

PFLANZENTOXISCHE ORGANISCHE SCHADSTOFFE UND ENZYMATISCHE REAKTIONEN IN FICHTEN EMITTENTENFERNER WALDSTANDORTE ÖSTERREICH

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 emittentenferner 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.

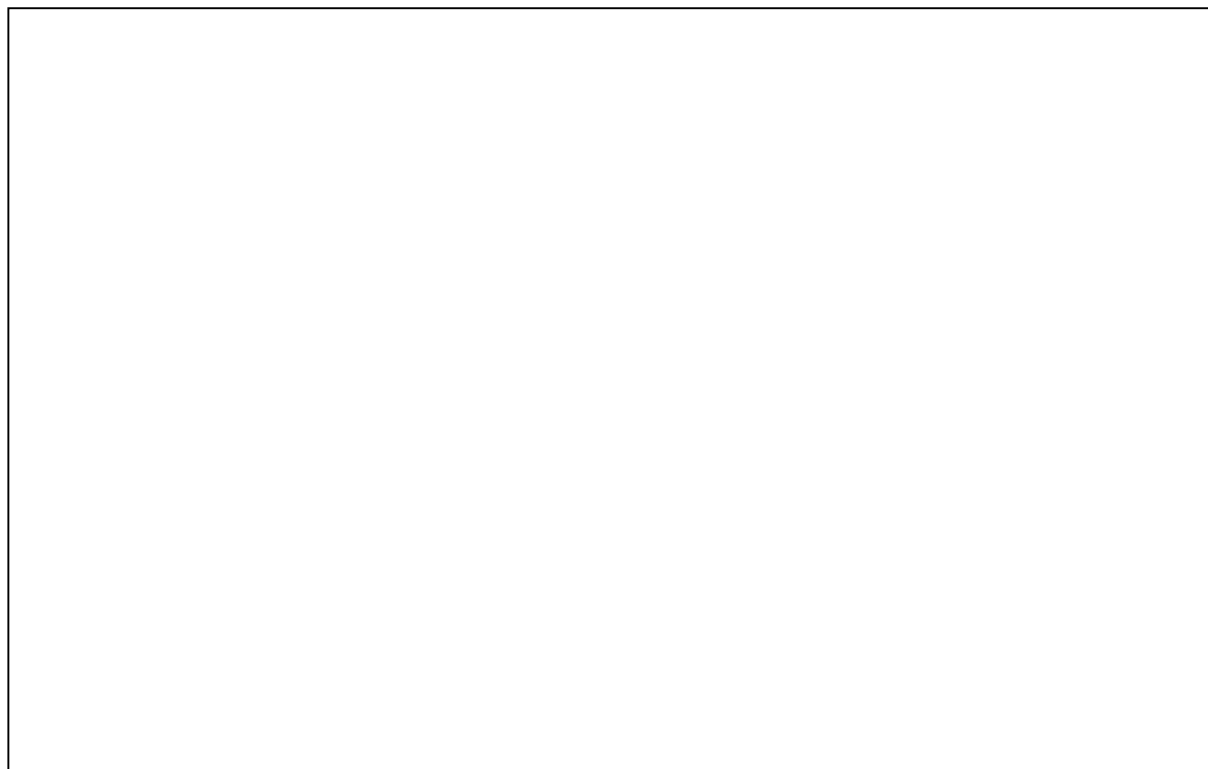


Abb. I: Lage der Untersuchungsstandorte

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 KOHLENWASSER- STOFFE, TRICHLORESSIGSÄURE UND NITROPHENOLE IN FICHTE NADELN	1
1 EINLEITUNG	1
2 METHODEN	3
2.1 Standortwahl, Probenahme, Proben transport 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 FICHTENNADELN70

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 Probestämme 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, Trichloressigsäure 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 (µg/kg FS)	18
Tab. 1.4:	Nitrophenolgehalte im 1. und 2. Nadeljahrgang (µg/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 (µg/kg FS)	29
Tab. 1.7:	Gehalte von leichtflüchtigen halogenierten Kohlenwasserstoffen und Trichloressigsäure im 1. und 3. Nadeljahrgang (µg/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 Probenmonat 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