Birke (*Betula pendula*): Mögliche Akklimatisierung an Ozon-Streß

Von MADELEINE S. GÜNTHARDT-GOERG, R. MATYSSEK, TH. KELLER

Einleitung

Die Zelldifferenzierung und Organentwicklung entlang der Sproßachse läuft ab innerhalb der genetischen Rahmenprogramme. Während der Ausbildung modifizieren mikroklimatische und edaphische Faktoren die Merkmalsausprägung (TICHÀ 1985); es kann eine Akklimatisierung an diese Faktoren stattfinden. Solche Akklimatisierungen lassen die Pflanzen fortgesetzten Streß besser tolerieren. Findet auch eine Akklimatisierung an eine chronische Ozonbelastung statt?

Pflanzen und Methoden

Vertopfte Birkenstecklinge (*Betula pendula*) eines örtlichen Mutterbaumes wurden vor dem Austreiben in die Freilandbegasungsanlage (20 Kammern, 5 pro Begasungskonzentration, 4 Bäume pro Kammer, gut gewässert und ernährt) eingestellt und bis zur Herbstverfärbung verschiedenen Ozonkonzentrationen ausgesetzt. Das Ozon wurde aus reinem Sauerstoff hergestellt und kontinuierlich der mit Aktivkohle gefilterten Luft zugegeben (Konzentrationen: Kontrolle $< 0,003$; 0,05; 0,075; 0,1 $\mu\text{l l}^{-1}$). 5 zusätzliche Pflanzen aus der Kontrollbehandlung wurden am 20. August in die 0,1 $\mu\text{l l}^{-1}$ -Ozonbegasung eingestellt (= nachträglich begaste Pflanzen). Die Blätter wurden nummeriert, und aus den Zeitspannen bis zum Abschluß des Blattflächenwachstums sowie dem Auftreten visueller Schadsymptome wurde die jeweilige Ozondosis (Konzentration $\times$ Zeit) pro Einzelblatt berechnet. An 55 ausgewählten Blättern wurden mittels Lichtmikroskopie die stomatäre Dichte (Anzahl Spaltöffnungen pro mm^2) und die Stärkereaktion (mit JJK), mittels Tieftemperaturasterelektronenmikroskopie die Länge und der Öffnungszustand der Schließzellen bestimmt. Gefrierquerbrüche wurden von 21 Blättern hergestellt (GÜNTHARDT-GOERG et al. 1992; SCHEIDEGGER et al. 1991).

Ergebnisse

Die Flächen der Birkenblätter blieben reduziert, wenn die Ozondosis (Ozonkonzentration $\times$ Zeitdauer der Blattentfaltung) mehr als 26 $\mu\text{l l}^{-1} \text{ h}$ betrug (Abb. 1A, weitere morphologische Parameter s. GÜNTHARDT-GOERG et al. 1993). Mit abnehmender Blattfläche (bei 0,1 $\mu\text{l l}^{-1}$ Ozon auch reduzierte Zellgröße, Abb. 2: lange Säulen) nahm die Spaltöffnungsichte zu (Abb. 1B). Die Öffnungsweite der Schließzellen war in Blättern ohne oder mit geringen visuellen Schadsymptomen unter Ozon zu verschiedenen Zeitpunkten enger als unter Filterluft (Abb. 2, kurze Säulen). Die bis zur Ausprägung visueller Blattschadsymptome erforderliche Ozondosis (Abb. 3) nahm mit steigender Ozonkonzentration zu.

Unter Filterluft ausgebildete Blätter an nachträglich begasten Kontroll-Bäumen fielen bei niedrigerer Ozondosis ab, als es bei unter Ozon ausdifferenzierten Blättern der Fall war (Abb. 3, schwarze Säulen). Nachträglich unter Ozon ausgebildete Blätter dieser Bäume

Abb. 1. Blattfläche (A) und Anzahl Spaltöffnungen pro mm² (B) in Abhängigkeit von der Ozondosis (Konzentration $\times$ Zeit) während des Blattwachstums. Blätter an nachträglich begasten Kontroll-Bäumen (ausgefüllte Symbole) sind entweder unter Filterluft oder unter Ozon ausgebildet

Fig. 1. Leaf area (A) and stomatal density (B) in relation to the ozone dose (concentration $\times$ time) during leaf extension growth. Leaves from transferred control trees (filled symbols) were either formed in filtered air or newly formed under ozone after the transfer

zeigten jedoch eine dosisabhängig erhöhte Spaltöffnungsichte (Abb. 1B, schwarze Symbole), kleinere Schließzellen und verengte Spaltöffnungsweiten (Abb. 2, 0,1^o). Die zur Ausprägung von Schadsymptomen nötige Ozondosis (Abb. 3, 0,1^o, Säulen mit Raster) war an diesen Blättern gleich derjenigen der 0,05 μl l⁻¹-Begasung.

