Untersuchungen zur Ozonsensitivität von Photosynthese, Assimilation und Ertrag bei Weizen- (*Triticum aestivum* L.) und bei Rapspflanzen (*Brassica napus* L.) definierter Entwicklungsstadien

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität zu Köln

vorgelegt von

Ulrich Meyer

aus Gutweiler

Köln 1999

Berichterstatter: Prof. Dr. J. Willenbrink
Prof. Dr. G. Weißenböck

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Juli 1999

Herrn Prof. Willenbrink möchte ich für sein großes Engagement, sowohl wissenschaftlich als auch persönlich, bei der Durchführung dieser Arbeit danken.

Mein ganz großer Dank gilt Frau Dr. Köllner für ihre fachliche und persönliche Begleitung. Es hat Spaß gemacht.

Herrn Dr. Krause möchte ich für die Schaffung der wissenschaftlichen und materiellen Voraussetzung dieser Arbeit danken.

Bei Katja Piiper bedanke ich mich für die kompetente Hilfe bei Anzucht und Kultivierung der Versuchspflanzen.

Den Mitarbeitern der Gruppe 22 des LUA danke ich für die große Hilfsbereitschaft bei der Realisierung dieser Arbeit, besonders Herrn Westphalen und Marcel Buss für die Betreuung der Expositionskammern.

Besonderer Dank gilt Birgit Kernebeck für viele größere und kleinere Hilfestellungen.

Nicht zuletzt danke ich meinem persönlichen Umfeld, besonders Anke, Herta und Arnold, für Verständnis und Unterstützung.

Inhalt

Abkürzungen

1. Einleitung 1

2. Material und Methoden 12

2.1 Expositionssystem 12
2.1.1 Expositionskammern 12
2.1.2 Dosier- und Meßtechnik 14
2.2 Pflanzenmaterial 17
2.2.1 Weizen 17
2.2.2 Raps 18
2.3 Ozonexposition 19
2.4 Probennahme 22
2.4.1 Weizen 22
2.4.2 Raps 23
2.5 Pflanzenschutzmittel 23
2.6 Chemikalien 23
2.7 Künstliche Inokulation mit Mehltau 24
2.7.1 Mehltau (*Erysiphe graminis*) 24
2.7.2 Visuelle Bonitur der Befallsstärke 24
2.7.3 Cytologische Untersuchungen 24
2.8 Pigmentanalyse 25
2.8.1 Analyse nach Extraktion mit DMSO 25
2.8.2 SPAD-Messung 26
2.9 Zuckerbestimmung 28
2.9.1 Extraktion 28
2.9.2 Quantitative Zucker-, Stärke- und Fructananalyse 28

2.10 Fluoreszenzmessungen 31
2.10.1 Chlorophyllfluoreszenz als Indikator photosynthetischer Reaktionen 31
2.10.2 Das Meßprinzip des PAM-2000 Fluorometers 35
2.10.3 Messung der Fluoreszenz 37
2.10.4 Sättigungspulsmethode 38
2.10.5 Fv/Fm 40
2.10.6 Standardprogramm 41
2.10.7 Aufnahme von Lichtkurven 41
2.11 Ertragsbestimmung 42
2.11.1 Tausend-Korn-Gewicht des Weizens 42
2.11.2 Analyse des Fettsäuregehalts und der Fettsäurezusammensetzung des Raps 42
2.12 Statistik 43
2.12.1 T-Test 43
2.12.2 Korrelationsanalyse 43

3. Ergebnisse 44

3.1 Wirkung von Ozon auf Weizen 44

3.1.1 Pflanzenanzucht und Wachstum 44
3.1.1.1 Zur Bedeutung der Vorkultur 44
3.1.1.2 Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition 44
3.1.2 Wirkung von Ozon unterschiedlicher Konzentration und Dosis auf die Photosynthese und Assimilatgehalt in den Blättern des Sommerweizens in den Stadien der Jungpflanzen (EC 21), des Schossens (EC 41) und der Anthese (EC 61) 47
3.1.2.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente 47
3.1.2.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven 48
3.1.2.3 Einfluß auf den Kohlenhydrathaushalt 52
3.1.3 Wirkung einer auf drei Wochen ausgedehnten Ozonexposition auf die Photosynthese und den Assimilatgehalt in der Anthese (EC 61) von Sommer- sowie Winterweizen 55
3.1.3.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente 55

3.1.3.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven 56
3.1.3.3 Einfluß auf den Kohlenhydrathaushalt 59
3.1.4 Photosynthese und Assimilatgehalt der Fahnenblätter und ihre Änderungen im Laufe und nach Ende der Ozonexposition sowie der Einfluß auf den Ertrag von Sommerweizen 62
3.1.4.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente 62
3.1.4.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven 63
3.1.4.3 Einfluß auf den Kohlenhydrathaushalt 66
3.1.4.4 Ertragsparameter Tausend-Korn-Gewicht 68
3.1.5 Photosynthese und Pigmentgehalt der Fahnenblätter und ihre Änderungen im Laufe und nach Ende der Ozonexposition sowie der Einfluß auf den Ertrag von Winterweizen 69
3.1.5.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente 69
3.1.5.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven 71
3.1.5.3 Ertragsparameter Tausend-Korn-Gewicht 83
3.1.6 Einfluß unterschiedlicher Ozonbelastungssituationen auf den Befall von Weizen durch Mehltau 85

3.2 Wirkung von Ozon auf Raps 95

3.2.1 Pflanzenanzucht und Wachstum 95
3.2.1.1 Zur Bedeutung der Vorkultur 95
3.2.1.2 Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition 95
3.2.2 Photosynthesepigmente 96
3.2.3 Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen 98
3.2.3.1 Standardprogramm 98
3.2.3.2 Lichtkurven 102
3.2.4 Ertragsparameter 105
3.2.4.1 Ertrag der Rapssamen 105

3.2.4.2 Fettsäuregehalt und Fettsäurezusammensetzung 106

4. Diskussion 107

4.1 Zu den Methoden 107
4.2 Wirkung von Ozon in Konzentration und Dosis auf Photosynthese und Assimilatgehalt in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium des Weizens 111
4.3 Photosynthese und Assimilatgehalt der Fahnenblätter und ihr Verlauf während und nach der Ozonexposition des Weizens 114
4.4 Ozonexposition und der Ertrag von Sommer- und Winterweizen 118
4.5 Ozonbelastung und der Befall von Weizen durch *Erysiphe graminis* 120
4.6 Versuche zur Ozonwirkung auf Raps 123
4.7 Sind Fluoreszenz- und SPAD-Messung zur sicheren Detektion der Ozonwirkung auf Pflanzen geeignet? 128
4.8 Interpretationen zur Beurteilung von Richtwertableitungen zum Schutz der Vegetation 130

5. Zusammenfassung 132

6. Literaturverzeichnis 136

Abkürzungen

AA	Ascorbat (red.)
AAO	Ascorbatoxidase
ATP	Adenosintriphosphat
BImSchG	Bundes-Immissionsschutzgesetz
BImSchV	Bundes-Immissionsschutzverordnung
BSA	Rinderserumalbumin
Chl	Chlorophyll
cv.	Kultivar
d	Tag
DHA	Mono- und Dehydroascorbat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DSV	Deutsche Saatgutveredelung
DTT	Dithiothreitol
EC	**Eu**c**a**rpia = European Association for Research on Plant Breeding (international üblicher zweistelliger numerischer Code, der spez. Entwicklungsstadien des Getreides beschreibt)
EOTCP	European Open-Top Chamber Programme
ETR	Elektronentransportrate
Fo	Grundfluoreszenz
FG	Frischgewicht
Fm	maximale Fluoreszenzausbeute
Fv	variable Fluoreszenzausbeute
G-6-P	Glucose-6-Phosphat
h	Stunde(n)
INT	2-p-Iodphenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium-chlorid
IWF	interzelluläre Waschflüssigkeit
LED	lichtemittierende Diode
LUA	Landesumweltamt
min	Minute(n)
n	Anzahl der Parallelmessungen / Proben
NCLAN	National Crop Loss Assessment Network
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (red.)
ns	nicht signifikant
OTC	Open-Top Kammer
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PAN	Peroxyacylnitrate

PAM	Puls-Amplituden-Modulation
PAR	photosynthetisch-aktive Strahlung
PGI	Phosphoglucoisomerase
ppb	parts per billion (= nl l^{-1})
ppm	parts per million (= µl l^{-1})
PS I/II	Photosystem I/II
PSM	Pflanzenschutzmittel
Q_A	Plastochinon (an D2-Protein relativ fest gebunden)
qN	nicht-photochemischer Löschungskoeffizient
qP	photochemischer Löschungskoeffizient
RBB	Remazol Brilliant Blue R
RBV	Remazol Brilliant Violet 5R
Rubisco	Ribulose-Bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase
s	Sekunde(n)
SD	Standardabweichung
SPAD	Soil Plant Analysis Development
TG	Trockengewicht
TKG	Tausend-Korn-Gewicht
VOC	Volatile Organic Compounds (flüchtige organische Verbindungen)
w/v	weight per volume
Y	yield (hier: Gesamtquantenausbeute)

Umrechnung der Ozonkonzentration:

Unter Normalbedingungen ergibt sich für eine Ozonkonzentration von:

0.1 ppm ≅ 0.1 µl l^{-1} ≅ 100 ppb ≅ 100 nl l^{-1}≅ etwa 200 µg m^{-3}

[1 ppb = 2.14 µg m^{-3} bei 20 °C]

AOT40 (Critical Level for Ozone)

Als critical level wird jene Belastung definiert, bei deren Überschreitung mit negativen Auswirkungen zu rechnen ist (Fuhrer und Achermann, 1994). Für Ozon wurden im Rahmen von UN-ECE Workshops (11/93 Bern, 4/96 Kuopio) getrennt für landwirtschaftliche Kulturpflanzen und für Waldbäume kritische Belastungswerte definiert, und zwar auf der Basis einer 5 %- bzw. 10 %igen Reduktion des Ertrags von Weizen, bzw. der Biomasseabnahme von Waldbäumen. In beiden Fällen wird der O_3-Belastungswert als Summe der Stundenmittelwerte oberhalb 40 ppb berechnet (AOT 40).

1. Einleitung

Ozon wird nicht durch natürliche oder anthropogene Quellen in die Atmosphäre emittiert, sondern ausschließlich durch chemische Prozesse in der Atmosphäre gebildet.
90 % des Ozons befinden sich in der Stratosphäre. Die wichtigste Funktion des Ozons in der Stratosphäre für die Organismen auf der Erde ist die Absorption nahezu der gesamten ultravioletten Strahlung der Sonne im Wellenlängenbereich zwischen 230 und 295 nm. Langlebige Spurengase, die in der Troposphäre durch anthropogene Aktivitäten freigesetzt werden (FCKW, Halone), setzen in der Stratosphäre Radikale frei, die zur Ozonzerstörung führen. Die dadurch bedingte Zunahme der sog. UV-B-Strahlung (Wellenlängenbereich zwischen 280 und 320 nm) an der Erdoberfläche führt bei ausreichender Exposition zu Schädigungen bei Menschen, Tieren und Pflanzen (Enquete-Kommission „Schutz der Erdatmosphäre“ der Deutschen Bundestages, EK, 1994).

Bei Pflanzen führt UV-B-Strahlung zu Photoläsionen, besonders an Membranen. Der molekulare Mechanismus der UV-Schädigung im Protoplasma besteht in der Zerstörung der Disulfidbrücken in Proteinen und der Dimerisierung von Thymingruppen der DNA, was zu fehlerhafter Transkription führt. Außerdem inhibiert UV-Strahlung die Violaxanthin-Deepoxidase, so daß der Xanthophyllzyklus bei gleichzeitigem starken Licht wahrscheinlich seine Schutzfunktion nicht ausreichend erfüllen kann (Larcher, 1995). Allen und Mitarbeiter (1998) setzten sich kritisch mit der Frage auseinander, ob die erhöhte UV-Strahlung zu einer Hemmung der Photosynthese führt. Dabei muß zwischen direkten Mechanismen unterschieden werden, die die Photosynthese hemmen, und indirekten, die auf Änderungen der Entwicklung der Pflanze als Folge der UV-Strahlung zurückzuführen sind. Direkte UV-B-induzierte Hemmung der Photosynthese kann nur bei starker UV-Strahlung (40 kJ m^{-2} d^{-1}) beobachtet werden. Es kommt dabei primär zu einem Verlust an löslichen Enzymen des Calvin-Zyklus und zu adaxialem Stomaschluß bei amphistomatären Pflanzen. Aber auch unter diesen Bedingungen kommt es durch Adaptationsreaktionen (z.B. Induktion der UV-B absorbierenden Flavonoide) zum Schutz photosynthetischer Prozesse.
Die Temperaturstruktur und die Dynamik der Stratosphäre wird ebenfalls maßgeblich von Ozon beeinflußt.

Der Ozongehalt der Troposphäre (etwa 10 % des Gesamtozongehaltes) wird einmal durch den Eintrag ozonreicher Luftmassen aus der Stratosphäre und zum anderen durch photochemische Prozesse in der Troposphäre bestimmt. Ozon wird in der Troposphäre bei der durch Stickoxide (NO_x) katalysierten photochemischen Oxidation von CO, CH_4 und höheren Kohlenwasserstoffen gebildet. Die reaktiven VOC sind dabei für die Ozonbildung in den untersten Schichten der Troposphäre und die langlebigen Spurengase CO und CH_4 für die Ozonbildung in der freien Troposphäre von ausschlaggebender Bedeutung.

Die photochemische Ozonbildung in der Troposphäre wird im allgemeinen durch NO_x limitiert (EK, 1992). NO wandelt sich in der Atmosphäre mit Luftsauerstoff zu Stickstoffdioxid um. In den unteren Luftschichten erfolgt die Photolyse des NO_2 im Sonnenlicht (290-430 nm).

Der Ozonabbau findet in der Nacht durch Reaktion mit NO statt. Die Vorläufersubstanz dient also auch als „O_3-Fänger“ (scavenger).

Ozon absorbiert teilweise die von der Erdoberfläche zurückgestrahlte langwellige Strahlung und wirkt auf diese Weise auch als Treibhausgas.

Da es bei Inversionswetterlagen zur Entstehung von „Ozonpaketen“ in der Atmosphäre kommt, die über weite Entfernungen transportiert werden können, wobei fortlaufend weiter Ozon produziert wird, sind die mittleren Ozonkonzentrationen in emittentenfernen Gebieten häufig höher als in den Ballungsräumen (Bender und Weigel, 1995).

Um den anthropogen bedingten Eintrag von Stickoxiden zu reduzieren, ist das neue Bundes-Immissionsschutzgesetz (BImSchG) am 26. Juli 1995 in Kraft getreten. Im Kern sieht es Verkehrsverbote für nicht-schadstoffarme Fahrzeuge bei flächenhaft erhöhten Ozonkonzentrationen ab 240 $\mu g\ m^{-3}$ im Stundenmittel vor.

Bei anhaltender Zunahme der NO_x-Emissionen wird bis zum Jahr 2025 mit einer Verdreifachung der atmosphärischen Ozonbelastung in den industrialisierten Regionen Europas, Nordamerikas und des Fernen Ostens, in denen intensive landwirtschaftliche und industrielle Aktivitäten (die stark von fossilen Brennstoffen für die Produktion und den Transport der produzierten Güter abhängen), eng nebeneinander liegen, gerechnet. Ernste Ernteeinbußen in der Landwirtschaft wären die Folge, weil dann 30 bis 75 % der Getreideanbaugebiete der Erde während der Vegetationsperiode mit Ozonkonzentrationen von durchschnittlich 100 bis 140 $\mu g\ m^{-3}$ rechnen müssen (Chameides et al., 1994). Allein in den USA ergeben Schätzungen, daß sich mögliche Verluste durch gegenwärtige Ozonbelastungen bei der Produktion von einjährigen Pflanzen auf ca. 4.3 Milliarden Dollar belaufen (FAOSTAT, 1998).

Seit der Industrialisierung hat sich das mittlere Ozonmischungsverhältnis in den bodennahen Luftmassen der stark besiedelten Länder der Nordhemisphäre gegenüber dem vorindustriellen Zustand mehr als verdoppelt. Die durchschnittliche Ozonbelastung ist hier insbesondere in den ländlichen Gebieten am höchsten (Bell et al., 1993). Gegenwärtig ist davon auszugehen, daß bei unveränderten Emissionen der Vorläufersubstanzen die Ozonkonzentrationen der bodennahen Luftschichten mit einer Rate von 1-2 % pro Jahr weiter zunehmen werden (Bender und Weigel, 1995).

Die Schädigung der Vegetation durch Ozon wird seit über 30 Jahren untersucht und diskutiert. Erst in den letzten Jahren rücken Ozonepisoden, besonders in Hochdruckperioden, in europäischen Regionen in den Mittelpunkt des Interesses. Mittlerweile ist es unbestritten, daß die heute in Europa auftretenden Ozonepisoden eine Reihe von Effekten auf physiologische Prozesse der Pflanze verursachen, die zu reduzierter Photosynthese, Störungen des Kohlenstoffmetabolismus, der stomatären Leitfähigkeit, zur Erhöhung der Respiration sowie letztlich zu Ertragseinbußen führen können (Darrall, 1989; Reiling und Davison, 1994; Pleijel et al., 1995). Die Änderungen im Kohlenstoffmetabolismus bewirken eine bevorzugte Blattentwicklung gegenüber dem Wurzelwachstum, was bis zu einem gewissen Punkt die sinkende Nettoassimilationsrate kompensieren kann. Allerdings könnte die Wasseraufnahme aus Böden geringer Feuchte durchaus limitierend wirken (Darrall, 1989).

Bisher sind zur Wirkung von Ozon auf Pflanzen zahlreiche Zusammenfassungen bisheriger Untersuchungen erschienen. Neben eher allgemeinen Ausführungen von Sandermann (1996) zu Ozoneffekten auf die Vitalität der Pflanze, behandeln Kangasjärvi und Mitarbeiter (1994) ebenso wie Sandermann und Mitarbeiter (1998) besonders die durch Ozon verursachte Induktion des Abwehrsystems der Pflanze. Manning und v. Tiedemann (1995) widmen sich den Arbeiten und Beobachtungen über Wechselwirkungen zwischen Ozon und Krankheitserregern der Pflanzen. Besonders von v. Tiedemann und Mitarbeitern liegen epidemiologische Untersuchungen zur Krankheitsprädisposition durch Ozon auf pilzliche Blattkrankheiten beim Weizen vor (1990, 1992a, 1992b, 1994 und 1996; vgl. auch Bell et al., 1993). Gerade im Zusammenhang mit der Wirkung von Ozon als abiotischem Elicitor des Abwehrmechanismus der Pflanze erscheint dieser Punkt bemerkenswert (Sandermann et al., 1998).

Seit Anfang der achtziger Jahre wird Ozon als ein Mitverursacher der sogenannten „neuartigen Waldschäden“ angesehen (Prinz et al., 1982). Klima-, Boden-, Ernährungs- und biotische Streßfaktoren können die Bäume gegenüber SO_2-, NO_X-, O_3- und PAN- sowie anderen atmosphärischen Belastungen ebenso prädisponieren, wie umgekehrt die entsprechenden Immissionsbelastungen die Bäume gegenüber den genannten Streßfaktoren anfälliger machen (Bergmann, 1988). Schmieden und Wild (1995) fassen aus physiologischer Sicht Untersuchungsergebnisse der letzten Jahre zusammen, in denen chronische Ozonexposition als eine der primären Ursachen des Waldsterbens angesehen wird.

Ozon gilt daher inzwischen als der aggressivste und wichtigste Luftschadstoff. Ozon ist als Verursacher charakteristischer Krankheitssymptome bei verschiedenen Pflanzenarten bekannt (Lefohn und Manning, 1995). Makroskopisch ist eine Schädigung höherer Pflanzen durch Ozon an morphologischen Veränderungen (Zwergwuchs, Verkrüppelungen, Verkrümmungen, Blattepinastien), Verfärbungen, Chlorosen und Nekrosen erkennbar. Ein frühes Phänomen ist häufig das Auftreten von Wasserflecken („water logging“), die sich später in Nekrosen umwandeln (Elstner und Hippeli, 1995).
Cooley und Manning kommen 1987 in einer Zusammenstellung der Literatur zu dem Schluß, daß Ozon Veränderungen in der Assimilatverteilung hervorruft und das Pflanzenwachstum reduziert. Außerdem gilt allgemein als begründete Hypothese, daß die Speicherorgane der Pflanzen - d.h. die Organe, welche die Energie für das neue Wachstum in perennierenden Pflanzen wie Bäumen zur Verfügung stellen - diejenigen Organe sind, die von ozoninduzierten Änderungen im „Partitioning“ in erster Linie dann betroffen sind, wenn die Ozonkonzentrationen im Bereich der in belasteter Luft auftretenden Werte (110 – 150 $\mu g\ m^{-3}$) liegen.
Ozon wird von der Pflanzen im wesentlichen durch die Stomata der Blätter aufgenommen. Außenfaktoren wie Lufttemperatur, Lichtintensität, Windgeschwindigkeit oder die Verfügbarkeit von Wasser beeinflussen die Empfindlichkeit von Pflanzen gegenüber Ozon, vor allem über Veränderungen der Aufnahme durch die Stomata (Grandjean Grimm und Fuhrer, 1992). Für *Phaseolus coccineus* (Red Kidney) können McLaughlin und Taylor (1981) die relative Luftfeuchtigkeit als die wichtigste Regelgröße der Schadstoffaufnahme durch Pflanzen darstellen: Die Aufnahme von Ozon durch das Blatt wird durch eine Erhöhung der relativen Luftfeuchtigkeit von 35 auf 75 % auf das drei- bis Vierfache gesteigert. Daten aus Messungen zur stomatären Leitfähigkeit und zum Mesophyllwiderstand deuten auf geänderte Aufnahmeraten des Schadstoffs als primärer Ursache der Abhängigkeit der Ozonsensitivität

von der Luftfeuchtigkeit hin. Es ist bekannt, daß eine erhöhte CO_2-Konzentration der Außenluft selbst im Licht einen Stomaschluß induzieren kann. Balaguer et al. (1995) zeigen für Weizenpflanzen unter erhöhter CO_2-Konzentration (700 µmol mol^{-1}) eine Verringerung des Ozonflusses um 30 %, bedingt durch den erhöhten stomatären Widerstand. Ozon und CO_2 üben, so vermuten Balaguer et al., dabei einen additiven Effekt auf die stomatäre Leitfähigkeit aus, wobei die durch Ozon induzierten Wachstumsminderungen unter erhöhtem CO_2 denen unter ambienten Konzentrationen entsprechen (vgl. auch Barnes et al., 1995). Allerdings widerspricht Mansfield (1998) dieser These, in dem er auf den unter erhöhtem CO_2 unvollständigen Stomaschluß hinweist.

Ozon gelangt über die Stomata in den Interzellularraum. Erster Angriffspunkt auf zellulärem Niveau im Blatt ist natürlich die Plasmamembran (Mortensen und Engvild, 1995; Sandelius et al., 1995). Die Membranlipide und –proteine der Plasmamembran enthalten olefinische Doppelbindungen bzw. Thiole, die durch Ozon angegriffen bzw. oxidiert werden. Modellrechnungen von Urbach und Mitarbeitern (1989) zeigen, daß über 80 % des Ozons, das nach Diffusion im Apoplasten noch die Plasmamembran erreicht, dort abreagiert. Nur 18 % des Ozons erreicht das Cytosol, verschwindend wenig Ozon erreicht den Chloroplasten (2 %) oder erscheint in der Vakuole (0.2 %). Diese Simulationsrechnungen basieren im übrigen auf mathematischen Modellsystemen von Laisk et al. (1988a und b) für die SO_2-Aufnahme von Blättern.

Unter Freilandbedingungen werden *in planta* daher keine Ozonkonzentrationen erreicht, welche Chloroplasten im Mesophyll direkt beeinflussen (Elstner und Hippeli, 1995). Ozon schädigt die Plasmamembran bereits, bevor es die Chloroplasten, die ebenfalls sehr empfindlich auf Oxidantien reagieren (wie im Experiment mit isolierten Chloroplasten gezeigt wurde), erreicht.

Wenn Ozon über die Stomata in den Interzellularraum von Blättern gelangt, stellt die Entgiftung im Apoplasten die einzige Möglichkeit dar, Plasmamembran und Cytoplasma vor Oxidation zu schützen. Ascorbat spielt hier eine Schlüsselrolle, im Gegensatz zu Glutathion (GSH), das hier nicht oder nur in geringer Konzentration vorkommt (Vanacker et al., 1998). Ascorbat dient dabei als Radikalfänger und wird durch Ozon zu Dehydroascorbat (DHA) oxidiert. Zur Reduktion von DHA wird Glutathion benötigt. Das Produkt, Glutathion-Disulfid (GSSG), wird durch die Glutathion-Reduktase unter NAD(P)H-Verbrauch reduziert. Dieser sog. Glutathion-Zyklus läuft im Chloroplasten, aber auch im Cytoplasma von Blättern ab. Phenolische Komponenten, α-Tocopherol (Vitamin E) und Carotinoide sind weitere

Bestandteile des pflanzlichen Abwehrsystems gegen oxidativen Streß. Polle (1997) gibt eine Übersicht der Pflanzenabwehr gegen oxidative Schädigung durch hydrophile und lipophile Metaboliten mit antioxidativer Kompetenz. Speziell mit der antioxidativen Abwehr im Apoplasten setzen sich Vanacker und Mitarbeiter (1998) auseinander: Sie weisen im Apoplasten der Blätter von Gerste und Hafer die Aktivität von Superoxid-Dismutase (SOD), Katalase, Ascorbat-Peroxidase, Dehydroascorbat-Reduktase, Monodehydroascorbat-Reduktase sowie anscheinend sogar von Glutathion-Reduktase nach.

Man kann bereits aus dem vorher Gesagten schließen, daß Pflanzen unter erhöhtem atmosphärischen Ozon Stoffwechselreaktionen erkennen lassen, noch ehe eine akute oder gar chronische Schädigung nachgewiesen werden kann. Diese Reaktionen umfassen etwa Aktivitätsänderungen von Enzymen, die mit den allgemeinen Abwehrmechanismen der Pflanze verbunden sind. Die Aktivitäten der Superoxid-Dismutase (SOD) und Peroxidase, die die Zelle vor oxidativer Schädigung durch Hydroxylradikale, H_2O_2 und Superoxide schützen, steigen an. Ozonexposition verursacht oft einen starken Anstieg des Phytohormons Ethylen, ebenso Veränderungen im Polyaminstoffwechsel sowie steigende Aktivitäten verschiedener Enzyme des Phenylpropanoid- und Flavonoid-Stoffwechsels (Kangasjärvi et al., 1994; Langebartels et al., 1991).

Ozon induziert die Gene verschiedener pathogenabhängiger (PR) Proteine (Sandermann et al., 1998). Hierzu zählt man die β-1,3-Glucanase und die basische Chitinase (Ernst et al., 1992 und 1996). In den als Bioindikator eingesetzten Tabakpflanzen korreliert die Akkumulation von β-1,3-Glucanase mRNA mit der Ethylenbildung (Ernst et al., 1992). Die ozoninduzierte Erhöhung der Genexpression der β-1,3-Glucanase und der basischen Chitinase (Schraudner et al., 1992) führt tatsächlich zur Erhöhung der Aktivitäten dieser Enzyme (Thalmair et al., 1996), wie ebenfalls für Tabakpflanzen gezeigt werden konnte.

In meinen Untersuchungen zur Wirkung von Ozon auf Pflanzen stand der Weizen im Vordergrund. Die Kultur des Weizens als einer unserer ältesten Kulturpflanzen beginnt ca. 7000 v. Chr. in Vorderasien (Heun et al., 1997). Unter allen Getreidearten nimmt Weizen inzwischen hinsichtlich Anbaufläche und Produktion die Spitzenstellung ein. Zunächst wurde ein Sommerweizen ausgewählt, weil dieser in seinem Ertrag relativ empfindlich auf Ozon reagiert. Weizen wird nach der Klassifizierung des VDI (Norm VDI 2310 Bl.1, 1988), die die relative Empfindlichkeit von landwirtschaftlichen Kulturpflanzen gegenüber Ozon beurteilt, zu den besonders empfindlichen Pflanzenarten gerechnet.

Sommerweizen, im Langzeitversuch in Open-Top Kammern unter verschiedenen Ozonkonzentrationen angezogen, zeigt reduziertes Wachstum und Ertragsminderungen (Fangmeier et al., 1994). Die Pflanzen wurden bei Aktivkohle-gefilterter Luft, bei Außenluft und bei der zwei- bzw. dreifachen ambienten Ozonkonzentration kultiviert. Bestätigt wurden hier frühere Untersuchungen von Fuhrer et al. (1989), die unter ähnlichen Bedingungen über Ertragseinbußen sowohl in der Korngröße als auch in der Kornzahl berichteten. Weizenblättern reagieren auf Ozonexposition mit vorzeitiger Seneszenz, was mit einem Verlust an Protein, Pigmenten und Photosynthesekapazität einher geht (Lehnherr et al., 1987; Nie et al., 1993; Soja und Soja, 1995).

Aus diesen Berichten sowie den Erkenntnissen über die Aktivierung pflanzlicher Abwehrenzyme läßt sich bereits schließen, daß Ozon auch beim Weizen das Wachstum beeinträchtigt. Bereits 1987 konnten Cooley und Manning diesen Schluß aus der bis dahin vorliegenden Literatur ziehen. Die Wachstumshemmung könnte ursächlich mit Veränderungen in der Assimilatverteilung verknüpft sein. Heute gilt es allgemein als kaum strittig, daß die Speicherorgane der Pflanze bzw. "sink"-Gewebe diejenigen Bereiche sind, die am stärksten von ozoninduzierten Änderungen im "Partitioning" betroffen sind, wenn Ozon in Konzentrationen einwirkt, die im Bereich der in Ozonepisoden üblichen liegen. Dies haben für Weizen bereits die Arbeiten von Fuhrer et al. (1989) und von Fangmeier et al. (1994) in der Ertragsminderungen gezeigt. Es gibt zudem gute Gründe für die Annahme, daß die häufig gemessene Hemmung der Photosynthese unter Ozonbelastung eher indirekt verursacht wird, nämlich als Folge einer Störung der Phloembeladung auf Grund von Membranschädigung (Heath, 1987; Mortensen und Engvild, 1995). Die Ozonempfindlichkeit der einzelnen Entwicklungsstadien von Kulturpflanzen ist gut belegt. Für Weizen wurden ebenso wie für Bohnen (Vandermeiren et al., 1995) frühere Vermutungen bestätigt, daß vor allem die Anthesephase sensitiv reagiert (Sandelius et al., 1995). Diese altersabhängige Sensitivität erkennt man bereits bei einem Vergleich zwischen Weizenblättern unterschiedlichen Alters (Nie et al., 1993): das Fahnenblatt des Weizens würde danach am empfindlichsten zur Zeit des intensivsten Assimilatexports (in die Ähre) reagieren, wie inzwischen für Weizen von Ojanperä et al. (1998) geschlossen wurde.

Untersuchungen von Rao und Mitarbeitern am Weizen (1995) führen zu dem Schluß, daß eine Ozonexposition unter normalen Kohlendioxidkonzentrationen die photosynthetisch aktiven Pigmente, die löslichen Proteine und speziell die Rubisco verringert sowie oxidative Schädigungen an Proteinen hervorruft. Diese Veränderungen werden nicht unter erhöhten Kohlendioxidkonzentrationen beobachtet ([CO_2]: 390 / 800 ppb, [O_3]: 260 µg m^{-3}, 8 h

während der Photoperiode für 5 Wochen). Ozon verstärkt anfangs die spezifische Aktivität der SOD, Peroxidase, Glutathion-Reduktase und Ascorbat-Peroxidase, unabhängig davon, ob das Wachstum unter normaler oder unter erhöhter Kohlendioxidkonzentration erfolgt.

Vielfach diskutiert wurde eine ozonbedingte Änderung in der Assimilatverteilung als Ursache für reduziertes Pflanzenwachstum, belegt bis etwa 1995 allerdings nur durch recht spärliche Daten. Da Laisk et al. 1989 zeigen konnten, daß die Chloroplasten im Mesophyll durch exogenes Ozon nicht unmittelbar geschädigt werden, ist heute weithin die Plasmamembran (der Mesophyllzellen) als direkter Angriffsort akzeptiert (Willenbrink und Schatten, 1993; Mortensen und Engvild, 1995; Sandelius et al., 1995), eine im übrigen durch die Messung von Antioxidantien im Apoplasten als Teil eines Abwehrsystems gegen Sauerstoffradikale unterstützte Vorstellung (Luwe und Heber, 1995). Der Anstieg an Saccharose in Blattzellen unter artifiziell reduzierter „Sink-Strength“ kann, wie Jang und Sheen (1996) sowie Pollock und Farrar (1997) diskutieren, zur Absenkung der Photosyntheserate führen. Eine solche indirekte Photosynthesehemmung wurde bereits 1987 von Heath als Folge einer Störung der Phloembeladung durch ozonbedingte Schädigung der Plasmamembranen der Blattzellen für sehr wahrscheinlich gehalten.

Wie im vorstehenden skizziert, sind ozonbedingte Schäden unterschiedlicher Stärke und Ausprägung an zahlreichen Pflanzenspecies, unter anderem an vielen Kulturpflanzen nachgewiesen worden. Erwartungsgemäß treten solche Schäden erst auf, wenn eine bestimmte Konzentration und über einen längeren Zeitraum hinweg eine Dosis auf die Pflanze einwirkt, welche die Kapazität der erwähnten Entgiftungsmechanismen für das in der Atmosphäre ja auch natürlicherweise vorkommende Ozon übersteigt. Die bloße Feststellung einer ozonbedingten Reaktion befriedigt nicht. Man ist daher bemüht, definierte Arten oder einzelne Kultivare von Nutzpflanzen unter naturnahen, gleichwohl reproduzierbaren Bedingungen anzuziehen und nach ebenfalls strikt reproduzierbarer Ozonexposition Änderungen solcher biochemischer und physiologischer Parameter zu erfassen, die Hypothesen zur Ätiologie der ozonbedingten Wachstumsminderung zu verifizieren oder zu falsifizieren gestatten. Gleichzeitig muß man aber bei einer „praxisnahen“ Untersuchung anstreben, zuverlässige und für die Agrikultur relevante Daten über Ertragszahlen von Kulturpflanzen zu erhalten, die realistischen anthropogen bedingten Ozonepisoden ausgesetzt waren. Des weiteren sollten verläßliche und gleichzeitig unter „Praxisnähe“ durchführbare

Meßverfahren erprobt werden, die eine „Frühindikation“ sich anbahnender Schäden vorausgegangener Ozonbelastung erlauben.
Versuchspflanze der vorliegenden Arbeit war in erster Linie *Triticum aestivum* L., und zwar zunächst eine Sommerweizensorte, deren Ozonsensitivität selbst unter den insgesamt empfindlichen Nutzgräsern als besonders ausgeprägt gilt (vgl. auch Bender und Weigel, 1995). Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand der Einfluß von Ozon auf Photosynthese und Assimilatverteilung bei einem gängigen und auch ertragsstabilen Kultivar. Das Experimentalprogramm wurde in Zusammenarbeit zwischen dem Botanischen Institut der Universität und dem Landesumweltamt NRW (LUA) Essen entwickelt. Anzucht, Kultur und kontrollierte Ozonexposition sowie sämtliche *in vivo*-Messungen konnten in der für derartige Arbeiten eingerichteten Außenstation des LUA in Essen-Kettwig durchgeführt werden.

Im Vordergrund standen folgende Fragen:

1. **Wie wirken sich kurze Ozonepisoden mit hohen Spitzenkonzentrationen im Vergleich zu konstanten Dauerbelastungen auf Photosynthese, Assimilatverteilung und Ertrag aus?**

Am LUA gab es erste Kenntnisse mit anderen Nutzpflanzen aus orientierenden Experimenten und unterschiedlichen Resultaten. Die Ozonexposition wurde auf einen Zeitraum von bis zu drei Wochen beschränkt. In den Versuchsplan wurden realistische Spitzenkonzentrationen, d.h. in bestimmten Wetterlagen mittags in NRW tatsächlich meßbare „Peak“-Konzentrationen, und im Vergleich „chronische“ Expositionen geringerer Konzentration, aber gleicher Gesamt-Ozon-**Dosis** einbezogen. Es war nicht geplant, Expositionen unter gleichzeitig erhöhter CO_2-Konzentration durchzuführen. Die erzielten Ergebnisse sollen im Rahmen der derzeit gültigen Bewertungsmaßstäbe der Wirkung von Ozon auf Pflanzen diskutiert werden. Sommerweizen steht im Mittelpunkt nordamerikanischer und europäischer Forschungsprogramme zur Auswirkung von Ozon auf Kulturpflanzen insgesamt. Die Arbeit von Legge und Mitautoren (1995) gibt eine Übersicht über Richtwerte, Grenzwerte sowie „critical levels“ für Ozon beim Weizen. Die „critical levels“ sind dort definiert als „Konzentrationen, unterhalb derer nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Erkenntnisstand keine Schädigungen bei den betrachteten Rezeptoren zu erwarten sind“. Eine retrospektive statistische Analyse der Ergebnisse des U.S. NCLAN (National Crop Loss Assessment

Network) und des EOTCP (European Open-Top Chamber Programme) zeigt, daß die beobachteten Ertragsverluste mit der Häufigkeit des Auftretens mittlerer Ozonkonzentrationen in Zusammenhang gebracht werden können. Ergebnisse aus dem EOTCP weisen darauf hin, daß die Ozonempfindlichkeit von Sommerweizen weitgehend sortenunabhängig für verschiedene europäische Regionen gilt, wobei saisonale (8 h-Tagesmittelwerte) Ozonkonzentrationen im Bereich zwischen 80-100 µg m^{-3} bereits ertragsbeeinträchtigend wirken können (Bender und Weigel, 1995).

2. Ändert sich die Ozonsensitivität der Pflanze in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium?

Es war vorauszusehen – und teilweise auch aus der Literatur zum Weizen bekannt -, daß die Ozonempfindlichkeit stark entwicklungsabhängig ist. Deshalb mußte die Ozonexposition auf zwei Wochen bei Jungpflanzen und schossenden Pflanzen und auf maximal drei Wochen bei Pflanzen zu Blühbeginn begrenzt bleiben. Sämtliche Pflanzen mußten vor der Exposition in einem ozonfrei belüfteten Gewächshaus angezogen und nach der Exposition bis zur endgültigen Ernte unter gleichen Bedingungen weiterkultiviert werden. Über Fluoreszenzmessungen wurden Daten zur Photosynthese gewonnen, quantitative Analysen von Zuckern, Fructan und von Stärke blieben in ihrer Zahl vergleichsweise begrenzt, dennoch wurden für eine statistische Sicherung hinreichende Probenzahlen gewonnen.
Die Ergebnisse aus den ersten Versuchsserien waren, wie weiter unter dargestellt wird, in etlichen Punkten eindeutig (Meyer et al., 1997). Im gleichen Jahr erschien eine Arbeit von Bastrup-Birk und Mortensen (1997), in der ebenfalls für Sommerweizen die Anthese als besonders ozonsensitive Entwicklungsphase beschrieben wurde. Unser Programm wurde auf der Basis dieser ersten Daten präzisiert und gleichzeitig auf drei Kultivare des – agronomisch in unseren Breiten bedeutenderen – Winterweizen ausgedehnt. In den ersten Versuchsserien hatte sich die nicht hinreichende Temperaturstabilität des Gewächshauses für die Vorkultur als sehr ungünstig erwiesen – ein Manko, das durch geeignete Beschattungsanlagen in der Folgezeit behoben wurde.

3. Verändert Ozon die Empfindlichkeit der Pflanzen gegenüber pathogenen Pilzen?

Es erschien auf der Grundlage der vorausgegangenen Versuche besonders an Winterweizen reizvoll, die Wechselwirkung von Ozonstreß mit einem biotischen Streßfaktor zu studieren, dies um so mehr, als die Prädisposition durch einen abiotischen Streß wie etwa eine kurze Hitzeperiode während der Vorkultur die Antwort der Pflanze auf Ozon (Allokationsverschiebung, Photosynthesehemmung) verstärkt. Die Pflanzen werden hierzu vor der Ozonexposition mit dem obligat biotrophen Echten Mehltau (*Erysiphe graminis*) inokuliert und die dadurch hervorgerufenen Änderungen der Reaktion der Pflanze auf Ozon erfaßt. In einem weiteren Ansatz erfolgt die Inokulation mit *Erysiphe graminis* nach der Ozonexposition. Der Infektionsverlauf wird bonitiert, und es soll beobachtet werden, ob Ozonbegasung Änderungen der Abwehrreaktion der Pflanze gegen das Phytopathogen bewirkt.

4. **Sind die hier eingesetzten Parameter zur Untersuchung der Reaktion des Weizens auch zur Analyse der Ozonsensitivität anderer Nutzpflanzen (Beispiel Sommerraps) geeignet?**

Während Gräser und hier vor allem Weizenkultivare als ozonsensitiv gelten, ist dies nach Angaben in der älteren Literatur (vgl. Larcher, 1995) für *Brassicaceen* weniger der Fall. Im letzten Jahr dieser Untersuchung wurde daher der wirtschaftlich bedeutende Raps, *Brassica napus* L., in das Arbeitsprogramm aufgenommen, zumal über Ölsaaten im allgemeinen und zum Sommerraps im besonderen wenige Untersuchungen über Ozonwirkungen vorliegen, mit Ausnahme der erwähnten Publikation von Bastrup-Birk und Mortensen (1997), die als primäre Effekte einer Exposition des Raps gegen ambiente Ozonkonzentrationen ein verfrühtes Abwerfen der Blätter registrierten.

2. Material und Methoden

2.1 Expositionssystem

2.1.1 Expositionskammern

Das Landesumweltamt (LUA) besitzt in Essen-Kettwig eine Anlage zur kontrollierten Exposition von Pflanzen mit Luftschadstoffen. Sie besteht aus zwölf Sechseckkammern. Jede Kammer weist eine Grundfläche von 3.85 m^2 bei einer Kantenlänge von 1.2 m und einer Höhe von 2.6 m auf. Eine Wanne aus Beton bildet das Fundament einer Kammer. Hierauf ist ein Edelstahlrahmen mit Glasscheiben montiert. An einer Seitenwand befindet sich eine Doppelflügeltür. Als Pflanzenstellfläche dient im Inneren der Kammer ein Drehteller, der aus Gitterrostsegmenten besteht und einen Durchmesser von 1.8 m hat. Ein außen angebrachter Getriebemotor sorgt über ein Treibrad im Inneren für sechs Umdrehungen pro Stunde. Zur Probennahme kann die Drehung des Tellers manuell gestoppt werden. An einem in der Mitte der Kammer befindlichen Stativ aus V2A-Stahl sind Ausleger für Probennahmeschläuche und Meßwertgeber angebracht.

An der Kammerdecke befindet sich eine mittig angebrachte Mischkammer der Zuluft. Unter der Kammerdecke ist ein zweiflügeliger Propeller angebracht. Dieser besitzt eine variable Drehzahlregelung und sorgt bei variabel einstellbarer Windgeschwindigkeit (0.5 - 1.5 m s^{-1}) für gleichmäßige Luftbewegung und Durchmischung. Bei einem Kammervolumen von 10 m^3 ergibt sich ein 30facher Luftwechsel pro Stunde. Die Verweilzeit der Luft in der Kammer liegt so bei zwei Minuten. Eine besonders bei ungünstigen Witterungslagen zu erwartende Wasserdampfkondensation an den Innenwänden der Kammer, die eine Reduktion des einfallenden Lichts verursachen könnte, wird durch den Ventilator verhindert.

Neben jeder Kammer befindet sich eine Einheit zur Luftversorgung und -filterung. Diese Einheit enthält auch die elektronischen Steuersysteme. Die Luftaufbereitung erfolgt in mehreren Schritten: Regenabweiser, Grobstaubfilter, Ventilator, Feinstaubfilter sowie drei Sorptionsfilter bestehend aus: Aktivkohle, Puratex, Aktivkohle mit KOH-Imprägnierung. KOH sorgt für die Neutralisation der sauren Anteile der Luft und für die Umwandlung von NO zu NO_2. NO wird sonst nicht gefiltert. Dabei stellt sich schnell ein Gleichgewicht zwischen CO_2 und Hydrogencarbonat ein. Der Luft wird also kein CO_2 entzogen. Die so gereinigte Zuluft wird dann in die Mischkammer geleitet.

Ein gemeinsamer großer Abluftventilator saugt die Abluft der zwölf Kammern ab. Die Kontrolle der vorgegebenen Luftmenge und die Erkennung von Störungen erfolgt durch Strömungswächter in Zuluft- und Abluftrohren. Zum Sicherheitsstandard gehören die automatische Abschaltung der Dosierung im Falle von Störungen und der vorgegebene schwache Unterdruck.

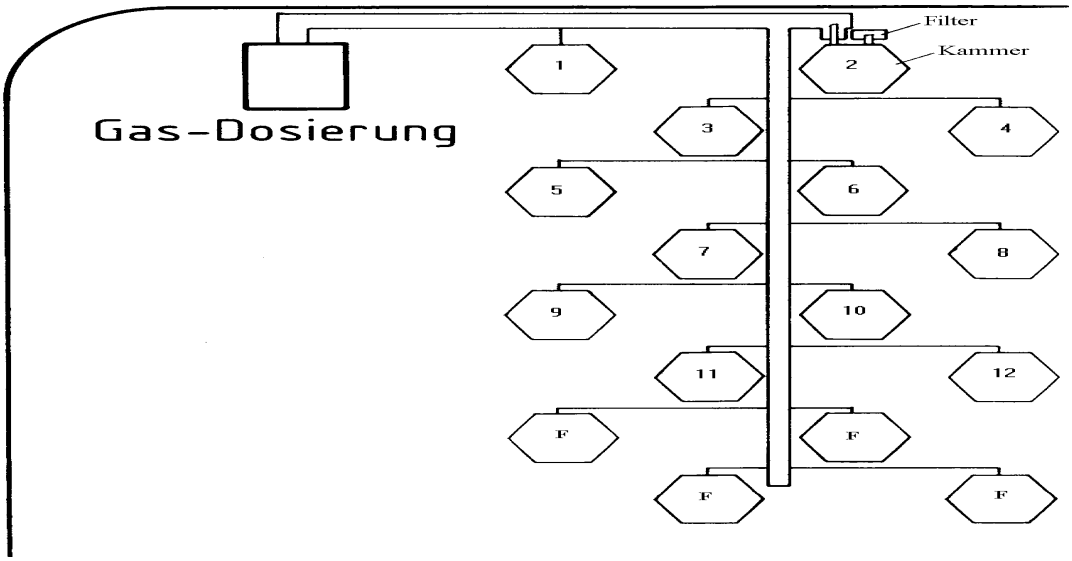

Abbildung 1: Lageplan der Expositionskammern der Außenstelle des LUA in Essen-Kettwig. Die hexagonalen Kammern sind von 1 bis 12 durchnumeriert. Zusätzliche Flächen sind zur Exposition von Pflanzen im Freiland vorgesehen (F). Die Kammer wurden versetzt angeordnet, um eine gegenseitige Beschattung zu vermeiden.

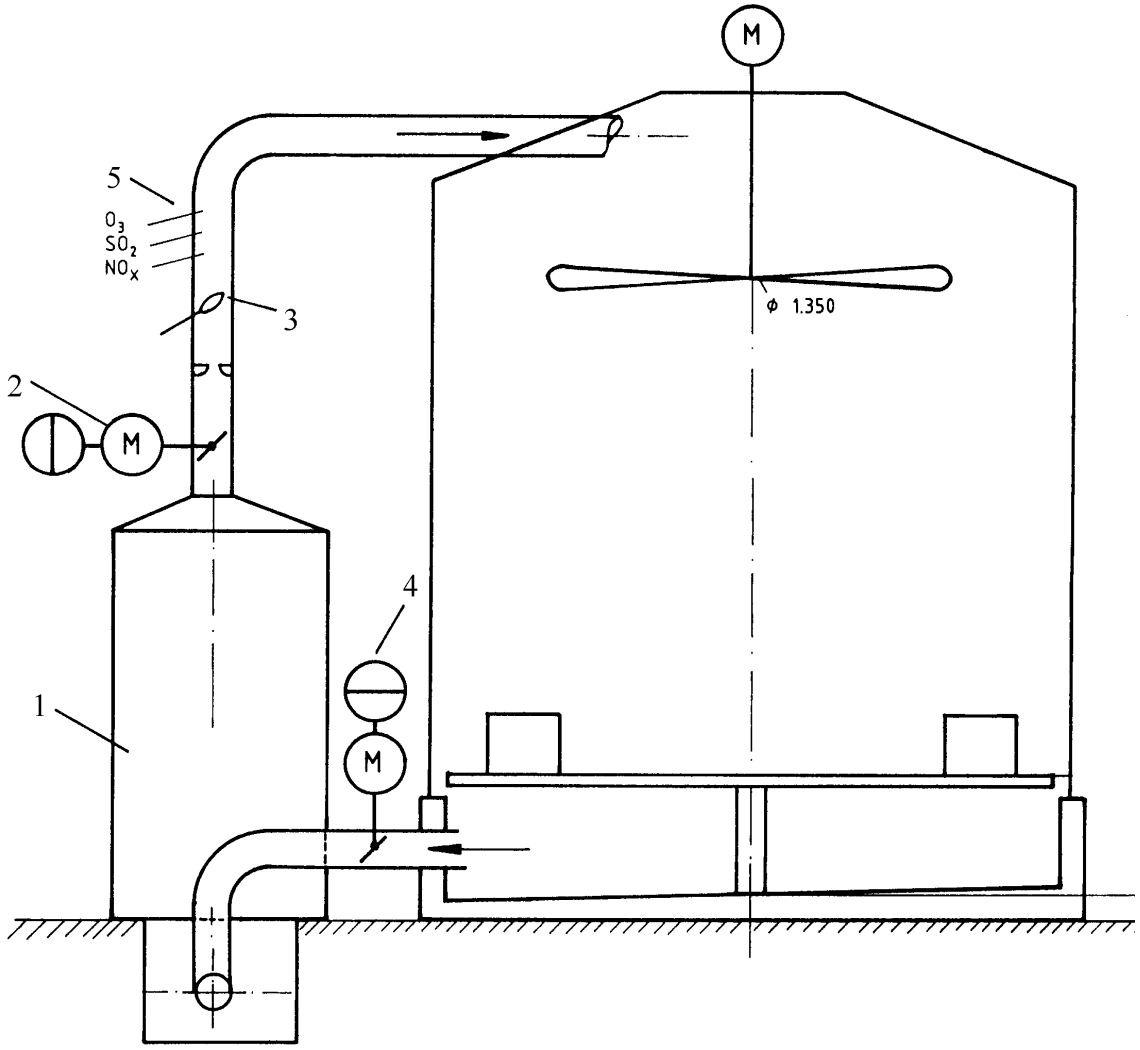

Abbildung 2: Schema einer Kammer mit Filter (1), Zuluftregler (2), Strömungswächter (3), Fortluftregler (4) und Schadgaszuführung (5).

2.1.2 Dosier- und Meßtechnik

Ein Ozonisator (Ozongenerator OG 5, VTU, Rheinbach) sorgt für die Bildung von Ozon aus reinem Sauerstoff.

In einem klimatisierten Meßcontainer werden die Konzentrationen der Gase SO_2, NO_x, und O_3 in der Kammerluft durch kontinuierlich arbeitende Meßgeräte bestimmt. Der Ozonanalysator arbeitet nach dem Prinzip der UV-Lichtabsorption durch Ozonmoleküle (Dasibi, Env. Corp., Colorado, Typ 1008). Diese werden mit vorgegebenen Sollwerten abgestimmt, die durch EDV-gesteuerte Massendurchflußregler dosiert werden. Mit Hilfe dieser Regeltechnik können die Kammern mit verschiedenen Ozonkonzentrationen und in unterschiedlichen Zeittakten versorgt werden.

Die Probenluft wird den Meßgeräten aus den Kammern über beheizte Teflonleitungen zugeführt. Die Konzentrationen der Gase SO_2 und NO_x in den Expositionskammern lagen stets unter der Nachweisgrenze.

Die Gaskonzentrationen aller Kammern und anschließend der Außenluft werden der Reihe nach bestimmt. Den Wechsel der Kammern vollziehen Teflonmagnetventile, die alle fünf Minuten weiter schalten. Drei Minuten dienen der Einstellung und zwei Minuten der Messung. Eine Kalibrierung der Meßgeräte erfolgt automatisch alle 23 Stunden. Beim Ausfall der Zuluft einer Kammer oder bei anderen Störungen an der Begasungsanlage erfolgt über den Rechner eine Alarmmeldung; an der betroffenen Kammer leuchtet eine Warnlampe auf.

Abbildung 3: Expositionskammer.

Abbildung 4: Blattkammer (2030-B, Heinz Walz) des PAM 2000.

