitrophenolgehalten in den Fichtennadeln mit Literaturwerten	13
Tab. 1.3:	Nitrophenolgehalte im 1. und 2. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg}$ FS)	18
Tab. 1.4:	Nitrophenolgehalte im 1. und 2. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS)	19
Tab. 1.5:	Verleich der LHKW- und TCA-Gehalte in den Fichtennadeln mit Literaturwerten.....	21
Tab. 1.6:	Gehalte von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure im 1. und 3. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg}$ FS)	29
Tab. 1.7:	Gehalte von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure im 1. und 3. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg}$ TS)	30
Tab. 1.8:	Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Frischsubstanz bezogen)	48, 49
Tab. 1.9:	Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Frischsubstanz bezogen)	49
Tab. 1.10:	Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Trockensubstanz bezogen)	50
Tab. 1.11:	Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Trockensubstanz bezogen)	51
Tab. 1.12:	Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Frischsubstanz bezogen)	52
Tab. 1.13:	Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Frischsubstanz bezogen)	53
Tab. 1.14:	Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Trockensubstanz bezogen)	54
Tab. 1.15:	Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Trockensubstanz bezogen)	55
Teil 2:	Glutathion-S-Transferase- und Glucosyltransferase-Aktivität in Fichtennadeln	
Tab. 2.1:	GST-Aktivität und Proteingehalte in den Fichtennadeln der einzelnen Standorte	82
Tab. 2.2:	Mittelung aller erhaltenen GST- und Protein-Daten aus der Probenahme	83
Tab. 2.3:	Mittelung der GST- und Protein-Daten der Standorte 1 bis 6	85
Tab. 2.4:	Mittelung der GST- und Protein-Daten der Standorte 19 bis 25	85
Tab. 2.5:	Mittelung der GST- und Protein-Daten der Standorte in Tirol	85

Tab. 2.6:	GSH- und GSSG-Gehalte in den Proben der Nadeljahrgänge 1, 2 und 3 der beprobten Fichten.....	94
Tab. 2.7:	Ergebnisse einer schrittweisen Regressionsanalyse mit GSH im 1. Nadeljahrgang als abhängiger Variable vom Bestandesalter, der Zink-, Mangan- und 2-Nitrophenol-Konzentration in den Nadeln	97
Tab. 2.8:	Glucosyltransferase-Aktivität zur Konjugation von TCP, 2-NP und 4-NP in den Fichtennadeln	98
Tab. 2.9:	Ergebnisse einer schrittweisen Regressionsanalyse mit GT4NP im 1. Nadeljahrgang als abhängiger Variable von der Temperatur im Probestimonat Oktober, der Konzentration von Tetrachlorkohlenstoff in den Nadeln und dem Niederschlag in der Periode Mai bis Oktober	101
Tab. 2.10:	Ergebnisse einer schrittweisen Regressionsanalyse mit GT4NP im 1. Nadeljahrgang (N1) als abhängiger Variable vom Bestandesalter und der Konzentration von Trichlorethylen und Tetrachlorkohlenstoff in den Nadeln....	102
Tab. 2.11:	Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den GST- bzw. Protein-Gehalten und anderen Parametern	110, 111
Tab. 2.12:	Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den GSH-; GSSG- bzw. GT-Gehalten und anderen Parametern	112, 113
Tab. 2.13:	Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen den GST-, Protein-, GSH-; GSSG- bzw. GT-Gehalten und anderen Parametern.....	114

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

2,4,5-TCP	2,4,5-Trichlorphenol
2,4-DNP	2,4-Dinitrophenol
2,5-DNP	2,5-Dinitrophenol
2,6-DM-4-NP	2,6-Dimethyl-4-Nitrophenol
2,6-DNP	2,6-Dinitrophenol
2-M-3-NP	2-Methyl-3-Nitrophenol
2-NP	2-Nitrophenol
3,4-DNP	3,4-Dinitrophenol
3-M-2-NP	3-Methyl-2-Nitrophenol
3-NP	3-Nitrophenol
4-M-2,6-DNP	4-Methyl-2,6-Dinitrophenol
4-M-2-NP	4-Methyl-2-Nitrophenol
4-NP	4-Nitrophenol
6-M-2,4-DNP	6-Methyl-2,4-Dinitrophenol
Abb	Abbildung
Al	Aluminium
B1	Mineralbodentiefenstufe 0-10 cm
Best.-Alter	Alter des Bestands
BG	Bestimmungsgrenze
Ca	Calcium
Cd	Cadmium
CDNB	1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol
CKW	chlorierte Kohlenwasserstoffe
Cu	Kupfer
DBCM	Dibromchlormethan
DCNB	1,2-Dichlor-4-Nitrobenzol
DDX	Summe aus o,p'-, p,p'-DDT und dessen Metaboliten o,p'-, p,p'-DDD und o,p'-, p,p'-DDE
DSEB	Dinoseb
EN	mittleres Entnadelungsprozent der Fichten am Standort
ENPB	mittleres Entnadelungsprozent der Probebäume
EPI	Epibiontenbelegung der Spaltöffnungen
FBVA	Forstliche Bundesversuchsanstalt
Fe	Eisen
FS	Frischsubstanz

GSH	reduziertes Glutathion
GSSH	oxidiertes Glutathion
GST	Glutathion-S-Transferase
GSTCDNB	GST-Aktivität zur Konjugation von CDNB
GSTDCNB	GST-Aktivität zur Konjugation von DCNB
GSTSACDNB	spezifische GST-Aktivität zur Konjugation von CDNB
GSTSADCNB	spezifische GST-Aktivität zur Konjugation von DCNB
GT	Glucosyltransferase
GT2NP	GT-Aktivität zur Konjugation von 2-NP
GT4NP	GT-Aktivität zur Konjugation von 4-NP
GTP	Summe der GT-Aktivität zur Konjugation von TCP, 2-NP und 4-NP
GTTCP	GT-Aktivität zur Konjugation von TCP
HCB	Hexachlorbenzol
HCH	Hexachlorcyclohexane (Summe der fünf α - ϵ Isomere)
K	Kalium
Kap	Kapitel
LHKW	Summe der analysierten leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffe (TCM, TCE, PER, TETRA, TRI, TBM, DBCM)
Mg	Magnesium
Mn	Mangan
N oder n	Stichprobenanzahl
N	Stickstoff
n.a.	nicht analysiert
n.b.	nicht bestimmbar, < Bestimmungsgrenze, > Nachweisgrenze
n.n.	nicht nachweisbar, < Nachweisgrenze
N1	1. Nadeljahrgang ($1/2$ jährige Nadeln)
N100	100-Nadelgewicht
N2	2. Nadeljahrgang ($1\frac{1}{2}$ jährige Nadeln)
N3	3. Nadeljahrgang ($2\frac{1}{2}$ jährige Nadeln)
NG	Nachweisgrenze
Njg	Nadeljahrgang
NS10	Niederschlagssumme im Oktober 1995
NS1-12	Jahresniederschlagssumme 1995
NS5-10	Niederschlagssumme im Mai - Oktober 1995
O	Auflagehumus
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P	Phosphor

PAH	Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (Summe von 18 PAH, davon 15 „priority pollutant“-PAH der US-Environmental Protection Agency)
Pb	Blei
PCB	Polychlorierte Biphenyle (Summe von PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 und PCB 180)
PCDD/F	Polychlorierte Dibenzodioxine und -furane (Summe)
PER	Perchlorethylen, Tetrachlorethylen
pH (CaCl)	pH-Wert in Calciumchloridlösung
pH (H ₂ O)	pH-Wert in Wasser
Prot	Protein
r	Korrelationskoeffizient nach Pearson
R-Qu. oder R ²	Bestimmtheitsmaß der Regression
S	Schwefel
SA	spezifische Aktivität
SCL	in organischen Lösungsmitteln lösliche kutikuläre Lipide (<u>s</u> oluble <u>c</u> uticular <u>l</u> ipids)
STD	Standardabweichung
StdAbw	Standardabweichung
SUM NP	Summe der analysierten Nitrophenole
T10	mittlere Temperatur im Oktober 1995
T1-12	mittlere Jahrestemperatur 1995
T5-10	mittlere Temperatur Mai - Oktober 1995
Tab	Tabelle
TBM	Tribrommethan, Bromoform
TCA	Trichloressigsäure
TCE	1,1,1-Trichlorethan
TCM	Trichlormethan, Chloroform
TCP	2,4,5-Trichlorphenol
TETRA	Tetrachlormethan, Tetrachlorkohlenstoff
TRI	Trichlorethylen
TS	Trockensubstanz
UBA	Umweltbundesamt
WFR	Wiederfindungsrate
WQ	Qualität kutikulärer Wachse
Zn	Zink



TEIL 1: LEICHTFLÜCHTIGE HALOGENIERTE KOHLENWASSERSTOFFE, TRICHOLORESSIGSÄURE UND NITROPHENOLE IN FICHTENNADELN

1 EINLEITUNG

Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe (LHKW) wurden während der letzten Jahrzehnte verstärkt für verschiedene technische Zwecke eingesetzt und hergestellt. Dazu zählen v.a. die Verwendung als Lösemittel und Entfetter, als Extraktions-, Treib- und Kühlmittel. Damit verbunden sind Emissionen an die Umwelt. 1990 wurden allein in Europa mehr als 700.000 t als Summe von 1,1,1-Trichlorethan (TCE), Tetrachlormethan (TETRA) und Trichlorethylen (TRI) emittiert [1]. Global gesehen ist die Produktion und Anwendung von LHKW in den letzten Jahren rückläufig [2],[3]. Aufgrund von deren Anwendung sowie der teilweise langen atmosphärischen Lebensdauer stiegen die LHKW-Konzentrationen in der Luft in den vergangenen Jahrzehnten stark an [2],[4].

Von den chlorierten LHKW weisen TCE und TETRA eine besonders lange atmosphärische Lebensdauer auf, weshalb ihnen ein Beitrag am Abbau der stratosphärischen Ozonschicht zugeschrieben wird. Diese beiden Verbindungen fanden daher im Montreal-Protokoll Berücksichtigung. Ihr Einsatz wurde deshalb mittlerweile in zahlreichen Ländern (u.a. Österreich) drastisch eingeschränkt bzw. verboten.

Über die Wirkungen von LHKW auf tierische Organismen ist mehr bekannt als über deren Wirkungen auf Pflanzen. Aufgrund der vorliegenden Befunde besteht bei Chloroform (TCM), TETRA, TRI und Perchlorethylen (PER) begründeter Verdacht auf Kanzerogenität. Mittels zahlreicher Experimente konnten physiologische und toxische Wirkungen durch den Einfluss von LHKW in Pflanzen nachgewiesen werden [5]-[9]. Bei weitem pflanzentoxischer als die LHKW sind deren Abbauprodukte, u.a. Chloressigsäuren, einzustufen [10]-[13]. Veränderungen von Enzymaktivitäten in Bäumen, die auf Entgiftungsstress hindeuten, konnten bei Belastung mit Chloressigsäuren identifiziert werden [14],[15]. Die pflanzentoxische Wirkung von Trichloressigsäure (TCA) führte beispielsweise in früheren Jahrzehnten zur Verwendung als Herbizid. Der derzeitige Nachweis von TCA in der Umwelt wird jedoch mit der atmosphärischen Umwandlung von LHKW in Verbindung gebracht [7],[11],[16]-[20]. Ein Beitrag dieser Verbindungen an neuartigen Waldschäden wurde diskutiert [8],[11],[18],[21]-[24].

Eine weitere Gruppe von sekundär gebildeten luftchemischen Verbindungen, die pflanzentoxisch sind, sind die Nitrophenole und methylierten Nitrophenole. Es wurde gezeigt, dass als Vorläufersubstanzen der photochemischen Bildung aromatische monozyklische Kohlenwasserstoffe (Benzol, Toluol etc.), oxidierte Stickstoffverbindungen und OH-Radikale fungieren [25]. Neben der luftchemischen Bildung von Nitrophenolen, die die wesentliche Ursache der in der Atmosphäre feststellbaren Gehalte darstellt, werden Nitrophenole auch direkt durch den Kfz-Verkehr emittiert. Einzelne Vertreter dieser Substanzgruppe wurden bis in die 80er Jahre als Herbizide eingesetzt. Aufgrund von deren Nachweis in Atmosphäre, Regen und Nebelwasser [26]-[32], in Fichtennadeln [33] sowie den toxischen Eigenschaften in Pflanzen [8],[34],[35] wurde ein möglicher Beitrag dieser Verbindungen an neuartigen Waldschäden diskutiert [36].

Fichtennadeln werden häufig zur Bioindikation von organischen Luftschadstoffen herangezogen. Von Bedeutung ist dabei, dass aufgrund der physiko-chemischen Eigenschaften der untersuchten Substanzen Unterschiede in der Indikation der festgestellten Nadelkonzentrationen bestehen. Bei flüchtigen Substanzen wie beispielsweise LHKW stellt sich innerhalb kurzer Zeit ein Gleichgewicht zwischen Umgebungsluft- und Nadelkonzentration ein [5],[37].

Die Nadelkonzentration sollte somit bei diesen Substanzen die kurzfristige Umgebungsluftkonzentration im Zeitraum der Probenahme repräsentieren. Bei schwerflüchtigen organischen Verbindungen dauert die Gleichgewichtseinstellung Nadel/Umgebungsluft eine Vegetationsperiode bis mehrere Jahre [38]. Die Nadelkonzentration bei diesen Verbindungen ist somit durch die langfristige Umgebungsluftkonzentration dieser Verbindungen beeinflusst. Aufgrund der physiko-chemischen Eigenschaften [39] wäre zu erwarten, dass Nitrophenole ein Akkumulations- und Desorptionsverhalten zwischen LHKW und schwerer flüchtigen Verbindungen wie beispielsweise Hexachlorbenzol, DDT und polychlorierten Biphenylen zeigen. Es wurde gezeigt, dass je kleiner das Molekülvolumen und je höher der Dampfdruck einer Verbindung ist, desto höher die Konzentration in der Restnadel verglichen mit der Konzentration in den kutikulären Lipiden ist [40]. Anhand dieser Befunde wäre zu erwarten, dass LHKW, TCA und Nitrophenole weniger in der kutikulären Wachsen als in der Restnadel gebunden vorliegen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden LHKW, TCA und Nitrophenole in Fichtennadeln von 25 österreichischen Wald-Hintergrundstandorten analysiert. Die Studie sollte insbesondere darüber Auskunft geben, in welchen Konzentrationsbereichen und in welcher Zusammensetzung diese Verbindungen derzeit in Regionen in großer Distanz von Ballungsräumen, Straßen und Betrieben feststellbar sind.

2 METHODEN

2.1 Standortwahl, Probenahme, Probentransport und -lagerung

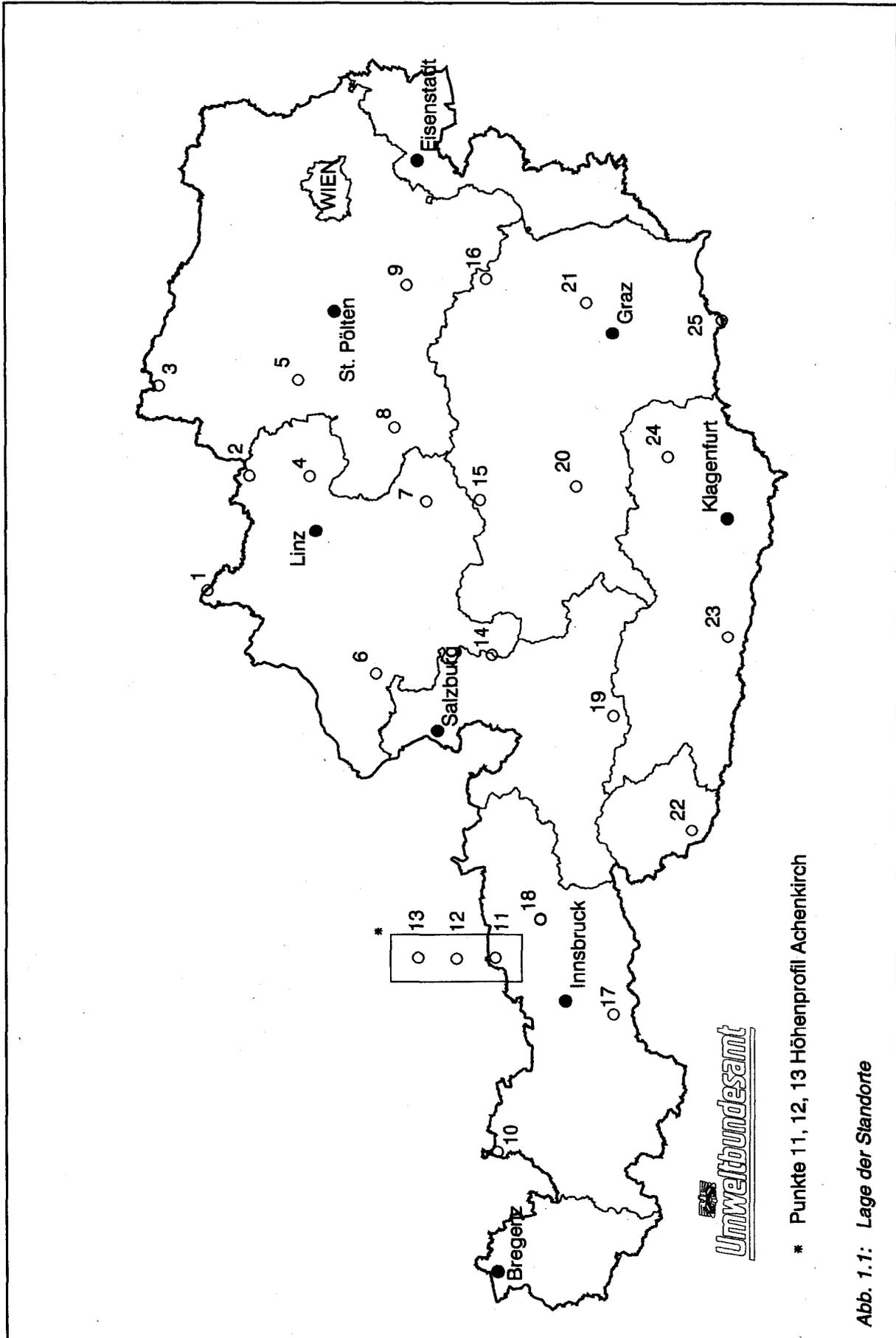
25 verteilt über Österreich gelegene emittentenferne Waldstandorte, die zu 100 % mit Fichte bestockt sind, wurden ausgewählt (Tab. 1.1, Abb. 1.1). Miteinbezogen wurden auch drei Standorte eines Höhenprofils in exponierter alpiner Lage, um höhenmäßige Unterschiede der Belastung zu identifizieren. Eine detaillierte Beschreibung der Standortsauswahl sowie der Standorte selbst ist in [41] enthalten.

Tab. 1.1: Standortparameter der Untersuchungsstandorte

Standort	Seehöhe (m)	Exposition	Hangneigung (%)	Bestandesalter (Jahre)	Lagekriterien ¹		
					nord	ost	MW
1	1.240	NW	10	25	nord	ost	MW
2	990	NW	20	78	nord	ost	MW
3	630	W	8	104	nord	ost	MW
4	450	NO	52	54	nord	ost	MW
5	860	-	0	95	nord	ost	MW
6	690	-	0	44	nord	west	NA
7	900	-	0	95	nord	ost	NA
8	700	N	30	70	nord	ost	NA
9	780	-	65	47	nord	ost	NA
10	1.160	SW	15	55	nord	west	NA
11 ²	840	N	*	*	nord	west	NA
12 ²	1.125	N	*	*	nord	west	NA
13 ²	1.650	N	*	*	nord	west	NA
14	1.120	N	44	83	nord	west	NA
15	840	W	8	86	nord	ost	NA
16	1.500	N	60	140	nord	ost	NA
17	1.740	-	80	105	süd	west	ZA
18	1.490	SW	25	160	nord	west	ZA
19	1.540	W	66	82	süd	west	ZA
20	1.150	N	92	112	süd	ost	ZA
21	450	NO	17	29	süd	ost	SA
22	1.670	SW	70	120	süd	west	SA
23	1.110	S	41	97	süd	west	SA
24	1.490	-	18	43	süd	ost	SA
25	670	NW	14	100	süd	ost	SA

¹ MW Mühl-, Waldviertel; NA = Nördliches Alpenvorland, Nördliche Kalkalpen und Flyschzone („Nördl. Alpenbereich“); ZA = Zentralalpen; SA = Südliche Kalkalpen, Alpenostrand („Südost-Alpen“)

² Höhenprofil Achenkirch



* Punkte 11, 12, 13 Höhenprofil Achenkirch

Abb. 1.1: Lage der Standorte

Vor der Probenahme wurden luftdicht verschließbare Glasgefäße sorgfältig vorgereinigt, bei 105 °C ausgeglüht, anschließend verschlossen und bis zum Einfüllen der Proben vor Ort nicht mehr geöffnet.

An den ausgewählten 25 Standorten wurden im Oktober 1995 Fichtennadelproben (Nadeljahrgänge 1 ($1\frac{1}{2}$ -jährig), 2 ($1\frac{1}{2}$ -jährig) und 3 ($2\frac{1}{2}$ -jährig)) im Bereich des 7. Astquirls (Lichtkrone) von zwei vorherrschenden oder herrschenden Fichten je Standort aus allen vier Himmelsrichtungen geworben und nach Nadeljahrgängen getrennt zu Mischproben vereinigt. Die Probenahmebäume lagen durchwegs im Waldbestand (zur Vermeidung von eventuellen Bestandesrandeffekten).

Die vorbereiteten Glasgefäße wurden randvoll mit den Fichtennadelproben angefüllt und am Standort verschlossen. Die Proben wurden in Gefrierboxen und lichtgeschützt transportiert. Bis zur weiteren Aufarbeitung und den Analysen blieben die Probengefäße luftdicht verschlossen und wurden bei -80 °C dunkel gelagert. Die Fichtenzweige wurden in flüssigem Stickstoff entnadelt und die Nadeln unmittelbar darauf in luftdicht verschließbare, sorgfältig vorgereinigte Gefäße abgefüllt. Die frischen Nadelproben wurden den chemischen Analysen zugeführt. Für eine zusätzliche Umrechnung der Gehalte auf 105 °C Trockensubstanz wurde der Trocknungsverlust eines Anteils der Proben von frisch auf 105 °C trocken bestimmt.

Die Nadelproben für die Analysen der Enzymaktivitäten (siehe Teil 2) wurden bereits vor Ort in flüssigem Stickstoff entnadelt, in Polyethylenfläschchen abgefüllt und in flüssigem Stickstoff während des Transports bzw. im Labor bei -80 °C bis zu den weiteren Analysen gelagert.

Die 1. und 2. Nadeljahrgänge wurden auf Nitrophenole, die 1. und 3. Nadeljahrgänge auf LHKW und TCA analysiert.

2.2 Chemische Analysen

2.2.1 Nitrophenole

Analyte:

2-Nitrophenol, 3-Nitrophenol, 4-Nitrophenol, 2-Methyl-3-nitrophenol, 3-Methyl-2-nitrophenol, 3-Methyl-4-nitrophenol, 4-Methyl-2-nitrophenol, 5-Methyl-2-nitrophenol, 2,4-Dinitrophenol, 2,5-Dinitrophenol, 2,6-Dinitrophenol, 3,4-Dinitrophenol, 4-Methyl-2,6-dinitrophenol, 6-Methyl-2,4-dinitrophenol, 2,6-Dimethyl-4-nitrophenol, Dinoseb (2sec. Butyl-4,6-dinitrophenol)

Probenvorbereitung:

- Entasten der Nadeln in flüssigem Stickstoff
- Extraktion der naturfeuchten, ganzen Nadeln mit Dichlormethan/ 1 % Schwefelsäure im Ultraschall
- Trocknung der Dichlormethanphase über Natriumsulfat
- Extraktreinigung über mit Schwefelsäure versetztem Kieselgel; Elutionsmittel Dichlormethan
- Eluat einengen, Lösemittelwechsel auf Methanol
- Derivatisierung der Nitrophenole zu Nitroanisolen mit Diazomethan
- Reinigung des Extraktes über Florisil; Elutionsmittel: n-Hexan/ Toluol (8+2 v/v) und n-Hexan/Toluol (2+8 v/v)
- Einengen des Eluates und Zugabe von Octachlorstyrol als Injektionsstandard

qualitative und quantitative Bestimmung mit GC-ECD, GC-ITD

Messbedingungen	GC-ECD	
Trennsäulen:	DB 5:	60m; 0.32 mm I.D.; 0,25 µm Filmdicke
	SPB608:	30m; 0.25 mm I.D.; 0,25 µm Filmdicke
Trägergas:	DB 5:	Helium 1,2 bar
	SPB608:	Helium 1,05 bar
Injektionsvolumen:	DB 5:	1 µl splitless
	SPB608:	1 µl splitless
Detektor:	DB 5:	ECD-Detektortemperatur: 295 °C
	SPB608:	ECD-Detektortemperatur: 295 °C
Temperaturprogramm:		
	DB 5:	90 °C(1')/4,0 °/250 °C/10,0 °/290 °C(15')
	SPB608:	90 °C(1')/4,0 °C/120 °C(5')/4,0 °/250 °C/10,0 °/290 °C(15')

qualitative Absicherung mit GC-MS

DB 1301; 60 m; 0,32 mm I.D.; 0,25 µm Filmdicke

Trägergas:	Helium 1,2 bar
Injektionsvolumen:	1 µl splitless
Injektortemperatur:	285 °C
Temperaturprogramm:	90 °C(1')/3,0 °/130 °C(5')/4,0 °/190 °C/10,0 °/290 °C(15')
Transferline-Temp.:	250 °C
Scan Range:	50 - 160 full scan
Scan Time:	1 sec. 7 Micro Scans
AGC on Backgroundmass	45

Zur qualitativen Absicherung verwendete Ionen:

2-Nitrophenol	77	123	153
4-Nitrophenol	77	123	153

Kenndaten

	NG / BG	mittl. WFR	rel.Stdabw.
2-Nitrophenol	1 / 2 µg/kg FS	87 %	± 10 %
3-Nitrophenol	2 / 4 µg/kg FS	78 %	± 10 %
4-Nitrophenol	1 / 2 µg/kg FS	102 %	± 11 %
2-Methyl-3-nitrophenol	2 / 4 µg/kg FS	92 %	± 4 %
3-Methyl-2-nitrophenol	1 / 2 µg/kg FS	76 %	± 13 %
3-Methyl-4-nitrophenol	1 / 2 µg/kg FS	79 %	± 12 %
4-Methyl-2-nitrophenol	1 / 2 µg/kg FS	76 %	± 11 %
5-Methyl-2-nitrophenol	1 / 2 µg/kg FS	84 %	± 13 %
2,4-Dinitrophenol	0,5 / 1 µg/kg FS	69 %	± 5 %
2,5-Dinitrophenol	0,5 / 1 µg/kg FS	72 %	± 11 %
2,6-Dinitrophenol	0,5 / 1 µg/kg FS	89 %	± 4 %
3,4-Dinitrophenol	0,5 / 1 µg/kg FS	72 %	± 7 %
4-Methyl-2,6-dinitrophenol	0,5 / 1 µg/kg FS	124 %	± 7 %
6-Methyl-2,4-dinitrophenol	0,5 / 1 µg/kg FS	79 %	± 9 %
Dinoseb (2sec. Butyl-4,6-dinitrophenol)	0,5 / 1 µg/kg FS	81 %	± 5 %

2.2.2 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe, Trichloressigsäure**Analyte:**

Trichloressigsäure

Chloroform, 111-Trichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Trichlorethylen, Perchlorethylen, Dibromchlormethan, Bromoform

Analysenprinzip Trichloressigsäure:

Überführen der Trichloressigsäure durch thermische Decarboxylierung in Chloroform. LHKW und TCA können somit mit gleicher Messtechnik bestimmt werden. Die Quantifizierung der TCA erfolgt durch Differenzbildung der beiden Chloroformwerte (Chloroformgehalt nach der Decarboxylierung minus Chloroformgehalt der Nadel) und Multiplikation mit dem stöchiometrischen Faktor von 1,369.

Probenvorbereitung

- Entasten der Nadeln in flüssigem Stickstoff
- Headspace-Fläschchen mit 1 g Nadeln und 4 ml Reinstwasser befüllen
- Konditionierung LHKW-Analyse: 3 Stunden bei 4 °C (Kühlschrank)
- Konditionierung TCA-Analyse: 72 Stunden bei 65 °C (Trockenschrank)

qualitative und quantitative Bestimmung mit Headspace GC-ECD

Gerät: GC mit HS-Autosampler und Coldtrap

Messbedingungen

Trennsäule: DB-624: 60 m, ID 0,32 mm, FD 1,8 µm
 DB-1: 60 m, ID 0,32 mm, FD 5 µm
 Vorsäule: DB-1: 5 m, ID 0,32 mm, FD 5 µm

Thermostatisierung d. Probenellers

LHKW: 4 °C, 40 Minuten
 TCA: 65 °C, 40 Minuten
 Injektor: 140 °C,
 Injektion: HS, 250 µl / sek
 Injektionsvolumen 2.500 µl Dampfraum
 Cold Trap: -90 °C bis 40 °C; 90 sek splitless
 Ofenprogramm: 35(10)/4/90(4)/6/220(12)
 Trägergas : Helium, 1,65 bar (2,8 ml / min)
 Detektor: ECD, 270 °C
 Kalibration: Matrix

Kenndaten

	BG	mittl. WFR	rel.Stdabw.
Trichloressigsäure	0,50 µg/kg FS	105 %	30 %
Chloroform	0,25 µg/kg FS	100 %	22 %
1,1,1-Trichlorethan	0,20 µg/kg FS	85 %	32 %
Tetrachlorkohlenstoff	0,20 µg/kg FS	96 %	24 %
Trichlorethylen	0,25 µg/kg FS	81 %	27 %
Perchlorethylen	0,35 µg/kg FS	84 %	38 %
Dibromchlormethan	0,20 µg/kg FS	87 %	25 %
Bromoform	0,35 µg/kg FS	95 %	11 %

2.3 Datendarstellungen und statistische Analysen

Üblicherweise werden in der Literatur die Konzentrationen der analysierten Verbindungen bezogen auf Frischsubstanz angegeben. Aus Gründen der Vergleichbarkeit wurde dies in der vorliegenden Studie beibehalten. Zusätzlich wurden jedoch die Gehalte auch auf Tro-

ckenssubstanz nach Trocknung bei 105 °C umgerechnet. Bei Heranziehung der Konzentrationen und Ergebnisse ist daher auf die Bezugsgröße zu achten. Die statistischen Analysen wurden häufig mit den Werten beider Bezugsgrößen gerechnet. Ausnahmen davon stellen beispielsweise jene Korrelationsanalysen dar, wo die zu korrelierenden Variablen nur bezogen auf Frischsubstanz oder nur bezogen auf Trockenssubstanz vorliegen. Bei allen anderen Berechnungen unter Heranziehung der Werte nach beiden Bezugsgrößen werden zumeist nur die statistischen Ergebnisse bezogen auf Frischsubstanz dargestellt.

Für die Summenberechnungen, die grafischen Darstellungen, die Berechnungen statistischer Kenngrößen (z.B. Median, Mittelwert) und für die Anwendung statistischer Testverfahren wurde für Gehalte kleiner der Nachweisgrenze (Nitrophenole) bzw. Bestimmungsgrenze (halogenierte Kohlenwasserstoffe) der Wert 0 eingesetzt. Bei den Nitrophenolen wurde für Gehalte zwischen Nachweis- und Bestimmungsgrenze die Nachweisgrenze bezogen auf Frisch- bzw. Trockenssubstanz eingesetzt. „Missing Values“ wurden in die Berechnungen nicht einbezogen.

In einem ersten Schritt wurde eine explorative Datenanalyse durchgeführt und die Normalverteilung der Absolutwerte für die einzelnen Variablen überprüft (Kolmogorov-Smirnov-Test, Shapiro-Wilks-Test). Die Korrelationsanalysen wurden nach Spearman-Rank bzw. bei normalverteilten Variablen zusätzlich nach Pearson berechnet. Für die weitere Berechnung der Pearson-Korrelationskoeffizienten von nach Spearman-Rank korrelierenden nicht normalverteilten Variablen wurden diese vorerst transformiert (zumeist logarithmisch) um Normalverteilung zu erreichen. Die berechneten Gleichungen aus den signifikanten Ergebnissen schrittweiser multipler Regressionen wurden nur nach sorgfältiger Prüfung der erforderlichen Voraussetzungen angegeben. Dies beinhaltet u.a. die Überprüfung der Residuen auf Normalverteilung sowie die Überprüfung der Plots zwischen den Residuen und den vorhergesagten Werten auf Linearität und Varianzhomogenität.

Die Durchführung von hierarchischen Clusteranalysen diente der Identifikation von Gruppen von Standorten mit ähnlichem relativen Belastungsmuster für die untersuchten Substanzen. Je Schadstoffgruppe (Nitrophenole, halogenierte Kohlenwasserstoffe) wurden Clusteranalysen für die relativen Muster der zu der Schadstoffgruppe zugehörigen Einzelsubstanzen je Standort gerechnet. Dabei wurden nur jene Einzelsubstanzen herangezogen, die überwiegend nachweisbar waren. Vorerst wurden die Absolutwerte der Einzelsubstanzen pro Standort in Prozentwerte je Summenwert der entsprechenden Schadstoffgruppe pro Standort umgerechnet. Auf diese Weise ließen sich die für jeden Standort typischen relativen Schadstoffmuster für die Nitrophenole bzw. die halogenierten Kohlenwasserstoffe errechnen. Die derart erhaltenen Prozentvariablen bzw. -werte wurden, um den Einfluss unterschiedlicher Skalenbreiten auszuschalten, in Mittelwert gleich 0, Standardabweichung gleich 1 umskaliert. Mit diesen standardisierten Variablen wurden je Schadstoffgruppe Clusteranalysen durchgeführt. Damit sollten hinsichtlich des relativen Schadstoffmusters je Stoffgruppe („fingerprints“) ähnliche Standorte identifiziert und zusammengruppiert werden bzw. unähnliche in Gruppen getrennt werden. Regionen mit ähnlicher Belastungscharakteristik sollten derart erkannt und die Ursachen dafür anhand des spezifischen Musters eventuell präzisiert werden können.

Als Ähnlichkeits- bzw. Unähnlichkeitskriterium wurde die quadrierte euklidische Distanz im Clusterverfahren verwendet, um v.a. die Unterschiede zwischen den Standorten im Clusterprozess zu betonen. Die Berechnungen wurden jeweils mit den Verfahren „Ward“ und „Average Linkage between Groups“ durchgeführt. Anhand der Entwicklung der Heterogenitätsmaße im Fusionierungsprozess und der zugehörigen Dendrogramme wurde die Anzahl der zu bildenden Cluster bestimmt. Für die derart erhaltenen Gruppen wurden die zugehörigen F- und T-Werte berechnet. Zu Vergleichszwecken wurden diese Werte auch für jene Gruppen berechnet, die bei Erhöhung bzw. Erniedrigung der ausgewählten Anzahl von Clustern um 1 entsprechend dem Clusterverfahren entstanden wären. Anhand der F-Werte für die einzelnen Gruppen (Varianz je Variable und Cluster dividiert durch die Varianz je Va-

riable in der Erhebungsgesamtheit) wurde die Homogenität der gefundenen Gruppen beurteilt. Die T-Werte für die einzelnen Gruppen (Mittelwertdifferenz je Variable zwischen Untergruppe und Erhebungsgesamtheit dividiert durch die Standardabweichung der Erhebungsgesamtheit) wurden für die Identifikation von Trennungsursachen und damit zur Charakterisierung der einzelnen Cluster bzw. die Beurteilung des Sinns einer Trennung in Cluster herangezogen. Da die Clusteranalysen nur bei den halogenierten Kohlenwasserstoffen zu brauchbaren Ergebnissen führten, werden nur diese im Bericht dargestellt.

Zum Testen von Gruppenunterschieden wurden im Zwei-Gruppen-Fall t-Tests (normalverteilte Variablen) bzw. Mann-Whitney-Tests (nicht normalverteilte Variablen), im Mehr-Gruppen-Fall Varianzanalysen (normalverteilte Variablen) bzw. Kruskal-Wallis-Tests (nicht normalverteilte Variablen) gerechnet. Zur Identifizierung von Konzentrationsunterschieden zwischen den einzelnen Nadeljahrgängen wurde der Wilcoxon-Test gerechnet. Als Maßgröße für Signifikanz wurde bei allen statistischen Verfahren ein $p < 0,05$ herangezogen.

3 ERGEBNISSE

3.1 Nitrophenole

Die Konzentrationssummen von den 16 untersuchten Nitrophenolen sind mit Gehalten zwischen 3,6 und 160,0 µg/kg FS (Median 60,9 µg/kg FS) im 1. Nadeljahrgang und zwischen 35,4 und 244,1 µg/kg FS (Median 94,9 µg/kg FS) im 2. Nadeljahrgang unerwartet hoch und werden v.a. durch 4-Nitrophenol (4-NP) und 2-Nitrophenol (2-NP) dominiert. Von den untersuchten Nitrophenolen waren 2-NP, 4-NP, 2,4-Dinitrophenol (2,4-DNP) und 4-Methyl-2-Nitrophenol (4-M-2-NP) fast in allen Fichtennadelproben nachweisbar. Die anderen Nitrophenole waren im 1. Nadeljahrgang (1^{1/2}-jährig) nur vereinzelt nachweisbar, konnten jedoch im 2. Nadeljahrgang (1^{1/2}-jährig) häufig detektiert werden (Abb. 1.2, Tab. 1.3, 1.4). Lediglich zwei der analysierten Nitrophenole waren in den ersten beiden Nadeljahrgängen durchwegs nicht nachweisbar (2-Methyl-3-Nitrophenol (2-M-3-NP), 5-Methyl-2-Nitrophenol (5-M-2-NP)). Nahezu alle Nitrophenole, die zumindest in einem der beiden Nadeljahrgänge überwiegend nachweisbar waren, weisen im 2. Nadeljahrgang signifikant höhere Nitrophenolkonzentrationen als im 1. Nadeljahrgang auf. Dies gilt auch für die Summen der 16 untersuchten Substanzen. Bemerkenswert ist das Ergebnis für 2-NP, das als einzige Substanz im 1. Nadeljahrgang signifikant höhere Konzentrationen als im 2. Nadeljahrgang aufweist. In Kapitel 3.3 wird dargestellt, dass hier Vorgänge des Abbaus in den Nadeln als Einflussgröße für dieses abweichende Ergebnis von 2-NP in Betracht zu ziehen sind.

Die Höhe der Gehalte sind v.a. deshalb als bedenklich einzustufen, da sich Nitrophenole ähnlich wie andere organische und anorganische Schadstoffe mit zunehmendem Nadelalter deutlich anreichern. Dies zeigt sich in der vorliegenden Untersuchung (Abb. 1.2) sowie in einer Studie von Hinkel et al. [33], die vier Nadeljahrgänge untersuchten. Sie stellten im 4. Nadeljahrgang bis zu 6fach höhere Nitrophenolkonzentrationen als im 1. Nadeljahrgang fest [33]. Umgelegt auf die vorliegende Studie würde dies bedeuten, dass die Konzentrationen in den ältesten Nadeljahrgängen der untersuchten Hintergrundstandorte nahe dem mg/kg-Bereich liegen.

Es liegen derzeit keine Informationen vor, ab welchen Nadelkonzentrationen pflanzentoxische Wirkungen in Fichten auftreten. Die geringsten 2,4-DNP-Konzentrationen, bei denen physiologische Effekte in Pflanzen festgestellt wurden, liegen im Bereich zwischen 10⁻⁷ bis 10⁻⁶ mol/l (20 bis 200 ppb) [34]. Dies entspricht jenem Konzentrationsbereich wie er in der vorliegenden Studie für die Summe der Nitrophenole festgestellt wurde. Untersuchungen zur Cytotoxizität organischer Verbindungen ergaben für 2,4-DNP einen ED50-Wert von 1,3 mg/l (50 % Reduktion des Wachstums von Pollenschläuchen). Für 4-NP bzw. 2-NP lag der ED50-Wert bei 18,0 bzw. 21,0 mg/l [35]. Dies lässt erwarten, dass die Phytotoxizität von 4-NP und 2-NP um das rund 15fache geringer ist als jene von 2,4-DNP. Allerdings sind 2-NP und 4-NP in um das 10- bis 20-fache höheren Konzentrationen in den Nadeln enthalten als 2,4-DNP (Abb. 1.2).

Begasungsversuche von Fichtenzweigen mit 2,4-DNP zeigten Ausbleichungen der Nadeln (nach 14 Tagen) sowie Feinstrukturveränderungen der Mesophyll-Chloroplasten und Mitochondrien ab Schadstoffkonzentrationen, die beim 100- bis 1.000fachen von jenen der Umgebungsluft lagen. Nach 28 Tagen waren die stärksten belichteten Nadeln verbräunt [8]. Die Autoren dieser Studie nahmen an, dass auch die in situ auftretenden Luftkonzentrationen ähnliche Schäden hervorrufen können, da die Expositionszeit wesentlich länger ist und Akkumulationseffekte, additive und synergistische Effekte am Standort in Betracht gezogen werden müssen. Die Akkumulation von Nitrophenolen in Fichtennadeln mit dem Nadelalter kann anhand der Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden, über Synergismen bei organischen Schadstoffen ist keine Information vorhanden. Angesichts der hohen Gehalte in den untersuchten Hintergrundgebieten ist jedenfalls nicht auszuschließen,

dass Nitrophenole in den derzeit messbaren Konzentrationen zu physiologischem Stress und negativen Effekten bei den betroffenen Fichten führen. Aufgrund der Akkumulation könnten sich diese besonders in älteren Nadeljährgängen offenbaren.

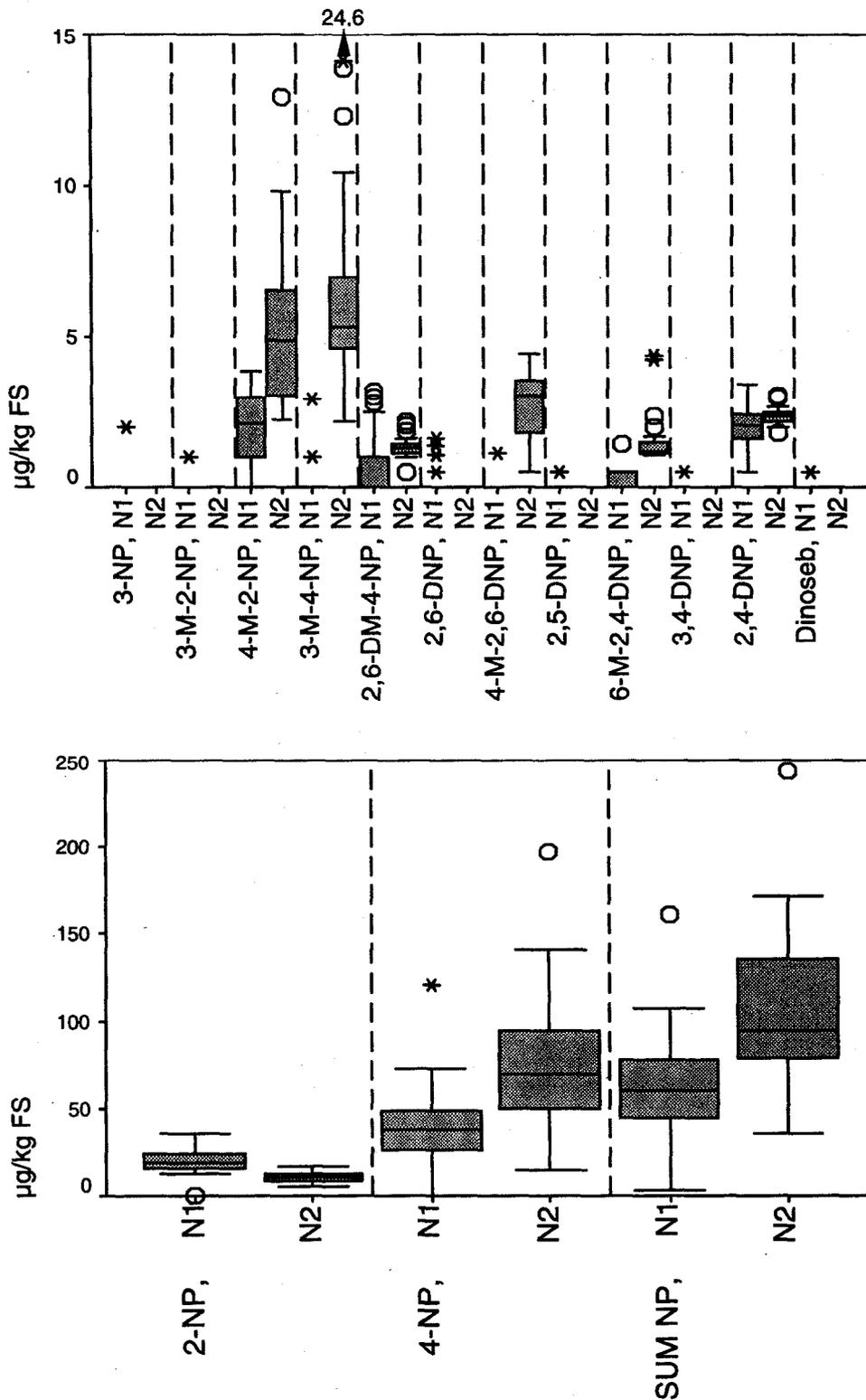


Abb. 1.2: Nitrophenole in den Fichtennadeln (N1: 1. Nadeljahrgang, N2: 2. Nadeljahrgang)

Im Vergleich zu Regenwasser- und Atmosphärenkonzentrationen aus der Literatur [26],[28],[31],[32] scheint in Fichtennadeln die Gesamtnitrophenolbelastung durch leicht höhere Anteile von 4-NP, deutlich höhere von 2-NP und deutlich geringere Anteile an beispielsweise 2,4-DNP, 4-M-2-NP, 6-M-2,4-DNP charakterisiert zu sein. Folgende Faktoren könnten für das Zustandekommen dieses Ergebnisses mitverantwortlich sein: Fichtennadeln nehmen organische Schadstoffe bevorzugt aus der Gasphase der Umgebungsluft auf [38]. Aufgrund der vergleichsweise deutlich höheren Henry-Konstanten sollte 2-NP v.a. in der Gasphase auftreten, während aufgrund dieser die anderen erwähnten Nitrophenole deutlich besser wasserlöslich sind und zusätzlich daher auch bevorzugt durch Regen ausgewaschen werden [28],[39]. Weiters konnte gezeigt werden, dass 2-NP rascher in die Kutikula eindringt als 4-NP, was zusätzlich deren bevorzugte Aufnahme in Fichtennadeln gegenüber 4-NP erklären könnte [42]. Auch Unterschiede zwischen den Nitrophenolen bei der Entgiftung bzw. Metabolisierung in den Nadeln könnten eine Rolle spielen. So liegt die Glucosyl-Transferase-Aktivität in den untersuchten Fichtennadeln für die Konjugation von 4-NP höher als für 2-NP (siehe Teil 2).

Ergebnisse aus anderen Untersuchungen zu Nitrophenolgehalten in Fichtennadeln liegen kaum vor. Die einzige, gemäß vorliegender Literatur bekannte Untersuchung betrifft die Gehalte einzelner Nitrophenole in den Fichtennadeln von Standorten im Fichtelgebirge, nahe Bayreuth und nahe einer Autobahn. Die Gehalte der Standorte nahe der Autobahn und nahe Bayreuth waren deutlich höher als jene aus dem Fichtelgebirge (Tab. 1.2, [33]). Größenordnungsmäßig stimmen die Gehalte aus dem Fichtelgebirge gut mit den Werten der vorliegenden Untersuchung überein.

Tab. 1.2: Vergleich von Nitrophenolgehalten in den Fichtennadeln mit Literaturwerten (in $\mu\text{g}/\text{kg}$ FS; N1 = 1. Nadeljahrgang, N2 = 2. Nadeljahrgang)

	Nadeljahrgang	Hintergrund Österreich Median (Bereich) (n=25)	Hintergrund (Literatur)	Ballungsräume, nahe Quellen (Literatur)
4-NP	N1	37,2 (<1,0-120,4)	6,9 ¹	26,4 ² 19,5 ³
	N2	69,5 (14,8-196,8)	15,3 ¹	16,7 ² 40,3 ³
2,4-DNP	N1	2,1 (0,5-3,5)	3,7 ¹	7,4 ² 7,4 ²
	N2	2,4 (1,8-3,1)	7,4 ¹	12,9 ² 18,4 ²
6-M-2,4-DNP	N1	<0,5 (<0,5-1,5)	2,0 ¹	5,9 ² 7,9 ²
	N2	1,2 (1,1-4,4)	4,0 ¹	11,9 ² 13,9 ²

¹ Fichtelgebirge, Bayern, Fichte, Probenahme: August 1988, n=1, [33]

² Bayreuth, Bayern, Fichte, Probenahme: Juli 1988, n=1, [33]

³ nahe Autobahn, Bayern, Fichte, Probenahme: August 1988, n=1, [33]

Zwischen den Gehalten einzelner Nitrophenole wurden jeweils im 1. Nadeljahrgang sowie im 2. Nadeljahrgang signifikant positive Korrelationen identifiziert (Tab. 1.8-1.11 im Anhang). Die vergleichsweise stärker ausgeprägten Korrelationen sind in Abbildung 1.3 dargestellt und betreffen v.a. den 2. Nadeljahrgang. Im Falle von höheren Nitrophenolbelastungen sind somit offenbar mehrere Nitrophenole gleichzeitig in vergleichsweise höheren Konzentrationen feststellbar. Die Nitrophenolgehalte im 1. Nadeljahrgang korrelieren jedoch nicht mit je-

nen im 2. Nadeljahrgang, d.h. dass der 1. und 2. Nadeljahrgang eine jeweils unterschiedliche Belastungssituation wiedergeben. Die unterschiedliche Expositionsdauer und -periode der beiden Nadeljahrgänge sowie standörtliche Unterschiede in nadelinternen Prozessen der Aufnahme und des Abbaus (siehe Kapitel 3.3 sowie Teil 2) könnten am Zustandekommen dieses Ergebnisses mitbeteiligt sein. Bemerkenswert ist auch, dass 2,4-DNP weder im 1. noch im 2. Nadeljahrgang mit einem anderen Nitrophenol korreliert ist. Diese Verbindung weist somit zu allen anderen nachgewiesenen Nitrophenolen eine unterschiedliche, räumliche Belastungsverteilung auf. Ähnliches gilt für 4-M-2,6-DNP, das allerdings nur im 2. Nadeljahrgang nachgewiesen wurde (Tab. 1.3).

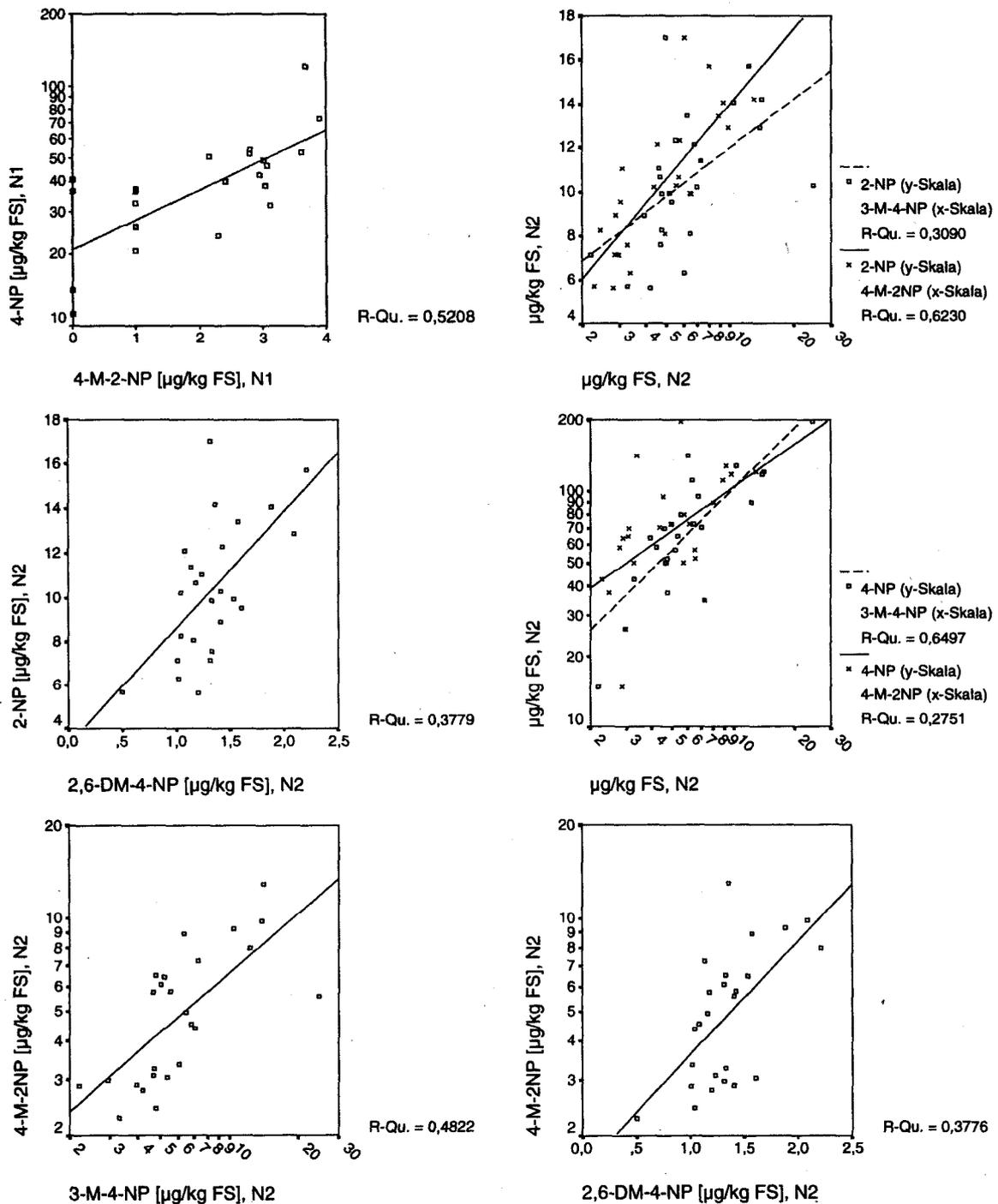


Abb. 1.3: Signifikante Korrelationen zwischen Nitrophenolen im 1. Nadeljahrgang (N1) sowie im 2. Nadeljahrgang (N2)

Signifikante Unterschiede in den Nitrophenolgehalten zwischen den einzelnen Lagegruppen von Standorten (Tab. 1.1) konnten nachgewiesen werden (Abb. 1.4, siehe auch Abbildungen 1.23-1.29 zur lagemäßigen Nitrophenolbelastung im Anhang). Besonders die im Norden des Bundesgebietes gelegenen Standorte weisen bei einigen Nitrophenolen und im 2. Nadeljahrgang signifikant höhere Gehalte auf als jene im südlichen Bundesgebiet. Ein besonders ausgeprägter Nord-Süd-Gradient zeigt sich bei 4-M-2-NP im 2. Nadeljahrgang, das vom nördlich gelegenen Mühl- und Waldviertel nach Süden eine stetige Abnahme der Gehalte in den einzelnen Landschaftsräumen aufweist (Abb. 1.4; Abb. 1.24 im Anhang). Bei 2,6-DM-4-NP weist das Mühl- und Waldviertel signifikant höhere Gehalte im 2. Nadeljahrgang als die anderen Landschaftsräume auf (Abb. 1.4; Abb. 1.27 im Anhang). Im 1. Nadeljahrgang wurde lediglich ein lagemäßiger Belastungsunterschied nachgewiesen, nämlich bei 2-NP, das im östlichen Bundesgebiet höhere Konzentrationen als im westlichen aufweist.

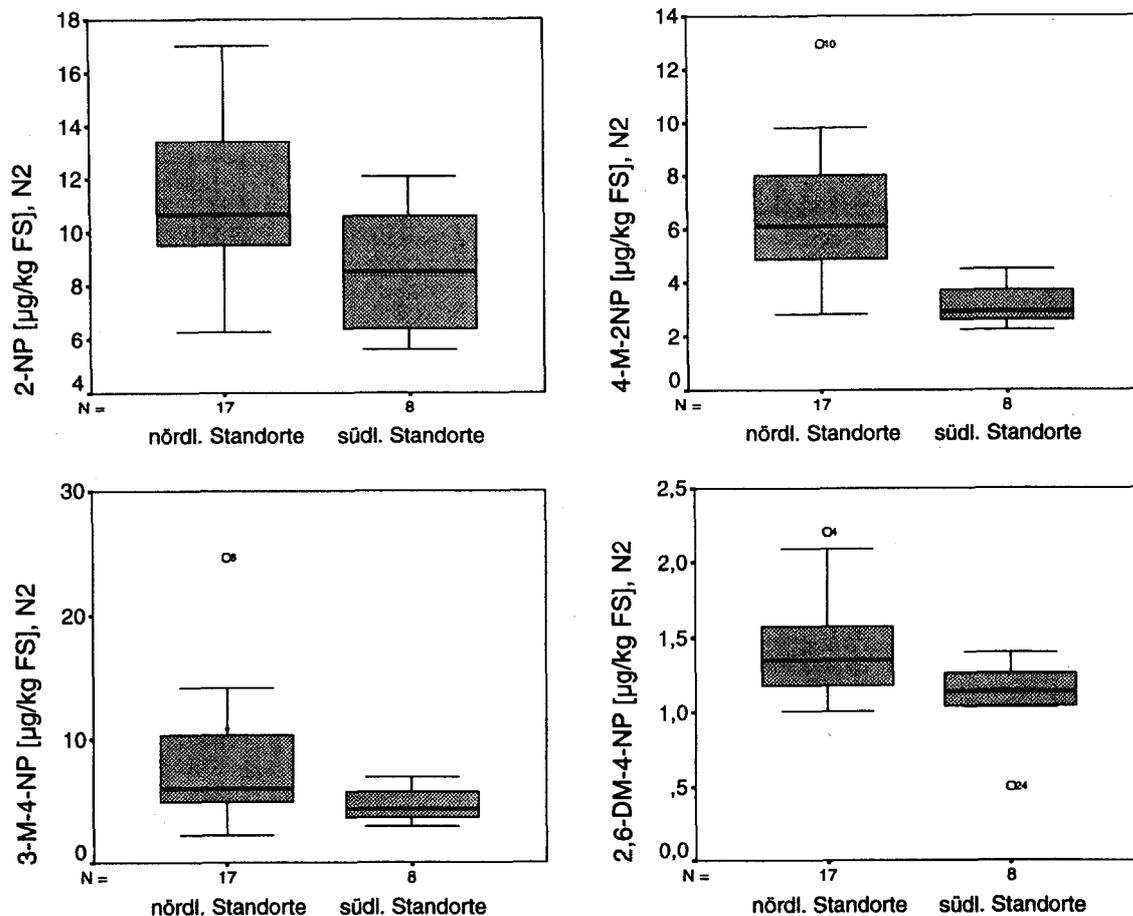


Abb. 1.4: Signifikante Lageunterschiede in den Nitrophenolgehalten im 1. (N1) und 2. Nadeljahrgang (N2).

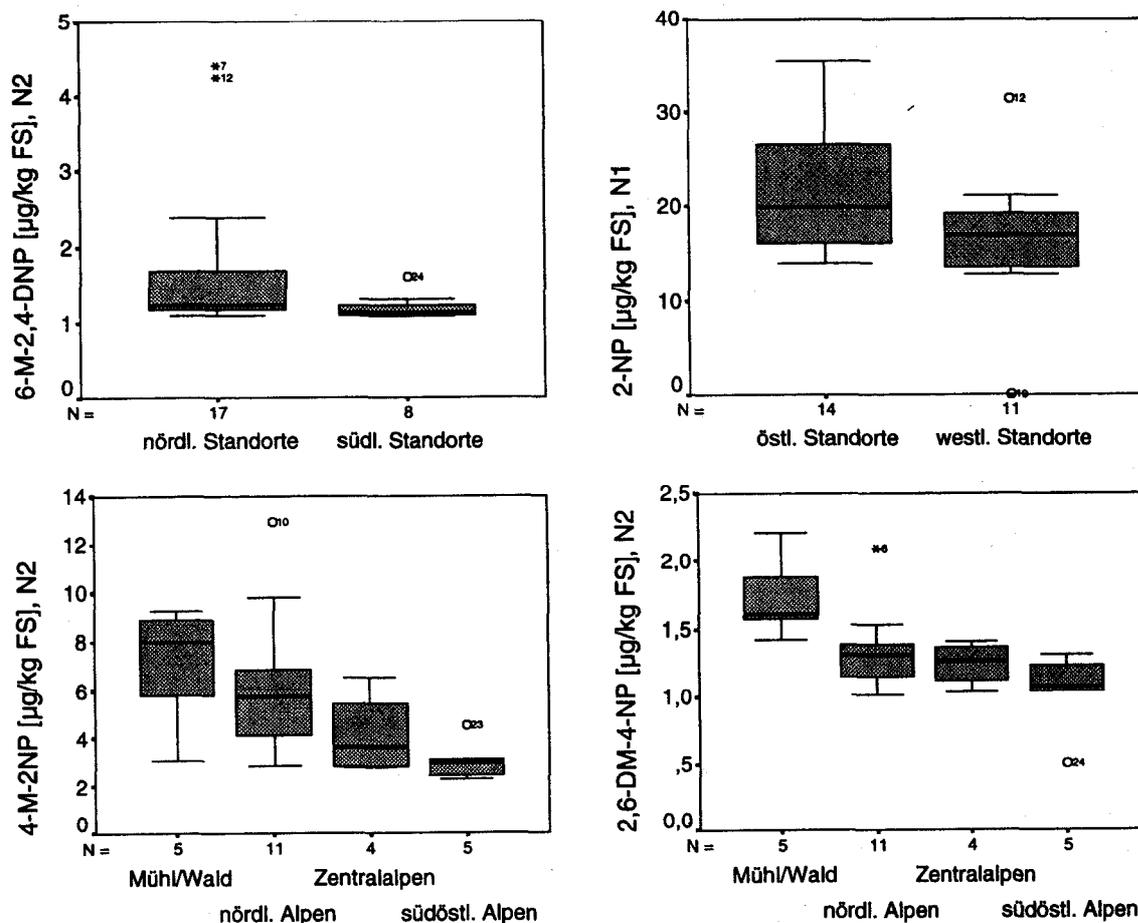


Abb. 1.4 (Fortsetzung): Signifikante Lageunterschiede in den Nitrophenolgehalten im 1. (N1) und 2. Nadeljahrgang (N2).