Bei begasten Blättern mit ersten visuellen Schadsymptomen wurden mittels Tieftemperaturasterelektronenmikroskopie „nicht wäßrige tropfenförmige Exsudate“ (unetchable droplet-like exudates, sehr wahrscheinlich Zellwandmaterial) beobachtet (GÜNTHARDT-GÖRG et al. 1993). Zuerst traten die Exsudate an den Zellwänden der Mesophyllzellen rund um die Stomahöhlen auf der Blattunterseite (Blattoberseite ohne Stomata) auf und breiteten sich bis zu den Palisadenzellen aus. Schließlich kollabierten einzelne oder Gruppen von Mesophyllzellen. Nach ihnen folgten die Epidermiszellen und als letzte die Spaltöffnungen, nachdem sie sich bei kollabierten Nachbarzellen vorübergehend passiv weit geöffnet hatten.

Mit zunehmender Schädigung der Mesophyllzellen wurde weniger Assimilationsstärke (Amylose) beobachtet, welche zudem nur bis zu den Bündelscheiden abtransportiert wurde und dort wiederum als Stärke liegenblieb. Die verengten Schließzellen waren mit Stärke (Amylopektin) vollgepackt, und parallel dazu traten Amylopektinkörner in den nicht assimilierenden Epidermiszellen auf. Unter Filterluft ausgebildete Blätter zeigten bei nachträglicher Ozonbegasung stark reduzierte Assimilationsstärke, aber keine der oben genannten Stärkemuster.

Diskussion

In voll ausgebildeten mesophytischen Blättern dringt Ozon durch die Spaltöffnungen ein und zerfällt rasch im Apoplast (LAISK 1983), wo in der Folge wahrscheinlich Radikalkettenreaktionen zur Zellschädigung führen. Chronische, geringe Ozonkonzentrationen wirken schon während der Blattdifferenzierung (Abb. 1 und 2, Dosisabhängigkeit). Je

Abb. 2. Mittlere Öffnungsweite (kurze Säulen, Mittelwerte signifikant verschieden) und mittlere Länge (lange Säulen, nur bei $0,1 \mu\text{l l}^{-1}$ Ozon signifikant verschieden von der Kontrolle, t-Test) der Schließzellen unter verschiedenen Ozonkonzentrationen (Beispiel von Blättern gleichen Alters am 27. September 1989, Erntezeitpunkt 8.30 Uhr, $17,6^\circ\text{C}$, 63 % relative Feuchte)

Signatures (Abbildung 2 und 3): F = unter Filterluft, O₃ = unter Ozon ausgebildete Blätter an nachträglich mit Ozon ($0,1^*$) begasteten Kontrollpflanzen. Visuelle Blattsymptome: □ grün; □ einzelne hellgrüne Punkte; □ hellgrüne Punkte auf der ganzen Blattfläche oder bronzefarbiges Blattgrün oder winzige schwarze Punkte; □ kleine Nekrosepunkte; ■ abgefallene Blätter

Fig. 2. Mean aperture (small bars, all significantly different from control) and mean length (long bars, different from control at $0,1 \mu\text{l l}^{-1}$, t-test) of guard cells under different ozone concentrations (harvest September 27, at 8.30 a.m., $17,6^\circ\text{C}$ and 63 % relative humidity, leaves of same age)

Signatures (Figure 2 and 3): F = leaves formed in filtered air, O₃ = leaves formed in ozonized air on control plants that had been transferred from filtered air to $0,1 \mu\text{l l}^{-1}$ ozone ($0,1^*$) on August 20. Macroscopical leaf symptoms: □ green; □ isolated light green dots; □ light green or bronze-green leaf colour, tiny black dots; □ small necrotic spots; ■ shed leaves

Abb. 3. Mittlere Ozondosis bis zum Auftreten visueller Symptome in Abhängigkeit von der Begasungskonzentration

Fig. 3. Mean ozone dose causing the appearance of macroscopical leaf symptoms in relation to the fumigation with different ozone concentrations

langsamer die Blätter austreiben, desto höher ist die Ozondosis während der Differenzierung. Unter Ozon ausgebildete Blätter sind in der Folge auf fortgesetzte Ozonbehandlung weniger empfindlich, während nachträglich begaste Kontrollpflanzen baldigen Blattfall aufweisen (Abb.3). Man kann deshalb von einer Akklimationisierung an Ozon sprechen, deren strukturelle Differenzierung Ähnlichkeit mit derjenigen unter Wasserstress zeigt. Die Mechanismen der Blattdifferenzierung unter Ozonstress sind bislang unbekannt.