2.2 Pflanzenmaterial

2.2.1 Weizen

Als Versuchsmaterial dienten neben Sommerweizen (*Triticum aestivum* L. cv. Nandu) die drei Winterweizensorten Ritmo, Contra und Kanzler. Die Sorte Nandu war von der Landwirtschaftskammer Münster empfohlen worden, weil sie in NRW häufig angebaut wird.
Die Aussaat des Sommerweizens erfolgte in Pflanzgefäßen (Firma Riviera). Diese Gefäße gestatten eine gleichmäßige Wasserversorgung der Pflanzen über ein Wasserreservoir. Als Substrat wurde ein Gemisch aus Einheitserde (ED 73) und Sand im Verhältnis 4:1 verwendet. Außerhalb des Zeitraums der Kammerexposition wurden die Pflanzen in einem Gewächshaus kultiviert. Durch Aktivkohle gefilterte Außenluft sorgte hier für ozonfreie Bedingungen (< 10 $\mu g\ O_3\ m^{-3}$).
Der Sommerweizen wurde in den Entwicklungsstadien EC 14, EC 31 und EC 61 (nach Tottman und Broad (1987), Beginn der Phasen: 4-Blatt-Stadium, Schossen und Blühen) einer zweiwöchigen Ozonexposition ausgesetzt (Abb. 5).
Der Winterweizen wurde im Frühjahr auf einem Feld bei Datteln, Westfalen, ausgegraben. Die Pflanzen befanden sich zu dieser Zeit im 3-Blatt-Stadium (= EC 13). Nach vorsichtiger Reinigung der Wurzeln mit Wasser wurden die Pflanzen ebenso wie der Sommerweizen in Riviera-Gefäßen weiter kultiviert. Eine Vernalisation war unter den Bedingungen des verfügbaren Gewächshauses nicht möglich.
Zur Interpretation der Ergebnisse der Versuche mit Mehltau ist die Kenntnis der Resistenzgene der einzelnen Weizensorten erforderlich. Die Resistenzgene werden aufgrund von visuell bonitierten Befallsreaktionen der Primärblätter nach Infektion mit spezifischen Mehltauisolaten identifiziert. Die vier hier verwendeten Kultivare besitzen nach der beschreibenden Sortenliste des Bundessortenamtes (1996) folgende Resistenzgene:
Nandu: Pm2
Kanzler: keine
Contra: Pm2, Pm4, Pm6
Ritmo: Pm2, Pm5, Pm6
Die Wirksamkeit der Resistenzgene und ihrer Kombinationen wird allgemein, d.h. hier nach Untersuchungen des Lehrstuhls für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der TU München wie folgt bewertet: Für Pm2 und Pm4 stabilisiert sich der Virulenzanteil in der Mehltaupopulation auf hohem Niveau. Der Sommerweizen Nandu besitzt demnach keinen ausreichenden

Mehltauschutz. Selbst Resistenzgenkombinationen der beiden Gene brachten kaum einen befriedigenden Bekämpfungserfolg, da in der Mehltaupopulation entsprechende Virulenzkombinationen vorhanden waren. Die Resistenzwirkung der Genkombination Pm2 plus Pm6 ließ aufgrund zunehmender Virulenz gegen Pm2 nach. Von der genannten Kombination geht daher noch ein mäßiger bis guter Mehltauschutz aus. Das Pm5-Resistenzgen war bei älteren Pflanzenstadien stärker wirksam. Es bot vor allem in Kombination mit dem Gen Pm6, das die Altersresistenz ebenfalls positiv beeinflußte, einen noch guten Schutz. Die Sorte Ritmo besitzt aufgrund ihrer Resistenzgene deshalb den besten Schutz, gefolgt von der Sorte Contra.

2.2.2 Raps

Das Saatgut der hier verwendeten Sommerraps-Varietät (*Brassica napus* cv. Licolly) wurde von der Deutschen Saatgutveredelung (DSV) in Lippstadt zu Verfügung gestellt. Die Aussaat im Gewächshaus erfolgte in Multitopfplatten. Als Substrat wurde ebenfalls ein Gemisch aus Einheitserde (ED 73) und Sand im Verhältnis 4:1 verwendet. Es folgte eine zweiwöchige „Vernalisation“ im Kühlraum (4 °C) im Drei- bis Vierblattstadium. Eine Vernalisation ist beim Sommerraps zur Blühinduktion nicht notwendig, eine kurze Kälteperiode sorgte aber für eine annähernd synchrone Entwicklung der einzelnen Pflanzen. Sommerraps wurde während dreier verschiedener Entwicklungsphasen bei den in Tabelle 1 aufgeführten Ozonkonzentrationen exponiert. Ähnlich wie beim Sommerweizen wurden Jungpflanzen, Pflanzen im Vorblütestadium und während der Blüte exponiert (Abb. 6). Die Vor- und Nachkultur erfolgte unter Aktivkohle-gefilterter Außenluft im Gewächshaus (< 10 µg O_3 m^{-3}).

2.3 Ozonexposition

Im ersten Ansatz wurde die Wirkung von verschiedenen Ozonexpositionsmustern auf Sommerweizen untersucht. Dabei wurden die Ozonkonzentrationen variiert (Tab.1). Die Gesamtdosis blieb dabei für drei Expositionsvarianten (2, 3a, 4a) konstant, um die Effekte von Spitzenkonzentrationen zu ermitteln. Die späteren Versuchsansätze beschränkten sich auf die Konzentrationen der Varianten 3a und 4a, die im folgenden als „chronische" Dauerbelastung (3a: 130/40 µg m^{-3}) bzw. „akute" Spitzenbelastung (4a: 220/40 µg m^{-3}) bezeichnet werden. Diese Begriffe werden in Anlehnung an die Definition von Elstner und Hippeli (1995) eingeführt, die zwischen akuten und chronischen Symptomen der Wirkung pflanzentoxischer Gase unterscheiden: Akute Symptome treten nach kurzzeitiger Belastung mit hohen Toxindosen auf und erscheinen häufig schon 24 bis 48 h nach Beginn der Belastung, wogegen chronische Symptome auf Langzeitbelastungen mit niedrigen Toxindosen zurückzuführen sind.
Lediglich in einem weiteren Ansatz wurde die Expositionszeit auf drei Wochen verlängert (Tab. 2). Jede Expositionsvariante wurde in je zwei Kammern eingesetzt.

Sommerweizen:
Zur Untersuchung der Wirkung von verschiedenen Ozonexpositionsmustern (Tab. 1) wurden jeweils drei Riviera-Gefäße mit je neun Weizenpflanzen eingesetzt. Die zweiwöchige Exposition wurde mit Jungpflanzen, mit Pflanzen zu Beginn des Schossens und zu Blühbeginn durchgeführt.
In einem Versuchsansatz wurden Pflanzen zum Blühbeginn einer dreiwöchigen Ozonexposition ausgesetzt (Tab. 2). Pro Kammer wurden jeweils acht Riviera-Gefäße mit je fünf Pflanzen eingesetzt. Die folgenden Versuchsansätze beschränkten sich auf die Ozonexpositionsvarianten 3a und 4a.

Winterweizen:
Pro Kammer wurden jeweils acht Riviera-Gefäße mit je fünf Pflanzen eingesetzt. In einem Versuchsansatz wurden jeweils Pflanzen der Sorte Contra und Ritmo zum Blühbeginn für drei Wochen ozonexponiert (Tab. 2). In einem weiteren Ansatz wurden Pflanzen der Sorte Ritmo den Expositionsbedingungen 1a, 3a und 4a ausgesetzt (Tab. 1).

Sommerraps:

Pro Kammer wurden jeweils zehn Riviera-Gefäße mit je vier Pflanzen eingesetzt. Die Pflanzen wurden den Expositionsbedingungen 1a, 3a und 4a ausgesetzt (Tab. 1). Dieses Verfahren galt für alle drei Entwicklungsstadien.

Tabelle 1: Ozonexpositionsmuster. Für die verschiedenen Expositionsbedingungen werden die unterschiedlichen Konzentrationen und die Gesamtdosis (zwei Wochen) angegeben. Bedingung 1a dient dabei als Kontrolle. Bei Bedingung 3a und 4a werden die Zeitpunkte der periodisch erhöhten Konzentrationen angegeben.

Variante	1a	2	3a	4a	5	6
Konzentration [µg m^{-3}] (14 d)	CF (< 5)	24 h : 70	17°°-9°°: 40 9°°-17°°: 130	16°°-12°°: 40 12°°-16°°: 220	24 h : 95	24 h : 130
Dosis [µg m^{-3} * 24 h * 14 d]	CF (< 1680)	23520			31920	43680

CF = Aktivkohle-gefilterte Außenluft

Tabelle 2: Ozonexpositionsmuster. Für die verschiedenen Expositionsbedingungen werden die unterschiedlichen Konzentrationen und die Gesamtdosis (drei Wochen) angegeben. Bedingung 1b dient dabei als Kontrolle. Bei Bedingung 4b wird der Zeitpunkt der periodisch erhöhten Konzentrationen angegeben.

Bedingung	1b	4b	6b
Konzentration [µg m^{-3}] (21 d)	CF (< 5)	16°°-12°°: 40 12°°-16°°: 220	24 h : 130
Dosis [µg m^{-3} * 24 h * 21 d]	CF (< 2520)	35280	65520

CF = Aktivkohle-gefilterte Außenluft

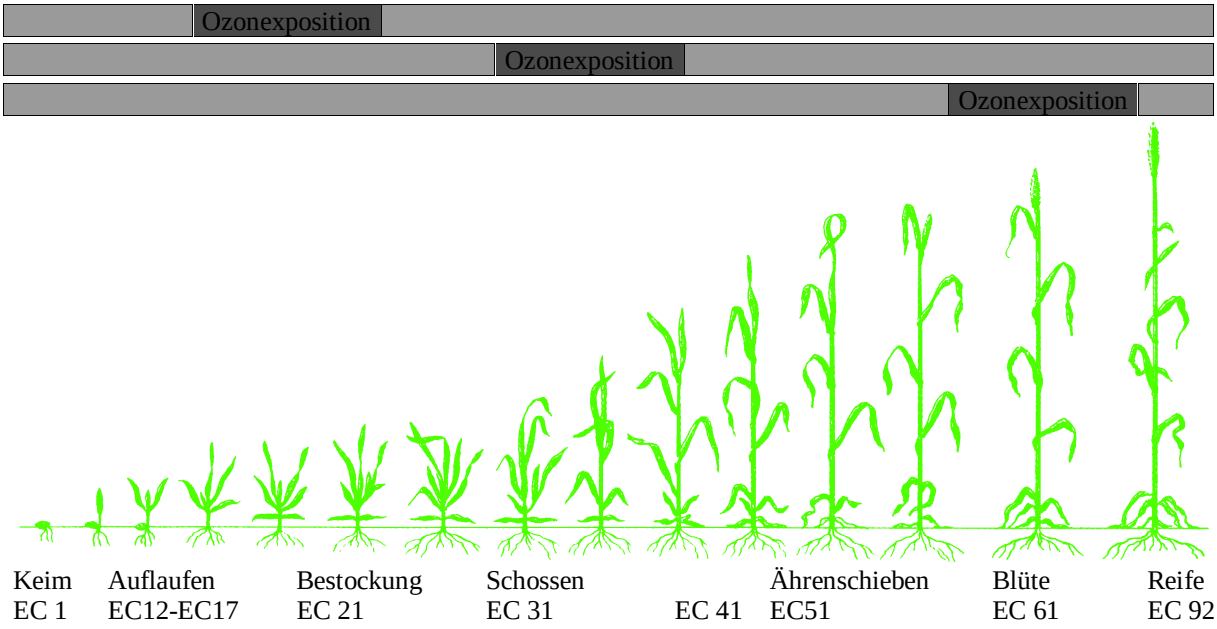

Abbildung 5: Zweiwöchige Ozonexposition von Weizen in unterschiedlichen Entwicklungsphasen. Die Vor- und Nachkultur der Pflanzen erfolgte im Gewächshaus unter Aktivkohle-gefilterter Außenluft (< 10 µg O_3 m^{-3}). Die Definition der Entwicklungsphasen erfolgte nach Tottman und Broad (1987).

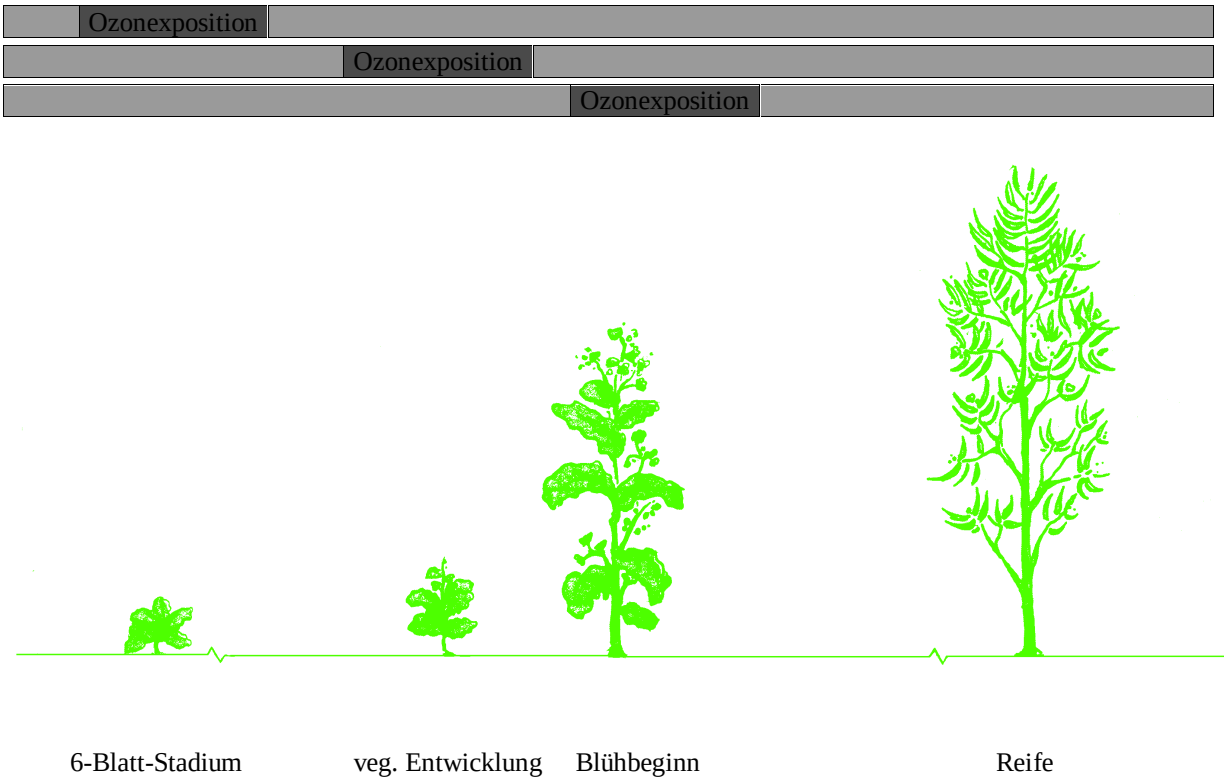

Abbildung 6: Zweiwöchige Ozonexposition von Sommerraps in unterschiedlichen Entwicklungsphasen. Die Vor- und Nachkultur der Pflanzen erfolgte im Gewächshaus unter Aktivkohle-gefilterter Außenluft (< 10 µg O_3 m^{-3}).

2.4 Probennahme

2.4.1 Weizen

Von den als Jungpflanzen exponierten Pflanzen wurde die gesamte oberirdische Biomasse geerntet. Bei den in der schossenden Phase und während der Anthese exponierten Pflanzen wurde neben dem Fahnenblatt noch zusätzlich das zugehörige Internodium sowie die obere Hälfte des Pedunkels geerntet. Das Material von jeweils zwei Pflanzen wurde zu einer Probe zusammengefaßt. Bei den während der Anthese ozonexponierten Varianten wurde zur späteren Zuckeranalyse nur der Haupttrieb geerntet, nicht die Adventivsprosse. Zusätzlich wurde hier noch eine dritte Probennahme zum Zeitpunkt der Ährenreife durchgeführt, d.h. ca. 40 Tage nach der Anthese.

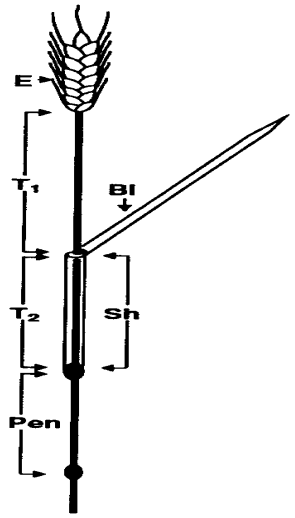

Abbildung 7: Schema einer Weizenpflanze mit Ähre (E), oberem bzw. unterem Teil des Pedunkels (T1 und T2), Fahnenblatt (Bl), Blattscheide (Sh) und zugehörigem Internodium (Pen).

Das Frischgewicht wurde sofort ermittelt; die Blattfläche der Fahnenblätter wurde mit dem Blattflächenmeßgerät LI-3100A (Lambda Instr. Corp., USA) bestimmt. Anschließend wurden die Proben in flüssigem N_2 eingefroren und danach der Gefriertrocknung unterzogen (Lyovac GT 2, Finn-Aqua). Das gefriergetrocknete Material wurde gewogen, pulverisiert (Mühle MC 2310, Siemens) und bis zur weiteren Analytik im Exsikkator aufbewahrt.
Zum Zeitpunkt der Kornreife (EC 92) wurden die Ähren geerntet. Siehe dazu **2.11.1**.

2.4.2 Raps

Zur Zeit der Rapsreife (Ende Juli) wurden die Schoten geerntet und gewogen. Der Wassergehalt der Samen lag bei ca. 5 %. Siehe dazu **2.11.2**.

2.5 Pflanzenschutzmittel

Der Einsatz von Pflanzenschutzmitteln erfolgte bei Bedarf nach der Ozonexposition und nach den Fluoreszenzmessungen. Gegen Aphiden wurde Decis (0.05 bzw. 0.075 %ig, Wirkstoff Deltamethrin, Hoechst AG) eingesetzt. Echter Mehltau wurde mit Alto 100 (0.2 %ig, Wirkstoff Cyproconazol, Sandoz AG) bekämpft.
Der Raps wurde gegen Mehltau prophylaktisch einmal pro Woche mit Schwefelverdampfern (Kombiverdampfer Fleur ami®, P. Hübecker GmbH) über Nacht behandelt, und nach Bedarf (z.B. gegen Aphiden mit Decis).

2.6 Chemikalien

Die Mehrzahl der verwendeten Chemikalien wurde von der Firma *Sigma*, München (Puffersubstanzen, Brilliant Blue R, Ascorbatoxidase, Dithiothreitol, Diaphorase, INT, DMSO, Inulin), bezogen. Den Zuckertest und Amyloglucosidase lieferte *Boehringer*, Mannheim. BSA stammte von *Biomol*, Metaphosphorsäure von *Merck*, Darmstadt und Polyclar AT von *Serva*, Heidelberg. Die Substrate zur Bestimmung der Glucanase- bzw. Chitinaseaktivität lieferte *Blue Substrates*, Göttingen.

2.7 Künstliche Inokulation mit Mehltau

2.7.1 Mehltau (*Erysiphe graminis f. sp. tritici*)

Erysiphe graminis gehört zur Ordnung der *Erysiphales*. Es sind parasitische Pilze, die als „echte Mehltaupilze" auf pflanzlichen Wirten leben (Müller und Loeffler, 1992). Die befallenen Pflanzen sehen wie mit Mehl bestäubt aus. Dieser Eindruck rührt vom weißen Oberflächenmycel her, das während des Sommers in großen Mengen Konidien bildet. Über Haustorien, die in die Epidermiszellen des Wirtes eingesenkt werden, entzieht der Pilz dem Wirt die Nährstoffe. Die Hauptfruchtformen zur geschlechtlichen Fortpflanzung stellen kleine braune bis schwarze, mit bloßem Auge als punktförmige Erhebungen sichtbare *Kleistothecien* dar, die auf dem weißen Überzug der Nebenfruchtform erscheinen.
Die hier eingesetzte Mehltaukultur wurde von Prof. Wolf, Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Universität Göttingen, dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. *Erysiphe graminis* läßt sich wie alle anderen Mehltaupilze nicht auf Laboratoriumsnährböden kultivieren (obligater Parasit). Deshalb wurde eine kontinuierliche Kultur auf der sehr mehltauanfälligen Weizensorte Kanzler angelegt. Die künstliche Inokulation erfolgte danach über die Konidien dieser Erhaltungskultur. Die Infektionsstärke und ihr Verlauf waren auf den drei Weizensorten stark von den Klimafaktoren Temperatur, Strahlung und relativer Luftfeuchtigkeit abhängig.

2.7.2 Visuelle Bonitur der Befallsstärke

Die Befallsstärke wurde visuell über den prozentualen Anteil der mehltaubefallenen Blattfläche (0, 0-1, 1-2, 2-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-30, 30-40 % usw.) ermittelt. Das weiße Oberflächenmycel war mit dem bloßen Auge gut zu erkennen. Die Bonitur begann wenige Tage nach der künstlichen Inokulation. Die Anzahl der Blätter mit der gleichen Befallsstärke wurde jeweils für die beiden Kammern mit der gleichen Ozonvariante gemittelt.

2.7.3 Cytologische Untersuchungen

In einer schnellen Färbemethode wurde Coomassie Brilliant Blue als proteinfärbender Farbstoff eingesetzt (Wolf und Fric, 1981). Mit Hilfe dieser Methode konnten die unterschiedlichen Stadien der Infektion auf und im befallenen Blatt und die Reaktionen der

Wirtspflanze im Lichtmikroskop am besten sichtbar gemacht werden. Ganze Blattstücke wurden dazu in Ethanol/Chloroform (75:25, v/v) mit einem Zusatz von 0.15 % Trichloressigsäure fixiert. Die transparenten jungen Blätter wurden mit der am Vortag angesetzten Lösung (15 % Trichloressigsäure in Wasser und 0.6 % Brilliant Blue R in 99 %igem Methanol, 1:1, v/v) 15 bis 30 min, ältere jeweils etwas länger, gefärbt. Die Präparate konnten in einer Lösung von Eisessig/Glycerol/Wasser (5:20:75, v/v) aufbewahrt werden. Konidien, Keimhyphen und auch Haustorien sind nach dieser Färbemethode deutlich erkennbar. Veränderungen der Wirtszelle, wie z.B. Akkumulation von Proteinen als Abwehrreaktionen gegen die Appressorien, den Haftorganen des Pilzes, können so ebenfalls beobachtet werden. Das Lichtmikroskop (Carl Zeiss) mit dem Okular Kpl-W 10x besaß folgende Objektive: Planapo 10x/0,32 160/0, Planapo 40x/0,65 160x/0,17 und Planapo 40x/0,65 160x/0,17.

2.8 Pigmentanalyse

2.8.1 Photometrische Bestimmung nach DMSO-Extraktion

Die quantitativen Bestimmung der Photosynthesepigmente erfolgte durch Extraktion mit DMSO nach Hiscox und Israelstam (1979). Die Homogenisation kann bei DMSO-Extraktion entfallen, so daß rasch größere Probenmengen verarbeitet werden konnten:
50 mg gefriergetrockneten Blattmaterials werden in ein Reagenzglas eingewogen. Nach Zugabe von 5 ml DMSO (Di-Methyl-Sulfoxid) inkubiert man bei 60 °C im Trockenschrank über Nacht. Am nächsten Tag wird die Extinktion des Überstandes nach Abkühlung auf Raumtemperatur photometrisch (Perkin-Elmer 550S) gemessen. Die Messung erfolgt gegen DMSO bei 647 und 663 nm, sowie bei 470 nm (Carotinoide). Gegebenenfalls war eine Verdünnung erforderlich.

Der Pigmentgehalt berechnet sich nach Lichtenthaler (1987) wie folgt:

Chl a (mg/g TG) = $((12{,}25*E_{663}) - (2{,}79*E_{647}))*5/\text{Einwaage}$

Chl b (mg/g TG) = $((21{,}5*E_{647}) - (5{,}1*E_{663}))*5/\text{Einwaage}$

Gesamtcarotinoide (mg/g TG) = $((1000*E_{470}) - (1{,}82*A) - (85{,}02*B))/198*5/\text{Einwaage}$

$A = (12{,}25*E_{663}) - (2{,}79*E_{647})$

$B = (21{,}5*E_{647}) - (5{,}1*E_{663})$

2.8.2 SPAD-Messung

Das tragbare „Chlorophyll-Meter SPAD-502“ (**S**oil **P**lant **A**nalysis **D**evelopment) von Minolta liefert Meßwerte, die mit dem Gesamtchlorophyllgehalt eines Blattes korrelieren. Die Meßwerte werden auf der Basis der Menge des transmittierten Lichts durch das Blatt bei zwei verschiedenen Wellenlängenbereichen, in denen die Absorption des Chlorophylls unterschiedlich ist, berechnet. Die vom SPAD genutzten Wellenlängen liegen im roten Bereich (Peakwellenlänge ca. 650 nm, hier ist die Absorption hoch und von Carotinoiden unbeeinflußt) und im infraroten Bereich (Peakwellenlänge ca. 940 nm, hier ist die Absorption extrem niedrig). Die Messung mit dem SPAD ist schnell und beschädigt das Blatt nicht. Da es sich um eine nicht-destruktive Messung handelt bleiben die Versuchspflanzen erhalten, so daß wesentlich größere Zahlen an Meßwerten gewonnen werden können. Allerdings ist die Aufnahme einer Eichkurve über die Pigmentextraktion notwendig, wenn die absoluten Zahlen ohne Dimension (z.B. zum Vergleich mit anderen Pflanzen) in mg umgerechnet werden sollen. Um jedoch Chlorophyll a und b getrennt zu ermitteln und Informationen über den Carotinoidgehalt zu erhalten, muß Blattgewebe wie in 2.8.1 beschrieben extrahiert werden. Finnan und Mitarbeiter (1997b) berechneten einen linearen Zusammenhang zwischen extrahiertem Chlorophyll und SPAD-Werten bei Weizenpflanzen, wenn der Chlorophyllgehalt auf die Blattfläche bezogen wurde.

Bei den hier eingesetzten Versuchspflanzen Weizen und Raps bestand eine lineare Korrelation zwischen SPAD-Werten und Chlorophyllgehalt (mg/g TG) (Abb. 8 und 9). Zur Erstellung der entsprechenden Kurve wurden an zehn Raps- bzw. Weizenblättern die SPAD-Werte aufgenommen (Mittelwerte jeweils aus 20 Meßpunkten). Anschließend wurden diese Blätter geerntet und der Gesamtchlorophyllgehalt nach DMSO-Extraktion (**2.8.1**) ermittelt.

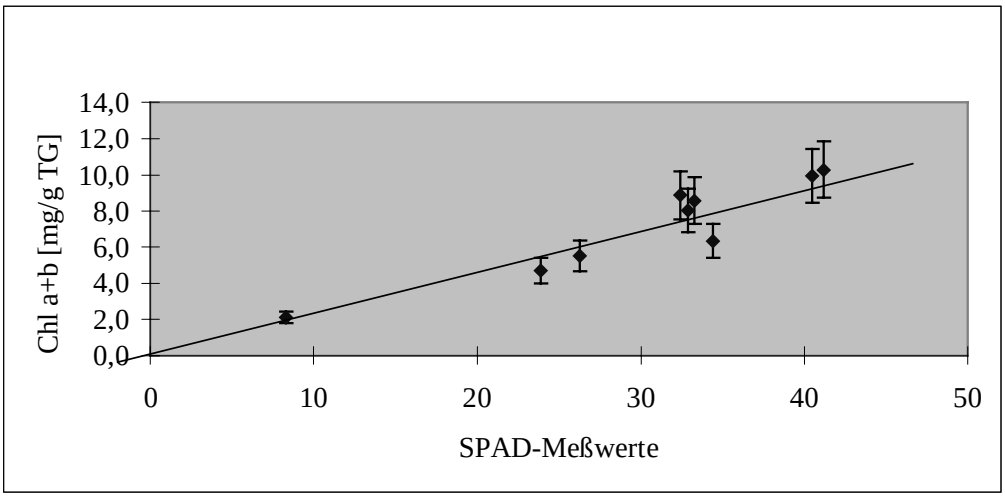

Abbildung 8: Eichkurve des Weizens**.** Die SPAD-Meßwerte werden gegen den nach Extraktion ermittelten Gesamtchlorophyllgehalt der jeweiligen Probe aufgetragen. Es besteht ein linearer Zusammenhang ($r^2 = 0.882$).

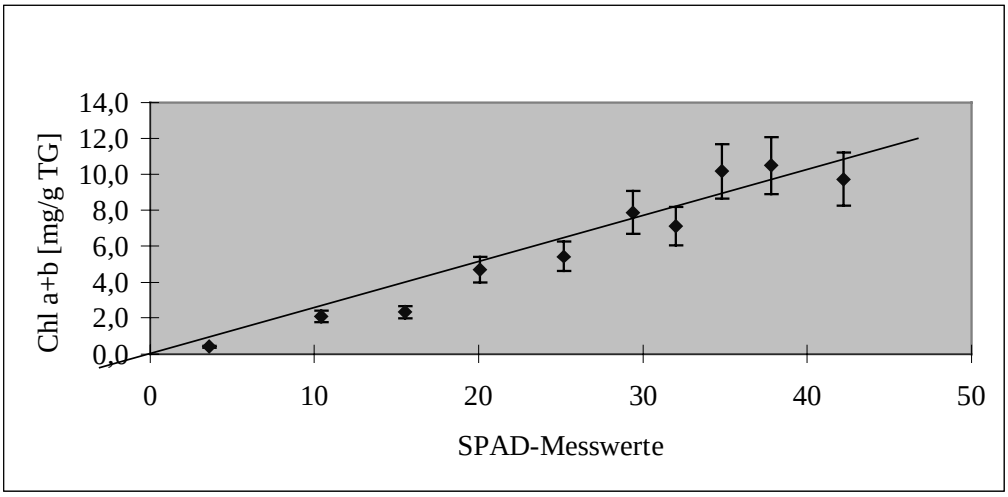

Abbildung 9: Eichkurve des Sommerraps**.** Die SPAD-Meßwerte werden gegen den nach Extraktion ermittelten Gesamtchlorophyllgehalt der jeweiligen Probe aufgetragen. Es besteht ein linearer Zusammenhang ($r^2 = 0.943$).

2.9 Zucker- und Stärkeanalyse

2.9.1 Extraktion

Eine Einwaage von ca. 50 mg des pulverisierten Materials und eine Spatelspitze Polyclar AT wurden in ein 2 ml Reaktionsgefäß gegeben. Polyclar AT bindet die den nachfolgenden Enzymtest störenden Phenole. Nach Zusatz von 1.5 ml heißem aq. dest. wurde die Probe kurz geschüttelt und im Wasserbad bei 80 °C 15 Minuten inkubiert. Nach Abkühlung auf Eis wurde die Probe 20 Minuten geschüttelt, danach mit einer Universalzentrifuge (Hermle Z 323 K, Rotor 220.87 V02) fünf Minuten bei voller Drehzahl zentrifugiert. Der Überstand wurde in einem 10 ml Plastikgefäß aufgenommen, das Pellet wurde noch zweimal gewaschen und zentrifugiert. die Überstände wurden vereinigt, das Pellet zur Stärkebestimmung tiefgefroren. Die Überstände wurden durch Gefriertrocknung (Lyovac GT 2, Finn-Aqua) eingeengt und auf ein Volumen von 1 ml gebracht.

2.9.2 Quantitative Zucker-, Stärke- und Fructanbestimmung

Der Gehalt an löslichen Kohlenhydraten (Glucose, Fructose und Saccharose) sowie an Stärke und Fructanen wurde über einen von Hatterscheid und Willenbrink (1991) modifizierten Boehringer Test (UV-Test-Kit, Saccharose/D-Glucose/D-Fructose, Nr.716260) ermittelt: In diesem gekoppelten Enzymtest wird die Zunahme an reduziertem $NADPH_2$ gemessen, die proportional zur Menge an Glucose, nach Zugabe von Invertase zur Menge an Saccharose und nach Zugabe von Phosphoglucoisomerase (PGI) zur Menge an Fructose ist.
Die quantitative photometrische Bestimmung bei 490 nm unter Verwendung eines Microplate-Readers (Bio-Rad, Modell 3550) erlaubt eine Reaktion, bei der die Reduktion von $NADP^+$ zu $NADPH+H^+$ an die Reduktion des farblosen 2-p-Iodphenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium-chlorid (INT) durch Diaphorase zum INTH, dem stark gefärbten Iodphenyl-nitrophenyl-phenyltetrazolium-violett geknüpft ist. Auf diese Weise sind Zuckerbestimmungen in 5 µl Extrakt möglich, dem die im Boehringertest üblichen Lösungen zugesetzt werden, zusammen mit 2.5 nmol INT, 0.05 % (w/v) BSA und 0.0425 U Diaphorase (EC 1.8.1.4 aus *Clostridium kluyveri*). Die Inkubation der Mikrotiterplatten erfolgt bei Zimmertemperatur im Dunkeln. Die Berechnung erfolgt nach einer auf jeder Platte pipettierten Eichkurve, wobei die Extinktionsänderung der Konzentration in einem Bereich von 0 bis 2 g Glucose/l proportional ist.

Der Test basiert auf folgenden enzymatischen Reaktionen:

Glucose:

$$\text{D-Glucose + ATP} \xrightarrow{\text{Hexokinase}} \text{Glucose-6-Phosphat + ADP}$$

$$\text{Glucose-6-Phosphat + } NADP^+ \xrightarrow{\text{G-6-P-Dehydrogenase}} \text{Gluconat-6-P + NADPH + } H^+$$

$$NADPH + H^+ + \text{INT (farblos)} \xrightarrow{\text{Diaphorase}} NADP^+ + \text{INTH (rot)}$$

Fructose:

$$\text{D-Fructose + ATP} \xrightarrow{\text{Hexokinase}} \text{Fructose-6-Phosphat + ADP}$$

$$\text{Fructose-6-Phosphat} \xrightarrow{\text{Phosphoglucoisomerase}} \text{Glucose-6-Phosphat}$$

anschließend wie unter Glucose beschrieben.

Saccharose:

$$\text{Saccharose + } H_2O \xrightarrow{\beta\text{-Fructosidase}} \text{D-Glucose + D-Fructose}$$

$$\text{D-Glucose + ATP} \xrightarrow{\text{Hexokinase}} \text{Glucose-6-Phosphat + ADP}$$

anschließend wie unter Glucose beschrieben.

Stärkebestimmung:

Stärke wurde ebenfalls in Form von Glucoseäquivalenten bestimmt. Überstand und Pellet einer Probe wurden hierzu über Nacht mit Amyloglucosidase (Boehringer 208469, Lyophilisat aus *Aspergillus niger*) in Acetatpuffer (pH 4.5) inkubiert. Die Aktivität der Amyloglucosidase betrug im Pellet 6 Units/ml und im Überstand 0.6 Units/ml. Die ermittelten Glucoseäquivalente von Pellet und Überstand wurden addiert und der interne Glucosegehalt subtrahiert.

Fructanbestimmung:

Die Bestimmung der Fructane erfolgte nach Fructan-Hydrolyse über die Bestimmung der Fructoseäquivalente (eine Parallele zur Stärkebestimmung). Dazu wurden 200 µl des Überstandes der Proben mit 400 µl 2 N HCl versetzt und zur vollständigen sauren Hydrolyse für 15 min im Wasserbad bei 60 °C inkubiert. Nach Abkühlung wurde mit 400 µl 2 N NaOH neutralisiert. Die Bestimmung der Fructose erfolgte ebenfalls mit Hilfe des modifizierten Boehringer-Tests. Die Methode wurde mit einer Fructaneichkurve (0 bis 2 g Inulin /l, aus Wurzeln des Chicorée) überprüft. Die Wiederfindungsrate betrug danach ca. 95 %.

2.10 Fluoreszenzmessungen

2.10.1 Chlorophyllfluoreszenz als Indikator photosynthetischer Reaktionen

Die Photosynthese ist eine photochemische Reaktion, in der chloroplastenführende Zellen im Thylakoidmembransystem dieser Organellen Lichtenergie in chemische Energie umwandeln. Dabei ist die Lichtabsorption durch Chlorophyll, ein hochkonjugiertes System aus einem Porphyrin mit einem zentralen Magnesiumion, der erste Schritt der Photosynthese. In einem lichtsammelnden Komplex wird die dadurch bewirkte Elektronenanregung auf einen Chlorophyll a-Proteinkomplex der Reaktionszentren der Photosysteme übertragen. Die Energie des angeregten Elektrons wird zur Ladungstrennung und somit zur Erzeugung eines Reduktionspotentials verwendet. Das Photosystem I erzeugt Reduktionsäquivalente in Form von NADPH. Das Photosystem II überträgt die Elektronen des Wassers auf ein Chinon. Ein transmembraner Protonengradient zwischen Intrathylakoidraum und Matrixraum (Stroma), der durch Elektronenfluß zwischen den Photosystemen entsteht, wird zum Antrieb der ATP-Synthese genutzt.

Chlorophyllfluoreszenz wird nur bei Einstrahlung von rotem und blauem Licht angeregt. Die auftretende Fluoreszenzstrahlung besteht jedoch für beide Photonen-Arten aus Quanten gleicher Qualität: Das Fluoreszenzspektrum (Abb. 10) besitzt nach Anregung blauer bzw. roter Strahlung ein identisches Maximum im roten Spektralbereich.

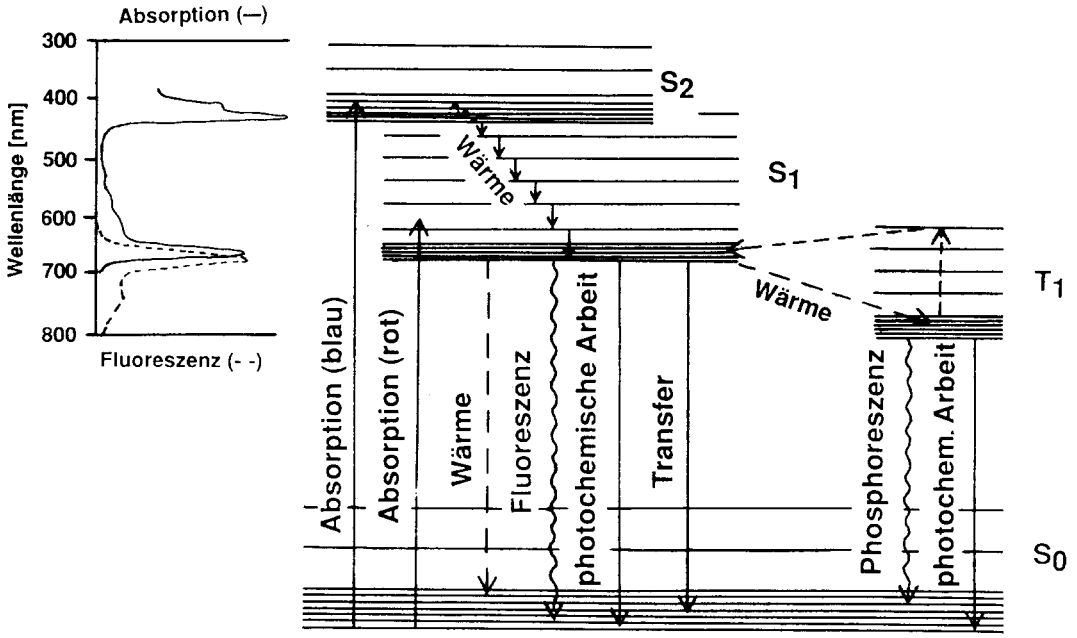

Abbildung 10: Absorptions- und Emissionsspektrum und deren Zuordnung zu den unterschiedlichen Energieniveaus im Chlorophyll-a-Molekül (aus v. Willert et al., 1995; vgl. hierzu: Richter, 1998).

Die Absorption von Quanten aus dem roten Spektralbereich bewirkt die Anregung oder Anhebung von (π-) Elektronen aus dem Grundzustand S_0 in den S_1-Zustand (1. Singulett; π*-Orbital), Quanten aus dem blauen Spektralbereich dagegen eine solche in den energetisch höheren S_2-Zustand. In Abb. 10 sind die elektronischen Terme (S_0, S_1 usw.) weiter in Schwingungs- und in Rotationsniveaus zerlegt. In dem Termschema sind auch die möglichen Wege der Energiedissipation, d.h. der Abgabe der Anregungsenergie, aufgezeigt. Der S_2-Zustand ist sehr energiereich. Dadurch ist er aber auch sehr instabil. Das angeregte Elektron kann innerhalb kürzester Zeit unter Wärmeabgabe, also strahlungsfrei, auf das S_1-Niveau zurückfallen.

Vom ersten Singulett aus kann die Abgabe der Anregungsenergie auf unterschiedliche Weise erfolgen. Neben dem strahlungsfreien Übergang von S_1 auf S_0 ist der Energietransfer auf ein anderes im Grundzustand befindliches Nachbarmolekül durch Resonanz möglich ("Excitonwanderung"). Ein angeregtes Elektron in einem S_1-Niveau kann auch unter Spinumkehr in ein energieäquivalentes T_1-Niveau (= Triplett) und von dort unter kaskadenartiger Energiefreigabe in den T_1-Grundzustand übergehen. T_1 hat eine Existenzdauer von 10^{-4} bis 10^{-2} Sekunden. Das Molekül kann in den Grundzustand übergehen und dabei seine Energie als Wärme oder Licht, Phosphoreszenz genannt, abgeben. In der belichteten Pflanze befindet sich jeweils nur etwa eines von 10^6 Chlorophyllmolekülen im Triplett-Zustand.

Als Fluoreszenz wird die Abgabe elektromagnetischer Strahlung beim Übergang eines angeregten Elektrons vom S_1 in ein Niveau des S_0-Zustandes bezeichnet. Ein Teil der Anregungsenergie geht dabei über Rotation als Wärme verloren, so daß Fluoreszenz stets langwelliger ist als das Anregungslicht für den S_1-Zustand (Abb. 10).

Die Abgabe der Anregungsenergie („Dissipation") erfolgt natürlich in erster Linie über photochemische Reaktionen: d.h. bei der Rückkehr in den Grundzustand abgegebene Energie wird über den photosynthetischen Elektronentransport für chemische Arbeit genutzt.

Der Anteil der Fluoreszenz an der Dissipation beträgt normalerweise 1 bis 3 %. Wenn unter Streß die Gewinnung chemischer Energie gestört wird, steigt der Fluoreszenzanteil an. Er bleibt gering, wenn die Umwandlung in chemische Energie optimal abläuft oder andererseits die thermische Energieabgabe gefördert wird.

Belichtet man ein zuvor für einige Minuten verdunkeltes Blatt, kann man über wenige Minuten Fluoreszenz induzieren, die charakteristisch verläuft. Die Kinetik dieser Fluoreszenzinduktion, nach ihrem Entdecker Kautsky-Effekt genannt, ist in Abbildung 11 schematisiert.

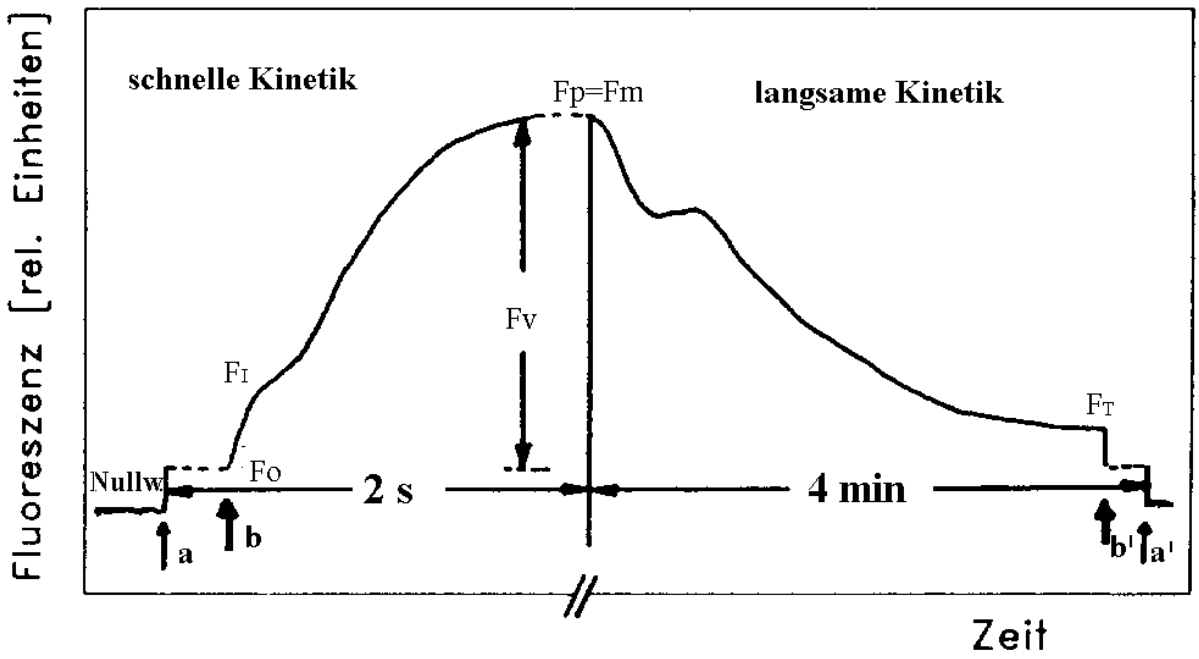

Abbildung 11: Kinetik der *In-vivo*-Chlorophyllfluoreszenzinduktion, aufgenommen mit einem PAM-Fluorometer. a bzw. a´ bezeichnet das An- bzw. Ausschalten des Meßlichts, b und b´ das der aktinischen Beleuchtung. Weitere Erläuterung u. a. zu den Fixpunkten Fo, F_I, F_P, Fm, F_T und Fv im Text (verändert nach v. Willert et al., 1995).

Der Fluoreszenzwert bei Fo wird meist als Grundfluoreszenz bezeichnet. Fo ist von der Photochemie unabhängig.

Die maximale Grundfluoreszenz *in vivo* im Dunkeln kann man nur erhalten, wenn nach Abbau des Protonengradienten über der Thylakoidmembran der erste stabile Akzeptor der Elektronentransportkette (Q_A) vollständig oxidiert ist. Dann sind alle Reaktionszentren der Photosysteme “offen”, d. h. in ihrem Grundzustand.

Wird nun belichtet, dann erhöht sich die Fluoreszenz innerhalb weniger Picosekunden bis zu einem ersten Maximum F_I und in Sekunden erreicht das Fluoreszenzsignal abhängig von der Lichtstärke einen „Peak“-Wert (F_P). Dieser Anstieg zu einem Spitzenwert reflektiert eine stufenweise Erhöhung in der Ausbeute der Chlorophyllfluoreszenz. Dagegen nimmt die Rate der photochemischen Reaktionen ab, wenn der Pool des primären Elektronenakzeptors (Q_A) der PS II-Reaktionszentren mehr und mehr reduziert wird. In diesem Status werden die sog. Fallen der Reaktionszentren für die Anregungsenergie geschlossen. Unter hohem Photonenfluß kommt daher der Elektronenfluß über Q_A zum Erliegen und die maximale Fluoreszenz Fm = F_P wird erreicht.

Nach maximaler Fluoreszenz beginnen die Elektronen von Q_A wegzufließen. Das läßt die Photochemie ansteigen, was wiederum eine Verringerung der Fluoreszenz zur Folge hat. Die Kinetik der Fluoreszenz nach F_P ist mit der CO_2-Aufnahme und der O_2-Entwicklung komplex verbunden. Über Minuten sinkt die Fluoreszenz dann bis auf ein konstantes Niveau (F_T). Zu diesem Zeitpunkt soll nach Ireland et al. (1984) die konstante CO_2-Assimilationsrate erreicht sein.

2.10.2 Das Meßprinzip des PAM-2000 Fluorometers

Die Trennung von Meßlicht und aktinischer Strahlung ist typisch für das sog. modulierte Fluorometer wie das hier eingesetzte PAM = Puls-Amplituden-Modulation 2000 Fluorometer (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, BRD, zum prinzipiellen Aufbau siehe Abb. 12). Das PAM-2000 ist mit einer Blattkammer (2030-B, Heinz Walz), die die PAR sowie die Blattemperatur kontinuierlich mißt, über eine Glasfiberoptik verbunden. Eine weitere Verbindung mit einem PC ermöglicht mit Hilfe eines speziellen Meßprogramms (DA-2000, Heinz Walz) die Datenverarbeitung. Spezielle Dunkel-Blattkammern (DLC-8, Heinz Walz) aus eloxiertem Aluminium mit Filz-Kontaktflächen und Schiebeverschluß zur Vorverdunkelung wurden im Standardprogramm eingesetzt, um die Anzahl der Einzelmessungen zu erhöhen.
Kurze, wenige Mikrosekunden dauernde Pulse amplitudenmodulierten Schwachlichts einer lichtemittierenden Diode (LED) mit einer Peak-Emission von 655 nm regen die Fluoreszenz des zu untersuchenden Blattes an. Das Rotlicht wird in einer Frequenz von 1.6 oder von 100 kHz abgegeben. Sein langwelliger Anteil wird durch einen Kurzpaßfilter zurückgehalten. Als Lichtleiter dient eine Glasfiberoptik. Eine schnelle PIN-Photodiode detektiert die angeregten kurzen Fluoreszenzpulse. Ein Langpaßfilter sorgt für den Schutz vor kurzwelligem Streulicht. Diese Signale werden vorverstärkt und durch einen Ausschnittsverstärker, der von demselben Taktgeber gesteuert wird wie die LED, selektiv endverstärkt. Das PAM-2000 Fluorometer verfügt über zwei Möglichkeiten zur Bestrahlung einer Probe mit aktinischem Licht; eine Halogenlampe, die sich während dieses Programm stark erhitzt, und eine lichtemittierende Diode (LED). Hier wurde die LED-Lampe gewählt, weil sie die Probe weniger erwärmt und die Konstanz des emittierten Spektrums nur hier gegeben ist. Außerdem reichte die LED-Lampe aus, um im Fahnenblatt des Weizens bis in den Bereich der Sättigung des photosynthetischen Elektronentransports zu kommen.

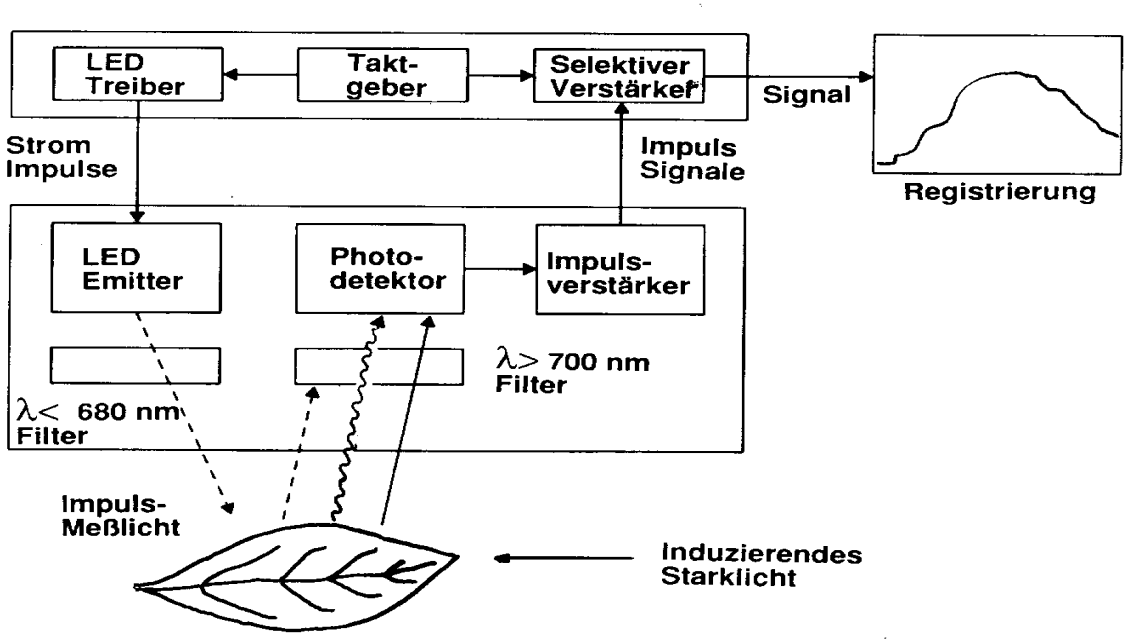

Abbildung 12: Schema des prinzipiellen Aufbaus eines PAM-Fluorometers (aus v. Willert et al., 1995).

Mit diesem Verfahren wird eine zuverlässige Trennung von Meßsignalen und überlagernden Lichtsignalen erzielt. Die Intensität des gepulsten Meßlichtes ist dabei so niedrig, daß die Ausbeute an Dunkelfluoreszenz gemessen werden kann, also die Grundfluoreszenz der energetisierten Thylakoidmembran im stationären Zustand. Die Fluoreszenzkinetik kann daher unter normalem Weißlicht oder Sonnenlicht aufgenommen werden.

2.10.3 Messung der Fluoreszenz

Die Fluoreszenzemission der Photosysteme reicht von 660 nm bis 760 nm. Die Messung der Fluoreszenz ist zuverlässig möglich, wenn z. B. mit Hilfe optischer Filter ein Anregungslicht kürzerer Wellenlängen eingestrahlt wird. Die Herausforderung ergibt sich erst aus dem Wunsch, die Fluoreszenz im normalen Umgebungslicht zu messen und einen sehr starken Photonenstrahl für die sog. Löschungs- („quenching") -Analyse zu verwenden. Aus diesem Grund wurde das PAM-Meßprinzip entwickelt, das eine Messung der Fluoreszenz gegen einen 10^6mal stärkeren Photonenstrom erlaubt.