Das im Rahmen dieser Studie untersuchte Höhenprofil Achenkirch zeigt bei nahezu allen nachweisbaren Nitrophenolen sowohl im 1. als auch im 2. Nadeljahrgang am mittleren Standort höhere Gehalte (Abb. 1.5). Das Auftreten und der Einfluss stagnierender Luftschichten bzw. Inversionen in dieser Höhenlage in Achenkirch dürften für dieses Ergebnis verantwortlich sein [43],[44]. Dieser Höhenverlauf der Konzentrationen stellt einen Unterschied zu einer früheren Untersuchung auf verschiedene schwerflüchtigen organische Schadstoffe wie beispielsweise Dioxine und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe dar, wo am höchstgelegenen Standort dieses Höhenprofils fast ausschließlich die vergleichsweise höheren Gehalte nachgewiesen wurden [41]. Ein dazu ähnliches Ergebnis zeigt lediglich 4-NP (und dadurch auch die Summe der Nitrophenole) im 2. Nadeljahrgang, das am höchstgelegenen Standort die höchste Konzentration aufweist (Abb. 1.5).

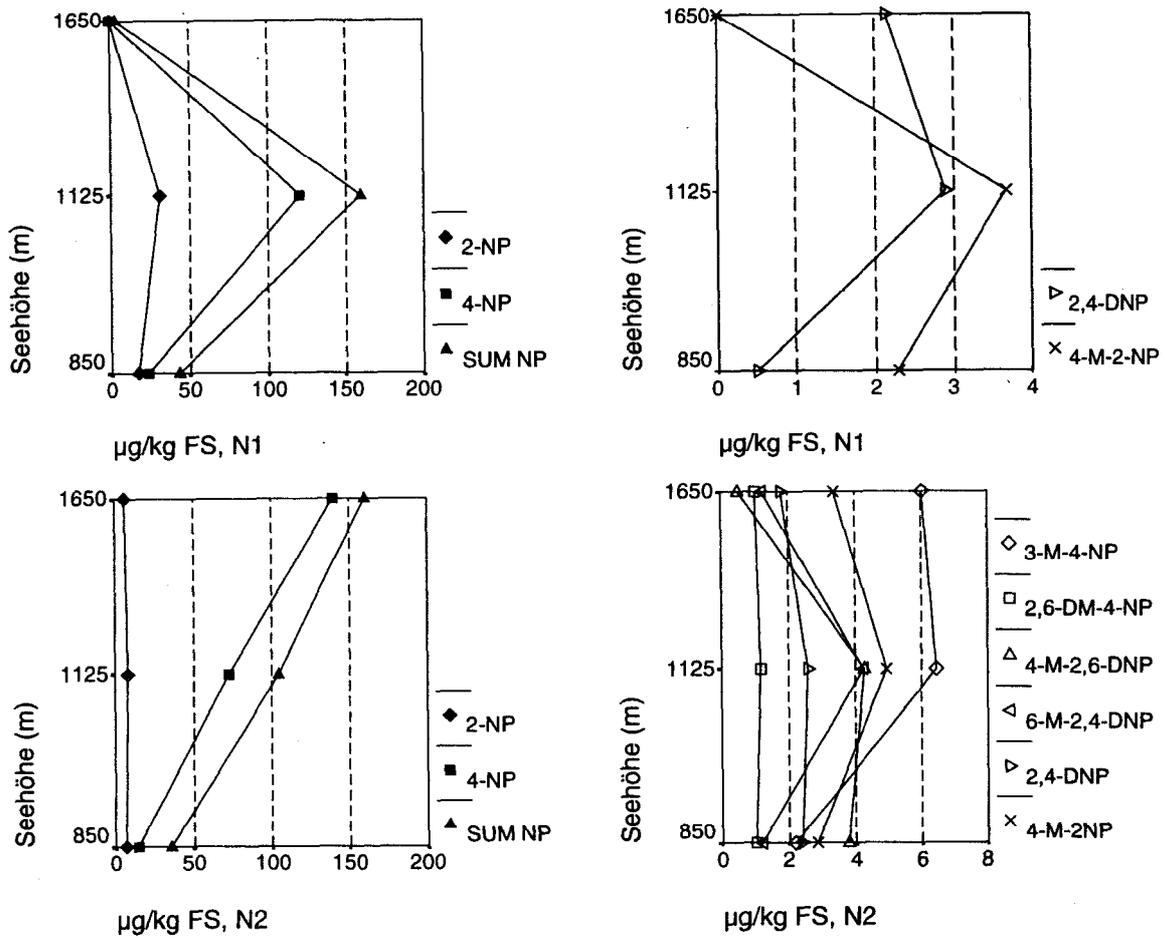


Abb. 1.5: Nitrophenole im 1. (N1) und 2. Nadeljahrgang (N2) der Standorte des Höhenprofils Achenkirch

Tab. 1.3: Nitrophenolgehalte im 1. und 2. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg}$ FS); * Höhenprofil Achenkirch.

Standort	Njg.	3-NP	2-NP	3-M-2-NP	4-NP	2-M-3-NP	4-M-2-NP	3-M-4-NP	5-M-2-NP	2,6-DM-4-NP	2,6-DNP	4-M-2,6-DNP	2,5-DNP	6-M-2,4-DNP	3,4-DNP	2,4-DNP	DSE B	SUM NP
1	1	n.n.	14,8	n.n.	40,1	n.n.	2,40	n.n.	n.n.	2,82	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	2,04	n.n.	62,7
	2	n.n.	13,4	n.n.	110,5	n.n.	8,90	6,30	n.n.	1,57	n.n.	1,53	n.n.	1,49	n.n.	2,40	n.n.	146,1
2	1	n.n.	20,7	n.n.	54,2	n.n.	2,80	2,94	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,18	n.n.	82,8
	2	n.n.	12,3	n.n.	79,2	n.n.	5,80	5,54	n.n.	1,42	n.n.	3,47	n.n.	1,17	n.n.	2,35	n.n.	111,3
3	1	n.n.	26,6	n.n.	42,3	n.n.	2,95	n.n.	n.n.	n.n.	1,39	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	3,46	n.n.	77,2
	2	n.n.	9,5	n.n.	64,7	n.n.	3,05	5,33	n.n.	1,60	n.n.	3,55	n.n.	1,20	n.n.	2,30	n.n.	91,3
4	1	n.n.	15,8	n.n.	36,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,05	n.n.	54,4
	2	n.n.	15,7	n.n.	89,0	n.n.	8,00	12,28	n.n.	2,21	n.n.	4,43	n.n.	1,32	n.n.	2,50	n.n.	135,4
5	1	n.n.	18,5	n.n.	37,2	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3,18	n.n.	60,9
	2	n.n.	14,1	n.n.	127,6	n.n.	9,27	10,41	n.n.	1,88	n.n.	3,43	n.n.	2,02	n.n.	2,00	n.n.	170,7
6	1	n.n.	16,9	n.n.	52,0	n.n.	2,80	<2,0	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,89	n.n.	75,6
	2	n.n.	12,9	n.n.	117,4	n.n.	9,81	13,87	n.n.	2,09	n.n.	3,41	n.n.	1,18	n.n.	2,13	n.n.	162,7
7	1	n.n.	18,1	n.n.	36,4	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,45	n.n.	59,0
	2	n.n.	9,9	n.n.	56,9	n.n.	6,47	5,19	n.n.	1,53	n.n.	3,80	n.n.	4,40	n.n.	2,23	n.n.	90,5
8	1	<4,0	24,4	n.n.	73,0	n.n.	3,90	n.n.	n.n.	2,49	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,90	n.n.	107,7
	2	n.n.	10,3	n.n.	196,8	n.n.	5,57	24,61	n.n.	1,41	n.n.	2,00	n.n.	1,20	n.n.	2,28	n.n.	244,1
9	1	n.n.	14,0	n.n.	25,7	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	2,22	n.n.	44,4
	2	n.n.	7,6	n.n.	50,2	n.n.	3,26	4,70	n.n.	1,32	n.n.	3,80	n.n.	1,10	n.n.	2,25	n.n.	74,2
10	1	n.n.	18,9	n.n.	50,4	n.n.	2,15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,00	n.n.	73,5
	2	n.n.	14,2	n.n.	120,2	n.n.	12,93	14,14	n.n.	1,36	n.n.	1,00	n.n.	1,16	n.n.	2,38	n.n.	167,3
11*	1	n.n.	17,0	n.n.	23,8	n.n.	2,28	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	43,6
	2	n.n.	7,1	n.n.	14,8	n.n.	2,86	2,19	n.n.	1,01	n.n.	3,78	n.n.	1,19	n.n.	2,40	n.n.	35,4
12*	1	n.n.	31,5	n.n.	120,4	n.n.	3,68	n.n.	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,9	<1,0	160,0
	2	n.n.	8,1	n.n.	72,9	n.n.	4,93	6,43	n.n.	1,16	n.n.	4,28	n.n.	4,25	n.n.	2,58	n.n.	104,6
13*	1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,47	n.n.	2,14	n.n.	3,6
	2	n.n.	6,3	n.n.	140,2	n.n.	3,36	6,03	n.n.	1,02	n.n.	<1,00	n.n.	1,23	n.n.	1,81	n.n.	160,4
14	1	n.n.	14,3	n.n.	32,5	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,82	n.n.	51,6
	2	n.n.	10,7	n.n.	50,3	n.n.	5,74	4,65	n.n.	1,18	n.n.	3,34	n.n.	1,14	n.n.	2,49	n.n.	79,4
15	1	n.n.	24,8	n.n.	32,0	n.n.	3,12	n.n.	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	2,1	<1,0	64,0
	2	n.n.	11,4	n.n.	34,6	n.n.	7,27	7,27	n.n.	1,14	n.n.	2,28	n.n.	1,69	n.n.	2,04	n.n.	67,6
16	1	<4,0	19,0	n.n.	14,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	<1,0	n.n.	36,6
	2	n.n.	17,0	n.n.	72,8	n.n.	6,10	5,00	n.n.	1,31	n.n.	1,03	n.n.	1,37	n.n.	2,67	n.n.	107,2
17	1	n.n.	21,1	n.n.	49,0	n.n.	3,02	n.n.	n.n.	3,18	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,06	n.n.	78,4
	2	n.n.	5,6	n.n.	58,4	n.n.	2,79	4,20	n.n.	1,20	n.n.	3,42	n.n.	1,11	n.n.	2,51	n.n.	79,2
18	1	n.n.	12,9	n.n.	11,2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	<1,0	n.n.	25,1
	2	n.n.	9,9	n.n.	52,1	n.n.	6,52	4,77	n.n.	1,33	n.n.	3,84	n.n.	2,39	n.n.	3,10	n.n.	83,9
19	1	n.n.	n.n.	n.n.	52,9	n.n.	3,61	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	2,51	n.n.	59,5
	2	n.n.	8,9	n.n.	63,5	n.n.	2,88	3,94	n.n.	1,40	n.n.	1,78	n.n.	1,15	n.n.	3,02	n.n.	86,6
20	1	n.n.	35,5	n.n.	40,9	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,63	1,14	<1,0	n.n.	n.n.	1,39	n.n.	81,1
	2	n.n.	10,2	n.n.	70,1	n.n.	4,37	6,99	n.n.	1,04	n.n.	3,05	n.n.	1,31	n.n.	2,47	n.n.	99,5
21	1	n.n.	16,2	n.n.	20,6	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	38,3
	2	n.n.	8,2	n.n.	37,4	n.n.	2,44	4,76	n.n.	1,04	n.n.	<1,00	n.n.	1,12	n.n.	2,06	n.n.	57,5
22	1	n.n.	19,5	<2,0	20,6	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	<1,0	1,61	n.n.	44,7
	2	n.n.	7,1	n.n.	26,1	n.n.	2,98	2,94	n.n.	1,31	n.n.	2,60	n.n.	1,09	n.n.	2,59	n.n.	46,7
23	1	n.n.	15,9	n.n.	26,0	n.n.	<2,0	n.n.	n.n.	3,03	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	1,64	n.n.	47,6
	2	n.n.	12,1	n.n.	94,3	n.n.	4,54	6,76	n.n.	1,08	n.n.	2,24	n.n.	1,08	n.n.	2,50	n.n.	124,6
24	1	n.n.	32,9	n.n.	46,5	n.n.	3,07	n.n.	n.n.	n.n.	1,35	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,55	n.n.	86,4
	2	n.n.	5,7	n.n.	42,6	n.n.	2,27	3,28	n.n.	<1,00	n.n.	2,04	n.n.	1,62	n.n.	2,21	n.n.	60,2
25	1	n.n.	32,7	n.n.	38,4	n.n.	3,04	n.n.	n.n.	n.n.	1,04	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	2,16	n.n.	77,8
	2	n.n.	11,0	n.n.	69,5	n.n.	3,10	4,64	n.n.	1,23	n.n.	1,84	n.n.	1,14	n.n.	2,42	n.n.	94,9
Median	1	n.n.	18,5	n.n.	37,2	n.n.	2,2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,1	n.n.	60,9
	2	n.n.	10,2	n.n.	69,5	n.n.	4,9	5,3	n.n.	1,3	n.n.	3,1	n.n.	1,2	n.n.	2,4	n.n.	94,9
Mittelw	1		19,3		39,1											1,9		63,9
	2		10,4		76,5		5,4	7,0		1,3		2,7		1,6		2,4		107,3
Min.	1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<1,0	n.n.	3,6
	2	n.n.	5,6	n.n.	14,8	n.n.	2,3	2,2	n.n.	<1,0	n.n.	0,5	n.n.	1,1	n.n.	1,8	n.n.	35,4
Max.	1	<4,0	35,5	<2,0	120,4	n.n.	3,9	2,9	n.n.	3,2	1,6	1,1	<1,0	1,5	<1,0	3,5	<1,0	160,0
	2	n.n.	17,0	n.n.	196,8	n.n.	12,9	24,6	n.n.	2,2	n.n.	4,4	n.n.	4,4	n.n.	3,1	n.n.	244,1

Tab. 1.4: Nitrophenolgehalte im 1. und 2. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$); * Höhenprofil Achenkirch.

Standort	Njg.	3-NP	2-NP	3-M-2-NP	4-NP	2-M-3-NP	4-M-2-NP	3-M-4-NP	5-M-2-NP	2,6-DM-4-NP	2,6-DNP	4-M-2,6-DNP	2,5-DNP	6-M-2,4-DNP	3,4-DNP	2,4-DNP	DSE B	SUM NP
1	1	n.n.	37,8	n.n.	102,3	n.n.	6,1	n.n.	n.n.	7,2	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	5,2	n.n.	159,5
	2	n.n.	30,2	n.n.	248,7	n.n.	20,0	14,2	n.n.	3,5	n.n.	3,5	n.n.	3,4	n.n.	5,4	n.n.	329,0
2	1	n.n.	48,1	n.n.	126,0	n.n.	6,5	6,8	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	2,7	n.n.	192,0
	2	n.n.	27,4	n.n.	176,3	n.n.	12,9	12,3	n.n.	3,2	n.n.	7,7	n.n.	2,6	n.n.	5,2	n.n.	247,6
3	1	n.n.	65,8	n.n.	104,7	n.n.	7,3	n.n.	n.n.	n.n.	3,4	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	8,6	n.n.	190,8
	2	n.n.	22,8	n.n.	154,7	n.n.	7,3	12,7	n.n.	3,8	n.n.	8,5	n.n.	2,9	n.n.	5,5	n.n.	218,1
4	1	n.n.	36,4	n.n.	84,1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4,7	n.n.	125,2
	2	n.n.	34,8	n.n.	197,5	n.n.	17,8	27,2	n.n.	4,9	n.n.	9,8	n.n.	2,9	n.n.	5,5	n.n.	300,6
5	1	n.n.	42,9	n.n.	86,3	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	7,4	n.n.	140,0
	2	n.n.	31,4	n.n.	285,3	n.n.	20,7	23,3	n.n.	4,2	n.n.	7,7	n.n.	4,5	n.n.	4,5	n.n.	381,6
6	1	n.n.	38,4	n.n.	118,2	n.n.	6,4	<5,5	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4,3	n.n.	170,7
	2	n.n.	28,3	n.n.	258,0	n.n.	21,6	30,5	n.n.	4,6	n.n.	7,5	n.n.	2,6	n.n.	4,7	n.n.	357,8
7	1	n.n.	43,0	n.n.	86,5	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	5,8	n.n.	138,7
	2	n.n.	22,2	n.n.	127,1	n.n.	14,4	11,6	n.n.	3,4	n.n.	8,5	n.n.	9,8	n.n.	5,0	n.n.	201,9
8	1	<11,0	61,6	n.n.	184,3	n.n.	9,8	n.n.	n.n.	6,3	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4,8	n.n.	270,3
	2	n.n.	25,0	n.n.	479,1	n.n.	13,6	59,9	n.n.	3,4	n.n.	4,9	n.n.	2,9	n.n.	5,5	n.n.	594,4
9	1	n.n.	24,0	n.n.	44,0	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	3,8	n.n.	76,1
	2	n.n.	17,6	n.n.	116,9	n.n.	7,6	10,9	n.n.	3,1	n.n.	8,9	n.n.	2,6	n.n.	5,3	n.n.	172,8
10	1	n.n.	41,3	n.n.	110,0	n.n.	4,7	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4,4	n.n.	160,4
	2	n.n.	30,6	n.n.	258,8	n.n.	27,9	30,4	n.n.	2,9	n.n.	2,1	n.n.	2,5	n.n.	5,1	n.n.	360,3
11*	1	n.n.	40,0	n.n.	56,0	n.n.	5,4	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	102,3
	2	n.n.	15,7	n.n.	32,6	n.n.	6,3	4,8	n.n.	2,2	n.n.	8,3	n.n.	2,6	n.n.	5,3	n.n.	77,9
12*	1	n.n.	71,3	n.n.	272,4	n.n.	8,3	n.n.	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	6,6	<2,8	361,2
	2	n.n.	17,9	n.n.	162,1	n.n.	11,0	14,3	n.n.	2,6	n.n.	9,5	n.n.	9,5	n.n.	5,7	n.n.	232,6
13*	1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	3,1	n.n.	4,6	n.n.	7,7
	2	n.n.	13,5	n.n.	299,8	n.n.	7,2	12,9	n.n.	2,2	n.n.	<2,6	n.n.	2,6	n.n.	3,9	n.n.	343,1
14	1	n.n.	33,3	n.n.	75,8	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	6,6	n.n.	119,1
	2	n.n.	24,2	n.n.	114,2	n.n.	13,0	10,6	n.n.	2,7	n.n.	7,6	n.n.	2,6	n.n.	5,6	n.n.	180,6
15	1	n.n.	59,6	n.n.	76,9	n.n.	7,5	n.n.	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	5,0	<2,8	152,6
	2	n.n.	25,9	n.n.	78,6	n.n.	16,5	16,5	n.n.	2,6	n.n.	5,2	n.n.	3,8	n.n.	4,6	n.n.	153,8
16	1	<11,0	49,6	n.n.	36,8	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	<2,8	n.n.	92,5
	2	n.n.	38,3	n.n.	164,0	n.n.	13,7	11,3	n.n.	3,0	n.n.	2,3	n.n.	3,1	n.n.	6,0	n.n.	241,6
17	1	n.n.	58,3	n.n.	135,4	n.n.	8,3	n.n.	n.n.	8,8	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	5,7	n.n.	216,5
	2	n.n.	14,5	n.n.	150,5	n.n.	7,2	10,8	n.n.	3,1	n.n.	8,8	n.n.	2,9	n.n.	6,5	n.n.	204,2
18	1	n.n.	29,6	n.n.	25,7	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	<2,8	n.n.	57,1
	2	n.n.	22,4	n.n.	118,0	n.n.	14,8	10,8	n.n.	3,0	n.n.	8,7	n.n.	5,4	n.n.	7,0	n.n.	190,1
19	1	n.n.	n.n.	n.n.	124,2	n.n.	8,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	5,9	n.n.	139,4
	2	n.n.	20,4	n.n.	145,0	n.n.	6,6	9,0	n.n.	3,2	n.n.	4,1	n.n.	2,6	n.n.	6,9	n.n.	197,7
20	1	n.n.	89,9	n.n.	103,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4,1	2,9	<2,8	n.n.	n.n.	3,5	n.n.	204,8
	2	n.n.	24,2	n.n.	166,0	n.n.	10,3	16,6	n.n.	2,5	n.n.	7,2	n.n.	3,1	n.n.	5,8	n.n.	235,7
21	1	n.n.	40,1	n.n.	51,0	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	93,7
	2	n.n.	19,6	n.n.	88,9	n.n.	5,8	11,3	n.n.	2,5	n.n.	<2,6	n.n.	2,7	n.n.	4,9	n.n.	136,7
22	1	n.n.	45,2	<5,5	47,8	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	<2,8	<2,8	3,7	n.n.	102,0
	2	n.n.	16,8	n.n.	61,4	n.n.	7,0	6,9	n.n.	3,1	n.n.	6,1	n.n.	2,6	n.n.	6,1	n.n.	110,0
23	1	n.n.	38,4	n.n.	62,8	n.n.	<5,5	n.n.	n.n.	7,3	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4,0	n.n.	114,2
	2	n.n.	27,6	n.n.	215,4	n.n.	10,4	15,4	n.n.	2,5	n.n.	5,1	n.n.	2,5	n.n.	5,7	n.n.	284,5
24	1	n.n.	80,4	n.n.	113,7	n.n.	7,5	n.n.	n.n.	n.n.	3,3	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	6,2	n.n.	211,2
	2	n.n.	12,7	n.n.	95,4	n.n.	5,1	7,3	n.n.	<2,6	n.n.	4,6	n.n.	3,6	n.n.	5,0	n.n.	134,8
25	1	n.n.	81,8	n.n.	96,0	n.n.	7,6	n.n.	n.n.	n.n.	2,6	n.n.	n.n.	<2,8	n.n.	5,4	n.n.	194,3
	2	n.n.	24,6	n.n.	154,8	n.n.	6,9	10,3	n.n.	2,7	n.n.	4,1	n.n.	2,5	n.n.	5,4	n.n.	211,3
Median	1	n.n.	42,9	n.n.	86,5	n.n.	4,7	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	4,7	n.n.	140,0
	2	n.n.	24,2	n.n.	154,8	n.n.	11,0	12,3	n.n.	3,0	n.n.	7,2	n.n.	2,9	n.n.	5,4	n.n.	218,1
Mittelw	1		46,3		93,0											4,5		151,7
	2		23,5		174,0		12,2	16,1		3,0		6,1		3,6		5,4		244,0
Min.	1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	0,9	n.n.	7,7
	2	n.n.	12,7	n.n.	32,6	n.n.	5,1	4,8	n.n.	<2,6	n.n.	1,1	n.n.	2,5	n.n.	3,9	n.n.	77,9
Max.	1	<11,0	89,9	<5,5	272,4	n.n.	9,8	6,8	n.n.	8,8	4,1	2,9	<2,8	3,1	<2,8	8,6	<2,8	361,2
	2	n.n.	38,3	n.n.	479,1	n.n.	27,9	59,9	n.n.	4,9	n.n.	9,8	n.n.	9,8	n.n.	7,0	n.n.	594,4

3.2 Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe (LHKW), Trichloressigsäure (TCA)

Die Substanzen Chloroform (TCM), 1,1,1-Trichlorethan (TCE), Tetrachlorkohlenstoff (TETRA), Trichlorethylen (TRI), Perchlorethylen (Per) und Trichloressigsäure (TCA) konnten fast in allen untersuchten Fichtennadelproben nachgewiesen werden. Lediglich Bromoform (TBM) war durchwegs unter der Bestimmungsgrenze. Die Konzentrationen von TCM und TCA sind generell höher als jene der anderen Substanzen. Bemerkenswert ist, dass mit Ausnahme von PER alle anderen LHKW im 3. Nadeljahrgang in signifikant höheren Konzentrationen vorliegen als im 1. Nadeljahrgang (Abb. 1.6, Tab. 1.6, 1.7). Dies stellt einen Unterschied zu Ergebnissen anderer Studien dar [14],[45],[46], wo im Gegensatz zur TCA bei den LHKW keine Anreicherung mit dem Nadelalter festgestellt wurde. Begasungsexperimente zeigten, dass sich bei LHKW zwischen der Umgebungsluftkonzentration und der Konzentration in den Fichtennadeln innerhalb von einer Stunde bis wenigen Stunden ein Gleichgewicht einstellt [5],[37]. Dies lässt erwarten, dass die Konzentration in den Fichtennadeln einen Indikator für die aktuelle Immissionskonzentration von LHKW in der Umgebungsluft darstellt. Aufgrund der raschen Gleichgewichtseinstellung zwischen Nadel und Umgebungsluft wäre zu erwarten, dass bei LHKW keine Unterschiede zwischen den Nadelgehalten unterschiedlicher Nadeljahrgänge auftreten. Nach 28tägiger Desorption der begasten Nadeln verblieb allerdings ein nicht desorbierbarer Rest von 3,4 % der Anfangskonzentration in den Nadeln [37]. Dieses Ergebnis aus der Literatur könnte einen Hinweis auf eine mögliche – wenn auch eingeschränkte – Anreicherung mit dem Nadelalter darstellen und somit die höheren LHKW-Nadelgehalte im 3. Nadeljahrgang der vorliegenden Studie teilweise erklären. Unterschiedliche Aufnahme- und Entgiftungsbedingungen für LHKW zwischen den Nadeljahrgängen könnten ebenfalls eine Rolle spielen. Verschiedene Untersuchungen belegen, dass die Glutathion-S-Transferase (GST) in Fichtennadeln auf die Begasung mit LHKW reagiert und eine wichtige Rolle in der Entgiftung von organischen Xenobiotika spielt [9],[47]. Die Untersuchung der Fichtennadelproben der vorliegenden Untersuchung ergab, dass die GST-Aktivität im 1. Nadeljahrgang signifikant höher ist als im 3. Nadeljahrgang (siehe Teil 2). Eine Mitbeteiligung an höheren LHKW-Gehalten im 3. Nadeljahrgang aufgrund der geringeren Entgiftungsaktivität wäre somit denkbar. Offen bleibt die Frage, warum PER im Unterschied zu den anderen Substanzen keine höheren Gehalte im 3. Nadeljahrgang aufweist (Abb. 1.6). Einen möglichen Erklärungsansatz liefern Ergebnisse von Begasungsversuchen von Schröder & Weiß [47], die zeigen, dass TRI die GST-Aktivität in den jüngsten Fichtennadeln anregte, während PER die GST in den älteren Nadeln anregte. Somit könnte der fehlende Konzentrationsunterschied zwischen 1. und 3. Nadeljahrgang der vorliegenden Untersuchung bei PER auf eine spezifische höhere Entgiftungsaktivität für PER im 3. Nadeljahrgang zurückzuführen sein.

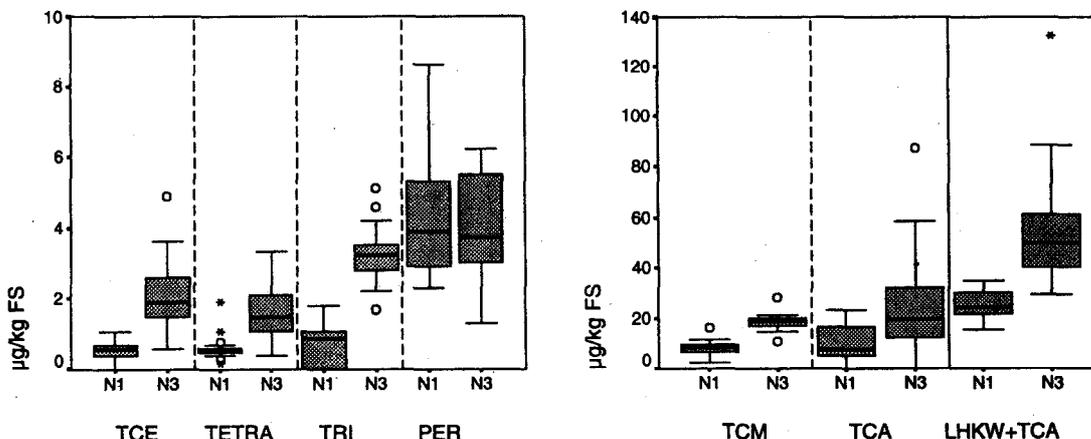


Abb. 1.6: Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure in Fichtennadeln (N1: 1. Nadeljahrgang, N3: 3. Nadeljahrgang)

Im Vergleich zu anderen Untersuchungen liegen die LHKW- und TCA-Gehalte der 25 Hintergrundstandorte in ähnlicher Größenordnung. Dies gilt besonders für TCA. Die Wertebereiche für LHKW, die für Kiefernadeln aus Berlin berichtet werden [45], werden allerdings – wiederum mit Ausnahme von PER – durch jene der vorliegenden Untersuchung übertroffen (Tab. 1.5). Artbedingte Unterschiede könnten jedoch für diesen Unterschied verantwortlich sein [45]. Die Höhe der nachgewiesenen Konzentrationen von TCE und TETRA vermitteln, dass trotz drastischer Einschränkung bzw. Verbot von deren Verwendung in den letzten Jahren, diese aufgrund ihrer langen atmosphärischen Lebensdauer langfristig in der Umwelt nachweisbar sein werden.

Tab. 1.5: Vergleich der LHKW- und TCA-Gehalte in den Fichtennadeln mit Literaturwerten (in $\mu\text{g}/\text{kg}$ FS; N1 = 1. Nadeljahrgang, N3 = 3. Nadeljahrgang)

	Nadeljahrgang	Hintergrund Österreich Median (Bereich) (n=25)	Hintergrund (Literatur)	Ballungsräume, nahe Quellen (Literatur)
TCA	N1	7,9 (<0,5-23,3)	$\approx 1-3^1$ $\approx 16-70^2$ $\approx 15-43^3$ $\approx 7-21^4$ $2-7^5$	
	N3	19,6 (<0,5-87,1)	3,2-68,9 ⁹	0,59-178 ⁷
TCM	N1	8,5 (2,7-16,5)		0,01-16,7 ⁷
	N3	19,0 (11,1-28,2)		
TCE	N1	0,6 (<0,2-1,1)	$\approx 0,1-0,3^1$	0,01-0,97 ⁷
	N3	1,9 (0,6-4,9)	$\approx 0,1-0,2^1$	
TETRA	N1	0,6 (0,2-1,9)	$\approx 0,2-0,8^1$	0,01-1,53 ⁷
	N3	1,5 (0,4-3,3)	$\approx 0,3-1,2^1$	
TRI	N1	0,9 (<0,25-1,8)		<0,05 ⁷
	N3	3,2 (1,7-5,1)		
PER	N1	3,9 (2,3-8,6)	$\approx 0,3-0,7^1$	0,07-35,2 ⁷
	N3	3,7 (1,3-6,2)	$\approx 0,2-1,0^1$	

¹ Achenkirch, Österreich, Fichte, Probenahme: Oktober: 1991, n=5, [14]

² Schwarzwald, Deutschland, Fichte, Probenahme: September, Oktober, 1989, 1990, n=12, [7],[11]

³ Schönbuch, SW-Deutschland, Fichte, Probenahme: September, Oktober, November 1989, 1990, n=5, [7],[11]

⁴ Erzgebirge, Deutschland, Fichte, Probenahme: September, Oktober, November 1990, 1991, n=15, [11]

⁵ nahe Rovaniemi, Finnland, Fichte, Probenahme: Oktober 1991, n=8, [48]

⁶ Montafon, Österreich, Fichte, Probenahme: Oktober 1988, n=4, [49]

⁷ Berlin, Kiefer, 1.-3. Nadeljahrgang, Probenahme: verschiedene Monate 1990, 1991, [45]

⁸ 5 km entfernt von Zellulosefabrik, Finnland, Kiefer, Probenahme: verschiedene Monate 1993, 1994, n=13, [20]

⁹ Kaukasus, nahe Kaspischer See, Kiefer, 2. Nadeljahrgang, Probenahme: Juli/August 1997, n=13 [50]

Signifikant positive Korrelationen zwischen den Absolutgehalten einzelner LHKW konnten nachgewiesen werden. Generell sind diese im 3. Nadeljahrgang ausgeprägter bzw. häufiger als im ersten Nadeljahrgang (Abb. 1.7, Tab. 1.12-1.15 im Anhang). Dies legt nahe, dass hier Vorgänge in den Nadeln selbst in Abhängigkeit vom Nadelalter für diesen Unterschied zwischen den beiden Nadeljahrgängen verantwortlich sind. Diese Vermutung wird auch unterstützt durch Ergebnisse in Kapitel 3.3, wonach ausschließlich im 3. Nadeljahrgang signifikante Abnahmen der Gehalte von TCM, TETRA und TRI mit Zunahme der Entgiftungsaktivitäten in den Nadeln auftreten. Hervorzuheben sind daher auch besonders die Korrelationen zwischen TCM und TRI sowie TCM und TETRA im 3. Nadeljahrgang (Abb. 1.17). Weiters ist TETRA und PER im 1. Nadeljahrgang korreliert. Ergebnisse aus der Literatur zeigen, dass TETRA luftchemisch aus PER und TCM aus TRI gebildet wird [51],[52]. Die Reduktion (Hydrolyse) von TETRA zu TCM in biologischen Systemen wurde dargestellt [53]. Diese Ergebnisse, stellen einen weiteren Erklärungsansatz für die festgestellten Zusammenhänge dar. Zwischen TCA und einzelnen LHKW konnten keine oder schwach ausgeprägte negative Korrelationen nachgewiesen werden. Gleich den Nitrophenolen konnten bei den halogenierten Kohlenwasserstoffen keine Korrelationen zwischen den Gehalten im jüngeren und dem älteren Nadeljahrgang nachgewiesen werden. Altersbedingte Unterschiede in Bezug auf Einflussfaktoren wie etwa Expositionsdauer und -periode sowie standörtliche Unterschiede in Aufnahme, Anreicherung, Metabolisierung und Entgiftung der Substanzen der beiden Nadeljahrgänge dürften auch hier am Zustandekommen dieses fehlenden Zusammenhangs eine entscheidende Rolle spielen. Die – lediglich im 3. Nadeljahrgang auftretende – Abhängigkeit des Nadelgehalts einzelner LHKW von der Entgiftungsaktivität in den Nadeln könnte einen möglichen Erklärungsansatz für dieses Ergebnis darstellen (siehe Kap. 3.3 bzw. Teil 2).

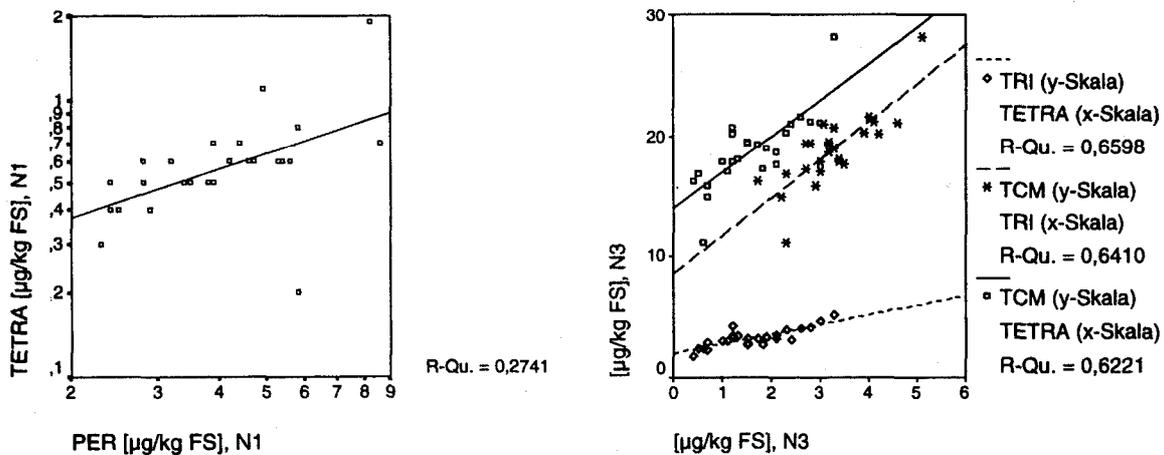


Abb. 1.7: Signifikante Korrelationen zwischen LHKWs in den Fichtennadeln (links 1. Nadeljahrgang, rechts 3. Nadeljahrgang)

Aus dem Ergebnis der Korrelationsanalysen konnte erwartet werden, dass Unterschiede zwischen den relativen Halokarbon-Mustern der einzelnen Standorte bestehen. Diese sollten in erster Linie durch wechselnde Anteile von LHKW und TCA gekennzeichnet sein. Mittels Clusteranalyse wurde dies näher überprüft (siehe Kap. 2.3).

Die häufigsten relativen Halokarbon-Muster im 1. Nadeljahrgang und 3. Nadeljahrgang werden jeweils durch die Cluster 1 und Cluster 3 repräsentiert (Abb. 1.8, 1.9 oben). Lagemäßige Gemeinsamkeiten der Standorte in Cluster 1 bzw. in Cluster 3 konnten jedoch nicht identifiziert werden (Abb. 1.36 im Anhang). Der Unterschied zwischen diesen beiden Clustern besteht in erster Linie zwischen deren unterschiedlichen Anteilen an TCM (sowie teilweise anderen LHKW) und TCA. Cluster 2 stellt beim 1. und 3. Nadeljahrgang jeweils das Muster ei-

nes Standorts dar. Beim 1. Nadeljahrgang weist Cluster 2 einen markant höheren Anteil von TCE, TRI und PER an der Gesamtbelastung auf, beim 3. Nadeljahrgang einen markant höheren von TCE (Abb. 1.8, 1.9 oben). Cluster 4 beim 3. Nadeljahrgang beinhaltet 3 Standorte und weist besonders hohe Anteile an LHKW aufgrund fehlender Anteile von TCA auf (Abb. 1.9 oben).

Zwischen Cluster 1 und 3 bestehen sowohl im 1. Nadeljahrgang als auch im 3. Nadeljahrgang signifikante Unterschiede in den Absolutkonzentrationen. Die TCA-Konzentrationen sowie die Summenkonzentrationen von LHKW+TCA sind jeweils im Cluster 3 signifikant höher als im Cluster 1 (Abb. 1.8, 1.9 unten). Beim 1. Nadeljahrgang ist zusätzlich auch der LHKW-Gehalt des Clusters 3 signifikant geringer als jener des Clusters 1 (Abb. 1.8, unten). Somit ist ein Halokarbon-Relativmuster mit vergleichsweise höheren Anteilen von TCA und geringeren Anteilen an TCM und anderen LHKW an der Gesamtbelastung auch durch höhere Absolut-Konzentrationen an TCA sowie LHKW+TCA gekennzeichnet.

Diese Ergebnisse könnten anhand folgender Hinweise aus der Literatur über die Bildung bzw. Umwandlung dieser Substanzen erklärbar sein. Als wesentliche Ursache für den Nachweis von TCA in der Umwelt wird die sekundäre photochemische Umwandlung von LHKW (v.a. C2-Chlorkohlenwasserstoffe) zu Trichloracetylchloriden [52],[54]-[56] und zu TCA [7],[11],[16]-[20] in der Atmosphäre angesehen. Eine Anwendung von TCA als Pestizid ist in zahlreichen Staaten mittlerweile verboten. Weiters wird vermutet, dass TCA auch in den Nadeln im Zuge der Entgiftung von LHKW durch P-450 Monoxygenasen gebildet wird [14]. Die Ergebnisse könnten mit diesen Aspekten in Zusammenhang stehen. Demnach könnten die Muster der Nadeln von Cluster 3 mit höheren Anteilen bzw. Konzentrationen von TCA durch die Belastung mit Luftmassen erklärbar sein, in denen im Vergleich zu Cluster 1 bereits eine stärkere Umwandlung von LHKW in TCA stattgefunden hat. Eine weitere Ursache könnte eine stärkere Umsetzung von LHKW zu TCA in den Nadeln von Cluster 3 darstellen. Da TCA auch aus dem Boden aufgenommen wird [12],[57], könnte eine vergleichsweise stärkere Aufnahme über die Wurzeln und Translokation in die Nadeln einen weiteren Grund für die Ergebnisse von Cluster 3 darstellen. Aufgrund der signifikant höheren LHKW+TCA Konzentrationen der Cluster 3 müsste jede, dieser möglichen Ursachen mit signifikant höheren LHKW+TCA-Belastungen einhergehen.

Die Abnahmen bzw. Zunahmen der Anteile von einzelnen LHKW und TCA im Relativmuster sind durch eine relativ homogene, straffe Verteilung der Standorte entlang von Geraden beschreibbar (Abb. 1.10). Es zeigt sich, dass sich die unterschiedliche Halokarbon-Zusammensetzung in den Nadeln der 25 Hintergrundstandorte am deutlichsten durch Zu- bzw. Abnahmen des Verhältnisses TCM/TCA beschreiben lässt. TCA verhält sich jedenfalls deutlich anders als die LHKW, die ähnliche Ergebnisse zeigen (positive Korrelationen in den Absolutgehalten und anteilmäßige Zu- bzw. Abnahmen mit Ab- bzw. Zunahmen von TCA, Abb. 1.7 und Abb. 1.10), was mit den oben erwähnten Ursachen in Zusammenhang stehen könnte.

Weiters sind die gegenüber anderen LHKW erhöhten relativen Anteile von TCM in den Nadeln im Vergleich zu den Mischungsverhältnissen, wie sie von Luftmessungen berichtet werden [17]-[19],[21],[58]-[60], bemerkenswert. Die Höhe des Nachweises von TCM in der Umwelt wird auch mit der Decarboxylierung der TCA, mit dem Abbau von LHKWs bzw. Photooxidationsprodukten von LHKW und dem Vorhandensein natürlicher Quellen in Zusammenhang gebracht [7],[18],[19],[22],[51]-[53],[59],[61]-[66]. Falls die Decarboxylierung von TCA eine maßgebliche Quelle für erhöhte TCM-Gehalte in den Nadeln darstellen würde, sollte die Absolutkonzentration von TCM positiv mit jener von TCA korreliert sein. Dies ist aber nur zwischen TCM und anderen LHKW der Fall (Abb. 1.7). Weiters nimmt der TCM-Anteil im relativen Halokarbonmuster gleich jenem anderer LHKW mit zunehmenden TCA-Anteilen ab (Abb. 1.10). Es ist daher naheliegend, diese Ähnlichkeit der Ergebnisse für TCM und andere LHKW mit gleichen Ursachen der Belastung in Zusammenhang zu bringen. Dies kann jedoch nicht die gegenüber anderen LHKW erhöhten Anteile von TCM in den Nadeln im Vergleich zum atmosphärischen Mischungsverhältnis erklären. Es wird daher vermutet, dass

dass andere Ursachen als die Aufnahme dieser Verbindungen aus der Gasphase der Umgebungsluft durch die Nadeln für diesen mustermäßigen Unterschied verantwortlich sind. Im Niederschlags- und Bodenwasser von Wald- und Freiflächen konnten ebenfalls deutlich höhere TCM-Konzentrationen gegenüber anderen LHKW nachgewiesen werden [31],[45],[66]. Möglicherweise ist die diesbezügliche Ähnlichkeit der Fichtennadeln auf einen markanten Aufnahmepfad von LHKW in die Nadeln aus diesen Medien zurückzuführen. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit liefern die Ergebnisse in Kapitel 3.3, wonach das Verhältnis TCM zu TETRA mit Zunahme der Glucosyltransferase-Aktivität (GT) zunimmt. Dies könnte auf eine Umsetzung von TETRA zu TCM im Nadelinneren hindeuten, in der die Glucosyltransferase involviert ist und die je nach Aktivität dieses Enzyms unterschiedliche Ausprägungsgrade zeigt. Grundsätzlich wird die Umsetzung von TETRA zu TCM in biologischen Systemen in der Literatur beschrieben (Zusammenstellung in [53]).

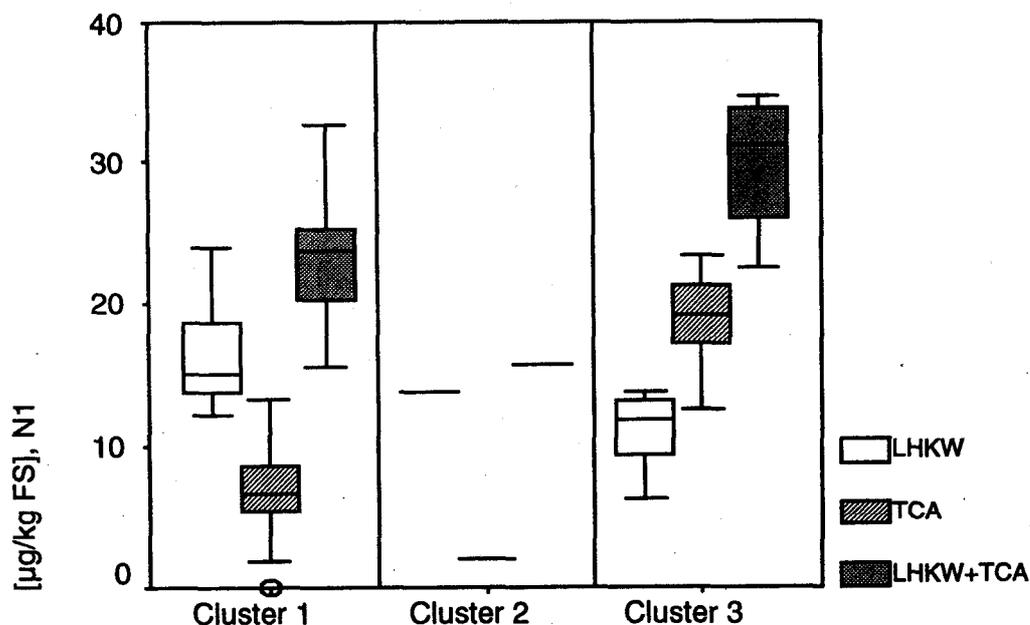
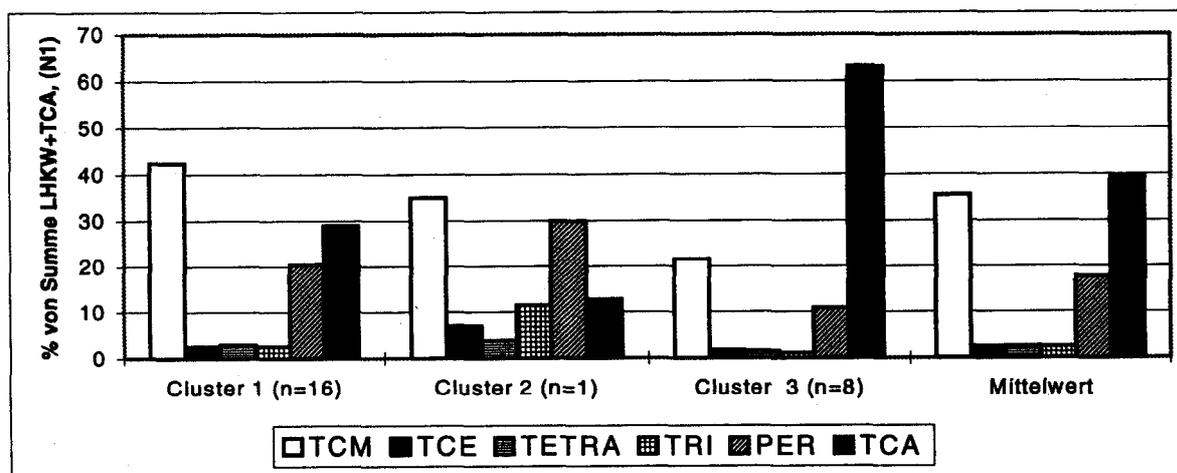


Abb. 1.8: Mittlere relative Halokarbon-Muster der einzelnen Cluster (oben) und Konzentrationen von LHKW, TCA und Summe LHKW + TCA in den Fichtennadeln der Cluster (unten), 1. Nadeljahrgang

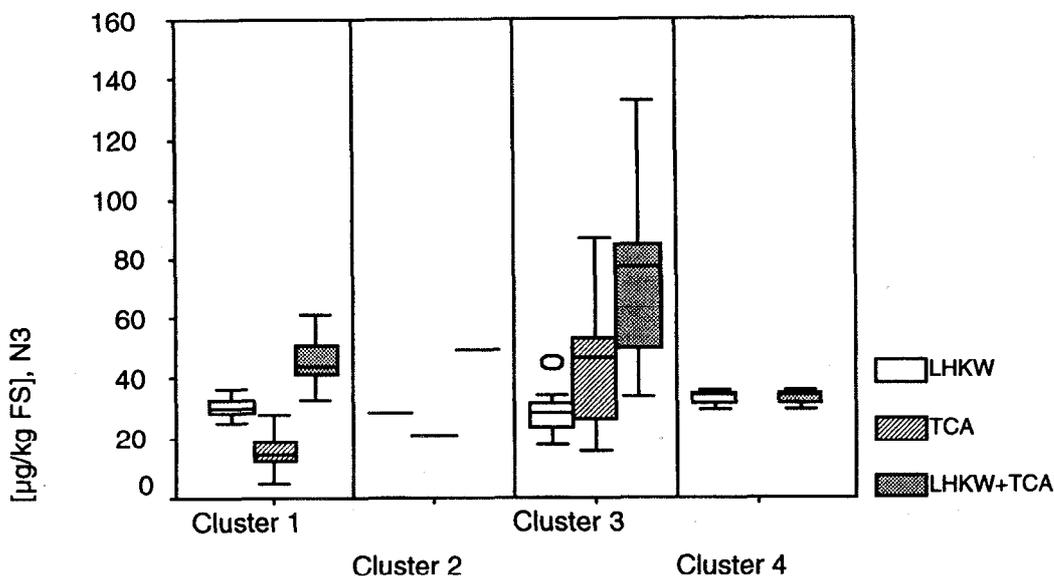
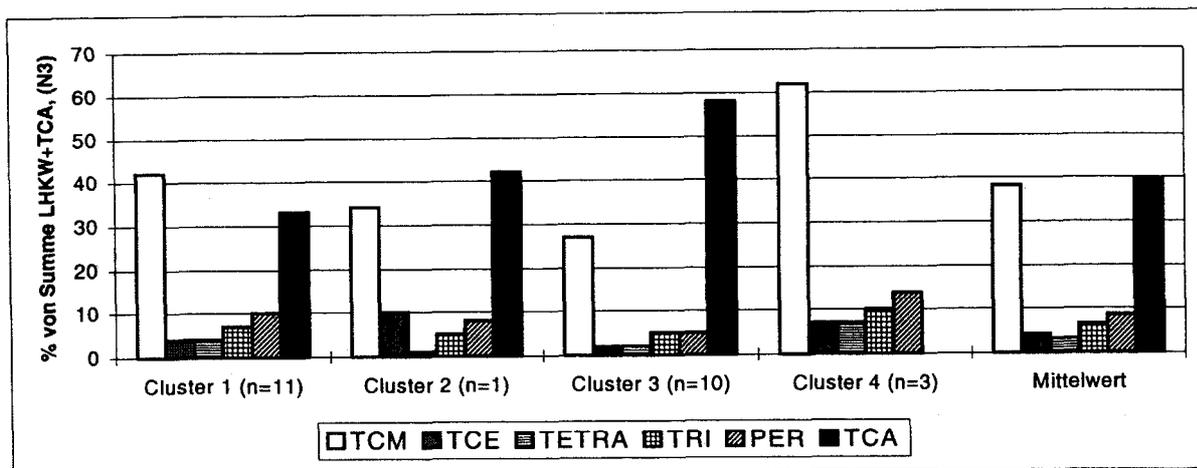


Abb. 1.9: Mittlere relative Halokarbon-Muster der einzelnen Cluster (oben) und Konzentrationen von LHKW, TCA und Summe LHKW+TCA in den Fichtennadeln der Cluster (unten), 3. Nadeljahrgang

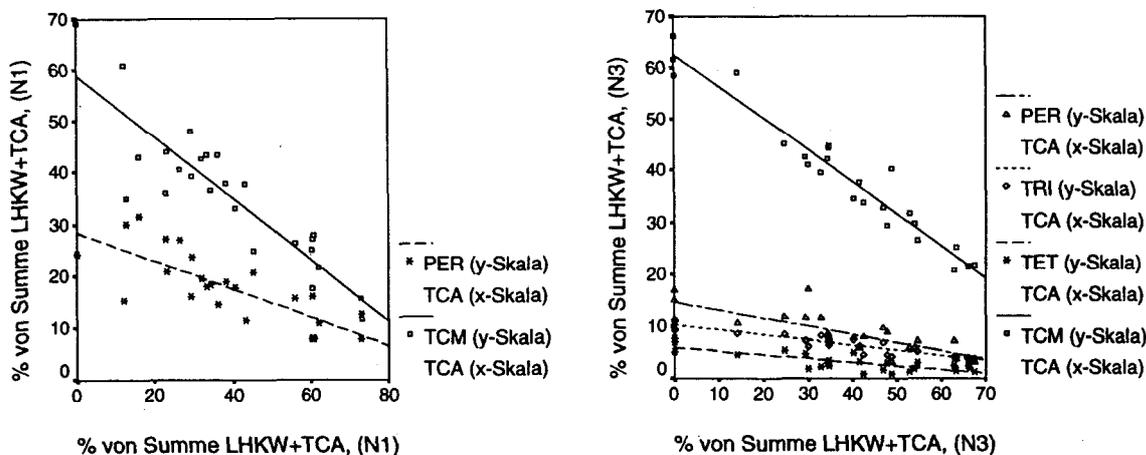


Abb. 1.10: Zunahmen bzw. Abnahmen der Prozentanteile einzelner Halokarbonate an der Summe LHKW+TCA (links: 1. Nadeljahrgang, rechts: 3. Nadeljahrgang)

Lagemäßige Unterschiede in den Gehalten von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure wurden identifiziert. Die Standorte nördlich der Zentralalpen weisen bei PER und TETRA im 1. Nadeljahrgang signifikant geringere im 3. Nadeljahrgang jedoch signifikant höhere Gehalte als im Süden des Bundesgebietes auf (Abb. 1.11, siehe auch Abbildungen 1.30-1.35 zur lagemäßigen Belastung mit halogenierten Kohlenwasserstoffen im Anhang). Anhand dieser Ergebnisse, für die sich keine Erklärung anbietet, lässt sich nicht ableiten, welche dieser beiden Regionen eine höhere Belastung aufweist. Bemerkenswert bei PER im 3. Nadeljahrgang ist, dass besonders der nördliche Alpenraum durch deutlich höhere Gehalte gekennzeichnet ist (Abb. 1.11, Abb. 1.33 im Anhang). Weiters weist der Norden des Bundesgebietes bei TCM und TCE im 3. Nadeljahrgang signifikant höhere Gehalte als der Süden auf (Abb. 1.11; Abb. 1.30, 1.31 im Anhang).

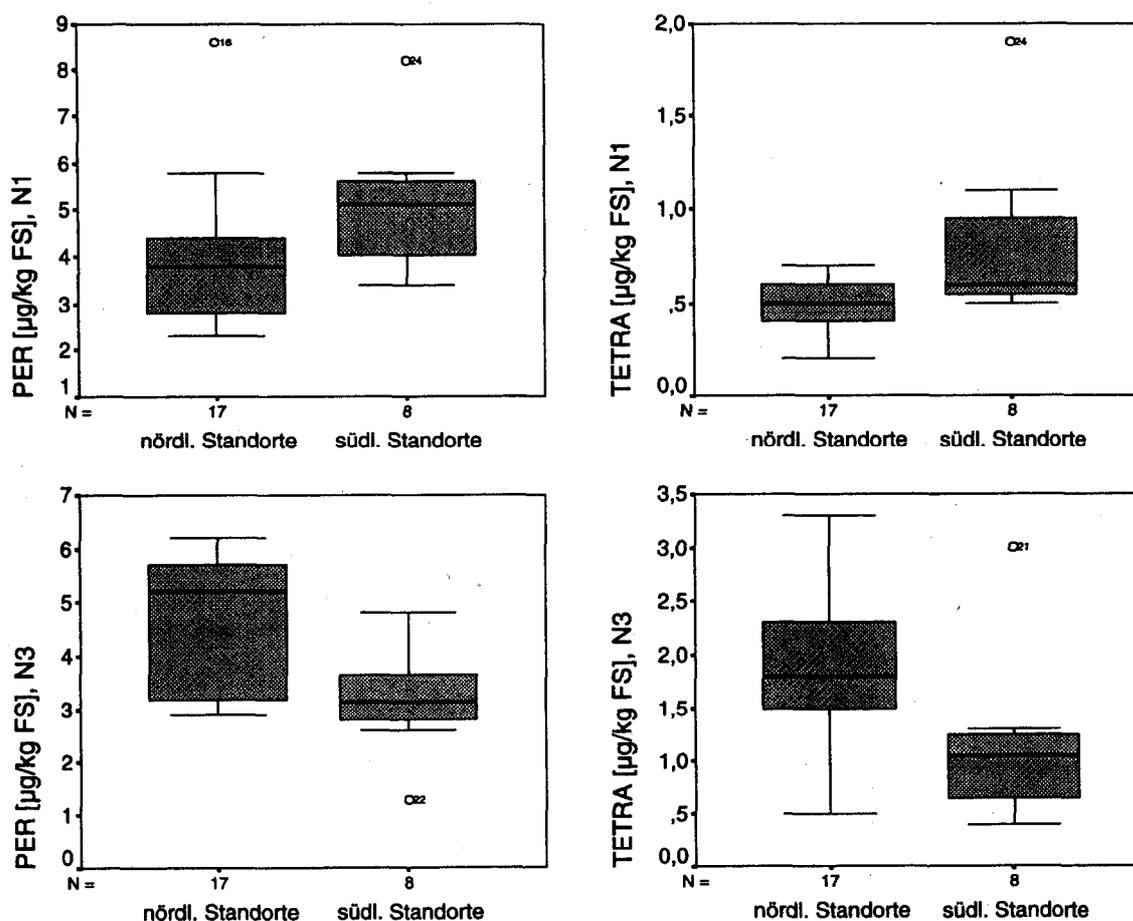


Abb. 1.11: Signifikante Lageunterschiede in den Gehalten leichtflüchtiger halogenierter Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure im 1. (N1) und 3. Nadeljahrgang (N3).