Eine Akklimationisierung kann sich auch in der Verengung der Stomata widerspiegeln: Gasaustausch und somit auch die Schadstoffaufnahme sind verringert. Bei langsam fortschreitender Schädigung beginnen einzelne Mesophyllzellen zu kollabieren, während die Spaltöffnungen die CO₂-Versorgung der verbleibenden Mesophyllzellen nicht limitieren. Der Mesophyllkollaps verschlechtert die Bilanz aus Kohlenstoffgewinn pro Wasserverbrauch (MATYSSEK et al. 1991). Die Stärkeverteilung zwischen Spaltöffnungen, Mesophyll-

zellen und Transportbahnen verändert sich. Die Stärkeansammlung in den Spaltöffnungen könnte ein Anzeichen der Verengung sein. Die entlang der kleinen Blattnerven angehäufte Stärke steht vielleicht mit der veränderten Assimilatverteilung in der ganzen Pflanze im Zusammenhang (reduziertes Wurzel/Sproßverhältnis, MATYSSEK et al. 1992).

Eine Akklimatisierung in höheren Lagen geschieht möglicherweise nicht nur an die Temperatur und den Wasserstreß, sondern auch an die kontinuierlich erhöhte Ozonkonzentration. Es ist zu prüfen, welchen Einfluß das Ozon auf die Hormone oder „hormon-ähnliche Metaboliten“ hat, die in den Prozessen der Blattdifferenzierung, Spaltöffnungsregulation und Kohlenstoffverteilung mitwirken.

Zusammenfassung

Durch Ozonbegasung in einem Birkenklon hervorgerufene Änderungen der Blattfläche, der stomatären Dichte, der Länge und des Öffnungszustandes der Stomata sowie der Stärkeverteilung werden vorgestellt und hinsichtlich einer möglichen Akklimatisierung an Ozon diskutiert.

Summary

Birch (Betula pendula): possible acclimatization to ozone-stress

Leaf area change, stomatal density, length and width of the guard cells, and starch distribution in one birch clone exposed to ozone are presented and discussed with regard to possible acclimation to ozone.

Literatur

- GÜNTHARDT-GOERG, MADELEINE S.; MATYSSEK, R.; SCHEIDEGGER, C.; KELLER, T., 1993: Differentiation and structural decline in the leaves and bark of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations. *Trees* 7, 104–114.
- LAISK, A.; KULL, O.; MOLDAU, H., 1989: Ozone concentration in intercellular spaces is close to zero. *Plant physiol.* 90, 1163–1167.
- MATYSSEK, R.; GÜNTHARDT-GOERG, MADELEINE S.; KELLER, T.; SCHEIDEGGER, C., 1991: Impairment of gas exchange and structure in birch leaves (*Betula pendula*) caused by low ozone concentrations. *Trees* 5, 5–13.
- MATYSSEK, R.; GÜNTHARDT-GOERG, MADELEINE S.; SAURER, M.; KELLER, T., 1992: Seasonal growth, $\delta^{13}\text{C}$ in leaves and stem, and phloem structure of birch (*Betula pendula*) under low ozone concentrations. *Trees* 6, 69–76.
- SCHEIDEGGER, C.; GÜNTHARDT-GOERG, MADELEINE S.; MATYSSEK, R.; HATVANI, P., 1991: Low-temperature scanning electron microscopy of birch leaves after exposure to ozone. *J. Microsc.* (Oxford) 161, 85–95.
- TICHÁ, INGRID, 1985: Ontogeny of leaf morphology and anatomy. In: Photosynthesis during leaf development. Task for vegetation science 11. Hrsg. Sestac, Z. Dordrecht: Junk. S. 16–50.
- Anschrift der Autoren:* Dr. MADELEINE S. GÜNTHARDT-GOERG, Dr. R. MATYSSEK, Dr. TH. KELLER, Eidgenössische Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft, Zürcherstrasse 111, CH-8903-Birmensdorf, Schweiz