Bei der Fluoreszenzemission existieren zwei grundsätzlich unterschiedliche Wege konkurrierender Prozesse der Energieabgabe. Neben der photochemischen Energieumwandlung am PS II, die mit dem Redoxzustand von Q_A zusammenhängt, existieren noch weitere, von der photochemischen Arbeitsleistung unabhängige Mechanismen. Diese nicht-photochemischen Verluste von Anregungsenergie werden unter dem Begriff nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung zusammengefaßt. Man kann *in vivo* unter physiologischen Bedingungen drei Hauptmechanismen unterscheiden (vgl. Krause und Weis, 1991):

1. „Energieabhängige" Fluoreszenzlöschung, bedingt durch den Protonengradienten (ΔpH) über die Thylakoidmembran, verbunden mit dem Umschalten von Fluoreszenz auf Wärmeabgabe;
2. Fluoreszenzlöschung durch Übergang von „Zustand 1" auf „Zustand 2" der Fluoreszenz, reguliert über reversible Phosphorylierung des LHC II;
3. „photoinhibitorische" Fluoreszenzlöschung durch Photoinhibition der Photosynthese.

Es wurden weitere Wege der nicht-photochemischen Fluoreszenzlöschung aufgeklärt, die aber wahrscheinlich ohne große physiologische Bedeutung sind.

2.10.4 Sättigungspulsmethode

Mit einem starken Puls Weißlicht kann die Elektronentransportkette zwischen den beiden Photosystemen rasch vollständig reduziert werden, so daß die Akzeptoren der photochemischen Ladungstrennung erschöpft sind. So wird für die Dauer des Sättigungspulses die photochemische Fluoreszenzlöschung gleich Null; eine etwa verbleibende Löschung muß daher nicht-photochemischer Natur sein. Man nimmt dabei an, daß Änderungen in der nicht-photochemischen Löschung zu langsam sind, um in der Zeit von einer Sekunde eines Sättigungspulses wirksam zu werden.
Man kann daher sog. Löschungskoeffizienten qP (photochemisch) und qN (nicht-photochemisch) definieren. Für die Bestimmung von qP und qN ist es notwendig, die maximale und die minimale Fluoreszenzausbeute zu kennen, die im dunkel-adaptierten Zustand gegeben ist:

$$qP = (Fm´ - Ft) : (Fm´ - Fo) \; ; \; qN = (Fm - Fm´) : (Fm - Fo)$$

Messungen zu den hier durchgeführten Untersuchungen erfolgen stets mit dunkel-adaptierten Proben.
Die Gesamtquantenausbeute (“Yield”) der photochemischen Energieumwandlung kann mit der folgenden Beziehung umschrieben werden:

$$\mathbf{Y = (Fm´ - Ft) : Fm´ = \Delta F : Fm´}$$

Fm´ ist als maximale Fluoreszenzausbeute, die mit einem Sättigungspuls mit einer vorher belichteten Probe erreicht wird, definiert. In grünen Pflanzen ist Fm´ generell kleiner als Fm, das nach vorheriger Dunkeladaptation bestimmt wird. Der Parameter Ft repräsentiert die gemessene Fluoreszenzausbeute zu jeder gegebenen Zeit. Zur Berechnung der Gesamtquantenausbeute ist Fo nicht notwendig.
Dieser von Genty und Mitarbeitern (1989) eingeführte Ausdruck ist identisch mit dem ”Yield”-Parameter, für den die Messung mit dem PAM-2000 Fluorometer optimiert wurde.
Zum vollen Verständnis der Information aus der Fluoreszenzmessung sind Angaben zu Umweltparametern notwendig, insbesondere zur Lichtintensität und zur Temperatur.

Mit dem PAM-2000 Fluorometer können die photosynthetisch-aktive Strahlung (PAR, µmol Quanten m^{-2} s^{-1}) und die Temperatur am selben Punkt auf dem Blatt ebenso registriert werden wie die Fluoreszenz.

Bei der Anwendung der Sättigungspulsmethode wird ebenfalls die apparente photosynthetische Elektronentransportrate (ETR) in µmol Elektronen m^{-2} s^{-1} berechnet. Dies erfolgt nach der Gleichung:

ETR = Yield * PAR * 0.5 * 0.84

Der Transport eines Elektrons erfordert die Absorption zweier Quanten, weil zwei Photosysteme beteiligt sind (Faktor 0.5). 84 % der einfallenden Quanten werden vom Blatt absorbiert (Faktor 0.84).

2.10.5 Fv/Fm

Fo und Fm sind als minimale und maximale Fluoreszenzausbeute einer dunkel-adaptierten Pflanze definiert. Alle Reaktionszentren des PS II sind völlig offen, d. h. im Grundzustand, bzw. geschlossen (Fm). Da auch eine Vorverdunklung des Meßobjekts die völlige Oxidation von Q_A nicht unbedingt gewährleistet, wird Fo auch als Dunkelfluoreszenz bezeichnet.
Der Parameter Fv/Fm wird aus den gegebenen Werten nach folgender Gleichung berechnet:

Fv/Fm = (Fm - Fo)/Fm

Nach einer Hypothese von Kitajima und Butler (1975) ist dieser Parameter als ein Maß für die Effizienz anzusehen, mit der die Anregungsenergie aus den Antennenkomplexen von offenen Reaktionszentren im PS II übernommen wird. Mit voll aktiven, dunkel-adaptierten Proben kann Fv/Fm um 0.84 (0.836 ± 0.004) erreichen. Dies gilt für viele Pflanzenarten und Ökotypen.
Björkman und Demmig (1987) konnten unter vergleichbaren Bedingungen an denselben Pflanzen Photonenwirksamkeiten von 0.106 ± 0.001 Mol entwickeltem O_2 pro Mol absorbierter Photonen bestimmen. Um ein Mol O_2 zu erzeugen bzw. 4 Mol Elektronen zu transportieren, werden im Idealfall insgesamt acht Mol Photonen benötigt. Die theoretisch maximale Photonenwirksamkeit liegt somit bei 1/8 = 0.125. Tatsächlich werden daher nicht ein Mol Elektronen pro zwei Mole Photonen durch Photosystem II geschleust, sondern 0.106/0.125 ≈ 0.85. Fv/Fm ist also auch ein Maß für die maximale relative Elektronentransportwirksamkeit von PS II.
Daß Fv/Fm der mit Gaswechselversuchen bestimmten photochemischen Photonenwirksamkeit direkt proportional ist, konnte in einer Reihe von Versuchen gezeigt werden. Weiterhin ist unter Bedingungen der Photoinhibition eine Änderung dieses Quotienten signifikant mit dem Rückgang der Photonenwirksamkeit der CO_2-Aufnahme korreliert. Der Parameter kann so als Indikator einer photoinhibitorischen Schädigung des Photosyntheseapparates durch hohe Lichtintensität und eine Vielzahl anderer Streßsituationen dienen (Björkman und Demmig, 1987; Bolhar-Nordenkampf et al., 1989; Reiling und Davison, 1994; Guidi et al., 1997).

2.10.6 Standardprogramm zur Messung mit dem PAM-2000

Im Standardprogramm wurden Messungen an jeweils fünf Pflanzen jeder Kammer durchgeführt. Die Messungen begannen gegen 10°° Uhr und endeten gegen 16°° Uhr. Die Pflanzen aus Kammern mit gleichem Expositionsprogramm wurden jeweils am Vor- bzw. Nachmittag untersucht. Pflanzen mit extremen Unterschieden in der Ozonbelastung wurden unmittelbar nacheinander gemessen.
Hierzu wurden die Fahnenblätter bzw. die ganze Pflanze (bei Jungpflanzen) für fünf Minuten verdunkelt (anschließend Bestimmung von Fo). Nach Anschalten des aktinischen Lichtes erfolgte die Bestimmung von Fm und Fv (und damit auch direkt die Bestimmung von Fv/Fm).

2.10.7 Aufnahme von Lichtkurven

Für die Aufnahme von sog. Lichtkurven von Pflanzen in verschiedenen Entwicklungsstadien wurde das „Standardprogramm RUN 9" des PAM-2000 verwendet. Es arbeitet nach der Sättigungspulsmethode und ermöglicht eine schnelle Einschätzung der „Lichtsättigung" eines Blattes.
Dabei wird zuerst das zu untersuchende Fahnenblatt bzw. bei Jungpflanzen das letzte entfaltete Blatt für fünf Minuten verdunkelt. Die vorherige Dunkeladaptation ermöglicht die Bestimmung von Fo und Fm. So werden neben den Parametern Yield und ETR auch qP und qN bestimmt. Die PAR wird hier in elf Drei-Minuten-Schritten von Intensität 1 (ca. 10 µE) bis 11 (ca. 550 µE) erhöht. Nach jedem Schritt erfolgt ein Sättigungspuls und die Fluoreszenzparameter werden aufgenommen.
Die Laufzeit dieses Programms (RUN 9) von ca. 40 Minuten bedingte eine Beschränkung auf drei Ozonexpositionsvarianten. Neben Pflanzen aus der Kontrolle wurden Pflanzen aus den Kammern mit den Ozonpeaks (220 µg m^{-3} /4 h/d) sowie aus den Kammern mit einer Ozondauerbelastung von 130 µg m^{-3} (8 h/d) untersucht.

2.11 Ertragsbestimmung

2.11.1 1000-Korn-Gewicht des Weizens

Zum Zeitpunkt der Kornreife (EC 92 nach Tottman und Broad, 1987) wurden die Ähren, getrennt für Haupt- und Nebentriebe, geerntet: die Anzahl der Ähren und das jeweilige Frischgewicht wurde bestimmt. Die Ähren wurden im Trockenschrank bei 80 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Trockengewicht der Ähren wurde vor dem Dreschen, das "manuell“ durchgeführt wurde, aufgenommen und anschließend das 1000-Korn-Gewicht bestimmt. Es wurden jeweils 100 Körner pro Probe ausgezählt.

2.11.2 Analyse des Fettsäuregehalts und der Fettsäurezusammensetzung des Raps

Zur Zeit der Rapsreife (Ende Juli) wurden die Schoten geerntet und gewogen. Die Samen wurden mit einer „Einzelähren“-Dreschmaschine („Saatmeister“, Fa. K. Pelz, Bad Godesberg) aus den Schoten quantitativ freigesetzt. Anschließend wurde zur Ermittlung des Ertrags das Gesamtsamengewicht bestimmt. Fettsäuregehalt und die qualitative Verteilung der einzelnen Fettsäuren der Samen wurden untersucht. Die Analysen hierzu wurden vom Handels- und Umweltschutzlabor Dr. Wiertz - Dipl. Chem. Eggert - Dr. Jörissen GmbH, Hamburg, durchgeführt. Der Wassergehalt der Samen lag bei ca. 5 %.
Aufarbeitung und Analyse erfolgten nach der international standardisierten Methode ISO 5511 (1992).

2.12 Statistik

2.12.1 T-Test

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programmsystem SPSS (Statistical Package for the Social Science, Bühl und Zöfel, 1994). Zum Vergleich der Mittelwerte der untersuchten Parameter wurde der t-Test für unabhängige Stichproben (t-Test nach Student) angewendet. Die Ergebnisse, die bei den verschiedenen Begasungsvarianten erzielt wurden, wurden jeweils mit denen der Kontrolle (< 5 µg Ozon m^{-3}) verglichen. Das Signifikanzniveau lag bei 95 % (Tab. 3). Die Irrtumswahrscheinlichkeit p wird im Ergebnisteil neben der Standardabweichung der Mittelwerte angegeben.

Tabelle 3: Definition der Signifikanz und deren Symbol.

Irrtumswahrscheinlichkeit	Bedeutung	Symbol
$p > 0.05$	nicht signifikant	ns
$p \leq 0.05$	signifikant	*
$p \leq 0.01$	sehr signifikant	**
$p \leq 0.001$	höchst signifikant	***

2.12.2 Korrelationsanalyse

Um Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der beschriebenen Parameter der Wirkung von Ozon auf die Pflanze untereinander und mit den mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition aufzuzeigen, wurden einfache Korrelationsanalysen durchgeführt. Um bei der Beschreibung der Stärke eines Zusammenhangs nicht nur auf graphische Darstellungen angewiesen zu sein, wurde von Bravais und Pearson für lineare Zusammenhänge der Maßkorrelationskoeffizient r, der nur für gemessene Werte anwendbar ist, eingeführt (Köhler et al., 1996).

Formel zur Berechnung des Maßkorrelationskoeffizienten r:

$$r = (\Sigma(x_i-x)(y_i-y))/(\Sigma(x_i-x)^2 \Sigma (y_i-y)^2)^{½}$$

Als weitere Maßzahl zur Beschreibung der Stärke des Zusammenhangs wurde das Bestimmtheitsmaß berechnet. Bei Vorliegen eines linearen Zusammenhangs, der hier vorausgesetzt wurde, berechnet sich das Bestimmtheitsmaß B aus dem Korrelationskoeffizienten r als: $B = r^2$

3. Ergebnisse

3.1 Wirkung von Ozon auf Weizen

3.1.1 Pflanzenanzucht und Wachstum

3.1.1.1 Zur Bedeutung der Vorkultur

Bei der Pflanzenanzucht machten wechselnde Witterungseinflüsse eine Standardisierung der Aufzuchtbedingungen schwierig. Während in den Expositionskammern selbst bei schnell wechselnder Witterung gleichbleibende Bedingungen herrschten, zeigten sich bei den Wachstumsbedingungen im Gewächshaus Probleme. Vor allem bei sonniger Wetterlage stieg die Temperatur im Gewächshaus, das zur Anzucht und zum weiteren Wachstum nach der Ozonexposition diente, bis auf 40 °C an. Anders als die Kammern, die in einem solchen Fall durch reflektierende Kunststoffolie geschützt werden, erwärmte sich das Gewächshaus schon nach einer Stunde Sonnenschein. Eine Milderung dieser Temperaturerhöhung konnte in den Jahren 1996-98 durch eine Beschattung des Gewächshauses mit Kunststoffbahnen erreicht werden.
Die weitgehend ozonfreie Kultivierung (< 10 µg m^{-3}) der Pflanzen im Gewächshaus war gewährleistet.
Die Witterungseinflüsse müssen bei der Diskussion der erhaltenen Daten berücksichtigt werden. Bei einzelnen Serien muß man eine Prädisposition der Pflanzen durch während der Vorkultur eingetretenem Hitzestreß vermuten.

3.1.1.2 Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition

Zur Überprüfung der mikroklimatischen Bedingungen in den Expositionskammern während der Exposition der einzelnen Varianten wurden Lufttemperatur, relative Luftfeuchtigkeit und Sonneneinstrahlung kontinuierlich gemessen (Tab. 4 bis 8). Obwohl die Expositionskammern weitaus gleichmäßigere Bedingungen als das Gewächshaus erreichten, waren sie dennoch nicht von der Wetterlage gänzlich unabhängig. Im folgenden und vor allem bei der Diskussion der Ergebnisse wird auf die Daten der Tab. 4 bis 8, die die mikroklimatischen Bedingungen während der wichtigsten Serien zeigen, Bezug genommen.

Tabelle 4: Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition (1996) der in der Anthese für drei Wochen exponierten Winterweizenpflanzen Ritmo und Contra. Angegeben sind hier der 12 h - Mittelwert (8.00 bis 20.00 Uhr) für die Gesamtexpositionszeit sowie die Mittelwerte für die erste, zweite und dritte Woche.

Mikroklima	Strahlung	Lufttemperatur	**Luftfeuchtigkeit**
12 h - Mittelwerte	[W/m²]	[°C]	[%]
1. Woche	504	27.3	46.9
2. Woche	205	18.7	65.1
3. Woche	266	22.2	66.9
Gesamtexpositionszeit	322	22.7	60.0

Tabelle 5: Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition (1996) der in der Anthese für drei Wochen exponierten Sommerweizenpflanzen Nandu. Angegeben sind hier der 12 h - Mittelwert (8.00 bis 20.00 Uhr) für die Gesamtexpositionszeit sowie die Mittelwerte für die erste, zweite und dritte Woche.

Mikroklima	Strahlung	Lufttemperatur	**Luftfeuchtigkeit**
12 h - Mittelwerte	[W/m²]	[°C]	[%]
1. Woche	440	26,9	52,0
2. Woche	461	29,4	48,1
3. Woche	392	28,2	54,5
Gesamtexpositionszeit	431	28,1	51,6

Tabelle 6: Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition (1997) der in der Anthese für zwei Wochen exponierten Sommerweizenpflanzen Nandu. Angegeben sind hier der 12 h - Mittelwert (8.00 bis 20.00 Uhr) für die Gesamtexpositionszeit sowie die Mittelwerte für die erste und zweite Woche.

Mikroklima	Strahlung	Lufttemperatur	**Luftfeuchtigkeit**
12 h - Mittelwerte	[W/m²]	[°C]	[%]
1. Woche	415	28.9	63.7
2. Woche	320	25.5	72.3
Gesamtexpositionszeit	367	27.2	68.0

Tabelle 7: Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition (1998) der in der Anthese für zwei Wochen exponierten Winterweizenpflanzen Ritmo. Angegeben sind hier der 12 h - Mittelwert (8.00 bis 20.00 Uhr) für die Gesamtexpositionszeit sowie die Mittelwerte für die erste und zweite Woche.

Mikroklima	Strahlung	Lufttemperatur	**Luftfeuchtigkeit**
12 h - Mittelwerte	[W/m²]	[°C]	[%]
1. Woche	313	21.3	70.8
2. Woche	387	26.6	61.5
Gesamtexpositionszeit	350	24.0	66.1

Tabelle 8: Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition (1998) der in der Anthese für zehn Tage exponierten Winterweizenpflanzen Ritmo. Angegeben sind hier der 12 h - Mittelwert (8.00 bis 20.00 Uhr) für die Gesamtexpositionszeit sowie die Mittelwerte für die ersten und zweiten fünf Tage.

Mikroklima	Strahlung	Lufttemperatur	**Luftfeuchtigkeit**
12 h - Mittelwerte	[W/m²]	[°C]	[%]
1. bis 5. d	355	25.2	66.7
6. bis10. d	418	26.9	64.1
Gesamtexpositionszeit	389	26.2	65.3

3.1.2 Wirkung von Ozon unterschiedlicher Konzentration und Dosis auf die Photosynthese und Assimilatgehalt in den Blättern des Sommerweizens in den Stadien der Jungpflanzen (EC 21), des Schossens (EC 41) und der Anthese (EC 61)

Im ersten Ansatz wurde die Wirkung unterschiedlicher Ozonexpositionsmuster auf Sommerweizen untersucht (Tab. 1). Dabei wurde die Abhängigkeit von unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Pflanze berücksichtigt (**2.2.1**). Diese Versuche wurden 1995 durchgeführt. Sämtliche Einzeldaten sind in der Diplomarbeit (Meyer, 1996) enthalten.

3.1.2.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente

Signifikante Reduktionen des Chlorophyllgehalts traten nur bei Pflanzen auf, die während der Anthese (EC 61) ozonexponiert waren (Tab. 9). Zusätzlich erfuhren diese Pflanzen in der Vorkultur einen Hitzestreß (vgl. auch **3.2.3** Kohlenhydrathaushalt). Nach zweiwöchiger Ozonexposition waren an Pflanzen, die einer Ozonkonzentration von 130 µg m^{-3} ausgesetzt waren, starke Chlorosen zu erkennen, die eine starke Reduktion des Chlorophyllgehalts anzeigten. Unmittelbar am Ende der Ozonexposition reduzierte sich der Chlorophyllgehalt um 27 (220/40 µg m^{-3}) bzw. 56 % (130 µg m^{-3}) im Vergleich zur Kontrolle (Tab. 9) bei gleichzeitig reduziertem Carotinoidgehalt. Das Verhältnis Chlorophyll a/Chlorophyll b sank bei Pflanzen unter hoher Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}) auf 3.1:1 (Kontrolle 3.9:1). Pflanzen, die unter moderaten Temperaturbedingungen kultiviert wurden, zeigten keine signifikanten Ozoneffekte auf den Chlorophyllgehalt.

Tabelle 9: Einfluß der Temperatur vor der Ozonexposition auf den Pigmentgehalt [mg g^{-1} TG] von Fahnenblättern des Sommerweizens (n = 6) während der Anthese (EC 61) nach zweiwöchiger Ozonexposition.

Variante	Vorkultur unter hohen Temperaturspitzen (35 - 40 °C)			Vorkultur unter moderaten Temperaturbedingungen (20 - 25 °C)		
	Chloro-phyll a	Chloro-phyll b	Caroti-noide	Chloro-phyll a	Chloro-phyll b	Caroti-noide
Kontrolle	10.17 ± 1.51	2.62 ± 0.26	1.79 ± 0.22	6.36 ± 1.11	1.92 ± 0.30	1.02 ± 0.17
130 µg m^{-3}	4.22 ± 0.67***	1.40 ± 0.30***	1.09 ± 0.12***	5.32 ± 0.81	1.48 ± 0.24	0.86 ± 0.08
220/40 µg m^{-3}	7.36 ± 0.76**	2.01 ± 0.27**	1.45 ± 0.12**	6.41 ± 1.18	1.85 ± 0.30	0.93 ± 0.16

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.2.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven

Zur Bestimmung des Effekts unterschiedlicher Ozonexpositionsmuster (Tab. 1) auf die photosynthetische Aktivität von Sommerweizen wurde die Chlorophyllfluoreszenz gemessen. Fv/Fm stellt hier den wichtigsten Parameter dar, da er als ein Maß für die Effizienz anzusehen ist, mit der die Anregungsenergie aus den Antennenkomplexen von offenen Reaktionszentren im PS II übernommen wird. Der Parameter dient als Indikator einer möglichen photoinhibitorischen Schädigung des Photosyntheseapparates.
Tabelle 10 zeigt den im Vergleich zur Kontrolle nahezu unveränderten Parameter Fv/Fm unmittelbar am Ende einer zweiwöchigen Ozonexposition für die während des Schossens (EC 41) exponierten Pflanzen. Temperaturspitzen während der Vorkultur zeigten keine prädisponierende Wirkung.

Tabelle 10: Einfluß der Temperatur vor der Ozonexposition auf Fv/Fm gemessen an Fahnenblättern des Sommerweizens (n = 10) während des Schossens (EC 41) nach zweiwöchiger Ozonexposition.

Variante	**Fv/Fm**	
[µg O_3 m^{-3}]	**Vorkultur unter hohen Temperaturspitzen (35 - 40 °C)**	**Vorkultur unter moderaten Temperaturbedingungen (20 - 25 °C)**
Kontrolle	0.789 ± 0.012	0.755 ± 0.037
70	0.799 ± 0.007	0.760 ± 0.018
130/40	0.791 ± 0.024	0.752 ± 0.028
220/40	0.784 ± 0.012	0.741 ± 0.030
95	0.795 ± 0.015	0.742 ± 0.033
130	0.783 ± 0.010	0.745 ± 0.031

Pflanzen, die in der Blüte (EC 61) ozonexponiert wurden und während der Vorkultur hohen Temperaturspitzen ausgesetzt waren, zeigten eine starke Reduktion des Quotienten Fv/Fm (Tab. 11). Bei Pflanzen unter Spitzenbelastung (220/40 µg O_3 m^{-3}) und vor allem unter hoher Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}) war die Abnahme besonders deutlich.

Tabelle 11: Einfluß der Temperatur vor der Ozonexposition auf Fv/Fm (n = 10) gemessen an Fahnenblättern des in der blühenden Phase (EC 61) exponierten Sommerweizens unmittelbar am Ende einer zweiwöchiger Ozonexposition.

Variante	**Fv/Fm**	
[µg O_3 m^{-3}]	**Vorkultur unter hohen Temperaturspitzen (35 - 40 °C)**	**Vorkultur unter moderaten Temperaturbedingungen (20 - 25 °C)**
Kontrolle	0.796 ± 0.008	0.795 ± 0.011
70	0.792 ± 0.007	0.809 ± 0.004**
130/40	0.791 ± 0.014	0.806 ± 0.008*
220/40	0.761 ± 0.010***	0.805 ± 0.007*
95	0.779 ± 0.014**	0.806 ± 0.013
130	0.723 ± 0.037***	0.787 ± 0.018

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Daher wurden für die Ozonexpositionsvarianten 4a und 6 (Tab. 1) Lichtkurven der Elektronentransportrate aufgenommen (Abb. 13). Nach vorhergehender Dunkeladaptation und Bestimmung von Fo und Fm wird die PAR in Drei-Minuten-Schritten von ca. 10 µE auf 550 µE erhöht. Nach jedem Schritt erfolgt ein Sättigungspuls und die Fluoreszenzparameter Yield, ETR, qP und qN werden aufgenommen. Die Lichtkurven der zur Blüte exponierten Pflanzen stützen die Fv/Fm-Werte (Abb. 13). Anders als die Reduktion von Fv/Fm vermuten ließ, zeigten die Pflanzen unter Spitzenbelastung (220/40 µg O_3 m^{-3}) eine stärkere Minderung der Elektronentransportrate als die unter Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}).

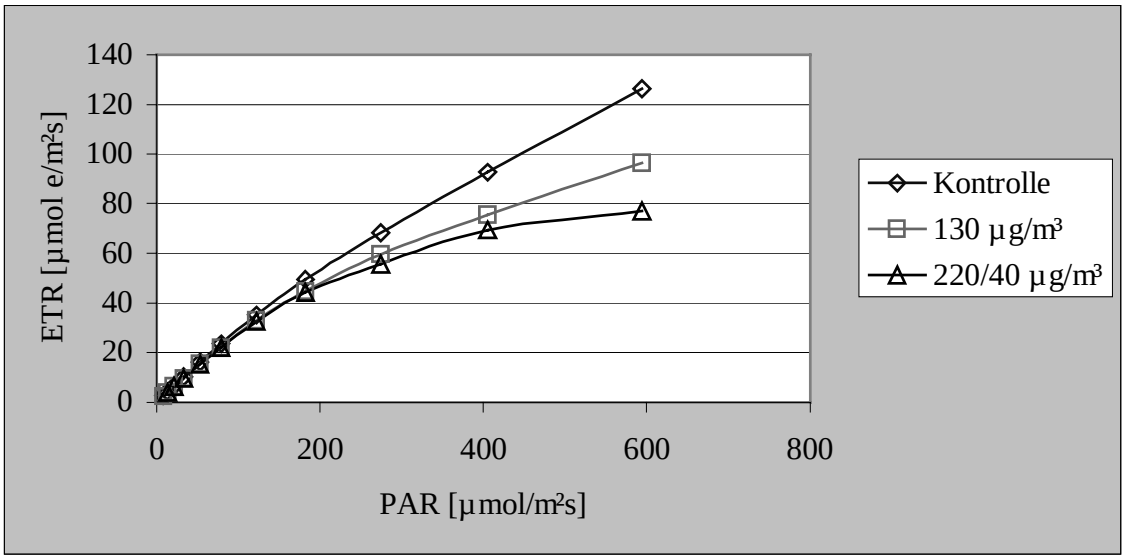

Abbildung 13: Lichtkurven des in der Blüte ozonexponierten Sommerweizens nach 14 d Exposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´ [vgl. Material und Methoden, **2.10.7**].

Gleichzeitig mit der Bestimmung der Elektronentransportrate wurden die Koeffizienten qP und qN der photochemischen bzw. nicht- photochemischen Fluoreszenzlöschung aufgenommen (Abb. 14 und 15). Dabei sank der Löschungskoeffizient qP (photochemisch) der ozonexponierten Pflanzen bei steigender Lichtintensität stärker als der der Kontrollpflanze (Abb. 14). Umgekehrt stieg der Löschungskoeffizient qN (nicht-photochemisch) der ozonexponierten Pflanzen bei steigender Lichtintensität deutlich an (Abb. 15). Pflanzen unter Spitzenbelastung (220/40 µg O_3 m^{-3}) wiesen einen stärkeren Anstieg von qN auf als die unter hoher Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}).

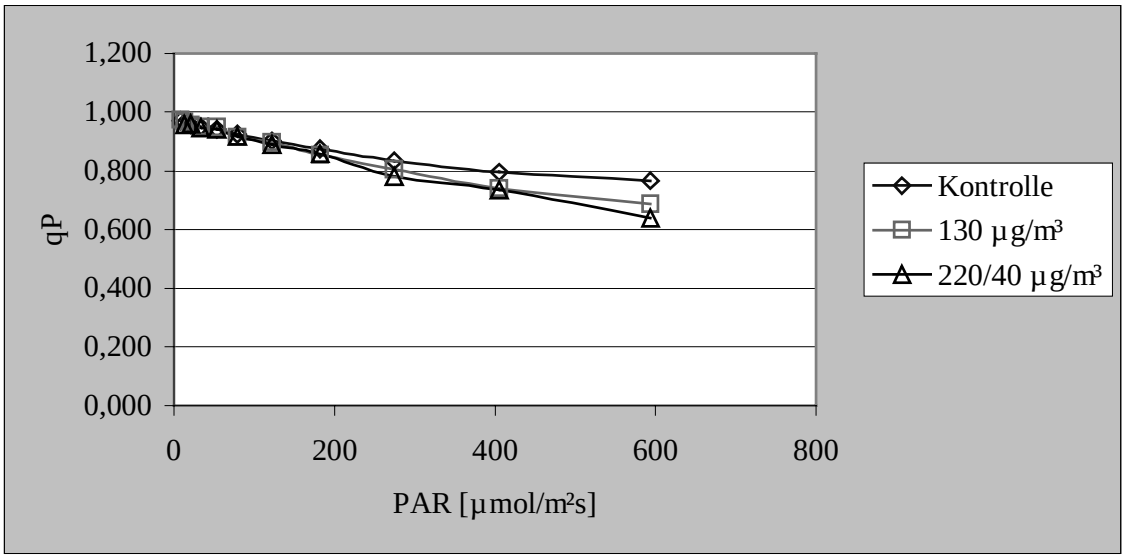

Abbildung 14: Photochemische Fluoreszenzlöschung (qP) des in der Blüte ozonexponierten Sommerweizens nach 14 d Exposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

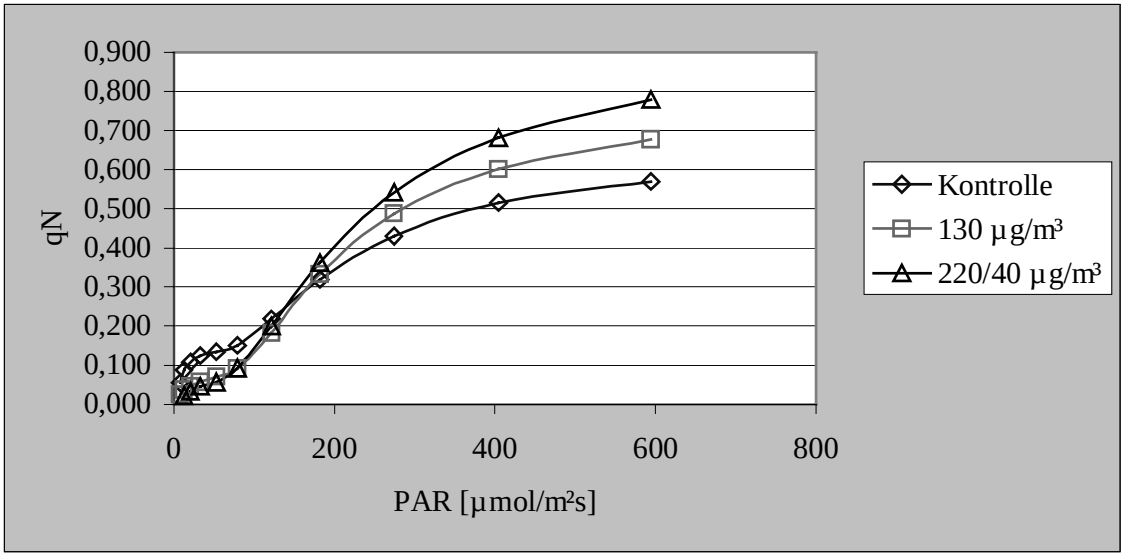

Abbildung 15: Nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (qN) des in der Blüte ozonexponierten Sommerweizens nach 14 d Exposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

3.1.2.3 Einfluß auf den Kohlenhydrathaushalt

Der Gehalt der wasserlöslichen Kohlenhydrate in den Blättern der drei untersuchten Entwicklungsstadien wurde durch die verschiedenen Ozonexpositionsmuster unterschiedlich stark beeinflußt. Auffällige Änderungen wurden besonders für Saccharose und Stärke ermittelt (Abb. 16). Der Saccharose- und Stärkegehalt der Blattextrakte stieg bei Jungpflanzen (EC 21) nach zweiwöchiger Ozonexposition bei konstant 130 µg m^{-3} auf das 2.5- bzw. 1.7-fache der Gehalte der Kontrollpflanzen an (Abb. 16). Die Jungpflanzen waren vor der Ozonexposition für sieben Tage hohen Tagestemperaturen im Gewächshaus von bis zu 35 – 40 °C ausgesetzt. Die hier gezeigten Unterschiede traten jedoch nicht auf, wenn die Gewächshaustemperatur < 30 °C blieb (Meyer et al., 1997).

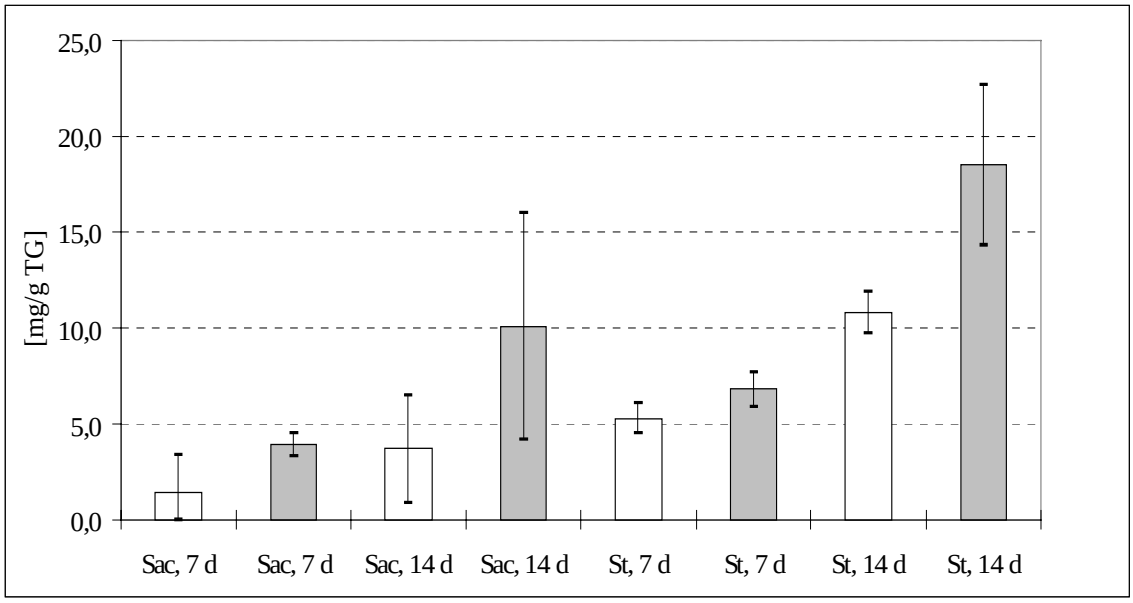

Abbildung 16: Saccharose- (Sac) und Stärkegehalt (ST) von Sommerweizenpflanzen Nandu (n = 6), die als Jungpflanzen (EC 21) einer konstanten Ozonkonzentration von 130 µg m^{-3} (grau) ausgesetzt waren im Vergleich zu Kontrollpflanzen (weiß). Die Probennahme erfolgte nach 7 bzw. 14 d.

Wie in Tabelle 12 gezeigt, war in Fahnenblättern von Pflanzen, die während des Schossens (EC 41) ozonexponiert wurden, ein Anstieg des Saccharose- und Stärkegehalts zu beobachten. Interessanter Weise traten die stärksten Effekte unter Spitzenbelastung auf (220/40 µg m^{-3}), stärker als die Expositionsmuster der gleichen Dosis und sogar stärker als die mit höherer Dosis aber konstanten Konzentrationen (95 bzw. 130 µg m^{-3}/ vgl. Tab. 1).
Ähnliche Ergebnisse lieferten die Pflanzen, die während der Anthese (EC 61) exponiert wurden (Tab. 12). In diesem Stadium waren die Saccharose- und Stärkegehalte am Ende der Exposition sogar bis dreimal so hoch verglichen mit den Kontrollpflanzen.

Tabelle 12: Kohlenhydratgehalt [mg g^{-1} TG] von Fahnenblättern der Pflanzen (n = 6), die verschiedenen Ozonexpositionsprofilen für 14 d während des Schossens bzw. der Blüte ausgesetzt waren. Vor der Ozonexposition waren die Pflanzen für 7 d hohen Tagestemperaturen (35 - 40 °C) ausgesetzt.

Schossende Entwicklungsphase (EC 41) #				
Variante	**Glucose**	**Fructose**	**Saccharose**	**Stärke**
[µg O_3 m^{-3}]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]
Kontrolle	7.1 ± 1.2	6.6 ± 1.0	6.8 ± 2.3	3.6 ± 1.1
70	7.6 ± 3.4	7.1 ± 3.1	15.4 ± 7.5*	5.0 ± 3.6
130/40	5.7 ± 0.6*	5.4 ± 0.5*	12.2 ± 3.5*	7.1 ± 2.0**
220/40	6.4 ± 2.5	6.1 ± 2.4	14.3 ± 2.8***	7.9 ± 1.8***
95	6.9 ± 1.5	6.8 ± 1.5	10.5 ± 2.6*	4.8 ± 1.5
130	8.2 ± 1.5	8.0 ± 1.4	13.1 ± 5.5*	6.2 ± 2.6*
Anthese (EC 61) #				
Variante	**Glucose**	**Fructose**	**Saccharose**	**Stärke**
[µg O_3 m^{-3}]				
Kontrolle	14.0 ± 2.3	14.6 ± 2.2	12.5 ± 5.8	3.5 ± 1.9
70	12.3 ± 2.6	13.0 ± 2.7	14.9 ± 5.2	6.4 ± 1.4*
130/40	14.0 ± 4.0	14.5 ± 3.7	21.1 ± 5.5*	7.1 ± 1.1**
220/40	19.0 ± 1.0***	22.8 ± 1.0***	36.5 ± 8.2***	11.7 ± 3.7***
95	17.8 ± 2.8*	19.2 ± 3.1*	20.9 ± 3.8*	6.9 ± 1.5**
130	19.1 ± 1.1***	22.3 ± 1.0***	13.5 ± 2.8	4.6 ± 1.7

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

#: die Probennahme erfolgte im Fall der in der schossenden Phase begasten Pflanzen 7 d nach Ozonexpositionsbeginn und bei den in der Blüte exponierten Pflanzen unmittelbar am Ende der Exposition.

Wenn Pflanzen unter moderaten Temperaturbedingungen vorkultiviert wurden, zeigten sich nur wenige signifikante Änderungen des Saccharosegehalts als Resultat der Ozonexposition. In Tabelle 13 werden Daten für beide Bedingungen, Hitzestreß und moderate Temperaturen, gegenübergestellt. Unter moderater Vorkultur zeigte sich der Kohlenhydratmetabolismus wesentlich geringer durch Ozon beeinflußt, als nach einer vorherigen Hitzestreß-Periode. Im Vergleich zu Kontrollpflanzen (< 5 µg O_3 m^{-3}) zeigte sich nach moderaten Temperaturbedingungen während der Vorkultur und zweiwöchiger Ozonexposition ein leichter aber signifikanter Anstieg im Stärkegehalt der Fahnenblätter.

Tabelle 13: Einfluß der Temperatur vor der Ozonexposition auf den Saccharose- und Stärkegehalt [mg g^{-1} TG] von Fahnenblättern des Sommerweizens (n = 6) während der Anthese (EC 61) nach siebentägiger Ozonexposition.

Variante	**Vorkultur unter hohen Temperaturspitzen (35 - 40 °C)**		**Vorkultur unter moderaten Temperaturbedingungen (20 - 25 °C)**	
	Saccharose	Stärke	Saccharose	Stärke
Kontrolle	21.3 ± 8.4	10.3 ± 3.1	46.6 ± 8.7	5.4 ± 2.2
220/40 µg m^{-3}	33.3 ± 6.8*	13.2 ± 1.4	56.8 ± 14.4	6.7 ± 1.8
130 µg m^{-3}	37.4 ± 6.3**	11.8 ± 0.8	56.7 ± 8.6	8.6 ± 1.1**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.3 Wirkung einer auf drei Wochen ausgedehnten Ozonexposition auf die Photosynthese und den Assimilatgehalt in der Anthese (EC 61) von Sommer- sowie Winterweizen

Winterweizen der Kultivare Ritmo und Contra sowie Sommerweizen cv. Nandu wurden zu Beginn der Anthese (EC 61) einer dreiwöchigen Ozonexposition (Tab. 2) ausgesetzt. Dabei erfuhren die Pflanzen eine Spitzenbelastung (220/40 µg O_3 m^{-3}) bzw. eine hohe Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}). Angaben über mikroklimatische Bedingungen sind in den Tabellen 4 und 5 enthalten. Diese Versuche wurden 1996 durchgeführt.

3.1.3.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente

Der Pigmentgehalt des Fahnenblattes wurde unmittelbar am Expositionsende bestimmt (Tab. 14). Alle Sorten zeigten nach Ozonexpostion einen starken Einbruch des Chlorophyllgehalts. Tabelle 14 zeigt repräsentativ die Werte des Winterweizens Contra. Die relativ niedrigen Pigmentgehalte der Kontrollpflanzen zeigen das Fortschreiten der natürlichen Seneszenz. Die Spitzenbelastung (220/40 µg m^{-3}) und die konstant hohe Belastung (130 µg m^{-3}) beschleunigen die Seneszenz etwa gleich stark.

Tabelle 14: Pigmentgehalt [mg g^{-1} TG] (n = 8) nach DMSO-Extraktion in der Blühphase (EC 61) ozonexponierter Winterweizenpflanzen cv. Contra. Die Probennahme erfolgte unmittelbar am Ende der dreiwöchigen Ozonexposition.

Variante	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Carotinoide
	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]
Kontrolle	4.4 ± 1.1	1.6 ± 0.3	0.8 ± 0.1
130 µg m^{-3}	1.1 ± 0.6***	0.5 ± 0.2***	0.4 ± 0.1***
220/40 µg m^{-3}	1.1 ± 0.4***	0.5 ± 0.1***	0.5 ± 0.1***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.3.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven

Die ozonexponierten Pflanzen von cv. Ritmo zeigten nach 14 Tagen eine Reduktion von Fv/Fm, vorwiegend bedingt durch einen Rückgang der maximalen Fluoreszenz (Tab. 15). Bis Expositionsende sank Fv/Fm weiter, begleitet von einer drastischen Abnahme der maximalen Fluoreszenz. Nach der Exposition wurden die Pflanzen unter ozonfreier Luft im Gewächshaus weiterkultiviert. Als Zeichen einer Erholung ist die geringere Reduktion von Fv/Fm - vor allem bei den Pflanzen unter Spitzenbelastung – sieben Tage nach Ozonexposition anzusehen. Bei den Pflanzen unter hoher Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}) war die Regeneration von Fv/Fm weniger ausgeprägt, nachdem die Exposition zuvor zu stärkeren Reduktionen von Fv/Fm geführt hatte.

Tabelle 15: Fv/Fm-Werte (n = 10) der verschiedenen Meßtage des mit Blühbeginn für drei Wochen ozonexponierten Winterweizens Ritmo. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben.

Variante	Fo	Fv/Fm	Fm
7 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.329 ± 0.013	0.775 ± 0.013	1.465 ± 0.109
130 µg m^{-3}	0.342 ± 0.012	0.768 ± 0.018	1.479 ± 0.093
220/40 µg m^{-3}	0.327 ± 0.008	0.769 ± 0.026	1.431 ± 0.169
14 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.376 ± 0.019	0.765 ± 0.024	1.611 ± 0.167
130 µg m^{-3}	0.373 ± 0.026	0.692 ± 0.029***	1.219 ± 0.134***
220/40 µg m^{-3}	0.405 ± 0.027*	0.721 ± 0.025***	1.463 ± 0.192
21 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.388 ± 0.039	0.781 ± 0.013	1.774 ± 0.206
130 µg m^{-3}	0.318 ± 0.069*	0.650 ± 0.074***	0.938 ± 0.259***
220/40 µg m^{-3}	0.372 ± 0.100	0.673 ± 0.076**	1.151 ± 0.267***
7 d nach Ende der Ozonexposition			
Kontrolle	0.391 ± 0.044	0.777 ± 0.014	1.749 ± 0.118
130 µg m^{-3}	0.268 ± 0.037***	0.735 ± 0.016***	1.011 ± 0.136***
220/40 µg m^{-3}	0.327 ± 0.008**	0.769 ± 0.026	1.431 ± 0.169***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Die ozonexponierten Pflanzen von cv. Contra (Tab. 16) zeigten ähnliche Effekte der Ozonwirkung wie cv. Ritmo. Auch hier war Reduktion von Fv/Fm vorwiegend bedingt durch einen Rückgang der maximalen Fluoreszenz. Die stärkere Reduktion von Fv/Fm unmittelbar am Ende der Exposition und die weniger deutliche Erholung sieben Tage nach deren Ende weisen cv. Contra als im Vergleich ozonsensitiver aus (Tab. 16). Die Unterschiede zwischen der Spitzenbelastung (220/40 µg O_3 m^{-3}) und der hohen Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}) waren hier schwächer ausgeprägt als bei cv. Ritmo.

Tabelle 16: Fv/Fm-Werte (n = 10) der verschiedenen Meßtage des mit Blühbeginn für drei Wochen ozonexponierten Winterweizens Contra. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben.

Variante	Fo	Fv/Fm	Fm
7 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.331 ± 0.010	0.774 ± 0.018	1.473 ± 0.141
130 µg m^{-3}	0.338 ± 0.013	0.786 ± 0.021	1.587 ± 0.122
220/40 µg m^{-3}	0.332 ± 0.015	0.791 ± 0.018	1.589 ± 0.106
14 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.373 ± 0.023	0.775 ± 0.009	1.659 ± 0.153
130 µg m^{-3}	0.389 ± 0.020	0.721 ± 0.034***	1.415 ± 0.201**
220/40 µg m^{-3}	0.424 ± 0.056*	0.706 ± 0.017***	1.443 ± 0.193*
21 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.365 ± 0.022	0.784 ± 0.005	1.684 ± 0.087
130 µg m^{-3}	0.354 ± 0.105	0.622 ± 0.089***	0.978 ± 0.323***
220/40 µg m^{-3}	0.425 ± 0.099	0.630 ± 0.063***	1.144 ± 0.146***
7 d nach Ende der Ozonexposition			
Kontrolle	0.382 ± 0.044	0.751 ± 0.022	1.541 ± 0.183
130 µg m^{-3}	0.245 ± 0.051***	0.703 ± 0.040**	0.851 ± 0.243***
220/40 µg m^{-3}	0.340 ± 0.050	0.726 ± 0.027*	1.253 ± 0.234**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Die ozonexponierten Pflanzen des Sommerweizens cv. Nandu zeigten deutlich geringere Effekte der Ozonwirkung als die Winterweizensorten (Tab. 17): 14 Tage nach Beginn der Exposition war nur bei den Pflanzen unter Dauerbelastung eine leichte Reduktion von Fv/Fm, bedingt durch einen Rückgang der maximalen Fluoreszenz, zu messen. Ein deutliches Absinken von Fv/Fm unmittelbar am Ende der Exposition zeigten wiederum die Pflanzen unter Dauerbelastung, und zwar war sowohl ein Anstieg der Grundfluoreszenz als auch ein Rückgang von Fm zu beobachten (Tab. 17). Eine leichte Erholung sieben Tage nach Expositionsende zeigte sich auch beim Sommerweizen.

Tabelle 17: Fv/Fm-Werte (n = 10) der verschiedenen Meßtage des mit Blühbeginn für drei Wochen ozonexponierten Sommerweizens. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben.

Variante	Fo	Fv/Fm	Fm
7 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.303 ± 0.031	0.790 ± 0.012	1.444 ± 0.145
130 µg m^{-3}	0.319 ± 0.035	0.783 ± 0.021	1.476 ± 0.172
220/40 µg m^{-3}	0.282 ± 0.011	0.790 ± 0.012	1.347 ± 0.107
14 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.268 ± 0.019	0.798 ± 0.013	1.335 ± 0.147
130 µg m^{-3}	0.284 ± 0.014	0.778 ± 0.016**	1.284 ± 0.121
220/40 µg m^{-3}	0.302 ± 0.024**	0.794 ± 0.011	1.474 ± 0.173
21 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.295 ± 0.008	0.792 ± 0.013	1.421 ± 0.100
130 µg m^{-3}	0.318 ± 0.026*	0.746 ± 0.025***	1.266 ± 0.165*
220/40 µg m^{-3}	0.320 ± 0.028*	0.759 ± 0.025**	1.330 ± 0.090*
7 d nach Ende der Ozonexposition			
Kontrolle	0.305 ± 0.024	0.780 ± 0.014	1.387 ± 0.138
130 µg m^{-3}	0.281 ± 0.047	0.754 ± 0.030*	1.156 ± 0.224*
220/40 µg m^{-3}	0.286 ± 0.030	0.773 ± 0.018	1.271 ± 0.182

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.3.3 Einfluß auf den Kohlenhydrathaushalt

Der Gehalt der löslichen Kohlenhydrate des Fahnenblattes, des zugehörigen Internodiums sowie des Pedunkels wurden unmittelbar am Expositionsende bestimmt (Tab. 18 bis 20).
Die Saccharose- und Stärkegehalte der Fahnenblätter des ozonexponierten Winterweizens verminderten sich auf ca. ein Drittel im Vergleich zur Kontrolle (Tab. 18 und 19). Die Effekte waren vom Kultivar unabhängig. Der Monosaccharidgehalt der Fahnenblätter der ozonexponierten Pflanzen verdreifachte (Ritmo, Tab. 18) bzw. verdoppelte sich (Contra, Tab. 19) im Vergleich zur Kontrolle. Während sich die Effekte der Spitzenbelastung und der konstant hohen Belastung auf den Kohlenhydratgehalt des Fahnenblattes gleich auswirkten, zeigten sich im zugehörigen Internodium Unterschiede (Tab. 18 und 19).

Tabelle 18: Kohlenhydratgehalt (n = 8) der in der Blühphase (EC 61) ozonexponierter Winterweizenpflanzen cv. Ritmo. Die Probennahme erfolgte unmittelbar am Ende der dreiwöchigen Ozonexposition. Die Daten zu den mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition dieser Serie finden sich in Tabelle 4.

Variante	Glucose	Fructose	Saccharose	Stärke
	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]
Pedunkel				
Kontrolle	1.91 ± 0.25	1.72 ± 0.31	37.74 ± 5.07	18.27 ± 2.45
130 µg m^{-3}	3.97 ± 0.77***	4.33 ± 0.91***	28.76 ± 3.52**	13.65 ± 1.68***
220/40 µg m^{-3}	3.28 ± 0.45***	3.77 ± 1.06***	33.51 ± 11.78	14.58 ± 2.59*
Fahnenblatt				
Kontrolle	8.86 ± 2.30	7.71 ± 1.51	100.27 ± 16.09	42.61 ± 7.46
130 µg m^{-3}	21.27 ± 3.94***	24.38 ± 3.76***	34.66 ± 6.85***	14.80 ± 3.17***
220/40 µg m^{-3}	18.37 ± 3.40***	23.27 ± 4.22***	37.83 ± 10.74***	14.70 ± 4.10***
Zugehöriges Internodium				
Kontrolle	19.27 ± 9.29	55.44 ± 25.71	177.07 ± 29.90	58.80 ± 12.78
130 µg m^{-3}	12.23 ± 7.24	39.12 ± 24.21	53.82 ± 14.60***	21.51 ± 6.43***
220/40 µg m^{-3}	9.88 ± 4.31*	37.78 ± 15.76	96.67 ± 12.07***	37.09 ± 5.16**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Der Saccharose- und Stärkegehalt im zugehörigen Internodium des ozonexponierten Winterweizens Ritmo verminderte sich auf ca. ein Drittel unter konstant hoher Belastung (130 µg m^{-3}) bzw. um die Hälfte unter Spitzenbelastung (220/40 µg m^{-3}) im Vergleich zur Kontrolle (Tab.18). Der Winterweizen Contra zeigte ähnliche Tendenzen, jedoch mit noch stärkeren Reduktionen (Tab. 19).

Der Saccharose- und Stärkegehalt des Pedunkels sinkt nach dreiwöchiger konstant hoher Belastung um ca. 25 (cv. Ritmo) bzw. ca. 33 % (cv. Contra). Die Spitzenbelastung bewirkte vor allem bei Contra Reduktionen in gleicher Größenordnung.

Tabelle 19: Kohlenhydratgehalt (n = 8) in der Blühphase (EC 61) ozonexponierter Winterweizenpflanzen cv. Contra. Die Probennahme erfolgte unmittelbar am Ende der dreiwöchigen Ozonexposition. Die Daten zu den mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition dieser Serie finden sich in Tabelle 4.