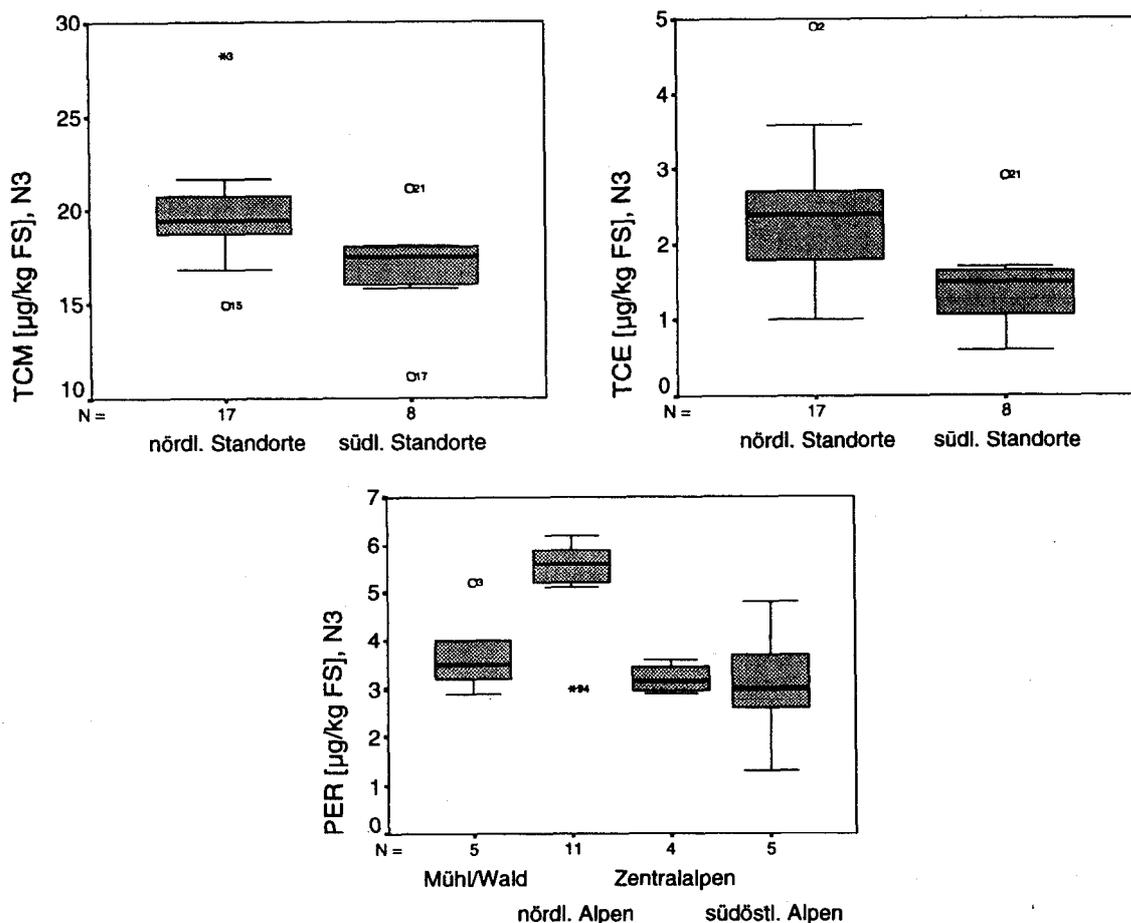


Abb. 1.11 Fortsetzung: Signifikante Lageunterschiede in den Gehalten leichtflüchtiger halogener Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure im 1. (N1) und 3. Nadeljahrgang (N3).

Die Ergebnisse für das Höhenprofil Achenkirch zeigen je nach Betrachtung des Nadeljahrgangs in ihrem Trend unterschiedliche Ergebnisse für die einzelnen Substanzen. Lediglich bei der Summe LHKW+TCA zeigen sich übereinstimmende Ergebnisse für beide Nadeljahrgänge, nämlich jeweils ähnliche Gehalte am tiefst- und höchstgelegenen Standort und vergleichsweise geringere Gehalte am mittleren Standort (Abb. 1.12). Ein eindeutiger Trend der Belastung in Abhängigkeit von der Seehöhe kann anhand dieser Ergebnisse für alle halogenierten Kohlenwasserstoffe gemeinsam sowie für die Einzelsubstanzen nicht abgeleitet werden. Größenordnungsmäßig stimmen die Nadelgehälter des in der vorliegenden Studie im Jahr 1995 untersuchten Nord-Höhenprofils in Achenkirch gut mit jenen überein, wie sie von Plümacher und Schröder [67] für das Christlum-Höhenprofil in Achenkirch (nach Osten orientiert und wenige Kilometer südlich des Nord-Höhenprofils [68]) für das Jahr 1991 festgestellt wurden.

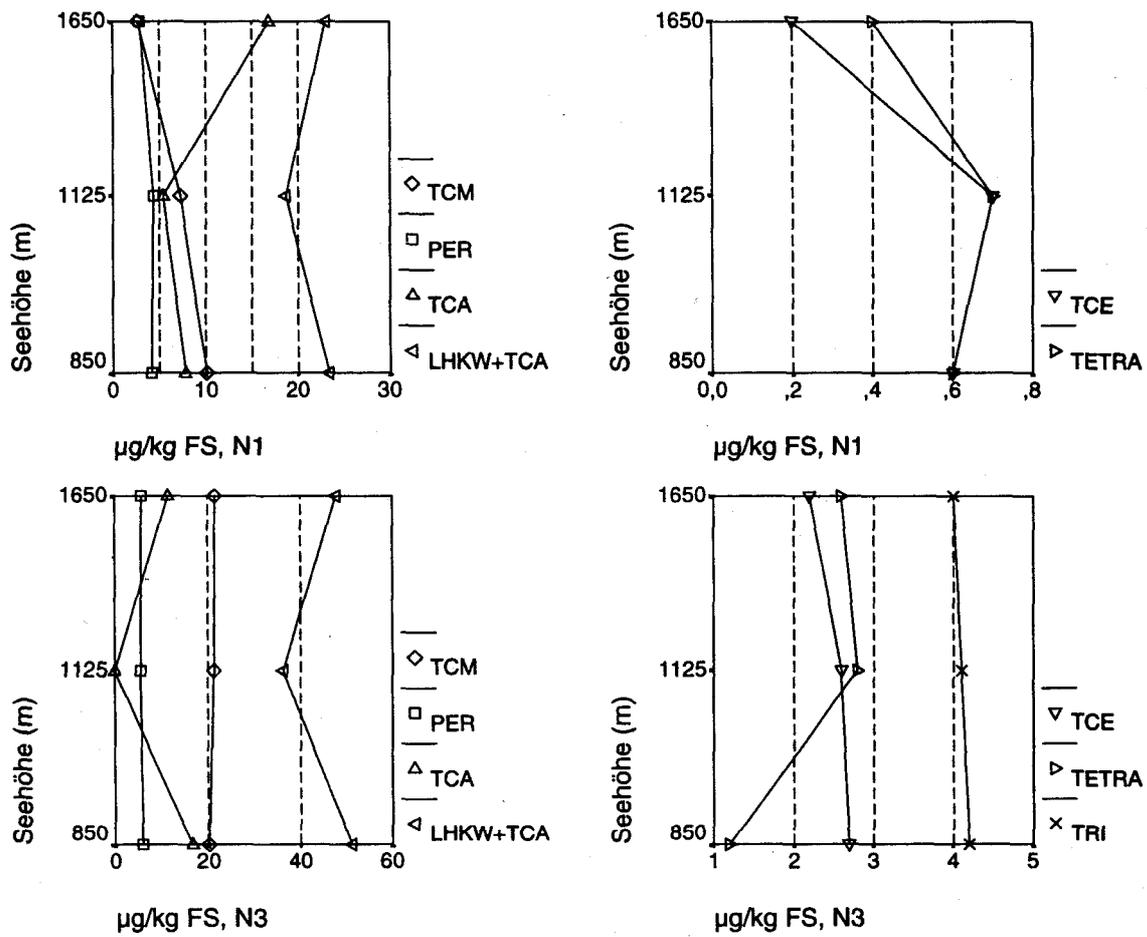


Abb. 1.12: Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe und Trichloressigsäure im 1. (N1) und 3. Nadeljahrgang (N3) der Standorte des Höhenprofils Achenkirch

Tab. 1.6: Gehalte von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure im 1. und 3. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg FS}$); * Höhenprofil Achenkirch.

Standort	Njg.	TCM	TCE	TET	TRI	PER	DBCM	TBM	TCA	LHKW+ TCA
1	1	9,5	0,4	0,5	0,9	2,4	<0,2	<0,35	1,9	15,6
	3	19,4	1,0	1,5	2,8	3,5	<0,2	<0,35	4,6	32,8
2	1	16,5	0,3	0,2	1,1	5,8	<0,2	<0,35	<0,5	23,9
	3	16,8	4,9	0,5	2,3	4,0	<0,2	<0,35	21,0	49,5
3	1	5,5	1,1	0,6	1,8	4,7	<0,2	<0,35	2,0	15,7
	3	28,2	3,3	3,3	5,1	5,2	0,3	<0,35	87,1	132,5
4	1	5,0	0,8	0,4	<0,25	2,5	<0,2	<0,35	23,3	32,0
	3	19,0	2,6	1,9	3,3	2,9	<0,2	<0,35	58,5	88,2
5	1	9,4	1,0	0,5	<0,25	2,8	<0,2	<0,35	20,9	34,6
	3	20,7	1,8	1,2	3,3	3,2	<0,2	<0,35	52	82,2
6	1	8,1	0,7	0,3	<0,25	2,3	<0,2	<0,35	17,6	29,0
	3	20,3	2,5	2,3	3,9	5,6	<0,2	<0,35	41,5	76,1
7	1	7,6	0,7	0,4	1,0	2,4	<0,2	<0,35	18,3	30,4
	3	17,7	2,1	2,1	3,5	6,2	<0,2	<0,35	53,3	84,9
8	1	9,2	0,3	0,6	1,0	2,8	<0,2	<0,35	10,5	24,4
	3	21,0	1,8	2,4	3,1	5,8	<0,2	<0,35	<0,5	34,1
9	1	11,6	0,9	0,7	<0,25	3,9	<0,2	<0,35	7,1	24,2
	3	19,3	2,8	1,7	3,2	3,0	<0,2	<0,35	21,3	51,3
10	1	9,5	0,7	0,6	<0,25	3,2	<0,2	<0,35	7,9	21,9
	3	17,2	3,6	1,8	2,7	5,3	<0,2	<0,35	27,8	58,4
11*	1	10,1	0,6	0,6	<0,25	4,2	<0,2	<0,35	7,8	23,3
	3	20,2	2,7	1,2	4,2	6,0	<0,2	<0,35	16,8	51,1
12*	1	7,3	0,7	0,7	<0,25	4,4	<0,2	<0,35	5,5	18,6
	3	21,2	2,6	2,8	4,1	5,5	<0,2	<0,35	<0,5	36,2
13*	1	2,7	0,2	0,4	<0,25	2,9	<0,2	<0,35	16,8	23,0
	3	21,6	2,2	2,6	4,0	5,7	<0,2	<0,35	11,7	47,8
14	1	8,5	0,6	0,5	<0,25	3,9	<0,2	<0,35	6,4	19,9
	3	19,4	1,8	1,5	2,7	3,0	<0,2	<0,35	15,0	43,4
15	1	8,4	0,6	0,6	<0,25	5,6	<0,2	<0,35	5,5	20,7
	3	14,9	1,4	0,7	2,2	6,2	0,5	<0,35	10,8	36,7
16	1	11,7	0,6	0,7	1,2	8,6	<0,2	<0,35	4,4	27,2
	3	18,7	1,9	2,1	3,2	5,1	<0,2	<0,35	12,8	43,8
17	1	6,5	0,6	0,6	1,2	5,4	<0,2	<0,35	11,8	26,1
	3	11,1	0,6	0,6	2,3	3,3	0,3	<0,35	15,8	34,0
18	1	7,5	0,4	0,5	1,0	3,8	<0,2	<0,35	21,5	34,7
	3	19,5	2,4	1,5	3,2	2,9	<0,2	<0,35	<0,5	29,5
19	1	5,9	<0,2	0,5	<0,25	3,5	<0,2	<0,35	12,5	22,4
	3	17,9	1,5	1,2	3,4	3,6	<0,2	<0,35	32,3	59,9
20	1	9,2	0,6	0,6	<0,25	4,6	<0,2	<0,35	9,3	24,3
	3	15,8	1,1	0,7	2,9	3,0	<0,2	<0,35	26,3	49,8
21	1	10,3	0,5	1,1	1,2	4,9	<0,2	<0,35	5,4	23,4
	3	21,1	2,9	3,0	4,6	4,8	0,4	<0,35	24,5	61,3
22	1	6,8	0,4	0,5	1,1	3,4	<0,2	<0,35	6,4	18,6
	3	16,2	1,0	0,4	1,7	1,3	<0,2	<0,35	19,6	40,2
23	1	10,8	0,8	0,8	1,2	5,8	<0,2	<0,35	13,2	32,6
	3	18,1	1,7	1,3	3,4	3,7	<0,2	<0,35	14,7	42,9
24	1	10,8	1,1	1,9	1,2	8,2	<0,2	<0,35	6,9	30,1
	3	17,9	1,5	1,0	3,0	3,0	<0,2	<0,35	13,9	40,3
25	1	5,8	0,5	0,6	0,9	5,3	<0,2	<0,35	20,0	33,1
	3	17,0	1,6	1,1	3,0	2,6	<0,2	<0,35	52,9	78,2
Median	1	8,5	0,6	0,6	0,9	3,9	<0,2	<0,35	7,9	24,2
	3	19,0	1,9	1,5	3,2	3,7	<0,2	<0,35	19,6	49,5
Mittelw.	1	8,6	0,6	0,6		4,3	<0,2	<0,35	10,5	25,2
	3	18,8	2,1	1,6	3,2	4,2		<0,35	25,4	55,4
Min.	1	2,7	<0,2	0,2	<0,25	2,3	<0,2	<0,35	<0,5	15,6
	3	11,1	0,6	0,4	1,7	1,3	<0,2	<0,35	<0,5	29,5
Max.	1	16,5	1,1	1,9	1,8	8,6	<0,2	<0,35	23,3	34,7
	3	28,2	4,9	3,3	5,1	6,2	0,5	<0,35	87,1	132,5

Tab. 1.7: Gehalte von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure im 1. und 3. Nadeljahrgang ($\mu\text{g}/\text{kg TS}$); * Höhenprofil Achenkirch.

Standort	Njg.	TCM	TCE	TET	TRI	PER	DBCM	TBM	TCA	LHKW+ TCA
1	1	24,2	1,0	1,3	2,3	6,1	<0,6	<1,0	4,8	39,8
	3	39,8	2,1	3,1	5,7	7,2	<0,6	<1,0	9,4	67,4
2	1	38,4	0,7	0,5	2,6	13,5	<0,6	<1,0	<1,4	55,6
	3	36,5	10,7	1,1	5,0	8,7	<0,6	<1,0	45,7	107,6
3	1	13,6	2,7	1,5	4,5	11,6	<0,6	<1,0	5,0	38,9
	3	60,9	7,1	7,1	11,0	11,2	0,6	<1,0	188,1	286,2
4	1	11,5	1,8	0,9	<0,7	5,8	<0,6	<1,0	53,7	73,7
	3	38,6	5,3	3,9	6,7	5,9	<0,6	<1,0	118,9	179,3
5	1	21,8	2,3	1,2	<0,7	6,5	<0,6	<1,0	48,5	80,3
	3	43,9	3,8	2,5	7,0	6,8	<0,6	<1,0	110,4	174,5
6	1	18,4	1,6	0,7	<0,7	5,2	<0,6	<1,0	40,0	65,9
	3	41,6	5,1	4,7	8,0	11,5	<0,6	<1,0	85,0	155,9
7	1	18,1	1,7	1,0	2,4	5,7	<0,6	<1,0	43,5	72,2
	3	43,9	5,2	5,2	8,7	15,4	<0,6	<1,0	132,3	210,7
8	1	23,2	0,8	1,5	2,5	7,1	<0,6	<1,0	26,5	61,6
	3	46,2	4,0	5,3	6,8	12,7	<0,6	<1,0	<1,4	74,9
9	1	19,9	1,5	1,2	<0,7	6,7	<0,6	<1,0	12,2	41,4
	3	40,8	5,9	3,6	6,8	6,3	<0,6	<1,0	45,0	108,5
10	1	20,7	1,5	1,3	<0,7	7,0	<0,6	<1,0	17,2	47,8
	3	36,7	7,7	3,8	5,8	11,3	<0,6	<1,0	59,3	124,5
11*	1	23,8	1,4	1,4	<0,7	9,9	<0,6	<1,0	18,4	54,8
	3	43,6	5,8	2,6	9,1	13,0	<0,6	<1,0	36,3	110,4
12*	1	16,5	1,6	1,6	<0,7	10,0	<0,6	<1,0	12,4	42,1
	3	46,1	5,7	6,1	8,9	12,0	<0,6	<1,0	<1,4	78,7
13*	1	5,8	0,4	0,9	<0,7	6,2	<0,6	<1,0	36,0	49,3
	3	47,9	4,9	5,8	8,9	12,6	<0,6	<1,0	25,9	106,0
14	1	19,8	1,4	1,2	<0,7	9,1	<0,6	<1,0	14,9	46,4
	3	39,3	3,6	3,0	5,5	6,1	<0,6	<1,0	30,4	87,9
15	1	20,2	1,4	1,4	<0,7	13,5	<0,6	<1,0	13,2	49,8
	3	32,6	3,1	1,5	4,8	13,6	1,1	<1,0	23,6	80,3
16	1	30,5	1,6	1,8	3,1	22,5	<0,6	<1,0	11,5	71,0
	3	41,6	4,2	4,7	7,1	11,3	<0,6	<1,0	28,4	97,3
17	1	18,0	1,7	1,7	3,3	14,9	<0,6	<1,0	32,6	72,1
	3	28,1	1,5	1,5	5,8	8,4	0,8	<1,0	40,0	86,1
18	1	17,2	0,9	1,1	2,3	8,7	<0,6	<1,0	49,3	79,6
	3	41,2	5,1	3,2	6,8	6,1	<0,6	<1,0	<1,4	62,4
19	1	13,8	<0,6	1,2	<0,7	8,2	<0,6	<1,0	29,3	52,6
	3	39,3	3,3	2,6	7,5	7,9	<0,6	<1,0	70,8	131,4
20	1	23,3	1,5	1,5	<0,7	11,6	<0,6	<1,0	23,5	61,5
	3	34,8	2,4	1,5	6,4	6,6	<0,6	<1,0	57,9	109,7
21	1	25,5	1,2	2,7	3,0	12,1	<0,6	<1,0	13,4	57,9
	3	46,8	6,4	6,7	10,2	10,6	0,9	<1,0	54,3	135,9
22	1	15,8	0,9	1,2	2,6	7,9	<0,6	<1,0	14,8	43,2
	3	36,1	2,2	0,9	3,8	2,9	<0,6	<1,0	43,7	89,5
23	1	26,1	1,9	1,9	2,9	14,0	<0,6	<1,0	31,9	78,7
	3	39,9	3,7	2,9	7,5	8,1	<0,6	<1,0	32,4	94,5
24	1	26,4	2,7	4,6	2,9	20,0	<0,6	<1,0	16,9	73,6
	3	38,9	3,3	2,2	6,5	6,5	<0,6	<1,0	30,2	87,6
25	1	14,5	1,3	1,5	2,3	13,3	<0,6	<1,0	50,0	82,8
	3	36,4	3,4	2,4	6,4	5,6	<0,6	<1,0	113,3	167,5
Median	1	19,9	1,5	1,3	2,3	9,1	<0,6	<1,0	18,4	57,9
	3	39,9	4,2	3,1	6,8	8,4	<0,6	<1,0	43,7	107,6
Mittelw.	1	20,3	1,4	1,5		10,3	<0,6	<1,0	24,8	59,7
	3	40,9	4,6	3,5	7,1	9,1		<1,0	55,3	120,6
Min.	1	5,8	<0,6	0,5	<0,7	5,2	<0,6	<1,0	<1,4	38,9
	3	28,1	1,5	0,9	3,8	2,9	<0,6	<1,0	<1,4	62,4
Max.	1	38,4	2,7	4,6	4,5	22,5	<0,6	<1,0	53,7	82,8
	3	60,9	10,7	7,1	11,0	15,4	1,1	<1,0	188,1	286,2

3.3 Zusammenhänge zwischen Untersuchungsparametern

Anmerkung: Nachfolgend werden Scatterplots zu den signifikanten Korrelationen ($p < 0,05$) zwischen Parametern nach Spearman bzw. Pearson (bei Normalverteilung) gemäß den Tabellen 1.8-1.15 im Anhang dargestellt. In allen nachfolgenden Scatterplots werden die zu den Grafiken zugehörigen Pearson-Korrelationskoeffizienten dargestellt. Bei nicht normalverteilten Variablen, die nach Spearman Rank signifikant korrelieren, wurden für ein Erlangen von Normalverteilung logarithmische Umskalierungen bzw. falls nötig vereinzelt auch andere Umskalierungen durchgeführt, die Pearson Korrelationskoeffizienten mit den umskalierten Variablen berechnet und diese in den Grafiken angegeben. Auf logarithmische bzw. andere Skalierungen in den Scatterplots ist zu achten.

Für eine Überprüfung auf Zusammenhänge zwischen Parametern standen neben den in dieser Studie untersuchten Parametern (Nitrophenole, halogenierte Kohlenwasserstoffe, Gehalte löslicher kutikulärer Lipide (SCL) in den Nadeln, 100-Nadelgewicht (N100) sowie die in Teil 2 diskutierten Parameter Glutathion-S-Transferase-Aktivität (GST), Glucosyltransferase-Aktivität (GT) in den Nadeln, Glutathion- (GSH, GSSG) und Proteingehalt der Nadeln) weitere Ergebnisse zu den identen Proben aus anderen Untersuchungen an diesen Standorten zur Verfügung. Dies umfasst die Nährelementgehalte sowie die Ergebnisse zu Nadeloberflächenparametern, wie die Qualität epikutulärer Wachse und die Epibiontenbelegung der Nadeloberflächen [75]. Aus einer früheren Untersuchung liegen Ergebnisse zu den Nadelgehalten schwerflüchtiger organischer Verbindungen dieser Standorte vor, die in die Analysen miteinbezogen wurden [41]. Weiters wurden im Zuge des Waldschadensbeobachtungssystems der Forstlichen Bundesversuchsanstalt allgemeine Parameter wie die Seehöhe der Standorte, das Bestandesalter und im Untersuchungsjahr 1995 das Entnadelungsprozent der in der vorliegenden Studie untersuchten Probestämme erhoben und für diese Auswertungen zur Verfügung gestellt [70]. Aus den Ergebnissen von Bodenuntersuchungen an diesen Standorten [72] wurde schließlich der pH-Wert des Bodens als eine allgemeine, den Standort charakterisierende Bezugsgröße in die Auswertungen miteinbezogen. Weiters standen Daten benachbarter Stationen zur Temperatur und zum Niederschlag aus dem meteorologischen Messnetz des Hydrographischen Dienstes zur Verfügung [69], die rechnerisch entsprechend der abweichenden Lage der Untersuchungsstandorte angepasst wurden. Da sich die Untersuchungsstandorte der vorliegenden Studie sowohl seehöhenmäßig als auch in ihrer geografischen Lage grundlegend untereinander unterscheiden, schien derart eine zumindest grobe Kennzeichnung der meteorologischen Unterschiede zwischen den Standorten im Untersuchungszeitraum möglich zu sein.

Die Auswertungen der Korrelationsanalysen zwischen den Nitrophenolen und den halogenierten Kohlenwasserstoffen sowie zwischen diesen und den weiteren vorliegenden Daten zu diesen Standorten erbrachten in Summe wenige, statistisch absicherbare Zusammenhänge (Tab. 1.8-1.15 im Anhang). Teilweise erbrachten diese Analysen jedoch markante und plausible Ergebnisse.

Zwischen den Nitrophenolen und den halogenierten Kohlenwasserstoffen wurden v.a. zwischen 2-NP und PER sowie zwischen 2-NP und TCE im 1. Nadeljahrgang signifikant positive Zusammenhänge identifiziert (Abb. 1.14). Weiters korrelieren die Gehalte halogenierter Kohlenwasserstoffe und Nitrophenole positiv mit einzelnen schwerer flüchtigen organischen Schadstoffen und Cadmium im 1. Nadeljahrgang dieser Hintergrundstandorte, die im Rahmen einer früheren Studie analysiert wurden [41]. PER, das negativ mit HCH korreliert ist, stellt diesbezüglich eine Ausnahme dar (Abb. 1.13). Da diese beiden Erhebungen zwar die identen Standorte jedoch unterschiedliche Untersuchungsjahre repräsentieren, sind diese Ergebnisse allerdings mit Vorsicht zu interpretieren und müssten anhand einer zeitlich übereinstimmenden Untersuchung auf diese Schadstoffe verifiziert werden.

Bereits in einer früheren Veröffentlichung wurden signifikant positive Korrelationen zwischen den Gehalten verschiedener schwerflüchtiger organischer und anorganischer Schadstoffe in den Nadeln bzw. im Auflagehumus dieser Hintergrundstandorte diskutiert [41]. Die in der

vorliegenden Studie identifizierten positiven Zusammenhänge zwischen einzelnen halogenierten Kohlenwasserstoffen (Kap. 3.1), Nitrophenolen (Kap. 3.2), zwischen 2-NP mit PER und TCE (Abb. 1.14) sowie zwischen diesen Schadstoffgruppen und schwerer flüchtigen Verbindungen (Abb. 1.13) fügen sich daher insgesamt gut in ein Gesamtbild, wonach bei höherer Belastung einzelner Hintergrundstandorte mit einem Mix unterschiedlicher organischer Schadstoffe zu rechnen ist.

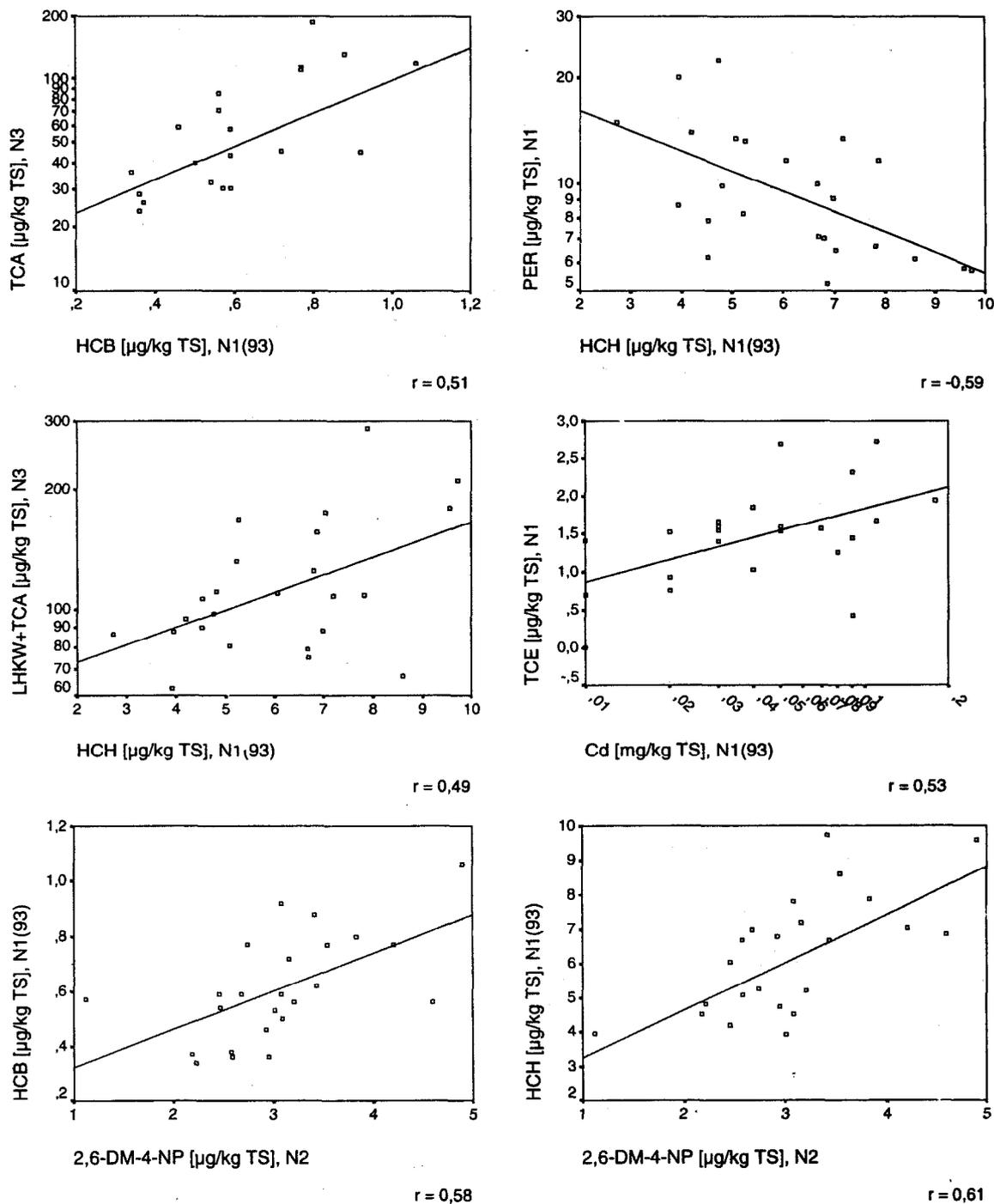


Abb. 1.13: Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogenerter Kohlenwasserstoffe und der Nitrophenole mit den Nadelgehalten schwerflüchtiger organischer Verbindungen und Cadmium

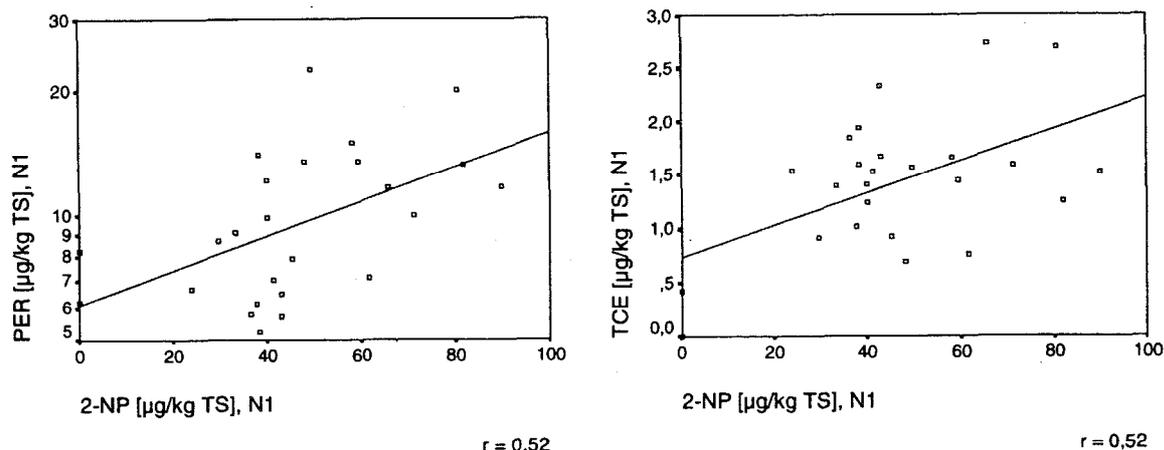


Abb. 1.14: Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogener Kohlenwasserstoffe und den Nadelgehalten der Nitrophenole

Zwischen den Nährstoffgehalten und den CKW- bzw. Nitrophenolgehalten in den Nadeln wurden lediglich vereinzelt signifikante Zusammenhänge identifiziert (Tab. 1.10, 1.11, 1.14, 1.15 im Anhang). Die vergleichsweise ausgeprägtere Beziehung zeigte TCM mit Kupfer im 1. Nadeljahrgang (Abb. 1.15). Eine kausale Erklärung für dieses Ergebnis bietet sich vorerst jedoch nicht an.

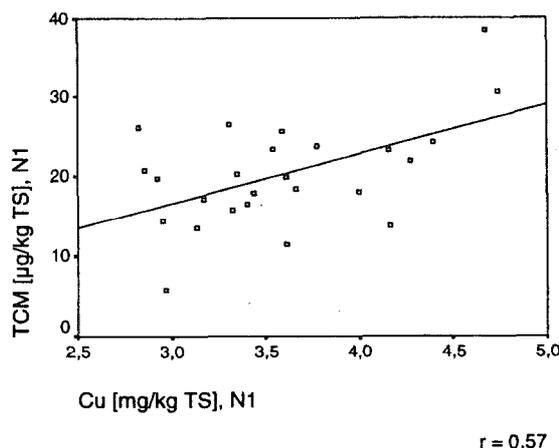


Abb. 1.15 Korrelation zwischen TCM und Kupfer in den Nadeln

Temperatur und Niederschlag sind bedeutende, potentielle Einflussgrößen zur Schadstoffbelastung der Vegetation. Ein Einfluss dieser Kenngrößen, aber auch weiterer Standortparameter auf die festgestellten Schadstoffgehalte kann anhand der Ergebnisse der Korrelationsanalysen nicht ausgeschlossen werden (Tab. 1.8-1.15 im Anhang). Die mittlere Monatstemperatur in der Periode Mai bis Oktober 1995 und die mittlere Jahrestemperatur 1995 sind mit der Summe LHKW+TCA sowie TCA im 3. Nadeljahrgang positiv korreliert (Abb. 1.16). Die wärmeren Standorte weisen somit tendenziell höhere LHKW+TCA- und TCA-Gehalte im 3. Nadeljahrgang auf. Da die Seehöhe mit der Temperatur negativ korreliert ist, ergibt sich ein signifikant negativer Zusammenhang zwischen dem LHKW+TCA-Gehalt im 3. Nadeljahrgang und der Seehöhe (Abb. 1.16). Gerade dieses Ergebnis könnte jedoch auch auf eine Zufälligkeit dieser statistischen Zusammenhänge hindeuten, da sie sich durch das Höhenprofil Achenkirch, wo Nadeln an einem Untersuchungsort in unterschiedlichen Seehöhen (und somit auch unter Exposition eines Temperaturgradienten) beprobt wurden, nicht bestätigen lassen (Abb. 1.12).

Bei den Nitrophenolen zeigte sich die vergleichsweise ausgeprägtere Korrelation mit meteorologischen Parametern zwischen 4-M-2-NP im 2. Nadeljahrgang und dem Niederschlag im Probemonat Oktober an den Standorten (Tab. 1.8-1.11 im Anhang, Abb. 1.16). Dieser statistische Zusammenhang steht einigermaßen alleine im Raum, sodass hier ebenfalls eine Zufälligkeit dieses Ergebnisses in Betracht zu ziehen ist. Ähnliches gilt für die positive Korrelation zwischen Bestandesalter und dem Gehalt an 2,4-DNP im 2. Nadeljahrgang (Abb. 1.16), für den sich vordergründig keine kausale Erklärung anbietet.

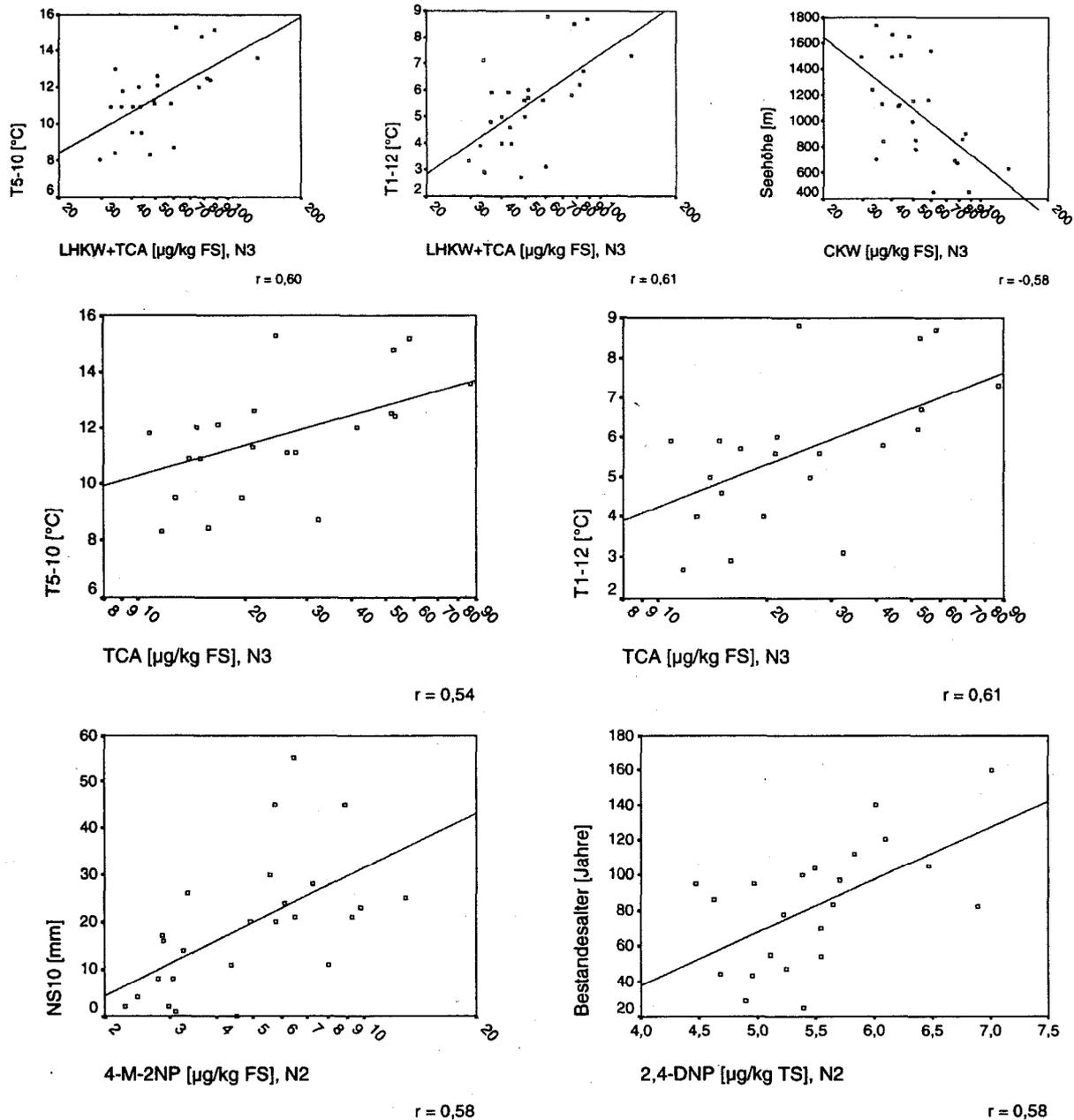


Abb. 1.16: Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogener Kohlenwasserstoffe, der Nitrophenole und meteorologischen Parametern sowie Standortparametern

Zwischen den Gehalten leichtflüchtiger halogener Kohlenwasserstoffe im 1. Nadeljahrgang und der Qualität der Spaltöffnungswachse der untersuchten Nadeln gemäß Ansprache nach standardisiertem Verfahren (siehe [75]) wurden signifikant negative Korrelationen iden-

tifiziert (Abb. 1.17). Demnach wäre zu erwarten, dass die Nadelgehalte dieser Schadstoffe bei besserer Qualität der Spaltöffnungswachse höher liegen bzw. hätten die Standorte bei geringerer Belastung mit diesen Schadstoffen eine schlechtere Wachsqualität. Dieses Ergebnis ergibt kausal keinen Sinn, da gerade intakte Spaltöffnungswachse eine Filterfunktion beim Gasaustausch innehaben bzw. diese durch Schadstoffbelastungen beeinträchtigt werden [75]. Zwei voneinander unabhängige Untersuchungen konnten eine zunehmende Beeinträchtigung der Spaltöffnungswachse bei höherer TCA-Belastung feststellen [12],[46]. Ein derartiger Zusammenhang zwischen Wachsqualität und TCA-Gehalten in den Nadeln konnte in der vorliegenden Studie nicht identifiziert werden (Tab. 1.12, 1.14 im Anhang). Es sind daher vorrangig andere Ursachen für festgestellte Beeinträchtigungen der epistomatären Wachse an den hier untersuchten Standorten in Betracht zu ziehen oder die festgestellten TCA-Gehalte in den Nadeln sind maßgeblich durch den Aufnahmepfad über den Boden geprägt, der – im Gegensatz zum Aufnahmepfad Umgebungsluft-Nadel – nachweislich keinen Einfluss auf die epistomatären Wachse hat [12].

Der Nadelgehalt löslicher kutikulärer Lipide (SCL) spielt besonders bei der Aufnahme von fettlöslichen organischen Verbindungen eine Rolle [76]. Unterschiedliche Nadelgehalte der untersuchten Standorte könnten somit auch durch unterschiedliche SCL-Gehalte beeinflusst sein. Es zeigte sich jedoch, dass die SCL-Gehalte lediglich mit 2,4-DNP im 1. Nadeljahrgang signifikant positiv korrelieren (Tab. 1.10, 1.11, 1.14, 1.15 im Anhang, Abb. 1.18). Es ist daher nicht auszuschließen, dass die Gehaltsunterschiede bei 2,4-DNP zwischen den einzelnen Standorten auch durch diese Einflussgröße mitbeeinflusst sind. Dieses Ergebnis ist auch deshalb bemerkenswert, da 2,4-DNP das einzige Nitrophenol ist, dessen Gehalte mit jenen der anderen Nitrophenole nicht korrelieren (Kap. 3.1).

Das Entnadelungsprozent wird in internationalen Monitoringprogrammen als eine maßgebliche Kenngröße zur Beurteilung des Zustands von Bäumen herangezogen. Im Rahmen der Erhebungen des österreichischen Waldschadensbeobachtungssystems wurden auch die beprobten Untersuchungsbäume nach dieser international standardisierten Kenngröße angesprochen [70]. Es zeigte sich nahezu kein Zusammenhang zwischen dem Entnadelungsprozent der Probestämme und den Gehalten an Nitrophenolen bzw. chlorierten Kohlenwasserstoffen in den Nadeln der Probestämme. Dieses Ergebnis ist v.a. deshalb hervorzuheben, da in der Literatur mehrfach über eine Mitbeteiligung dieser Schadstoffe an neuartigen Waldschäden spekuliert wurde [8],[11],[18],[21]-[24],[36]. Da das Entnadelungsprozent der Bäume eine relativ unspezifische Größe zur Beurteilung des Kronenzustands ist und von einer Reihe von Einflussfaktoren abhängig ist, ist dieses Ergebnis allerdings auch nicht weiter verwunderlich. Umso bemerkenswerter ist, dass bei 2-NP und 6-M-2,4-DNP ein signifikanter, wenn auch sehr loser Anstieg der Kronenverlichtung mit Zunahme der Gehalte dieser beiden Schadstoffe im 2. Nadeljahrgang festgestellt werden konnte (Tab. 1.8 im Anhang). Angesichts des geringen, festgestellten Entnadelungsprozents der untersuchten Bäume ist es nicht auszuschließen, dass sich bei höheren Nitrophenolbelastungen ein deutlicherer Zusammenhang zwischen diesen Größen zeigen würde. Dies müsste jedoch experimentell verifiziert werden.

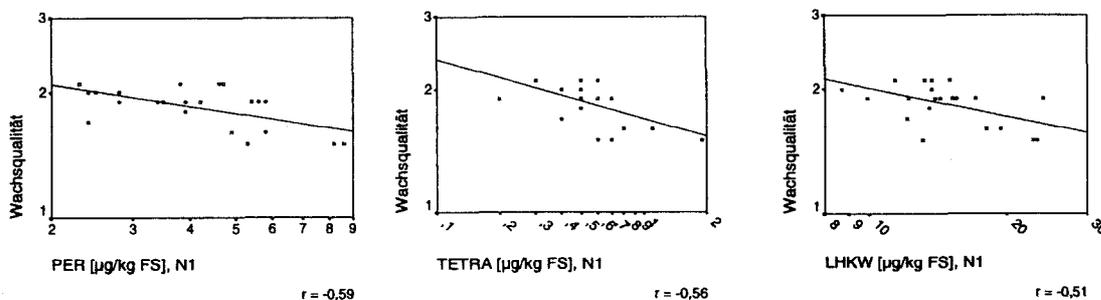


Abb. 1.17: Korrelationen zwischen den Nadelgehalten halogenierter Kohlenwasserstoffe und der Qualität der Spaltöffnungswachse der Nadeln

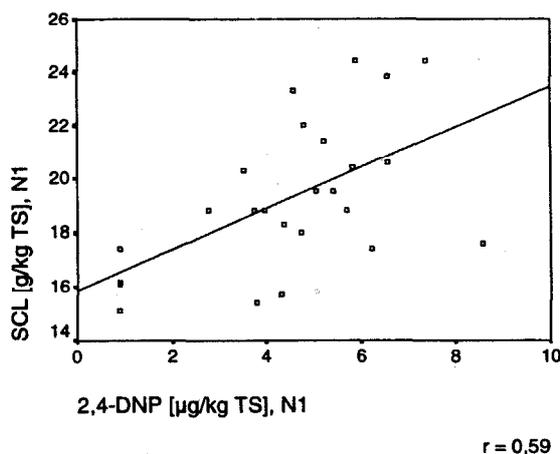


Abb. 1.18: Korrelation zwischen dem Nadelgehalt von 2,4-DNP und dem Nadelgehalt löslicher kutikulärer Lipide

Eine maßgebliche Einflussgröße auf die festgestellten Gehalte, die bisher noch nicht diskutiert wurde, könnte die Glutathion-S-Transferase-Aktivität (GST) und Glucosyltransferaseaktivität (GT) darstellen (siehe Teil 2). Aus sachlogischen Überlegungen stellt die Aktivität dieser Enzyme eher ein Ergebnis der Nadelbelastung mit organischen Schadstoffen dar als umgekehrt, und zwar in einer Form, wo die Entgiftungsaktivität mit dem Schadstoffgehalt zunimmt. Diese Zusammenhänge zwischen den Entgiftungsaktivitäten und den Schadstoffgehalten werden daher in Teil 2 diskutiert. Falls der Gehalt einzelner Schadstoffe maßgeblich durch die Entgiftungsaktivität beeinflusst wird, dann sollte sich dies durch eine absicherbare Abnahme des Schadstoffgehalts in den Nadeln mit Zunahme der Entgiftungsaktivität darstellen lassen. Der Schadstoffgehalt wäre in diesem Fall die abhängige Variable. In einigen Fällen, die nachfolgend dargestellt werden, konnten solche negativen Korrelationen identifiziert werden (Tab. 1.8, 1.9, 1.12, 1.13 im Anhang; zu beachten ist hier, dass für die Analyse der GT-Aktivität und für Glutathion (GSH, GSST) nicht von allen Standorten Probenmaterial zur Verfügung stand (siehe Teil 2), weshalb in den nachfolgenden Scatterplots teilweise ein $n < 25$ auftritt bzw. den Korrelationen in den Tabellen 1.8, 1.9, 1.12 und 1.13 mit diesen Parametern eine kleinere Stichprobenanzahl zugrunde liegt).

TCM, TETRA und TRI und die GT-Aktivität zur Konjugation von TCP sind im 3. Nadeljahrgang signifikant negativ korreliert (Abb. 1.19). Die festgestellten standortsmäßigen Unterschiede in den Konzentrationen dieser Schadstoffe im 3. Nadeljahrgang dürften somit auch durch standortsmäßige Unterschiede der Entgiftungsaktivität in den Nadeln mitbeeinflusst sein. Bemerkenswert ist weiters, dass dies auch jene drei halogenierten Kohlenwasserstoffe sind, deren Gehalte im 3. Nadeljahrgang ausgeprägte Korrelationen zeigten, im 1. Nadeljahrgang jedoch nicht (Kap. 3.2). Diese Ergebnisse insgesamt unterstützen die in Kapitel 3.2 dargelegte Vermutung, wonach Vorgänge in den Nadeln für die abweichenden Ergebnisse zwischen 1. und 3. Nadeljahrgang mitverantwortlich sein könnten.

Bei den Nitrophenolen wurden bei 2-NP und bei 4-M-2,6-DNP im 2. Nadeljahrgang sowie bei 4-M-2-NP im 1. Nadeljahrgang signifikant negative Korrelationen mit der GT-Aktivität zur Konjugation phenolischer Substanzen oder der GST-Aktivität identifiziert (Abb. 1.20). Ein Einfluss der Entgiftungsaktivität in den Nadeln auf die nachgewiesenen Gehalte in den Nadeln ist bei diesen Nitrophenolen somit ebenfalls möglich. Hervorzuheben ist besonders die Abnahme der 2-NP-Gehalte im 2. Nadeljahrgang mit Zunahme der GT-Aktivität zur Konjugation von 2-NP und 4-NP, da 2-NP das einzige Nitrophenol ist, das keine Gehaltszunahmen mit dem Nadelalter zeigt (Kap. 3.1). Diese fehlende Zunahme zwischen 1. und 2. Nadeljahrgang könnte somit mit einem Abbau dieser Substanz (vorrangig im 2. Nadeljahrgang) in Zusammenhang stehen.

Auffällig bei diesen Zusammenhängen ist weiters, dass sie v.a. bei den älteren Nadeljahrgängen auftreten. Denkbar wäre, dass die Diffusion der Schadstoffe ins Nadelinnere bzw. in die Zellen, wo sie schließlich abgebaut werden können, eine längere Zeit beansprucht, so dass sich eine Abhängigkeit des nachweisbaren Nadelgehalts von der Entgiftungsaktivität erst bei älteren Nadeljahrgängen zeigt. Dies könnte auch erklären, warum trotz nachgewiesener Abbaumechanismen in den Nadeln (siehe Teil 2), sehr wenige negative Korrelationen zwischen den Schadstoffgehalten und den Enzymaktivitäten bzw. wenig ausgeprägte Korrelationen festgestellt wurden. Die nachgewiesenen Gehalte der Nadeln umfassen besonders auch kutikulär gebundene Schadstoffe und sind daher nicht notwendigerweise mit den Schadstoffgehalten in den Zellen korreliert, wo die Abbaumechanismen aktiviert werden. Diese dargestellten Zusammenhänge lassen dennoch vermuten, dass die Entgiftungsaktivitäten teilweise für festgestellte Gehaltsunterschiede zwischen Standorten mitverantwortlich sind.

Es zeigt sich jedoch insgesamt, dass sich die nachgewiesenen Gehaltsunterschiede zwischen den Standorten – zumindest statistisch gesehen – nur teilweise durch diese potentiellen Einflussgrößen erklären lassen. Auch multiple Regressionsanalysen unter Einbeziehung mehrerer Variablen brachten grundsätzlich keine besseren Ergebnisse. Dies lässt vermuten, dass die festgestellten standörtlichen Unterschiede zwischen den Nadelkonzentrationen vorrangig ein Ergebnis anderer Einflussgrößen sind. Hier bietet sich in erster Linie die Belastung der die Nadeln beeinflussenden Medien an, v.a. die umgebende Atmosphäre (Luft, Regen), aber auch der Boden, da diese Schadstoffe teilweise physiko-chemische Eigenschaften aufweisen, die eine Aufnahme über den Boden als möglich erscheinen lässt [77] bzw. eine solche beispielsweise bei TCA bereits bewiesen wurde [12],[57].

Eine weitere Überprüfung umfasste die Verhältnisse der Schadstoffgehalte zwischen 2. und 1. Nadeljahrgang (Nitrophenole) sowie 3. und 1. Nadeljahrgang (halogenierte Kohlenwasserstoffe). In Kapitel 3.1 sowie 3.2 wurde dargestellt, dass die Gehalte zwischen den jeweiligen zwei Nadeljahrgängen nicht korreliert sind. Sollte dies mit den unterschiedlichen GST-Aktivitäten bzw. GT-Aktivitäten in den Nadeln in Zusammenhang stehen, wäre zu erwarten, dass die Konzentrationsverhältnisse zwischen älterem und jüngerem Nadeljahrgang signifikant ansteigen (relative Zunahme der Gehalte im älteren Nadeljahrgang gegenüber dem jüngeren Nadeljahrgang), wenn diese Aktivitäten im 1. Nadeljahrgang zunehmen oder im älteren Nadeljahrgang abnehmen. Dies konnte bei einzelnen Schadstoffen statistisch abgesichert werden (Abb. 1.21). In einem Fall (4-NP) konnte ein Zusammenhang mit dem Glutathiongehalt (GSH) abgesichert werden. Diese Ergebnisse könnten somit ebenfalls ein Indiz für eine Mitbeteiligung standorts- und altersabhängiger Vorgänge in den Nadeln für die in Kapitel 3.1 und 3.2 beschriebenen voneinander abweichenden Ergebnisse zwischen jüngerem und älterem Nadeljahrgang darstellen.

In der Literatur sind verschiedene biologische Abbaupfade halogener Kohlenwasserstoffe beschrieben. Eines der Abbau- bzw. Zwischenprodukte ist TCM, das durch Hydrolyse von TETRA gebildet wird [53]. Da die GST- bzw. GT-Aktivität in der Entgiftung halogener organischer Verbindungen involviert ist (siehe Teil 2), wäre vorstellbar, dass Zusammenhänge zwischen den Verhältnissen TCM zu den jeweils anderen halogenierten Verbindungen und den Aktivitäten dieser Enzyme auftreten. Sollte die Umsetzung bzw. das Verhältnis TCM zu anderen LHKW durch diese Aktivitäten mitbeeinflusst sein, wäre eine positive Korrelation zu erwarten. Die Ergebnisse der statistischen Analysen stützen diese Vermutung. Demnach ist im 3. Nadeljahrgang TCM gegenüber TETRA umso stärker erhöht, je höher die GT-Aktivität in den Nadeln ist (Abb. 1.22), während sowohl TCM als auch TETRA mit der GT-Aktivität der Nadeln signifikant abnimmt (siehe oben). Bemerkenswert ist dieses Ergebnis v.a. auch deshalb, da in Kapitel 3.2 dargestellt wurde, dass der relative Anteil von TCM im LHKW-Muster der Nadeln gegenüber jenem der Atmosphäre erhöht ist. Es wäre somit denkbar, dass eine Umsetzung im Nadelinneren am Zustandekommen dieses Musterunterschieds mitbeteiligt ist.

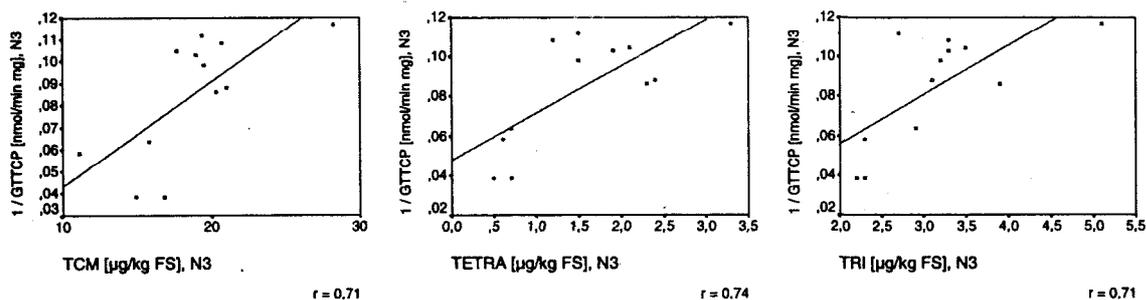


Abb. 1.19: Korrelation zwischen den Nadelgehalten halogener Kohlenwasserstoffe und der GT-Aktivität in den Nadeln (Anmerkung: für ein Erreichen der erforderlichen Normalverteilung zur Berechnung des Pearson Korrelationskoeffizienten musste der Reziprokwert von GTTCP herangezogen werden, weshalb die dargestellten Korrelationen trotz anderer Vorzeichen negativ sind)

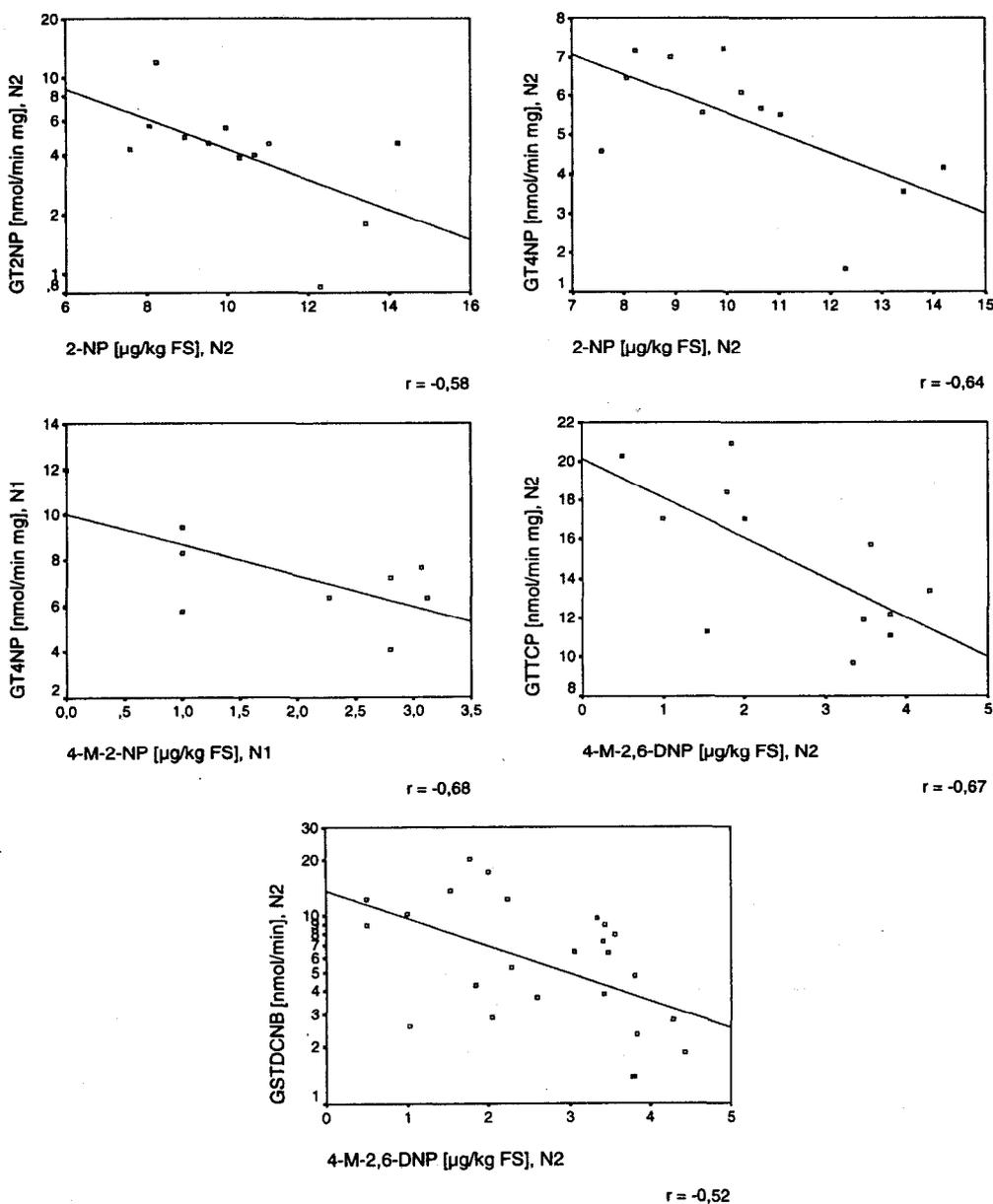


Abb. 1.20: Korrelation zwischen den Nadelgehalten der Nitrophenole und der GT- bzw. GST-Aktivität in den Nadeln

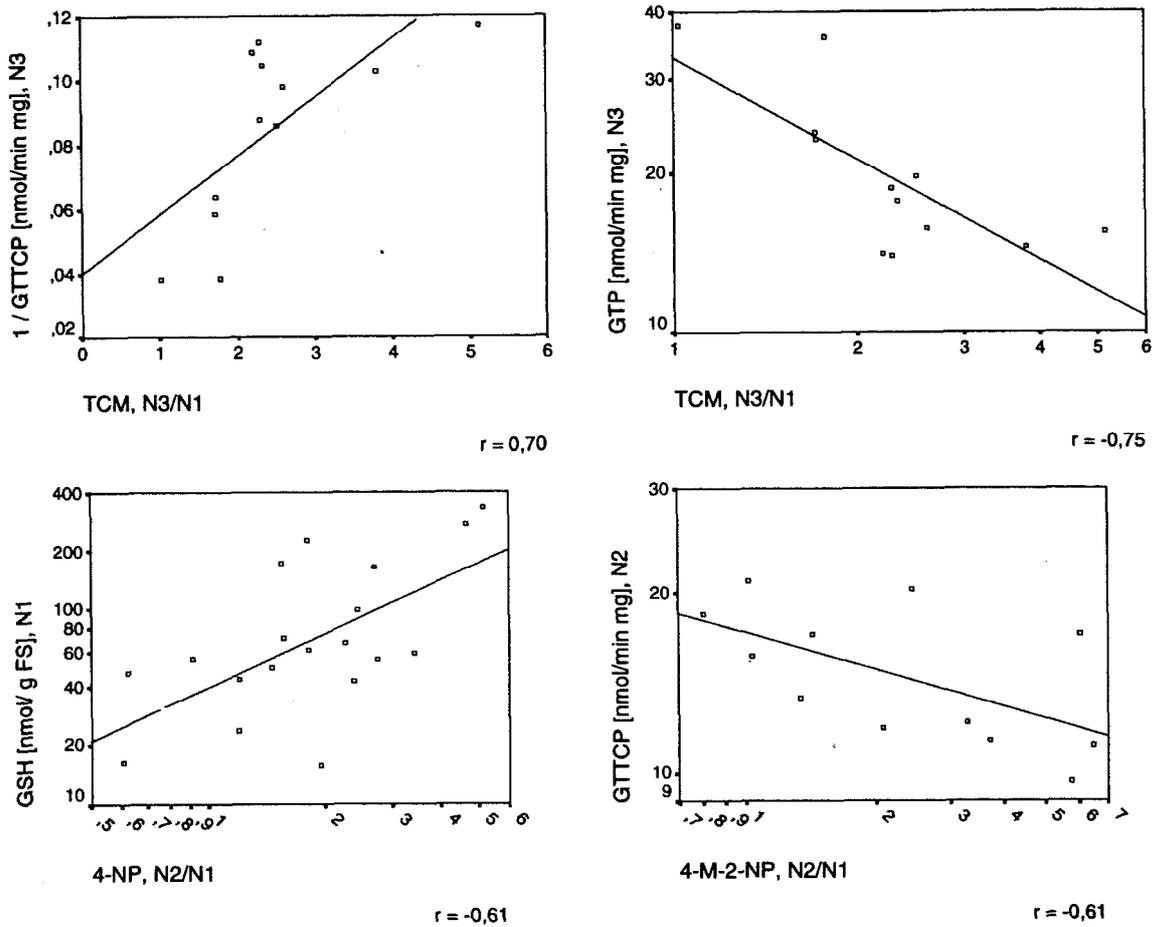


Abb. 1.21: Korrelationen zwischen Konzentrationsverhältnissen 3./1. Nadeljahrgang (N3/N1, halogenierte Kohlenwasserstoffe) sowie 2./1. Nadeljahrgang (N2/N1, Nitrophenole) und der GT-Aktivität und Glutathion in den Nadeln (Anmerkung: für ein Erreichen der erforderlichen Normalverteilung zur Berechnung des Pearson Korrelationskoeffizienten mußte der Reziprokwert von GTTCP herangezogen werden, weshalb die links oben dargestellte Korrelation zwischen GTTCP und TCM trotz anderer Vorzeichen negativ ist)

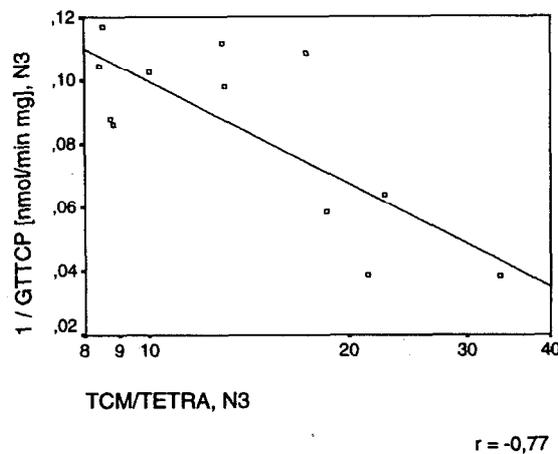


Abb. 1.22: Korrelation zwischen dem Verhältnis TCM/TETRA und der GT-Aktivität in den Nadeln (Anmerkung: für ein Erreichen der erforderlichen Normalverteilung zur Berechnung des Pearson Korrelationskoeffizienten musste der Reziprokwert von GTTCP herangezogen werden, weshalb die dargestellte Korrelation trotz anderer Vorzeichen positiv ist)

4 SCHLUSSFOLGERUNGEN ZU TEIL 1

An 25 verteilt über Österreich gelegenen Waldstandorten in emittentenferner Lage wurden Fichtennadelproben im Oktober 1995 geworben und auf ihre Gehalte an Nitrophenolen, leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen, Trichloressigsäure untersucht. Über die ubiquitär in Österreich feststellbare Pflanzenbelastung mit Nitrophenolen, leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure lag bisher wenig Information vor. Untersuchungen zu den derzeit in Pflanzen nachweisbaren Nitrophenolgehalten sind aber auch international bisher kaum vorhanden, obwohl diese Schadstoffe eine ausgeprägten Toxizität, v.a. auch Pflanzentoxizität, aufweisen. Die vorliegende Studie sollte daher Anhaltspunkte liefern, ob und in welcher Höhe und Zusammensetzung diese potentiell waldschädigenden Schadstoffe derzeit in Fichten entlegener Standorte feststellbar sind.