Variante	Glucose	Fructose	Saccharose	Stärke
	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]
Pedunkel				
Kontrolle	1.67 ± 0.40	1.52 ± 0.59	46.21 ± 2.69	22.34 ± 1.31
130 µg m^{-3}	3.02 ± 0.57***	2.88 ± 0.61***	30.97 ± 3.74***	15.21 ± 1.18***
220/40 µg m^{-3}	2.74 ± 0.55***	2.64 ± 0.55**	33.24 ± 1.91***	16.02 ± 0.59***
Fahnenblatt				
Kontrolle	9.72 ± 3.63	10.99 ± 3.55	115.06 ± 9.40	39.33 ± 5.44
130 µg m^{-3}	16.40 ± 2.22***	19.04 ± 2.84***	34.11 ± 8.18***	12.15 ± 4.35***
220/40 µg m^{-3}	20.70 ± 2.27***	25.67 ± 3.43***	38.80 ± 7.88***	12.81 ± 2.73***
Zugehöriges Internodium				
Kontrolle	6.77 ± 2.93	36.57 ± 24.19	171.09 ± 20.61	45.04 ± 5.92
130 µg m^{-3}	0.91 ± 0.50***	4.08 ± 2.68**	35.46 ± 19.70***	13.40 ± 5.03***
220/40 µg m^{-3}	1.65 ± 1.30**	14.35 ± 12.49*	60.24 ± 19.13***	21.26 ± 5.25***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Der Sommerweizen cv. Nandu zeigte im Vergleich zum Winterweizen weniger starke Effekte auf den Kohlenhydratmetabolismus (Tab. 20). Der Stärkegehalt des Fahnenblattes zeigte keine ozoninduzierten Änderungen, während der Saccharosegehalt der ozonexponierten Pflanzen um ca. 10 % (nicht signifikant) abnahm. Lediglich im zugehörigen Internodium ließ sich bei ozonexponierten Pflanzen eine Reduktion des Saccharosegehalts feststellen, allerdings hier ebenfalls nicht signifikant.

Tabelle 20: Kohlenhydratgehalt (n = 8) der in der Blühphase (EC 61) ozonexponierter Sommerweizenpflanzen cv. Nandu. Die Probennahme erfolgte unmittelbar am Ende der dreiwöchigen Ozonexposition. Die Daten zu den mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition dieser Serie finden sich in Tabelle 5.

Variante	**Glucose**	**Fructose**	**Saccharose**	**Stärke**
	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]
Pedunkel				
Kontrolle	4.25 ± 1.66	2.58 ± 1.03	32.90 ± 4.47	17.87 ± 1.82
130 µg m^{-3}	2.78 ± 0.49*	1.99 ± 0.60	31.53 ± 5.65	15.67 ± 2.72
220/40 µg m^{-3}	3.59 ± 0.86	2.72 ± 0.76	29.84 ± 5.53	16.38 ± 3.38
Fahnenblatt				
Kontrolle	5.84 ± 0.85	4.46 ± 0.66	50.26 ± 9.49	19.64 ± 3.73
130 µg m^{-3}	7.17 ± 2.36	4.83 ± 0.90	45.79 ± 13.63	20.45 ± 5.81
220/40 µg m^{-3}	6.80 ± 1.20	5.70 ± 1.86	43.18 ± 6.93	19.47 ± 2.86
Zugehöriges Internodium				
Kontrolle	5.57 ± 3.83	6.44 ± 4.72	100.68 ± 29.46	33.05 ± 8.04
130 µg m^{-3}	2.36 ± 0.86	3.38 ± 2.12	83.82 ± 34.45	28.18 ± 7.33
220/40 µg m^{-3}	2.10 ± 0.24*	3.25 ± 1.00	77.97 ± 24.80	26.83 ± 6.19

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.4 Entwicklung von Photosynthese und Assimilatgehalt der Fahnenblätter während und nach Ende der Ozonexposition sowie der Einfluß auf den Ertrag von Sommerweizen

Sommerweizen cv. Nandu wurde zu Beginn der Anthese (EC 61) einer zweiwöchigen Ozonexposition (Tab.1: Ozonexpositionsmuster 3a und 4a) ausgesetzt. Die Ozonexpositionsmuster ergaben die gleiche Gesamtdosis. Die Ozonkonzentration erreichte einen „akuten“ Spitzenwert (4 h: 220 µg m^{-3}) bzw. eine „chronische“ Dauerbelastung (8 h: 130 µg m^{-3}) (siehe auch S. 19, **2.3 Ozonexposition**). Angaben zu mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition, die 1997 durchgeführt wurde: vgl. Tabelle 6.

3.1.4.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente

Der Gesamtchlorophyllgehalt wurde nach 7 Tagen, und unmittelbar am Ende der Exposition bzw. 7 d später mittels SPAD-Messung aufgenommen und anhand der Eichkurve berechnet (Tab. 21). Nach einer Expositionszeit von sieben Tagen war der Gesamtchlorophyllgehalt der „akut“ belasteten Pflanzen um 35 % im Vergleich zu den Kontrollpflanzen reduziert (Tab. 21). Am Ende der Expositionszeit lag die Reduktion bei 40 %. Zum gleichen Zeitpunkt zeigten die „chronisch“ belasteten Pflanzen eine Reduktion des Gesamtchlorophyllgehalts um 25 %. Eine Woche nach Ende der Exposition lag der Chlorophyllgehalt bei beiden Varianten bei 85 % des Gehalts der Kontrollpflanzen. Die relativ niedrigen Pigmentgehalte auch der Kontrollpflanzen zeigen hier das Fortschreiten der natürlichen Seneszenz.

Tabelle 21: Chlorophyllgehalt [mg g^{-1} TG] (n = 20) (Minolta Chlorophyll Meter, SPAD) des Fahnenblattes der in der Blüte (EC 61) ozonexponierten Sommerweizenpflanzen Nandu. Die Probennahmen erfolgten nach 7 d und unmittelbar am Ende der Exposition bzw. 7 d später.

Variante	Exposition		Nachkultur
	7 d	14 d	7 d
Kontrolle	11.3 ± 1.1	11.0 ± 1.1	8.6 ± 1.1
130/40 µg m^{-3}	10.4 ± 1.9	8.2 ± 2.2**	7.3 ± 0.9**
220/40 µg m^{-3}	7.5 ± 1.1***	6.7 ± 1.5***	7.3 ± 1.8

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.4.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven

Die ozonexponierten Pflanzen zeigten nach 7 Tagen eine Reduktion von Fv/Fm, vermutlich bedingt durch ein Absinken der maximalen Fluoreszenz (Tab. 22). Bis Expositionsende sank Fv/Fm weiter, begleitet von einer weiteren Abnahme der maximalen Fluoreszenz. Es zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen „chronisch“ (8 h: 130 µg m^{-3}) und „akut“ (4 h: 220 µg m^{-3}) belasteten Pflanzen. Nach der Exposition folgte eine weitere Kultivierung unter ozonfreier Luft im Gewächshaus. Sieben Tage nach Expositionsende zeigten die zuvor ozonexponierten Pflanzen keine Anzeichen einer Erholung.

Tabelle 22: Fv/Fm-Werte (n = 10) der verschiedenen Meßtage des mit Blühbeginn ozonexponierten Sommerweizen cv. Nandu. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben.

Variante	Fo	Fv/Fm	Fm
7 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.305 ± 0.011	0.803 ± 0.013	1.555 ± 0.088
130/40 µg m^{-3}	0.312 ± 0.025	0.785 ± 0.017*	1.453 ± 0.076*
220/40 µg m^{-3}	0.308 ± 0.017	0.756 ± 0.017***	1.264 ± 0.110***
14 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.332 ± 0.020	0.767 ± 0.014	1.422 ± 0.043
130/40 µg m^{-3}	0.324 ± 0.006	0.743 ± 0.014**	1.261 ± 0.092***
220/40 µg m^{-3}	0.329 ± 0.017	0.724 ± 0.020***	1.195 ± 0.081***
7 d nach Ende der Ozonexposition			
Kontrolle	0.512 ± 0.021	0.751 ± 0.011	2.057 ± 0.079
130/40 µg m^{-3}	0.485 ± 0.046	0.739 ± 0.026	1.884 ± 0.318**
220/40 µg m^{-3}	0.467 ± 0.074	0.713 ± 0.024***	1.641 ± 0.314**

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Bei der Messung der maximalen Fluoreszenz (Fm) hatten sich nach Ozonexposition signifikante Unterschiede zu den unbehandelten Pflanzen ergeben. Daher wurden für die verschiedenen Varianten Lichtkurven der Elektronentransportrate aufgenommen: Nach vorhergehender Dunkeladaptation und Bestimmung von Fo und Fm wird die PAR in Drei-Minuten-Schritten von ca. 10 µE auf 200 µE erhöht. Nach jedem Schritt erfolgt ein Sättigungspuls und die Fluoreszenzparameter Yield, ETR, qP und qN werden aufgenommen.

Abbildung 17 zeigt die so erhaltenen Lichtkurven der zur Anthese ozonexponierten Pflanzen nach 11-tägiger Ozonexposition. Diese Daten bestätigen die Fv/Fm-Werte (Tab. 22): Die verminderte Elektronentransportrate der „akut“ belasteten Pflanzen unterstützt ebenso den reduzierten Wert für Fm. Die Unterschiede zwischen „chronisch“ und „akut“ belasteten Pflanzen sind hier allerdings nicht so hoch, als Fv/Fm und Fm dies erwarten lassen.

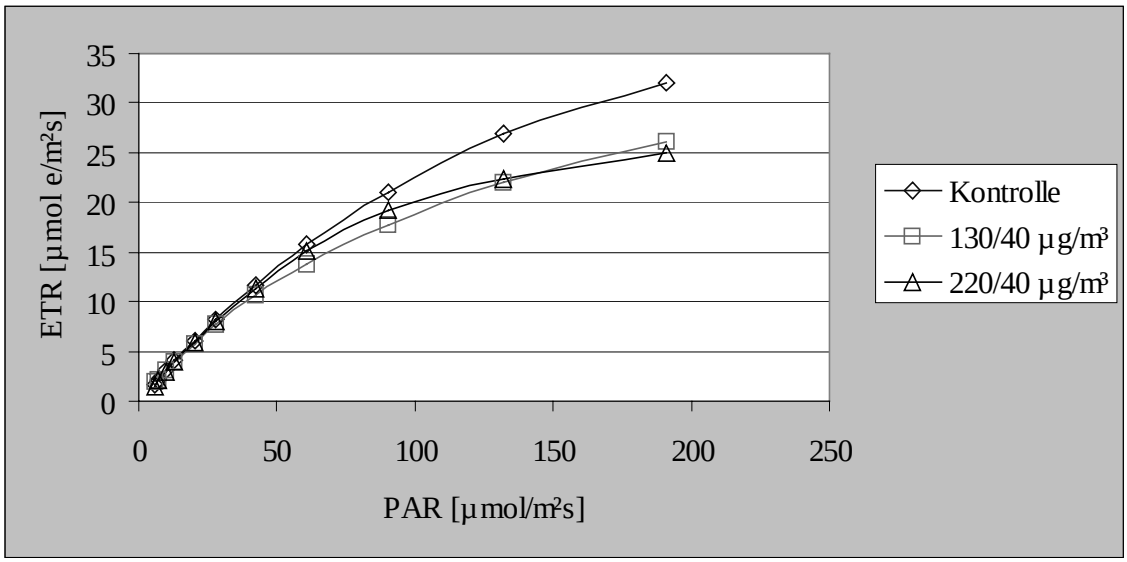

Abbildung 17: Lichtkurven des in der Blüte ozonexponierten Sommerweizens nach 11 d Exposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 200 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´.

Gleichzeitig mit der Bestimmung der Elektronentransportrate wurden die Koeffizienten qP und qN der photochemischen bzw. nicht- photochemischen Fluoreszenzlöschung aufgenommen (Abb. 18 und 19). Dabei sank der Löschungskoeffizient qP (photochemisch) der „chronisch“ ozonexponierten Pflanzen bei steigender Lichtintensität stärker als der der Kontrollpflanze (Abb. 18). Umgekehrt stieg der Löschungskoeffizient qN (nicht-photochemisch) der ozonexponierten Pflanzen bei steigender Lichtintensität deutlich stärker an (Abb. 19). Pflanzen unter Spitzenbelastung (220/40 µg O_3 m^{-3}) wiesen einen stärkeren Anstieg von qN auf als die unter Dauerbelastung (130/40 µg O_3 m^{-3}).

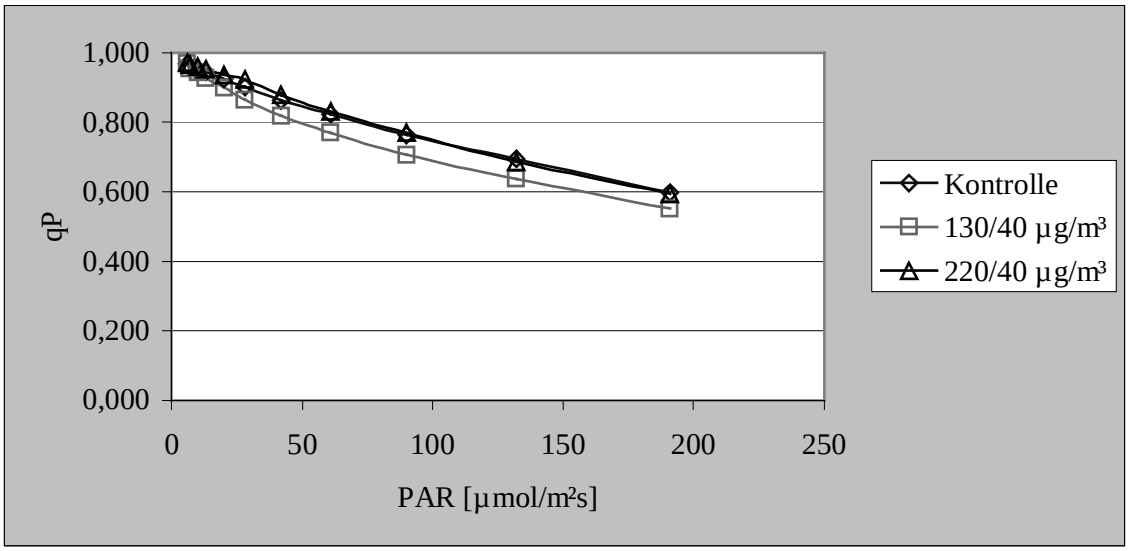

Abbildung 18: Photochemische Fluoreszenzlöschung (qP) des in der Blüte ozonexponierten Sommerweizens nach 11 d Exposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 200 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

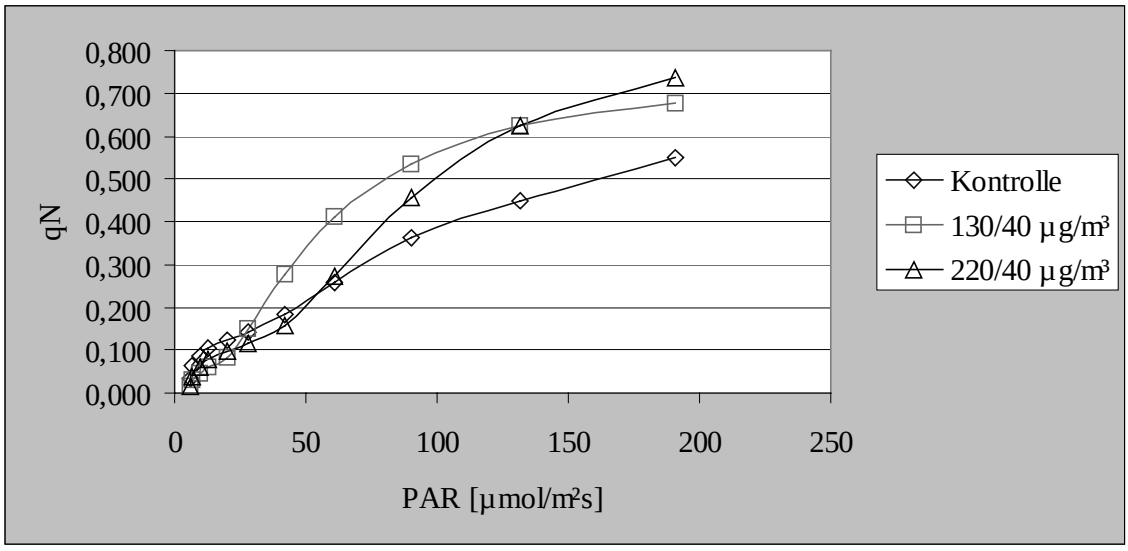

Abbildung 19: Nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (qN) des in der Blüte ozonexponierten Sommerweizens nach 11 d Exposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 200 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

3.1.4.3 Einfluß auf den Kohlenhydrathaushalt

Beide Ozonexpositionsmuster (Tab. 1: 3a, 4a) verursachten starke Änderungen im Gehalt der wasserlöslichen Kohlenhydrate im Fahnenblatt im Vergleich zu den Kontrollpflanzen: Sie führten zu einer signifikanten Reduktion des Saccharose- und auch des Stärkegehalts (Tab. 23).

Während der Effekt schon nach sieben Tagen sichtbar wurde, verstärkte er sich bis zu Ende der Exposition noch weiter. Wie bei den Änderungen des Fluoreszenzparameters Fv/Fm (**3.1.4.2**, Tab. 22), so zeigten sich auch hier die drastischeren Verminderungen des Saccharose- und Stärkegehalts unter der Spitzenbelastung (Tab. 23). Die Unterschiede traten auch noch nach einer siebentägigen Erholungsphase auf, die die ozoninduzierten Schädigungen offenbar nicht kompensieren konnte.

Im zugehörigen Internodium trat die Reduktion wasserlöslichen Kohlenhydrate verzögert auf (Tab. 23). Auch hier wurde die Abstufung der Reaktion auf „chronische“ und „akute“ Belastung deutlich. Unmittelbar am Expositionsende sank der Saccharose- und Stärkegehalt unter Spitzenbelastung auf ca. 70 %, der Fructangehalt sogar auf 45 % im Vergleich zu den Kontrollpflanzen. Auch eine Woche nach Expositionsende blieben die Gehalte der nicht-strukturellen Kohlenhydrate ozonexponierten Pflanzen deutlich reduziert.

Tabelle 23: Kohlenhydratgehalt [mg g^{-1} TG] der in der Blüte (EC 61) ozonexponierten Sommerweizenpflanzen cv. Nandu im Vergleich zu Kontrollpflanzen. Die Probennahmen erfolgten nach 7 d und unmittelbar am Ende der Exposition bzw. 7 d später. Die Daten zu den mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition dieser Serie finden sich in Tabelle 6.

Variante	**Glucose**	**Fructose**	**Saccharose**	**Stärke**
	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]
Fahnenblatt				
nach 7 d Ozonexposition				
Kontrolle	23.66	17.41	80.00	37.22
130/40 µg m^{-3}	30.02	23.86	49.13***	19.30***
220/40 µg m^{-3}	25.88	21.28	45.43***	21.92**
nach 14 d Ozonexposition				
Kontrolle	20.52	19.64	81.15	39.57
130/40 µg m^{-3}	12.82	11.41*	24.58***	13.18**
220/40 µg m^{-3}	10.61*	9.58***	15.16***	8.95***
7 d nach Ende der Ozonexposition				
Kontrolle	10.39	10.61	52.71	28.11
130/40 µg m^{-3}	16.23	14.72	36.76	19.87
220/40 µg m^{-3}	11.05	10.60	20.17**	10.71**

Zugehöriges Internodium					
Variante	**Glucose**	**Fructose**	**Saccharose**	**Stärke**	**Fructane**
	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]	[mg g^{-1} TG]
nach 7 d Ozonexposition					
Kontrolle	8.15	19.31	137.28	52.90	75.42
130/40 µg m^{-3}	8.22	11.92	126.94	52.03	50.21
220/40 µg m^{-3}	7.11	7.72	122.30	45.62	49.45
nach 14 d Ozonexposition					
Kontrolle	3.54	18.73	106.18	46.22	103.78
130/40 µg m^{-3}	4.53	23.47	90.10	36.84	78.84
220/40 µg m^{-3}	5.03	17.08	75.89	31.74*	44.77*
7 d nach Ende der Ozonexposition					
Kontrolle	5.19	31.06	63.17	33.37	30.42
130/40 µg m^{-3}	5.02	30.90	38.09	18.50	22.08
220/40 µg m^{-3}	3.83	16.20*	29.91*	15.50*	27.46

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.4.4 Ertragsparameter Tausend-Korn-Gewicht

Die in der Anthese exponierten Sommerweizenpflanzen zeigten unter „akuter“ Belastung (220/40 µg Ozon m^{-3}) einen Ertragsverlust von über 20 Prozent (Tab. 24). Unter „chronischer“ Belastung (130/40 µg Ozon m^{-3}) betrug der Verlust hingegen nur ca. zehn Prozent. Tabelle 24 zeigt, daß diese Beobachtung sowohl für die Haupttähren als auch für die Nebenähren zutrifft. Bei gleicher Ozondosis führte die Peakkonzentration also zu einer Verdopplung des Ertragsverlusts.

Tabelle 24: Tausend-Korn-Gewicht [g] des Sommerweizens Nandu. Die Pflanzen wurden in der blühenden Phase einer zweiwöchigen Ozonexposition ausgesetzt. Das Tausend-Korn-Gewicht wurde für die Haupt- (n=12) und Nebenähren (n=16) getrennt ermittelt. Die statistische Auswertung ergab höchst signifikante Unterschiede zwischen den Kontroll- und ozonexponierten Pflanzen.

Variante	**Haupttähren**	**Nebenähren**
	[g]	[g]
Kontrolle	39.34 ± 1.61	35.55 ± 2.15
130/40 µg Ozon m^{-3}	35.94 ± 1.75***	31.24 ± 3.40***
220/40 µg Ozon m^{-3}	30.41 ± 3.21***	28.01 ± 3.17***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.5 Photosynthese und Pigmentgehalt der Fahnenblätter und ihre Änderungen im Laufe und nach Ende der Ozonexposition und der Einfluß auf den Ertrag von Winterweizen

Da sich für den Sommerweizen Nandu unter Ozonbelastung starke Ertragsverluste [Tausend-Korn-Gewicht (Tab. 24)] ergeben hatten, wurde Winterweizen, der in Mitteleuropa große agronomische Bedeutung besitzt, in die Untersuchungen mit einbezogen. Das Kultivar cv. Ritmo wurde in der Anthese (EC 65) einer zweiwöchigen Ozonexposition (Tab. 1, Muster 1a, 3a, 4a) ausgesetzt. Außerdem wurde bei einer weiteren Versuchsvariante (Expositionsbeginn EC 61) die Expositionszeit auf 10 Tage verkürzt. Die mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition sind in den Tabellen 7 und 8 angegeben.

3.1.5.1 Einfluß auf die Photosynthesepigmente

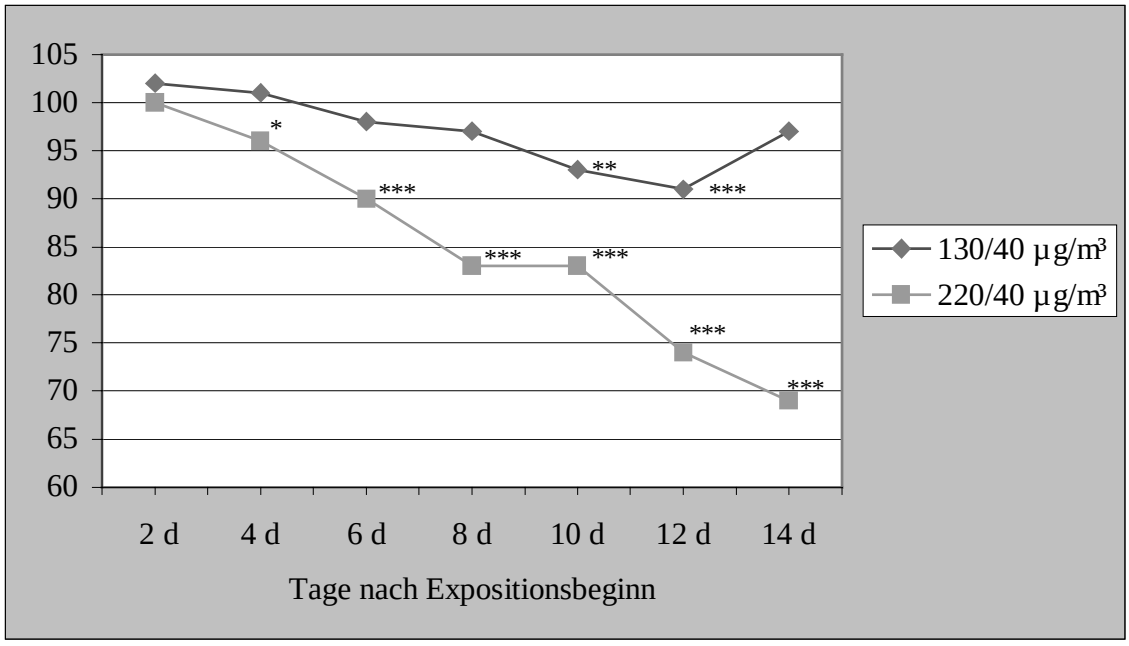

Abbildung 20: Zeitlicher Verlauf des Gesamtchlorophyllgehalts (n = 20) (Messung mit dem Minolta Chlorophyll Meter, SPAD) des Fahnenblattes der in der Blüte (EC 61) für 10 d ozonexponierten Winterweizenpflanzen cv. Ritmo. Der Gesamtchlorophyllgehalt wird in Abhängigkeit zur Kontrolle (100 %) angegeben (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$).

Abbildung 20 zeigt den Verlauf des Gesamtchlorophyllgehalts der ozonexponierten Pflanzen in Abhängigkeit zur Expositionsdauer. Der Gesamtchlorophyllgehalt nahm bei Peakbelastung (220 µg m^{-3}) linear ab. Diese Entwicklung setzt sich auch nach Ende der Ozonexposition fort. „Chronischer" Ozonstreß führte hier zu einer deutlich geringeren Reduktion. Außerdem war hier nach der zehntägigen Exposition eine Erholung zu beobachten.

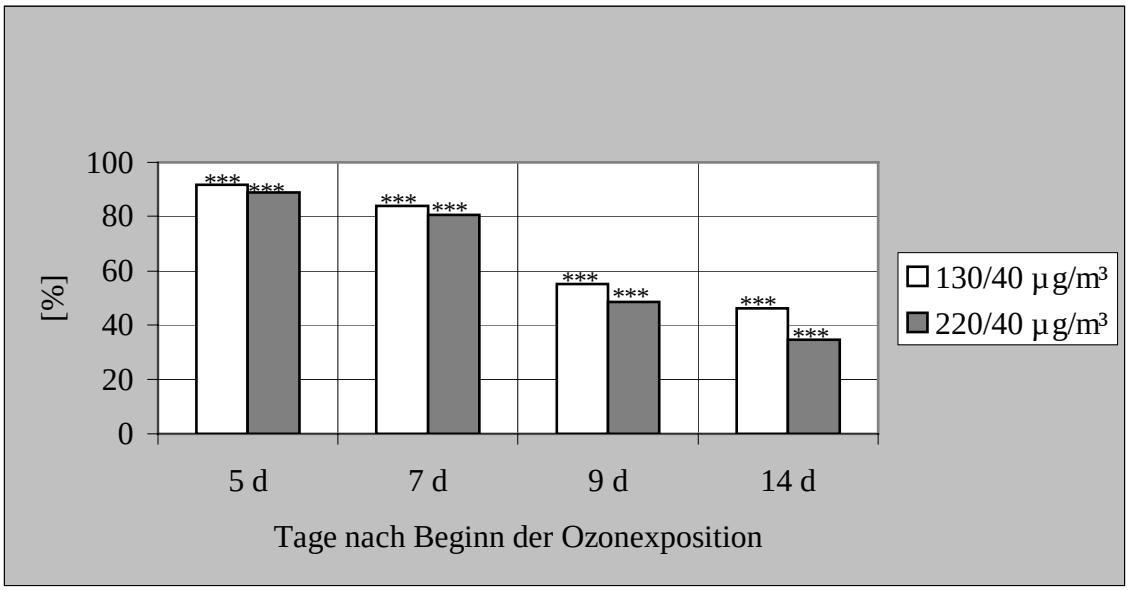

Abbildung 21: Zeitlicher Verlauf des Gesamtchlorophyllgehalts (n = 20) (Messung mit dem Minolta Chlorophyll Meter, SPAD) des Fahnenblattes der in der Blüte (EC 65) für 14 d ozonexponierten Winterweizenpflanzen cv. Ritmo. Der Gesamtchlorophyllgehalt wird in Abhängigkeit zur Kontrolle (100 %) angegeben (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$).

Die zweiwöchige Ozonexposition startete bei der nächsten Serie zur Mitte der Anthese (EC 65). Hier waren die Unterschiede zwischen der „akuten" und der „chronischen" Ozonwirkung auf den Gesamtchlorophyllgehalt nicht mehr deutlich ausgeprägt (Abb. 21). Unmittelbar am Ende der Exposition reduzierte sich der Chlorophyllgehalt der ozonbegasten Pflanzen auf 46 (130/40 µg m^{-3}) bzw. 35 % (220/40 µg m^{-3}) der Kontrollpflanzen.

3.1.5.2 Einfluß auf die Photosynthese – Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen aus dem Standardprogramm und aus der Messung von Lichtkurven

Die unter „chronischem“ Ozonstreß stehenden Pflanzen, die zu Beginn der Anthese (EC 61) einer zehntägigen Ozonexposition ausgesetzt waren, zeigten im Vergleich zur Kontrolle keine Änderung von Fv/Fm, während für „akut“ belastete Pflanzen bis zum Expositionsende eine deutliche Verminderung eintrat (Abb. 22). Ein Anstieg von Fv/Fm der „akut“ belasteten Pflanzen war nach Expositionsende zu verzeichnen.

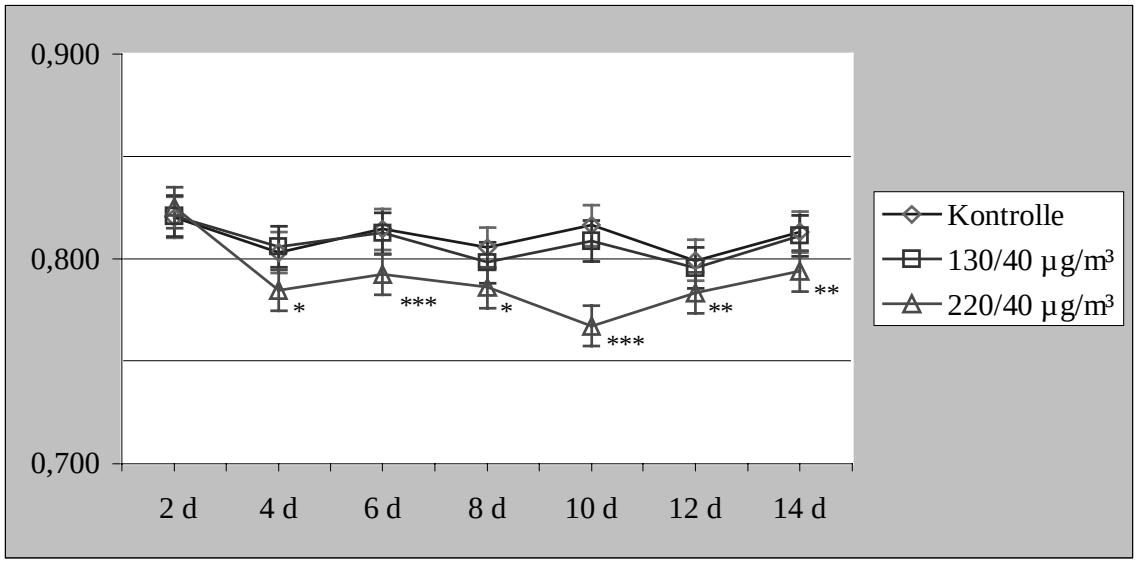

Abbildung 22: Zeitlicher Verlauf von Fv/Fm der in der Blüte (EC 61) für 10 d ozonexponierten Winterweizenpflanzen cv. Ritmo. Es werden Mittelwerte (n = 20) und Standardabweichungen für die Pflanzen unter „akutem“ bzw. „chronischem“ Ozonstreß im Vergleich zu den Kontrollpflanzen (< 5 µg O_3 m^{-3}) dargestellt (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$).

Die Reduktion von Fv/Fm der „akut“ belasteten Pflanzen ist zunächst auf eine Erhöhung der Grundfluoreszenz zurückzuführen (Tab. 25). Lediglich unmittelbar am Ende der zehntägigen Exposition verminderte sich auch die maximale Fluoreszenz Fm im Vergleich zur Kontrolle. Auch nach Expositionsende zeigte Fo noch keine Anzeichen einer Erholung.

Tabelle 25: Fv/Fm-Werte (n = 20) an den verschiedenen Meßtagen des mit Blühbeginn ozonexponierten Winterweizens Ritmo (EC 61). Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden Grundfluoreszenz Fo und maximale Fluoreszenz Fm angegeben. Es werden Mittelwerte (n = 20) und Standardabweichungen für die Pflanzen unter „akutem" Ozonstreß im Vergleich zu den Kontrollpflanzen (< 5 µg O_3 m^{-3}) dargestellt (Vgl. auch Abb. 20).

Variante	Fo	Fv/Fm	Fm
2 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.328 ± 0.015	0.820 ± 0.011	1.830 ± 0.133
220/40 µg m^{-3}	0.328 ± 0.018	0.825 ± 0.013	1.890± 0.198
4 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.338 ± 0.015	0.803 ± 0.020	1.730 ± 0.192
220/40 µg m^{-3}	**0.355 ± 0.025***	**0.785 ± 0.031***	1.670 ± 0.198
6 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.330 ± 0.011	0.814 ± 0.009	1.784 ± 0.112
220/40 µg m^{-3}	**0.385 ± 0.031*****	**0.792 ± 0.014*****	1.853 ± 0.117
8 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.335 ± 0.015	0.805 ± 0.022	1.735 ± 0.165
220/40 µg m^{-3}	**0.369 ± 0.033*****	**0.786 ± 0.025***	1.735 ± 0.170
10 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.329 ± 0.019	0.816 ± 0.014	1.794 ± 0.116
220/40 µg m^{-3}	**0.382 ± 0.027*****	**0.767 ± 0.021*****	**1.647 ± 0.121*****
2 d nach Ende der Ozonexposition			
Kontrolle	0.354 ± 0.024	0.799 ± 0.014	1.772 ± 0.201
220/40 µg m^{-3}	0.382 ± 0.024***	0.783 ± 0.020**	1.767 ± 0.111
4 d nach Ende der Ozonexposition			
Kontrolle	0.343 ± 0.011	0.813 ± 0.010	1.839 ± 0.115
220/40 µg m^{-3}	0.391 ± 0.032***	0.794 ± 0.012***	1.900 ± 0.164

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Abbildung 23 zeigt die so erhaltenen Lichtkurven (ETR) der zu Blühbeginn (EC 61) ozonexponierten Pflanzen nach zehntägiger Ozonexposition. Die Lichtkurven unterstützen wiederum die Fv/Fm-Werte (Abb. 22). Die verminderte Elektronentransportrate der „akut" belasteten Pflanzen stimmt mit den in Tabelle 25 gezeigten Werten zum Absinken der maximalen Fluoreszenz Fm und zur Erhöhung der Grundfluoreszenz Fo überein.

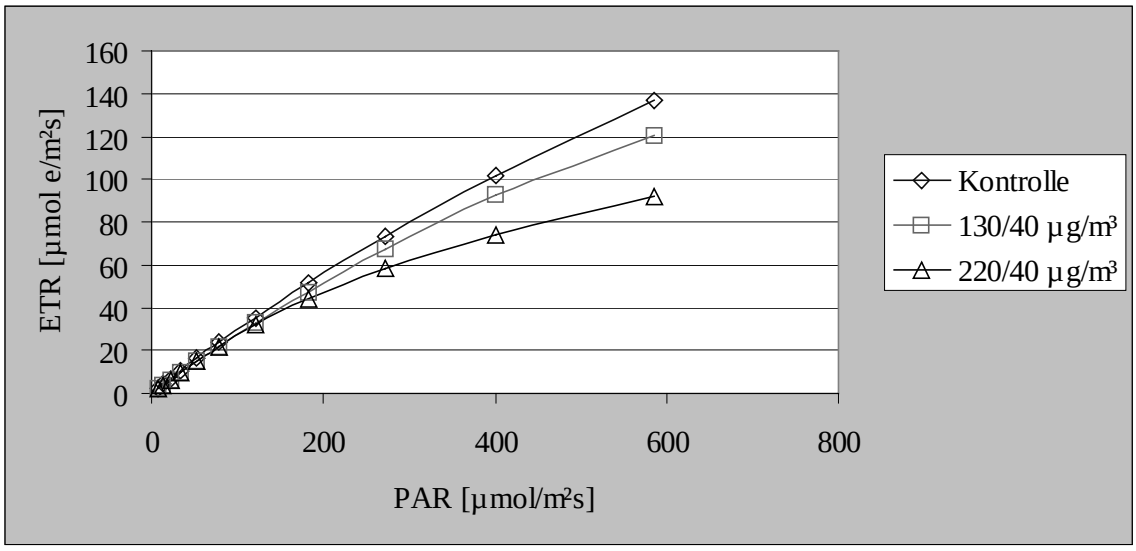

Abbildung 23: Lichtkurven der ETR des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo unmittelbar am Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´.

Gleichzeitig mit der Bestimmung der Elektronentransportrate wurden die Koeffizienten qP und qN der photochemischen bzw. nicht- photochemischen Fluoreszenzlöschung aufgenommen (Abb. 24 und 25). Dabei sank der Löschungskoeffizient qP (photochemisch) der ozonexponierten Pflanzen bei steigender Lichtintensität stärker als der der Kontrollpflanze (Abb. 24). Umgekehrt stieg der Löschungskoeffizient qN (nicht-photochemisch) der unter Spitzenbelastung ozonexponierten Pflanzen bei steigender Lichtintensität deutlich stärker an, während Pflanzen unter Dauerbelastung (130/40 µg O_3 m^{-3}) keine Änderungen gegenüber der Kontrolle zeigten (Abb. 25). Um die Änderungen von Fv/Fm der ozonbelasteten Pflanzen zwei bzw. vier Tage nach Ende der Exposition besser analysieren zu können, sind hier zusätzlich aufgenommene Lichtkurven (Abb. 26 und 29) sowie qP (Abb. 27 und 30) und qN (Abb. 28 und 31) wiedergegeben. Dabei ergaben sich für „chronisch“ ozonbelastete Pflanzen Abweichungen gegenüber den Kontrollpflanzen, die sich bei Fv/Fm nicht bemerkbar machten: Die „akut“ belasteten Pflanzen zeigen Änderungen, die schon unmittelbar zu Expositionsende auftraten.

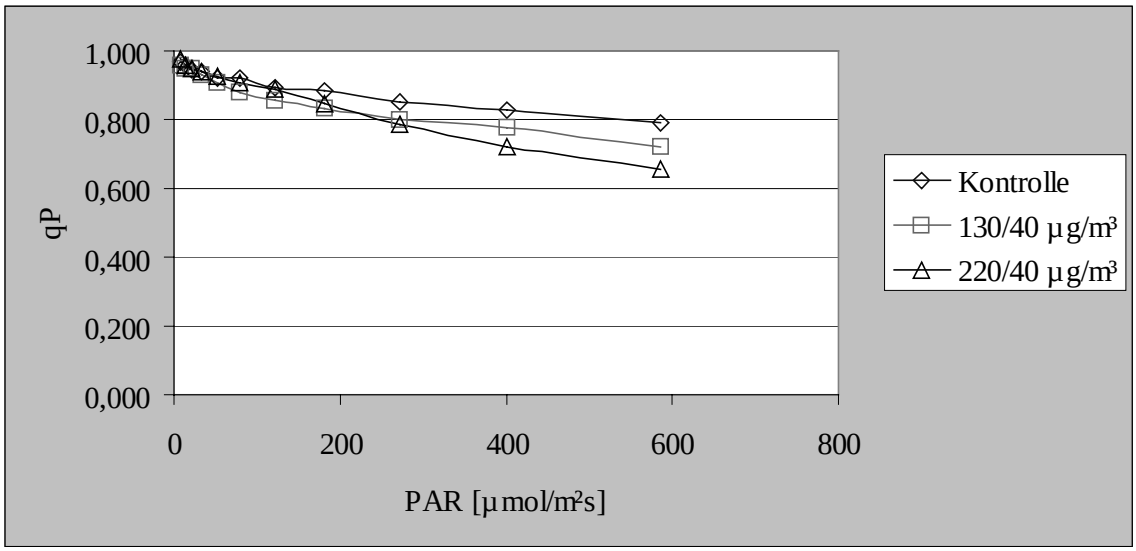

Abbildung 24: Photochemische Fluoreszenzlöschung (qP) des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo unmittelbar am Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde danach schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

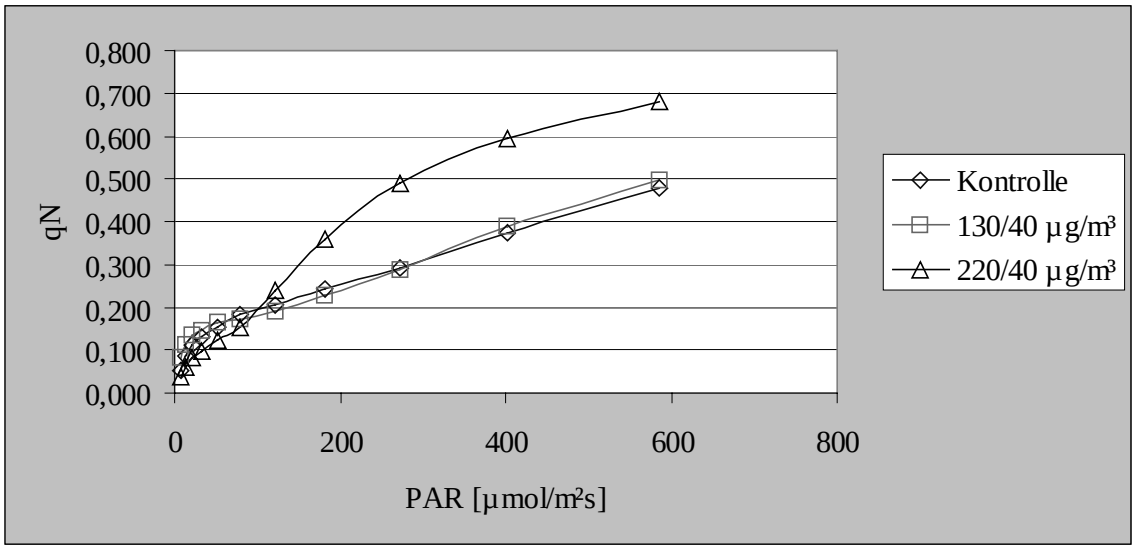

Abbildung 25: Nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (qN) des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo unmittelbar am Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

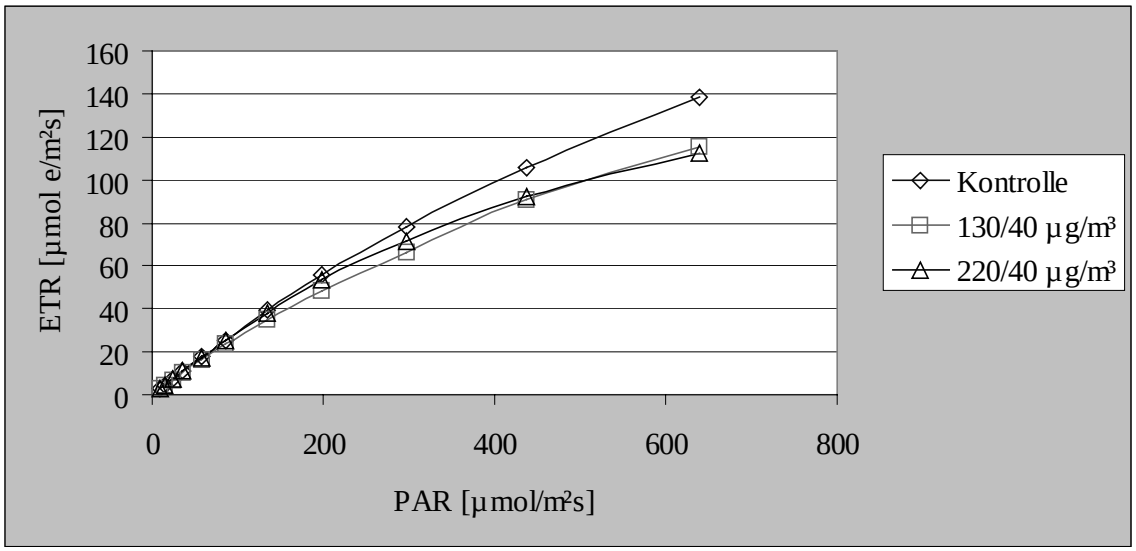

Abbildung 26: Lichtkurven des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo 2 d nach Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´.

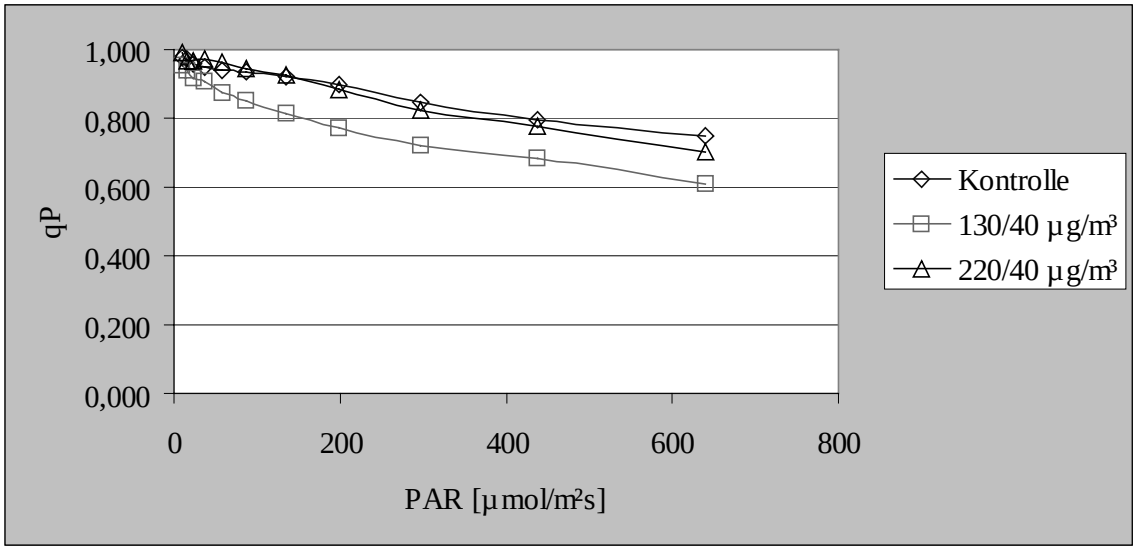

Abbildung 27: Photochemische Fluoreszenzlöschung (qP) des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo 2 d nach Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

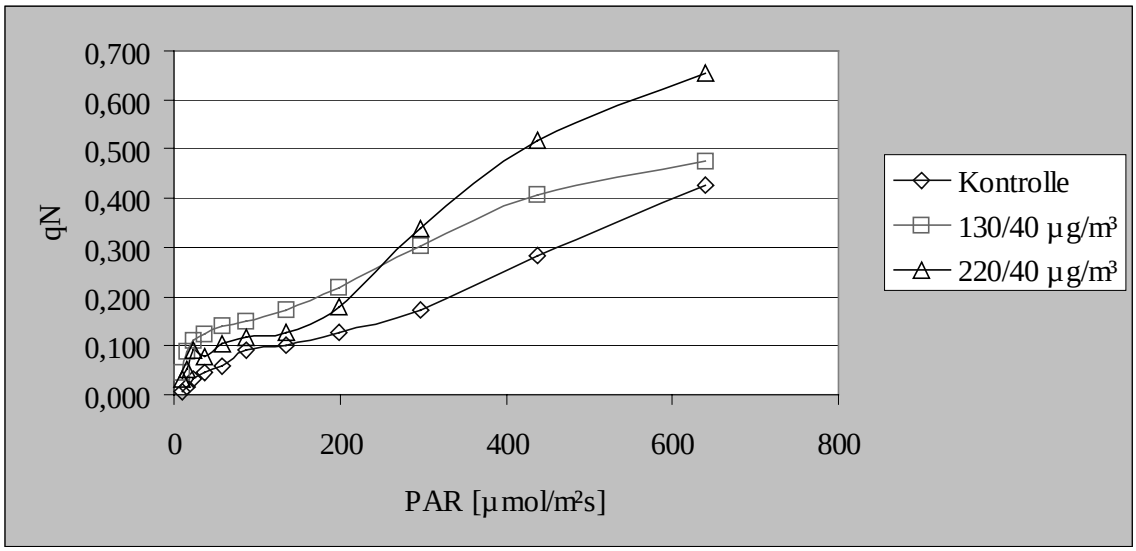

Abbildung 28: Nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (qN) des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo 2 d nach Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

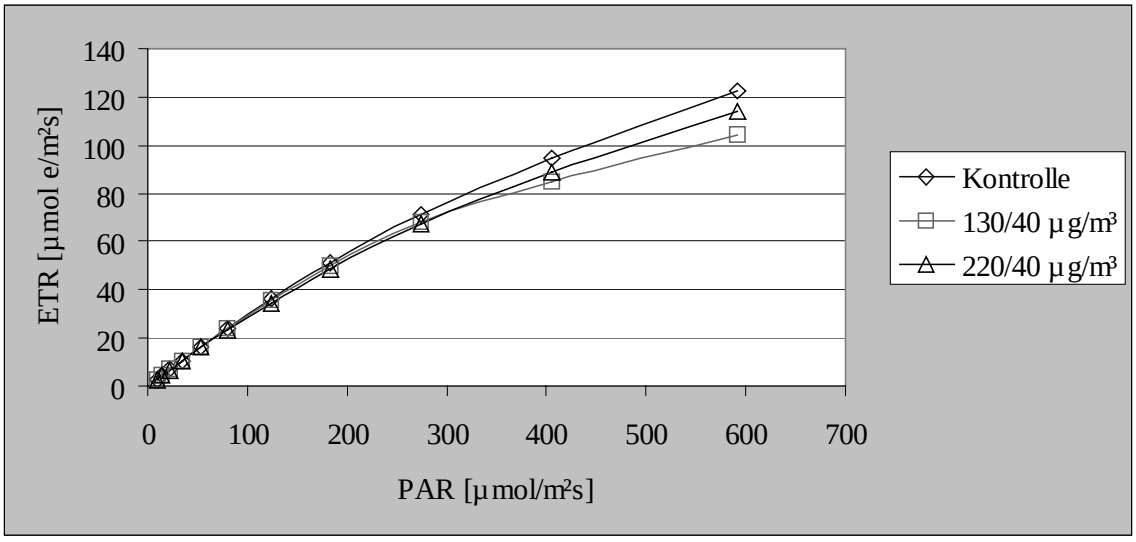

Abbildung 29: Lichtkurven des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo 4 d nach Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von $\Delta F/Fm'$.

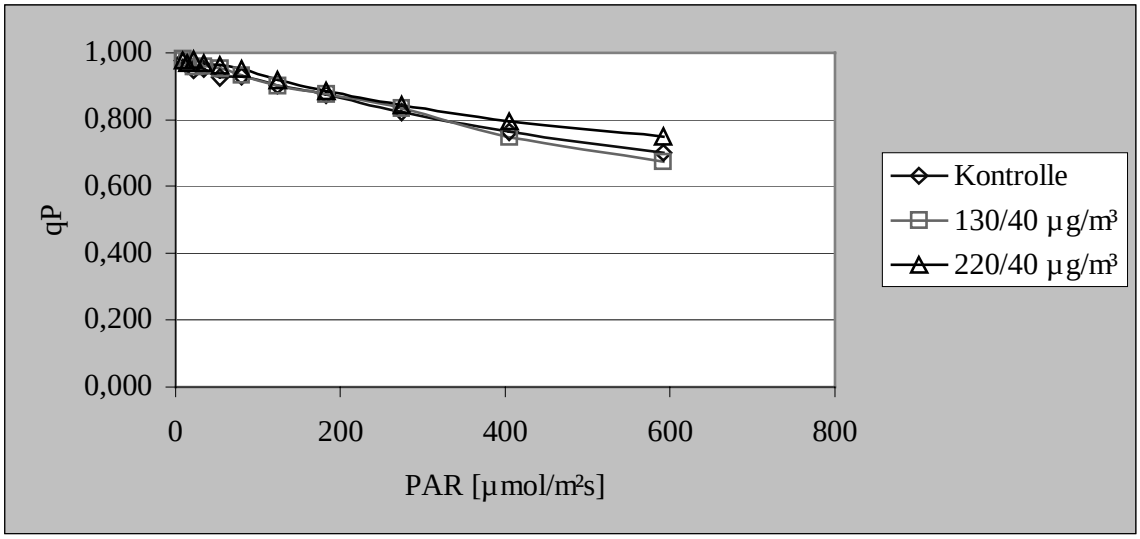

Abbildung 30: Photochemische Fluoreszenzlöschung (qP) des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo 4 d nach Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

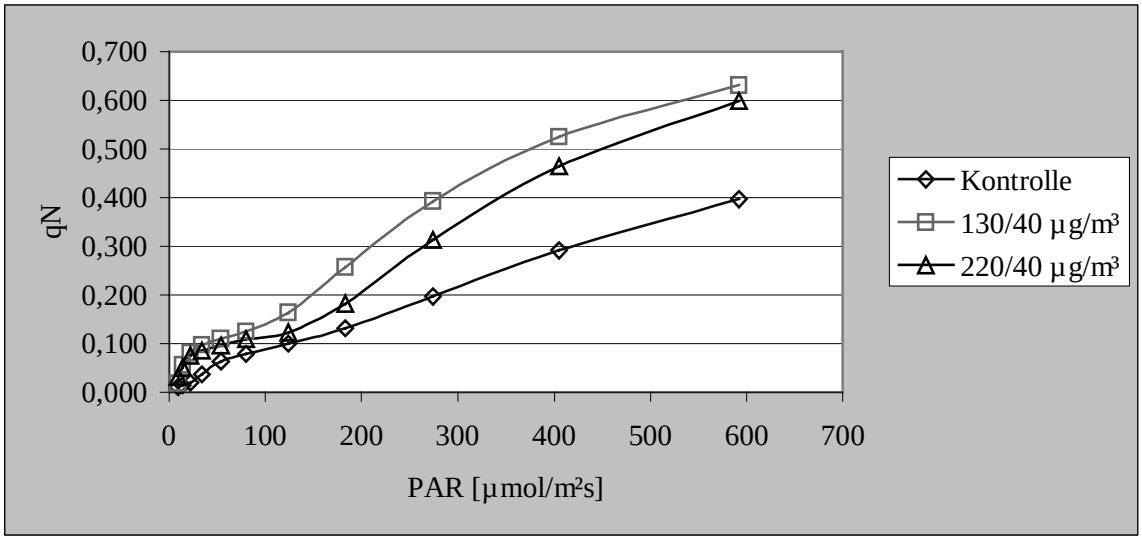

Abbildung 31: Nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (qN) des in der Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 61) cv. Ritmo 4 d nach Ende der zehntägigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

Pflanzen des Kultivars Ritmo wurden zur Voll-Blüte (EC 65) einer zweiwöchigen Ozonexposition (Tab. 1: Ozonexpositionsmuster 3a und 4a) ausgesetzt. Bereits fünf Tage nach Expositionsbeginn zeigt sich bei den „akut" belasteten Pflanzen (220/40 µg O_3 m^{-3}) eine höchst signifikante Reduktion von Fv/Fm (Tab. 26): Die Grundfluoreszenz Fo erscheint erhöht, während die maximale Fluoreszenz im Vergleich zur Kontrolle zunächst unverändert blieb. Die „chronisch" belasteten Pflanzen (130/40 µg O_3 m^{-3}) zeigen die gleiche, wenn auch weniger deutliche Tendenz (Tab. 26).

Tabelle 26: Fv/Fm-Werte (n = 20) der verschiedenen Meßtage des zur Voll-Blüte (EC 65) für 14 d ozonexponierten Winterweizen Ritmo. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben. Es werden die Mittelwerte (n = 20) und deren Standardabweichungen der Pflanzen unter „akutem" bzw. „chronischem" Ozonstreß im Vergleich zu Kontrollpflanze (< 5 µg O_3 m^{-3}) dargestellt.

Variante	Fo	Fv/Fm	Fm
5 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.348 ± 0.014	0.799 ± 0.016	1.744 ± 0.135
130/40 µg m^{-3}	0.378 ± 0.030***	0.779 ± 0.022**	1.727 ± 0.200
220/40 µg m^{-3}	0.403 ± 0.022***	0.766 ± 0.028***	1.736 ± 0.173
7 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.365 ± 0.021	0.787 ± 0.021	1.733 ± 0.192
130/40 µg m^{-3}	0.444 ± 0.030***	0.725 ± 0.027***	1.632 ± 0.194
220/40 µg m^{-3}	0.416 ± 0.023***	0.723 ± 0.027***	1.509 ± 0. 171***
9 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.352 ± 0.018	0.801 ± 0.013	1.774 ± 0.149
130/40 µg m^{-3}	0.454 ± 0.094***	0.703 ± 0.042***	1.541 ± 0.393*
220/40 µg m^{-3}	0.450 ± 0.047***	0.712 ± 0.045***	1.579 ± 0.163***
14 d nach Beginn der Ozonexposition			
Kontrolle	0.387 ± 0.024	0.789 ± 0.022	1.849 ± 0.183
130/40 µg m^{-3}	0.472 ± 0.044***	0.690 ± 0.063***	1.560 ± 0.238***
220/40 µg m^{-3}	0.422 ± 0.051***	0.693 ± 0.051***	1.400 ± 0.224***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Nach sieben Tagen (und bis zum Expositionsende) zeigten die ozonexponierten Pflanzen sowohl bei „chronischer“ als auch bei „akuter“ Belastung die gleiche Reduktion von Fv/Fm. Bei den „chronisch“ belasteten Pflanzen scheint die Erhöhung der Grundfluoreszenz stärker ins Gewicht zu fallen, während bei den „akut“ belasteten nun die Reduktion der maximalen Fluoreszenz besonders hervortritt.

Nach sieben Tagen zeigt sich in den ozonexponierten Pflanzen im Vergleich zur Kontrolle eine deutliche Reduktion der Elektronentransportrate (Abb. 32). Bei der Aufnahme der Löschungskoeffizienten fällt vor allem die Zunahme der nicht-photochemischen Fluoreszenzlöschung der ozonexponierten Pflanzen auf (Abb. 33 und 34). Deutliche Unterschiede zwischen „chronischer“ und „akuter“ Ozonbelastung waren hier nicht erkennbar.

Unmittelbar am Ende der Exposition zeigt nun die „akute“ Belastung die stärkeren Ozoneffekte auf die Elektronentransportrate (Abb. 35) sowie auf die photochemische (Abb. 36) bzw. die nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (Abb. 37).

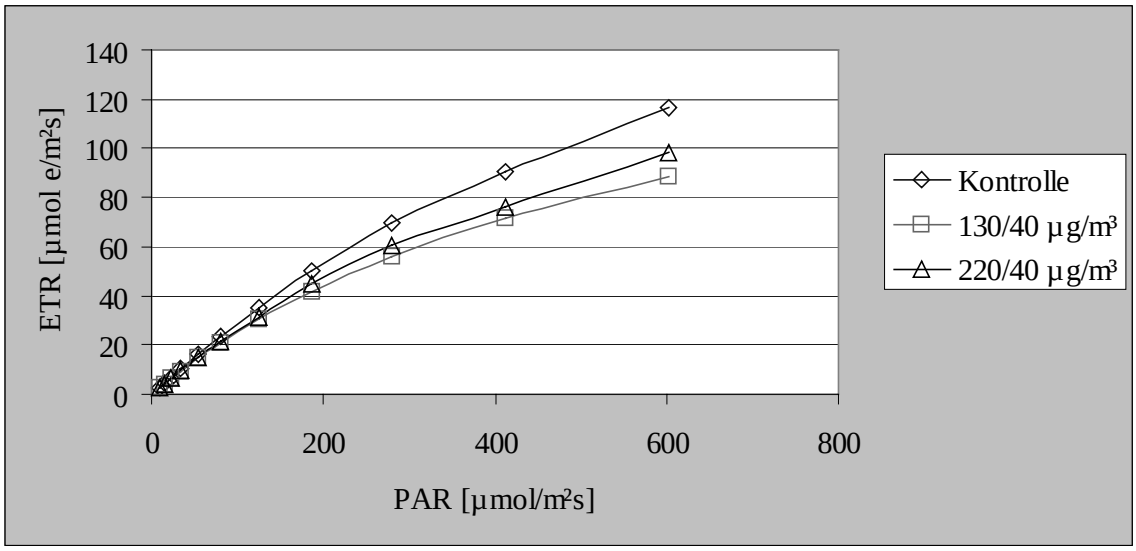

Abbildung 32: Lichtkurven des zur Voll-Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 65) cv. Ritmo 7 d nach Beginn der Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´.

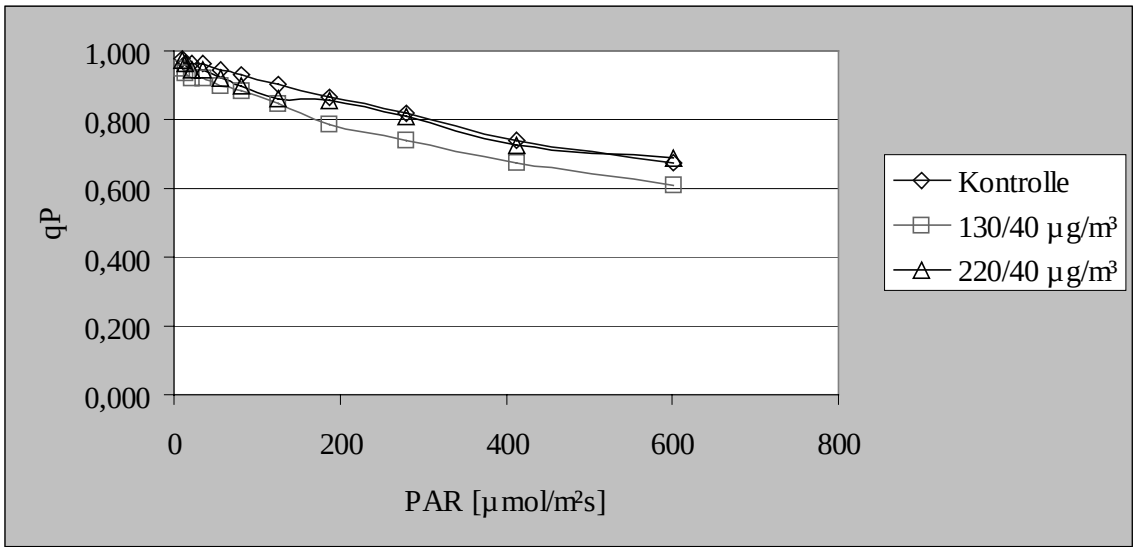

Abbildung 33: Photochemische Fluoreszenzlöschung (qP) des zur Voll-Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 65) cv. Ritmo 7 d nach Beginn der Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

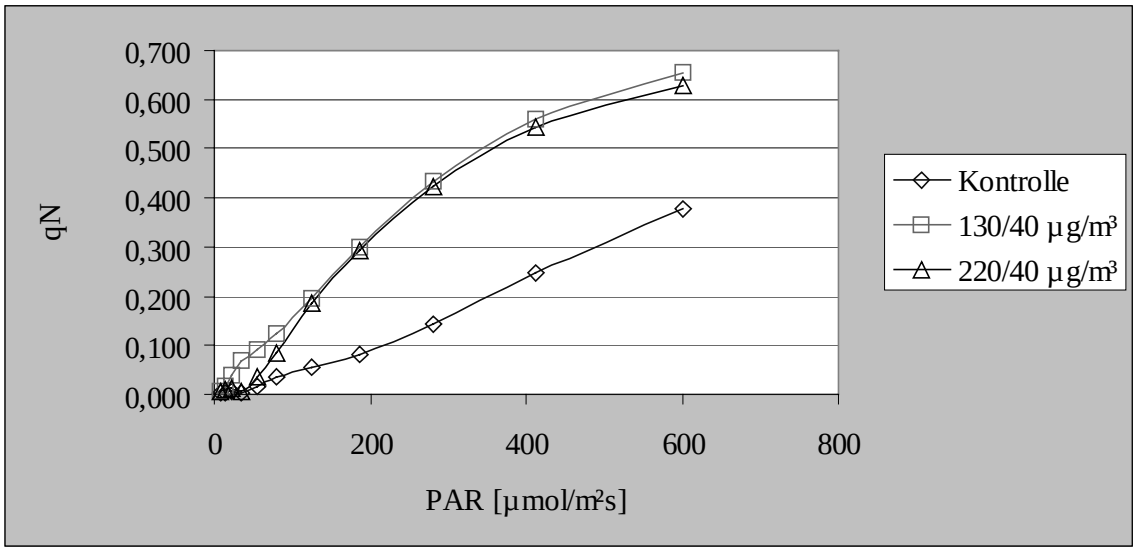

Abbildung 34: Nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (qN) des zur Voll-Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 65) cv. Ritmo 7 d nach Beginn der Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

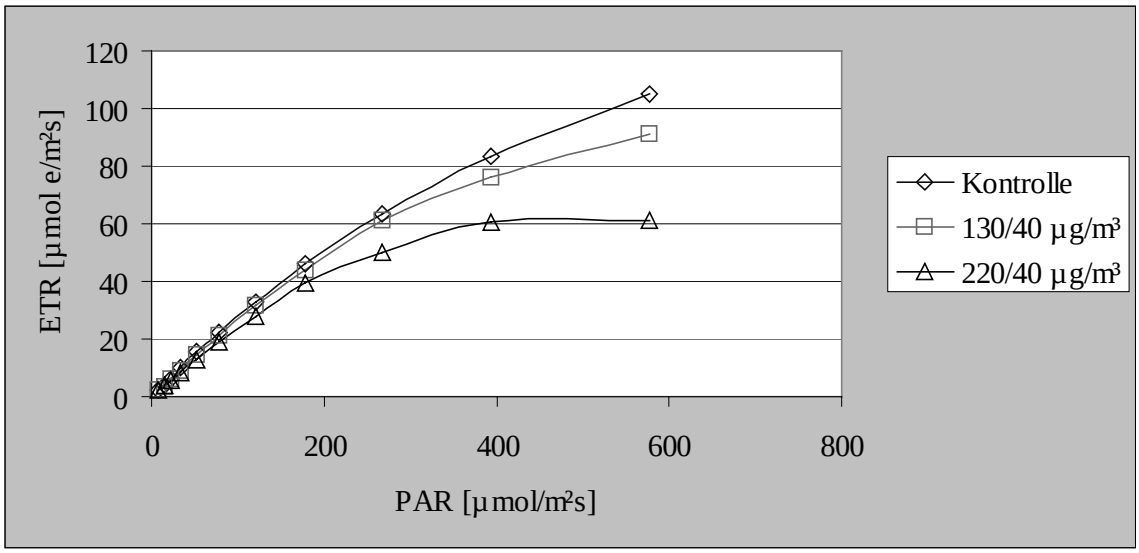

Abbildung 35: Lichtkurven des zur Voll-Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 65) cv. Ritmo unmittelbar am Ende der zweiwöchigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´.

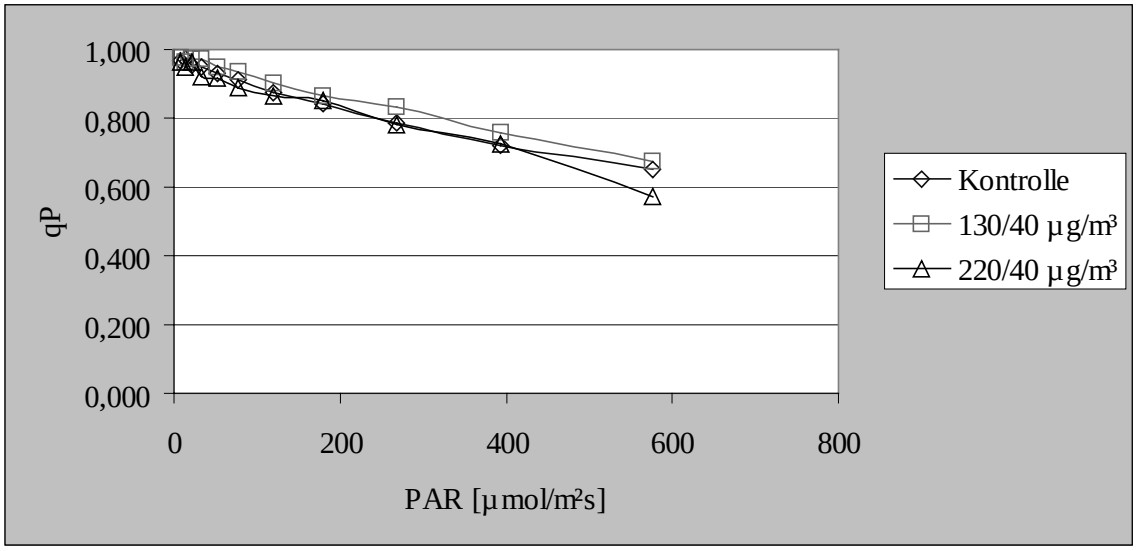

Abbildung 36: Photochemische Fluoreszenzlöschung (qP) des zur Voll-Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 65) cv. Ritmo unmittelbar am Ende der zweiwöchigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

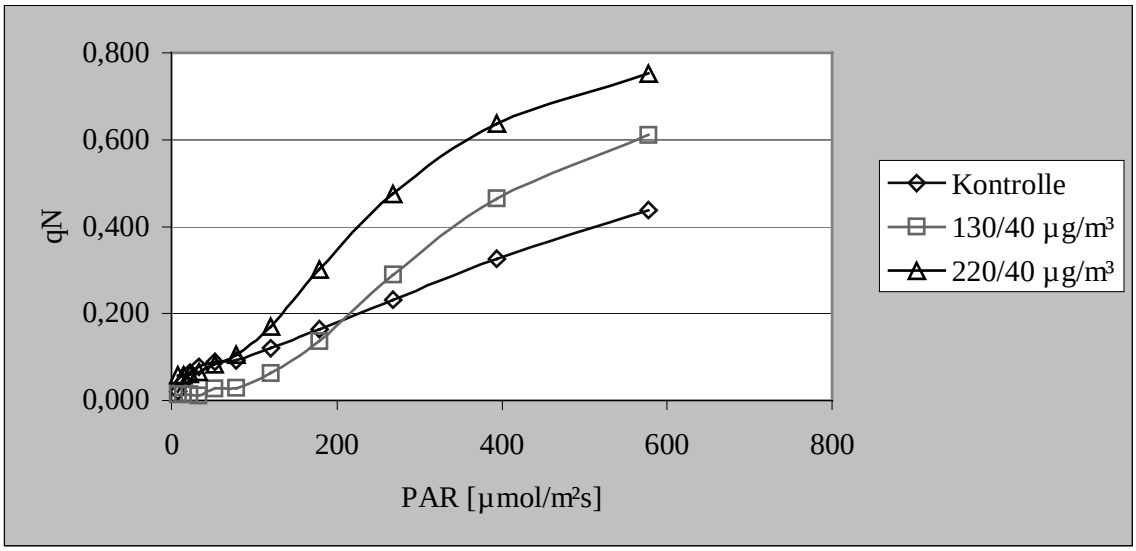

Abbildung 37: Nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung (qN) des zur Voll-Blüte ozonexponierten Winterweizens (EC 65) cv. Ritmo unmittelbar am Ende der zweiwöchigen Ozonexposition. Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde schrittweise von 6 auf ca. 600 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht.

3.1.5.3 Ertragsparameter Tausend-Korn-Gewicht

Sowohl die Ergebnisse des für 10 d ozonexponierten Winterweizens cv. Ritmo, als auch die der 14 d exponierten Pflanzen zeigten deutliche Unterschiede im TKG (Tab. 27 und 28). Wie beim Sommerweizen wirkten wiederum die Ozonpeaks (220/40 µg m^{-3}) stärker ertragsmindernd als die „chronische“ Ozonbelastung (130/40 µg m^{-3}). Die Reduktion betrug unter „chronischer“ Belastung hier nur 2 % (Hauptähren) bzw. 5 % (Nebenähren). Im Gegensatz dazu waren die Einbußen unter „akuter“ Belastung mit mehr als 10 % höchst signifikant (Tab. 27).

Tabelle 27: Tausend-Korn-Gewicht [g] des Winterweizens Ritmo. Die Pflanzen wurden in der blühenden Phase (Expositionsbeginn EC 61) einer zehntägigen Ozonexposition ausgesetzt. Das Tausend-Korn-Gewicht wurde für die Haupt- (n=30) und Nebenähren (n=48) getrennt ermittelt.

Variante	**Hauptähren**	**Nebenähren**
	[g]	[g]
Kontrolle	50.59 ± 3.55	45.44 ± 3.16
130/40 µg Ozon m^{-3}	49.58 ± 3.04	43.23 ± 3.53
220/40 µg Ozon m^{-3}	44.06 ± 3.29***	39.98 ± 3.01***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Wie Tabelle 28 zeigt, ergeben sich bei den für 14 d exponierten Pflanzen beim TKG keine Unterschiede zwischen „akutem“ und „chronischem“ Ozonstreß. Die Ertragseinbußen lagen sowohl bei Haupt- als auch bei Nebenähren bei ca. 15 %.

Tabelle 28: Tausend-Korn-Gewicht des Winterweizens Ritmo. Die Pflanzen wurden in der blühenden Phase (Expositionsbeginn EC 65) einer zweiwöchigen Ozonexposition ausgesetzt. Das Tausend-Korn-Gewicht wurde für die Haupt- (n=30) und Nebenähren (n=60) getrennt ermittelt.

Variante	**Hauptähren**	**Nebenähren**
	[g]	[g]
Kontrolle	50.66 ± 2.57	45.94 ± 2.92
130/40 µg Ozon m^{-3}	42.24 ± 3.43***	37.90 ± 3.80***
220/40 µg Ozon m^{-3}	43.91 ± 3.33***	38.08 ± 5.13***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.1.6 Einfluß unterschiedlicher Ozonbelastungssituationen auf den Befall von Weizen durch Mehltau

Versuche zur kombinierten Wirkung der Stressoren Ozon und Mehltau (*Erysiphe graminis*) sollten zeigen, inwiefern die Prädisposition der Pflanze durch eine zweiwöchige Ozonexposition die Sensibilität gegenüber dem Pathogen ändert (vgl. v. Tiedemann, 1992b) bzw. wie erhöhte Ozonwerte auf die mehltauinfizierten Pflanzen wirken.

Abbildung 38 zeigt die Papillenbildung einer Epidermiszelle des Weizens als Abwehrreaktion gegen das Eindringen einer Penetrationshyphe des Mehltaus. Das Anschwellen der Zellwand ist auf eine Anlagerung von Materialien wie Kallose, Lignin und Silikaten zurückzuführen. Die Papillenbildung ist oft 12-24 h nach Inokulation abgeschlossen und stellt eine kaum zu überwindende Barriere dar. Durchdringt der Erreger die Zellwand vor Abschluß dieser Abwehrreaktion, dann kann er sich weiter entwickeln (Schlösser, 1997).

Abbildung 39 zeigt ein Haustorium, das die meisten obligat biotrophen Pilze bilden, in einer Epidermiszelle des Weizens. Wenn eine Kommunikation und ein Materialaustausch mit Wirtszellen im Prinzip nur über diese Organe erfolgen kann, und alle bisherigen Erkenntnisse sprechen für diese Annahme (Heath und Skalamera, 1997; Götz und Boyle, 1998), dann käme es beim Ausbleiben einer Haustorienbildung zu keiner weiteren Entwicklung des Mehltaus.

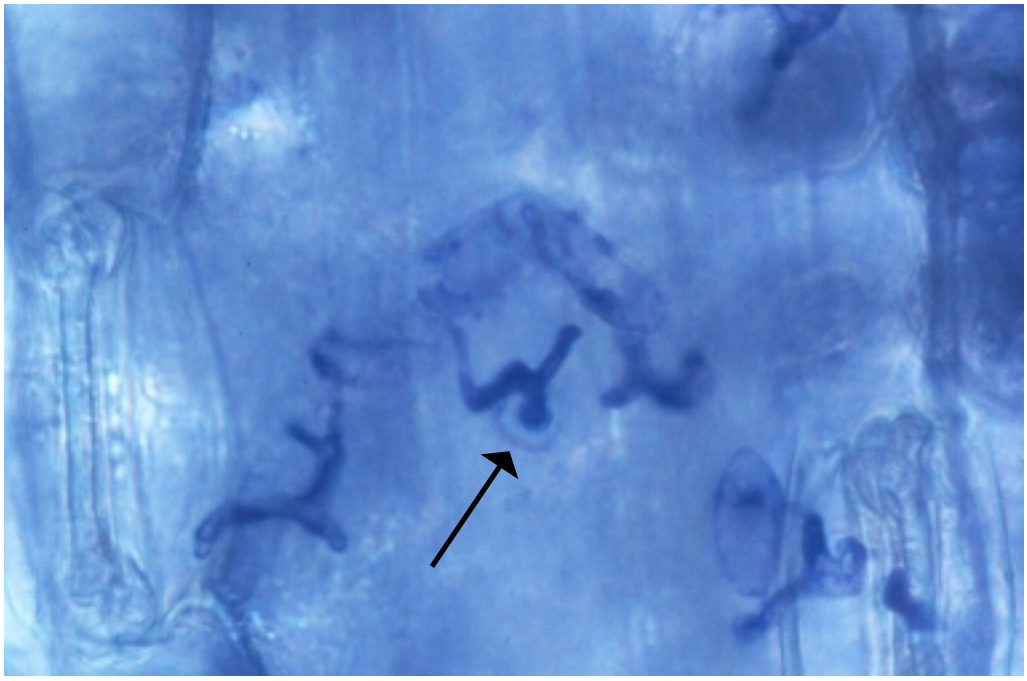

Abbildung 38: Strukturen der primären Infektionsstadien von *Erysiphe graminis* und Reaktionen der Wirtszelle. Epidermiszellen des Winterweizens Kanzler ca. 20 h nach der Infektion. Keimschlauch und Appressorienbildung. Papillenbildung der Wirtszelle. Färbung: Brilliant Blue R.

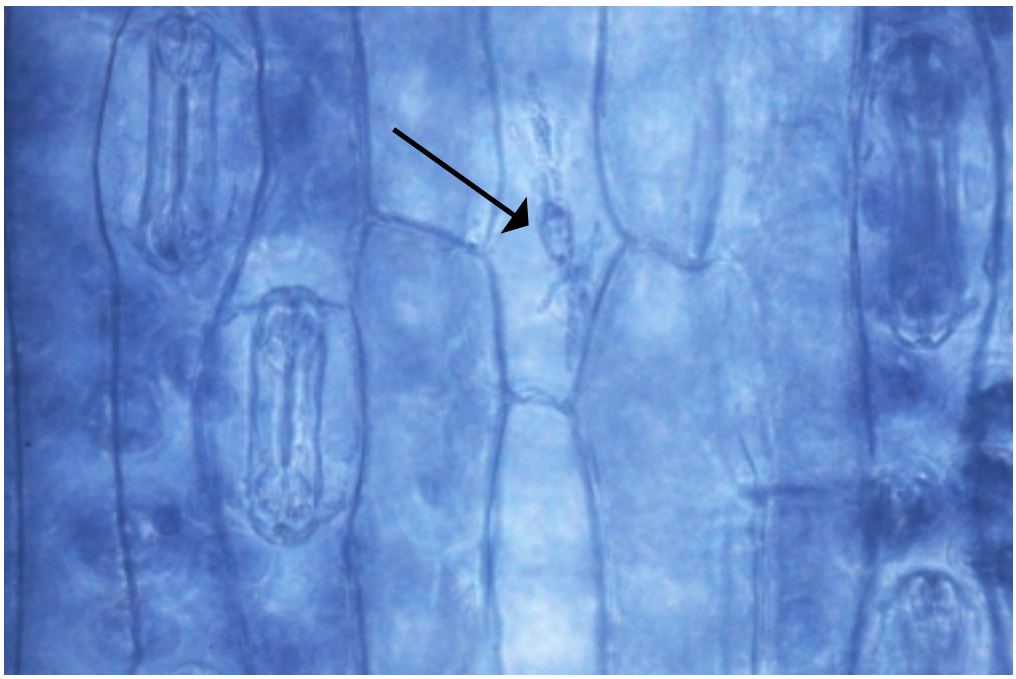

Abbildung 39: Strukturen der primären Infektionsstadien von *Erysiphe graminis* und Reaktionen der Wirtszelle. Epidermiszellen des Winterweizens Kanzler ca. 40 h nach der Infektion mit Haustorium. Färbung: Brilliant Blue R.

A) Reihenfolge der Stressoren: 1. Zunächst Inokulation mit Mehltau
2. Danach Ozonexposition (Tab. 1: Muster 1a, 3a, 4a)

Während die exponierten Pflanzen ohne Vorbelastung durch Mehltau nach 7 d noch keine erkennbaren Reaktionen zeigten, traten bei den mehltauinfizierten Pflanzen (d.h. prädisponiert durch „biotischen Streß“) deutliche Ozonschäden auf (Tab. 29). Nach 14 d zeigten vor allem die Pflanzen unter „akuter“ Ozonexposition eine deutlich stärkere Reduktion von Fv/Fm (Abnahme um bis zu 10 %).

Tabelle 29: Fluoreszenzparameter Fv/Fm von Weizenpflanzen (*Triticum aestivum* L. cv. Nandu). Die Exposition erfolgte in den Entwicklungsstadien EC 14 bis EC 30.

Fv/Fm	**Pflanzen ohne Mehltauinfektion**		**Pflanzen bereits mehltauinfiziert**	
	Ozonexpositionszeit		**Ozonexpositionszeit**	
	7 d	**14 d**	**7 d**	**14 d**
Kontrolle	0.785 ± 0.007	0.799 ± 0.004	0.770 ± 0.016	0.784 ± 0.010
130/40 µg m^{-3}	0.781 ± 0.013	0.782 ± 0.008***	0.744 ± 0.027*	0.771 ± 0.024
220/40 µg m^{-3}	0.788 ± 0.009	0.771 ± 0.013***	0.720 ± 0.023***	0.710 ± 0.036***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

B) Reihenfolge der Stressoren: 1. Zunächst Ozonexposition (Tab. 1: Muster 1a, 3a, 4a)
2. Danach Inokulation mit Mehltau

Bei allen eingesetzten Varietäten konnte beobachtet werden, daß „chronischer“ Ozonstreß (130/40 µg m^{-3}) zu einer erhöhten Anfälligkeit gegen Mehltau im Vergleich zur Kontrolle führte, während „akuter“ Ozonstreß (220/40 µg m^{-3}) zu derart starken Blattschäden führte, daß der biotrophe Pilz nur noch wenige geeignete Wirtszellen vorfand (Abb. 40 bis 50).
Die Anzahl der Blätter mit der gleichen Befallsstärke wurde jeweils für die beiden Kammern mit der gleichen Ozonvariante gemittelt.
Aus den Befallsbonituren für cv. Kanzler erkennt man deutlich einen dynamischen Verlauf der Infektion. Dagegen zeichnet sich cv. Ritmo wie auch der Sommerweizen cv. Nandu durch eine längere Latenzzeit im Infektionsverlauf aus. Die Resultate spiegeln damit auch die Resistenzgenausstattung wider. Ein Funktionsverlust der genetisch-bedingten Resistenz infolge der Ozoneinwirkung war daher nicht zu verzeichnen.

Die Abbildungen 40 bis 45 zeigen die Entwicklung des Mehltaubefalls bei Jungpflanzen des im Entwicklungsstadium der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Kanzler, der ohne bekannte Resistenzgene als besonders anfällig gilt. Bei der visuellen Bonitur wurde zwischen verschiedenen Blattetagen differenziert, um evtl. Unterschiede des Blattalters zu berücksichtigen. Die Infektion lief dabei auf den dritt- und viertletzten Blättern, die zu Beginn der Ozonexposition voll entwickelt waren, schneller und stärker ab, als bei den beiden jüngsten Blätter, die sich erst während der Ozonexposition entfalteten.

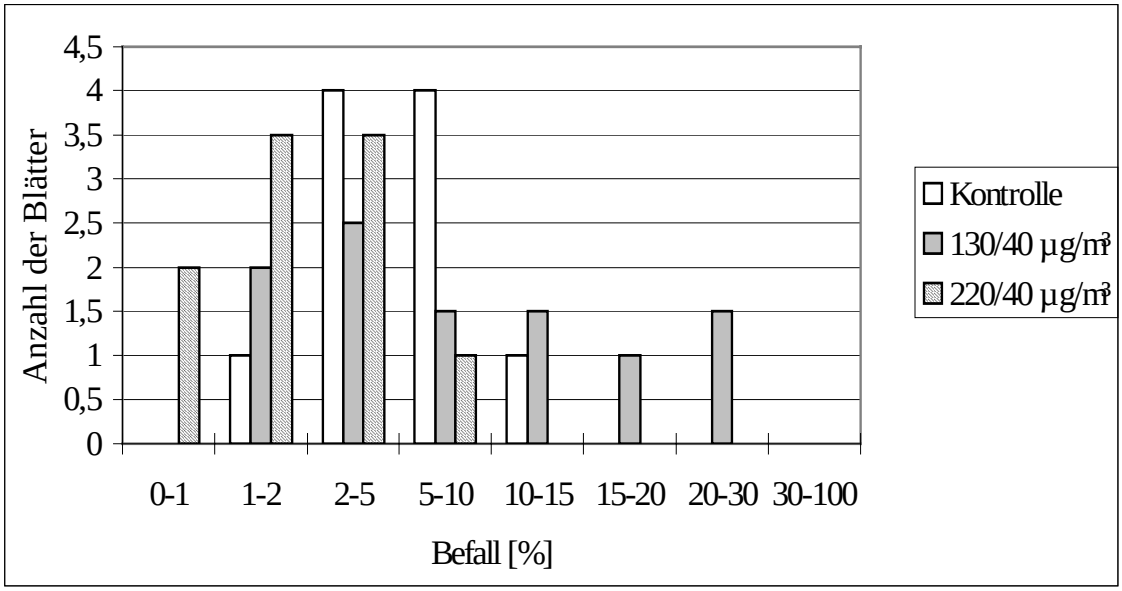

Abbildung 40: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Kanzler. Bonitur: **vier Tage** nach der Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden dritt- und viertletztes Blatt:
Die Befallsdichte ist unter Ozonexposition bereits vier Tage nach Inokulation erhöht, besonders deutlich nach „chronischer" Exposition (130/40 µg m^{-3}).

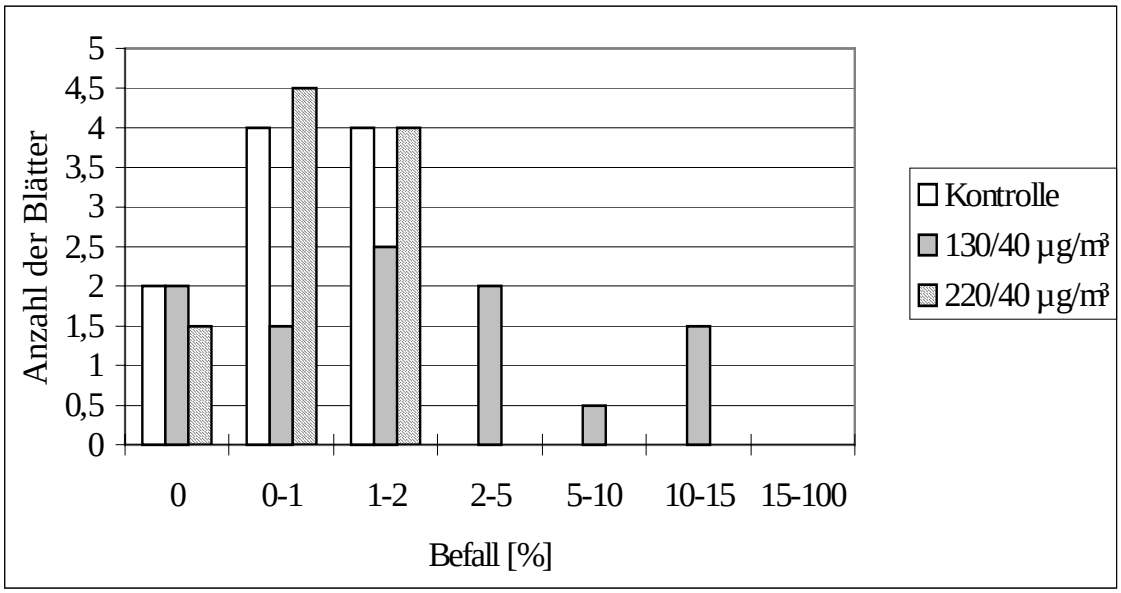

Abbildung 41: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Kanzler. Bonitur: **vier Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden die beiden jüngsten Blätter:
Auch hier bahnt sich nach „chronischer" Exposition ein erhöhter Befall, jedoch weniger ausgeprägt als bei ausdifferenzierten Blättern (Abb. 40) an.

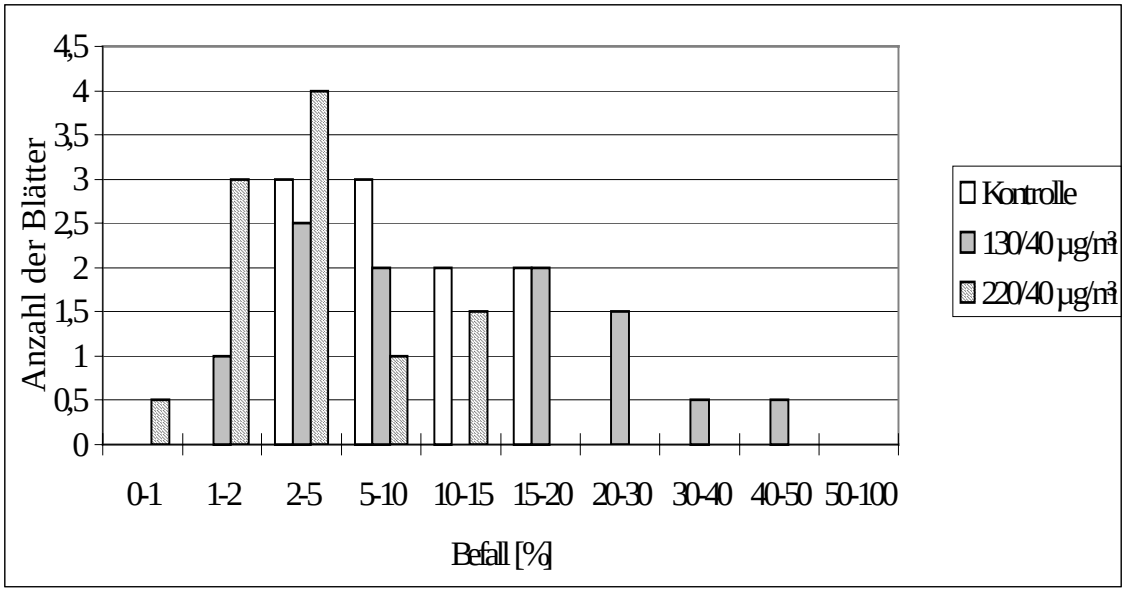

Abbildung 42: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Kanzler. Bonitur: **sieben Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden dritt- und viertletztes Blatt:
Sieben Tage nach Mehltauinokulation nimmt der Befall der „chronisch" exponierten Pflanzen deutlich zu, dagegen kaum bei den „akut" exponierten Pflanzen.

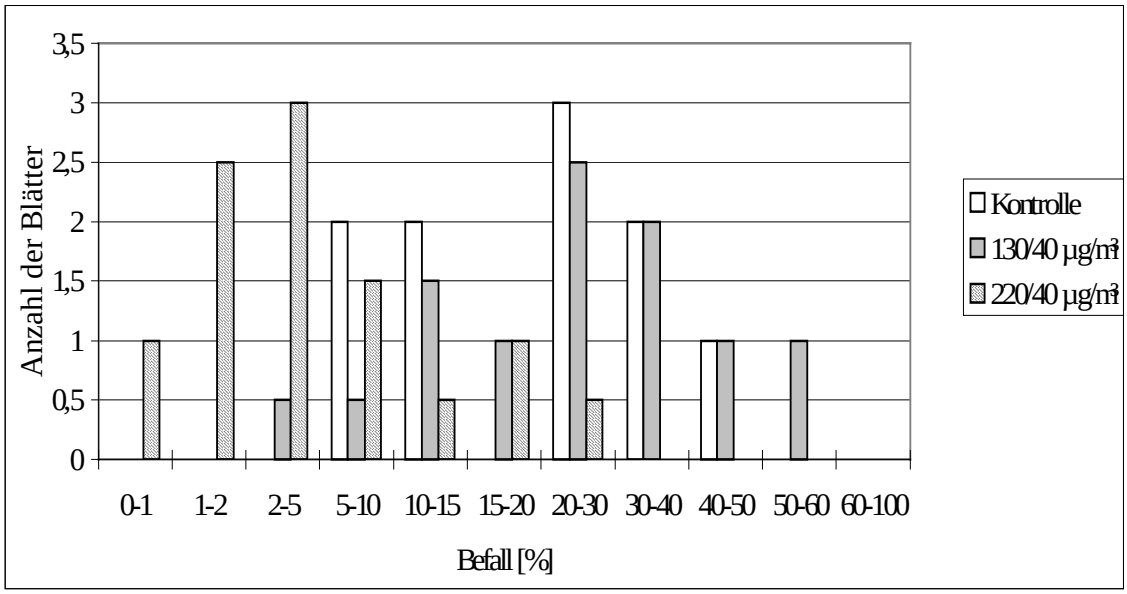

Abbildung 43: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Kanzler. Bonitur: **zehn Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden dritt- und viertletztes Blatt: *Nach zehn Tagen bleibt die Infektion der „akut" belasteten Blätter gegenüber „chronisch" belasteten und Kontrollpflanzen zurück.*

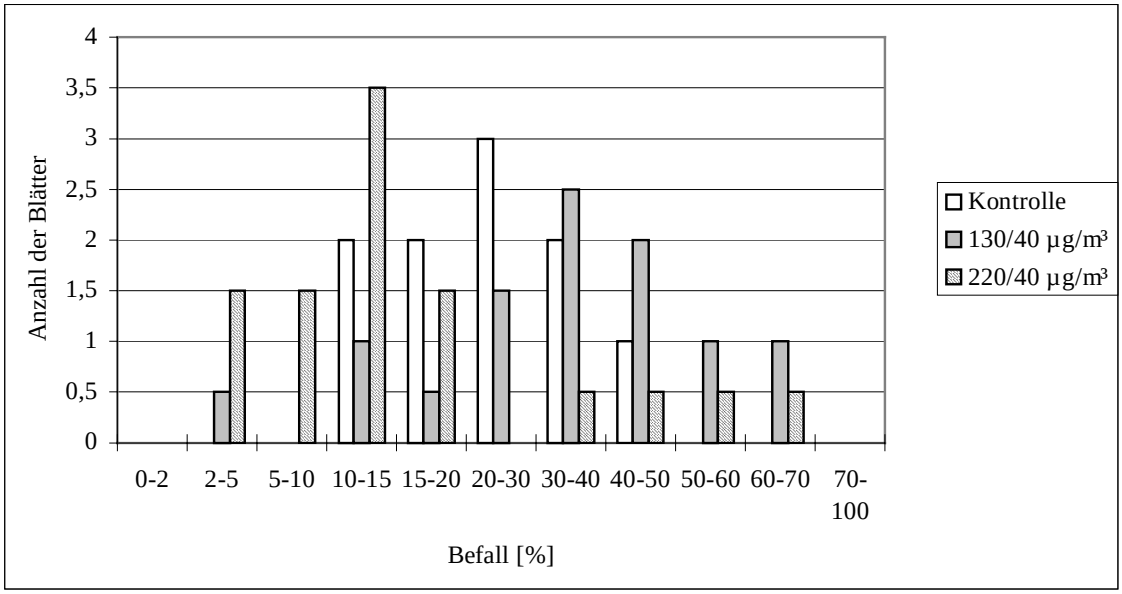

Abbildung 44: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Kanzler. Bonitur: **13 Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden dritt- und viertletztes Blatt: *13 Tage nach Inokulation steigt die Befallsdichte auf den „chronisch" mit Ozon vorbelasteten Blättern weiter an, und zwar vor allem gegenüber der Kontrolle. Der Befall der „akut" belasteten Blätter nimmt nun ebenfalls zu.*

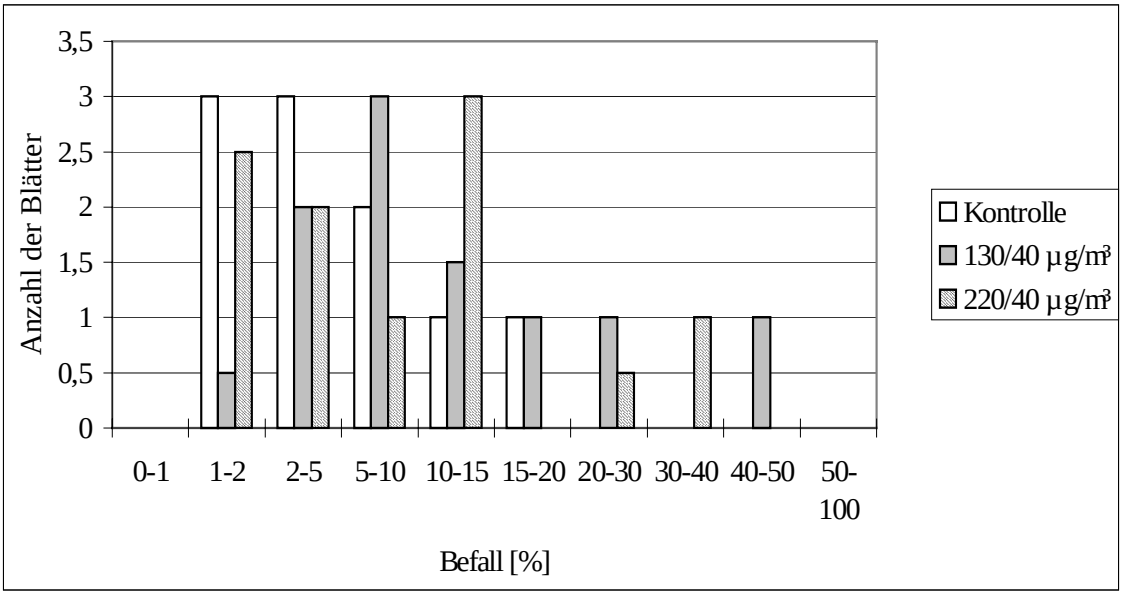

Abbildung 45: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Kanzler. Bonitur: **13 Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden die beiden jüngsten Blätter:
Die beiden jüngsten Weizenblätter der ozonbelasteten Pflanzen verzeichnen nach 13 Tagen ebenfalls einen Anstieg der Befallsdichte, doch sichtbar schwächer als bei den ausdifferenzierten Blättern (Abb. 40).

Wie in den Abbildungen stichwortartig der Übersichtlichkeit halber vermerkt, nimmt die Befallsdichte mit der Zeitdauer der Mehltau-Inkubation des nichtresistenten cv. Kanzler erwartungsgemäß zu. Überraschend erscheint aber der Effekt der vorausgegangenen Ozonexposition: bereits vier Tage nach Inokulation zeigt sich eine erhöhte Befallsdichte nach „chronischer" Ozonexposition (Abb. 40), ein Eindruck der noch in der Bonitur nach 13 Tagen (Abb. 44) bestehen bleibt, obwohl jetzt auch die „akut" belasteten Blätter deutlich befallen sind. Für die beiden jüngsten, jeweils noch nicht ausdifferenzierten Blätter zeigt die Bonitur nach vier Tagen ein weniger ausgeprägter Befall (Abb. 41), nach 13 Tagen allerdings steigt auch hier die Zahl der Mehltaupusteln abhängig von der Ozonexposition an (Abb. 45), wenn auch weniger stark als bei den älteren Blättern (Abb. 44).

Die resistente Weizensorte Ritmo zeigte einen deutlich verzögerten und schwächeren Infektionsverlauf (Abb. 46 und 47). Immerhin war der Mehltaubefall der zuvor „chronisch" ozonbelasteten Pflanzen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen deutlich erhöht, nämlich in der Bonitur der ausdifferenzierten Blätter (Abb. 47). Cv. Ritmo besitzt aufgrund ihrer Resistenzgenausstattung den besten Schutz (s.a. **2.2.1**).

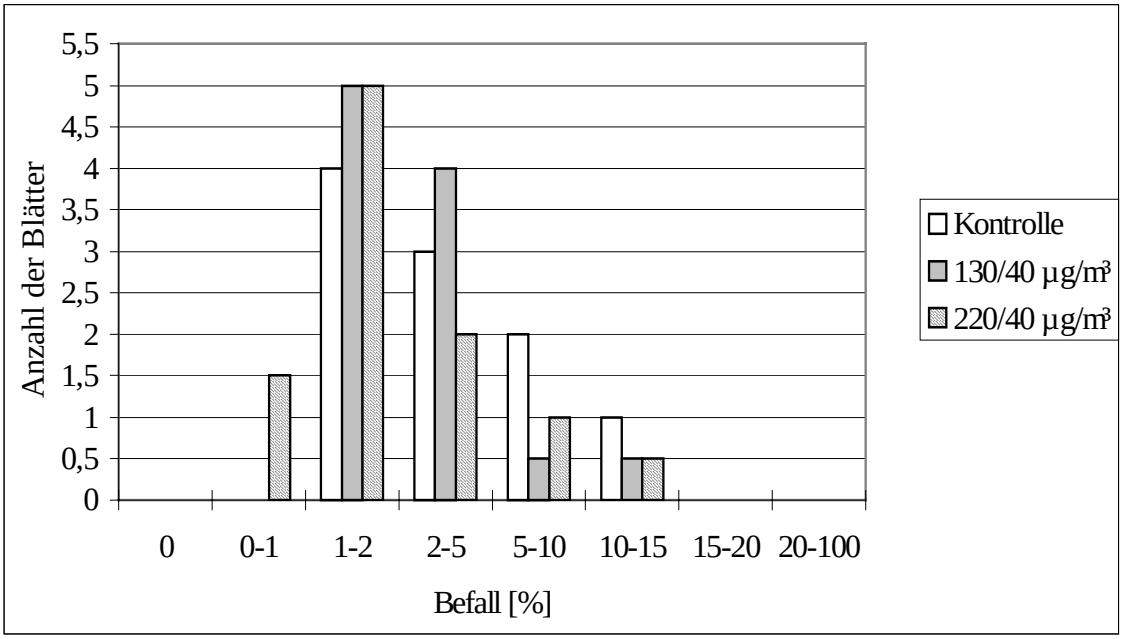

Abbildung 46: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Ritmo. Bonitur **13 Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden die beiden jüngsten Blätter:
Kein Unterschied der Befallsdichte der jüngsten Blätter.

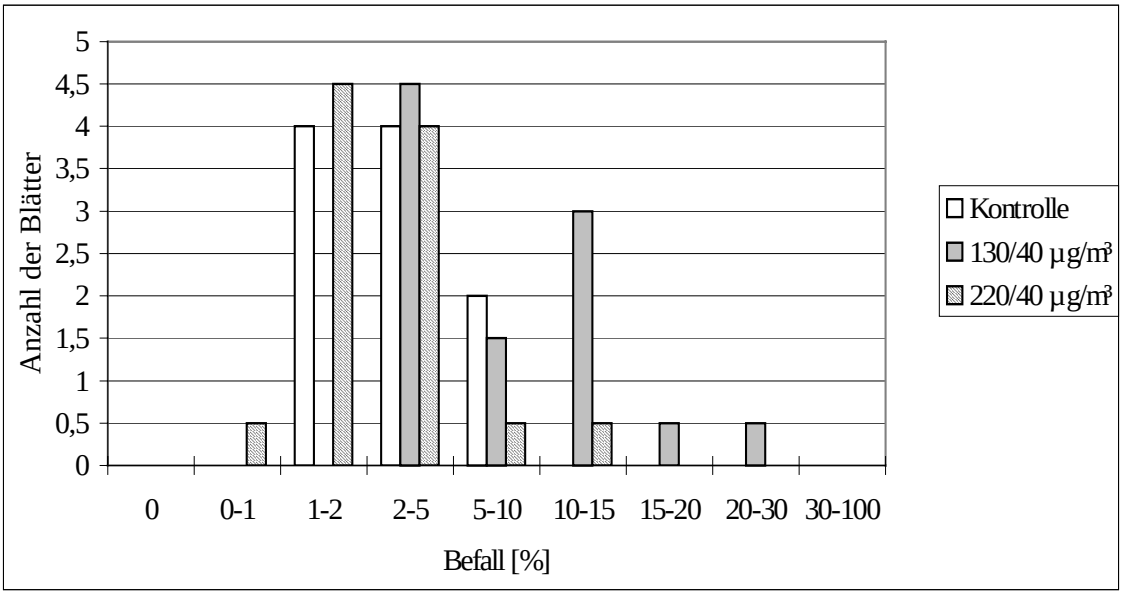

Abbildung 47: Bonitur des in der Bestockung (EC 21 bis 29) ozonexponierten Winterweizens Ritmo. Bonitur: **13 Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden dritt- und viertletztes Blatt:
Deutlicher Unterschied in der Befallsdichte nach Ozonexposition.

Da aus meinen Untersuchungen abgeleitet werden kann, daß junge Weizenpflanzen auf Ozonexposition mit nur geringer Reduktion von Photosynthese und Assimilation reagieren, andererseits durchaus mehltausensitiv sind, sofern sie nicht über Resistenzgene verfügen, erschien eine Prüfung der Auswirkung einer vorausgehenden Ozonexposition auf die nachfolgende Mehltauinokulation sinnvoll. Die Jungpflanzen der drei Kultivare, cv. Kanzler, cv. Ritmo und cv. Nandu wurden zu Beginn des 3-Blatt-Stadiums (EC 13) ozonexponiert, danach mit Mehltau inokuliert und nach 12 Tagen bonitiert. Vergleicht man die Bonituren für cv. Kanzler aus Abb. 48 - für Pflanzen im 3-Blatt-Stadium (EC 13) – mit Abb. 45 – für bestockende Pflanzen (EC 21-29) -, erkennt man im Rahmen der Bonitur eine etwa gleich starke Befallsdichte. Ozonexposition scheint hier jedoch wiederum deutlichen Befallsanstieg bewirkt zu haben. Im Vergleich hierzu lassen sowohl das resistente Kultivar Ritmo als auch cv. Nandu – der Sommerweizen verfügt nicht über einen ausreichenden Schutz gegen Mehltau (vgl. **2.2.1**) – keinen bemerkenswerten Befall erkennen, auch keine ozonbedingte Änderung desselben (Abb. 49 und 50).