Nitrophenole in Fichtennadeln

Nitrophenole sind eine Gruppe von organischen Schadstoffen, für deren derzeitigen Nachweis in der Umwelt luftchemische Umwandlungsprozesse aus Vorläufersubstanzen, wie monoaromatischen Verbindungen (z.B. Benzol, Toluol), oxidierten Stickstoffverbindungen und Hydroxyl-Radikalen, in Betracht gezogen werden. Daneben werden Nitrophenole auch direkt durch den Kfz-Verkehr emittiert. Die Pflanzentoxizität dieser Schadstoffe führte dazu, dass einzelne Nitrophenole bis in die 80er-Jahre als Herbizide erzeugt und eingesetzt wurden. Weiters weisen Nitrophenole auch gegenüber anderen Organismen eine erhebliche Toxizität auf – über frühere Anwendungen als Insektizide und Fungizide wurde berichtet. Aufgrund ihres Nachweises in Atmosphäre, Regen, Nebel und Fichtennadeln sowie aufgrund ihrer ausgeprägten Pflanzentoxizität wurde in der Fachliteratur ein möglicher Beitrag dieser Verbindungen an den neuartigen Waldschäden diskutiert.

In der vorliegenden Studie wurden Nitrophenolgehalte zwischen 3,6 und 160,0 µg/kg FS (Median 60,9 µg/kg FS) in den ½-jährigen Fichtennadeln und zwischen 35,4 und 244,1 µg/kg FS (Median 94,9 µg/kg FS) in den 1½-jährigen Fichtennadeln als Summe der 16 analysierten Substanzen nachgewiesen (FS = Frischsubstanz). Dies sind im Vergleich zu anderen organischen Schadstoffen unerwartet hohe Konzentrationen, die in einer Größenordnung liegen, für die bereits physiologische Wirkungen in Pflanzen in der Fachliteratur berichtet werden. Die Konzentrationen wurden v.a. durch 4-Nitrophenol und 2-Nitrophenol dominiert. Mit Ausnahme von 2-Nitrophenol wurden im 2. Nadeljahrgang signifikant höhere Konzentrationen als im 1. Nadeljahrgang nachgewiesen, was die spärlich vorhandene Literatur zu Ergebnissen anderer Untersuchungen auf Nitrophenole bestätigt, wonach eine Anreicherung mit dem Nadelalter stattfindet. Besonders im 2. Nadeljahrgang zeigten sich ausgeprägte, positive Korrelationen zwischen den Nadelgehalten einzelner Nitrophenole.

Teilweise konnten Lageunterschiede in der Belastung identifiziert werden, wobei Standorte nördlich der Zentralalpen tendenziell höhere Gehalte aufwiesen als der Süden des Bundesgebietes. Die zusätzliche Untersuchung von drei Standorten eines Höhenprofils ergab vergleichsweise höhere Konzentrationen in mittlerer Lage, was mit einem potentiellen Einfluss von Inversionen bzw. der Inversionsobergrenze in Verbindung gebracht werden kann.

Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe (LHKW) und Trichloressigsäure (TCA) in Fichtennadeln

Leichtflüchtige halogenierte Kohlenwasserstoffe wurden während der letzten Jahrzehnte für verschiedene technische Zwecke hergestellt und eingesetzt (z.B. Lösemittel, Entfetter). Die Anwendung sowie die teilweise lange Lebensdauer führten in den letzten Jahrzehnten zu einem Anstieg der in der Atmosphäre nachweisbaren Konzentrationen. Hervorzuheben sind

hier unter anderen 1,1,1-Trichlorethan und Tetrachlorkohlenstoff, die für den Abbau der stratosphärischen Ozonschicht mitverantwortlich gemacht werden und daher im 1989 ratifizierten Montreal-Protokoll Berücksichtigung fanden. Mittlerweile wurde die Anwendung dieser beiden Schadstoffe in zahlreichen Ländern (u.a. Österreich) durch gesetzliche Regelungen drastisch eingeschränkt bzw. verboten. Einzelne LHKWs stehen in Verdacht krebserregend zu sein. Auch pflanzentoxische Wirkungen wurden in verschiedenen Studien identifiziert. Erheblich giftiger für Pflanzen sind jedoch die Abbauprodukte der LHKWs, worunter die Trichloressigsäure (TCA) zu zählen ist. TCA wurde aufgrund dieser Wirkung in früheren Jahrzehnten als Herbizid angewendet. Die derzeit feststellbaren TCA-Belastungen der Umwelt werden jedoch mit luftchemischen Bildungsmechanismen aus LHKWs als Vorläufersubstanzen in Verbindung gebracht. Aufgrund der ubiquitären Nachweisbarkeit von LHKWs und TCA sowie der vorliegenden Befunde zur Pflanzentoxizität wurden diese Schadstoffe mehrfach mit den neuartigen Waldschäden in Verbindung gebracht.

Die Fichtennadeln der vorliegenden Studie wurden auf die LHKWs Chloroform, 1,1,1-Trichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Trichlorethylen, Perchlorethylen, Bromoform und Dibromchlormethan sowie auf Trichloressigsäure untersucht. Mit Ausnahme von Bromoform konnten alle halogenierten Kohlenwasserstoffe in den Fichtennadeln nachgewiesen werden, wobei Chloroform und TCA vergleichsweise höhere Konzentrationen aufwiesen. Die festgestellten Konzentrationssummen der LHKWs in den Nadeln der entlegenen Standorte liegen mit zwischen 6,2 und 23,9 µg/kg FS (Median 13,7 µg/kg FS) in den ½-jährigen Nadeln sowie zwischen 17,9 und 45,1 µg/kg FS (Median 29,7 µg/kg FS) in den 2½-jährigen Nadeln in einer vergleichbaren Größenordnung mit Werten aus der Literatur für ländliche Gebiete und auch Ballungsräume. Gleiches gilt für TCA, das in den ½-jährigen Nadeln Gehalte zwischen <0,5 und 23,3 µg/kg FS (Median 7,9 µg/kg FS) und in den 2½-jährigen Nadeln Gehalte zwischen <0,5 und 87,1 µg/kg FS (Median 19,6 µg/kg FS) aufwies. Somit können diese Schadstoffe auch in entlegenen Gebieten Österreichs in ähnlichen Konzentrationen wie in Ballungsgebieten nachgewiesen werden. Hervorzuheben ist hier besonders 1,1,1-Trichlorethan und Tetrachlorkohlenstoff, deren Anwendung zwar schon verboten wurde, die aber aufgrund ihrer langen atmosphärischen Lebensdauer scheinbar noch lange in der Umwelt erhalten bleiben werden.

Mit Ausnahme von Perchlorethylen wiesen die 2½-jährigen Nadeln signifikant höhere Konzentrationen als die ½-jährigen Nadeln auf, was für eine Anreicherung mit dem Nadelalter spricht. Aufgrund der raschen Gleichgewichtseinstellung zwischen Nadel- und Umgebungsluftkonzentration bei den LHKWs ist dieses Ergebnis für diese Schadstoffe einigermaßen überraschend und wurde in anderen Untersuchungen auch bisher noch nicht beobachtet. Einen möglichen Erklärungsansatz für dieses Ergebnis liefern die festgestellten Unterschiede der spezifischen Glutathion-S-Transferase-Aktivität zwischen den beiden Nadeljahrgängen (siehe Teil 2). Gleich den Nitrophenolen ergaben sich zwischen älterem und jüngerem Nadeljahrgang keine Korrelationen zwischen den Konzentrationen. Offenbar bedeutet eine höhere bzw. geringere Konzentration eines halogenierten Kohlenwasserstoffs im 1. Nadeljahrgang nicht zwangsläufig eine gleichlaufend höhere bzw. geringere Konzentration im 3. Nadeljahrgang. Der potentielle Einfluss der unterschiedlichen Expositionszeiten der beiden Nadeljahrgänge sowie mögliche, standortsabhängige Unterschiede in Bezug auf Aufnahme, Anreicherung, Metabolisierung und Entgiftung in den Nadeln könnten am Zustandekommen dieses fehlenden Zusammenhangs beteiligt sein. Teilweise wurden Hinweise auf eine Mitbeteiligung nadelinterner Entgiftungsprozesse an den voneinander abweichenden Ergebnissen für die beiden Nadeljahrgänge identifiziert.

Besonders bei den 2½-jährigen Nadeln korrelierten einige LHKWs signifikant positiv. TCA verhielt sich grundlegend anders, korrelierte nicht oder negativ mit den einzelnen LHKWs. Die Standorte weisen daher unterschiedliche relative CKW-Muster, die sich aus den Prozentanteilen der Einzelsubstanzen an der Summe aller analysierten halogenierten Kohlenwasserstoffe je Standort zusammensetzen, auf. Jene Gruppe von Standorten mit den

höchsten Prozentanteilen an TCA im relativen CKW-Muster wies auch eine vergleichsweise höhere TCA-Konzentration bzw. Summenkonzentration LHKW+TCA in den Nadeln auf.

Lagemäßige Unterschiede in der Belastung wurden identifiziert, die aber in sich widersprüchliche Ergebnisse bei den beiden Nadeljahrgängen zeigten, sodass ein eindeutig höher belasteter Großraum nicht abgeleitet werden konnte.

Neben den potentiellen Einflüssen der Aktivität von Entgiftungsenzymen (Glutathion-S-Transferasen, Glucosyltransferasen, siehe Teil 2) auf die nachgewiesenen Konzentrationen von Nitrophenolen und chlorierten Kohlenwasserstoffen, standen Daten von einer Reihe von weiteren Parametern für eine Untersuchung auf eventuelle Zusammenhänge zur Verfügung. Von diesen zeigten v.a. meteorologische Parameter (z.B. Temperatur) Korrelationen mit den Nadelgehalten. Allerdings waren auch diese Zusammenhänge sehr lose, sodass insgesamt andere Ursachen für die Unterschiede in den Konzentrationen zwischen den Standorten in Betracht zu ziehen sind. Hier ist besonders die Schadstoffbelastung der für die Nadelgehalte verantwortlichen Medien in Betracht zu ziehen, wozu v.a. die Umgebungsluft zu zählen ist. Ein weiteres erwähnenswertes Ergebnis ist, dass nahezu kein Zusammenhang zwischen der Kronenverlichtung der untersuchten Bäume und den Schadstoffkonzentrationen in den Nadeln festgestellt werden konnte. Wegen der unspezifischen Aussagekraft der Kronenverlichtung, die aufgrund einer Reihe von Faktoren verursacht sein kann, wäre ein anderes Ergebnis allerdings auch sehr überraschend gewesen. Umso bemerkenswerter ist, dass ein signifikanter, wenn auch sehr loser Anstieg der Kronenverlichtung mit Zunahme der Gehalte zweier Nitrophenole in den Nadeln statistisch abgesichert werden konnte.

Auffällig ist ferner, dass in den älteren Nadeljahrgängen die festgestellten standörtlichen Konzentrationsunterschiede bei einzelnen Nitrophenolen und chlorierten Kohlenwasserstoffen durch standörtliche Unterschiede der in Teil 2 untersuchten Glucosyltransferase-Aktivitäten beeinflusst zu sein scheinen: Signifikante Abnahmen der Konzentrationen einzelner halogener Kohlenwasserstoffe und Nitrophenole in den älteren Nadeln mit Zunahme der GT-Aktivität wurden festgestellt. Weiters konnten Zusammenhänge zwischen den Konzentrationsverhältnissen älterer zu jüngerer Nadeljahrgang und den Glucosyltransferase-Aktivitäten teilweise abgesichert werden, was mit den fehlenden Korrelationen zwischen den Konzentrationen der Nitrophenole sowie halogenierten Kohlenwasserstoffen im älteren und jüngeren Nadeljahrgang in Zusammenhang stehen könnte. Hervorzuheben ist hier besonders auch die signifikante Abnahme der Konzentration von 2-Nitrophenol in den älteren Nadeln mit Zunahme der Glucosyltransferase-Aktivität. 2-Nitrophenol war das einzige Nitrophenol, das keine Zunahmen, sondern Abnahmen mit dem Nadelalter zeigte. Bemerkenswert ist auch, dass die Konzentration von Chloroform und Tetrachlorkohlenstoff mit Zunahme der Glucosyltransferase-Aktivität im 3. Nadeljahrgang signifikant abnimmt, während das Verhältnis Chloroform/Tetrachlorkohlenstoff mit Zunahme der Glucosyltransferase-Aktivität signifikant zunimmt. Dies ist besonders deshalb erwähnenswert, da die Umwandlung von Tetrachlorkohlenstoff zu Chloroform in biologischen Systemen in der Fachliteratur beschrieben ist und Chloroform in den Nadeln einen vergleichsweise zu Umgebungsluftmessungen höheren Anteil im relativen CKW-Muster aufweist. Dies könnte einen Hinweis darstellen, dass die Glucosyltransferase-Aktivität in die Umwandlung Tetrachlorkohlenstoff zu Chloroform und den weiteren Abbau von Chloroform in den Nadeln involviert ist. Insgesamt sind diese statistischen Zusammenhänge zwischen Enzymaktivitäten und Schadstoffkonzentrationen in den Nadeln nicht unplausibel, bedürfen jedoch einer weiteren Überprüfung und Absicherung in nachfolgenden und aufbauenden Untersuchungen.

5 LITERATUR

- [1] BERDOWSKI J.J.M., BAAS J., BLOOS J.J., VISSCHEDIJK A.J.H. & ZANDVELD P.Y.J. 1997: The European atmospheric emission inventory of heavy metals and persistent organic pollutants. Umweltbundesamt Berlin, Forschungsbericht 104 02 672/03.
- [2] MIDGLEY P.M. & McCULLOCH A. 1995: The production and global distribution of emissions to the atmosphere of 1,1,1-trichloroethane (methyl chloroform). *Atmospheric Environment* 29, 1601-1608.
- [3] McCULLOCH A. & MIDGLEY P.M. 1996: The production and global distribution of emissions of trichloroethene, tetrachloroethene and dichloromethane over the period 1988-1992. *Atmospheric Environment* 30, 601-608.
- [4] PRINN R., CUNNOLD D., SIMMONDS P., ALYEA F., BOLDI R., CRAWFORD A., FRASER P., GUTZLER D., HARTLEY D., ROSEN R. & RASMUSSEN R. 1992: Global average concentration and trend for hydroxyl radicals deduced from ALE/GAGE trichloroethane (methyl chloroform) data for 1978-1990. *Journal of Geophysical Research* 97, 2445-2461.
- [5] FRANK H. & FRANK W. 1986: Photochemical activation of chloroethenes leading to destruction of photosynthetic pigments. *Experientia* 42, 1267-1269.
- [6] FRANK H. 1990: Phytotoxizität flüchtiger Halogenkohlenwasserstoffe. Bayerisches Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen, Materialien 72.
- [7] FRANK H. 1991: Airborne chlorocarbons, photooxidants and forest decline. *Ambio* 20, 13-18.
- [8] KRISTEN U., LOCKHAUSEN J., PETERSEN W., SCHULT B. & STRUBE K. 1992: Veränderungen an Fichtennadeln nach Begasung mit 2,4-Dinitrophenol, Benzaldehyd, Furfural, Trichlorethan und Trichloressigsäure. In: MICHAELIS W. & BAUCH J. (Hrsg.): Luftverunreinigungen und Waldschäden am Standort „Postturm“, Forstamt Farchau/Ratzeburg. GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 92/E/100, 341-352.
- [9] SCHRÖDER P., BERKAU C., NATHAUS F.J., WEISS A. & WOLF A. 1994: Untersuchungen zur Aufnahme anthropogen emittierter Chlorkohlenwasserstoffe und deren Entgiftung durch Fichten vom Schwerpunktstandort Kalkalpen. Fraunhofer Institut für atmosphärische Umweltforschung Garmisch-Partenkirchen, IFU-Schriftenreihe, Vol. 24-94.
- [10] RETHER B., SCHOLL H., LAOUEDJ A., GUILLEMAUT P. & FRANK H. 1993: Testing of phytotoxicity of xenobiotics in plant cell cultures. In: SCHRÖDER P., FRANK H. & RETHER B. (Hrsg.): Volatile organic pollutants: Levels, fate and ecotoxicological impacts. IFU Schriftenreihe 23/93, 79-89.
- [11] FRANK H., SCHOLL H., RENSCHEN D., RETHER B., LAOUEDJ A. & NOROKORPI Y. 1994: Haloacetic acids, phytotoxic secondary air pollutants. *ESPR - Environ. Sci. & Pollut. Res.* 1, 4-14.
- [12] SUTINEN S., JUUTI S., KOIVISTO S., TURUNEN M. & RUUSKANEN J. 1995: The uptake of and structural changes induced by trichloroacetic acid in the needles of Scots pine seedlings. *Journal of Experimental Botany* 46 (290), 1223-1231.
- [13] SUTINEN S., JUUTI S. & RYYPÖ A. 1997: Long-term exposure of Scots pine seedlings to monochloroacetic and trichloroacetic acid: Effects on the needles and growth. *Ann. Bot. Fennici* 34, 265-273.
- [14] PLÜMACHER J. & SCHRÖDER P. 1994: Accumulation and fate of C1/C2-chlorocarbons and trichloroacetic acid in spruce needles from an Austrian mountain site. *Chemosphere* 29 (9-11), 2467-2476.
- [15] SCHRÖDER P., JUUTI S., SASHWATI R., SANDERMANN H. & SUTINEN S. 1997: Exposure to chlorinated acetic acids: Responses of peroxidase and glutathione-s-transferase activity in pine needles. *ESPR - Environ. Sci. & Pollut. Res.* 4 (3), 163-171.
- [16] PEARSON C.R. 1982: C1 and C2 halocarbons. In: HUTZINGER O. (Hrsg.): The handbook of environmental chemistry - anthropogenic compounds. Vol. 3, Part B, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 69-88.
- [17] ZETZSCH C. & BECKER K.H. 1989: Das luftchemische Verhalten von flüchtigen Organohalogenverbindungen. VDI-Berichte 745, VDI-Verlag, Düsseldorf, 97-128.

- [18] FRANK H. & FRANK W. 1990: Concentrations of airborne C₁- and C₂-Halocarbons in forest areas in West Germany: Results of three campaigns in 1986, 1987 and 1988. *Atmospheric Environment* 24A, 1735-1739.
- [19] FRANK H., VINCON A. & REISS J. 1990: Montane Baumschäden durch das Herbizid Trichloressigsäure. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.* 2, 208-214.
- [20] JUUTI S., NOROKORPI Y. & RUUSKANEN J. 1995: Trichloroacetic acid (TCA) in pine needles caused by atmospheric emissions of kraft pulp mills. *Chemosphere* 30, 439-448.
- [21] FRANK H. 1989: Neuartige Waldschäden und luftgetragene Chlorkohlenwasserstoffe. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.* 4, 7-11.
- [22] FRANK H., FRANK W. & THIEL D. 1989: C₁- and C₂-Halocarbons in soil air of forests. *Atmospheric Environment* 23, 1333-1335.
- [23] SCHELL R. & KRISTEN U. 1992: Trichloressigsäure begünstigt Pilzinfektionen von Fichtennadeln. In: MICHAELIS W. & BAUCH J. (Hrsg.): *Luftverunreinigungen und Waldschäden am Standort „Postturm“, Forstamt Farchau/Ratzeburg*. GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 92/E/100, 353-363.
- [24] NOROKORPI Y. 1993: Forest decline and the contribution of trichloroacetic acid to it. In: SCHRÖDER P., FRANK H. & RETHER B. (Hrsg.): *Volatile organic pollutants: Levels, fate and ecotoxicological impacts*. IFU Schriftenreihe 23/93, 28-36.
- [25] GROSJEAN D. 1991: Atmospheric fate of toxic aromatic compounds. *The Science of the Total Environment* 100, 367-414.
- [26] LEUENBERGER C., CZUCZWA J., TREMP J. & GIGER W. 1988: Nitrated phenols in rain: Atmospheric occurrence of phytotoxic pollutants. *Chemosphere* 17, 511-515.
- [27] TRAUTNER F., REISCHL A. & HUTZINGER O. 1989: Nitrierte Phenols in Nebelwasser - Beitrag zur Waldschadensforschung. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.* 3, 10-11.
- [28] HERTERICH R. & HERRMANN R. 1990: Comparing the distribution of nitrated phenols in the atmosphere of two German hill sites. *Environmental Technology* 11, 961-972.
- [29] HERTERICH R. 1991: Gas chromatographic determination of nitrophenols in atmospheric liquid water and airborne particulates. *Journal of Chromatography* 549, 313-324.
- [30] FIGGE K. & DOMMROSE A.M. 1992: Organische Spurenstoffe in der Atmosphäre der Waldstandorte „Postturm“, Forstamt Farchau/Ratzeburg und „Donaustauf“ bei Regensburg. In: MICHAELIS W. & BAUCH J. (Hrsg.): *Luftverunreinigungen und Waldschäden am Standort „Postturm“, Forstamt Farchau/Ratzeburg*. GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 92/E/100, 71-90.
- [31] SCHLEYER R., FILLIBECK J., HAMMER J. & RAFFIUS B. 1996: Beeinflussung der Grundwasserqualität durch Deposition anthropogener organischer Stoffe aus der Atmosphäre. *Umweltbundesamt Berlin, WaBoLu-Hefte* 10/96.
- [32] SATTELBERGER R., GÖTZ B., RISS A., LORBEER G. & STEINER E. 1998: Nitrophenols and trichloroacetic acid (TCA) in precipitation in Austria. In: WEISS P., SCHRÖDER P., RETHER B., KEITH G., COLLINS C., BACH Th. (Hrsg.): *Organic xenobiotics and plants: Impact, metabolism and toxicology*. Umweltbundesamt Wien, CP-024, 19-32.
- [33] HINKEL M., REISCHL A., SCHRAMM K.W., TRAUTNER F., REISSINGER M. & HUTZINGER O. 1989: Concentration levels of nitrated phenols in conifer needles. *Chemosphere* 18, 2433-2439.
- [34] SHEA P.J., WEBER J.B. & OVERCASH M.R. 1983: Biological activities of 2,4-dinitrophenol in plant-soil systems. *Residue Reviews* 87, 1-41.
- [35] MEYBERG M., KAPPLER R. & KRISTEN U. 1988: Untersuchungen zur Cytotoxizität atmo gener Organika des Standortes „Postturm“. In: BAUCH J. & MICHAELIS W. (Hrsg.): *Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort „Postturm“, Forstamt Farchau/Ratzeburg*. GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88/E/55, 131-138.
- [36] RIPPEN G., ZIETZ E., FRANK R., KNACKER T. & KLÖPFER W. 1987: Do airborne nitrophenols contribute to forest decline. *Environmental Technology Letters* 8, 475-482.

- [37] FIGGE K. 1988: Vorgang der ad-/absorptiven Anreicherung luftgetragener Organika in Fichtennadeln. In: BAUCH J. & MICHAELIS W. (Hrsg.): Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort „Postturm“, Forstamt Farchau/Ratzeburg. GKSS-Forschungszentrum Geesthacht, GKSS 88/E/55, 101-119.
- [38] UMLAUF G., HAUKE H. & REISSINGER M. 1994c: Deposition of semivolatile organic compounds to spruce needles - II. Experimental evaluation of the relative importance of different pathways. *ESPR - Environ. Sci. & Pollut. Res.* 1, 209-222.
- [39] RIPPEN G., 1999: Handbuch Umweltchemikalien. Ecomed Verlag, Landsberg/Lech.
- [40] REISCHL A. 1988: Akkumulation luftbürtiger chlorierter Kohlenwasserstoffe in Koniferennadeln. Dissertation, Univ. Bayreuth.
- [41] WEISS P. 1998: Persistente organische Schadstoffe in Hintergrund-Waldgebieten Österreichs. Umweltbundesamt Wien, M-097.
- [42] SHAFER W.E. & SCHÖNHERR J. 1985: Accumulation and transport of phenol, 2-nitrophenol and 4-nitrophenol in plant cuticles. *Ecotox. Environ. Safe.* 10, 239-252.
- [43] MARGL H. 1994: Klimadaten aus dem Raum Achenkirch. In: HERMAN F. & SMIDT S. (Hrsg.): Ökosystemare Studien im Kalkalpin. Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien, FBVA-Bericht 78, 17-25.
- [44] KAISER A. 1996: Die meteorologischen Verhältnisse im Achenental und ihre Auswirkungen auf die gemessenen Immissionskonzentrationen. In: HERMAN F. & SMIDT S. (Hrsg.): Ökosystemare Studien im Kalkalpin – Abschätzung der Gefährdung von Waldökosystemen. Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien, FBVA-Bericht 94, 23-46.
- [45] PLÜMACHER J., RENNER I. & SCHRÖDER P. 1993: Volatile chlorinated hydrocarbons and trichloroacetic acid in conifer needles. In: SCHRÖDER P., FRANK H. & RETHER B. (Hrsg.): Volatile organic pollutants: Levels, fate and ecotoxicological impacts. IFU Schriftenreihe 23/93, 37-51.
- [46] PLÜMACHER J. & DOMBROWSKY P. 1998: Volatile chlorinated hydrocarbons (VCHs) and trichloroacetic acid (TCA) in forest areas of Berlin and its surroundings. In: WEISS P., SCHRÖDER P., RETHER B., KEITH G., COLLINS C., BACH Th. (Hrsg.): Organic xenobiotics and plants: Impact, metabolism and toxicology. Umweltbundesamt Wien, CP-024, 65-78.
- [47] SCHRÖDER P. & WEISS A. 1991: Uptake and detoxification of chlorinated hydrocarbons by Spruce trees. In: SCHWARTZ S.E. & SLINN G.W.N. (Hrsg.): Precipitation scavenging and atmosphere surface exchange. Vol. 2, Hemisphere Publ., 1011-1021.
- [48] FRANK H., SCHOLL H., SUTINEN S. & NOROKORPI Y. 1992: Trichloroacetic acid in conifer needles in Finland. *Ann. Bot. Fennici* 29, 263-267.
- [49] FRANK H. 1988: unveröffentlichte Ergebnisse einer Untersuchung i.A. des Umweltbundesamtes Wien.
- [50] WEISSFLOG L., MANZ M., POPP P., ELANSKY N., ARABOV A., PUTZ E. & SCHÜÜRMAN G. 1999: Airborne trichloroacetic acid and its deposition in the catchment area of the Caspian Sea. *Environmental Pollution* 104, 359-364.
- [51] APPLEBY A., KAZAZIS J., LILLIAN D. & SINGH H.B. 1976: Atmospheric formation of chloroform from trichloroethylene. *J. Environ. Sci. Health A11* (12), 711-715.
- [52] ITOH N., KUTSUNA S. & IBUSUKI T. 1994: A product study of the OH radical initiated oxidation of perchloroethylene and trichloroethylene. *Chemosphere* 28, 2029-2040.
- [53] VOGEL T.M., CRIDDLE C.S. & MCCARTHY P.M. 1987: Transformations of halogenated aliphatic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 21, 722-736.
- [54] GAY B.W., HANST P.L., BUFALINI J.J. & NOONAN R.C. 1976: Atmospheric oxidations of chlorinated ethylenes. *Environ. Sci. Technol.* 10, 58-67.
- [55] TUAZON E.C., ATKINSON R., ASCHMANN S.M., GOODMAN M.A. & WINER A.M. 1988: Atmospheric reactions of chloroethenes with the OH radical. *International Journal of Chemical Kinetics* 20, 241-265.

- [56] GÜRTLER R., MÖLLER U., SOMMER S., MÜLLER H. & KLEINERMANN K. 1994: Photooxidations of exhaust products - III. Photooxidation of the chloroethenes: Degradation efficiencies, quantum yields and products. *Chemosphere* 29, 1671-1682.
- [57] UHLIROVA H., MATUCHA M., KRETZSCHMAR M. & BUBNER M. 1996: Aufnahme und Verteilung von Trichloressigsäure in Trieben Norwegischer Fichte. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.* 8, 138-142.
- [58] FRANK H. & FRANK W. 1988: Quantitative determination of airborne C₁- and C₂-Halocarbons by GC/ECD. *Journal of High Resolution Chromatography & Chromatography Communications* 11, 51-56.
- [59] FRANK H., FRANK W. & GEY M. 1991: C₁- und C₂-Halogenkohlenwasserstoffe - Immissionskonzentrationen in der bodennahen Atmosphäre Deutschlands. *UWSF - Z. Umweltchem. Ökotox.* 3, 167-175.
- [60] WEISS A. 1993: Atmospheric mixing ratios of several chlorinated hydrocarbons at the mountain „Wank“ near Garmisch-Partenkirchen. In: SCHRÖDER P., FRANK H. & RETHER B. (Hrsg.): Volatile organic pollutants: Levels, fate and ecotoxicological impacts. *IFU Schriftenreihe* 23/93, 1-11.
- [61] SINGH H.B., SALAS L., SHIGEISHI H. & CRAWFORD A. 1977: Urban-nonurban relationships of halocarbons, SF₆, N₂O and other atmospheric trace constituents. *Atmospheric Environment* 11, 819-828.
- [62] de LEER, E.W.B., DAMSTE J.S.S., ERKELENS C. & de GALAN L. 1985: Identification of intermediates leading to chloroform and C-4 diacids in the chlorination of humic acid. *Environ. Sci. Technol.* 19, 512-522.
- [63] CLASS T. & BALLSCHMITER K. 1987: Chemistry of organic traces in air IX: evidence of natural marine sources for chloroform in regions of high primary production. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 327, 40-41.
- [64] SCHLEYER R. 1991: Gefährdung der Grundwasserqualität durch Deposition atmosphärischer organischer Spurenstoffe. *DVGW-Schriftenreihe Wasser* 73, 75-90.
- [65] NAUMANN K. 1994: Natürlich vorkommende Organohalogene. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 42, 389-392.
- [66] RENNER I. & MÜHLHAUSEN D. 1989: Immissionsbelastungen - Konsequenzen für die Grundwasserqualität. Untersuchungen zu halogenorganischen Verbindungen hinsichtlich ihres Pfades vom Regen in das Grundwasser. *VDI-Berichte* 745, VDI-Verlag, Düsseldorf, 483-496.
- [67] PLÜMACHER J. & SCHRÖDER P. 1994: Aufnahme und Verbleib von leichtflüchtigen Chlorkohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure. In: HERMAN F. & SMIDT S. (Hrsg.): Ökosystemare Studien im Kalkalpin. *Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien, FBVA-Bericht* 78, 101-108.
- [68] HERMAN F. & SMIDT S. 1996: Ökosystemare Studien im Kalkalpin – Abschätzung der Gefährdung von Waldökosystemen – Beschreibung des Projektes und Zielsetzungen. In: HERMAN F. & SMIDT S. (Hrsg.): Ökosystemare Studien im Kalkalpin – Abschätzung der Gefährdung von Waldökosystemen. *Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien, FBVA-Bericht* 94, 7-22.
- [69] HYDROGRAPHISCHES ZENTRALBÜRO 1998: Hydrographisches Jahrbuch von Österreich 1995. 103. Band, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien.
- [70] NEUMANN M. 1995: pers. Mitteilung zu Daten, die im Rahmen des Waldschadensbeobachtungssystems [71] erhoben wurden. *Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien.*
- [71] KRISTÖFEL F. 1996: Terrestrische Kronenzustandserhebung und jährliche Änderungen. In: NEUMANN M. (Hrsg.): Österreichisches Waldschadensbeobachtungssystem – Beiträge zum 4. WBS-Seminar in Wien am 23. November 1995. *Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien, FBVA-Bericht* 93, 137-142.
- [72] MUTSCH F. 1994: pers. Mitteilung zu Daten, die im Rahmen der Waldbodenzustandsinventur [73] sowie der Untersuchungen auf der Dauerbeobachtungsfläche Ackenkirch [74] erhoben wurden. *Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien.*
- [73] FORSTLICHE BUNDESVERSUCHANSTALT 1992: Österreichische Waldboden-Zustandsinventur. *Mitteilungen der Forstlichen Bundesversuchsanstalt Wien*, 168. Heft, Band I, II.

-
- [74] MUTSCH F. 1995: Einstufung der Böden im Raum Achenkirch nach chemischen Parametern. In: HERMAN F. & SMIDT S. (Hrsg.): Ökosystemare Studien im Kalkalpin. FBVA-Berichte 87, 55-68.
- [75] TRIMBACHER C. & WEISS P. 1997: Wachsqualität, Nähr- und Schadstoffkonzentrationen von Fichtennadeln. Umweltbundesamt Wien, M-090.
- [76] SCHREIBER L. & SCHÖNHERR J. 1992: Uptake of organic chemicals in conifer needles: Surface adsorption and permeability of cuticles. Environ. Sci. Technol. 26, 153-159.
- [77] BRIGGS G.G., BROMILOW R.H. & EVANS A.A. 1982: Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by barley. Pestic. Sci. 13, 495-504.

6 ANHANG

6.1 Korrelationstabellen

Tab. 1.8: Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Frischsubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit * gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	2-NP N1	4-NP N1	4-M-2- NP N1	2,4- DNP N1	SUM NP N1	2-NP N2	4-NP N2	4-M-2- NP N2	3-M-4- NP N2	2,6- DM-4- NP N2	4-M- 2,6- DNP N2	6-M- 2,4- DNP N2	2,4- DNP N2	SUM NP N2
4-NP, N1	,443*													
4-M-2-NP, N1	,442*													
2,4-DNP, N1	,102	,343	,374											
2-NP, N2	-,052	,117	-,191	-,158	,038									
4-NP, N2	-,066	,386	-,025	,079	,258									
4-M-2-NP, N2	-,180	,098	-,214	-,038	,013									
3-M-4-NP, N2	,078	,318	-,037	-,004	,288									
2,6-DM-4-NP, N2	-,187	,335	,024	,169	,132									
4-M-2,6-DNP, N2	,037	,096	-,061	,186	,108	-,088	-,206	,133	-,009	,298				
6-M-2,4-DNP, N2	,179	,066	-,018	,193	,155	,194	,166	,438*	,328	,166	,267			
2,4-DNP, N2	-,068	,010	-,096	-,235	-,084	,009	-,149	-,109	-,317	,005	,179	-,163		
T10 ¹	,138	,145	,179	,113	,179	,320	,036	,134	,213	,188	,009	-,109	-,344	,093
T5-10 ¹	,183	,092	,091	,082	,140	,276	,046	,045	,285	,273	,175	-,099	-,453*	,102
T1-12 ¹	,238	,065	,082	,087	,143	,294	,014	,082	,310	,263	,189	-,030	-,437*	,083
NS10 ¹	-,281	,030	-,038	,075	-,076	,348	,305		,403*	,298	-,044	-,437*	-,242	,379
NS5-10 ¹	-,326	,013	,126	,145	-,105	-,200	,032	,201	-,048	-,160	-,079	,111	-,035	,026
NS1-12 ¹	-,332	,037	,127	,124	-,070	-,073	,113	,294	,034	-,112	-,089	,195	-,087	,118
EN ^{x,2}	,021	,221	-,100	-,339	,106	,234	,078	,009	-,050	-,118	-,477	-,016	,230	,128
ENPB ^{x,2}	,132	,200	-,055	,050	,227	,454*	,335	,332	,380	,175	-,029	-,492*	-,122	,369
GSTCDNB, N1	,278	,254	,225	,186	,255									
GSTDCNB, N1	-,035	,071	-,001		,068									
PROTEIN, N1	,114	-,285	-,369	-,173	-,204									
GSTSACDNB, N1	,320	,474*	,481*	,338	,432*									
GSTSADCNB, N1	-,092	,176	,134		,138									
GSTCDNB, N2						,232	,045	,041	,054	,056	,439*	-,182	-,177	,066
GSTDCNB, N2						,216		,143	,370	,140		-,189	-,240	,404*
PROTEIN, N2						,215	,321	,075	,164	,195	,456*	,024	,052	,321
GSTSACDNB, N2						,039	-,203	-,010	-,042	-,092	,036	-,129	-,205	-,180
GSTSADCNB, N2						,097	,471*	,138	,392	,064	-,399	-,205	-,313	,431*
GSH, N1 ^x	,121	-,226	-,234	-,275	-,144									
GSSG, N1 ^x	,117	-,241	-,167	-,228	-,125									
GSH, N2 ^x						,235	,076	,208	,037	,201	,053	,186	-,226	,130
GSSG, N2 ^x						,497	,109	,376	,132	,335	-,121	,300	-,100	,182
GTTCN, N1 ^x	,400	,310	,153	,136	,233									
GT2NP, N1 ^x	,550	,117	,077	,441	,333									
GT4NP, N1 ^x	,417	-,385	-,528	,034	-,233									
GTP, N1 ^x	,467	,218	,000	,136	,250									
GTTCN, N2 ^x						-,119	,070	,594*	-,140	-,329	-,515	-,343	,035	,014
GT2NP, N2 ^x						,594*	-,476	-,490	-,203	-,392	,046	,028	-,098	-,469
GT4NP, N2 ^x						,594*	-,476	-,455	-,252	-,294	,112	,126	-,147	-,462
GTP, N2 ^x						-,301	-,147	,692*	-,231	-,343	-,410	-,252	-,077	-,182
TCM, N1	,047	-,053	-,075	-,391	-,035									
TCE, N1	,244	,082	-,053	,420*	,162									
TETRA, N1	,374	-,066	,195	-,021	,088									
TRI, N1	,283	-,082	,057	-,213	,041									

Tab. 1.8: Fortsetzung

	2-NP N1	4-NP N1	4-M-2- NP N1	2,4- DNP N1	SUM NP N1	2-NP N2	4-NP N2	4-M-2- NP N2	3-M-4- NP N2	2,6- DM-4- NP N2	4-M- 2,6- DNP N2	6-M- 2,4- DNP N2	2,4- DNP N2	SUM NP N2
PER, N1	,458	-,078	,149	-,143	,125									
TCA, N1	-,272	-,094	-,254	,086	-,155									
LHKW+TCA, N1	-,013	-,136	-,285	-,162	-,078									
LHKW, N1	,335	-,033	,065	-,349	,111									
pH(CaCl), O ³	-,027	-,256	-,200	-,038	-,159	,420	-,077	-,249	-,076	-,424	-,005	,002	-,298	-,110
pH(H ₂ O), O ³	-,033	-,251	-,198	-,084	-,168	,430	-,087	-,239	-,081	-,482	-,042	,036	-,211	-,124
pH(CaCl), B1 ³	,084	-,236	-,257	,120	-,119	-,366	-,063	-,190	,041	-,444	,083	,193	-,253	-,078
pH(H ₂ O), B1 ³	,094	-,117	-,152	,187	-,056	-,382	-,054	-,215	,055	-,399	,066	,187	-,272	-,070
SEEHÖHE ²	-,105	-,088	-,117	-,064	-,117	-,311	-,029	-,147	-,337	-,299	-,261	,015	,440	-,097
BESTANDESALTER ^{x,2}	,250	-,344	-,305	-,159	-,181	-,106	-,150	-,123	-,226	-,183	,227	,029		-,143
WQ ^{x,4}	-,119	,221	-,141	-,007	,122									
EPI ⁴	-,264	-,042	-,117	-,329	-,145									

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72], ⁴ [75]

Tab. 1.9: Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (normalverteilte Variablen; Gehalte auf Frischsubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit * gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	2-NP N1	4-NP N1	4-M-2- NP N1	2,4-DNP N1	SUM NP N1	2-NP N2	2,6-DM- 4-NP, N2	4-M-2,6- DNP, N2	2,4-DNP N2	SUM NP N2
2,4-DNP, N1	,119									
2-NP, N2	-,010			-,088						
2,6-DM-4-NP, N2	-,229			,209						
2,4-DNP, N2	-,091			-,250		,075	,010			
T10 ¹	,359			,052		,336	,277		-,215	,076
T5-10 ¹	,352			,115		,264	,294		,411	,094
T1-12 ¹	,369			,060		,271	,288		-,364	,098
NS10 ¹	-,274			,153		,275	,247		-,118	,309
NS5-10 ¹	-,351			,134		-,177	-,139		-,123	,187
NS1-12 ¹	-,332			,124		-,054	-,075		-,128	,237
GSTCDNB, N1	,244			,140						
GSTSACDNB, N1	,116			,346						
GSTCDNB, N2						,097	,032		,055	-,026
PROTEIN, N2						,166	,077		,236	,317
GSTSACDNB, N2						-,038	,045		-,188	-,285
GSTSADCNB, N2						,028	,089		-,354	
GTTCB, N1 ^x		,186	,145	,169	,223					
GT4NP, N1 ^x		-,521	,681	-,156	-,393					
GTTCB, N2 ^x						-,120	-,312	,672		,068
GT4NP, N2 ^x						-,643	-,308	-,065		-,220
TCM, N1	,214			-,389						
TCE, N1	,477			,387						
TCA, N1	-,230			,073						
LHKW+TCA, N1	,023			-,177						
LHKW, N1	,397			-,352						
pH(CaCl), O ³	-,003			-,157		-,475	-,361		-,305	-,014
pH(H ₂ O), O ³	-,009			-,146		-,472	-,373		-,229	-,011
SEEHÖHE ²	-,244			-,082		-,315	-,422		-,397	-,171
BESTANDESALTER ^{x,2}	,099			-,220		,014	-,100			-,223

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72]

Tab. 1.10: Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Trockensubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit * gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	2-NP N1	4-NP N1	4-M-2- NP N1	2,4- DNP, N1	SUM NP N1	2-NP N2	4-NP N2	4-M-2- NP N2	3-M-4- NP N2	2,6-DM- 4-NP N2	4-M-2,6- DNP N2	6-M-2,4- DNP N2	2,4- DNP N2	SUM NP N2
4-NP, N1	1,000													
4-M-2-NP, N1	,392	1,000												
2,4-DNP, N1	,195	,457	1,000											
2-NP, N2	-,018	,063	-,187	-,048	,058	1,000								
4-NP, N2	-,046	,305	-,043	,115	,260	-,018	1,000							
4-M-2-NP, N2	-,148	,084	-,214	,055	,048	-,018	-,018	1,000						
3-M-4-NP, N2	,085	,299	-,060	,074	,302	-,018	-,018	-,018	1,000					
2,6-DM-4-NP, N2	-,146	,301	,130	,262	,145	,496*	,352	-,018	,342	1,000				
4-M-2,6-DNP, N2	,036	,145	-,002	,162	,134	-,115	-,207	,146	-,016	,334	1,000			
6-M-2,4-DNP, N2	,261	,130	-,026	,266	,190	-,004	-,033	,244	,155	,126	,258	1,000		
2,4-DNP, N2	,015	,068	,002	-,103	,026	-,058	-,162	-,142	-,313	,069	,255	-,007	1,000	
T10 ¹	,114	,099	,150	,141	,173	,312	,026	,131	,207	,134	-,005	-,211	,397*	,070
T5-10 ¹	,191	,062	,068	,046	,123	,286	,059	,044	,323	,256	,155	-,114	,423*	,101
T1-12 ¹	,248	,041	,046	,055	,119	,302	,023	,082	,333	,233	,157	-,051	,418*	,074
NS10 ¹	-,256	,003	-,082	,118	-,081	,307	,283	-,018	,348	,228	-,096	,343	-,254	,342
NS5-10 ¹	-,358	-,009	,096	,094	-,097	-,264	,000	,158	-,084	-,224	-,118	-,090	-,131	-,021
NS1-12 ¹	-,356	,008	,094	,086	-,066	-,146	,083	,246	-,015	-,197	-,132	-,038	-,189	,066
EN ^{x,2}	,001	,103	-,130	-,382	,047	,175	,031	-,112	-,109	-,288	,524*	-,178	,124	,026
ENPB ^{x,2}	,140	,176	-,124	,134	,215	,458*	,310	,342	,379	,143	-,070	,384	-,134	,342
TCM, N1	,209	,025	-,029	-,384	,075									
TCE, N1	,311	,138	-,044	,375	,235									
TETRA, N1		,141	,279	,031	,304									
TRI, N1	,363	,059	,144	-,076	,105									
PER, N1		,069	,227	-,125	,219									
TCA, N1	-,187	-,068	-,173	,092	-,066									
LHKW+TCA, N1	,137	-,036	-,142	-,096	,041									
SCL, N1	,011	,290	,220		,270									
SCL, N2						-,025	,375	,058	,202	-,072	-,142	,100	,035	,326
pH(CaCl), O ³	-,012	-,246	-,194	-,170	-,140	,447*	-,048	-,266	-,050	,421*	-,019	-,002	-,237	-,111
pH(H ₂ O), O ³	-,017	-,244	-,199	-,216	-,147	,400*	-,064	-,249	-,064	,496*	-,051	,029	-,156	-,126
pH(CaCl), B1 ³	,086	-,238	-,304	-,033	-,138	-,396	-,053	-,220	,055	,463*	,033	,167	-,200	-,105
pH(H ₂ O), B1 ³	,086	-,123	-,199	,030	-,082	,408*	-,047	-,236	,077	,419*	,017	,170	-,205	-,095
SEEHÖHE ²	-,109	-,047	-,073	-,025	-,095	-,315	-,030	-,136	-,357	-,268	-,229	,062	,424*	-,085
BESTANDESALTER ^{x,2}	,300	-,288	-,267	-,117	-,134	-,079	-,150	-,111	-,270	-,145	,238	,097		-,126
HCB, N1 (93) ⁵	-,002	,123	-,052	,310	,117	,186	,123	,116	,109		,315	,012	-,098	,142
DDX, N1 (93) ³	,244	,044	,009	,236	,164	,290	,168	,055	,061	,364	,044	,084	-,166	,186
HCH, N1 (93) ³	-,104	,200	-,052	,292	,114	,437*	,277	,476*	,407*		,268	,102	-,343	,339
PAH, N1 (93) ³	-,072	,088	,005	,103	,071	,169	,387	,098	,233	,524*	,342	-,112	-,229	,401
PCB, N1 (93) ³	-,048	-,116	-,066	,086	-,080	-,343	,051	-,181	,065	-,042	,036	,289	,095	,000
PCDD/F, N1 (93) ³	-,193	-,315	-,050	,220	-,257	-,163	-,097	-,157	-,183	-,128	-,301	-,040	,111	-,137
Cd, N1 (93) ³	,194	-,138	-,083	,451*	,003	,213	,231	,161	,287	-,066	-,182	,110	,448*	,242
Pb, N1 (93) ³	,015	-,069	,007	,073	-,041	-,055	,267	-,217	,163	,273	-,183	-,120	-,161	,220
WQ ^{x,4}	-,170	,177	-,146	,008	,109									
EPI ⁴	-,296	-,061	-,112	-,316	-,120									
S, N1 ^{x,4}	-,008	,112	-,157	,088	,106									
N, N1 ⁴	,255	,096	-,124	-,142	,154									
Ca, N1 ⁴	,134	-,058	-,116	-,127	-,012									
K, N1 ⁴	,075	,178	,354	,245	,143									
Mg, N1 ⁴	,058	-,115	,047	-,077	-,097									
P, N1 ⁴	,047	,042	,038	-,013	,019									
Cu, N1 ⁴	-,038	,183	,073	-,154	,042									
Zn, N1 ⁴	,210	,171	,233	,093	,151									
Mn, N1 ⁴	-,157	,050	,091	,334	-,036									
Fe, N1 ^{x,4}	,068	,262	-,046	,151	,213									
Al, N1 ^{x,4}	,066	,087	,011	,305	,081									
N100, N1	,300	,219	,007	-,144	,272									

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72], ⁴ [75], ⁵ [41]

Tab. 1.11: Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den Nitrophenolgehalten und anderen Parametern (normalverteilte Variablen; Gehalte auf Trockensubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit ^x gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	2-NP, N1	2,4-DNP, N1	SUM NP, N1	2-NP, N2	2,6-DM-4-NP, N2	2,4-DNP, N2	SUM NP, N2
2,4-DNP, N1	,186						
2-NP, N2	,023	-,078	-,021				
2,6-DM-4-NP, N2	-,208	,213	,019				
2,4-DNP, N2	,015	-,166	,122	-,008	,037		
T10 ¹	,310	,049	,159	,331	,262	-,241	,076
T5-10 ¹	,316	,104	,171	,277	,291	*,398	,103
T1-12 ¹	,335	,054	,161	,284	,285	-,353	,108
NS10 ¹	-,277	,134	-,046	,257	,208	-,197	,289
NS5-10 ¹	-,381	,072	-,118	-,246	-,214	-,257	,127
NS1-12 ¹	-,367	,060	-,089	-,121	-,151	-,269	,179
TCM, N1	,289	*,405	,160				
TCE, N1		,373	,230				
LHKW+TCA, N1	,198	-,152	-,054				
SCL, N1	-,190		,146				
SCL, N2				-,113	-,129	,118	,133
pH(CaCl), O ³	-,032	-,236	-,173	*,483	-,360	-,270	-,002
pH(H ₂ O), O ³	-,044	-,230	-,149	*,480	-,371	-,202	,002
SEEHÖHE ²	-,196	-,051	-,149	-,325	*,413	*,402	-,177
BESTANDESALTER ^{x,2}	,140	-,171	-,201	,041	-,070		-,201
HCB, N1 (93) ⁵	,006	,331	-,017	,247		-,050	,127
HCH, N1 (93) ⁵	-,062	,320	,126	*,420		-,299	,298
Ca, N1 ⁴	,137	-,113	,083				
K, N1 ⁴	,070	,174	,157				
Mg, N1 ⁴	,074	-,097	-,003				
P, N1 ⁴	,024	-,132	,011				
Cu, N1 ⁴	-,081	-,199	,095				
Zn, N1 ⁴	,087	,106	,206				
Mn, N1 ⁴	-,185	,284	-,118				
N100, N1	,349	-,039	,208				

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72], ⁴ [75], ⁵ [41]

Tab. 1.12: Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Frischsubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit ^x gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	TCM N1	TCETETRA N1 N1	TRI N1	PER N1	TCALHKW+ N1	LHKW+ TCA, N1	LHKW N1	TCM N3	TCETETRA N3 N3	TRI N3	PER N3	TCALHKW+ N3	LHKW+ TCA, N3	LHKW N3		
TCE, N1	,157															
TETRA, N1	,403	,342														
TRI, N1	,195	,024	,340													
PER, N1	,369	,090		,493												
TCA, N1	,444	,089	-,323	-,315	,443											
TCM, N3	-,095	,099	,020	-,077	-,330	-,008	-,118	-,230								
TCE, N3	,182	,219	-,053	-,079	-,061	-,111	-,035	,091	,488							
TET, N3	-,147	,169	,079	-,005	-,334	-,006	-,112	-,271								
TRI, N3	-,160	,243	,100	-,021	-,176	,189	,096	-,228		,501						
PER, N3	,093	-,028	-,008	-,094	-,096	-,194	-,259	,059	,287	,314	,447	,389				
TCA, N3	-,238	,369	-,270	-,080	-,213	,296	,192	-,250	-,117	,260	,023	,233	-,152			
T10 ¹	,142	,397	,183	-,010	-,065	,072	,181	,123	,212	,360	,219	,067	-,092	,312	,376	,214
T5-10 ¹	,113	,400	,142	,007	-,090	,082	,206	,118	,218	,403	,289	,333	,116			,340
T1-12 ¹	,097	,440	,168	,069	-,041	,121	,279	,121	,174	,393	,288	,305	,116			,324
NS10 ¹	,045	-,231	,449	-,401	-,493	-,054	-,216	-,227	,198	,084	,302	-,086		-,292	-,163	,303
NS5-10 ¹	-,127	-,161	-,203	,463	-,382	,063	-,321	-,360	,113	-,002	,139	-,002	,311	-,346	-,292	,124
NS1-12 ¹	-,040	-,173	-,216	,482	-,361	,036	-,269	-,277	,124	,049	,172	-,046	,343	,003	-,312	,145
EN ^{x,2}	,253	,507	-,120	-,317	,049	-,264	-,225	,038	-,275	,054	-,054	-,168	,004	,052	,138	-,069
ENPB ^{x,2}	,091	,228	-,172	-,118	-,053	-,184	-,073	,019	,165	-,112	,225	,169	,292	-,065	,065	,151
GSTCDNB, N1	,078	-,006	,073	-,080	-,025	,090	,157	-,073								
GSTDCNB, N1	-,065	,209	-,063	-,303	-,251	,145	,061	-,272								
PROTEIN, N1	,259	,342	,167	,278	,112	,083	,385	,165								
GSTSACDNB, N1	-,137	-,352	-,056	-,348	-,072	-,164	-,380	-,167								
GSTSADCNB, N1	-,170	,007	-,148		-,308	,066	-,195	-,322								
GSTCDNB, N3								-,083	-,196	-,173	-,105	-,143	,252	,220	-,188	
GSTDCNB, N3								-,113	-,226	-,077	,012	-,052	,467	,402	-,117	
PROTEIN, N3								,231	-,153	,207	,094	,205	-,109	-,112	,118	
GSTSACDNB, N3								-,248	,005	-,266	-,148	-,236	,201	,193	-,219	
GSTSADCNB, N3								-,240	-,106	-,165	-,070	-,119	,366	,337	-,170	
GSH, N1 ^x	,021	-,034	-,080	,340	-,020	,218	,544	-,028								
GSSG, N1 ^x	,196	-,013	-,041	,360	,018	,053	,326	,154								
GSH, N3 ^x								,257	,087	,086	,486	,232	,600	,657	,086	
GSSG, N3 ^x								,257	-,029	,200	,143	,290	,257	,086	,200	
GTTC, N1 ^x	,050	-,281	-,427	-,277	,050	-,033	-,083	,200								
GT2NP, N1 ^x	-,233	-,085	-,008	,165	,000	,150	-,083	,133								
GT4NP, N1 ^x	,050	-,068	,109	,459	,367	-,150	,100	,233								
GTP, N1 ^x	-,033	-,409	-,402	-,026	,033	-,083	-,167	,233								
GTTC, N3 ^x								,678	-,232	,653	,674	,207	-,445	-,510	-,538	
GT2NP, N3 ^x								,084	,352	,098	,032	,243	,175	,182	,210	
GT4NP, N3 ^x								-,399	,000	-,263	-,281		-,151	-,126	-,070	
GTP, N3 ^x								,615	-,169	-,512	-,537	,446	-,308	-,378	-,385	
2-NP, N1	,047	,244	,374	,283	,493	-,272	-,013	,335								
4-NP, N1	-,053	,082	-,066	-,082	-,078	-,094	-,136	-,033								
4-M-2-NP, N1	-,075	-,053	,195	,057	,149	-,254	-,285	,065								
2,4-DNP, N1	-,391	,420	-,021	-,213	-,143	,086	-,162	-,349								
SUM NP, N1	-,035	,162	,088	,041	,125	-,155	-,078	,111								
pH(CaCl), O ³	,047	-,006	,248	-,292	-,207	,321	,171	-,011	,180	,069	,119	,192	,040	-,070	,023	,168
pH(H ₂ O), O ³	,105	-,041	,325	-,279	-,150	,199	,065	,051	,201	,110	,171	,166	,075	-,208	-,100	,203
pH(CaCl), B1 ³	,021	,160	,246	-,316	-,160	,207	,039	-,055	,163	,043	,152	,236	,129	-,077	,062	,201
pH(H ₂ O), B1 ³	,028	,188	,250	-,325	-,148	,165	-,029	-,040	,149	,080	,166	,291	,244	-,006	,134	,240
SEEHÖHE ²	-,039	-,345	-,046	,095	,109	-,069	-,165	-,038	-,329	,489	-,374	-,380	-,174			
BEST.-ALTER ^{x,2}	-,312	-,098	,005	,255	,296	,179	,225	-,070	-,316	-,257	-,298	-,145	-,220	-,039	-,130	-,297
WQ ^{x,4}	-,357	,022	,500	-,368		,157	-,123	-,398								
EPI ⁴	-,049	-,348	-,139	-,330	-,263	-,071	-,326	-,176								

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72], ⁴ [75]

Tab. 1.13: Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (normalverteilte Variablen; Gehalte auf Frischsubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit ^x gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	TCM N1	TCE N1	PER N1	TCA N1	LHKW+ TCA, N1	LHKW N1	TCM N3	TCE N3	TETRA N3	TRI N3	PER N3	TCA N3	LHKW+ TCA, N3	LHKW N3
TCE, N1	,127													
TCA, N1		,006												
TCM, N3	-,162	,242		-,071	-,209									
TCE, N3	,385	,094		-,195	-,063		,419*							
TETRA, N3	-,280	,155		,009	-,175			,359						
TRI, N3	-,236	,243		,084	-,026			,352						
T10 ¹	,197	,503**		,073	,229		,169	,301	,140	,059				
T5-10 ¹	,105	,416**		,077	,142		,329	,296	,317	,352				
T1-12 ¹	,094	,392		,143	,230		,295	,346	,314	,328				
NS10 ¹	,022	-,207		-,023	-,203		,070	,017	,178	-,081				
NS5-10 ¹	-,283	-,253		,029	-,281		,039	-,002	,171	,012				
NS1-12 ¹	-,173	-,214		-,022	-,283		,049	,083	,199	-,004				
GSTCDNB, N1	,096	-,017		,069	,142									
GSTSACDNB, N1	-,099	,433**		-,140	-,317									
PROTEIN, N3							,208	-,184	,191	,117				
GSTSACDNB, N3							-,199	,137	-,202	-,094				
GSSG, N3 ^x							,697	,376	,481	,504	,237	,787		,569
GTTCP, N1 ^x	,353	-,294	,012		-,167	,173								
GT4NP, N1 ^x	,104	-,072	,502		-,011	,359								
GT2NP, N3 ^x							,005	,602**	-,058	-,042	,087	,104	,141	
GT4NP, N3 ^x							-,332	,289	-,323	-,330	-,245	-,232	-,115	
2-NP, N1	,214	,477**		-,230	,023									
2,4-DNP, N1	-,389	,387		,073	-,177									
pH(CaCl), O ³	-,080	-,008		,181	,090		,057	-,058	,132	,218				
pH(H ₂ O), O ³	-,069	,019		,119	,020		,086	-,065	,127	,212				
SEEHÖHE ²	-,126	-,343		-,098	-,107		,412**	,426**	-,388	-,422**				
BEST.-ALTER ^{x,2}	-,195	-,129		,212	,248		-,142	-,203	-,254	-,178				

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72]

Tab. 1.14: Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (Gehalte auf Trockensubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit ^x gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	TCM N1	TCE N1	TETRA N1	TRI N1	PER N1	TCA N1	LHKW+ N1	TCM N3	TCE N3	TETRA N3	TRI N3	PER N3	TCA N3	LHKW+ N3
TCE, N1	,063													
TETRA, N1	,401*	,290												
TRI, N1	,302	,171	,456*											
PER, N1	,430*	,101												
TCA, N1	,435*	,107	-,264	-,281	-,342									
TCM, N3	-,062	,079	-,030	,060	-,319	-,022	-,121							
TCE, N3	,022	,084	-,239	-,062	-,185	-,158	-,160	,516*						
TET, N3	-,228	,117	,010	,012	-,378	-,014	-,203							
TRI, N3	-,143	,239	,144	,063	-,128	,147	,052	,040	,485*					
PER, N3	,157	,022	,065	-,004	-,040	-,160	-,172	,451*	,327	,420*	,471*			
TCA, N3	-,276	,363	-,265	-,039	-,246	,298	,182	-,059	,272	,015	,160	-,168		
T10 ¹	,121	,281	,112	-,027	-,083	,110	,186	,088	,338	,189	-,003	-,164	,282	,306
T5-10 ¹	,085	,328	,077	,003	-,152	,081	,154	,254	,433*	,277	,280	,064		
T1-12 ¹	,074	,375	,096	,051	-,100	,125	,238	,236	,435*	,278	,262	,071		
NS10 ¹	,047	-,253	,424*	-,354	,473*	-,080	-,239	,251	,080	,296	-,079	,494*	-,299	-,211
NS5-10 ¹	-,214	-,252	-,280	-,484*	-,394	,027	-,367	,079	-,024	,142	-,006	,278	-,357	-,311
NS1-12 ¹	-,114	-,266	-,284	-,472*	-,379	-,002	-,322	,079	,022	,173	-,057	,308	-,413*	-,350
EN ^{x2}	,230	,361*	-,035	-,321	,057	-,258	-,178	-,212	,022	-,029	-,205	-,019	,050	,125
ENPB ^{x2}	,229	,307	-,018	-,091	-,059	-,171	-,065	,162	-,135	,214	,112	,280	-,062	,034
2-NP, N1	,209	,311		,363		-,187	,137							
4-NP, N1	,025	,138	,141	,059	,069	-,068	-,036							
4-M-2-NP, N1	-,029	-,044	,279	,144	,227	-,173	-,142							
2,4-DNP, N1	-,384	,375	,031	-,076	-,125	,092	-,096							
SUM NP, N1	,075	,235	,304	,105	,219	-,066	,041							
SCL, N1	-,227	-,259	-,175	-,321	-,213	,152	-,089							
SCL, N3								-,238	-,228	-,295	-,087	,082	,017	-,060
pH(CaCl), O ³	-,019	-,113	,129	-,302	-,229	,292	,073	,243	,089	,135	,226	,070	-,090	,023
pH(H ₂ O), O ³	,030	-,159	,197	-,285	-,169	,166	-,034	,251	,124	,189	,211	,112	-,229	-,107
pH(CaCl), B1 ³	-,040	,060	,122	-,340	-,204	,161	-,035	,275	,083	,169	,256	,148	-,094	,048
pH(H ₂ O), B1 ³	-,041	,087	,127	-,345	-,195	,105	-,103	,296	,130	,187	,325	,258	-,019	,122
SEEHÖHE ²	-,008	-,253	,033	,104	,177	-,071	-,106	-,301	,495*	-,356	-,304	-,112	,427*	
BEST.-ALTER ^{x2}	-,252	,030	,052	,225	,358	,197	,252	-,186	-,239	-,277	-,045	-,132	-,021	-,054
HCb, N1 (93) ⁵	-,156	,201	-,302	,105	-,397	,089	,046	,028	,095	,063	-,122	,454*		,430
DDX, N1 (93) ³	,186	,175	,073	,258	-,020	-,248	-,028	,187	,113	,135	-,042	-,249	,271	,255
HCH, N1 (93) ³	-,054	,165	,438*	-,248		-,147	-,278	,252	,444*	,378	,054	,054	,495*	,492*
PAH, N1 (93) ³	-,117	,070	-,300	,053	-,313	,220	,153	,369	,412	,258	,252	-,007	,368	,398
PCB, N1 (93) ³	-,194	-,114	,076	,006	-,156	-,116	-,379	,291	-,223	,135	,270	,204	-,171	-,139
PCDD/F, N1 (93) ³	-,219	-,237	,040	,115	-,015	,204	,116	,060	-,361	-,007	-,175	-,393	-,298	-,327
Cd, N1 (93) ³	-,083		,242	,158	,035	,065	,099	,259	,027	,324	,279	,252	,199	,284
Pb, N1 (93) ³	-,281	-,084	-,152	-,054	-,329	,318	,110	,219	-,226	,015	,208	-,116	,288	,324
WQ ^{x4}	-,369	-,006	,491*	-,354	,525*	,091	-,217							
EPI ⁴	-,096	,421*	-,185	-,313	-,218	-,066	-,345							
S, N1 ^{x4}	,085	,240	-,065	,333	,008	,246	,495*							
N, N1 ⁴	,327	,131	,036	,278	,072	,072	,347							
Ca, N1 ⁴	-,071	-,085	,059	-,198	,040	,116	-,055							
K, N1 ⁴	-,127	,138	,233	,462*	,083	,299	,408							
Mg, N1 ⁴	-,290	-,188	-,109	-,197	,195	,105	,071							
P, N1 ⁴	,125	-,087	,147	,447*	,468*	-,176	,165							
Cu, N1 ⁴	,343	-,133	-,195	,029	-,187	-,193	,035							
Zn, N1 ⁴	,018	,048	,120	,166	,298	-,009	,042							
Mn, N1 ⁴	-,135	,262	-,127	,233	,055	,338	,365*							
Fe, N1 ^{x4}	,029	,319	,021	,324	-,183	,048	-,012							
Al, N1 ^{x4}	-,227	,189	,013	,276	,171	,265	,302							
N100, N1	,261	,132	,287	,406*	,169	,075	,186							
N100, N3 ^x								-,068	,044	-,184	,097	,099	-,205	-,220

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72], ⁴ [75], ⁵ [41]

Tab. 1.15: Pearson Korrelationskoeffizienten zwischen den LHKW- bzw. TCA-Gehalten und anderen Parametern (normalverteilte Variablen; Gehalte auf Trockensubstanz bezogen; n = 25 – mit Ausnahme der mit ^x gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	TCM, N1	TCE, N1	LHKW+TCA, N1	TCM, N3	TCE, N3	TETRA, N3	TRI, N3	PER, N3
TCE, N1	,103							
TCM, N3	-,211	,210	-,252					
TCE, N3	,270	,002	-,197	,395				
TETRA, N3	-,286	,127	-,195		,357			
TRI, N3	-,238	,231	-,026		,328			
PER, N3	,023	-,008	-,143	,386	,331			
T10 ¹	,162	,476	,198	,060	,266	,102	-,021	-,094
T5-10 ¹	,075	,390	,116	,287	,286	,301	,306	,082
T1-12 ¹	,070	,372	,206	,275	,342	,306	,296	,115
NS10 ¹	,020	-,226	-,224	,082	,033	,194	-,063	,438
NS5-10 ¹	-,352	-,314	-,380	,004	-,011	,160	-,010	,277
NS1-12 ¹	-,250	-,283	-,385	-,006	,070	,183	-,037	,320
2-NP, N1	,289		,198					
2,4-DNP, N1	-,405	,373	-,152					
SUM NP, N1	,160	,230	-,054					
SCL, N1	-,261	-,312	-,116					
SCL, N3				-,211	-,083	-,191	-,091	,088
pH(CaCl), O ³	-,187	-,105	-,030	,119	-,040	,157	,254	,152
pH(H ₂ O), O ³	-,183	-,084	-,104	,125	-,056	,141	,231	,134
SEEHÖHE ²	-,065	-,290	-,040	-,351	-,409	-,364	-,358	-,231
BEST.-ALTER ^{x,2}	-,110	-,055	,329	-,056	-,180	-,222	-,112	-,116
HCB, N1 (93) ⁵	-,097	,229	,131	,126	,138	,050	-,011	-,371
HCH, N1 (93) ⁵	-,034	,145	-,249	,346	,382	,400	,183	,147
Ca, N1 ⁴	-,091	-,088	-,112					
K, N1 ⁴	-,070	,074	,357					
Mg, N1 ⁴	-,140	-,163	,071					
P, N1 ⁴	,254	-,069	,219					
Cu, N1 ⁴		-,216	,044					
Zn, N1 ⁴	,062	-,045	,048					
Mn, N1 ⁴	-,069	,174	,402					
N100, N1	,257	,200	,191					
N100, N3 ^x				-,071	,080	-,043	,201	,151

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von [69], ² [70], ³ [72], ⁴ [75], ⁵ [41]

6.2 Lagemäßige Darstellung der Nitrophenol- und CKW-Gehalte in den Fichtennadeln

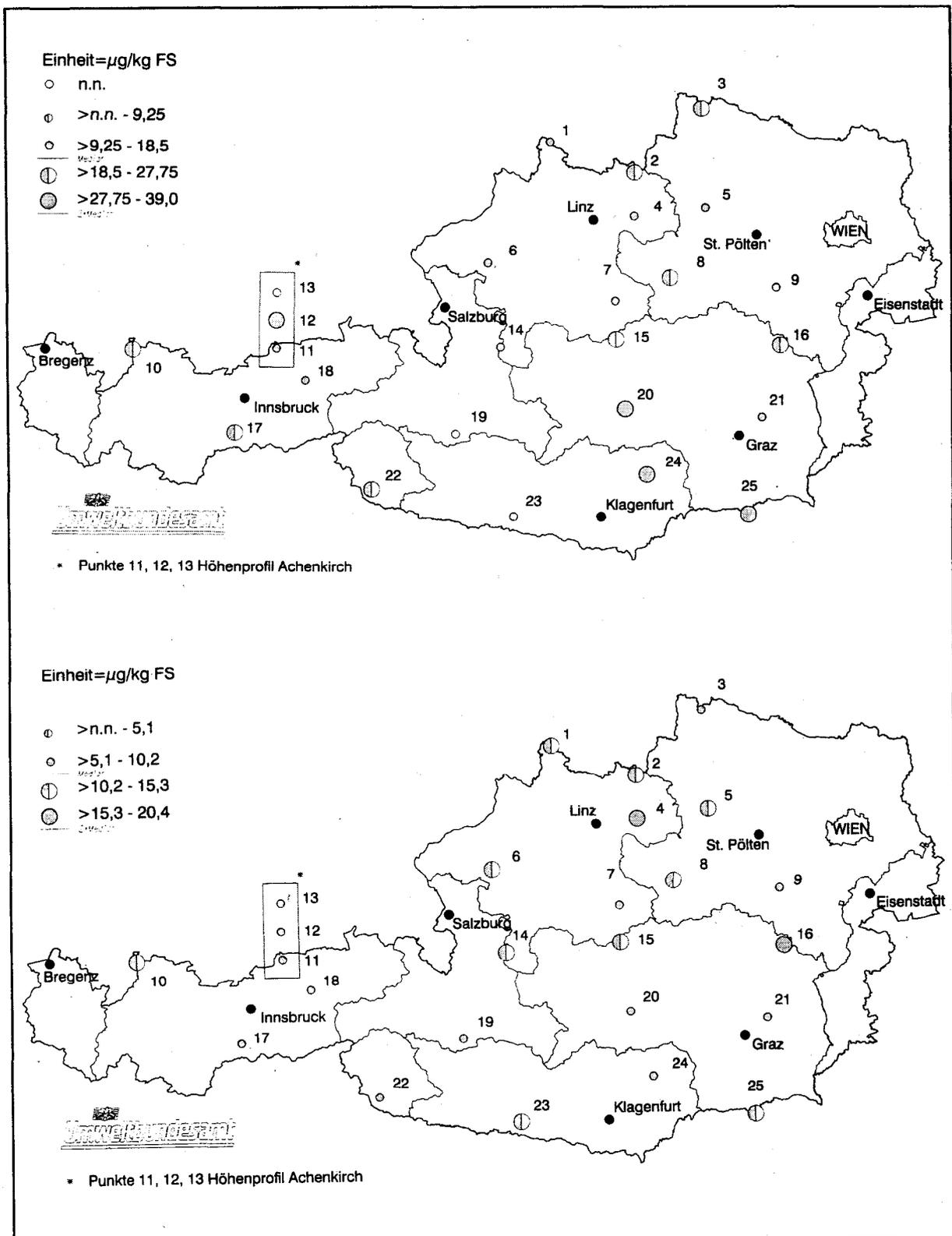


Abb. 1.23: 2-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 2. Nadeljahrgang (unten).

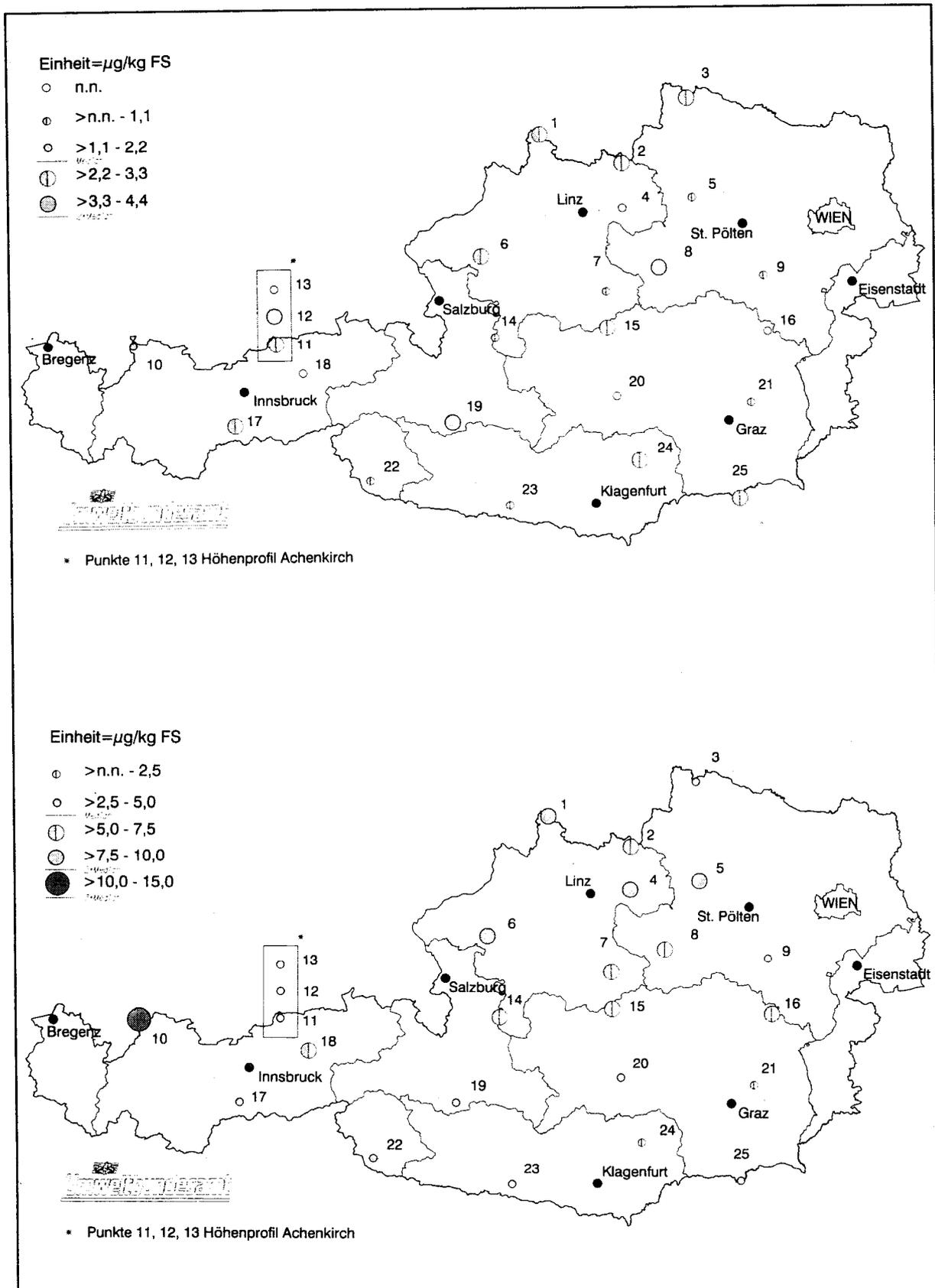


Abb. 1.24: 4-Methyl-2-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 2. Nadeljahrgang (unten).

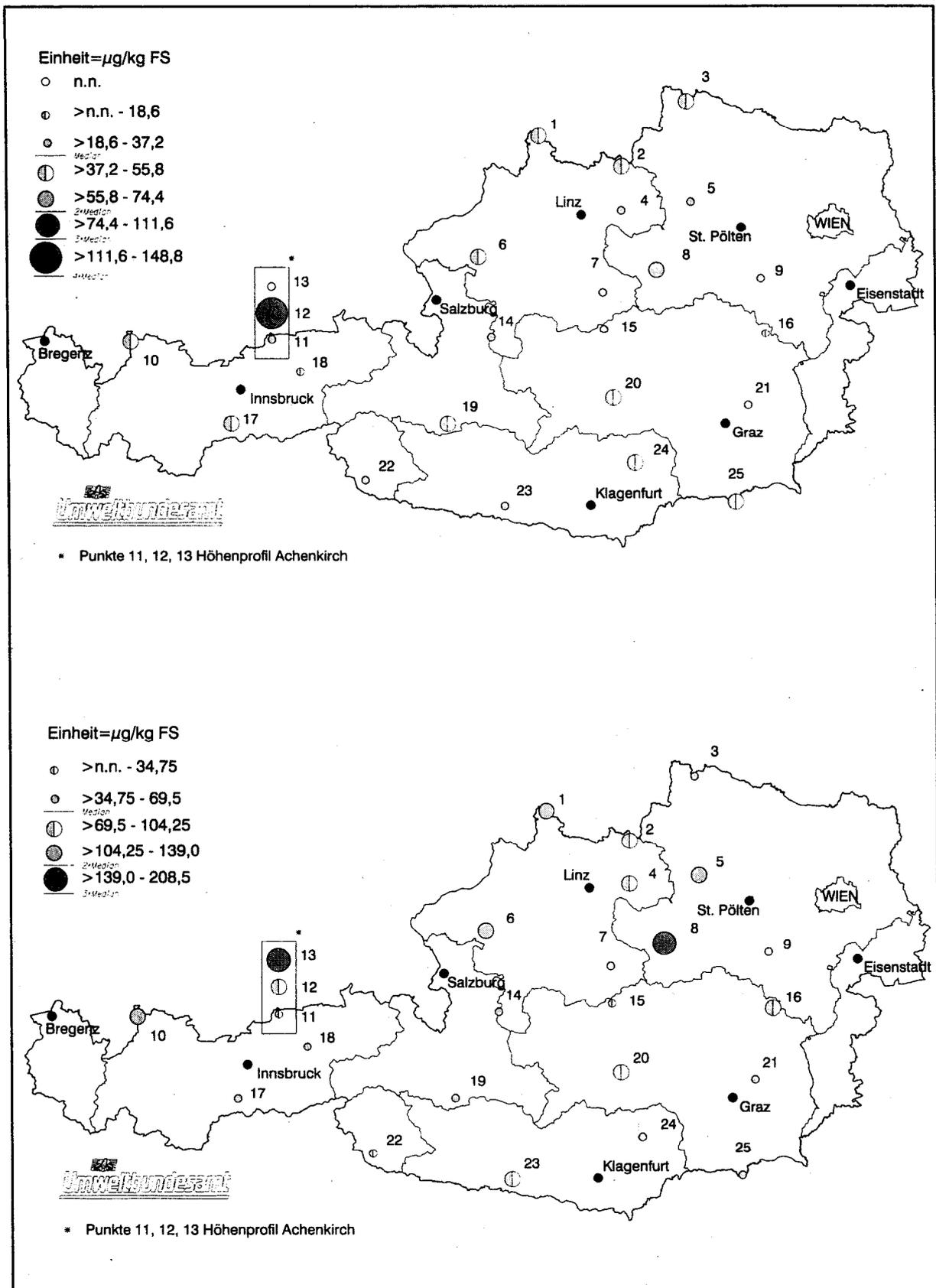


Abb. 1.25: 4-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 2. Nadeljahrgang (unten).

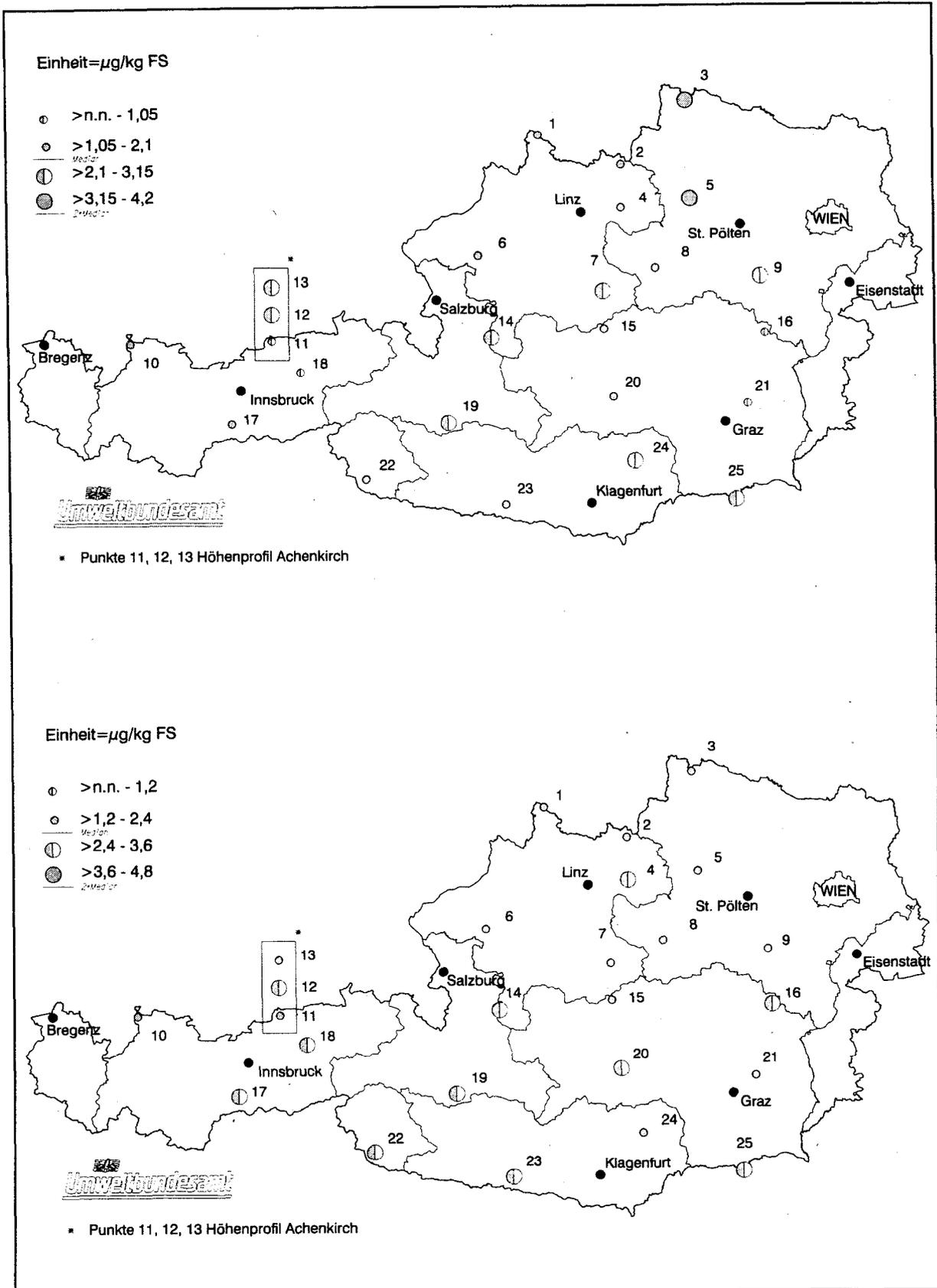


Abb. 1.26: 2,4-Dinitrophenol im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 2. Nadeljahrgang (unten).

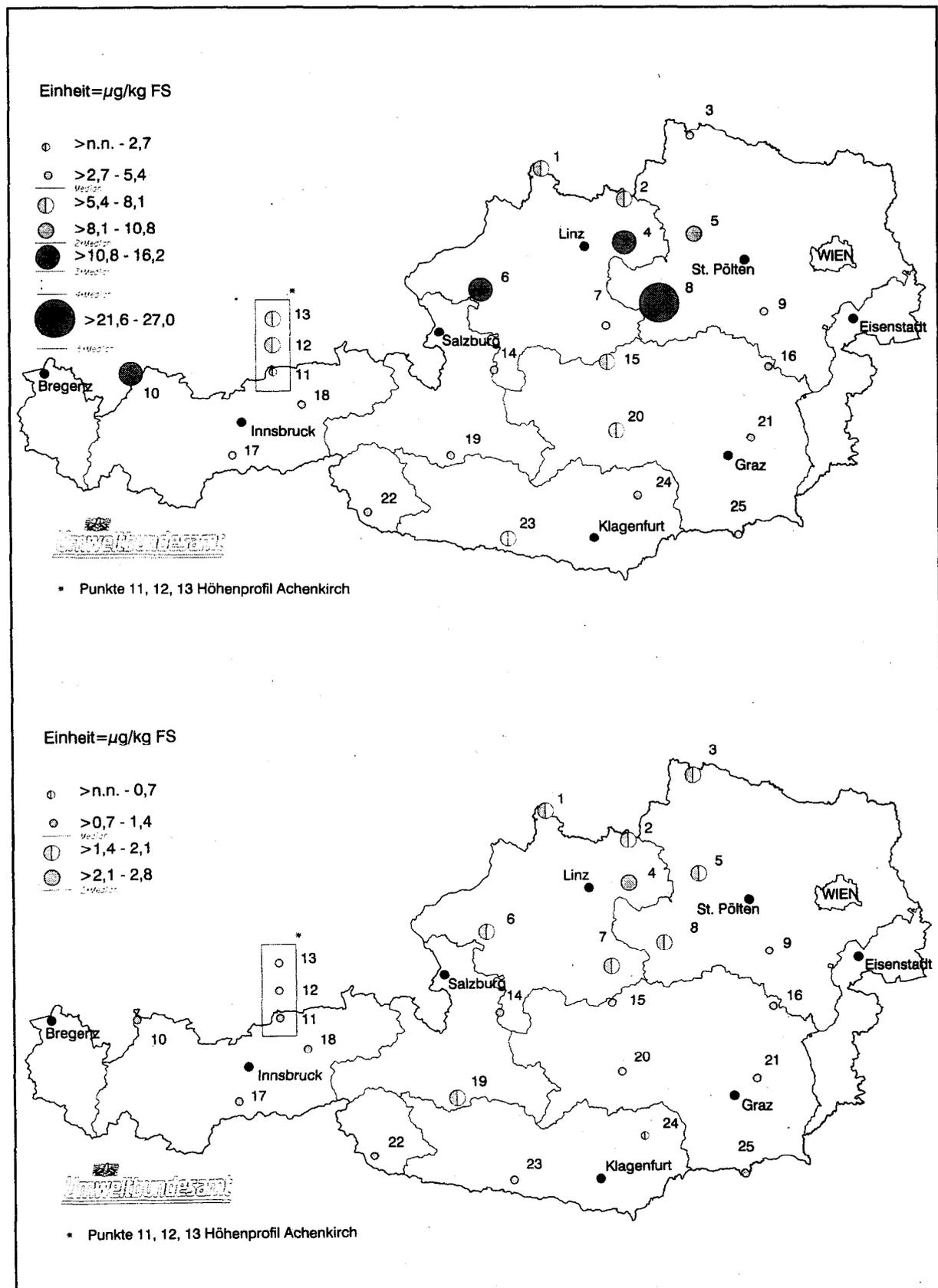


Abb. 1.27: 3-Methyl-4-Nitrophenol (oben) und 2,6-Dimethyl-4-Nitrophenol (unten) im 2. Nadeljahrgang.

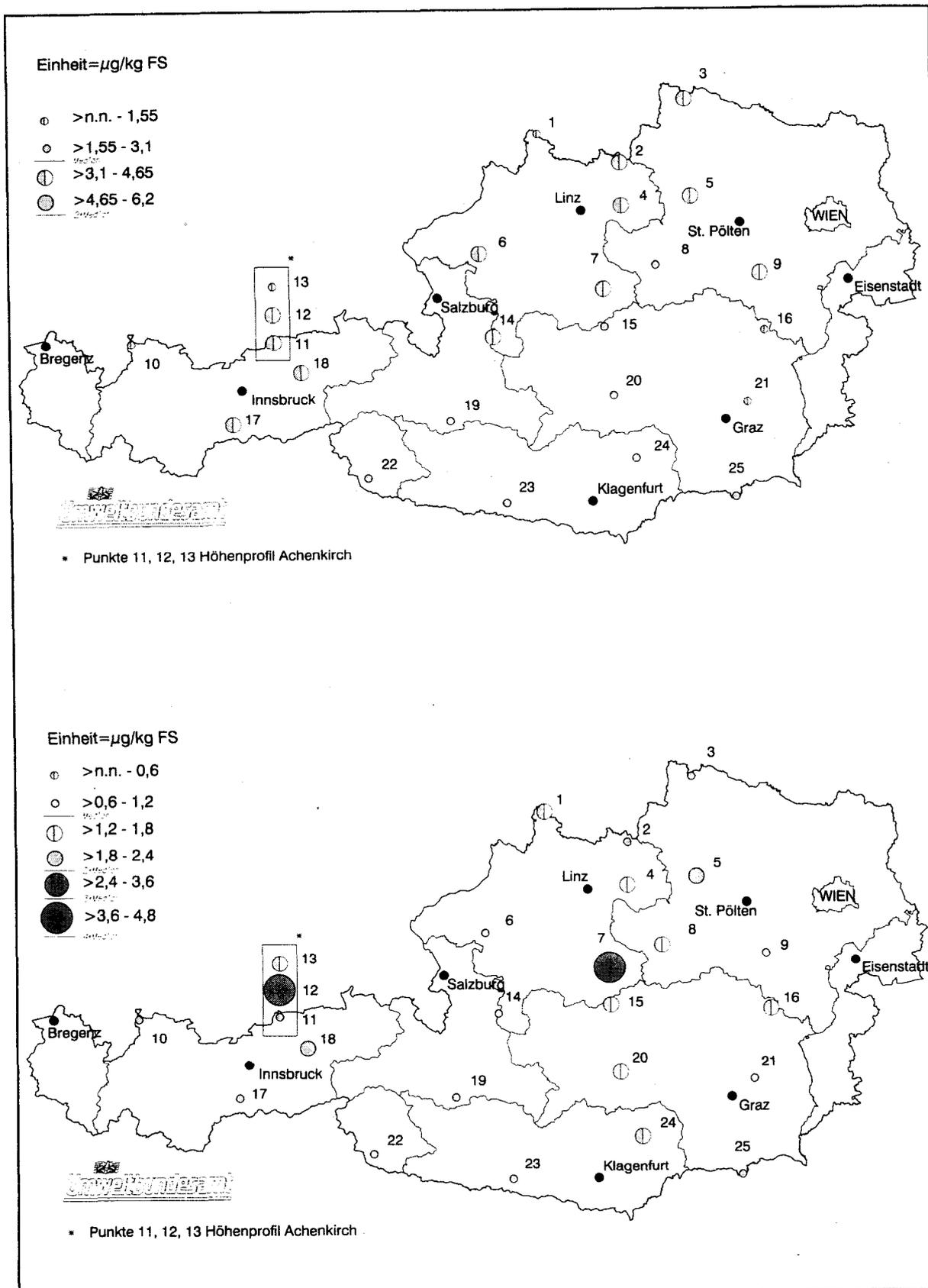


Abb. 1.28: 4-Methyl-2,6-Dinitrophenol (oben) und 6-Methyl-2,4-Dinitrophenol (unten) im 2. Nadeljahrgang.

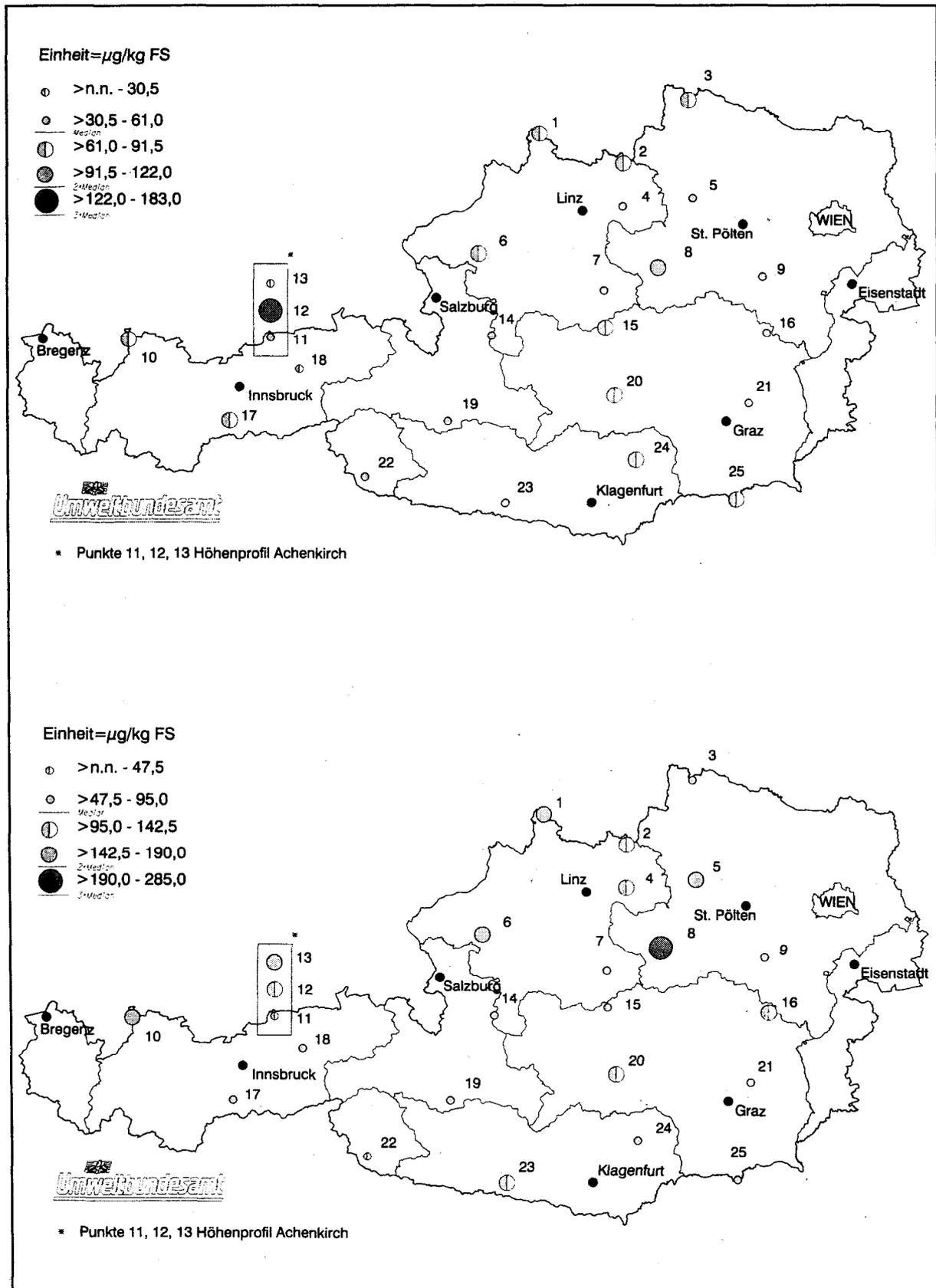


Abb. 1.29: Summe der Nitrophenole im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 2. Nadeljahrgang (unten).

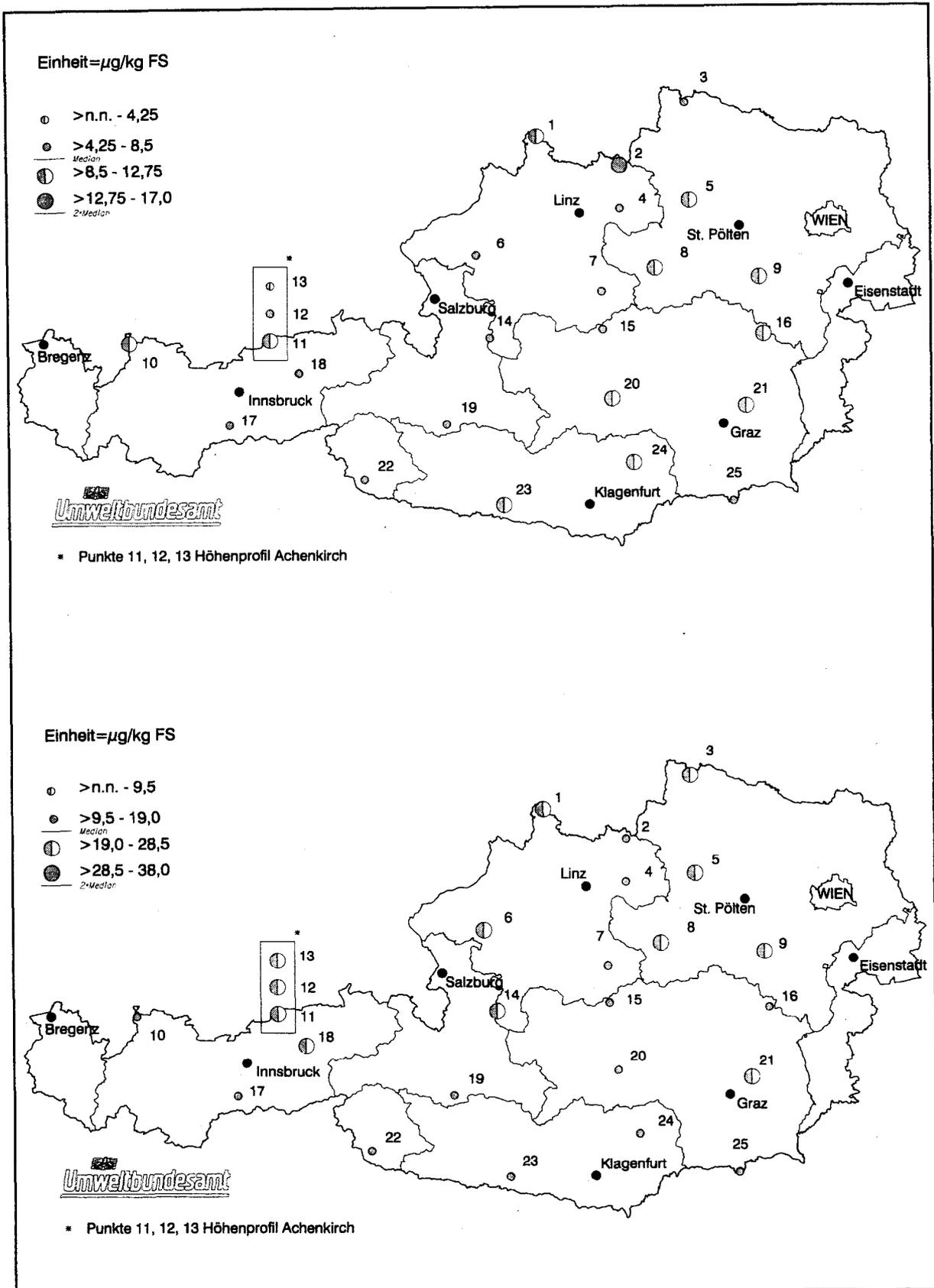


Abb. 1.30: Chloroform im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 3. Nadeljahrgang (unten).

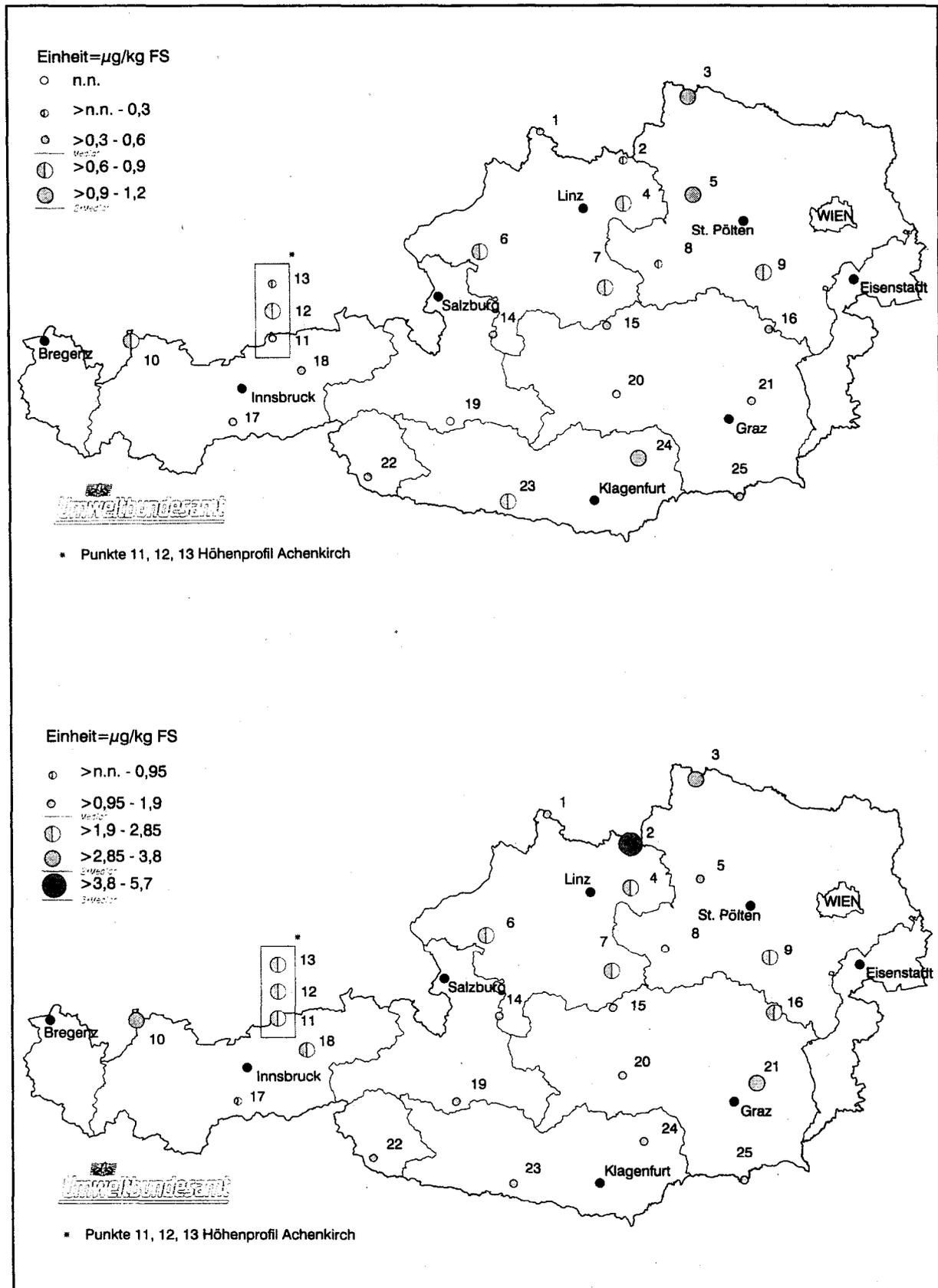


Abb. 1.31: 1,1,1-Trichlorethan im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 3. Nadeljahrgang (unten).

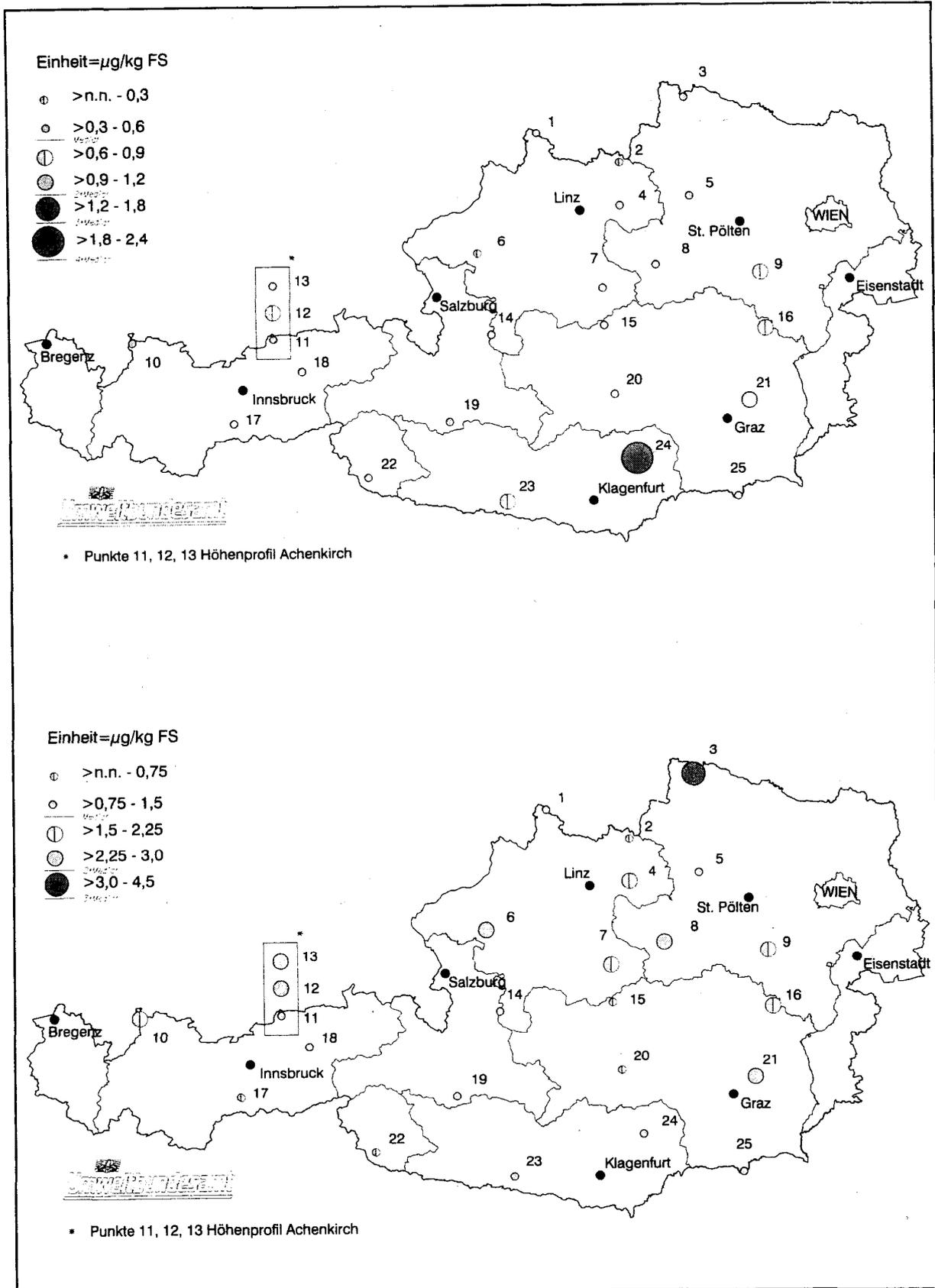


Abb. 1.32: Tetrachlorkohlenstoff im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 3. Nadeljahrgang (unten).

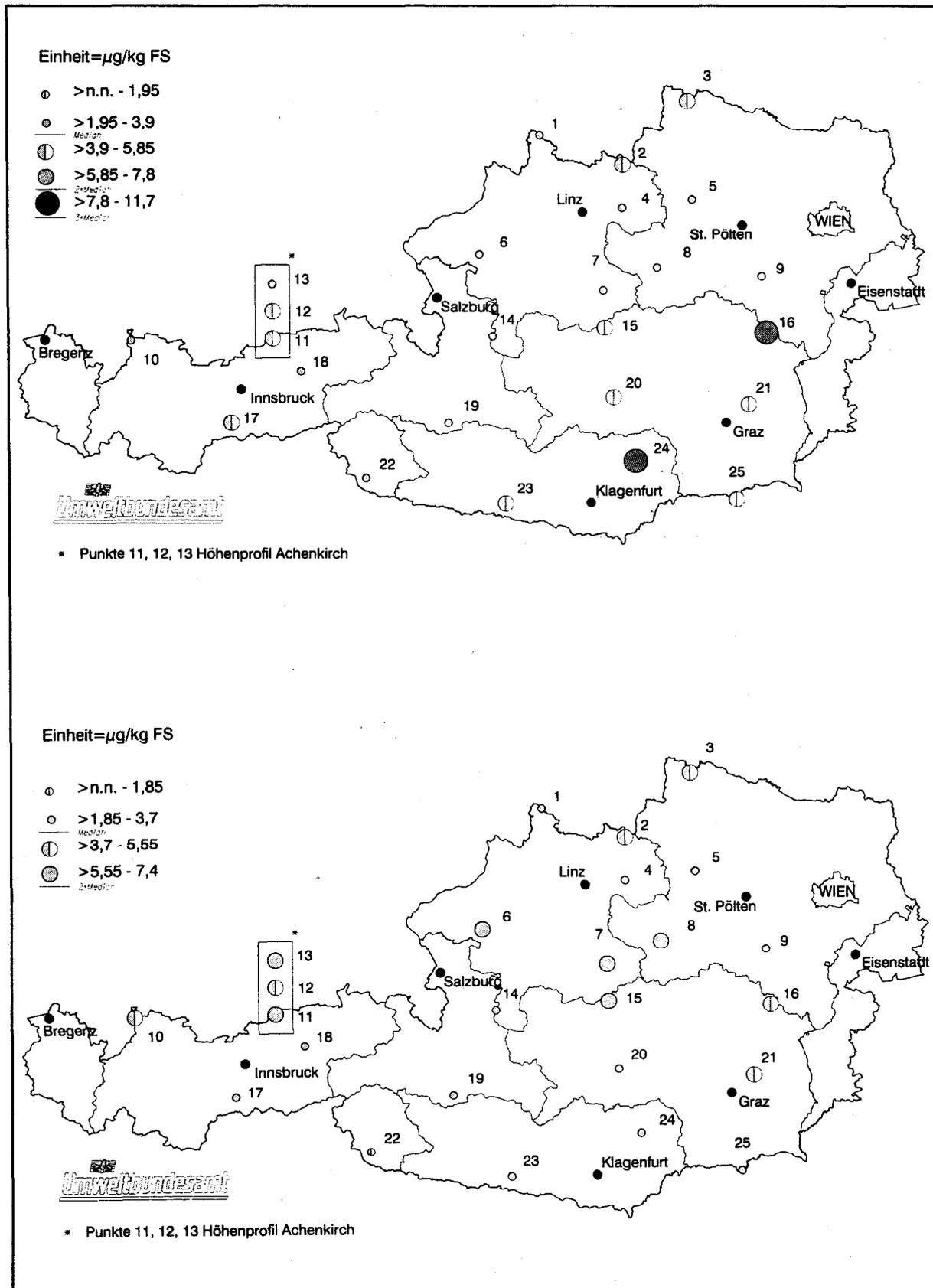
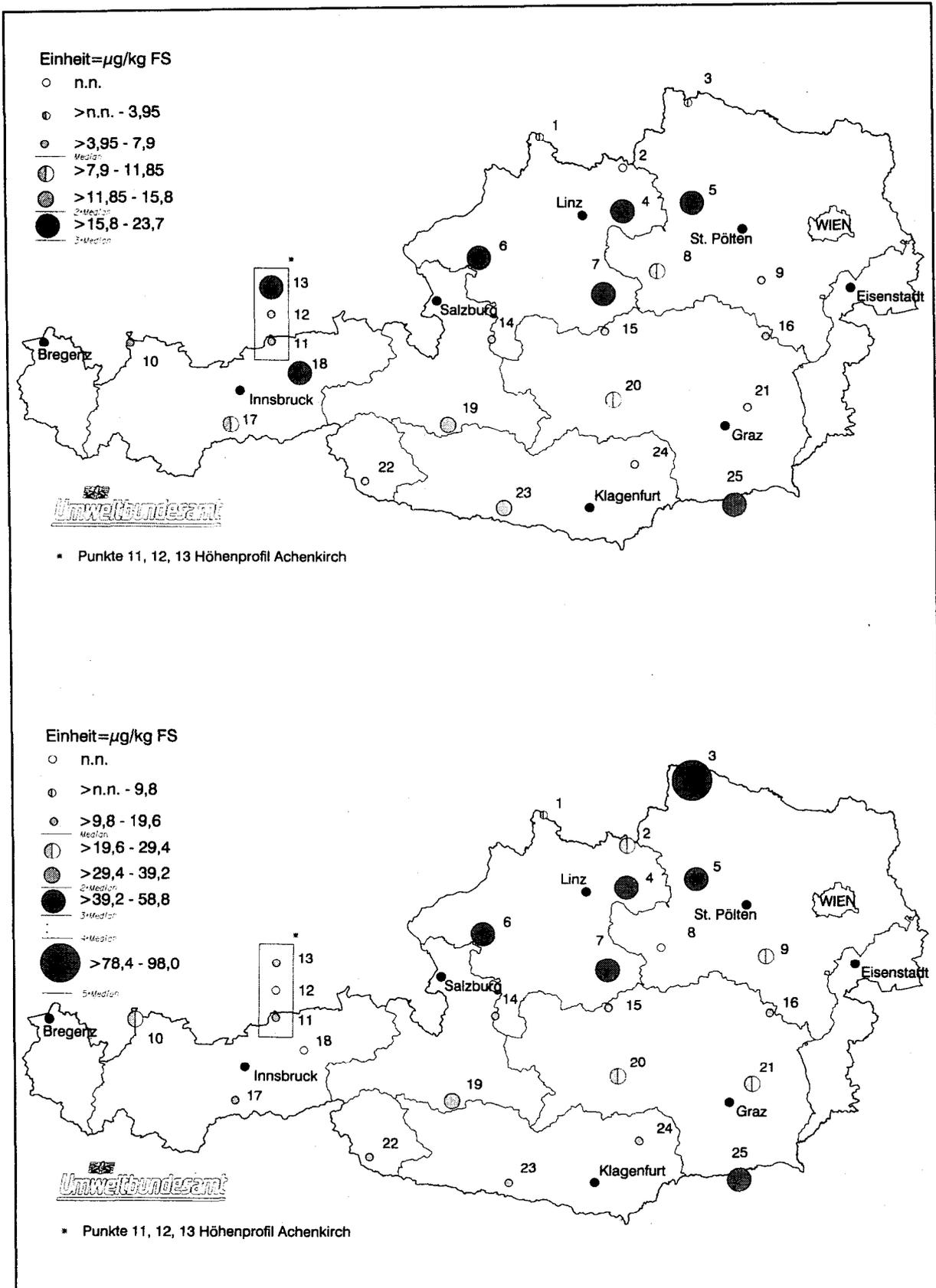


Abb. 1.33: Perchlorethylen 1. Nadeljahrgang (oben) und im 3. Nadeljahrgang (unten).



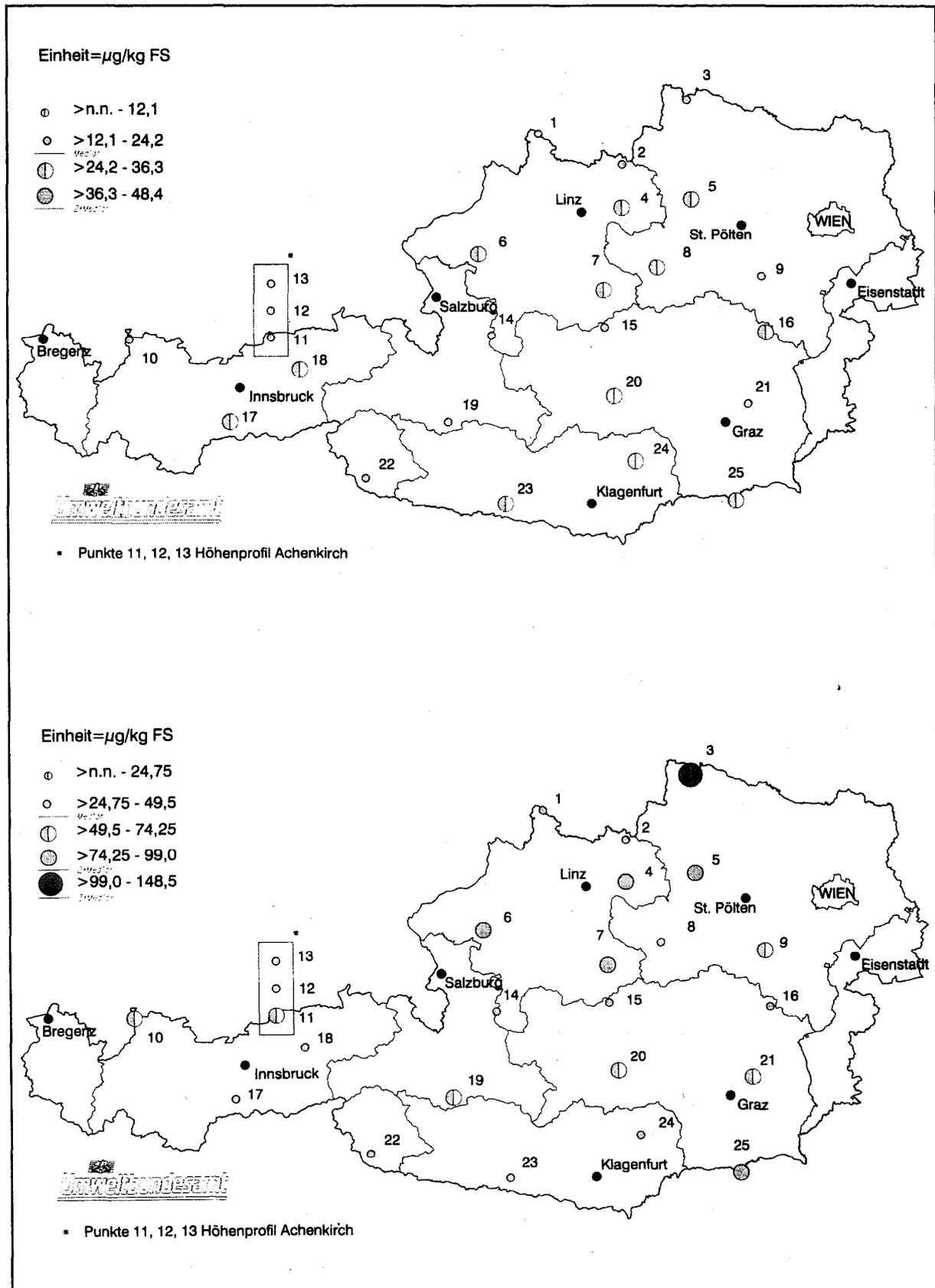


Abb. 1.35: Summe der leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffe plus Trichloressigsäure im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 3. Nadeljahrgang (unten).

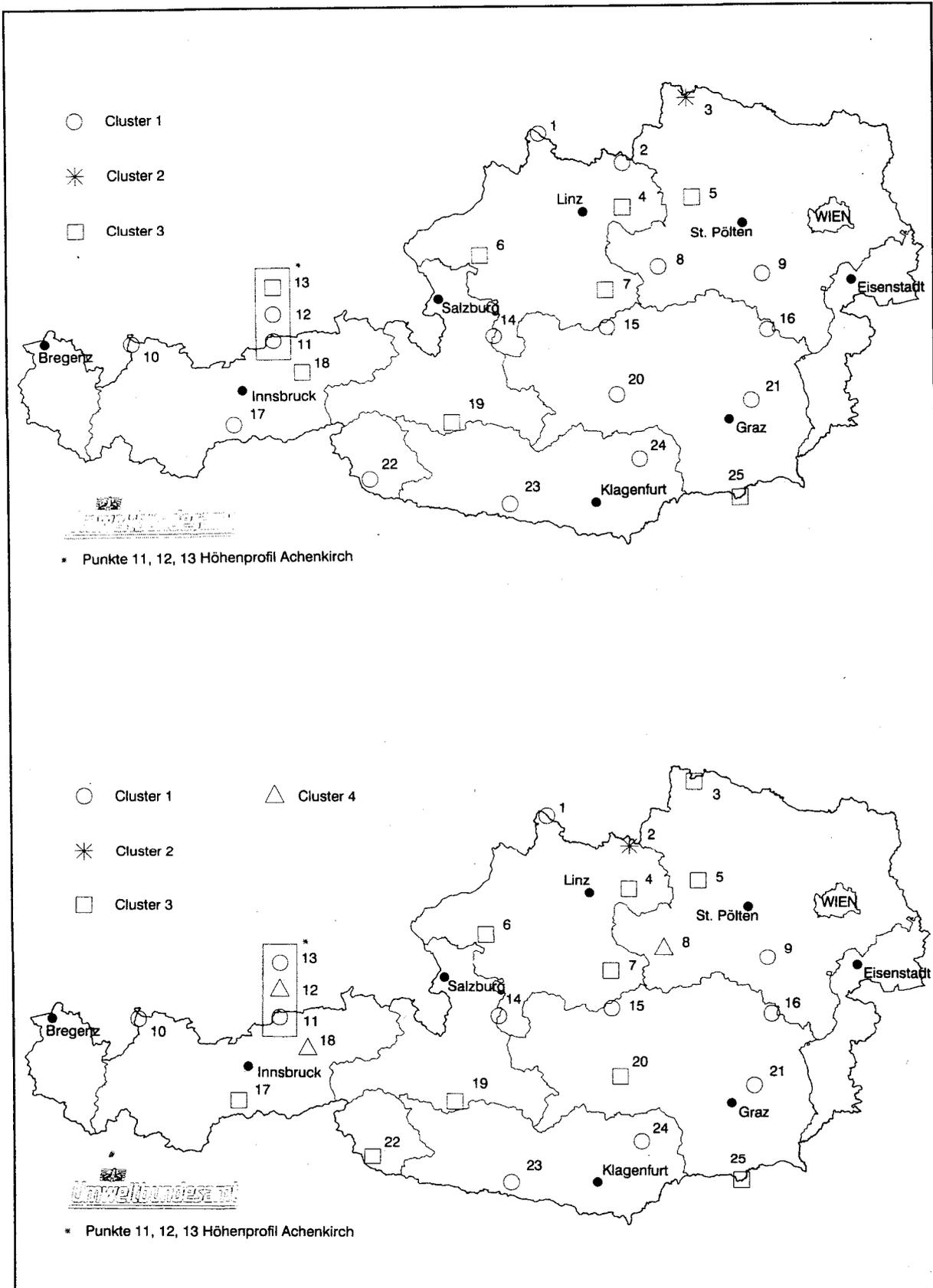


Abb. 1.36: Lage der Standorte mit ähnlichem, relativen CKW-Muster im 1. Nadeljahrgang (oben) und im 3. Nadeljahrgang (unten) auf Basis der Clusteranalysen.