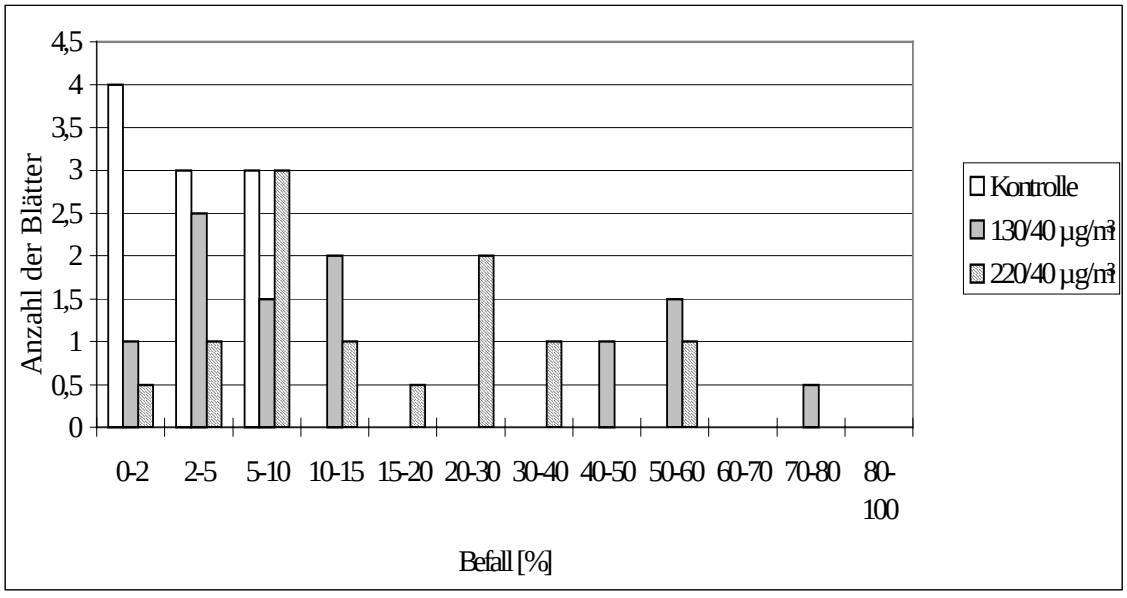

Abbildung 48: *Bonitur des zu Beginn des 3-Blatt-Stadiums (EC 13) ozonexponierten Winterweizens Kanzler. Bonitur:* ***12 Tage*** *nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden die beiden jüngsten Blätter.*

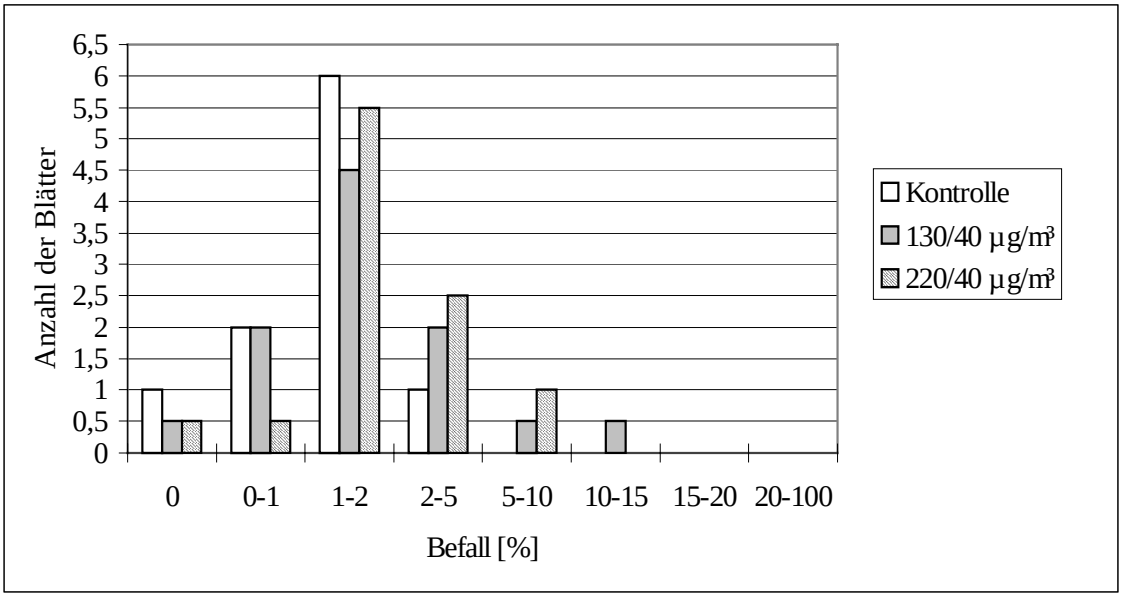

Abbildung 49: Bonitur des zu Beginn des 3-Blatt-Stadiums (EC 13) ozonexponierten Winterweizens Ritmo. Bonitur: **12 Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden die beiden jüngsten Blätter.

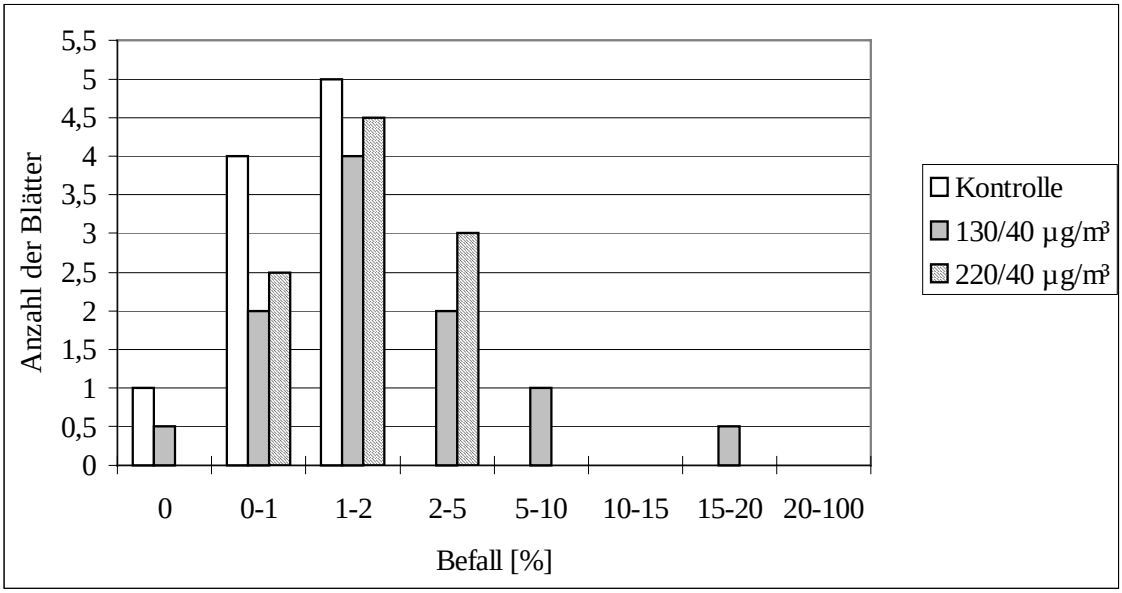

Abbildung 50: Bonitur des zu Beginn des 3-Blatt-Stadiums (EC 13) ozonexponierten Sommerweizens Nandu. Bonitur: **12 Tage** nach Mehltauinokulation. Pilzbefall in %: Anteil der Mehltaupusteln an der Gesamtblattfläche. Bonitiert wurden die beiden jüngsten Blätter.

3.2 Die Wirkung von Ozon auf Raps

3.2.1 Pflanzenanzucht und Wachstum

3.2.1.1 Zur Bedeutung der Vorkultur

Die als Jungpflanzen und im Vorblütestadium exponierten Pflanzen erfuhren eine Vorkultur, deren Temperaturverlauf im Optimum für zahlreiche landwirtschaftliche Nutzpflanzen lag. Lediglich die Variante, die in der Anthese ozonexponiert wurde, war unmittelbar vor Begasungsbeginn einer fünftägigen Hitzeperiode mit Spitzen bis zu 37 °C ausgesetzt.

3.2.1.2 Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition

Während die als Jungpflanzen und die in der Blüte begasten Pflanzen während der Exposition ähnlichen mikroklimatischen Bedingungen ausgesetzt waren, herrschten während der Exposition der im Stadium der vegetativen Entwicklung begasten Pflanzen deutlich niedrigere Temperaturen und höhere Luftfeuchtigkeit (Tab. 30). Ob diese unterschiedlichen Bedingungen sich hinsichtlich der Ozoneffekte auswirkten, wird unten erörtert.

Tabelle 30: Mikroklimatische Bedingungen während der Exposition der in verschiedenen Entwicklungsstufen exponierten Sommerrapspflanzen. Angegeben sind hier der 12 h - Mittelwert (8.00 bis 20.00 Uhr) für die Gesamtexpositionszeit sowie die Mittelwerte für die erste und zweite Woche.

Mikroklima	Strahlung	Lufttemperatur	**Luftfeuchtigkeit**
12 h - Mittelwerte	[W/m²]	[°C]	[%]
Jungpflanzen			
1. Woche	407	26.3	63.5
2. Woche	565	27.7	59.2
Gesamtexpositionszeit	486	27.0	61.4
Stadium der vegetativen Entwicklung = Vorblüte			
1. Woche	187	17.2	80.1
2. Woche	345	21.4	71.7
Gesamtexpositionszeit	266	19.3	75.9
Blühende Pflanzen			
1. Woche	565	27.7	59.2
2. Woche	319	20.3	71.0
Gesamtexpositionszeit	451	24.3	64.7

3.2.2 Photosynthesepigmente

Die Messung des Chlorophyllgehalts erfolgte an bis zu fünf Meßtagen an den Blättern, die zu Beginn der Ozonexposition bereits voll entwickelt waren. Wie in Abb. 51 bis 53 (und Tab. 31 bis 33 in **3.2.3.1**) gezeigt, ergeben sich zwischen den verschiedenen Varianten starke Unterschiede in der ozonbedingten Reduktion des Chlorophyllgehalts: Die ozonexponierten Jungpflanzen zeigten im Vergleich zur Kontrolle am Ende der Ozonexposition eine Reduktion des Chlorophyllgehalts. Der Verlust an Chlorophyll fiel sowohl bei „akut“ (220/40 µg m^{-3}) als auch bei „chronisch“ belasteten Pflanzen (130/40 µg m^{-3}) mit fast 25 % deutlich aus (Abb. 51) (siehe auch S. 19, **2.3 Ozonexposition**). Eine Messung sieben Tage nach Ende der Exposition ergab eine weitere Reduktion auf ca. 70 % der Kontrolle (Tab. 31, S. 100). Die im Vorblütestadium ozonexponierten (220/40 µg m^{-3}) Pflanzen zeigten hingegen schon nach drei Tagen eine Verminderung des Chlorophyllgehalts um mehr als 20 % (Tab. 32, S. 101). Bei den „chronisch“ belasteten Pflanzen sank der Gehalt rasch um 5 %, blieb aber dann wie bei den „akut“ belasteten Pflanzen bis zum Expositionsende konstant (Abb. 52). Sieben Tage nach Ende der Exposition erreichte der Chlorophyllgehalt der „akut“ belasteten Pflanzen wieder 80 % der Kontrollpflanzen (Tab. 32). Der Chlorophyllgehalt der während der Blüte exponierten Pflanzen änderte sich mit ähnlicher Tendenz, zeigte aber bei den „chronisch“ belasten Pflanzen am Ende mit 20 % eine stärkere Abnahme (Abb. 53). Sieben Tage nach Ende der Exposition stieg der Chlorophyllgehalt nur bei den „chronisch“ belasteten Pflanzen wieder auf ca. 92 % des Gehalts der Kontrollpflanzen (Tab. 33, S. 102).

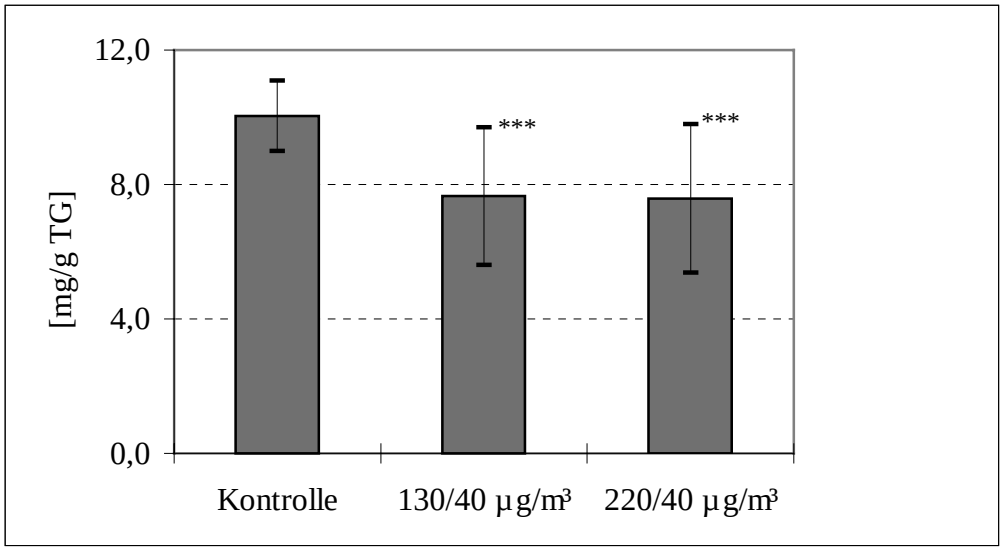

Abbildung 51: Chlorophyllgehalt (n = 20) des im Jungpflanzenstadium ozonexponierten Sommerrapses unmittelbar am Ende der 14-tägigen Exposition (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$).

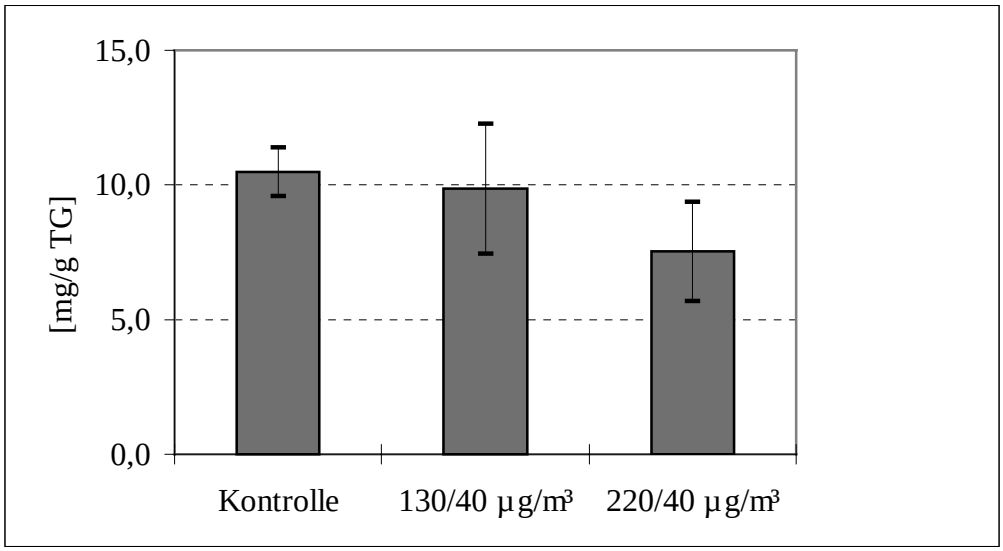

Abbildung 52: Chlorophyllgehalt (n = 20) des im Vorblütestadium ozonexponierten Sommerrapses unmittelbar am Ende der 14-tägigen Exposition (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$).

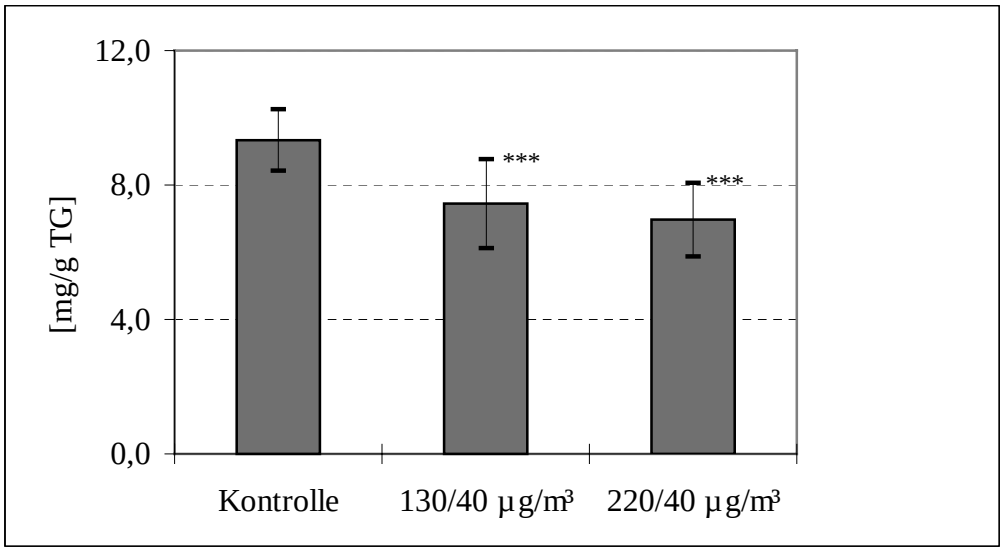

Abbildung 53: Chlorophyllgehalt (n = 20) des in der Blüte ozonexponierten Sommerrapses unmittelbar am Ende der 14-tägigen Exposition (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$).

3.2.3 Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen

3.2.3.1 Standardprogramm

Die Messung der Chlorophyllfluoreszenz erfolgte parallel zu den SPAD-Messungen und an denselben Blättern (Abb. 54 bis 56). Fv/Fm stellt hier den wichtigsten Parameter dar, da er als ein Maß für die Effizienz anzusehen ist, mit der die Anregungsenergie aus den Antennenkomplexen von offenen Reaktionszentren im PS II übernommen wird. Der Parameter dient als Indikator einer photoinhibitorischen Schädigung des Photosyntheseapparates.

Die zuvor beschriebenen Wirkungen auf den Chlorophyllgehalt lassen sich durch die Messung des Parameters Fv/Fm bestätigen. Allerdings zeigten sich ozonbedingte Schädigungen des Photosystems II gerade unter „akuter“ Belastung (220/40 µg m^{-3}) schon 2 d nach Beginn der Ozonexposition (Tab. 31). Die Ursache der Reduktion von Fv/Fm lag nicht an einer Erhöhung der Grundfluoreszenz Fo, sondern an der Verminderung der maximalen Fluoreszenz Fm.

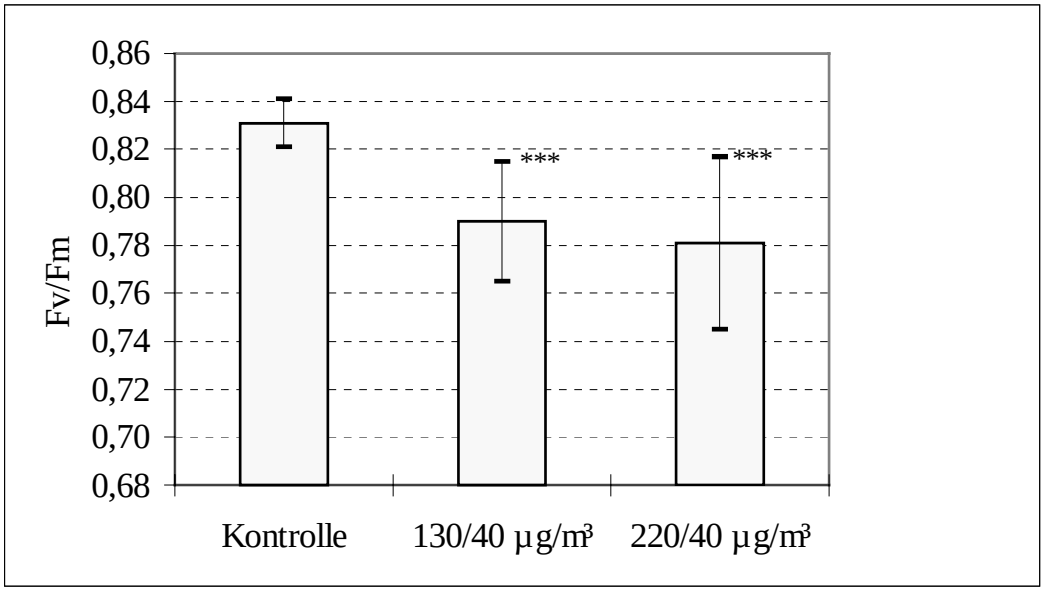

Abbildung 54: Fv/Fm-Werte (n = 20) des im Jungpflanzenstadium ozonexponierten Sommerrapses unmittelbar am Ende der 14-tägigen Exposition (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$). Man beachte die stark übersetzte Ordinate für Fv/Fm.

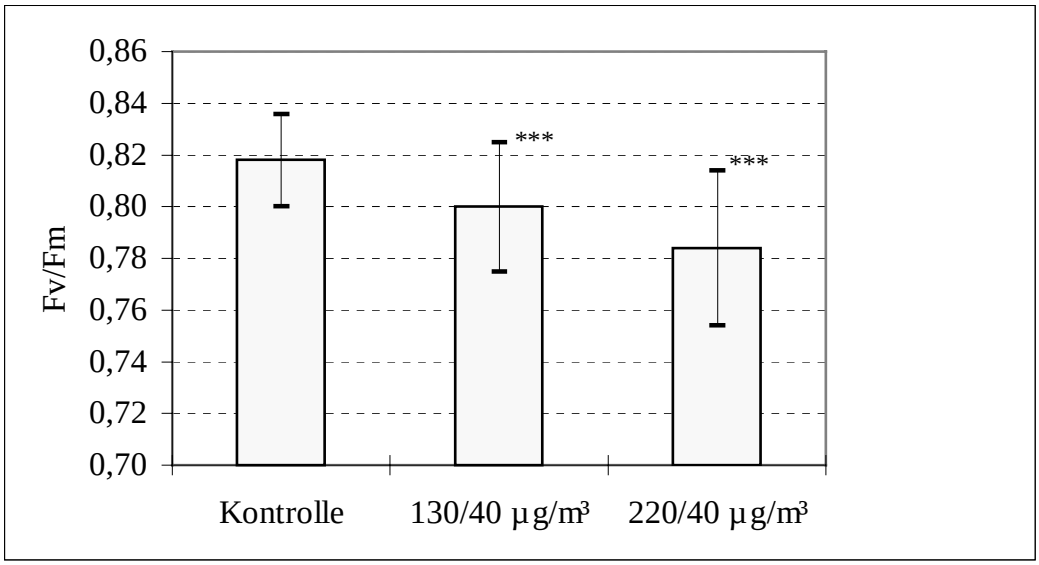

Abbildung 55: Fv/Fm-Werte (n = 20) des im Vorblütestadium ozonexponierten Sommerrapses unmittelbar am Ende der 14-tägigen Exposition (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$). Man beachte die stark übersetzte Ordinate für Fv/Fm.

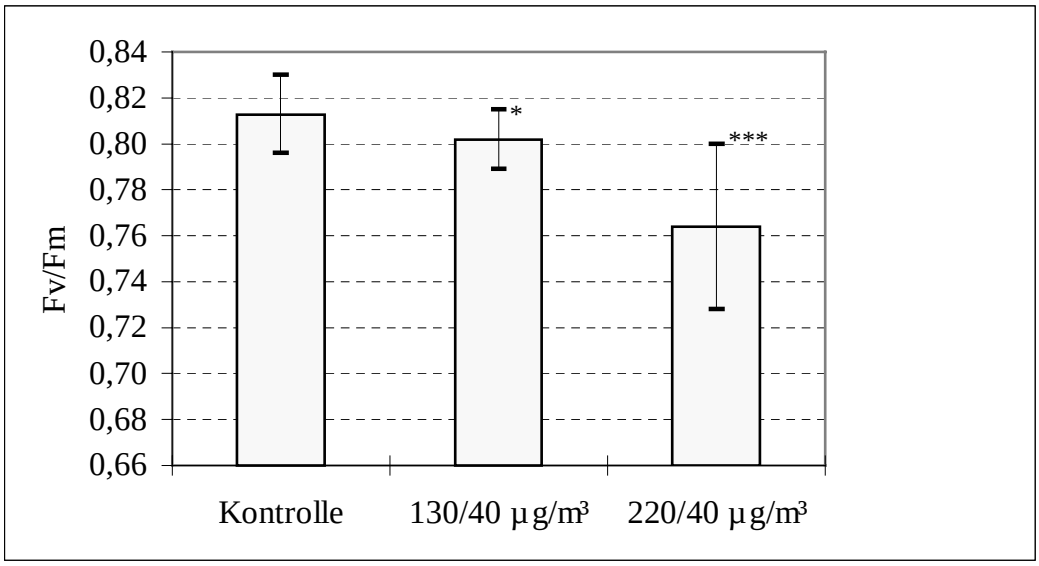

Abbildung 56: Fv/Fm-Werte (n = 20) des in der Blüte ozonexponierten Sommerrapses unmittelbar am Ende der 14-tägigen Exposition (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$). Man beachte die stark übersetzte Ordinate für Fv/Fm.

Deutlicher als beim Chlorophyllgehalt konnten über die Fluoreszenzmessung starke Unterschiede zwischen „chronischem“ und „akutem“ Ozonstreß erfaßt werden. Dies zeigte sich am Ende der Ozonexposition bei allen untersuchten Varianten (Abb. 54 bis 56). Hierbei war sowohl ein Anstieg der Grundfluoreszenz als auch ein Rückgang von Fm zu verzeichnen (Tab. 31 bis 33). Sieben Tage nach Ende der Exposition erhöhte sich der Parameter Fv/Fm bei den „akut“ belasten Pflanzen aller untersuchten Entwicklungssstadien. Die im Jungpflanzen- und Vorblütestadium exponierten Pflanzen zeigten unter „chronischer“ Belastung eine Erholung bei Fm an, während die Grundfluoreszenz Fo erhöht blieb (Tab. 31 und 32). Die „akut“ belasteten Pflanzen hingegen wiesen eine signifikante Verminderung von Fm auf, während die Grundfluoreszenz das Niveau der Kontrollpflanzen erreichte.

Tabelle 31: Fv/Fm-Werte (n = 20) an den verschiedenen Meßtagen des im Jungpflanzenstadium ozonexponierten Sommerrapses. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben. Zusätzlich wird der durch SPAD-Messung (n = 20) ermittelte Chlorophyllgehalt [mg g^{-1} TG] angegeben.

	Fo	**Fv/Fm**	**Fm**	**Chlorophyll**
2 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.310	0.805	1.595	10.11
130/40 µg m^{-3}	0.304	0.809	1.594	9.72
220/40 µg m^{-3}	0.303	**0.797***	**1.466**	9.45**
5 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.302	0.816	1.646	10.87
130/40 µg m^{-3}	0.305	0.817	1.673	10.55
220/40 µg m^{-3}	0.305	0.812	1.633	10.56
8 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.284	0.816	1.545	9.75
130/40 µg m^{-3}	0.305**	0.805*	1.568	9.80
220/40 µg m^{-3}	**0.324*** **	**0.788*** **	1.529	9.88
14 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.303	0.831	1.795	10.03
130/40 µg m^{-3}	0.353***	**0.790*** **	**1.679*** **	7.65***
220/40 µg m^{-3}	0.346***	**0.781*** **	**1.603*** **	7.58***
7 d nach Ende der Ozonexposition				
Kontrolle	0.313	0.830	1.840	10.18
130/40 µg m^{-3}	**0.370*** **	**0.791*** **	1.801	7.47***
220/40 µg m^{-3}	0.340**	**0.797*** **	**1.686***	7.16***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Tabelle 32: Fv/Fm-Werte (n = 20) an den verschiedenen Meßtagen des im Vorblütestadium ozonexponierten Sommerrapses. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben. Zusätzlich wird der durch SPAD-Messung (n = 20) ermittelte Chlorophyllgehalt [mg g^{-1} TG] angegeben.

	Fo	**Fv/Fm**	**Fm**	**Chlorophyll**
3 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.317	0.807	1.638	11.05
130/40 µg m^{-3}	0.322	0.800*	1.613	10.74
220/40 µg m^{-3}	0.322	**0.780*** **	**1.476*** **	8.65***
8 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.327	0.798	1.617	10.99
130/40 µg m^{-3}	0.332	**0.782** **	**1.521**	10.62
220/40 µg m^{-3}	0.348**	**0.773*** **	**1.540**	8.19***
11 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.317	0.805	1.623	10.87
130/40 µg m^{-3}	0.332*	0.793**	1.609	10.16
220/40 µg m^{-3}	0.336*	**0.775*** **	**1.507***	8.39***
15 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.325	0.818	1.782	10.47
130/40 µg m^{-3}	0.363**	0.800*	1.818	9.85
220/40 µg m^{-3}	0.366*	**0.784*** **	**1.688***	7.52***
8 d nach Ende der Ozonexposition				
Kontrolle	0.325	0.820	1.808	9.96
130/40 µg m^{-3}	0.368**	0.794**	1.795	9.14
220/40 µg m^{-3}	0.326	**0.807*** **	**1.694** **	8.15***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Die im Vorblütestadium unter Ozonpeaks exponierten Pflanzen zeigten schon nach drei Tagen eine Reduktion von Fv/Fm bedingt durch einen Rückgang der maximalen Fluoreszenz (Tab. 32). Andererseits stellte sich hier bis Expositionsende kein weiteres Absinken von Fv/Fm ein. Bei den in der Blüte exponierten Pflanzen stimmten die Fo-Werte weitgehend mit denen der Kontrollpflanzen überein, während die Fm-Werte kein Zeichen von Erholung erkennen ließen (Tab. 33).

Tabelle 33: Fv/Fm-Werte (n = 20) an den verschiedenen Meßtagen des in der Blüte ozonexponierten Sommerrapses. Zur Ursachenanalyse der Reduktion von Fv/Fm werden die Grundfluoreszenz Fo und die maximale Fluoreszenz Fm angegeben.

	Fo	**Fv/Fm**	**Fm**	**Chlorophyll**
5 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.334	0.810	1.770	9.94
130/40 µg m^{-3}	0.335	0.805	1.715	9.29
220/40 µg m^{-3}	0.336	**0.795****	**1.646***	7.98***
9 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.323	0.808	1.643	9.70
130/40 µg m^{-3}	0.336	0.807	1.751	9.18
220/40 µg m^{-3}	**0.364*****	**0.760*****	**1.540**	8.00***
14 d nach Beginn der Ozonexposition				
Kontrolle	0.350	0.813	1.874	9.34
130/40 µg m^{-3}	0.361	0.802*	1.827	7.44***
220/40 µg m^{-3}	**0.411*****	**0.764*****	**1.750***	6.96***
7 d nach Ende der Ozonexposition				
Kontrolle	0.378	0.794	1.848	7.98
130/40 µg m^{-3}	0.390	**0.779**	**1.790**	7.36
220/40 µg m^{-3}	0.385	**0.776***	**1.732**	5.71***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.2.3.2 Lichtkurven

Bei der Messung der Grundfluoreszenz (Fo) und vor allem der maximalen Fluoreszenz (Fm) hatten sich nach Ozonexposition signifikante Unterschiede zu den unbehandelten Pflanzen ergeben. Daher wurden für die verschiedenen Varianten sog. „Lichtkurven“ aufgenommen. Nach vorhergehender Dunkeladaptation und Bestimmung von Fo und Fm wird die PAR in Drei-Minuten-Schritten von ca. 10 µE auf 550 µE erhöht. Nach jedem Schritt erfolgt ein Sättigungspuls und die Fluoreszenzparameter Yield, ETR, qP und qN werden aufgenommen.

Abbildung 57 zeigt die sog. Lichtkurven der Elektronentransportrate ETR für die im Jungpflanzenstadium ozonexponierten Pflanzen unmittelbar nach Expositionsende. Stärker als bei den Fv/Fm-Werten (Abb. 54) ergeben sich hier deutliche Unterschiede zwischen „chronisch“ und „akut“ belasteten Pflanzen: Die Lichtkurve der 8 h pro Tag gegen 130 µg O_3 m^{-3} exponierten Pflanzen unterscheidet sich nicht deutlich von der für die Kontrolle, dagegen ist die Elektronentransportrate nach 14 d Exposition mit 4 h 220 µg O_3 m^{-3} pro Tag stark beeinträchtigt. Die Lichtkurven der im Vorblütestadium exponierten Pflanzen (Abb. 58) stützen die Fv/Fm-Werte (Abb. 55). Die verminderte Elektronentransportrate der „akut“ belasteten Pflanzen tritt gleichzeitig mit einer Reduktion der maximalen Fluoreszenz auf (Tab. 32). Eine Woche nach Ende der Ozonexposition zeigen sich bei den in der Blühphase exponierten Pflanzen kaum mehr Unterschiede zwischen Kontroll- und „chronisch“ belasten Pflanzen, während die „akut“ belasteten Pflanzen Beeinträchtigungen des Elektronenflusses anzeigen (Abb. 59). Die Unterschiede zwischen „chronisch“ und „akut“ belasteten Pflanzen sind hier stärker, als Fv/Fm und auch Fm dies erwarten lassen (Tab. 33).

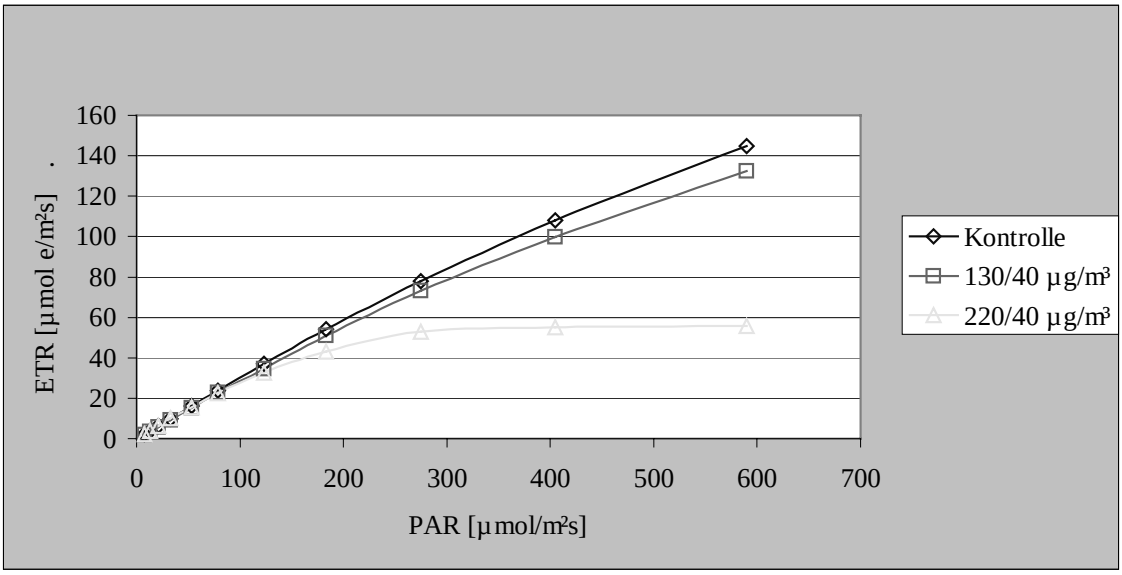

Abbildung 57: Lichtkurven des als Jungpflanzen ozonexponierten Sommerrapses am Ende der Exposition (14 d). Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 570 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von $\Delta F/Fm'$.

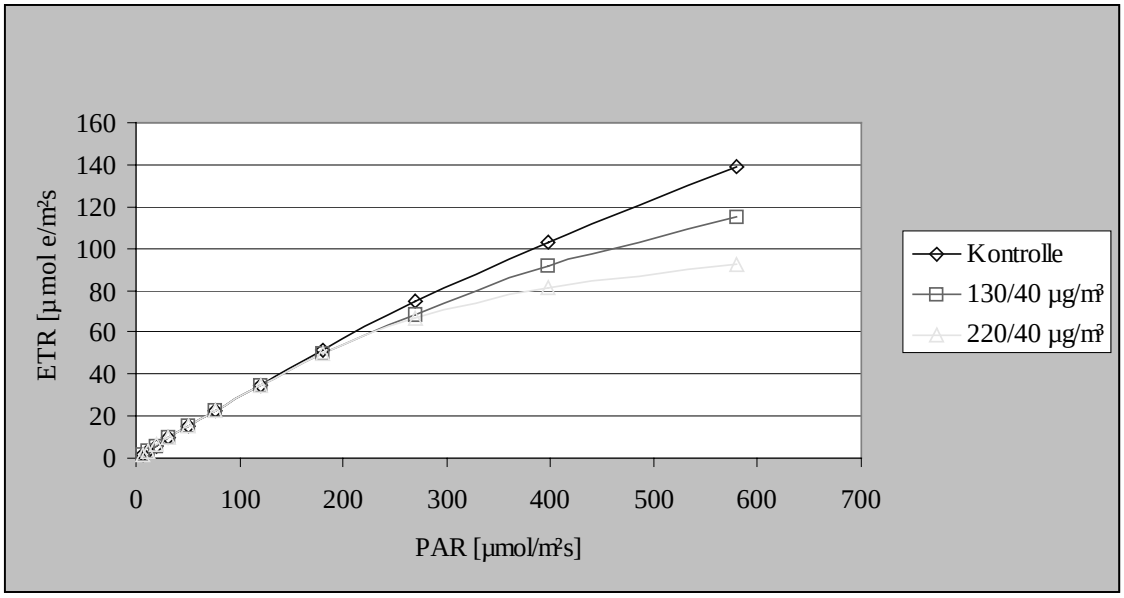

Abbildung 58: Lichtkurven des im Vorblütestadium ozonexponierten Sommerrapses unmittelbar nach Ende der Exposition (14 d). Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 570 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´.

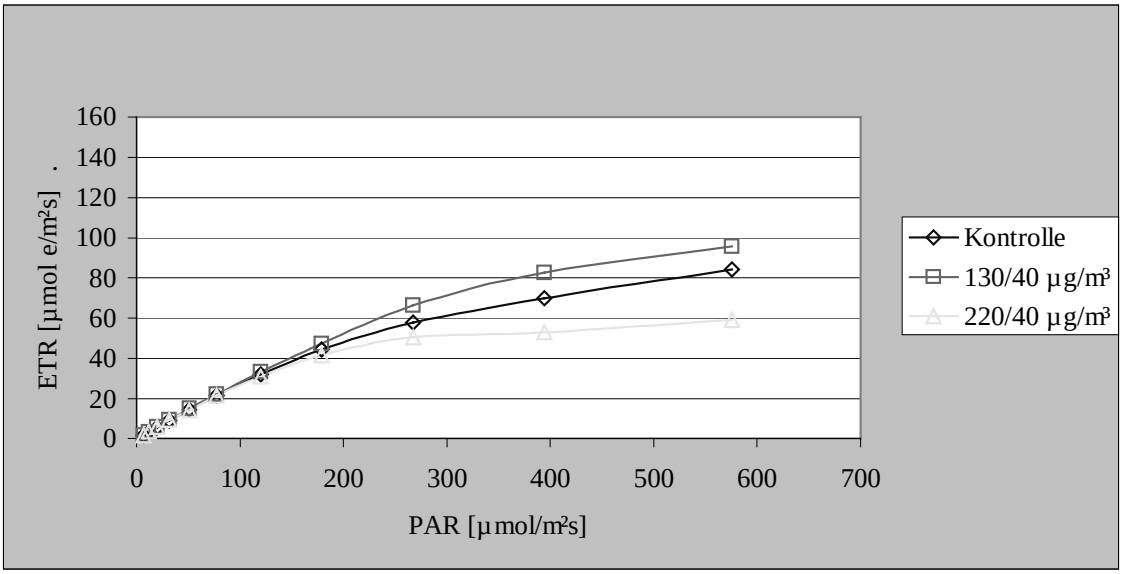

Abbildung 59: Lichtkurven des in der blühenden Phase ozonexponierten Sommerrapses 7 d nach Expositionsende (21 d nach Beginn der Exposition). Vor Beginn der Messungen wurden die Blätter für 10 min dunkeladaptiert. Die Lichtintensität wurde dann schrittweise von 6 auf ca. 570 µmol Quanten m^{-2} s^{-1} erhöht. Nach einer Belichtungszeit von drei Minuten erfolgte die Bestimmung von ΔF/Fm´.

3.2.4 Ertragsparameter

3.2.4.1 Ertrag der Rapssamen

Die Samen aus den Schoten von jeweils acht Pflanzen wurden gesammelt und gewogen. Für jede Variante wurden je Bedingung zehn Proben gewonnen, d.h. von zusammen 80 Pflanzen. Die Gewichte der Samen je Probe sind in Tabelle 34 dargestellt. Signifikant ist der Samenertrag durch Ozonexposition im Jungpflanzenstadium verringert worden. Dagegen erkennt man keinen deutlichen, d.h. statistisch gesicherten Unterschied für die Erträge der im Vorblütestadium und in der Blühphase exponierten Pflanzen.
Es muß diskutiert werden, ob im Fall des Raps, anders als etwa beim Weizen, die Ozonbelastung in den sich entwickelnden Blättern der Jungpflanzen eine nachhaltige Schädigung des Assimilationsapparates bewirkt, was sich noch 73 Tage danach in einer deutlichen Ertragseinbuße manifestiert.

Tabelle 34: Gesamtsamengewicht [g] der Schoten von acht Einzelpflanzen (n = 10).

Variante	**Jungpflanzen**	**Pflanzen im Vorblütestadium**	**Blühende Pflanzen**
Kontrolle	87.6 ± 8.0	71.5 ± 13.9	82.0 ± 12.2
130/40 µg m^{-3}	69.5 ± 11.7***	69.1 ± 8.9	78.6 ± 6.9
220/40 µg m^{-3}	76.1 ± 14.8*	73.8 ± 10.8	73.9 ± 23.7

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

3.2.4.2 Analyse des Ölgehalts und der Fettsäurezusammensetzung

Unter „Material und Methoden“ wurde bereits darauf hingewiesen, daß eine quantitative Analytik der Fettsäuren weder im Botanischen Institut noch im Landesumweltamt möglich war. Daher wurden je Variante jeweils sieben Proben von je ca. 100 g Samen vorbereitet und vom LUA zur Untersuchung an das Handels- und Umweltschutzlabors Dr. Wiertz - Dipl. Chem. Eggert - Dr. Jörissen GmbH, Hamburg, vergeben.
Die sämtlich zum Zeitpunkt der Samenreife geernteten Pflanzen der drei Varianten (Tab. 35 bis 37) lassen weder im Ölgehalt noch im Anteil der analysierten Fettsäuren Unterschiede erkennen, die auf die 14-tägige Ozonexposition zurückgeführt werden könnten. Dies gilt auch für die Jungpflanzen (vgl. **3.2.4.1**).

Tabelle 35: Ölgehalt und Fettsäureverteilung der Rapssamen (n = 7) der als Jungpflanzen ozonexponierten Pflanzen.

Variante	**Ölgehalt**	Fettsäureverteilung in % der Gesamtfettsäuren				
	[%]	Palmitin-säure	Stearin-säure	**Ölsäure**	Linol-säure	Linolen-säure
Kontrolle	43.4 ± 0.7	4.1 ± 0.1	1.8 ± 0.1	66.3 ± 0.7	17.9 ± 0.4	7.7 ± 0.3
130/40 µg m^{-3}	42.3 ± 1.1	4.0 ± 0.1	1.7 ± 0.0	65.9 ± 0.4	18.5 ± 0.4	8.1 ± 0.2
220/40 µg m^{-3}	42.1 ± 1.2	4.0 ± 0.1	1.8 ± 0.1	66.2 ± 0.8	18.2 ± 0.5	8.0 ± 0.4

Tabelle 36: Ölgehalt und Fettsäureverteilung der Rapssamen (n = 7) der im Vorblütestadium ozonexponierten Pflanzen.

Variante	**Ölgehalt**	Fettsäureverteilung in % der Gesamtfettsäuren				
	[%]	Palmitin-säure	Stearin-säure	**Ölsäure**	Linol-säure	Linolen-säure
Kontrolle	41.3 ± 1.5	4.3 ± 0.1	1.9 ± 0.1	65.9 ± 1.0	18.0 ± 0.7	7.6 ± 0.3
130/40 µg m^{-3}	40.2 ± 1.2	4.2 ± 0.1	1.8 ± 0.1	65.9 ± 0.5	18.1 ± 0.3	7.6 ± 0.3
220/40 µg m^{-3}	41.2 ± 0.8	4.2 ± 0.1	1.8 ± 0.0	66.0 ± 0.6	18.0 ± 0.4	7.7 ± 0.1

Tabelle 37: Ölgehalt und Fettsäureverteilung der Rapssamen (n = 7) der in der Blüte ozonexponierten Pflanzen.

Variante	**Ölgehalt**	Fettsäureverteilung in % der Gesamtfettsäuren				
	[%]	Palmitin-säure	Stearin-säure	**Ölsäure**	Linol-säure	Linolen-säure
Kontrolle	41.6 ± 0.9	4.3 ± 0.1	1.8 ± 0.1	66.0 ± 1.1	18.7 ± 0.5	7.6 ± 0.5
130/40 µg m^{-3}	42.8 ± 0.6	4.3 ± 0.1	1.8 ± 0.0	66.5 ± 0.5	18.5 ± 0.4	7.2 ± 0.2
220/40 µg m^{-3}	42.4 ± 0.9	4.1 ± 0.0	1.8 ± 0.1	67.2 ± 0.5	17.9 ± 0.3	7.4 ± 0.3

4. Diskussion

4.1 Zu den Methoden

In unserer Atmosphäre gibt es kaum „isolierte Immissionen“ nur einer einzigen Schadstoffkomponente; fast immer liegen Kombinationen (z.B. „photochemischer Smog“) beliebiger Zusammensetzung und mit variabler Toxizität vor. In der Literatur werden daher auch Experimente mit unterschiedlichen Schadgaskombinationen und -konzentrationen beschrieben (Wenzel, 1992; Ormrod et al., 1981). Ein weiterer experimenteller Ansatz liegt in der Kombination von Ozon mit erhöhten Kohlendioxidkonzentrationen, dem wichtigsten anthropogenen Treibhausgas (Balaguer et al., 1995; Rao et al., 1995). Sollte sich die gegenwärtige Zunahme des atmosphärischen CO_2-Gehalts von etwa 1.8 ppm pro Jahr weiter fortsetzen, wird die CO_2-Konzentration in der Mitte des nächsten Jahrhunderts einen Wert von 450 ppm erreicht haben (EK, 1994). Ferner werden Experimente beschrieben, in denen Ozon mit weiteren abiotischen bzw. biotischen Stressoren kombiniert wird, wie z.B. mit UV-B-Strahlung (Thalmair et al., 1996), Trockenstreß (Fangmeier et al., 1994) oder pathogenen Pilzen (v. Tiedemann und Pfähler, 1994).

In der vorliegenden Arbeit wurden die verschiedenen, in der Natur möglichen Belastungen durch Immissionen auf einen einzigen Faktor, das Ozon, beschränkt. Die Ozonexposition erfolgte mit „naturnahen“ Konzentrationen. Die Kontrollpflanzen wurden in aufwendig aufbereiteter Luft (**2.1.1**) und ozonfrei kultiviert. Die jeweiligen Ozondosen wurden der gefilterten Luft zugegeben. Die mikroklimatischen Bedingungen während der Ozonexposition wurden kontinuierlich verfolgt. Sollten zwischen einzelnen Serien starke Unterschiede in der Temperatur und Luftfeuchtigkeit während der Exposition aufgetreten sein, welche die Wirkung des Ozons beeinflußt haben könnten, werden sie hier diskutiert. Die in der Literatur beschriebenen Ozonexperimente weichen je nach den technischen Voraussetzungen stark von dieser Methode ab. Eine Variante bestand darin, ungefilterte Außenluft mit bestimmten Ozonmengen zu ergänzen (Sandelius et al., 1995). Auch in der Dauer der Ozonexposition unterscheiden sich die Versuchsansätze. Während in dieser Arbeit hauptsächlich ein Expositionszeitraum von zwei Wochen gewählt wurde, führten Maghun und Mitarbeiter (1994) Kurzzeitexperimente durch, und zwar im Labormaßstab für wenige Stunden mit hohen Konzentrationen (560 $\mu g\ m^{-3}$). Derartige Kurzzeit-Untersuchungen können durchaus wichtige Vorinformationen für die Durchführung von aufwendigen Langzeitbegasungen mit umweltnahen Schadgaskonzentrationen liefern.

Die Mehrzahl der Untersuchungsprogramme zur Ozonwirkung auf Weizen wurden in Open-Top Kammern (OTCs) durchgeführt, die in Wirklichkeit nicht oben offen sind, sondern abgedeckte, regengeschützte Kamine; die Abgase bzw. die Abluft entweicht nach den Seiten und die Pflanzen werden innen künstlich bewässert. Die klimatischen Bedingungen der OTCs unterscheiden sich merklich von den tatsächlichen Freilandbedingungen (höhere Temperaturen, verringerte Luftzirkulation); die so gewonnenen Ergebnisse können daher nicht ohne weiteres auf Feldbedingungen übertragen werden (Heagle, 1989; Fuhrer et al., 1995). Fangmeier et al. (1992) diskutieren die Vor- und Nachteile von Open-Top Kammern im Vergleich mit anderen Pflanzenexpositionssystemen. Als Beispiel dient eine Anlage (Institut für Pflanzenökologie in Gießen), die eine computergestützte Gasdosierung und Datenerfassung besitzt. Qualitätskriterien liegen im Ausschlußvermögen der Filter für Ozon, in der Reproduzierbarkeit von Tagesgängen der Außenluft sowie in der Eindämmung mikroklimatischer Effekte der Kammern.

Die besonderen Vorteile der hier verwendeten Expositionskammern:

- Möglichkeit einer reproduzierbaren Konzentration auf einen Schadstoff (monofaktorielle Fragestellung)
- Größe der Kammern („Gewächshauskammern“)
- Keine wirkungsrelevante Temperaturerhöhung in den Kammern
- Tageslicht tritt ungehindert in die Kammern ein
- Messung des Schadstoffs in Pflanzenhöhe
- Ozonerzeugung aus Sauerstoff (Luft birgt die Gefahr der NO-Entwicklung)

Wie oben erläutert (**3.1.1.1**), war die Begrenzung allein auf den Stressor Ozon bedingt durch Witterungseinflüsse nicht möglich. Die Kultivierung im Gewächshaus vor der Ozonexposition ließ zunächst keine Standardisierung der Aufzuchtbedingungen zu. Je nach Wetterlage waren einzelne Serien zusätzlichem Hitzestreß ausgesetzt. Ein Vergleich der Meßergebnisse zwischen den einzelnen Serien ist daher nur eingeschränkt möglich. Da die Kontrollpflanzen allerdings unter denselben Aufzuchtbedingungen wie die ozonexponierten Pflanzen kultiviert wurden, stellt sich dieses Problem innerhalb einer Serie nicht. Dabei zeigte sich, daß Hitzestreß allein die Pflanzen nicht erkennbar schädigte. Die erhaltenen Ergebnisse lassen aber immerhin eine Prädisposition der Pflanzen durch Hitzestreß vermuten.

Neben den Problemen bei der Standardisierung der Kultivierungsbedingungen spielten wechselnde Witterungsbedingungen bei der *Messung der Fluoreszenz* ebenfalls eine Rolle. Ein Vergleich der Meßwerte zwischen einzelnen Meßtagen ist daher nur bedingt möglich. Die erzielten Meßdaten der Kontrollpflanzen und ozonexponierten Pflanzen sind jedoch über die Fluoreszenzmessung an den Pflanzen aus den Kammern mit gleichen Expositionsbedingungen zu jeweils unterschiedlichen Tageszeiten durchaus vergleichbar. Der Schwerpunkt der Fluoreszenzanalyse lag auf der Messung des Parameters Fv/Fm. Der Abfall dieses Quotienten wird nach der üblichen Interpretation als Indiz für Photoinhibition angesehen (Björkman und Demmig, 1987; Kitajima und Butler, 1975; Bolhar-Nordenkampf et al., 1989; Krause und Weis, 1991). Die Einstellung des Fo-Wertes leicht unterhalb von 400 mV durch geeignete Wahl der Meßlichtintensität oder der Entfernung zwischen Probe und Fiberoptik war empfehlenswert, um eine optimale Auflösung ohne die Gefahr zu hoher Fluoreszenzsignale zu gewährleisten. Nach Beginn der Messungen durfte diese Einstellung nicht mehr verändert werden.

Bei der Messung des *Gesamtchlorophyllgehalts* mit dem Chlorophyll-Meter SPAD-502 war darauf zu achten, daß Meßfehler durch inhomogene Strahlungsbedingungen auftreten können (Hoel und Solhaug, 1998). SPAD-Werte von Blättern des Weizens und Sauerklees variierten, vermutlich durch Chloroplastenbewegungen in den Zellen, um 5 bis 15 %. Dieser Störfaktor konnte durch Messungen in der ersten Tageshälfte gering gehalten werden. Vorteile der Methode sind die hohe Speicherkapazität von 30 Meßdaten sowie Geschwindigkeit der Messung (Meßdauer < 2 s) neben dem weder Blatt noch Gesamtpflanze verletzenden Verfahren.

Neben den eingesetzten Methoden wurde nach einem von Takahama und Oniki (1992) angegebenen Verfahren versucht, den Gehalt von *Ascorbats/Dehydroascorbat* (AA/DHA) im Apoplastenraum des Weizenblattes im Vergleich zum Gehalt an AA/DHA im Gesamtblatt zu ermitteln. Hierzu mußte zunächst der sog. Apoplastenraum nach einer von Luwe et al. (1993) ausgearbeiteten Methode extrahiert, ein Blattextrakt gewonnen und der Gehalt an AA/DHA in den beiden Fraktionen bestimmt werden.
Die zuverlässige Gewinnung von interzellulärer Waschflüssigkeit stellte sich gerade bei Fahnenblättern des in der schossenden (EC 41) oder blühenden Phase (EC 61) exponierten Weizens als äußerst schwierig, wenn nicht unmöglich heraus. Die Lichtabsorption der IWF bei 680-740 nm, die eine Kontamination mit Chloroplasten oder Thylakoiden anzeigt, war

gleich Null. Durch diesen Test auf Chlorophyllfreisetzung erhält man entgegen der Annahme jedoch keine Sicherheit gegen eine Kontamination der IWF durch symplasmatische Komponenten, lediglich eine für das Fehlen von Chloroplasten in der IWF.

Die Kontamination des Extrakts des Apoplastenraums durch cytoplasmatische Komponenten, die häufig durch Aktivitätsbestimmungen spezifischer Markerenzyme unter optimalen Reaktionsbedingungen, wie z.B. der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6PDH), überprüft wird, konnte jedoch nicht ausgeschlossen werden.

Die Auswahl geeigneter Markerenzyme für den Apoplastenraum gelingt bisher kaum. Nur sehr wenige Enzyme und Metaboliten wurden bisher als im Apoplasten vorhanden sicher nachgewiesen (Dietz, 1997). Ob Metaboliten mit niedrigem Molekulargewicht als Marker für den Nachweis apoplastisch lokalisierten Ascorbat- oder Glutathiongehalts geeigneter wären als Enzyme (Vanacker et al., 1998), muß bezweifelt werden; denn zuverlässig bestimmbare wie z.B. Ribulose-1,5-Bisphosphat sind im Chloroplasten lokalisiert und daher ebenfalls kein zuverlässiger Kontaminationsmarker. Wenig aussagekräftig ist der Nachweis von zellwandgebundener saurer Invertase als positiver Marker; denn diese Invertase läßt sich nur schwach in der IWF nachweisen. Zu den möglichen Metaboliten zählen aber auch Ascorbat und Glutathion, die beide wiederum im Symplasten nachgewiesen werden können.

Bender et al. (1994) konnten nach Ozonexposition von Sommerweizen im Fahnenblatt einen erhöhten Glutathiongehalt nachweisen, dagegen keine veränderte Aktivität der Glutathion-Reduktase sowie keine Änderung im Ascorbatgehalt (vgl. auch Rao et al., 1995). Die Reaktion der zellulären Antioxidantien ist vom Blattalter abhängig und wurde wöchentlich vor und nach Beginn der Anthese bei Pflanzen, die in Open-Top Kammern kultiviert worden waren, gemessen (Bender et al., 1994).

Auf Grund der verschiedenen Bedenken zu den bisher geübten Verfahren zur Gewinnung interzellulärer Waschflüssigkeit, auch in der eigenen Abteilung sowie der dort gemachten Erfahrungen bei der zuverlässigen zellulären Lokalisierung von Metaboliten, wurde das Vorhaben, die Bestimmung von Ascorbat und Dehydroascorbat im IWF nicht mehr weiter verfolgt.

4.2 Wirkung von Ozon in Konzentration und Dosis auf Photosynthese und Assimilatgehalt in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium des Weizens

Der Sommerweizen wurde in verschiedenen Entwicklungsstadien – Jungpflanzen (EC 21), schossende (EC 41) und blühende Pflanzen (EC61) - umweltnahen Ozonkonzentrationen für eine Expositionsdauer von zwei Wochen ausgesetzt. Im Mittelpunkt der Untersuchung standen hierbei Veränderungen des Pigmentgehalts, der Photosynthese und der Assimilate. Die Assimilatverteilung wurde über die quantitative Bestimmung der Hexosen, von Saccharose und von Stärke in den Jungpflanzen, bei den älteren Stadien im Fahnenblatt sowie in den beiden obersten Internodien untersucht. Fluoreszenzmessungen zur Erkennung möglicher Photoinhibitionen wurden während und nach der Expositionszeit vorgenommen. Je nach Wetterlage verursachte die Vorkultur der Pflanzen im Gewächshaus bei einzelnen Serien einen Hitzestreß.

Ergebnisse hierzu wurden im wesentlichen bereits in der Diplomarbeit vorgestellt (Meyer, 1996) und publiziert (Meyer et al., 1997). Ozonbedingte Störungen traten in allen drei Entwicklungsstadien auf. Besonders empfindlich antworteten jedoch die Pflanzen in der Anthese (EC 61), was frühere Vermutungen bestätigte und inzwischen von Pleijel et al. (1998) ebenfalls belegt werden konnte. Nur die Serien, die in der Vorkultur vor der Ozonexposition einem starken Hitzestreß ausgesetzt waren, zeigten signifikante Änderungen im Parameter Fv/Fm (Tab. 11). Die Pflanzen, die keinen Hitzestreß während der Vorkultur erfahren hatten, zeigten in ihrem Fluoreszenzsignal zwischen Kontrolle und Ozonexposition keine Unterschiede. Die Jungpflanzen reagierten ebensowenig wie die schossenden Pflanzen auf die Ozonexposition (Tab. 10). Soja und Soja (1995) fanden über Fluoreszenzmessungen die schossende Phase als besonders ozonsensitiv heraus. Die Autoren führen die Verminderung von Fv/Fm auf einen durch Ozon reduzierten Plastochinonpool zurück. Den deutlichsten Effekt auf den Kornertrag hatte aber der Verlust an grüner Blattfläche während des Ährenschiebens (EC 51).

Die Mehrzahl der Arbeiten, in denen die Beeinträchtigung der Photosynthese durch Ozon mittels Chlorophyllfluoreszenz untersucht wird, stützt sich auf Fv/Fm (siehe **4.7**). Weitere Hinweise auf Photoinhibition liefern Ergebnisse aus den Fluoreszenzmessungen bei unterschiedlichem Photonenfluß (sog. Lichtkurve, Abb. 15). Die beobachtete Inhibition der Elektronentransportrate relativ zur Kontrolle macht das Ausmaß im Rückgang der Photonenwirksamkeit und der photosynthetischen Kapazität deutlich. Im Zusammenhang mit der Wirkung von Ozon auf Pflanzen wurden Lichtkurven bisher nicht aufgenommen. Krause

und Winter (1996) nutzten diese, um in natürlichen Ökosystemen eine durch Starklicht ausgelöste Photoinhibition der Photosynthese nachzuweisen. Photoinhibition umfaßt einen Komplex regulatorischer Vorgänge als integraler Bestandteil der primären photosynthetischen Prozesse. Die Photoinhibition verhält sich zu den Lichtreaktionen der Photosynthese wie die Photorespiration zu den Dunkelreaktionen des Kohlenstoffmetabolismus (Osmond, 1994).

Bei zahlreichen immissionsbedingten Schädigungen von Pflanzen wurde häufig ein Absinken des Chlorophyllgehalts beobachtet. So berichten auch Bender und Weigel (1995) für landwirtschaftliche Kulturpflanzen über einen durch Ozon ausgelösten vorzeitigen Abbau von Chlorophyll. Die Analyse der Photosynthesepigmente zeigte, daß Pflanzen im Stadium „Anthese“ besonders ozonsensitiv reagieren, wenn sie vorher einem Hitzestreß ausgesetzt waren (Tab. 9). Sandelius und Mitarbeiter (1995) nutzten u.a. den Chlorophyllgehalt beim Sommerweizen zur Ableitung von Schwellenwert der Schädigung durch Ozon (s. **4.9**). Auch sie konnten eine wachsende Empfindlichkeit gegenüber Ozon mit dem wachsenden Alter des Fahnenblatts bis zur Reife beobachten. Nie und Mitarbeiter (1993) konnten bei Weizen ebenfalls einen ozoninduzierten Rückgang im Chlorophyllgehalt feststellen (allerdings bei einer Ozonkonzentration von 300 µg m^{-3}).
Finnan et al. (1998) wiesen beschleunigten Abbau von Chlorophyll - ein typischer Vorgang bei natürlicher oder erzwungener Seneszenz von Blätter – zusammen mit einem Verlust an löslichen Proteinen im Fahnenblatt unter Ozonexposition nach. Auch hier zeigten kürzere Phasen mit hohen Ozonkonzentrationen bei gleicher Gesamtdosis die stärkere phytotoxische Wirkung.

Ozonbedingte Störungen der Assimilatverteilung konnten in allen untersuchten Entwicklungsphasen nachgewiesen werden, signifikant jedoch wiederum nur in den Serien, welche zuvor einem Hitzestreß ausgesetzt waren. Der Gehalt an Saccharose nahm im Fahnenblatt unter solchen Bedingungen weitaus stärker zu als der Stärkegehalt. Bei Jungpflanzen (EC 21) war eine solche Zunahme nur in der Variante der höchsten Ozondosis festzustellen (Abb. 16). Hier ist zu berücksichtigen, daß nicht Fahnenblätter, sondern die Sprosse insgesamt analysiert wurden. Zudem überwiegt in den Pflanzen der Baustoffwechsel quantitativ jede Verlagerung aus „source“-Blättern, so daß Störungen eines Assimilattransports weniger sichtbar werden. In schossenden Pflanzen (EC 41) war die Assimilatakkumulation unter Ozonpeaks von 220 µg m^{-3}/4 h/d stärker als bei den Pflanzen, die unter einer 14-tägigen Dauerbelastung von 130 µg m^{-3}/24 h/d und damit einer höheren

Gesamtdosis standen (Tab. 12). Auch bei den zu Beginn der Blüte ozonexponierten Pflanzen (EC 61) wirkt die Ozonkonzentration gravierender auf den Kohlenhydratgehalt des Fahnenblattes als die Ozondosis. Der Anstieg des Saccharosegehalts im Fahnenblatt war bereits nach einer Woche Exposition festzustellen (Tab. 13). In der Blühphase könnte der Weizen besonders empfindlich auf Störungen im Kohlenhydrathaushalt reagieren, weil hier eine Erhöhung der photosynthetischen Kapazität beobachtet wird und der Assimilattransport sein Maximum erreicht (Stoy, 1965, Wardlaw und Porter, 1967).

Die Störungen im Assimilattransfer werden auf Funktionsverluste der Membranen, in erster Linie der Plasmamembran, zurückgeführt (Elstner und Hippeli, 1995; Pauls und Thompson, 1980). Offenbar wird die Beladung des Phloems mit Saccharose beeinträchtigt. Die höchste Saccharoseakkumulation im Fahnenblatt der ozonexponierten Pflanzen wird in der Blühphase erreicht, in der die Photosynthesekapazität und der Assimilattransport ihr Maximum erreichen (Schnyder, 1993). Es wird vermutet, daß die Assimilatakkumulation zu einer „feedback"-Inhibition der Photosynthese führen könnte (Stitt, 1995). Eine Endprodukthemmung der CO_2-Fixierung wäre die Folge, was über die hierdurch verringerte Abnahme von Reduktionspotential unter fortlaufender O_2-Entwicklung die Umleitung von Elektronen auf Sauerstoff auslösen kann. Dies könnte zur Photoinhibition beitragen, die daher nicht als primäre Schädigung durch den Stressor Ozon angesehen wird, sondern als Konsequenz der Störungen im Kohlenhydrathaushalt.
Kombinationen von Ozon mit anderen Stressoren wie UV-B (Heisel, 1995), Trockenheit (Fangmeier et al., 1994) und Phytopathogenen (v. Tiedemann und Pfähler, 1994) sind bekannt und konnten hier für Hitzestreß sowie für Weizenmehltau (s. **4.5**) bestätigt werden. Festzuhalten bleibt, daß sich für Weizen in der vorliegenden Studie die Anthesephase als besonders ozonsensitiv erwiesen hat. Nicht unbegründet nimmt man an, daß die in dieser Arbeit untersuchten Fahnenblätter im Anthesestadium (EC 61) in einer „präseneszenten" Phase ihrer Entwicklung sind und damit kaum mehr wie etwa junge Blätter über Reparaturmechanismen verfügen. Die Situation beim Raps unterscheidet sich davon augenscheinlich (s. **4.6**).

4.3 Photosynthese und Assimilatgehalt der Fahnenblätter und ihr Verlauf während und nach der Ozonexposition des Weizens

Wie im einzelnen dargestellt, wurde der Faktor Ozonexposition auf der Basis der Resultate aus den ersten Versuchsserien (Meyer et al., 1997) auf die wichtige Alternative „Spitzenbelastung“ (4 h: 220 µg m^{-3}) *vs.* „Dauerbelastung“ (130 µg m^{-3}) begrenzt, jedoch ausgedehnt auf einen Zeitraum von drei Wochen, und auf Weizen der Entwicklungsphase „Anthese“ (EC 61). Einbezogen wurden neben dem Sommerweizen zwei Kultivare des Winterweizens. Der nach drei Wochen Ozoneinwirkung analysierte Pigmentverlust war vorauszusehen und im übrigen bei den beiden Winterweizenkultivaren besonders stark. Während der Ozonexposition durchgeführten Messungen der Photofluoreszenz zeigen für alle Kultivare einen fortschreitenden Verlust an Photosynthesekapazität (Tab. 15-17; 25).

Die neben dem bekannten Parameter Fv/Fm hier verzeichneten Werte Fo und Fm können zusätzliche Informationen liefern: Ein Anstieg der Grundfluoreszenz Fo kann eine Schädigung des PS II andeuten, Absinken der maximalen Fluoreszenz Fm kann auf einen Anstieg der nicht-photochemischen Fluoreszenzlöschung hinweisen (Krause und Weis, 1991), was neben anderen diskutierten Ursachen an fortschreitendem Abbau bzw. verzögerter Regenerierung der Photosystem II-Kernkomplexproteine liegen mag (Krause et al., 1990). Zusammen mit den Daten aus den sog. Lichtkurven und den „Fluoreszenzlöschungskoeffizienten“ qP – dieser ist ein (indirektes) Maß für die photochemische Aktivität – und qN läßt sich auf diese Weise die Leistungsfähigkeit des Photosyntheseapparats der Pflanzen gut erfassen.
Eine verstärkte nicht-photochemische Fluoreszenzlöschung qN der ozonexponierten Pflanzen kann auf eine deutliche Verringerung des ATP-Verbrauchs im Calvin-Zyklus hinweisen. Damit verbunden ist ein größerer Protonengradient ΔH^+ (als Ausmaß der Energetisierung der Thylakoidmembran). Erniedrigte photochemische Fluoreszenzlöschung qP der ozonexponierten Pflanzen verglichen mit der Kontrolle deutet auf ein größeren Anteil von reduziertem Q_A, dem primären Elektronenakzeptor im PS II hin, der auf eine Verringerung der Calvin-Zyklus-Aktivität schließen läßt. Ein geringer Verbrauch von $NADPH/H^+$ könnte zu einem Erniedrigen der Elektronentransportrate, daraus folgend zu einer Verringerung der Reoxidation von Q_A und damit zu einem niedrigeren qP führen. Nali et al. (1998) nutzten die Bestimmung der Löschungskoeffizienten bei der kurzzeitigen Ozonexposition (300 µg m^{-3}, 5 h) von Pappeln. Lu und Zhang (1998) konnten an Weizenblättern nachweisen, daß Seneszenz

zu einem leichten Abfall von Fv/Fm führte. Gleichzeitig stieg qN signifikant an und qP sank merklich ab.

Aus den Daten (Tab. 15-17, 22, 25, 26) läßt sich für die Weizenkultivare ein deutliches Absinken von Fv/Fm ablesen, was aufgrund der im Vergleich zur Kontrolle niedrigeren Werte für Fm eine Photoinhibition durch Schaden im PS II bedeuten kann. Der gleichzeitige Anstieg der Grundfluoreszenz Fo in der Mehrzahl der Fälle unterstützt diese Erklärung.
Aus den Messungen der photochemischen Fluoreszenzlöschung sowie der Lichtkurven der Elektronentransportrate bei ozonexponierten Weizenblättern muß man insgesamt schließen, daß vor allem die „Spitzenbelastung“ über eine Folge von etwa acht Tagen hinweg Schäden am PS II bewirkt, die innerhalb der folgenden acht Tage ohne Ozonbelastung nicht komplett überwunden werden kann.

Während den ersten Serien mit Sommerweizen Ozonexposition ohne vorherigen Hitzestreß keine signifikante Änderung der löslichen Kohlenhydrate und der Stärke im Fahnenblatt erkennen ließen, wurde in den nachfolgenden Jahren sowohl beim Sommer – wie beim Winterweizen (Tab. 18, 19) eine starke Verminderung des Gehalts an Saccharose und Stärke festgestellt. Im Lauf der dreiwöchigen Versuchsperiode – d.h. die Weizenpflanzen gelangten von Stadium EC 61 in EC 82 – fiel auch in den Fahnenblättern der Kontrollpflanzen der Saccharose und Stärkegehalt deutlich ab, und zwar aufgrund der in den Zustand der Milchreife gelangenden Körner und ihrer „sink“-Stärke. Saccharose und Stärke nahmen jedoch in den ozonexponierten Blättern noch sehr viel drastischer ab. Dieser Abfall wurde auch nicht durch den Anstieg an Glucose und Fructose – evtl. aufgrund von Invertase – in den ozonexponierten Blättern kompensiert (Tab. 23).

Der Sommerweizen wurde wiederum zu Beginn der Anthese (EC 61) einer zweiwöchigen Ozonexposition ausgesetzt (s. **3.1.4**). Die Ozonkonzentration erreichte bei gleicher Gesamtdosis einen Spitzenwert (4 h: 220 µg m^{-3}) bzw. eine Dauerbelastung (8 h: 130 µg m^{-3}). Mögliche photoinhibitorische Schädigungen des Photosyntheseapparates, angezeigt durch eine deutliche Reduktion des Quotienten Fv/Fm, treten bereits sieben Tage nach Beginn der Ozonexposition zusammen mit einer merklichen Verminderung des Gehalts an löslichen Kohlenhydraten im Fahnenblatt auf. Selbst wenn der Kohlenhydratgehalt in den Fahnenblättern der Kontrollpflanzen drei Wochen nach Beginn der Anthese gesunken ist (Schnyder, 1993), so fallen der Gehalt an Saccharose und Stärke innerhalb von zwei Wochen

Ozonexposition signifikant drastischer ab. Eine Erholung in der Phase nach der Exposition bleibt schwach. Da der obere Abschnitt des Halms an der Kornfüllung über die Remobilisierung von dort zwischengelagerten Kohlenhydraten beteiligt ist (Willenbrink et al., 1998), konnte eine entsprechende Verschiebung löslicher Kohlenhydrate (Saccharose) in den oberen Internodien erwartet werden. Es kann angenommen werden, daß der im Vergleich zur Kontrolle niedrigere Gehalt sowohl an Saccharose als auch an Fructanen im Halm nach Ozonexposition die unzureichende Kohlenstoffversorgung der wachsenden Ähre widerspiegelt. Möglicherweise deutet der drastische Abfall des Saccharosegehalts in den Internodien unter Ozonexposition eine verstärkte Mobilisierung an, da die Assimilate des intermediären Speichers eine ggf. unzureichende Versorgung der Körner mit Photosyntheseprodukten der source-Blätter ausgleichen (Schnyder, 1993). Die Speicherung von Fructanen und Saccharose im Halm kann eine unzureichende Versorgung der Ähre überlagern, wie Kühbauch und Thome (1989) für Weizen unter verschiedenen source-sink-Manipulationen zeigen konnten. Ergebnisse von Willenbrink et al. (1998), die eine Korrelation zwischen der Erhöhung der Aktivität der Fructan-Exohydrolase im Halm beschatteter Pflanzen (sog. „reduced source activity“) mit der Mobilisierung von Kohlenhydratreserven nachweisen, könnten diese Punkt unterstützen.

Die Befunde zum Kohlenhydrathaushalt scheinen den Ergebnissen der ersten Serie zu widersprechen, zumal auch Balaguer et al. (1995) und Barnes et al. (1995) nach moderater Ozonexposition beim Weizen eine schwache Akkumulation von Saccharose und Stärke im Fahnenblatt beobachtet hatten. In Kapitel **4.5** wird noch auf derartige Kombinationseffekte von Stressoren eingegangen.

Eine Diskussion der ozoninduzierten Veränderungen des Kohlenhydrathaushalts des Fahnenblatts muß nicht nur die klimatischen Bedingungen der Vorkultur (z.B. Hitzestreß) sowie während der Exposition (in den Kammern, Tab. 4-8) beachten, sondern natürlich die verschiedenen Angriffsorte von Ozon und Hydoxylradikalen im Blatt. Primäre Effekte auf die Plasmamembranen, bereits in den Schließzellen denkbar (Elstner und Hippeli, 1995), können in den Mesophyllzellen und im Leitgewebe zu Störungen der Assimilat-Allokation führen und die Assimilatversorgung der „sinks“, im Fall des Weizens der Ähre bzw. der Karyopsen beeinträchtigen. Diese tritt ebenso ein, wenn Entgiftungsreaktionen des Blattes gegen Ozon nicht ausreichen (Ascorbat, Glutathion und die entsprechenden Reduktasen) und sekundär der Photosyntheseapparat in den Plastiden betroffen wird. Das muß nach den Befunden in dieser

Untersuchung und anderen Arbeiten (Darrall, 1989; Miller, 1988) der Fall sein. Sinken Saccharose- *und* Stärkegehalt der Zellen, spricht dies zunächst für eine Hemmung der photosynthetischen CO_2-Reduktion infolge der Schäden am PS II. Das wird durch meine Daten ja wahrscheinlich gemacht. Hinzu kommt die erwähnte ozoninduzierte Störung des Assimilattransports aus dem Mesophyll, die durchaus ebenfalls allmählich die Photosynthese inhibieren kann, wie Einig et al. (1997) betonen, und offenbar unter dem Einfluß von Hitzestresses in der Vorkultur auch hier der Fall gewesen ist.

4.4 Ozonexposition und der Ertrag von Sommer- und Winterweizen

Zu den auch aus ökonomischer Sicht relevanten Wirkungen des Ozons gehört die Beeinträchtigung der Produktion bzw. des Ertrags landwirtschaftlich genutzter Kulturpflanzen (Heagle, 1989). Ertragseinbußen können Folge direkter Einwirkungen auf die Wuchsleistung der Pflanze oder indirekter Wirkung durch veränderte Anfälligkeit gegenüber sekundären Stressoren sein (Bender und Weigel, 1995). Im Rahmen des National Crop Loss Assessment Network (NCLAN) konnte in den USA unter Verwendung von Open-Top Kammern gezeigt werden, daß freilandnahe Ozonkonzentrationen zu Ertragseinbußen beim Weizen führen können (Heagle, 1989; Heck et al., 1988). Diese Ergebnisse bestätigende Untersuchungen mit Sommerweizen aus dem EOTCP (European Open-Top Chamber Programme) wurden bereits einleitend erwähnt (vgl. Krupa et al., 1998).

In dieser Untersuchung wurde Sommerweizen zu Beginn der Anthese (EC 61) einer zweiwöchigen Ozonexposition ausgesetzt. Die Ozonkonzentration erreichte bei gleicher Gesamtdosis einen Spitzenwert (4 h: 220 µg m^{-3}), bzw. eine Dauerbelastung (8 h: 130 µg m^{-3}). Der Unterschied in der Wirkung der beiden Expositionsmuster ist im Hinblick auf das Tausend-Korn-Gewicht bemerkenswert: Eine zweiwöchige Exposition mit 130 µg O_3 m^{-3} über acht Stunden führt zu einer Ertragseinbuße von 11 %, während 220 µg O_3 m^{-3} über vier Stunden eine Reduktion um 22 % hervorrufen (Tab. 24). Dieses deutliche Ergebnis betont die Bedeutung der Expositionsmuster und deren Einfluß auf die Physiologie der Pflanze (vgl. auch Krupa et al., 1994). Die Ertragsminderungen können – auch in Abhängigkeit der Expositionsmuster – in engem Zusammenhang mit der unmittelbar am Ende der Exposition gemessenen Reduktion des Chlorophyllgehalts, der Inhibition der Photosynthese und der starken Verminderung des Saccharosegehalts im Fahnenblatt gesehen werden. Finnan et al. (1998) betonen für Sommerweizen ebenfalls die stärker wirkende Phytotoxizität von Spitzenkonzentrationen (vgl. auch Mulholland et al., 1998). Die Autoren stellten dabei enge Parallelen zwischen Kornertrag und ozoninduzierten Änderungen der Seneszenz und des Blattflächenindex fest; die zur Produktion von Assimilaten zur Verfügung stehende Blattfläche ist deutlich verkleinert.

Fuhrer et al. (1989) setzten in einer dreijährigen Studie Sommerweizen in Open-Top Kammern im Langzeitversuch unterschiedlichen chronisch wirkenden Ozondosen aus. Die Begasung wurde vom Dreiblattstadium bis zur Ernte aufrechterhalten. Ozon beeinflußte den Kornertrag primär über die Korngröße und sekundär über die Kornzahl. Die Analyse der Daten aller Jahre zeigten einen Anstieg des Ertrags in gefilterter Luft um 10 %. Amundson

und Mitarbeiter (1987) beobachteten, daß ein ozonbedingter Ertragsverlust vor der Anthese auf Reduzierung der Kornzahl zurückführen ist, während Exposition zur Anthese das Korngewicht reduziert, weil die Kornanlagen bereits ausgebildet sind. Fangmeier et al. (1994) exponierten Sommerweizen im Langzeitversuch ebenfalls in Open-Top Kammern unter verschiedenen Ozonkonzentrationen. Die Pflanzen wurden unter Aktivkohle-gefilterter Luft, Außenluft und unter Außenluft mit der zwei- bzw. dreifachen ambienten Ozonkonzentration kultiviert. Ozon beschleunigt die Seneszenz und reduziert Wachstum und Ertrag. Grüters et al. (1995) variierten in einem ähnlichen Ansatz zusätzlich die Wasserversorgung. Die Wasserversorgung wirkte sich auf die stomatäre Leitfähigkeit nur gering aus. In diesem Experiment bewirkte Wassermangel durch Verringerung der Aufnahme über die Stomata keinen Schutz gegenüber Ozon. Es wurden detaillierte Modellrechnungen und Korrelationen zur stomatären Leitfähigkeit aufgestellt, die neben mikroklimatischen Bedingungen die vom Fahnenblatt aufgenommene Ozondosis berücksichtigten. Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß steigende Ozondosen zum Schließen der Stomata führen. Unter hoher Ozondosis scheint die Seneszenz bei der Verringerung der Leitfähigkeit ebenfalls eine Rolle zu spielen.

Die mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition könnten das Ausmaß der Ertragsminderungen eventuell verstärkt haben (Tab. 6). Die relativ hohen Tagestemperaturen in den Kammern könnten – bei stets ausreichender Wasserversorgung – die Transpiration erhöht und damit die Aufnahme und Wirkung des Schadstoffs erhöht haben. Eine statistische Absicherung der Korrelationen zwischen Klimafaktoren während der Ozonexposition und Ertragsparametern wird beim Sommerraps versucht (**4.6**).

Der Winterweizen zeigte eine mit dem Sommerweizens vergleichbare Reduktion des Ertrags. Bereits eine zehntägige Ozonexposition (Beginn EC 61) führte zu signifikanter Verminderung des Tausend-Korn-Gewichts (TKG) der „akut“ belasteten Pflanzen. Der Unterschied in der Wirkung der beiden Ozonexpositionsmuster konnte allerdings bei den zur Voll-Blüte (EC 65) einer zweiwöchigen Ozoneinwirkung ausgesetzten Pflanzen nicht beobachtet werden. Dieses Resultat entspricht auch den Werten für Fv/Fm und den Gesamtchlorophyllgehalt; diese lassen am Ende der Ozonexposition ebenfalls keine unterschiedliche Wirkung von Spitzen- und Dauerbelastung erkennen.

Die Ergebnisse des Ertragsparameters TKG unterstreichen die „Sensitivität“ der Anthese gegenüber Ozon, auch hinsichtlich der Bedeutung des Fahnenblattes für den Ertrag (Amundson et al., 1987).

4.5 Ozonbelastung und Befall von Weizen durch *Erysiphe graminis*

Häufig wird über eine durch abiotische oder biotische Faktoren veränderte Prädisposition von Wirtspflanzen berichtet (Manning und Keane, 1988; Schlösser, 1997). Selten wird offenbar ein zuvor widerstandsfähiges Gewebe in ein prädisponiertes umgewandelt. Meist handelt es sich um eine veränderte Wirtsreaktion derart, daß sich ein Erreger in einem ohnehin prädisponierten Gewebe noch besser entwickeln kann. So führt z.B. eine übermäßige N-Düngung zu einer massiven Entwicklung des Getreidemehltaus (v. Tiedemann, 1996; Yurina et al., 1997). Die Getreideblätter sind in diesen Fällen jedoch von vornherein für den Erreger des Mehltaus prädisponiert; d.h. sie wären auch ohne eine übermäßige N-Düngung befallen worden.

Manning und v. Tiedemann stellen die bis 1995 vorliegenden Forschungsergebnisse zur Wirkung von Ozon, erhöhtem Kohlendioxid und UV-B-Strahlung auf Pflanzen im phytopathologischen „Kontext“ dar. Diese abiotischen Faktoren beeinflussen wahrscheinlich direkt oder indirekt den Beginn und die Schwere von Pflanzenkrankheiten. Erhöhtes CO_2 führt in manchen Fällen zur Vergrößerung der Blattflächen, was Biomasse und Nahrungsqualität steigern kann, besonders unter höherer Luftfeuchtigkeit. Dies wird jedoch gleichzeitig Pflanzenkrankheiten wie Rost, Mehltau und allgemein Blattfleckenkrankheiten fördern. Nekrotrophe Pathogene kolonisieren durch O_3 geschwächte Pflanzen möglicherweise mit beschleunigter Rate, während obligat-biotrophische Infektionen gleichzeitig zurücktreten. Es wird diskutiert, daß ein durch UV-B induzierter höherer Flavonoidgehalt auch zu verstärkter Krankheitsresistenz führen kann. Andererseits können eine reduzierte Photosyntheseleistung, verfrühte Reife und nachfolgende Seneszenz sowohl zu einer Abnahme des Befalls durch biotrophe als auch andererseits zur Befallsverstärkung durch nekrotrophe Pathogene führen.

Die prädisponierende Wirkung von Ozon in den Entwicklungsstadien Bestockung, Schossen, Ährenschieben und Blüte sowohl auf den Befall durch nekrotrophe als auch durch biotrophe Pathogene wurde von v. Tiedemann (1992a, 1992b) dargestellt. Eine fünftägige Ozonexposition in OTCs erfolgte unter Konzentrationen von 80, 160 sowie 240 µg m^{-3} (tägliches 7 h-Mittel). Die Infektion mit dem Inokulum nach der Ozonexposition erfolgte jeweils auf den abgeschnittenen beiden jüngsten vollentwickelten Blättern. Nach mittlerer Ozonbelastung (80-160 µg m^{-3}) nehmen die Mehltaupusteln und die Menge gebildeter Konidien auf Blättern junger Pflanzen (EC 21 und 37) deutlich zu. Nach Exposition mit 240 µg m^{-3} Ozon wird der Mehltaubefall wieder stark reduziert. Bei Blättern älterer Pflanzen (EC

55) bewirken sämtliche Ozonkonzentrationen von 80-240 µg m^{-3} einen signifikanten Rückgang der Infektionsstärke und der Sporulation.

Betrachtet man allein die Ozonkonzentration, dann stimmen die Ergebnisse der jungen Pflanzen deutlich mit den hier gefundenen Resultaten überein (**3.1.6**). Bei allen eingesetzten Kultivaren konnte beobachtet werden, daß „chronischer" Ozonstreß (130/40 µg m^{-3}) eine erhöhte Anfälligkeit gegen Mehltau zur Folge hatte, während „akuter" Ozonstreß (220/40 µg m^{-3}) zu einer Reduktion des Befalls führte. Die Infektion betraf dabei die dritt- und viertletzten Blätter, die zu Beginn der Ozonexposition voll entwickelt waren (sie entsprechen den Blättern in der Untersuchung von v. Tiedemann). Sie lief hier schneller und stärker ab als auf den beiden jüngsten Blättern, die sich erst während der Ozonexposition entfaltet hatten. Diese Abhängigkeit vom Grad der Differenzierung des Blattes deckt sich mit dem Befund, daß der Gipfel der Ozonsensitivität mit der Periode kurz nach maximaler Blattexpansion zusammenfällt, während junge, noch nicht voll entfaltete Blätter weniger anfällig sind (Elstner und Hippeli, 1995). Das Schadensausmaß wird ursächlich mit der Morphologie des Blattinneren in Verbindung gebracht; das Verhältnis von Oberfläche zu Innenraum wird als maßgebend angesehen.

Die mehltauresistente Weizensorte Ritmo zeigt einen deutlich verzögerten und schwächeren Infektionsverlauf: dies ist auf die Resistenzgenausstattung (s.a. **2.2.1**) zurückzuführen. Immerhin war der Mehltaubefall in der Bonitur der ausdifferenzierten Blätter der zuvor „chronisch" ozonbelasteten Pflanzen im Vergleich zu den Kontrollpflanzen auch bei Ritmo noch deutlich erhöht.

Bei gleicher Gesamtdosis führt die Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}) zu einer Förderung des Mehltaubefalls, während die Spitzenbelastung (220 µg O_3 m^{-3}) die Symptomausbildung verringert oder verzögert. Die berichteten stärkeren Wirkungen von Spitzenkonzentrationen erscheinen nur auf den ersten Blick als widersprüchlich.

Hyde hatte 1977 nachgewiesen, daß Kolonieentwicklung und Konidienbildung beim Echten Mehltau vom Alter der Weizenblätter negativ beeinflußt werden. Ozon könnte daher über verfrühte und beschleunigte Seneszenz, herbeigeführt über die Hemmung der Photosynthese und deren Folgen, die Reaktionslage der Wirtspflanze in der Wirt-Pathogen-Beziehung verändern. Der biotrophe Pilz findet dann nur noch wenige geeignete Wirtszellen vor (Knogge, 1996).

Khan und Khan (1998) beschreiben interaktive Effekte zwischen Ozon und dem Erreger des Echten Mehltaus, *Sphaerotheca fuliginea,* beim Flaschenkürbis (*Lagenaria siceraria* L.). Dabei bewirkt eine Prädisposition mit 100 µg O_3 m^{-3} (7 h/d) eine erhöhte Kolonisation,

während 200 µg O_3 m^{-3} und mehr diese vermindert. Bereits mehltauinfizierte Pflanzen zeigen bei Ozonexposition (200 µg m^{-3}) weniger auffällige Symptome der Phytotoxizität des Ozons, z.B. Nekrosen. Die Autoren vermuten einen Schutz vor Ozon durch verminderte Aufnahme, denn der Pilzbefall kann zum Stomaschluß führen. Die von mir durchgeführten zweiwöchigen Ozonexpositionen von Jungpflanzen (EC 14 bis 30) mit bzw. ohne vorausgegangene Mehltauinfektion zeigen dagegen für Weizen ein anderes Bild: Während die exponierten Jungpflanzen ohne Vorbelastung durch Mehltau nach 7 d noch keine erkennbaren Reaktionen zeigten, traten bei den mehltauinfizierten Pflanzen (d.h. prädisponiert durch „biotischen Streß“) deutliche Ozonfolgen auf. Nach 14 d bewirkten vor allem die Spitzenkonzentrationen (220/40 µg O_3 m^{-3}) eine stärkere Photoinhibition (Reduktion von Fv/Fm). Die Mehltauinfektion erhöht beim Weizen offenbar die Ozonsensitivität ähnlich wie die schon beschriebene Hitzeperiode während der Vorkultur (**4.2**).

4.6 Versuche zur Ozonwirkung auf Raps

Über Raps - die ertragreichste Ölpflanze unter den Kohlgewächsen (*Brassicaceen*) - liegen vor allem im Vergleich zum Weizen nur wenige Untersuchungen vor. In der Arbeit von Bastrup-Birk und Mortensen (1997) wurden fünf dänische Sommerrapskultivare während des vegetativen Wachstums für fünf Wochen in OTCs drei verschiedenen Ozondosen ausgesetzt. Wie auch bei vielen anderen Kulturpflanzen wurden große Unterschiede in der Sensitivität gefunden. Als einen primären Effekt des Ozons wurde über verfrühtes Abwerfen der Blätter berichtet. In einer dreijährigen Studie untersuchten Adaros und Mitarbeiter (1991) den Effekt von niedrigen Konzentrationen von O_3, NO_2 und SO_2 allein und in Kombinationen auf Sommerraps. Der Samenertrag sank mit steigender Ozonkonzentration (10 bis 120 µg m^{-3}, saisonaler 8 h Mittelwert), und zwar auf Grund von kleineren Samen, geringerer Samenzahl pro Schote und weniger Schoten pro Pflanze.

Meist wurden in diesen Studien die vegetativen und reproduktiven Komponenten der Pflanze gleichzeitig exponiert, was eine Trennung zwischen direkter Schädigung reproduktiver Strukturen und indirektem Effekt durch Schäden der vegetativen Organe erschwerte. Bosac et al. (1993, 1994 und 1998) fokussierten den Blick auf reproduktive Entwicklung, den Ertrag und Samenqualität zweier Kultivare des Winterrapses und auf direkte Ozoneffekte. Inflorescenzen von Pflanzen mit reifen Blüten wurden jeweils separat von vegetativen Teilen für 6 h einer Ozonkonzentration von 200 µg m^{-3} ausgesetzt. Um physikalischen oder chemischen Schutz der Pollen durch die Antheren auszuschließen, wurden zusätzlich isolierte trockene Pollen einer gleichen Ozonbelastung *in vitro* ausgesetzt. Die Ozonexposition hatte in beiden Fällen keinen Einfluß auf Pollenkeimung oder Pollenschlauchwachstum, Anzeichen einer Unempfindlichkeit der Rapspollen gegenüber Ozonexposition (Bosac et al., 1993). Zwei bis fünf Tage nach Ozonexposition kommt es zu verstärkter Sterilität der Fruchtknoten und zu Knospenfall (Bosac et al., 1994). Samenertrag und dessen Qualität zeigen starke Unterschiede zwischen den Kultivaren (Bosac et al., 1998): Während eines der Kultivare nach Ozonexposition Ertragsverluste zeigt (reduzierte Samenzahl pro Pflanze, vermindertes Trockengewicht der Samen pro Schote und Pflanze, reduziertes 1000-Samen-Gewicht), bleibt die Exposition bei dem anderen ohne Wirkung auf den Ertrag. Das sensitive Kultivar zeigt ebenfalls eine Reduktion im Öl-, Protein- und Kohlenhydratgehalt. Die unterschiedliche Ozonsensitivität der Kultivare wird von Bosac et al. (1998) mit der Effektivität von kompensatorischen Mechanismen begründet.

Jüngste labor- und feldgestützte Studien von Ollerenshaw et al. (1999) liefern Anhaltspunkte, daß moderat erhöhte Ozonkonzentrationen signifikante Effekte auf Wachstum, Trockenmasseverteilung und Ertrag des Winterrapses haben können, ohne daß typische sichtbare Symptome einer Ozonschädigung auftreten. Unterstützt wird somit die Ansicht von Davison und Barnes (1998), daß bei der Beurteilung der Auswirkung des Schadstoffs auf die Vegetation sichtbare Schadsymptome nur begrenzt verwertbar seien, während Hucl und Beversdorf (1993) den Ertrag von Raps durch Ozon solange als unbeeinflußt bezeichnen, wie die Pflanzen keine sichtbaren Blattschäden zeigen.

Die sämtlich zum Zeitpunkt der Samenreife geernteten Pflanzen der drei Varianten in den hier mitgeteilten Untersuchungen lassen weder im Ölgehalt noch im Anteil der analysierten Fettsäuren, auch nicht der mehrfach ungesättigten Linol- und Linolensäure, Unterschiede erkennen, die auf die 14-tägige Ozonexposition zurückgeführt werden könnten. Dies gilt auch für die Pflanzen, die während der Blüte exponiert wurden.
Signifikant ist der Samenertrag durch Ozonexposition während des Jungpflanzenstadiums verringert worden (Tab. 34). Dagegen erkennt man keinen deutlichen, d.h. statistisch gesicherten Unterschied für die Erträge der im Vorblütestadium und in der Blühphase exponierten Pflanzen.
Die Ozonbelastung bewirkt in den sich entwickelnden Blättern der Jungpflanzen eine nachhaltige Schädigung des Assimilationsapparates, was sich schließlich in der Ertragseinbuße manifestiert. Dieses Ergebnis zeigt die Bedeutung der sog. indirekten Effekte, verursacht durch die „vegetative Komponente“ der Ozonwirkung, auf den Ertrag (vgl. Bosac et al., 1998). Gerade die Jungpflanzen zeigten ein verfrühtes Abwerfen der Blätter als Folge der Ozonexposition (vgl. Bastrup-Birk und Mortensen, 1997).
Die Messung von Fv/Fm ergab bei allen untersuchten Entwicklungsstadien ähnliche Mechanismen der Ozonwirkung. Ozonbedingte Schädigungen des Photosystems II unter „akuter“ Belastung (220/40 µg m^{-3}) zeigten sich schon wenige Tage nach Beginn der Ozonexposition (Tab. 31). Die Ursache der Reduktion von Fv/Fm lag in der Verminderung der maximalen Fluoreszenz Fm. Eine deutliche Erhöhung der Grundfluoreszenz Fo, möglicherweise hervorgerufen durch eine verminderte Effizients des Energietransfers von den Chlorophyll a-Antennenpigmenten zum Reaktionszentrum und/oder durch Inaktivierung der PS II-Reaktionszentren, war erst am Ende der Exposition zu beobachten. Sieben Tage nach Ende der Exposition erhöhte sich der Wert für Fv/Fm bei den „akut“ belasteten Pflanzen aller untersuchten Entwicklungssstadien. Die Fo-Werte stimmten weitgehend mit denen der

Kontrollpflanzen überein, während die Fm-Werte keine Zeichen von Erholung anzeigten. Dies könnte als Hinweis auf eine mögliche Reparatur der PS-II-Zentren auf der Akzeptorseite gedeutet werden. Die im Jungpflanzen- und Vorblütestadium exponierten Pflanzen zeigten unter „chronischer“ Belastung eine Erholung bei Fm an, während die Grundfluoreszenz Fo erhöht blieb. Dies könnte als ein Hinweis auf unterschiedliche Mechanismen der Schädigung der Photosysteme unter „chronischer“ bzw. „akuter“ Ozonbelastung gewertet werden. Larsson et al. (1998) nutzen Fv/Fm als Indikator von Störungen des photochemischen Elektronentransports beim Raps durch erhöhte UV-Strahlung bzw. Cadmiumkonzentrationen, wobei die dort gemessenen Reduktionen von Fv/Fm deutlich stärker waren und im wesentlichen auf die Verminderung der maximalen Fluoreszenz zurückzuführen waren.

Wie im vorstehenden beschrieben, zeigten die in den drei Entwicklungsstadien exponierten Pflanzen verschieden starke Reaktionen auf die Ozonbelastung. Ausgehend von konstanten Bedingungen während der Vorkultur und von der Unabhängigkeit der Ozonempfindlichkeit von der Physiologie der Pflanze in unterschiedlichen Stadien müßten die beobachteten Effekte von den mikroklimatischen Bedingungen in den Expositionskammern abhängen. Unter den Klimafaktoren spielen Strahlung, Temperatur und Luftfeuchtigkeit die bedeutendste Rolle hinsichtlich der Reaktion auf eine gegebene Belastung mit Ozon (Guderian et al., 1985). Alle genannten Klimafaktoren haben einen Einfluß auf das Öffnungsverhalten der Stomata und damit auch auf die Schadstoffaufnahme. Bei der aktuellen Diskussion zur Ableitung von Grenzwerten im Immissionsschutz spielen diese Faktoren ebenfalls eine große Rolle (**4.8**). Um einen Zusammenhang zwischen den Untersuchungsparametern zur Ozonwirkung auf die Pflanze und den mikroklimatischen Bedingungen während der Ozonexposition zu ermitteln, wurden einfache Korrelationsanalysen durchgeführt. Dazu wurden zunächst die Mittelwerte des Ertrags an Rapssamen, des Chlorophyllgehalts der Blätter und der Werte für Fv/Fm in Prozent der Kontrolldaten dargestellt (Tab. 38). Tabelle 39 zeigt die daraus berechneten Korrelationskoeffizienten und das Bestimmtheitsmaß der Ergebnisse der Untersuchungsparameter der Pflanzen unter „chronischem“ bzw. „akutem“ Ozonstreß der unterschiedlichen Entwicklungsstadien mit den mikroklimatischen Bedingungen.

Tabelle 38: Mittelwerte des Rapssamen-Ertrags, der SPAD- und Fv/Fm-Werte, die zum Ende der Expositionszeit ermittelt wurden (in % der Kontrolle).

Entwicklungs-	**Samenertrag**		**SPAD**		**Fv/Fm**	
stadium	130/40 µg m^{-3}	220/40 µg m^{-3}	130/40 µg m^{-3}	220/40 µg m^{-3}	130/40 µg m^{-3}	220/40 µg m^{-3}
Jungpflanzen	79.3***	86.9*	76.3***	75.6***	95.1***	94.0***
Pflanzen im Vorblütestadium	96.7	103.2	94.1	71.8***	97.7*	95.8***
Blühende Pflanzen	95.8	90.1	79.7***	74.5***	98.6*	94.0***

*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$, ***: $p \leq 0.001$

Tabelle 39: Korrelationskoeffizient (r) und Bestimmtheitsmaß (B) der Mittelwerte der Pflanzen unter „chronischem“ (130/40 µg m^{-3}) bzw. „akutem“ Ozonstreß (220/40 µg m^{-3}) aus Tab. 32 und den mikroklimatischen Bedingungen Temperatur (T), Luftfeuchtigkeit (LF) und Strahlung (ST) während der zweiwöchigen Exposition (12 h - Mittelwerte aus Tab. 1).

Korrelation zwischen	**Samenertrag**		**SPAD**		**Fv/Fm**	
	r	**B**	**r**	**B**	**r**	**B**
130/40 - T	-0.797	63.5	-0.985	97.1	-0.586	34.4
220/40 - T	-0.986	97.3	0.998	99.5	-0.938	88.1
130/40 - LF	0.709	50.3	0.999	99.9	0.473	22.3
220/40 - LF	0.999	99.9	-0.998	99.6	0.976	95.3
130/40 - ST	-0.658	43.3	-0.999	99.9	-0.410	16.8
220/40 - ST	-0.999	99.9	0.991	98.1	-0.989	97.8

Bei den Pflanzen unter „akutem“ Ozonstreß zeigen sich starke Korrelationen zwischen den Wirkungen auf Ertrag, Photosynthese und Chlorophyllgehalt mit den mikroklimatischen Faktoren während der Exposition (Tab. 39). Da zwischen den Klimafaktoren Temperatur, Luftfeuchtigkeit und Strahlung ebenfalls enge Zusammenhänge bestehen, können möglicherweise vorhandene Überlagerungen zwischen den einzelnen Einflußfaktoren hinsichtlich ihrer Wirkung nicht aufgedeckt werden. Hohe Temperaturen (bei gleichzeitig hoher Sonneneinstrahlung und niedriger rel. Luftfeuchtigkeit) während der Exposition könnten demnach die Ozonwirkung verstärken. Guderian et al. (1985) beobachteten bei verschiedenen Pflanzenarten tatsächlich mit steigenden Temperaturen eine Zunahme ozoninduzierter Blattschäden (bis ca. 30 °C). Da eine ausreichende Wasserversorgung der Pflanzen auch bei höheren Temperaturen gegeben war, kann Trockenstreß – und damit eine geringere Empfindlichkeit gegenüber Ozon – ausgeschlossen werden (Tingey und Hogsett, 1985). Eine erhöhte Transpirationsrate, die hier nicht gemessen wurde, könnte zu einer gesteigerten Aufnahme des Ozons führen und damit die „effektive“ Dosis erhöhen. Die Ergebnisse der Messungen der Fluoreszenz und des Gesamtchlorophyllgehalts korrelieren nicht deutlich mit den Klimafaktoren und sind z.T. sogar widersprüchlich. An dieser Stelle sei noch einmal betont, daß es sich hier nur um einen ersten vorsichtigen Ansatz handelt, die mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition in die Diskussion der Ozonwirkung einzubeziehen. Allerdings ist beachtenswert, daß nur die Wirkung der Spitzenbelastung von den mikroklimatischen Bedingungen während der Exposition beeinflußt wird, während unter Dauerbelastung kein Einfluß der Klimafaktoren auf die Ozonwirkung erkennbar ist.

4.7 Sind Fluoreszenz- und SPAD-Messungen zur sicheren Detektion der Ozonwirkung auf Pflanzen geeignet?

Die Analysen der mit diesen relativ einfachen, nichtdestruktiven und nichtinvasiven Methoden erhaltenen Ergebnisse können für den Pflanzenökologen wertvolle Hinweise auf Schädigungen der Pflanze durch Umwelt- und Streßfaktoren liefern. Um eine möglichst frühe Indikation für eine Schadwirkung zu erhalten, ist es sinnvoll, den Photosyntheseapparat, als einen der empfindlichsten Angriffspunkte für Schadstoffe - ebenfalls deutlich für Ozon - im pflanzlichen Organismus, in den Mittelpunkt der Untersuchungen zu stellen (Darrall, 1989; Schreiber und Bilger, 1987).
Die Messung der Chlorophyll a- Fluoreszenz dient dabei als Indikator der aktuellen Nutzung der absorbierten Lichtenergie (aktuelle Quantenausbeute), des Aktivitätszustands des PS II und dessen Schädigung durch eine Vielzahl von Streßsituationen, wie Untertemperatur, Frost, Hitze oder Trockenheit (Bolhar-Nordenkampf et al., 1989). Zahlreiche Arbeiten zur Wirkung von Streßfaktoren auf verschiedene Pflanzenarten sind erschienen, die sich dieser Technik bedienen. Änderungen der Chlorophyllfluoreszenz infolge erhöhter UV-B Strahlung und/oder Schwermetallbelastung (Larsson et al., 1998), durch Aphidenbefall (Burd und Elliott, 1996), nach Pilzinfektion (Scholes und Rolfe, 1996) oder durch Herbizidanwendung (Brack und Frank, 1998) sind neben weiteren zahlreichen Arbeiten zur Ozonwirkung erwähnenswert: Für verschiedene Baumarten wurde z.B. eine durch Ozon verursachte Photoinhibition nachgewiesen (Farage, 1996; Nali et al., 1998; Reichenauer et al., 1997).

Die Mehrzahl der Studien konzentriert sich auf den Fv/Fm-Wert und berücksichtigt die Änderungen der Grundfluoreszenz Fo und der maximalen Fluoreszenz Fm. In relativ kurzer Zeit können so eine große Anzahl von Einzelmessungen aufgenommen, sowie die beobachteten Veränderungen statistisch abgesichert werden. Diese Vorgehensweise wurde auch in dieser Arbeit berücksichtigt. Um jedoch weitere Aussagen über den Zustand des PS II zu erhalten und zur Absicherung der durch Fv/Fm gewonnenen Ergebnisse ist aber die Aufnahme von Lichtkurven einschließlich der photochemischen und nicht-photochemischen Fluoreszenz empfehlenswert. Aufgrund des relativ großen Zeitaufwands sind diese Parameter für eine routinemäßige Aufnahme allerdings weniger geeignet.

Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen aus den Fluoreszenz- und SPAD-Messungen einerseits und zum Ertrag wurden sowohl beim Sommer- als auch beim Winterweizen – und mit Einschränkungen auch beim Raps - deutlich. Für Sommerweizen wurde die durch Fluoreszenzmessung beobachtete starke Inhibition der Photosynthese auch in der anschließenden Analyse der Assimilate des Fahnenblattes bestätigt. Die Analyse des Kohlenhydratgehalts der Blätter ist im Vergleich zur Fluoreszenzmessung jedoch zeitaufwendig; die geringere Zahl der Proben erschwert eine statistische Absicherung. Zudem muß noch eine genügende Probenzahl zur späteren Ertragsbestimmung verfügbar bleiben.

Sowohl die Fluoreszenz- als auch die SPAD-Messungen haben sich als frühe Indikatoren der Ozonschädigung erwiesen, wobei die Fluoreszenzmessung zweifellos hinsichtlich der physiologischen Prozesse im Photosyntheseapparat unbestritten aussagekräftiger ist.

Die schon erwähnten Vorteile der Bestimmung des Gesamtchlorophyllgehalts durch SPAD-Messung sind die hohe Speicherkapazität, die Geschwindigkeit der Messung, sowie das weder Blatt noch Gesamtpflanze verletzende Verfahren. Unterscheiden kann man zwischen Chlorophyll a- und b-Gehalt aber nicht (Reichenauer et al., 1997).

4.8 Interpretationen zur Beurteilung von Richtwertableitungen zum Schutz der Vegetation

Ziel des Immissionsschutzes ist es, „nachteilige Wirkungen von Luftverunreinigungen auf den Menschen und seine Umwelt, d.h. Tier, Pflanze, Material, Boden, Gewässer und Atmosphäre, auch in ihrem funktionellen Bezug zueinander, wie er z.B. in Ökosystemen vorliegt, zu verhindern oder zumindest auf ein im einzelnen festzustellendes Maß objektbezogen zu begrenzen“ (Norm VDI 2310 Bl.1, 1988). Für die Vegetation liegt die vom VDI bestimmte maximal tolerierbare Immissionskonzentration (MIK) für Ozon bei 70 µg m^{-3} (8-h-Mittelwert). Diese Richt- bzw. Orientierungswerte zum Schutz der Vegetation gründen also auf gemittelten Konzentrationen (z.B. 1-h- oder 24-h-Mittelwert, vgl. auch BImSchV, 1994). Als weitere Berechnungsgrößen in der Ökotoxikologie von gasförmigen Luftverunreinigungen werden gewichtete Konzentrationen (W126: Lefohn und Runeckles, 1987) und Konzentrationenssummenwerte oberhalb eines Schwellenwertes herangezogen wie SUM06 oder AOT40, 60 usw. (Lefohn et al., 1988; Fuhrer, 1995; Hogsett et al., 1995; Kärenlämpi und Skärby, 1996; Fuhrer et al., 1997).