TEIL 2: GLUTATHION-S-TRANSFERASE- UND GLUCOSYL-TRANSFERASE-AKTIVITÄT IN FICHTENNADELN

1 EINLEITUNG

Alle Lebewesen sind ständig einer Vielzahl potentiell toxischer Substanzen ausgesetzt, die entweder in der Natur entstehen (Waldbrände, Vulkanismus, Biomassezersetzung), von anderen Lebewesen gebildet werden (tierische Gifte, Allelochemikalien, Produkte des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels), oder, vor allem seit Beginn der Industrialisierung, in zunehmendem Maß durch anthropogene Aktivitäten in die Umwelt entlassen werden. Im Laufe der Evolution haben die Lebewesen Strategien entwickelt, die es ihnen ermöglichen, sich vor den schädlichen Auswirkungen von Fremdstoffen (Xenobiotika) zu schützen. Dies ist vor allem für Pflanzen essentiell, da sie als sessile Organismen ortsgebunden und den eventuellen Schadstoffimmissionen in vollem Maße ausgesetzt sind.

Die Entgiftung und Metabolisierung von Xenobiotika anthropogenen Ursprunges durch Pflanzen ist in den letzten Jahren zunehmend in den Mittelpunkt des Interesses gerückt, da die Befrachtung naturnaher Ökosysteme mit organischen Schadstoffen besorgniserregenden Umfang erreicht, andererseits der Eintrag von Agrochemikalien in landwirtschaftsnahe Ökosysteme stark zugenommen hat (Debus et al. 1989, Reischl et al. 1989, Müller 1990). Trotz dieser Entwicklung ist der Entgiftungsstoffwechsel nur für wenige Nutzpflanzen (Lamoureux & Rusness 1989) und wenige "Unkräuter" von größerer landwirtschaftlicher Bedeutung (Hatton et al. 1996) untersucht und aufgedeckt worden. Der Entgiftungsstoffwechsel für Xenobiotika in Pflanzen (Abb. 2.1) wird generell in drei Phasen eingeteilt (Shimabukuro & Walsh 1978, Coupland 1991, Sandermann 1992, 1994).

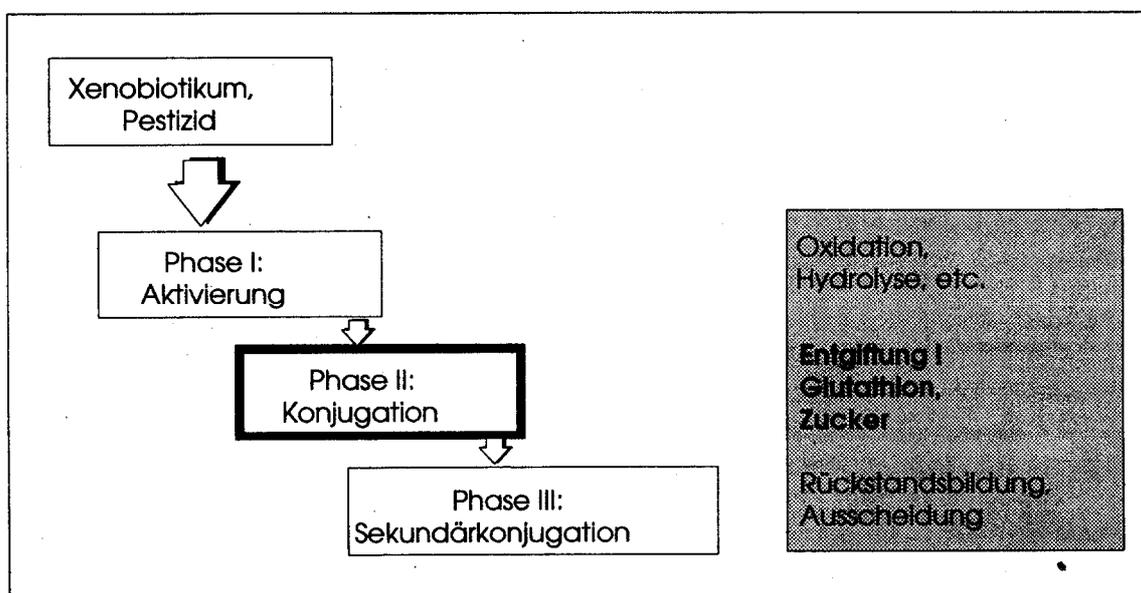


Abb. 2.1: Schematische Darstellung des Entgiftungsstoffwechsels in Pflanzen und Tieren (nach Knop 1904, Coupland 1992, Sandermann 1994, verändert).

Phase I dient der Aktivierung von Xenobiotika für die folgenden Prozesse. Dabei werden mittels Oxidation, Reduktion oder Hydrolyse reaktive Gruppen in das Fremdstoffmolekül eingefügt, die in der folgenden Phase II als Ansatzstelle für die Konjugation mit hydrophilen, or-

ganismuseigenen Verbindungen dienen. In der Phase III werden die Konjugate einem Abbau unterworfen und durch interne Kompartimentierungsvorgänge oder sekundäre Konjugationen an Makromoleküle aus dem Stoffwechselgeschehen entfernt. So können Metabolite in der Vakuole (Wolf et al. 1996) oder im Apoplasten (Neumann et al. 1985, 1989) gespeichert, in der Zellwand festgelegt (Schmidt et al. 1988), oder sogar in flüchtiger Form in die Gasphase abgegeben werden (Lamoureux et al. 1993b, Schröder 1993a).

1.1 Glutathion S-Transferasen

Die Glutathion S-Transferasen (GST, E.C. 2.5.18) repräsentieren eine große Gruppe von Entgiftungsenzymen der Phase II, deren Mitglieder die Konjugation von reduziertem Glutathion (GSH) mit einem Spektrum hydrophober, elektrophiler Substrate wie Chlorbenzolen, Nitrophenolen, Triazinen, Carbamaten oder Diphenylethern katalysieren (Habig et al. 1974, Lamoureux & Rusness 1989, 1993). Die GST von Säugern, insbesondere von Ratten, Mäusen und Menschen, sind hinsichtlich ihrer physiko-chemischen und katalytischen Eigenschaften, ihrer Genetik und Induktion eingehend untersucht worden (Mannervik & Danielson 1988, Picket & Lu 1989, Daniel 1993), da ihnen eine wichtige Rolle bei der Entgiftung von Drogen und der Resistenz gegen Chemotherapeutika zugesprochen wird. Pflanzliche GST wurde hingegen vorrangig in landwirtschaftlichen Nutzpflanzen und in Hinblick auf die Resistenz gegenüber Herbiziden untersucht (Frear & Swanson 1970, Lamoureux & Rusness 1989, Hunaiti & Ali 1990).

Über natürliche Funktionen der GST in Tieren und Pflanzen ist wenig bekannt, jedoch wird ihnen in Pflanzen unter anderem eine Rolle im Naturstoff- und Phytohormonmetabolismus, bei der Entgiftung von Pilztoxinen und der Erhöhung der Trockentoleranz zugeschrieben. Die letzthin aufgestellte These, GST seien allgemein antioxidative Schutzproteine, scheint allerdings zu teleologisch (Levine et al. 1994). Trotz intensiver Forschung auf den Gebieten der Humanmedizin, Tier- und Pflanzenphysiologie und Molekularbiologie liegen keine definitiven Ergebnisse über die natürlichen Substrate der GST vor. Aus diesem Grund wird die Aktivitätsbestimmung der GST mit Modellsubstraten durchgeführt. Das meistgenutzte Substrat für die Quantifizierung der Glutathion-Konjugation in Pflanzen und Tieren ist 1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol (CDNB, Abb. 2.2).

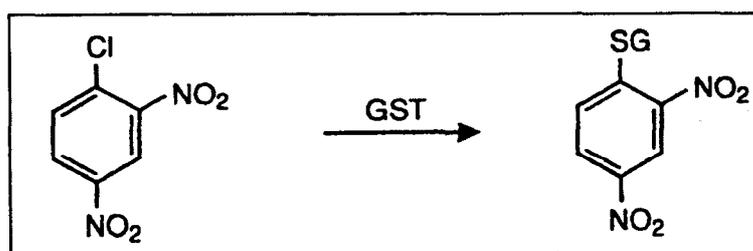


Abb. 2.2: Konjugation des Modellsubstrates 1-Chlor-2,4-Dinitrobenzol (CDNB) mit Glutathion zu S-(2,4-Dinitrophenyl)-Glutathion.

Es wurde 1974 durch Habig und Mitarbeiter als Modellsubstrat eingeführt und hat seitdem nicht an Bedeutung verloren, da es von beinahe allen GST als Substrat akzeptiert wird. Daneben ist die Messung der CDNB-Konjugation sehr einfach, da sie auf einem spektrophotometrischen Test beruht, in dem die Bildung des Konjugats, S-(2,4-Dinitrophenyl)-Glutathion, bei 340 nm verfolgt wird. Das nahe verwandte 1,2-Dichloro-4-Nitrobenzol (DCNB, Abb. 2.3) wird im Vergleich zu CDNB deutlich schlechter konjugiert, scheint aber ebenfalls Substrat für eine große Zahl von GST-Formen zu sein.

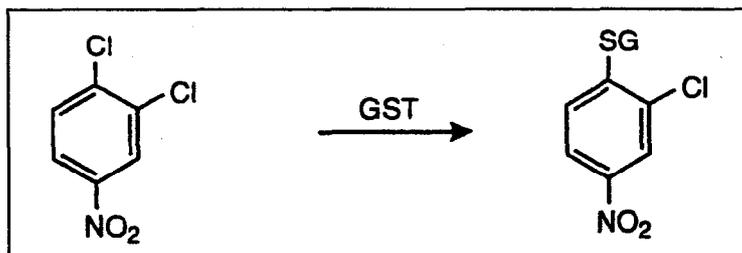


Abb. 2.3: Konjugation des Modellsubstrates 1,2-Dichloro-4-nitrobenzol (CDNB) mit Glutathion zu S-(2-Chloro-4-nitrophenyl)-Glutathion. Das Konjugat absorbiert spezifisch bei 345 nm.

1.2 GST in Nadelhölzern

Ausgehend von Fragestellungen aus dem Forschungsgebiet der "neuartigen Waldschäden" befasste sich unsere Arbeitsgruppe seit 1988 ursprünglich mit dem Problembereich der Aufnahme und Entgiftung organischer Schadstoffe in Koniferen. Dabei wurde rasch deutlich, dass Koniferen prinzipiell über dasselbe Entgiftungssystem verfügen wie landwirtschaftliche Nutzpflanzen und in der Lage sind, zahlreiche Xenobiotika durch Konjugation mit Glutathion zu entgiften.

Aus Proteinextrakten von Nadeln der Koniferen-Arten *Abies alba*, *Juniperus communis*, *Larix decidua*, *Picea abies*, *Picea glauca*, *Picea pungens*, *Pinus mugo* und *Taxus baccata*, aus Blättern des gymnospermen Baumes *Ginkgo biloba* sowie aus Zellkulturen von *Picea abies* und *Ginkgo biloba* wurde bisher GST-Aktivität nach den bei Schröder et al. 1990a, b, Schröder & Debus 1991, Schröder et al. 1993, Schröder & Rennenberg 1992, Schröder & Berkau 1993, Schröder & Götzberger 1996, Schröder & Wolf 1996 beschriebenen Methoden isoliert und quantifiziert.

In allen untersuchten Geweben wurde GST-Aktivität für die Konjugation von Modellsubstraten und Herbiziden gefunden. Die GST-Aktivitäten liegen im gleichen Bereich wie die höher entwickelter Arten, sind aber im Vergleich mit denen in Nutzpflanzen gering (Abb. 2.4).

Trotz dieser relativ geringen Aktivitäten ist das Substratspektrum der GST breit und ermöglicht den Koniferen die Konjugation einer großen Zahl von Substraten, darunter auch einigen umweltrelevanten xenobiotischen Substanzen, mit unterschiedlichen chemischen Charakteristika. Koniferen-GST katalysiert nukleophile Addition, nukleophile Substitution und Ether-Spaltung, die ebenfalls typisch für alle anderen GST in Pflanzen und Tieren zu sein scheinen. Proteinextrakte aus Nadeln von *Picea abies*, *Picea glauca* und *Picea pungens* setzen z.B. die Herbizide Propachlor, Alachlor, Fluorodifen und PCNB sowie die Chlorbenzole CDNB, pNBC und DCNB um. Für *P. abies*-Extrakte ist weiterhin der Umsatz der iodierten Substrate Iodomethan, Ioxynil, IDNB (Schröder et al. 1993) und der Chlorkohlenwasserstoffe Methylenchlorid, Trichlorethen und Tetrachlorethen nachgewiesen (Schröder 1993a, Schröder & Belford 1996). Keine der drei untersuchten Fichtenarten, *P. abies*, *P. glauca* und *P. pungens*, setzte jedoch unter den gewählten Versuchsbedingungen das Herbizid Atrazin um (Schröder et al. 1990b).

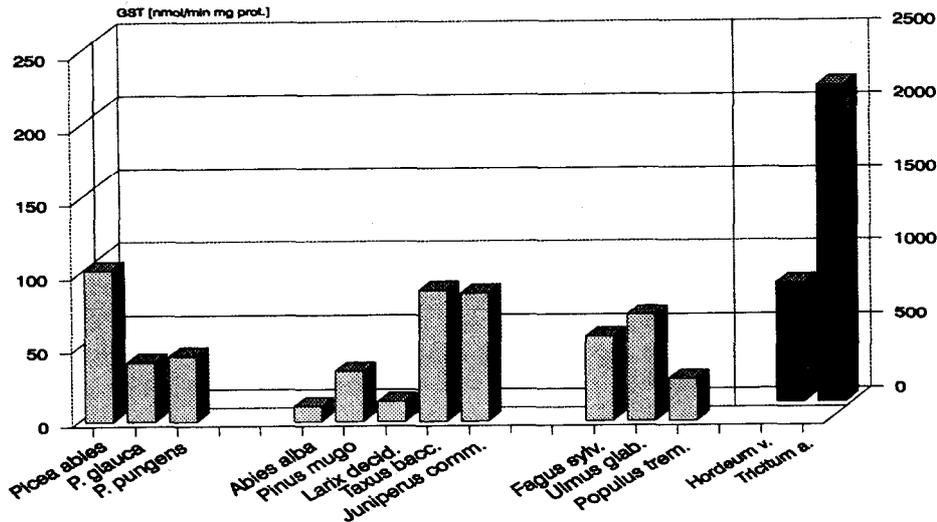


Abb. 2.4: GST-Aktivitäten für die Konjugation des Modellsubstrates CDNB in verschiedenen Pflanzenarten. Messung erfolgte in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -gefällten Proteinfraktionen nach Entsalzung unter Standardbedingungen. Die rechte Ordinate skaliert die GST-Aktivität der aufgeführten Getreide-Arten.

Die GST-Aktivität in Fichten von Standorten im Alpenraum folgt deutlichen Höhenprofilen, die mit der Physiologie gesunder Bäume, aber auch mit dem Schadstoffaufkommen korrelierbar sind. Gesunde Bäume in Tallagen weisen generell höhere GST-Aktivitäten auf als Fichten in Höhenlagen. Ein dem Höhenprofil angepasster Verlauf mit Maxima im Tal und Minima in Gipfellagen ist auch für das Cosubstrat Glutathion gezeigt worden und scheint an Stoffwechselfvorgänge gekoppelt.

Glutathion S-Transferase Aktivitäten in Pflanzen können durch unterschiedliche Xenobiotika, Antidote oder Naturstoffe gesteigert werden, indem bestimmte Isoenzyme vermehrt exprimiert werden (Wiegand et al. 1986, Debus & Schröder 1990, Anderson & Gronwald 1989, Schröder et al. 1993b). Der genaue Mechanismus der Induktion ist nicht bekannt, es wird jedoch derzeit postuliert, dass es sich zumindest bei der Induktion einiger Isoformen um eine Reaktionskaskade handelt, die letztlich durch einen Überschuss an oxidativen Verbindungen im Cytosol gesteuert wird (Daniel 1994). Damit stellen die GST sensible Biomarker für atmosphärische oder über pedosphärischen Eintrag verfügbare Substanzen mit reaktivem Potential dar.

In mehreren mit dem Problem der neuartigen Waldschäden assoziierten Projekten konnte gezeigt werden, dass die GST in Fichtennadeln auch sensibel auf organische Luftschadstoffe aus der Klasse der CKW reagiert, während Begasung mit NO_x keine Effekte auf die Aktivität des Enzyms ausübte (Schröder & Debus 1991). Besonders Freilandbestände an den Obergrenzen von Inversionswetterlagen im Kalkalpin wiesen erhöhte GST-Gehalte auf (Schröder & Belford 1996), und Bäume mit Nadelverlusten zeigten an Schadensschwerpunkten andere Isoenzym-Muster und Enzymaktivitäten als gesunde Bäume ohne Beeinträchtigungen (Schröder & Wolf 1996).

1.3 Glucosyltransferasen

Die Glucosyltransferasen (GT) repräsentieren eine große Gruppe von Enzymen des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels, deren natürliche Funktion in der Konjugation von Phenolen, Polyphenolen und anderen Naturstoffen liegt. Weiterhin werden GT den Entgiftungs-

enzymen der Phase II zugeordnet, da zumindest einige Isoformen auch die Konjugation von Glucose mit einem Spektrum hydrophober, elektrophiler Substrate wie Chlorbenzolen, Nitrophenolen und Harnstoffderivaten katalysieren (Lamoureux et al. 1993).

1.4 GT in Nadelhölzern

Die höheren Pflanzen haben eine hohe Kapazität für die Glycosidierung von endogenen und xenobiotischen Substanzen (Heller and Forkmann 1993, Frear 1976, Lamoureux and Russness 1986). Oftmals müssen diese Substrate allerdings durch Phase-I-Reaktionen, zumeist Hydroxylierung, der Konjugation zugänglich gemacht werden. Die entstehenden Produkte sind zumeist O-N- oder S-Glycoside sowie Glucose-Ester. Die β -D-Glucoside, also Halbacetate aus Glucose und einem entsprechenden Aglycon sind dabei die am häufigsten auftretenden Endprodukte, sowohl im endogenen Stoffwechsel als auch beim Metabolismus von Fremdstoffen (Heller and Forkmann 1993, Lamoureux et al. 1991a). Haas (1997) weist darauf hin, dass die Molekülstruktur sowohl endogener als auch xenobiotischer Substrate für Glycosyltransferasen häufig einen Phenolrest beinhaltet.

Die bereits oben angesprochenen O-, N und S-Glucoside entstehen durch die Aktivität unterschiedlicher Glucosyltransferase-Isoformen. Die Familie der O-Glucosyltransferasen umfasst dabei zumeist lösliche Enzyme mit Molekulargewichten von 40 bis 60 kD. Alle Isoenzyme dieser Klasse haben eine hohe Spezifität für UDP-Glucose als Zucker-Donor. Die Affinität dieser Enzymklasse für unterschiedliche Schadstoffe wird in der Literatur kontrovers zwischen breit (Lamoureux und Frear 1979, Lamoureux et al. 1991) bis hochspezifisch (Sandermann et al. 1991, Wetzl und Sandermann 1994, Galland and Balke 1995) beschrieben.

N-Glucosyltransferasen akzeptieren als Substrate solche Verbindungen, die eine primäre oder sekundäre Aminogruppe besitzen. Thio-Glucoside entstehen meist als Sekundärkonjugate durch die Aktion von S-Glucosyltransferasen. Umsätze von Xenobiotika zu S-Glucosiden sind in der Literatur kaum beschrieben, es treten jedoch Metaboliten aus dem Glutathionstoffwechsel auf (Sandermann et al. 1997, Schröder 1997), die zu Glucosiden umgewandelt werden.

Die β -D-Glucoside von Herbiziden unterliegen in der Pflanze einem weiteren Abbau. Sie können entweder durch Glucosidasen wieder freigesetzt werden und herbizidisch wirksam sein oder in mehreren Schritten zu Sekundärkonjugaten umgewandelt werden, die letztendlich in der Vakuole oder der Zellwand abgelagert werden. Das Malonylkonjugat des Herbizidabbauprodukts 3,4-Dichloranilin sowie das Tetrachlorcatechol, ein Derivat des Pentachlorphenol, folgen diesen Detoxifizierungsmuster (Winkler 1991, Schäfer und Sandermann 1988).

Über die Bedeutung der Glucosyltransferasen in Nutzpflanzen sind einige Arbeiten erschienen (s. auch Review von Sandermann et al. 1997). Glucosyltransferasen in Nadelhölzern sind bis heute allerdings kaum untersucht. Einige wenige Arbeiten befassen sich mit der Präsenz und Aktivität dieser Enzymgruppe in Zellkulturen von Fichten (Messner and Boll 1992), die Bedeutung für Bestände im Freiland wurde jedoch nicht angesprochen.

1.5 Glutathion

Glutathion (g-Glutamyl-Cysteinyl-Glycin) ist das häufigst auftretende Thiol in Lebewesen und macht unter normalen Bedingungen mehr als 90 % des wasserlöslichen Nicht-Protein-Thiols der Pflanze aus (de Kok und Stulen 1993). Glutathion kann intrazellulär in allen Teilen der Pflanze gefunden werden. Hohe Konzentrationen dieser Substanz sind besonders in Chloroplasten vorhanden.

Unter normalen Bedingungen ist Glutathion in seiner reduzierten Form als GSH verfügbar, die oxydierte Form (GSSG) liegt in ihrer Konzentration etwa 10fach niedriger (Schmidt et al. 1989). Über die möglichen Funktionen von Glutathion im pflanzlichen und tierischen Stoffwechsel ist in den vergangenen Jahren viel spekuliert worden. Dabei ist seine Rolle als Oxydationsschutz und Mediator für die Regulation intrazellulärer Schwefeltransportprozesse ist unbestritten. Weiterhin ist seine Rolle bei der Entgiftung von Schwermetallen in der Pflanze gut dokumentiert (de Kok und Stulen 1993, Rauser et al. 1994). Die Glutathiongehalte in Pflanzen werden stark durch physiologische und Umweltfaktoren, z. B. Schwefelversorgung aus der Atmosphäre und dem Boden, Temperatur, Schadstoffe, Schwermetalle und Xenobiotika beeinflusst.

1.6 Ziele des Vorhabens

Es war das Ziel dieses Projektteils, die Immissionsuntersuchungen (siehe Teil 1) durch pflanzenphysiologische Parameter zu unterstützen. Zu diesem Zweck sollten

- die Glutathion S-Transferase-Aktivität in Fichtennadeln zur Konjugation organischer Verbindungen sowie die Aktivitäten einer zweiten Klasse von Entgiftungsenzymen in Fichtennadeln, der Glucosyltransferasen, für mehrere phenolische Xenobiotika quantifiziert, und
- die Gehalte an reduziertem und oxidiertem Glutathion in denselben Nadelproben aufgenommen werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Untersuchungsstandorte, Ernte des Nadelmaterials und Lagerung der Proben

siehe Teil 1, Kapitel 2

2.2 Glutathion S-Transferase Aktivität

2.2.1 Bestimmung der Glutathion S-Transferase Aktivität

In den auf den 25 Hintergrundstandorten (siehe Teil 1, Kapitel 2) erworbenen Nadelproben von Fichten (Nadeljahrgänge 1-3) wurden Untersuchungen zur Aktivität des Entgiftungsenzyms Glutathion S-Transferase durchgeführt, um Informationen über die Entgiftungskapazität und den Metabolismus von organischen Schadstoffen in Fichtennadeln zu erhalten. Die im Projekt verwendete Aufarbeitungsmethode für die Isolierung von GST aus den Fichtennadeln folgte publizierten Methoden (Schröder & Berkau 1993, Schröder et al. 1990b, 1991, Schröder & Wolf 1996). Fichtenzweige waren durch Eintauchen in flüssigen Stickstoff entnadelt worden; die gewonnenen Nadeln wurden in flüssigem Stickstoff oder bei -80 °C gelagert. Die weiteren beschriebenen Arbeitsschritte wurden im Eisbad bei +4 °C durchgeführt. Zur Herstellung eines Protein-Rohextrakts wurden je nach Bedarf und Verfügbarkeit 2 bis 2,5 g der gefrorenen Nadeln abgewogen, in einen gekühlten Mörser überführt und unter flüssigem Stickstoff mit einem Pistill zu einem feinen Pulver zerrieben. Zu Tris-HCl-Puffer (100 mM, pH 7,8) wurde 1 % EDTA und 0,25 % NONIDET gemischt. Nadelpulver wurde im Verhältnis 1:10 mit diesem Puffer vermischt und mit einem Ultra-Turrax 3 x 20 sec. homogenisiert. Der so gewonnene Rohextrakt wurde 30 min bei 40.000 g zentrifugiert und die Proteine im Überstand bei 4 °C durch Ammoniumsulfatfällungen von 0-40 % und von 40-80 % präzipitiert. Das Pellet der 40-80 % Fraktion enthielt den Hauptteil der GST-Aktivität. Es wurde in Kaliumphosphatpuffer, 20 mM, pH 7,0, aufgenommen und über PD-10 Säulen (Pharmacia) entsalzt.

Zur weiteren Auftrennung und Messung der GST-Aktivität konnten die Proben bei -20 °C eingefroren und für mehrere Wochen ohne nennenswerte Aktivitätsverluste gelagert werden. Die derzeit etablierte Methode zur Extraktion von GST (Schröder & Berkau 1993, Schröder et al. 1990) erlaubt die Isolierung der GST mit Recoveryraten von ca. 70-80 % (getestet mit käuflichem Standardenzym aus Pferde- oder Rattenleber). Solche Bestimmungen der Recovery wurden routinemäßig durchgeführt.

2.2.2 Proteinbestimmung und Enzymassays

Die Proteinbestimmung in den Nadelextrakten wurde nach der Methode von Bradford (1976) mit BSA als Standard durchgeführt. Drei unabhängige Proben wurden pro Durchgang am Spektralphotometer bei 595 nm vermessen.

Die GST-Aktivität wurde bei 340 nm und 25 °C nach Habig et al. (1974) an einem Zweistrahlphotometer (Perkin-Elmer, Überlingen) in drei bis fünf unabhängigen Proben gemessen. Der Testansatz von 1,2 ml Gesamtvolumen enthielt: Kaliumphosphatpuffer, 0,1 M, pH 6,4, 1,0 mM CDNB ($\epsilon_{340\text{nm}}$ [$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$] = 9,6) bzw. DCNB ($\epsilon_{345\text{nm}}$ [$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$] = 8,1) in Ethanol abs. gelöst, 1,0 mM GSH und ein Aliquot der Enzymprobe. Als Blindwert wurde ein Ansatz verwendet, in dem die Enzymprobe durch destilliertes Wasser ersetzt war. Die so bestimmte nichtenzymatische Konjugationsrate wurde von den Messwerten abgezogen.

2.3 Glucosyltransferase Aktivität

2.3.1 Nadelaufarbeitung und Enzymisolierung

In den Nadelproben von Fichten der 25 Hintergrundstandorte wurden Untersuchungen zur Aktivität von Glucosyltransferasen durchgeführt, um Informationen über die Entgiftungskapazität und den Metabolismus von organischen Schadstoffen phenolischer Natur in Fichtennadeln zu erhalten. Die im Projekt verwendete Aufarbeitungsmethode für die Isolierung von GT aus den Fichtennadeln folgte publizierten Methoden (Gallant und Balke et al 1992). Nadeln wurden in flüssigem Stickstoff oder bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Die weiteren, beschriebenen Arbeitsschritte wurden im Eisbad bei $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Zur Herstellung eines Protein-Rohextrakts wurden je nach Bedarf und Verfügbarkeit 2 bis 2,5 g der gefrorenen Nadeln abgewogen, in einen gekühlten Mörser überführt und unter flüssigem Stickstoff mit einem Pistill zu einem feinen Pulver zerrieben. Zu Tris-HCl-Puffer (100 mM, pH 7,8) wurde 1 % EDTA und 0,25 % NONIDET gemischt. Nadelpulver wurde im Verhältnis 1:10 mit diesem Puffer vermischt und mit einem Ultra-Turrax 3 x 20 sec. homogenisiert. Der so gewonnene Rohextrakt wurde 30 min bei 40.000 g zentrifugiert und die Proteine im Überstand bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durch Ammoniumsulfatfällungen von 0-40 % und von 40-80 % präzipitiert. Das Pellet der 40-80 % Fraktion enthielt den Hauptteil der GT-Aktivität. Es wurde in Kaliumphosphatpuffer, 20 mM, pH 7,0, aufgenommen und über PD-10 Säulen (Pharmacia) entsalzt.

Zur weiteren Auftrennung und Messung der GT-Aktivität konnten die Proben bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren und für mehrere Wochen ohne nennenswerte Aktivitätsverluste gelagert werden.

2.3.2 Proteinbestimmung und Enzymassays

Die Proteinbestimmung in den Nadelproteinextrakten wurde nach der Methode von Bradford (1976) durchgeführt. Dazu wurde ein fertiges Bradford-Reagenz (Fa. Biorad) verwendet, das für die Messung 1:5 verdünnt wurde. Zur Messung wurden 1/2 micro Plastikküvetten (Fa. Brand) verwendet, in die zuerst 20 μl der Proteinprobe und anschließend 1.000 μl des Reagens einpipettiert wurden. Nach Durchmischung wurde der Ansatz für 10 Minuten bei Zimmertemperatur zur Reaktion stehen gelassen und anschließend bei 595 nm gegen einen Blindwert, bestehend aus Bradford-Reagenz und Tris/HCl Puffer 20 mM, pH 7,0 gemessen. Für jede Probe wurden mindestens zwei Messungen durchgeführt, die anhand einer Eichkurve umgerechnet wurden. Die Eichkurve wurde mit BSA als Eichprotein erstellt. Die Eichkurve wurde an jedem Versuchstag neu bestimmt.

Für die Bestimmung der GT-Aktivität wurde ein radiomarkierter Testansatz verwendet.

Die Testmischung (Endvolumen, 100 μl) enthielt 20 mM Tris HCl (pH 7,5), 2 mM DTE, 2,5 mM Salicin, 2 mM 2,4,5-Trichlorphenol (bzw.: 4-Nitro-, 2-Nitro- und 2,4-Dinitrophenol) (zugegeben in 10 μl Ethylenglycolmonomethyläther (EGME)) und 1 mM UDP-[^{14}C]-glucose (1,2 kBq). Die Reaktion wurde durch Zugabe von Nadelextrakt (20 μl) gestartet. Nach 30 min Inkubation bei $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurde die Reaktion durch Zugabe von 100 μl 10 mM H_3PO_4 und 300 μl Ethylacetat abgestoppt. Nach sorgfältigem Mischen und Phasentrennung nach Zentrifugation wurde in 100 μl Überstand die Radioaktivität im Flüssigkeits-Scintillationszähler bestimmt. Die Blank-Werte wurden durch Inkubation ohne Phenole aber mit EGME ermittelt.

2.4 Bestimmung der Glutathiongehalte

Für diese Bestimmung wurde die Methode von Siller-Cepeda et al. (1991) verwendet.

Es wurden dazu 0,5 g Nadeln in einen Glaspotter überführt und mit 2 ml 10 % Perchlorsäure (PCA), die 1 mM Bathophenanthrolindisulfonsäure (BPDS) enthielt, versetzt. Unter Eiskühlung wurde die Probe zur Homogenität gebracht. Das Homogenat wurde bei 10.000 U/min 5 min lang zentrifugiert. Der Überstand wurde abgegossen und das Pellet in 1 ml PCA resuspendiert, anschließend gepottet und nochmals für 5 min zentrifugiert. Dieser Vorgang wurde noch 1x wiederholt. Die Überstände wurden vereinigt.

Anschließend erfolgt eine Carboxymethylierung und Derivatisierung der Probe. Dazu werden 500 µl des Überstandes mit 50 µl γ -Glu-Glu (0,5 M), das als interner Standard dient, versetzt. Des weiteren gibt man 50 µl einer Lösung aus 100 mM Iodoacetsäure in 0,2 mM m-Cresol-Purpur hinzu. Durch Zugabe von 480 µl einer Lösung aus 2 M KOH und 2,4 M KHCO_3 wurde der pH-Wert auf 9-10 eingestellt. Daraufhin erfolgte während 15minütiger Inkubation im Dunkeln die Carboxymethylierungsreaktion. Nach Ablauf dieser Zeit wurde mit 1.000 µl einer 1 % ethanolischen 2,4-Dinitro-1-fluorbenzol-Lösung über Nacht bei 4 °C derivatisiert.

Nach 16 h wurde die Probe 10 min bei 10.000 U/min abzentrifugiert und der Überstand mit Minisart RC4 Filtern (0,45 µm Porengröße) abfiltriert. Vom Filtrat wurden dann 100 µl für die HPLC-Analytik auf einer 3-Aminopropyl-Spherisorb-Säule (5 µm, 4,6 x 200 mm) verwendet. Die Detektion erfolgte über einen UV-Detektor bei 365 nm. Die Elution der Thiole wurde mit einem Gradienten aus Laufmittel A (80 % Methanol) und Laufmittel B (64 % Methanol, 0,5 M Natrium-Acetat, 10 % Eisessig) durchgeführt. Der Gradient steigt nach 5 min von 20 % Laufmittel B innerhalb von 20 min auf 99 % Laufmittel B an, verbleibt 5 min bei 100 % Laufmittel B und fällt dann innerhalb von 5 min wieder auf 20 % Laufmittel B ab. Anschließend wurde die Säule vor dem nächsten Lauf mit 20 % Laufmittel B gespült.

Zur Quantifizierung der GSH- und GSSG-Konzentrationen in den Fichtennadeln wurde von GSH im Bereich von 5-250 µM und für GSSG im Bereich von 5-200 µM eine Kalibriergerade aufgenommen. Zur Berechnung der Konzentration wurde das Verhältnis des GSH- bzw. GSSG-Peaks zum internen Standard γ -Glu-Glu-Peak gebildet und die jeweiligen Konzentration pro g Frischgewicht berechnet.

Um sicher zu sein, dass es sich bei den Peaks um den GSH- bzw. GSSG-Peak handelt, wurde an jedem Messtag ein Standardchromatogramm von reinem GSH bzw. GSSG und eine Co-Chromatographie von reinem GSH bzw. GSSG mit der Messprobe durchgeführt.

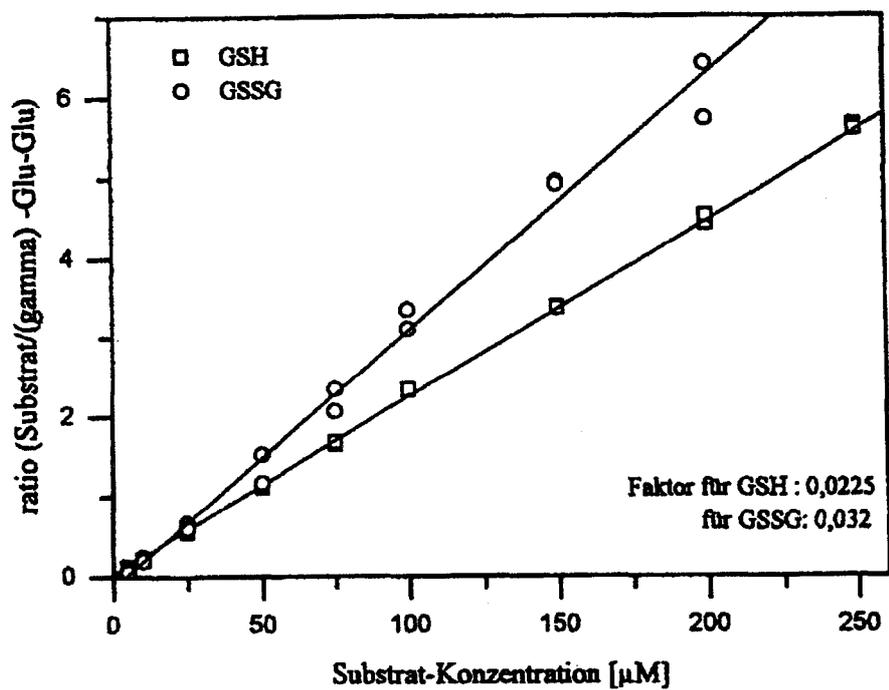


Abb. 2.5: Eichgerade für die Quantifizierung der Glutathion- und GSSG-Gehalte in den untersuchten Nadelproben

2.5 Statistische Auswertungen

Siehe Teil 1, Kapitel 2

3 ERGEBNISSE DER MESSUNGEN

3.1 Proteingehalte als Bezugsgröße

Die Proteingehalte der untersuchten Proben werden als Bezugsgrößen für die Berechnung spezifischer GST-Aktivitäten in Fichtennadeln herangezogen. Sie zeigen keinen einheitlichen Trend im Höhenprofil (Abb. 2.6) aller beprobten Bäume und weisen ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Standortverteilung auf (Abb. 2.7). Die Höhe der Proteingehalte sowie die Tendenz von niedrigem zu hohem Proteingehalt mit steigendem Nadelalter entspricht den gemeinhin gefundenen Verteilungen in Fichten von Freilandstandorten (Schröder et al. 1993, 1996, Schröder und Belford 1996).

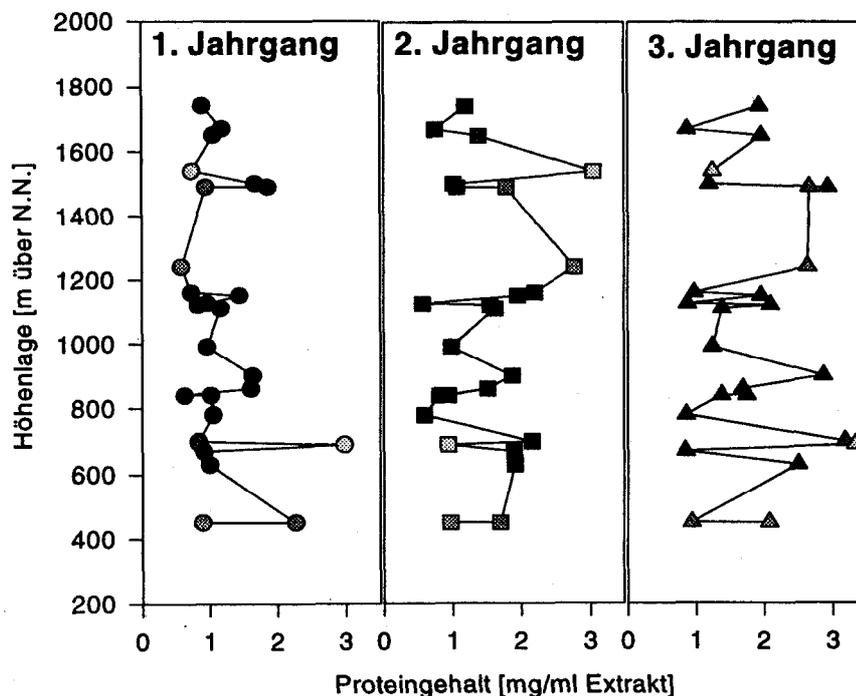


Abb. 2.6: Proteingehalte in den Nadeln der beprobten Fichten bezogen auf ml Extrakt der Aufarbeitungen. Proteingehalte wurden dreifach nach den unter 1.4. beschriebenen Methoden bestimmt.

Bei einer Gesamtdarstellung aller Proben in einem gemeinsamen Diagramm (Abb. 2.7) fällt auf, dass es Bäume mit besonders niedrigen und besonders hohen Proteingehalten in den Nadeln gibt. Auffällig hoch sind die Gehalte in den Fichten der Standorte 1, 6 bis 8, sowie 19 und 24, während auffallend niedrige Proteinwerte in den Fichten der Standorte 9 und 12 vorgefunden werden. Umkehrungen in den Proteinverteilungen zwischen den Jahrgängen findet man bei den Fichten der Standorte 21 und 22, deren jüngste Nadeljahrgänge deutlich mehr Protein enthalten als die dreijährigen Nadeln. Die große räumliche Entfernung zwischen den genannten Probestandorten macht jedoch einen Zusammenhang, z.B. über eine gemeinsame identische Schadstoffexposition, unwahrscheinlich. Die drei beprobten Fichten des Schwerpunktstandortes Achenkirch der FBVA überstreichen die untere bis mittlere Breite der Proteinkonzentrationen; die Werte sind mit den vormals aufgenommenen (Schröder & Belford 1996) vergleichbar.

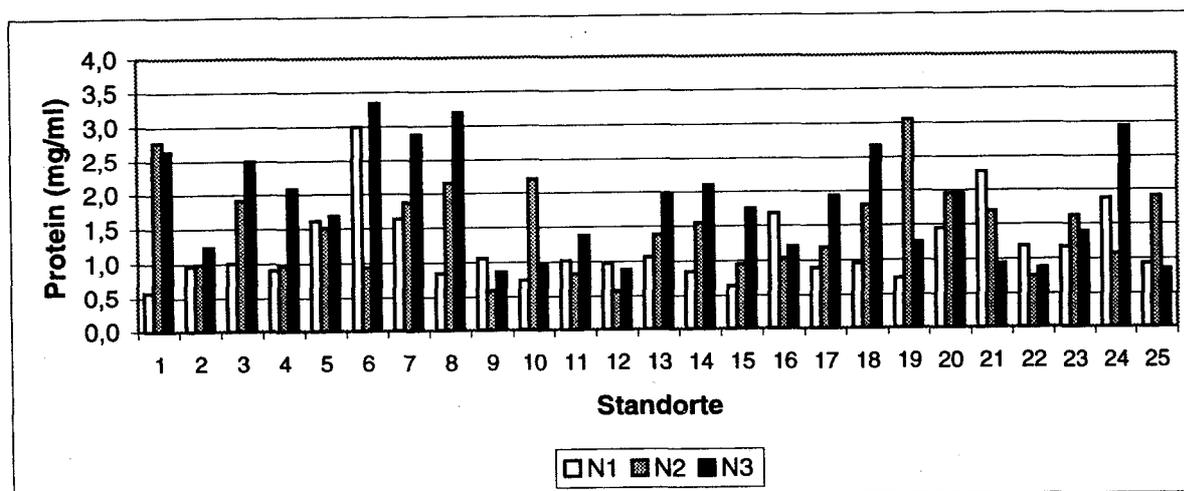


Abb. 2.7: Proteingehalte in den Nadeln der beprobten Fichten; Gesamtdarstellung aller 25 Standorte und der Nadeljahrgänge 1 (N1), 2 (N2) und 3 (N3). Die Aufarbeitung ging von einheitlichen Frischgewichtsmengen und Pufferverdünnungen aus.

Bemerkenswert ist, dass der Proteingehalt im 3. Nadeljahrgang jener Parameter der in Teil 1 und 2 untersuchten Variablen ist, der die deutlichste Rangkorrelation mit dem Entnadelungsprozent der Untersuchungsbäume zeigt (Tab. 2.11, 2.12 im Anhang). In Teil 1 korrelierten lediglich 2-Nitrophenol sowie 6-Methyl-2,4-Dinitrophenol schwach positiv mit der Kronenverlichtung der Probebäume (Tab. 1.8, Teil 1). Das Entnadelungsprozent ist eine relativ unspezifische Kenngröße zur Beurteilung des Kronenzustands eines Baumes und von einer Reihe von Einflussfaktoren abhängig, so dass dieses Ergebnis nicht weiter verwundert. Umso bemerkenswerter ist daher aber auch, dass überhaupt ein Zusammenhang absicherbar war. Da einige Standorte null Prozent Entnadelung aufwiesen, wird dieser Zusammenhang nachfolgend als Boxplot dargestellt, wobei die Standorte nach dem Median des Entnadelungsprozents in zwei Gruppen geteilt wurden (Abb. 2.8). Ein Zusammenhang zwischen Proteingehalt im 3. Nadeljahrgang und der Kronenverlichtung der untersuchten Bäume ist daher nicht auszuschließen.

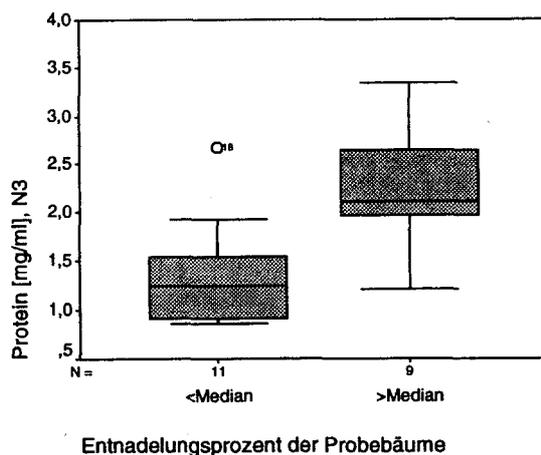


Abb. 2.8: Proteingehalt im 3. Nadeljahrgang der untersuchten Probebäume getrennt in die Gruppen mit einem Entnadelungsprozent der Kronen kleiner bzw. größer als der Median des Entnadelungsprozents (5 %)

3.2 Glutathion S-Transferasen (GST)

Die Aktivität der Glutathion S-Transferasen in den Nadeln der Fichten von den fünfundzwanzig beprobten Standorten wurde mit den beiden xenobiotischen Substraten CDNB und DCNB bestimmt. Obwohl von der Struktur nur geringfügig verschieden, scheint es doch, als seien diese Substrate zumindest teilweise selektiv für einzelne Glutathion S-Transferasen (Habig et al. 1974).

In der Folge werden die GST-Aktivitäten der beprobten Bäume einerseits in ihrer Gesamtheit nach Untersuchungsstandorten nummeriert dargestellt, andererseits gemäß der Höhenlage der Standorte aufgetragen. Als Bezugsgrößen für die Berechnung der Aktivitäten wird zum einen das Extraktvolumen in der Küvette bei der Messung (Volumenaktivität), zum anderen der Proteingehalt der Proben zugrundegelegt. Erstere Auftragung ist vergleichbar mit der Aktivität des Enzyms auf der Frischgewichtsbasis der Nadeln, da in jedem Fall 2,5 g des Nadelmaterials verwendet und mit standardisierten Puffermengen verdünnt worden waren, letztere gibt Aufschluss über die Gewichtung der Enzymaktivität im Vergleich mit allen anderen Proteinen der betreffenden Nadeln.

Tab. 2.1: GST-Aktivität und Proteingehalte in den Fichtennadeln der einzelnen Standorte. Aktivitäten angegeben in $\mu\text{mol/ml}$ bzw. $\mu\text{mol/min mg Protein}$ im Falle von SA (spezifische Aktivität). Proteinwerte in mg/ml Extrakt. (N1: 1., N2: 2., N3: 3. Nadeljahrgang)

Standort	GST-Aktivität												Protein		
	CDNB	DCNB	SA CDNB	SA DCNB	CDNB	DCNB	SA CDNB	SA DCNB	CDNB	DCNB	SA CDNB	SA DCNB			
	N1				N2				N3				N1	N2	N3
1	97	3,34	168	5,76	190	13,45	69	4,86	212	5,95	80	2,26	0,58	2,77	2,64
2	192	6,21	200	6,46	199	6,35	203	6,47	232	3,93	188	3,18	0,96	0,98	1,24
3	121	4,57	121	4,57	172	7,89	90	4,13	117	4,29	47	1,72	1,00	1,91	2,50
4	100	7,06	111	7,84	140	1,87	145	1,93	163	9,15	78	4,40	0,90	0,97	2,08
5	306	24,99	190	15,55	297	8,84	196	5,85	297	8,84	176	5,24	1,61	1,51	1,69
6	254	9,49	85	3,17	174	7,26	185	7,74	335	13,85	100	4,15	2,99	0,94	3,34
7	244	8,68	149	5,31	137	4,79	73	2,56	158	6,09	55	2,12	1,64	1,87	2,87
8	236	7,91	279	9,38	114	17,27	53	8,01	151	3,51	47	1,10	0,84	2,16	3,19
9	112	17,05	106	16,16	67	1,39	114	2,36	115	1,26	134	1,47	1,06	0,59	0,86
10	155	5,17	212	7,04	241	10,17	110	4,62	152	3,59	155	3,67	0,73	2,20	0,98
11	138	2,81	136	2,76	100	1,38	121	1,68	97	1,64	71	1,19	1,02	0,82	1,38
12	242	13,81	250	14,27	89	2,78	156	4,90	156	3,88	177	4,42	0,97	0,57	0,88
13	146	19,55	138	18,47	162	12,14	117	8,77	175	3,79	89	1,93	1,06	1,38	1,96
14	217	12,77	258	15,15	286	9,62	185	6,23	226	3,08	107	1,46	0,84	1,55	2,10
15	128	3,64	202	5,74	184	5,30	195	5,61	156	8,37	112	6,01	0,63	0,94	1,75
16	149	3,78	89	2,25	88	2,57	86	2,51	109	3,13	91	2,61	1,68	1,02	1,20
17	85	0,77	96	0,86	70	3,82	65	3,55	149	2,45	77	1,27	0,89	1,18	1,93
18	99	0,86	72	0,62	101	2,32	58	1,32	140	3,27	52	1,23	0,95	1,79	2,67
19	255	5,12	347	6,96	453	20,11	149	6,59	263	14,56	210	11,64	0,74	3,05	1,25
20	242	4,28	205	3,62	287	6,40	147	3,28	299	5,45	153	2,78	1,4455	1,95	1,96
21	334	9,44	147	4,15	298	8,90	176	5,25	196	4,27	209	4,56	2,27	1,70	0,94
22	235	7,49	198	6,32	213	3,69	283	4,90	118	6,37	135	7,30	1,19	0,75	0,87
23	127	3,67	71	2,05	149	12,19	92	7,53	121	2,24	127	2,35	1,17	1,62	1,39
24	290	12,40	155	6,62	169	2,85	145	2,44	230	4,05	78	1,38	1,87	1,07	2,94
25	259	10,33	280	11,16	251	4,28	132	2,25	200	4,35	234	5,10	0,92	1,90	0,85

Tab. 2.2: Mittelung aller erhaltenen GST- und Protein-Daten aus der Probenahme, Aktivitäten angegeben in $\mu\text{mol/ml}$ bzw. $\mu\text{mol/min mg Protein}$ im Falle von SA (spezifische Aktivität). Proteinwerte in mg/ml Extrakt.

	CDNB	DCNB	Protein	SA-CDNB	SA-DCNB
Mittelwert	186,15	6,85	1,50	141,94	5,15
Standardabw.	75,94	4,93	0,70	64,06	3,80
Median	168,82	5,16	1,25	136,21	4,41

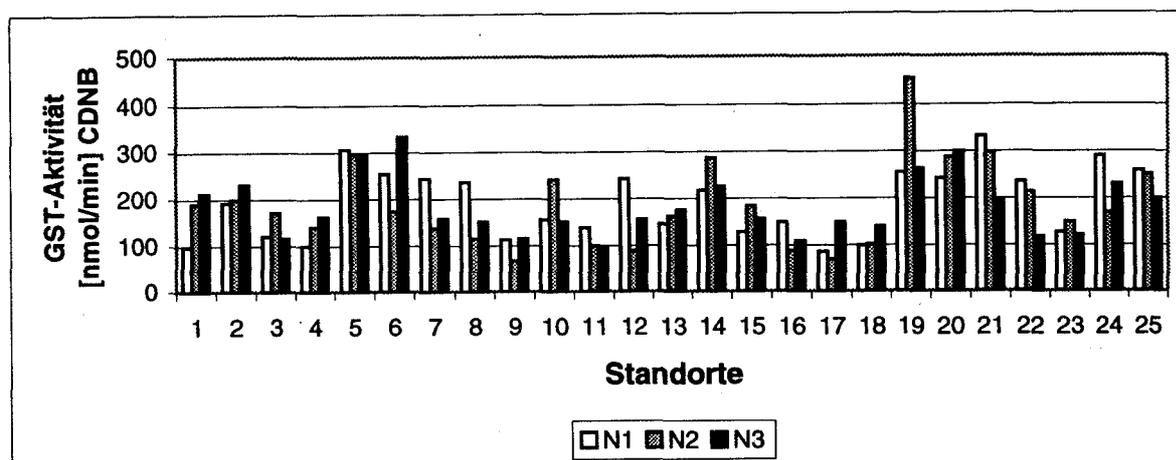


Abb. 2.9: GST-Aktivitäten für die Konjugation von CDNB in den Nadeljahrgängen 1 (N1), 2 (N2) und 3 (N3), aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte. Daten sind Mittelwerte aus je drei bis vier unabhängigen Messungen, dargestellt als Volumenaktivität ($20 \mu\text{l}$ Enzymextrakt).

Auffallend sind bei der Gesamtauftragung der Volumenaktivität für die Konjugation von CDNB (Abb. 2.9) besonders hohe GST-Aktivitäten in den Fichten der Standorte 5 und 19 bis 21. Minima in den Aktivitäten findet man an den Standorten 9 und 17. Ein Wechsel der Bezugsgröße zum Proteingehalt der Nadeln verstärkt die auftretenden Effekte (Abb. 2.10). Es wird deutlich, dass die Standorte 19 bis 22 eine Gruppe mit besonders hohen Enzymaktivitäten darstellen, wobei die Fichten des Standortes 19 besonders hohe Proteinwerte im zweiten Nadeljahrgang aufweisen, was bei der Darstellung der spezifischen Aktivität zu einem scheinbaren Einbruch in der GST-Aktivität führt.

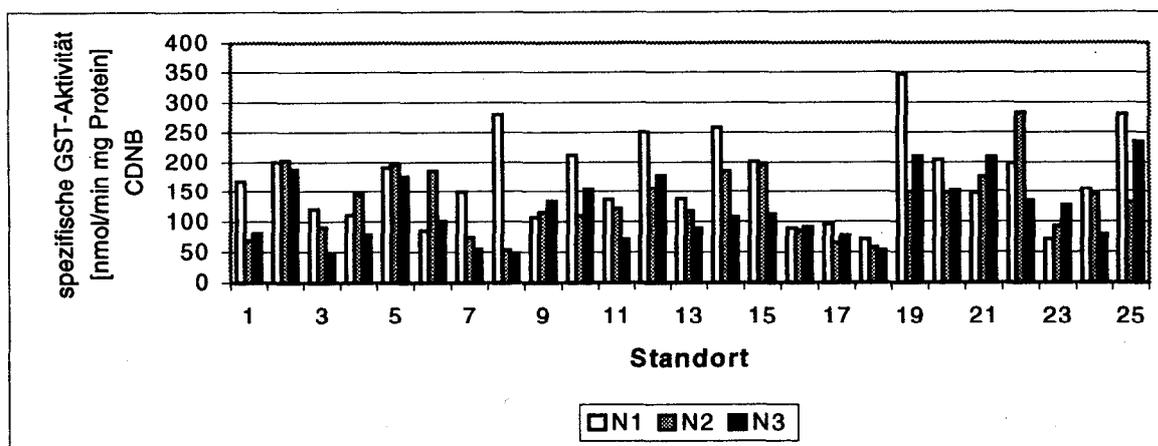


Abb. 2.10: Spezifische GST-Aktivitäten für die Konjugation von CDNB in den Nadeljahrgängen 1 (N1), 2 (N2) und 3 (N3), aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte. Daten sind Mittelwerte aus je drei bis vier unabhängigen Messungen.

Für die Konjugation von DCNB (Abb. 2.11) gilt dies nur bedingt; Standort 5 fällt hier aber ebenfalls durch besonders hohe Aktivitäten auf und auch Standort 19 ist in seiner Aktivität erhöht. Anders als für die CDNB-Konjugation findet man aber für die DCNB-Aktivität eindeutige Erhöhungen in den Bäumen der Standorte 12 bis 15 im jüngsten Nadeljahrgang (N1). Dieser Jahrgang ist ebenfalls am Standort 9 betroffen. Er hat eine etwa zehnfach erhöhte GST-Aktivität im Vergleich mit den älteren Jahrgängen derselben Zweige. Ferner deutet sich ein Trend zu höheren Enzymaktivitäten in den Bäumen nördlicher Lagen an (Tab. 2.3 und 2.4). Die Fichten der Untersuchungsstandorte in Tirol haben eine im Mittel etwas niedrigere Aktivität für CDNB, aber DCNB-Konjugationsraten im Bereich der Fichten aus den Probenahmegebieten 19 bis 25 (Tab. 2.5).

Dies findet man auch, wenn die Proteingehalte der Berechnung zugrundegelegt werden (Abb. 2.12). In diesem Fall ist besonders die Erhöhung der Aktivitäten in den Bäumen der Standorte 12 und 13 bzw. 14 und 15 prominent und in Bäumen der Standorte 5 und 9 verstärkt.

Beim Gesamtdatensatz zeigt sich, dass die spezifische GST-Aktivität im 1. Nadeljahrgang signifikant höher ist als im 2. und 3. Nadeljahrgang (Abb. 2.10, 2.12). Somit scheinen nadelaltersbedingte Unterschiede in der spezifischen, auf Protein bezogenen Entgiftungsaktivität vorhanden zu sein.

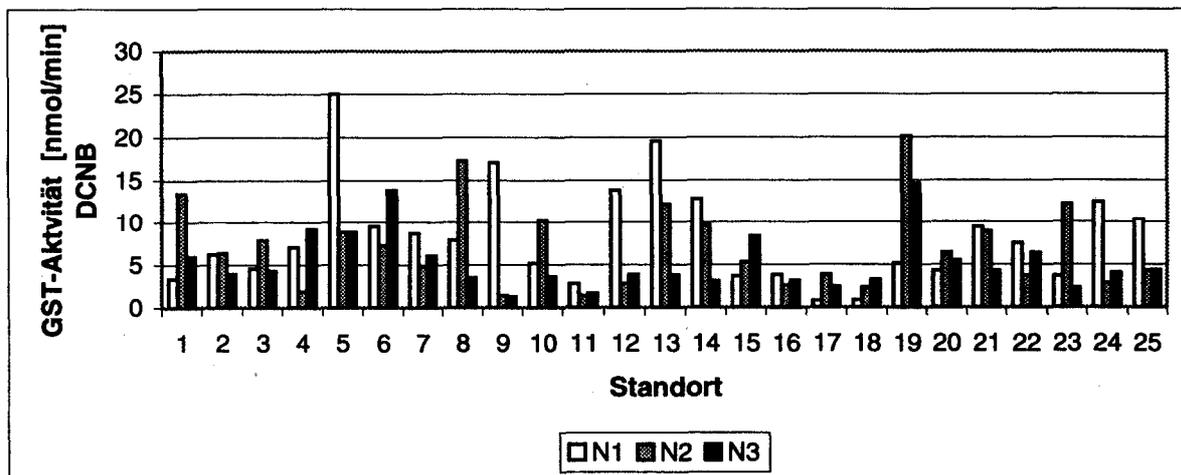


Abb. 2.11: GST-Aktivitäten für die Konjugation von DCNB in den Nadeljahrgängen 1 (N1), 2 (N2) und 3 (N3), aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte. Daten sind Mittelwerte aus je drei bis vier unabhängigen Messungen, berechnet als Volumenaktivität (20 µl Enzymextrakt).

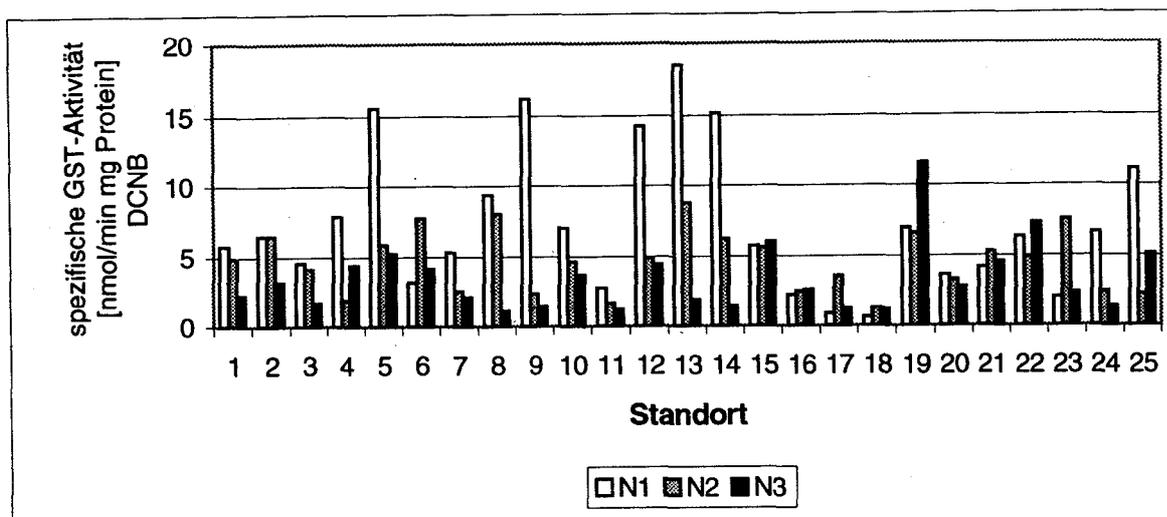


Abb. 2.12: Spezifische GST-Aktivitäten für die Konjugation von DCNB in den Nadeljahrgängen 1 (N1), 2 (N2) und 3 (N3), aufgetragen gegen die 25 Untersuchungsstandorte. Daten sind Mittelwerte aus je drei bis vier unabhängigen Messungen.

Tab. 2.3: Mittelung der GST- und Protein-Daten der Standorte 1 bis 6, Aktivitäten angegeben in $\mu\text{mol/ml}$ bzw. $\mu\text{mol/min mg Protein}$ im Falle von SA (spezifische Aktivität). Proteinwerte in mg/ml Extrakt.

	CDNB	DCNB	Protein	SA-CDNB	SA-DCNB
Mittelwert	182,69	7,97	1,69	127,55	5,32
Standardabw.	70,9	5,31	0,83	59,05	3,69
Median	171,64	7,06	1,60	114,35	4,56

Tab. 2.4: Mittelung der GST- und Protein-Daten der Standorte 19 bis 25, Aktivitäten angegeben in $\mu\text{mol/ml}$ bzw. $\mu\text{mol/min mg Protein}$ im Falle von SA (spezifische Aktivität). Proteinwerte in mg/ml Extrakt.

	CDNB	DCNB	Protein	SA-CDNB	SA-DCNB
Mittelwert	190,46	5,67	1,31	145,81	4,57
Standardabw.	79,71	3,46	0,63	71,16	2,56
Median	195,50	4,64	1,18	141,94	4,56

Tab. 2.5: Mittelung der GST- und Protein-Daten der Standorte in Tirol (10 bis 12, 17 und 18), Aktivitäten angegeben in $\mu\text{mol/ml}$ bzw. $\mu\text{mol/min mg Protein}$ im Falle von SA (spezifische Aktivität). Proteinwerte in mg/ml Extrakt.

	CDNB	DCNB	Protein	SA-CDNB	SA-DCNB
Mittelwert	141,89	5,49	1,32	123,41	4,90
Standardabw.	46,81	5,07	0,56	53,20	4,75
Median	145,65	3,59	1,05	117,29	3,66

In einem weiteren Versuch der Charakterisierung wurden die gemessenen GST-Aktivitäten gegen die Höhenlagen der Standorte aufgetragen (Abb. 2.13, 2.14). Die Enzymaktivitäten liegen im Bereich der bereits in anderen Projekten gemessenen Werte. Wie im Fall der Proteingehalte sind die Werte stark streuend; eine Höhenabhängigkeit deutet sich im zweiten Jahrgang an.

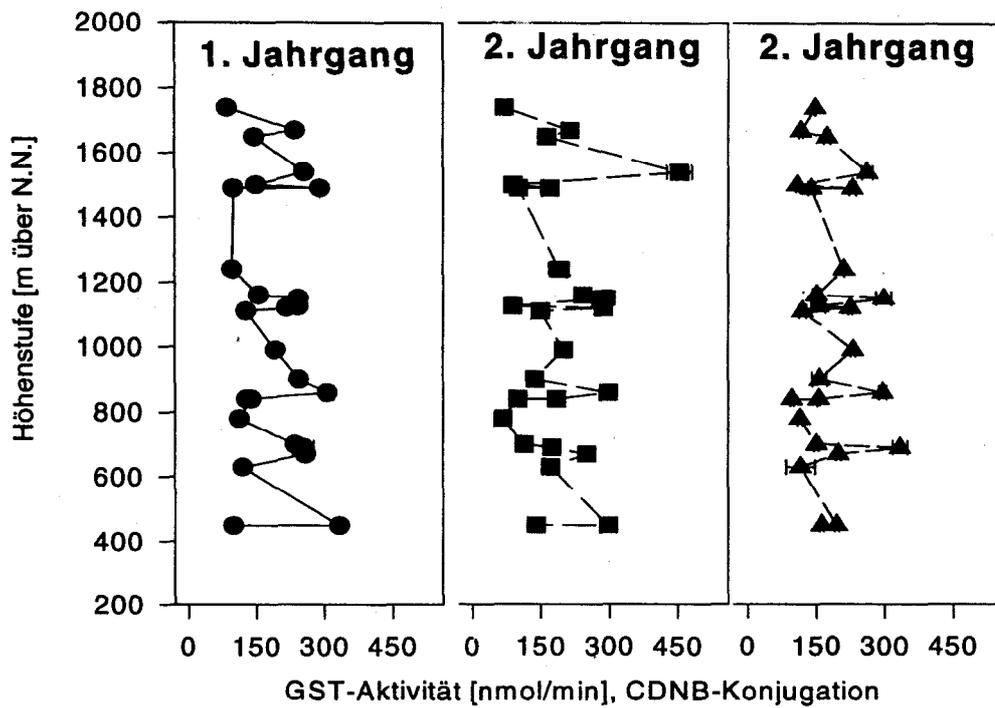


Abb. 2.13: Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von CDNB in den Nadeln der beprobten Fichten. Als Bezugsgröße wurde die Volumenaktivität gewählt. Daten sind Mittelwerte aus drei bis vier unabhängigen Bestimmungen \pm Standardabweichungen.

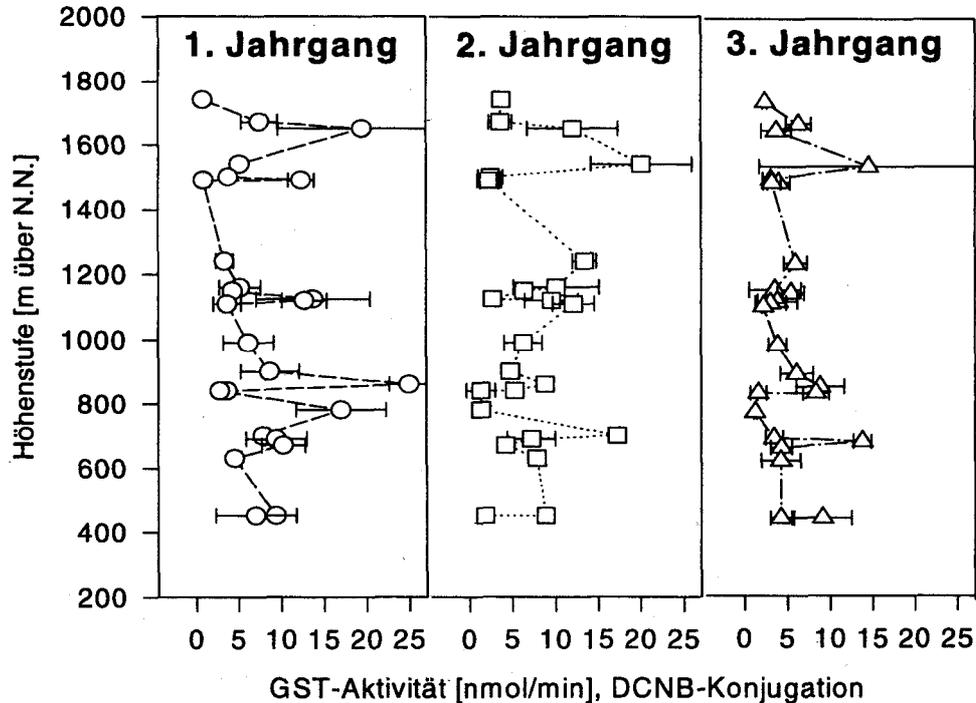


Abb. 2.14: Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von DCNB in den Nadeln der beprobten Fichten. Als Bezugsgröße wurde die Volumenaktivität gewählt. Daten sind Mittelwerte aus drei bis vier unabhängigen Bestimmungen \pm Standardabweichungen.

Die Aktivitätsbestimmung mit DCNB führt zu stärker streuenden Werten als die mit CDNB; es zeigt sich aber im Gegensatz zu jenen Daten eine insgesamt deutlichere Tendenz einer Höhenabhängigkeit der Enzymaktivitäten (Verlauf der Minima-Linie im ersten und zweiten Jahrgang). In Höhen um 800 m und oberhalb von 1.500 m zeigen sich verstärkt Baumcluster mit starken Steigerungen der Enzymaktivität. Dies korrespondiert zur vormals beobachteten Erhöhung der GST-Aktivität in Bereichen von Inversionslagen (Schröder et al. 1993, 1996).

Der Wechsel in der Bezugsgröße zu den Proteingehalten (Abb. 2.15 und 2.16) erbringt keine weiterführenden Informationen zu Zusammenhängen zwischen GST-Aktivität und Exposition der untersuchten Bäume.

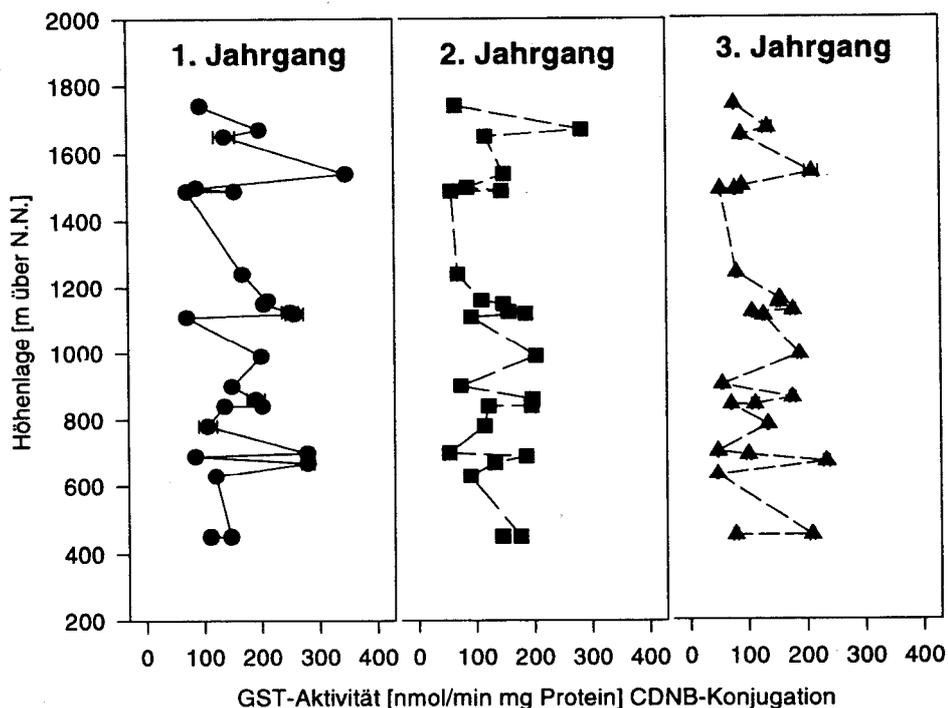


Abb. 2.15: Spezifische Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von CDNB in den Nadeln der beprobten Fichten. Daten sind Mittelwerte aus drei bis vier unabhängigen Bestimmungen \pm Standardabweichungen.

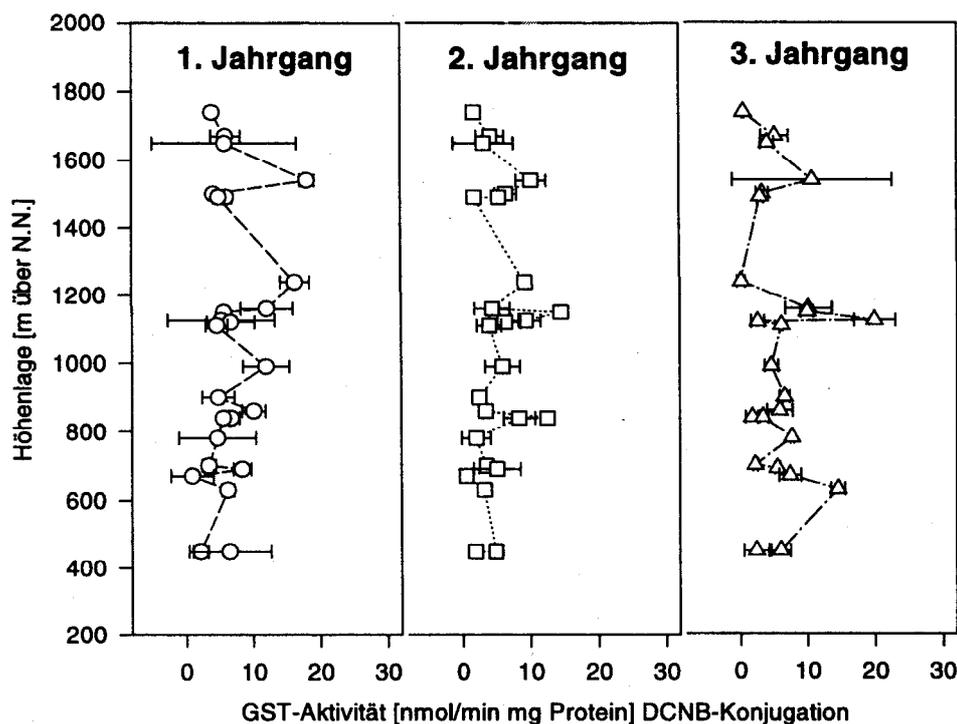


Abb. 2.16: Spezifische Glutathion S-Transferase-Aktivität für die Konjugation von CDNB in den Nadeln der beprobten Fichten. Daten sind Mittelwerte aus drei bis vier unabhängigen Bestimmungen \pm Standardabweichungen.

Wie bereits aus den bisher dargestellten Ergebnissen angedeutet wurde, bestehen zwischen den GST Aktivitäten zur Konjugation von CDNB und DCNB innerhalb eines Nadeljahrganges aber auch zwischen einzelnen Nadeljahrgängen signifikant positive Beziehungen (Tab. 2.11, 2.13 im Anhang, Abb. 2.17). Dies lässt den Schluss zu, dass hier individuelle Standortseinflüsse und/oder genetische Einflussfaktoren in besonderer Weise am Zustandekommen dieser Ergebnisse beteiligt ist. Weiterführende Korrelationsanalysen unter Einbeziehung von Standortparametern (meteorologische Parameter, Seehöhe, Alter der Bäume etc.), Nährstoffgehalten sowie Konzentrationen von CKW und Nitrophenolen in den Nadeln ergaben jedoch – im Unterschied zur GT-Aktivität und den Glutathion-Gehalten (siehe Kapitel 3.3, 3.4 und Teil 1) – überwiegend keine statistisch absicherbaren Zusammenhänge (Tab. 2.11, 2.13 im Anhang). Es wird daher vermutet, dass andere standörtliche Faktoren und/oder die genetische Prädisposition einen erheblichen Einfluss auf die GST-Aktivitäten der einzelnen Bäume hat. Hinsichtlich der Schadstoffgehalte in den Nadeln ist jedoch auch zu berücksichtigen, dass die festgestellten Konzentrationen der Nadeln besonders auch kutikulär gebundene Schadstoffe beinhalten und somit nicht mit den intrazellulären, und somit GST-Aktivität-induzierenden Konzentrationen korreliert sein müssen. Ein weiterer Aspekt, der hier zu berücksichtigen ist, ist der Umstand, dass als Modellssubstrate anhand derer die GST-Aktivität bestimmt wurde, methodisch bedingt andere Substanzen herangezogen werden mussten als diejenigen, die in den Nadeln analysiert wurden. Da die Substratspezifitäten der in den Nadeln vorhandenen GST-Isoenzyme nicht bekannt sind und auf diese Art nicht bestimmt werden konnten, ist es möglich, dass auch diese Verwendung von Modellssubstraten eine potentielle Ursache für fehlende bzw. nicht sehr ausgeprägte Korrelationen darstellen könnte.

Dennoch, zwischen den GST-Aktivitäten und dem Gehalt an Nitrophenolen ließen sich signifikante, wenn auch nicht sehr ausgeprägte positive Zusammenhänge absichern (Abb. 2.18). Einen weiteren Hinweis auf eine potentielle Beteiligung organischer Schadstoffe an der festgestellten Entgiftungsaktivität liefern die Ergebnisse der Clusteranalysen für die CKW, die in

Teil 1 dargestellt und diskutiert wurden. Es zeigt sich nämlich beim 3. Nadeljahrgang, dass der Cluster 3, der einen signifikant höheren Anteil an Trichloressigsäure (TCA) im Relativmuster und signifikant höhere Konzentrationen an Trichloressigsäure und der Summe an leichtflüchtigen Kohlenwasserstoffen plus TCA in den Nadeln aufweist, auch eine signifikant höhere GST-Aktivität in den Nadeln aufweist (Abb. 2.20). Somit zeigt sich insgesamt ein gewisser statistischer Erklärungsanteil an den nachgewiesenen GST-Aktivitäten, der auf die Belastung der Nadeln mit den analysierten organischen Schadstoffen zurückzuführen ist. Weiters war ein Anstieg der GST-Aktivität mit Zunahme der Gehalte löslicher kutikulärer Lipide in den Nadeln absicherbar (Abb. 2.19).

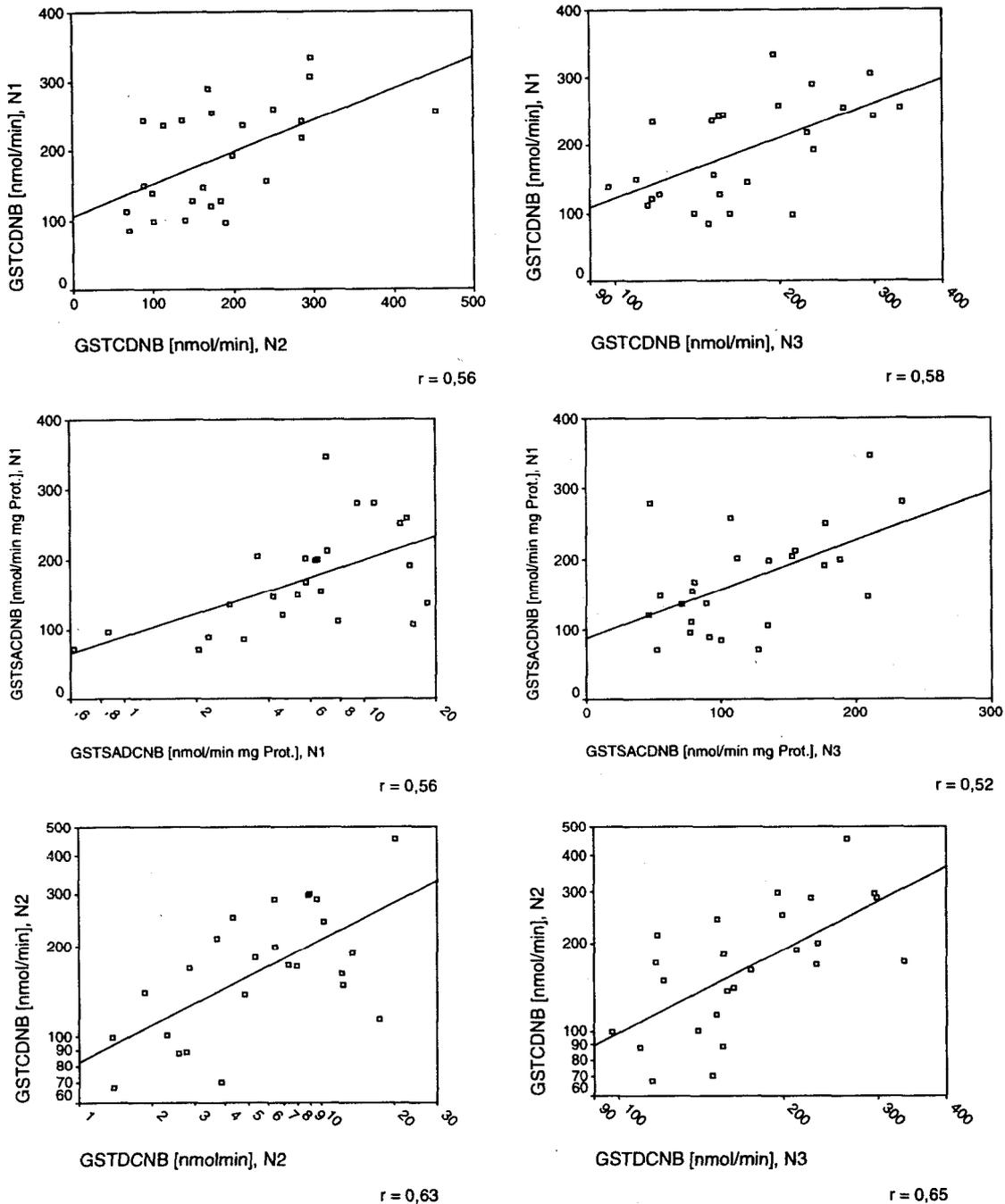


Abb. 2.17: Korrelationen zwischen den GST-Aktivitäten zur Konjugation von CDNB und DCNB innerhalb eines Nadeljahrganges sowie zwischen einzelnen Nadeljahrgängen (N1: 1., N2: 2., N3: 3. Nadeljahrgang).

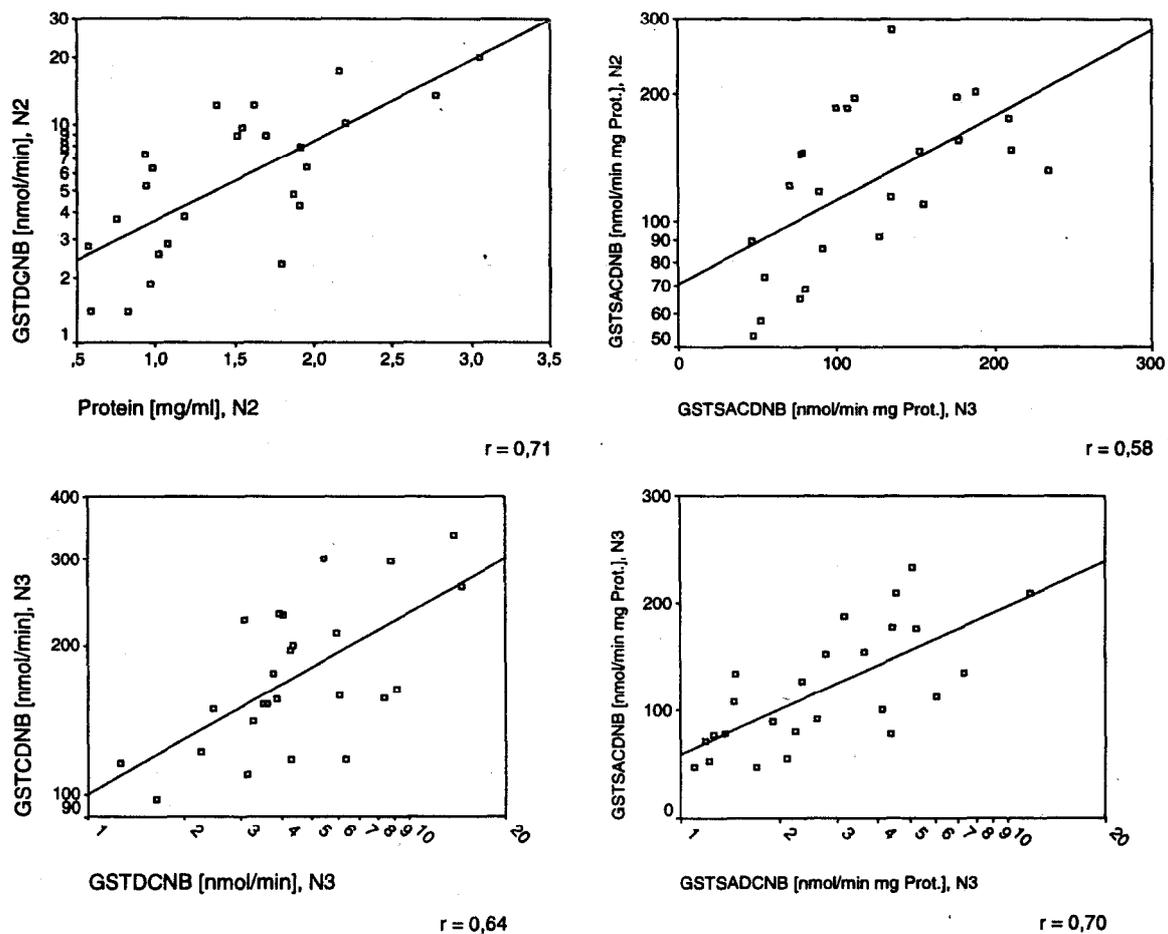


Abb. 2.17 Fortsetzung: Korrelationen zwischen den GST-Aktivitäten zur Konjugation von CDNB und DCNB innerhalb eines Nadeljahrganges sowie zwischen einzelnen Nadeljahrgängen (N1: 1., N2: 2., N3: 3. Nadeljahrgang).

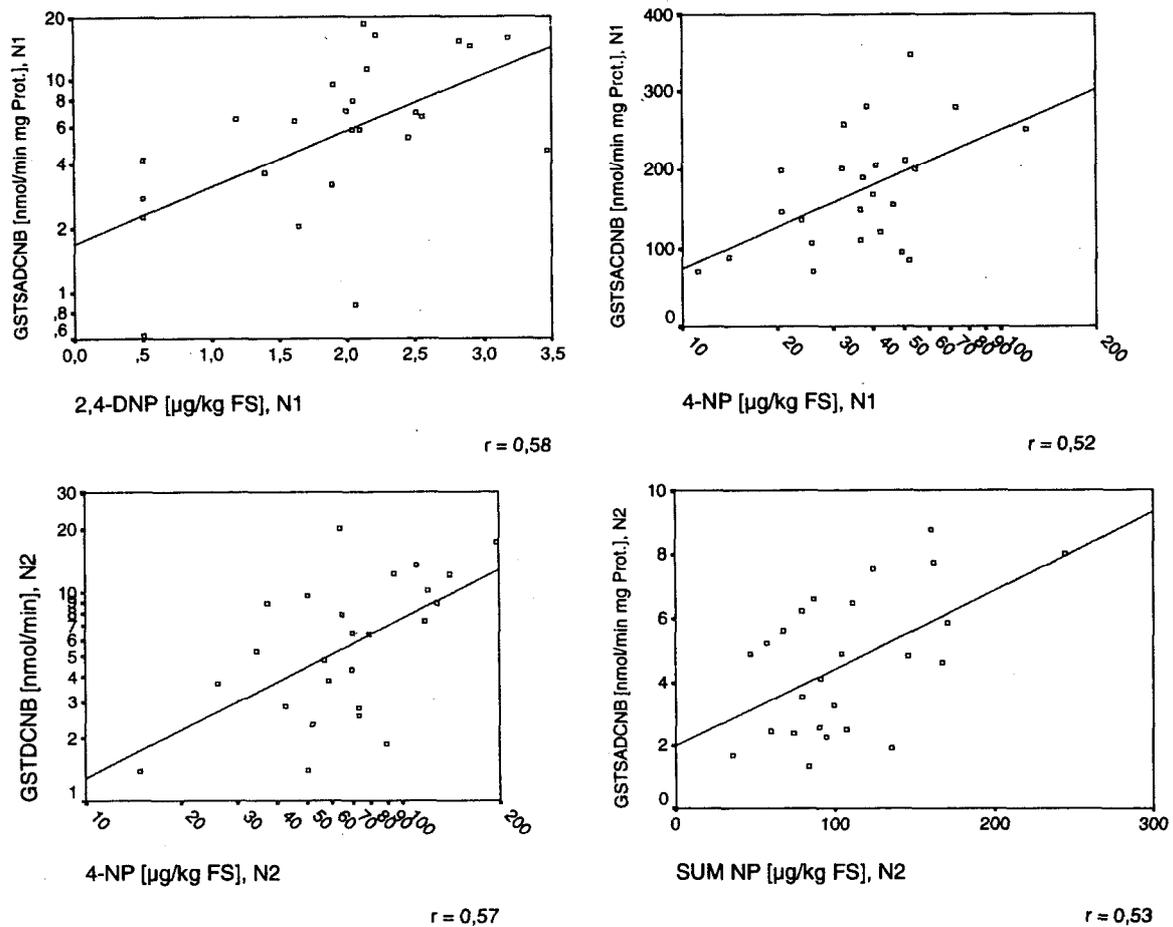


Abb. 2.18: Korrelationen zwischen den Nitrophenolkonzentrationen und der GST-Aktivität in Fichtennadeln (N1: 1., N2: 2. Nadeljahrgang).

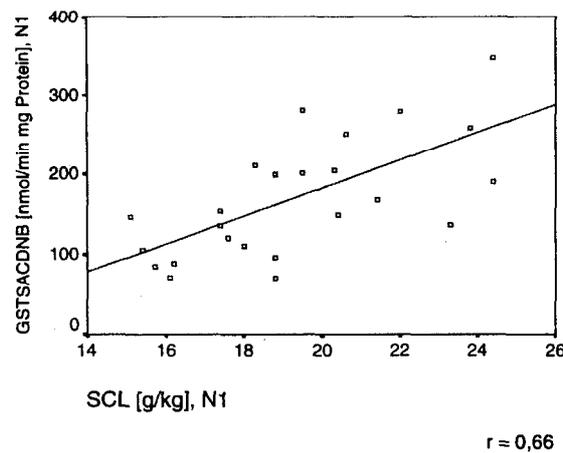


Abb. 2.19: Korrelationen zwischen der spezifischen GST-Aktivität und den Gehalten löslicher kutikulärer Lipide im 1. Nadeljahrgang.

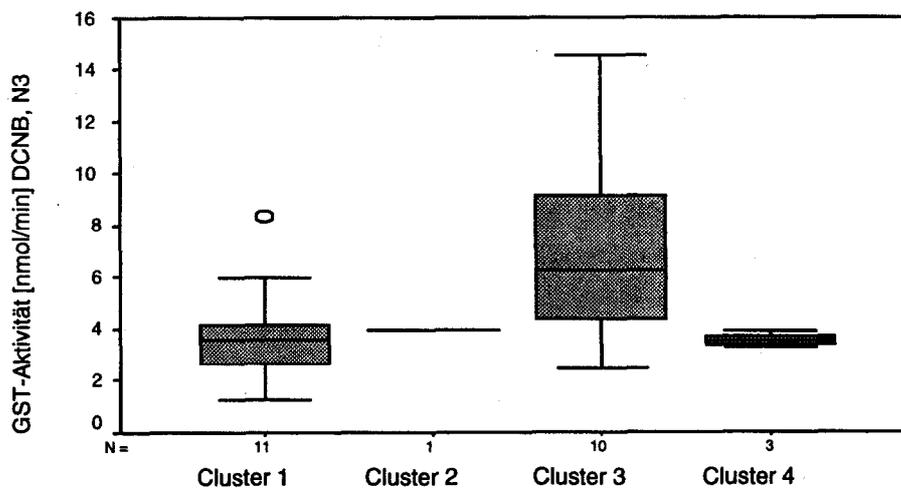
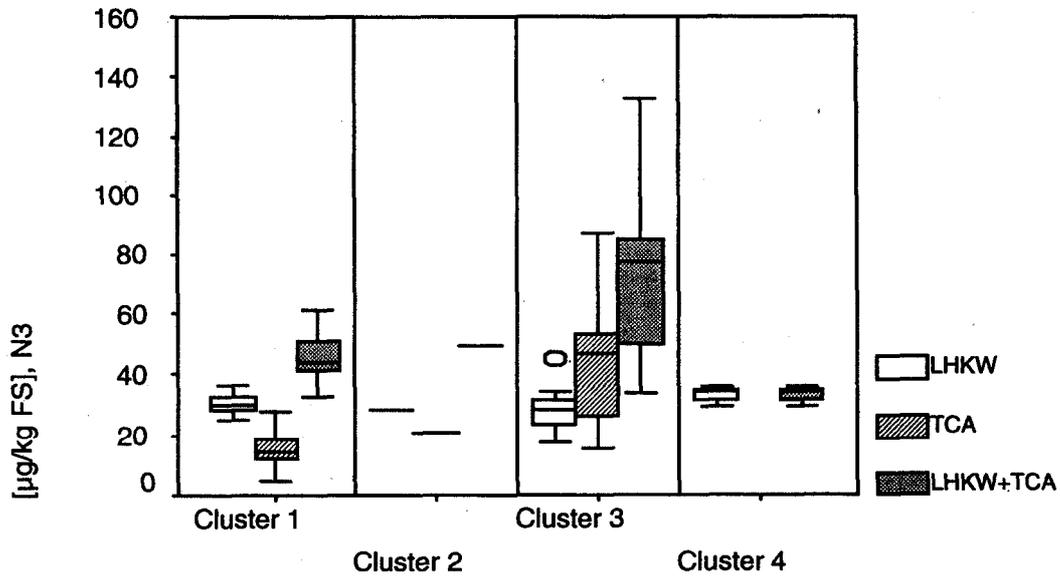
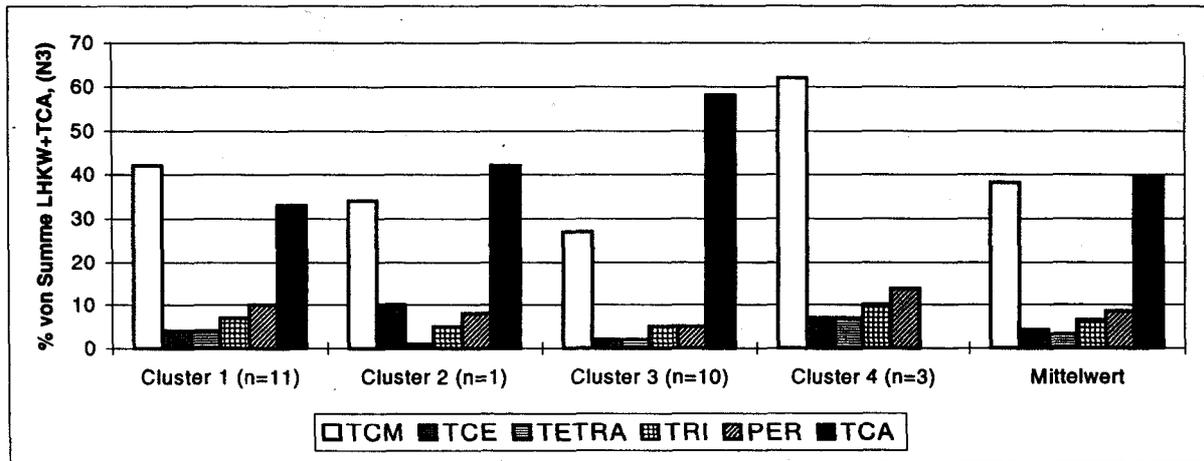


Abb. 2.20: Mittlere relative Halokarbon-Muster der einzelnen Cluster (oben), Konzentrationen von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen (LHKW), Trichloressigsäure (TCA) und Summe LHKW + TCA in den Fichtennadeln der Cluster (mitte) und GST-Aktivität zur Konjugation von DCNB in den Fichtennadeln der Cluster (unten), 3. Nadeljahrgang.

3.3 Glutathiongehalte (GSH, GSSG)

Untersuchungen haben gezeigt, dass der GSH/GSSG-Gehalt in der Pflanzenzelle sehr stark von physiologischen und äußeren Faktoren wie Schwefelgehalt, Temperatur, Verschmutzung, Schwermetalle und Xenobiotika beeinflusst wird (Rennenberg & Lamoureux 1990; de Kok 1990; Rauser 1990). Dabei haben besonders Schwermetalle durch die Induktion von Phytochelatinen und die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies, sowie Xenobiotika durch die Bildung von GSH-Konjugaten einen großen Einfluss auf den Glutathiongehalt der Zelle.

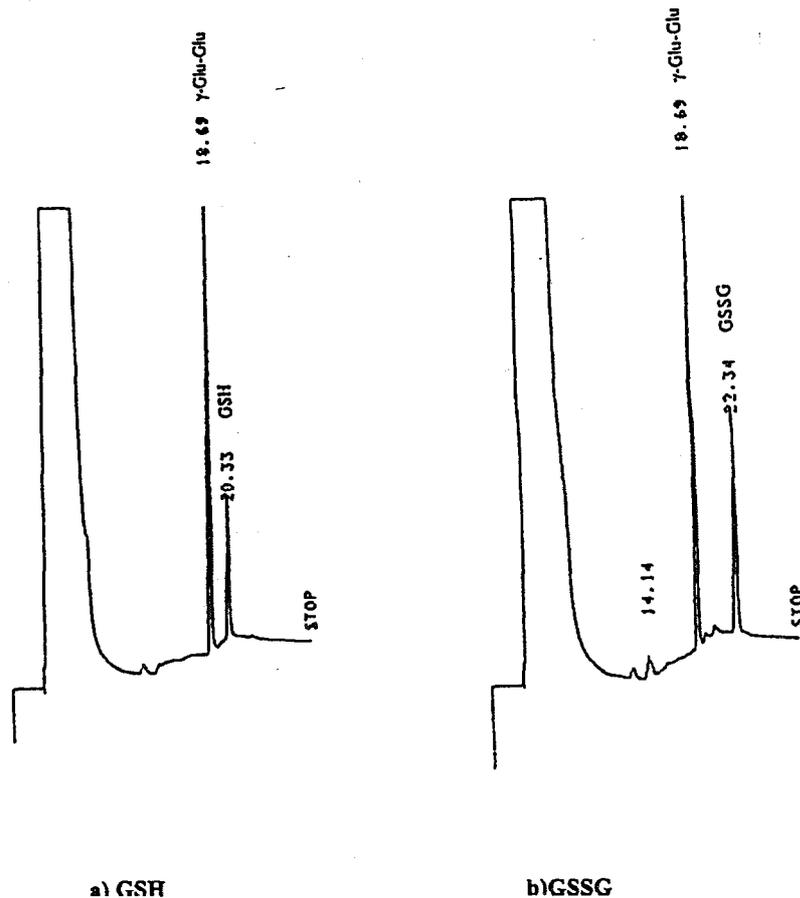


Abb.2.21: Beispielhafte Darstellung eines HPLC-Chromatogramms für die Bestimmung des Gehalts an GSH und GSSG in einer Fichten-Zellkultur. Die Messung erfolgte wie oben beschrieben. Die Thiolderivate wurden bei 365nm detektiert.

Die Auswertung der HPLC-Chromatogramme (ein beispielhaftes Diagramm ist in Abbildung 2.21 dargestellt) bzw. die Berechnung der Konzentrationen von GSH und GSSG in den Zellen erfolgte durch Verhältnisbildung des GSH- bzw. GSSG-Peaks zum internen Standard γ -Glu-Glu-Peak. Die Quantifizierung der GSH/GSSG-Konzentrationen erfolgte über eine Kalibriergerade. Die jeweilige Konzentration wurde in nmol pro g Frischgewicht berechnet.

Tab. 2.6: GSH- und GSSG-Gehalte [nmol/g FS] in den Proben der Nadeljahrgänge 1 (N1), 2 (N2) und 3 (N3) der beprobten Fichten. Aufgrund der geringen Materialmenge konnten einzelne Standorte bzw. Nadeljahrgänge nicht untersucht werden.

Standort	GSH			GSSG		
	N1	N2	N3	N1	N2	N3
1	54,54	82,71	n.a.	n.a.	38,76	n.a.
2	49,68	135,79	n.a.	11,25	39,49	n.a.
3	n.a.	n.a.	293,80	n.a.	n.a.	17,18
4	99,07	37,75	n.a.	13,56	13,78	n.a.
5	58,70	200,91	n.a.	11,19	21,97	n.a.
6	66,66	33,39	n.a.	8,85	4,40	n.a.
7	70,32	48,34	n.a.	26,57	n.a.	n.a.
8	163,95	n.a.	46,47	13,68	n.a.	7,58
9	15,64	n.a.	23,99	4,45	n.a.	4,89
10	42,58	215,27	n.a.	12,73	25,68	n.a.
11	47,25	58,29	n.a.	16,50	6,41	n.a.
12	16,32	48,38	n.a.	3,35	9,39	n.a.
13	15,30	29,34	n.a.	6,42	6,13	n.a.
14	172,26	n.a.	68,45	14,84	n.a.	5,66
15	n.a.	33,27	n.a.	n.a.	20,19	n.a.
16	333,10	38,78	n.a.	27,47	23,53	n.a.
17	23,63	n.a.	n.a.	6,59	n.a.	n.a.
18	273,21	n.a.	n.a.	35,52	n.a.	n.a.
19	43,21	n.a.	87,91	9,41	n.a.	5,84
20	n.a.	45,98	n.a.	n.a.	12,90	n.a.
21	61,46	200,01	n.a.	6,38	23,03	n.a.
22	n.a.	30,85	57,30	n.a.	7,26	11,32
23	n.a.	18,56	n.a.	n.a.	5,94	n.a.
24	55,20	n.a.	n.a.	27,86	n.a.	n.a.
25	226,62	40,96	n.a.	13,62	3,57	n.a.

Die Messung der Glutathiongehalte in den Proben aus Fichtennadeln zeigen in zahlreichen Fällen etwa gleich hohe GSH und GSSG-Gehalte auf. Dies ist in der Natur nicht zu beobachten und muss als ein Artefakt, bedingt durch die lange Lagerung bzw. den Transport der Proben gedeutet werden. Da von uns GSH und GSSG bisher immer in frisch geernteten Proben gemessen wurden, liegen keine Erfahrungen bezüglich der Kompensierbarkeit solcher Verluste durch Standardisierung und Hochrechnung vor. Somit könnten diese Daten lediglich zur Beurteilung der Gesamtglutathiongehalte der Pflanzen herangezogen werden.

Statistische Auswertungen der Ergebnisse und Korrelationen mit anderen Größen (Tab. 2.12, 2.13 im Anhang) haben jedoch gezeigt, dass die hier bestimmten Glutathion-Gehalte, trotz der notwendigen Einschränkung, dass sie nicht als quantitativ betrachtet werden dürfen, einen gewissen Aussagegrad besitzen. Dies lässt auch der festgestellte Zusammenhang zwischen oxidiertem und reduziertem Glutathion vermuten (Abb. 2.22).

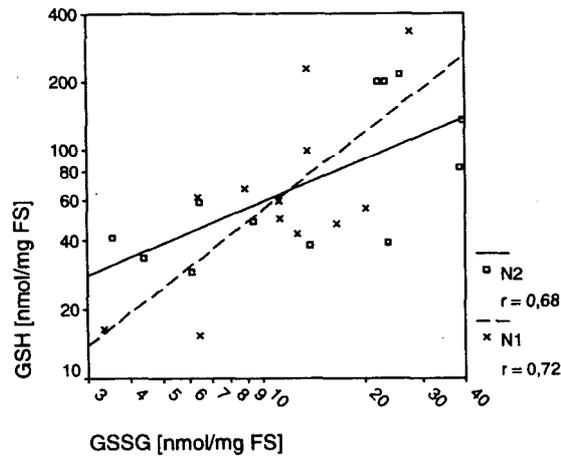


Abb. 2.22: Korrelationen zwischen GSH und GSSG im 1. (N1) bzw. 2. Nadeljahrgang.

Beispielsweise korrelieren die Glutathiongehalte negativ mit dem pH-Wert im Waldboden (Abb. 2.23), positiv mit den gemessenen Schwefelkonzentrationen in den Nadeln (Abb. 2.24) und positiv mit dem Alter der Fichtenbestände (Abb. 2.25).

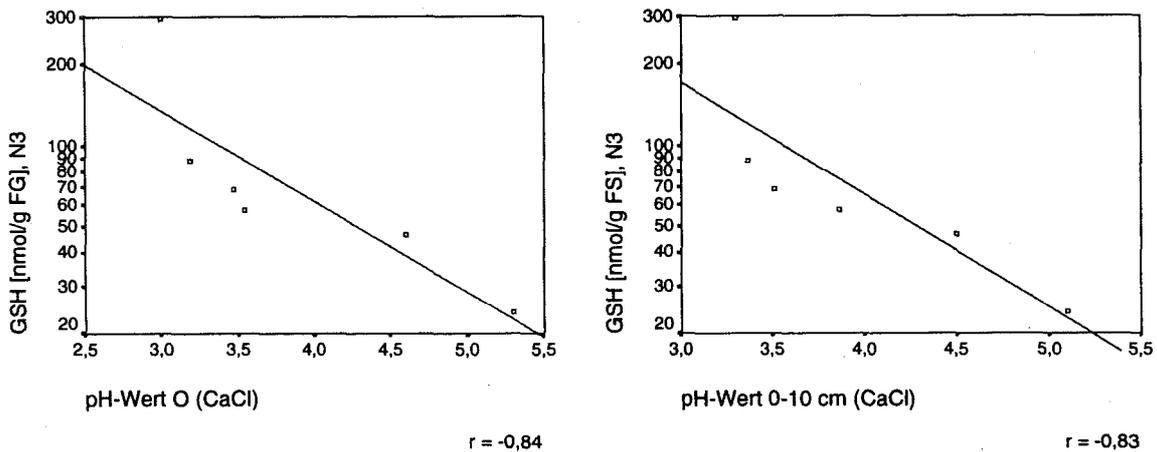


Abb. 2.23: Negative Korrelationen zwischen den GSH-Gehalten im 3. Nadeljahrgang der untersuchten Fichtennadeln und den pH-Werten im Auflagehumus (O) sowie im Mineralboden 0-10 cm.

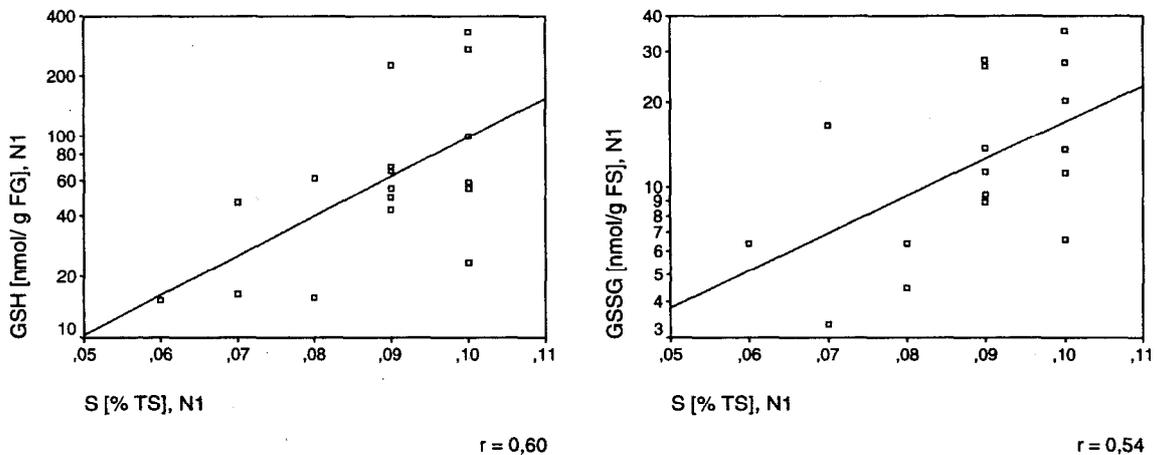


Abb. 2.24: Positive Korrelation zwischen den GSH- sowie GSSG-Gehalten im 1. Nadeljahrgang (N1) der untersuchten Fichtennadeln und ihren Schwefelgehalten.

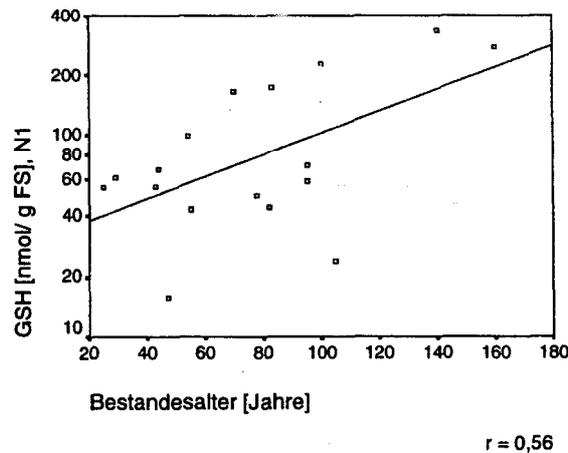


Abb. 2.25 Positive Korrelation zwischen den GSH-Gehalten im 1. Nadeljahrgang (N1) der untersuchten Fichtennadeln und dem Alter der untersuchten Fichten.

Auch eine signifikante, wenn auch sehr lose positive Korrelation mit der Akkumulation von CKW in den Nadeln ist festzustellen (Abb. 2.26), so dass insgesamt, trotz der hohen Verschiebungen in den Gesamtgehalten durch die zu lange Lagerung der Proben, von einem Zusammenhang zwischen der Verfügbarkeit von GSH und der Immission gesprochen werden kann.

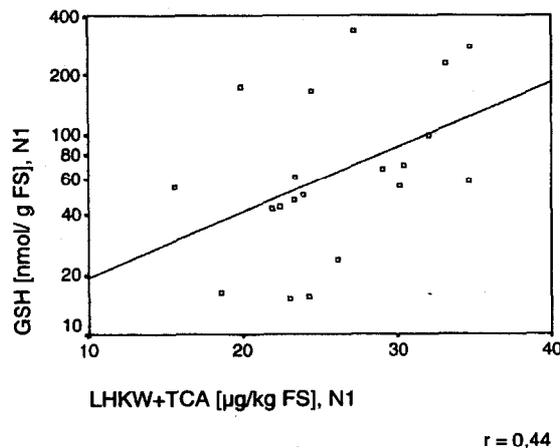


Abb. 2.26: Korrelation für die Abhängigkeit zwischen GSH-Gehalten und Konzentrationen an leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen (LHKW) plus Trichloressigsäure (TCA) im 1. Nadeljahrgang (N1).

Anhand schrittweiser Regression lässt sich ein hoher Anteil der Variabilität der GSH im 1. Nadeljahrgang durch das Alter der Bäume (als wesentlichste Variable), durch den Zink- und Mangengehalt der Nadeln sowie durch die Konzentration an 2-NP in den Nadeln erklären, wobei der GSH-Gehalt mit zunehmendem Alter der Bäume und zunehmender Konzentration von 2-Nitrophenol (2-NP) sowie der Abnahme der Zink- und Mangengehalte in den Nadeln ansteigt (Tab. 2.7). Hervorzuheben ist hier allerdings, dass zwei einflussreiche Fälle (Standorte mit hohem Alter der Bäume und gleichzeitig hohem GSH-Gehalt, Abb. 2.25) maßgeblich für das Zustandekommen dieses Ergebnisses verantwortlich sind. Die Ergebnisse sind daher als vorläufig zu interpretieren und bedürfen weiterer Überprüfungen in künftigen Studien bevor ihnen Gültigkeit attestiert wird. Zu dem sind – wie oben dargestellt – durch lagerungsbedingte Artefakte die GSH-Werte als Absolutwerte unbrauchbar und ledig-

lich als Relativwerte heranziehbar, weshalb in Tabelle 2.7 nur die standardisierten Koeffizienten angegeben werden.

Tab. 2.7: Ergebnisse einer schrittweisen Regressionsanalyse mit GSH im 1. Nadeljahrgang (N1) als abhängiger Variable vom Bestandesalter, der Zink-, Mangan- und 2-Nitrophenol-Konzentration in den Nadeln (n=17)

Unabhängige Variable	Standardisierte Koeffizienten Beta	Signifikanz T	Signifikanz F	Bestimmtheitsmaß R ²	Korrigiertes R ²
Konstante		0,030	0,000	0,876	0,835
Bestandesalter [Jahre]	1,056	0,000			
Zink, N1 [mg/kg TS]	-0,645	0,000			
2-Nitrophenol, N1 [µg/kg FS]	0,252	0,037			
Mangan, N1 [mg/kg TS]	-0,265	0,040			

3.4 Aktivität der Glucosyltransferasen

Die mit den verschiedenen Nadelextrakten durchgeführten Messungen der O-Glucosyltransferase (GT)-Aktivität erfolgten nach einer modifizierten Methode von Sandermann et al. (1991). Es wurde die Enzymaktivitätsmessung mit 4 Substraten, 2,4,5-Trichlorphenol (2,4,5-TCP), 4-Nitrophenol (4-NP), 2-Nitrophenol (2-NP) und 2,4-Dinitrophenol durchgeführten, wobei nur für die ersten drei Xenobiotika eine enzymkatalysierte Glucosidbildung nachgewiesen werden konnte. Die Originaldaten sind in den Tabellen 2.8 enthalten. Auch hier konnte bedingt durch Mangel an Probenmaterial nur ein Teil der Standorte untersucht werden.

Alle untersuchten Fichtennadelproben zeigten Glucosyltransferase-Aktivität. Es konnte weiterhin und als zentrales Ergebnis gezeigt werden, dass die drei Phenolderivate 2,4,5-Trichlorphenol, 4-Nitrophenol und 2-Nitrophenol, wie auch schon vorher für Sojazellen beschrieben (Sandermann et al. 1991), verschieden schnell umgesetzt werden, und dass die Zellextrakte der unterschiedlichen Bäume sich stark in den entsprechenden GT-Aktivitäten unterscheiden.

Tab. 2.8: Glucosyltransferase-Aktivität zur Konjugation von TCP, 2-NP und 4-NP in den Fichtennadeln (N1 = 1., N2 = 2. und N3 = 3. Nadeljahrgang).

Standort	GT-Aktivität											
	N1				N2				N3			
	TCP	2-NP	4-NP	Σ	TCP	2-NP	4-NP	Σ	TCP	2-NP	4-NP	Σ
1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	11,29	1,79	3,54	16,62	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2	34,01	3,37	7,22	44,60	11,87	0,86	1,59	14,32	26,16	3,69	7,85	37,70
3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	15,70	4,60	5,56	25,86	8,56	2,54	4,39	15,49
4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	9,73	2,14	2,62	14,49
5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	9,22	1,92	2,92	14,06
6	11,16	1,46	4,09	16,71	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	11,61	2,97	5,12	19,70
7	30,03	3,47	8,31	41,81	11,08	5,47	7,19	23,74	9,56	2,04	6,10	17,70
8	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	17,04	3,87	6,07	26,98	11,37	2,50	4,83	18,70
9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	12,14	4,28	4,59	21,01	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	17,05	4,58	4,15	25,78	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11	25,83	3,21	6,38	35,42	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
12	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	13,35	5,61	6,46	25,42	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
13	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
14	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	9,67	4,00	5,67	19,34	8,96	2,13	2,87	13,96
15	25,41	3,13	6,34	34,88	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	26,00	2,09	7,77	35,86
16	19,34	2,20	11,95	33,49	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
17	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	17,09	2,33	4,43	23,85
18	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	10,19	1,44	4,08	15,71
19	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	18,43	4,93	7,00	30,36	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
20	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	15,67	2,39	5,10	23,16
21	12,81	2,68	5,78	21,27	20,26	11,92	7,16	39,34	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
22	23,34	10,68	9,42	43,44	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
23	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
24	20,63	6,58	7,68	34,89	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	20,94	4,57	5,51	31,02	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

Korrelationen der unterschiedlichen 2-NP- bzw. 2,4,5-TCP- GT-Aktivitäten in den einzelnen Nadelproben mit anderen Parameter der Fichtennadeln, wie Ernährung oder Schadstoffbelastung, lassen den Schluss zu, dass Umweltfaktoren sich hier in besonderem Maß positiv bzw. negativ auf die GT-Aktivität der Fichten auswirken können. So konnte in Nadelproben mit hohen Calcium-, Zink- oder Magnesium-Gehalten auch hohe 2-NP- bzw. 2,4,5-TCP-GT-Aktivitäten (Abb. 2.27) und in Proben mit hohem Gehalt an chlorierten Kohlenwasserstoffen hohe Enzymaktivitäten (Abb. 2.28) nachgewiesen werden. Hervorzuheben ist v.a. die Zunahme der GT-Aktivität mit Zunahme der PER-Gehalte im 3. Nadeljahrgang, da PER der einzige chlorierte Kohlenwasserstoff war, der im 3. Nadeljahrgang keine höheren Gehalte als im 1. Nadeljahrgang aufwies (siehe Teil 1). Weiters scheint ein Zusammenhang zwischen der TCP-GT-Aktivität und dem Gehalt an löslichen kutikulären Lipiden gegeben zu sein (Abb. 2.29).

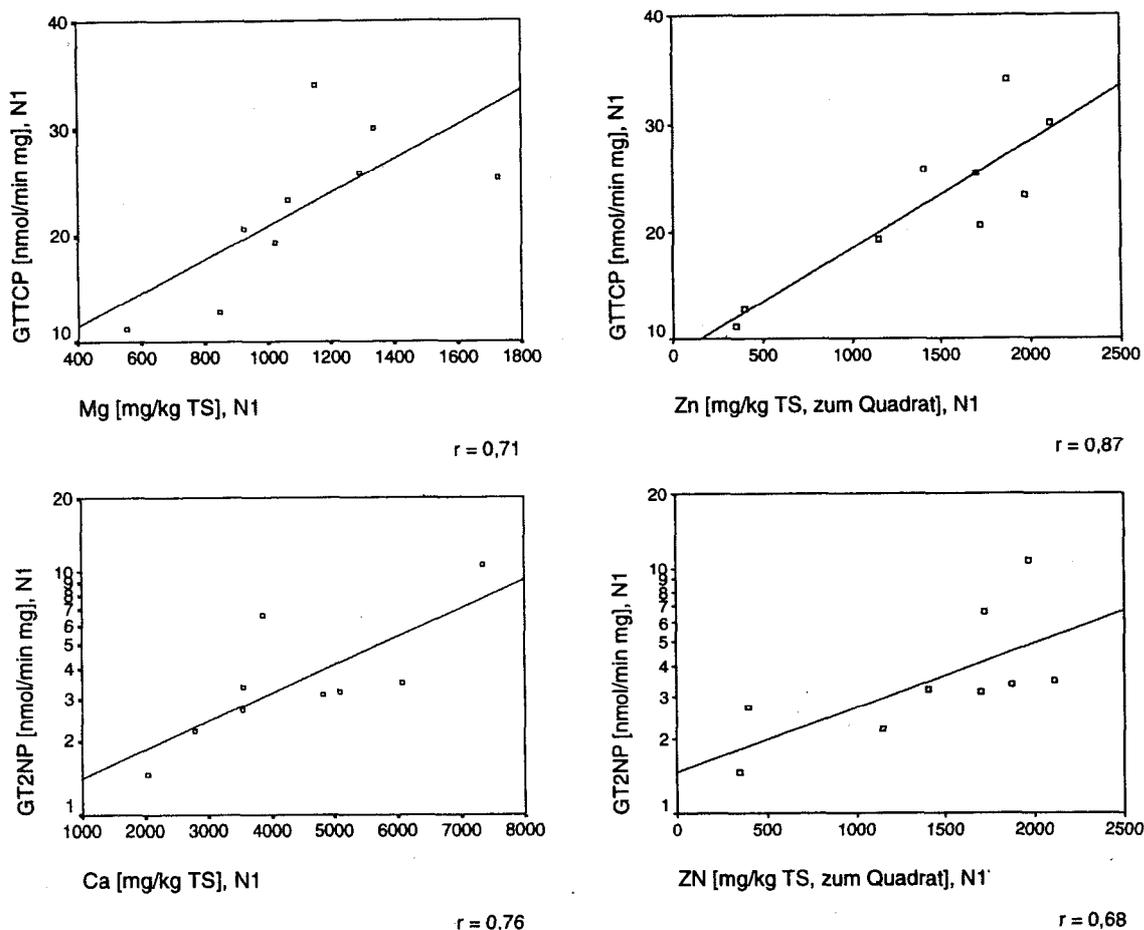


Abb. 2.27: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von Trichlorphenol (oben) sowie 2-Nitrophenol (unten) und Calcium-, Zink- oder Magnesium-Gehalten im 1. Nadeljahrgang (N1) der Fichtennadeln.