Der in Europa bevorzugte critical level (CL) ist der AOT40-Expositionsindex (**a**ccumulated exposure **o**ver a **t**hreshold of **40** ppb) nach der Definition der UN-ECE als Summe der Differenzen zwischen stündlichen Ozonkonzentrationen und 40 ppb für alle Tageslichtstunden (Globalstrahlung ≥ 50 W m^{-2}) zu berechnen, in denen die Ozonkonzentration 40 ppb übersteigt (Fuhrer und Achermann, 1994; Kärenlämpi und Skärby, 1996). Analysen Europäischer Daten für Sommerweizen aus sog. OTC-Experimenten zeigen, daß kumulative Beurteilungswerte besser für Regressionsanalysen geeignet sind als Mittelwerte der Konzentrationen (Finnan et al., 1996a; Fuhrer et al., 1997). Die Anwendung der abgeleiteten Werte in der Praxis führte zu einer starken Überschätzung möglicher Ozonschäden der Vegetation.

Unsere Resultate zeigen an, daß in Kammerexperimenten unter gleichen Dosisbedingungen die Photosynthese, der Assimilattransport sowie als Konsequenz daraus das Tausend-Korn-Gewicht im Vergleich zu konstanten Konzentrationen besonders von hohen Spitzenbelastungen (220 µg O_3 m^{-3}/ 4 h/d) beeinflußt werden. Diese Resultate entsprechen Ergebnissen von Zeit/Konzentrationsexperimenten mit Weizen in Open-Top Kammern (Legge et al., 1995; Finnan et al., 1996a, 1996b und 1997a; Pleijel et al., 1998) und Expositionsversuchen unter kontrollierten umweltnahen Bedingungen (Musselman et al., 1994).

Gleich hohe Dosen in kurzer Zeit wirken stärker als bei Verteilung über längere Expositionszeiten. Zumindest innerhalb bestimmter Belastungsbereiche gehorcht die Beziehung zwischen Immission und Wirkung nicht dem Reizmengengesetz, wonach gleiche Dosen gleiche Wirkung verursachen. Spitzenbelastungen (hier 220 µg m^{-3} über 4 h) sollten demnach als Resultat der vorliegenden Arbeit bei der Berechnung von Richtwerten stärker berücksichtigt werden.

Auf der anderen Seite zeigten Ozonflußdichtemessungen über einem Grasland-Ökosystem, daß Ozonkonzentrationen im allgemeinen mit moderaten bis niedrigen atmosphärischen Leitfähigkeiten zusammenfallen. Daraus wurde geschlossen und experimentell belegt, daß Ozonkonzentrationen zwischen 100 und 180 µg m^{-3} wichtiger für Effekte auf Pflanzen sind und infolgedessen ein größeres phytotoxisches Potential besitzen als Konzentrationen über 180 µg m^{-3}, bei denen die Aufnahme limitiert ist (Grünhage und Jäger, 1994; Krupa et al., 1994). Ozonkonzentrationen von > 180 µg m^{-3} fallen in der Regel mit geringen horizontalen Windgeschwindigkeiten und damit relativ hohen Wasserdampfsättigungsdefiziten in der Atmosphäre zusammen (Grünhage et al., 1997). Letztere verursachen in der Regel Schließen der Stomata infolge des angespannten Wasserhaushaltes. Daraus schlossen Grünhage et al. (1997), daß das Konzept der kumulativen Expositionsindices bei der Beschreibung von Dosis-Wirkungsbeziehungen keine realistische Dosis-Wirkungsbeziehung widerspiegelt: jede Reaktion der Pflanze auf den absorbierten Schadstoff muß in Abhängigkeit der biotischen und abiotischen Parameter gesehen werden.

Die AOT40-Werte setzen neben der optimalen Wasserversorgung voraus, daß die Ozonkonzentrationen an der Oberfläche des Bestandes gemessen werden. In der Praxis können die Ozonkonzentrationen der oberen Grenzfläche der (quasi-) laminaren Schicht nicht gemessen werden, sondern über mikrometeorologische Modelle geschätzt werden. Im Freiland sind diese von den atmosphärischen Transporteigenschaften sowie von der stomatären Öffnungsweite abhängig (Cape et al., 1994). Grünhage et al. (1999) berücksichtigt in einem aktuellen Ansatz bei der Übertragung von Expositions-Wirkungsbeziehungen aus Kammerexperimenten ins Freiland beide Faktorenkomplexe (wirksamer oder „effective" AOT40). Den aktuellen amerikanischen Ansatz zur Luftreinhaltung, der einen 8-h-Mittelwert vorsieht, stellen Musselman und Massman (1999) vor: In Zukunft sollte die Notwendigkeit der Forschung nach weiteren Nachweistechniken zur Ozonaufnahme in die Pflanze im Vordergrund stehen und nach Möglichkeiten der Quantifizierung der Abwehrreaktion der Pflanze gesucht werden.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von Ozon in naturnaher Dosis und Konzentration auf Photosynthese, Assimilatbildung und Ertrag beim Weizen und beim Raps untersucht. Durch den Einsatz von Gewächshauskammern in der Versuchsanlage Kettwig des Landesumweltamtes NRW, Essen war die reproduzierbare Applikation von Ozon definierter Dosis und Konzentration in den Expositionskammern unter Tageslicht sowie dank des Luftwechsels zur Vermeidung wirkungsrelevanter Temperaturerhöhungen garantiert. Die Versuchspflanzen, Sommerweizen, drei Kultivare des Winterweizens und der Raps wurden vor und nach der Ozonexposition unter Aktivkohle-gefilterter Außenluft im Gewächshaus kultiviert. Die Pflanzen wurden in definierten Stadien: 1) Jungpflanzen, 2) in der vegetativen Entwicklung und 3) zu Beginn der Anthese für die Dauer von zwei Wochen einer bestimmten Dosis Ozon exponiert, und zwar appliziert als achtstündige Dauerbelastung oder vierstündige Spitzenbelastung. Nicht-invasiv wurden während und nach der Exposition die Chlorophyllfluoreszenz und die (photosynthetische) Elektronentransportrate gemessen, nach Pflanzenentnahme wurden zu bestimmten Zeiten Pigment-, Zucker-, Fructan- und Stärkegehalt von Blättern und Stengelsegmenten analysiert und zum Reifezeitpunkt der Ernteertrag ermittelt.

Als besonders ozonsensitive Entwicklungsphase stellte sich in den ersten Serien mit Sommerweizen die Anthese heraus, was frühere Vermutungen in der Literatur bestätigte. Starke Änderungen in der Chlorophyllfluoreszenz, gemessen als Fv/Fm, dem eine mögliche Photoinhibition anzeigenden Parameter ergaben sich nur bei den Pflanzen, die in der Vorkultur einem mehrtägigen Hitzestreß ausgesetzt waren. Dem entspricht auch das Ergebnis einer dann reduzierten Elektronentransportrate sowie eines verminderten Pigmentgehalts der Fahnenblätter. Unter Erhöhung der Ozondosis um ca. das 1.8-fache (von 70 auf 130 µg O_3 m^{-3} /24 h) reagierten nach vorausgegangenem Hitzestreß auch Jungpflanzen. In den Fahnenblättern der blühenden Pflanzen stieg der Assimilatgehalt (von Saccharose und Stärke) an, Zeichen eines Anstaus infolge beeinträchtigter Allokation.

Über eine dreiwöchige Expositionsperiode wurden neben dem Sommerweizen zwei Kultivare des Winterweizens einer Spitzenbelastung (220 µg O_3 m^{-3}) oder einer Dauerbelastung (130 µg O_3 m^{-3}) ausgesetzt. Beide Winterweizensorten reagierten stärker als der Sommerweizen, sowohl im Fluoreszenzparameter Fv/Fm, der erhöhten Photoinhibition anzeigte als auch im

Saccharose und Stärkegehalt, der in den Fahnenblättern dieser nicht unter Hitzestreß vorkultivierten Pflanzen deutlich abgesunken war. Ein gegenüber der Kontrolle deutliches Absinken des Kohlenhydratgehalts war auch in den oberen Internodien, die als intermediäre Speicher für die spätere Kornfüllung anzusehen sind, zu verzeichnen. Sieben Tage nach Ende der Exposition zeigte die Messung der Photoinhibition nur eine schwache Erholung, zumal auch im Fahnenblatt der Kontrollpflanzen vier Wochen nach Blühbeginn die normale Seneszenz fortschreitet.

In einer weiteren Versuchsserie ergab sich auch für Sommerweizen (nach Vorkultur unter moderater Temperatur) ein vergleichbar deutliches Ergebnis der Ozonexposition: 1) erhöhte Photoinhibition, 2) eine signifikante Dämpfung der Photonenausbeute, 3) ein während der Exposition vor allem unter Spitzenbelastung starker Abfall des Kohlenhydratgehalts der Fahnenblätter, dem 4) sodann zeitlich verzögert auch das Absinken des Stärke-, Saccharose- und Fructangehalts in den Internodien entspricht, sowie endlich 5) ein hoch signifikanter Verlust im Ernteertrag (Tausend-Korn-Gewicht) von 20 % an den unter Spitzenbelastung und von 10 % an den unter Dauerbelastung exponierten Pflanzen.

Dieser ozonverursachte Ertragsverlust des Sommerweizens machte eine erneute Untersuchung des Winterweizens erforderlich. Während der zweiwöchigen Ozonexposition vorgenommene Messungen des Chlorophyllgehalts und der Photofluoreszenz belegen auch für Winterweizen den fortschreitenden Pigmentverlust, stärker ausgeprägt wiederum unter Spitzen- als unter Dauerbelastung. Übereinstimmend hiermit verstärkt sich besonders unter Spitzenbelastung die Photoinhibition und ebenso das Sinken der Photonenwirksamkeit, was offenbar mit der zunehmenden nicht-photochemischen Löschung der Fluoreszenz in den Fahnenblättern der Pflanzen unter Ozon-Spitzenbelastung einhergeht. Die Pflanzen unter Dauerbelastung reagieren hierzu bei weitem nicht so stark. Eine vier Tage nach Ende der Ozonexposition durchgeführte Messung ergibt zwar für die Photonenwirksamkeit eine partielle Erholung, jedoch bleibt die nicht-photochemische Löschung der Fluoreszenz gegenüber der Kontrolle noch deutlich erhöht. Für das Tausend-Korn-Gewicht wird bereits nach einer zehntägigen Ozonperiode eine Ertragsminderung von 10 % (nach Spitzenbelastung) ermittelt, nach 14-tägiger Exposition eine Einbuße von 15 %.

Die mögliche Interaktion von Ozonbelastung und Mehltauinfektion beim Weizen, naheliegend auf Grund von bekannten Daten zur ozoninduzierten Sensibilisierung von Weizenblättern gegen Mehltau, wurde ebenfalls in diese Untersuchung mit einbezogen, und zwar sowohl 1. in der Reihenfolge Mehltauinfektion, danach Ozonexposition, als auch 2. zunächst Ozon, danach Mehltauinfektion. Die erste Sequenz (1.), Vorbelastung durch massive Mehltauinfektion, verursacht an Jungpflanzen starke Photoinhibition bereits nach sieben Tagen Ozonexposition. Offenbar wird die Sensibilität des Weizens gegen Ozon durch den biotischen Stressor in der Vorkultur ebenso erhöht wie durch (abiotischen) Hitzestreß. Die zweite Sequenz (2.), Vorbelastung durch Ozon führt bei den schossenden Weizenpflanzen an voll differenzierten Blättern zu einer deutlich rascheren Infektion, und zwar intensiv bei den Pflanzen unter Dauerbelastung als unter Spitzenbelastung. Bei einer mehltauresistenten Sorte des Winterweizens war der Infektionsverlauf erwartungsgemäß äußerst verzögert, und junge Blätter reagierten ebenfalls langsamer auf den biotrophen Pilz.

Als weitere Kulturpflanze wurde neben Weizen der Raps untersucht. Nach 14 Tagen Ozonexposition sinkt in den Blättern der drei untersuchten Pflanzenstadien, Jungpflanze, Vorblüte- und Blütestadium der Chlorophyllgehalt ab, deutlich stärker nach Spitzenbelastung. Die erhaltenen Werte (Fv/Fm) für die Photoinhibition, während der Exposition und bis zu acht Tage danach gemessen lassen dementsprechend eine zunehmende Inhibition, nach Ende der Ozoneinwirkung eine partielle Erholung erkennen. Die aufgenommene Photonenwirksamkeit ist besonders unter Spitzenbelastung erheblich gehemmt, eine Erholung ist auch in diesem Fall nach acht Tagen nur graduell eingetreten. Während Ölgehalt und Zusammensetzung der Fettsäuren bei der Ernte der Samen keine Unterschiede zwischen Kontrolle und Ozonvariante erkennen lassen, ist der Samenertrag vor allem bei den Pflanzen, die als Jungpflanzen exponiert waren, um 13 bis 20 % reduziert, bei den in der Blüte exponierten Pflanzen nur um 4 bis 10 %.

In der Diskussion werden die Wirkung von Ozon auf Photosynthese und Assimilatgehalt in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium des Weizens behandelt, sodann Änderungen der physiologischen Parameter während und nach der Ozonexposition, wobei – anhand der vorhandenen Literatur – die Interpretation der Daten aus den verschiedenen Parametern der Chlorophyllfluoreszenz besonders betrachtet wird, und ferner die zunächst widersprüchlich erscheinenden Befunde zur Assimilatakkumulation in den Fahnenblättern von in der Vorkultur einem Hitzestreß ausgesetzten Weizenpflanzen einerseits und der ozoninduzierten Abnahme von Saccharose und Stärke in Blättern nach normal temperierter Vorkultur andererseits.

Die Auswirkungen der Ozonexposition unter Dauerbelastung und Spitzenbelastung auf den Ertrag werden ebenso diskutiert wie die Wechselwirkungen zwischen Ozonbelastung und der Infektion durch den biotrophen Weizenmehltau, ferner die in einigen Aspekten deutlich unterschiedliche Reaktion der Rapspflanzen auf Ozon. Für Raps wird eine Korrelationsanalyse durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen den Größen Samenertrag, Pigment- und Fluoreszenzmessung einerseits und den mikroklimatischen Bedingungen in den Expositionskammern zu ermitteln.

Interpretationen zur Beurteilung von Richtwertableitungen zum Schutz der Kulturpflanzen werden erörtert und die – hier erwiesene – Eignung der eingesetzten nicht-invasiven Methoden zur zuverlässigen Detektion von Ozoneffekten für die landwirtschaftliche und ökologische Forschung betont.

6. Literaturverzeichnis

22. BImSchV (1994) Zweiundzwanzigste Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (Verordnung zur Änderung der Verordnung über Immissionswerte – 22. BImSchV) vom 27. Mai 1994. Bundesgesetzblatt **I**, 1095.

Adaros, G., Weigel, H. J. & Jäger, H. J. (1991) Single and interactive Effects of low Levels of O_3, SO_2 and NO_2 on the Growth and Yield of Spring Rape. Environmental Pollution **72:** 269-286.

Allen, D. J., Nogues, S. & Baker, N. R. (1998) Ozone Depletion and increased UV-B Radiation: is there a real Threat to Photosynthesis? Journal of Experimental Botany **49(328):** 1775-1788.

Amundson, R. G., Kohut, R. J., Schoettle, A. W., Raba, R. W. & Reich, P. B. (1987) Correlative Reductions in whole Plant Photosynthesis and Yield of Winter Wheat caused by Ozone. Phytopathology **77:** 75-79.

Balaguer, L., Barnes, J. D., Panicucci, A. & Borland, A. M. (1995) Production and Utilisation of Assimilates in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Leaves exposed to elevated O_3 and/or CO_2. New Phytologist **129:** 557-568.

Barnes, J. D., Ollerenshaw, J. H. & Whitefield, C. P. (1995) Effects of elevated CO_2 and/or O_3 on Growth, Development and Physiology of Wheat (*Triticum aestivum* L.). Global Change Biology **1:** 129-142.

Bastrup-Birk, A. & Mortensen, L. (1997) Effect of Ozone on Vegetation. In: **Fenger, J.** (Ed.) Photochemical Air Pollution. Chapter 5: 103-133. NERI Technical Report No. 199. ISBN 87-7772-334-1.

Bell, J. N. B., McNeill, S., Houlden, G., Brown, V. C. & Mansfield, P. J. (1993) Atmospheric Change: Effect on Plant Pests and Diseases. Parasitology **106:** 11-24.

Bender, J., Weigel, H. J., Wegner, U. & Jäger, H. J. (1994) Response of cellular Antioxidants to Ozone in Wheat Flag Leaves at different Stages of Plant Development. Environmental Pollution **84:** 15-21.

Bender, J. & Weigel, H.-J. (1995) Zur Gefährdung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen durch troposphärische Ozonkonzentrationen. Ber Ldw **73:** 136-156.

Bergmann, W. (1988) Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. Gustav Fischer Verlag, Jena, ISBN 3-334-00248-9.

Björkman, O. & Demmig, B. (1987) Photon Yield of O_2 Evolution and Chlorophyll Fluorescence Characteristics at 77 K among Vascular Plants of diverse Origins. Planta **170:** 489-504.

Bolhar-Nordenkampf, H. R., Long, S. P., Baker, N. R., Öquist, G., Schreiber, U. & Lechner, E. G. (1989) Chlorophyll Fluorescence as a Probe of the Photosynthetic

Competence of Leaves in the Field: A Review of current Instrumentation. Funct Ecol **3:** 497-514.

Bosac, C., Black, V. J., Black, C. R., Roberts, J. A. & Lockwood, F. M. (1993) Impact of O_3 and SO_2 on reproductive Development in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). I. Pollen Germination and Pollen Tube Growth. New Phytologist **124:** 439-446.

Bosac, C., Roberts, J. A., Black, V. J. & Black, C. R. (1994) Impact of O_3 and SO_2 on reproductive Development in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). II. Reproductive Site Losses. New Phytologist **126:** 71-79.

Bosac, C., Black, V. J., Roberts, J. A. & Black, C. R. (1998) Impact of Ozone on Seed Yield and Quality and Seedling Vigour in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). Journal of Plant Physiology **153(1-2):** 127-134.

Brack, W. & Frank, H. (1998) Chlorophyll a Fluorescence: a Tool for the Investigation of toxic Effects in the photosynthetic Apparatus. Ecotoxicology and Environmental Safety **40:** 34-41.

Bühl, A. & Zöfel, P. (1994) SPSS für Windows, Version 6. Addison-Wesley. ISBN 3-89319-689-6.

Bundessortenamt (1996) Beschreibende Sortenliste 1996. Landbuch Verlag. ISSN 0948-4167.

Burd, J. D. & Elliott, N. C. (1996) Changes in Chlorophyll a Fluorescence Induction Kinetics in Cereals infested with Russian Wheat Aphid. J o Economic Entomology **89:** 1332-1337.

Cape, J. N., Smith, R. I. & Fowler, D. (1994) The Influence of Ozone Chemistry and Meteorology on Plant Exposure to Photooxidants. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, **102B:** 11-34.

Chameides, W. L., Kasibhatla, P. S., Yienger, J. & Levy II, H. (1994) Growth of continental-scale Metro-Agro-Plexes, regional Ozone Pollution, and World Food Production. Science **264:** 74-77.

Cooley, D. R. & Manning, W. J. (1987) The Impact of Ozone on Assimilate Partitioning in Plants: A Review. Environmental Pollution **47:** 95-113.

Darrall, N. M. (1989) Review: The Effect of Air Pollutants on physiological Processes in Plants. Plant, Cell and Environment **12:** 1-30.

Davison, A. W. & Barnes, J. D. (1998) Effects of Ozone on Wild Plants. New Phytologist **139(1):** 135-151.

Dietz, K.-J. (1997) Functions and Responses of the Leaf Apoplast under Stress. Prog Bot **58:** 221-254.

Eckey-Kaltenbach, H., Kiefer, E., Grosskopf, E., Ernst, D. & Sandermann, H. (1997) Differential transcript Induction of Parsley Pathogenesis-related Proteins and of a small Heat Shock Protein by Ozone and Heat Shock. Plant Molecular Biology **33:** 343-350.

Einig, W., Lauxmann, U., Hauch, B., Hampp, R., Landolt, W., Maurer, S. & Matyssek, R. (1997) Ozone-induced Accumulation of Carbohydrates Changes Enzyme Activities of Carbohydrate Metabolism in Birch Leaves. New Phytologist **137(4):** 673-680.

EK (1992): Klimaänderung gefährdet globale Entwicklung. Zukunft sichern - Jetzt handeln; Erster Bericht der Enquete-Kommission „Schutz der Erdatmosphäre", Economica-Verlag, Bonn.

EK (1994): Schutz der grünen Erde; Dritter Bericht der Enquete-Kommission „Schutz der Erdatmosphäre", Economica-Verlag, Bonn.

Elstner, E. F. & Hippeli, S. (1995) Schadstoffe aus der Luft. In: **Hock, B. & Elstner, E. F.** (Hrsg.) "Schadwirkung auf Pflanzen", Spektrum Akademischer Verlag, ISBN 3-86025-649-1, S. 79-117.

Ernst, D., Schraudner, M., Langebartels, C. & Sandermann, H. (1992) Ozone-induced Changes of mRNA Levels of β-1,3-Glucanase, Chitinase and "Pathogenesis-related" Protein 1b in Tobacco Plants. Plant Molecular Biology **20:** 673-682.

Ernst, D., Bodemann, A., Schmelzer, E., Langebartels, C. & Sandermann, H. (1996) β-1,3-Glucanase mRNA is locally, but not systematically induced in *Nicotiana tabacum* L cv Bel W3 after Ozone Fumigation. Journal of Plant Physiology **148(1-2):** 215-221.

Fangmeier, A., Brockerhoff, U., Grüters, U. & Jäger, H.-J. (1994) Growth and Yield Responses of Spring Wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Turbo) grown in Open-Top Chambers to Ozone and Water Stress. Environmental Pollution **83:** 317-325.

Fangmeier, A., Stein, W. & Jäger, H.-J. (1992) Advantages of Open-Top Chamber Plant Exposure System to assess the Impact of atmospheric Trace Gases on Vegetation. Angewandte Botanik **66:** 97-105.

FAOSTAT (1998) http://apps.fao.org.

Farage, P. K. (1996) The Effect of Ozone Fumigation over one Season on photosynthetic Processes of *Quercus robur* Seedlings. New Phytologist **134:** 279-285.

Finnan, J. M., Jones, M. B. & Burke, J. I. (1996a) A Time-Concentration Study on the Effects of Ozone on Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) 1. Effect on Yield. Agriculture, Ecosystems and Environment **57:** 159-167.

Finnan, J. M., Jones, M. B. & Burke, J. I. (1996b) A Time-Concentration Study on the Effects of Ozone on Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) 2. A Comparison of Indices. Agriculture, Ecosystems and Environment **57:** 169-177.

Finnan, J. M., Burke, J. I. & Jones, M. B. (1997a) An Evaluation of Indices that describe the Impact of Ozone on the Yield of Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). Atmospheric Environment **31(17):** 2685-2693.

Finnan, J. M., Burke, J. I. & Jones, M. B. (1997b) A Note on a non-destructive Method of Chlorophyll Determination in Wheat (*Triticum aestivum* L.). Irish J o Agricultural & Food Research **36(1):** 85-89.

Finnan, J. M., Jones, M. B. & Burke, J. I. (1998) A Time-Concentration Study on the Effects of Ozone on Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). 3: Effects on Leaf Area and Flag Leaf Senescence. Agriculture, Ecosystems & Environment **69(1):** 27-35.

Fuhrer, J. (1995) Critical Level for Ozone to Protect agricultural Crops: Interaction with Water Availability. Water, Air and Soil Pollution **85(3):** 1355-1360.

Fuhrer, J. & Achermann, B. (1994) Critical Levels for Ozone – a UN-ECE Workshop Report. FAC Schriftenreihe (Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, Bern) **16:** 1-328.

Fuhrer, J., Egger, A., Lehnherr, B., Grandjean, A. & Tschannen, W. (1989) Effects of Ozone on the Yield of Spring Wheat grown in Open-Top Field Chambers. Environmental Pollution **60:** 273-289.

Fuhrer, J., Skärby, L. & Ashmore, M. R. (1997) Critical Levels for Ozone Effects on Vegetation in Europe. Environmental Pollution **97(1-2):** 91-106.

Genty, B., Briantais, J.-M. & Baker, N. R. (1989) The Relationship between the Quantum Yield of photosynthetic Electron Transport and Quenching of Chlorophyll Fluorescence. Biochim Biophys Acta **990:** 87-92.

Götz, M. & Boyle, C. (1998) Haustorial Function during Development of Cleistothecia in *Blumeria graminis f. sp. tritici*. Plant Disease **82(5):** 507-511.

Grandjean Grimm, A. & Fuhrer, J. (1992) The Response of Spring Wheat to Ozone at higher Elevations. New Phytologist **121:** 201-210.

Grünhage, L. & Jäger, H.-J. (1994) Atmospheric Ozone Exposure-Potential for Vegetation: how suitable are Critical Levels? In: **Fuhrer, J. & Achermann, B.** (1994) Critical Levels for Ozone – a UN-ECE Workshop Report. FAC Schriftenreihe (Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, Bern) **16:** 222-230.

Grünhage, L., Jäger, H. J., Haenel, H.-D., Hanewald, K. & Krupa, S. (1997) Platin (**Pl**ant-**At**mosphere **In**teraction) II: Co-occurrence of high ambient Ozone Concentrations and Factors limiting Plant absorbed Dose. Environmental Pollution **98(1):** 51-60.

Grünhage, L., Jäger, H.-J., Haenel, H.-D., Löpmeier, F.-J. & Hanewald, K. (1999) The European Critical Levels for Ozone: Improving their Usage. Environmental Pollution **105:** 163-173.

Grüters, U., Fangmeier, A. & Jäger, H.-J. (1995) Modelling stomatal Responses of Spring Wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Turbo) to Ozone and different Levels of Water Supply. Environmental Pollution **87:** 141-149.

Guderian, R., Tingey, D. T. & Rabe, R. (1985) Effects of photochemical Oxidants on Plants. In: **Guderian, R.** (Ed.) Air Pollution by photochemical Oxidants. Ecological Studies 52, Springer-Verlag, Berlin,127-333.

Guidi, L., Nali, C., Ciompi, S., Lorenzini, G. & Soldatini, G. F. (1997) The Use of Chlorophyll Fluorescence and Leaf Gas Exchange as Methods for Studying the different Responses to Ozone of two Bean Cultivars. Journal of Experimental Botany **48:** 173-179.

Hatterscheid, G. & Willenbrink, J. (1991) Mikroplattenleser zur enzymatischen Zuckerbestimmung. BioTec Analytik **4:** 46-48.

Heagle, A. S. (1989) Ozone and Crop Yield. Annual Review Phytopathology **27:** 397-423.

Heath, R. L. (1987) The Biochemistry of Ozone Attack on the Plasma Membrane of Plant Cells. Rec Adv Phytochem **21:** 29-54.

Heath, M. C. & Skalamera, D. (1997) Cellular Interactions between Plants and biotrophic fungal Parasites. Adv in Bot Res incorp Adv in Plant Pathology **24:** 195-225.

Heck, W. W., Taylor, O. C. & Tingey, D. T. (Eds.) (1988) Assessment of Crop Loss from Air Pollutants. Elsevier Applied Science, London, New York.

Heisel, A. (1995) Wenn Pflanzen zuviel Sonne kriegen. *GSF: Mensch und Umwelt* **3/**Juni.

Heun, M., Schäfer-Pregel, R., Klawan, D., Castagna, R., Accerbi, M., Borghi, B. & Salamini, F. (1997) Site of Einkorn Wheat Domestication identified by DNA Fingerprinting. Science **278:** 1312-1314.

Hiscox, J. D. & Israelstam, G. F. (1979) A Method for the Extraction of Chlorophyll from Leaf Tissue without Maceration. Canadian Journal of Botany **57:** 1332-1334.

Hogsett, W. E., Herstrom, A., Laurence, J. A., Weber, J. E., Lee, E. H. & Tingey, D. (1995) An Approach for Characterizing tropospheric Ozone Risk to Forests. In: **Lee, S. D. & Schneider, T.** (Eds.): Proceedings of the 4th U.S./Dutch International Symposium: Comparative Risk Analysis and Priority Setting for Air Pollution Issues. Pittsburgh: Air and Waste Management Association, 119-145.

Hoel, B. O. & Solhaug, K. A. (1998) Effect of Irradiance on Chlorophyll Estimation with the Minolta SPAD-502 Leaf Chlorophyll Meter. Annals of Botany **82(3):** 389-392.

Hucl, P. & Beversdorf, W. D. (1993) Respond of Oilseed Brassica Cultivars to Ozone. Canadian Journal of Plant Science **73:** 1077-1078.

Hyde, P. M. (1977) The Effect of Leaf Age on Infection of Wheat Seedlings by *Erysiphe graminis* and subsequent Colony Development. Phytopath Z **88:** 299-305.

Ireland, C. R., Long, S. P. & Baker, N. R. (1984) The Relationship between Carbon Dioxide Fixation and Chlorophyll a Fluorescence during Induction of Photosynthesis in Maize Leaves at different Temperatures and Carbon Dioxide Concentrations. Planta **160:** 550-558.

ISO 5511 (1992) Oilseeds – Determination of Oil Content – Method using continuous-Wave low-Resolution nuclear magnetic Resonance Spectrometry (rapid Method). http://www.iso.ch.

Jang, J.-C. & Sheen, J. (1994) Sugar Sensing in Higher Plants. *Plant Cell* **6:** 1665-1679.

Kärenlampi, L. & Skärby, L. (1996) Critical Levels for Ozone in Europe: Testing and Finalizing the Concepts. UN-ECE Workshop Report. University of Kuopio, Department of Ecology and Environmental Science.

Kangasjärvi, J., Talvinen, J., Utriainen, M. & Karjalainen, R. (1994) Plant Defence Systems induced by Ozone. Plant, Cell and Environment **17:** 783-794.

Khan, M. R. & Khan, M. W. (1998) Interactive Effects of Ozone and Powdery Mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on Bottle Gourd (*Lagenaria siceraria*). Agriculture, Ecosystems & Environment **70:** 109-118.

Kitajima, M. & Butler, W. L. (1975) Quenching of Chlorophyll Fluorescence and primary Photochemistry in Chloroplasts by Dibromothymoquinone. Biochim Biophys Acta **376:** 105-115.

Knogge, W. (1996) Fungal Infection of Plants. The Plant Cell **8:** 1711-1722.

Köhler, W., Schachtel, G. & Voleske, P. (1996) Biostatistik. Einführung in die Biometrie für Biologen und Agrarwissenschaftler. 2. Aufl. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, ISBN 3-540-55660-5.

Krause, G. H., Somersalo, S., Zumbusch, E., Weyers, B. & Laasch, H. (1990) On the Mechanism of Photoinhibition in Chloroplasts. Relationship between Changes in Fluorescence and Activity of Photosystem II. Journal of Plant Physiology, **136:** 472-479.

Krause, G. H. & Weis, E. (1991) Chlorophyll Fluorescence and Photosynthesis: The Basics. Annual Review Plant Physiology Plant Biology **42:** 313-49.

Krause, G. H. & Winter, K. (1996) Photoinhibition of Photosynthesis in Plants growing in natural tropical Forest Gaps. A Chlorophyll Fluorescence Study. Bot Acta **109:** 456-462.

Krupa, S. V., Nosal, M. & Legge, A. H. (1994) Ambient Ozone and Crop Loss: Establishing a Cause-Effect Relationship. Environmental Pollution **83:** 269-276.

Krupa, S. V., Nosal, M. & Legge, A. H. (1998) A numerical Analysis of the combined Open-Top Chamber Data from the USA and Europe on ambient Ozone and negative Crop Responses. Environmental Pollution **101:** 157-160.

Kühbauch, W. & Thome, V., (1989) Nonstructual Carbohydrates of Wheat Stems as influenced by Sink-Source Manipulations. Journal of Plant Physiology, **134:** 243-250.

Laisk, A., Pfanz, H., Schramm, M. J. & Heber, U. (1988a) Sulfur-dioxide Fluxes into different cellular Compartments of Leaves Photosynthesizing in a polluted Atmosphere. I. Computer Analysis. Planta **173:** 230-240.

Laisk, A., Pfanz, H., Schramm, M. J. & Heber, U. (1988b) Sulfur-dioxide Fluxes into different cellular Compartments of Leaves Photosynthesizing in a polluted Atmosphere. II. Consequences of SO_2 Uptake as revealed by Computer Analysis. Planta **173:** 241-252.

Laisk, A., Kull, O. & Moldau, H. (1989) Ozone concentration in leaf intercellular air spaces is close to zero. Plant Physiology **90:** 1163-1167.

Langebartels, C., Kerner, K., Leonardi, S., Schraudner, M., Trost, M., Heller, W. & Sandermann, H. (1991) Biochemical Plant Responses to Ozone: I. Differential Induction of Polyamine and Ethylene Biosynthesis in Tobacco. Plant Physiology **95:** 882-889.

Larcher, W. (1995) Physiological Plant Ecology. 3rd ed. Springer-Verlag, New York Berlin Heidelberg, ISBN 0-387-58116-2.

Larsson, E. H., Bornman, J. F. & Asp, H. (1998) Influence of UV-B Radiation and Cd^{2+} on Chlorophyll Fluorescence, Growth and Nutrient Content in *Brassica napus.* Journal of Experimental Botany **49(323):** 1031-1039.

Lefohn, A. S., Laurence, J. A. & Kohut, R. J. (1988) A Comparison of Indices that describe the Relationship between Exposure to Ozone and Reduction in the Yield of agricultural Crops. Atmospheric Environment **22:** 1229-1240.

Lefohn, A. S. & Manning, W. J. (1995) Ozone Exposures near Class I Wilderness Areas in New Hampshire and Vermont. Atmospheric Environment **29(5):** 601-606.

Lefohn, A. S. & Runeckles, V. C. (1987) Establishing Standards to protect Vegetation - Ozone Exposure/Dose Considerations. Atmospheric Environment **21:** 561-568.

Legge, A. H., Grünhage, L., Nosal, M., Jäger, H.-J. & Krupa, S. V. (1995) Ambient Ozone and adverse Crop Response: An Evaluation of North American and European Data as they relate to Exposure Indices and critical Levels. Angewandte Botanik **69:** 192-205.

Lehnherr, B., Grandjean, A., Mächler, F. & Fuhrer, J. (1987) The Effect of Ozone in ambient Air on Rubisco Activity decreases Photosynthesis and Grain Yield in Wheat. Journal of Plant Physiology **130:** 189-200.

Lichtenthaler, H. K. (ed.) (1987) Application of Chlorophyll Fluorescence, 366 pp., Kluwer, Dordrecht.

Lu, C. M. & Zhang, J. H. (1998) Changes in Photosystem II Function during Senescence of Wheat Leaves. Physiologia Plantarum **104(2):** 239-247.

Luwe, M., Takahama, U. & Heber, U. (1993) Role of Ascorbate in Detoxifying Ozone in the Apoplast of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) Leaves. Plant Physiology **101:** 969-976.

Luwe, M. & Heber, U. (1995) Ozone Detoxification in the Apoplasm and Symplasm of Spinach, Broad Bean and Beech Leaves at ambient and elevated Concentrations of Ozone in Air. Planta **197:** 448-455.

Maghun, J., Selinger, H., Ziegler-Jöns, A. & Knoppik, D. (1994) Die Wirkung von Photooxidantien auf Sommerweizen (*Triticum aestivum* L. Star). UWSF **6(3):** 123-130.

Manning, W. J. & Keane, K. D. (1988) Effects of Air Pollutants on Interactions between Plants, Insects, and Pathogens. In: **Heck, W. W., Taylor, O. C. & Tingey, D. T.** (Eds.) Assessment of Crop Loss from Air Pollutants: 365-386. Elsevier Applied Science, London, New York.

Manning, W. J. & Tiedemann, A. v. (1995) Climate Change: Potential Effects of increased Atmospheric Carbon Dioxide (CO_2), Ozone (O_3) and Ultraviolet-B (UV-B) Radiation on Plant Diseases. A Review Paper. Environmental Pollution **88:**219-245.

Mansfield, T. A. (1998) Stomata and Plant Water Relations: does Air Pollution create Problems? Environmental Pollution **101:** 1-11.

McLaughlin, S. B. & Taylor, G. E. (1981) Relative Humidity: Important Modifier of Pollutant Uptake by Plants. Science **211:** 167-169.

Meyer, U. (1996) Untersuchungen über mögliche Wirkungen von Ozon auf Assimilation und Wachstum einer Kulturweizensorte. Diplomarbeit am Institut für Botanik, Köln.

Meyer, U., Köllner, B., Willenbrink, J. & Krause, G. H. M. (1997) Physiological Changes on Agricultural Crops induced by different ambient Ozone Regimes. I. Effects on Photosynthesis and Assimilate Allocation in Spring Wheat. New Phytologist **136:** 645-652.

Miller, J. E. (1988) Effects on Photosynthesis, Carbon Allocation and Plant Growth associated with Air Pollutant Stress. In: **Heck, W. W., Taylor, O. C. & Tingey, D. T.** (Eds.) Assessment of Crop Loss from Air Pollutants: 287-314. Elsevier Applied Science, London, New York.

Mortensen, L. & Engvild, K. C. (1995) Effects of Ozone on ^{14}C Translocation Velocity and Growth of Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed in Open-Top Chambers. Environmental Pollution **87:** 135-140.

Müller, E. & Loeffler, W. (1992) Mykologie. 5. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York. ISBN 3-13-436805-6.

Mulholland, B. J., Craigon, J., Black, C. R., Colls, J. J., Atherton, J. & Landon, G. (1998) Effects of elevated CO_2 and O_3 on the Rate and Duration of Grain Growth and Harvest index in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). Global Change Biology **4(6):** 627-635.

Musselman, R. C., Younglove, T. & McCool, P. M. (1994) Response of *Phaseolus vulgaris* L. to differing Ozone Regimes having identical total Exposure. Atmospheric Environment **28:** 2727-2731.

Musselman, R. C. & Massman, W. J. (1999) Ozone Flux to Vegetation and its Relationship to Plant Response and ambient Air Quality Standards. Atmospheric Environment **33(1):** 65-73.

Nali, C., Guidi, L., Filippi, F., Soldatini, G. F. & Lorenzini, G. (1998) Photosynthesis of two Poplar Clones Contrasting in O_3 Sensitivity. Trees - Structure and Function **12(4):** 196-200.

Nie, G.-Y., Tomasevic, M. & Baker, N. R. (1993) Effects of Ozone on the Photosynthetic Apparatus and Leaf Proteins during Leaf Development in Wheat. Plant, Cell & Environment **16:** 643-651.

Norm VDI 2310 Bl.1 (1988) Zielsetzung und Bedeutung der Richtlinien Maximale Immissions-Werte – Aim and Significance of the Guidelines Maximum Immission Values. Berlin: Beuth.

Ojanperä, K., Pätsikkä, E. & Yläranta, T. (1998) Effects of low Ozone Exposure of Spring Wheat on net CO_2 Uptake, Rubisco, Leaf Senescence and Grain Filling. New Phytologist **138(3):** 451-460.

Ollerenshaw, J. H., Lyons, T. & Barnes, J. D. (1999) Impact of Ozone on the Growth and Yield of Field-grown Winter Oilseed Rape. Environmental Pollution **104:** 53-59.

Ormrod, D. P., Black, V. J. & Unsworth, M. H. (1981) Depression of Net Photosynthesis in *Vicia faba* L. exposed to Sulphur Dioxide and Ozone. Nature **291:** 585-586.

Osmond, C. B. (1994) What is Photoinhibition? Some Insights from Comparisons of Shade and Sun Plants. In: **Baker, N. R. & Bowyer, J. R.** Photoinhibition of Photosynthesis. From molecular Mechanisms to the Field: 1-24. BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, UK.

Pauls, K. P. & Thompson, J. E. (1980) In Vitro Simulation of Senescence-related Membrane Damage by Ozone-induced Lipid Peroxidation. Nature **283:** 504-506.

Pell, E. J., Schlagnhaufer, C. D. & Arteca, R. N. (1997) Ozone-induced oxidative stress: Mechanisms of Action and Reaction. Physiologia Plantarum **100(2):** 264-273.

Pleijel, H., Skärby, L., Wallin, G. & Selldén, G. (1995) A Process-Oriented Explanation of the non-linear Relationship between Grain Yield of Wheat and Ozone Exposure. New Phytologist **131:** 241-246.

Pleijel, H., Danielsson, H., Gelang, J., Sild, E. & Sellden, E. (1998) Growth Stage dependence of the Grain Yield Response to Ozone in Spring Wheat (*Triticum aestivum* L.). Agriculture, Ecosystems & Environment **70(1):** 61-68.

Polle, A. (1997) Defence against photooxidative Damage in Plants. In: **Scanalios, J.** (Ed.) Oxidative Stress and the Molecular Biology of Antioxidant Defences: 623-665.

Pollock, C. J. and Farrar, J. (1997) Source-Sink Relations: The Role of Sucrose. In: **Baker, N. R.** (Ed.). Photosynthesis and the Environment. Dordrecht: Kluwer.

Prinz, B., Krause, G. H. M. & Stratmann, H. (1982) Vorläufiger Bericht der Landesanstalt für Immissionsschutz über Untersuchungen zur Aufklärung der Waldschäden in der Bundesrepublik Deutschland. LIS-Berichte **28**.

Rao, M. V., Hale, B. A. & Ormrod, D. P. (1995) Amelioration of Ozone-induced Oxidative Damage in Wheat Plants Grown under High Carbon Dioxide: Role of Antioxidant Enzymes. Plant Physiology **109:** 421-432.

Reichenauer, T., Bolhar-Nordenkampf, H. R., Ehrlich, U., Soja, G., Postl, W. F. & Halbwachs, F. (1997) The Influence of ambient and elevated Ozone Concentrations on Photosynthesis in *Populus nigra*. Plant, Cell & Environment **20(8):** 1061-1069.

Reiling, K. & Davison, A. W. (1994) Effects of Exposure of Ozone at Different Stages in the Development of *Plantago major* L. on Chlorophyll Fluorescence and Gas Exchange. New Phytologist **128:** 509-514.

Richter, G. (1998) Stoffwechselphysiologie der Pflanzen. 6. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York. ISBN 3-13-442006-6.

Sandelius, A. S., Näslund, K., Carlsson, A. S., Pleijel, H. & Sellden, G. (1995) Exposure of Spring Wheat (*Triticum aestivum*) to Ozone in Open-Top Chambers. Effects on Acyl Lipid Composition and Chlorophyll Content of Flag Leaves. New Phytologist **131:** 231-239.

Sandermann, H. (1996) Ozone and Plant Health. An Review of Phytopathology **34:** 347-366.

Sandermann, H., Ernst, D., Heller, W. & Langebartels, C. (1998) Ozone: an abiotic Elicitor of Plant Defence Reactions. Trends in Plant Science **3(2):** 47-50.

Schlösser, E. (1997) Allgemeine Phytopathologie. 2. Aufl. Stuttgart; New York: Thieme. ISBN 3-13-647502-X.

Schmieden, U. & Wild, A. (1995) The Contribution of Ozone to Forest Decline. Physiologia Plantarum **94:** 371-378.

Schnyder, H. (1993) The Role of Carbohydrate Storage and Redistribution in the Source-Sink Relations of Wheat and Barley during Grain Filling - A Review. New Phytol **123:** 233-45.

Scholes, J. D. & Rolfe, S. A. (1996) Photosynthesis in localised Regions of Oat Leaves infected with Crown Rust (*Puccinia coronata*): Quantitative Imaging of Chlorophyll Fluorescence. Planta **199(4):** 573-582.

Schraudner, M., Ernst, D., Langebartels, C. & Sandermann, H. (1992) Biochemical Plant Responses to Ozone: III. Activation of the Defence-Related Proteins β-1,3-Glucanase and Chitinase in Tobacco Leaves. Plant Physiology **99:** 1321-1328.

Schreiber, U. & Bilger, W. (1987) Rapid Assessment of Stress Effects on Plant Leaves by Chlorophyll Fluorescence Measurements. In: **Tenhunen, J. D., Catarino, F. M., Lange, O. L., Oechel, W. D.** (Eds.) Plant Response to Stress. Springer, Berlin Heidelberg New York, S. 27-53.

Soja, G. & Soja, A.-M. (1995) Ozone Effects on Dry Matter Partitioning and Chlorophyll Fluorescence during Plant Development of Wheat. Water, Air and Soil Pollution **85(3):** 1461-1466.

Stitt, M. (1995) Enhanced CO_2, Photosynthesis and Growth; What should we measure to gain a better Understanding of the Plant's Response? In: **Schulze, E.D. & Mooney H. A.** (Eds.) Ecosystems Research Report 6: Design and Execution of Experiments on CO_2-Enrichment. Commission of the European Community. ISBN 2-87263-112-7.

Stoy, V. (1965) Photosynthesis, Respiration, and Carbohydrate Accumulation in Spring Wheat in Relation to Yield. Physiologia Plantarum Supplementum IV.

Takahama, U. & Oniki, T. (1992) Regulation of Peroxidase-Dependent Oxidation of Phenolics in the Apoplast of Spinach Leaves by Ascorbate. Plant Cell Physiology **33:** 379-387.

Thalmair, M., Bauw, G., Thiel, S., Dohring, T., E., Langebartels, C. & Sandermann, H. (1996) Ozone and UV B Effects on the defence-related Proteins β-1,3-Glucanase and Chitinase in Tobacco. Journal of Plant Physiology **148(1-2):** 222-228.

Tiedemann, A. v., Ostländer, P., Firsching, K. H. & Fehrmann, H. (1990) Ozone Episodes in Southern Lower Saxony (FRG) and their Impact on the Susceptibility of Cereals to Fungal Pathogens. Environmental Pollution **67:** 43-59.

Tiedemann, A. v. (1992a) Ozone Effects on Fungal Leaf Diseases of Wheat in Relation to Epidemiology. I. Necrotrophic Pathogens. J. Phytopathology **134:** 177-186.

Tiedemann, A. v. (1992b) Ozone Effects on Fungal Leaf Diseases of Wheat in Relation to Epidemiology. II. Biotrophic Pathogens. J. Phytopathology **134:** 187-197.

Tiedemann, A. v. & Pfähler, B. (1994) Growth Stage-dependent Effects of Ozone on the Permeability for Ions and Non-Electrolytes of Wheat Leaves in Relation to the Susceptibility to *Septoria nodorum* Berk. Physiol & Mol Plant Pathology **45:** 153-167.

Tiedemann, A. v. (1996) Single and combined Effects of Nitrogen Fertilisation and Ozone on fungal Leaf Diseases on Wheat. Z f Pflanzenkrankheiten u Pflanzenschutz **103:** 409-419.

Tingey, D. T. & Hogsett, W. E. (1985) Water Stress reduces Ozone Injury via a stomatal Mechanism. Plant Physiology **77:** 944-947.

Tottman, D. R. & Broad, H. (1987) The decimal Code for the Growth Stages of Cereals, with Illustrations. Ann appl Biol **110:** 441-454.

Urbach, W., Schmidt, W., Kolbowski, J., Rümmele, S., Reisberg, E., Steigner, W. & Schreiber, U. (1989) Wirkungen von Umweltschadstoffen auf Photosynthese und Zellmembranen von Pflanzen. 1. Statusseminar der PBWU zum Forschungsschwerpunkt "Waldschäden", GSF-Bericht **6/89:** 195-206.

Vanacker, H., Harbinson, J., Ruisch, J., Carver, T. L. W. & Foyer, C. H. (1998) Antioxidant Defence of the Apoplast. Protoplasma **205:** 129-140.

Vandermeiren, K., de Temmerman, L. & Hookham, N. (1995) Ozone Sensitivity of *Phaseolus vulgaris* in Relation to Cultivar Differences, Growth Stage and Growing Conditions. Water, Air and Soil Pollution **85:** 1455-1460.

Wardlaw, I. F. & Porter, H. K. (1967) The Redistribution of Stem Sugars in Wheat during Grain Development. Austr J of Biol Sciences **20:** 309-318.

Wenzel, A. (1992) Expositionsversuche in Open-Top Kammern zur Ermittlung des immissionsbedingten Gefährdungspotentials für landwirtschaftliche Kulturen in der Randzone eines Ballungsraumes (Dissertation, Essen).

Willenbrink, J., Bonnett, G. D., Willenbrink, S. & Wardlaw, I. F. (1998) Changes of Enzyme Activities associated with the Mobilisation of Carbohydrate Reserves (Fructans) from the Stem of Wheat during Kernel Filling. New Phytologist **139:** 471-478.

Willenbrink, J. & Schatten, T. (1993) CO_2-Fixierung und Assimilatverteilung in Fichten unter Langzeitbelastung mit Ozon. *Forstw Cbl* **112:** 50-56.

Willert, D. J. v., Matyssek, R. & Herppich, W. (1995) Experimentelle Pflanzenökologie. Thieme Verlag, Stuttgart New York, ISBN 3-13-134401-6.

Wirth, S. J. & Wolf, G. (1992) Micro-Plate colourimetric Assay for endo-acting Cellulase, Xylanase, Chitinase, β-1,3-Glucanse and Amylase extracted from Forest Soil Horizons. Soil Biol Biochem **24(6):** 511-519.

Wolf, G. & Fric, F. (1981) A rapid Method for Staining *Erysiphe graminis f.sp. hordei* in and on whole Barley Leaves with a Protein-specific Dye. Phytopathology **71:** 596-598.

Yurina, T. P., Yurina, E. V., Karavaev, V. A. & Solntsev, M. K. (1997) Effect of mineral Nutrition on Wheat Resistance to Powdery Mildew. Russian Journal of Plant Physiology **44:** 54-56.

LEBENSLAUF

Persönliche Daten

Name:	Ulrich Johann Meyer
Geburtsdatum/ -ort:	06.12.1966 in Gutweiler

Schulen

1973 - 1977	Grundschule Waldrach
1977 - 1986	Max-Planck-Gymnasium Trier
06.06.1986	Abitur

Wehrdienst

01.10.86 - 31.12.87

Praktikum

01.03.88 - 31.08.88	Biologische Bundesanstalt für Weinbau, Bernkastel-Kues

Berufsausbildung

01.09.1988 - 06.06.1990	Rheinische Akademie e. V. Köln, Höhere Berufsfachschule für Technik
19.06.1990	Abschluß Biologisch-technischer Assistent

Studium

01.10.1990 - 31.10.1996	Studium der Biologie an der Universität zu Köln
02.04.1996	Abschluß Diplom

Promotion

1996 – 1999	Dissertation am Botanischen Institut der Universität zu Köln unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. J. Willenbrink
02.01.97 – 31.12.98	Wissenschaftlicher Mitarbeiter

Erklärung

Ich versichere, daß ich die von mir vorgelegte Dissertation selbständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit – einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen -, die anderen Werken im Wortlaut nach oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; daß diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; daß sie – abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen – noch nicht veröffentlicht worden ist sowie, daß ich eine Veröffentlichung vor Abschluß des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde.
Die Bestimmungen der geltenden Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Herrn Prof. Dr. J. Willenbrink betreut worden.

Ein Teil dieser Arbeit wurde bereits veröffentlicht:

Köllner, B., Krause, G. H. M., Meyer, U. & Willenbrink, J. (1995) Effects of different Ozone Exposure Regimes on Yield, Carbon Metabolism and Photosynthesis of Spring Wheat. International Workshop: "Exceedances of Critical Loads and Levels", Vienna, November 22-24.

Köllner, B., Krause, G. H. M., Höckel, F.-E., Westphalen, J. & Meyer, U. (1996) Untersuchungen zur Wirkung von Ozon auf Pflanzen. Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen, Jahresbericht 1995: 58-62. ISSN 0948-079X.

Meyer, U., Köllner, B., Willenbrink, J. & Krause, G. H. M. (1997) Physiological Changes on Agricultural Crops induced by different ambient Ozone Regimes. I. Effects on Photosynthesis and Assimilate Allocation in Spring Wheat. New Phytol **136:** 645-652.

Köllner, B. & Meyer, U. (1998) Neue Ergebnisse zur Wirkung von Ozon auf Wachstum und Ertrag landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Jahresbericht 1997, Essen: LUA NRW, ISSN 0948-079X.

Meyer, U., Köllner, B. & Willenbrink, J. (1998) Effects of different ambient ozone exposure regimes on photosynthesis, assimilate allocation and yield in spring wheat. Botanikertagung, Bremen, 30. August - 6. September 1998.

Meyer, U. & Köllner, B., (1998) Umweltnahe Ozonexpositionsvarianten von Weizen in Kombination mit abiotischen und biotischen Stressoren. 51. Deutsche Pflanzenschutztagung, Halle/Saale, 5.-8. Oktober 1998.

Köllner, B., Meyer, U., Waclawski, N. & Krause, G. H. M. (1999) Effect of Ozone on agricultural Crops: Role of internal and external Growth Factors modifying Plant Reaction. Critical Levels for Ozone – Level II. Workshop under the Convention on long Range Transboundary Air Pollution of the United Nations Economic Commission for Europe (UN ECE), Gerzensee, Switzerland, April 11-15.

Meyer, U., Köllner, B., Willenbrink, J. & Krause, G. H. M. (1999) Effects of different ozone exposure regimes on photosynthesis, assimilates and thousand grain weight in spring wheat. Agriculture, Ecosystems and Environment (in press).

(Ulrich Meyer)