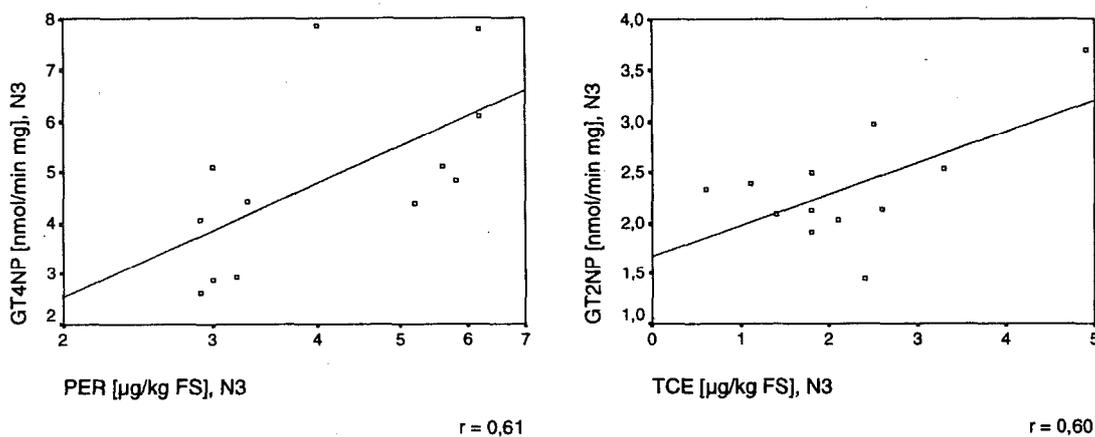


Abb. 2.28: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von 4-Nitrophenol sowie 2-Nitrophenol und CKW-(hier: Perchlorethylen bzw. 1,1,1-Trichlorethylen)-Gehalten im 3. Nadeljahrgang (N3) der Fichtennadeln.

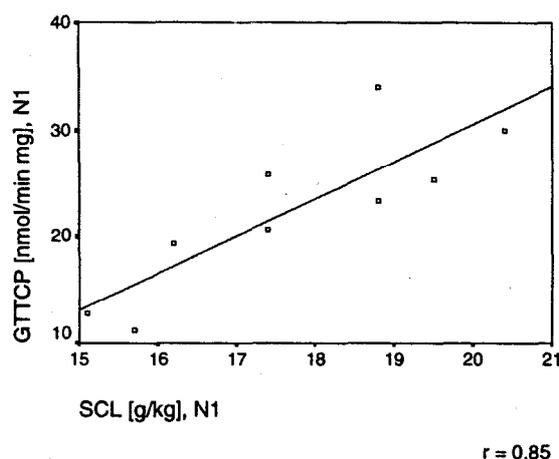


Abb. 2.29: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von Trichlorphenol und den Gehalten löslicher kutikulärer Lipide (SCL) im 1. Nadeljahrgang (N1) der Fichtennadeln.

Die Aktivitäten der GT scheinen daneben auch noch zusätzlich durch Standortfaktoren (Seehöhe, Temperatur, Niederschlag) sowie durch das Alter der Bäume beeinflusst zu sein (Abb. 2.30). Anhand schrittweiser Regression lässt sich die GT-Aktivität zur Konjugation von 4-NP im 1. Nadeljahrgang durch die Parameter Temperatur im Probenahmemonat Oktober, Konzentration von TETRA im 1. Nadeljahrgang und Niederschlag im Zeitraum Mai-Oktober (Tab. 2.9) bzw. durch das Alter der Bäume sowie durch die Konzentration von TRI und TETRA im 1. Nadeljahrgang (Tab. 2.10) sehr gut beschreiben. Dabei gehen die Temperatur und der Niederschlag negativ und das Alter der Bäume und die Schadstoffkonzentrationen positiv in die Gleichungen ein. Das heißt, je niedriger die Temperatur im Probenahmemonat Oktober und der Niederschlag in der Vegetationsperiode (Mai-Oktober) des Untersuchungsjahres und je höher die Konzentration von TETRA desto höher ist die GT-Aktivität im 1. Nadeljahrgang. Oder im Falle des zweiten dargestellten Modells: Je höher das Alter der Bäume und die Konzentrationen von TRI und TETRA desto höher ist die GT-Aktivität im 1. Nadeljahrgang. Gemäß den Beta-Koeffizienten sind die beiden wesentlichen, zur Erklärung beitragenden Variablen in der jeweiligen Gleichung die Temperatur im Probemonat Oktober bzw. im 2. Modell das Alter der Bäume (Tab. 2.9, 2.10). Dies konnte anhand der Scatterplots (Abb. 2.30) bzw. anhand der Korrelationstabellen (Tab. 2.12, 2.13 im Anhang) vermutet werden. Einschränkend zu diesen Ergebnissen ist zu sagen, dass sie aufgrund der geringen, für eine Analyse auf die GT zur Verfügung stehenden Probenanzahl auf einer sehr geringen Stichprobenanzahl beruhen. Diese Ergebnisse sind daher lediglich als ein erster empirischer Hinweis auf mögliche Einflussfaktoren auf die GT-Aktivität zu werten, der anhand weiterführender Untersuchungen verifiziert werden muss.

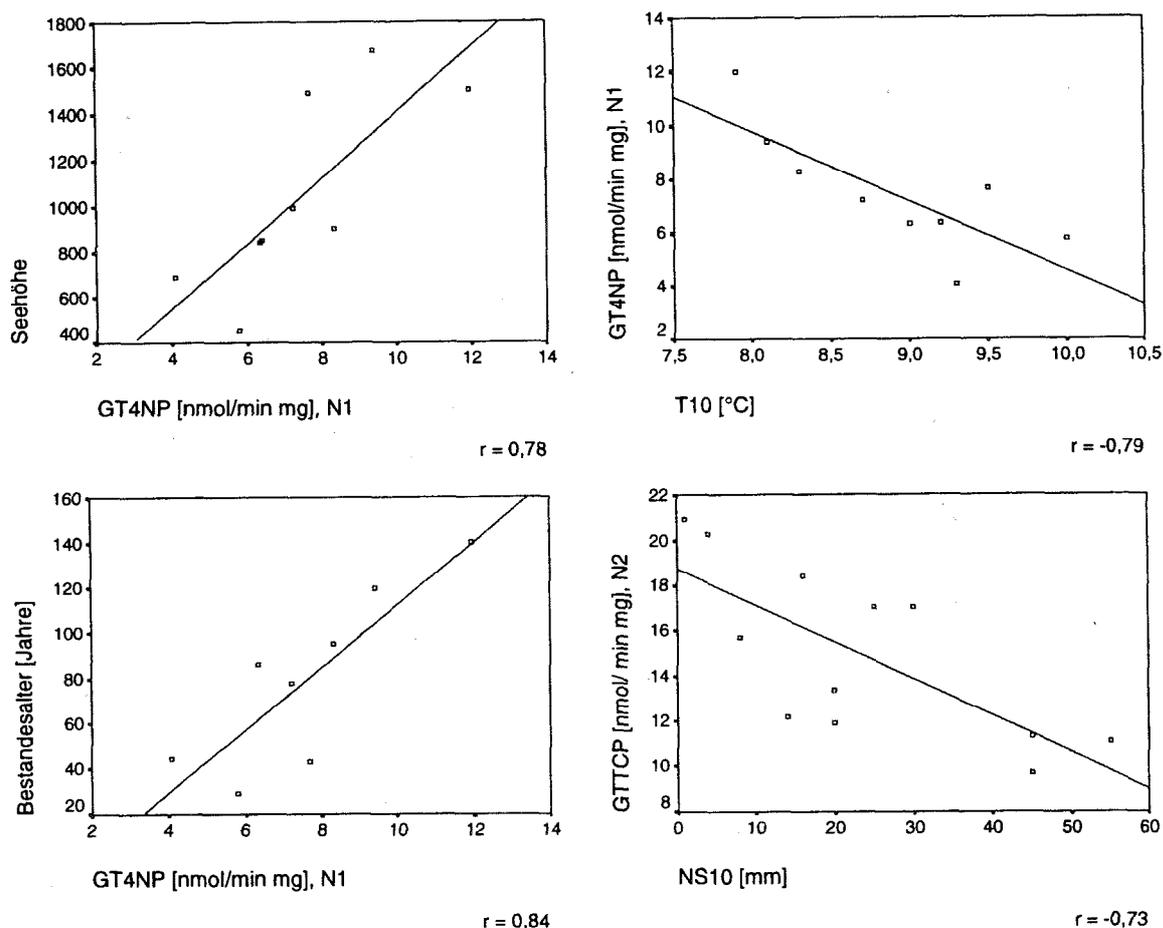


Abb. 2.30: Zusammenhang zwischen der Glucosyl-Transferase-Aktivität für die Konjugation von 4-Nitrophenol im 1. Nadeljahrgang (N1) bzw. TCP im 2. Nadeljahrgang (N2) und der Seehöhe des Standortes, der mittleren Temperatur im Probenahmemonat Oktober 1995 sowie dem Alter des Bestandes bzw. der Niederschlagssumme im Probenahmemonat Oktober 1995.

Tab. 2.9: Ergebnisse einer schrittweisen Regressionsanalyse mit GT4NP im 1. Nadeljahrgang (N1), als abhängiger Variable von der Temperatur im Probemonat Oktober (T10), der Konzentration von Tetrachlorkohlenstoff in den Nadeln und dem Niederschlag in der Periode Mai bis Oktober (NS5-10), (n=9).

Unabhängige Variable	Nicht standardisierte Koeffizienten B	Standardfehler	Standardisierte Koeffizienten Beta	Signifikanz T	Signifikanz F	Bestimmtheitsmaß R ²	Korrigiertes R ²
Konstante	38,735	2,956		0,000	0,001	0,959	0,934
T10 [°C]	-3,373	0,344	-1,031	0,000			
TETRA [µg/kg FS], N1	2,202	0,474	0,503	0,006			
NS5-10 [mm]	-0,00396	0,001	-0,270	0,036			

Tab. 2.10: Ergebnisse einer schrittweisen Regressionsanalyse mit GT4NP im 1. Nadeljahrgang (N1) als abhängiger Variable vom Bestandesalter und der Konzentration von Trichlorethylen und Tetrachlorkohlenstoff in den Nadeln (n=8; Anmerkung: Da die Konstante nicht signifikant verschieden von Null ist, wurden die Koeffizienten durch eine Regressionsanalyse ohne Konstante berechnet. Da dadurch die statistischen Maßzahlen (z.B. Signifikanz) verzerrt wiedergespiegelt werden, wurden diese aus der Regressionsanalyse mit Konstante entnommen).

Unabhängige Variable	Nicht standardisierte Koeffizienten B	Standardfehler	Standardisierte Koeffizienten Beta	Signifikanz T	Signifikanz F	Bestimmtheitsmaß R ²	Korrigiertes R ²
Bestandesalter [Jahre]	0,0629	0,004	0,694	0,000	0,000	0,984	0,973
TRI [µg/kg FS], N1	1,755	0,348	0,195	0,011			
TETRA [µg/kg FS], N1	1,495	0,426	0,186	0,018			

Neben der unterschiedlichen Gesamtaktivität ist es auffallend, dass das Verhältnis der Umsatzraten der Phenolderivate (2,4,5-TCP/4-NP, 2,4,5-TCP/2-NP) zueinander von Probe zu Probe variiert (Abb. 2.31). Dies zeigt sich auch anhand der fehlenden Korrelationen zwischen den verschiedenen GT-Aktivitäten im identen Nadeljahrgang (Tab. 2.12, 2.13 im Anhang). Hieraus kann geschlossen werden, dass nicht ein einzelnes Enzym die verschiedenen Phenole unterschiedlich gut umsetzt, sondern dass in den Fichtennadeln verschiedene Isoenzyme der Glucosyltransferase vorliegen.

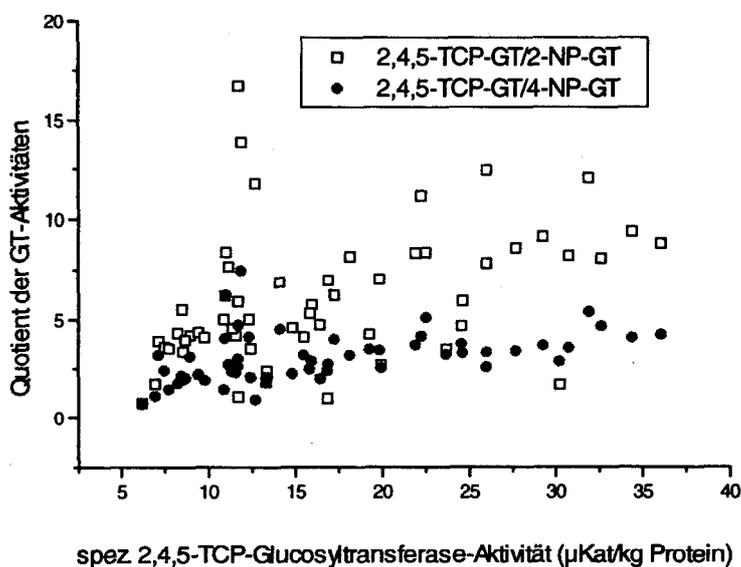


Abb. 2.31: Darstellung der Abhängigkeiten zwischen O-Glucosyltransferase-Aktivitäten in den beprobten Fichten: Beleg für die Präsenz unterschiedlicher Isoformen des Enzyms.

4 SCHLUSSFOLGERUNGEN ZU TEIL 2

An 25 verteilt über Österreich gelegenen Waldstandorten in emittentenferner Lage wurden Fichtennadelproben im Oktober 1995 geworben und auf die Aktivitäten von Entgiftungsenzymen (Glutathion-S-Transferasen, Glucosyltransferasen) sowie auf die Glutathiongehalte untersucht. Diese Analysen von pflanzenphysiologischen Wirkungsparametern sollten die in Teil 1 untersuchten Ergebnisse zur Belastung der Nadeln mit Nitrophenolen und halogenierten Kohlenwasserstoffen unterstützen.

Glutathion-S-Transferase-Aktivität (GST) in Fichtennadeln

Glutathion-S-Transferasen sind Entgiftungsenzyme für organische Schadstoffe, auch für solche, die aus der Luft in pflanzliche Gewebe aufgenommen werden können. Daneben können GST auch durch zahlreiche andere Stressoren, wie Trockenheit, Ozon, Pathogene und unspezifisch oxidativ wirkende Schadstoffe induziert werden, offenbar in einer Gesamtreaktion des Schwefel- und Entgiftungsstoffwechsels.

Erfahrungen der vergangenen Jahre haben gezeigt, dass die GST-Aktivität von Pflanzen und Tieren daher eventuell als Belastungsmarker herangezogen werden kann. Bevor aber die vorliegenden Befunde in dieser Art interpretiert werden, muss beachtet werden, dass die untersuchten Individuen sicherlich genetisch große Unterschiede aufweisen und dass auch standörtliche Parameter die Physiologie der Bäume beeinflussen können. Großteils fehlende oder nicht sehr ausgeprägte Korrelationen zwischen der GST-Aktivität der Nadeln und Standortparametern (z.B. Temperatur, Niederschlag, Seehöhe), den Nährstoffgehalten sowie den Nitrophenol- und CKW-Gehalten in den Nadeln lassen vermuten, dass eine Reihe weiterer, nicht erhobener Parameter einen maßgeblichen Einfluss auf die festgestellte GST-Aktivität haben dürften. Zu berücksichtigen ist hier auch, dass die nachgewiesenen Schadstoffkonzentrationen in den Nadeln besonders auch kutikulär gebundene Schadstoffe umfassen und somit nicht notwendigerweise mit den potentiell GST-induzierenden intrazellulären Schadstoffgehalten korreliert sind. Ein weiterer Aspekt, der hier zu berücksichtigen ist, ist der Umstand, dass als Modellsubstrate anhand derer die GST-Aktivität bestimmt wurde, methodisch bedingt andere Substanzen (z.B. Chlorbenzole, teilhalogenierte Aliphaten u.a.) herangezogen werden mussten als diejenigen Schadstoffe, die in den Nadeln analysiert wurden. Da die Substratspezifitäten der in den Nadeln vorhandenen GST-Isoenzyme nicht bekannt sind und auf diese Art nicht bestimmt werden konnten, ist es möglich, dass auch diese Verwendung von Modellsubstraten eine potentielle Ursache für fehlende bzw. nicht sehr ausgeprägte Korrelationen darstellen könnte.

Generell waren in der gegenständlichen Studie GST-Aktivitäten in allen Proben nachweisbar, wobei die ½-jährigen Nadeln signifikant höhere spezifische Aktivitäten aufwiesen als die 1½- und 2½-Jahre alten Nadeln. Offenbar besteht ein altersbedingter Unterschied in der spezifischen GST-Aktivität, der sich v.a. durch die Unterschiede der Proteingehalte in den einzelnen Nadeljahrgängen erklären lässt. Von Bedeutung ist dieses Ergebnis v.a. auch deshalb, weil in der vorliegenden Studie Zunahmen der CKW-Gehalte mit dem Nadelalter festgestellt wurden (siehe Teil 1), die möglicherweise mit diesem Unterschied in der GST-Aktivität zwischen den Nadeljahrgängen in Zusammenhang stehen.

Da ein Einfluss der klassischen Luftschadstoffe NO_x und SO_2 auf die Fichten in den entlegenen Gebieten aufgrund der geringen Quellstärke ausgeschlossen werden kann, wird vermutet, dass Photooxidantien und ihre Vorläufer, meist organische Verbindungen, via Ferntransport an die Standorte gelangen und dort als Stressoren auf Pflanzen einwirken (Rennenberg und Reuther 1991). Zu nennen sind in diesem Zusammenhang besonders die organischen Peroxide, aber auch chlorierte Kohlenwasserstoffe (CKW), die aufgrund ihrer Stabilität über weite Strecken verfrachtet werden können und gemäß den in Teil 1 darge-

stellten Ergebnissen auch deutlich in den Nadelproben nachweisbar waren. Sie sind aus experimentellen Versuchen als mögliche Induktoren und Substrate für GST bekannt. Teilweise erbrachte die vorliegende Studie Hinweise, die auf einen Zusammenhang zwischen CKW- bzw. Nitrophenol-Gehalt der Nadeln und der GST-Aktivität hindeuten: Bei einzelnen Nitrophenolen konnten Anstiege der GST-Aktivität mit Zunahme der Konzentrationen einzelner Nitrophenole in den Nadeln abgesichert werden. Bemerkenswert ist auch, dass jene Gruppe von Standorten mit höheren Trichloressigsäure-Anteilen bzw. -konzentrationen in den 2½-jährigen Nadeln signifikant höhere GST-Aktivitäten aufwies.

Glutathiongehalt (GSH, GSSG) in Fichtennadeln

Glutathion ist das häufigst auftretende Thiol in Lebewesen und macht unter normalen Bedingungen mehr als 90 % des wasserlöslichen Nicht-Protein-Thiols der Pflanze aus. Untersuchungen haben gezeigt, dass der Glutathiongehalt in der Pflanzenzelle sehr stark von physiologischen und äußeren Faktoren wie Schwefelgehalt, Temperatur, Verschmutzung, Schwermetalle und Xenobiotika beeinflusst wird. Dabei haben besonders Schwermetalle durch die Induktion von Phytochelatinen und die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies, sowie xenobiotische organische Schadstoffe durch die Bildung von GSH-Konjugaten einen großen Einfluss auf den Glutathiongehalt der Zelle. Unter normalen Bedingungen ist Glutathion in seiner reduzierten Form als GSH verfügbar, die oxydierte Form (GSSG) liegt in ihrer Konzentration etwa 10fach niedriger.

Aufgrund von Artefakten – vermutlich durch die Probenlagerung – konnten die Glutathiongehalte in ihren Absolutwerten nicht ausgewertet werden. Die Lagerung scheint jedoch alle Proben gleichermaßen und in vergleichbarem Umfang getroffen zu haben, so dass die vorliegenden Glutathionwerte in ihren relativen Gehaltsunterschieden zwischen den Standorten gültige Aussagekraft besitzen sollten und daher statistische Auswertungen gerechtfertigt erschienen. Auffällig an den Ergebnissen der vorliegenden Studie ist der signifikante Anstieg der Glutathion-Werte mit dem Schwefelgehalt und dem Alter der untersuchten Bäume. Anhand schrittweiser Regression ließ sich ein sehr hoher Anteil der Variabilität der Glutathiongehalte in den Nadeln mit dem Bestandesalter, den Zink- und Mangangehalten und der 2-Nitrophenolkonzentration der Nadeln in Zusammenhang bringen, wobei die GSH-Gehalte mit Zunahme des Alters der Bäume und Zunahme der 2-Nitrophenolgehalte sowie abnehmenden Zink- und Mangangehalten in den Nadeln ansteigen.

Glucosyltransferase-Aktivität (GT) in Fichtennadeln

Die Glucosyltransferasen (GT) repräsentieren eine große Gruppe von Enzymen des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels, deren natürliche Funktion in der Konjugation von Phenolen, Polyphenolen und anderen Naturstoffen liegt. Weiterhin werden GT den Entgiftungsenzymen der Phase II (Konjugation des Fremdstoffmoleküls mit hydrophilen, organismuseigenen Verbindungen) zugeordnet, da zumindest einige Isoformen auch die Konjugation von Glucose mit einem Spektrum hydrophober, elektrophiler Substrate wie Chlorbenzolen, Nitrophenolen und Harnstoffderivaten katalysieren.

Glucosyltransferase-Aktivität war in allen Nadelproben messbar und offenbar auf mehrere Isoenzyme verteilt, die unterschiedlich auf die Belastungssituation in situ bzw. Standortparameter reagierten. Dabei wurde deutlich, dass 2-Nitrophenol und 4-Nitrophenol wohl als Marker für die unterschiedlichen Enzyme herangezogen werden können, während Trichlorphenol von allen Isoformen als Substrat akzeptiert wird. Aufgrund dieser komplexen Zusammenhänge ist es im Augenblick noch nicht möglich, Vorhersagen zu machen, in wieweit phenolische Depositionen auf Nadeln die GT-Aktivität in Nadelextrakten, und die Enzymaktivitäten wiederum den Gehalt an luftgetragenen Phenolen in Nadeln beeinflusst. Ähnlich wie bei den Glutathiongehalten dürften jedoch Standortparameter, die Ernährung der Bäume

sowie die Belastung mit organischen Schadstoffen einen Beitrag zu den festgestellten Standortunterschieden der GT-Aktivität liefern. So zeigten sich anhand schrittweisen Regressionen statistisch absicherbare Zunahmen der GT-Aktivität in den ½-jährigen Nadeln mit Abnahme der Standorttemperatur, Zunahme des Alters der Bäume, Zunahmen der Nadelgehalte einzelner Nährstoffe (Calcium, Magnesium, Zink) und Zunahmen der Nadelkonzentrationen von chlorierten Kohlenwasserstoffen (Tetrachlorkohlenstoff, Trichlorethylen). Im Unterschied dazu dürften in den älteren Nadeljahrgängen – anhand der in Teil 1 beschriebenen Ergebnisse – eher die festgestellten standörtlichen Konzentrationsunterschiede bei einzelnen Nitrophenolen und chlorierten Kohlenwasserstoffen durch standörtliche Unterschiede der GT-Aktivitäten beeinflusst sein.

Insgesamt sind die festgestellten statistischen Zusammenhänge zwischen den Aktivitäten der Entgiftungsenzyme und den weiteren Untersuchungsparametern der vorliegenden Studie als vorläufige, empirische Befunde zu werten, die einer Überprüfung und Absicherung durch nachfolgende, aufbauende Untersuchungen bedürfen.

5 LITERATUR

- ANDERSON M.P. & GRONWALD J.W. (1989): Atrazine resistance in a velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) biotype due to enhanced glutathione S-transferase activity. *Plant Physiol.* 96, 104-109.
- 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.* 72, 248-254
- COUPLAND D. (1991): Detoxification of herbicides in plants. In: Cousins, Caseley & Atkin (Eds.) *Herbicide resistance in weeds and crops*. Wiley, New York, pp. 263-278.
- DANIEL V. (1993): Glutathione S-transferases: gene structure and regulation of expression. *Crit. Rev. Biochem. Molecul. Biol.* 28: 173-207.
- DE KOK L.J. (1990): Sulfur metabolism in plants exposed to atmospheric sulfur. In: Rennenberg H., Brunold C., De Kok L.J. & Stulen I. (eds.), *Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants*. SPB Scientific, The Hague, pp. 111-130.
- DE KOK L.J. & STULEN I. (1993): Role of glutathione in plants under oxidative stress. In: DeKok L.J. et al. (eds.) *Sulfur nutrition and assimilation in higher plants: regulatory agricultural and environmental aspects*. The Hague, SPB Acad. Publ, pp. 125-138.
- DEBUS R. & SCHRÖDER P. (1990): Responses of *Petunia hybrida* and *Phasaeolus vulgaris* to fumigation with difluoro-chloro-bromo-methan (Halon 1211). *Chemosphere* 21(12), 1499-1505.
- DEBUS R., DITTRICH B., SCHRÖDER P. & VOLLMER J. (1989): Biomonitoring organischer Luftschadstoffe. Aufnahme und Wirkung in Pflanzen. *Ecomed*, Landsberg.
- FORSTLICHE BUNDESVERSUCHANSTALT (1992): Österreichische Waldboden-Zustandsinventur. Mitteilungen der Forstlichen Bundesversuchsanstalt Wien, 168. Heft, Band I, II.
- FREAR D.S. (1976): Pesticide conjugation - glycosides. *ACS Symposium Ser.* 29, 35-54.
- FREAR S. & SWANSON H.R. (1973): Metabolism of substituted diphenylether herbicides in plants. I. Enzymatic cleavage of fluorodifen in peas (*Pisum sativum* L.) *Pest. Biochem. Physiol.* 3: 473-482.
- GALLANDT E.R. & BALKE N.E. (1995): Xenobiotic glucosyltransferase activity from suspension-cultured *Glycine max* cells. *Pestic. Sci.*, 43, 31-40
- HAAS M. (1997): Metabolisierung von Xenobiotika durch pflanzliche Zellkulturen und Enzyme. Dissertation TU München-Weihenstephan.
- HABIG W.H., PABST M.J. & JAKOBY W.B. (1974): Glutathione S-transferase. The first step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249, No. 22, 7130-7139
- HATTON P.J., DIXON D., COLE D.J. & EDWARDS R. (1996): Glutathione transferase activities and herbicide selectivity in maize and associated weed species. *Pestic. Sci.* 46, 267-275.
- HELLER W. & FORKMANN G. (1993): Biosynthesis of flavonoids. In: *The flavonoids. Advances in research since 1986*, (Harborne, J. B., ed.), 499-535, Chapman & Hall, London.
- HUNAITI A.A. & ALI R.B. (1990): The induction of chickpea glutathione S-transferase by oxadiazon. *Phytochemistry* 30, 2131-2134.
- HYDROGRAPHISCHES ZENTRALBÜRO (1998): *Hydrographisches Jahrbuch von Österreich 1995*. 103. Band, Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Wien.
- KNOOP F (1904): *Beitr. Chem. Physiol. Path* 6, 150 ff.
- KRISTÖFEL F. (1996): Terrestrische Kronenzustandserhebung und jährliche Änderungen. In: NEUMANN M. (Hrsg.): *Österreichisches Waldschadensbeobachtungssystem – Beiträge zum 4. WBS-Seminar in Wien am 23. November 1995*. Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien, FBVA-Bericht 93, 137-142.
- LAMOUREUX G.L. & FREAR D.S. (1979): Pesticide metabolism in higher plants. In vitro enzyme studies. In: Paulson G. D., Frear D. S. & Marks E. P. (eds.) *Xenobiotic metabolism: In vitro methods*, ACS Symposium series 97, 77-128, Washington D.C.

- LAMOUREUX G.L. & RUSNESS D.G. (1986): Xenobiotic conjugation in higher plants. In: Paulson G.D., Caldwell J., Hutson D.H. & Menn J.J. (eds.) Xenobiotic conjugation chemistry. 299, Am. Chem. Soc. Washington, pp. 62-105.
- LAMOUREUX G.L. & RUSNESS D.G. (1989): The role of glutathione and glutathione S-transferases in pesticide metabolism, selectivity and mode of action in plants and insects. In: Dolphin D., Paulson R. & Avramovic O (eds.) Glutathione: Chemical biochemical and medical aspects, Vol IIIB, Series: Enzyme and Cofactors. John Wiley and Sons, New York.
- LAMOUREUX G.L., RUSNESS D.G., SCHRÖDER P. & RENNENBERG H. (1991): Diphenyl ether herbicide metabolism in a spruce cell suspension culture: the identification of two novel metabolites derived from a glutathione conjugate. *Pest. Biochem. Physiol.* 39, 291-301.
- LAMOUREUX G.L., RUSNESS D.G. & SCHRÖDER P. (1993): Metabolism of a diphenylether herbicide to a volatile thioanisole and a polar sulfonic acid metabolite in spruce (*Picea*). *Pestic. Biochem. Physiol.* 47, 8-20.
- MESSNER B., SCHRÖDER P. & SANDERMANN H. Jr. (1996): Cell Suspension Culture of Spruce and Soybean: Induction of Trichlorophenol Glucosyltransferase Activity by Herbicide Safeners and Fungal Elicitor. *Plant Physiol. Biochem. Special Issue*, p 288
- MESSNER B. & BOLL, M. (1993): Elicitor-mediated induction of enzymes of lignin biosynthesis and formation of lignin-like material in a cell culture of spruce (*Picea abies*). *Plant cell, tissue and organ culture* 34, 261-269.
- MÜLLER J. (1990): Aromatic and chlorinated hydrocarbons in forest areas. In: H.W. Georgii, (ed.) Mechanisms and effects of pollutant transfer into forests. Kluwer Acad., pp. 133-139.
- MUTSCH F. (1994): pers. Mitteilung zu Daten, die im Rahmen der Waldbodenzustandsinventur (Forstliche Bundesversuchsanstalt 1992) sowie der Untersuchungen auf der Dauerbeobachtungsfläche Ackenkirch (Mutsch 1995) erhoben wurden. Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien.
- MUTSCH, F. (1995): Einstufung der Böden im Raum Achenkirch nach chemischen Parametern. In: HERMAN F. & SMIDT S. (Hrsg.): Ökosystemare Studien im Kalkalpin. FBVA-Berichte 87, 55-68.
- NEUMANN S., SCHWEINGEL M. & JACOB F. (1988): Mobilität von Xenobiotika in höheren Pflanzen. *Wiss. z. Univ. Halle XXXVII* 88 m. h. 1: 64-71.
- NEUMANN S.T., GRIMM E. & JACOB F. (1985): Transport of xenobiotics in higher plants. I. Structural prerequisites for translocation in the phloem. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 180: 257-268.
- NEUMANN M. (1995): pers. Mitteilung zu Daten, die im Rahmen des Waldschadensbeobachtungssystems (Kristöfel, 1996) erhoben wurden. Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien.
- PLÜMACHER J. & SCHRÖDER P. (1994): Accumulation and fate of C₁/C₂-chlorocarbons and trichloroacetic acid in spruce needles from an austrian mountain site. *Chemosphere* 29, 9-11, 2467-2476.
- RAUSER W.E. (1990): Phytochelatins. *Annu. Rev. Biochem.* 59: 61-86.
- REISCHL A., REISSINGER M. & HUTZINGER O. (1989): Organische Luftschadstoffe und ihre Bedeutung für die terrestrische Vegetation. *Z. Umweltch. Ökotox.* 2, 32-41.
- RENNENBERG H. & LAMOUREUX G.L. (1990): Physiological processes that modulate the concentration of glutathione in plant cells. In: Rennenberg H., Brunold C., De Kok L.J. & Stulen I. (eds.) Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants. SPB Scientific, The Hague, pp. 53-65.
- RENNENBERG H. & REUTHER M. (1991): Eintrag, Umwandlung und Wirkung von Luftschadstoffen in Bergwaldökosystemen der Alpenregion. Entwurf eines Forschungskonzepts für den Forschungsschwerpunkt Kalkalpen der PBWU. In: PBWU (ed.) 2. Statusseminar der PBWU zum Forschungsschwerpunkt Waldschäden, GSF Neuherberg.
- SANDERMANN H. Jr., SCHMITT R., ECKEY H. & BAUKNECHT T. (1991): Plant biochemistry of xenobiotics: Isolation and properties of soybean O- and N-glucosyltransferases for chlorinated phenols and anilines. *Arch. Biochem. Biophys.* 287, 341-350
- SANDERMANN H. (1992): Plant metabolism of xenobiotics. *Trends Biochem. Sci.* 17, 82-84

- SANDERMANN H. (1994) Higher plant metabolism of xenobiotics: the 'green liver' concept. *Pharmacogenetics* 4, 225-241
- SANDERMANN H., HAAS M., MESSNER B., PFLUGMACHER S., SCHRÖDER P. & WETZEL A. (1997): The role of glucosyl and malonyl conjugation in herbicide selectivity. In: Hatzios, K.K. (Ed.) *Regulation of enzymatic systems detoxifying xenobiotics in plants*. Kluwer Acad. Publ. The Netherlands, pp. 211-231
- SCHÄFER W. & SANDERMANN H. Jr. (1988): Metabolism of pentachlorophenol in cell suspension cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). Tetrachlorocatechol as a primary metabolite. *J. Agric. Food Chem.*, 36, 370-377.
- SCHMIDT B., EBING W. & SCHUPHAN I. (1988): Einsatz eines Pflanzenzellkultur-Tests zur Ermittlung der Metabolisierbarkeit von Pflanzenschutzmitteln. *Gesunde Pflanzen* 40: 245-249.
- SCHRÖDER P., LAMOUREUX G.L., RUSNESS D.G. & RENNENBERG H. (1990a): Glutathione S-transferase activity in spruce needles. *Pestic. Biochem. Physiol.* 37, 211-218.
- SCHRÖDER P., RUSNESS D.G. & LAMOUREUX G.L. (1990b): Detoxification of xenobiotics in spruce trees is mediated by glutathione S-transferases. In: Rennenberg H., Brunold C., DeKok L.J. & Stulen I. (eds.) *Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants*. SPB Acad. Publ. The Hague, pp. 245-249.
- SCHRÖDER P. & DEBUS R. (1991): Responses of spruce trees (*Picea abies* L. Karst) to fumigation with Halon 1211 – first results of a pilot study. In: Gorsuch J.W., Lower W.R., Lewis M.A. & Wang W. (eds.) *Plants for toxicity assessment*. ASTM, Philadelphia, pp. 259-266.
- SCHRÖDER P. & WEISS A. (1991): Uptake and detoxification of chlorinated hydrocarbons by spruce trees. In: Schwartz S.E. & Slinn G.W.N. (eds.) *Precipitation Scavenging and Atmosphere Surface Exchange*. Hemisphere Publ., 1011-1021.
- SCHRÖDER P. & RENNENBERG H. (1992): Characterization of glutathione S-transferase from dwarf pine needles (*Pinus mugo* Turra). *Tree Physiology*, 11, 151-160
- SCHRÖDER P. (1993a): Detoxification and metabolism of xenobiotics in *Picea* and *Pinus*. In: Schröder P., Frank H. & Rether B. (eds.) *Volatile organic pollutants: Levels, fate and ecotoxicological impacts*. Proc 2nd IMTOX-workshop. Wissenschaftsverlag Dr. W. Maraun, Frankfurt, pp. 108-117.
- SCHRÖDER P. (1993b): Plants as sources of atmospheric sulfur. In: De Kok L.J., Stulen I., Rennenberg H., Brunold C. & Rauser W.E. (eds.) *Sulfur nutrition and sulfur assimilation in higher plants*. SPB Acad. Publ. The Hague, 253-270.
- SCHRÖDER P. & BERKAU C. (1993): Characterization of cytosolic glutathione S-transferase in spruce needles. Part I: GST-isozymes of healthy trees. *Bot. Acta* 106, 301-306.
- SCHRÖDER P., BERKAU C., NATHAUS F.J., WEIß A. & WOLF A.E. (1993): Untersuchungen zur Aufnahme anthropogen emittierter Chlorkohlenwasserstoffe und deren Entgiftung durch Fichten vom Schwerpunktstandort Kalkalpen. Abschlußbericht PBWU, Schriftenreihe des Fraunhofer Instituts für Atmosphärische Umweltforschung 24/94, Wissenschaftsverlag Dr. W. Maraun, Frankfurt.
- SCHRÖDER P., NATHAUS F.J., LAMOUREUX G.L. & RUSNESS D.G. (1993): The induction of glutathione S-transferase and C-S lyase in the needles of spruce trees. *Phyton* 32, 125-130.
- SCHRÖDER P., BELFORD E.J., FISCHER C., GÖTZBERGER C., HASELMANN S., HERBST T., NEUBAUER J., PFLUGMACHER S. & WOLF A.E. (1996): Abschlußbericht zum Vorhaben „Immission, Aufnahme und Entgiftung von Xenobiotika in Fichten am Schwerpunktstandort Achenkirch. Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien.
- SCHRÖDER P. & BELFORD E.J. (1996): Untersuchungen zur Aktivität von Glutathion S-Transferasen in Nadeln von Fichten im Schulterberg- und Christlumprofil. Forstliche Bundesversuchsanstalt Wien, FBVA-Berichte 94, 75-82.,
- SCHRÖDER P. & GÖTZBERGER C. (1996): Partial purification and characterization of glutathione S-transferase isozymes from the leaves of *Juniperus communis*, *Larix decidua* and *Taxus baccata*. *Tree Physiology*, submitted.

- SCHRÖDER P. & WOLF A. (1996): Characterization of glutathione S-transferase from needles of spruce trees from a forest decline stand. *Tree Physiol.* 16 (5), 503-508.
- SCHRÖDER P. (1997): Fate of Glutathione S-conjugates in plants: Cleavage of the glutathione moiety. In: Hatzios K.K. (ed.) *Regulation of enzymatic systems detoxifying xenobiotics in plants*. Kluwer Acad. Publ. The Netherlands, pp. 233-244.
- SHIMABUKURO R.H. (1976): Glutathione conjugation of herbicides in plants and animals and its role in herbicidal selectivity. *The Asian-Pacific Weed Science Society*:183-186.
- SHIMABUKURO R.H. & WALSH W.C. (1978): Xenobiotic metabolism in plants: In vitro tissue, organ, and isolated cell techniques. In: Paulson G.D., Frear S.D., Marks E.P. (eds.) *Xenobiotic metabolism: in vitro methods*. ACS Symp Series 97, pp. 3-34
- TRIMBACHER C. & WEISS P. (1997): Wachstumsqualität, Nähr- und Schadstoffkonzentrationen von Fichtennadeln. Umweltbundesamt Wien, M-090.
- WETZEL A. & SANDERMANN H. Jr. (1994): Plant biochemistry of xenobiotics: Isolation and characterisation of a soybean O-glucosyltransferase of DDT metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.*, 314, 323-328.
- WIEGAND R.C., SHAH D.M., MOZER T.J., HARDING E.I., DIAZ-COLLIER J., SAUNDERS C., JAWORSKY E.G., & TIEMEIER D.C. (1986): Messenger RNA encoding a glutathione S-transferase responsible for herbicide tolerance in maize is induced in response to safener treatment. *Plant Mol. Biol.* 7, 235-243
- WINKLER R. (1991): Metabolisierung von Chloranilinen in Weizen (*Triticum aestivum* L.) und Soja (*Glycine max* L. Merrill) und im Weißfäulepilz *Phanerochaete chrysosporium* Burds. Dissertation, Universität München.
- WOLF A.E., DIETZ K.J. & SCHRÖDER P. (1996): A carboxypeptidase degrades glutathione conjugates in the vacuoles of higher plants. *FEBS Lett.*, 384, 31-34.

6 ANHANG

6.1 Korrelationstabellen

Tab. 2.11: Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den GST- bzw. Protein-Gehalten und anderen Parametern ($n = 25$ – mit Ausnahme der mit ^x gekennzeichneten Parameter; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

	GST CDNB N1	GST DCNB N1	PROT N1	GST SA CDNB N1	GST SA DCNB N1	GST CDNB N2	GST DCNB N2	PROT N2	GST SA CDNB N2	GST SA DCNB N2	GST CDNB N3	GST DCNB N3	PROT N3	GST SA CDNB N3	GST SA DCNB N3
GSTDCNB, N1															
PROTEIN, N1	,436	,352													
GSTSACDNB, N1		,288													
GSTSACDNB, N1	,285														
GSTCDNB, N2		,195	-,058		,215										
GSTDCNB, N2	,217	,073	-,251	,373	,178										
PROTEIN, N2	,097	-,225	-,325	,328	-,057	,424									
GSTSACDNB, N2		,217	,209	,348	,298		-,015								
GSTSACDNB, N2	,269	,279	-,044	,263	,250	,362			,319						
GSTCDNB, N3		,367	,064	,413	,275		,425	,262	,492	,378					
GSTDCNB, N3	,438	,152	,048	,296	,125		,217	,149	,471	,183					
PROTEIN, N3	-,118	-,116	,021	-,218	-,206	-,122	,223	,268	-,326	,125	,267	,175			
GSTSACDNB, N3	,524	,345	,028	,463	,337			,188	-,030	,260					
GSTSACDNB, N3	,439	,203	,030	,359	,202		,148	-,070		,243	,379				
GSH, N1 ^x	,177	-,164	,087	-,066	-,305										
GSSG, N1 ^x	-,137	-,423	-,096	-,078	-,417										
GSH, N2 ^x						,375	,098	,355	,017	-,223					
GSSG, N2 ^x						,194	,141	,306	-,009	-,094					
GSH, N3 ^x											,371	,600	,371	-,143	,486
GSSG, N3 ^x											-,086	,600	,486	-,371	,257
GTTCP, N1 ^x	-,500	-,500		,600	,367										
GT2NP, N1 ^x	,067	,100	-,367	,617	,733										
GT4NP, N1 ^x	-,200	-,167	-,200	,133	,100										
GTP, N1 ^x	-,283	-,283	,607	,617	,550										
GTTCP, N2 ^x						,378	,140	,329	,021	-,021					
GT2NP, N2 ^x						,126	-,203	-,098	,112	-,196					
GT4NP, N2 ^x						,112	,049	-,035	-,007	,161					
GTP, N2 ^x						,364	,175	,322	-,084	-,007					
GTTCP, N3 ^x											,189	-,042	-,364	,420	,175
GT2NP, N3 ^x											,210	,021	,070	,042	-,042
GT4NP, N3 ^x											,168	,119	-,077	,245	,189
GTP, N3 ^x											,056	-,069	-,266	,259	,105
T10 ¹	,216	,287	-,053	,108	,252	,186	-,010	,039	,099	-,143	,082	,044	,050	,010	,002
T5-10 ¹	,225	,255	,158	,022	,160	,111	-,020	,017	,080	-,098	,004	,159	-,069	,050	,120
T1-12 ¹	,263	,256	,194	,010	,122	,102	-,054	,009	,087	-,114	-,018	,184	-,045	,035	,152
NS10 ¹	-,099	,049	-,302	,184	,197	-,077	,264	,154	-,171	,268	,123	,037	,110	-,278	-,187
NSS-10 ¹	-,074	,124	-,217	,110	,182	-,158	,080	-,073	-,094	,136	,010	-,159	,130	-,078	-,186
NS1-12 ¹	-,152	,099	-,312	,114	,223	-,219	,080	-,025	-,195	,093	,027	-,218	,209	-,155	-,293
EN ^{x,2}	,407	,153	-,015	,507	,156	,427	,171	,258	,300	,087	,325	,203	-,330	,505	,322
ENPB ^{x,2}	-,002	-,079	,162	-,111	-,146	-,076	,092	-,050	,049	,156	,353	,351		-,365	-,060
TCM, N1	,078	-,065	,259	-,137	-,170										
TCE, N1	-,006	,209	,342	-,352	,007										
TETRA, N1	,073	-,063	,167	-,056	-,148										
TRI, N1	-,080	-,303	,278	-,348											
PER, N1	-,025	-,251	,112	-,072	-,308										
TCA, N1	,090	,145	,083	-,164	,066										
LHKW+TCA, N1	,157	,061	,385	-,380	-,195										
LHKW, N1	-,073	-,272	,165	-,167	-,322										
TCM, N3											-,083	-,113	,231	-,248	-,240
TCE, N3											-,196	-,226	-,153	,005	-,106
TETRA, N3											-,173	-,077	,207	-,266	-,165

Tab. 2.11: Fortsetzung

	GST CDNB	GST DCNB	PROT	GST SA CDNB	GST SA DCNB	GST CDNB	GST DCNB	PROT	GST SA CDNB	GST SA DCNB	GST CDNB	GST DCNB	PROT	GST SA CDNB	GST SA DCNB
	N1	N1	N1	N1	N1	N2	N2	N2	N2	N2	N3	N3	N3	N3	N3
TRI, N3											-,105	,012	,094	-,148	-,070
PER, N3											-,143	-,052	,205	-,236	-,119
TCA, N3											,252	,467*	-,109	,201	,366
LHKW+TCA, N3											,220	,402*	-,112	,193	,337
LHKW, N3											-,188	-,117	,118	-,219	-,170
2-NP, N1	,278	-,035	,114	,320	-,092										
4-NP, N1	,254	,071	-,285	,474*	,176										
4-M-2-NP, N1	,225	-,001	-,369	,481*	,134										
2,4-DNP, N1	,186		-,173	,338											
SUM NP, N1	,255	,068	-,204	,482*	,138										
2-NP, N2						,232	,216	,215	,039	,097					
4-NP, N2						,045		,321	-,203	,471*					
4-M-2-NP, N2						,041	,143	,075	-,010	,138					
3-M-4-NP, N2						,054	,370	,164	-,042	,392					
2,6-DM-4-NP, N2						,056	,140	,195	-,092	,064					
4-M-2,6-DNP, N2						,439*		,458*	,036	,399*					
6-M-2,4-DNP, N2						-,182	-,189	,024	-,129	-,205					
2,4-DNP, N2						-,177	-,240	,052	-,205	-,313					
SUM NP, N2						,066	,484*	,321	-,180	,431*					
SCL, N1	,199	,211	-,414*		,480*										
SCL, N2						,261	,412*	,352	,015	,283					
SCL, N3											,056	,065	-,285	,321	,264
pH(CaCl), O ³	,184	,337	,196	,100	,279	-,144	-,135	,004	-,188	-,208	-,125	-,340	-,139	-,004	-,297
pH(H ₂ O), O ³	,108	,268	,129	,105	,249	-,210	-,149	,013	-,257	-,233	-,202	,447*	-,159	-,027	-,360
pH(CaCl), B1 ³	,270	,437*	,315	,174	,369	-,127	-,138	-,136	,015	-,080	-,122	-,170	-,119	,012	-,114
pH(H ₂ O), B1 ³	,315	,407*	,306	,212	,351	-,090	-,056	-,085	,035	,001	-,101	-,111	-,110	,035	-,069
SEEHÖHE ²	-,162	-,232	-,091	,020	-,125	-,080	,053	,060	-,131	,057	-,050	-,175	-,035	-,001	-,098
BEST.-ALTER ^{x2}	-,191	-,400	,069	-,115	-,408	-,153	-,287	,006	-,150	-,244	-,391	-,168	-,158	-,117	-,036
WQ ^{x4}	-,341	-,246	-,173	-,126	-,118										
EPI ⁴	-,217	-,042	-,224	,006	,005										
S, N1 ^{x4}	-,255	-,354	-,144	-,261	-,311										
N, N1 ⁴	,102	-,163	,295	-,178	-,373										
Ca, N1 ⁴	,010	-,087	,016	,141	-,054										
K, N1 ⁴	,062	-,087	-,078	-,045	-,068										
Mg, N1 ⁴	-,179	-,231	-,227	,105	-,085										
P, N1	-,187	,452*	-,183	-,108	-,395										
Cu, N1 ⁴	,114	-,074	,122	-,002	-,062										
Zn, N1 ⁴	-,056	-,088	-,018	,055	-,033										
Mn, N1	,081	-,092	,030	-,210	-,302										
Fe, N1 ^x	-,044	-,065	,145	-,138	-,210										
Al, N1 ^x	-,107	-,305	-,196	-,010	-,275										
N100, N1	,162	-,012	,198	,000	-,168										
N100, N3 ^x											-,340	,515*	-,304	,045	-,283

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von Hydrographisches Zentralbüro (1998), ² Neumann (1995), ³ Mutsch (1994),
⁴ Trimbacher & Weiss (1997)

Tab. 2.12: Spearman-Rank Korrelationskoeffizienten zwischen den GSH-; GSSG- bzw. GT-Gehalten und anderen Parametern (n = 25 – mit Ausnahme der mit * gekennzeichneten Parameter; * p < 0,05, ** p < 0,01)

	GSH [*]	GSSG [*]	GSH [*]	GSSG [*]	GSH [*]	GSSG [*]	GT	GT	GT	GTP [*]	GT	GT	GT	GTP [*]	GT	GT	GT	GTP [*]	
	N1	N1	N2	N2	N3	N3	TCP [*]	2NP [*]	4NP [*]	N1	TCP [*]	2NP [*]	4NP [*]	N2	TCP [*]	2NP [*]	4NP [*]	N3	
GSSG, N1 [*]																			
GSH, N2 [*]	-.288	-.077																	
GSSG, N2 [*]	-.084	.238																	
GSSG, N3 [*]					.543														
GTTCP, N1 [*]	-.393	.321	.238	.357															
GT2NP, N1 [*]	-.357	.536	-.095	.179			.567												
GT4NP, N1 [*]	.429	.621	-.214	.500			.300	.517											
GTP, N1 [*]	-.393	.321	.000	.357															
GTTCP, N2 [*]	-.009	-.473	.107	-.771	.300	.500													
GT2NP, N2 [*]	-.173	-.391	.071	-.600	.600	.100				.385									
GT4NP, N2 [*]	.200	-.045	-.321	-.771	.300	.300				.154									
GTP, N2 [*]	.209	-.273	.071	-.714	.300	.500													
GTTCP, N3 [*]	-.517	-.483	-.357	.257						.200	-.700	-.100	-.300						
GT2NP, N3 [*]	-.467	-.550	-.214	-.143						.500	-.700	.000	-.200	.338					
GT4NP, N3 [*]	-.417	-.100	-.071	.314						.200	-.300	-.100	-.300	.338	.385				
GTP, N3 [*]	-.600	-.450	-.286	.257						.500	-.600	-.200	-.100						
T10 ¹	.364	.097	.320	-.041	-.200	.029	-.383	-.200	.722	-.467	.481	-.091	-.182	.442	.127	-.473	-.554		
T5-10 ¹	.217	-.162	.263	-.142	-.029	.314	.033	-.276	-.644	-.259	.437	.148	.092	.493	-.399	.210	-.140	-.315	
T1-12 ¹	.336	-.062	.152	-.144	-.029	.314	.000	-.310	.771	-.326	.452	.266	.203	.546	-.399	.126	-.091	-.301	
NS10 ¹	.139	.282	.182	.457	-.086	-.543	.243	-.427	-.017	-.142		-.309	.025	.111	-.141	-.337	.207	-.158	
NS5-10 ¹	-.388	-.061	-.132	-.285	-.203	.644	.017	-.100	-.267	-.150	-.375	.000	-.098	-.392	.098	-.182	.273	.105	
NS1-12 ¹	-.320	.066	-.051	-.121	-.371	.644	.050	-.267	-.300	-.217	-.462	-.161	-.196	-.483	.098	-.182	.217	.056	
EN ²	.182	.209	.345	.273	.000	-.300				.071	.000	.000	-.143	.250	.350	.217	.150		
ENPB ²	.326	.345	-.249	.042	.791	.316	-.414	-.613	-.072	-.468	.554	-.395	-.132	-.536	-.130	.407	.062	-.123	
TCM, N1	.021	.196					.050	-.233	.050	-.033									
TCE, N1	-.034	-.013					-.281	-.085	-.068	-.409									
TETRA, N1	-.080	-.041					-.427	-.008	.109	-.402									
TRI, N1	.340	.360					-.277	.165	.459	-.026									
PER, N1	-.020	.018					.050	.000	.367	.033									
TCA, N1	.218	.053					-.033	.150	-.150	-.083									
LHKW+TCA, N1	.326	.326					-.083	-.083	.100	-.167									
LHKW, N1	-.028	.154					.200	.133	.233	.233									
TCM, N3					.257	.257								.671	.084	-.399	.115		
TCE, N3					.087	-.029								-.232	.352	.000	-.169		
TETRA, N3					.086	.200								.000	.098	-.263	-.512		
TRI, N3					.486	.143								.171	.032	-.281	-.537		
PER, N3					.232	.290								.207	.243		.446		
TCA, N3					.600	.257								-.445	.175	-.151	-.308		
LHKW+TCA, N3					.657	.086								-.510	.182	-.126	-.378		
LHKW, N3					.086	.200								-.538	.210	-.070	-.385		
2-NP, N1	.121	.117					.400	.550	.417	.467									
4-NP, N1	-.228	-.241					.310	.117	-.385	.218									
4-M-2-NP, N1	-.234	-.167					.153	.077	-.528	.000									
2,4-DNP, N1	-.275	-.228					.136	.441	.034	.136									
SUM NP, N1	-.144	-.125					.233	.333	-.233	.250									
2-NP, N2			.235	.497							-.119	.504	.294	-.301					
4-NP, N2			.076	.109							.070	-.476	-.476	-.147					
4-M-2-NP, N2			.208	.376							.534	-.490	-.455	.282					
3-M-4-NP, N2			.037	.132							-.140	-.203	-.252	-.231					
2,6-DM-4-NP, N2			.201	.335							-.329	-.392	-.294	-.343					
4-M-2,6-DNP, N2			.053	-.121							-.515	.046	.112	-.410					
6-M-2,4-DNP, N2			.186	.300							-.343	.028	.126	-.252					
2,4-DNP, N2			-.226	-.100							.035	-.098	-.147	-.077					
SUM NP, N2			.130	.182							.014	-.469	-.462	-.182					
SCL, N1	-.131	-.037						.622	.378	.722									
SCL, N2			.061	.003							.070	.168	-.070	-.091					
SCL, N3					-.143	-.029								.364	-.007	.476	.455		
pH(CaCl), O ³	-.257	-.201	.170	-.362		-.543	.017	.250	-.167	-.033	.203	.217	.336	.336	-.126	-.462	-.161	-.175	

Tab. 2.12: Fortsetzung

	GSH ^x	GSSG ^x	GSH ^x	GSSG ^x	GSH ^x	GSSG ^x	GT	GT	GT	GTP ^x	GT	GT	GT	GTP ^x	GT	GT	GT	GTP ^x
	N1	N1	N2	N2	N3	N3	TCP ^x	2NP ^x	4NP ^x	N1	TCP ^x	2NP ^x	4NP ^x	N2	TCP ^x	2NP ^x	4NP ^x	N3
pH(H ₂ O), O ³	-,318	-,179	,256	-,221		-,714	,025	,251	,017	-,008	,217	,245	,266	,294	-,084	-,476	-,119	-,126
pH(CaCl), B1 ³	-,288	-,157	,013	-,250		-,543	,328	,605	,319	,345	-,049	,524	,600	,189	-,308	-,438	-,188	-,329
pH(H ₂ O), B1 ³	-,358	-,201	,048	-,218		-,486	,318	,594	,301	,318	-,042	,552	,600	,168	-,238	-,396	-,046	-,210
SEEHÖHE ²	-,321	,147	-,151	,169	-,086	-,200	,267	,600		,583	-,308	-,182	-,203	-,441	,301	-,301	,084	,245
BEST.-ALTER ^{x2}	,418	,284	-,372	-,335	,600	,714	,333	,143	,786	,333	-,018	,227	,273	,173	-,081	-,438	-,088	,014
WQ ^{x4}	-,164	-,170					,140	-,140	-,516	,096								
EPI ⁴	-,225	-,197					-,400	-,300	-,383	-,200								
S, N1 ^{x4}	,576	,622					-,165	,028	,633	,055								
N, N1 ⁴	,482	,380					-,602	,000	,338	-,265								
Ca, N1 ⁴	,484	-,125					,633		,400	,717								
K, N1 ⁴	,293	,110					,050	,533	,050	,133								
Mg, N1 ⁴	,011	,108						,367	,250	,583								
P, N1 ⁴	,332	,146					-,167	-,283	,167	-,100								
Cu, N1 ⁴	,090	,108					,283	-,417	,217	,083								
Zn, N1 ⁴	,498	-,081					,767		,600									
Mn, N1 ⁴	,510	,153					-,283	-,533	-,367	-,483								
Fe, N1 ^{x4}	,133	-,212					-,143	-,286	-,143	-,143								
Al, N1 ^x	,511	,195					,143	-,286	,095	-,143								
N100, N1	,165	,113					-,067	,167	-,267	,017								
N100, N3 ^x					-,800	-,200									,515	,166	,336	,552

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von Hydrographisches Zentralbüro (1998), ² Neumann (1995), ³ Mutsch (1994),
⁴ Trimbacher & Weiss (1997)

Tab. 2.13: Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen den GST-, Protein-, GSH-, GSSG- bzw. GT-Gehalten und anderen Parametern (normalverteilte Variablen, $n = 25$ – mit Ausnahme der mit ^x gekennzeichneten Parameter; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

	GST CDNB	GST SA CDNB	GST CDNB	PROT	GST SA CDNB	GST SA DCNB	PROT	GST SA CDNB	GSSG ^x	GT TCP ^x	GT 4NP ^x	GT TCP ^x	GT 4NP ^x	GT 2NP ^x	GT 4NP ^x
	N1	N1	N2	N2	N2	N2	N3	N3	N3	N1	N1	N2	N2	N3	N3
GSTCDNB, N2															
PROT, N2	,096	,110													
GSTSACDNB, N2	,465	,296													
GSTSACDNB, N2	,227	,280	,321		,245										
PROT, N3	-,038	-,225	-,195	,219	-,364	,101									
GSTSACDNB, N3	,325			,091		,171									
GSSG, N3 ^x	-,333	-,454	-,182	-,016	-,011	-,198	,273	-,528							
GTTCP, N1 ^x	-,485	,630	-,288	-,038	-,067	-,250	-,177	-,112							
GT4NP, N1 ^x	-,279	-,013	-,423	-,046	-,244	-,546	-,372	-,211	,282						
GTTCP, N2 ^x	,498	,331	,435	,353	,005	,022	-,355	,509	,271						
GT4NP, N2 ^x	,624	,214	,199	,185	-,148	-,069	,116	-,032	-,046		,358				
GT2NP, N3 ^x	,185	,163	,077	-,345	,365	,565	-,159	,409				,102			
GT4NP, N3 ^x	-,007	,144	-,134	-,227	,165	,235	-,169	,227				-,027	-,595	,503	
T10 ¹	,050	-,100	-,157	-,189	,062	-,262	,034	-,007	,210	-,466	,791	,224	-,180	,006	-,359
T5-10 ¹	,255	,029	,058	-,044	,091	-,122	-,039	,184	,350	-,283	,672	,441	,186	,197	-,119
T1-12 ¹	,273	,022	,041	-,049	,077	-,150	-,037	,176	,425	-,218	-,605	,508	,218	,164	-,058
NS10 ¹	-,092	,145	-,051	,251	-,234	,161	,403	-,350	-,541	,406	,064		-,029	-,186	,160
NS5-10 ¹	-,120	,093	-,075	,045	-,080	,282	,106	-,129	-,737	-,172	-,404	-,383	-,064	-,132	,029
NS1-12 ¹	-,207	,073	-,135	,070	-,178	,227	,156	-,183	-,762	-,058	-,436	-,477	-,192	-,089	,072
TCM, N1	,096	-,099								,353	,104				
TCE, N1	-,017	,432								-,294	-,072				
TCA, N1	,069	-,140								-,261	-,308				
LHKW+TCA, N1	,142	-,317								-,167	-,011				
TCM, N3							,208	-,199	,697					,005	-,332
TCE, N3							-,184	,137	,376					,606	,289
TETRA, N3							,191	-,202	,481					-,058	-,323
TRI, N3							,117	-,094	,504					-,042	-,330
2-NP, N1	,244	,116								,153	,106				
2,4-DNP, N1	,140	,346								,169	-,156				
2-NP, N2			,097	,166	-,038	,028						-,120	,343		
2,6-DM-4-NP, N2			,032	,077	,045	,089						-,312	-,308		
2,4-DNP, N2			,055	,236	-,188	-,354						,057	,125		
SUM NP, N2			-,026	,317	-,285							,068	-,220		
SCL, N1	,224										,207				
SCL, N2			,603	,469	,015	,272						,064	,081		
SCL, N3							-,201	,200	-,164					,142	,463
pH(CaCl), O ³	,120	,002	-,194	-,091	-,212	-,182	-,099	-,024	-,532	-,048	-,190	,147	,354	-,429	-,159
pH(H ₂ O), O ³	,035	-,009	-,241	-,109	-,244	-,201	-,091	-,088	-,541	-,068	-,146	,065	,303	-,475	-,259
SEEHÖHE ²	-,176	-,005	-,017	,060	-,064	,037	-,057	-,112	-,202	,205	,773	-,328	-,151	-,243	,011
BEST-ALTER ^{2,2}	-,193	-,106	-,150	-,064	-,108	-,281	-,105	-,139	,710	,427		,034	,201	-,546	-,053
Ca, N1 ⁴	,027	,113								,505	,274				
K, N1 ⁴	,145	,103								-,174	-,036				
Mg, N1 ⁴	-,191	,143								,707	,181				
P, N1 ⁴	-,207	-,134								,000	,380				
Cu, N1 ⁴	,125	,078								,344	,449				
Zn, N1 ⁴	-,118	,064													
Mn, N1 ⁴	,078	-,133								-,246	-,229				
N100, N1	,271	,002								-,151	-,265				
N100, N3 ^x							-,322	,186	-,120					,209	,381

Datenquelle:

¹ berechnet aus Daten von Hydrographisches Zentralbüro (1998), ² Neumann (1995), ³ Mutsch (1994), ⁴ Trimbacher & Weiss (1997)